

ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО ПО РЫБОЛОВСТВУ



Дальневосточный государственный технический
рыбохозяйственный университет

**ИННОВАЦИОННОЕ РАЗВИТИЕ РЫБНОЙ
ОТРАСЛИ В КОНТЕКСТЕ ОБЕСПЕЧЕНИЯ
ПРОДОВОЛЬСТВЕННОЙ БЕЗОПАСНОСТИ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

Материалы VI Национальной
научно-технической конференции

(Владивосток, 22 декабря 2022 года)

Электронное издание

Владивосток
Дальрыбвтуз
2023

УДК 639.2+338.439
ББК 65.35+65.5
И66

Организационный комитет конференции:

Председатель – Щека Олег Леонидович, доктор физ.-мат. наук, профессор, ректор ФГБОУ ВО «Дальрыбвтуз».

Зам. председателя – Шестак Ольга Игоревна, канд. ист. наук, доцент, начальник научного управления ФГБОУ ВО «Дальрыбвтуз».

Секретарь – Образцова Елизавета Юрьевна, главный специалист научного управления

Адрес оргкомитета конференции:

690087, г. Владивосток
ул. Луговая, 52б
Дальневосточный государственный технический
рыбохозяйственный университет
Тел./факс: 8 (423) 2-44-11-76
[http:// www.conf.dalrybvtuz.ru](http://www.conf.dalrybvtuz.ru)
e-mail: dalrybvtuz-conf@mail.ru

И66 Инновационное развитие рыбной отрасли в контексте обеспечения продовольственной безопасности Российской Федерации : материалы VI Нац. науч.-техн. конф. [Электронный ресурс]. – Электрон. дан. 38,0 Mb). – Владивосток : Дальрыбвтуз, 2023. – 428 с. – Систем. требования : PC не ниже класса Pentium I ; 128 Mb RAM ; Windows 98/XP/7/8/10 ; Adobe Reader V8.0 и выше. – Загл. с экрана.

ISBN 978-5-88871-767-7

Приведенные материалы охватывают широкий спектр инновационного развития рыбной отрасли, рациональной эксплуатации биоресурсов Мирового океана, производства продуктов из водных биологических ресурсов, совершенствования техники, технологии продуктов питания и управления качеством, а также эксплуатацию водного транспорта и безопасность мореплавания, гуманитарные и социально-экономические аспекты развития рыбной отрасли.

Представлены результаты научных исследований ученых Дальрыбвтуза и других вузов России.

УДК 639.2+338.439
ББК 65.35+65.5

ISBN 978-5-88871-767-7

© Дальневосточный государственный
технический рыбохозяйственный
университет, 2023

УДК 574.24

Светлана Евгеньевна Лескова

Дальневосточный государственный технический рыбохозяйственный университет, кандидат биологических наук, доцент, ORCID: 0000-0001-7058-3449, Author ID РИНЦ: 960459, Россия, Владивосток, e-mail: leskova.se@dgtru.ru

Алиса Дмитриевна Ли

Дальневосточный государственный технический рыбохозяйственный университет, студент, Россия, Владивосток, e-mail: lealiska0902@gmail.com

Евгений Валерьевич Михеев

Дальневосточный государственный технический рыбохозяйственный университет, кандидат технических наук, ORCID: 0000-0002-9138-3865, Author ID Scopus: 6602626984, Author ID РИНЦ: 964637, Россия, Владивосток, e-mail: zhenyasuper79@mail.ru

Николай Николаевич Ковалев

Дальневосточный государственный технический рыбохозяйственный университет, доктор биологических наук, ORCID: 0000-0001-7100-7208, Author ID Scopus: 7005804649, Author ID РИНЦ: 96894, Россия, Владивосток, e-mail: kovalevnn61@yandex.ru

Рост *Isochrysis galbana* при различных температурах воды

Аннотация. Проведен анализ литературных данных о влиянии температуры на показатели роста микроводорослей. Исследовано влияние широкого диапазона температур на рост культуры *Isochrysis galbana* в промышленных условиях. Установлено, что максимальный среднесуточный прирост клеток наблюдается при 22 °С.

