



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

Государственная регистрация изобретения осуществлена по заявлению о признании действия исключительного права на территории Российской Федерации на основании статьи 13¹ Федерального закона от 18 декабря 2006 года № 231-ФЗ «О введении в действие части четвертой Гражданского кодекса Российской Федерации»

(21)(22) Заявка: 2014150177/93, 30.10.2014

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
18.12.2006

Приоритет(ы):
Дата приоритета: 18.12.2006
Патент № 80385 (UA)

(45) Опубликовано: 10.04.2015 Бюл. № 10

Адрес для переписки:
299011, г. Севастополь, пр. Нахимова, д. 2,
Институт биологии южных морей им. А.О.
Ковалевского

(72) Автор(ы):
Ладыгина Людмила Владимировна (RU)

(73) Патентообладатель(и):
Институт биологии южных морей им. А.О.
Ковалевского (RU)

(54) СПОСОБ ПОДГОТОВКИ КОРМОВ ДЛЯ ВЫРАЩИВАНИЯ ГИГАНТСКОЙ УСТРИЦЫ
CRASSOSTREA GIGAS В ЧЕРНОМ МОРЕ В УСЛОВИЯХ ПИТОМНИКА

(57) Реферат:

Способ подготовки кормов для выращивания гигантской устрицы *Crassostrea gigas* в Черном море в условиях питомника включает культивирование микроводорослей в накопительном и проточном режимах с применением модифицированной среды Конвея, причем на стадии велигера используют

микроводоросли, которые культивируют в течение 17-ти дней в накопительном режиме, для стадии великонхи применяют 10-дневные микроводоросли, которые культивируют в проточном режиме и для стадии педивелигера микроводоросли проходят 24-дневное культивирование в накопительном режиме.

С
2
5
4
8
1
0
7
R
U

R
U
2
5
4
8
1
0
7
С
1



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(12) ABSTRACT OF INVENTION

State registration of the invention has been provided following a request to recognize the exclusive rights on the territory of the Russian Federation as provided for in the Article 13¹ of the Federal Law of December 18, 2006 № 231-ФЗ «On enactment of part four of the Civil Code of the Russian Federation»

(21)(22) Application: **2014150177/93, 30.10.2014**

(24) Effective date for property rights:
18.12.2006

Priority:
Priority date: **18.12.2006**
Patent No. **80385 (UA)**

(45) Date of publication: **10.04.2015** Bull. № 10

Mail address:
299011, g. Sevastopol', pr. Nakhimova, d. 2, Institut biologii juzhnykh morej im. A.O. Kovalevskogo

(72) Inventor(s):
Ladygina Ljudmila Vladimirovna (RU)

(73) Proprietor(s):
Institut biologii juzhnykh morej im. A.O. Kovalevskogo (RU)

(54) PREPARATION OF FEED FOR GROWING OF CRASSOSTREA GIGAS IN BLACK SEA NURSERY

(57) Abstract:

FIELD: agriculture.

SUBSTANCE: proposed process comprises cultivation of microalgae in accumulation and flow conditions with application of modified Convey medium. At veliger stage, microalgae are used which are cultivated for 17 days in accumulation mode. At

veliconcha stage, 10-day microalgae are used which are cultivated in flow mode. At pediveliger stage, microalgae are cultivated for 24 days in accumulation mode.

EFFECT: perfected method.

C 1 7 0 1 8 5 2 4 5 2 R U

R U 2 5 4 8 1 0 7 C 1

Предлагаемое изобретение относится к области биотехнологий и предназначено для получения жизнестойкой молоди гигантской устрицы *Crassostrea gigas* в питомниках с целью дальнейшего их выращивания в условиях морских ферм.

Для получения товарной продукции гигантской устрицы *Crassostrea gigas* в промышленных масштабах необходимо обеспечивать фермы молодью, которую при традиционных технологиях собирают в природных условиях. Существенно повышается эффективность работы морских хозяйств, если их обеспечивать жизнестойким посадочным материалом, полученным в питомниках и подращиваемых на искусственных кормах до переноса на фермы. Одним из факторов, влияющих на темп роста и выживание личинок моллюсков, выращиваемых в питомнике, является питание. Процесс эффективного культивирования личинок устриц возможен только при наличии сбалансированных кормов. Для личинок двустворчатых моллюсков гигантской устрицы *Crassostrea gigas* характерна избирательность к корму, чувствительность к его размерам и даже к толщине клеточных оболочек. Современные способы культивирования моллюсков ориентированы на получение максимальных биомасс кормовых видов водорослей без учета качественных характеристик кормов, способных удовлетворить физиологические потребности личинок на всех стадиях развития. Успешный рост и развитие личинок устриц в культуре зависит в значительной степени от качества корма, точнее, его биохимического состава.

