



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

## (12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2012146207/13, 29.10.2012

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
29.10.2012

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 29.10.2012

(45) Опубликовано: 10.06.2014 Бюл. № 16

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: Чебанов М.С.и др., Руководство по разведению и выращиванию осетровых рыб. - М.: ФГНУ "Росинформагротех", 2004. - стр.83-102. RU2203541C1, 10.05.2003. RU2496312C1, 27.10.2013

Адрес для переписки:

344006, г.Ростов-на-Дону, пр. Чехова, 41, ФГБУН  
Южный научный центр Российской академии  
наук

(72) Автор(ы):

Пономарева Елена Николаевна (RU),  
Сорокина Марина Николаевна (RU),  
Григорьев Вадим Алексеевич (RU),  
Ковалева Анжелика Вячиславовна (RU),  
Белая Мария Михайловна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное бюджетное  
учреждение науки Южный научный центр  
Российской академии наук (RU)

## (54) СПОСОБ СОЗДАНИЯ РЕПРОДУКТИВНЫХ МАТОЧНЫХ СТАД ОСЕТРОВЫХ РЫБ

(57) Реферат:

Изобретение относится к области рыбоводства. Способ предусматривает формирование ремонтно-маточного стада путем выращивания с ранних этапов онтогенеза из партии донорского рыбопосадочного материала, завезенного в различное время, а также из зрелых и близких к созреванию рыб, отловленных в естественных водоемах. Создают репродуктивные маточные стада осетровых рыб с полным обновлением производителей за 4 года, с

ежегодной заменой 25% производителей. Для замены используют завезенных производителей - 10%, полученных из молоди собственного стада - 10% и полученных от самок собственного стада и дефростированных репродуктивных клеток самцов из криобанка - 5%. Изобретение обеспечивает формирование высокопродуктивного маточного стада и повышение уровня гетерогенности продукционных стад. 1 пр., 3 табл.



FEDERAL SERVICE  
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**(21)(22) Application: **2012146207/13, 29.10.2012**(24) Effective date for property rights:  
**29.10.2012**

Priority:

(22) Date of filing: **29.10.2012**(45) Date of publication: **10.06.2014** Bull. № 16

Mail address:

**344006, g.Rostov-na-Donu, pr. Chekhova, 41,  
FGBUN Juzhnyj nauchnyj tsentr Rossijskoj  
akademii nauk**

(72) Inventor(s):

**Ponomareva Elena Nikolaevna (RU),  
Sorokina Marina Nikolaevna (RU),  
Grigor'ev Vadim Alekseevich (RU),  
Kovaleva Anzhelika Vjachislavovna (RU),  
Belaja Marija Mihajlovna (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Federal'noe gosudarstvennoe bjudzhetnoe  
uchrezhdenie nauki Juzhnyj nauchnyj tsentr  
Rossijskoj akademii nauk (RU)**

(54) **METHOD OF CREATION OF REPRODUCTIVE BROODSTOCKS OF STURGEONS**

(57) Abstract:

FIELD: agriculture.

SUBSTANCE: method comprises formation of rearing broodstock by growing from the early stages of ontogenesis from the batch of donor stocking material imported at different time, as well as mature and close to the maturation fish caught in natural water reservoirs. The reproductive broodstocks of sturgeons are created with complete renewal of breeders for 4 years, with an annual replacement of 25% of breeders. For replacement

the imported breeders - 10% are used, the ones taken from juvenile of the own population - 10%, and taken from females of the own population and defrosted male reproductive cells from the cryobank - 5%.

EFFECT: formation of highly productive broodstock and increasing the level of heterogeneity of production populations.

1 ex, 3 tbl

Предлагаемое изобретение относится к области рыбоводства, в частности к формированию репродуктивных маточных стад осетровых рыб в искусственных условиях.

