

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК
A01K 61/00 (2024.01)

(21)(22) Заявка: 2023133726, 14.12.2023

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
14.12.2023Дата регистрации:
04.03.2025

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 14.12.2023

(45) Опубликовано: 04.03.2025 Бюл. № 7

Адрес для переписки:

298309, Респ. Крым, г. Керчь, ул.
Орджоникидзе, 82, ФГБОУ ВО "КГМТУ",
начальнику ООНИД С.С. Серёгину

(72) Автор(ы):

Битютская Ольга Евгеньевна (RU),
Булли Любовь Ивановна (RU),
Уколов Алексей Иванович (RU),
Мазалова Наталья Федоровна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего
образования "Керченский государственный
морской технологический университет"
(ФГБОУ ВО "КГМТУ") (RU)(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: RU 2733136 C1, 29.09.2020. RU
2805315 C1, 13.10.2023. KZ 24990 A4, 15.12.2011.

(54) СПОСОБ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ КОЛОВРАТОК BRACHIONUS PLICATILIS MULLER

(57) Реферат:

Изобретение относится к гидробиологии и рыбоводству и может быть использовано для получения живого корма для личинок рыб. Морскую воду пропускают через песчано-ракушечный фильтр и систему микрофильтрации, обеззараживают с помощью обработки гидродинамической кавитацией и аэрируют,

вносят культуру коловраток, культуру морских микроводорослей *Diacronema lutheri*, незаменимые аминокислоты метионин, лизин в соотношении 1:2 соответственно. Изобретение обеспечивает повышение продуктивности культуры коловраток *Brachionus plicatilis Muller*. 3 з.п. ф-лы, 4 табл.

C 1
2 8 3 5 8 0 7
R UR U
2 8 3 5 8 0 7

C 1

FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(52) CPC
A01K 61/00 (2024.01)

(21)(22) Application: 2023133726, 14.12.2023

(24) Effective date for property rights:
14.12.2023Registration date:
04.03.2025

Priority:

(22) Date of filing: 14.12.2023

(45) Date of publication: 04.03.2025 Bull. № 7

Mail address:
298309, Resp. Krym, g. Kerch, ul. Ordzhonikidze,
82, FGBOU VO "KGMTU", nachalniku OONID
S.S. Sereginu

(72) Inventor(s):

Bityutskaya Olga Evgenevna (RU),
Bulli Lyubov Ivanovna (RU),
Ukolov Aleksej Ivanovich (RU),
Mazalova Natalya Fedorovna (RU)

(73) Proprietor(s):

Federalnoe gosudarstvennoe byudzhetnoe
obrazovatelnoe uchrezhdenie vysshego
obrazovaniya "Kerchenskij gosudarstvennyj
morskoj tekhnologicheskij universitet" (FGBOU
VO "KGMTU") (RU)C1
2835807
RU

(54) METHOD FOR CULTIVATION OF BRACHIONUS PLICATILIS MULLER ROTIFERS

(57) Abstract:

FIELD: fishing and fish farming.

SUBSTANCE: invention relates to hydrobiology and fish breeding and can be used for production of live fodder for fish larvae. Sea water is passed through a sand-shell filter and a microfiltration system, decontaminated by hydrodynamic cavitation treatment

and aerating, adding a culture of rotifers, a culture of sea microalgae *Diacronema lutheri*, essential amino acids methionine, lysine in ratio of 1:2, respectively.EFFECT: invention provides higher productivity of culture of rotifers *Brachionus plicatilis Muller*.

4 cl, 4 tbl

R
U
2
8
3
5
8
0
7C
1

Изобретение относится к гидробиологии и рыбоводству и может быть использовано для получения живого корма для личинок рыб. Живые корма являются естественной пищей для личинок рыб. В аквакультуре особо ценными при выращивании лососевых, осетровых, кефалевых и камбаловых рыб, до достижения личинками массы 60 мг,

5 являются коловратки, науплии артемии салины, моины и дафнии (Колмаков В.И., Колмакова А.А. Аминокислоты в перспективных кормах для аквакультуры рыб: обзор экспериментальных данных // Журн. Сиб. федер. ун-та. Биология. 2020. 13(4). С. 424-442; Патент 2548106 С1 МПК A01K 61/00, заявка 2014150176/93, 30.10.2014, авторы: Ханайченко А.М., Гирагосов В.Е., Ельников Д.В., Рауен Т.В.).

