

ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ ЮЖНЫХ МОРЕЙ
им. А.О. КОВАЛЕВСКОГО



АГАНЕСОВА
Лариса Олеговна

УДК 639.5

ПРОДУКЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ КОПЕПОД
CALANIPEDA AQUAEDULCIS* И *ARCTODIAPTOMUS SALINUS
В УСЛОВИЯХ ИСКУССТВЕННОГО ВЫРАЩИВАНИЯ

03.02.10 – гидробиология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание учёной степени
кандидата биологических наук

4 ДЕК 2014



005556412

Севастополь – 2014

Диссертация является рукописью

Работа выполнена в Институте биологии южных морей им. А.О. Ковалевского
(г. Севастополь)

Научный руководитель:

кандидат биологических наук,
старший научный сотрудник,
Хайченко Антонина Николаевна,
Институт биологии южных морей
им. А.О. Ковалевского,
старший научный сотрудник

Официальные оппоненты:

доктор биологических наук,
профессор,
Александров Борис Георгиевич,
Институт морской биологии НАН Украины,
директор

кандидат биологических наук,
старший научный сотрудник,
Арашкевич Елена Германовна,
Институт океанологии им. П.П. Ширшова
Российской академии наук,
ведущий научный сотрудник

Защита диссертации состоится «24» декабря 2014 г. в «10⁰⁰» часов на заседании специализированного учёного совета Д 50.214.01 Института биологии южных морей им. А.О. Ковалевского по адресу: пр. Нахимова, 2, г. Севастополь, 299011, РФ

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института биологии южных морей им. А.О. Ковалевского по адресу: пр. Нахимова, 2, г. Севастополь, 299011, РФ

Автореферат разослан «24» ноября 2014 г.

Учёный секретарь
специализированного учёного совета Д 50.214.01

кандидат биологических наук



Н.В. Поспелова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. В естественных условиях основу питания личинок морских рыб составляют копеподы на всех стадиях их развития (Poulet, Williams, 1990). В условиях морской аквакультуры в качестве живых кормов используют солоноватоводных коловраток и науплиев артемий, в составе которых отсутствуют некоторые эссенциальные компоненты (Shields et al., 1989). При питании рыб на ранних стадиях развития кормом, неадекватным их биохимическим потребностям, возникают проблемы, связанные с нарушениями метаболизма, что в итоге приводит к неправильному развитию систем организма, отклонениям в экспрессии генов (Cahu et al., 2003), патологии развития (Shields et al., 1999; Boglino et al., 2012). Поэтому для улучшения биохимического состава солоноватоводных коловраток и артемий их насыщают специализированными искусственными смесями, содержащими незаменимые для личинок рыб компоненты (Merchie, 1996). Тем не менее, в результате применения таких смесей могут возникать дополнительные проблемы, связанные с пищеварением личинок рыб (Luizi et al., 1999) и микробными инфекциями (Grisez et al, 1996). Единственным подходом к искусственному выращиванию правильно развивающихся личинок морских рыб является кормление копеподами (Stottrup, 2000), но до настоящего времени, несмотря на многочисленные экспериментальные разработки, не созданы промышленные методы их массового культивирования (Drillet et al., 2011).

Убиквитные виды копепод *Calanipeda aquaedulcis* (Kritsch, 1873) и *Arctodiaptomus salinus* (Daday, 1885) являются важными компонентами пищевых цепей многочисленных пресных и солёных водоемов. Данные виды копепод пригодны для кормления личинок как морских, так и пресноводных видов рыб. Однако влияние питания и температуры на продукционные характеристики этих видов изучено недостаточно. Поэтому для получения максимальной продукции при массовом выращивании *C. aquaedulcis* и *A. salinus* необходимо определить оптимальные температурные и трофические условия их культивирования.

Связь работы с научными программами, планами, темами. Диссертационная работа выполнена в отделе аквакультуры и морской фармакологии Института биологии южных морей им. А.О. Ковалевского (ИнБЮМ) в соответствии с научно-исследовательской тематикой и программой НАН и МОН Украины: «Изучение функционирования морских биотехнологических комплексов и их взаимодействия с окружающей средой» (№ ГР 0106U001586; 2006-2010); «Систематизированный анализ и комплексная оценка современного состояния изученности биологических ресурсов Азово-Черноморского бассейна и перспектив развития марикультуры, ресурсных био- и нанобиотехнологий» (№ ГР 0107U008034; 2007-2009); «Экологические взаимодействия в биотехнологических комплексах» (№ ГР 0111U00154; 2011-2015); «Проведение комплексных экологических, гидробиологических и биотехнологических исследований с целью решения фундаментальных и прикладных проблем постоянного использования ресурсного потенциала, восстановления и сохранения морского биоразнообразия и качества морской

среды Азово-Черноморского региона» (№ ГР 0110U006203; 2010-2012). В перечисленных темах автор участвовала в период обучения в аспирантуре (2008 – 2011), а затем в качестве исполнителя (2011 – 2014).

Цель и задачи исследования. Цель работы – исследовать продукционные характеристики двух видов каляноидных копепоид *Calanipeda aquaedulcis* (Kritsch, 1873) и *Arctodiptomus salinus* (Daday, 1885) в условиях искусственного выращивания.

Для достижения указанной цели были поставлены следующие задачи:

- выявить влияние трофического и температурного факторов на выживаемость и длительность развития копепоид *C. aquaedulcis* и *A. salinus*;
- определить рационы исследуемых видов копепоид при их питании микроводорослями разных видов;
- оценить изменения размерно-весовых характеристик копепоид на протяжении жизненного цикла в зависимости от температуры;
- определить зависимость продукционных характеристик (соматической и генеративной продукции) *C. aquaedulcis* и *A. salinus* от факторов среды;
- разработать методы выращивания двух видов копепоид в накопительной культуре в пилотных условиях.

Объект исследования – копепоиды *Calanipeda aquaedulcis* и *Arctodiptomus salinus*.

Предмет исследования – продукционные характеристики копепоид *C. aquaedulcis* и *A. salinus* при разных условиях выращивания.

Методы исследования. В работе использованы методы культивирования гидробионтов, разработанные в отделе аквакультуры и морской фармакологии ИнБЮМ; накопительный (периодический) и индивидуальный методы культивирования копепоид; методы определения размерных характеристик и определения сухой биомассы копепоид; методы проточной цитометрии, световой микроскопии и микровидеосъемки; статистические методы обработки результатов исследований. Для идентификации каротинноидов (в организме копепоид) использован метод тонкослойной хроматографии.

Научная новизна полученных результатов. Впервые выявлены межвидовые различия влияния трофического и температурного факторов на продукционные индивидуальные и популяционные характеристики каляноидных копепоид *Calanipeda aquaedulcis* и *Arctodiptomus salinus*, показана зависимость продолжительности онтогенеза, выживаемости и плодовитости *C. aquaedulcis* и *A. salinus* от хемотаксономических характеристик микроводорослей, которыми они питаются. Самые высокие продукционные показатели копепоид обоих видов достигнуты при их питании *Prorocentrum cordatum* и *Isochrysis galbana*. Установлено, что рацион *A. salinus* значимо превышает таковой *C. aquaedulcis* и максимален для обоих видов копепоид при питании *Isochrysis galbana*. Установлено, что у самок *C. aquaedulcis* среднесуточная плодовитость за жизненный цикл вдвое превышает плодовитость *A. salinus*. Максимальная среднесуточная продукция (Pt) у *C. aquaedulcis* достигается при $25 \pm 1,5$, а у *A. salinus* – при $21 \pm 1,5$ °C.

