



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: 2014150913/93, 30.10.2014

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
11.08.2008

Приоритет(ы):

Дата приоритета: 11.08.2008

Патент № 87639 (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):

Холодов Валентин Иванович (RU),
Иванов Валерий Николаевич (RU),
Ладыгина Людмила Ивановна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Институт биологии южных морей им. А.О.
Ковалевского (RU)

(54) СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ МОЛОДИ (СПАТА) МИДИЙ MYTILLUS GALLOPROVINCIALIS ДЛЯ ВЫРАЩИВАНИЯ В ЧЕРНОМ МОРЕ

(57) Реферат:

Изобретение относится к способу получения молоди (спата) мидий *Mytilus galloprovincialis* для выращивания в Черном море, который включает стимулирование нереста, обеспечение кормом на всех стадиях развития и сбор молодняка (спата) на коллекторы. Способ включает процессы нереста мидий, доращивание личинок и осаждение на коллекторы, которые проводят в питомнике, где плодников отбирают по фону - темно-синей (черной) окраске створок, и стимулируют их нерест весной резким повышением температуры

воды на 5-10°C относительно температуры содержания, а осенью - снижением на 5-10°C, потом выращивают полученные личинки при постоянной аэрации, обеспечивая кормом 1-2 раза каждый день: на стадии велигер используют микроводоросли *Isochrysis galbana* + *Monochrysis lutheri* в суммарной концентрации 40-50 тыс. кл./мл; на стадии великонхи и педивелигера - микроводоросли *Isochrysis galbana* + *Monochrysis lutheri* + *Phaeodactylum tricornutum* в суммарной концентрации 70-100 тыс. кл./мл.

RU 2 548 116 С1

RU 2 548 116 С1



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: **2014150913/93, 30.10.2014**(24) Effective date for property rights:
11.08.2008

Priority:

Priority date: **11.08.2008**Patent No. **87639 (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):

**Kholodov Valentin Ivanovich (RU),
Ivanov Valerij Nikolaevich(RU),
Ladygina Ljudmila Ivanovna(RU)**

(73) Proprietor(s):

**Institut biologii juzhnykh morej im. A.O.
Kovalevskogo (RU)**(54) **PRODUCTION OF MYTILLUS GALLOPROVINCIALIS MUSSEL SPAT FOR GROWING IN BLACK SEA**

(57) Abstract:

FIELD: agriculture.

SUBSTANCE: proposed process comprises mussel spawning, growing of larvas and settling at collectors in nursery. Here, carpel are selected by shell flap colour (black blue or black) and the spawning is stimulated in spring by abrupt increase in water temperature by 5-10°C relative to maintenance temperature. In autumn, temperature is decreased by 5-10°C. Then, obtained larvas are grown at constant aeration and fed 1-2 times

a day: at veliger stage used are microalgae Isochrysis galbana + Monochrysis lutheri at total concentration of 40-50 th. spec/ml; at veliconcha stage and pediveliger -microalgae Isochrysis galbana + Monochrysis lutheri + Phaeodactylum tricornutum at total concentration of 70-100 th. spec./ml.

EFFECT: stimulated spawning, feeding at all growth stages, collection of young at collectors.

RU 2 548 116 C 1

RU 2 548 116 C 1

Изобретение относится к марикультуре, а также может быть отнесено к области биотехнологий, связанных с получением биологически активных веществ (БАВ) и сырья для получения препаратов медицинского и лечебно-профилактического назначения.

Средиземноморская мидия *Mytilus galloprovincialis* - основной объект конхиокультуры во многих странах Европы - в Италии, Испании, Франции, т.е. в регионах, сходных с Черным морем по климатическим условиям. Разработано много способов и устройств, позволяющих процветать морскому хозяйству. Используемые методы описаны в монографиях М.Буссани (M.Bussani, Guida pratica di mitilicoltura. Edagricola: Bologna, 1983); Н.Давида (N.David, Fishing News Books, Oxford, England, 1991); В.Г.Крючкова. Гидробиологические сооружения для мидийных хозяйств Азово-Черноморского бассейна. Вниро, Москва, 1990; В методических рекомендациях по сбору, идентификации и количественному учету личинок средиземноморской мидий -В.А.Куликова, М.В.Переладов. Вниро, Москва, 1984).

