

На правах рукописи



ВЕРБИЦКИЙ Владимир Борисович

**ТЕМПЕРАТУРНЫЙ ОПТИМУМ, ПРЕФЕРЕНДУМ
И ТЕРМОТОЛЕРАНТНОСТЬ ПРЭСНОВОДНЫХ
РАКООБРАЗНЫХ (CLADOCERA, ISOPODA, AMPHIPODA)**

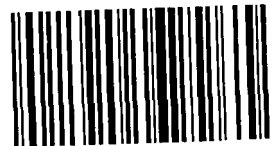
03.02.08 – Экология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
доктора биологических наук

12 АПР 2012

Борок 2012



005018314

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина Российской академии наук (ИБВВ РАН)

Официальные оппоненты:

доктор биологических наук, профессор,
Федеральное государственное бюджетное
учреждение науки Институт биофизики
СО РАН, зам. директора

Гладышев Михаил Иванович

доктор биологических наук, профессор,
Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего
профессионального образования
"Нижегородский государственный
университет им. Н.И. Лобачевского",
профессор

Шурганова Галина Васильевна

доктор биологических наук, Федеральное
государственное бюджетное учреждение
науки Институт биологии внутренних вод
им. И.Д. Папанина РАН, зав. лабораторией

Крылов Александр Витальевич

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт озерадения РАН

Защита диссертации состоится «17» мая 2012 г. в 10⁰⁰ часов на заседании Диссертационного совета ДМ002.036.01 при Институте биологии внутренних вод РАН по адресу: 152742 Ярославская область, Некоузский район, пос. Борок. Тел. (8485)472-43-49; факс (8485)4724042; e-mail: dissovet@ibiw.yaroslavl.ru

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина, авторефератом – на сайте www.vak.ed.gov.ru

Автореферат разослан «24» 03 2012 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор биологических наук



Корнева Л.Г.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Роль температуры, как фактора, регулирующего все стороны жизненных циклов гидробионтов, всегда привлекала и продолжает привлекать пристальное внимание исследователей самых разных специальностей. Причиной этого является понимание, что физиологические ответы – главная стратегия, используемая организмами при адаптации к климатическим изменениям (Portner, Knust, 2007; Berteaux *et al.*, 2004; Helmuth *et al.*, 2005; Chown, Terblanche, 2007). По-прежнему актуальными остаются проблемы изучения температурной нормы (Meats, 1973; Rako, Hoffmann, 2006; Terblanche *et al.*, 2007), последствий температурного стресса (Nedved *et al.*, 1998; Renault *et al.*, 2004; Zani *et al.*, 2005), термотолерантности, механизмов восприятия температуры и стратегии терморегуляции (Seebacher, Franklin, 2005).

Важное место в ряду названных проблем занимает установление значений температурного оптимума и границ толерантности видов. Введённое В. Шелфордом понятие оптимума практически в первоначальной формулировке используется в научной литературе до настоящего времени (Шилов, 1997; Angilletta *et al.*, 2002; Glossary of terms..., 2003 и др.), хотя ещё в начале 1980-х гг. Э. Пианка (1981, с. 88) писал, что "...концепция единственного фиксированного оптимума представляет собой артефакт...". Проф. А.С. Константинов, изучив с сотрудниками влияние колебательных режимов различных факторов на водные организмы, сформулировал концепцию "астатиического" оптимума (Константинов, 1988, с. 6). Однако данные, полученные нами и другими исследователями, свидетельствуют, что в ряде случаев экологический оптимум не описывается только понятиями данной концепции. Назрела необходимость введения новых понятий, которые бы позволили расширить и уточнить определение оптимума.

Изучение действия комплекса абиотических и биотических факторов на зоопланктонные сообщества привело ряд исследователей к убеждению, что именно температура – основной структурирующий фактор для этих сообществ, влияющий, в том числе, на распределение и сезонную последовательность смены видов Cladocera (Tappa, 1965; Geraldес, Boavida, 2004). При этом, если эффектам циклических изменений температуры на разные стороны биологии эктотермов было посвящено много работ, в том числе и в последние годы (Pilditch, Grant, 1999; Grant, Janzen, 2003; Renault *et al.*, 2004; Dong *et al.*, 2006, 2008; Du *et al.*, 2009 и др.), то эффекты аритмических изменений температуры исследовались редко (Khan, 1965; Sharitz, Luvall, 1978; Thorp, Wineriter, 1981; Minois, 2001), хотя известно, что

организмы как в природных, так и в антропогенно изменённых водных системах, могут подвергаться быстрым и иногда непредсказуемым колебаниям температуры. Это относится и к зоопланктонным организмам пелагиали, совершающим в водоемах ежедневные суточные вертикальные миграции, и к организмам литорали, которые подвержены большим суточным колебаниям температуры (Orcutt, Porter, 1983; Lass *et al.*, 2000; Kessler, Lampert, 2004 и др.). Очевидно, что на такие виды стимулирующее влияние могут оказывать не только циклические колебания, но и разовые, ступенчатые изменения температуры: резкий прогрев или охлаждение воды.

Однако, для большинства доминирующих видов пресноводных Cladocera не изучены реакции на резкие, не циклические воздействия температуры, не определены значения верхней температурной границы толерантности, не исследована зависимость этих значений от температурных условий обитания и возможная их связь с температурами нормальной жизнедеятельности и оптимальными температурами. Не определены и диапазоны избираемых и избегаемых температур, соответствующие зонам оптимальных и пессимальных температур на шкале толерантности В. Шелфорда.

До настоящего времени практически не изучены и эффекты последствия фактора среды, когда реакция организма/популяции продолжается или начинает проявляться после завершения действия какого-либо фактора. Решение указанных проблем актуально не только в рамках фундаментальной науки, но и для разработки теории и методологии отбора и введения новых объектов в аква- и марикультуру, а также тест-объектов для целей биотестирования качества воды.

Цели и задачи исследования. Цели настоящей работы: 1) разработка концепции статико-динамического температурного оптимума эктотермных организмов и верификация основных её положений данными натурных и экспериментальных исследований, 2) определение значений критического теплового максимума и диапазонов конечных избираемых температур (термопреферендума) пресноводных ракообразных (Cladocera, Isopoda и Amphipoda), и исследование их связи с оптимальными температурами.

Для осуществления этих целей были поставлены следующие основные задачи:
 – экспериментально исследовать эффекты воздействия непериодических (ступенчатых) изменений температуры разной величины и направленности

- (нагрев или охлаждение) на динамику численности популяций доминирующих в бассейне Верхней Волги видов зоопланктонных Cladocera;
- изучить эффекты стимулирующего и ингибирующего последействия фактора на примере реакций ветвистоусых ракообразных на различные температурные воздействия;
 - определить в сезонном аспекте значения критических тепловых максимумов (КТМ) у доминирующих видов низших и высших раков из популяций бассейна Верхней Волги, исследовать их зависимость от температурных условий обитания и возможную связь с температурными диапазонами нормальной жизнедеятельности и оптимума;
 - определить диапазоны конечных избираемых температур (КИТ) доминирующих видов низших и высших раков из природных популяций и изучить особенности их термоизбирательного поведения;
 - сформулировать концепцию статико-динамического температурного оптимума эктотермов и проверить применимость ее основных положений к другим абиотическим факторам среды;
 - на основе предлагаемой концепции разработать методологию и основы биотехнологии отбора и введения в аква- и марикультуру новых объектов культивирования, а также новых тест-объектов для целей нормирования и оценки качества воды.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Оптимальность температурных условий для роста и развития популяций эктотермных видов не ограничивается только диапазоном оптимальных значений на шкале толерантности и параметрами циклических колебаний, но может определяться также эффектами однократного (ступенчатого) нагрева или охлаждения воды.

2. Пребывание организма или популяции при оптимальной температуре может сказываться не сразу, а через некоторое время после начала (продолженный эффект) или окончания (отсроченный эффект) температурного воздействия. В этих случаях оптимальными будут не те значения температуры, при которых регистрируется максимальная плодовитость или максимальная численность популяции, а её значения, предшествующие этим максимумам.

3. У литоральных видов Cladocera зависимость между критическим тепловым максимумом (КТМ) и температурой акклимации в диапазоне оптимальных

температур не является прямолинейной – имеются две зоны регуляции КТМ (зоны независимости функции от температуры) – в диапазонах пониженных и повышенных температур, которые имеют видовую специфичность. Зоны регулирования КТМ на температурной шкале примерно совпадают с температурами нормальной жизнедеятельности видов, а участки максимальных значений внутри зон регуляции соответствуют оптимальным температурам.

4. Высшие раки избирают температуры в диапазоне оптимальных для них величин, независимо от значений, при которых они обитали в природе и демонстрируют периодические колебания величины избираемых температур. Диапазоны избираемых температур низших и высших раков соответствуют оптимальным температурным условиям достижения максимальных плотностей популяций исследованных видов в озерах и водохранилищах.

Научная новизна и теоретическая значимость работы. Впервые экспериментально, на примере *Cladocera*, показано что рост численности популяций может стимулироваться не только поддержанием температур в оптимальном диапазоне значений или ритмическими колебательными режимами, но и разнонаправленными непериодическими ступенчатыми изменениями температуры. Впервые экспериментально выявлено наличие эффектов последствия факторов среды (продолгованных и отсроченных), когда пребывание организма или популяции при оптимальных значениях фактора проявляется через некоторое время после начала или даже окончания его воздействия.

Для ряда массовых видов *Cladocera* из природных популяций впервые определены нижний и верхний уровни критического температурного максимума (КТМ) и их зависимость от температурных условий обитания. Установлено, что зависимость между КТМ и температурой акклимации у *Cladocera* не является прямолинейной – в диапазоне оптимальных температур выявлены две зоны независимости функции от температуры (зоны регуляции). Установлена видовая специфичность приуроченности зон регуляции КТМ к определенным диапазонам температур и установлено соотношение этих зон с температурными диапазонами толерантности, нормальной жизнедеятельности и оптимума.

Установлено, что независимо от температурной предыстории, при длительном нахождении в условиях линейного температурного градиента *Asellus aquaticus* и *Gmelinoides fasciatus* демонстрируют колебания величины избираемых температур с периодом 5-6 суток. Оба вида избирают значения в диапазоне оптимальных для

вида температур, независимо от той температуры, в которой они обитали в природе. У *G. fasciatus* выявлены гендерные различия в термоизбирательном поведении.

Применение статико-динамического подхода к определению понятия экологического оптимума дает определенный стимул к дальнейшему развитию современных представлений об экологическом оптимуме и соотношении понятий оптимума, преферендума и границ толерантности видов.

Практическая значимость работы. Развиваемый в диссертации подход к определению экологического оптимума и границ толерантности конкретной популяции использован при разработке экологических основ и биотехнологии отбора и введения в аквакультуру нового объекта культивирования (авторское свидетельство на изобретение №1175412 от 1.05.1985 г.). Биотехнология была апробирована и внедрена в практику рыбного хозяйства – использована при подращивании личинок рыб в производственных условиях (акт внедрения научно-технического мероприятия от 15.10.1986 г. по Договору № 909-85 от 14.12.1985 г.).

Результаты исследования использовались при выполнении заданий Программы "Экологическая безопасность России" Министерства охраны окружающей среды и природных ресурсов РФ (1993–1995 гг.) (Разделы 91.3.4, 1.5.5 и 5.1:4.1), для создания учебно-научного центра информационных систем и телекоммуникаций на базе консорциума вузов и институтов РАН (1999–2001 гг.) по заданию Программы "Государственная поддержка интеграции высшего образования и фундаментальной науки" (контракт № 0702 (К0704)), а также ряда других тем и хозяйственных договоров.

Основные положения и выводы работы внедрены в учебный процесс и использовались при проведении учебных занятий в ходе летних выездных учебных практик студентов кафедры экологии и наук о Земле Международного университета природы, общества и человека "Дубна" и студентов кафедры биологии Череповецкого государственного университета.

Связь работы с научными программами, планами, темами. Работа выполнена в рамках плановых научных тем лаборатории экспериментальной экологии ИБВВ им. И.Д. Папанина РАН (1989-2011гг.). Исследования были частично поддержаны грантами РФФИ № 95-04-11694а и № 98-04-48576а, совместным грантом № J1W100 Международного Научного Фонда, Фонда Фундаментальных Исследований и Правительства Российской Федерации (1996 г.), а также в рамках задания ФЦНТП "Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития науки и техники" на 2002–2006 гг., блок 2, подраздел

"Биология", тема: "Инвазии чужеродных видов в бассейне верхней Волги" и в рамках Программы фундаментальных исследований Президиума РАН "Биоразнообразие и динамика генофондов" (2006-2008).

