



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК
A01K 61/00 (2006.01)

(21)(22) Заявка: 2017142059, 01.12.2017

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
01.12.2017

Дата регистрации:
18.10.2018

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 01.12.2017

(45) Опубликовано: 18.10.2018 Бюл. № 29

Адрес для переписки:

299011, г. Севастополь, пр. Нахимова, 2,
директору ФГБУН "Институт морских
биологических исследований имени А.О.
Ковалевского РАН" д.б.н., проф. С.Б. Гулину

(72) Автор(ы):

Ханайченко Антонина Николаевна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное бюджетное
учреждение науки "Институт морских
биологических исследований имени А.О.
Ковалевского РАН" (RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: RU 2541458 C1, 10.02.2015. RU
2614644 C1, 28.03.2017. UA 81055 U, 25.06.2013.

(54) СПОСОБ ДЛИТЕЛЬНОГО ХРАНЕНИЯ ЯИЦ КАЛАНОИДНЫХ КОПЕПОД АКАРЦИЙ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ СИНХРОННОЙ КУЛЬТУРЫ ОДНОВОЗРАСТНЫХ НАУПЛИЕВ

(57) Реферат:

Изобретение относится к области морской аквакультуры и предназначено для получения покоящихся яиц морских копепод длительного хранения. Способ включает ежедневный сбор продуцируемых акариями яиц, которые отмывают от детритных частиц и промывают дезинфицирующим раствором. Полученные порции яиц акарций помещают в морскую воду пониженной солености, температуры и с минимальным содержанием кислорода. Затем их концентрируют в сосудах без доступа кислорода и света и сохраняют в консервированном виде в темноте при температуре $+3(\pm 1)^{\circ}\text{C}$ в течение 6 месяцев. Для перевода покоящихся яиц акарций

в активное состояние и для выклева жизнеспособных науплиев яйца акарций промывают стерильной морской водой соленостью 18 ‰. Затем температуру воды постепенно поднимают от $3\pm 1^{\circ}\text{C}$ до $19\pm 1^{\circ}\text{C}$. Яйца переносят в инкубатор с обработанной морской водой с температурой $19\pm 1^{\circ}\text{C}$, с кислородом, повышенным до уровня 85-100% насыщения, и постоянной освещенностью на поверхности инкубатора не менее 500 люкс при плотности около 10 яиц на 1 мл. Способ обеспечивает получение массовых высококачественных живых кормов однородного состава. 1 пр.

RU 2 670 159 C1

RU 2 670 159 C1



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC
A01K 61/00 (2006.01)

(21)(22) Application: **2017142059, 01.12.2017**

(24) Effective date for property rights:
01.12.2017

Registration date:
18.10.2018

Priority:

(22) Date of filing: **01.12.2017**

(45) Date of publication: **18.10.2018** Bull. № 29

Mail address:

**299011, g. Sevastopol, pr. Nakhimova, 2, direktoru
FGBUN "Institut morskikh biologicheskikh
issledovanij imeni A.O. Kovalevskogo RAN" d.b.n.,
prof. S.B. Gulinu**

(72) Inventor(s):

Khanajchenko Antonina Nikolaevna (RU)

(73) Proprietor(s):

**Federalnoe gosudarstvennoe byudzhetnoe
uchrezhdenie nauki "Institut morskikh
biologicheskikh issledovanij imeni A.O.
Kovalevskogo RAN" (RU)**

(54) **METHOD OF LONG-TERM STORAGE OF EGGS OF CALANIDIC COPEPODS OF ACARTIAS FOR RECEIVING SYNCHRONOUS CULTURE OF SAME AGE NAUPLII**

(57) Abstract:

FIELD: aquaculture.

SUBSTANCE: invention relates to the field of marine aquaculture and is intended for obtaining dormant eggs of marine copepods for long-term storage. Method includes daily collection of the eggs produced by the withers, which are washed from detrital particles and washed with a disinfectant solution. Obtained portions of the eggs of the acartias are placed in the sea water of reduced salinity, temperature and with a minimum oxygen content. They are then concentrated in vessels without access to oxygen and light and stored in a canned form in the dark at a temperature of +3(±1) °C for 6 months. To transfer the resting eggs to the

active state and to harvest viable nauplii, the eggs are washed with sterile sea water with salinity of 18 ‰. Then the water temperature is gradually raised from 3±1 °C to 19±1 °C. Eggs are transferred to an incubator with treated sea water at a temperature of 19±1 °C, with oxygen elevated to a level of 85–100 % saturation, and constant illumination on the surface of the incubator of at least 500 lux at a density of about 10 eggs per 1 ml.

