



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 96379

(13) C2

(51) МПК (2011.01)

A01G 33/00

A01H 13/00

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИОПИС  
ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД(54) СПОСІБ КУЛЬТИВУВАННЯ ЧОРНОМОРСЬКОЇ ЧЕРВОНОЇ ВОДОРОСТІ *GELIDIUM LATIFOLIUM* (GREV.) BORN. ET THUR. (RHODOPHYTA)

1

(21) а201008755

(22) 13.07.2010

(24) 25.10.2011

(46) 25.10.2011, Бюл. № 20, 2011 р.

(72) БЕЛЯЄВ БОРИС МИКОЛАЙОВИЧ

(73) ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ ПІВДЕННИХ МОРИВ ІМ.  
О.О. КОВАЛЕВСЬКОГО НАН УКРАЇНИ (ІНБПМ)

(56) UA42208A, 15.10.2001.

Беляев Б.Н. Скорость потребления биогенов при культивировании *Gelidium latifolium* (Grev.) Born. Et Thur. (Rhodophyta). Альгология. 2008. - Т. 18. - №3. - С. 256-263.

RU 95104643A1, 10.07.1996.

UA 94063376, 29.08.1997.

(57) Спосіб культивування чорноморської червоної водорості *Gelidium latifolium* (Grev.) Born. et Thur. (Rhodophyta), що передбачає циклічну технологію, що включає готування поживного середовища на основі фільтрованої чорноморської води, засів середовища фрагментами гелідіуму з початковою щільністю 2-2,5 кг/м<sup>2</sup>, прийоми стимулювання росту об'єкта й придушення епіфітів, вирощування при освітленості на поверхні води 18-20 клк, температурі поживного середовища 15-19 °С - у лю-

2

тому, березні й листопаді, 19-23 °С - у квітні, травні, вересні й жовтні й 23-27 °С - у літні місяці, барботування середовища стисненим повітрям, що забезпечує об'ємне обертання водоростей, підтримку рН середовища на рівні 7,9-8,2 шляхом додавання вуглекислоти з розрахунку 25-30 г на 1 кг водоростей у добу, потоку середовища, що забезпечує її повну або дворазову заміну в добу, що на початку циклу насичують біогенами у вигляді KNO<sub>3</sub> (або NaNO<sub>3</sub>) і KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>·3H<sub>2</sub>O (або NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>·3H<sub>2</sub>O), збільшуючи щодня норму відповідно до збільшення біомаси, збір урожаю й добір для наступних циклів найбільш чистих від обростань водоростей, який **відрізняється** тим, що спосіб включає фази «відпочинку» при температурі 10-12 °С і денної освітленості 0,2-0,5 клк, солоність чорноморської води доводять до 26 ‰ і вносять 4,8-7,2 мг/л азоту у вигляді KNO<sub>3</sub> з розрахунку 35-52 мг/л (або NaNO<sub>3</sub> - 29-44 мг/л), 0,8-1,2 мг/л, фосфору у вигляді KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>·3H<sub>2</sub>O з розрахунку 4,9-7,4 мг/л (або NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>·3H<sub>2</sub>O - 4,5-6,7 мг/л), а як стимулятор росту - 0,35-0,45 мг/л хелатованого заліза у вигляді FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O із розрахунку 1,68-2,16 мг/л, звареного разом з 13-17 мг/л Na<sub>2</sub>EDTA.Винахід належить до області аквакультури й може бути використаний при культивуванні чорноморської червоної агароносної водорості *Gelidium latifolium* (Grev.) Born. et Thur. у берегових системах інженерного типу.Відомий "Спосіб культивування чорноморської красної водорості *Gracilaria verrucosa* (Huds.) Papenf" (А.С.1634708СРСР:МКИ С12N 1/12, A01G33/00 / Б.Н. Беляев і ін. Оpubл. 15.03.91, Б. № 10), який використовує поживне середовище на основі чорноморської води, насиченої біогенами й мікроелементами у вигляді мінеральних солей. Однак пропонується технологія, щільності посадки об'єкта, рівень освітленості й концентрації азоту (0,83-1,11 мг/л), фосфору (0,24-0,33 мг/л) і заліза (0,031-0,042 мг/л), що підтримують розчинами солей у мг/л (KNO<sub>3</sub>·6-8; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>·3H<sub>2</sub>O - 1,5-2 і FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O - 0,15-0,20), не забезпечують при культивуванні *Gelidium latifolium* (Grev.) Born. et Thur.

