

ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО ПО РЫБОЛОВСТВУ



Дальневосточный государственный технический
рыбохозяйственный университет

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

**Материалы VIII Национальной
научно-технической конференции**

(Владивосток, 24 октября 2024 года)

Электронное издание

Владивосток
Дальрыбвтуз
2024

УДК 639.2+338.439
ББК 65.35+65.5
И66

Организационный комитет конференции:

Председатель – Жук Татьяна Алексеевна, канд. физ.-мат. наук, доцент, врио ректора 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 VIII Нац. науч.-техн. конф. [Электронный ресурс]. – Электрон. дан. (32,5 Mb). – Владивосток : Дальрыбвтуз, 2024. – 336 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 978-5-88871-791-2

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 978-5-88871-791-2

© Дальневосточный государственный
технический рыбохозяйственный
университет, 2024

УДК 639.55 +639.64

Светлана Евгеньевна Лескова

Дальневосточный федеральный университет, кандидат биологических наук, доцент, доцент кафедры биоразнообразия и морских биоресурсов ИМО, Россия, Владивосток, e-mail: svetaleskova@mail.ru, ORCID: 0000-0001-7058-3449

Мария Валерьевна Ларикова

Дальневосточный государственный технический рыбохозяйственный университет, студент группы ВБм-212, Россия, Владивосток, e-mail: larikova_mariya@mail.ru

Николай Николаевич Ковалев

Дальневосточный государственный технический рыбохозяйственный университет, доктор биологических наук, главный научный сотрудник НИИ инновационных биотехнологий, Россия, Владивосток, e-mail: kovalevnn61@yandex.ru, ORCID: 0000-0001-7100-7208

Евгений Валерьевич Михеев

Дальневосточный государственный технический рыбохозяйственный университет, кандидат технических наук, старший научный сотрудник НИИ инновационных биотехнологий, Россия, Владивосток, e-mail: zhenyasuper79@mail.ru, ORCID: 0000-0003-3433-5653

Развитие личинок дальневосточного трепанга *Apostichopus japonicus* на живых микроводорослях, выращенных с применением фитогормонов

Аннотация. Проведена оценка влияния микроводорослей, выращенных с применением фитогормонов на рост и развитие личинок дальневосточного трепанга. Установлено, что микроводоросли, выращенные с использованием фитогормонов, не оказывали влияния на темп развития личинок трепанга.

Выявлены существенные различия в выживаемости личинок трепанга на разных стадиях развития. Общая выживаемость личинок в экспериментальных группах была выше, чем в контрольной, составив 71,4 и 45,4 % соответственно. Выживаемость личинок в контрольной группе составила 35 %.

Ключевые слова: *Apostichopus japonicus*, личиночное развитие, *Chaetoceros muelleri*, *Dunaliella salina*, *Phaeodactylum tricornerutum*, гиббереллиновая кислота, салициловая кислота, выживаемость, живые микроводоросли

Svetlana E. Leskova

Far Eastern Federal University, PhD in Biology, Associate Professor, Associate Professor of the Department of Biodiversity and Marine Bioresources of the IWO, Russia, Vladivostok, e-mail: svetaleskova@mail.ru, ORCID: 0000-0001-7058-3449

Maria V. Larikova

Far Eastern State Technical Fisheries University, Student of the group VBm-212, Russia, Vladivostok, e-mail: larikova_mariya@mail.ru

Nikolai N. Kovalev

Far Eastern State Technical Fisheries University, Doctor of Biology, Chief Researcher of the Research Institute of Innovative Biotechnologies, Russia, Vladivostok, e-mail: kovalevnn61@yandex.ru, ORCID: 0000-0001-7100-7208

Evgeny V. Mikheev

Far Eastern State Technical Fisheries University, PhD in Technical Sciences, Senior Researcher of the Research Institute of Innovative Biotechnologies, Russia, Vladivostok, e-mail: zhenyasuper79@mail.ru, ORCID: 0000-0001-7100-7208

Development of Far Eastern sea cucumber *Apostichopus japonicus* larvae on live microalgae grown with the use of phytohormones

Abstract. The effect of microalgae grown using phytohormones on the growth and development of Far Eastern trepang larvae was evaluated. It was found that microalgae grown with the use of phytohormones had no effect on the rate of development of trepang larvae.

