

УДК 594.121-13

DOI 10.5281/ZENODO.20793645

**ДИНАМИКА РОСТА И РАЗВИТИЯ ЛИЧИНОК ГИГАНТСКОЙ УСТРИЦЫ
MAGALLANA GIGAS (THUNBERG, 1793) (BIVALVIA: OSTREIDAE)
ЧЕРНОМОРСКОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ**

Пиркова А. В., Ладыгина Л. В., Рябушко В. И., Щуров С. В., Тоичкин А. М.

**ФГБУН ФИЦ "Институт биологии южных морей имени А. О. Ковалевского РАН",
Севастополь, Россия
E-mail: avpirkova@mail.ru**

Изучена динамика роста и развитие личинок гигантской устрицы *Magallana gigas* (Thunberg, 1793), полученных в питомнике от производителей черноморского происхождения. Составлены рационы питания для личинок разных стадий развития. Описаны морфометрические характеристики, включая изменение формы раковин и положение макушки, личинок на разных стадиях развития: D-стадии, велигера, великонхи и педивелигера. Максимальные размеры (L×H) личинок на D-стадии составили: 77×63 мкм; на стадии педивелигера – 336×378 мкм. Отношения длины к высоте раковин личинок изменялись в онтогенезе от 1.16 до 0.87. В течение всего периода выращивания отмечена дифференциация личинок по размерам. Разница между максимальными и минимальными значениями высоты раковин личинок составила – от 7 (возраст 2 сут.) до 200 мкм (возраст 18 сут.). Представлены СЭМ-изображения раковин с концентрическими линиями роста у быстрорастущих и медленно растущих личинок возрастом 18 суток.

Ключевые слова: гигантская устрица, личинки, морфометрические характеристики, аквакультура, Черное море.

ВВЕДЕНИЕ

Двустворчатый моллюск *Magallana gigas* (Thunberg, 1793) – является наиболее распространенным в мире из всех видов устриц. Гигантская устрица завезена в 66 стран и успешно выращивается в 17 странах, благодаря ее высоким темпам роста, адаптации к различным условиям солености и температуры, устойчивости к заболеваниям [1, 2]. Оптимальный диапазон солености для гигантской устрицы составляет от 20 до 25 ‰, хотя вид может встречаться при 10 ‰ и выживать при 35 ‰. Он также может обитать в широком температурном диапазоне: от –1.8 до +35°C [3].

В Черное море гигантская устрица интродуцирована в начале 80-х гг. XX ст. взамен исчезающему виду *Ostrea edulis* (Linnaeus, 1758) [4, 5]. Начиная с 1989 по 1991 гг., была продолжена доставка спата гигантской устрицы из Японского моря в новые районы Черного моря, включая побережье Крыма и Кавказа [6]. Продолжительное время *M. gigas* не образовывала природных поселений, как предполагается из-за низкой концентрации гамет. В последнее время осевших

устриц все чаще обнаруживают на различных твердых субстратах и раковинах моллюсков у берегов Кавказа и Крыма [7, 8]. Спат гигантской устрицы был найден на пластиковых буях мидийно-устричной фермы, функционирующей в акватории оз. Донузлав и бухтах Севастополя [9]. О размножении гигантских устриц в море свидетельствует нахождение личинок в планктоне в летне-осенний период [10]. Хотя количество обнаруженных естественных поселений *M. gigas* еще невелико, и, вероятно, они были образованы при размножении устриц, интродуцированных в виде спата для промышленного выращивания, вид демонстрирует способность размножения в природных условиях.

В настоящее время на черноморском побережье России функционируют три десятка морских ферм, используемых технологию полувоспроизводства выращивания устриц, закупая спат *M. gigas* в питомниках европейских стран либо на Дальнем Востоке [8]. Товарного размера гигантская устрица достигает в течение 2–3 лет. За это время устрицы могут отнереститься в море 2–3 раза, так как половозрелыми они становятся в возрасте одного года [6, 11]. Посадочный материал – спат гигантской устрицы для промышленного выращивания получают в питомниках. Поэтому необходимы обширные исследования по подбору маточного стада, изучению темпов роста и выживаемости личинок, полученных от разных типов скрещивания, и применению селекции для выведения линий с хозяйственно-ценными признаками, адаптированных к конкретной среде обитания.

Цель работы – изучение темпа роста и развития личинок гигантской устрицы *M. gigas*, полученных от производителей черноморского происхождения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования послужили личинки *M. gigas*, полученные при скрещивании производителей устриц черноморского происхождения и выращенные в питомнике до оседания. Осенью 2022 г. в акватории оз. Донузлав (западное побережье Крыма) был собран спат гигантской устрицы, осевший на раковинах мидий. В дальнейшем устриц подращивали до товарного размера в выростных садках на глубине 5 м. В июле 2024 г. в качестве производителей были отобраны 21 экз. *M. gigas* возрастом 2+ года высотой раковин более 110 мм с видимым ростовым краем.

Для выращивания личинок использовали только фильтрованную морскую воду (соленость 18 ‰; pH 8.21–8.22), последовательно прошедшую через песчаный фильтр, УФ стерилизатор и три механические фильтры: 20, 10 и 1 мкм. Оплодотворение яйцеклеток, развитие эмбрионов и рост личинок происходило в помещении с контролируемой температурой воды (+24.0°C). Для постоянной аэрации воды использовали аквариумные микрокомпрессоры.

Нерест устриц стимулировали растворенным в стерильной морской воде серотонином ($C_{14}H_{19}N_5O_2 \cdot H_2SO_4$) концентрацией 0.003 % по 1.5 мл·экз.⁻¹, вводя раствор в межстворчатую полость [12]. Примерно через 40 мин. после стимуляции нереста отнерестились две устрицы: самка (H=195.83 мм) и самец (H=110.27 мм).

Для очищения от примесей (фекалий и псевдофекалий) суспензию яйцеклеток пропускали через газ-сито диаметром ячеек 72 мкм и собирали в градуированную

емкость; суспензию сперматозоидов – через сито диаметром ячеи 32 мкм. Через 15 мин. после соединения гамет, чтобы исключить явление полиспермии, яйцеклетки промыли фильтрованной морской водой при помощи газ-сита с размером ячеи 32 мкм. Процесс оплодотворения и эмбрионального развития контролировали под микроскопом. Выделение направительных телец свидетельствовало о 100 % оплодотворении.

