

**МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО ПО РЫБОЛОВСТВУ**

**ФГБОУ ВО «КАЛИНИНГРАДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ  
ТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»**

**ФГБОУ ВО «САРАТОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ  
УНИВЕРСИТЕТ им. Н.И. ВАВИЛОВА»**

**IV Национальная  
научно-практическая конференция**

**СОСТОЯНИЕ И ПУТИ РАЗВИТИЯ АКВАКУЛЬТУРЫ  
В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**Калининград, 8-10 октября 2019 г.**

УДК 639.3:639.5  
ББК 47.2  
С23

Редакционная коллегия:  
Васильев А.А., Кузнецов М.Ю., Сивохина Л.А., Поддубная И.В.

Состояние и пути развития аквакультуры в Российской Федерации: материалы IV национальной научно-практической конференции, Калининград – 8-10 октября 2019 г./ под ред. А.А. Васильева; Саратовский ГАУ. – Саратов: Амирит, 2019. – 267 с.

ISBN 978-5-00140-341-8

В сборнике материалов IV национальной научно-практической конференции приводятся результаты исследования по актуальным проблемам аквакультуры, в рамках решения вопросов продовольственной безопасности, ресурсосберегающих технологий производства рыбной продукции и импортозамещения. Для научных и практических работников, аспирантов и обучающихся по укрупненной группе специальностей и направлений подготовки 35.00.00 сельское, лесное и рыбное хозяйство.

Статьи даны в авторской редакции в соответствии с представленным оригинал-макетом.

**Сборник подготовлен и издан при финансовой поддержке  
ООО «Научно-производственное объединение «Собский рыбоводный завод»»  
Генеральный директор Д. Ю. Эльтеков**

ISBN 978-5-00140-341-8

© ФГБОУ ВО Саратовский ГАУ, 2019

## МЕТОДИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ИНКУБАЦИИ ЦИСТ АРТЕМИИ

Н.В. КРЯХОВА, Н.П.КОВАЧЕВА

N.V. Kryakhova, N.P. Kovatcheva

*Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии (ФГБНУ «ВНИРО»)*

Russian Federal Research Institute of Fisheries and Oceanography (VNIRO)

**Аннотация.** В работе протестированы два основных метода активации цист артемии *Artemia* sp. раствором пероксида водорода (3%): путем кратковременного вымачивания цист в растворе и добавлением 0,4 мл активатора непосредственно в инкубационный раствор. Метод добавления активатора в раствор был более эффективным и показал больший процент выклева науплиев артемии (68,53%) по сравнению с методом вымачивания цист (64,13%). При использовании метода добавления активатора количество свободно плавающих науплиев было больше, по сравнению с методом вымачивания: 63,03% и 50,1% соответственно. Кроме того, проведено сравнение двух часто используемых методов определения процента выклева цист: «клеточного» и количественного методов. Результаты использования этих двух методов оказались практически одинаковыми, статистически достоверных различий не обнаружено, что говорит о возможности использования обоих методов.

**Ключевые слова:** инкубация, артемия, выклев.

**Abstract.** Two main methods of *Artemia* sp. cysts activation hydrogen peroxide solution (3%) were tested: by briefly soaking cysts in the solution and adding 0.4 ml of activator directly to the incubation solution. The method of adding an activator to the solution was more effective and showed a higher percentage of hatching of *Artemia* nauplii (68.53%) compared with the method of soaking cysts (64.13%). When using the method of adding an activator, the number of freely floating nauplii was larger compared to the soaking method: 63.03% and 50.1%, respectively. In addition, a comparison was made of two commonly used methods for determining the percentage of hatching cysts: “cell” and quantitative methods. The results of using these two methods turned out to be almost the same, no statistically significant differences were found, which indicates the possibility of using both methods.

**Key words:** incubation, artemia, hatchery rate.

Цисты артемии используются в аквакультуре как источник живого, стартового корма для кормления личинок и мальков ценных пород рыб и ракообразных (креветок, крабов и др.) при индустриальных методах их

воспроизводства и культивирования. Основной используемой в аквакультуре формой артемии являются суточные науплии. Высокое количество белка (70%) и липидов (до 30%), включая незаменимые жирные кислоты [2, 5, 3] полностью обеспечивают потребности рыб и ракообразных на начальных стадиях развития, благодаря которым артемия стала самым незаменимым стартовым кормом для многих видов гидробионтов.