Известен способ выращивания маточных осетровых рыб с неоднократным получением икры в условиях неволи (см. патент РФ №2203541, 2002 г.), включающий выращивание и межнерестовый нагул маточных осетровых рыб, содержащихся при температуре 15-28°C в течение 120-180 суток с последующим понижением температуры воды в периоде адаптации длительностью от 2 до 15 суток до рабочей температуры из диапазона 4-12°C, соответствующего второму основному периоду рыбоводного процесса - выдерживанию в течение 30-60 суток. В преднерестовый период и при получении икры рабочую температуру воды устанавливают в диапазоне 12-20°C на 1-2 суток. При этом в рыбоводном процессе применяют один или два периода адаптации с повышением температуры. В зависимости от вида осетровой рыбы температуру воды в них повышают в течение 2-15 суток с рабочей температуры, соответствующей выдерживанию рыбы во втором основном периоде, до рабочей температуры воды, соответствующей ее содержанию в третьем основном периоде, и/или с рабочей температуры в третьем основном периоде до рабочей температуры воды в первом основном периоде. Изобретение позволяет осуществлять разведение рыб осетровых пород вне зависимости от природных климатических условий и сезонности в любых условиях, в том числе городских. Однако в данном способе не используется генетический материал самцов, сохраненный в условиях низких температур (генетический криобанк).

Наиболее близким по сути является способ формирования ремонтно-маточных стад осетровых рыб (см. кн. Чебанов М.С., Галич Е.В., Чмырь Ю.Н. Руководство по разведению и выращиванию осетровых рыб. - М.: ФГНУ «Росинформагротех», 2004. - стр.83-102), включающий формирование на рыбоводном предприятии ремонтно-маточного стада путем выращивания с ранних этапов онтогенеза из партии донорского рыбопосадочного материала, завезенного в различное время, а также из зрелых и близких к созреванию рыб, отловленных в естественных водоемах.

Недостатком способа является то, что в нем не осуществляется полная смена производителей, необходимая при снижении репродуктивных качеств за 4 года, что соответствует 6-8 половым циклам.

Техническая задача - разработка способа создания репродуктивных маточных стад осетровых рыб в установках замкнутого водообеспечения (УЗВ) с использованием линий разновозрастных генераций производителей собственного стада и полученного от них потомства, завезенных производителей из рыбоводных хозяйств и биологического материала, накопленного в криобанке.

Технический результат - формирование высокопродуктивного маточного стада и повышение уровня гетерогенности продукционных стад.

Он достигается тем, что в известном способе создают репродуктивные маточные стада осетровых рыб с полным обновлением производителей за 4 года, сформированные из молоди и производителей естественной генерации, с ежегодной заменой 25% производителей, из которых завезенных производителей - 10%, производителей, полученных из молоди собственного стада, - 10% и производителей, полученных от самок собственного стада и криоконсервированных репродуктивных клеток самцов из криобанка, - 5%.

Формирование маточного стада на примере стерляди проводили из рыб, имеющих разное происхождение, для исключения близкородственного скрещивания в установке замкнутого водообеспечения (см. патент РФ №1 18169 2012 г.). Исходным материалом

для получения сформированного продукционного стада служила молодежь и производители, завезенные из рыбоводных хозяйств и выловленные из естественных водоемов. Из групп рыб путем отбора по экстерьерным и репродуктивным показателям формировали собственное репродуктивное стадо с соотношением полов, близким к 1:1. Получение икры проводили по методу С.Б. Подушка (см. АС СССР №1412035, 1986 г.), спермы - методом отцеживания. Осеменение икры нативной и криоконсервированной спермой проводили по общепринятой методике (см. кн. Иванов А.П. Рыбоводство в естественных водоемах. - М.: Агропромиздат, 1988. - 367 с.), 95% полученной репродуктивной икры оплодотворяли спермой самцов собственного стада, 5% - с учетом расчета пополнения маточного стада, используя дефростированную сперму из криобанка для обеспечения гетерогенности маточного стада. Это обеспечивает уровень коэффициента инбридинга 0,048, рассчитанный по упрощенной формуле (См. Кирпичников В.С. Генетика и селекция рыб. - Л.: Наука, 1987. - 520 с.), что максимально приближено к природным локальным популяциям.