Развитие эмбрионов проходило при плотности посадки 50 тыс. экз.·л⁻¹ в цилиндрических баках (V=50 л), изготовленных из стеклопластика. Всего получено 2.5 млн. экз. Через 24 ч после оплодотворения объем воды увеличили в два раза (V=100 л) и добавили небольшое количество микроводорослей *Monochrysis lutheri* (Droop, 1953) и *Isochrysis galbana* (Parke, 1949). Полную замену воды провели через 2 сут. при помощи газ-сита диаметром ячеи 56 мкм. Поскольку темп роста личинок в онтогенезе был не равномерным, для сохранения их количества при обмене воды применяли сита размерами ячеи меньшими, чем размеры личинок. Сортировку личинок перед оседанием проводили при помощи газ-сита с размерами ячеи 308 мкм.

В течение всего периода выращивания поддерживали оптимальную плотность посадки личинок, определенную ранее методами многофакторных экспериментов для разных стадий развития [8]. На стадии велигера, при плотности посадки личинок 20 тыс. экз.·л⁻¹, воду меняли ежедневно. На стадии великонхи и педивелигера при плотности посадки соответственно 10 и 5 тыс. экз.·л⁻¹ обмен воды проводили через 48 ч. Для определения плотности посадки количество личинок подсчитывали еженедельно при помощи микроскопа МБС-9 в камере Богорова. Весь период выращивания личинок проходил при естественном освещении.

Терминология стадий: D-стадия, велигер, великонха, великонха с “глазком”, педивелигер и морфометрические характеристики личинок: длина и высота раковин приведены в статье согласно описанным ранее [13, 14]. Измерение линейных параметров раковин личинок (высота H, мкм и длина L, мкм) проводили с помощью окуляр-микрометра микроскопа МБС-9 (×56) с интервалом 2 сут. (по 20–97 экз.). Средние значения ($\bar{x}$, мкм) и стандартные отклонения (SD, мкм) подсчитаны в программе MS Excel. Достоверность разницы между линейными параметрами раковин личинок устриц определяли по критерию *t*-Стьюдента. Все тесты проводились при 5 % уровне значимости.

Среднесуточный прирост (мкм·сут.⁻¹) определяли по формуле:

$$\Delta H = \frac{H_2 - H_1}{T_2 - T_1}, \quad (1)$$

где: H₁ и H₂ – предыдущие и настоящие средние значения высоты раковин; T₁ и T₂ – интервал, сут. [15]. Коэффициент вариации (CV%) определяли согласно формуле:

$$CV = 100 \frac{SD}{\bar{x}} \%, \quad (2)$$

где: SD – стандартное отклонение; $\bar{x}$ – среднее значение.

Фотографии личинок устриц сделаны при помощи фотокамеры Sony 7.2 Mega pixels и микроскопа МИКМЕД-6 (×80). Анализ линий роста на раковине

продиссоконх II проводили при помощи электронного сканирующего микроскопа SEM Hitachi SU 3500. Препараты готовили в следующей последовательности. Зафиксированных в этаноле личинок (возраст 18 сут.) промывали в дистиллированной воде, высушивали при комнатной температуре и переносили на двусторонний скотч, приклеенный на предметный столик, затем покрывали в вакууме медным напылением.

В течение всего периода выращивания суточную дозу корма подавали три раза: сразу после замены воды и два раза в течение рабочего дня. В качестве корма использовали 6 видов водорослей: *Is. galbana*, *M. lutheri*, *Phaeodactylum tricornutum* (Bohlin, 1897), *Tetraselmis suecica* ((Kylin) Butcher, 1959), *Tetraselmis viridis* ((Rouchijajnen) R.E.Norris, Hori & Chihara, 1980), *Chlorella vulgaris* f. *suboblonga* (Beijerinck, 1890; Andreeva, 1975). Микроводоросли наращивали в культиваторах (одноразовые полиэтиленовые мешки) объемом 25 л при температуре 20–22°C, круглосуточной освещенности 10 тыс. клк, на питательной среде Конвея и аэрации газовой смесью, содержащей 2 % углекислого газа [8]. Концентрацию корма для личинок устриц рассчитывали по общему количеству клеток водорослей на объем емкости с личинками при оптимальной плотности их посадки. На стадии велигера корм состоял из микроводорослей: *I. galbana* + *M. lutheri* концентрацией 100 тыс. кл.·мл⁻¹ (соотношение клеток 1:1). На стадии великонхи в качестве корма использовали смесь микроводорослей, добавляя *Ph. tricornutum*, при суммарной концентрации 150 тыс.кл.·мл⁻¹ в соотношении клеток 1:1:1. Начиная со стадии великонхи с “глазком”, в состав корма включили зеленую микроводоросль *Ch. vulgaris*. На стадии педивелигера состав корма дополняли микроводорослями *T. suecica* и *T. viridis* при суммарной концентрации 250 тыс. кл.·мл⁻¹.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

После стимуляции нереста устриц-производителей, проведено индивидуальное скрещивание. Через сутки наблюдали первую личиночную стадию – продиссоконх I или D-стадию. На этой стадии у личинок полностью сформированы две створки, развита пищеварительная система и вельюм – орган, характерный для всех личинок двустворчатых моллюсков. В возрасте двух суток средняя длина (L) и высота (H) раковин личинок составила 71.7×61.6 мкм, а максимальные размеры – 77×63 мкм; отношение длины к высоте раковины – 1.16 (табл. 1; рис. 1а).

В дальнейшем формируется раковина продиссоконх II. На 6 сут. выращивания по мере роста личинок с прямым замком средние значения длины и высоты раковины почти сравнялись (85.1×84.8 мкм), отношение длины к высоте раковины составило 1.0, а максимальные размеры велигеров – 105×98 мкм; (см. табл. 1; рис. 1б). В возрасте 8 сут. высота личиночной раковины становится больше длины (105.7×114.8 мкм) (табл. 1; рис. 1в). При высоте раковины 125 мкм (возраст 10 сут.) макушка левой створки стала округлой формы (рис. 1г). На стадии великонхи при достижении средних размеров 146.6×165.6 мкм (возраст 14 сут.) макушка начинает скрывать линию замка (рис. 1д). В возрасте 16 сут. (средние размеры 196.6×223.4 мкм; отношение длины к высоте – 0.88) макушка становится скошенной и направленной назад, причем на левой створке она намного больше (рис. 1е).