Известен Способ выращивания гигантской устрицы *Crassostrea gigas* в Черном море [см. П. № 76680 Украина, МПК А01К 61/00, 2005], в котором личинок устрицы обеспечивают кормом на всех стадиях развития. На ранних стадиях (стадия велигера) корм состоит из микроводорослей *Isochrysis galbana* и *Chaetoceros calcitrans* при соотношении клеток 2:1. На стадии великонхи корм содержит микроводоросли *Isochrysis galbana*, *Chaetoceros calcitrans*, *Phaeodactylum tricornutum*, *Tetraselmis suecica* при соотношении клеток 2:1:1:1 соответственно, а на стадии педивелигера в состав корма дополнительно вводят микроводоросль *Skeletonema costatum* (2 части).

Недостаток известного способа состоит в том, что при формировании корма не учитывают биохимический состав микроводорослей, что влечет качественное несоответствие кормов потребностям личинок и молоди на разных стадиях развития.

В основу изобретения "Способ подготовки кормов для выращивания гигантской устрицы *Crassostrea gigas* в Черном море в условиях питомника № поставлена задача путем культивирования микроводорослей заданного биохимического состава и включения их в рацион личинок и молоди гигантской устрицы *Crassostrea gigas*, обеспечить создание оптимальных кормов для выращивания личинок в питомниках и подращивания спата до размещения на ферме.

Поставленная задача достигается тем, что применяются комбинации смесей микроводорослей, достигших необходимых качественных характеристик на разных стадиях культивирования. Известно [Далакян Т.А., Волкова Е.Р., Недосекин А.Г., 1984], что, каждая из фаз роста микроводорослей характеризуется ярко выраженной направленностью потока углерода в один из основных блоков метаболизма клеток. В логарифмической фазе синтезируется белок, в фазе замедления скорости роста - углеводы, в стационарной фазе, особенно в конце фазы, накапливаются липиды. Для удовлетворения пищевых потребностей личинок устриц на стадии велигера необходимо применять микроводоросли с максимальным количеством углеводов. На стадии великонхи целесообразно применять в качестве корма водоросли в логарифмической фазе роста с максимальным количеством белка. На стадии педивелигера - водоросли богатые липидами, т.е. в конце стационарной фазы роста.

Известны два режима наращивания микроводорослей: проточный и накопительный. Например, [с. Brown M., Robert R. Preparation and assessment of microalgal concentrates as feeds for larval and juvenile Pacific oyster (*Crassostrea gigas*).// aquaculture. - 2002. - 207. - P. 289-309], в питомниках по выращиванию личинок устриц во Франции и Испании используют накопительное культивирование. Такой режим культивирования предусматривает накопление биомассы до тех пор, пока не будут использованы все биогены и не прекратится рост микроводорослей. При достижении максимальной биомассы водоросли используются на корм. Проточное культивирование характеризуется непрерывным ростом водорослей, который связан с изъятием определенной биомассы урожая и внесением в культуру питательной среды. Проточное культивирование позволяет задавать такую плотность культуры, что водоросли в течение длительного периода находятся в фазе линейного роста. В предлагаемом способе культивирование микроводорослей проводят в двух режимах - накопительном и проточном, что позволяет наращивать биомассу микроводорослей заданного биохимического состава. При культивировании микроводорослей в режиме непрерывного проточного культивирования микроводоросли длительное время находятся в фазе линейного роста (логарифмическая фаза). При накопительном режиме культивирования микроводоросли находятся в стационарной фазе роста, а также в фазе замедления роста.

Способ реализуется следующим образом. Микроводоросли *Isochrysis galbana*, *Chaetoceros calcitrans*, *Phaeodactylum tricornutum*, *Tetraselmis suecica*, *Skeletonema costatum* культивируют в полиэтиленовых мешках объемом до 18 л с толщиной стенок 300 мкм (0.25м x 1.5м). Мешки подвешивают на стойку перед панелью из люминесцентных ламп LD-40, суммарной освещенностью 10 тыс. лк. Оптимальная температура выращивания кормовых микроводорослей - 22-24°C. В качестве питательной среды используют модифицированную среду Конвея, в которой содержание железа увеличили вдвое. Состав питательной среды и условия культивирования оказывают значительное влияние на биохимический состав микроводорослей.

