

УДК 639.64:594.121

Л.В. ЛАДЫГИНА

Институт биологии южных морей НАН Украины  
пр-т Нахимова, 2, Севастополь 99011

## **ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ДИАТОМОВОЙ МИКРОВОДОРОСЛИ *SCELETONEMA COSTATUM* CLEVE – КОРМА ДЛЯ ДВУСТВОРЧАТЫХ МОЛЛЮСКОВ**

Определены оптимальные условия культивирования микроводоросли *Skeletonema costatum* Cleve в устричном питомнике. Максимальные концентрации водоросли получены при культивировании на питательной среде F/2, содержащей 30 мг/дм<sup>3</sup> кремния при круглосуточном освещении 10 клк и температуре 20–22°C.

*Ключевые слова:* диатомовые водоросли, *Skeletonema costatum*, минеральное питание, культивирование

Одной из важнейших проблем марикультуры является обеспечение личинок и спата двустворчатых моллюсков живыми кормами. Диатомовая водоросль *Skeletonema costatum* является перспективным кормовым объектом как для личинок и спата мидий и устриц, так и для производителей при проведении их кондиционирования. Хорошие пищевые качества микроводоросли обусловлены высоким содержанием полиненасыщенных жирных кислот и белка. Содержание докозагексаеновой (22:6n-3) и эйкозапентаеновой (20:5n-3) кислот варьирует от 2,5% до 16%, а максимальная концентрация белка составляет 49,7% [6, 7]. Клетки водоросли имеют небольшие размеры: высота 10 мкм, диаметр 6 мкм; стенки панциря очень тонкие, с нежной структурой [2]. Попадая в желудок моллюсков, клетки легко перевариваются и усваиваются, что оказывает положительное влияние на темп роста и развитие личинок и спата мидий и устриц.

В питомнике по выращиванию личинок мидий и устриц необходимо одновременно культивировать несколько видов микроводорослей, поэтому при определении оптимальных условий их роста приходится изменять содержание биогенов в морской воде.

Целью работы являлось определение оптимальных условий культивирования микроводоросли *S. costatum* для получения максимальной биомассы ценного пищевого качества.

### **Материал и методы исследований**

Микроводоросль *S. costatum* была выделена из сгущенной пробы фитопланктона. В результате многократного пересеивания была получена альгологически чистая культура, представляющая цепочки из 6–8 клеток. Размер клетки составлял 6х9 мкм, а средний объем – 254 мкм<sup>3</sup>.

Для определения оптимальной питательной среды микроводоросль выращивали в режиме накопительного культивирования в колбах (V=2 дм<sup>3</sup>), при круглосуточной аэрации и освещенности 5 тыс. лк на питательных средах Конвея и F/2. Массовое культивирование проводили в полиэтиленовых мешках (V=18 дм<sup>3</sup>) при температуре 20–22°C, круглосуточной аэрации и освещенности 5 и 10 тыс. лк на питательной среде F/2 с добавлением кремния в виде силиката натрия (Na<sub>2</sub>SiO<sub>3</sub>·5H<sub>2</sub>O) – 30 мг/дм<sup>3</sup> и 5 мг/дм<sup>3</sup>. Концентрацию клеток водорослей подсчитывали в камере Горяева под микроскопом МБИ-6. Удельную скорость роста культуры определяли по формуле:

$$\mu = \frac{\Delta N}{\Delta T} \cdot \frac{1}{\Delta N_0},$$

где: N<sub>0</sub> – начальная концентрация клеток (х 10<sup>6</sup> кл/мл); ΔN – изменение концентрации клеток за время ΔT (в сутках).

Величину сырой биомассы водорослей определяли по формуле

V (мг/дм<sup>3</sup>)=V<sub>кл</sub> · C, где: V – сырая биомасса водорослей, V<sub>кл</sub> – объем клетки; C – концентрация клеток (млн. кл/мл).

### **Результаты исследований и их обсуждение**

Факторы, влияющие на развитие микроводорослей, можно разделить на энергетические (свет) и субстратные (биогенные элементы) [1]. Основные субстратные факторы, ограничивающие развитие микроводоросли *S. costatum* – это азот, фосфор и кремний. Соотношение экспериментально найденных потребностей в N, P и Si позволяет определить оптимальные условия культивирования *S. costatum*.