Для формирования репродуктивного стада проводили два этапа отбора: первый - молоди в возрасте 1,0-1,5 месяца, второй - в возрасте 1,5 года. Исходное количество молоди в период первого отбора по экстерьерным признакам составило 23000 шт., после отбора получили 1500 шт. молоди. При этом коэффициент напряженности отбора, рассчитанный по формуле  $V=n/N \cdot 100$  (см. Савостьянова Г.Г. Методические указания по проведению селекционно-племенной работы в форелеводстве. - Л., ГосНИОРХ, 1974. - 16 с.), где  $n$  - количество отобранных особей,  $N$  - исходное количество особей, составил 6,5. На втором этапе отбора рыб по экстерьерным и репродуктивным показателям исходное количество особей составило 1500 шт. при коэффициенте напряженности отбора 10, количество рыб после отбора составило 150 шт.

Схема формирования репродуктивного стада осетровых рыб на примере стерляди представлена в табл.1.

Полную смену производителей проводили за 4 года, что исключало снижение репродуктивных качеств, которое происходит после 6-8 половых циклов. Качество производителей оценивали по рыбоводно-биологическим показателям самок и самцов.

Пример 1 конкретного осуществления способа.

Маточное стадо стерляди формировали из групп рыб разного происхождения из рыбоводных хозяйств юга России.

Исходным материалом для получения сформированного продукционного стада послужила молодежь стерляди генерации 2005 года, а также завезенные в 2006, 2008 годах производители генераций 2002, 2004 года, имевшие естественное происхождение и выращенные в искусственных условиях. Из этих начальных групп рыб путем отбора по экстерьерным и репродуктивным показателям в 2008 году сформировали собственное репродуктивное стадо в количестве 105 особей с соотношением полов близким 1:1. Масса самок в среднем составила 1,5 кг, относительная плодовитость - 16,73 тыс.шт., количество использованных самок - 55 шт., таким образом, количество полученной икры составило 966157 шт., 95% полученной репродуктивной икры (917849 шт.) оплодотворяли спермой самцов собственного стада, вторую часть 5% (57987 шт.) - дефростированной спермой из криобанка.

Для получения высокого процента оплодотворения криоконсервированной спермой ее количество должно быть увеличено в 4 раза с учетом технологии выведения криопротектора, так как выживаемость дефростированной спермы составляет от 30 до 60% (см. Богатырева М.М. Оптимизация методов криоконсервации спермы для сохранения генофонда осетровых рыб // Автореф. дис. ... канд. биол. наук по спец-ти

03.02.06 «Ихтиология». - Астрахань, 2010. - С.14).

Оплодотворение икры криоконсервированной спермой составило 80%, нативной - 90%. Процесс инкубации продолжался 6 суток. Вылупление предличинок, полученных от криоконсервированной спермы, начиналось на час раньше и составило 60%.

5 Выживаемость личинок от нативной спермы составила 75% от заложенной на инкубацию икры.

На пятые сутки после вылупления предличинки начали переходить на смешанное питание. Морфометрические показатели предличинок представлены в табл.2.

10 За период выдерживания предличинки исследуемых партий незначительно отличались по морфометрическим показателям. После перехода на активное питание в период подращивания в течение 10 суток отход составил в первой группе 9,6%, во второй - 7,2%.

15 При проведении работ не установлено достоверных различий по морфометрическим показателям молоди, полученной от криоконсервированной и нативной спермы, что указывает на целесообразность использования криоконсервированной спермы для искусственного оплодотворения.