EFFECT: method provides for obtaining high-quality, high-quality live feeds of a uniform composition.

1 cl, 1 ex

Изобретение относится к области морской аквакультуры и предназначено для получения покоящихся яиц морских копепод длительного хранения, из которых можно быстро получать массу однородных высококачественных кормовых организмов, необходимых при культивировании ценных морских рыб и ракообразных на ранних стадиях развития, а также для экспериментальных работ по морской биологии, популяционной генетике, планктонологии, физиологии, морской экотоксикологии и для создания банка покоящихся стадий копепод.

Известно, что именно морские каланоидные копеподы, являющиеся основным кормом личинок рыб в естественных условиях, обеспечивают нормальное развитие всех жизненно-необходимых систем их организма. Использование копепод в массовых количествах в условиях аквакультуры осложнено тем, что для получения большого количества их науплиев или копеподитов необходимо функционирование многочисленных водных бассейнов больших объемов в связи с тем, что копеподы, в отличие от другого живого корма, коловраток, имеют длительный цикл развития, состоящий из 12 науплиальных и 12 копеподитных стадий, взрослые стадии склонны к каннибализму собственных яиц и ранних науплиальных стадий, и не выдерживают высоких плотностей при их содержании в искусственных условиях.

Известен Способ культивирования веслоногих ракообразных (веслоногие ракообразные синоним - копепод - прим. автора) (Пат. 34843, МПК А01К 61/00, 2001, Украина). Способ предусматривает внесение кварцевого песка, неорганических и органических удобрений в пруды или цементные бассейны, которые стимулируют спонтанное последовательное развитие бактериопланктона, фитопланктона, простейших и зоопланктона, в состав которого входят веслоногие ракообразные (копеподы) разных видов, и который позволяет начинать получать продукцию копепод через 50 сут после инокуляции их в выростные объемы. Основными недостатками этого метода является необходимость использования больших прудов для выращивания (минимум 750 м³), многокомпонентность пищевой цепи, включающая слабо регулируемое наращивание сначала бактериально-инфузорного комплекса, затем фитопланктона, затем зоопланктонного комплекса (без конкретизации видового состава каждого из вышеперечисленных уровней пищевой цепи), и как результат, слабая регуляция выхода продукции веслоногих ракообразных в смеси разновидовых беспозвоночных.

Известен Способ культивирования каланоидных копепод *Arctodiaptomus salinus* (Daday) (Пат. 81055, МПК А01К 61/00, 2012, Украина). Данный вид копепод вынашивает яйца в яйцевых мешках, а не выметывает их в воду (как акарции), что усложняет возможность сбора яиц и их инкубацию в отдельных емкостях. Также долговременный период генерации удлиняет сроки производства живого корма данного вида.

Известен «Способ культивирования каланоидных копепод *Calanus euxinus* (черноморского калянуса) - вида наиболее крупных каланоидных копепод низкотемпературного глубоководного комплекса Черного моря (Пат. 2541458, МПК А01К 61/00, 2014, РФ), который включает выделение диких самок калянуса из зоопланктонных ловов, содержание их в условиях культивирования и получение от них в течение нескольких месяцев яиц и последовательное получение синхронных возрастных когорт науплиев и копеподитов. Основными недостатками этого способа является то, что он базируется на регулярном получении производителей (самок копепод рода калянус) из моря, т.е. зависит от сезонных и погодных факторов; и то, что он предназначен для культивирования крупных копепод глубоководного морского комплекса, имеющих термопреферендум в области низких температур ($\leq 15^{\circ}\text{C}$) и, соответственно, замедленные темпы развития от науплиальных до копеподитных стадий

(около 30 сут), что затрудняет быстрое получение массового количества необходимых стадий копепод.

Известен «Способ интенсивного когортного культивирования акарций (морских каланоидных копепод)» (Пат. 2614644, МПК А01К 61/00, 2015, РФ), по которому в 5 короткие временные сроки получают массовую искусственную моновидовую популяцию акарций и при ее длительной эксплуатации в течение множественных (более 100) поколений, ежедневно получают определенную продукцию яиц, ежедневно получают из них науплиев, и выращивают определенную продукцию размерно-возрастных 10 категорий (когортных групп) акарций за определенные временные сроки. Недостатками данного метода являются: 1) необходимость постоянного культивирования акарций в больших объемах в оптимальных трофических и температурных условиях; 2) в связи с пунктом (1) - постоянный большой расход культивируемых микроводорослей для кормления массовых культур копепод; 3) необходимость частого своевременного 15 разделения когортных групп копепод с целью предотвращения каннибализма взрослыми особями науплиальных стадий и для получения определенных стадий копепод для определенного возраста личинок рыб; 4) большие затраты электроэнергии и человеческих ресурсов в связи с пунктами (1) и (2) и (3). Поэтому этот способ, несмотря на его надежность в своевременном получении качественных кормовых организмов прогнозируемого аминокислотного и жирнокислотного состава, является 20 дорогостоящим, требующим больших технологических затрат.