Significant differences in the survival rate of trepang larvae at different developmental stages were revealed. The total survival rate of larvae in experimental groups was higher than in the control group, amounting to 71.4 and 45.4 %, respectively. The survival rate of larvae in the control group was 35 %.

Keywords: *Apostichopus japonicus*, larval development, *Chaetoceros muelleri*, *Dunaliella salina*, *Phaeodactylum tricornutum*, gibberellic acid, salicylic acid, survival, live microalgae

Микроводоросли – важнейший компонент водных систем, поскольку они являются источниками белков, углеводов, насыщенных и полиненасыщенных жирных кислот. Микроводорослями питаются множество гидробионтов на разных этапах своего развития, в том числе личинки дальневосточного трепанга. Дальневосточный трепанг является ценным коммерческим объектом. Выживаемость молоди в естественных условиях крайне низка, но в искусственно созданных условиях есть возможность получать личинок стабильно и в больших количествах. На ранних стадиях развития трепанг очень требователен к качеству корма – микроводорослям. В рационе питания личинок дальневосточного трепанга необходимы объекты с нужным содержанием белков, жиров и углеводов. Поскольку содержание и массовое выращивание микроводорослей – долгий, затратный и трудоемкий процесс, возникает необходимость повышения эффективности выращивания микроводорослей.

Эффективность выращивания микроводорослей возможно повысить при использовании стимуляторов роста растений – фитогормонов. Фитогормоны – вещества, вырабатываемые в процессе естественного обмена веществ и оказывающие в ничтожно малых количествах регуляторное влияние на координацию физиологических процессов, протекающих в различных клетках, тканях и органах растения. Использование экзогенных стимуляторов оказывает существенное влияние на продукционные характеристики и состав основных компонентов микроводорослей [1].

Каждый используемый фитогормон имеет свой спектр действия. Например, гиббереллиновая кислота оказывает влияние на метаболизм микроводорослей, усиливая утилизацию питательных веществ из среды роста, и способствует накоплению каротиноидов, липидов, хлорофилла в различных видах микроводорослей [2]. Салициловая кислота оказывает регуляторное действие на многие физиологические процессы в растениях, включая термогенез, индукцию устойчивости при атаке патогенов и действия неблагоприятных условий окружающей среды [3].

Целью исследования являлось изучение влияния микроводорослей, выращенных с применением фитогормонов, на рост и развитие ранних стадий дальневосточного трепанга.

Исследуемый материал был получен во время выполнения эксперимента на заводе по выращиванию гидробионтов предприятия ООО «Дальстам-марин». Молодь получали в искусственных условиях.

Нерест трепанга происходил в искусственно созданных условиях с применением дополнительной стимуляции (смена температуры). На личиночной стадии ранняя аурикуляция, при переходе на экзогенное питание личинок порциями пересаживали в экспериментальные ёмкости (V=20л) с идентичными условиями.

Содержание личинок происходило при температуре 21–22 °С, соленость воды составляла 34–35 ‰. Воду в экспериментальных емкостях меняли на чистую ежедневно на 100 %, смесь микроводорослей подавали 3 раза в день, аэрация воды происходила круглосуточно.

Воду для выращивания личинок очищали механически через каскад фильтров и обеззараживали с помощью ультрафиолетовых ламп.

В рецептуре кормовой смеси использовали микроводоросли *Chaetoceros muelleri*, *Dunaliella salina* и *Phaeodactylum tricornerutum* (табл. 1).

Водоросли *Ch. muelleri* и *Ph. tricornerutum* выращивали в накопительном режиме на питательной среде f/2. Для приготовления питательной среды воду предварительно фильтруют, стерилизуют и добавляют растворы основных минеральных солей, микроэлементов и витаминов. *D. salina* выращивали в накопительном режиме на питательной среде Гольдберга. Все время выращивания водорослей условия содержания были постоянны: температура 21–23 °С, освещенность 8–10 клк, фотопериод 24 ч, при периодическом перемешивании (4–5 раза в сутки). В качестве культиваторов использовались стеклянные термостойкие конические колбы объемом 5 л.

Проведенные ранее исследования выявили эффективные концентрации таких фитогормонов, как салициловая, гиббереллиновая, индол-3-уксусная и индол-3масляная кислоты, которые использовали в качестве стимуляторов для выращивания микроводорослей в качестве корма для личинок трепанга [4, 5].