20 Для ежегодной замены 25% производителей собственного репродуктивного стада, составляющего 105 особей обоих полов, необходимо: 10 производителей, завезенных со сторонних рыбоводных хозяйств, 10 производителей, выращенных от собственного потомства, 5 производителей, полученных от самок собственного стада с использованием дефростированной спермы, накопленной в криобанке за несколько лет.

25 Общую численность заменяемых производителей в маточном стаде определяли исходя из количества производителей, подлежащих ежегодной замене при их использовании в течение 4-х лет, ежегодное пополнение стада составило 25%. Для получения 15 производителей для обновления репродуктивного стада было отобрано 1500 шт. молоди возрастом 1,5 месяца (масса 3-4 г), на втором этапе отбора - 150 шт. особей возрастом 1,5 года (масса 650-800 г). Для получения данного количества рыб с учетом выживаемости на всех этапах биотехнологического процесса нами было

30 использовано 149772 шт. репродуктивной икры.

Всех отбракованных особей с удовлетворительными рыбоводными показателями оставляли для выращивания с целью получения пищевой икры с дальнейшей отбраковкой самцов.

35 Качество производителей оценивали по рыбоводно-биологическим показателям самок и самцов (табл.3). Маточное стадо стерляди, сформированное методом отбора по репродуктивным показателям, имело высокие биологические характеристики.

Из табл.3 видно, что рабочая плодовитость самок составила 28,2 тыс.шт., относительная - 18,7 тыс.шт./кг. Объем эякулята у самцов в среднем был 28,2 мл.

40 Межнерестовый интервал у самок составил от 7,5 до 9,0 месяцев, самцов от 6,5 до 8,5 месяцев.

Для оценки функционального состояния производителей стерляди провели анализ физиолого-биохимических показателей крови (табл.4). Они соответствовали биологической норме: концентрация гемоглобина у стерляди составила в среднем 63,6 г/л, скорость оседания эритроцитов (СОЭ) -3,4 мм/ч, концентрация сывороточного

45 белка - 25,16 г/л, уровень общих липидов в сыворотке крови - 3,08 г/л.

Таким образом, оценка физиологического состояния стерляди, выращиваемой в условиях замкнутого водоснабжения, показала, что в основном исследованные параметры крови рыб соответствовали биологической норме для особей данных

возрастов, что является подтверждением создания благоприятных условий для длительного содержания ремонта и производителей осетровых рыб в установке замкнутого водоснабжения.

5 Ежегодное использование долгосрочно хранившихся в жидком азоте репродуктивных клеток самцов из криобанка дает возможность применения высококачественной спермы в любое время, исключения риска несвоевременного созревания рыб и использования большего числа самок в репродуктивных целях.

10 При ежегодной замене 25% репродуктивного стада осетровых рыб, сформированного из молоди и производителей естественной генерации, полное его обновление происходит за 4 года. Стадо пополняется производителями, завезенными и полученными из молоди собственного стада, а также производителями, полученными от самок собственного стада и криоконсервированных репродуктивных клеток самцов из банка, поэтому оно отличается высокой гетерогенностью с низким коэффициентом инбридинга - 0,0048. Таким образом, для обеспечения данного уровня гетерогенности собственного  
15 репродуктивного стада необходимо ежегодное пополнение генофонда на 15%. Данное количество (15%) рыб, вводимое в репродуктивное стадо, состоящее из 5% самок, полученных с использованием криоконсервированной спермы, и 10% самок, завезенных с других хозяйств, обеспечивает уровень коэффициента инбридинга 0,0048 и максимально приближено к природным локальным популяциям. Расчет коэффициента инбридинга  
20 проводят по упрощенной формуле (См. Кирпичников В.С. Генетика и селекция рыб. - Л.: Наука, 1987. - 520 с.):

$F=1/2N_e$ , где  $N_e$  - эффективная величина стада.

