

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«Камчатский государственный технический университет»

**ПРИРОДНЫЕ РЕСУРСЫ, ИХ СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ,
ОХРАНА, ПРОМЫСЛОВОЕ И ТЕХНИЧЕСКОЕ
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ**

*Материалы IX Всероссийской научно-практической конференции
(20–22 марта 2018 г.)*



Петропавловск-Камчатский
2018

УДК 504
ББК 20.1
П77

Ответственный за выпуск

Н.Г. Клочкова,
доктор биологических наук

Редакционная коллегия

*В.И. Карпенко, д.б.н.; А.А. Бонк, к.б.н.; Е.Г. Лобков, д.б.н.;
М.В. Ефимова, к.б.н.; Н.С. Салтанова, к.т.н.; В.П. Сивоконь, д.т.н.;
Н.А. Ступникова, к.б.н.; О.В. Ольхина; М.П. Гузь*

П77

Природные ресурсы, их современное состояние, охрана, промысловое и техническое использование : материалы IX Всероссийской научно-практической конференции (20–22 марта 2018 г.) / отв. за вып. Н.Г. Клочкова. – Петропавловск-Камчатский : КамчатГТУ, 2018. – 178 с.

ISBN 978-5-328-00374-2

В сборнике рассматриваются вопросы природопользования, состояния запасов природных ресурсов и их преобразования в продукты потребления и жизнеобеспечения человека. Авторами представленных докладов являются ведущие сотрудники научно-исследовательских институтов, преподаватели, аспиранты высших учебных заведений и сотрудники организаций, осуществляющих деятельность в области рационального природопользования.

Сборник материалов опубликован в авторской редакции.

УДК 504
ББК 20.1

ISBN 978-5-328-00374-2

© КамчатГТУ, 2018
© Авторы, 2018

УДК 582.272.46:639.64

А.В. Климова, Т.А. Клочкова, Н.Г. Клочкова

*Камчатский государственный технический университет,
Петропавловск-Камчатский, 683003
e-mail: annaklimovae@mail.ru*

ВЫРАЩИВАНИЕ РАССАДЫ ЛАМИНАРИЕВОЙ ВОДОРОСЛИ *SACCHARINA BONGARDIANA* В ИСКУССТВЕННЫХ УСЛОВИЯХ

В работе представлены предварительные результаты получения рассады камчатской ламинариевой водоросли *Saccharina bongardiana* в контролируемых лабораторных условиях. В качестве субстрата для выращивания проростков использовали полипропиленовый шпагат. За 60 суток культивирования на субстратах появились ювенильные спорофиты с линейными размерами слоевищ 0,2–0,8 мм. Они имели хорошо различимые функциональные части – пластину, ствол и ризоиды. Полученная таким образом рассада *S. bongardiana* пригодна для пересаживания в естественную среду.

Ключевые слова: марикультура, гаметофитная стадия, проростки, ламинариевые водоросли, *Saccharina bongardiana*.

A.V. Klimova, T.A. Klochkova, N.G. Klochkova

*Kamchatka State Technical University,
Petropavlovsk-Kamchatsky, 683003
e-mail: annaklimovae@mail.ru*

CULTIVATION OF SEEDLINGS OF THE KELP SPECIES, *SACCHARINA BONGARDIANA*, IN LABORATORY CONDITIONS

We discuss preliminary results of obtaining seedlings of the marine brown alga, *Saccharina bongardiana*, under controlled laboratory conditions. A polypropylene thread was used as a substrate for growing young seedlings. During 60 days of cultivation, juvenile sporophytes of 0.2-0.8 mm in length developed on this substrate, with thalli differentiated into blade, stipe and rhizoids. The newly obtained seedlings of *S. bongardiana* were suitable for being transplanted into the natural seawater environment for further growth.

Key words: mariculture, gametophyte stage, seedling, laminariacean algae, *Saccharina bongardiana*.