Предложены оптимальные условия для массового культивирования *C. aquaedulcis* и *A. salinus* в накопительных культурах.

Практическое значение полученных результатов. Экспериментально разработанные методы накопительного культивирования *Calanipeda aquaedulcis* и *Arctodiaptomus salinus* рекомендовано использовать как для массового получения качественных живых кормов, по размерным, этологическим и биохимическим характеристикам адекватных потребностям личинок морских рыб, так и для физиологических исследований копепод. Результаты изучения зависимости структурных и функциональных характеристик двух убиквитных видов копепод от факторов среды могут быть использованы при исследованиях их естественных популяций.

Личный вклад соискателя. Диссертационная работа является самостоятельным научным исследованием. В диссертации использованы материалы, полученные в экспериментальных исследованиях в течение 2008 – 2013 гг. Диссертант принимал непосредственное участие в сборе, обработке и анализе материалов. Разработка задач и выбор методов исследований, основной комплекс экспериментальных работ (постановка экспериментов, определение продукционных характеристик копепод, статистическая обработка экспериментальных данных), обобщение, анализ и интерпретация полученных результатов выполнены автором самостоятельно. Цитометрические исследования динамики численности микроводорослей в экспериментах по определению рационов копепод автор проводил совместно с сотрудниками ИнБИОМ к.б.н. Мухановым В.С. и к.б.н. Ханайченко А.Н., определение скоростей энергетического метаболизма копепод *C. aquaedulcis* и *A. salinus* – с к.б.н. Светличным Л.С., к.б.н. Губаревой Е.С. и к.б.н. Ханайченко А.Н., исследования по разработке метода определения живых и мертвых организмов в культуре копепод – с к.б.н. Мухановым В.С. и м.н.с. Литвинюк Д.А., исследования каротиноидного состава копепод методом тонкослойной хроматографии – с к.б.н. Пospelовой Н.В., к.б.н. Ханайченко А.Н. и м.н.с. Рауэн Т.В. Полученные результаты исследований интерпретированы автором самостоятельно.

Апробация результатов работы. Основные положения работы доложены на международных научных конференциях и семинарах: Международных научно-технических семинарах «Системы контроля окружающей среды» (Севастополь, 2010, 2011); конференциях молодых ученых Pontus Euxinus VI, VII, VIII (Севастополь, 2009, 2011, 2013); на семинарах отдела аквакультуры и морской фармакологии ИнБИОМ (2009 – 2013 гг.)

Публикации. По теме диссертации опубликовано 10 научных работ (6 – без соавторов), из числа которых: 5 статей в специализированных научных изданиях, рекомендованных ВАК, 1 статья в журнале, включенном в международную наукометрическую базу “SCOPUS”, 3 работы в сборниках статей, материалах и тезисах национальных и международных конференций. По теме диссертации получен патент на изобретение по методу культивирования копепод. В работах, опубликованных в соавторстве, вклад соискателя состоял в постановке экспериментов, получении и обработке экспериментальных данных

и их математической обработке, подборе литературы, написании текста статей. Права соавторов публикаций не нарушены.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, 5 разделов, заключения, выводов, списка использованной литературы, включающего 207 источников (в том числе 127 иностранных) и приложения. Работа изложена на 157 страницах, иллюстрирована 28 таблицами и 16 рисунками.

Благодарности. Автор выражает глубокую благодарность и признательность сотрудникам ИнБИОМ: научному руководителю к.б.н. А.Н. Ханайченко – за помощь в разработке теоретических основ диссертации, руководство и разработку стратегии исследований и неоценимую помощь в выполнении работы; к.б.н. В.Е. Гиригосову – за ценные замечания по диссертационной работе; к.б.н. Л.С. Светличному – за плодотворное сотрудничество, консультации и помощь в обсуждении полученных совместно данных; к.б.н. Н.В.Поспеловой – за методическую помощь и совместную работу; м.н.с. Т.В. Рауэн – за помощь в культивировании микроводорослей, совместную экспериментальную работу и дружескую поддержку; д.б.н. А. В. Гаевской и д.б.н. А. А. Соддатову – за ценные советы и рекомендации по написанию и оформлению работы.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

БИОЛОГИЯ И ПРОДУКЦИЯ КОПЕПОД: СОСТОЯНИЕ ИЗУЧЕННОСТИ ВОПРОСА (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

Раздел содержит анализ литературных данных о биологии копепод, в частности, каляноидных копепод *C. aquaedulcis* и *A. salinus*, особенностям влияния температуры и трофического фактора на развитие и размножение копепод и их продукционные характеристики, о роли копепод в питании личинок рыб и основных преимуществах их использования, по сравнению с другими кормовыми организмами для кормления личинок рыб в морской аквакультуре. Показано современное состояние проблемы промышленного культивирования копепод.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Экспериментальные работы были выполнены в отделе аквакультуры и морской фармакологии ИнБИОМ в 2008 – 2013 гг. Всего проведено 36 экспериментов различной длительности.

В экспериментальной работе использованы накопительный (периодический) и полунепрерывный методы культивирования копепод. Для изучения продолжительности жизни, влияния различных факторов (корма, температуры) на выживаемость, длительность развития и плодовитость копепод при индивидуальном периодическом культивировании отдельные особи копепод помещали в сосуды объемом 50 мл со средой и микроводорослями, через определенные промежутки времени их перемещали в свежую среду с кормом, учитывая при этом происходящие с особями изменения в развитии.

Накопительное периодическое культивирование копепоид в культиваторах 1, 40 и 600 л позволило получить большое количество биомассы для проведения биохимических исследований, а также исследовать влияние различных факторов на рост массовых культур копепоид. Во всех экспериментах в качестве культуральной среды для копепоид использовали черноморскую воду ($17,8 \pm 0,2$ ‰), первоначально прошедшую грубую очистку, отстаивную, затем механически очищенную последовательной фильтрацией через картриджные фильтры с размером пор 10, 5 и 1 мкм и стерилизованную с помощью ультрафиолета. Полную замену культуральной среды (суспензии микроводорослей в стерилизованной морской воде) в экспериментальных сосудах производили каждые три дня. Экспериментальные сосуды находились в условиях круглосуточного освещения 2000 лк.

Для изучения влияния разного корма на продукционные характеристики копепоид выбраны виды микроводорослей из коллекции живых культур микроводорослей ИнБИОМ (Стельмах, Галатонова, 2003), находящиеся в размерном диапазоне частиц, подходящих для питания копепоид на разных стадиях развития: Prymnesiophyceae – *Isochrysis galbana* (Parke, 1949), Chlorophyceae - *Dunaliella salina* ((Dunal) Teodoresco, 1905), Trebouxiophyceae - *Chlorella vulgaris* (Beyerinck (Beijerinck), 1890), Bacillariophyceae - *Phaeodactylum tricorutum* (Bohlin, 1897) и *Thalassiosira weissflogii* ((Grunow) Frixel et Hasle, 1977), Dinophyceae – *Prorocentrum micans* (Ehrenberg, 1834), *Prorocentrum cordatum* (Ostenfeld) J.D. Dodge, 1975) и *Glenodinium foliaceum* (F. Stein, 1883).