Таблица 1

Размерные характеристики личинок гигантской устрицы *Magallana gigas* в онтогенезе (n = 445 экз.)

Т, сут.	Max-min		Сред. знач. Н, мкм	SD _H , мкм	CV%	Сред. знач. L, мкм	SD _L , мкм	L/H	Средне- сут. прирост, ΔH , мкм·сут. ⁻¹	n, экз.
	H, мкм	L, мкм								
0	–	–	53.4	1.1	2.0	53.4	–	–	–	20
2	63–56	77–63	61.6	2.9	4.7	71.7	3.7	1.16	4.1	25
4	77–56	84–63	66.5	5.3	8.0	74.9	5.9	1.13	2.5	26
6	98–63	105–70	84.8	12.7	15.0	85.1	9.0	1.00	9.2	25
8	133–77	126–77	114.8	17.2	14.9	105.7	14.0	0.92	15.0	20
10	154–98	133–84	124.6	13.6	10.9	112.7	13.4	0.90	4.9	30
11	168–98	154–98	138.9	17.2	12.4	128.5	13.5	0.93	14.3	25
12	196–98	175–84	157.6	21.7	13.8	142.5	20.6	0.90	18.7	25
14	224–98	203–98	165.5	28.6	17.2	146.6	27.1	0.89	4.0	33
16	266–126	231–112	223.4	37.5	16.8	196.6	32.5	0.88	29.0	38
18	322–122	280–120	230.3	40.2	19.2	209.2	37.0	0.91	3.5	55
20	350–154	322–125	255.1	48.3	18.9	229.7	46.9	0.90	12.4	97
*20	350–294	322–252	328.3	21.2	6.5	284.6	21.8	0.87	–	21
*22	378–294	336–252	337.7	18.2	5.3	298.2	18.3	0.88	4.7	25

Примечание: * – личинки, отобранные для оседания при помощи газ-сита с размерами ячеек 308 мкм; SD – стандартное отклонение; CV % – коэффициент вариации.

У личинок с высотой раковины 220–223 мкм появился “глазок”, диаметр которого около 7 мкм. “Глазки” расположены в мантии на боковых сторонах тела личинки почти в центре раковины и представляют собой пигментную чашу, выполняющую функцию линзы [16]. Стадия великонхи с “глазком” продолжалась до 4 суток. Появление “глазков” зависит от размера личинок и совпадает с необычным поведением: наблюдается массовое объединение личинок при помощи слизистых выделений. В мерной емкости при обмене воды личинки сосредотачивались на поверхности воды. Это явные признаки того, что через несколько дней личинки будут готовы к оседанию. В возрасте 18–20 сут. личинки высотой раковин 320 мкм перешли в стадию педивелигера (рис. 1ж). Между периодами плавания педивелигеры ползали при помощи ноги в поисках подходящего субстрата. Оседание личинок произошло на 22 сут. выращивания при достижении средних размеров (L×H): 298.2×337.7 мкм (диаметр “глазка” около 14 мкм) (рис. 1з), что согласуется с указанными ранее размерами, где максимальная высота плавающих личинок гигантской устрицы составили примерно 340 мкм [17, 18].

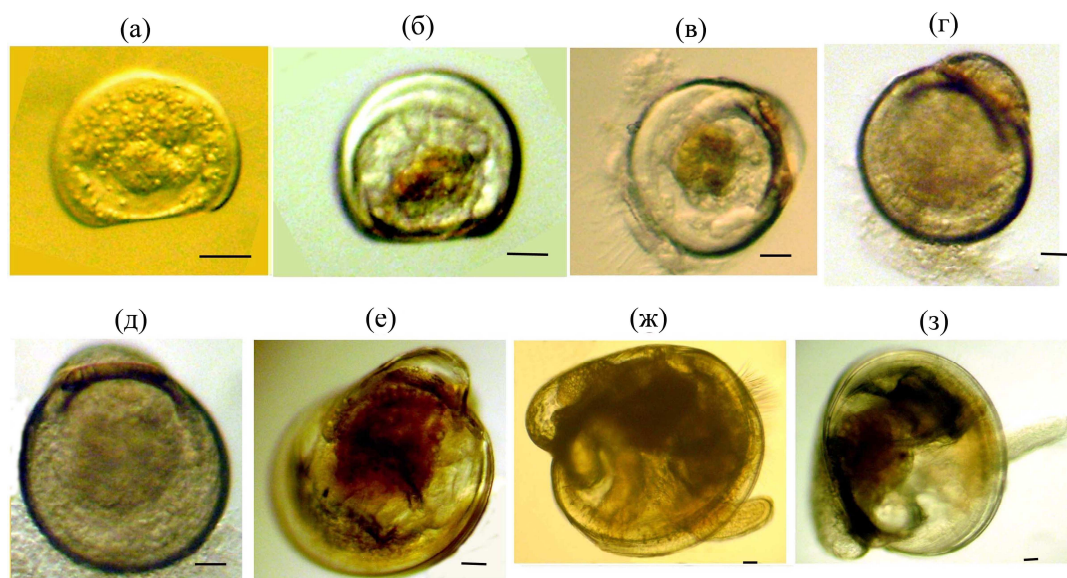


Рис. 1. Личинки гигантской устрицы *Magallana gigas* на разных стадиях развития: (а) – D-стадия, возраст 2 сут.; (б) – велигер, возраст 6 сут.; (в) – поздний велигер, возраст 8 сут.; (г) – великонха, возраст 11 сут.; (д) – великонха, возраст 14 сут.; (е) – великонха с “глазком”, возраст 16 сут.; (ж) – педивелигер, возраст 20 сут.; (з) – педивелигер, возраст 22 сут. Масштаб: 20 мкм.