Ключевые слова: микроводоросли, культивирование, температура, рост, прирост, *Isochrysis galbana*

Svetlana E. Leskova

Far Eastern State Technical Fisheries University, PhD in Biology, Associate Professor, ORCID: 0000-0001-7058-3449, Author ID RSCI: 960459, Russia, Vladivostok, e-mail: leskova.se@dgtru.ru

Alisa D. Lee

Far Eastern State Technical Fisheries University, Student, Russia, Vladivostok, e-mail: lealiska0902@gmail.com

Evgeny V. Mikheev

Far Eastern State Technical Fisheries University, PhD in Engineering Sciences, ORCID: 0000-0002-9138-3865, Author ID Scopus: 6602626984, Author ID RSCI: 964637, Russia, Vladivostok, e-mail: zhenyasuper79@mail.ru

Nikolay N. Kovalev

Far Eastern State Technical Fisheries University, Doctor of Biological Sciences, ORCID: 0000-0001-7100-7208, Author ID Scopus: 7005804649, Author ID RSCI: 964637, Russia, Vladivostok, e-mail: kovalevnn61@yandex.ru

Growth of *Isochrysis galbana* at various water temperatures

Abstract. The analysis of the literature data on the influence of temperature on the growth of microalgae is carried out. The influence of a wide temperature range on the growth of *Isochrysis galbana* culture in industrial conditions has been studied. It was found that the maximum average daily cell growth was observed at 22 °C.

Keywords: microalgae, cultivation, temperature, growth, increment, *Isochrysis galbana*

Isochrysis galbana (Haptophyta) – морская микроводоросль, которая очень широко используется в аквакультуре. Она признана богатым источником полиненасыщенных жирных кислот, главным образом эйкозапентаеновой кислоты (ЭПК, 20:5 ω 3), незаменимых витаминов (таких как А, В1, В2, В6, С и Е), белков, стерина, токоферолов и красящих пигментов (в основном фукоксантина, лютеина и β -каротина) [1].

Сообщалось, что морской вид микроводорослей *Isochrysis galbana* продуцирует от 7,0 до 40,0 % липидов (от сухой биомассы) при продуктивности биомассы 0,32–1,60 г/л/сут [2]. В оптимизированных условиях *I. galbana* накапливает 55,6 % липидов от сухого веса биомассы, и удельная скорость его роста может достигать 1,0 д⁻¹ [3]. Отмечаются различия в термотолерантности у различных штаммов микроводоросли [4].

I. galbana характеризуется высокой скоростью роста, широкой устойчивостью к температуре и солености.

Массовое выращивание *I. galbana* в открытом грунте часто страдает от высокой температуры, особенно в полдень летом. Значительные различия в переносимости температуры роста были обнаружены у различных штаммов *I. galbana*. Например, исходный штамм *I. galbana*, выделенный в Англии, хорошо рос при 20–25 °C, в то время как оптимальная температура роста штамма составляла 25–30 °C [5].

I. galbana широко используется в аквакультуре благодаря ее способности к массовому культивированию, высоким темпам роста, оптимальному размеру клеток для поглощения личинками моллюсков (1–15 мкм), высокой питательной ценности [6].

