ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО ПО РЫБОЛОВСТВУ

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «КЕРЧЕНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МОРСКОЙ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

# Морские технологии: проблемы и решения – 2025

**Материалы научно-практической конференции преподавателей, аспирантов и сотрудников**




**Керчь, 2025**

**УДК [001:378](063)**
**ББК 72+74.48**
**М 80**

В сборник включены избранные статьи участников научно-практических конференций преподавателей, аспирантов и сотрудников ФГБОУ ВО «КГМТУ» в период с 22 - 25 апреля 2025 г.

Рассматриваются вопросы практической подготовки обучающихся с акцентированием внимания на развитие рыбохозяйственного комплекса в региональном аспекте, эффективности эксплуатации морского транспорта, техники и технологии пищевой промышленности; исследований в области экологии и охраны окружаюшей среды, энергетики и социологии.

Материал предназначен для студентов, аспирантов и ученых в области технических, естественных, гуманитарно-экономических наук; педагогов среднего и высшего профессионального образования.

Тексты статей представлены в авторской редакции.

**РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ**

Масюткин Е. П., председатель редакционной коллегии, профессор, ректор ФГБОУ ВО «КГМТУ».

Логунова Н.А., д-р экон. наук, доцент; Степанов Д.В., канд. техн. наук, доцент; Голиков С.П., канд. техн. наук, доцент; Ивановский Н.В., канд. техн. наук, доцент; Скоробогатова В.В., канд. экон. наук, доцент; Серёгин С.С., канд. экон. наук, доцент; Битютская О.Е., канд. техн. наук, доцент; Букша С.Б., канд. пед. наук, доцент; Гадеев А.В., д-р филос. наук, доцент; Ениватов В.В., канд. техн., наук, доцент; Корнеева Е.В., канд. ист. наук, доцент; Кулиш А.В., канд. биол. наук; Петин И.А., Рябухо Е.Н., канд. физ.-мат. наук, доцент; Сметанина О.Н., канд. пед. наук, доцент; Сытник Н.А. канд. биол. наук, доцент; Яшонков А.А., канд. техн. наук, доцент.

**РЕЦЕНЗЕНТЫ**

Золотницкий А.П., профессор, д-р биол. наук, главный научный сотрудник Азово-Черноморского филиала ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии» («АзНИИРХ»).

Пискун Е.И., доцент, д-р экон. наук, профессор кафедры финансов и кредита ФГАОУ ВО «Севастопольский государственный университет».

Соколов С.А., профессор, д-р техн. наук, профессор кафедры машин и аппаратов пищевых производств ФГБОУ ВО «Керченский государственный морской технологический университет».

**Рекомендовано к публикации научно-техническим советом ФГБОУ ВО «КГМТУ» (протокол № _3_ от 29.04.2025 г.)**

Морские технологии: проблемы и решения – 2025 : сборник статей по материалам научно-практической конференции преподавателей, аспирантов и сотрудников ФГБОУ ВО «КГМТУ» / под общ. ред. Е. П. Масюткина. – Керчь : КГМТУ, 2025. – 448 с. – ISBN 978-5-6053556-4-9.– URL: http://www.kgmtu.ru/documents/nauka/sbornikmorskietekhnologii_2025.pdf. – Режим доступа: свободный. – Текст : электронный

ISBN 978-5-6053556-4-9

Текстовое электронное издание
Минимальные системные требования:
Требования к программному обеспечению:
Linux, OpenOffice.org Writer.
Минимальные требования к аппаратному обеспечению:
Центральный процессор: любой Intel или AMD, 1 ГГц;
Оперативная память: 512 Мб;
Видеокарта: NVIDIA, ATI, Intel© i8xx и i9xx, SIS, Matrox, VIA.