Динамика линейного роста личинок *M. gigas* представлена на рис. 2. На стадии прямого замка длина раковины больше высоты на 10 мкм (возраст 2–4 сут.). На 6 сутки значения длины и высоты раковины велигеров были аналогичны (рис. 1б). Но уже через двое суток высота раковины личинок превысила длину на 9 мкм и в течение последующего планктонного периода и до оседания средние значения высоты раковин были достоверно выше средних значений длины: $t_{st}=2.45 < t_{\phi}=7.58$; $P=0.05$ и $k=6$. Разница линейных параметров раковины личинок составила от 11.9 мкм – на 10 сутки ($L=112.7 \pm 4.8$ мкм; $H=124.6 \pm 4.9$ мкм) до 25.4 мкм – на 20 сутки ($L=229.7 \pm 9.4$ мкм; $H=255.1 \pm 9.7$ мкм).

Среднесуточный прирост высоты раковины личинок за 20 сут. выращивания составил около $10 \text{ мкм} \cdot \text{сут.}^{-1}$. Минимальные значения среднесуточного прироста отмечены на стадии велигера в возрасте 4 сут. – $2.5 \text{ мкм} \cdot \text{сут.}^{-1}$, что, вероятно, связано с переходом в следующую стадию; а максимальные ($29 \text{ мкм} \cdot \text{сут.}^{-1}$) – на стадии великонхи с “глазком” (возраст 16 сут.) (табл. 1), когда рацион был дополнен новыми видами водорослей: *Ph. tricornutum* и *Ch. vulgaris*. На 8–10 сут. выращивания при переходе личинок в стадию великонхи выживаемость составила около 73 %; отход произошел за счет медленно растущих личинок, что совпадает с началом формирования и роста макушки и считается критическим периодом в

развитии личинок рода *Magallana* [19]. Через четверо суток выживаемость личинок уменьшилась на 16 %; на 18 суток – еще на 8 %, а на 20 суток доля выживших личинок составила примерно 50 % от начального количества (1.25 млн. экз.).

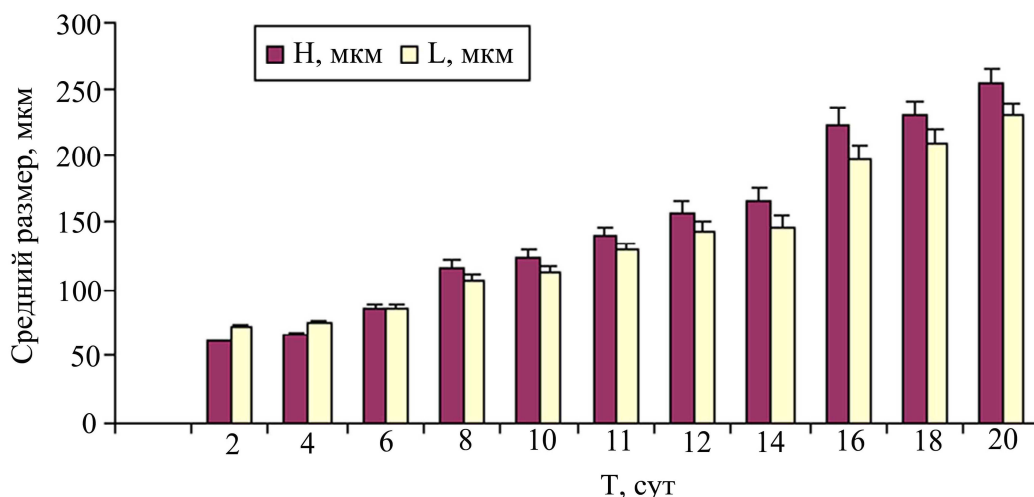


Рис. 2. Динамика линейных параметров личинок устрицы *Magallana gigas* в онтогенезе.

Дифференциация личинок по размерам отмечена уже на вторые сутки выращивания: разница между максимальными и минимальными значениями высоты раковин личинок составила 7 мкм ($CV=4.7\%$). На 6 сутки разница увеличилась до 35 мкм ($CV=15.0\%$), на 18 сут. – до 200 мкм при максимальном коэффициенте вариации размеров: $CV=19.2\%$ (табл. 1). На 20 сут. выращивания пул личинок можно было условно разделить на три группы: быстрорастущие, среднерастущие и медленно растущие. В пробе из 97 экз. великонхи составили 36 %, великонхи с “глазком” – 53.7 %, а педивелигеры – 10.3 %. Оседание быстрорастущих личинок произошло на 22 сутки (максимальные размеры 336×378 мкм); среднерастущих – на 30 сут., а медленно растущих – на 42 сут. выращивания.

Раковина продиссоконх I (длина – от 63 до 77 мкм) формируется в течение 24 часов (D-стадия). Ее поверхность неровная, имеет тонкозернистую звездчатую структуру (рис. 3). В дальнейшем формируется раковина продиссоконх II с выделяющимися линиями роста. На рис. 3 стрелкой указана граница раковины продиссоконх I и II. У личинок (возраст 18 сут.) на раковине продиссоконх II видны темные полосы, чередующихся со светлыми. На раковине личинки размерами 122 мкм насчитывается 27 темных полос (рис. 3а); у личинки с высотой раковины 185 мкм – 17 темных полос (рис. 3б).