В литературе описаны различные методы активации цист артемии, позволяющей увеличить выклев науплиев артемии [1, 4, 6]. Наиболее часто используемым активатором является раствор пероксида водорода. На данный момент описано две методики его использования: путем вымачивания цист в активаторе и с помощью добавления его в инкубационный раствор. Однако работ по сравнению этих методик практически не встречается. Кроме того, в работах редко встречается описание методов определения процента выклева артемии, упоминается лишь конечный результат. В основном при определении процента выклева используют два метода: количественный, при котором из инкубационного раствора отбирают несколько проб и определяют средний процент выклева, и «клеточный» метод, при котором на смоченный лист разлинованной фильтровальной бумаги наносят цисты и спустя сутки определяют процент выклева. Целью данной работы было уточнение методики инкубации и активации цист артемии, а также сравнение методов определения процента выклева науплиев артемии.

**Материал и методика исследований. Активация цист артемии при инкубации.** Материалом для исследования послужили цисты компании «Артемия-Корал». Исследовано 2 варианта активации цист: замачивание цист в 3%-м растворе пероксида водорода на 20 минут и добавление 3%-го раствора пероксида водорода в инкубационный раствор в количестве 0,4 мл/л. 2,7 г цист добавляли в 1,5-литровые конусные емкости, заполненные инкубационным раствором, содержащим 27 г поваренной соли и 3 г пищевой соды. Инкубационные емкости разместили в термостатирующий контейнер, заполненный водой и поддерживающий температуру 28°C. Каждая емкость снабжалась аэрацией. Оба варианта активации выполнены в трех повторностях. Спустя 20, 24 и 28 часов из каждой емкости взято по 10 проб объемом 1 мл при помощи автоматической пипетки. Пробы фиксировали 4%-м раствором формальдегида, а затем, используя бинокулярный микроскоп МБС-10, при помощи камеры Богорова подсчитывали количество оставшихся цист и науплиев. После чего определяли средний процент выклева артемии каждой партии.

**Определение процента выклева.** Протестировано два метода определения процента выклева артемии: количественный и «клеточный» методы. При количественном методе цисты вносили в 3 конусные аэрируемые емкости (1,5 л) по 2,7 г цист в каждую. Емкости, заполненные инкубационным раствором, размещали в термостатирующем контейнере. При «клеточном» методе на 10 смоченных инкубационным раствором разлинованных дисков фильтровальной бумаги наносили в среднем по 200 цист. Чашки Петри помещали в

термостатирующий контейнер таким образом, чтобы они соприкасались дном с поверхностью воды. Температура воды на протяжении эксперимента составляла 28 °С. Спустя 24 часа из каждой конусной емкости при помощи автоматической пипетки отбирали по 1 мл инкубационного раствора и фиксировали 4%-м раствором формальдегида. Затем каждую пробу переносили в камеру Богорова и просматривали под бинокулярным микроскопом МБС-10. При «клеточном» методе чашки Петри через 24 часа после постановки на инкубацию просматривали под микроскопом напрямую, не фиксируя материал. После чего определяли средний процент выклева артемии.

**Результаты экспериментов. Активация цист артемии при инкубации.**

При определении величины выклева артемии в двух вариантах определена доля свободно плавающих науплиев (Н), как отношение их количества к общему количеству всех содержащихся в инкубационном растворе групп (свободно плавающие науплии, эмбрионы I, иногда называемые «парашют», эмбрионы II, вышедшие из хориона и покрытые эмбриональной оболочкой, и оставшиеся цисты). Кроме того, определен «полный» выклев (Н+), представляющий собой отношение эмбрионов всех стадий (свободно плавающие науплии, эмбрионы I, эмбрионы II) к общему количеству всех групп. Полученные результаты отражены на рисунке 1.