Апробация работы. Основные результаты и положения диссертации были доложены и обсуждены на 34 международных, всесоюзных и всероссийских конференциях, симпозиумах и съездах. В том числе: на IV–IX съездах Гидробиологического общества при РАН (Киев, 1981, Тольятти, 1986, Казань, 1996, Калининград, 2001, Тольятти, 2006), «Проблемы охраны вод и рыбных ресурсов» (Казань, 1980), IV Всесоюзном совещании по мариккультуре (Владивосток, 1983), "Создание естественной кормовой базы для повышения продуктивности рыбоводства" (Рыбное, 1984), Второй Всесоюзной конференции по рыбохозяйственной токсикологии (Санкт-Петербург, 1991), "Зооиндикация и экотоксикология животных в условиях техногенного ландшафта" (Днепропетровск, 1993), "Экологические проблемы Ладожского озера" (Санкт-Петербург, 1993), "Проблемы развития пресноводной аквакультуры" (Рыбное, 1993), "Устойчивое развитие: загрязнение окружающей среды и экологическая безопасность" (Днепропетровск, 1995), "Sustainable development: System analysis in ecology" (Sevastopol, 1996), "Физиологические механизмы природных адаптаций" (Иваново, 1999), "Проблемы гидроэкологии на рубеже веков" (Санкт-Петербург, 2000), "Инвазии чужеродных видов в Голарктике" (Борок, 2001, 2003, 2005), "Актуальные проблемы водохранилищ" (Борок, 2002), "Биоразнообразии и роль зооценоза в естественных и антропогенных экосистемах" (Днепропетровск, 2003, 2005, 2007, 2009, 2011), "Актуальные проблемы сохранения устойчивости живых систем" (Белгород, 2004), "Современные проблемы водной токсикологии" (Борок, 2005), "Проблемы изучения, рационального использования и охраны природных ресурсов Белого моря" (Архангельск, 2007), "Современные проблемы гидроэкологии" (Санкт-Петербург, 2010), "Поведение рыб" (Борок, 2010), а также на юбилейной сессии Ученого Совета ВНПО по рыбоводству (пос. Рыбное, Московская обл., 1999), на научном семинаре лаборатории полевой и экспериментальной гидробиологии ЗИН РАН (2011), на Российско-французском научном семинаре по влиянию изменения климата на эколого-физиологические характеристики водных организмов (Лион, Франция, 2011) и на заседаниях ученого совета ИБВВ РАН (2002, 2011).

Личный вклад автора в работу. Диссертационная работа основана на результатах собственных тридцатилетних (1980–2010 гг.) полевых и экспериментальных исследований, выполненных лично автором. Все результаты получены автором, либо при его непосредственном участии в случае коллективных работ. Автором обоснована актуальность темы диссертации, определены цель и задачи исследования, выбраны методы сбора и анализа материалов, проведены полевые, экспериментальные и камеральные работы, выполнены обобщение и интерпретация результатов. Доля личного участия автора в совместных публикациях пропорциональна числу авторов.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 51 научная работа, в том числе 18 работ в ведущих рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК, 1 авторское свидетельство на изобретение, 1 учебное пособие, 31 статья в рецензируемых журналах, тематических сборниках трудов и материалах международных и всероссийских конференций, совещаний и съездов.

Структура и объем работы. Диссертация состоит из введения, 6 глав, заключения, выводов, списка литературы и приложения. Она изложена на 310 страницах, проиллюстрирована 6 таблицами и 55 рисунками. Приложение на 90 страницах включает 39 таблиц и 125 рисунков. Список литературы состоит из 846 наименований, из них 501 на иностранных языках.

Благодарности. Автор выражает свою глубокую благодарность всем сотрудникам Института биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина, совместные исследования с которыми внесли неоценимый вклад в выполнение диссертационной работы на разных ее этапах, особенно д.б.н. В.С. Сарвино, Т.И. Вербицкой, к.б.н. Е.А. Кореневой, д.б.н. В.Г. Терещенко, к.б.н. Н.А. Березиной (ЗИН РАН), О.А. Малышевой и В.Д. Смирнову.

ГЛАВА 1. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

1.1. Объекты исследования. Объектами исследования служили обитающие в водоёмах бассейна Средней и Верхней Волги отдельные организмы, природные и экспериментальные популяции и сообщества пресноводного зоопланктона, а также представитель Isopoda водяной ослик *Asellus aquaticus* (Linne, 1758) и представитель Amphipoda бокоплав *Gmelinoides fasciatus* (Stebbing, 1899). Кроме того, объектами изучения были широко используемые в токсикологических

исследованиях как тест-объекты виды *Ceriodaphnia dubia* Richard, 1894 и *Daphnia magna* Straus, 1820, взятые из многолетних лабораторных культур.

1.2. Анализ динамики численности экспериментальных зоопланктонных популяций и сообществ и динамики структуры этих сообществ при различных температурных режимах. Эксперименты по изучению реакций зоопланктонных сообществ и популяций доминирующих видов на дозированные температурные воздействия были поставлены в микрокосмах разного объема (от 20 до 600 л). В течение всех длительных экспериментов по содержанию ветвистоусых раков при разных температурных режимах их кормили взвесью хлореллы (*Chlorella vulgaris*), поддерживая плотность водорослевого корма в микрокосмах на уровне, превышающем лимитирующий для изучаемых видов (Hanasato, Yasuno, 1985; Sarma *et al.*, 2005).

Все эксперименты были поставлены таким образом, чтобы исследовать эффект силы и направленности воздействия температурного фактора на сообщества и популяции организмов зоопланктона. За силу воздействия принимали разность между начальной и конечной температурами при ее изменении, под направленностью – нагрев или охлаждение воды в микрокосмах. Для оценки величины реакции (отклика) анализируемых сообществ на примененные воздействия анализировали сходство их видовых структур с использованием метода кластеризации (Лакин, 1990), позволяющего вести пошаговое выделение кластеров (агломеративный иерархический анализ), индекса видового разнообразия, рассчитанного по формуле Шеннона (Шеннон, 1963; Pielou, 1967, 1977; Левич, 1977), а также индекса близости видовой структуры Чекановского-Сьеренсена (Ics) в количественной форме (Песенко, 1982). Кроме общепринятых и традиционно используемых в экологических исследованиях показателей видовой структуры и индексов, в работе был также применен в авторской редакции модифицированный и апробированный метод фазовых портретов (Verbitsky, Tereshchenko, 1996; Терещенко, Вербицкий, 1997). Для описания процессов перестройки структуры сообщества в качестве параметра использовали индекс разнообразия Шеннона.

1.3. Исследование влияния различных температурных режимов на плодовитость парthenогенетических самок *Ceriodaphnia dubia*. В эксперименте использовали один клон *C. dubia*, выведенный из особи, рожденной в многолетней

лабораторной культуре, потомство которой было акклимировано в пяти поколениях к температуре 15°C. Тестировали ювенильных особей, фертильных самок и самок с яйцами в выводковой камере. Продолжительность каждого эксперимента составляла 34–40 сут.

1.4. Определение критического теплового максимума (КТМ). Во всех опытах в качестве количественного показателя терморезистентности использовали значения температуры, при которой отмечали тепловой шок (Cox, 1974; McFarlane *et al.*, 1976; Becker, Genoway, 1979; Сарвино, 1985) – критический тепловой, или термальный, максимум – КТМ (critical thermal maximum – СТМ). КТМ определяли по моменту наступления обездвиживания фильтрующих ножек (у Cladocera) или по моменту нарушения (потери) двигательной активности раков (у бокоплавов и водяных осликов). По снятым отсчетам рассчитывали среднеарифметическое значение КТМ и стандартное отклонение для каждого варианта опыта. Для статистической обработки данных применяли однофакторный дисперсионный (ANOVA) и регрессионный анализы. Достоверность различий между сезонными значениями КТМ за каждый год оценивали по t-критерию Стьюдента, F-критерию Фишера и критерию Колмогорова-Смирнова.

1.5. Определение конечных избираемых температур (КИТ) "острым" и "хроническим" методами. Установка для изучения термопреферендумов представляла собой лоток Хертера с металлическим дном и стенками из прозрачного оргстекла. Размеры установок: 101×10×4 см и 180×15×5 см. Горизонтальный градиент создавали путем поддержания разных температур на противоположных концах лотка (от 0-8 до 28-30°C). В качестве зоны избираемых температур принимали значения модальной группы на шкале температур, включающей в себя более 70% всех отсчетов. За среднюю избираемую температуру принимали среднее арифметическое значений модальной группы избираемых температур.

Изучали "острое" температурное избирание (Reynolds, Casterlin, 1979) у потомков одной партеногенетической самки (чистая линия) *Daphnia magna*, содержащихся в течение 6 месяцев при 7 различных постоянных температурах в диапазоне $13.1 \pm 1.1 - 27.1 \pm 0.3^\circ\text{C}$. В течение ряда вегетационных сезонов изучали "острое" температурное избирание *Daphnia longispina*, *Ceriodaphnia quadrangula*,

Diaphanosoma brachyurum, *Simocephalus vetulus* и *Polyphemus pediculus* из литорали Рыбинского водохранилища при температурах воды 5.5–27.4°C. Определяли КИТ "хроническим методом" (Fray, 1947) у бокоплавов *Gmelinoides fasciatus* и водяного ослика *Asellus aquaticus* из литорали Рыбинского водохранилища, а также у *Daphnia magna*, предварительно акклимированных в течение нескольких поколений к температурам воды 20.0, 23.4 и 25.0°C и у *Ceriodaphnia quadrangula*, акклимированных к температурам 15.0 и 20.0°C. Исследовали двигательную активность *D. magna* в условиях температурного градиента.

1.6. Исследование влияния на зоопланктонные сообщества ступенчатого увеличения концентрации фосфора в воде. Реакции на ступенчатое увеличение концентрации минерального фосфора в воде изучали в хронических опытах (61 сут) в микрокосмах (600 л), с периодической (1 раз в неделю) сменой 1/2 объема воды. Все микрокосмы были термостатированы и расположены в помещении. Фосфор в лотки вносили в виде соли фосфорной кислоты (KH_2PO_4) в концентрации 0.70–0.82 и 1.45–1.6 мгР/л (фоновая – 0.05–0.06 мгР/л) в период с 11 по 18 сут. Содержание фосфора в воде лотков определяли 1 раз в 3–4 суток. Реакцию сообществ на воздействия исследовали по динамике численности доминирующих видов, отдельных таксономических групп и зоопланктона в целом, а также индекса биологического разнообразия сообществ (индекс Шеннона).

1.7. Исследование влияния лазерного излучения малой мощности на плодовитость *Daphnia pulex*. Для эксперимента отбирали овулярных партеногенетических самок одного помета с яйцами на 1–2-й стадии развития, отловленных в водоеме и содержащихся в лабораторной культуре при комнатной температуре при кормлении микроводорослью *Chlorella vulgaris*. Дафний рассаживали в кварцевые кюветы с водой и ставили под луч промышленного гелий-неонового лазера мощностью 1 микроватт с длиной волны 630 нм (красное излучение), на расстоянии 1 м от источника излучения. После облучения раков рассаживали в стаканчики с водой, объемом 100 мл и вели контроль за их состоянием. Выросшую молодь отсаживали в отдельные стаканчики для последующего наблюдения. Исследовали следующие показатели: плодовитость, продолжительность созревания эмбрионов, продолжительность периода от вымета молоди до закладки следующей порции яиц. Все эти параметры исследовали как на исходно взятых особях, так и на их потомстве в 4-х генерациях. Статистическую обработку экспериментальных данных вели с использованием программы ANOVA.

Глава 2. ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ТЕМПЕРАТУРНЫХ РЕЖИМОВ НА ДИНАМИКУ СТРУКТУРЫ И ЧИСЛЕННОСТИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ СООБЩЕСТВ ЗООПЛАНКТОНА И НА ДИНАМИКУ ЧИСЛЕННОСТИ ПОПУЛЯЦИЙ ДОМИНИРУЮЩИХ ВИДОВ ВЕТВИСТОУСЫХ РАКООБРАЗНЫХ

В главе приведены результаты экспериментальных исследований влияния различных стабильных и переменных температур на популяционную динамику видов, на динамику видового состава и численности экспериментальных сообществ зоопланктона, а также результаты экспериментов, проведенных на чистой линии (отдельном клоне) партеногенетических самок *Ceriodaphnia dubia* по изучению показателей плодовитости при воздействии различных температурных режимов.

2.1. Температура как экологический фактор (литобзор). В разделе рассматриваются различные аспекты изучения температурной биологии, физиологии и экологии эктотермов, дан обзор основных работ, связанных с анализом влияния температурного фактора на рост, развитие и воспроизводство, выживаемость и продолжительности жизни, питание и дыхание Cladocera, а также на структурные перестройки в сообществах гидробионтов, приведены данные по температурной экологии исследованных видов и теоретическое обоснование метода ступенчатых, или дозированных воздействий.

2.2. Метод фазовых портретов для анализа динамики структуры сообществ гидробионтов. Различные воздействия приводят к перестройкам в видовой структуре сообщества, причем они проходят за определенное время путем последовательных преобразований. Один из эффективных методов анализа преобразований динамической системы состоит в получении ее «фазового портрета» (Волькенштейн, 1978), который дает возможность выявить стационарные состояния системы и характер ее динамики при отклонении от них. В разделе приведены результаты апробации возможностей использования метода структурного фазового портрета зоопланктонного сообщества для исследования структурных перестроек в сообществах при различного рода нарушающих воздействиях и определения зон их устойчивого состояния (Терещенко, Вербицкий, 1997; Verbitsky, Tereshchenko, 1996).

Показано, что метод фазовых портретов, визуализируя ответные реакции, позволяет получить дополнительную информацию о происходящих в сообществе перестройках и приблизиться к пониманию механизмов их функционирования.

2.3. Динамика численности и структуры экспериментальных сообществ зоопланктона при ступенчатых изменениях температуры. Известно, что при любых слабых нарушающих воздействиях на сообщество, его первой реакцией является изменение численности организмов. При последующем усилении или увеличении времени воздействия происходит выпадение наиболее чувствительных видов.

Исследуя влияние на численность зоопланктона ступенчатого прогрева или охлаждения воды на 5 или 10°C в диапазоне 15–25°C, максимальный рост численности зоопланктона наблюдали в трёх вариантах: при последовательным прогреве воды от 15 до 20°C, недельной акклимацией при этой температуре и последующим прогревом воды до 25°C; в варианте с недельным прогревом воды при 25°C (после 15°C) и последующим охлаждением до 20°C, а также в варианте с постоянной температурой воды 20°C. При всех остальных температурах численность была ниже. Длительное пребывание при 25°C приводило к наибольшему угнетению развития зоопланктона.

