



УКРАЇНА

(19) UA (11) 50896 (13) U
(51) МПК (2009)
A01K 61/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ КРІОКОНСЕРВАЦІЇ СПЕРМИ АМЕРИКАНСЬКОГО ВЕСЛОНОСА

1

2

(21) u200913835

(22) 29.12.2009

(24) 25.06.2010

(46) 25.06.2010, Бюл.№ 12, 2010 р.

(72) ГРИЦИНЯК ІГОР ІВАНОВИЧ, ГРИНЖЕВСЬКИЙ МИКОЛА ВАСИЛЬОВИЧ, ЧЕРЕПНІН ВАЛЕНТИН ОЛЕКСАНДРОВИЧ, КОПЕЙКА ЄВГЕН ФЕДОРОВИЧ, ДРОКІН СЕРГІЙ ІВАНОВИЧ

(73) ІНСТИТУТ РИБНОГО ГОСПОДАРСТВА УКРАЇНСЬКОЇ АКАДЕМІЇ АГРАРНИХ НАУК

(57) Спосіб кріоконсервації сперми американського веслоноса, що передбачає введення у черевну порожнину самців американського веслоноса препарату для отримання сперми та розбавлення її класичним 74 мМ розчином Трис-НСІ-буфера, який

відрізняється тим, що як препарат вводять препарат "Овопель" в черевну порожнину перед першим черевним плавцем з розрахунку 0,65 гранули/кг, через 48 годин отримують сперму, яку розбавляють класичним 74мМ розчином Трис-НСІ-буфера з додаванням в нього 18,2% (за об'ємом) курячого жовтка та 18,2% (за об'ємом) ДМСО (диметилсульфоксиду), при цьому заморожування проводять у саморобних пакетах з алюмінієвої фольги ємністю 25мл за програмою: 1) в температурному діапазоні від +20°C до -15°C швидкість охолодження складає 2-3град./хв., 2) в температурному діапазоні від -15°C до -70°C швидкість охолодження складає 15град./хв., 3) перенесення ампул у рідкий азот.

Корисна модель належить до галузі рибної промисловості, зокрема до кріобіології, і може бути використана у рибництві при консервації сперми американського веслоноса.

В селекційній та племінній справі тваринництва (зокрема і рибництва) існує проблема збереження генофонду цінних видів тварин. Це питання вирішується двома шляхами - створенням колекційних стад і низькотемпературних банків сперми цінних видів.

В останні роки у світі були досягнуті значні успіхи в області кріоконсервування статевих продуктів та ембріонів тварин. В Україні об'єм подібних досліджень явно недостатній, особливо у рибництві. Щорічний відбір плідників риб для використання в штучному відтворенні обумовлює невизначеність відносно очікуваної кількості плідників кожної породи чи типу, їх виробничої якості, ступеню зрілості, тощо. Крім того, стислі строки проведення нерестової кампанії призводять до використання у процесі відтворення лише малої частки елітних плідників. Це негативно позначається на кількості та якості потомства, його генетичному різноманітті і, врешті решт, призводить до збіднення генофонду риб та прояву інбредної депресії.

Одним з заходів, направлених на збереження генофонду риб є створення кріобанку, в якому можна зберігати на протязі багатьох років замороже-

ні зразки генотипів елітних плідників. Створення кріобанку дозволить завчасно заготовляти і використовувати на протязі багатьох років кріоконсервовану сперму від плідників з унікальними генотипами і належними рибницькими якостями. Використання кріоконсервованого генетичного матеріалу дозволить значно підвищити економічну ефективність господарств - племінних заводів та репродукторів, знизити вплив інбредної депресії в локальних стадах елітних плідників, урізноманітнити й розширити роботи генетико-селекційного спрямування, що, безумовно, дозволить покращити генетичне різноманіття й рибницькі якості цінних риб вже найближчим часом. Крім того, збереження цінного генетичного матеріалу протягом тривалого часу, дасть змогу проводити роботи з підтримки природного біорізноманіття іхтіофауни України, відновлення популяцій цінних та зникаючих видів риб, таких, наприклад, як осетрові та лососеві.

Американський веслонос є представником осетроподібних риб, і, на відміну від інших осетрових, харчується планктоном як і товстолоб. Таким чином, використовуючи американського веслоноса разом або замість товстолоба в водоймах України можна отримувати цінну осетрову харчову ікру та м'ясо.

(19) UA (11) 50896 (13) U

Нажаль, американського веслоноса в нашу країну завозили більш ніж тридцять років тому. За цей час у стадах цих риб завдяки близькосторідним схрещуванням впав рівень гетерозиготності. Це може призвести до так званої інбредної депресії, яка проявляється у зниженні життєстійкості і низки рибогосподарських показників. Тому для так званого оживлення крові доцільно використовувати кріоконсервовану сперму, як найбільш практичний варіант для збереження і перевезення генетичного матеріалу.

Використання існуючого способу щодо американського веслоноса дозволяє отримувати 55-70% розморожених рухливих сперматозоїдів з часом активного поступального руху до 3 хвилин [Методическое пособие по кріоконсервации спермы карпа, лососевых и осетровых видов рыб. Государственный комитет Российской Федерации по рыболовству и Всероссийский научно-исследовательский институт прудового рыбного хозяйства, М., 1997. - 10с.]. Цей спосіб передбачає використання стимулюючих виділення сперми ін'єкцій водної суспензії ацетонованих гіпофізів заготовлених від коропа, ляща, сазана, карася. Для розбавлення сперми використовується розчин ДМСО і курячого жовтка приготований у Трис-НСІ-буфері. Недоліком даного прототипу є недостатньо високий вихід життєздатних спермій і малий час їх руху.

Зазначені недоліки усуваються запропонованим способом.

В основу корисної моделі поставлено задачу розробити спосіб кріоконсервації сперми американського веслоноса, який би забезпечив більший вихід життєздатних спермій і час їхнього руху.

Спосіб здійснюється наступним чином. Угорський препарат «Овопель» вводиться самцям американського веслоноса в черевну порожнину перед першим черевним плавцем з розрахунку 0,65г/гранули/кг. Через 48 годин отримується сперма високої якості. Рух майже 100% сперматозоїдів здійснюється протягом 10 хвилин.

Для розбавлення сперми використовується класичний 74мМ розчин Трис-НСІ-буфера для виготовлення на його основі розробленого нами розчину з 18,2% (за об'ємом) курячого жовтка та 18,2% (за об'ємом) ДМСО (диметилсульфоксиду). Цим розчином розбавляється сперма.

Заморожування проводиться у саморобних пакетах з алюмінієвої фольги ємністю 25мл кожен за класичною програмою:

1. В температурному діапазоні від +20°C до -15°C швидкість охолодження складала 2-3град/хв.
2. В температурному діапазоні від -15°C до -70°C швидкість охолодження складала 15рад/хв.
3. Перенесення ампул у рідкий азот.

Розморожування сперми проводять у воді при температурі 40°C протягом 45с. Для активації розмороженої сперми використовується ставова вода. 80-90% розморожених активованих сперматозоїдів зберігають поступальний прямолінійний рух протягом 7хв.

Наш доробок у даній розробці становить унікальну, теоретично і практично нову складову, яка, на відміну від зареєстрованих раніше різними авторами методик, полягає у використанні гонадотропного стимулятора «Овопель» у комбінації з розробленим нами кріозахисним розчином.