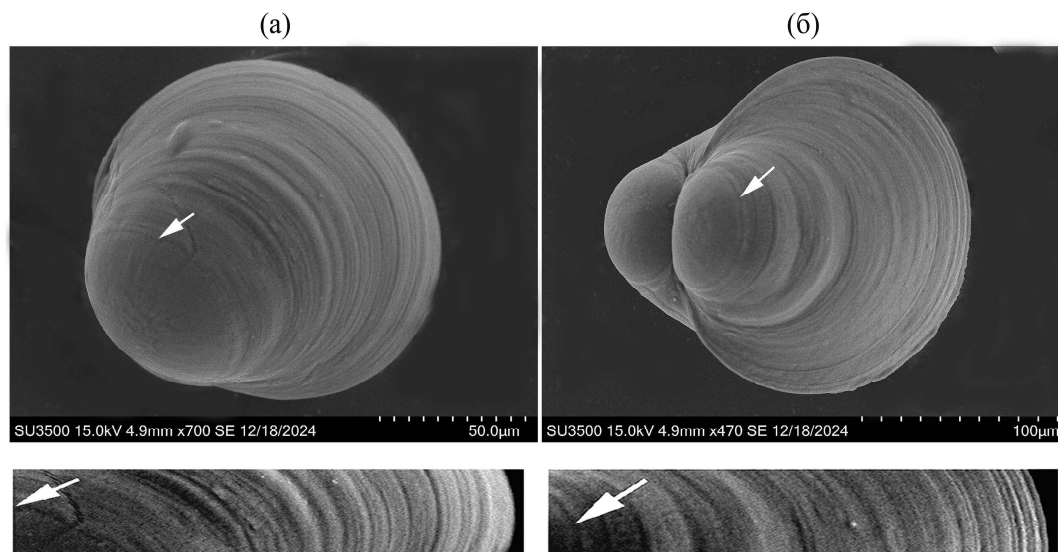


Рис. 3. СЭМ-изображение раковин личинок *Magallana gigas* с линиями роста (возраст 18 сут.): (а) – высота раковины 122 мкм; (б) – высота раковины 185 мкм. Стрелкой обозначена граница раковины продиссоконх – I и II.

Сезон размножения гигантской устрицы, как в естественных местах обитания (моря Дальнего Востока), так и при выращивании в Черном море, начинается с третьей декады июня при температуре воды $+20^{\circ}\text{C}$ и продолжается до конца июля или середины августа в зависимости от суммарной температуры воды и обилия пищи [6, 11, 20]. Резкое повышение температуры воды в море (до $+27^{\circ}\text{C}$) в середине июля 2024 г способствовало быстрому созреванию гонад и непродолжительному нерестовому периоду. Во второй декаде июля на нерестовой стадии оставались только единичные особи. В данном исследовании количество отнерестившихся производителей составило 10 %. При этом выживаемость личинок за 20 суток выращивания составила около 50 %. Известно, что выживаемость личинок устрицы максимальная при скрещивании родительских пар, гонады которых находятся в начале нерестовой стадии [21].

В промышленных питомниках по выращиванию личинок гигантской устрицы (атлантическое побережье) для обеспечения генетического разнообразия потомства применяется массовое оплодотворение: отбирают гаметы как минимум от 6 самцов и 6 самок; причем маточное стадо питомника каждый раз пополняют устрицами из природных поселений [3]. Одним из важных факторов при отборе маточного стада является их происхождение: отобраны они из питомника или из природной популяции. Потомство, полученное от производителей, выращенных в питомнике, обычно является результатом скрещивания небольшого числа производителей и, следовательно, представляет собой лишь часть генетической изменчивости природной популяции. К тому же отбор быстрорастущих личинок способствует исключению из потомства большей части генетических вариаций маточного стада

[22]. В данном исследовании потомство, полученное в результате индивидуального скрещивания устриц *M. gigas* черноморского происхождения, отобранных из природных поселений, характеризовалось дифференциацией по размерам в течение онтогенеза, вследствие чего продолжительность планктонного периода быстрорастущих и медленно растущих личинок различалась на 20 сут. и составила от 22 до 42 сут.

При выращивании личинок *M. gigas* в питомнике основные морфометрические характеристики стадий развития совпадают с ранее описанными [17, 19]. Личинки на D-стадии наблюдались через сутки после оплодотворения. На этой стадии развития длина раковины больше высоты. Через несколько суток у личинок было отмечено начало образования раковины продиссоконх II с концентрическими линиями роста. На 6 сутки выращивания раковина личинок приобрела округлую форму, а отношение длины к высоте раковины стало близким к единице. В дальнейшем на стадии великонхи сформировалась макушка, которая была больше выражена на левой створке. Следует отметить, что в отличие от довольно симметричной раковины личинок D-стадии, у великонхи раковина асимметричная – правая створка более плоская и высота ее меньше левой. Начиная с этой стадии, наблюдались наибольшие колебания высоты и длины, что можно объяснить неравномерным ростом личинок на поздних стадиях развития.

Для видовой идентификации личинок устриц кроме простого рассмотрения двух параметров: высоты и длины раковин и отношения длины к высоте раковины, должно быть включено описание формы личинок. Это актуально в связи с обнаружением в планктоне Черного моря личинок *M. gigas* [10]. Параметры размеров в сочетании с простыми характеристиками формы (форма и положение макушки) являются видовыми признаками [23]. В результате анализа развития личинок установлено, что при размерах (L×H) 106×115 мкм (возраст 8 сут.) на левой створке начинает развиваться непропорционально большая макушка. Раковина личинок становится асимметричной при высоте 220 мкм. Многие авторы подчеркивают, что сильно выраженная асимметрия раковины и разностворчатость, когда правая створка меньше левой, является систематическим признаком рода *Magallana* [18, 19, 24].

Продолжительность периода личиночного развития напрямую связана с температурой воды, плотностью посадки личинок, и зависит от концентрации и качественного состава кормовых видов микроводорослей. В данном исследовании выращивание личинок *M. gigas* в питомнике при температуре воды +24°C и оптимальной плотности посадки, продолжалось от 22 до 42 сут. На 20 сутки были отобраны быстрорастущие личинки (средние значения высоты раковины: 328.3 мкм; SD=21.2 мкм) (табл. 1), у которых процесс оседания начался на 22 сут., что на сутки позже, чем при температуре +25°C [25] и на двое суток позже, чем при +27°C [14, 19]. Корм личинкам состоял из 6 видов микроводорослей. Для каждой стадии развития личинок подбирали рацион с учетом размеров клеток и биохимического состава видов водорослей [8]. Известно, что период развития личинок тихоокеанской устрицы, полученных при групповом скрещивании производителей – потомков, интродуцированных с Японского в Черное море,

увеличился до 52 сут. [8]. Выращивание личинок проходило при оптимальной температуре воды (+25°C) в проточной системе на природном фитопланктоне, но без добавления культуры микроводорослей.