Использованные в экспериментах микроводоросли выращивали в накопительном режиме на стерилизованной черноморской воде, обогащенной средой Уолна (Coutteau, 1996), при температуре $24 \pm 1,5$ °С. Круглосуточное освещение интенсивностью 5000 лк осуществляли с помощью люминесцентных ламп LD – 40. При кормлении копепоид использовали только микроводоросли из культур, находящихся в стадии экспоненциального роста, которые считаются более качественным кормом и могут избирательно потребляться зоопланктоном (Петипа, Тен, 1971). Адаптацию копепоид к питанию микроводорослями конкретного вида проводили в течение минимум 2 – 3 недель.

Влияние температуры на рост копепоид исследовали при трех температурных режимах: 17 ($17 \pm 1,5$), 21 ($21 \pm 1,5$) и 25 ($25 \pm 1,5$) °С. Адаптацию культур копепоид к каждому температурному режиму проводили в течение месяца. Для кормления копепоид использовали микроводоросль *I. galbana*, концентрацию которой поддерживали на уровне 0,02 – 0,08 мг·сух. массы·мл⁻¹.

В экспериментах по выращиванию массовых культур копепоид в объемах 1 л их кормили монокультурой *I. galbana* (при трех температурных режимах: 17, 21 и 25 °С); копепоиды в 40 – 600 л питались смесью микроводорослей *I. galbana*, *P. cordatum* (*C. aquaedulcis*), *I. galbana*, *P. cordatum*, *P. micans* (*A. salinus*), с добавлением *Ch. vulgaris*. Концентрацию пищи поддерживали *ad libitum*.

Для учета численности клеток микроводорослей использовали метод прямого счета в камере Горяева под микроскопом, а также метод проточной цитометрии с помощью проточного цитометра Cytomics™ FC 500 (Раун и др.,

2012). Расчет скоростей размножения и отмирания микроводорослей, скорости потребления микроводорослей копеподами и определение общего количества потребленной пищи осуществляли согласно (Frost, 1972). Для определения рационов копепод при их питании микроводорослями разных видов выполнены предварительные эксперименты, позволившие определить влияние времени экспозиции на скорость потребления клеток.

Наблюдения за развитием и выживаемостью копепод проводили от первой науплиальной (N1) до достижения половозрелой (C6) стадии. Идентификацию стадий развития копепод осуществляли прижизненно в камере Богорова под бинокляром при увеличении 2×8 и 4×8. Выживаемость копепод оценивали как процент особей, выживших при прохождении всех стадий от N1 до C6. Продолжительность развития копепод устанавливали как средний временной интервал развития особей от N1 до достижения C6. Размерные характеристики самок (длины просомы и абдомена), диаметр яиц, подсчет количества яиц в кладке (абсолютная плодовитость) и выклюнувшихся жизнеспособных науплиев (% выклева) определяли под микроскопом МБС-12. Длительность жизненного цикла копепод оценивали при индивидуальном культивировании в оптимальных для каждого вида условиях. Длительность эмбрионального развития субитанных яиц определяли при 21 °С, диапаузирующих яиц *A. salinus* в условиях культур не наблюдали.

Морфологические характеристики копепод *C. aquaedulcis* и *A. salinus* (длина просомы, L_{pr} ; ширина просомы, d_{pr} , длина абдомена, L_{abd}) исследованы по цифровым фотографиям, полученным при помощи микроскопа Nikon Eclipse TS100F, оборудованного видеокамерой mi ICD-848P. Измерения особей произведены при помощи стандартных компьютерных программ (ImageJ 1.42q, Microsoft Excel).

При определении биомассы в массовой культуре учитывали изменения как возрастной, так и размерной структуры копепод, разделяя их на науплиусов, копеподитов, самцов и самок и оценивая долю живых и мертвых организмов согласно методу (Литвинюк и др., 2009). Сухую биомассу копепод рассчитывали, учитывая линейные размеры разных стадий развития особей, полученные отдельно для каждого температурного режима. Для копеподитных и взрослых стадий использовали формулу, выведенную из (Svetlichny et al., 2012):

$$w = 0,13 (L_{pr} \cdot d_{pr}^2)^{1,013} \quad (1),$$

где L_{pr} – длина и d_{pr} – ширина просомы (мм); w – сухая масса тела (мг).

Сырую биомассу науплиусов находили, приравнивая их форму к соответствующей геометрической фигуре – овалу, принимая плотность тела равной плотности воды (Сажина, 1987; 1996). Соотношение сухой массы к сырой для науплиусов принималось равным 0,1 согласно: Callieri, Pugnetti, Manca, 1999; Dumont et al., 1975.

Расчет средней удельной скорости роста (C_w) копепод за период Δt осуществляли по формуле (Винберг, 1979):

$$C_w = (\ln w_2 - \ln w_1) / (t_2 - t_1) \quad (2),$$

где w_2 и w_1 – сухая масса (мг) в начале и в конце рассматриваемого периода, т.е. в моменты времени t_2 и t_1 , сут.

Определение продукции копепод осуществлялось по уравнению П. Бойсен-Йенсен (Занка, 1983). Расчет продукции культур копепод производили на основании данных, полученных в отдельных экспериментах по росту культур копепод *C. aquaedulcis* и *A. salinus* при трех температурных режимах 17, 21 и 25 °С в 1 л, а также в культиваторах объемом 40 – 600 л при 21 °С.

ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРНОГО ФАКТОРА НА ПРОДУКЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ КОПЕПОД *CALANIPEDA AQUAEDULCIS* И *ARCTODIAPTOMUS SALINUS*

Оптimum выживаемости всех стадий развития копепод обоих видов (в температурном диапазоне 17 – 25 °С) приходится на температурный режим 21 °С (табл. 1). Самая низкая выживаемость копепод обнаружена при низких температурах (17 °С). На протяжении ранних науплиальных стадий N1 – N3 выживаемость обоих видов копепод составляла 100 %. Для более поздних стадий развития обоих видов копепод выживаемость колебалась для *C. aquaedulcis* от 48 ± 25,3 до 92,3 ± 15,4 %, для *A. salinus* – от 54,5 ± 9,1 до 100 %.

Таблица 1

Выживаемость копепод *Calanipeda aquaedulcis* и *Arctodiaptomus salinus* при разных температурных режимах культивирования

Температура, °С	Выживаемость, %				
	N1 – 3	N4 – 6	C1 – 3	C4 – 5	C6
<i>C. aquaedulcis</i>					
17 ± 1,5	100	71,2 ± 19,8	62,9 ± 11,2	56,6 ± 17,0	48 ± 25,3
21 ± 1,5	100	92,3 ± 15,4	88,1 ± 13,3	81,1 ± 11,9	78,9 ± 10,6
25 ± 1,5	100	75,7 ± 25,8	75,7 ± 25,8	62,1 ± 31,7	57,6 ± 33,5
<i>A. salinus</i>					
17 ± 1,5	100	74,2 ± 17,4	60,9 ± 13,2	57,9 ± 8,2	54,5 ± 9,1
21 ± 1,5	100	100	100	93,3 ± 13,3	93,3 ± 13,3
25 ± 1,5	100	94,9 ± 10,3	89,7 ± 20,5	89,7 ± 20,5	76,3 ± 26,7

Примечание: N1 (6) первая (шестая) науплиальная стадия и т.д., C1 (5) – первая (пятая) копеподитная стадия; C6 – взрослая стадия (p > 0,05)

Длительность стадий постэмбрионального развития обоих видов копепод постепенно увеличивается от младших науплиальных к старшим копеподитным стадиям (табл. 2) во всем диапазоне экспериментальных температур. Абсолютная выживаемость копепод на ранних науплиальных стадиях и кратковременность их развития, по-видимому, связаны с тем, что до перехода на экзогенное питание в качестве источника энергии они используют исключительно (N1 – N2) и преимущественно (N2 – N3) желтковые запасы (собственные данные, Jimenez-Melero et al., 2007). Длительность науплиальных стадий обоих видов короче, чем копеподитных во всем температурном

диапазоне, что закономерно для каляноидных копепоид. Самыми продолжительными были стадии C4 – C5, и самцы обоих видов при всех температурных режимах развивались быстрее самок, что объясняется половой дифференциацией и ростом гонад копепоид на пятой, критической стадии развития (Peterson, 2001).