При культивуванні мікроводорослі *S. costatum* в колбах при освітленості 5 тис. лк на питательных средах Конвея и среде F/2 было установлено, что удельная скорость роста водоросли на среде F/2 была на порядок выше, чем на среде Конвея, и составляла соответственно  $0,87 \text{ сут}^{-1}$  и  $0,06 \text{ сут}^{-1}$ . Максимальная концентрация клеток микроводоросли культивируемой на среде F/2 составляла 7,42 млн. кл/мл, а на среде Конвея 4,11 млн. кл/мл (рис. 1).

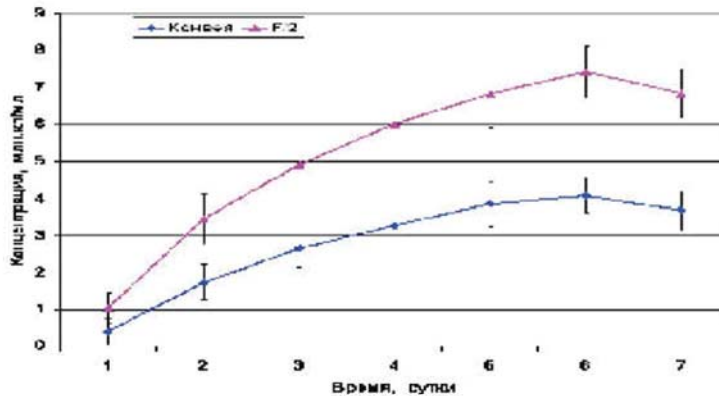


Рис. 1. Динамика роста микроводоросли *Skeletonema costatum* на питательных средах Конвея и F/2

Следовательно, при указанных условиях культивирования, среда F/2 является оптимальной для роста микроводоросли *S. costatum*, что вероятно связано с разным соотношением N:P в питательных средах. Так, соотношение N:P в среде Конвея и F/2 составляют 4:1 и 15:1, соответственно. Высокое содержание азота и недостаток фосфора в среде F/2 способствовали увеличению скорости деления клеток микроводоросли [3]. Очевидно, фосфор как лимитирующий фактор для других видов микроводорослей, для диатомовых водорослей имеет второстепенное значение и они могут развиваться при более низких его концентрациях.

Известно, что необходимым условием при массовом развитии диатомовых водорослей является содержание в морской воде достаточного количества кремния. Отношение азота к кремнию в питательной среде – это самостоятельно регулирующий фактор [3, 5]. Микроводоросль *S. costatum* быстро реагирует на изменение содержания кремния в питательной среде. Поэтому, эксперименты по массовому культивированию *S. costatum* проводили при разных условиях, учитывая одновременно как энергетические, так и субстратные факторы:

- а) освещенность 10 клк; питательная среда F/2 + 30 мг/дм<sup>3</sup> кремния;
- б) освещенность 5 клк; питательная среда F/2 + 30 мг/дм<sup>3</sup> кремния;
- в) освещенность 10 клк; питательная среда F/2 + 5 мг/дм<sup>3</sup> кремния.

Максимальная концентрация культуры – 4,11 млн. кл/мл получена на 4–5 сутки при использовании питательной среды, содержащей 30 мг/дм<sup>3</sup> кремния и при освещенности 10 клк (рис. 2).

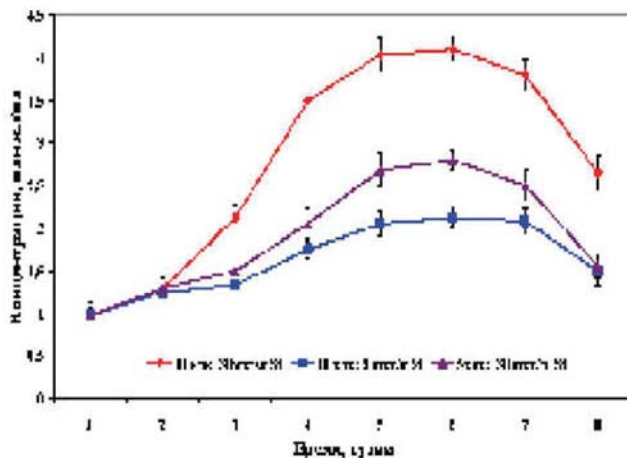


Рис. 2. Динамика роста микроводоросли *Skeletonema costatum* при разных значениях концентрации кремния в питательной среде

Самые низкие значения плотности культуры (2,05 млн. кл/мл) отмечены при культивировании микроводоросли с использованием питательной среды с минимальным

содержанием кремния и освещенности 10 клк. При концентрации 30 мг/дм<sup>3</sup> кремния и освещенности 5 тыс. клк плотность *S. costatum* была выше и составляла 2,68 млн. кл/мл. Повышение освещенности от 5 тыс. клк до 10 тыс. клк при такой же концентрации кремния в питательной среде, способствовало увеличению биомассы водоросли 1,5 раза.