Для чистоты эксперимента со стимулятором роста культивировали только один вид микроводорослей из всей смеси, который входил в рацион на протяжении всего процесса выращивания личинок *Chaetoceros muelleri*.

Для выращивания использовали стерильные колбы в количестве трех штук. В каждую колбу наливали 3000 мл чистой фильтрованной и стерилизованной морской воды, 200 мл культуры водорослей и стимулятор в концентрациях – гиббереллиновая кислота $0,2 \times 10^{-8}$ М; салициловая кислота $2,8 \times 10^{-7}$ М. Третья колба была контрольной, т.е. культура росла без добавления стимулятора роста. Культивирование осуществляли в монокультуре. Прирост биомассы водорослей определяли по увеличению числа клеток, просчитанных в каждом опыте в трех камерах Горяева под световым микроскопом. Продолжительность выращивания составляла 7 дней.

Таблица 1 – Состав и концентрация корма для личинок дальневосточного трепанга

№ экспериментальной группы	Стадия развития личинок	Видовой состав кормовой смеси	Концентрация микроводорослей в емкостях с личинками	Соотношение видов микроводорослей	Режим подачи корма
№ 1 (<i>Ch. Muelleri</i> выращенный с применением гиббереллиновой кислоты)	Ранняя аурикулярия	<i>Ch. muelleri</i> , <i>D. salina</i>	10 тыс. кл./мл воды	1 : 1	3 раза в сутки
	Поздняя аурикулярия, долиолярия, пентактула	<i>Ch. muelleri</i> , <i>D. Salina</i> , <i>Ph. tricornerutum</i>		1 : 1 : 1	
№ 2 (<i>Ch. Muelleri</i> выращенный с применением салициловой кислоты)	Ранняя аурикулярия	<i>Ch. muelleri</i> , <i>D. salina</i>	10 тыс. кл./мл воды	1 : 1	3 раза в сутки
	Поздняя аурикулярия, долиолярия, пентактула	<i>Ch. muelleri</i> , <i>D. Salina</i> , <i>Ph. tricornerutum</i>		1 : 1 : 1	
№ 3 Контроль (<i>Ch. Muelleri</i> выращенный без применения стимулятора роста)	Ранняя аурикулярия	<i>Ch. muelleri</i> , <i>D. salina</i>	10 тыс. кл./мл воды	1 : 1	3 раза в сутки
	Поздняя аурикулярия, долиолярия, пентактула	<i>Ch. muelleri</i> , <i>D. Salina</i> , <i>Ph. tricornerutum</i>		1 : 1 : 1	

Количество подаваемого корма рассчитывали в зависимости от концентрации клеток в культуре выращиваемых микроводорослей и плотности личинок, находящихся в выростной емкости. Концентрация микроводорослей в емкостях с личинками составляла 10 тыс. кл/мл на всем протяжении выращивания.

В целях изучения развития и роста личинок фиксировали время перехода от стадии к стадии, размеры, выживаемость и время оседания молоди.

Личинки трепанга перешли на стадию ранняя аурикулярия спустя четыре дня после оплодотворения. С этого момента в экспериментальные емкости с личинками подавали кормовую смесь (рис. 1).

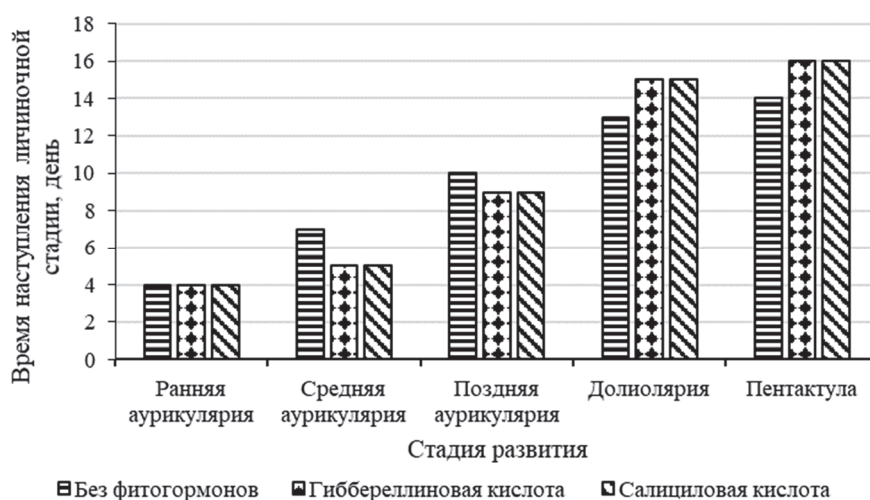


Рисунок 1 – Продолжительность развития личинок дальневосточного трепанга на разных стадиях развития