Ламинариевые водоросли обладают способностью трансформировать соединения нефтепродуктов в более безопасные соединения и депонировать тяжелые металлы, очищая, таким образом, прибрежные акватории от негативного воздействия хозяйственной деятельности человека. У юго-восточной Камчатки одной из самых загрязненных акваторий является бух. Авачинская губа [1, 2]. На ее берегах находятся крупнейший город Камчатского края – Петропавловск-Камчатский и город-порт Вилючинск, являющиеся основными источниками антропогенного загрязнения прибрежных акваторий [3].

Одним из решений по улучшению экологической обстановки Авачинской губы является выращивание ламинариевых водорослей в местах, подверженных наибольшему антропогенному воздействию. В условиях Камчатки наиболее предпочтительным является использование исключительно местных видов ламинариевых водорослей для их искусственного выращивания в качестве санитарной марикультуры. Уникальный флороценотический состав бентосных сообществ восточной Камчатки, особые физико-географические условия региона, высокий полиморфизм и устойчивость к загрязнению определяют целесообразность использования для этих целей вида *Saccharina bongardiana* [4–6].

В настоящей работе представлен первый опыт получения рассады *S. bongardiana* в лабораторных условиях. Водоросли для экспериментов по выращиванию рассады собирали в литоральной или сублиторальной зоне Авачинской губы (бух. Завойко, м. Санникова, бух. Сероглазка) и у м. Маячный в периоды массового бесполого размножения (осень 2017 г.). Из собранного материала отбирали экземпляры с хорошо развитой спороносной тканью, покрывающей более 50% площади поверхности пластины без обрастаний. Все образцы промывали от песка на берегу, укладывали в термобоксы и доставляли в лабораторию.

При камеральной обработке у собранных образцов *S. bongardiana* отделяли участки пластины, имеющие зрелые сорусы спорангиев. Спороносную ткань дезинфицировали в слабом растворе йода и трижды промывали в автоклавированной морской воде. После этого проводили стимулирование выхода зооспор. Подготовленные высечки пластины *S. bongardiana* подсушивали на открытом воздухе при комнатной температуре. Затем их заворачивали в фильтровальную бумагу, укладывали в непрозрачные полиэтиленовые пакеты и помещали в холодильную камеру при 7–8°C на 14–20 ч. Далее высечки переносили в мерные стаканы (600 мл) с охлажденной стерильной морской водой и выдерживали при естественном освещении и температуре 15°C не более семи часов. Затем части пластин удаляли и полученную суспензию зооспор фильтровали через двойной слой марли.

Одновременно с обработкой водорослей вели подготовку питательной морской среды и субстрата для оседания зооспор. Для подготовки морской среды использовали стерилизованную морскую воду с соленостью 26–30‰, взятую в районе сбора водорослей. Эта вода обогащалась солями и биогенными веществами, необходимыми для нормального развития проростков [7]. Для подавления развития диатомовых водорослей и бактерий в лабораторных культурах сахаринны к морской среде добавляли растворы GeO_2 (1 мг/л) и ампициллина (2 мг/л), соответственно.

В качестве субстрата для оседания зооспор использовали стерильный полипропиленовый шпагат. Его плотно и равномерно наматывали на поливинилхлоридную (ПВХ) трубу, формируя, таким образом, катушки для оседания зооспор. Затем готовые катушки кипятили в течение 3 ч, после чего трижды промывали в стерильной дистиллированной воде и выдерживали в ней не более 48 ч. Появление гаметофитов на подготовленном таким образом субстрате происходило без отклонений и позволило оптимизировать время его подготовки до 2,5 сут.