© ФГБОУ ВО «Керченский государственный морской технологический университет», 2025
©Коллектив авторов, 2025

Дата размещения на сайте 15.05.2025 г.
Объем издания 14,4 МБ

**УДК 582.263**

**Яховская А.Р., специалист лаборатории марикультуры**
ФГБНУ «ВНИРО», Азово-Черноморский филиал ФГБНУ «ВНИРО»
(«АзНИИРХ»)

# СОХРАНЕНИЕ МАТОЧНОЙ КУЛЬТУРЫ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ В СТЕРИЛЬНЫХ КОНТРОЛИРУЕМЫХ УСЛОВИЯХ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ РАЗНОГО ТИПА ВОДЫ

**Аннотация.** В данной статье описаны основные методики сохранения маточной культуры микроводорослей без использования морской воды, возможные болезни и методы их лечения. . В качестве объекта исследования использовали штаммы микроводорослей: *Nannochloropsis oceanica* Suda et Miyashita (IPPAS D-734) и *Tetraselmis sp.* Использование как стерильной морской воды, так и искусственно созданной морской воды, является эффективным способом поддержания маточных культур микроводорослей.
**Ключевые слова:** микроводоросли, маточная культура, *Nannochloropsis oceanica, Tetraselmis viridis*, питательные среды

**Введение.** Водоросли – это экологическая группа различных по происхождению организмов, определяемая преимущественно водным образом жизни (или жизнью во влажных условиях), облигатным оксигенным типом фотосинтеза и наличием цикла Кальвина, отсутствием органов и в большинстве случаев настоящих тканей [1-4].

Микроводоросли – это не только ключевой компонент биогеохимических циклов, обеспечивающий круговорот кислорода, но и ценный источник питательных веществ, позволяющий эффективно выращивать зоопланктон и инфузорий в промышленных масштабах и на хозяйствах.

Для использования микроводорослей в качестве питания зоопланктона их могут как выделять с пробы морской воды в период «цветения», так и получить готовый культуральный штамм из коллекции. В случае выделения необходимой кормовой культуры водорослей с общей массы фитопланктона её очищают от других видов, стимулируют и сохраняют – так получается рабочий штамм микроводорослей. В случае приобретения культуры из специализированной коллекции её пересаживают в культуральную среду, характерную для этого типа микроводорослей.

Наиболее излюбленным кормом молоди морских рыб являются представители родов *Copepoda* (подотряд Cyclopoida) и *Rotatoria*. Наибольшую биологическую массу особи этих видов набирают при содержании в благоприятных условиях, кормлении фитопланктоном с добавлением витаминов группы В [4-7].

Цель исследования: описать схему сохранения маточной культуры микроводорослей при использовании различных типов воды.

Материалы и методы исследования. В качестве объекта исследования использовали штаммы микроводорослей: *Nannochloropsis oceanica* Suda et Miyashita (IPPAS D-734) и *Tetraselmis sp.*

*Tetraselmis sp.* – это зелёные одноклеточные жгутиковые, принадлежащие к семейству Chlorodendraceae класса Chlorodendrophyceae, с почти сферическими, слегка уплощёнными клетками с вмятиной на переднем конце, из которой выходят четыре одинаковых жгутика в виде двух противоположных пар. В настоящее время известно множество морских и пресноводных видов этих микроводорослей, а некоторые из них встречаются даже в планктоне.

*Nannochloropsis sp.* – одноклеточные планктонные организмы с субсферическими клетками диаметром 2–4 мкм или цилиндрическими клетками размером 3–4×1,5 мкм. Они относятся к семейству Monodopsidaceae класса Eustigmatophyceae. *Nannochloropsis sp.* растут в основном в морской среде и обычно содержат жёлто-зелёные хлоропласты с основными пигментами – хлорофиллом А и ксантофиллами [10]. В настоящее время известно семь видов *Nannochloropsis sp.*, из которых шесть видов, обнаруженных в морской среде (*N. salina, N. australis, N. granulata, N. oceanica, N. oculata и N. gaditana*), и *N. limnetica*, который можно обнаружить как в пресной, так и в солоноватой воде [5].

Сохранение культуры выполнялось согласно руководству выращивания микроводорослей (Л.А. Гайсина). При кормлении культуры *Nannochloropsis* можно использовать среды F, F/2 и Уолна с добавлением витаминного комплекса, содержащего витамины группы В (В1, В2, В17). Для питания *Tetraselmis* использовали среды F/2, Тренкешу. Питательные среды вносили в зависимости от объёма культуры, так, к примеру, на 1 л среды использовали 1 мл культуральной среды.