Динамика видового состава зоопланктоценозов микрокосмов при температуре воды 15°C и при повышении на 5°C с последующим поддержанием ее на этом уровне характеризовалась стабилизацией видовой структуры. При повышении температуры на 10°C, независимо от времени воздействия, сообщества не достигали равновесного состояния на протяжении всего периода эксперимента, т.е. стабилизация видового состава не наступала. Были выявлены температурные режимы, которые обеспечивают успех в конкурентной борьбе тому или иному виду и способствуют расширению их экологических ниш.

Нагрев воды от 15 до 25°C оказывал настолько сильное воздействие на зоопланктон, что уже на третьи сутки оно проявлялось на уровне структуры сообщества. Последствия недельного пребывания при 25°C прослеживались на протяжении всего последующего периода наблюдений (15 сут). В то же время последствия недельного прогрева от 15 до 20°C начинали проявляться на уровне структуры сообщества только через две недели после начала воздействия, т.е. через неделю после его прекращения.

Нагрев воды во всех анализируемых вариантах приводил к отклонению разнообразия от контрольного варианта (табл. 1). При этом, бóльшей силе воздействия, т.е. более сильному нагреву, соответствовали наибольшие отклонения разнообразия. При оптимальной температуре (близкой к 20°C и отклонения на 5°C, сопоставимые с суточными перепадами в водоемах умеренной зоны), начиная с 12-16 суток наблюдалось увеличение степени доминирования отдельных видов, развитию которых благоприятствовали создаваемые температурные режимы. Об этом свидетельствует снижение величины индекса разнообразия.

В то же время, пессимальные условия (пониженная температура или резкие перепады температур в сочетании с длительным сроком сильного прогрева) вызывали стабилизацию динамики разнообразия на одном уровне. Здесь была отмечена и минимальная общая численность зоопланктона. Наоборот, при ступенчатом повышении температуры (вариант VIII) максимальные значения разнообразия сопровождалась повышенными численностями зоопланктона (Вербицкий и др., 1995, 1996; Вербицкий и др., 2001; Verbitsky *et al.*, 1996).

Таблица 1. Значения отклонений индекса Шеннона в опытных вариантах от контрольного (вариант I) (эксперимент 1993 г.)

Вариант	Разница, бит	Разница, %
I (15→15→15→15)		
II (15→20→15→15)	1.8	48.4
III (15→20→20→15)	2.2	56.8
IV (15→25→15→15)	2.6	69.2
V (15→20→20→20)	2.4	61.8
VI (15→25→20→20)	2.5	65.8
VII (15→25→25→15)	2.7	70
VIII (15→20→25→25)	3.8	100

Анализ динамики индекса разнообразия позволил также определить интервал нахождения критической точки, после прохождения которой структура зоопланктоценозов претерпевает необратимые изменения по сравнению с контрольным вариантом (повышение температуры на 5°C на срок > 7 и < 14 сут).

2.4. Динамика численности популяций доминирующих видов зоопланктона. В разделе приведены результаты экспериментальных исследований влияния стабильных и переменных температур на динамику численности популяций доминирующих видов зоопланктона в микрокосмах.

Популяции *Ceriodaphnia quadrangula* во всех экспериментах достигали наиболее высокой численности только при кратковременном прогреве воды до 25°C с последующим снижением температуры до 20°C (рис. 1) (Вербицкий и др., 2001).

Более длительное содержание при 25°C, как и последующее снижение температуры до 15°C, приводило к угнетению популяций и резкому снижению численности. Снижение численности также отмечали при стабильных температурах и циклических изменениях с большой амплитудой колебаний (Вербицкий и др., 2009).

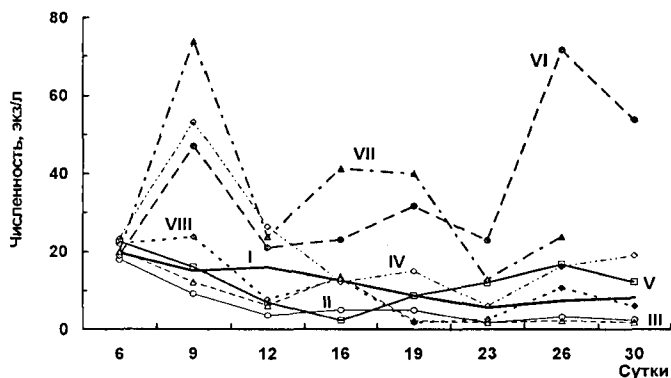


Рис. 1. Динамика численности *C. quadrangula* в эксперименте. I-VIII – варианты опытов; вариант I – 15→15→15→15°C, вариант II – 15→20→15→15°C, вариант III – 15→20→20→15°C, вариант IV – 15→25→15→15°C, вариант V – 15→20→20→20°C, вариант VI – 15→25→20→20°C, вариант VII – 15→25→25→15°C, вариант VIII – 15→20→25→25°C

Численность *Daphnia longispina* стимулировалась во всех экспериментах с прогревом воды от 15 до 20 или 25°C и от 20 до 25°C. После снижения температуры с 25 до 20 или 15°C численность дафний на протяжении первых 10–14 сут воздействия держалась на высоком уровне и только затем снижалась, т.е. отмечался пролонгированный стимулирующий эффект (Вербицкий, Вербицкая, 2009; Вербицкий и др., 2009).

У *Chydorus sphaericus* прослеживалась достаточно четкая связь численности с температурой среды: минимальные значения наблюдались в вариантах с пониженной температурой, а максимальные – в вариантах с высокой температурой. Эта закономерность прослеживалась также при постоянных и переменных температурах. Максимального развития популяции *Diaphanosoma brachyurum* достигали только при повышенной стабильной температуре, а при переменных её режимах наблюдалось ингибирование популяций и во время, и после прекращения воздействия (Вербицкий и др., 2009).

Развитие *Simocephalus vetulus* в той или иной мере стимулировалось во всех вариантах экспериментов, кроме прогрева воды от 20 до 25°C, который необратимо тормозил рост популяций, вызывая эффект пролонгированного ингибирования, и охлаждения воды от 25 до 15°C, которое не оказало воздействия. Но максимальное развитие популяции получали после снижения температуры воды от 25 до 20°C и от 20 до 15°C. При этом наблюдался эффект пролонгированного во времени стимулирующего воздействия (Вербицкий, Вербицкая, 2009, 2011).

Связь динамики численности видов с суммой температур. У исследованных видов Cladocera выявлены два типа зависимости динамики численности от суммы температур. У первой группы видов (*C. sphaericus*, *D. brachyurum* и *C. quadrangula*), которых можно охарактеризовать как относительно термофильные, определяющим для развития популяций является степень прогрева водоёма. График зависимости численности популяций от суммы температур у них идёт по экспоненте. Любые перепады температур в диапазонах 15–20, 20–25, 15–25°C или не оказывают влияния на динамику численности, или ингибируют развитие популяции по сравнению с верхним значением исследуемого температурного диапазона. У второй группы относительно термолабильных видов (*D. longispina*, *S. vetulus*, *S. mucronata*) развитие популяций может как стимулироваться, так и ингибироваться переменными терморежимами по сравнению с константными температурами. В результате графики зависимости численности популяций от суммы температур у этих видов близки к логистическим кривым, т.е. до определенного уровня прогрева воды численность популяций растет, а дальнейшее его увеличение начинает оказывать на популяции уже угнетающее воздействие.

2.5. Влияние различных температур на плодовитость партеногенетических самок *Ceriodaphnia dubia*. Для выяснения механизма описанного выше эффекта стимулирующего действия ступенчатого изменения температуры на численность популяций цериодафний был проведен эксперимент на чистой линии (отдельном клоне) партеногенетических самок *C. dubia* по изучению плодовитости при действии различных температур.

При всех вариантах температурного воздействия плодовитость исходных самок, подвергнутых нагреву на стадии фертильных и овулярных особей, была на 33.3–35.8% выше, чем у исходных самок, подвергнутых нагреву на ювенильной стадии (Табл. 2).

При ступенчатом изменении температуры (15→25→20) плодовитость особей F₁, рожденных от самок, подвергнутых нагреву на ювенильной стадии, выросла (на 30–43%) по сравнению с исходными самками. У потомства самок, подвергнутых нагреву на фертильной и овулярной стадиях, достоверная разница отсутствовала.

Таблица 2. Средняя плодовитость партеногенетических самок *C. dubia* на протяжении 8 выметов (M ± S)

Температурный режим, °С	Ювенильные особи		Фертильные самки		Самки с яйцами	
	Исходные	F ₁	Исходные	F ₁	Исходные	F ₁
15 → 15 → 15	8.9 ± 2.3	8.9 ± 2.4	8.9 ± 3.8	8.1 ± 2.7	–	–
15 → 20 → 20	8.7 ± 3.9	5.2 ± 1.1	9.2 ± 3.0	8.9 ± 3.0	8.1 ± 2.9	9.8 ± 4.2
15 → 25 → 25	6.8 ± 1.7	5.6 ± 2.8	10.6 ± 4.6	6.8 ± 3.4	10.2 ± 4.1	7.6 ± 2.7
15 → 25 → 20 (I)	6.9 ± 2.7	12.1 ± 3.5	8.7 ± 1.3	8.4 ± 1.8	6.8 ± 2.5	4.8 ± 1.0
15 → 25 → 20 (II)	7.3 ± 2.3	10.4 ± 3.6	–	–	–	–

Следовательно, воздействие в течение нескольких суток на ювенильные партеногенетические особи *C. dubia* температурой 25°C, с последующим её снижением до 20°C, оказывает стимулирующее действие, эффект от которого проявляется у потомства, т.е. наблюдается "отсроченная реакция".

Таким образом, проведенные исследования на разных видах, при разных температурных воздействиях показали, что на рост и поддержание на высоком уровне численности популяций *Cladocera* влияет не только диапазон оптимальных значений температуры на шкале толерантности, но и разнонаправленные

нециклические, ступенчатые сѐ изменения, с определенной длительностью нахождения при том или ином значении (продолжительность воздействия той или иной “дозы” фактора) и с определенным интервалом между этими значениями, а также с определенной направленностью динамики (порядком чередования нагрева и охлаждения). Также выявлено наличие эффектов последствия температуры, пролонгированного и отсроченного. Пролонгированный эффект проявляется при изменениях температуры, когда стимулирование численности популяции начинается при оптимальных значениях температуры и продолжается какое-то время после изменения этих значений на противоположные, а отсроченный – когда повышенная температура стимулирует плодовитость у потомства подвергнутых нагреву животных.

Глава 3. КРИТИЧЕСКИЙ ТЕПЛОВЫЙ МАКСИМУМ ПРЕСНОВОДНЫХ РАКООБРАЗНЫХ (CLADOCERA, ISOPODA И AMPHIPODA)

В главе приведены данные сравнительного исследования критического теплового максимума (КТМ) представителей ветвистоусых ракообразных, доминирующих в зоопланктоне Рыбинского водохранилища, а также аборигенного вида равноногих ракообразных – водяного ослика *Asellus aquaticus* (Linne, 1758) (Isopoda) и вида-вселенца в бассейн р. Волги – байкальского бокоплава *Gmelinoides fasciatus* (Stebbing, 1899) (Amphipoda), взятых как из природных популяций, так и из микрокосмов после различных условий температурной акклимации.

3.1. Литобзор. Рассматриваются различные вопросы акклимации, температурной адаптации и устойчивости к высоким температурам пойкилотермных животных (Edmondson, 1965; Ивлева, 1981; Сарвино, 1985 и др.). Анализируются работы последних лет, посвященные исследованию проблемы температурной нормы (Rako, Hoffmann, 2006; Terblanche *et al.*, 2007 и др.), последствий температурного стресса (Nedved *et al.*, 1998; Renault *et al.*, 2004; Zani *et al.*, 2005), термотолерантности, механизмов восприятия температуры и стратегии терморегуляции (Seebacher, Franklin, 2005), а также адаптаций к нарастающим климатическим изменениям (Berteaux *et al.*, 2004; Jansen, Hesslein, 2004; Helmuth *et al.*, 2005; Chown, Terblanche, 2007; Portner, Knust, 2007). Рассмотрены понятия температурной толерантности, кардинальных точек, стено- и эвритермности, олиго- и политермности, вопросы связи уровня метаболизма с температурой среды в

пределах температурной зоны активной жизнедеятельности эктотермов. Обсуждаются методы определения температурной толерантности эктотермов (Cowles, Bogert, 1944; Fry *et al.*, 1946; Александров, 1952; Ушаков, 1956а,б; Fry, 1967; Beitinger, Bennett, 2000; Hoffmann *et al.*, 2003; Chown, Terblanche, 2007). Анализируются вопросы связи термотолерантности и температуры среды обитания, а также работы, посвященные терморезистентности зоопланктонных организмов.

3.2. Критический тепловой максимум (КТМ) Cladocera. В разделе приведены результаты определения КТМ доминирующих ветвистоусых ракообразных из природных популяций литорали Рыбинского водохранилища, а также из экспериментальных популяций, содержащихся при различных температурных условиях. Выявлено, что в пределах температурного диапазона 4–27°C у 9 из 12 исследованных видов, взятых из природных условий, наблюдается достоверная линейная зависимость между значениями КТМ и температурой среды обитания ($r^2 = 0.57–0.93$ при $P < 0.01$) (Вербицкий, Вербицкая, 1999, 2000а,б, 2002а,б; Вербицкий и др., 2002, 2004; Вербицкий и др., 2009).