Задачей «Способа длительного хранения яиц каланоидных копепод акарций для получения массовой синхронной культуры одновозрастных науплиев» является разработка технологии, обеспечивающей получение в искусственных условиях большого 25 количества яиц от моновидовой популяции акарций, их накопление путем длительного хранения в жизнеспособном состоянии сроком до 6 месяцев, и получение из них массового количества науплиев или копеподитов акарций (высококачественных живых кормов) в детерминированные короткие сроки.

Технический результат изобретения заключается в технологичности способа, выраженной в возможности уменьшить площади, объемы, расход энергии и человеческих 30 ресурсов для культивирования копепод высококачественных кормов. Кроме того, снижаются потери продуцируемых яиц, т.к. сочетание технических приемов сводит до минимума каннибализм взрослых стадий. Выживаемость эмбрионов в течение длительного хранения повышается благодаря: 1) отработанному таймингу сбора яиц копепод, позволяющему получить эмбрионы однородной ранней стадии развития; 2) 35 проведению дезинфекции яиц, позволяющей освободиться от патогенных организмов, повышающей выживаемость самих копепод, и при использовании их в качестве живых кормов повышающей выживаемость личинок рыб; 3) проведению дополнительной обработки яиц стерильной водой пониженной солености и пониженной температуры яйца подготавливаются к покоящемуся состоянию в период гибернации; 4) содержанию 40 покоящихся яиц без доступа света и воздуха снижается их метаболизм, что позволяет хранить их в жизнеспособном состоянии длительное время. И наконец, предлагаемый способ позволяет вывести отдельные порции яиц из стадии покоя и в короткий срок получить из них большую массу однородных науплиев - качественных кормовых организмов.

45 Указанный технический результат достигается тем, что в способ, включающий формирование из естественного планктона маточного стада половозрелых акарций, которых содержат в условиях получения максимальной продукции жизнеспособных яиц, введены ряд изменений и дополнений. Например, ежедневно дважды в сутки, не

реже, чем через каждые 12 часов, выполняют сбор продуцируемых акариями яиц, которые отмывают от детритных частиц, промывают дезинфицирующим раствором. Полученные порции яиц акариций подготавливают к состоянию покоя: помещают в морскую воду пониженной солености, температуры и с минимальным содержанием кислорода. Затем их концентрируют в сосудах без доступа кислорода и света и сохраняют в консервированном виде в темноте при температуре $+3(\pm 1)^{\circ}\text{C}$ в течение 6 месяцев. Для перевода покоящихся яиц акариций в активное состояние и для выклева жизнеспособных науплиев за 24-48 ч до выклева яйца акариций промывают стерильной морской водой соленостью 18 ‰. Затем температуру воды постепенно поднимают от $3\pm 1^{\circ}\text{C}$ до $19\pm 1^{\circ}\text{C}$, переносят в инкубатор с обработанной морской водой с температурой $19\pm 1^{\circ}\text{C}$, с уровнем кислорода, повышенным до 85-100% насыщения и постоянной освещенностью на поверхности инкубатора не менее 500 люкс при плотности около 10 яиц на 1 мл.

Способ реализуется следующим образом.

- 1) Выделение в культуру половозрелых в возрасте максимальной фертильности акариций (самцов и самок), содержание в культуре и регулярное оптимальное кормление для получения качественных яиц;
- 2) Процедура сбора яиц акариций дважды в сутки;
- 3) Дезинфекция яиц акариций;
- 4) Подготовка яиц акариций к стадии покоя и длительной гибернации;
- 5) Хранение порций яиц акариций в оптимальных условиях;
- 6) Перевод яиц акариций в активное состояние и инкубация их до выклева жизнеспособных науплиев;
- 7) Подращивание возрастных когорт акариций.

