

9. Sieburth J. Mc N., Smetacek V., Lenz J. Pelagic ecosystem structure: heterotrophic compartments of the plankton and their relationships to plankton size fractions // *Limn. Oceanogr.* - 1978. - 23, n.6. - P.1256-1263.
10. Worrest R.C., Wolniakowski K.U., Scott J.O. et al. Sensitivity of marine phytoplankton to UV radiation: impact upon A model ecosystem // *Photochem. Photobiol.* - 1981. - 33, n.2. - P.223-227.

Институт биологии южных морей НАНУ,
г. Севастополь

Получено 20.04.99

O. A. STEPANOVA, V. G. SHAI DA

THE IMPACT OF ULTRAVIOLET IRRADIATION ON BIOENERGETICS OF MARINE MICROPLANKTON

Influence of artificial ultraviolet (UV) radiation of invariable power and the wavelength 254-320 nm on bioenergetics levels of marine microplankton was studied. The UV irradiation exert an inhibiting influence reducing the abundance, metabolic rates and viability of microplankton communities up to total mortality. Bacterioplankton is the most susceptible fraction to the impact of UV radiation, while cyanobacteria act a protective role for other size fractions of microplankton. Marine microplankton kept viability under a short term (5 min) UV irradiation; however, the viability depends on the depth of seawater layer subject to the UV impact, which must not be less than 10 cm.

УДК 579:532.26/27:595.34:581.16(26)

А. Н. ХАНАЙЧЕНКО

ВЛИЯНИЕ МИКРОВОДОРОСЛЕВОЙ ДИЕТЫ НА ХАРАКТЕРИСТИКИ ВОСПРОИЗВОДСТВА КОПЕПОД

В лабораторных условиях на культурах двух видов - *Acartia clausi* и *A. tonsa* изучены основные характеристики воспроизводства их популяций (продукция яиц, EP; процент выклева, H%; минимальное время генерации, $\min T_{gen}$; выживаемость при прохождении линьки, M%, выживаемость в течение минимального времени генерации, $S_{gen}\%$) при кормлении монокультурами и смесями микроводорослей, относящихся к разным систематическим группам. По совокупности характеристик воспроизводства копепод выявлено преимущество Dinophyceae, Prymnesiophyceae и Cryptophyceae по сравнению с Chlorophyceae, Prasinophyceae и Bacillariophyceae. Наиболее высокие значения EP (70 яиц.сут⁻¹ самка⁻¹), H% (97-100 %), S_{gen} (75-88%) и $\min T_{gen}$ (8 сут) получены на смеси Dinophyceae, Prymnesiophyceae и Cryptophyceae.

Копеподы - основное звено между рыбами и фитопланктоном - считаются первыми жертвами личинок рыб в естественных условиях [11]. Изменения в зоопланктонном сообществе Черного моря привели к возрастанию роли массовых видов рода *Acartia*, которые в настоящее время могут составлять до 100% численности и биомассы зоопланктона в прибрежных зонах [2]. Различные стадии культивируемых *Acartia* spp. представляют оптимальные по размеру кормовые объекты для личинок рыб. При введении их в рацион культивируемой камбалы калкан (*Psetta maeotica* Pallas) выживаемость личинок улучшается, предположительно благодаря биохимическому составу рачков, адекватному пищевым потребностям личинок рыб [6].

Целью настоящей работой была проверка гипотезы о том, что смена таксонов водорослей может оказывать значительное влияние на воспроизводство акарций. Для этого в экспериментальных условиях было изучено влияние морских микроводорослей, относящихся к классам Chlorophyceae, Prasinophyceae, Bacillariophyceae, Cryptophyceae, Prymnesiophyceae и Dinophyceae, соответствующих предпочитаемому акарциями размерному диапазону пищевых частиц, на плодовитость копепод (EP), процент выклева (Н%), минимальное время генерации (T_{gen}^{min}) и выживаемость за минимальное время генерации ($S_{gen}^{\%}$), а также выживаемость за время линьки (М%).