По эмпирическим данным выведены уравнения зависимости КТМ от температуры среды обитания видов, которые позволили выявить их видовые и сезонные особенности. Выделено четыре группы видов: с низкими, средними и высокими уровнями КТМ, а также группа видов, значения КТМ у которых значительно различаются по сезонам, и эти виды могут входить в разное время в любую из первых трех групп. По обобщенным за весь период исследований данным проведено ранжирование видов по терморезистентности (ТР) (Рис. 2).

Уровень ТР у видов растет в ряду: *Eurycercus lamellatus* → [*Polyphemus pediculus* – *Bosmina longirostris* – *Diaphanosoma brachyurum*] → [*Ceriodaphnia quadrangula* – *Chydorus sphaericus* – *Daphnia longispina*] → [*Leptodora kindtii* – *Alona rectangula*] → *Acroperus harpae* → *Simocephalus vetulus* → [*Scapholeberis mucronata* – *Moina macrocopa*].

Значительная вариабельность величины КТМ у изученных видов понятна, так как их естественная среда обитаний – прибрежная зона водоемов, где температура может колебаться в широком диапазоне значений как в течение суток, так и в сезонном аспекте. В то же время видно, что независимо от года и сезона максимальный уровень КТМ отмечается у обитателя зарослей *S. vetulus*, у *S. mucronata*, обитающего у поверхностной пленки и термофильного вида *M.*

macroscopa, появляющегося в планктоне Рыбинского водохранилища только в годы с жарким летом. Таким образом, полученные данные по особенностям терморезистентности разных видов *Cladocera*, в целом, хорошо согласуются с особенностями их экологии.

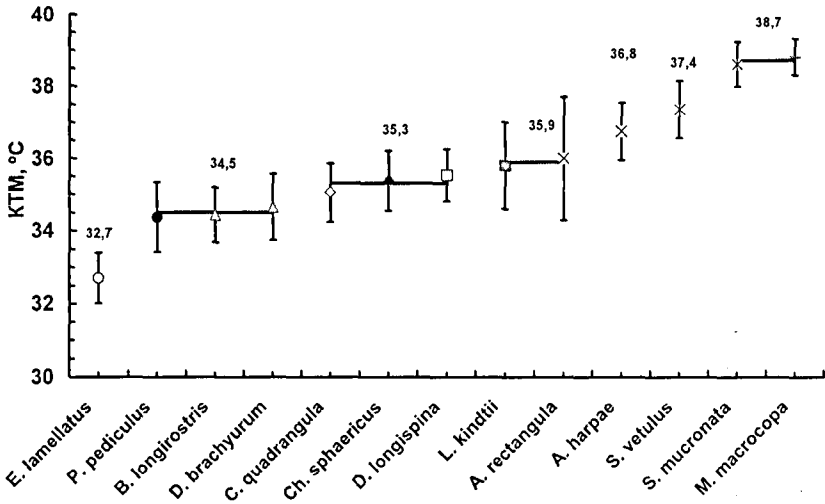


Рис. 2. Ранжированная по средним уровням КТМ последовательность видов *Cladocera* за период исследований с весны по осень 1999 и 2000 гг.

На разных участках температурной шкалы процесс роста ТР с повышением температуры происходит неравномерно. Его обычно количественно оценивают путем вычисления прироста ТР в ответ на повышение температуры среды на 1°C (Андроников, Дрегольская, 1974; Ushakov, 1972). Область температур, где прирост ТР под влиянием повышения температуры среды отсутствует (зона плато), свидетельствует о наличии гомеостаза уровня терморезистентности организма (Дрегольская, Коротнева, 1980).

Попарное сравнение по критерию Стьюдента значений КТМ для каждой исследованной температуры показало, что у всех видов в широком диапазоне температур имеется две статистически достоверные зоны плато. Одна зона располагается при низких, а вторая — при высоких температурах (рис. 3).

Таким образом, впервые для эктотермных организмов выявлены две зоны независимости функции от температуры, где наблюдается регуляция (стабилизация) уровня КТМ. Наличие этих зон указывает на высокую экологическую пластичность *Cladocera*, позволяющую им акклиматизироваться к широкому диапазону температур, обычному для прибрежных биотопов, где они обитают.

Интересно, что подобные две зоны плато, но не КТМ, а осмотической толерантности у паразита трески – скребня *Echinorhynchus gadi*, были обнаружены В.В. Хлебовичем и О. Ю. Михайловой (1976). Эти же авторы выявили, что при резкой смене солености у моллюсков *Hydrobia ulvae* вырабатываются 2 уровня реагирования: один для минимальной, другой для максимальной солености (Хлебович, Михайлова, 1975).

Полученные нами результаты хорошо согласуются с полевыми данными по наиболее благоприятным для жизнедеятельности исследованных видов температурным условиям и условиям достижения максимальных плотностей популяций в озерах и водохранилищах (Вербицкий и др., 1980; Пушина и др., 1982;

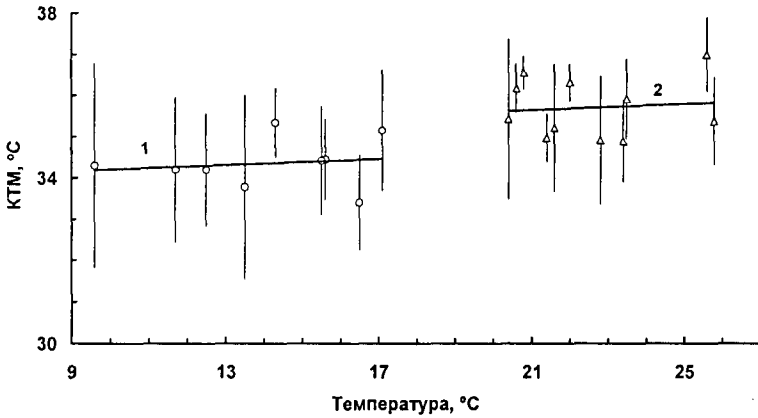


Рис. 3. Уровни стабилизации КТМ *D. longispina* из литорали. 1 – при низких температурах, 2 – при высоких температурах.

Вербицкий, 1985; Anderson, Gulyas, 1980; Hanazato, Yasuno, 1985; Benke, 1994; Hann, Zrum, 1997; Balayla, Moss, 2003; Geraldес, Boavida, 2004 и др.). Сопоставление температурной зоны высоких значений численности видов *Cladocera* с зонами регулирования КТМ демонстрирует их фактическое совпадение. При этом температуры, при которых наблюдаются максимальные численности,

располагаются в верхней части зоны регулирования КТМ, т.е. зоны регулирования КТМ на температурной шкале примерно совпадают с температурами нормальной жизнедеятельности видов, а максимальные значения зон регулирования соответствуют оптимальным температурам.

3.3. КТМ водяного ослика *Asellus aquaticus*. В пределах исследованного температурного диапазона 12.0–21.5°C у *A. aquaticus* из литорали Рыбинского водохранилища наблюдалась достоверная линейная зависимость между значениями КТМ и температурой среды обитания ($r^2 = 0.78$ при $P < 0.01$). При этом, у осликов так же, как и у *Cladocera*, на графике есть зона плато в диапазоне 16.0–21.5°C, где КТМ не зависит от изменений температуры воды ($r^2 = -0.08$). Эта зона совпадает со значениями летних температур, при которых раки развиваются в водоемах.

3.4. КТМ байкальского вселенца бокоплава *Gmelinoides fasciatus*. В настоящее время в гидробиологии особое внимание уделяется исследованию биологии чужеродных видов в водных экосистемах, изучению их роли в сообществах и прогнозированию дальнейшего распространения. Изучение реакций на изменение основных абиотических факторов водной среды, таких как температура и соленость, позволили определить границы толерантности байкальского вселенца бокоплава *G. fasciatus* и оценить возможности его дальнейшего распространения (Verbitsky, Berezina, 2001).

Для оценки потенциальных возможностей распространения *G. fasciatus* в устьевые участки рек центральной и северной Европы были экспериментально изучены верхние пределы температурной устойчивости бокоплавов в зависимости от солености (2–5‰) среды обитания. КТМ *G. fasciatus* возростала пропорционально росту температуры среды, независимо от ее солености. Однако уровень КТМ у бокоплавов из солоноватой воды был на 1.5–2.5°C ниже, чем у бокоплавов из пресной воды. Выявлено наличие диапазона температур (17–24°C), в котором КТМ стабилизируется на одном уровне.

У раков из солоноватой воды отмечено значительное снижение выживаемости с повышением температуры акклимации, а особи, акклимированные при низких температурах (12–14°C) воды, обладали наибольшей жизнестойкостью.

На основании полученных результатов сделан прогноз, что в естественных условиях при расселении *G. fasciatus*, в случае попадания их в солоноватые воды

(1–2‰) устьевых участков рек центральной и северной Европы, где средний уровень температур в теплый период года ниже 20°C, они смогут успешно там акклиматизироваться и сформировать устойчивые популяции. Их распространение в солоноватые воды южных регионов будет лимитироваться повышенными температурами (Вербицкий, Березина, 2001, 2002; Verbitsky, Berezina, 2001).

Глава 4. ИЗБИРАНИЕ ТЕМПЕРАТУР ПРЭСНОВОДНЫМИ РАКООБРАЗНЫМИ

4.1. Литобзор. Приводится обзор работ, посвященных сравнению двух методов определения термопреферендума (конечных избираемых температур – КИТ) (Yerkes, 1903; Brett, 1971; Reynolds, Casterlin, 1979; Jobling, 1981; Diaz *et al.*, 2002), а также температурному избиранию как индикатору оптимальности температуры окружающей среды (Nichelmann, 1983; Diaz *et al.*, 2002). Анализируется зависимость термопреферендума от возраста животного (Barans, Tubb, 1973; Reynolds, Casterlin, 1978; Лапкин и др., 1981, 1990), от циркадных ритмов (Layne *et al.*, 1987; Bückle *et al.*, 1994; Díaz *et al.*, 2000; Perez *et al.*, 2003) и сезона года (Lucas, Reynolds, 1967; Mortensen *et al.*, 2007), от температуры акклимации (Crossin *et al.*, 1998; Johnson, Kelsch, 1998; Chen, Chen, 1999; Lagerspetz, 2000; McGaw, 2003). Рассматриваются вопросы термочувствительности эктотермов (Kivivuori, 1994; Jury, Watson, 2000), их двигательной активности в условиях градиента температур (Kivivuori, 1983; Lagerspetz, Vainio, 2006) и адаптивной пластичности температурного поведения (McKenzie *et al.*, 1992; Lagerspetz, Vainio, 2006), а также возможные механизмы терморегуляционного поведения (Buchanan, Haney, 1980; Gerritsen, 1982; McKenzie *et al.*, 1992), соотношение терморезистентности и избираемой температуры (Hutchison, Murphy, 1985; Díaz, Bückle, 1999), избираемой температуры и температурного оптимума (Brett, 1971; Jobling, 1981; Espina *et al.*, 1993; Hernandez *et al.*, 1995; Bückle *et al.*, 1996; Díaz *et al.*, 1996, 2002; Willmer *et al.*, 2005).

4.2. "Острые" опыты по температурному избиранию ветвистоусых ракообразных из литорали Рыбинского водохранилища. У массовых видов Cladocera из литорали исследована сезонная динамика зависимости реакции температурного избирания от температуры воды в водоеме. Выявлены видовые особенности термоизбирания, связанные с особенностями экологии исследованных

видов. Показано, что основной характер связи между избираемыми температурами и температурой среды обитания у *Cladocera* – линейный, т.е. с ростом температуры среды растут и избираемые значения температуры.

Установлен избираемый *D. longispina* температурный диапазон (19.0–25.2°C) (рис. 4), который можно соотнести с зоной оптимальных температур на шкале толерантности В. Шелфорда. Диапазоны избегаемых температур (от 5.5 до 14.2°C и выше 25.2°C) соответствуют зонам пессимума, а значения (14.7–16.3°C), избираемые весной и осенью, в период низких температур воды в водоеме и лежащие ниже выделенной границы оптимальной зоны, можно отнести к зоне нормальной жизнедеятельности дафний. В целом, *D. longispina* демонстрируют выраженную термоизбирательную реакцию в широком диапазоне температур, что подтверждает характеристику этого вида как эвритермного.

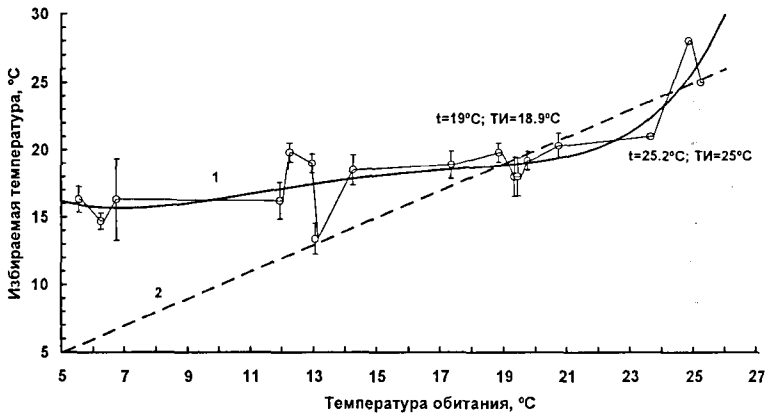


Рис. 4. График зависимости значений ТИ *D. longispina* от температуры среды обитания. 1 – избираемые температуры, 2 – диагональ, построенная по точкам пересечения одинаковых значений ТИ и температуры обитания.