Состав среды Конвея с увеличенным содержанием железа:

30	NaNO ₃	200 г
	NaH ₂ HPO ₄ ·2H ₂ O	40 г
	H ₃ BO ₃	67,2 г
	MnCl ₂ ·4 H ₂ O	0,72 г
35	FeC·6 H ₂ O	5,2 г
	ЭДТА (трилон Б)	90 г
	H ₂ O дистил.	2 л
	Раствор следов металлов	2 мл

Раствор следов металлов

40	ZnCl ₂	2,1 г
	CoCl ₂	2 г
	NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ ·4H ₂ O	0,9 г
	CuSO ₄ ·5 H ₂ O	2 г
45	H ₂ O дист.	100 г

При использовании среды такого состава концентрация микроводорослей увеличивается в 1,5 раза по сравнению с контролем. Высокий уровень азота в среде Конвея способствует синтезу белков, в то же время недостаток азота в конце

стационарной фазы способствует синтезу липидов. Высокая интенсивность света приводит к увеличению содержания углеводов в клетках и тормозит синтез белка.

Для кормления личинок на стадии велигера используют водоросли *Isochrysis galbana* и *Chaetoceros calcitrans*, находящиеся в фазе замедления роста (на 17-й день выращивания) при накопительном режиме культивирования. Личинок на стадии великонхи кормят микроводорослями *Isochrysis galbana*, *Chaetoceros calcitrans*, *Phaeodactylum tricornutum*, *Tetraselmis suecica* (логарифмическая фаза роста), культивируемых в проточном режиме. Для кормления личинок на стадии педивелигера используют водоросли *Isochrysis galbana*, *Chaetoceros calcitrans*, *Phaeodactylum tricornutum*, *Tetraselmis suecica*, *Skeletonema costatum*, которые находятся в стационарной фазе роста (24-х дневные культуры) при выращивании в накопительном режиме.

Пример реализации способа.

Микроводоросли *Isochrysis galbana*, *Chaetoceros calcitrans*, *Phaeodactylum tricornutum*, *Tetraselmis suecica*, *Skeletonema costatum* выращивали при температуре 22-24° С в полиэтиленовых мешках объемом до 18 л с толщиной стенок 300 мкм (0,25м×1,5м) в течение 24 дней при накопительном режиме, и в течение 60 дней при проточном режиме культивирования. Мешки подвешивали на стойку перед панелью из люминесцентных ламп LD-40, суммарной освещенностью 10 тыс. лк. В качестве питательной среды использовали среду Конвея, модифицированную авторами, в которой содержание железа увеличили вдвое. Критериями оценки качества пищи были темп роста и выживаемость личинок.

Личинок устриц на стадии велигера кормили микроводорослями *Isochrysis galbana*, *Chaetoceros calcitrans* с размером клеток 4-5 мкм, срок культивирования которых составлял 17 дней. Водоросли находились в фазе замедления скорости роста и имели самое высокое содержание углеводов. Высокие темпы роста личинок на стадии велигера наблюдались в том случае, если корм содержал 90% углеводов и 10% белков. Максимальный среднесуточный прирост личинок устриц составил 11,1 мкм/сут.

На стадии великонхи личинок устриц *G. gigas* кормили смесью микроводорослей *Isochrysis galbana*, *Chaetoceros calcitrans*, *Phaeodactylum tricornutum*, *Tetraselmis suecica*, время культивирования которых составило 10 дней. Водоросли находились в логарифмической фазе роста, и удельная калорийность водорослей возрастала в период накопления белков. Максимальный среднесуточный прирост личинок устриц составил 22,6 мкм/сут.

На стадии педивелигера корм личинок устриц состоял из *Isochrysis galbana*, *Chaetoceros calcitrans*, *Phaeodactylum tricornutum*, *Tetraselmis suecica*, *Skeletonema costatum*, которые культивировали в течение 24 дней в накопительном режиме. Водоросли находились в конце стационарной фазы роста, и их биохимический состав характеризовался высоким содержанием липидов. Благодаря высокому содержанию липидов в водорослях личинки устриц успешно проходили метаморфоз.

