



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **96884** (13) **U**
(51) МПК (2015.01)
A61K 39/00

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки:	u 2014 08851	(72) Винахідник(и):	Грициняк Ігор Іванович (UA), Єсіпова Наталія Борисівна (UA), Тарновська Юлія Олександрівна (UA), Маренков Олег Миколайович (UA), Колесник Наталія Леонідівна (UA)
(22) Дата подання заявки:	05.08.2014	(73) Власник(и):	ІНСТИТУТ РИБНОГО ГОСПОДАРСТВА НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ АГРАРНИХ НАУК УКРАЇНИ, вул. Обухівська, 135, м. Київ, 03164, Україна (UA)
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель:	25.02.2015	(74) Представник:	Колесник Наталія Леонідівна
(46) Публікація відомостей про видачу патенту:	25.02.2015, Бюл.№ 4		

(54) СПОСІБ КУЛЬТИВУВАННЯ ІНФУЗОРІЙ

(57) Реферат:

Спосіб культивування інфузорій включає вирощування культури у поживному середовищі. Як поживне середовище використовується 12 % водний розчин яєчного жовтка, який одразу після приготування щоденно додають по 18 крапель на 5 л чистої води у ємності, де культивують інфузорій; при цьому культуру інфузорій оновлюють через кожні 4 тижні.

UA 96884 U

Корисна модель належить до галузі рибництва, зокрема до способів культивування живих кормів, і може бути використана в процесі організації годівлі личинок риб.

Аналіз існуючих біотехнологій культивування інфузорій, виявив невелику кількість ефективних методів [Андрющенко А.І. Стадове рибництво: Підручник [Текст] / А.І. Андрющенко, С.І. Алимов. - К.: Видавничий центр НАУ, 208. - С. 176; Садчиков А.П. Биотехнология культивирования водных беспозвоночных [Текст] / Под ред. В.Д. Федорова. - М.: МАКС Пресс, 2008. - 160 с]. Розводити інфузорій необхідно для вирощування рибної молоді (мальків і личинок) у перші дні після того, як вона вилупиться з ікри. Інфузорій поїдають і мальки живородних риб. Крім того, культури інфузорій можна використовувати для культивування коловороток та дрібних ракоподібних. Класичний метод періодичного культивування має такі недоліки: наявність фази уповільнення зростання, стаціонарну фазу, а також необхідність очищення культури перед згодовуванням личинкам риб. Стаціонарна фаза характеризується тривалим голодуванням або отруєнням і веде до відмирання культури.

Найбільш близьким за суттю до способу, що заявляється, є спосіб вирощування інфузорій на сінному настой [Андрющенко А.І. Стадове рибництво: Підручник [Текст] / А.І. Андрющенко, С.І. Алимов. - К.: Видавничий центр НАУ, 208. - С. 176; Садчиков А.П. Культивирование водных и наземных беспозвоночных (принципы и методы) [Текст] / Учебное пособие. - М.: МАКС Пресс, 2009. - С. 116-123]. Недоліком існуючої біотехнології є те, що інфузорії не встигають повністю спожити поживні речовини, плавають у розчині залишкових поживних речовин та продуктів життєдіяльності, тому через довготривале культивування в розчині накопичуються продукти метаболізму інфузорій, що призводить до зниження інтенсивності поділу клітин, зменшення розмірів клітин або навіть до загибелі культури. У зв'язку з цим виникає необхідність очищувати культуру перед згодовуванням її личинкам риб.

В основу корисної моделі поставлена задача розробити спосіб культивування інфузорій, що має ряд суттєвих переваг: контрольовані умови культивування, зручність у використанні, чітке дозування кількості поживних речовин, висока поживна цінність, відсутність необхідності очищення культури перед згодовуванням її личинкам риб.

Позитивних результатів досягнуто шляхом застосування сирого яєчного жовтка, як кормового компонента культивування інфузорій.

Спосіб здійснюється наступним чином.

1. Підготувати культуру інфузорій, місткості об'ємом по 5 л, відстояну воду та дистильовану воду.

2. Для приготування розчину яєчного жовтка необхідно розбити яйце, відділити жовток від білка; стерильним шприцом (5 мл) без голки проколоти оболонку жовтка і відібрати його 3 мл.

3. У мірну склянку відміряти 22 мл відфільтрованої води, додати 3 мл жовтка та ретельно перемішати до повного розчинення жовтка. Розчин необхідно використовувати одразу після приготування.

4. Культуру інфузорій утримують в чистій воді, в яку щоденно додають розчин 12 %-го яєчного жовтка з розрахунку 18 крапель на 5 л води.

5. Культуру інфузорій необхідно оновлювати через кожні 4 тижні. Для цього у чисту місткість відбирають 1,5 л культури інфузорій та додають 1,5 л очищеної води, годують 14-ма краплями розчину жовтка.

6. Через добу додають ще 2 л води і надалі годують 18-ма краплями розчину жовтка.