Все технологии, однако, основаны на сборе спата и молоди мидий на коллекторы в природных условиях от производителей, нерестящихся посезонно, в зависимости от флуктуации естественных факторов среды. Сбор молоди, отродившейся естественно, с одной стороны существенно снижает стоимость процесса культивирования, но с другой стороны - вносит элемент случайности в начальный период выращивания моллюсков. Сроки нереста производителей в природе зависят от температурного режима среды -межгодовые изменения этого параметра составляют 1-3 месяца. Период оседания молоди от производителей, обитающих на различных биотопах, может быть растянут на 1-2 сезона. Личиночная стадия онтогенеза у черноморских мидий длится от 2-3 недель до 2-3 месяца в зависимости от условий среды и состояния субстрата для оседания. При этом отсутствует возможность контролировать количество спата, оседающего на коллекторы. В результате фермеры вынуждены ориентироваться на максимальную заселенность конструкций фермы и мириться с опаданием с коллекторов 80-90% моллюсков в течение первого года культивирования. "Опавшие" и погибшие моллюски в районе фермы создают опасность возникновения заморных явлений в донных биоценозах, усиливают возможность "вторичного загрязнения" акватории фермы. Подобный способ культивирования мидий ограничивает возможности селекционной работы с культивируемыми моллюсками.

Преодолеть перечисленные трудности и недостатки возможно, если перенести процесс получения личинок и стадию их оседания на коллекторы в условия питомника.

Наиболее близким по технической сущности является (см. П. №76680 С2, Украина, МПК А01К 61/00) способ выращивания гигантской устрицы *Crassostrea gigas* в Черном море, в котором в условиях питомника осуществляют кондиционирование производителей, стимуляцию нереста и получение половых продуктов. Через 15 минут после оплодотворения проводят селекцию яйцеклеток по размерам. На всех стадиях развития устриц обеспечивают кормом, причем на ранних стадиях развития корм состоит из *Isochrysis galbana* и *Chaetoceros calcitrans* в концентрации до 100 тыс. кл./мл при соотношении клеток 2:1, на поздних включает микроводоросли *Isochrysis galbana*, *Chaetoceros calcitrans*, *Phaeodactylum tricornerum*, *Tetraselmis suecica* в концентрации корма до 200 тыс.кл./мл при соотношении клеток 2:1:1:1 соответственно, а на стадии педивелигера в состав корма дополнительно вводят микроводоросль *Skeletonema costatum* (2 части) при общей концентрации 200-250 тыс.кл./мл. Для селекции по размерам яйцеклетки собирают на мельничное сито с диаметром ячеек 32 мкм и промывают фильтрованной и стерилизованной морской водой. Эмбриональное развитие яйцеклеток проводят в стерилизованной морской воде с аэрацией. Недостаток известного способа

заключается в том, что он разработан для культивирования устриц и не может быть применен для культивирования мидий.

В основу изобретения „Способ получения молоди (спата) мидий *Mytillus galloprovincialis* для выращивания в Черном море" поставлена задача путем получения в условиях питомника жизнестойкой молоди мидий, создания оптимальных условий в питомнике для выращивания личинок, обеспечить повышение эффективности работы ферм по культивированию мидий.

Поставленная задача решается тем, что процессы нереста мидий, подращивания личинок и оседание на коллекторы проводят в питомнике, для чего производителей отбирают по фену - темно-синей (черной) окраске створок и нерест стимулируют весной резким повышением температуры воды содержания на 5-10°C, а осенью - понижением на 5-10°C, обеспечивая кормом личинок на всех стадиях развития, причем на стадии велигер используют микроводоросли *Isochrysis galbana* + *Monochrysis lutheri* в суммарной концентрации 40-50 тыс. кл./мл; на стадии великонхи и педивелигера - микроводоросли *Isochrysis galbana* + *Monochrysis lutheri* + *Phaeodactylum tricornutum* в суммарной концентрации 70-100 тыс. кл./мл. Способ реализуется следующим образом.