Материал и методика. Эксперименты проведены на лабораторных популяциях *Acartia clausi* (1990-1993 гг.) и *A. tonsa* (1997-1998 гг.). Живых половозрелых самок *Acartia* spp. отбирали из проб, собранных в прибрежных водах Севастопольской бухты Черного моря сетью Джеди (входное отверстие 37 см, размер ячеек газа 145 μ м) косым ловом (0-5м) и помещали в отфильтрованную морскую воду с добавлением микроводорослей. Яйца, отложенные рачками, после многократных проводок через стерильную морскую воду давали начало лабораторным популяциям, культивируемым через множественные (более 20) генерации по собственной методике [5]. Для исключения комбинированного воздействия факторов среды, эксперименты проводили в оптимальном температурном режиме для обоих видов ($22.5 \pm 1.5^{\circ}\text{C}$) (собств. данные). Концентрации пищи поддерживалась *ad libitum* (3-10 мг.л⁻¹) на подготовленных животных (из собственных предварительных исследований, лаг-фаза между началом питания и началом продуцирования яиц самками акарций составляет 12-24 ч).

Тестируемые микроводоросли (Chlorophyceae - *Chlorella marina*, Prasinophyceae - *Platymonas viridis*; Prymnesiophyceae - *Monochrysis lutheri* и *Isochrysis galbana*; Bacillariophyceae - *Thalassiosira* sp., *Phaeodactylum tricorutum*, Cryptophyceae - *Rhodomonas baltica*, *Chroomonas* sp., *Cryptomonas* sp., Dinophyceae - *Exuviaella cordata*, *Prorocentrum micans*) культивировали на среде Уолна, приготовленной на основе стерилизованной 18‰ черноморской воды, и использовали во время экспоненциальной фазы роста. Пробы фитопланктона анализировали в камере Горяева под микроскопом МБИ-3 при увеличении 12,5x1,5x10. Пробы культур копепод анализировали живыми в камере Богорова под бинокляром при увеличении 4 x 8. При культивировании использовали объемы 10 - 2000 мл при минимальном соотношении от 0,01 мл среды на стадии N1 до 10 мл на стадии С6. Эксперименты на популяциях *A. clausi* и *A. tonsa* были разъединены по времени и не могли быть продублированы полностью ввиду потери нескольких культур фитопланктона..

Выживаемость копепод за минимальное время генерации (т.е. процент выживаемости особей, выживших при прохождении всех линек от N1 до С6 стадии) может служить хорошим показателем как морфологического и размерного соответствия пищевого объекта всем стадиям, так и адекватности биохимического состава объекта пищевым потребностям копепод, изменяющимся в процессе перехода от N1 до С6 стадии. Изучение влияния состава микроводорослевого корма на популяционные характеристики проводили в сериях экспериментов.

1-я серия экспериментов. Влияние на выживаемость во время линек (M₂%) (табл. 1). Индекс выживаемости при прохождении линек (M₂%) (или кумулятивную для двух последовательных линек выживаемость, рассчитываемый как процентное соотношение числа особей, выживших после прохождения 2-х последовательных линек к числу особей в начале эксперимента) определяли на различных стадиях обоих видов *Acartia*. Из лабораторных популяций акарций, культивируемых на смешанной диете, отсаживали в экспериментальные сосуды группы особей, находящихся на стадиях N1, N3, N5, C1, C4 (по 20 в 3х повторностях), и затем выращивали на определенных культурах микроводорослей до стадий N3, N5, C1, C4 и С6 соответственно.

Таблица 1. Влияние пищи на $M_2\%$, $\min T_{gen}$, T_{gen} and S_{gen} *Acartia* spp
 Table 1. Effect of the diet on *Acartia* spp. $M_2\%$, $\min T_{gen}$ and S_{gen}