Заявлений спосіб культивування інфузорій випробували на базі кафедри загальної біології та водних біоресурсів Дніпропетровського національного університету імені Олеся Гончара.

Приклад. Об'єктом дослідження були інфузорії *Paramecium caudatum*. В контролі використовували сінний настій, як класичне середовище для культивування інфузорій; в досліді - розчин яєчного жовтка, як середовище для проведення експерименту (заявлений спосіб).

Для забезпечення генотипової однорідності матеріалу досліді проводили на клонах. Спочатку отримували клоновану культуру. Для отримання клонованої культури *P. caudatum* ізолювали окрему клітину і поміщали її в поживне середовище, вільне від інших найпростіших. Робили це за допомогою тонко відтягнутої піпетки під мікроскопом з невеликим збільшенням. З краплі проби, поміщеної на предметне скло, відбирали одну інфузорію і поміщали в краплю чистої (недистильованої) води. Потім її знову відбирали чистою піпеткою і поміщали в наступну краплю. Так повторювали 6-8 разів, це залежало від густоти культури, поки у краплі залишилася одна парамеція. Одну інфузорію відсадили у колбу з водою об'ємом 200 мл для подальшого її розмноження. Годували 12 %-им розчином яєчного жовтка (по 1 краплині) протягом 7 діб. Розмножуючись, *P. caudatum* утворила клоновану культуру.

Для експерименту підготували 10 мікроакваріумів, що склалися з чашок Петрі, в які на скляні палички клали предметне скло, а навколо скла розміщували ватні тампони, змочені

прокип'яченою водою, для підтримання постійної вологості. За допомогою мікроскопа та тонко відтягнутої піпетки відбирали по чергові 10 інфузорій. На предметне скло в краплину сінного настою поміщали одну клітину парамеції. В досліді та в контролі використовували по 5 мікроакваріумів. Підрахунки кількості інфузорій у кожному мікроакваріумі проводили кожні 6 годин протягом 2 діб.

Для приготування сінного настою, воду дехлорували та фільтрували. В чисту каструлю або колбу додавали 10 г посіченого лугового сіна на 1 л води і кип'ятили протягом 15-20 хв. За цей час гинуть всі найпростіші та їх цисти, але зберігаються спори бактерій. Після кип'ятіння остиглий настій фільтрували через лійку з ватою, розводили з розрахунку 1:1 прокип'яченою водою, розливали у колби і закривали ватно-марлевими тампонами. Через 2-3 дні зі спор розвивалися бактерії, що слугували їжею для інфузорій.

Для приготування розчину яєчного жовтка, відділяли його від білка; стерильним шприцом (5 мл) без голки проколювали оболонку жовтка і набирали його 3 мл. У мірну склянку відміряли 22 мл відфільтрованої води, додавали 3 мл жовтка та ретельно перемішували до повного розчинення жовтка. Розчин використовували одразу після приготування.

Культури інфузорій утримували в чистій воді в 40 місткостях об'ємом по 5 л, в одних місткостях інфузорій витримували в сінному настої (20 акваріумів) в інших (20 акваріумів) культивування проводили заявленим способом - щоденно додавали 18 крапель 12 %-го розчину яєчного жовтка (табл.). Вода в місткостях з інфузорією каламутніла після годівлі, а через 24 години знову ставала прозорою.

Таблиця

Умови проведення експерименту

Показники експерименту	Дослід	Контроль
Середовище	Дехлорована, очищена вода	Сінний настій
Кормовий субстрат	12 %-ий розчин яєчного жовтка	Бактерії
Температура води, °C	24	24
pH середовища	4,7-5,5	6,5-7

У зв'язку з накопиченням продуктів метаболізму, культуру *P. caudatum* необхідно оновлювати через кожні 4 тижні. Для цього у чисту місткість відбирали 1,5 л культури парамецій та додавали 1,5 л очищеної води, годували 14-ма краплями розчину жовтка. Через добу додавали ще 2 л води та годували 18-ма краплями розчину жовтка.

По завершенні експерименту було встановлено, що протягом одного і того часу чисельність та біомаса інфузорій дослідної групи була вдвічі більшою, ніж в контрольній групі. Це свідчить про зменшення часу між поділами клітин в дослідній культурі, а отже забезпечує збільшення біомаси за більш короткі проміжки часу.

Після удосконалення технології культивування інфузорій заявленим способом не має більше необхідності очищувати культуру перед згодовуванням її личинкам риб. В процесі культивування інфузорій розробленим способом фаза уповільнення зростання культури має тимчасовий та нетривалий характер, а стаціонарна фаза не настає.

Таким чином, даний спосіб можна рекомендувати до використання в рибориборстві та аквакультури.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб культивування інфузорій, що включає вирощування культури у поживному середовищі, який **відрізняється** тим, що як поживне середовище використовується 12 % водний розчин яєчного жовтка, який одразу після приготування щоденно додають по 18 крапель на 5 л чистої води у ємності, де культивують інфузорій; при цьому культуру інфузорій оновлюють через кожні 4 тижні.

Комп'ютерна верстка А. Крижанівський

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601