10 Живые корма предпочтительно культивировать в накопительном режиме в обеззараженной воде и затем вносить в выростные емкости. Механическую очистку воды осуществляют пропусканием через песчано-ракушечный фильтр и систему микрофильтрации, обеспечивающей размер взвешенных в воде частиц не более 3 мкм, при этом обеззараживание воды проводят путем ультрафиолетового облучения (патент 15 RU 2073432 С1 МПК A01K 61/00, заявка №93003040/13, 18.01.1993, авторы: Маслова О.Н., Бурлаченко И.В.).

Однако воздействие ультрафиолетового излучения кратковременно и не имеет высокой производительности. Основными проблемами использования УФ-излучения являются частая замена ламп, возобновление роста микробов после обработки и 20 неэффективная мутная и окрашенная вода.

Известен способ культивирования коловратки *Brachionus plicatilis* на основе рационов питания, включающих пекарские дрожжи (*Saccharomyces cerevisiae*) и морские микроводоросли *Tetraselmis* (=*Platymonas*) *suecica* и *Isochrysis galbana* в виде смешанных или простых композиций (Planas M., Estevez A. Effects of diet on population development 25 of the rotifer *Brachionus plicatilis* in culture // Helgolander Meeresunters. 1989.43. pp. 171-181).

Методами непрерывного и полунепрерывного («прореживание культуры») культивирования обеспечивается высокая плотность коловраток путем введения в корм пекарских дрожжей и микроводорослей, в качестве культуры микроводорослей вносили в корм пресноводную водоросль *Chlorella vulgaris* (Yoshimatsu T., Hossain M.A. 30 Recent advances in the high-density rotifer culture in Japan. Aquacult Int. 2014. DOI 10.1007/s10499-014-9767-5).

Недостатком способа является снижение концентрации кислорода в культуре при использовании дрожжей, ухудшение качества воды, что отрицательно влияет на плодовитость зоопланктона. Кроме того, для непрерывного культивирования 35 автоматическая система должна быть снабжена блоками фильтрации, культивирования и сбора урожая, требующими технических решений.

Известен способ получения живых кормов для личинок морских рыб, где в качестве корма для эвригалинных коловраток *Brachionus plicatilis* в среду культивирования за несколько суток до использования вводят динофлагелляты *Prorocentrum cordatum* и 40 *Prorocentrum micans* (5×10^4 кл./мл), что позволяет обогатить корм докозагексаеновой и эйкозапентаеновой кислотами (патент RU 2717990 С1 МПК A01K 61/00, заявка №2019107325, заявл. 14.03.2019, автор: Ханайченко А.Н.), т.е. критерием оценивания полученного корма авторами выбрано содержание ПНЖК в липидах коловраток. В другой работе показано как путем изменения микроводорослевого питания 45 культивируемого растительноядного зоопланктона можно управлять и аминокислотным составом живого корма (Balachandar S., Rajaram R. Influence of different diets on the growth, survival, fecundity and proximate composition of brine shrimp *Artemia franciscana* (Kellog, 1906) // Aquaculture Research. 2019. 50(2). pp. 376-389).

Наиболее близким к заявленному является способ полунепрерывного культивирования морского планктона в поликультуре, в частности инфузорий *Euplotes charon Muller, 1786* и коловраток *Brachionus plicatilis Muller, 1786*, с помощью введения многокомпонентной питательной смеси, содержащей карбамид, картофельный крахмал,

5 кормовые витамины группы В, моносахарид, незаменимые аминокислоты лизин (Lys) и метионин (Met), конский навоз, сено, куриный желток, эмульгированный кукурузным маслом и коровьим молоком (Новоселова Н.В., Каниева Н.А. Культивирование морского зоопланктона в поликультуре // Вестник Астраханского государственного технического университета. Серия: Рыбное хозяйство. 2020. №1. с. 118-130).