очікуваного виходу біомаси з одиниці дзеркальної поверхні культиватора.

Відомий "Спосіб вирощування чорноморської червоної водорості *Laurencia papillosa* (Forsk) Grev." Пат. 42208A, UA, МПК C12N 1/12, A01G33/00 / Б.М. Беляев, І.К. Євстігнеєва; Оpubл. 15.10.01, Бюл. № 9), основу якого становить імпульсне харчування, при якому водорості щодня на 2-3 години поміщають у поживний розчин, збагачений біогенами, а вирощування ведуть у незбагаченому середовищі. Але такий спосіб непридатний для культивування гелідіуму, у якого відношення обсягів таломів, здатних запасати біогени, до площ їх поверхонь, через які здійснюється харчування, в 2-5 разів менше, ніж у лауренції.Відомий також "Спосіб культивування чорноморської червоної водорості *Gracilaria verrucosa* (Huds.) Papenf." (З. № 93007772 Україна: МПК A01G33/00 / Б.М. Беляев, Н.В. Міронова. Друк.

(13) C2

(11) 96379

(19) UA

30.10.97, Бюл. № 5- С. 2.3), виконаний при початковій об'ємній щільності завантаження не більше 5 г/л середовища, збагаченого азотом у вигляді солі  $\text{KNO}_3$  з розрахунку 20-22 мг/л і фосфором у вигляді солі  $\text{KH}_2\text{PO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  з розрахунку 2,8-3 мг/л, що передбачає режим безперервного освітлення протягом 58-65 годин на початку кожного тижневого циклу. Недоліком відомого способу є те, що концентрації азоту (2,8-3 мг/л) і фосфору (0,46-0,49 мг/л) з початковою об'ємною щільністю посадки 5 г/л не забезпечують адекватної продуктивності процесу культивування гелідіуму. Не сприяє цьому й технологічний прийом безперервного освітлення протягом 2-3 доби в тиждень, що порушує природний біоритм об'єкта.

Найбільш близьким до винаходу, що заявляється, є відомий "Спосіб культивування чорноморської червоної водорості *Gelidium latifolium* (Grev.) Born.et Thur." (З. № 94063376 Україна: МПК C12N 1/12 / Б.М. Беляев, В.А. Сілкін; Друк. 29.08.97, Бюл. № 4.- С. 2.52-2.53). Спосіб включає готування поживного середовища на основі фільтрованої чорноморської води солоністю 17,5-18 ‰, засівання середовища фрагментами гелідіуму, вирощування, що включає фази "відпочинку" тижневим циклом при контрольованих факторах середовища - освітленості на поверхні води 18-20 клк, безперервної в перші 58-86 годин з наступним відключенням у нічний час на 8 годин температурі поживного середовища 15-19 °С у лютому, березні й листопаді, 19-23 °С - у квітні, травні, вересні й жовтні і 23-27 °С - у літні місяці, барботуванні середовища стисненим повітрям, що забезпечує обертання водоростей, підтримці рН середовища на рівні 7,9-8,2 шляхом додавання вуглекислоти з розрахунку 25-30 г на 1 кг водоростей у добу, протоці середовища, що забезпечує його повну або дворазову заміну в добу, у яку на початку циклу завантажують водорості з розрахунку 2-2,5 кг/м<sup>2</sup>, а біогени - з розрахунку в мг на літр:  $\text{KNO}_3$ -20-22 (або  $\text{NaNO}_3$ -17-19) і  $\text{KH}_2\text{PO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  - 3-3,2 (або  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  - 2,8-3), збільшуючи щодня норму відповідно до збільшення біомаси, щоденному обсушуванню водоростей протягом 30-60 хвилин (або 1-2 години через 2-3 доби), збір урожаю й відбір для наступних циклів найбільш чистих від обростань водоростей.

Однак даний спосіб має ряд недоліків, що знижують вихід продукції з одиниці площі культиватора.