Аналогично были определены диапазоны избираемых температур у *C. quadrangula*, *D. brachyurum*, *S. vetulus* и *P. pediculus*.

4.3. "Острые" опыты по температурному избиранию *Daphnia magna* Straus после длительной акклимации к разным температурам. Определено, что партеногенетические самки *D. magna* имеют две зоны избираемых температур –

одну при 13.3–15.4°C и другую – при 20.2–26.2°C. Эти данные подтверждают обнаруженный К. Лагерспец (Lagerspetz, 2000) и Т. Ламкемеер с соав. (Lamkemeer *et al.*, 2003) факт наличия второй зоны КИТ у *D. magna* при пониженных температурах воды, которая совпадает со вторым выявленным нами участком (13.3–15.4°C) на графике зависимости КИТ от температур акклимации, где значения достоверно не различаются.

Все исследованные температурные реакции молодых особей и взрослых самок *D. magna* практически идентичны. Основной характер связи между избираемыми дафниями температурами и температурой их среды обитания – линейный, т.е. с ростом температуры среды растут и избираемые значения температуры ($r^2 = 0.8$ при $P < 0.05$). При этом, на фоне общей тенденции роста величины избираемой температуры с ростом температуры среды, обнаружены значения, при которых такая связь отсутствует (зона плато). По обобщенным данным за весь период с января по май эта зона располагается в диапазоне ~19.0–23.0°C.

В диапазоне 11.8–27.3°C величина избираемой дафниями температуры не зависит от продолжительности их содержания (от 1 недели до 5 месяцев) при тех или иных температурах и от сезонности ($r^2 = -0.11-0.16$ при $P > 0.05$), но обнаружены сезонные различия в степени выраженности термпреферентной реакции. Весной у дафний наблюдается рост поисковой активности на 28-30% по сравнению с активностью в январе – феврале. В период повышенной активности животных в марте-апреле границы температурной зоны плато более широкие, причем у молоди зона плато одна ($\Delta=7^\circ\text{C}$, $t_{\text{плато}} = 21.2^\circ\text{C}$), а у взрослых самок – две зоны: одна при пониженных ($\Delta=3.6^\circ\text{C}$, $t_{\text{плато}} = 18.1^\circ\text{C}$) и вторая – при повышенных ($\Delta=5.1^\circ\text{C}$, $t_{\text{плато}} = 24.0^\circ\text{C}$) температурах.

Данные по наличию сезонной изменчивости ширины диапазона избираемых температур и по высокой степени их соответствия в большом диапазоне температурам акклимации хорошо согласуются с широким географическим распространением вида и его высокой эффективностью в аквакультуре.

4.4. "Хронические" эксперименты по температурному избиранию вествистоусых ракообразных. Партеногенетические самки *D. magna*, акклимированные к 20.0 и 23.4°C, также, как и в "острых" экспериментах, демонстрировали бимодальное распределение, с двумя избираемыми диапазонами – при пониженных и повышенных температурах.

Раки, акклимированные к 20°C, избирали температуры в диапазоне значений 16–19 и 20–26°C. Выбор КИТ шёл с небольшим "избыточным реагированием" (Лапкин и др., 1979; Озернюк, 2000) или "перерегулированием" (Хлебович, 1981) – на 1.5°C выше КИТ и переходный период составлял 1 сут. Средняя избираемая температура за 14 сут составила $21.9 \pm 1.7^\circ\text{C}$ (рис. 5).

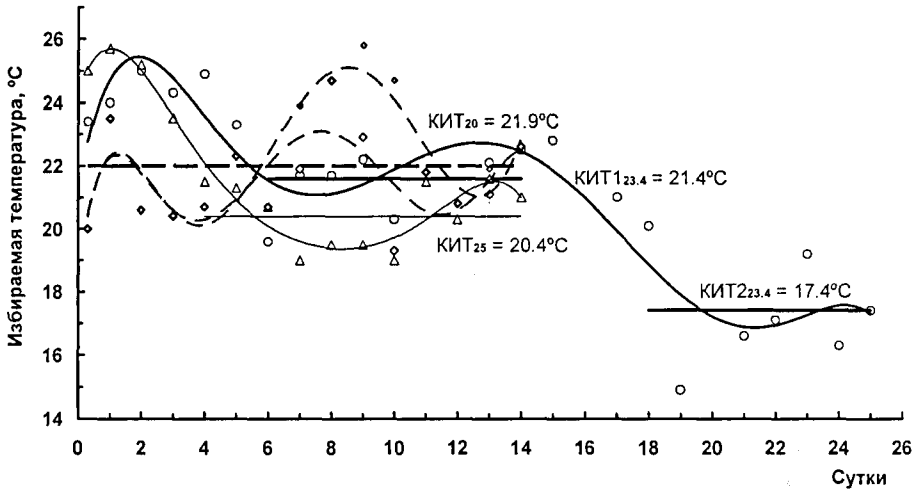


Рис. 5. Динамика температурного избирания *D. magna*, акклимированных к различным постоянным температурам.

У раков, акклимированных к 23.4°C, переходный период составлял 4 сут, и также было обнаружено две зоны КИТ – первая на 5–14 сут ($21.4 \pm 1.19^\circ\text{C}$) и вторая на 18–25 сут ($17.1 \pm 2.6^\circ\text{C}$). Средняя избираемая температура за весь период (с 5-х по 24 сут) составляла $19.9 \pm 2.6^\circ\text{C}$.

Динамика ТИ у дафний, длительно акклимированных к температуре воды 25.0°C, была в общих чертах сходна с таковой дафний, акклимированных к 23.5°C, и выбор КИТ шёл с перерегулированием. Дафнии с 4-х сут выходили на КИТ – плато в пределах 19.0–21.6°C. Средняя КИТ с 4-х по 14 сутки составила $20.4 \pm 1.0^\circ\text{C}$.

Выбор КИТ у *S. dubia*, предварительно акклимированных к 15.0°C, шел с начальным переходным периодом, но в отличие от *D. magna*, только начиная с 7-х сут раки вышли на уровень КИТ, равный $23.9 \pm 0.2^\circ\text{C}$ ($r^2 = 0.2$). У цериодафний, акклимированных к 20.0°C, переходный период до начала избирания КИТ

составил 3 сут. Начиная с 4-х суток цериодафнии избирали КИТ, равную $23.3 \pm 1.3^{\circ}\text{C}$ ($r^2 = 0.1$). Достоверные отличия в динамике избираемой температуры и уровнях КИТ между *C. dubia*, акклимированными к 15.0 и 20.0°C , отсутствовали ($P > 0.05$).

Таким образом, характер зависимости термоизбирания от температуры акклимации у разных видов различен и зависит как от особенностей биологии вида, так и от амплитуды колебаний температуры в природной среде обитания вида.

Двигательная активность *Daphnia magna* Straus в ходе температурного избирания. Выявлено, что партеногенетические самки дафний при длительном содержании в условиях градиента температур проявляют значительно меньшую (на 43.4%) двигательную активность, чем при постоянной температуре воды. В отсутствие температурного градиента у дафний обнаружена симметричность двигательной реакции, которая проявляется в колебательном циклическом характере последовательного преобладания числа смещений в сторону низких и высоких температур. В условиях термоградиента проявляется асимметричность двигательной реакции, которая выражается в преобладании числа смещений в сторону низких температур.

4.5. "Хронические" эксперименты по температурному избиранию высших раков. Водяные ослики *Asellus aquaticus* из литорали Рыбинского водохранилища при температуре воды 7.0°C выходили на конечную избираемую температуру через двое суток и с третьих по 12-е сутки избирали температуру в диапазоне 19.0 – 23.0°C (Вербицкий и др., 2005, 2006). При этом средние значения избираемой температуры циклически колебались в диапазоне 20.7 – 22.5°C с периодом в 130–150 час (около 6 суток). У осликов, отловленных в водоёме при температуре воды 16.0°C , средняя избираемая температура равнялась 23.6°C , а у раков из 18.4°C – 24.2°C . Таким образом, *A. aquaticus*, отловленные при температурах воды 7.0 , 16.0 и 18.4°C , избирали температуры в интервале 20.7 – 24.2°C , т.е. более высокие, чем те, при которых они жили в водоёме.

Бокоплавы *Gmelinoides fasciatus* из литорали Рыбинского водохранилища избирали температуру в диапазоне 18.8 – 23.2°C , а средняя КИТ составляла $21.1 \pm 1.5^{\circ}\text{C}$. Независимо от температурной предыстории, при длительном нахождении в условиях линейного температурного градиента *G. fasciatus*

демонстрировали колебания значений термопреферендума с периодом 5-6 суток и с амплитудой $\pm 3.0-8.0^{\circ}\text{C}$. В ходе исследования сезонной динамики избираемых температур выявлены гендерные различия в термоизбирательном поведении. У самок отмечена более быстрая, чем у самцов, реакция на изменение температуры среды обитания – они избирали КИТ уже через сутки после помещения в установку. У самцов выход на КИТ шел с перерегулированием – через сутки они избирали температуру, на 2.0°C превышающую КИТ и только через 2-е сут перемещались в более низкую температуру, при которой и оставались до конца тестирования (Вербицкий и др., 2006).

Установленные диапазоны избираемых низшими и высшими раками температур соответствуют оптимальным температурным условиям, при которых достигаются максимальные плотности популяций исследованных видов в озерах и водохранилищах (Вербицкий, 1985; Gulyas, 1980; Hanazato, Yasuno, 1985; Anderson, Benke, 1994; Hann, Zrum, 1997; Balayla, Moss, 2003; Geraldес, Boavida, 2004 и др.).

Глава 5. СТАТИКО-ДИНАМИЧЕСКИЙ ТЕМПЕРАТУРНЫЙ ОПТИМУМ ЭКТОТЕРМОВ

В главе обсуждается понятие экологического оптимума в применении к водным пойкилотермным животным, дается обзор работ, в той или иной степени расширяющих наши представления об температурном экологическом оптимуме, а также на основании собственных и литературных данных предлагается и обосновывается введение ряда новых понятий для определения температурного оптимума и оптимальных условий обитания.

5.1. Литобзор. Оптимум и шкала толерантности. В разделе приведен обзор литературных источников за 1910-2010 гг., показывающих, что большинством исследователей (Проссер, Браун, 1967; Риклефс, 1979; Бигон и др., 1989; Шилов, 1997; Angilletta *et al.*, 2002; Glossary of terms..., 2003 и др.) на протяжении практически всего XX в., экологический оптимум понимался в рамках определения, данного Виктором Шелфордом в начале XX в. (Shelford, 1913): "Успех размножения зависит от качественной и количественной полноты комплекса условий. Этот полный комплекс называют **экологическим оптимумом**... Успех того или иного вида, его численность, иногда его размер и т.д., в значительной степени

определяется степенью отклонения одного фактора (или факторов) из оптимального диапазона вида (с. 303)". Однако наряду с этим, накопилось большое число полевых и экспериментальных данных (особенно в последние годы), не вписывающихся в рамки классического определения оптимума (Akesson, Costlow, 1978; Jobling, 1993, 1995; Novinger, Coon, 2000; Giebelhausen, Lampert, 2001; Свирский, Валтонен, 2002; Edwards, 2002; Du Wei Guo *et al.*, 2007 и др.).

Влияние постоянных и колебательных температурных режимов на эктотермов. Анализ работ по влиянию постоянных и переменных температурных режимов на разные стороны биологии эктотермных животных – насекомых и гидробионтов (Shelford, 1927; Шмидт, 1981; Behrens *et al.*, 1983; Joshi, 1996; Dong *et al.*, 2006, 2008; Du *et al.*, 2009 и др.), позволил сделать вывод о наличии общей закономерности в отношении оптимальности факторов среды: оптимальным является не просто диапазон значений фактора на шкале толерантности или его величина, соответствующая потребностям организма и обеспечивающая наиболее благоприятные условия для его жизни, а колебания этого фактора в пределах оптимальных значений.

Концепция "астатиического" оптимума проф. А.С. Константинова. Приведен обзор работ проф. А.С. Константинов с сотрудниками по изучению влияния колебательных режимов температуры, концентрации кислорода, солености, освещенности, спектрального состава света и концентрации водородных ионов на водоросли, высшие водные растения, личинок амфибий, коловраток, пресноводных креветок, моллюсков и молодь рыб (Константинов, 1988; Константинов, Зданович, 1985, 1986; Константинов и др., 1987; Константинов, Мартынова, 1990; Константинов и др., 1995; 1998, 2000, 2003, и др.). На основании этого была сформулирована концепция "астатиического" оптимума: "Оптимум для рыб – не стационарное состояние среды, не экологическое однообразие, а его разнообразие в пределах экологической валентности вида" (Константинов, 1988, с. 6).

5.2. Концепция статико-динамического температурного оптимума эктотермов. Собственные исследования воздействия постоянных и переменных изменений температуры на организмы и популяции зоопланктона, а также анализ

большого числа литературных источников позволили придти к заключению, что для определения реального температурного оптимума организма или популяции, а тем более для создания оптимальных температурных условий недостаточно только определить диапазон оптимальных значений температуры и поддерживать их в статическом или даже в астатическом режиме. Необходимо также учитывать описанное выше возможное воздействие ступенчатых изменений температуры и наличие эффектов последствия (Вербицкий, 2008; Вербицкий, Вербицкая, 2007; Verbitsky, Verbitskaya, 2011).