10 К недостаткам способа можно отнести громоздкость состава смеси, обилие органики, ухудшающей качество воды. Незаменимые аминокислоты в состав питательной смеси вводятся в соотношении 1:1 (по 10 мг/м³), в то же время наиболее сбалансированным считается соотношение, в котором концентрация лизина превышает таковую у метионина в 2-3 раза (Калинин О.В. Специфические функции незаменимых аминокислот // Молодежь и наука. 2016. 1. С. 2.; Колмаков В.И., Колмакова А.А. Аминокислоты в перспективных кормах для аквакультуры рыб: обзор экспериментальных данных // Журн. Сиб. федер. ун-та. Биология. 2020. 13(4). С. 424-442.; Dietary protein quality evaluation in human nutrition: Report of an FAO Expert Consultation. Rome: FAO, 2013. 66 р.).

15 Целью изобретения является повышение продуктивности культуры эвригалинных коловраток *Brachionus plicatilis Muller, 1786*.

20 Технический результат достигается способом накопительного культивирования эвригалинных коловраток *Brachionus plicatilis Muller*, характеризующимся тем, что морскую воду пропускают через песчано-ракушечный фильтр и систему микрофильтрации, обеззараживают с помощью обработки гидродинамической кавитацией и аэрируют, вносят культуру коловраток, культуру морских 25 микроводорослей *Diacronema lutheri*, незаменимые аминокислоты метионин, лизин в соотношении 1:2 соответственно. Культуру морских микроводорослей *Diacronema lutheri* вносят в концентрации $6 \cdot 10^6$ кл./мл. Культуру морских микроводорослей *Diacronema lutheri* 30 вносят в концентрации $3,0 \cdot 10^6$ кл./мл и совместно вносят культуру морских микроводорослей *Tetraselmis viridis* в концентрации $0,4 \cdot 10^6$ кл./мл. Дополнительно вносят глутатион при соотношении метионин, лизин, глутатион 1:2:1,5 соответственно.

35 В культуральную среду помещают маточную культуру коловраток плотностью $1,0 \cdot 10^5$ экз./м³ (0,1 экз./мл).

Для обеззараживания морской воды применен способ гидрокавитационной обработки, характеризующийся повышенной скоростью массопереноса, усиленной диффузией, вызванной турбулентностью на микроскопическом уровне, а также 40 образованием высокореактивных свободных радикалов и связанное с ними разрушение клеток. Кроме того, кавитация является экологически чистой передовой технологией, поскольку в ней не используются внешние химические вещества, не образуются вредные побочные продукты, она является энергоэффективной и экономичной (для обеззараживания одинакового количества воды УФ-системы будут затрачивать на 11,25% больше энергии, чем при гидродинамической кавитации).

45 Следует отметить, что кавитационное воздействие на морскую воду имеет пролонгированный эффект по отношению к организмам планктона. Через 24 часа в пробах, отобранных после обработки 15 мин, наблюдалось заметное снижение количества подвижных микроорганизмов. При 30 мин воздействии гидрокавитации через 24 часа обнаруживались единичные устойчивые виды. Однако уже через 48 часов

в морской воде полностью отсутствовало наблюдаемое ранее движение микроорганизмов (Уколов А.И., Малько СВ., Семенова А.Д. Влияние гидродинамической обработки морской воды на устойчивость планктонных микроорганизмов // Вестник Керченского государственного морского технологического университета. 2023. 2. С. 137-146; Pandit A.B., Mukherjee A.C., Sangave P.P. Water treatment Using Hydrodynamic cavitation // Indian J. Geo-MarineSci. 2014. Vol. 43. Iss. 11. pp. 2033-2041).