Сохранение и культивирование культур было с использованием двух типов воды: профильтрованной стерильной морской воды и искусственно приготовленной в лабораторных условиях. Морская вода, отобранная с естественного водоёма, проходит несколько этапов очистки: фильтрацию, заморозку, стерилизацию. Поступившая вода проходит первичную очистку, после чего воду замораживают. Заморозка длится от 3 до 5 дней при температуре -2 – -5 ℃. После разморозки проводят фильтрацию воды. Фильтрация происходит при использовании фильтровальной бумаги повышенной плотности (синяя лента), после воду стерилизуют 30 минут при температуре 82 ℃. Для длительного хранения готовой воды используется метод заморозки Орлова Т.Ю. Искусственно созданная морская вода делается на основе дистиллированной воды. В дистиллят добавляется морская соль в расчёте на объём колбы и необходимую концентрацию. Так, к примеру, если необходимо сделать 20% раствор, нам необходимо добавить 24 г/л морской соли. Возможно добавление пищевой морской соли, но с дополнительным внесением витаминов и микроэлементов. Контроль солёности проводится после полного растворения частиц соли в приготовленном растворе, после чего вносятся корректировки, если необходимо.

Подсчёт клеток и контроль состояния культуры проводились с использованием камеры Горяева в соответствии с методикой расчёта концентрации микроводорослей Гайсина Л.А.

Оптимальный температурный режим поддерживался с помощью сплит-системы, а уровень солёности контролировался рефрактометром.

Результаты. Выращивание *Nannochloropsis* сильно зависит от различных факторов окружающей среды. Эти факторы играют решающую роль в определении скорости роста, содержания липидов и общего состояния культур *Nannochloropsis.* Понимание этих условий окружающей среды и управление ими необходимы для успешного и эффективного выращивания культуры.

Культура разводилась с коллекционного штамма на агаризированной среде. Стерильной микробиологической петлей культура *Nannochloropsis* сошкрябывалась с агар-агара и выдерживалась в подготовленной среде. Стандартное развитие культуры *Nannochloropsis* проходит в течение 7–10 дней. После начинается её угасание: культура опадает в осадок, вода становится прозрачной, а концентрация падает.

*Nannochloropsis* и *Tetraselmis* содержались в равных условиях при температуре воды 20–24 ℃, освещённости 3500 лк, свето-теневым периодом 12 часов свет, 12 часов темнота. Для круглогодичного сохранения культуры микроводорослей необходимо придерживаться методик культивирования фитопланктона, исходя из особенностей каждого вида [3-7].

К примеру, для культуры *Nannochloropsis oceanica* пересев необходим каждые 7 дней, с пересеиваемым объёмом 40–50%. Для *Tetraselmis viridis* существуют разные способы культивирования, сохранения и определения плотности культуры. Питание может быть как средой F/2, так и средой Тренкешу. После пересева водоросли оседают на дно колбы, поэтому на начальных этапах маточную культуру необходимо часто перемешивать, чтобы клетки микроводорослей оставались в подвижном слое культуральной среды. При увеличении плотности в толще воды появляются характерные для этого вида взвеси, мигрирующие по объёму колбы. Пересев *Tetraselmis sp.* необходимо делать каждые 10–14 дней, где в свежую среду вносят 10% разогнанной культуральной среды.

Важным этапом содержания культуры служит её проверка на заражённость. Это не полноценный, но немаловажный этап сохранения микроводорослей. Проверка проводится как при осмотре, так и при пересчёте культур. Скорость развития культуры при заражении замедляется, а цвет меняется с характерного для сине-зелёных видов водорослей — изумрудного, на желтоватый или даже прозрачный. Появляется хлопьевидный осадок.

При пересчёте используется камера Горяева объёмом 1 мл, в которую вносят культуру стерильной стеклянной палочкой с пробирки, в которую заранее отлили немного культуры. В начале пробу просматривают на наличие в ней инородных объектов, опасных для культуры (простейшие, вселенцы, инфузории и т. д.). После, при помощи пересчёта и наблюдения за состоянием клетки, можно понять, находится ли культура в стадии роста, деления или упадка. После

проверки она просчитывается, пересчёт проводят по стандартным методикам (рис. 1).