Таблица 2

Длительность развития копепоид *Calanipeda aquaedulcis* и *Arctodiaptomus salinus* при разных температурах

Температура, °C	Длительность развития копепоид, сутки						
	N1 – 3	N4 – 6	C1 – 3	C4 – 5	N1 – C6	N1 – C6 (M)	N1 – C6 (F)
<i>C. aquaedulcis</i>							
17 ± 1,5	3 ± 0,1	5 ± 0,1	7 ± 0,2	7 ± 0,4	22 ± 0,3	21,9 ± 0,2	22,1 ± 0,2
21 ± 1,5	3 ± 0,1	3 ± 0,1	4 ± 0,2	4 ± 0,4	14 ± 0,2	13,9 ± 0,1	14,1 ± 0,1
25 ± 1,5	2 ± 0,1	2 ± 0,1	2 ± 0,1	3 ± 0,4	9 ± 0,2	8,9 ± 0,1	9,1 ± 0,1
<i>A. salinus</i>							
17 ± 1,5	4 ± 0,1	6 ± 0,2	8 ± 0,1	11 ± 0,2	29 ± 0,2	28,9 ± 0,1	29,1 ± 0,1
21 ± 1,5	3 ± 0,1	4 ± 0,2	6 ± 0,2	7 ± 0,2	20 ± 0,6	19,7 ± 0,3	20,2 ± 0,4
25 ± 1,5	4 ± 0,1	6 ± 0,2	7 ± 0,4	8 ± 0,4	25 ± 0,4	24,8 ± 0,2	25,1 ± 0,3

Примечание: N1 (6) первая (шестая) науплиальная стадия и т.д., C1 (5) – первая (пятая) копепоидная стадия; C6 – взрослая стадия; M – самцы; F – самки ($p < 0,05$)

Длительность онтогенеза *C. aquaedulcis* от N1 до C6 стадий в температурном диапазоне 17 – 25 °C закономерно сокращается (табл. 2) и составляет 22, 14 и 9 сут при 17, 21 и 25 °C, соответственно. Напротив, минимальная длительность развития *A. salinus* обнаружена в середине температурного диапазона 17 – 25 °C. Длительность развития *A. salinus* от N1 до C6 при повышении температуры от 17 до 21 °C сокращалась от 29 до 20 сут, но при повышении температуры до 25 °C она возрастала до 25 сут.

При одинаковых температурах развитие более мелкого вида *C. aquaedulcis* проходит быстрее, чем более крупного вида *A. salinus* (рис. 1). Скорость развития *C. aquaedulcis* от первой науплиальной (N1) до взрослой стадии (C6) экспоненциально возрастает с повышением температуры от 17 до 25 °C, из чего следует, что оптимум культивирования *C. aquaedulcis* находится в верхнем пределе диапазона температур 17 – 25 °C. Наибольшая скорость развития *A. salinus*, напротив, находится в середине данного температурного диапазона, то есть приходится на 21 °C, дальнейшее же повышение температуры приводит к замедлению развития *A. salinus*.

Наши данные показали, что развитие *C. aquaedulcis* и *A. salinus* подчиняется общим закономерностям развития каляноидных копепоид в зависимости от температуры: время развития копепоид с удлиняется с ее понижением (Bonnet et al., 2010) и сокращается с ее повышением (Cook et al., 2007) до определенного

верхнего порога температуры. До недавнего времени считали, что верхний температурный порог развития *A. salinus* находится приблизительно в диапазоне 25 – 29 °С (Rokneddine, 2004; Jimenez-Melero et al., 2007; Jimenez-Melero et al., 2012), Но результаты наших экспериментальных исследований, подтверждаемые аналогичными данными для природных популяций этого вида (Jimenez-Melero et al., 2013), свидетельствуют о том, что при температурах выше 20 °С прирост популяции *A. salinus* снижается, так как происходит задержка, но не полная остановка развития *A. salinus*. Поэтому можно считать, что оптимальной температурой для развития *A. salinus* в экспериментальных условиях является 21 °С.

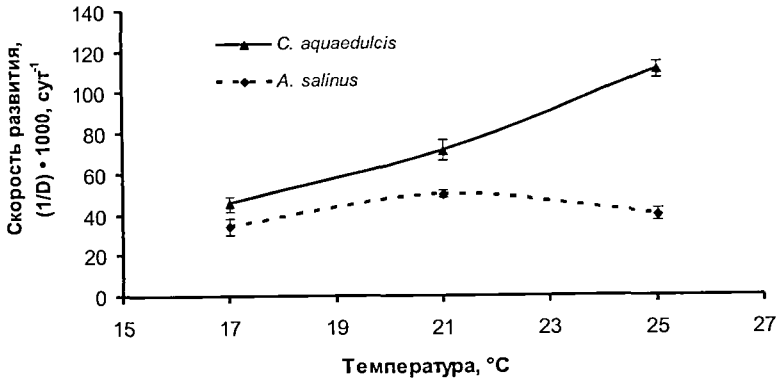


Рис. 1. Влияние температуры культивирования на скорость развития (1/D) копепоид *Calanipeda aquaedulcis* и *Arctodiaptomus salinus* ($p < 0,05$)

Сравнение длительности развития особей копепоид *C. aquaedulcis* и *A. salinus* в температурном диапазоне 17 – 25 °С (табл. 2) позволило выявить как общие с каляноидными копеподами закономерности развития изученных видов, так и видоспецифические особенности, проявляющиеся в последовательном увеличении продолжительности развития от ранних науплиальных до старших копепоидитных стадий и в более короткой длительности развития самцов по сравнению с развитием самок при трёх температурных режимах. Различия между двумя изученными видами копепоид заключаются в том, что развитие *C. aquaedulcis* при любой температуре проходит быстрее, чем *A. salinus*, и в том, что оптимум скорости развития *A. salinus* приходится на более низкие температуры, чем *C. aquaedulcis*.

На основании определенных нами размерных характеристик *C. aquaedulcis* (науплиальные стадии от 0,12 до 0,36, копепоидитные – от 0,46 до 1,02, взрослые от 1,05 до 1,20 мм) и *A. salinus* (науплиальные стадии 0,21 до 0,45, копепоидитные – от 0,57 до 1,18, взрослые – от 1,29 до 1,39 мм) рассчитана масса копепоид на всех стадиях их развития. Достоверных отличий размерных характеристик

C. aquaedulcis и *A. salinus* в зависимости от температуры в диапазоне 21 – 25 °С не зарегистрировано.

Таким образом, на основании выполненных нами исследований выделены температурные оптимумы культивирования копепод: 25 °С – *C. aquaedulcis*, и 21 °С – *A. salinus*, при которых значительно сокращается общая продолжительность развития и получена наиболее высокая плодовитость особей.

