



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **81055** (13) **U**
(51) МПК (2013.01)
A01K 61/00

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2012 12034	(72) Винахідник(и): Аганесова Лариса Олегівна (UA)
(22) Дата подання заявки: 19.10.2012	(73) Власник(и): ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ ПІВДЕННИХ МОРІВ ІМ. О.О. КОВАЛЕВСЬКОГО НАН УКРАЇНИ, пр. Нахімова, 2, м. Севастополь, 99011 (UA)
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 25.06.2013	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 25.06.2013, Бюл.№ 12	

(54) СПОСІБ КУЛЬТИВУВАННЯ КАЛАНОЇДНИХ КОПЕПОД ARCTODIAPTOMUS SALINUS (DADAY)

(57) Реферат:

Спосіб культивування каланоїдних копепод *Arctodiaptomus salinus* (Daday), що включає одержання дорослих статевозрілих особин із природних умов, витримування в дезінфікуючому розчині, адаптацію до умов культивування, підготовку дорослих особин для масового одержання яєць і одержання вікових когорт, причому адаптацію дорослих особин здійснюють протягом доби, одержують першу генерацію копепод і культивують у стерилізованій морській воді при температурі $21 \pm 1,5$ °C, з додаванням мікроводоростей Dinophyceae: *Prorocentrum cordatum*, *Prorocentrum micans*; Prymnesiophyceae: *Isochrysis galbana*, при цьому концентрацію їжі підтримують на рівні $5 \cdot 10^3$ - 10^4 кл/мл, а через 23 доби від статевозрілих самок здійснюють масове одержання яєць протягом 51-58 доби; і кожне наступне культивування каланоїдних копепод відбувається при цілодобовому штучному освітленні, з повною підміною культурального середовища кожні 2-3 доби протягом строку культивування.

UA 81055 U

Корисна модель належить до області аквакультури, а точніше до області вирощування живих кормів для личинок різних видів риб з різним оптимумом солоності - від естуарної до океанічної, і призначено для одержання в штучних умовах високоякісного живого корму, що відповідає біохімічним і розмірним потребам личинок цінних видів риб на певній стадії розвитку.

Каланоїдні копеподи є одним з найефективніших видів живих кормів як для личиночних, так і для дорослих стадій морських риб. Однією з головних переваг застосування *Arctodiaptomus salinus* як харчування в аквакультурі - використання як для морських, так і для прісноводних личинок риб, тому що цей вид копепод здатний витримувати широкий спектр солоності (від 0 до 40 ‰). Серед інших переваг цього виду копепод можна виділити наступні: *A. salinus* здатні витримувати порівняно високі (для копепод) щільності посадки й у них відсутній канібалізм - тобто наупліальні стадії не виїдають дорослі копеподи, внаслідок чого наупліальні, копепоподітні й дорослі стадії можна вирощувати спільно; у своєму складі вони мають підвищений вміст ліпідів з високим вмістом високоненасичених (Омега-3) жирних кислот, високий вміст незамінних амінокислот; розміри різних життєвих стадій відповідають розмірним характеристикам живих кормів різних стадій личинок риб; оптимальні температурні умови їхнього культивування відповідають оптимальним температурним режимам личинок риб; у сукупності ці характеристики обумовлюють їхню перевагу як кормового організму для личинок морських риб цінних порід.

Незважаючи на тривалий період вивчення копепод у батьківщині й за рубежом, і на експериментальні розробки методів їхнього штучного вирощування, дотепер не розроблено жодного способу повноциклічного масового монокультивування каланоїдних копепод *A. salinus* (від яйця до статевозрілого організму) і остаточно не розроблена технологія їх масового вирощування при заданих параметрах середовища.

Найбільш близьким по технічній суті й технічному ефекту до способу, що заявляється, є Спосіб культивування каланоїдних копепод *Calanus euxinus* (чорноморського калянуса) (див. Пат. 79254 UA, A01K 61/00). Відомий спосіб включає процедури одержання самок калянуса; підготовки самок калянуса для синхронізації масового одержання яєць; одержання синхронної маси яєць калянуса; синхронний викльов наупліїв з яєць; одержання синхронних вікових когорт калянуса. Недоліком способу є те, що технологія розроблена для культивування іншого виду - каланоїдних копепод *Calanus euxinus* (чорноморського калянуса) з іншими екологічними й біологічними характеристиками.

