



**ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ**

**(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ**(21)(22) Заявка: **2010142589/13**, **18.10.2010**(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
**18.10.2010**

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: **18.10.2010**(43) Дата публикации заявки: **27.04.2012** Бюл. № 12(45) Опубликовано: **10.09.2012** Бюл. № 25(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: **RU 2399201 C1**, **20.09.2010**. **RU 2317703 C1**, **27.02.2008**. **АВИЛОВ А.И.,**  
**РЕШЕТНИКОВА Н.М., КОМБАРОВА**  
**Н.А., ОСАДЧАЯ О.Ю. Актуальные**  
**проблемы биологии и воспроизводства, 2007.**

Адрес для переписки:

**414025, г.Астрахань, ул. Татищева, 16,**  
**корп.3, кв.40, А.М.Тихомирову**

(72) Автор(ы):

**Тихомиров Андрей Михайлович (RU)**

(73) Патентообладатель(и):

**Тихомиров Андрей Михайлович (RU)****(54) СПОСОБ КРИОКОНСЕРВАЦИИ ЯЙЦЕКЛЕТОК ОСЕТРОВЫХ РЫБ**

(57) Реферат:

Изобретение относится к рыбной промышленности и может использоваться при искусственном воспроизводстве ценных видов рыб, в частности осетровых. Способ криоконсервации яйцеклеток осетровых рыб заключается в обработке протекторными растворами, эквilibрации, замораживании, оттаивании. Эквilibрацию осуществляют в течение 1,5 часов при температуре 14-18°C, а в качестве протектора используют смесь

подсолнечного масла и рыбьего жира в соотношении 1:1 при скорости замораживания 1500°C/мин. Оттаивание образцов осуществляют в дистиллированной воде при температуре 42-45°C в течение 45-75 секунд до достижения жидкой фракции. Использование заявленного изобретения позволит повысить качество дефростированных яйцеклеток осетровых рыб, а также создать криобанки с образцами генетического материала. 1 табл., 1 пр.

RU 2 460 284 C2

RU 2 460 284 C2



FEDERAL SERVICE  
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

**(12) ABSTRACT OF INVENTION**

(21)(22) Application: **2010142589/13, 18.10.2010**

(24) Effective date for property rights:  
**18.10.2010**

Priority:

(22) Date of filing: **18.10.2010**

(43) Application published: **27.04.2012 Bull. 12**

(45) Date of publication: **10.09.2012 Bull. 25**

Mail address:

**414025, g.Astrakhan', ul. Tatishcheva, 16,  
korp.3, kv.40, A.M.Tikhomirovu**

(72) Inventor(s):

**Tikhomirov Andrej Mikhajlovich (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Tikhomirov Andrej Mikhajlovich (RU)**

**(54) METHOD OF CRYOPRESERVATION OF STURGEON EGGS**

(57) Abstract:

FIELD: agriculture.

SUBSTANCE: invention relates to the fishing industry and can be used in the artificial reproduction of valuable species of fish, particularly sturgeon. The method of cryopreservation of eggs of sturgeon lays in treatment with protective solutions, equilibration, freezing, thawing. Equilibration is carried out for 1.5 hours a temperature of 14-18° C, and as a protector, a

mixture of sunflower oil and fish oil is used in the ratio 1:1 at a freeze rate of 1500°C/min. Thawing of the samples is carried out in distilled water at a temperature of 42-45°C for 45-75 seconds until the liquid fraction.

EFFECT: use of the claimed invention enables to improve the quality of defrosted eggs of sturgeon, as well as to create cryobanks with samples of genetic material.

1 tbl, 1 ex

R U 2 4 6 0 2 8 4 C 2

R U 2 4 6 0 2 8 4 C 2

Изобретение относится к рыбной промышленности и может использоваться при искусственном воспроизводстве ценных видов рыб, в частности осетровых, а также для создания криобанков с образцами генетического материала.

Известен способ замораживания ооцитов и эмбрионов крупного рогатого скота (см. ст. Троицкий П.А. Замораживание ооцит-кумулясных комплексов коров в витрификационном растворе с различной концентрацией криопротекторов. //Сб. ВИЖ «Актуальные проблемы биологии и воспроизводства», Дубовицы Быково, 2007. - С.122-124).