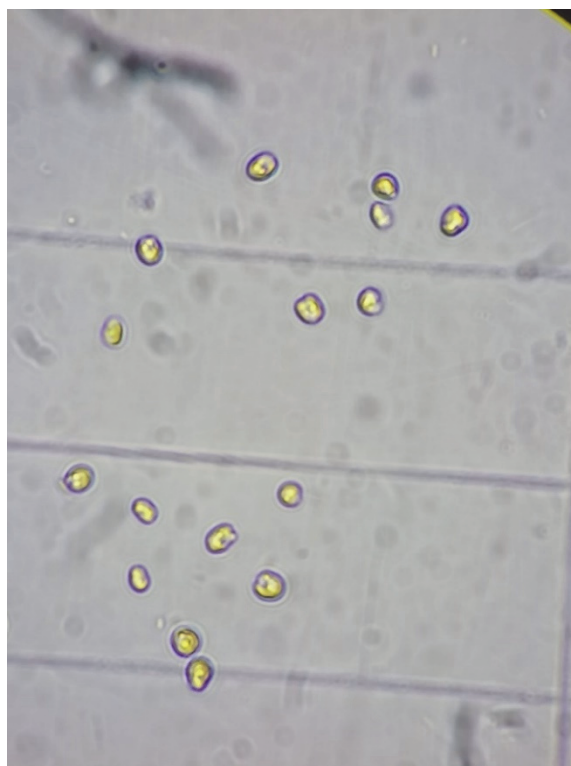


Рисунок 1 – *Isochrysis galbana* (фото автора)

Высокие концентрации белка, углеводов, жирных кислот и витаминов, содержащихся в микроводорослях, делают их незаменимой пищей для зоопланктона, личинок и ювенильных стадий моллюсков, ракообразных и некоторых травоядных рыб [7].

Параметры культивирования, такие как интенсивность света, фотопериод, температура, соленость, рН, перемешивание и т.д., влияют на рост микроводорослей.

Температурный стресс, в частности, влияет на скорость роста и химический состав микроводорослей и может ограничивать усвоение питательных веществ. Температура оказывает существенное влияние на фазовый переход мембранных липидов, кинетику клеточных ферментов и активные транспортные системы через мембраны [8]. Скорость роста микроводорослей можно стимулировать, и клетки становятся меньше при более высоких температурах [9].

Зависимый от температуры рост водорослей может быть экспоненциальным или линейным в зависимости от других переменных среды [10,11]. Клетки водорослей адаптируются к широкому диапазону температур, характеризуются различными физиологическими, а также биохимическими реакциями [12].

Хотя высокая температура роста связана со значительным снижением содержания белка и увеличением липидов и углеводов у видов [13], реакция химического состава микроводорослей на высокие и низкие температуры роста варьируется от вида к виду [14].

Общепризнано, что размеры клеток микроводорослей обратно пропорциональны скорости их роста, которая увеличивается с температурой в определенном диапазоне [15,16].

Таким образом, анализ данных литературы обосновывает необходимость изучения и оптимизации рациональных параметров в течение всего периода культивирования *Isochrysis galbana*.

Целью нашего исследования является изучение влияния различных температур на рост *Isochrysis galbana*.

В основу работы положены материалы, собранные на предприятии марикультуры ООО «Дальстам-Марин» в б. Воевода летом 2022 г.

Микроводоросли выращивали на питательной среде F/2 [17]. Для приготовления питательной среды морская вода предварительно фильтровалась и стерилизовалась. В подготовленную воду добавляли растворы солей (NaNO_3 ; $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$; $\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$), микроэлементов ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$; $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$; $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$; $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; ЭДТА- Na_2 ; $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) и витаминов (B_1 ; B_7 ; B_{12}) [18].

Эксперименты по выращиванию водорослей проводили при постоянных условиях: освещенности 8–10 кЛк, фотопериоде 24 ч, периодическом перемешивании (4–5 раза в сутки), соленость воды составляла 34 ‰. Диапазон исследованных температур варьировал от 10 до 30 °С (табл. 1).

Таблица 1 – Условия проведения эксперимента

№ эксперимента	T, °C	Освещенность	S, ‰	Время культивирования, сут.
1	10	Непрерывное освещение	34	10
2	14			
3	18			
4	22			
5	26			
6	30			

Водоросли выращивали в предварительно стерилизованных стеклянных конических колбах объемом 250 мл.

Плотность культуры оценивали путем подсчета клеток и определения их прироста. Подсчет клеток осуществляли в камере Горяева в трех повторностях под световым микроскопом. Продолжительность эксперимента составляла 10 дней.

Результаты и обсуждение

Температура играет важную роль и напрямую влияет на рост микроводорослей [12, 19, 20, 21]. Зависимый от температуры рост водорослей может быть экспоненциальным или линейным в зависимости от переменных среды [10, 11]. По отношению к температуре микроводоросли можно разделить на 2 группы: эвритермные, которые могут переносить значительные колебания температуры, и stenotherмные, которые имеют низкую температурную устойчивость к сдвигу. В целом повышение температуры связано с повышением скорости фотосинтеза и высоким усвоением питательных веществ.