Досить трудомісткий прийом щоденного обсушування, пов'язаний з вилученням гелідіуму з поживного середовища веде по-перше, не тільки до механічного травмування об'єкта, але й пригнічуючи впливає на апикальні частини талому гелідіуму. По-друге, знижує продукцію на 5-7 % тільки за рахунок фізичного вилучення об'єкта із процесу культивування. По-третє, він не забезпечує 100 %-го придушення епіфітів, біомаса яких до кінця 5-6 циклу може скласти 20-30 % маси об'єкта і які вилучають відповідну кількість біогенів і знижують у рази освітлення об'єкта.

Прийом інтенсифікації процесу зростання гелідіуму за рахунок включення безперервного освітлення на 2,5-3,5 доби в кожному циклі порушує

звичний біологічний ритм об'єкта та не сприяє збільшенню продуктивності процесу.

Крім того, при заявленій щільності посадки 2,5 кг/м<sup>2</sup> або об'ємної щільності 5 кг/м<sup>3</sup> (5 г/л), якщо глибина культиватора не перевищує 0,5 м, заявлені концентрації азоту (2,8-3 мг/л) і фосфору (0,49-0,52 мг/л) не забезпечують оптимальної швидкості їхнього споживання гелідіумом, і середня питома швидкість вагового зростання «μ» не перевищує значень 0,028-0,032 доба<sup>-1</sup>. Такі швидкості зростання не дозволяють отримати врожай більше 40-45 г сирої маси з 1 м<sup>2</sup> у добу. При цьому вміст агару й пігментів у таломі гелідіуму не досягає оптимальних значень, а підвищення концентрації міогенів приводить на початкових циклах до збільшення швидкості росту гелідіуму, але й активізує ріст епіфітів, які на наступних циклах пригнічують його ріст, і сумарний результат нерідко виявляється гірше вихідного.

В основу винаходу поставлена задача збільшення виходу біомаси гелідіуму з одиниці площі культиватора при цілорічному циклічному культивуванні шляхом стимулювання його ростових функцій і більш повному придушенні епіфітів.

Поставлена задача досягається тим, що у відомому циклічному способі солоність чорноморської води доводять до 26 ‰ і вносять 4,8-7,2 мг/л азоту у вигляді  $\text{KNO}_3$  з розрахунку 35-52 мг/л (або  $\text{NaNO}_3$ -29-44 мг/л), 0,8-1,2 мг/л, фосфору у вигляді  $\text{KH}_2\text{PO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  з розрахунку 4,9-7,4 мг/л (або  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ -4,5-6,7 мг/л), а як стимулятор росту - 0,35-0,45 мг/л хелатованого заліза у вигляді  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  з розрахунку 1,68-2,16 мг/л, звареного разом з 13-17 мг/л  $\text{Na}_2\text{EDTA}$ , а фаза "відпочинку" відбувається при температурі 10-12 °С і денної освітленості 0,2-0,5 клк.

Між перерахованими істотними ознаками й очікуваним технічним результатом присутній причинно-наслідковий зв'язок. При культивуванні гелідіуму, який відрізняється від інших об'єктів більшим співвідношенням площі поверхні талому і його обсягу або маси, найважливішою проблемою стає боротьба з епіфітами. Експериментально встановлено автором, що підвищення солоності до 26-34 ‰ зменшує кількість епіфітів по масі в 6-8 разів, у порівнянні із солоністю 18 ‰. При цьому середня питома швидкість вагового росту (μ) збільшується на 5-30 %. Однак при солоності 34 ‰ значно зменшується вміст агару й фікоеритрину, тому солоність 26 ‰ більш краща.

Зменшення солоності до 9 ‰ приводить до зменшення загальної біомаси епіфітів приблизно в 2 рази, при цьому превалюють епіфіти з відділу зелених, а μ об'єкта культивування падає на 10-12 %.

Безперервне освітлення протягом 2-3 доби в кожному тижневому циклі більшою мірою стимулює ріст епіфітів відділу зелених, ніж культивованій гелідіум, тому воно виключається з технології.

Збільшення концентрацій азоту й фосфору в 1,7-2,3 рази в порівнянні з відомим способом сприяє збільшенню швидкості їхнього споживання на одиницю маси (або поверхні талому) при заданій щільності культури й, як наслідок, - до збільшення μ. Експериментально встановлено, що по-

дальше збільшення на 20-30 % концентрацій азоту й фосфору не дає адекватних збільшень ні величині  $\mu$ , ні вмісту агару й пігментів і призводить до погіршення економічних показників способу.

