



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ,
ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21), (22) Заявка: 2008127089/12, 03.07.2008

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
03.07.2008

(45) Опубликовано: 20.03.2010 Бюл. № 8

(56) Список документов, цитированных в отчете о
поиске: ДУХОВЕНКО Г.С., СЕРГЕЕВА Н.Р.

Повышение токсикорезистентности
производителей карповых рыб,
инъецированных препаратами витаминов
группы В, КрасНИИРХ. Россия.
Междуродный симпозиум.

Ресурсосберегающие технологии в
аквакультуре, тезисы докладов, октябрь, 21-
24, Краснодар, 1996, с.80. RU 2233083 C2,
27.04.2004. SU 1653679 A1, 07.06.1991.

Адрес для переписки:

414025, г.Астрахань, ул. Татищева, 16, ФГОУ
ВПО АГТУ, патентный отдел

(72) Автор(ы):

Пономарева Елена Николаевна (RU),
Пономарев Сергей Владимирович (RU),
Сорокина Марина Николаевна (RU),
Ковалева Анжелика Вячеславовна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Государственный комитет Российской
Федерации по рыболовству Федеральное
государственное образовательное
учреждение высшего профессионального
образования "Астраханский
государственный технический университет"
(ФГОУ ВПО АГТУ) (RU),
Южный научный центр Российской
академии наук (ЮНЦ РАН) (RU)

(54) СПОСОБ ПОВЫШЕНИЯ КАЧЕСТВА ПОЛОВЫХ ПРОДУКТОВ И ПОТОМСТВА
ОСЕТРОВЫХ РЫБ

(57) Реферат:

Способ включает использование
биологически активных веществ. В качестве
биологически активных веществ используют
препарат витамина В₁₂ (цианокобаламина).
Витаминную стимуляцию производителей
осетровых осуществляют внутримышечными

инъекциями препарата витамина В₁₂.
Инъекцию витамина осуществляют за месяц до
нереста двукратно с интервалом 7 суток при
норме введения витамина 50 мкг/кг массы тела.
Такая технология позволяет повысить
качество половых продуктов и потомства
осетровых рыб. 9 табл.



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY,
PATENTS AND TRADEMARKS

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(21), (22) Application: 2008127089/12, 03.07.2008

(24) Effective date for property rights:
03.07.2008

(45) Date of publication: 20.03.2010 Bull. 8

Mail address:

414025, g.Astrakhan', ul. Tatishcheva, 16, FGOU
VPO AGTU, patentnyj otdel

(72) Inventor(s):

Ponomareva Elena Nikolaevna (RU),
Ponomarev Sergej Vladimirovich (RU),
Sorokina Marina Nikolaevna (RU),
Kovaleva Anzhelika Vjacheslavovna (RU)

(73) Proprietor(s):

Gosudarstvennyj komitet Rossijskoj Federatsii po
rybolovstvu Federal'noe gosudarstvennoe
obrazovatel'noe uchrezhdenie vysshego
professional'nogo obrazovaniya "Astrakhanskij
gosudarstvennyj tekhnicheskij universitet" (FGOU
VPO AGTU) (RU),
Juzhnyj nauchnyj tsentr Rossijskoj akademii nauk
(JuNTs RAN) (RU)**(54) METHOD FOR IMPROVEMENT OF QUALITY OF REPRODUCTIVE PRODUCTS AND BROOD OF STURGEON**

(57) Abstract:

FIELD: agriculture.

SUBSTANCE: method includes application of biologically active substances. Biologically active substances used are represented by preparation of vitamin B₁₂ - cyanocobalamine. Vitamin stimulation of sturgeon producers is carried out by intramuscularinjections of vitamin B₁₂ preparation. Injection of vitamin is made month prior to spawning twice with an interval of 7 days with the norm of vitamin introduction of 50 microgram/kg of body weight.

EFFECT: such technology makes it possible to improve quality of reproductive products and brood of sturgeon.

9 tbl, 2 ex

Известен способ подготовки повышения качества половых продуктов путем введения витаминов Е и С (см. патент РФ №2233083, 27.04.2004, Бюл. №21). Однако данный способ основан на применении смеси антиоксидантов для сохранения в норме окислительно-восстановительного состояния живой ткани ослабленных особей и не полностью удовлетворяет потребности организма рыб в преднерестовом состоянии и раннего онтогенеза.

Наиболее близким по сути является метод увеличения токсикорезистентности производителей карпа и растительноядных рыб и получения жизнестойких личинок в условиях промышленного загрязнения водоемов с помощью использования смеси витаминов В₁ и В₁₂ (см. Международный симпозиум «Ресурсосберегающие технологии в аквакультуре»: Тезисы докладов. Октябрь, 21-24, 1996 г., Адлер, Россия/ АО «Краснодаррыба», КрасНИРХ. - Краснодар, 1996. - с.80). Однако этот метод разработан в основном для повышения токсикорезистентности и повышения репродуктивных качеств производителей только карповых рыб.