I. galbana в каждом эксперименте рос в условиях полного минерального обеспечения, которые позволяли клеткам активно делиться. Экспериментальное выращивание *I. galbana* при различных температурах показало, что при температурах 18, 22, 26 и 30 °C клетки уже на третий день перешли в фазу роста. Клетки *I. Galbana*, развивающиеся при температурах 18 и 26 °C, на 7-й день достигли фазы замедления роста.

Культивирование *I. galbana* при температуре 22 и 30 °C на 7-й день характеризуется снижением количества клеток микроводоросли (рис. 2).

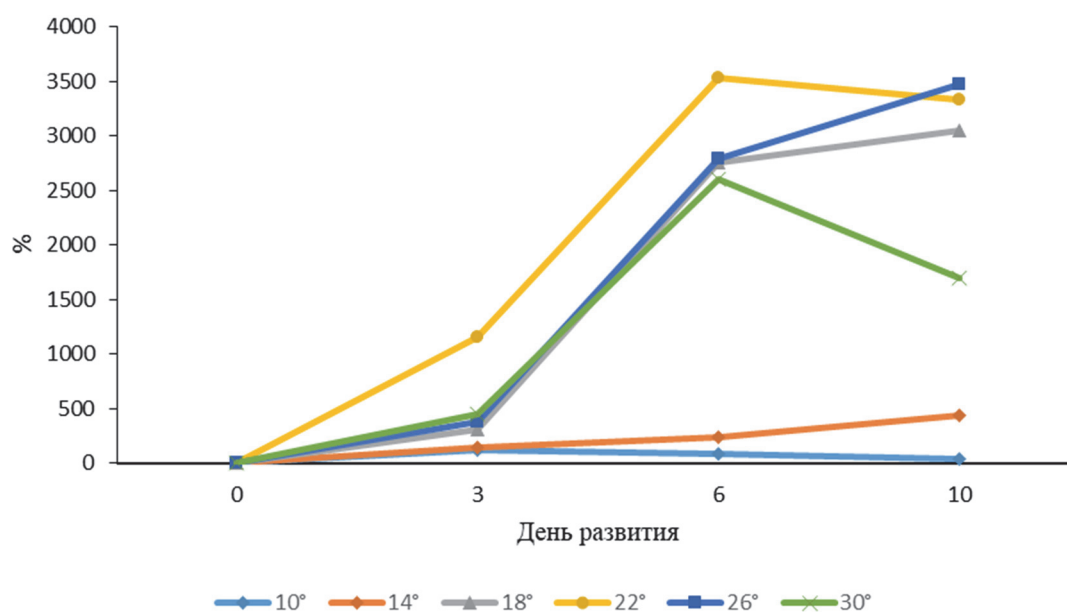


Рисунок 2 – Темп роста *Isochrysis galbana*

Максимальный прирост культуры при температурах 18, 22, 26 и 30 °C наблюдался с 3-е по 6-е сутки, т.е. экспоненциальная фаза в эксперименте длилась 3 дня. Прирост в этот период роста составил от 2608 % до 3528,6 % при 22 °C и 30 °C соответственно (табл. 2).

Таблица 2 – Прирост клеток *Isochrysis galbana* при различных температурах воды, %

Температура воды, °C	День развития		
	3	6	10
10	116,7	88,9	41,7
14	143,37	240,8	439,5
18	311,8	2752,9	3047,1
22	1150	3528,6	3328,6
26	378,6	2785,7	3478,6
30	452	2608	1700

При температуре 14 °C клетки *I. galbana* росли достаточно медленно, но стабильно.

Содержание клеток микроводорослей в воде при температуре 10 °C показало, что на 10-й день количество живых клеток в культуре осталось в количестве 41 % от исходного значения.

Максимальный среднесуточный прирост клеток наблюдался при развитии клеток в воде температурой 22 °С (табл. 3).