25 Формирование репродуктивного стада с коротким межнерестовым интервалом достигается за счет регулирования параметров водной среды в зарегулированных условиях. При стабилизации гидрологических условий среды (оптимальная температура 20-21,5°C, кислород 7-7,6 мг/л, скорость течения 0,2-0,5 м/с) увеличивается интенсивность генеративного обмена стерляди в 1,8-2 раза, что позволяет самцам стерляди достигать зрелости за 21-26 месяцев, самкам - за 26-31 месяц.

30 Таким образом, ежегодная замена 25% производителей и полное их обновление за 4 года, позволяет создать высокопродуктивное маточное стадо и повысить уровень гетерогенности продукционного стада.

35 Формирование репродуктивных маточных стад осетровых видов рыб и наличие криобанка спермы позволяет обеспечить сохранение генофонда, а также создание страхового фонда в случае выпуска молоди в естественные водоемы.

Табл.1

Схема формирования репродуктивного стада осетровых рыб на примере стерляди

40

45



Табл.2

Морфометрические показатели предличинки стерляди

Показатели	Массовый выклев		Переход на смешанное питание	
	1	2	1	2
Масса, мг	12,21±1,04	12,50±0,25	18,6±1,64	20,8±1,20
Длина, мм	8,30±0,21	8,73±0,19	12,07±0,44	12,61±1,43

Примечание: 1 - предличинки от нативной спермы, 2 - предличинки от криоконсервированной спермы

Табл.3

Рыбоводно-биологические показатели самок и самцов

		самки		самцы			
масса, кг	длина, см	плодовитость		масса, кг	длина, см	объем эякулята, мл	относительный объем эякулята, мл/кг массы
		рабочая, тыс.шт	относительная тыс.шт/кг				
1,5±0,2	65,7±1,6	28,2±1,5	18,7±1,7	1,4±0,1	63,7±1,6	28,2±1,9	20,8±1,7

Табл.4

Физиолого-биохимические показатели крови стерляди

№	Гемоглобин, г/л	СОЭ, мм/час	Общий сывороточный белок, г/л	Холестерин, ммоль/л	Общие липиды, г/л
M±m	63,6±1,72	3,4±0,81	25,16±3,52	2,28±0,46	3,08±0,39
σ	3,85	1,82	7,88	1,02	0,88
CV%	6,049	53,43	31,304	44,96	28,56

**Источники информации**

1. Патент РФ №2203541, 2002 г.
2. Чебанов М.С., Галич Е.В., Чмырь Ю.Н. Руководство по разведению и выращиванию осетровых рыб. - М.: ФГНУ «Росинформагротех», 2004. - С.83-102.

3. Патент РФ №118169, 2012 г.

4. АС СССР №1412035, 1986 г.

5. Иванов А.П. Рыбоводство в естественных водоемах. - М.: Агропромиздат, 1988. - 367 с.

6. Кирпичников В.С. Генетика и селекция рыб. - Л.: Наука, 1987. - 520 с.

7. Савостьянова Г.Г. Методические указания по проведению селекционно-племенной работы в форелеводстве. - Л., ГосНИОРХ, 1974. - 16 с.

8. Богатырева М.М. Оптимизация методов криоконсервации спермы для сохранения генофонда осетровых рыб // Автореф. дис. канд. биол. наук по спец-ти 03.02.06 «Ихтиология». Астрахань, 2010. - С.14.

#### Формула изобретения

Способ создания репродуктивных маточных стад осетровых рыб, включающий формирование ремонтно-маточного стада путем выращивания с ранних этапов онтогенеза из партии донорского рыбопосадочного материала, завезенного в различное время, а также из зрелых и близких к созреванию рыб, отловленных в естественных водоемах, отличающийся тем, что создают репродуктивные маточные стада осетровых рыб с полным обновлением производителей за 4 года, с ежегодной заменой 25% производителей: завезенных - 10%, полученных из молоди собственного стада - 10% и полученных от самок собственного стада и дефростированных репродуктивных клеток самцов из криобанка - 5%.

25

30

35

40

45