Техническая задача - создание способа, позволяющего повысить качество половых продуктов и потомства осетровых рыб с помощью инъекций витамина В₁₂ (цианокобаламина).

Технический результат - повышение качества половых продуктов и потомства осетровых рыб. Он достигается тем, что используют биологически активные вещества, препарат витамина В₁₂ (цианокобаламина), при этом витаминную стимуляцию производителей осетровых осуществляют внутримышечными инъекциями препарата витамина В₁₂ за месяц до нереста двукратно с интервалом 7 суток при норме введения витамина 50 мкг/кг массы тела.

Получение половых продуктов осетровых рыб осуществляют путем гормональной стимуляции завершающих этапов репродуктивного цикла. Цианокобаламин не синтезируется организмом, а доставляется с пищей, а поскольку кортикостероидные гормоны, а также нейролептики способствуют «вымыванию» цианокобаламина из организма, то при созревании ооцитов наблюдается снижение содержания этого витамина, что оказывает влияние на процент и созревание производителей, жизнестойкость икры, личинок и молоди осетровых рыб.

Самкам вводят фармацевтический препарат витамина В₁₂ (цианокобаламина) внутримышечно. Норма введения витамина - 50 мкг/кг массы тела. Витамин вводят шприцем сбоку в спинную мышцу на уровне третьей жучки. Влияние витамина В₁₂ (цианокобаламина) определяли на основании данных созревания производителей, процента оплодотворения икры, процента нормально развивающейся икры на разных стадиях, выживаемости эмбрионов, личинок и выхода молоди.

Пример 1 конкретного осуществления способа

Инъекции цианокобаламином проводили самкам русского осетра, содержащимся в бассейнах ЦДВ Донского ОРЗ за месяц до получения половых продуктов без нарушения технологического процесса. Инъекции делали двукратно с интервалом 7 суток. Самки были разделены на опытную группу и контрольную, которая не инъектировалась витамином.

При инъекции самок русского осетра препаратом цианокобаламина количество ответивших на гипофизарную инъекцию рыб в опытной группе составило 100%, в контрольной - 90%. Процент оплодотворения икры, полученной от опытных самок был 92%, тогда как в контроле - 75%. Выявлено повышение процента нормально развивающейся икры на стадии маленькой желточной пробки (17 ст.) в

опытном варианте на 18%, на стадии вылупления эмбрионов из оболочек (36 ст.) - на 20% по сравнению с контролем (табл.1).

Показатели	Опытная группа	Контрольная группа
Масса, кг	35,8±0,97	24,5±0,78
Длина, см	138,0±2,5*	127,5±2,2
Созревание, %	100	90
Средняя рабочая плодовитость, тыс.шт.	229,9±5,6	180,5±5,5
10 Оплодотворение икры (5 ст.), %	92	75
Развитие икры (17 ст.), %	88	70
Выход эмбрионов (36 ст.), %	85	65
Примечание: * различия достоверны при P<0,01		

15 Биохимический анализ показал (табл.2), что икра, полученная от самок, проинъецированных цианкобаламином, отличалась более высоким содержанием протеина (на 2,3%) и липидов (на 1,1%). Высокая концентрация липидов является свидетельством того, что их расход в организме был значительно ниже. Очевидно, в
20 преднерестовый период содержания у контрольных самок происходили значительные траты липидных веществ на генеративный синтез и поддержание жизненных функций.

Показатели	Опытная группа	Контрольная группа
Влага, %	48,7±1,5*	52,6±1,0
Сухое вещество, %	51,3±0,8**	47,4±1,2
Протеин	58,9±0,7*	56,6±0,7
Липиды	34,8±0,3**	33,7±0,2
Углеводы	2,4±0,6*	4,7±0,8
30 Зола	3,9±0,5*	5,0±0,2
Примечание: различия достоверны при *P<0,05; **P<0,01		

35 Исследование морфометрических показателей предличинок русского осетра в период подращивания выявило некоторое преимущество тех из них, которые были получены из икры опытных самок. Эти предличинки отличались большей массой (на 3,1 мг) и длиной (на 1,0 мм), т.е. имели высокие потенции к росту (табл.3).

У предличинок, полученных из икры контрольных самок, не инъецированных витамином, был отмечен значительный процент нарушений в развитии (10%): у 4% предличинок обнаружено искривление позвоночника, у 6% - недоразвитие передних отделов головы. В опытном варианте таких нарушений было значительно меньше - всего 5,1%.