ВЛИЯНИЕ ТРОФИЧЕСКИХ УСЛОВИЙ НА ПРОДУКЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ КОПЕПОД *CALANIPEDA AQUAEDULCIS* И *ARCTODIAPTOMUS SALINUS*

Питание и суточные рационы копепод *C. aquaedulcis* и *A. salinus* исследованы при кормлении разными видами микроводорослей. Все виды водорослей, использованные в экспериментах, несмотря на размерные и морфологические различия, оказались доступными для питания *C. aquaedulcis* и *A. salinus*. Наибольшие величины потребления микроводорослей копеподами *C. aquaedulcis* и *A. salinus* получены при кормлении мелкими водорослями *Ph. tricorutum* и *I. galbana*, а наименьшие – при питании крупными Dinophyceae, т.е. суточные рационы копепод возрастают по мере уменьшения размеров водорослей. С увеличением концентрации *I. galbana* от 0,005 до 0,07 мг·мл⁻¹ суточный рацион у *C. aquaedulcis* увеличивался от 0,004 до 0,023 и у *A. salinus* – от 0,008 до 0,046 мг·экз⁻¹·сут⁻¹. Дальнейшее повышение концентрации клеток *I. galbana* до 0,23 мг·мл⁻¹ сопровождалось снижением рационов у *C. aquaedulcis* до 0,009, у *A. salinus* – до 0,014 мг·экз⁻¹·сут⁻¹ (рис. 2).

При кормлении рачков более крупными микроводорослями *P. cordatum* определено, что с повышением их концентрации от 0,001 до 0,03 мг·мл⁻¹ суточный рацион у *C. aquaedulcis* возрастал с 0,003 до 0,013, у *A. salinus* – с 0,004 до 0,025 мг·экз⁻¹·сут⁻¹. Дальнейшее повышение концентрации клеток *P. cordatum* приводило к стабилизации рациона *A. salinus* и незначительному снижению рациона *C. aquaedulcis* (рис. 3).

Выявленные нами особенности питания двух видов копепод соответствуют классической зависимости между концентрацией пищи в среде и скоростью ее потребления копеподами до критической концентрации, выше которой их рацион уменьшается или остается неизменным (Ивлев, 1977; Сущеня, 1975). Полученные нами в экспериментах данные по количественным характеристикам питания копепод, в целом, соответствуют описанным ранее для других видов копепод, но максимальные рационы изученных копепод оказываются выше таковых, определенных для ряда морских видов каляноидных копепод (Арашкевич, Дриц, 1984; Ковалева, 1987; Кукина, 1975). При одинаковых исходных концентрациях микроводорослей суточный рацион и уровни критических концентраций у *A. salinus* выше, чем у *C. aquaedulcis* для всех видов и концентраций микроводорослей, что, по-видимому, обусловлено большей массой первого (11 – 17 мкг сух. массы против 4 – 6 мкг у второго).

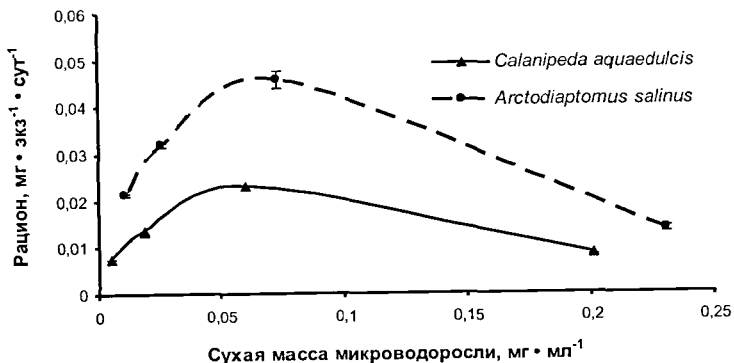
Isochrysis galbana

Рис. 2. Рацион копепод (R , мг сух. м. · экз⁻¹ · сут⁻¹) *Calanipeda aquaedulcis* и *Arctodiaptomus salinus* в зависимости от концентрации *Isochrysis galbana* в среде ($p < 0,05$)

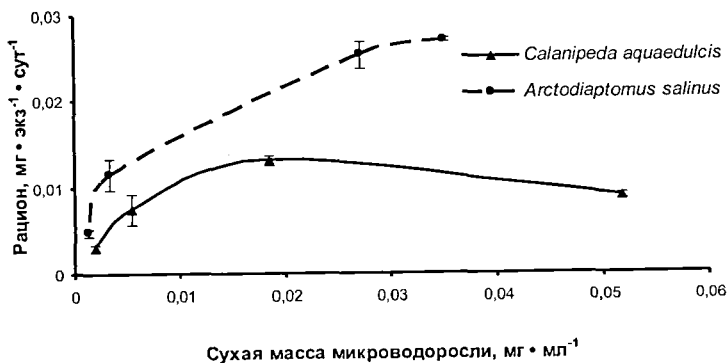
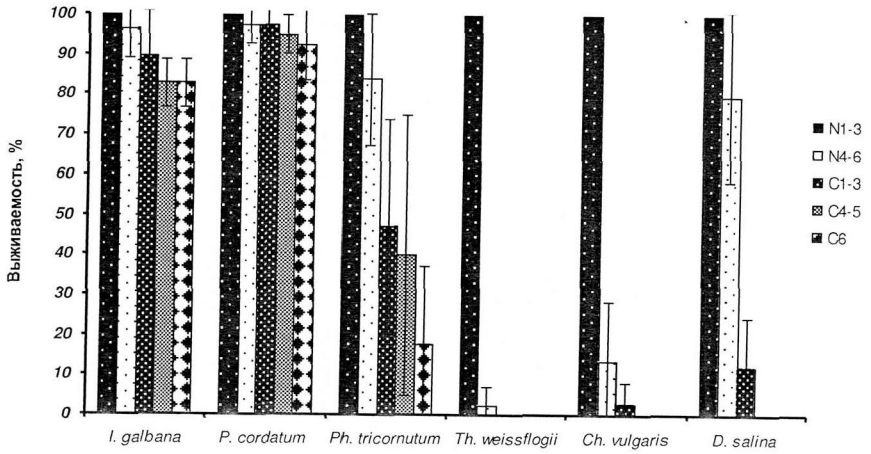
Prorocentrum cordatum

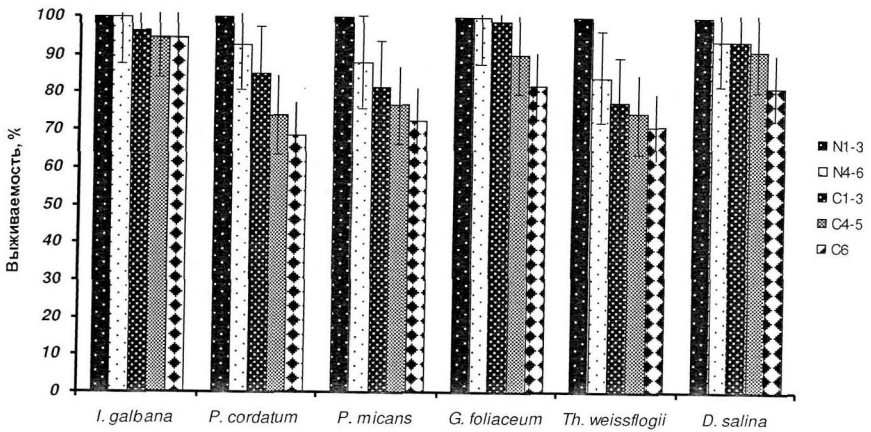
Рис. 3. Рацион (R , мг сух. м. · экз⁻¹ · сут⁻¹) копепод *Calanipeda aquaedulcis* и *Arctodiaptomus salinus* в зависимости от концентрации *Prorocentrum cordatum* в среде ($p < 0,05$)