При оптимальных условиях выращивания рост и продолжительность развития личинок зависит от наследственных факторов. Этот тезис подтверждают результаты по изучению темпов роста и выживаемости личинок гигантской устрицы, полученных при групповых скрещиваниях черноморской когорты инбредных устриц с атлантической когортой, когда оседание личинок произошло на 20 сут. при минимальном варьировании размеров личинок [20].

Особенности роста личинок устриц в онтогенезе можно проследить, анализируя количество и ширину линий роста на раковине продиссоконх II. Так, у быстрорастущих личинок в возрасте 18 сут. (высота раковины 185 мкм) на раковине насчитывается 17 темных и светлых полос (рис. 3б): светлая (широкая) и темная (узкая) полосы соответствуют суточному приросту. Наличие 27 полос на раковине продиссоконх II медленно растущих личинок в возрасте 18 сут. (H=122 мкм) (рис. 3а) не соответствует суточным приростам и, очевидно, связано с периодическим закрытием створок в дневное время, следовательно, – прекращением на некоторое время фильтрации (питания), чем и можно объяснить отставание их в росте. Предполагается, что увеличение выраженности линий роста на раковине личинок устриц связано с физиологическими изменениями, зависящими от закрытия створок, а также от фактического прогиба края мантии [16] и свидетельствуют об изменении режима обывествления [26].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При оптимальных температурных и трофических условиях выращивания личинок в питомнике, продолжительность планктонных стадий *M. gigas*, полученных от производителей черноморского происхождения, составила от 22 до 42 суток. В течение всего периода выращивания отмечена дифференциация личинок по размерам. Разница между максимальными и минимальными значениями высоты раковин личинок составила – от 7 (возраст 2 сут.) до 200 мкм (возраст 18 сут.). Сравнение количества линий роста на раковинах продиссоконх II быстрорастущих и медленно растущих личинок аналогичного возраста, показало не соответствие суточным приростам медленно растущих личинок, что, очевидно, связано с большей частотой закрытия створок.

Работа выполнена в рамках государственного задания ФИЦ ИнБЮМ по теме “Комплексное исследование механизмов функционирования морских биотехнологических комплексов с целью получения биологически активных веществ из гидробионтов” (№ гос. регистрации 124022400152-1).

Список литературы

1. Harris J. Pacific oyster, *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793) / Harris J. // Aquatic Invas. Ecol. – 2008. – P. 1–12.
2. Ruesink J. L. Introduction of nonnative oysters: Ecosystem effects and restoration implications / J. Ruesink, H. Lenihan, A. Trimble, K. Heiman // Annual Rev. Ecol. Evol. Sys. – 2005. – Vol. 36. – P. 643–689. Doi: 10.1146/annurev.ecolsys.36.102003.15263
3. Helm M. M. Hatchery culture of bivalves. A practical manual / M. M. Helm, N. Bourne, A. Lovatelli – Rome: FAO, 2004. – 177 p.
4. Орленко А. Н. Гигантская устрица *Crassostrea gigas* (Bivalvia, Mytiliformes, Crassostreidae) как объект акклиматизации и основные этапы ее трансплантации в Черное море / А. Н. Орленко // Зоологический журнал. – 1994. – Т. 73(1). – С. 51–54.
5. Орленко А. Н. Основные результаты работ по акклиматизации и культивированию гигантской устрицы *Crassostrea gigas* (Th.) в Черном море за период 1985–2004 гг. / А. Н. Орленко // Рыбн. хоз-во Украины. – 2005. – Спец. Вып. – № 6. – С. 178–180.
6. Орленко А. Н. Результаты формирования маточного стада тихоокеанской устрицы в Черном море и получения ее спата в искусственных условиях / А. Н. Орленко, В. И. Вижевский // Труды Южного Научно-исследовательского института морского рыбного хозяйства и океанографии. – 1995. – Т. 41. – С. 136–140.
7. Переладов М. В. Тихоокеанская устрица (*Crassostrea gigas*) в Черном море. Современные природные поселения и перспективы дальнейшей экспансии / М. В. Переладов // Труды VIII Международной научно-практической конференции “Морские исследования и образование (MARESEDU-2019)”. – Тверь: ООО “ПолиПРЕСС”, 2020. – Т. II (III). – С. 343–347.
8. Пиркова А. В. Биологические и биотехнические аспекты организации и функционирования устричного питомника на Черном море. / А. В. Пиркова, Л. В. Ладыгина, В. И. Холодов – Севастополь: ФИЦ ИнБЮМ, 2020. – 120 с.
9. Попов М. А. Находки молоди двустворчатого моллюска *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793) в озере Донузлав и в Артиллерийской бухте (Крым, Черное море) / М. А. Попов, С. В. Щуров // Морск. биол. журн. – 2019. – Т. 4, № 4. – С. 97–99.
10. Лисицкая Е. В. О нахождении личинок *Crassostrea gigas* (Thunberg 1793) (Bivalvia, Ostreidae) в Черном море / Е. В. Лисицкая, С. В. Щуров // Зоол. журн. – 2024. – Т. 103, № 5. – С. 11–15.
11. Раков А. В. Биологические основы культивирования тихоокеанской устрицы *Crassostrea gigas* (Thunberg) в заливе Петра Великого : Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Академия наук СССР. Дальневосточный научный центр. ТИНРО / А. В. Раков. – Владивосток, 1984. – 24 с
12. Gibbons M. C. Serotonin as an inducer of spawning in six bivalve Species / M. C. Gibbons, M. Castagna // Aquaculture. – 1984. – Vol. 40. – P. 189–191 (abstract).
13. Захваткина К. А. Личинки двустворчатых моллюсков – Bivalvia // Определитель фауны Черного и Азовского морей. Свободноживущие беспозвоночные. / К. А. Захваткина. – Киев: Наукова Думка, 1972. – Т. 3. – С. 250–271.
14. Loosanoff V. L. Dimensions and shapes of larvae of some marine bivalve mollusks / V. L. Loosanoff, H. C. Davis, P. E. Chanley // Malac. – 1966. – Vol. 4. – P. 351–435.
15. Алимов А. Ф. Рост и возраст. Методы изучения двустворчатых моллюсков / А. Ф. Алимов, А. А. Львова, Г. Е. Макарова, И. Н. Солдатова // Труды Зоол. института. – 1990. – Т. 219. – С. 121–141.
16. Waller T. R. Functional morphology and development of veliger larvae of the European oyster, *Ostrea edulis* Linné / T. R. Waller // Smithsonian Contributions to Zoology. – 1981. – Vol. 328. – 70 p. Doi: 10.5479/si.00810282.328
17. Куликова В. А. Пелагические личинки двустворчатых моллюсков Японского моря, морфология, идентификация / В. А. Куликова, Н. К. Колотухина // Препринт № 21. Владивосток, 1989. – 32 с.
18. Chanley P. Comparative descriptions of some oyster larvae from New Zealand and Chile, and a description of a new genus of oyster, *Tiostrea*, New Zealand / P. Chanley, P. Dinamani // J. of Mar. and Freshwater Res. – 1980. – Vol. 14, № 2. – P. 103–120. Doi: 10.1080/00288330.1980.9515851