После начала откладки яиц самками акариций, дважды в сутки (например, в 8 и 20 час) в соответствии с циклом продукции яиц самками акариций (два пика - в ночное время и во второй половине дня), производится слив продукции яиц из нижней части инкубатора. Для этого производят мягкое перемешивание и очистку стенок, отключают барботаж, и через 30 мин после этого - резкий слив (до 2% объема) из нижней части инкубатора. Слив культуральной жидкости производится через цилиндрический стакан, дно которого представляет капроновое сито с ячейей 50 мкм, на которое концентрируется осадок слива, содержащий свежотложенные (возрастом не более 12 час) яйца акариций и детрит.

Постоянное присутствие необходимой концентрации микроводорослей, которыми питаются копеподы, и своевременный (2-жды в сутки) сбор яиц снижают вероятность каннибализма взрослых акариций (свойственного данному виду копепод), а также значимо повышает выживаемость яиц при длительном хранении.

Концентрированный на сите осадок в течение 10 мин промывают охлажденной стерильной морской водой. После отмывания от детрита, обработки дезинфицирующим раствором и промывания после дезинфекции стерильной водой (минимум 5 сливов), полусуточные порции яиц концентрируют в небольшом объеме стерильной морской воды в стерильном темном сосуде, снижают концентрацию кислорода до минимума и, плотно закрыв крышкой, предотвращающей доступ воздуха, сохраняют в холодильнике при температуре $+3(\pm 1)^{\circ}\text{C}$ (сроки хранения до 6 месяцев) до момента использования их в качестве инокулята с целью получения массы единовременно выклюнувшихся науплиев, или, после их подращивания, более поздних стадий акариций.

С целью получения жизнеспособных науплиев акариций размерной группы 110-260 мкм ко дню X, за 2 суток до их использования в качестве живых кормов, необходимо

промыть на сите 50 мкм консервированные яйца охлажденной озонированной морской водой не менее 4-х раз, постепенно (в течение минимум 1 часа) поднимая температуру воды от температуры хранения до оптимальной температуры для выклева науплиев ($19 \pm 1^\circ\text{C}$), поместить яйца в инкубатор при плотности максимум 10 экз./мл, установить
5 мягкую продувку воздухом.

Для получения единовременно снимаемой продукции науплиев, выклюнувшихся из яиц акарий длительного холодного хранения, их после дезинфекции и постепенного доведения температуры до оптимума, можно инокулировать непосредственно в
10 стерильные полиэтиленовые мешки, с предварительно выращенной в них или добавленной перед началом инкубации яиц копепод культурой микроводорослей, находящихся в экспоненциальной фазе роста (около 10^5 кл/мл). Через 2-3 суток после инокуляции можно полностью сливать объем с начавшими питаться науплиями акарий 125-160 мкм в бассейны для выращивания личинок.

Для получения необходимого количества соответствующих потенциальным
15 потребностям личинок рыб к моменту времени их перевода на питание копеподами определенных размерных стадий рассчитывается в соответствии со скоростью их роста при определенных условиях. Так, например, для кормления 6-10 суточных личинок черноморского калкана необходимы науплиальные стадии (110-400 мкм), которые получают в течение 1-4 суток после выклева из яиц, для кормления 15-20 суточных
20 личинок черноморского калкана - копеподитные и взрослые стадии (415-1000 мкм), получаемые в течение 4-12 суток после выклева из яиц, в зависимости от стадии, при температурном режиме $21-24^\circ\text{C}$. Для получения массы копепод стандартных размеров необходимо поддерживать так называемые размерно-возрастные когорты копепод, управляя (ускоряя или снижая скорость их развития) при помощи изменения
25 температурного режима (соответственно повышения или снижения температуры в пределах оптимума температурного диапазона) для получения нужного количества стадий копепод необходимого размера, соответственно пищевым потребностям определенного возраста личинок.

Предложенный Способ длительного хранения яиц каланоидных копепод акарий
30 для получения массовой синхронной культуры одновозрастных науплиев позволяет предварительно (в течение срока до 6 мес.) накапливать достаточное количество яиц копепод и сохранять их в покоящемся состоянии в стабильных условиях, и после их перемещения в оптимальные для выклева условия, за короткий срок (2-4 сут - в зависимости от температуры, корма и потребностей личинок) получать необходимое
35 количество однородных одноразмерных науплиев копепод прогнозируемого аминокислотного, жирнокислотного и каротиноидного состава, удовлетворяющих пищевым потребностям личинок для нормального развития.