5 В состав среды культивирования вносится *Diacronema* (=*Pavlova*, =*Monochrysis*) *lutheri* (*Droop*) *Bendif & Véron*, 2011 - жгутиковая подвижная микроводоросль, отличающаяся 10 липидной направленностью биосинтеза, особенно способностью к образованию ПНЖК (с преобладанием 16:1 ω 9, 18:1 ω 9, 18:2 ω 6, 18:3 ω 3(ALA), 20:5 ω 3, 22:6 ω 3). В сухом веществе 15 клеток *D. lutheri* в зависимости от условий выращивания может содержаться от 22 до 40% липидов и до 30% белковых веществ (Meireles L.A. Lipid Class Composition of the Microalga *Pavlova lutheri*: Eicosapentaenoic and Docosahexaenoic Acids // Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2003. 51(8). pp. 2237-2241; Донченко Л.В., Битютская О.Е., Сокол 20 15 Н.В., Були Л.И., Есина Л.М., Мазалова Н.Ф., Никитенко О.В. Применение микроводорослей в технологии пищевых композиций функциональной направленности // Рыбное хозяйство. 2022. 6. С. 87-89).

Следует отметить более мелкие размеры клетки *D. lutheri* (длина - d, (высота) - h 20 (высота): 3,0-2,1 мкм, объем клетки - (13,8±4,2) мкм³) по сравнению с микроводорослями, 25 указанными в способах аналогах, приведенных выше: для *Tetraselmis suecica* (d-h: 11,5-8,3 мкм, объем клетки - (505,3±14,7) мкм³; *Tetraselmis viridis* (d-h: 8,5-7,6 мкм, объем клетки - (214,4±21,1) мкм³; *Isochrysis galbana* (d-h: 5,9-4,4 мкм, объем клетки - (39,2±5,2) мкм³; *Prorocentrum cordatum* (d-h: 8-24 - 4-20 мкм) и *Prorocentrum micans* (d-h: 55-70 - 20-50 мкм), что свидетельствует о максимальной кормовой доступности *D. lutheri* для зоопланктона на разных этапах развития жизненного цикла.

В состав корма вместе с *D. lutheri* вводили еще один вид морских зеленых жгутиковых микроводорослей - *Tetraselmis viridis* (*Rouchijajnen*) (R.E. Norris, Hori & Chihara, 1980). 30 Водоросль богата белком и высокомолекулярными жирными кислотами (18:1 ω 9, 18:2 ω 6, 18:3 ω 3(ALA), 18:3 ω 6(GLA), 20:4 ω 6, 20:5 ω 3), витамином С и β-каротином. В составе 35 жирных кислот у *Tetraselmis* присутствует только эйкозапентаеновая кислота, докозагексаеновая отсутствует, поэтому выбранные виды микроводорослей хорошо дополняют друг друга. На основе биомассы *T. viridis* разработана БАД, установлена антиоксидантная активность, обусловленная наличием β-каротина, витамина С, 40 хлорофилла и органических кислот в микроводорослях (Adarme-Vega T.C., Thomas-Hall S.R., Lim D.K. and Schenk P.M. Effects of long chain fatty acid synthesis and associated gene expression in microalga *Tetraselmis* sp. // Mar. Drugs. 2014. 12. pp. 3381-3398; Кузнецова Е.А., Гаврилина В.А., Климова Е.В., Бриндза Я., Бороздых А.А., Боровков А.Б., Гудвилович И.Н., Жондарева Я.Д. Разработка препарата биологически активной добавки на основе 45 биомассы водоросли *Tetraselmis viridis* // Технология и товароведение инновационных пищевых продуктов. 2021. №3. С. 46-50).

Введение в корм коловраток незаменимых аминокислот лизина и метионина и 45 трипептида глутатиона позволяют обогатить среду доступными питательными веществами. Подтверждение позитивного эффекта влияния аминокислот и стеринов в рационе коловраток *Brachionus calyciflorus* на темпы роста их популяции приведены в работе A. Wacker и D. Martin-Creuzburg (Wacker A. and Martin-Creuzburg D. Biochemical nutrient requirements of the rotifer *Brachionus calyciflorus*: co-limitation by sterols and amino

acids // Ersch. in: Functional Ecology. 2012. 26(5). S. 1135-1143.).