19. Christo S. W. Crescimento da prodissoconcha de ostras do gênero *Crassostrea* Sacco, 1897 (Bivalvia, Ostreidae) / S. W Christo, T. M. Absher // Boletim do Instituto de Pesca. – 2008. – Vol. 34, №. 1. – P. 71–77.
20. Холодов В. И. Выращивание мидий и устриц в Черном море. / В. И. Холодов, А. В. Пиркова, Л. В. Ладыгина. – Воронеж. ООО “Издат-принт”, 2017. – 508 с.
21. Lannan J. E. Broodstock management of *Crassostrea gigas*. II. Broodstock conditioning to maximize larval survival / J. E. Lannan, A. Robinson, W. P. Breese // Aquacult. – 1980. – Vol. 21, № 4. – P. 337–345.
22. Beaumont A. Genetic considerations in transfers and introductions of scallops / A. Beaumont // Aquacult. Inter. – 2000. – Vol. 8. – P. 493–512
23. Hendriks I. E. Identification of larvae of intertidal bivalves / I. E. Hendriks., L. A. Duren, P. M. J. Herman // J. of Sea Res. – 2014. – Ch. 2. – P. 30–46.
24. Waller T. R. Comparative descriptions of some oyster larvae from New Zealand and Chile, and a description of a new genus of oyster, *Tiostrea*, New Zealand / T. R. Waller // J. of Mar. and Freshwater Res. – 1980. – Vol. 14, № 2. – P. 103–120. Doi: 10.1080/00288330.1980.9515851
25. Muniz E. M. C. Cultura artificial de larvas de ostras / E. M. C. Muniz // In: Brasil, Ministério da Marinha. Manual de maricultura. Rio de Janeiro, Instituto Nacional de Estudos do Mar. – 1983. – P. 165–192.
26. Marin F. The formation and mineralization of mollusk shell / F. Marin, N. L. Roy, B. Marie // Front. Biosci. (Schol Ed). – 2012. – Vol. 4, № 3. – P. 1099–1125. doi: 10.2741/s321

GROWTH DYNAMICS AND DEVELOPMENT OF LARVAE OF THE GIANT OYSTER *MAGALLANA GIGAS* (THUNBERG, 1793) (BIVALVIA: OSTREIDAE) OF BLACK SEA ORIGIN

Pirkova A. V., Ladygina L. V., Ryabushko V. I., Shchurov S. V., Toichkin A. M.

*Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas, Russian Academy of Sciences, Sevastopol, Russia
E-mail: avpirkova@mail.ru*

The study is focused on growth dynamics and development of giant oyster *Magallana gigas* (Thunberg, 1793) larvae obtained in a nursery from Black Sea breeders. Special feed rations containing six algae species were elaborated for larvae of different development stages. The feed concentration for oyster larvae was calculated based on the total number of algae cells per volume of the container with larvae at the optimal stocking density. At the veliger stage, the feed consisted of microalgae: *Isochrysis galbana* + *Monochrysis lutheri* at a concentration of 100 thousand cells·ml⁻¹ (cell ratio 1:1). At the velikonchi stage, a mixture of microalgae was used as feed, with *Phaeodactylum tricornutum* being added, at a total concentration of 150 thousand cells·ml⁻¹ in a cell ratio of 1:1:1. Starting from the velikonchi stage with an "eye", the green microalga *Chlorella vulgaris* f. *suboblonga* was included in the feed. At the pediveliger stage, the feed was supplemented with the microalgae *Tetraselmis suecica* and *Tetraselmis viridis* at a total concentration of 250000 cells·ml⁻¹.

The article describes morphometric characteristics of larvae at the following stages of development are described: D-stage, velikoncha, pediveliger, including changes in shell shape and apex position. Larvae at the D-stage (or prodissoconch I) were observed 24

hours after fertilization. At this stage of development, the shell length is greater than the height. A few days later, the larvae began to form a prodissoconch II shell with concentric growth lines. On the 6th day of cultivation, the larval shell acquired a rounded shape, and the length-to-height ratio of the shell was approaching to one. Later, at the velikoncha stage, there appeared an umbo, which was more pronounced on the left valve. It should be noted that, in contrast to rather symmetrical shell of the D-stage larvae, the velikoncha shell is asymmetrical – the right valve is flatter and its height is less than the left one. From this stage on, both height and length fluctuated significantly, which can be explained by uneven growth of larvae in the late stages of development. The maximum dimensions (L×H) of larvae at the D-stage were: 77×63 µm; at the pediveliger stage – 336×378 µm. During ontogenesis, the length-to-height ratio of the larval shells changed from 1.16 to 0.87. Throughout the entire growing period, the indices of larvae size were different. The difference between the maximum and minimum values of the larval shell height ranged from 7 µm (age 2 days) to 200 µm (age 18 days). The growth patterns of oyster larvae during ontogenesis can be traced by analyzing the number and width of growth lines on the shell of prodissoconch II. This study presents SEM images of shells with concentric growth lines in fast- and slow-growing larvae aged 18 days. The comparison of the number of growth lines on the shells of prodissoconch II in fast-growing (height 185 µm) and slow-growing (height 122 µm) larvae of the same age revealed a discrepancy with the daily increments of slow-growing larvae. Apparently, it related to a higher frequency of valve closure and a temporary cessation of feeding, which caused growth retardation.