Зависимость удельной скорости роста микроводоросли *S. costatum* от концентрации кремния в питательной среде описывается линейной функцией (рис. 3).

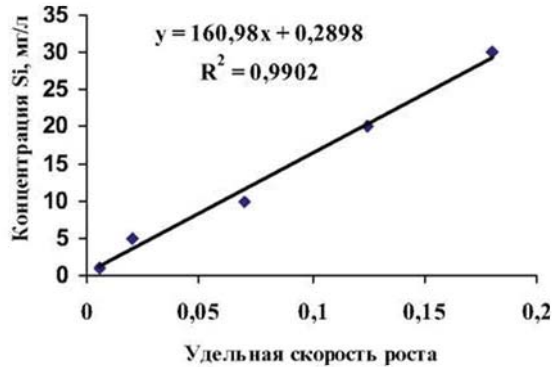


Рис. 3. Зависимость удельной скорости роста микроводоросли *Skeletonema costatum* от концентрации кремния в питательной среде F/2

При максимальном содержании кремния в питательной среде удельная скорость роста составляла 0,18 сут<sup>-1</sup>, что в 9 раз выше, чем при концентрации кремния 5 мг/дм<sup>3</sup>. Следовательно, низкие концентрации соли кремния в питательной среде F/2 значительно снижают темп роста микроводоросли.

Количество клеток в цепочке увеличивалось в период активного деления микроводоросли на стадии экспоненциального роста и уменьшалось при переходе на стационарную фазу роста во всех трех экспериментах. Максимальное количество клеток в цепочке (45) отмечено при освещенности 10 клк на питательной среде содержащей 30 мг/дм<sup>3</sup> кремния, а минимальное (22) – при той же освещенности и низкой концентрации кремния (5 мг/дм<sup>3</sup>). На стационарной стадии роста наблюдалось увеличение объема клеток до 464 мкм<sup>3</sup> по сравнению с исходным (254 мкм<sup>3</sup>) при максимальной концентрации кремния. Увеличение размера клеток диатомовых водорослей обычно связано с половым размножением и формированием аукоспор. Однако, у *S. costatum* половое размножение происходит крайне редко [4]. Вероятно, клетки не способны делиться вследствие недостаточного количества кремния в питательной среде и потому их размеры достигали максимального значения [5]. Следовательно, при культивировании *S. costatum* концентрация кремния является важным фактором, оказывающим положительное влияние на рост, развитие и размножение микроводоросли.

### Выводы

Оптимальными условиями для массового культивирования микроводоросли *S. costatum* в питомнике являются: питательная среда F/2, содержащая 30 мг/л кремния, круглосуточное освещение 10 клк, температура 20–22°C, при которых максимальную биомассу водоросли возможно получить на 5-е сутки культивирования.

1. Булгаков Н.Г. Биогенные элементы в среде и фитопланктон: отношение азота к фосфору как самостоятельный регулирующий фактор / Булгаков Н.Г., Левич А.П. // Усп. совр. биологии. – 1995. – Т. 15, вып. 1. – С. 13–23.
2. Прошкина-Лавренко А.И. Диатомовые водоросли планктона Черного моря / А.И. Прошкина-Лавренко; ред. В.П.Савич. – М.: АН СССР, 1955. – 216 с.
3. Conway H.L. Marine diatoms grown in chemostats under silicate or ammonium limitation. IV. Transient response of *Chaetoceros debilis*, *Skeletonema costatum*, and *Thalassiosira gravida* to a single addition of the limiting nutrient / H. L. Conway, P. J Harrison // Marine biology. – 1977. – Vol. 43, N 1. – P. 19–31.
4. Gallagher J.C. Cell enlargement in *Skeletonema costatum* (Bacillariophyceae) / J. C. Gallagher // Phycology. – 2004. – Vol. 19, N 4. – P. 539–542.
5. Roberts E.C. Response of temperate microplankton communities to N:Si ratio perturbation / E. Roberts, K. Davidson, L. Gilpin // Plankton Research. – 2003. – Vol. 25, N 12. – P. 1485–1495.
6. Viso A. Fatty acids from 28 marine microalgae / Viso A., Marty J.C. // Phytochemistry. – 1993. – Vol. 34, N 6. – P. 1521–1523.