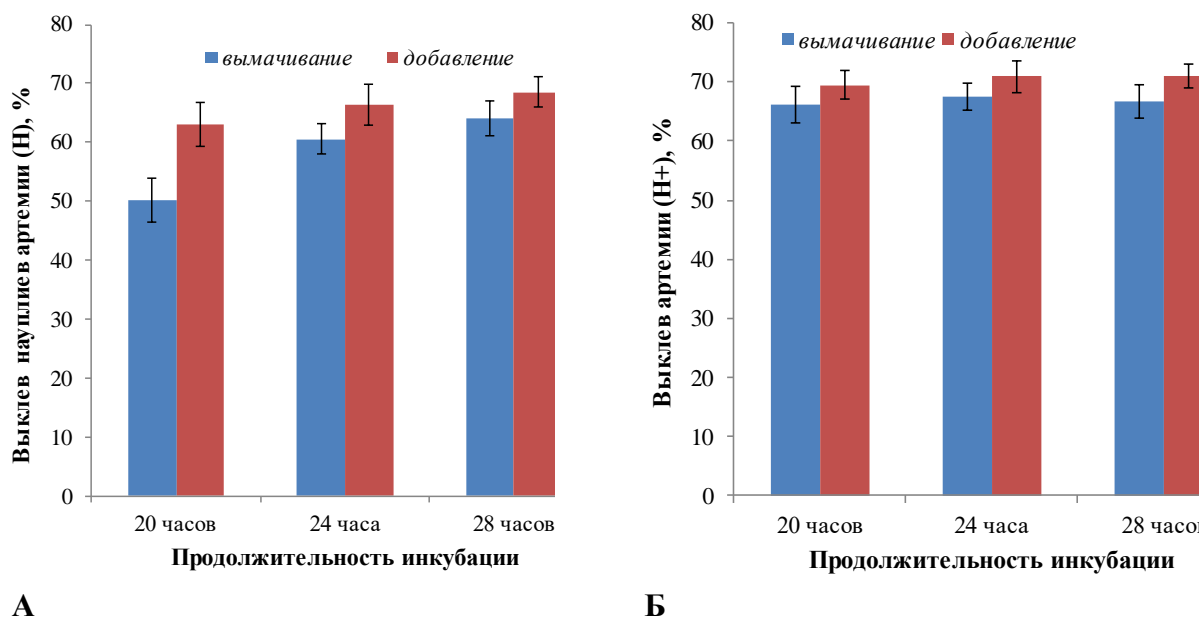


Рисунок 1. Величина выклева артемии при различных способах активации цист. А – выклев свободно плавающих науплиев (Н), Б – «полный» выклев артемии (Н+)

При активации методом замачивания цист в растворе пероксида водорода через 20 часов после начала инкубации выклев науплиев артемии (Н) составил 50,1%. Тогда как при активации путем добавления раствора пероксида водорода этот показатель составил 63,03%. При продолжении инкубации количество свободно плавающих науплиев в двух вариантах эксперимента увеличивалось, и спустя 28 часов после начала инкубации составило 64,13% для цист, активированных замачиванием, и 68,53% для цист, в инкубационный раствор

которых добавляли раствор пероксида водорода. Хотя показатели величины выклева артемии при использовании разных методов активации достоверно различаются только при продолжительности инкубации 20 часов, размер выклева при активации путем добавления активатора заметно выше.

Та же тенденция наблюдается при рассмотрении «полного» выклева артемии (рис. 1Б). При активации путем добавления активатора величина выклева (Н<sup>+</sup>) несколько больше при активации добавлением пероксида, однако достоверных отличий между полученными данными не обнаружено. Рост величины выклева науплиев и относительная стабильность величины «полного» выклева в обоих вариантах эксперимента объясняется тем, что процесс выхода науплиев из цист продолжается на протяжении нескольких часов. При этом в инкубационном растворе находится некоторое количества погибших цист, которое остается постоянным независимо от продолжительности инкубации. Увеличение доли свободно плавающих науплиев обеспечивается за счет выхода артемии из внешней оболочки цисты (хориона) и в дальнейшем из внутренней эмбриональной оболочки.

**Определение процента выклева.** При определении величины выклева не обнаружено достоверных отличий между результатами эксперимента, полученными двумя рассматриваемыми методами (рис. 2).

