

МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА РФ

ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО ПО РЫБОЛОВСТВУ

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
“АЗОВСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ РЫБНОГО ХОЗЯЙСТВА”
(ФГБНУ «АЗНИИРХ»)**



АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ АКВАКУЛЬТУРЫ В СОВРЕМЕННЫЙ ПЕРИОД

МАТЕРИАЛЫ МЕЖДУНАРОДНОЙ НАУЧНОЙ КОНФЕРЕНЦИИ

Г. РОСТОВ-НА-ДОНУ

28.09–02.10.2015 Г.

**Ростов-на-Дону
2015**

УДК 579 : 582. 26/27 : 591.13 : 594.121

БИОТЕХНИКА КУЛЬТИВИРОВАНИЯ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ – КОРМА ДЛЯ ЛИЧИНОК УСТРИЦ, ВЫРАЩИВАЕМЫХ В ПИТОМНИКЕ

Л.В. Ладыгина

Институт морских биологических исследований, г. Севастополь, Россия,

lvladygina@yandex.ru

Описаны основные этапы биотехники массового культивирования микроводорослей в питомнике по выращиванию личинок гигантской устрицы *Crassostrea gigas*. Подобраны питательные среды, на которых разные виды водорослей накапливают максимальную биомассу. Показано, что применяя методы управляемого культивирования, можно регулировать содержание белков, углеводов и липидов в клетках микроводорослей.

Микроводоросли, как первичные продуценты, являются начальным трофическим звеном для гетеротрофных организмов. В процессе разведения личинок устриц в питомнике они используются в качестве основного корма, потребляемого производителями при их кондиционировании, личинками на разных стадиях развития и спатом – при подращивании в контролируемых условиях [3]. Моллюски, являясь консументами первого порядка, непосредственно превращают растительный белок в животный. Поэтому наибольшую ценность представляют живые водоросли, так как они содержат белки, углеводы, липиды, биологически активные вещества, ферменты. Попытки заменить живые микроводоросли альтернативными кормами (дрожжи, бактерии, водорослевые пасты или концентраты) не дают желаемого результата.

Биотехника культивирования одноклеточных водорослей при выращивании личинок гигантской устрицы в питомнике включает следующие этапы: 1 – подготовка питательных сред; 2 – хранение коллекции кормовых водорослей (маточные культуры); 3 – подготовка инокуляционного материала (стартовые культуры); 4 – массовое культивирование микроводорослей; 5 – приготовление концентрированных кормов.

Процесс культивирования микроводорослей зависит от качества морской воды, поэтому для приготовления питательных сред используем фильтрованную и стерилизованную морскую воду, что позволяет исключить заражение культур микроорганизмами. При очистке морская вода проходит через 4 фильтрующих элемента (фильтры – картриджи) с диаметром пор 20, 10, 5 и 1 мкм, после чего она стерилизуется при температуре 75°C.

В зависимости от вида культивируемых водорослей используем разные питательные среды: Конвея в собственной модификации и Guillard F/2 [7]. Потребность микроводорослей в микро- и макроэлементах различна, поэтому при их выращивании очень важно правильно подобрать питательную среду, на которой за короткий промежуток времени можно получить максимальную биомассу. Золотистые и зеленые водоросли культивируем на среде Конвея, а диатомовые – на среде 2F.

В коллекции микроводорослей, используемых для корма личинок устриц насчитывается 12 видов, относящихся к разным систематическим группам: золотистые - *Isochrysis galbana* (Parke), *Monochrysis lutheri* (Parke), *Emiliania huxleyi* (Lohm); зеленые - *Tetraselmis suecica* (Butcher), *Tetraselmis viridis* (Rouch), *Dunaliella viridis*, (Teod.), *Dunaliella salina* (Teod.), *Chlorella vulgaris* (Beijerinck), диатомовые - *Chaetoceros calcitrans* (Meunier), *Phaeodactylum tricornutum* (Bohlin), *Skeletonema costatum* (Grev); криптофитовые - *Rhodomonas salina* (Wislouch).

Коллекционные культуры (маточные культуры) храним в жидком состоянии в круглых плоскодонных колбах объемом 100 - 250 мл, при температуре 14 - 16°C, освещённости не более 1 клк, без аэрации. Колбы установлены в ламинарном шкафу, где производится регулярная стерилизация воздуха, чтобы уменьшить риск загрязнения водорослей микроорганизмами. Бактериальное загрязнение коллекционных культур может вызывать в дальнейшем загрязнение стартовых и массовых культур, что послужит причиной гибели личинок моллюсков на ранних стадиях развития. Маточные культуры используем для наращивания инокулята (стартовых культур) [1].