Ежедневное продуцирование яиц акариями достигается оптимальными условиями содержания половозрелых самок и самцов при оптимальном соотношении и в наиболее
40 производительном возрасте. Регулярный ежесуточный сбор продуцируемых яиц и дальнейшее выращивание последовательных жизненных стадий от синхронного выклева науплиев обеспечивает регулярное и заранее рассчитанное получение массы когорты акарий определенного размера и количества.

Возможность длительного хранения покоящихся яиц акарий осуществляется в
45 результате совокупного соблюдения следующих условий:

- создания благоприятных условий продуцирования самками акарий массового количества качественных яиц с оптимальным составом запасных питательных веществ, обеспечивающих запасы и метаболизм эмбрионов в течение гибернации, развития и

выклева;

- своевременного сбора яиц приблизительно одинакового возраста менее 12 час для обеспечения хранения яиц и синхронизации выклева науплиев после окончания периода гибернации;

5 - правильной подготовки собранных яиц к условиям длительного хранения в условиях гибернации;

- правильных условий перевода яиц из стадии покоя в стадию дальнейшего развития эмбрионов до выклева жизнеспособных науплиев.

Пример реализации способа.

10 Предлагаемый «Способ длительного хранения яиц каланоидных копепод акарций для получения массовой синхронной культуры одновозрастных науплиев» был успешно апробирован для сбора яиц акарций, продуцируемых самками, их длительного хранения, а по прошествии времени хранения (до 6 месяцев) - получения жизнеспособных науплиусов акарций и новой генерации из яиц длительного хранения.

15 Содержание половозрелых акарций-производителей в культуре

Живых половозрелых самок и самцов акарций (в наиболее продуктивном возрасте 11-12 суток и соотношении полов около 2:1) из массовой когортной культуры последовательно промывали в дезинфекционном растворе, затем стерилизованной морской водой и помещали в выростной цилиндрикоконический бассейн (2 м³) со стерилизованной морской водой соленостью 17.5±0.5‰ и температурой 20±1 °С при плотности 200-300 экз/л. Для оптимального продуцирования яиц акарциями ежедневно добавляли микроводоросли, служащие кормом копеподам (смесь морских одноклеточных микроводорослей *Isochrysis galbana*, *Rhodomonas baltica*, *Prorocentrum minimum* в объемном соотношении культур 1:1:1 с добавлением гетеротрофных динофлагеллят *Oxyrrhis* sp.) из массовых культур в экспоненциальной фазе развития. Освещение бассейнов с копеподами-производителями производили сверху (в режиме 12:12 день:ночь) 1000-3000 люкс на поверхности воды в инкубаторе, нижняя часть которого затемнена, обеспеченном мягкой продувкой воздухом (не более 500 мл/мин).

Процедура получения продукции яиц акарций

30 В процессе продукционного цикла, через каждые 12 часов, начиная с 8 часов утра - после включения света, при освещенной поверхности инкубатора, производили мягкую очистку боковых поверхностей и дна инкубатора, перемешивали объем, отключали аэрацию, и через 30 мин после ее отключения, путем резкого поворота сливного крана производили резкий слив не более 5% общего объема морской воды, который отфильтровали через газовое сито с ячейей 50 мкм. За 30 мин. в результате позитивного фототаксиса взрослые акарций перемещались преимущественно в верхний, наиболее хорошо освещаемый слой воды, а яйца акарций (82±2 мкм), из-за удельной плотности, превышающей плотность воды, опускались вниз и, таким образом, при резком сливе нижней части объема на сите концентрировались преимущественно яйца акарций, свободные и прикрепленные к сопутствующим детритным частицам. Для предотвращения случайного попадания взрослых акарций в концентрат желательна префильтрация слива через предварительный фильтр с ячейей 150 мкм.

45 После этой процедуры в цилиндрикоконическом бассейне возобновляли прежний объем свежей стерильной морской водой с одновременным добавлением свежих культур микроводорослей. Процедуру слива и коцентрирования яиц акарций применяли повторно, перед вечерним отключением искусственного освещения. За суточный цикл культивирования акарций - производителей в бассейне 2 м³ получали от 2 до 6 млн. яиц акарций (в 2-х порционных сборах).