Показатели	Опытная группа	Контрольная группа
Выживаемость предличинок, %	86	80
Отклонения в развитии, % от общего отхода	5,1	10
Масса, мг	21,1±1,6	18,0±2,0
50 Длина, мм	10,8±1,2	9,8±1,5
Длина желточного мешка, мм	4,28±0,5	3,85±0,2
Отношение длины желточного мешка к длине тела	0,396±0,07	0,392±0,09

Предличинки опытной группы своевременно переходили на смешанное питание,

следствием чего явилась их высокая выживаемость в опытной группе 86%, в контроле - 80%.

В дальнейшем при изучении биохимического состава личинок русского осетра было выявлено, что рыба в опытном варианте отличалась хорошим физиологическим состоянием, о чем свидетельствовало высокое содержание протеина - 58,8%, в контрольной группе этот показатель был ниже на 2,2% (табл.4). Содержание липидов в теле личинок опытной группы в сравнении с контрольной было выше на 1,6%.

Было замечено, что в опытной группе личинки отличались активным поведением, лучше потребляли комбикорм и опережали в росте личинок контрольной группы.

Таблица 4

Общий химический состав личинок русского осетра после перехода на активное питание

Показатели	Опытная группа	Контрольная группа
Влага, %	76,4±2,9	74,7±3,3
Сухое вещество, %	23,6±1,3	25,9±1,1
Протеин	58,8±0,7*	56,6±0,5
Липиды	28,9±0,8	27,3±0,8
Углеводы	5,1±0,6	6,8±0,7
Зола	7,2±0,5*	9,3±0,6

Примечание: различия достоверны при *P<0,05

При выращивании молоди русского осетра лучшие показатели роста и выживаемости были отмечены в опытном варианте (табл.5). Через 40 суток масса молоди составила 4,3 г, что выше на 17% контроля.

Таблица 5

Показатели выращивания молоди русского осетра

Показатели	Опытная группа	Контрольная группа
Масса начальная, г	0,54±0,04	0,58±0,04
Масса конечная, г	4,30±0,10*	3,55±0,11
Выживаемость молоди, %	95	90
Абсолютный прирост, г	3,76	2,97
Среднесуточный прирост, %	5,32	4,63
Коэффициент массонакопления, ед.	0,06	0,05
Период выращивания, сут.	40	40

Примечание: * - различия достоверны при P<0,001

Исследования общего биохимического состава молоди русского осетра показали более высокое количество белка в теле рыб опытной группы (табл.6).

В этом варианте содержание белка в теле составило 65,9% (на 2,4% выше, чем в контроле), что свидетельствует о хорошем физиологическом состоянии выращенной молоди.

Таблица 6

Биохимический состав молоди русского осетра

Показатели	Опытная группа	Контрольная группа
Влага, %	73,7±0,5*	76,0±0,5
Сухое вещество, %	26,3±0,5*	24,0±0,6
Протеин	65,9±0,6*	63,5±0,9
Липиды	20,0±0,8	19,7±0,6
Углеводы	6,0±0,3**	8,0±0,3
Зола	8,1±0,4	8,8±0,5

Примечание: различия достоверны при *P<0,01; **P<0,001

Пример 2

Инъекции цианокобаламином проводили самкам стерляди, содержащимся в бассейнах Береговой научно-экспедиционной базы «Кагальник» Южного научного центра РАН (Ростовская область) за месяц до получения половых продуктов без нарушения технологического процесса. Инъекции делали двукратно с интервалом 7 суток. Самки были разделены на опытную группу и контрольную, которая не инъецировалась.

Процент созревания самок в опытной группе составил 84%, в контрольной - 77%, оплодотворение икры в опыте - 85%, в контроле ниже на 15% (табл.7).

При дальнейшем наблюдении выявили повышение процента нормально развивающейся икры на стадии маленькой желточной пробки (17 ст.) в опытной группе на 16%, на стадии вылупления эмбрионов из оболочек (36 ст.) - на 20% по сравнению с контрольной группой.

15

Таблица 7
Показатели самок стерляди, инъецированных цианокобаламином

Показатели	Опытная группа	Контрольная группа
Масса, кг	1,2±0,1	1,1±0,1
Созревание, %	84	77
Кол-во самок, давших доброкачественную икру, %	84	70
Оплодотворение икры (5 ст.), %	85	70
Развитие икры (17 ст.), %	80	64
Выход эмбрионов (36 ст.), %	77	57

20

25 После сравнительного изучения и анализа эффективности применения цианокобаламина для повышения рыбоводного качества производителей необходимо было выяснить его влияние на общий химический состав икры, поскольку он может оказывать значительное влияние как на оплодотворяемость икры, так и на выживаемость зародышей и их дальнейшее развитие. Биохимический анализ показал (табл.8), что икра опытной группы отличалась более высоким содержанием протеина (на 1,9%) и липидов (на 1,8%).