Стартовые культуры наращиваем в 2 л колбах, которые расположены на специальных стеллажах, оборудованных лампами дневного света суммарной освещенностью 6 клк, при температуре 20 - 24°C и постоянной аэрации воздухом. Через 7 - 10 дней, в конце логарифмической фазы

роста, их переводим в режим массового культивирования.

В культиваторы (полиэтиленовые мешки) вносим инокулят в количестве не менее 25% от его объема и добавляем морскую воду с питательной средой, pH 7,5-8. Биомассу водорослей наращиваем при освещенности 10 клк, температуре 22 - 24 °C и круглосуточном барботировании смесью воздуха с углекислым газом (2% CO₂). Смешивание углекислого газа и воздуха осуществляем в сосуде с раствором KMnO₄. При таких условиях культивирования через 10-12 дней микроводоросли выходят на стационарную фазу роста и достигают максимальной биомассы.

При составлении рационов для личинок устриц, одним из основных критериев, является качественный состав микроводорослей. Используя методы управляемого культивирования водорослей, можно изменять их биохимический состав: получать водоросли богатые белком, углеводами, липидами. Для улучшения качественного состава кормов используем два режима культивирования: накопительный (периодическая культура) и непрерывный (полупроточная культура) [1].

Накопительный режим культивирования предусматривает изъятие биомассы водорослей в конце стационарной фазы роста, когда водоросли содержат максимальное количество липидов (табл.1) [2]. Эти водоросли используем в качестве корма для личинок устриц на стадии педивелигера и для спата, при подращивании его в питомнике.

Таблица 1

Биохимический состав микроводорослей при накопительном режиме культивирования

Вид водорослей	Объем клеток, мкм ³	Максимальная биомасса, мг/л	Содержание липидов, % СВ
<i>Isochrysis galbana</i>	39,19	597,64	25,60
<i>Monochrysis lutheri</i>	13,85	281,85	28,57
<i>Tetraselmis suecica</i>	505,32	1768,62	20,90
<i>Dunaliella viridis</i>	313,5	1228,92	18,00
<i>Chaetoceros calcitrans</i>	52,25	34,44	27,00
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	113,89	3516,92	20,00
<i>Skeletonema costatum</i>	263,80	1084,21	27,00*
<i>Rhodomonas salina</i>	527,43	2863,94	41,00

Примечание: % СВ – процент к сухому весу; * – содержание липидов (Handa, 1969).

Известно, что липиды, и в частности высоконенасыщенные жирные кислоты, входящие в их состав, являются самым важным компонентом водорослевой диеты для двустворчатых моллюсков. Они способствуют увеличению их темпа роста, выживаемости и успешному прохождению метаморфоза [9]. Из всех культивируемых микроводорослей максимальное накопление липидов (41%) отмечено в клетках родомонасы. Суммарное содержание жирных кислот у *R. salina* в 2,2 - 2,5 раза выше, чем у *C. calcitrans* и *S. costatum*. Жирнокислотный состав *R. salina* представлен 20:5 ω-3 и 20:6 ω-3 кислотами, концентрация которых составляет соответственно 12% и 17% [8]. Поэтому эта водоросль является наиболее важным компонентом в рационе личинок и спата устриц.

Режим полупроточного культивирования позволяет изымать определенное количество биомассы водорослей и одновременно вносить в культуру питательную среды [4]. Из культур сливаем определённый объем водорослей, и через 2 - 3 суток биомасса нарастает до исходного уровня. Водоросли при таком режиме культивирования в течение длительного периода находятся в фазе экспоненциального роста и содержат максимальное количество белка (табл. 2). Микроводоросли с высоким содержанием белка необходимы личинкам устриц на ранних стадиях развития.