Дефицит лизина, большое количество которого содержится в ядерных белках - протаминах и гистонах, вызывает задержку процессов биосинтеза белка. Метионин является универсальным донатором метильных групп и, таким образом, участвует в синтезе холина, тимила, др., источником серы при биосинтезе цистеина (Рогов И.А., Антипов Л.В., Дунченко Н.И. Жеребцов Н.А. Химия пищи. Кн. 1. Белки: структура, функции, роль в питании. М.: Колос, 2000. 384 с.; Зверев С.В., Карпов В.И., Никитина М.А. Оптимизация пищевых композиций по профилю идеального белка // Пищевые системы. 2021. 4(1). С. 4-11). Значение глутатиона (γ -глутамилцистеинилглицин) в клетке определяется его антиоксидантными свойствами. Глутатион не только защищает клетку от токсичных, но и в целом определяет окислительно-восстановительные характеристики внутриклеточной среды. Глутатион также является субстратом реакций конъюгации и восстановления, катализируемых глутатион-S-трансферазой в цитозоле, микросомах и в митохондриях.

Варианты примеров накопительного культивирования коловраток *B. plicatilis* при разных режимах и условиях среды представлены в таблицах 1-4 (усредненные данные 3-х измерений из 2-х параллельных аквариумов).

В примерах 1-4 варьирует показатель длительности кавитационной обработки морской воды от 15 до 25 мин при постоянном давлении равном 0,4 атм и последующей аэрации в течение 15 мин. В качестве корма в рацион питания вводится *D. lutheri* в концентрации $6 \cdot 10^6$ кл./мл, поддерживаемой на всем протяжении эксперимента (10 суток). Наиболее эффективными параметрами гидрокавитационной обработки морской воды для дальнейшего культивирования коловраток определено время 20 и 25 мин, для примеров 4-16 оптимальным принята длительность обработки морской воды в течение 20 мин (пример 3) - среднесуточная продуктивность составляла 22 экз./мл·сут.

В примерах 5-8 в подготовленную морскую воду (пример 2), кроме *D. lutheri* в концентрации $6 \cdot 10^6$ кл./мл, вводятся незаменимые аминокислоты Met:Lys в соотношениях: 1:1 (как в прототипе: Met/Lys из расчета по $10 \text{ мг}/\text{м}^3$), 1:1,5, 1:2 и 1:2,5. Начиная с 3-х суток эксперимента численность популяции коловраток при соотношении 1:2 (пример 7) давала более значительный рост, среднесуточная продуктивность составляла 33 экз./мл·сут.

В примерах 9-14 в подготовленную морскую воду (пример 2) вносится *D. lutheri* в концентрации $6 \cdot 10^6$ кл./мл, трипептид глутатион (GSH) и незаменимые аминокислоты Met:Lys в соотношениях: 1:0:0 (контроль), 0,5:1:2, 1:1:2, 1,5:1:2, 2:1:2. Во всех примерах с введением GSH отмечено увеличение численности популяции по сравнению с контролем. Оптимальным выбрано соотношение GSH:Met:Lys - 1,5:1:2 (пример 13), среднесуточная продуктивность составляла 40 экз./мл·сут. Отмечено, что при этом соотношении популяция коловраток на 7-е сутки обладала более высокой продуктивностью: количество репродуктивно зрелых амиктических самок составляло 45-50%, что может свидетельствовать о более раннем начале экспоненциального увеличения численности коловратки.

В примерах 15-17 в предварительно подготовленную морскую воду (пример 2) вносится GSH:Met:Lys - 1,5:1:2, микроводоросль *D. lutheri* в концентрации $6 \cdot 10^6$ кл./мл (пример 13), смесь микроводорослей *D. lutheri* и *T. viridis* (примеры 15-17). Наиболее высокую среднесуточную продуктивность (46 экз./мл·сут) обеспечивало соотношение микроводорослей в смеси при концентрации *D. lutheri* ($3,0 \cdot 10^6$ кл./мл) и *T. viridis* ($0,4 \cdot 10^6$

кл./мл) (пример 16).