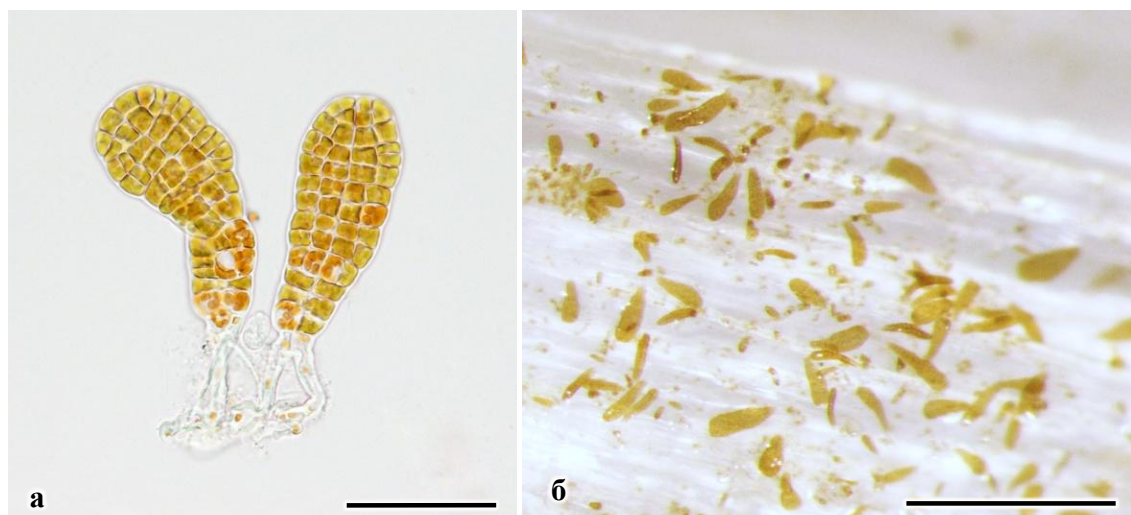
Отметим, что для исключения этапа прорезживания рассады необходимо строго контролировать концентрацию зооспор при оспоривании. Ее оптимальное значение для последующего выращивания проростков на искусственных субстратах должно находиться в диапазоне 9000–12500 спор/мл. В ходе наших экспериментов была получена суспензия зооспор с концентрацией 50000–1470000 спор/мл, из которой готовили рабочий раствор с необходимой оптимальной концентрацией путем разбавления суспензии стерильной морской средой. Концентрацию зооспор в среде определяли с помощью гемоцитометра (счетная камера Ньюбауэра).

Оспоривание проводили в стерильных пластиковых контейнерах, заполненных морской средой (3,5 л) с оптимальной концентрацией зооспор. Подготовленные заранее катушки свободно распределяли по объему контейнера для равномерного оседания зооспор на их поверхности. Контейнеры помещали в условия темноты при постоянной температуре 10°C на 1 сут. Затем катушки с осевшими зооспорами пересаживали в новый контейнер с морской средой и с этого момента вели отсчет времени содержания культур в искусственной среде в сутках.

Культуры *S. bongardiana* содержали в холодильной камере Froster RV PRO 400 G при постоянной температуре 10°C, люминесцентном освещении 30 мкмоль фотон/(м²·с) (холодный белый свет) и фотопериоде 12 ч свет: 12 ч темнота. Контроль за ростом гаметофитов проводили три раза в неделю. Для этого катушки предварительно осматривали с помощью стереомикроскопа Olympus SZX10, оснащенного цифровой камерой DP27. Детальное изучение и определение стадий развития гаметофитов, а также контроль за загрязнением среды проводили с помощью биологического микроскопа Olympus BX53, оснащенного цифровой камерой DP73. Культуральную среду меняли 1 раз в неделю.

После оседания зооспор в лабораторных культурах *S. bongardiana* появлялись эмбриоспоры. На 2–3 сутки они формировали проростковые трубки и первые клетки гаметофитов. К 15-му дню культивирования у микроскопических гаметофитов уже прослеживалась половая дифференциация и можно было достаточно легко определить более крупные женские растения, состоящие из 2–10 клеток и мелкоклеточные разветвленные нити мужских гаметофитов, состоящие из восьми и более клеток. Стадия вегетативного роста гаметофитов продолжалась 30–40 сут с момента оседания зооспор. После этого они формировали женские и мужские гаметангии – оогонии и антеридии. Через 40 сут с момента оседания зооспор на субстрат из зрелых оогониев выходили яйцеклетки и после их оплодотворения формировались зиготы. Затем в течение последующих суток в зиготах происходило первое клеточное деление, дающее начало спорофиту, состоящему из двух и более клеток.