Виды копепод <i>A. clausi</i> (1) и <i>A. tonsa</i> (2)	Размер- ный ряд	$M_2\%$ для различных стадий <i>A. clausi</i> and <i>A. tonsa</i> ; $x_0=20$; $n=3$; Среднее значение $\pm SD$					\min	S_{gen}
		N3/N1	N5/N3	C1/N5	C4/C1	C6/ C4	T_{gen}	%
Состав диеты копепод							$x_0=100$; $n=3$	
Виды	μm	130-170	170-250	260-330	460-630	630-1200	day	%
CHLOROPHYCEAE								
<i>Chlorella</i> sp. 2 (C)	1-2	0	nd	nd	0	-	-	-
PRASINOPHYCEAE								
<i>Platymonas viridis</i> 1 (P)	7-10	15 \pm 11	13 \pm 6	nd	nd	7 \pm 3	-	-
BACILLARIOPHYCEAE								
<i>Thalassiosira weissflogii</i> 2 (T)	5-7	6 \pm 5	0	0	0	10	-	-
<i>Phaeodactylum tricornutum</i> 1 (Ph)	2-4	14 \pm 9	0	0	nd	0	-	-
PRYMNESIOPHYCEAE								
<i>Monochrysis lutheri</i> 1 (M)	1-3	75 \pm 9	70 \pm 17	65 \pm 18	78 \pm 10	63 \pm 23	17	22 \pm 6
<i>Isochrysis galbana</i> 1 (I)	3-6	98 \pm 13	92 \pm 6	88 \pm 8	86 \pm 8	83 \pm 13	15	56 \pm 12
<i>Isochrysis galbana</i> 2 (I)		98 \pm 8	96 \pm 14	90 \pm 9	95 \pm 24	96 \pm 5	14	71 \pm 12
CRYPTOPHYCEAE								
<i>Rhodomonas baltica</i> 1 (R)	6-12	95 \pm 5	93 \pm 8	76 \pm 13	83 \pm 14	75 \pm 5	12	49 \pm 6
<i>Cryptomonas</i> sp. 2 (Cr)		97 \pm 6	90 \pm 5	97 \pm 13	77 \pm 5	67 \pm 18	11	56 \pm 9
DINOPHYCEAE								
<i>Exuviaella cordata</i> 1 (E)	12-14	85 \pm 9	98 \pm 3	88 \pm 13	90 \pm 20	87 \pm 16	9	71 \pm 15
<i>Exuviaella cordata</i> 2		97 \pm 3	95 \pm 0	92 \pm 8	92 \pm 6	nd	9	69 \pm 9
<i>Prorocentrum micans</i> 1 (Pr)	28-42	75 \pm 5	80 \pm 5	95 \pm 9	95 \pm 5	97 \pm 3	9	63 \pm 19
I + Ph 2		nd	nd	nd	nd	nd	14	29 \pm 21
Cr. + T 2		nd	nd	nd	nd	nd	14	23 \pm 14
Cr. + E 2		nd	nd	nd	nd	nd	8	82 \pm 14
M + E 1		nd	nd	nd	nd	nd	8	79 \pm 15
I. + R + E. 1		nd	nd	nd	nd	nd	8	75 \pm 8
I + M + Pr 2		nd	nd	nd	nd	nd	8	88 \pm 3

2-я серия экспериментов. Влияние на минимальное время генерации ($\min T_{gen}$) и выживаемость за минимальное время генерации ($S_{gen}\%$) (табл. 1). Свежие (отложенные в течение 10 ч до начала эксперимента) яйца *Acartia* из адаптированных культур переносили в экспериментальные емкости (100 x 10 мл в двух повторностях) с микроводорослями. Минимальное время генерации ($\min T_{gen}$) определяли как временной интервал от начала экспозиции яиц до начала откладки яиц самками, развившимися из этих яиц. $S_{gen}\%$ или процент выживаемости особей в течение этого минимального времени генерации, определяли как процентное соотношение особей выживших до момента откладки яиц по отношению к начальному числу.

Серия экспериментов 3а. Влияние на индивидуальную максимальную суточную плодовитость самок (EP, яиц/самку/день) (табл. 2). Для определения индивидуальной максимальной суточной плодовитости было отобрано по 10 самок *A. clausi*, которые были размещены индивидуально в 10-миллиметровые экспериментальные сосуды после их преадаптации в течение 6-12 ч на исследуемом виде диеты. В течение последующих 24 ч определяли индивидуальную плодовитость самок за сутки. Яйца подсчитывая живыми.

Серия экспериментов 3б. Влияние на среднепопуляционную плодовитость (EP_a, яиц/N6/сутки) (рис. 1). Среднепопуляционную суточную плодовитость *A. tonsa* (EP_a, яиц/N6/сутки) определяли на выборках половозрелых самок и самок (1:1) из преадаптированных к диете популяций, - помещенных в двух повторностях 20 экз. в 200 мл на диетах, состоящих из монокультур микроводорослей. После 24-часовой экспозиции производили подсчет произведенных яиц.