Таблица 1

Примеры	Плотность культуры коловраток, экз./мл (исходная)	Длительность кавитационной обработки морской воды, мин	Плотность культуры коловраток, $(\bar{x} \pm s_x)$, экз./мл			
			Сутки эксперимента			
			3	5	7	10
10	0,1	Без обработки (контроль)	0,17 ± 0,06	1,40 ± 0,20	2,30 ± 0,12	13,63 ± 3,06
		15	0,20 ± 0,08	1,63 ± 0,25	2,65 ± 0,07	15,90 ± 6,58
		20	0,20 ± 0,09	1,70 ± 0,14	3,80 ± 0,99	55,73 ± 6,27
		25	0,20 ± 0,09	1,63 ± 0,21	2,68 ± 0,78	38,70 ± 3,12

Продолжение таблицы

Примеры	Среднее относительное увеличение плотности коловраток по отношению к контролю, %	Среднесуточная продуктивность, экз./мл сут.	Среднее относительное увеличение среднесуточной продуктивности по отношению к контролю, %
1	100	9	100
2	117	11	117
3	409	22	236
4	284	19	211

25

30

35

40

45

Таблица 2

Примеры	Плотность культуры коловраток, экз./мл (исходная)	Соотношение аминокислот Met и Lys	Плотность культуры коловраток, $(\bar{x} \pm s_x)$, экз./мл			
			Сутки эксперимента			
			3	5	7	10
5	0,1	1:1 (контроль)	0,37 ± 0,15	4,53 ± 0,81	15,70 ± 1,22	36,70 ± 3,14
		1:1,5	0,47 ± 0,06	4,23 ± 0,91	20,60 ± 3,25	51,73 ± 3,95
		1: 2	1,00 ± 0,26	8,20 ± 1,73	25,53 ± 3,46	58,53 ± 8,83
		1:2,5	0,77 ± 0,40	5,70 ± 1,82	18,60 ± 0,70	37,84 ± 2,10

Продолжение таблицы

Примеры	Среднее относительное увеличение плотности коловраток по отношению к контролю, %	Среднесуточная продуктивность, экз./мл сут.	Среднее относительное увеличение среднесуточной продуктивности по отношению к контролю, %	
			3	5
5	100	19	100	100
6	141	20	101	101
7	159	33	177	177
8	104	22	115	115

Таблица 3

Примеры	Плотность культуры коловраток, экз./мл (исходная)	Соотношение аминокислот и глутатиона GSH:Met:Lys	Плотность культуры коловраток, $(\bar{x} \pm s_x)$, экз./мл			
			Сутки эксперимента			
			3	5	7	10
9	0,1	0:1:2(контроль)	0,26 ± 0,12	7,98 ± 0,44	26,40 ± 2,43	63,67 ± 6,23
		1:0:0	0,23 ± 0,12	2,98 ± 0,24	19,70 ± 0,49	32,96 ± 5,30
		0,5:1:2	0,23 ± 0,06	3,60 ± 0,23	14,03 ± 0,25	48,76 ± 5,34
		1:1: 2	0,38 ± 0,28	5,30 ± 0,38	25,90 ± 2,69	60,84 ± 4,95
		1,5:1:2	0,43 ± 0,06	8,39 ± 0,41	26,60 ± 3,01	78,95 ± 7,85
		2:1:2	0,23 ± 0,06	4,40 ± 0,34	20,50 ± 1,32	40,97 ± 5,23

Продолжение таблицы

Примеры	Среднее относительное увеличение плотности коловраток по отношению к контролю, %	Среднесуточная продуктивность, экз./мл сут.	Среднее относительное увеличение среднесуточной продуктивности по отношению к контролю, %	
			3	5
9	100	34	100	100
10	52	11	32	32
11	77	19	56	56
12	96	23	68	68
13	124	40	118	118
14	64	17	50	50