В основу способу культивування каланоїдних копепод *A. salinus* поставлена задача розробки технології одержання за певний строк масової популяції *A. salinus*, що складається з особин однорідного вікового, розмірного й біохімічного складу.

Поставлена задача вирішується тим, що адаптацію дорослих особин здійснюють протягом доби, одержують першу генерацію копепод і культивують у стерилізованій морській воді при температурі $21 \pm 1,5$ °C, з додаванням мікроводоростей *Dinophyceae: Prorocentrum cordatum*, *Prorocentrum micans*; *Prymnesiophyceae: Isochrysis galbana*. Концентрацію їжі підтримують на рівні $5 \cdot 10^3$ - 10^4 кл/мл, а через 23 доби від статевозрілих самок здійснюють масове одержання яєць протягом 51-58 доби; і кожне наступне культивування каланоїдних копепод відбувається при цілодобовому штучному освітленні, з повною підміною культурального середовища кожні 2-3 доби протягом строку культивування.

Новизна способу полягає в підборі оптимальних для одержання максимальної продукції (максимальної реалізації генетичного потенціалу) даного виду копепод абіотичних і біотичних умов, які були встановлені автором експериментально.

Копеподи *A. salinus* у процесі росту й розвитку протягом життєвого циклу проходять 12 стадій: 6 наупліальних (N1-6) і 6 копепоподітних стадій (C1-6), досягаючи статевозрілості на C6. Найбільш критичними стадіями з них є ранні наупліальні й ранні копепоподітні стадії, а також перехід з останньої наупліальної на першу копепоподітну стадію. На розвиток і розмноження особин копепод впливають численні абіотичні й біотичні фактори, але основними факторами, що визначають їхній ріст і розмноження, є температура й кількісні і якісні характеристики живлення.

Спосіб реалізується таким чином:

1). Одержання дорослих особин *A. salinus*

2). Процедура підготовки дорослих особин *A. salinus* для масового одержання яєць і наупліїв

3). Одержання вікових когорт *A. Salinus*

Приклад реалізації способу

Одержання дорослих особин *A. salinus*.

Дорослі особини в зоопланктонних пробах, відібрані із солоних озер, розташованих біля морського узбережжя Керченського півострова (Крим) були доставлені в лабораторію й

адаптовані до лабораторних умов. Статевозрілих особин *A. salinus* відокремлювали від основної маси планктону шляхом фільтрації й поміщали в дезінфікуючий розчин, приготовлений на основі стерилізованої води стандартної чорноморської солоності 17,5-18,5. Ізольованих особин залишали для адаптації до лабораторних умов у дезінфікуючому розчині при кімнатній температурі й годуванні сумішшю мікроводоростей протягом доби.

Процедура підготовки дорослих особин *A. salinus* для масового одержання яєць і наупліїв.

Після процедури дезінфекції життєздатних статевозрілих особин *A. salinus* промивали стерильною морською водою й поміщали в контейнери зі стерильною морською водою (при мінімальному обсязі 0,3 екз./мл) при температурі $21 \pm 1,5$ °C і цілодобовому штучному освітленні. До стерилізованої морської води додавали наступні мікроводорості: Dinophyceae: *Prorocentrum cordatum*, *Prorocentrum micans*; Prymnesiophyceae: *Isochrysis galbana*; концентрацію їжі підтримували на рівні $5 \cdot 10^3$ - 10^4 кл/мл. Повну підміну культурального середовища (стерилізованої морської води з додаванням зазначених видів мікроводоростей) у контейнерах робили кожні 2-3 доби протягом строку культивування.

Через 1-2 доби одержували абсолютну плідність у середньому 13,5 яєць на статевозрілу самку. Відсоток викльовування яєць становив 63-95 %. ЕР (індивідуальна максимальна добова плідність) самок перебувала в межах 0,3-2,2 яйця/самка/доба. Яйця від самок *A. salinus* одержували протягом 51-58 доби (залежно від якості вихідного матеріалу), після чого самок заміняли новою партією.