Експериментально встановлено, що хелатоване хлорне й сірчаноокисле залізо (зварене в певних пропорціях з  $\text{Na}_2\text{EDTA}$ ) легше засвоюється макрофітами. Введене в поживне середовище, воно впливає на активність апикальних частин талому й сприяє утворенню нових точок росту, що приводить до зростання  $\mu$ . Найбільш ефективним виявився вплив хлорного заліза в діапазоні концентрацій 0,35-0,45 мг/л (у перерахунку на залізо), тому що подальше збільшення його концентрації в 1,5-2 рази не приводить до відповідного збільшення  $\mu$ .

Перерахована сукупність суттєвих ознак є достатньою для досягнення поставленого технічного результату, таким чином існує причинно-наслідковий зв'язок між заявленими ознаками й очікуваним технічним результатом.

Спосіб реалізується таким чином.

У період сприятливої гідрологічної й метеорологічної обстановки прибережну чорноморську воду солоністю 17,5-18,5‰ і рівнем pH - 7,9-8,2 закачують у резервуар-накопичувач. Звідти воду порціонно подають у резервуар-змішувач, у який додають морську сіль із розрахунку 8,5-7,5 г/л і через систему механічних фільтрів заповнюють розміщений у прохолодному місці багатосекційний, оснащений пристроями для барботування води, акваріум, а також разом з розчинами азото-, фосфоро- і залізовмісних солей у відповідних пропорціях, подають у резервуар-збагачувач:  $\text{KNO}_3$  з розрахунку 35-52 мг/л (або  $\text{NaNO}_3$ , 29-44),  $\text{KH}_2\text{PO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  з розрахунку 4,9-7,4 мг/л (або  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  - 4,5-6,7) і  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  з розрахунку 1,68-2,16 мг/л з додаванням 13-17 мг/л  $\text{Na}_2\text{EDTA}$ . При цьому останні два компоненти спільно проважують у дистильованій воді.

Гелідіум, зібраний у лютому-листопаді в місцях природного перебування, попередньо очищають від домішок і обростань і розміщують у секціях акваріума, температура води в якому не перевищує 10-12 °C, а освітленість у денний час не перевищує 0,5 клк. Культиватори заповнюють поживною сумішшю з резервуара-збагачувача, пропушеною через теплообмінник. Водоростями з акваріума завантажують культиватори з розрахунку 2-2,5 кг/м<sup>2</sup> (20-25 г/дм<sup>2</sup>), але не більш ніж 5 г/л, регулюють подачу стисненого повітря в повітропровід так, щоб створити рівномірне об'ємне обертання водоростей, а подачу вуглекислоти з розрахунку 25-30 г на кг водоростей у добу, встановлюють проток поживного середовища, забезпечуючий одно- або дворазову зміну, збільшуючи щодня на 7-10 % тільки концентрацію  $\text{CO}_2$  і біогенів. Встановлюють освітленість на поверхні води в культиваторах на рівні 20-22 клк, а температуру поживного середовища на виході теплооб-

мінника регулюють відповідно до сезону культивування.

Через 5-7 діб перекидають подачу поживного середовища в культиватор, водорості витягають, промивають струменем води, очищаючи від домішок і епіфітів, зважують і повертають у вихідну секцію акваріума. Культиватор чистять, промивають, заповнюють поживним середовищем і завантажують водоростями із секції акваріума, у якій вони "відпочивали" протягом попередніх 5-7 діб, відбираючи по масі, рівної вихідної, найбільш чисті й потужні таломі, а приріст використовують як урожай. Після завершення циклу водорості поміщають у секцію акваріума, і культиватор завантажують із наступної секції.

Приклад.