Таблица 3 – Среднесуточный прирост клеток *Isochrysis galbana* при различных температурах воды, кл. мл⁻¹·сут⁻¹

Температура воды, °С	Среднесуточный прирост клеток, кл. мл ⁻¹ ·сут ⁻¹
10	0,2x10 ⁴
14	0,2x10 ⁶
18	0,5x10 ⁶
22	0,9x10 ⁶
26	0,5x10 ⁶
30	0,4x10 ⁶

Согласно литературным данным, оптимальная температура культивирования кормовых видов микроводорослей составляет 20–24 °С [22]. При температуре ниже 16 °С и выше 27 °С темп роста замедляется, а при температуре 30 °С – водоросли погибают. Так, при температуре 24 °С скорость роста *I. galbana* и *D. viridis* в 2–3 раза выше, чем при температуре 15 °С. Обратная тенденция прослеживается для диатомовых водорослей – *P. tricornutum*, *S. calcitrans*. Их скорость роста при температуре 15 °С в 2 раза выше, чем при 24 °С. Поэтому оптимальная температура культивирования золотистых и зелёных микроводорослей составляет 24 °С, а диатомовых – не выше 20 °С. При низких значениях температуры (8–14 °С) поддерживается только жизнедеятельность коллекционных культур [22].

По данным D. Kaplan и др. (1986), оптимальная температура для достижения наибольшей биомассы *I. galbana* составляла 27 °С, в то время как температуры выше 32 °С или ниже 19 °С заметно снижали ее. Для коммерческого штамма *Isochrysis sp.* (клон *T.ISO*) отмечен очень медленный рост при 35 °С [14]. Также определено, что максимальная зафиксированная биомасса при культивировании водорослей – в воде с температурой 27 °С [23].

Результаты работы Ладыгиной показали, что при выращивании *I. galbana* при температуре воды 28 и 16 °С среднесуточный прирост при 28 °С составил 0,98x10⁶ кл. мл⁻¹·сут⁻¹, почти вдвое больше, чем при 16 °С [24]. Напротив, Y. Durmaz с соавторами (2008) утверждают, что при 18 °С плотность клеток *I. galbana* быстро увеличивается во время экспоненциальной фазы, а при температуре 26 °С отмечалась задержка между 0 и 7 днями, затем наблюдалось постепенное увеличение плотности [25].

В результате проделанной работы можно сделать заключение, что для массового заводского выращивания *Isochrysis galbana* оптимальным является температурный диапазон от 18 до 26 °С. Температуры ниже 18 °С возможно использовать для поддержания жизнедеятельности маточных культур на предприятиях.

Библиографический список

1. J. Matos, C. Cardoso, N. M. Bandarra and C. Afonso, Microalgae as healthy ingredients for functional food: a review, *Food Funct.*, 2017. 8. 2672–2685.
2. T.M. Mata, A.A. Martins, N.S. Caetano, Microalgae for biodiesel production applications: a review. *Renew. Sust. Energ. Rev.* 14. 2010. 217–232.
3. Q. Liu, T. Pang, L. Li, J.G. Liu, W. Lin, *Isochrysis sp.* IOAC724S, a newly isolated, lipid-enriched, marine microalga for lipid production, and optimized cultivation conditions, *Biomass Bioenerg.* 60. 2014. 32–40.
4. Ling Li a,b,c, Litao Zhang a,b, Zhen Zhang a, Jianguo Liu Comparison of heat resistance and application potential of two lipid-rich *Isochrysis galbana* strains // *Algal Research.* 2016. 20. 1–6.
5. R.L. Zhou, Z.R. Sun, Z. Yang, H. Liu, A.S. Sun, Preliminary report on the isolation, culture and use for *Isochrysis galbana* 8701, *Trans. Oceanol. Limn.* 1. 1990. 34–35.