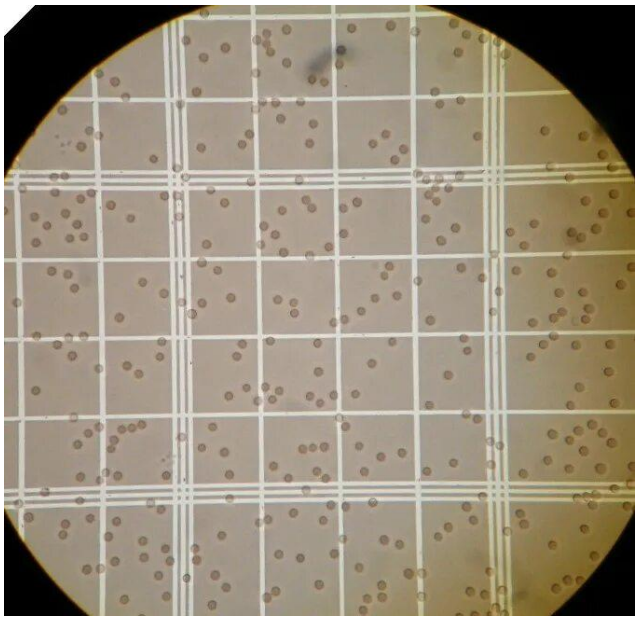

Рисунок 1 – Расчёт микроводорослей в камере Горяева

После пересчёта культура перемножается на значение и делится на 1000, так мы получаем млн. шт./мл. Активно двигающийся вид водорослей в начале останавливают. Это можно сделать, погрузив пробирки в горячую воду. Если объекты крупные и их объём клеток маленький, то рассчитывается вся сетка. Тем самым определяют точное количество клеток на $см^3$: узнав количество культуры в сетке, значение делится на 1000. Важно заметить, что во время пересчёта мы считаем только те клетки, которые попадают во внутреннюю часть сетки, её края и приближённые к ним клетки мы не считаем. Наилучшее время для проверки и пересчёта микроводорослей – перед и после пересеивания, там мы сможем определить правильный объём для пересадки.

**Выводы.** Использование как стерильной морской воды, так и искусственно созданной морской воды, является эффективным способом поддержания маточных культур микроводорослей. Ключевым фактором успеха является строгое соблюдение методик культивирования, контроль параметров среды и своевременное выявление признаков заражения.

Выбор типа воды для культивирования зависит от доступности ресурсов и целей исследования. Натуральная морская вода требует тщательной очистки, но может содержать необходимые микроэлементы. Искусственная вода обеспечивает стерильность и стабильность состава, но требует дополнительной корректировки питательных веществ.

Регулярный мониторинг состояния культуры, подсчёт клеток и своевременный пересев позволяют поддерживать высокую плотность и жизнеспособность микроводорослей. Соблюдение рекомендаций по культивированию для каждого вида, такого как *Nannochloropsis oceanica* и *Tetraselmis viridis*, является залогом успешного сохранения маточных культур.

**Список использованной литературы:**

1. Бедбенова В.С. Лабораторная система для интенсивного культивирования микроводорослей и цианобактерий // Физиология растений. 2023. Т. 70. №. 2. С. 202-213.

2. Гайсина Л.А., Фазлутдинова А.И., Кабиров Р.Р. Современные методы выделения и культивирования водорослей. Уфа: 2008. 233 с.

3. Левчук О.Р., Базарнова Ю.Г. Накопление белка в биомассе Nannochloris sp. Naumann ippas c-1509 в условиях направленного культивирования // BIOAsia-Altai. 2024. Т. 4. № 1. С. 128-133.

4. Орлова Т.Ю. Айздайчер Н.А., Стоник И.В. Лабораторное культивирование морских микроводорослей, включая продуцентов фитотоксинов. Дальнаука. 2011. 144 с.

5. Сарсекеева Ф.К. Влияние антибиотиков, фунгицидов и ультрафиолетового излучения на культуры микроводорослей и цианобактерий, выделенных из почв рисовых полей // Микробиология и вирусология. 2023. № 3 (42). С. 84-96.

6. Paterson S. Bioactivity and digestibility of microalgae *Tetraselmis sp.* and *Nannochloropsis sp.* as basis of their potential as novel functional foods // Nutrients. 2023. V. 15. № 2. C. 477.

7. Ye Y. Nannochloropsis as an emerging algal chassis for light-driven synthesis of lipids and high-value products //Marine Drugs. 2024. V. 22. № 2. C. 54.