Перевод яиц акарий в условия длительного хранения

Каждую порцию свежесобранных яиц копепоид (отдельно), смешанных с детритом (концентрированный осадок), сразу же после слива тщательно в течение минимум 10 минут промывали охлажденной морской водой пониженной солености (стерильной морской водой, разбавленной дистиллятом до $9.5 \pm 0.5\%$). После отмывания от детрита сконцентрированные яйца обрабатывали дезинфицирующим раствором (например, фуразолидоном 0.001%), промывания стерильной водой (минимум 5 сливов) от дезинфицирующего раствора и подготавливали их для длительного хранения в состоянии покоя. Для этого концентрат в кратчайшие сроки помещали в емкости из темного стекла, которые доверху заполняли стерильной морской водой (около 18‰) в условиях аноксии, изолировали от поступления воздуха и помещали в темноту в температуру $+3 (\pm 1)^\circ\text{C}$ (холодильную установку). В течение всего времени физические условия хранения не изменялись. Особенно важно соблюдение герметичности емкостей с порциями покоящихся яиц, недопущение колебания температуры в пределах более 1°C и изменения освещенности, т.е. любого из факторов, сдвигающих метаболизм эмбрионов в покоящихся яйцах акарий в сторону его повышения.

Перевод яиц акарий в активное состояние и инкубация их до выклева жизнеспособных науплиев

За 48 часов до момента, когда было необходимо получить массовую когорту жизнеспособных науплиев, яйца акарий постепенно переводили в условия, способствующие оптимальному выклеву из них жизнеспособных науплиев: промывали насыщенной кислородом стерильной морской водой (около 18%) на сите методом обратной фильтрации, постепенно поднимая температуру воды от температуры хранения $+3 (\pm 1)^\circ\text{C}$ до $19 \pm 1^\circ\text{C}$, и при плотности около 10 яиц на 1 мл вносили в инкубатор с обработанной механической фильтрацией и ультрафиолетом морской водой с температурой $19 \pm 1^\circ\text{C}$, с кислородом повышенным до уровня 85-100% насыщения в результате барботажа, с постоянной освещенностью на поверхности инкубатора минимум 500 люкс.

Из покоящихся яиц акарий, сохраняемых в условиях гибернации и гипоксии менее 2 мес, жизнеспособные науплии начинали выклевываться приблизительно через 24 час, с процентом выклева из яиц 70-80%. Таким образом, из порции яиц 100000, при условиях правильного хранения в течение 2 месяцев, получали 70000-80000 жизнеспособных науплиев на выклеве.

При условии хранения до 4 мес. выклев жизнеспособных науплиев снижался до 60-70%, а сроки их выклева оказывались более растянутыми, до 36 час от начала инкубации. Таким образом, из порции яиц 100000, при условии правильного хранения в течение 4 месяцев, и соблюдении правильных условий вывода из покоящегося состояния и оптимальных условий инкубации, получали 60000-70000 жизнеспособных науплиев на выклеве.

При хранении яиц в покоящемся состоянии гибернации до 6 месяцев, выклев жизнеспособных науплиев снижался до 50-60%, а сроки их выклева были более растянутыми, вплоть до 48 час от начала инкубации. Таким образом, из порции яиц 100000, при условии правильного хранения в течение 6 месяцев и соблюдении правильных условий вывода из покоящегося состояния и оптимальных условий инкубации, получали до 50000-60000 жизнеспособных науплиев на выклеве.

(57) Формула изобретения

Способ длительного хранения яиц каланоидных копепоид акарий для получения

массовой синхронной культуры одновозрастных науплиев, включающий формирование из естественного планктона маточного стада половозрелых акарий, которых содержат в условиях получения максимальной продукции жизнеспособных яиц, отличающийся тем, что ежедневно дважды в сутки, не реже чем через каждые 12 часов, выполняют
5 сбор продуцируемых акариями яиц, которые отмывают от детритных частиц, промывают дезинфицирующим раствором, и полученные порции яиц акарий подготавливают к состоянию покоя, помещая в морскую воду пониженной солености, температуры и с минимальным содержанием кислорода, затем их концентрируют в сосудах без доступа кислорода и света и сохраняют в консервированном виде в темноте
10 при температуре $+3(\pm 1)^{\circ}\text{C}$ в течение 6 месяцев, а для перевода покоящихся яиц акарий в активное состояние и для выклева жизнеспособных науплиев за 24-48 ч до выклева яйца акарий промывают стерильной морской водой соленостью 18 ‰, постепенно поднимая температуру воды от $3\pm 1^{\circ}\text{C}$ до $19\pm 1^{\circ}\text{C}$, переносят в инкубатор с обработанной морской водой с температурой $19\pm 1^{\circ}\text{C}$, с кислородом, повышенным до уровня 85-100%
15 насыщения, и постоянной освещенностью на поверхности инкубатора не менее 500 люкс при плотности около 10 яиц на 1 мл.

20

25

30

35

40

45