4-я серия экспериментов. Влияние на процент выклева (H,%) (табл. 2). Отложенные в течение 12 ч до начала эксперимента яйца из преадаптированных культур *A. clausi* и *A. tonsa* переносили в экспериментальные объемы (100 экз. на 10 мл) для определения процента выклева в исходной культуре микроводорослей. Процент

Таблица 2. Влияние диеты на максимальную индивидуальную плодовитость (EP_{max}) и процент выклева яиц (H, %) *Acartia* spp.

Table 2. Effect of the diet on maximum individual daily egg production and hatching success of the eggs (H, %) of *Acartia* spp.

Виды микроводорослей Монодиета (один вид микроводорослей)	<i>Acartia clausi</i>		<i>Acartia tonsa</i>
	EP_{max}	H (%)±SD; $x_0=50$; n=2	
Bacillariophyceae <i>Thalassiosira</i> sp.	nd	nd	71±10
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	nd	48±25	nd
Prymnesiophyceae <i>Monochrysis lutheri</i>	14	79±7	nd
<i>Isochrysis galbana</i>	22	89±11	nd
Cryptophyceae <i>Rhodomonas baltica</i>	50	97±3	nd
<i>Cryptomonas</i> sp.	46	nd	90±9
Dinophyceae <i>Exuviaella cordata</i>	50	96±5	94±5
<i>Prorocentrum micans</i>	53	91±4	97±5
Смешанная диета (смесь нескольких культур)			
<i>Exuviaella cordata</i> + <i>Prorocentrum micans</i>	70	nd	nd
<i>Exuviaella cordata</i> + <i>Chroomonas</i> sp.	70	97±5	nd
<i>Prorocentrum micans</i> + <i>Chroomonas</i> sp.	70	100	nd
Dinophyceae mix + Cryptophyceae mix	70	99±1	99±1

Сокращенные значения: nd - значения не определены; mix - смесь

выклева яиц (H%) вычислялся как соотношение числа выклюнувшихся в течение 48 ч жизнеспособных науплиев (N1) к исходному числу яиц.

Результаты и обсуждение. Особи акарции не смогли пройти все линьки жизненного цикла при кормлении монокультурами микроводорослей классов Chlorophyceae, Prasinophyceae и Bacillariophyceae (табл.1). Напротив, при кормлении монокультурами микроводорослей классов Prymnesiophyceae, Cryptophyceae и Dinophyceae оба вида акарций выживали на протяжении множественных генераций (табл.1). Средние EP на половозрелую особь популяций *A. tonsa* снижаются при

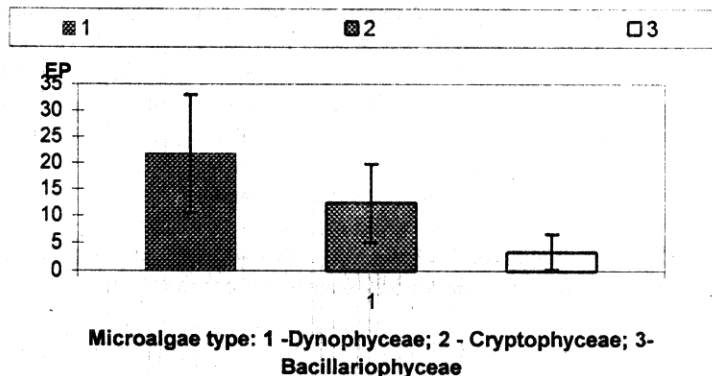


Рис. 1. Влияние класса микроводорослей на среднепопуляционную суточную продукцию яиц *Acartia tonsa* (EP, яйца/особь/сут.)