Биохимический состав микроводорослей при полупротоочном режиме культивирования

Вид водорослей	Максимальная биомасса (сырая), мг/л	Содержание белка, % СВ	Содержание углеводов, % СВ
<i>Isochrysis galbana</i>	391,9	49,8	28,4
<i>Monochrysis lutheri</i>	193,9	33,0	18,6
<i>Tetraselmis suecica</i>	1162,2	30,4	17,2
<i>Dunaliella viridis</i>	689,7	37,1	15,2
<i>Chaetoceros calcitrans</i>	230,5	40,3	21,3
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	1822,2	40,7	20,8
<i>Skeletonema costatum</i>	844,2	55,2*	31,4*
<i>Rhodomonas salina</i>	2584,4	29,0	30,1

Примечание: * – содержание белка и углеводов (Handa, 1969).

В процессе роста личинок устриц в питомнике потребности их в микроводорослях увеличиваются, поэтому чтобы избежать нехватки кормов при подращивании спата необходимо готовить концентрированные корма. Культивирование водорослей для получения концентратов начинаем за 2-3 месяца до начала выращивания личинок устриц. Для приготовления концентрированных кормов целесообразно использовать диатомовые микроводоросли, т.к. максимальную биомассу их можно получить при температуре 18 - 20°C, что значительно ниже, чем при культивировании других водорослей. Концентраты готовим путем центрифугирования микроводорослей при 3 тыс. об./мин. Время центрифугирования варьирует от 3 до 10 минут, в зависимости от вида водоросли. Полученный концентрат герметично упаковываем в полиэтиленовые пакеты, на которых указываем вид микроводоросли, концентрацию и дату изготовления. Срок хранения концентрированных кормов без добавления консервантов 12 - 14 недель при температуре не выше 5°C. Смесь концентратов и живых кормов в соотношении 1:1 позволяет обеспечить разнообразие культур водорослей, а, следовательно, улучшить рацион спата устриц.

Список литературы

1. Ладыгина, Л.В. Микроводоросли как кормовые объекты личинок мидий и устриц: автореф. на соиск. учён степ. канд. биол. наук : 03.00.17 / Л.В. Ладыгина, Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского. – Севастополь, 2007. – 24 с.
2. Ладыгина, Л.В. Физиолого-биохимические характеристики микроводорослей, используемых в качестве корма для двусторчатых моллюсков / Л.В. Ладыгина // Микроводоросли Чёрного моря: проблемы сохранения биоразнообразия и биотехнологического использования. – Севастополь : ЭКОСИ-Гидрофизика, 2008. – С. 343-352.
3. Спектрова, Л.В. Культивирование микроводорослей для искусственного разведения устриц / Л.В. Спектрова, С.Л. Панькова. : матер. межд. симп. «Актуальные вопросы рыбного хозяйства и аквакультуры бассейнов южных морей России» – М., 1989. – С. 200-203.
4. Тренкеншу, Р.П. Простейшие модели роста микроводорослей. 2. Квазинепрерывная культура. / Р.П. Тренкеншу // Экология моря. – 2005. – Вып. 67. – С. 98-110.
5. Brown, M. Preparation and assessment of microalgal concentrates as feeds for larval and juvenile Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) / M. Brown, R. Robert // Aquaculture. – 2002. – Vol. 207. – P. 289-309.
6. Handa, N. Carbohydrate metabolism in the marine diatom *Skeletonema costatum*/ N. Handa // Marine Biology, 1969. – Vol.4, N.3. – P.208-214.
7. Helm, M.M. Hatchery operation: culture of algae. / M.M. Helm, N. Bourne, A. Lovatelli // Hatchery culture of bivalves. A practical manual. FAO – Rome, 2004. – № 471. – P. 31-56.
8. Tremblay, R. Effect of *Rhodomonas salina* addition to a standard hatchery diet during the early ontogeny of the scallop *Pecten maximus* / R. Tremblay, S. Cartier, P. Miner, et. all. // Aquaculture, 2007. – Vol. 262, №2-4. – P. 410-418.
9. Whyte, J.C. Influence of algal diets on biochemical composition and energy reserves in *Patinopecten yessoensis* (Jay) larvae / J.C. Whyte, N. Bourne, C.A. Hodgson // Aquaculture. – 1989. – Vol. 163. – P. 333-347.

CULTIVATION BIOTECHNICS OF MICROALGAE SERVING AS A FOOD FOR OYSTER LARVAE CULTIVATED IN HATCHERIES.

Ladygina L.V.

