



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA**

(11) **104602**

(13) **U**

(51) МПК

A01K 67/033 (2006.01)

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2015 07328**

(22) Дата подання заявки: **21.07.2015**

(24) Дата, з якої є чинними
права на корисну
модель: **10.02.2016**

(46) Публікація відомостей **10.02.2016, Бюл.№ 3**
про видачу патенту:

(72) Винахідник(и):

**Марченко Михайло Маркович (UA),
Худий Олексій Ігорович (UA),
Худа Лідія Вікторівна (UA),
Чебан Лариса Миколаївна (UA),
Кушнірик Ольга Василівна (UA)**

(73) Власник(и):

**ЧЕРНІВЕЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ЮРІЯ ФЕДЬКОВИЧА,
вул. Коцюбинського, 2, м. Чернівці, 58012
(UA)**

(54) СПОСІБ КУЛЬТИВУВАННЯ ЗООПЛАНКТОНУ НА СКИДНІЙ ВОДІ ІЗ РИБОВОДНОЇ УСТАНОВКИ

(57) Реферат:

Спосіб культивування зоопланктону на скидній воді із рибоводної установи включає вирощування гіллястовусих ракоподібних на скидній воді (як культиваційне середовище) із додатковим внесенням кормового субстрату, при оптимальній температурі до досягнення максимальної чисельності культури. Забір скидної води проводять до її очищення у механічному фільтрі рибоводної установи. Цю воду використовують як культиваційне середовище без додаткового поновлення протягом всього терміну культивування. Вирощування *Simoccephalus vetulus* (Muller) здійснюють при температурі 21-23 °C до досягнення максимальної чисельності культури на 18-ту добу. Як кормовий субстрат використовують дріжджі *Saccharomyces cerevisiae* у концентрації $23,5-24,5 \times 10^6$ КУО на 1 л культиваційного середовища з інтервалом внесення 48 годин.

UA 104602 U

Спосіб належить до аквакультури та біотехнології і може бути використаний для культивування зоопланктону як стартового живого корму при вирощуванні личинок промислово-цінних видів риб.

Для більшості представників зоопланктону розроблені загальні рекомендації щодо культивування їх в лабораторних умовах, що включають склад середовища, початкову щільність культури гідробіонтів, кормовий раціон та режим внесення кормового субстрату, тривалість культивування (Романенко В.Д., Крот Ю.Г., Сиренко Л.А., Соломатина В.Д. Биотехнология культивирования гидробионтов. - К.: Институт гидробиологии НАН Украины, 1999. - 243 с). Незважаючи на те, що умови культивування зоопланктонних організмів подібні, вирощування кожного виду зоопланктону вимагає експериментальний підбір найбільш оптимальних умов культивування. Відомо, що *Simoccephalus vetulus* (Muller) є вагомим елементом природної кормової бази риб (Malhotra Y.R., Langek S. Nutritional and density-dependent responses of some cladocera // Aquaculture and Fisheries Management. - 1993. - №24. - P. 631-640), що робить його перспективним об'єктом культивування як живого корму в умовах аквакультури. Підвищення ефективності технології культивування *S. vetulus* вимагає адаптації загальних підходів до його фізіологічних особливостей.

Загальні підходи в біотехнології культивування зоопланктону передбачають використання як культиваційних середовищ штучних сумішей макро- та мікроелементів. Однак, штучні живильні середовища є досить вартісними, тому виникає потреба пошуку альтернативних культиваційних середовищ, що, з одного боку, забезпечували б потребу культури зоопланктону в мінеральних компонентах, а з іншого, дозволили б зменшити собівартість технології отримання біомаси зоопланктону.

Близьким (прототипом) є спосіб культивування коловерток *Brachionus calyciflorus* та гіллястовусих ракоподібних *Moina macrocarpa* на відходах рибоводного виробництва у вигляді води із рециркуляційної системи (Пат. 27375 С2 UA, МПК А61К61/00, А23К1/00 Спосіб культивування зоопланктону / Романенко В.Д., Крот Ю.Г., Недялков Г.Ф., Драгунов І.М., опубл. Бюл. №4, 2000 р.). Основним недоліком заявленого способу є додаткові труднощі при постійному фільтруванні води перед застосуванням, періодичному розведенні середовища культивування свіжими порціями води (близько 50 %) та постійному підживленні культури зоопланктону хлорелою.