Несмотря на то, что копеподы обоих видов активно потребляли все микроводоросли, развитие *C. aquaedulcis* при питании монокультурами *Ch. vulgaris*, *D. salina*, *Th. weissflogii* останавливалось на ранних стадиях. Полное развитие *C. aquaedulcis* до достижения половозрелости (стадии С6) происходило только при питании монокультурами микроводорослей *P. cordatum*, *I. galbana* и *Ph. tricornutum*. Процент выживаемости *C. aquaedulcis* на протяжении линек от

стадии N1 до С6 также зависел от вида микроводорослей и составлял при питании *P. cordatum* 92,5 %, при питании *I. galbana* – 83 % и при питании *Ph. tricorutum* – 17,8 % (рис. 4 – I).



I

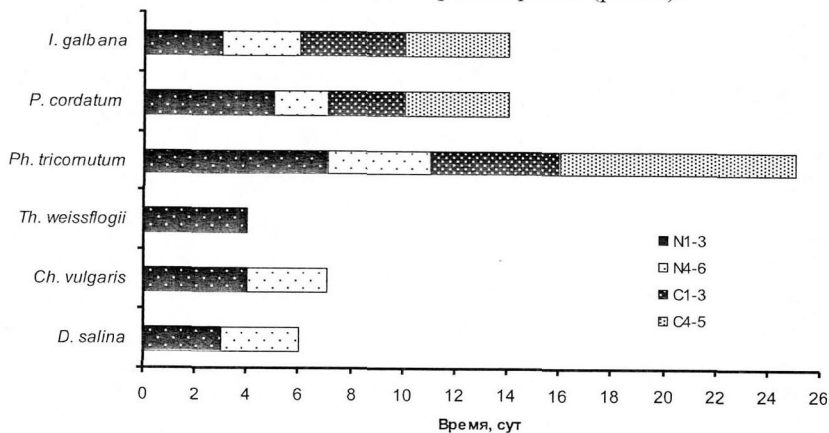


II

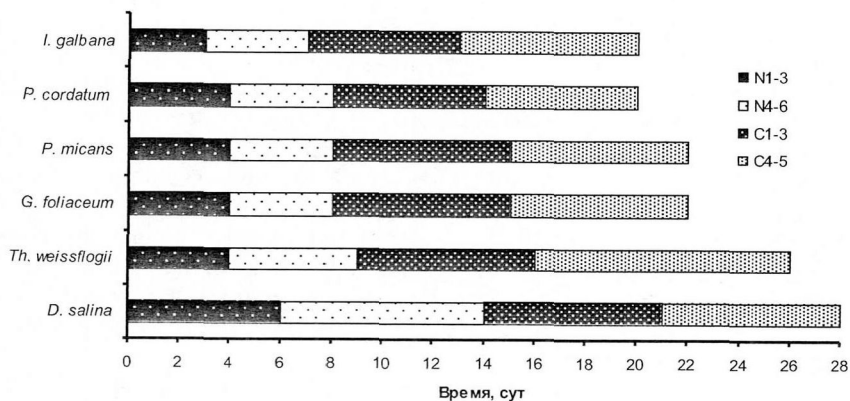
Рис. 4. Выживаемость копепод *Calanipeda aquaedulcis* (I) и *Arctodiaptomus salinus* (II) в эксперименте в зависимости от питания микроводорослями различных видов

Напротив, копеподы *A. salinus* успешно развивались на всех стадиях онтогенеза и достигали половозрелости при питании всеми предложенными видами микроводорослей. Выживаемость *A. salinus* на протяжении всех линек от

стадии N1 до С6 была максимальна (94,5 %) при питании *I. galbana* (рис. 4 – II). Продолжительность развития копепоид как на науплиальных, так и копепоидитных стадиях зависела от вида микроводоросли (рис. 5).



I



II

Рис. 5. Продолжительность развития копепоид *Calanipeda aquaedulcis* (I) и *Arctodiaptomus salinus* (II) от N1 до взрослой стадии (С6) в эксперименте в зависимости от питания микроводорослями различных видов ($p < 0,05$)

Питание *C. aquaedulcis* микроводорослями *Ch. vulgaris* и *D. salina* обеспечивало развитие копепоид только до стадии С3, при питании *Th. weissflogii* развитие останавливалось на науплиальной стадии N6. Полный цикл развития *C. aquaedulcis* обеспечивало питание микроводорослями *I. galbana* и *P. cordatum*, при котором продолжительность их развития составила 14 сут, а также питание *Ph. tricorutum*, которое, однако, приводило к его удлинению вдвое – до 25 сут (рис. 5 – I). Продолжительность развития более крупного *A. salinus* при питании

любыми видами микроводорослей закономерно оказалась значительно больше, чем *C. aquaedulcis*, (рис. 5 – II). Так же как и у *C. aquaedulcis*, развитие *A. salinus* наиболее быстро (за 20 сут) происходило при питании *I. galbana* и *P. cordatum*, питание *P. micans* и *G. foliaceum* увеличивало длительность развития до половозрелой стадии на 2 суток, а при питании *Th. weissflogii* и *D. salina* она увеличивалась до 26 и 28 сут, соответственно. Полученные результаты указывают как на видоспецифичное влияние микроводорослей на развитие обоих видов копепод, так и на видоспецифичную реакцию копепод *C. aquaedulcis* и *A. salinus* на питание разными видами микроводорослей.

Наиболее высокие значения выживаемости (свыше 80 %) на протяжении всего периода жизненного цикла обоих видов копепод получены при их питании микроводорослями *I. galbana*. Питание мелкоразмерными *I. galbana*, с высоким содержанием высоконенасыщенной жирной кислоты (ВНЖК) ДГК (22:6n-3, докозагексасеновой кислоты; Renaud et al., 1999) оказалось оптимальным для развития младших науплиальных стадий копепод, но задерживало развитие старших науплиальных и младших копеподитных стадий в сравнении особями, питающимися крупноразмерными *P. cordatum* с высоким содержанием ДГК и ЭПК (20:5n-3, эйкозапентаеновой) (Laabir et al., 2001).

Наименьшая продолжительность науплиального периода развития обоих видов копепод также отмечена при питании *I. galbana*, а копеподитного периода – при питании *P. cordatum*. Сокращение длительности развития в науплиальном периоде и удлинение копеподитного периода при питании *I. galbana* компенсируются удлинением науплиального и сокращением копеподитного периода при питании *P. cordatum*. Поэтому продолжительность развития копепод оказывается одинаковой – наименьшей – при питании *C. aquaedulcis* и *A. salinus* монокультурами микроводорослей как *I. galbana*, так и *P. cordatum* – 14 и 20 суток, соответственно. У *A. salinus*, в отличие от *C. aquaedulcis*, отмечен высокий процент выживаемости при питании любыми из предложенных ему видов микроводорослей, что указывает на различия механизмов биохимической трансформации незаменимых компонентов пищи и разной потребности в них у копепод двух разных видов.