В связи с этим при определении температурного оптимума мы предлагаем разделять понятия "статического" оптимума (статические характеристики оптимума) и "динамического" оптимума (динамические характеристики оптимума) (Рис. 6).

"Статический" оптимум включает диапазон оптимальных значений температуры на шкале толерантности и "дозу" температуры (фиксированная длительность нахождения при том или ином её значении), соответствующую потребностям организма и обеспечивающую наиболее благоприятные условия для его жизни.

"Динамический" оптимум включает набор конкретных значений температуры с описанием их динамических характеристик, обеспечивающих оптимальные условия жизни организма в природных условиях или необходимых для создания таких условий. Динамический режим может быть периодическим (циклическим), случайным или ступенчатым. К динамическим характеристикам можно отнести:

1. Оптимальные параметры периодических/циклических изменений (частота, амплитуда и продолжительность) температуры;
2. Оптимальные параметры случайных изменений температуры (сила воздействия, его продолжительность и направленность);
3. Определение местоположения значений воздействующих изменений в диапазоне оптимальных значений температуры (в его нижней, средней или верхней части);

Схема

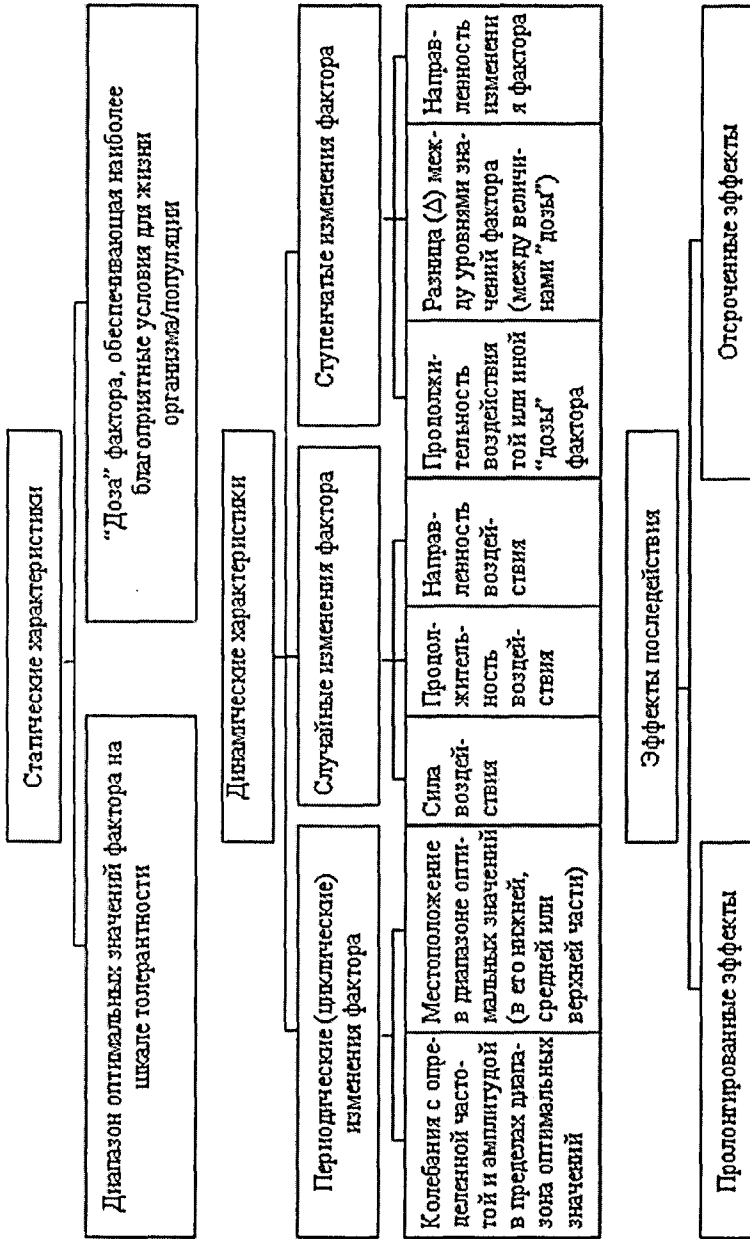


Рис. 6. Экологический оптимум организма/популяции по конкретному фактору

4. Наличие или отсутствие стимулирующего влияния разовых (ступенчатых) изменений температуры, включая продолжительность воздействия той или иной температурной "дозы", силу воздействия (интервал между значениями "дозы") и порядок чередования повышенных и пониженных значений температуры (направленность изменения фактора).

Кроме того, необходимо учитывать наличие и характер эффектов последствия (или инерционных эффектов), когда предварительное пребывание организма или популяции при оптимальной температуре положительно проявляется через некоторое время после начала или даже окончания воздействия на протяжении жизни этой же или последующих генераций. В этих случаях оптимальными будут не те значения температуры, при которых популяция достигает максимальной численности, а значения, предшествующие этому максимуму. Эффекты последствия в свою очередь можно разделить на пролонгированные и отсроченные.

Пролонгированные эффекты – когда пребывание организма или популяции при оптимальных значениях температуры положительно проявляется через некоторое время после начала воздействия и продолжается некоторое время после окончания воздействия фактора, что хорошо изучено на примере положительной роли суммы температур для развития насекомых и растений (Бей-Биенко, 1966; Davidson, 1944; Gilbert, 1984; Hakkinen, Hari, 1988; Diekmann, 1996; Kramer, 2000; Van Vliet *et al.*, 2002; Merklova, Bednarova, 2008 и др.). В наших исследованиях это проявилось при изучении воздействия разных температурных режимов на динамику численности популяций *Cladocera* (Вербицкий и др., 2001, 2009а, б). В основе подобных эффектов лежит механизм кумулятивного (накопительного), действия фактора.

Отсроченные эффекты – когда пребывание организма или популяции при определенной температуре положительно сказывается не во время её действия, а через некоторое время после его окончания. Пребывание при определенной температуре запускает механизм перехода на оптимальный уровень обмена веществ и энергии. Причем время пребывания организма или популяции при указанном значении может быть непродолжительным (минимальным) с последующим возвращением на предыдущий уровень (к предыдущим значениям температуры) или на другой уровень. В качестве примера можно привести стимулирующий эффект повышенных температур на плодовитость *C. dubia*.

5.3. Эффекты последствия некоторых абиотических факторов на ветвистоусых ракообразных. Для проверки возможности применения основных положений концепции статико-динамического оптимума к другим абиотическим факторам среды были проанализированы результаты экспериментов по влиянию повышенных доз минерального фосфора на популяции зоопланктонных организмов и низкоинтенсивного лазерного излучения на плодовитость *Daphnia pulex*.

5.3.1. Реакции экспериментальных популяций и сообществ зоопланктона на фосфорную нагрузку. В разделе приведены результаты экспериментального исследования реакций зоопланктонных сообществ микрокосмов на дозированное воздействие соли фосфорной кислоты KH_2PO_4 . Представлены количественные данные по динамике численности, характеру и выраженности структурных перестроек в зависимости от силы и времени примененных воздействий (Вербицкий, Вербицкая, 2007). Анализируется так же ряд противоречивых или не до конца выясненных вопросов относительно влияния эвтрофирования на зоопланктонные сообщества и прежде всего, изменение или стабильность видового состава зоопланктона по мере эвтрофирования водоема (Lancaster, Drenner, 1990; Моисеенко и др., 1996; Яковлев, 1996) и в частности, роль фосфора в этих процессах (McQueen *et al.*, 1986; Smith 1983).

Анализ видового состава показал, что с ростом фосфорной нагрузки число видов ракообразных увеличивается. Доминирующей группой во всех вариантах были ветвистоусые ракообразные. Коловратки встречались в единичных экземплярах. Воздействие высокой концентрации фосфора на протяжении 8 сут привело к увеличению числа видов-доминантов. По характеру реакции доминантные виды можно разделить на три группы. В первую вошли виды, на которые фосфор действовал угнетающе (*Diaphanosoma brachiurum* и *D. dubia*), во вторую – нейтральный вид, доминирующий во всех вариантах, независимо от наличия и величины фосфорной нагрузки (*Daphnia longispina*) и в третью – виды, развитие которых стимулировалось фосфором (*Bosmina longirostris*, *Chydorus sphaericus*, *Scapholeberis mucronata* и *Alona rectangula*).

Анализ динамики численности зоопланктона. В период внесения фосфора в обоих вариантах наблюдалось значительное снижение численности (в 2–5 раз) доминирующего вида *Daphnia longispina* по сравнению с контролем, где количество

дафний оставалось на прежнем уровне. После снятия фосфорной нагрузки численность дафний в варианте с большей нагрузкой превышала контроль на 20–130%. В варианте с меньшей нагрузкой численность дафний или равнялась контрольной, или немного ее превышала.

У *Diaphanosoma brachiurum* и *D. dubia* через 46 сут после начала эксперимента в контроле начался рост численности, который продолжался вплоть до окончания эксперимента. В вариантах с фосфорной нагрузкой численность раков весь период наблюдений так и оставалась на уровне единичных особей, что позволяет говорить о наличии отсроченного ингибирующего воздействия примененных доз фосфора.

Стимулирующее воздействие на популяции *B. longirostris* и *Ch. sphaericus* начало проявляться спустя 14 суток после прекращения внесения фосфора, т.е. наблюдался эффект отсроченного стимулирующего действия. При этом период высокой численности у босмин составлял 7 сут, у хидорусов – 28 сут, т.е. до окончания эксперимента.

Таким образом, внесение фосфора в воду, при прочих равных условиях, оказывает неоднозначное влияние на различные виды зоопланктонных организмов: у ряда видов наблюдаются эффекты отсроченного ингибирующего или стимулирующего воздействия, когда реакция на уровне популяции проявляется через определённое время после начала или даже окончания действия этого фактора.

5.3.2. Влияние лазерного излучения малой мощности на плодовитость *Daphnia pulex* Leydig, 1860. Изучено влияние низкоинтенсивного, мощностью 1 микроватт монохроматического красного лазерного излучения с длиной волны 630 нм, на биологию партеногенетических самок ветвистоусого рачка *Daphnia pulex*.

Облучение самок лазером приводило к увеличению количества рожденной ими молодежи на протяжении 4-х последовательных выметов (генераций) на 18.2–47.1% относительно контроля. На продолжительность созревания эмбрионов и продолжительность периода от вымета молодежи до выхода в выводковую камеру следующей порции яиц облучение не оказало воздействия. Поскольку абиотические и трофические условия как у контрольных, так и у облучённых рачков были идентичными, очевидно, что на увеличение плодовитости повлияло именно воздействие низкоинтенсивного лазерного излучения, которое, как известно, выступает в роли пускового фактора каскада молекулярных и морфологических

процессов, происходящие на клеточном и молекулярном уровнях. Оно влияет на окислительно-восстановительные процессы, на диссоциацию и изомеризацию молекул (Зубкова, 1978), активизирует ядерный аппарат, систему ДНК-РНК-белок и биосинтетические процессы в клетках, увеличивает поглощение кислорода клетками и стабилизирует клеточные мембраны (Самойлов, 2000), приводит к изменению энергетической активности клеточных мембран, к структурной альтерации жидких сред организма, к конформационным изменениям жидкокристаллических структур, к образованию продуктов фотолитиза, к изменению рН среды (Крюк и др., 1986; Johnson *et al.*, 1980; Itzkan, Tang, 1988), стимулирует синтез АТФ (АТР) в митохондриях (Чудновский и др., 1989), повышает эффективность работы дыхательной цепи митохондрий, повышает диссоциацию оксигемоглобина и активность ферментов дыхательной цепи (Зубкова, Крылов, 1976), нормализует кислородный баланс тканей (Федосеев, 1989), ускоряет восстановительные процессы в клетках (Безлепкина, Коробов, 2000).

Сделан вывод, что облучение лазером малой мощности оказывает достоверный отсроченный стимулирующий эффект на размер как минимум 4-х кладок дафний.

Таким образом, эксперименты с фосфорной нагрузкой и лазером малой мощности свидетельствуют, что выявленные в опытах с температурой эффекты воздействия ступенчатых изменений фактора и эффекты последствия фактора на экотермные организмы проявляются и в отношении других абиотических факторов среды, т.е. можно предположить, что основные положения сформулированной концепции статико-динамического температурного оптимума имеют более универсальный характер и приложимы также и к другим абиотическим факторам.

Глава 6. АПРОБАЦИЯ КОНЦЕПЦИИ СТАТИКО-ДИНАМИЧЕСКОГО ОПТИМУМА В АКВАКУЛЬТУРЕ

На примере введения в массовую культуру мелкого ветвистоусого ракообразного *Bosmina longirostris* (O.F. Müller, 1785) демонстрируется практическое применение предлагаемой концепции статико-динамического оптимума в разработке методологии отбора и введения в аквакультуру новых видов гидробионтов.

6.1. Теоретические основы и методология отбора и введения в аквакультуру новых видов гидробионтов. Приведён обзор состояния проблемы отбора и введения в аквакультуру пресноводных организмов для целей индустриального рыбоводства и для целей токсикологического регламентирования и биотестирования. Анализируются причины, ограничивающие спектр видов, предлагаемых к использованию в индустриальном рыбоводстве в качестве живых кормов (5 видов *Cladocera*, 2 вида коловраток, один вид нематод, 3 вида олигохет и 1 вид личинок комаров-звонцов – хирономид), и для целей токсикологического регламентирования и биотестирования (по 1 виду бактерии, одноклеточной пресноводной и морской водоросли, жаброногого рака и рыбы, 2 вида ветвистоусых раков).