Keywords: giant oyster, larvae, morphometric characteristics, aquaculture, Black Sea.

References

1. Harris J. Pacific oyster, *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793), *Aquatic Invas. Ecol.*, 1 (2008).
2. Ruesink J. L., Lenihan H., Ruesink J., Trimble A., Heiman K., Introduction of nonnative oysters: Ecosystem effects and restoration implications, *Annual Rev. Ecol. Evol. Sys.*, **36**, 643 (2005). Doi: 10.1146/annurev.ecolsys.36.102003.15263
3. Helm M. M., Bourne N., Lovatelli A. *Hatchery culture of bivalves. A practical manual*. 177 p. (Rome: FAO, 2004).
4. Orlenko A. N. Giant oyster *Crassostrea gigas* (Bivalvia, Mytiliformes, Crassostreidae) as an object of acclimatization and the main stages of its transplantation to the Black Sea, *Zoological journal*, **73** (1), 51 (1994).
5. Orlenko A. N., Main results of works on acclimation and cultivation of the giant oyster *Crassostrea gigas* (Th.) in the Black Sea for the period of 1985–2004, *Fisheries of Ukraine. Special Issue*, **6**, 178 (2005).
6. Orlenko A. N., Vizhevsky V. I. Results of the formation of the Pacific oyster broodstock in the Black Sea and obtaining its spat in artificial conditions, *Proceedings of the Southern Research Institute of Marine Fisheries and Oceanography*, **41**, 136 (1995).
7. Pereladov M. V. Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) in the Black Sea., (Modern natural settlements and prospects for further expansion. *Proceedings of the 8th International Scientific and Practical Conference “Marine Research and Education” (MARESEDU-2019)*, **II** (III), 343 (Tver: PoliPRESS, 2020).
8. Pirkova A. V., Ladygina L. V., Kholodov V. I. *Biological and biotechnical aspects of organization and functioning of the oyster hatchery in the Black Sea*, 120 p. (Sevastopol: FRC IBSS, 2020).
9. Popov M. A., Schurov S. V. Findings of spat of bivalve mollusc *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793) in Donuzlav Lake and Artillery Bay (Crimea, the Black Sea), *Marine Biological Journal*, **4**(4), 97 (2019).
10. Lisitskaya E. V., Shurov S. V. The first record of larval *Crassostrea gigas* (Thunberg 1793) (Bivalvia, Ostreidae) from the Black Sea, *Biology Bulletin*, **103** (5), 11 (2024).

11. Rakov A. V. Biological foundations of cultivating the Pacific oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg) in Bay the Great Peter, (*Abstract of Cand. Sci. (Biol.). USSR Academy of Sciences. Far Eastern Scientific Center. TINRO. Vladivostok. 1984*). 24 p.
12. Gibbons M. C., Castagna M. Serotonin as an inducer of spawning in six bivalve Species, *Aquaculture*, **40**, 189 (1984).
13. Zakhvatkina K. A. *Larvae of bivalve mollusks – Bivalvia*, 250. (In: Vodyanitskyi V.A., Mordukhai-Boltovskoi F.D. (eds) *Key to the fauna of the Black and Azov Seas*. Kiev: Naukova Dumka, 1972)
14. Loosanoff V. L., Davis H. C., Chanley P. E. Dimensions and shapes of larvae of some marine bivalve mollusks, *Malac.* **4**, 351 (1966).
15. Alimov A. F., Lvova A. A., Makarova G. E., Soldatova I. N. Growth and age. Methods of studying bivalve mollusks, *Transactions of the Zoological Institute*, **219**, 121 (1990).
16. Waller T. R. Functional morphology and development of veliger larvae of the European oyster, *Ostrea edulis* Linné, *Smithsonian Contributions to Zoology*. **328**, 70 p. (1981). Doi: 10.5479/si.00810282.328
17. Kulikova V. A., Kolotukhina N. K. *Pelagic larvae of bivalve mollusks of the Sea of Japan*, in *Methody, morfologiya, identifikatsiya*, 32 p. (Reprint № 21. Vladivostok: Dal'nevost. Otd., Acad. Nauk SSSR, 1989).
18. Chanley P., Dinamani P. Comparative descriptions of some oyster larvae from New Zealand and Chile, and a description of a new genus of oyster, *Tiostrea*, New Zealand, *J. of Mar. and Freshwater Res.*, **14** (2), 103 (1980). Doi: 10.1080/00288330.1980.9515851
19. Christo S. W., Absher T. M. Crescimento da prodissoconcha de ostras do gênero *Crassostrea* Sacco, 1897 (Bivalvia, Ostreidae), *Boletim do Instituto de Pesca*, **34** (1), 71 (2008).
20. Kholodov V. I., Pirkova A. V., Ladygina L. V. *Cultivation of mussels and oysters in the Black Sea*, 508 p. (Voronezh, OOO Izdat-print, 2017).
21. Lannan J. E. Robinson A., Breese W. P., Broodstock management of *Crassostrea gigas*. II. Broodstock conditioning to maximize larval survival, *Aquaculture*, **21**(4), 337 (1980).
22. Beaumont A. Genetic considerations in transfers and introductions of scallops, *Aquacult. Inter.*, **8**, 493 (2000).
23. Hendriks I. E., Duren L.A., Herman P.M.J., Identification of larvae of intertidal bivalves, *J. of Sea Res.*, **2**, 30 (2014).
24. Waller T. R. Comparative descriptions of some oyster larvae from New Zealand and Chile, and a description of a new genus of oyster, *Tiostrea*, New Zealand, *J. of Mar. and Freshwater Res.* **14** (2), 103 (1980). Doi: 10.1080/00288330.1980.9515851
25. Muniz E. M. C. Cultura artificial de larvas de ostras, *Brasil, Ministério da Marinha. Manual de maricultura. Rio de Janeiro, Instituto Nacional de Estudos do Mar*, 165 (1983).
26. Marin F., Roy N. L., Marie B. The formation and mineralization of mollusk shell, *Front. Biosci. (Schol Ed)*, **4** (3), 1099 (2012). doi: 10.2741/s321