Нами обнаружены видоспецифичные различия в каротиноидном составе *A. salinus* и *C. aquaedulcis* (Ханайченко и др., 2014). Суммарное содержание каротиноидов у *A. salinus* выше и в их фракционном составе доминирует этерифицированный астаксантин (62,5 %), тогда как у *C. aquaedulcis* – свободный астаксантин (47,5 %). По-видимому, характер трансформации и накопления специфических каротиноидов из пищи одинакового каротиноидного состава (одних и тех же видов микроводорослей) у изученных нами видов различается. Копеподы *C. aquaedulcis*, вероятно, имеют более низкие потребности в этерифицированных формах астаксантина и, возможно, обладают более слабым метаболическим механизмом модификации поступающих с микроводорослями каротиноидов, до астаксантина и его этерифицированных форм по сравнению с *A. salinus*. Различия каротиноидного состава копепод предположительно связаны с особенностями биологии и стратегии размножения видов. *A. salinus* населяет как постоянные водоемы с большим градиентом

солености, так и временные, и может переживать полное пересыхание водоемов, так как способен производить как субитанные, так и покоящиеся яйца (Jimenez-Melero et al., 2013). *C. aquaedulcis*, напротив, обитает только в постоянных водоемах и размножается только субитанными яйцами (Maggione et al., 2006).

При оценке влияния трофических условий на продукционные характеристики копепод мы определяли среднюю длину самок копепод (общая длина просомы и абдомена), диаметр яиц, количество яиц, приходящееся на 1 самку (абсолютная плодовитость) и процент выклева в зависимости от питания микроводорослями разных таксономических групп (табл. 3). Хемотаксономический состав микроводорослей, которыми питаются самки копепод, безусловно, влияет на их репродуктивные характеристики, и особенно на жизнеспособность науплиусов копепод при выклеве. Нами проанализированы закономерности и различия успешного эмбрионального развития яиц копепод *C. aquaedulcis* и *A. salinus* в зависимости от питания продуцирующих яйца самок микроводорослями разных таксономических групп (рис. 6).

Таблица 3

Морфометрические характеристики, абсолютная плодовитость и процент выклева яиц в зависимости от микроводорослевой диеты самок *Calanipeda aquaedulcis* и *Arctodiaptomus salinus*

Микроводоросли	Средняя длина самок, мм	Средний диаметр яиц, мкм	Абсолютная плодовитость, яиц · самку ¹	Выклев, %
<i>C. aquaedulcis</i>				
<i>Isochrysis galbana</i>	1,24 ± 0,02	88 ± 8	24,2 ± 1,8	100
<i>Prorocentrum cordatum</i>	1,22 ± 0,03	84 ± 8	19,8 ± 3,6	100
<i>Dunaliella salina</i>	1,23 ± 0,04	89 ± 10	19,9 ± 3,9	78,3 ± 18,6
<i>Phaeodactylum tricornerutum</i>	1,20 ± 0,03	84 ± 8	20,9 ± 3,2	100
<i>Thalassiosira weissflogii</i>	1,26 ± 0,02	88 ± 5	19,1 ± 2,2	51,1 ± 15,2
<i>A. salinus</i>				
<i>Isochrysis galbana</i>	1,52 ± 0,01	134 ± 5	10,3 ± 1,3	84,9 ± 7,3
<i>Prorocentrum cordatum</i>	1,38 ± 0,03	92 ± 4	16,4 ± 2,4	62,6 ± 10,1
<i>Prorocentrum micans</i>	1,44 ± 0,03	100 ± 7	13,8 ± 2,3	94,6 ± 3,7
<i>Glenodinium foliaceum</i>	1,33 ± 0,03	110 ± 5	12,0 ± 1,3	85,4 ± 4,7
<i>Dunaliella salina</i>	1,27 ± 0,02	101 ± 10	10,8 ± 0,7	1,7 ± 2,2
<i>Thalassiosira weissflogii</i>	1,36 ± 0,03	97 ± 1	12,7 ± 2,3	50,6 ± 8

Максимальный процент выклева науплиусов наблюдали при питании самок копепод обонх видов *I. galbana*; одинаковый процент выклева науплиев (около 50 %) отмечен при их питании *Th. weissflogii*. Однако питание микроводорослями, принадлежащими к разным видам и классам, по-разному влияло на выклев жизнеспособных науплиев у изученных видов копепод. Так, питание самок *A. salinus* микроводорослями *D. salina* приводило к снижению

выклева науплиев до 1,7 %, а при питании микроводорослями других видов процент выклева находился в диапазоне 51 – 84,9 %. При питании самок *C. aquaedulcis* зелеными микроводорослями *D. salina* выклев науплиев составлял 78,3% от яиц, а при питании примнезиофитовыми *I. galbana* и динофлагеллятами *P. cordatum* процент выклева науплиусов оказывался максимально возможным (100 %).

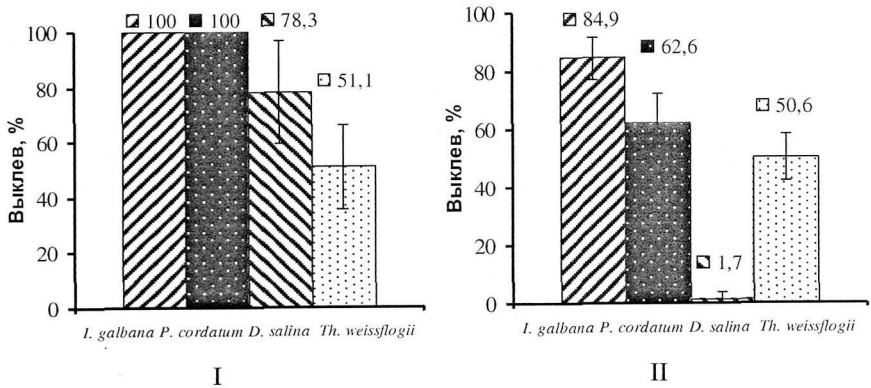


Рис. 6. Сравнительные диаграммы доли выклева жизнеспособных науплиев от общего количества яиц (выклев, %) у самок копепод *Calanipeda aquaedulcis* (I) и *Arctodiaptomus salinus* (II) в зависимости от питания микроводорослями: *Isochrysis galbana*, *Thalassiosira weissflogii*, *Prorocentrum cordatum* и *Dunaliella salina*

Репродуктивные характеристики самок копепод при питании монокультурой микроводорослей могут служить показателями биохимической адекватности кормового объекта пищевым потребностям копепод (Lacoste et al., 2001). Таксономический статус и, соответственно, хемотаксономические характеристики микроводорослей, входящих в состав пищи, влияли в наших опытах на продукцию яиц и выживаемость науплиев самок каляноидных копепод *C. aquaedulcis* и *A. salinus*.

Питание самок микроводорослями Prymnesiophyceae и Dinophyceae обеспечивало максимальный процент выклева науплиусов у обоих видов копепод. Питание самок микроводорослями Bacillariophyceae с высоким содержанием ЭПК, но дефицитными по ДГК (Zhukova, Aizdatcher, 1995) вдвое сокращало вероятность нормального эмбрионального развития у обоих видов копепод. При питании самок водорослями Chlorophyceae (*D. salina*) с низким содержанием ЭПК и ДГК, процент выклева яиц у *C. aquaedulcis* снижался незначительно, в то время как у *A. salinus* смертность эмбрионов приближалась к 100 %. Содержание и соотношение этих ЭПК и ДГК в составе микроводорослей, предположительно, является одним из основных хемотаксономических

факторов, оказывающих влияние на репродукционные характеристики каляноидных копепод (Ханайченко, 1999; Lacoste et al., 2001).