30

35

Таблица 8
Биохимический состав икры стерляди

Показатели	Опыт	Контроль
Влага, %	47,5±0,5*	51,6±1,0
Сухое вещество, %	52,5±0,8**	48,4±1,1
Протеин	57,8±0,7	55,9±0,7
Липиды	35,6±0,3***	33,8±0,2
Углеводы	2,8±0,6*	4,9±0,8
Зола	3,8±0,5	5,4±0,2

40

Примечание: различия достоверны при * P<0,05; ** P<0,01; *** P<0,001

В период эмбрионального развития определяли процент нормально развивающихся зародышей. За время инкубации в опытном варианте было отмечено снижение процента нарушений в развитии на 7,1% (табл.9).

45

Во время просмотра проб в эмбриогенезе встречались различные нарушения в развитии эмбрионов. В частности, ооциты с беспорядочным дроблением, у которых борозды закладывались не одновременно, большая область в ооците совсем не дробилась. Границ клеток практически не было видно, а зародыш приобрел белесую с разводами (мраморную) окраску. Такие эмбрионы никогда не переходят к гастрულიции и медленно отмирают.

50

		Таблица 9 Нарушения в развитии эмбрионов, %	
Вид нарушений	Опыт	Контроль	
Процесс дробления	2,2±0,40**	4,0±0,32	
Закрытие бластопора	1,0±0,30	1,6±0,17	
Недоразвитие передних отделов головы	2,6±0,25***	5,6±0,48	
Искривленное тело	3,5±0,62*	5,2±0,54	
Примечание: различия достоверны при * P<0,05; ** P<0,01; *** P<0,001			

Другой вид нарушения в развитии - недоразвитие борозд дробления, появление
лишних борозд. Например, эмбрионы, у которых пять бластомеров вместо четырех.
Встречались также яйца с выделившимся в центре бластомером. Кроме того,
некоторые борозды дробления на концах имели раздвоения в виде вилочек. Это, в
свою очередь, приводит к тому, что бластомеры не участвуют в дальнейшем развитии.
Процент нарушений процесса дробления в опытной группе составил 2,2%, что почти
в 2 раза ниже, чем в контрольной.

Во время инкубации икры русского осетра нарушения процесса гастрюляции
выражались в увеличении размера желточной пробки по сравнению с нормально
развивающимися икринками (в опыте - 1,0%, в контроле - 1,6%), обрастание темных
вегетативных клеток задерживается и зародыш переходит к следующему периоду,
сохраняя желточную пробку значительного размера. В дальнейшем у него будут
наблюдаться те или иные нарушения строения.

При исследовании проб икры на стадиях после гастрюляции наблюдали
неправильное строение головы (в опыте - 2,6%, в контроле - 5,6%), отмечали
неправильную форму желточного мешка и отсутствие переднего отдела тела
(единичные эмбрионы).

На стадии предличинки были обнаружены нарушения в строении тела. Среди них
нарушения пропорций тела, развитие искривлений, укорачивание усиков, жаберных
крышек. В основном встречались предличинки с искривленным телом (в опыте - 3,5%,
в контроле - 5,2%).

Все вышеописанные нарушения могут быть следствием неправильного созревания
ооцитов, приводящего к снижению качества икры и впоследствии к развитию
аномалий у эмбриона (Детлаф и др., 1981).

Результаты исследований развития стерляди в эмбриональном периоде
свидетельствуют о повышении резистентности развивающихся эмбрионов и
эффективности применения инъекций витамина В₁₂ в период преднерестового
содержания производителей.

Таким образом, введение витамина В₁₂ (цианокобаламина) производителям в
преднерестовый период приводит к повышению качества половых продуктов и
потомства осетровых рыб.

Источники информации, принятые во внимание

1. Патент РФ №2233083, 27.04.2004, Бюл. №21.
2. Детлаф Т.А., Гинзбург А.С., Шмальгаузен О.И. Развитие осетровых рыб
(Созревание яиц, оплодотворение, развитие зародышей и предличинки). - М.:
Наука, 1981. - 234 с.

3. Международный симпозиум «Ресурсосберегающие технологии в аквакультуре»:
Тезисы докладов. Октябрь, 21-24, metricconverterProductID, 1996 г. Адлер, Россия/ АО
«Краснодаррыба», КрасНИРХ. - Краснодар, 1996. - С.80 (прототип).

Формула изобретения

Способ повышения качества половых продуктов и потомства осетровых рыб, включающий использование биологически активных веществ, отличающийся тем, что используют препарат витамина В₁₂ - цианокобаламина, при этом витаминную стимуляцию производителей осетровых осуществляют путем внутримышечных инъекций препаратом витамина В₁₂ за месяц до нереста двукратно с интервалом 7 сут при норме введения витамина 50 мкг/кг массы тела.

10

15

20

25

30

35

40

45

50