Одержання вікових когорт *A. salinus*

Із загальної маси наупліїв відбирали необхідну для проведення експериментів партію наупліїв, яких переводили на підгодовування до необхідної стадії розвитку (розмірної групи). Як оптимальний температурний режим був вибраний $21 \pm 1,5$ °C.

Протягом 5-6 діб після викльовування з яєць відбувалися 5 послідовних наупліальних линок, що приводили до одержання останньої шостий наупліальної стадії N6.

Через 7-8 діб після викльовування відбувався масовий перехід від наупліальних до копеподітних стадій *A. salinus*, а до дорослої стадії (C6) копеподи досягали на 20 добу вирощування *A. salinus* від яйця при оптимальному температурному режимі $21 \pm 1,5$ °C

У результаті одержали наступні тимчасові когорти *A. salinus* (табл. 1).

Таблица 1

Стадія	Розмір (цм)	Вік (доба)
яйця	143±3	1-2
науплій N1	225±5	3-5
науплій N2	265±4	
науплій N3	314±5	
науплій N4	348±3	6-9
науплій N5	379±4	
науплій N6	450±5	
копеподіт C1	576±10	10-15
копеподіт C2	681±11	
копеподіт C3	851±13	
копеподіт C4	1028±13	16-22
копеподіт C5	1179±14	
копеподіт C6 (самець)	1328±16	23-82
копеподіт C6 (самка)	1386±32	

Розмірний склад культивованих когорт *A. salinus* змінювався від 225±5 (науплій N1) до 1328±16 (самець) і 1386±32 (самка) мкм відповідно стадіям розвитку (N1 до C6) в усереднений строк (вік) одержання їх (від яйця) (від 1 до 22 діб) при наведених стандартних трофічних умовах при стандартній температурі культивування ($21 \pm 1,5$ °C). Розмір (у мікронах) відповідає для яйця - його діаметру; для вікових стадій копепод - його загальній довжині.

Мінімальний час досягнення стадії C6 від викльовування з яйця при оптимальному живленні при середньодобовій температурі $21 \pm 1,5$ °C склало 23 діб у порівнянні з 27 діб при середньодобовій температурі $25 \pm 1,5$ °C і 31 діб при середньодобовій температурі $17 \pm 1,5$ °C.

При середній виживаності 80 %, максимальна виживаність від стадії яйця до дорослої стадії *A. salinus* складає 95 % при застосуванні даного методу культивування.

Максимальна тривалість експлуатації когорти дорослих самок *A. salinus* для одержання яєць і молоді копепод при застосуванні даного методу культивування становить 74 діб при

максимальному віці *A. salinus* від викльовування з яйця до природної смерті (у лабораторних умовах) 98 діб.

Спосіб культивування, що заявляється, має ряд переваг:

- запропоновані оптимальні температурні й трофічні умови для стандартизації процесів продукування яєць самками *A. salinus*, розвитку й викльовування яєць *A. salinus*, розвитку й росту молоді *A. salinus* до досягнення останньої життєвої стадії;
- застосування даної технології дозволяє забезпечити культивуванням цінним морським рибакам заплановану кількість личинок кормових організмів з певними розмірними й біохімічними характеристиками в необхідні тимчасові строки.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб культивування каланоїдних копепод *Arctodiaptomus salinus* (Daday), що включає одержання дорослих статевозрілих особин із природних умов, витримування в дезінфікуючому розчині, адаптацію до умов культивування, підготовку дорослих особин для масового одержання яєць і одержання вікових когорт, який **відрізняється** тим, що адаптацію дорослих особин здійснюють протягом доби, одержують першу генерацію копепод і культивують у стерилізованій морській воді при температурі $21 \pm 1,5$ °C, з додаванням мікроводоростей Dinophyceae: *Prorocentrum cordatum*, *Prorocentrum micans*; Prymnesiophyceae: *Isochrysis galbana*, при цьому концентрацію їжі підтримують на рівні $5 \cdot 10^3$ - 10^4 кл/мл, а через 23 доби від статевозрілих самок здійснюють масове одержання яєць протягом 51-58 доби; і кожне наступне культивування каланоїдних копепод відбувається при цілодобовому штучному освітленні, з повною підміною культурального середовища кожні 2-3 доби протягом строку культивування.

Комп'ютерна верстка С. Чулій

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