Производителей мидий *Mytillus galloprovincialis* подбирают по фену - темно-синей (черной) окраске створок. Авторами установлено, что моллюски темно-синей (черной) окраски створок мидий обладают способностью образовывать биссусные нити прочнее и в большем количестве, чем моллюски фена - светлой окраски. Отобранных моллюсков помещают в аквариум с проточной водой, при температуре 6-8°C (весной) или 20-23°C (осенью). В таких условиях (без корма) производителей содержат в течение недели. За это время кишечник мидий освобождается от остатков непереваренной пищи и завершается процесс формирования гонад. Нерест стимулируют температурным шоком, помещая производителей в воду повышенной на 5-10°C (весенний период работ) или пониженной на 5-10°C (осень) температуры. Вымет половых продуктов контролируют визуально. Для осуществления оплодотворения сперматозоиды переносят в сосуд с яйцеклетками из расчета 8-10 сперматозоидов на 1 яйцеклетку. После оплодотворения яйцеклетки отделяют от сперматозоидов. Образовавшихся трохофор переносят в бак для выращивания, заполненный фильтрованной водой. При культивировании личинок поддерживают плотность 50-60 тыс. яиц на 1 литр; температура воды 12-17°C (весной) и 15-20°C (осенью).

Для селекции по размерам яйцеклетки собирают на мельничное сито с диаметром ячеек 32 мкм, промывают фильтрованной и стерилизованной морской водой. Эмбриональное развитие яйцеклеток проводят в стерильных условиях. При стимуляции нереста "температурным шоком" происходит нерест зрелых сперматозоидов и яйцеклеток, что обеспечивает высокую выживаемость личинок. Проведение селекции оплодотворенных яйцеклеток и отделение их от остальной массы половых продуктов обеспечивает прохождение раннего эмбриогенеза без нарушений, а также начальный этап генетико-селекционных мероприятий с культивируемыми мидиями.

На всех стадиях развития мидий обеспечивают оптимальным для развития кормом: на стадии велигер рацион кормов состоит из микроводорослей *Isochrysis galbana* + *Monochrysis lutheri* суммарная концентрация 40-50 тыс. кл./мл. На стадии великонхи и педивелигера - микроводоросли *Isochrysis galbana* + *Monochrysis lutheri* + *Phaeodactylum tricornutum*, суммарная концентрация 70-100 тыс. кл./мл. Пример.

В марте-апреле, когда температура воды на ферме не превышала 6-8°C, за месяц до предполагаемого срока нереста контролировали формирование гамет. За неделю до нереста, после определения стадии созревания мидий, отбирали наиболее симметричных,

без видимых изъянов производителей с темно-синей (черной) окраской створок, достигших на второй год культивирования размеров 3-5 см. Для снижения инбридинга количество производителей, используемых в процессе размножения, должно быть около 100 экз. Отобранных производителей чистили щеткой, удаляли грязь и, особенно, от организмов-обрастателей. Отмытых мидий помещали на ложном-дне (сеть-хамсерос) на высоте 10-15 см от дна аквариума с проточной водой, профильтрованной через фильтр с порами 1 мкм, при температуре 6-8°C (весной) или 20-23°C (осенью). В таких условиях (без корма) производителей содержали в течение недели. За это время кишечник мидий освобождался от остатков непереваренной пищи; завершался процесс формирования гонад и обеспечивалось получение чистых половых продуктов.