На пятый день развития все экспериментальные группы перешли на следующую стадию – средняя аурикулярия, контрольная – на четыре дня позже.

На стадию поздняя аурикулярия экспериментальные группы № 1 и 2 перешли на девятый день развития, контрольная группа – на десятый день.

Стадии долиолярия контрольная группа достигла на тринадцатый день развития в отличие от экспериментальных. У экспериментальных групп стадия поздней аурикулярии немного затянулась, и на стадию долиолярия они перешли на два дня позже – на пятнадцатый день.

Личинки трепанга, в рационе которых были микроводоросли, выращенные с применением фитогормонов, достигли стадии оседания (пентактула) на 16-й день развития, а личинки, в рационе которых были микроводоросли, выращенные без применения фитогормонов, осели на два дня раньше.

Переход от стадии к стадии во всех экспериментальных группах занимал в среднем пять дней, в контрольной группе – три дня. Развитие в контрольных группах протекало одинаково, аномальных явлений не наблюдалось. Существенных отличий по темпу развития между контрольной и экспериментальными группами личинок трепанга выявлено не было. Минимальные размеры у личинок наблюдались на стадии диплеврула, а максимальных они достигли на стадии поздняя аурикулярия. Переход личинок на стадию долиолярия сопровождался уменьшением линейных размеров (табл. 2).

На стадии ранняя аурикулярия средние размеры личинок в экспериментальных группах варьировали от 448 мкм в экспериментальной группе № 2 до 573,3 в контрольной группе. На стадии поздняя аурикулярия размеры личинок во всех группах были около 1000 мкм (рис. 2).

Согласно литературным данным [6] нормально развивающиеся пелагические личинки на разных стадиях развития имеют следующие размеры: диплеврула от 260 до 490 мкм; аурикулярия – от 450–480 до 800–1320 мкм; долиолярия от 390 до 470 мкм; пентактула от 360 до 450 мкм, чему соответствуют полученные данные.

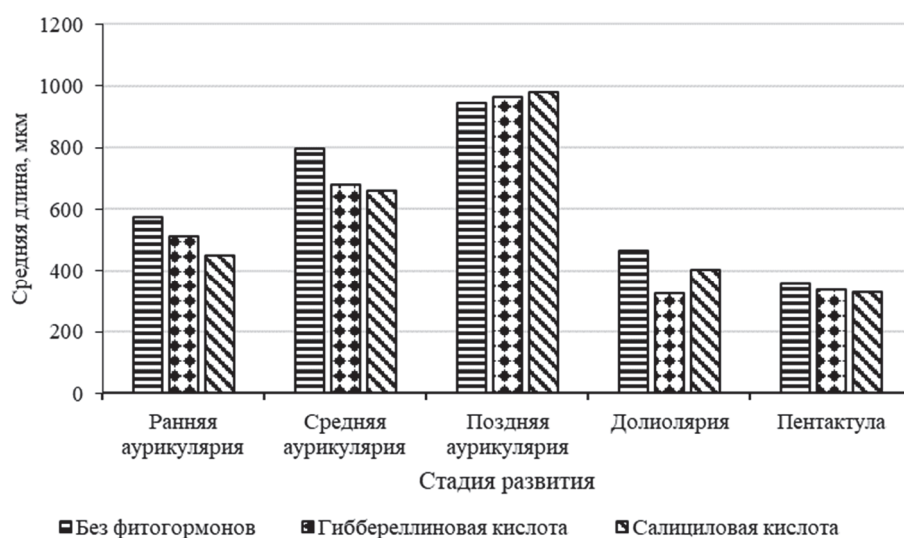


Рисунок 2 – Средние размеры личинок дальневосточного трепанга на разных стадиях развития

Личинки на стадии поздняя аурикулярия характеризуются наиболее крупными размерами и достигают 1000 мкм и более. По литературным данным [6], личинки на этой стадии наиболее уязвимы, и отход может достигать 60 % и более. Поэтому достижение личинками стадии поздняя аурикулярия является признаком скорого оседания и завершения личиночного развития.