После появления в культурах *S. bongardiana* первых спорофитов к контейнерам с катушками подключали аэрацию и увеличивали освещение до 100 мкмоль фотон/(м²·с), при этом фотопериод (12 ч освещения и 12 ч темноты) не меняли.



Проростки *Saccharina bongardiana*, выращенные на искусственном субстрате в лабораторных условиях:
 а – ювенильные однослойные спорофиты (после 45 суток культивирования),
 б – обрастание спорофитами пропиленового шпатага.
 Масштаб: а – 50 мкм, б – 500 мкм

К 45-м суткам культивирования в контейнерах с катушками появились ювенильные однослойные спорофиты, состоящие из 10–30 клеток (см. рис.). В ходе их дальнейшего роста и развития формировались растения, несущие многослойную пластину и развитые ризоидальные выросты. После 60 сут культивирования на пропиленовом шпатаге появлялись проростки 0,2–0,8 мм длины. К этому времени катушки из-за развитых ювенильных спорофитов приобретали насыщенно-коричневый цвет, и проростки имели здоровый вид, хорошо различимые функциональные части – пластину, стволик и ризоиды. Полученные катушки с проростками 0,2 и более мм длины могут быть с успехом использованы как рассада для пересаживания в естественную морскую среду. Она может использоваться не только для санитарной, но и для товарной марикультуры. Разработанный способ получения проростков гаметофитов перспективен для решения вопросов поддержания продуктивности и восстановления естественных популяций камчатских ламинариевых водорослей.

Работа выполнена при финансовой поддержки «Фонда содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере», проект № 10760ГУ2/2016 «Разработка биотехники получения рассады ламинариевой водоросли *Saccharina bongardiana* для санитарной марикультуры прибрежных акваторий восточной Камчатки».

Литература

1. Клочкова Н.Г., Березовская В.А. Макрофитобентос Авачинской губы и его антропогенная деструкция. – Владивосток: Дальнаука, 2001. – 205 с.
2. Касперович Е.В. Техногенное влияние морских транспортных средств на состояние экосистем прикамчатских вод: Дис. ... канд. биол. наук. – Петропавловск-Камчатский, 2011. – 154 с.
3. Качество морских вод по гидрохимическим показателям. Ежегодник 2015 / Под ред. Коршенко А.Н. – М.: Наука, 2016. – 184 с.
4. Федорченко В.П., Макаров Е.О., Клочкова Н.Г. О возможности использования *Saccharina bongardiana* (Phaeophyta, Laminariales) в качестве индикатора металлического загрязнения морских прибрежных вод Камчатки // Вестник Камчат. гос. техн. ун-та. – 2011. – Вып. 17. – С. 101–106.
5. Буряя водоросль *Saccharina bongardiana* как показатель экологического состояния мест нефтяного загрязнения в Авачинской губе (юго-восточная Камчатка) / А.В. Климова, Е.В. Касперович, А.Э. Кусиди, Н.Г. Клочкова // Вестник Камчат. гос. техн. ун-та. – 2014. – № 29. – С. 65–74.
6. Воздействие антропогенного загрязнения на состояние макрофитобентоса в бухте Раковая (Авачинская губа, юго-восточная Камчатка) / Н.Г. Клочкова, А.В. Климова, С.О. Очеретяна, А.Э. Кусиди, Е.В. Касперович // Вестник Камчат. гос. техн. ун-та. – 2016. – № 35. – С. 53–64.
7. Климова А.В., Клочкова Т.А. Особенности развития морской бурой водоросли *Alaria angusta* в искусственных условиях (Alariaceae, Ochrophyta) // Биология моря. – 2017. – Т. 43, № 1. – С. 32–38.