Через неделю производителей переводили в ванну с непроточной водой при температуре 12-18°C. Нерест мидий наступал в течение первых нескольких минут, что отмечали по выбросу половых продуктов. Мужские гаметы или сперматозоиды выходили наружу в виде беловатой струйки, а женские (яйцеклетки) - в виде светлого облачка из мелких гранул. При массовом нересте самцов и самок оплодотворенные яйцеклетки обнаруживали через 15-20 мин. Через 60 мин. после нереста яйцеклетки собирали на мельничное сито с диаметром ячеек 20 мкм и промывали фильтрованной стерильной морской водой температуры 12-18°C. Температуру воды в течение инкубирования поддерживали на уровне 12-17°C, что близко к естественным условиям культивирования моллюсков в этот период года.

Выращивание личинок проводили в цилиндрических емкостях из пластика объемом от 100 до 3000 л при постоянной аэрации и ежедневной подаче корма в 1-2 приема. В первую неделю культивирования замену воды производили ежедневно, в последующие - через двое суток. На разных стадиях культивирования кормили личинок: на стадии велигер - микроводоросли *Isochrysis galbana* + *Monochrysis lutheri* суммарная концентрация 40-50 тыс. кл./мл; на стадии великонхи и педивелигера - микроводоросли *Isochrysis galbana* + *Monochrysis lutheri* + *Phaeodactylum tricornutum*, суммарная концентрация 70-100 тыс. кл./мл

Для оседания мидий использовали коллекторы из различных материалов и различной конфигурации. Наиболее подходящие - кусочки дели от использованных тралов, которые возможно калибровать и добиваться сравнительного однообразия в форме, весе и, следовательно, площади для оседания молоди. Перед оседанием субстраты мыли, чистили, дезинфицировали и выдерживали в фильтрованной морской воде в течение суток.

Великонх с глазком размером 300-500 мкм переносили в емкости с подготовленными коллекторами. Количество личинок до 1 тыс. экз/л. Концентрация корма 200-250 тыс. кл./мл. Через 2 недели после оседания личинок коллекторы со спатом с соблюдением возможных мер безопасности переносили в море для дорастивания. Через месяц, три, шесть проводили контрольное определение количества мидий на коллекторах для определения эффективности реализованного метода, загруженности конструкций фермы мидиями.

При использовании осеннего потенциала размножения мидий, условия содержания производителей и личинок аналогичны, но "температурный шок" создавали резким снижением температуры среды (до 18°C), которое и стимулировало нерест.

Преимущества предлагаемого "Способа получения молоди (спата) мидий" заключаются в том, что процесс нереста, оседания молоди, и получения спата для массового культивирования переносится в контролируемые условия. В питомнике возможно контролировать количество спата, оседающего на коллекторы, проводить

селекционную работу с моллюсками, поставить на промышленную основу производство мидий для последующего культивирования, а также снизить риск возникновения заморных зон и вторичного загрязнения акватории марихозьяства.

Формула изобретения

5

Способ получения молоди (спата) мидий *Mytillus galloprovincialis* для выращивания в Черном море, включающий стимулирование нереста, обеспечение кормом на всех стадиях развития и сбора молоди (спата) на коллекторы, отличающийся тем, что процессы нереста мидий, подращивания личинок и оседание на коллекторы проводят в питомнике, где производителей отбирают по фену - темно-синей (черной) окраске створок и стимулируют их нерест весной резким повышением температуры воды содержания на 5-10°C относительно температуры содержания, а осенью - понижением на 5-10°C, затем выращивают полученные личинки при постоянной аэрации, обеспечивая кормом 1-2

10 где производителей отбирают по фену - темно-синей (черной) окраске створок и стимулируют их нерест весной резким повышением температуры воды содержания на 5-10°C относительно температуры содержания, а осенью - понижением на 5-10°C, затем выращивают полученные личинки при постоянной аэрации, обеспечивая кормом 1-2

15 раза ежедневно: на стадии велигер используют микроводоросли *Isochrysis galbana* + *Monochrysis lutheri* в суммарной концентрации 40-50 тыс. кл./мл, на стадии великонхи и педивелигера - микроводоросли *Isochrysis galbana* + *Monochrysis lutheri* + *Phaeodactylum tricornutum* в суммарной концентрации 70-100 тыс. кл./мл.

20

25

30

35

40

45