Однако этот способ не обеспечивает высокой выживаемости яйцеклеток осетровых рыб, так как предусматривает использование протекторов, содержащих большее количество воды, которое не приемлемо для ооцитов рыб.

Прототип предлагаемого способа не выявлен.

Техническая задача - создание способа криоконсервации яйцеклеток осетровых рыб, обеспечивающего выживаемость половых клеток после двойного температурного шока.

Технический результат - повышение качества дефростированных яйцеклеток осетровых рыб.

Он достигается тем, что в качестве протекторов используют смесь подсолнечного масла и рыбьего жира в соотношении 1:1 при скорости замораживания 1500°С, оттаивание образцов осуществляют в дистиллированной воде при температуре 42-45°С в течение 45-75 секунд до достижения жидкой фракции.

Использование смеси подсолнечного масла и рыбьего жира в соотношении 1:1 обеспечивает выживаемость дефростированных яйцеклеток рыб. Икринки с овариальной жидкостью обволакиваются смесью масел, предохраняя ее от действия воды, которая запускает дробление икры и делает процесс криоконсервации невозможным.

Скорость замораживания также имеет определяющее значение. Ступенчатые методы замораживания в данном случае не оказывают защитного действия на клетки. Поэтому использовали сверхвысокие скорости заморозки - 1500°С/мин.

Способ криоконсервации яйцеклеток осетровых рыб осуществляется следующим образом.

Пример 1. Работы по криоконсервации яйцеклеток осетровых рыб проводили в Отделе аквакультуры и водных биоресурсов Южного научного центра РАН. Биологический материал заготавливали на осетровых рыбоводных заводах Астраханской области (Сергиевский, Житнинский, Александровский). Объектом исследований служила неоплодотворенная икра белуги, русского осетра, стерляди и бестера.

Перед началом работ всю необходимую посуду, икру, протекторы охлаждали до температуры 10-15°С. К охлажденной икре добавляли протекторную среду в соотношении 1:1. Процесс эквilibрации продолжался в течение 1,5 часов при температуре 14-18°С.

Замораживание проводили в ампулах Эпендорфа, объемом 1,5 и 2 мл. Количество икринок в ампуле в зависимости от вида рыб составляло от 40 до 60 шт.

Оттаивание образцов осуществляли в дистиллированной воде при температуре 42-45°С. Время отогрева до достижения жидкой фракции составляло 45-75 секунд.

Для осуществления контроля за выживаемостью яйцеклеток после оттаивания икринки отмывали в естественной воде при нерестовых температурах (14-18°С) и оплодотворяли спермой. Оплодотворение осуществляли в чашках Петри. Количество

спермы рассчитывали в соответствии с рыбоводными нормативами, время оплодотворения - не более 5 минут. После оплодотворения икру не обесклеивали (методика Коханской Е.М., 1980), что удобно при экспериментировании на малых количествах материала, и через 15 минут (после появления клейкости) регистрировали количество приклеенных к дну чашки Петри икринок в процентах.

В качестве контрольного образца использовали икру от тех же особей, при аналогичных манипуляциях без обработки смесью жиров. Всего реализовано по 10 опытов на икре белуги, русского осетра, стерляди и бестера. Результаты опытов представлены в таблице 1.

Таблица 1		
Результаты криоконсервации спермы осетровых рыб с применением нового способа		
Вид рыб	Выживаемость икринок, %	
	контроль	опыт
Белуга	0	85
Русский осетр	0	75
Стерлядь	0	86
Бестер (гибрид первого поколения)	0	50

В результате использования нового способа криоконсервации яйцеклеток осетровых рыб удалось получить от 50 до 85% живых дефростированных клеток.

#### Формула изобретения

Способ криоконсервации яйцеклеток осетровых рыб, включающий обработку протекторными растворами, эквilibрацию, замораживание, оттаивание, отличающийся тем, что эквilibрацию осуществляют в течение 1,5 ч при температуре 14-18°C, а в качестве протектора используют смесь подсолнечного масла и рыбьего жира в соотношении 1:1 при скорости замораживания 1500°C/мин, оттаивание образцов осуществляют в дистиллированной воде при температуре 42-45°C в течение 45-75 с до достижения жидкой фракции.