Рассматриваются требования, предъявляемые к видам – потенциальным объектам культивирования и анализируются причины, препятствующие расширению их количества. На основании собственного опыта введения в промышленную культуру нового кормового объекта – *Bosmina longirostris* (Вербицкий, 1985; Вербицкий, Вербицкая, 1993), а также работы с другими видами пресноводного зоопланктона (Вербицкий, Вербицкая, 2000, 2002) и гаммаридами (Вербицкий, Березина, 2003, 2009; Verbitsky, Berezina, 2001) излагаются экологические основы и предлагается следующая последовательность решения задач для введения в аквакультуру новых организмов (Вербицкий, 2007, 2008):

1. Выбор видов кормовых объектов, доступных по размеру для конкретного вида рыб на разных стадиях онтогенеза или видов – тест-объектов;
2. Определение границ толерантности отобранных видов по отношению к ведущим абиотическим факторам среды (температуре, содержанию кислорода в воде, pH среды) по данным полевых исследований и в экспериментах;
3. Определение значений основных абиотических факторов среды, обеспечивающих оптимальные условия роста, развития и размножения вида в водоёмах и экспериментальное определение избираемых значений факторов в условиях их линейного градиента;
4. Установление оптимального вида корма и его концентрации, пригодных для использования при массовом культивировании, а также экспериментальное определение полноценности и достаточности выбранного корма по результатам

лабораторного культивирования в фильтрованной природной воде (выживаемость, скорость роста и развития, плодовитость);

5. Составление экологического “паспорта” и биотехнологической “карты” вида – руководства по лабораторному культивированию, включающему минимальный необходимый набор требований к условиям среды, режимам кормления и поддержания плотности популяций;

6. Разработка биотехнологии промышленного культивирования нового объекта.

6.2. Экологический паспорт вида *Bosmina longirostris* по основным абиотическим и трофическому факторам.

6.2.1. Экологический паспорт вида по основным абиотическим факторам.

В разделе приведены результаты исследований по определению критических и оптимальных значений ведущих абиотических факторов среды для *B. longirostris*. Сделан вывод, что оптимальной для массового развития босмин является температура от 16.0 до 22.0°C, pH воды от 6.6 до 7.6 и концентрация растворенного в воде кислорода от 2.7 до 5.8 мг/л (29–61% насыщения).

6.2.2. Спектр питания и пищевая избирательность вида. В результате изучения на электронном сканирующем микроскопе фильтрационного аппарата *B. longirostris* и анализа содержимого кишечника босмин (Пущина, Вербицкий, 1983) установлен оптимальный размерный ряд пищевых частиц для босмин – от 0.25 до 10 мкм.

В экспериментах по трофическому избиранию выявлено, что полноценным и перспективным кормом для мелких гидробионтов-детритофагов может служить продукт промышленной переработки биомассы хлореллы – мелкодисперсный сухой хлорельный шрот, являющийся отходом производства эфирных масел и белкового гидролиза (Сарвино, Вербицкий, 1983).

6.2.3. Биохимический состав тела и аминокислотный состав белка.

Определен биохимический состав тела *B. Longirostris* и установлено, что калорийность тела босмин равна или выше средней калорийности Cladocera в целом и составляет 5.0–5.8 ккал/г органического вещества или 4.2–5.4 ккал/г сухого вещества (Вербицкий, 1990a). Анализ аминокислотного состава белка показал, что у босмин наблюдается относительно равномерное соотношение определенных 16

аминокислот, из них 23.3% составляют незаменимые (Вербицкий, 1990б). На основании проведенного анализа общего биохимического и аминокислотного состава тела босмин сделан вывод, что босмины являются высококалорийным, полноценным кормовым объектом для личинок рыб.

6.2.4 Пищевая полноценность босмин в качестве корма для молодн карпа.

Раздел посвящен анализу собственных и литературных данных по питанию рыб, которые свидетельствуют о том, что в условиях водоемов *B. longirostris* охотно поедаются разновозрастной и разноразмерной молодью рыб всех трофических уровней, от мельчайших личинок до взрослых особей. При этом в периоды массового развития босмин они являются доминирующим кормом (Вербицкий, 1984; Вербицкий, Вербицкая, 1989).

В ходе подращивания личинок карпа, приближенного к производственным условиям, исследованы темпы роста, выживаемость и интенсивность газообмена личинок при кормлении босминами (Вербицкий, 1982). Выживаемость личинок по всем вариантам составляла 97–98%, а средняя скорость весового роста – 0.4 сут.⁻¹ Величина среднесуточного рациона личинок карпа и величины коэффициентов использования энергии потребленной (K_1) и ассимилированной (K_2) пищи на рост свидетельствуют о высокой эффективности питания личинок босминами ($K_1 = 37.5–43.8\%$, $K_2 = 50.0–50.6\%$), что близко к величинам, полученным при кормлении науплиусами артемии. Кормовой коэффициент босмин равен 2.1.

6.3. Введение в аквакультуру нового кормового объекта для личинок рыб – ветвистоусого рака *Bosmina longirostris* O. F. Müller.

6.3.1. *B. longirostris* O.F. Müller - новый объект массового культивирования для рыбоводных целей. В связи с высокой пищевой ценностью *B. longirostris*, ее хорошей доступностью для самых мелких личинок рыб, а также в связи с потенциальными возможностями этого вида в очень сжатые сроки наращивать высокие плотности популяции в естественных условиях обитания, была поставлена задача разработать биологические основы метода массового культивирования *B. longirostris* для рыбоводных целей.

6.3.2. Биологическое обоснование параметров режима массового культивирования босмин. Основываясь на данных полевых наблюдений по

условиям массового развития естественных популяций босмин и на результатах экспериментального определения избираемых зон в градиентах абиотических и трофического факторов, был установлен следующий режим культивирования: температура воды – $19.5 \pm 2.0^\circ\text{C}$; величина pH – 6.8–7.8; концентрация растворенного в воде кислорода – не ниже 2.4–2.7 мгО/л; корм – хлорельный шрот и карповый сеголеточный комбикорм, а также мелкая золотистая водоросль *Monochrysis ovalis*.

6.3.3. Производственные опыты массового культивирования босмин. В производственных условиях показана возможность получения из зоопланктона, отловленного в водоеме, маточной культуры *B. longirostris* при культивировании в смешанной культуре, а также получения из маточной культуры чистых массовых культур босмин. Разработан способ массового культивирования босмин в проточных культиваторах, защищённый свидетельством на изобретение. По результатам производственного культивирования определено, что максимальное развитие имели популяции босмин в вариантах с чистой культурой при кормлении хлорельным шротом с добавлением водоросли *M. ovalis*. Для массовых культур босмин определены следующие основные биолого-продукционные характеристики: средняя индивидуальная плодовитость партеногенетических самок – 2.1–3.7 яиц/экз; максимальная плодовитость – 16 яиц/экз; скорость роста плотности популяции – 0.12–0.31 сут.⁻¹; удельная продукция – 0.15–0.42 сут.⁻¹

Рассмотрены преимущества введения в ассортимент существующих стартовых кормов нового дополнительного живого корма и обсуждается эффективность подращивания личинок рыб на босминах в сравнении с другими видами живых кормов.

Приведены фактические результаты промышленного внедрения биотехнологии получения промышленной культуры ветвистоусого рачка *B. longirostris* и подращивания на ней личинок карпа, а также белого и пестрого толстолобика. В результате внедрения биотехнологии в 1985–1986 гг. на полученном стартовом живом корме было подрощено до жизнестойких стадий 12.05 млн. шт. личинок карпа, 3.1 млн. шт. личинок белого толстолобика и 8.5 млн. шт. личинок пестрого толстолобика.

ВЫВОДЫ

1. На достижение высокой плодовитости и численности популяций разных видов *Cladocera* оказывают влияние разовые ступенчатые изменения температуры в пределах толерантного диапазона, а также эффекты последействия фактора, когда оптимальными оказываются не те значения температуры, при которых регистрируется максимальная плодовитость или численность популяции, а значения, предшествующие этим максимумам.

2. Сформулирована концепция статико-динамического температурного оптимума экотермов, согласно которой при определении оптимума организма или популяции необходимо учитывать статические и динамические характеристики фактора. К статическим характеристикам относится диапазон оптимальных значений температуры на шкале толерантности и "доза" температуры (фиксированная длительность нахождения при том или ином её значении). К динамическим характеристикам относятся оптимальные параметры циклических изменений температуры (частота, амплитуда, продолжительность) и наличие или отсутствие стимулирующего влияния разовых ступенчатых изменений температуры, включая продолжительность воздействия той или иной температурной "дозы", силу воздействия (интервал между значениями "дозы") и порядок чередования повышенных и пониженных значений температуры (направленность изменения фактора). Кроме того, возможны эффекты последействия, когда предварительное пребывание организма или популяции при оптимальной температуре положительно проявляется через некоторое время после начала (продолженный эффект) или окончания её воздействия (отсроченный эффект).

3. Влияние ступенчатых изменений и эффекты последействия (стимулирующие и ингибирующие) присущи не только температуре, но и другим абиотическим факторам среды: высоким концентрациям фосфора в воде и слабому лазерному излучению. Следовательно, основные положения концепции статико-динамического температурного оптимума могут быть применены и к другим факторам, т.е. имеют более универсальный характер.

4. У всех исследованных видов *Cladocera* в диапазоне температур, естественных для вегетационного сезона региона Верхней Волги, прослеживается достоверная линейная зависимость между значениями критического теплового максимума (КТМ) и температурой среды обитания. В диапазонах пониженных и

повышенных температур имеется две зоны регулирования КТМ – зоны независимости терморезистентности от температуры (плато). Совпадение на температурной шкале зон плато с температурными условиями достижения высокой численности видов в водоемах позволяет охарактеризовать их как температуры нормальной жизнедеятельности, а участки максимальных значений КТМ внутри зон регулирования, совпадающие с температурами, которым соответствует максимальная численность видов в водоемах – как оптимальные температуры.

5. Выбор конечных избираемых температур у Cladocera, предварительно акклимированных к постоянным температурам, проходит с "избыточным реагированием". Переходный период составляет, в зависимости от температуры акклимации, от 3 до 6 сут. Основной характер связи между избираемыми температурами и температурой среды обитания у Cladocera – линейный, но в диапазонах конечных избираемых температур такая связь отсутствует (зоны плато). Для водяного ослика *Asellus aquaticus* и бокоплава *Gmelinoides fasciatus*, при длительном нахождении в градиенте температур, характерны колебания значений термопреферендума с периодом около 6 суток и амплитудой $\pm 1.8^{\circ}\text{C}$ и $\pm 3.0\text{--}8.0^{\circ}\text{C}$ соответственно. Независимо от температурной предыстории, *A. aquaticus* избирает температуры в интервале $20.7\text{--}24.2^{\circ}\text{C}$, а *G. fasciatus* – $18.8\text{--}23.2^{\circ}\text{C}$.

6. Вид-вселенец в водоёмы Волжского каскада и бассейн Балтийского моря, байкальский бокоплав *G. fasciatus*, способен расселяться в солоноватых водах (1–2‰) устьевых участков рек центральной и северной части Европы, где средний уровень температур в теплый период года ниже 20°C . В связи с наблюдающимся в последнее время потеплением климата можно прогнозировать дальнейшее его распространение в северном направлении. Распространение бокоплава в солоноватые воды в южных регионах будет лимитироваться повышенными температурами.

7. На основе концепции статико-динамического оптимума эктотермов предложена система критериев и методология отбора и введения в аквакультуру новых видов. Практическое применение методологии позволило ввести в аквакультуру и разработать биотехнологию промышленного культивирования мелкого ветвистоусого рака *Bosmina longirostris* O.F. Müller – стартового корма для личинок рыб.