Основное преимущество заявляемого Способ подготовки кормов для выращивания гигантской устрицы *Crassostrea gigas* в Черном море в условиях питомника заключается в том, что предлагаемый корм является оптимальным для выращивания личинок устриц в питомниках и подращивания спата до размещения на фермах. Способ позволяет составить корма, удовлетворяющие пищевым потребностям моллюсков на ранних стадиях онтогенеза. Подготовка водорослей заданного биохимического состава и включение их в пищевой рацион личинок мидий, находящихся на разных стадиях развития, обеспечивает высокий суточный прирост и выживаемость.

Биохимический состав микроводорослей в логарифмической фазе роста

Таблица 1.

Вид водорослей	Содержание, % АСВ		
	белка	углеводов	липидов
<i>Isochrysis galbana</i>	49,8 ± 1,21	28,4 ± 1,13	12,2 ± 0,21
<i>Chaetoceros calcitrans</i>	31,35 ± 0,28	11,32 ± 0,36	10,35 ± 0,13
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	40,7 ± 0,21	20,8 ± 0,43	5,7 ± 0,24
<i>Tetraselmis suecica</i>	30,4 ± 0,31	17,2 ± 0,21	5,01 ± 0,16

Биохимический состав микроводорослей в фазе замедления роста

Таблица 2.

Вид водорослей	Содержание, % АСВ		
	белка	углеводов	липидов
<i>Isochrysis galbana</i>	37,45 ± 0,15	40,7 ± 0,23	15,2 ± 0,28
<i>Chaetoceros calcitrans</i>	37,34 ± 0,36	43,2 ± 0,08	11,87 ± 0,43
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	30,5 ± 0,10	30,3 ± 0,10	10,4 ± 0,07
<i>Tetraselmis suecica</i>	26,5 ± 0,07	24,1 ± 0,08	8,2 ± 0,21

Таблица 3.

Вид водорослей	Содержание, % АСВ		
	белка	углеводов	липидов
<i>Isochrysis galbana</i>	26,3 ± 0,24	22,7 ± 0,13	25,6 ± 0,09
<i>Chaetoceros calcitrans</i>	15,24 ± 0,24	13,21 ± 0,13	27,0 ± 0,09
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	30,5 ± 0,10	30,3 ± 0,10	10,4 ± 0,07
<i>Tetraselmis suecica</i>	26,5 ± 0,07	24,1 ± 0,08	8,2 ± 0,21
<i>Skeletonema costatum</i> *	25,0 ± 0,15	4,6 ± 0,05	10 ± 0,10

* Brown M.R. The amino-acid and sular composition of 16 species of microalgae in mariculture//Exp. Mar. Biol. Ecol.- 1991. – V. 145. – P. 79-95.

Формула изобретения

Способ подготовки кормов для выращивания гигантской устрицы *Crassostrea gigas* в Чёрном море в условиях питомника путем обеспечения личинок устрицы кормом на всех стадиях развития, используя на стадии велигера смесь микроводорослей *Isochrysis galbana* и *Chaetoceros calcitrans*, на стадии великонхи корм содержит микроводоросли *Isochrysis galbana*, *Chaetoceros calcitrans*, *Phaeodactylum tricornutum*, *Tetraselmis suecica*, а на стадии педивелигера в состав корма дополнительно вводят микроводоросль *Skeletonema costatum*, отличающийся тем, что микроводоросли культивируют при температуре 22-24°C и суммарной освещенности 10 тыс. лк в накопительном и проточном режимах с применением модифицированной среды Конвея, причем на стадии велигера используют микроводоросли, культивируемые в течение 17-ти дней в накопительном режиме, для стадии великонхи применяют 10-дневные микроводоросли, которые культивируют в проточном режиме, и для стадии педивелигера микроводоросли культивируют 24 дня в накопительном режиме, а модифицированная среда Конвея имеет следующий состав:

	NaNO ₃	200 г
	NaH ₂ PO ₄ ·2H ₂ O	40 г
	H ₃ BO ₃	67,2 г
5	MnCl ₂ ·4H ₂ O	0,72 г
	FeC·6H ₂ O	5,2 г
	ЭДТА (трилон Б)	90 г
	H ₂ O дистил.	2 л
	Раствор следов металлов	2 мл

10

15

20

25

30

35

40

45