7. Whyte J.C. Biochemical composition and energy content of six species of phytoplankton used in mariculture of bivalves / J.C. Whyte // *Aquaculture*. – 1987. – Vol. 60, N 3. – P. 231–241.

*Л.В. Ладугіна*

Інститут біології південних морів НАН України, Севастополь

ОПТИМІЗАЦІЯ УМОВ КУЛЬТИВУВАННЯ ДІАТОМОВОЇ МІКРОВОДОРСТІ  
*SCELETONEMA COSTATUM* CLEVE – КОРМУ ДЛЯ ДВОСТУЛКОВИХ МОЛЮСКІВ

Визначені оптимальні умови культивування мікробіодорості *Skeletonema costatum* Cleve в устричному розпліднику. Максимальні концентрації водорості одержані при культивуванні на поживному середовищі F/2, що містить 30 мг/дм<sup>3</sup> кремнію, при цілодобовому освітленні 10 клк і температурі 20–22°C.

*Ключові слова:* діатомові водорості, *Skeletonema costatum*, мінеральне живлення, культивування

*L.V. Ladygina*

Institute of Biology of the Southern Seas of NAS of Ukraine, Sevastopol

OPTIMIZATION OF TERMS OF CULTIVATION OF THE DIATOMACEOUS MICROALGAE  
*SCELETONEMA COSTATUM* CLEVE IS STERN FOR BIVALVES

The optimal conditions of microalgae *Skeletonema costatum* Cleve cultivation in the oyster nursery were determined. Maximal algae concentrations were obtained under cultivating in the nutrient medium F/2, which contains 30 mg/l of silicon under twenty-four-hour lighting 10 klk and temperature of 20–22°C.

*Key words:* diatomaceous algae, *Skeletonema costatum*, mineral feed, cultivation

УДК 574.583(262.5)

Е.В. ЛИСИЦКАЯ, В.А. ГРИНЦОВ, В.В. МУРИНА

Інститут біології южних морей НАН України  
пр-т Нахімова, 2, Севастополь 99011

**ВИДОВОЕ РАЗНООБРАЗИЕ НЕЙСТОНА ПРИБРЕЖНЫХ ВОД  
КАРАДАГА (ЧЁРНОЕ МОРЕ)**

В период 2005–2008 гг. впервые проведены исследования нейстона в акватории Карадагского природного заповедника (Крым, Чёрное море). Идентифицировано 59 видов донных беспозвоночных. Максимальное число видов отмечено в полночь.

*Ключевые слова:* нейстон, донные беспозвоночные, видовой состав, Чёрное море

Нейстон является важнейшим элементом морской экосистемы. Обилие в нём пищи, кислорода, присутствие широкого спектра инфракрасных и ультрафиолетовых лучей создают благоприятные условия для развития сотен видов беспозвоночных животных и рыб, особенно на ранних стадиях онтогенеза [2]. Появление и аккумуляция в этом биотопе биоцидных веществ антропогенного происхождения создало на аэроконтуре морей и океанов одну из наиболее острых экологических проблем [3]. Следовательно, изучение нейстона является необходимым компонентом гидробиологического мониторинга.

Цель работы – изучить видовой состав донных беспозвоночных, встречающихся в нейстоне в акватории Карадага.

**Материал и методы исследований**

Исследования проводили в летние сезоны 2005–2008 гг. во время экспедиций ИнБИОМ НАН Украины в Карадагский природный заповедник [6]. Пробы отбирали нейстонной сетью по методу Ю.П. Зайцева [2] над глубинами до 2 м в разное время суток (рис.).

Материал предварительно обрабатывали в живом виде в камере Богорова под бинокляром МБС-9, а для дальнейшей обработки фиксировали 4% раствором формальдегида. Идентификацию видов проводили в лабораторных условиях в отделе марикультуры и прикладной океанологии ИнБИОМ НАН Украины.