Список основных публикаций по теме диссертации:

I. Статьи в ведущих рецензируемых научных журналах из перечня, рекомендованного ВАК РФ:

1. Verbitsky V.B., Tereshchenko V.G. Using dynamics of diversity of fish and zooplankton communities to assess freshwater ecosystem conditions // *Hydrobiologia*. 1996. V. 322. P. 277-282.
2. Терещенко В.Г., Вербицкий В.Б. Метод фазовых портретов для анализа динамики биологического разнообразия сообществ гидробионтов // *Биология внутренних вод*. 1997. № 1. С. 23-31.
3. Вербицкий В.Б., Вербицкая Т.И. Теплоустойчивость *Daphnia longispina* (O.F. Müller, 1785) (*Crustacea: Cladocera*) и ее зависимость от температуры среды обитания // *Биология внутренних вод*. 2000. № 3. С. 62-67.
4. Вербицкий В.Б., Коренева Е.А., Курбатова С.А., Вербицкая Т.И. Реакция зоопланктона на температурные воздействия: динамика численности и реакции доминирующих видов // *Биология внутренних вод*. 2001. № 2. С. 85-92
5. Вербицкий В.Б., Вербицкая Т.И. Теплоустойчивость *Bosmina longirostris* O.F. Müller (*Crustacea: Cladocera*) и ее зависимость от температуры среды обитания // *Биология внутренних вод*. 2002. № 2. С. 55-59.
6. Вербицкий В.Б., Вербицкая Т.И., Голованова Е.В. Критический тепловой максимум *Daphnia longispina* (O.F. Müller, 1785) (*Crustacea: Cladocera*) в природе и эксперименте // *Биология внутренних вод*. 2002. № 4. С. 45-50.
7. Вербицкий В.Б., Вербицкая Т.И. Экологический оптимум и эффект отсроченного действия факторов // *ДАН. Серия биологическая*. 2007. Т. 416. № 6. С. 830-832.
8. Вербицкий В.Б. Понятие экологического оптимума и его определение у пресноводных пойкилотермных животных // *Журнал общей биологии*. 2008. Т. 69. №1. С. 44-56.
9. Вербицкий В.Б. Экологические основы и методология отбора и введения в аквакультуру новых организмов // *Биология внутренних вод*. 2008. № 2. С. 12-18.
10. Вербицкий В.Б., Вербицкая Т.И., Малышева О.А. Влияние различных температурных режимов на динамику численности и теплоустойчивость ветвистоусых ракообразных *Ceriodaphnia quadrangula* (O.F.Müller, 1785) // *Биология внутренних вод*. 2009. № 1 С. 70-75.
11. Вербицкий В.Б., Вербицкая Т.И., Малышева О.А. Динамика численности популяций *Daphnia longispina* (O.F. Müller 1785) и *Diaphanosoma brachyurum* (Lievin, 1848) (*Crustacea, Cladocera*) при стабильных и аритмических

- ступенчатых температурных режимах // Известия АН. Серия Биологическая. 2009. № 1. С. 79-87.
12. Вербицкий В.Б., Вербицкая Т.И. Динамика численности экспериментальных популяций *Daphnia longispina* (O.F. Müller, 1785) при ступенчатых изменениях температуры // ДАН. Серия биологическая. 2009. Т. 424. № 2. С. 1-3.
 13. Вербицкий В.Б., Березина Н.А. Тепловая и соленостная устойчивость эврибионтного бокоплава *Gmelinoides fasciatus* (Stebbing) при разных условиях акклимации // Журнал общей биологии. 2009. Т. 70. № 3. С. 269-276.
 14. Вербицкий В. Б., Вербицкая Т. И. Воздействие аритмических ступенчатых температурных режимов на динамику численности экспериментальных популяций *Simocephalus vetulus* (O.F. Müller, 1776) // ДАН. 2009. Т. 429. № 6. С. 838-841.
 15. Вербицкий В. Б., Вербицкая Т. И. Динамика численности популяций *Simocephalus vetulus* (O.F. Müller, 1776) (Crustacea, Cladocera) при воздействии неперидических ступенчатых изменений температуры // Биология внутренних вод. 2011 г. № 1. С. 53-61.
 16. Вербицкий В.Б., Вербицкая Т.И. Конечный температурный преферендум партеногенетических самок *Daphnia magna* Straus (Crustacea, Cladocera), акклимированных к разным температурам // Известия РАН. Серия биологическая. 2011. № 5. С. 576-583.
 17. Вербицкий В. Б., Вербицкая Т. И. Температурное избирание и избегание у ветвистоусых раков *Daphnia magna* Straus (Crustacea, Cladocera), акклимированных к постоянной температуре // Известия РАН. Серия биологическая. 2012. № 1. С. 109-114.
 18. Verbitsky V. B., Verbitskaya T. I. Effects of constant and stepwise changes in temperature on the species abundance dynamics of four Cladocera species // Knowledge and management of aquatic ecosystems. 2011. V. 402. № 2. P. 3/1-19. (DOI: <http://dx.doi.org/10.1051/kmae/2011019>).

II. Свидетельство об изобретении:

19. Вербицкий В.Б. Способ культивирования босмин (*Bosmina longirostris* O.F. Müller) // А/с № 1175412 от 1.05.1985 г.

III. Учебные пособия:

20. Вербицкий В.Б. Основы биоэкологии. Учебное пособие. Изд-во: Дом печати. Рыбинск. 2005 г. 230 стр.

IV. Статьи в рецензированных изданиях и журналах:

21. Пушина Л.И., Вербицкий В.Б., Мягкова Г.Н., Яценко Т.А. Гидробиологическая характеристика некоторых нагульных прудов Горьковской области // В сб.: "Наземные и водные экосистемы". Горький, 1981. С. 12-18.
22. Пушина Л.И., Вербицкий В.Б., Мягкова Г.Н., Яценко Т.А. Некоторые изменения экосистемы прудов в процессе эвтрофикации // В сб.: "Наземные и водные экосистемы", Горький, 1982. С. 80-84.
23. Пушина Л.И., Вербицкий В.Б. О взаимосвязи растительного и животного планктона выростных прудов // В сб.: "Наземные и водные экосистемы", Горький, 1983. С. 109-117.
24. Сарвино В.С., Вербицкий В.Б. Пищевая избирательность планктонных фильтраторов в проточном градиенте кормов. I. О возможности использования проточной градиентной установки для изучения пищевой избирательности // Биол. внутр. вод. Информ. бюлл. 1988. № 77. С. 21-24.
25. Сарвино В.С., Вербицкий В.Б. Пищевая избирательность планктонных фильтраторов в проточном градиенте кормов. II. Пищевая избирательность *Bosmina longirostris* O.F. Müller // Биол. внутр. вод. Информ. бюлл. 1988. № 80. С. 50-53.
26. Вербицкий В.Б., Вербицкая Т.И. Эффективность использования *Bosmina longirostris* O.F. Müller в качестве стартового живого корма для личинок рыб // Биол. внутр. вод. Информ. бюлл. 1989. № 86. С. 41-44.
27. Вербицкий В.Б. Кормовая ценность ветвистоусого рачка *Bosmina longirostris* для личинок рыб. I. Общий химический состав и калорийность тела // Биол. внутр. вод. Информ. бюлл. 1990. № 87. С. 38-40.
28. Вербицкий В.Б. Кормовая ценность ветвистоусого рачка *Bosmina longirostris* для личинок рыб. II. Аминокислотный состав белка // Биол. внутр. вод. Информ. бюлл. 1990. № 88. С. 69-73.
29. Вербицкий В.Б., Клерман А.К., Клайн Н.П. Эксперимент в проточных мезокосмах. Методика и схема опытов // Биол. внутр. вод. Информ. бюлл. 1990. № 91. С. 3-9.
30. Вербицкий В.Б., Клерман А.К., Коренева Е.А. Воздействие тяжелых металлов и закисления воды на сообщества зоопланктона в проточных мезокосмах // Биол. внутр. вод. Информ. бюлл. 1990. № 91. С. 21-28.

V. Статьи в других изданиях:

31. Коренева Е.А., Курбатова С.А. Вербицкий В.Б. Воздействие фосфорорганического пестицида и тяжелых металлов на зоопланктонные сообщества экспериментальных микрокосмов // В сб.: "Вестник Днепропетровского университета. Биология и экология". Вып. 1. Днепропетровск, 1993. С.195-196.

VI. Публикации в материалах общероссийских научных конференций и международных симпозиумов:

32. Пушина Л.И., Мягкова Г.Н., Вербицкий В.Б. Влияние зеленого удобрения на развитие естественной кормовой базы выростных прудов // В сб.: "Основные направления развития товарного рыбоводства Сибири". Тюмень, 1980. С. 72-73.
33. Вербицкий В.Б., Мягкова Г.Н., Пушина Л.И. Гидробиологический режим выростных прудов в первый год залития // В сб.: "Проблемы охраны вод и рыбных ресурсов Поволжья". Казань, 1980. С. 96-99.
34. Вербицкий В.Б., Пиваковская И.В., Мягкова Г.Н. О взаимосвязи питания сеголетков карпа с развитием естественной кормовой базы прудов // В сб.: "Проблемы охраны вод и рыбных ресурсов Поволжья". Казань, 1980. С. 101-103.
35. Вербицкий В.Б., Клерман А.К., Коренева Е.А. Влияние тяжелых металлов и закисления воды на сообщества пресноводного зоопланктона // В сб.: "Вторая Всесоюзная конференция по рыбохозяйственной токсикологии". Т.1. Санкт-Петербург, 1991. С. 83-85.
36. Терещенко В.Г., В.Б.Вербицкий. Использование метода фазовых портретов для анализа динамики структуры сообществ гидробионтов и оценки состояния водных экосистем. // В сб. "Проблемы рационального использования биоресурсов водохранилищ". Материалы международной научной конференции 6-8 сентября г., Киев. 1995. С. 84-85.
37. Вербицкий В.Б., Терещенко В.Г., Коренева Е.А., Курбатова С.А. Использование метода ступенчатых нарушающих воздействий для оценки возможных перестроек в структуре зоопланктона при термальном загрязнении водоемов. // В сб. "Проблемы рационального использования биоресурсов водохранилищ". Материалы международной научной конференции 6-8 сентября 1995 г., Киев. 1995. С. 94-95.
38. Вербицкий В.Б., Вербицкая Т.И., Коренева Е.А., Курбатова С.А. Экспериментальное исследование структурных перестроек зоопланктонных

- сообществ микрокосмов при ступенчатых нарушающих воздействиях температуры // В сб.: "VII съезд гидробиологического общества РАН" (14-20 октября 1996 г.). Материалы съезда. Т. 1, Казань, 1996. С. 185-186.
39. Tereschehenko V.G., Verbitsky V.B. Structural organization of communities of aquatic organisms at a stable state // Sustainable development: System analysis in ecology. 2-nd Practical Conference (Sevastopol, Ukraine, September 9-12, 1996). Sevastopol, 1996. P. 42-43.
40. Verbitsky V.B., Verbitskaya T.I., Koreneva E.A., Kurbatova S.A. Mechanisms of homeostasis and regulation of the dynamics of ecological systems studies using zooplankton communities of microcosms // Sustainable development: System analysis in ecology. 2-nd Practical Conference (Sevastopol, Ukraine, September 9-12, 1996). Sevastopol, 1996. P. 92-93.
41. Вербицкий В.Б., Березина Н.А. Теплоустойчивость и солеустойчивость бокоплава *Gmelinoides fasciatus* (Stebb.) при разных условиях акклимации // В сб.: "Актуальные проблемы водохранилищ", Борок, 2002. С. 47-48.
42. Вербицкий В.Б., Т.И. Вербицкая. Критический тепловой максимум *Ceriodaphnia quadrangula* (O.F. Müller, 1785) и его зависимость от температуры среды обитания // В сб.: "Актуальные проблемы водохранилищ", Борок, 2002. С. 48-50.
43. Вербицкий В.Б., Березина Н.А. Устойчивость бокоплава *Gmelinoides fasciatus* (Stebb.) к повышению температуры и солености воды при разных условиях акклимации // В сб.: "Инвазии чужеродных видов в Голарктике", Материалы российско-американского симпозиума по инвазийным видам, Борок, Ярославской области, Россия, 27-31 августа 2001 г. Борок, 2003. С. 150-156.
44. Вербицкий В.Б., Вербицкая Т.И., Волкова А. А. Температурное избирание водяного ослика *Asellus aquaticus* (Linne, 1758) // В сб.: *Zoocenosis-2005*. Материалы докладов III Международной научной конференции "Биоразнообразии и роль зооценоза в естественных и антропогенных экосистемах". 4-6 октября 2005 г., Днепропетровск. Изд-во ДНУ. Днепропетровск, 2005. С. 26-27.
45. Вербицкий В.Б., Вербицкая Т.И. Экологические основы отбора и введения в аквакультуру новых видов организмов // В сб.: X Международная конференция "Проблемы изучения, рационального использования и охраны природных ресурсов Белого моря". 18-20 сентября 2007 г. Архангельск, 2007. С. 266-269.
46. В.Б. Вербицкий. Концепция статико-динамического экологического оптимума эктотермов // В сб.: IV Международная научная конференция "Биоразнообразии"

- и роль животных в экосистемах". 9–12 октября 2007 г. Днепропетровск, 2007. С. 57-59.
47. Вербицкий В.Б. Экологический оптимум экотермов. Развитие статико-динамического подхода // В сб.: "Zoocenosis-2009". V Международная научная конференция "Биоразнообразие и роль животных в экосистемах". Днепропетровск, 12-16 октября 2009 г. Днепропетровск, изд-во: Лира, 2009. С. 7-9.
48. Вербицкий В.Б., Т.И. Вербицкая, О.А. Малышева. Плодовитость *Ceriodaphnia dubia* при различных температурных режимах – "отсроченная реакция" или "материнский эффект"? // В сб.: "Zoocenosis-2009". V Международная научная конференция "Биоразнообразие и роль животных в экосистемах". Днепропетровск, 12-16 октября 2009 г. Днепропетровск, изд-во: Лира, 2009. С. 42-44.
49. Вербицкий В.Б. Двигательная активность *Daphnia magna* Straus, длительно находящихся в термоградиентной установке // В сб.: Поведение рыб. Материалы IV Всероссийской конференции с международным участием. 9-11 ноября 2010. Борок. Москва. Изд. "Акварос", 2010. С. 14-19.
50. Вербицкий В.Б., Вербицкая Т.И. Термопреферендум *Daphnia magna* Straus, акклиматизированных к постоянной температуре // В сб.: Поведение рыб. Материалы IV Всероссийской конференции с международным участием. 9-11 ноября 2010. Борок. Москва. Изд. "Акварос", 2010. С. 20-25.
51. Вербицкий В.Б. Типы температурных экологических стратегий пресноводных Cladocera // "Zoocenosis-2011". VI Международная научная конференция "Биоразнообразие и роль животных в экосистемах". Днепропетровск, 12-16 октября 2011 г. Днепропетровск, изд-во: Лира, 2011. с. 56-58.

Подписано в печать 12 марта 2012 г.
Формат 60x80 1/16 Объем 1,0 усл. печ. л.
Тираж 120 экз. Заказ № 02556

Отпечатано в издательстве
Рыбинского полиграфического колледжа
152900, Ярославская обл., г. Рыбинск, ул. Расплетина, д.47
Тел./факс (4855) 264-915, E-mail: RPCollege@mail.ru