Таблица 4

Примеры	Плотность культуры коловраток, экз./мл (исходная)	Концентрация <i>Diacronema lutheri</i> / <i>Tetraselmis viridis</i> , кл./мл	Плотность культуры коловраток, $(\bar{x} \pm s_x)$, экз./мл			
			Сутки эксперимента			
			3	5	7	10
13		$6,0 \cdot 10^6 / -$	$0,43 \pm 0,06$	$8,39 \pm 0,41$	$26,60 \pm 3,01$	$78,95 \pm 7,85$
15		$6,0 \cdot 10^6 / 0,4 \cdot 10^6$	$0,27 \pm 0,09$	$3,80 \pm 0,14$	$10,80 \pm 0,9$	$28,90 \pm 6,27$
16	0,1	$3,0 \cdot 10^6 / 0,4 \cdot 10^6$	$0,40 \pm 0,09$	$8,45 \pm 0,11$	$25,50 \pm 0,6$	$95,90 \pm 5,80$
17		$1,0 \cdot 10^6 / 0,4 \cdot 10^6$	$0,20 \pm 0,09$	$2,40 \pm 0,14$	$17,20 \pm 0,60$	$39,73 \pm 6,27$

Продолжение таблицы

Примеры	Среднее относительное увеличение плотности коловраток по отношению к контролю, %	Среднесуточная продуктивность, экз./мл сут.	Среднее относительное увеличение среднесуточной продуктивности по отношению к контролю, %
13	100	40	100
15	37	17	43
16	121	46	115
17	50	11	28

Таким образом, предлагаемый способ культивирования коловраток *Brachionus plicatilis Muller* обеспечивает жизнестойкость и прирост численности популяции, что приводит на 10-е сутки к повышению продуктивности культуры по сравнению с прототипом за счет очистки и обеззараживания морской воды, введения в корм 2-х видов микроводорослей, незаменимых аминокислот и глутатиона.

Дополнительные материалы

Гидрохимические и микробиологические показатели морской воды после гидрокавитационной обработки, используемой при культивировании *Brachionus plicatilis* Müller

***Brachionus plicatilis* Müller**

Наименование показателя	Значение
Температура, °С	20-22
Соленость, ‰	16-18
Содержание растворенного в воде кислорода, мг/л	5-7
Микробиологические показатели:	
Колифаги, БОЕ/100 см ³	отсутствуют (при норме не более 10)
Общие колиформные бактерии, КОЕ/100 см ³	менее 5 (при норме не более 1000)
<i>E. coli</i> , КОЕ/100 см ³	менее 5 (при норме не более 100)
<i>S. aureus</i> , КОЕ/100 см ³	отсутствуют (при норме не более 10)
Энтерококки, КОЕ/100 см ³	менее 5 (при норме не более 10)

(57) Формула изобретения

1. Способ накопительного культивирования эвригалинных коловраток *Brachionus plicatilis* Muller, характеризующийся тем, что морскую воду пропускают через песчано-ракушечный фильтр и систему микрофильтрации, обеззараживают с помощью обработки гидродинамической кавитацией и аэрируют, вносят культуру коловраток, культуру морских микроводорослей *Diacronema lutheri*, незаменимые аминокислоты метионин, лизин в соотношении 1:2 соответственно.

2. Способ по п. 1, отличающийся тем, что культуру морских микроводорослей

Diacronema lutheri вносят в концентрации $6 \cdot 10^6$ кл./мл.

3. Способ по п. 1, отличающийся тем, что культуру морских микроводорослей *Diacronema lutheri* вносят в концентрации $3,0 \cdot 10^6$ кл./мл и совместно вносят культуру морских микроводорослей *Tetraselmis viridis* в концентрации $0,4 \cdot 10^6$ кл./мл.

40 4. Способ по любому из пп. 1-3, отличающийся тем, что дополнительно вносят глутатион, при соотношении метионин, лизин, глутатион 1:2:1,5 соответственно.