*The A.O. Kovalevsky Institute of Marine Biological Research of RAS, Sevastopol, Russia,
lvaldygina@yandex.ru*

The article describes the biotechnics stages of microalgae cultivation in hatcheries where gigantic oyster larvae *Crassostrea gigas* are cultivated. There were selected the certain sorts of nutrient solution due to which various kinds of algae cumulate optimal biomass. By means of controlled cultivation, the content of proteins, carbohydrates, and lipids in microalgae cells can be regulated.

УДК 591.69:594(262.5)

ФАУНА ПАЗАРИТОВ И КОММЕНСАЛОВ МОЛЛЮСКОВ, КУЛЬТИВИРУЕМЫХ В РАЙОНЕ СЕВАСТОПОЛЯ (ЧЁРНОЕ МОРЕ)

М.В. Лебедевская, А.В. Гаевская

*Институт морских биологических исследований РАН, г. Севастополь,
Российская Федерация, lebedovskaya@email.ua*

Объектами культивирования в регионе Севастополя в бухте Казачья (Чёрное море) являются гигантская устрица *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793), плоская устрица (*Ostrea edulis* L., 1758) и мидия *Mytilus galloprovincialis* Lam., 1819. Дана оценка паразитологической ситуации как в марихозийстве, так и в естественных поселениях двустворчатых моллюсков в бухте Казачья. Всего у обоих видов устриц и мидии *M. galloprovincialis* обнаружено два вида паразитических организмов (гриб *Ostracoblabe implexa* Bornet & Flahault, 1889 и грегарины *Nematopsis legeri* de Beachamp, 1910) и четыре вида организмов-перфораторов раковины [полихеты *Polydora ciliata* (Johnston, 1838), *P. websteri* Hartman in Lousanoff et Engle, 1943, *Lysidice ninetta* Audouin et M.-Edwards, 1833 и губка *Pione vastifica* (Hancock, 1849)].

Традиционными объектами культивирования в Чёрном море были плоская (обыкновенная, европейская) устрица (*Ostrea edulis* L., 1758) и мидия *Mytilus galloprovincialis* Lam., 1819. Однако в настоящее время черноморская устрица *O. edulis* является исчезающим видом. Антропогенное воздействие, приведшее к загрязнению прибрежных вод, развитие различных эпизоотий, распространение в Чёрном море хищного брюхоногого моллюска *Rapana venosa* (Valenciennes, 1846) вызвали резкое сокращение запасов устриц. Для замены исчезающего вида *O. edulis* в Чёрном море была акклиматизирована тихоокеанская гигантская устрица *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793).

Большая плотность поселения двустворчатых моллюсков, культивируемых в марихозийствах, может привести к ухудшению условий их содержания и быстрому распространению эпизоотий. Очагами заболеваний, как правило, служат естественные поселения моллюсков, расположенные в акватории марихозийства. Поэтому паразитологический контроль моллюсков, как выращиваемых в марихозийствах, так и из естественных поселений является важной составляющей биотехнологии их культивирования.

Бухта Казачья расположена на юго-западной оконечности Крымского п-ова в 15 км от центра г. Севастополя и является одной из наиболее чистых бухт Крымского побережья, здесь сохранилось одно из последних естественных поселений плоской устрицы в Чёрном море. Для оценки паразитологической ситуации в районе экспериментального марихозийства в бухте Казачья была изучена паразитофауна устрицы *C. gigas*, выращиваемой в марихозийстве, мидии *M. galloprovincialis* и устрицы *O. edulis* как из марихозийства, так и из естественных поселений в этой акватории.

Всего у обоих видов устриц и мидии *M. galloprovincialis* нами обнаружено два вида паразитических организмов (гриб *Ostracoblabe implexa* Bornet & Flahault, 1889 и грегарины *Nematopsis legeri* de Beachamp, 1910) и четыре вида организмов-перфораторов раковины [полихеты *Polydora ciliata* (Johnston, 1838), *P. websteri* Hartman in Lousanoff et Engle, 1943, *Lysidice ninetta* Audouin et M.-Edwards, 1833 и губка *Pione vastifica* (Hancock, 1849)]. У устрицы *O. edulis* зарегистрирован гриб *O. implexa*, грегарины *N. legeri*, полихета *P. ciliata* и губка *P. vastifica*. У *C. gigas* выявлены полихеты *P. ciliata*, *P. websteri*, *L. ninetta* и губка *P. vastifica*. У обследованных мидий нами обнаружены грегарины *N. legeri*, перфорирующая губка *P. vastifica*.