Гелідіум вирощували з тижневим циклом у період лютий-березень у двох аналогічних культиваторах. З багатосекційного акваріума, заповненого фільтрованою чорноморською водою, солоність якої була доведена до 26‰, у культиватори завантажили 180 г і 225 г гелідіуму відповідно. Температуру води в акваріумі підтримували на рівні 10-12 °C, освітленість у денний час - не більше 0,5 клк. Культиватори заповнювали поживним середовищем на основі фільтрованої морської води солоністю 26‰ і встановлювали проток через культиватори - 2 л/год. й 4 л/год. Температуру поживного середовища на вході в культиватори в лютому підтримували на рівні 16-17 °C, а в березні - 18-19 °C. Освітленість на поверхні води в культиваторах установили  $20 \pm 0,3$  клк. У першу добу циклу на кожний літр середовища додавали в культиватори А і В, відповідно, 35 мг  $\text{KNO}_3$  і 4,9 мг  $\text{KH}_2\text{PO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ , збільшуючи в наступну добу ці концентрації на 5 % (відповідно на 1,75 і 0,25 мг), і щодоби, зварені разом, 1,68 мг  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  і 13 мг  $\text{Na}_2\text{EDTA}$ . В культиватор В вносили 52 мг  $\text{KNO}_3$  і 7,4 мг  $\text{KH}_2\text{PO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ , збільшуючи в наступну добу ці концентрації на 7 % (відповідно на 3,64 і 0,52 мг) і щодоби 2,16 мг  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  і 17 мг  $\text{Na}_2\text{EDTA}$ . В культиватори додавали 4,5 г і 6,75 г вуглекислоти на добу, установивши необхідний режим барботування.

Через 7 діб зважували сиру біомасу гелідіуму, промивали та повертали в секції акваріума, а в очищені культиватори завантажили 180 і 225 г гелідіуму. Культивування проводили в тих же умовах по освітленню, температурі й харчуванню, що й у першому циклі. По закінченні другого циклу гелідіум промили, зважили й повернули в секції акваріума. Для запуску третього циклу відбирали відповідно 180 г і 225 г найбільш чистих і здорових таломів, що відпочили після першого циклу, і завантажували в культиватори, а приріст біомаси використовували як урожай. По закінченні кожного циклу контролювали появу епіфітів, а коли проростки епіфітів досягали 4-5 мм, їх відокремлювали й зважували біомасу епіфітів. Усього провели 8 циклів культивування, результати яких наведені в таблиці.

Таблиця

| № цик-<br>ла | Культиватор А    |       |                  |                 | Культиватор В    |       |                  |                 |
|--------------|------------------|-------|------------------|-----------------|------------------|-------|------------------|-----------------|
|              | $\Delta W_n$ (г) | $\mu$ | $W_{\Sigma}$ (г) | кількість видів | $\Delta W_n$ (г) | $\mu$ | $W_{\Sigma}$ (г) | кількість видів |
| 1            | 25,6             | 0,019 | -                | -               | 25,0             | 0,015 | -                | -               |
| 2            | 21,3             | 0,016 | -                | -               | 23,2             | 0,014 | -                | -               |
| 3            | 50,0             | 0,035 | -                | 3               | 51,2             | 0,029 | -                | 3               |
| 4            | 51,7             | 0,036 | -                | 3               | 60,5             | 0,034 | -                | 4               |
| 5            | 73,7             | 0,049 | 2,73             | 4               | 83,5             | 0,045 | 3,62             | 5               |
| 6            | 82,8             | 0,054 | 3,56             | 5               | 90,0             | 0,048 | 4,83             | 6               |
| 7            | 77,2             | 0,051 | 6,21             | 5               | 92,1             | 0,049 | 7,83             | 5               |
| 8            | 79,2             | 0,052 | 6,94             | 5               | 94,5             | 0,050 | 8,74             | 6               |
| $\Sigma$     | 461,5            |       | 19,44            |                 | 520,0            |       | 25,02            |                 |

Сумарний врожай (приріст) за 8 тижнів склав 461,5 г або  $91,6 \text{ г/м}^2 \cdot \text{добу}$  для першого культиватора і 520 г або  $103,2 \text{ г/м}^2 \cdot \text{добу}$  - для другого, кількість епіфітів - 19,44 г і 25,02 г або 42,1-48,1 г на 1 кг приросту сирової маси, а врожай на кожний грам посадкового матеріалу - 2,56 і 2,31 г. Це відповідає подвоєнню біомаси за 30,5-32,4 доби.

Таким чином, запропонований спосіб за 8 циклів культивування дозволяє більш ніж в 2 рази збіль-

шити врожай гелідіуму з одиниці дзеркальної поверхні культиватора: з 54-59 г до 91-103  $\text{г/м}^2 \cdot \text{добу}$ . При цьому значно поліпшується його якість, тому що в 3,4-3,8 разу зменшується кількість епіфітів на 1 кг продукції, і знижується собівартість, тому що в 2,3-2,4 разу збільшується врожай на 1 кг посадкового матеріалу.