Технічний результат полягає в розробці ефективної технології культивування деяких представників зоопланктону на скидній воді із рибоводної установки замкнутого водопостачання (УЗВ), яка характеризується високим виходом біомаси та зниженням собівартості середовищ культивування.

Суть корисної моделі полягає у використанні скидної води з УЗВ, збагаченої біогенними елементами та солями мікроелементів, як живильного середовища для культивування зоопланктону. Заявлений спосіб включає вибір як живильне середовище скидної води із УЗВ, забір води до її очищення у механічному фільтрі рибоводної установки, періодичний контроль фізико-хімічних показників води, використання скидної води без її додаткової фільтрації та автоклавування, внесення в живильне середовище зоопланктонних організмів виду *S. vetulus* у кількості 50 екз./л та їх подальше культивування до досягнення максимальної чисельності культури на 18-ту добу із додатковим підживленням дріжджами *Saccharomyces cerevisiae* з інтервалом 48 годин.

В результаті реалізації способу вдається збільшити вихід чисельності та біомаси зоопланктону в 11,5 разів та в 11,3 разів відповідно, у порівнянні з початковими величинами.

Розроблений спосіб дозволяє отримати активно наростаючу культуру ракоподібних, що характеризується максимальними значеннями біомаси (0,09 т/л), чисельності (575 екз./л) та підвищеним вмістом основних нутрієнтів (загальних білків - 62,3 % і загальних ліпідів - 16,4 % від сухої маси).

Рівень мінералізації та іонний склад дозволяє використовувати скидну воду із рибоводної установки замкнутого водопостачання як середовище для культивування зоопланктону (таблиця 1).

На фігурі 1 приведена динаміка чисельності особин *S. vetulus* за умов культивування на скидній воді із УЗВ.

Таблица 1

Фізико-хімічні показники якості скидної води в УЗВ ЧНУ при вирощуванні риб

Фізико-хімічний показник	Прототип	Скидна вода
Температура, °C	28-35	19-21,5
pH	8,0-8,2	7,5-8,0
NH ₄ ⁺ , мг N/л	1,5-3	0,194-0,295
NO ₂ ⁻ , мг N/л	0,3-0,5	0,445
NO ₃ ⁻ , мг N/л	20-30	5,366
O ₂ , мг O/л		7,84
Cl ⁻ , мг Cl/л		64,0

Спосіб здійснюють наступним чином. У ємності із культивацийним середовищем об'ємом 0,5 л висаджували об'єкт культивування - прісноводні гіллястовусі ракоподібні (Cladocera) виду *Simoscephalus vetulus* (Muller) у кількості 50 екз./л. Ємності поміщали у кліматичну кімнату до максимального збільшення чисельності зоопланктону на 18-ту добу. В кліматичній кімнаті підтримували наступні показники: температура 22±1 °C, 16-ти годинний фотоперіод, інтенсивність освітлення близько 2,5 клк. Як харчовий субстрат для зоопланктону використовували водну суспензію дріжджів *Saccharomycetes cerevisiae*, стандартизовану за кількістю клітин 23,5-24,5×10⁶ на 1 л культивацийного середовища. Культивування проводили без аерації та оновлення середовищ.

У контрольному варіанті *S. vetulus* вирощували на класичному, стандартизованому за іонним складом синтетичному середовищі ADaM (Artificial Daphnia Medium) (Kluttgen B., Dulmer U., Engels M., Ratte H.T. ADaM, an artificial freshwater for the culture of zooplankton // Water Res. - 1994. - № 28. - P. 743-746) із внесенням як харчовий субстрат суспензії дріжджів *S. cerevisiae*.

Як культивацийне середовище використовували нестерилізовану скидну воду з рибоводної установи замкнутого водопостачання (УЗВ). Було сформовано дві групи: із внесенням харчового субстрату та без додаткового підгодовування.