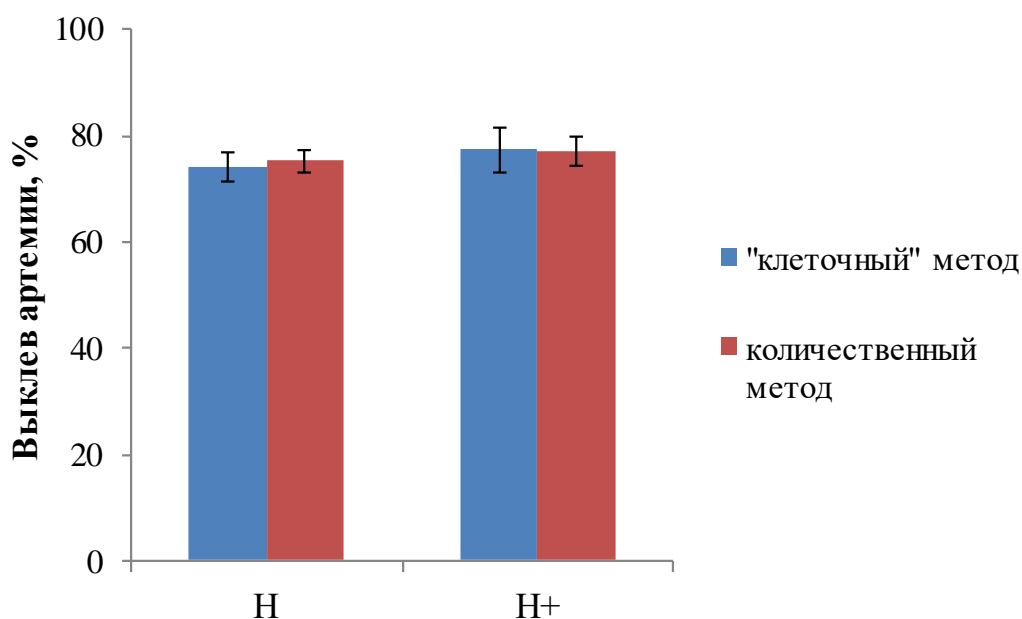


Рисунок 2. Использование разных методов определения выклева артемии

Величина выклева науплиев (H), полученная «клеточным» методом составила 74,2%, а количественным методом – 75,21%. И хотя при количественном методе процент науплиев незначительно выше, можно сказать, что полученные результаты являются тождественными. При определении полного выклева (H<sup>+</sup>) величины выклева в двух вариантах эксперимента практически совпали и составили 77,35% и 77,16% для клеточного и количественного метода соответственно.

Полученные данные говорят о том, что при определении величины выклева артемии можно использовать оба метода. Выбор может зависеть от объема тестируемого материала. Клеточный метод позволяет использовать незначительное количество цист, что удобно, если имеющаяся партия цист крайне незначительна.

#### Список литературы:

1. Богатова И.Б. Способ активации яиц / И.Б. Богатова, З.И. Шмакова: Патент СССР № 712065, 1980а. С. 2.
2. Ивлева И.В. Биологические основы и методы массового культивирования кормовых беспозвоночных. М. Наука, 1969. 170 с.
3. Bengtson D.A., Léger P., Sorgeloos P. Use of Artemia as food source: a review in *Artemia Biology*, Brown K., Sorgeloos P., Trotman C., Eds., CRC Press, 1991, 255 pp.
4. Bogatova I.V. Incubation of *Artemia salina* L. diapause eggs without preliminary hatching stimulation (using hydrogen peroxide). / Bogatova I.V., Erofeeva Z.I. // *Gidrobiol. Zh.* 1995. 21(2). 52-56 p.
5. Léger P., Bengtson D.A., Sorgeloos P., Simpson K.L., Beck A.D. The nutritional value of Artemia: a review, in *Artemia Research and Its Applications*, Vol. 3, Sorgeloos P., Bengtson D.A., Decler W. and Jasper E., Eds., Universa Press, Wetteren, Belgium, 1987, 27.
6. Van Stappen G. Effects of hydrogen peroxide treatment in Artemia cysts of different geographical origin. / Van Stappen G., Lavens P., Sorgeloos P. // *Arch. Hydrobiol. Spec. Issues Advanc.Limnol.* 1998. 52. 281-296 p.