Fig. 1. Effect of microalgae class on the mean eggs production rate of *Acartia tonsa* (EP, eggs/adult/day)

переходе от динофлагеллят к диатомовым (рис. 1). Достаточно высокий процент выклева получен для яиц, отложенных самками, питающимися диатомовыми, при их переносе в свежую среду с добавлением Cryptophyceae, Prymnesiophyceae или Dinophyceae. Несмотря на то, что процент выклева на *Thalassiosira* sp. сопоставим с процентом выклева на *M. lutheri* (табл. 2), науплии, выклюнувшиеся из яиц от самок, питавшихся диатомовыми, не выживают после стадии N2. Для микроводорослей класса Prymnesiophyceae параметры EP, H%, $S_{gen}\%$ и $min T_{gen}$ были выше на *I. galbana* (пор. Isochrysidales), чем на *M. lutheri* (пор. Pavlovaales).

Самые высокие показатели воспроизводства акарций - предельные значения EP (70 яиц в сутки на самку) (рис. 1); H% (97-100 %), S_{gen} (75-88%) и $min T_{gen}$ (8 сут) (табл.1)

наблюдали на диетах, состоящих из смеси культур микроводорослей классов Prymnesiophyceae, Cryptophyceae и Dinophyceae.

Преимущество Prymnesiophyceae, Cryptophyceae и Dinophyceae по сравнению с микроводорослями классов Chlorophyceae, Prasinophyceae и Bacillariophyceae по изученным характеристикам воспроизводства копепод подтверждает предположение о том, что не морфологическая, а биохимическая адекватность пищевых объектов копепод, совпадающая с их пищевыми потребностями, является основной детерминантой процесса воспроизводства. Наиболее высокое соотношение и содержание высоконасыщенных жирных кислот (ВНЖК) - докозогексаеновой 22:6n-3 и эйкозопентаеновой 20:5-n3, обнаруживаемое в акарциях при кормлении их динофлагеллятами [6,7], соответствует наиболее высоким показателям этих ВНЖК в динофлагеллятах по сравнению со всеми другими классами микроводорослей. Диатомовые характеризуются более низким содержанием и соотношением 22:6n-3: 20:5-n3 при высоком содержании 16:1n-7 [1].

Таким образом, можно предположить, что процессы воспроизводства копепод положительно коррелируют с содержанием и соотношением 22:6n-3 и 20:5-n3 (основными предшественниками эйкозаноидов, важных для функционирования иммунной и репродуктивной систем). Высокое содержание насыщенных жирных кислот и 16:1n-7 при одновременном низком содержании 22:6n-3 в микроводорослях классов Chlorophyceae, Prasinophyceae и Bacillariophyceae, составляющих диету самок копепод, отрицательно коррелирует с плодовитостью и выживаемостью науплиев. Обнаруженная нами тенденция совпадает с эффектом влияния биохимического состава пищи на репродуктивные характеристики копепод [8]. 16:1n-7, возможно, является одним из гипотетических компонентов, ингибирующих нормальное эмбриональное и науплиальное развитие у копепод при питании диатомовыми водорослями [9, 10]. Высокий процент выклева и выживаемости копепод поддерживается также Prymnesiophyceae и Cryptophyceae, которым присуще высокое содержание 22:6n-3 и низкое - 16:1n-7. Но, принимая во внимание время генерации акарций и их выживаемость за время генерации, динофлагелляты могут быть оценены как наиболее высококачественные, подтверждая незаменимость именно ВНЖК 22:6n-3 для процесса воспроизводства копепод. Анализ полевых данных косвенно подтверждает это, так как наиболее высокая скорость воспроизводства *Acartia* spp. в естественных популяциях (при плотности до 0.8 - 0.9 экз·мл⁻¹) наблюдается в поздневесенний-раннелетний период [3] совпадая с поздневесенним-раннелетним цветением при возрастании доли динофлагеллят [4].

Улучшение всех характеристик воспроизводства акарций при питании комплексными диетами, по сравнению с монодиетами, можно считать комбинированным воздействием: обеспечением оптимальных размеров пищевых частиц при одновременном обеспечении оптимальным биохимическим составом пищи всех жизненных стадий копепод.