Підрахунок організмів, їх годівлю та оцінку фізико-хімічних показників середовища культивування здійснювали з періодичністю 48 годин. Визначення вмісту загальних білків та ліпідів проводили на момент досягнення піку чисельності культур у кожному дослідному варіанті.

Встановлено, що використання скидної води з рибоводної УЗВ як культивацийного середовища замість синтетичного середовища ADaM не призводить до погіршення динаміки наростання культури *S. vetulus* (фіг. 1).

Середовища для культивування зоопланктону повинні відповідати фізіологічним потребам організмів за показниками pH, загальної мінералізації, а також містити солі мікроелементів, що необхідні для нормального існування організмів (таблиця 2).

Таблица 2

Фізико-хімічні показники середовища ADaM та скидної води з УЗВ як культивацийного середовища

Вид середовища	Середовище ADaM	Скидна вода з УЗВ
pH	7,9-8,2	7,5-8,0
Електропровідність, μS/см ³	1080-1497	555-693
Загальна мінералізація, мг/л	759-1023	371-477
ОВП, мВ	191,9-229,2	211,4-213,9
O ₂ , мг O/л	5,0-6,5	7,5-7,8

При вирощуванні риби за інтенсивними технологіями в УЗВ використовують збалансовані корми, які містять повний спектр необхідних для нормального функціонування організму риб речовин, в тому числі і мікроелементів, певна кількість яких вимивається з кормів водою. Окрім того, значна кількість біогенних елементів виділяється у воду самими рибами. Оскільки в УЗВ риба вирощується в умовах ущільненої посадки, концентрація біогенів у скидних водах може бути достатньо високою.

На скидних водах з УЗВ культура успішно розвивається протягом перших 4-х діб навіть без додаткового внесення кормового субстрату. Це пов'язано з присутністю у скидних водах мікрофлори, представленій як бактеріальними клітинами, так і деякою кількістю одноклітинних водоростей, якими може харчуватись зоопланктон.

5 Періодичне внесення харчового субстрату у вигляді суспензії клітин дріжджів у середовище, виготовлене на основі скидних вод, забезпечує 11-ти кратне наростання чисельності культури *S. vetulus* на 18-ту добу культивування, порівняно з її початковою чисельністю.

Окрім того, суспензія дріжджів, якою додатково підгодовували культуру ракоподібних, може стимулювати розвиток бактеріофлори, забезпечуючи цим самим додаткове підживлення *S. vetulus* (Набережний А. И., Ирмашева С.Г. Культивирование коловраток и мелких ветвистоусых ракообразных [Электронный ресурс]. - 1983. - Режим доступа: <https://hydrobiologist.wordpress.com/2009/07/19/rotatoria-cultivation/>).

10 Аналіз нутрієнтного складу *S. vetulus* не засвідчив достовірної зміни вмісту загальних білків та ліпідів при використанні як культивативне середовище скидної води з УЗВ (табл. 3). Так, показники вмісту білка та ліпідів у культурі ракоподібних, вирощених на воді з УЗВ, становили, відповідно, 62,3 % та 16,4 % на 1 г сухої маси, а для сімоцефалюсів, вилучених із середовища ADaM-50,2 % та 17,9 %, відповідно (Кушнірик О.В., Марченко М.М., Худий О.І., Васіна Л.М., Худа Л.В., Кавуля О.М. Застосування каротинсинтезуючих дріжджів *Rhodotorula glutinis* для культивування *Simoccephalus vetulus* (Miiller, 1776) у лабораторних умовах // Біологічні системи. - 2014. - Т. 6, Вип. 1. - С. 25-30).

Таблиця 3

Показники продуктивності *S. vetulus* при культивуванні на різних середовищах

Вид середовища	Максимальна чисельність, екз./л	Максимальна біомаса, г/л	Вміст загальних білків, мг/г	Вміст загальних ліпідів, мг/г
Скидна вода з УЗВ	575±44	0,09±0,030	623,1±58,5	163,9±10,9
Середовище ADaM	120±7	0,02±0,004	501,7±43,8	179,3±5,3

Отже, максимальна чисельність культури *S. vetulus* при вирощуванні на скидній воді із рибоводної установки в 5 разів вища від варіанта культивування на стандартизованому середовищі ADaM. Поряд з цим, використання води з УЗВ не призводить до суттєвої зміни вмісту загальних білків та ліпідів у *S. vetulus*.