6. Лескова С.Е., Михеев Е.В., Ковалев Н.Н. РОСТ *Isochrysis galbana* в миксотрофных условиях с использованием гиббереллиновой кислоты // Journal of Agriculture and Environment. 2022. № 2(22).
7. Jéssica Dörner, Pamela Carbonell, Soledad Pino and Ana Farías Variation of Fatty Acids in *Isochrysis galbana* (T-Iso) and *Tetraselmis suecica*, Cultured under Different Nitrate Availabilities // Fish Aquac J. 2014. 5:3.
8. Quinn, P.J. and W.P. Williams. The structural role of lipids in photosynthetic membranes. Biochim. Biophys. Acta 737: 1983. 223–266.
9. Rijssel, M.V. and W.W.C. Gieskes. Temperature, light, and the dimethylsulfoniopropionate (DMSP) content of *Emiliania huxleyi* (Prymnesiophyceae). J. Sea Res. 2002. 48: 17–27.
10. Goldman, JC, Carpenter, EJ. A kinetic approach to the effect of temperature on algae growth. Limnol. Oceanogr. 1974 (19). 756–766.
11. Thompson, P.A., Guo, M.H., Harrison, P.J. Effects of temperature change. I. On the biochemical composition of eight species of marine phytoplankton. J. Phycol. 1992 (28). 481–488.
12. Davison, I.R. Environmental impact on algae photosynthesis: temperature. J. Phycol. 1991 27:2–8.
13. Oliveira, M.A.S., M.P. Monteiro, P.G. Robbs, and S.G. Leite. Growth and chemical composition of *Spirulina maxima* and *Spirulina platensis* biomass at different temperatures. Aquacult. Int. 1999.7: 261–275.
14. Renaud, S.M., H.C. Zhou, D.L. Parry, L.V. Thinh, and K.C.Woo. Effect of temperature on the growth, total lipid content and fatty acid composition of recently isolated tropical microalgae *Isochrysis* sp., *Nitzschia closterium*, *Nitzschia paleacea*, and commercial species *Isochrysis* sp. (clone T.ISO). J. Appl. Phycol. 1995.7: 595–602.
15. Atkinson, D., B.J. Ciotti, and D.J.S. Montagnes. Protists decrease in size linearly with temperature: ca 2.5% C-1. Proc. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci. 2003. 270: 2605–2611.
16. Sayegh, F.A.Q. and D.J.S. Montagnes. Temperature shifts induce intraspecific variation in microalgal production and biochemical composition. Bioresour. Technol. 2011. 102: 3007–3013.
17. Muller-Feuga A. The role of microalgae in aquaculture: situation and trends // J. Appl. Phycol. 2000. 12. P. 527–534.
18. Guillard, R.R.L. Culture of Phytoplankton for Feeding Marine Invertebrates. In: Smith, M.L. and Chanley, M.H., Eds., Culture of Marine Invertebrates Animals, New York: Plenum Press, 1975, P. 29–60.
19. Fogg G. Algae adaptation to stress. Some general remarks. In: Adaptation of algae to environmental stresses. Springer, 2001. P. 1–19.
20. Goldman JC, Ryther JH. Temperature-affected species competition in marine phytoplankton mass cultures. Biotechnol. Bioeng. 1976(18). 1125–1144.
21. Goldman, JC, Mann, R. Temperature changes in speciation and chemical composition of marine phytoplankton in mass outdoor cultures. J. Exp. Mar. Biol. ecol. 1980. 46. 29–39.
22. Холодов В.И., Пиркова А.В., Ладыгина Л.В. Выращивание мидий и устриц в Чёрном море. Воронеж : ООО «ИЗДАТ-ПРИНТ», 2017. 508 с.
23. D. Kaplan, Z. Cohen, A. Abeliovich Optimal growth conditions for *Isochrysis galbana* // Biomass. Vol. 9 (1). 1986. P. 37–48.
24. Ладыгина Л.В. Элементы управляемого культивирования микроводоросли *Isochrysis galbana* – корма для личинок устриц // Рыбное хозяйство Украины. 2005. № 1. С. 23–25.
25. Y. Durmaz et all. Effect of Temperature on Growth and Biochemical Composition (Sterols, α -tocopherol, Carotenoids, Fatty Acid Profiles) of the Microalga, *Isochrysis galbana* // The Israeli Journal of Aquaculture – Bamidgeh. 2008. 60(3). 190–197.