1. (Жукова) Zhukova N.V., Aizdaicher N.A. Fatty acid composition of 15 species of marine microalgae// Phytochemistry.- 1995. - 39, N 2. - P. 351-356.
2. (Ковалев А.В.) Kovalev A.V, Gubanova A.D., Kideys A.E et al. Long-term changes in the biomass and composition of fodder zooplankton in coastal regions of the Black Sea during the period 1957-1996 // Ecosystem Modelling as a Management tool for the Black Sea. - Kluwer Academ.Publ., 1998 -I- P.209-219.
3. Сажина Л.И. Размножение, рост, продукция морских веслоногих ракообразных.- Киев, 1987. - 156 с.
4. (Суханова И.Н.) Sukhanova I.N., Flint M.V., Hibaum G. et al.. *Exuviaella cordata* red tide in Bulgarian coastal waters (May to June 1986) // Mar.Biol. -1988.- 99, N 1.- P. 1-8.
5. Ханайченко А.Н.. Массовое культивирование копепод в полупроточных культурах.//Вклад молодых ученых в решение современных вопросов океанологии и гидробиологии: Мат.IV Всесоюзной конференции по науке и технологии, Севастополь. -1989 - С. 66-67.

7. (Ханайченко А.Н.) *Khanaichenko A.N., P. Dhert K Van Ryckeghem, Sorgeloos P.* Evaluation of fatty acid composition of live feed fed Dinophyceae. *Aquaculture and Water // Fish Culture, Shellfish Culture and Water Usage: EAS Spec.Publ.*- 1998. - N 26. - P. 133 - 134.
8. *Jonasdottir S.H.* Effects of food quality on the reproductive success of *Acartia tonsa* and *Acartia hudsonica*: Laboratory observations // *Mar.Biol.* - 1994. - 121, N 1. - P. 67-81.
9. *Ianora A., Poulet S.A., Miralt, A., Grotelli.* The diatom *Thalassiosira rotula* affects reproductive success in the copepod *Acartia clausi*. // *Mar.Biol.* - 1996.-125.- P. 279-286.
10. *Poulet S.A., Laabir M., Ianora A., Miralto A.* Reproductive response of *Calanus helgolandicus*.// *Mar.Ecol.Prog.Ser.* - 1995. - 129. - P.85-95.
11. *Poulet S.A., Williams R.* Characteristics and properties of copepods affecting the recruitment of fish larvae // *Proceed. the Fourth International Conference: Bull.Plankton Soc..Japan,* - 1991.- Spec.Vol.- P. 271-290.

Выражаю благодарность Сажиной Л.И., поддержавшей мои начинания в культивировании копепод; Ковалевой Т.М., одной из первых предположившей преимущество динофлагеллят по сравнению с диатомовыми для питания копепод; Губановой А. и Прусовой И. за ценные советы по систематике и определению стадий копепод; Галатоновой О.А. - хранителю музея культур микроводорослей им. Л.А.Ланской ИнБЮМ, за предоставленную возможность получать свежие культуры микроводорослей.

Институт биологии южных морей НАНУ,
г.Севастополь

Получено 02.06.99

A. N. KHANAYCHENKO

THE EFFECT OF MICROALGAL DIET ON COPEPOD REPRODUCTION PARAMETERS

Summary

A hypothesis was tested that taxonomic changes in natural and cultivated populations of phytoplankton may considerably influence the reproduction of mass copepod species *Acartia clausi* and *A. tonsa*. The effect of a diet composed of main microalgal groups (Chlorophyceae, Prasinophyceae, Bacillariophyceae, Cryptophyceae, Prymnesiophyceae and Dinophyceae commensurable in size with food particles on which the two copepod species predominantly feed) on the basic parameters of copepod reproduction (egg production EP, hatching success H%, minimum generation time, min T gen, survival through moulting M%, and survival through minimum generation time, min S gen %) was studied in experimental cultures of the copepods. Examination of the reproduction characteristics has shown the priority of Dinophyceae, Prymnesiophyceae and Cryptophyceae monodiets presumably owing to the high content and proportion of HUFA 22:6 n-3/20:5n-3 in comparison with Chlorophyceae, Prasinophyceae and Bacillariophyceae monodiets inefficient for copepod reproduction; mixed diets also proved to be preferable to unialgal. The greatest estimates of EP (70 egg/female/day), H% (97 - 100%), Sgen (75 - 88%) and min T gen (8days) were obtained in the Dinophyceae, Prymnesiophyceae and Cryptophyceae mixture.