На стадии поздняя аурикулярия личинки, питавшиеся живыми микроводорослями, выращенными с добавлением салициловой кислоты, имели длину тела в среднем $980,4 \pm 16,6$ мкм. Минимальные средние размеры у личинок ($945 \pm 33,9$ мкм) наблюдались при питании микроводорослями, выращенными без стимуляторов роста.

Сравнивая размеры личинок, питающихся микроводорослями, выращенными с добавлением фитогормонов и без, можно заметить, что они не имели значительных различий.

Таблица 2 – Продолжительность развития, стадии и средние размеры личинок дальневосточного трепанга

№ экспериментальной группы	Вид применяемого фитогормона	День развития	Стадия	$X \pm m_x$, мкм	X_{\min} , мкм	X_{\max} , мкм
№ 1	Гиббереллиновая кислота	4	Ранняя аурикулярия	$513 \pm 15,6$	486	540
		5	Средняя аурикулярия	$677,8 \pm 20,1$	550	837
		9	Поздняя аурикулярия	$963 \pm 18,4$	750	1100
		15	Долиолярия	325 ± 25	300	400
		16	Пентактула	$337,5 \pm 23,9$	300	400
№ 2	Салициловая кислота	4	Ранняя аурикулярия	$448 \pm 32,7$	351	486
		5	Средняя аурикулярия	$659 \pm 16,1$	550	750
		9	Поздняя аурикулярия	$980,4 \pm 16,6$	750	1150
		15	Долиолярия	$401,25 \pm 20,5$	350	450
		16	Пентактула	$330 \pm 40,6$	270	450
№ 3	Контроль	4	Ранняя аурикулярия	$573,3 \pm 16,6$	500	700
		9	Средняя аурикулярия	$795 \pm 22,9$	750	875
		10	Поздняя аурикулярия	$945 \pm 33,9$	800	1125
		13	Долиолярия	$466,6 \pm 16,6$	450	500
		14	Пентактула	$357,7 \pm 31,3$	300	450

Выживаемость в исследованных группах личинок при переходе на разные стадии различается. Так, от эмбриона до первой личиночной стадии выживаемость составляет до 90 %, от ранней аурикулярии до средней – от 63,3 до 97 %, от средней аурикулярии до поздней – от 43 до 81,5 %, от поздней аурикулярии до долиолярии – 53,5 до 59 % и от долиолярии до пентакуты – от 80 до 90,1 %.

Но зачастую переход на следующую стадию не синхронен. Поэтому для получения более точных данных выживаемость подсчитывается за более длительный период: от диплеврулы до пентакуты – до 37 % (ср. = 28 %), от появления пентакул до осевшей молодежи – до 75 % (ср. = 34 %), от диплеврулы до осевшей молодежи – до 21 % (ср. = 9 %) [7]

На стадии средняя аурикулярия наибольшая выживаемость более 90 % наблюдалась в экспериментальных группах, составив 93 и 97 % соответственно. В контрольной группе этот показатель составил 63,3 % (рис. 3).

На стадии поздняя аурикулярия наибольшая выживаемость наблюдалась в группе № 1 – 81,5 %. В контрольной группе выживаемость на этой стадии наблюдалась также на высоком уровне, составив 71,4 %.

На стадии долиолярия выживаемость в экспериментальных группах № 1 и 2 и в контрольной наблюдалась примерно на одном уровне, составив 59, 56,6 и 53,5 % соответственно.

На стадии пентакуты выживаемость составляла от 80 % в контрольной группе, до 90,1 % в экспериментальной группе № 1.

От диплеврулы до пентакуты самая высокая выживаемость составила в экспериментальной группе № 1 – 71,4 %. В экспериментальной группе № 2 выживаемость составила 45,4 %. Выживаемость личинок в контрольной группе составила 35 % (рис. 3).