Джерела інформації:

1. Кушнірик О.В., Марченко М.М., Худий О.І., Васіна Л.М., Худа Л.В., Кавуля О.М. Застосування каротинсинтезуючих дріжджів *Rhodotorula glutinis* для культивування *Simoccephalus vetulus* (Miiller, 1776) у лабораторних умовах // Біологічні системи. - 2014. - Т. 6, Вип. 1. - С. 25-30.

2. Набережний А.И., Ирмашева С.Г. Культивирование коловраток и мелких ветвистоусых ракообразных [Электронный ресурс]. - 1983. - Режим доступа: <http://hydrobiologist.com/2009/12/11/cultivation-moina-brachionus/>

35 3. Пат. 27375 С2 UA, МПК А61К61/00, А23К1/00 Спосіб культивування зоопланктону / Романенко В.Д., Крот Ю.Г., Недялков Г.Ф., Драгунов І.М., опубл. Бюл. №4, 2000 р.

4. Романенко В.Д., Крот Ю.Г., Сиренко Л.А., Соломатина В.Д. Биотехнология культивирования гидробионтов. К.: Институт гидробиологии НАН Украины, 1999. - 243 с.

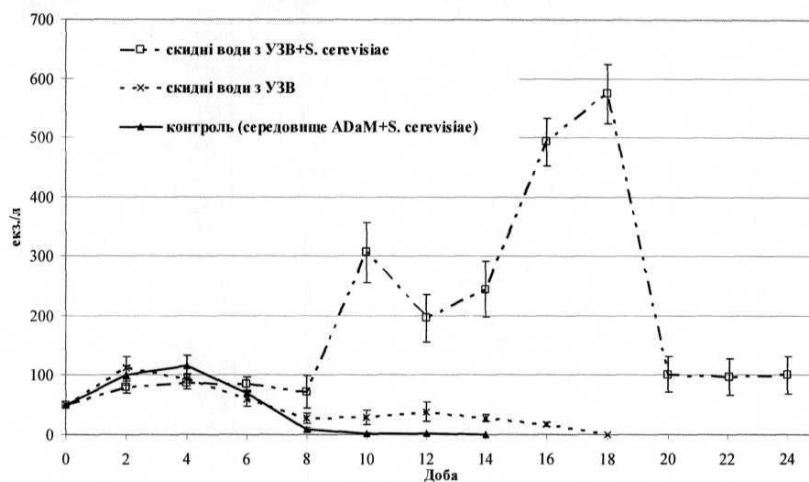
40 5. Kluttgen B., Dulmer U., Engels M., Ratte H.T. ADaM, an artificial freshwater for the culture of zooplankton // Water Res. - 1994. - №28. - P. 743-746.

6. Malhotra Y.R., Langek S. Nutritional and density-dependent responses of some cladocera // Aquaculture and Fisheries Management. - 1993. - №24. - P. 631-640.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

45 Спосіб культивування зоопланктону на скидній воді із рибоводної установки, що включає вирощування гіллястовусих ракоподібних на скидній воді (як культивативне середовище) із додатковим внесенням кормового субстрату, при оптимальній температурі до досягнення максимальної чисельності культури, який **відрізняється** тим, що забір скидної води проводять до її очищення у механічному фільтрі рибоводної установки, цю воду використовують як культивативне середовище без додаткового поновлення протягом всього терміну культивування, вирощування *Simoccephalus vetulus* (Muller) здійснюють при температурі 21-23 °C

до досягнення максимальної чисельності культури на 18-ту добу, а як кормовий субстрат використовують дріжджі *Saccharomyces cerevisiae* у концентрації $23,5-24,5 \times 10^6$ КУО на 1 л культиваційного середовища з інтервалом внесення 48 годин.



5

Комп'ютерна верстка В. Мацело

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

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