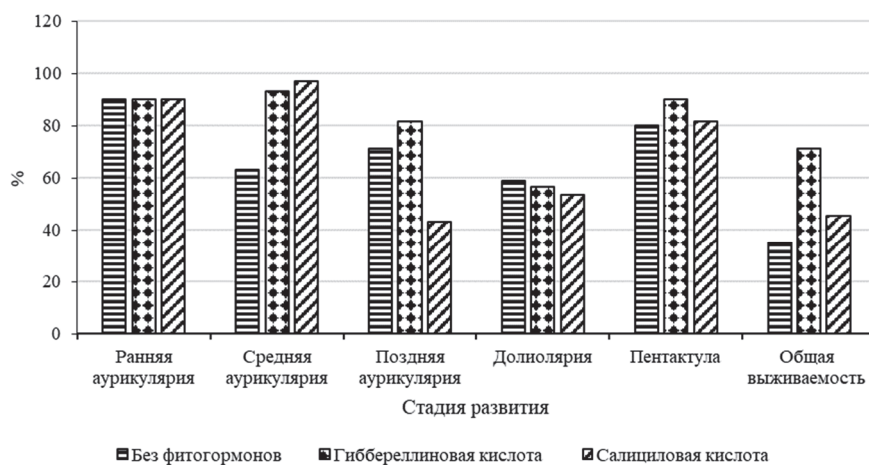


Рисунок 3 – Выживаемость личинок дальневосточного трепанга на разных стадиях развития

Таким образом, время развития (переход от стадии к стадии) во всех экспериментальных группах занимал в среднем пять дней, в контрольной группе – три дня. Развитие протекало стандартно, аномалий не наблюдалось. Существенных отличий между контрольной и экспериментальной группой личинок трепанга по темпу развития не выявлено.

На стадии ранняя аурикулярия средние размеры личинок варьировали в среднем от $448 \pm 32,7$ мкм в экспериментальной группе № 2 до $573,3 \pm 16,6$ мкм в контрольной группе. На стадии поздняя аурикулярия размеры личинок во всех группах составляли около 1000 мкм. Согласно литературным данным пелагические личинки дальневосточного трепанга на разных стадиях развития имеют следующие размеры: диплеврула от 260 до 490 мкм; аурикулярия от 450–480 до 800–1320 мкм; долиолярия от 390 до 470 мкм; пентакута от 360 до 450 мкм, чему соответствуют полученные нами данные [6].

Выживаемость личинок – единственный показатель, где была выявлена разница в зависимости от применяемого стимулятора роста во время культивирования *C. muelleri*. Общая выживаемость личинок в экспериментальных группах № 1 и 2 была выше, чем в контрольной, составив 71,4 и 45,4 % соответственно. Выживаемость личинок в контрольной группе составила 35 %.

Библиографический список

1. Kovalev N.N., Leskova S.E., Mikheev E.V. Evaluation of salicylic acid effect on *Tetraselmis suecica* growth, biochemical composition and caloric value // IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. IOP Publishing, 2022. Т. 981, № 4. С. 042001.

2. 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.

3. Буцанец П.А., Байк А.С., Шугаева Н.А., Шугаев А.Г. Влияние салициловой кислоты на дыхание и генерацию активных форм кислорода в митохондриях растений // Евразийский союз ученых. 2020. № 10-2(79). С. 9–15.

4. Ковалев Н.Н., Лескова С.Е., Михеев Е.В., Барсова Е.А. Оценка влияния ауксинов на рост и биохимические показатели *Chaetoceros muelleri* // Siberian Journal of Life Sciences and Agriculture. 2024. Т. 16, № 3. С. 205–226.

5. Ковалев Н.Н., Лескова С.Е., Михеев Е.В. Хетцерос: модуляция роста и состава под действием салициловой кислоты // Аграрная Россия. 2022. № 10. С. 13–18.

6. Мокрецова Н.Д., Викторовская Г.И., Сухин И.Ю., Дзизюров В.Д., Курганский Г.Н., Гостюхина О.Б. Инструкция по технологии получения жизнестойкой молоди трепанга в заводских условиях. Владивосток: ТИПРО-Центр, 2012. 81 с.

7. Гостюхина О.Б., Захарова Е.А. Особенности получения и выращивания личинок и молоди дальневосточного трепанга (*Apostichopus japonicus*) в заводских условиях. Владивосток: ТИПРО-центр, 2002. 279 с.