Продуцирование яиц самками *C. aquaedulcis* при питании оптимальным кормом *I. galbana* происходило в интервале от 15-суточного возраста (с момента достижения половозрелости) до возраста 34 сут, у самок *A. salinus* – с 21 сут (с момента достижения половозрелости) до 78 сут. Пик репродуктивного периода *C. aquaedulcis* приходился на 22 – 28 сут, а *A. salinus* – на 28 – 46 сут, после чего репродуктивная активность плавно снижалась. Интервал вымета яиц самками *C. aquaedulcis* составлял $3,2 \pm 0,6$ сут, *A. salinus* – $3,7 \pm 0,5$. Эмбриональное развитие яиц *C. aquaedulcis* при 21 °С занимало меньше суток, *A. salinus* – около трех суток. Среднесуточная продукция яиц (EP) за весь жизненный цикл у самки *C. aquaedulcis* (при индивидуальном культивировании) оказалась более чем вдвое выше ($4,10$ яйца·самка⁻¹·сут⁻¹), чем у *A. salinus* ($1,76$ яйца·самка⁻¹·сут⁻¹), однако период размножения самок *A. salinus* был в два раза дольше, чем *C. aquaedulcis*, что объясняется более длительным жизненным циклом *A. salinus*.

Максимальная среднесуточная плодовитость солоноватоводных копепод *C. aquaedulcis* ($9,12$ яйца·самка⁻¹·сут⁻¹) почти вдвое ниже, чем у сходного с ними по размерным характеристикам морского вида копепод – *Acartia tonsa* (20 яиц·самка⁻¹·сут⁻¹) (Ханайченко, 1999), но это различие компенсируется более высокой выживаемостью науплиев *C. aquaedulcis* в яйцевых мешках и более высокой выживаемостью особей в течение жизненного цикла.

Результаты наших исследований показали, что монокультуры микроводорослей *P. cordatum* и *I. galbana* являются оптимальными кормовыми объектами для продуцирования яиц самками *C. aquaedulcis*, выживаемости и скорости развития этих копепод на всем протяжении онтогенеза. Монокультуры микроводорослей классов Chlorophyceae и Bacillariophyceae, по-видимому, не удовлетворяют полностью потребностей *C. aquaedulcis* по незаменимым компонентам пищи для роста и развития определенных стадий копепод и поэтому оказываются не подходящими для использования в качестве пищевых объектов при культивировании данного вида.

ПРОДУКЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ КОПЕПОД *CALANIPEDA AQUAEDULCIS* И *ARCTODIAPTOMUS SALINUS*

Экспериментальные данные, полученные при пилотном культивировании *C. aquaedulcis* и *A. salinus* в объемах 1 л (рис. 7), подтверждают особенности, которые были выявлены при индивидуальном выращивании этих копепод от науплиальной до взрослой стадии. Оптимальный температурный режим для роста массовой культуры *C. aquaedulcis* приходится на более высокую температуру, чем у *A. salinus*. Различия в температурных оптимумах роста биомассы у двух видов копепод можно объяснить разной скоростью развития особей этих видов в зависимости от температуры. Так, повышение температуры до 25 °С приводит к сокращению продолжительности развития *C. aquaedulcis*, тогда как для *A. salinus* повышение температуры более 21 °С, напротив, замедляет их развитие.

Для разработки методов массового выращивания копепоид с целью получения их массовой продукции для кормления личинок рыб изучен рост культур *C. aquaedulcis* и *A. salinus* и определены суточные приросты их биомассы в объемах 40 и 600 л. В объеме 40 л в течение 25 сут суточный прирост сухой биомассы копепоид *C. aquaedulcis* составил 0,32, а *A. salinus* – 0,394 мг·л⁻¹.

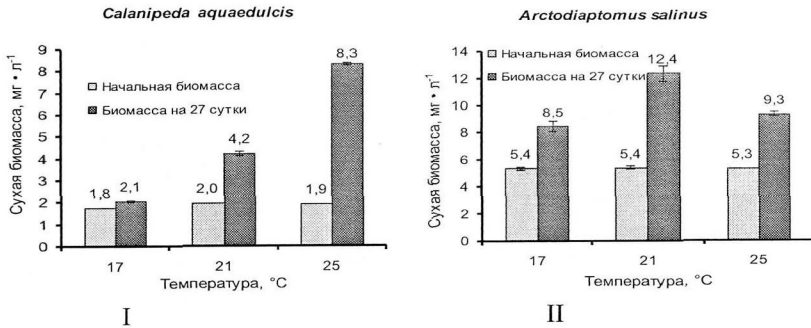


Рис. 7. Динамика роста сухой биомассы копепоид *Calanipeda aquaedulcis* и *Arctodiaptomus salinus* при разных температурных режимах культивирования

В смешанной культуре двух видов копепоид (в объеме 600 л при 21 °C) от исходного соотношения равной плотности *A. salinus* и *C. aquaedulcis* (154 и 152 экз·л⁻¹, соответственно), но при вдвое большей сухой биомассе первого вида (0,47 и 0,21 мг·л⁻¹, соответственно), через 27 сут получена одинаковая биомасса обоих видов (1,36 и 1,33 мг·л⁻¹, соответственно) (рис. 8). За счет более высокой скорости развития и продуцирования яиц численность более мелкого вида копепоид начинала преобладать над более крупным: конечная плотность *C. aquaedulcis* в итоге составила 930 экз·л⁻¹, а *A. salinus* – 250 экз·л⁻¹, среднесуточный же прирост биомассы *C. aquaedulcis* превышал таковой *A. salinus* (0,043 и 0,034 мг·л⁻¹, соответственно), тогда как суточный прирост общей биомассы двух видов составил около 0,08 мг·л⁻¹.

Самая высокая удельная скорость роста (C_w) на всех стадиях жизненного цикла копепоид *C. aquaedulcis* была достигнута при температуре 25 °C (C_w N1 – C5 – 0,75 сут⁻¹) и при питании *I. galbana* (0,42 и 0,13 сут⁻¹ на стадиях N1 – N3 и C4 – C6, соответственно) и *P. cordatum* (1,35, 0,5 и 0,13 сут⁻¹ на стадиях N4 – N6, C1 – C3 и C4 – C6, соответственно). У *A. salinus*, в отличие от *C. aquaedulcis*, наиболее высокую удельную скорость роста наблюдали для стадий N1 – N3, C1 – C3 и C4 – C6 при 21 °C (0,26, 0,26 и 0,11 сут⁻¹, соответственно), а для стадий N4 – N6 – 0,70 сут⁻¹ при 25 °C, а также при питании *I. galbana* (0,26, 0,65 и 0,26 сут⁻¹ на стадиях N1 – N3, N4 – N6, C1 – C3, соответственно), *P. cordatum* (0,65, 0,26 и 0,12 сут⁻¹ на стадиях N4 – N6, C1 – C3, C4 – C6, соответственно), *P. micans* – 0,65 сут⁻¹ (N4 – N6) и *G. foliaceum* – 0,65 сут⁻¹ (N4 – N6). Среди всех жизненных стадий *C. aquaedulcis* и *A. salinus* при питании любой из рассмотренных микроводорослевых диет в температурном диапазоне 17 – 25 °C

наиболее высокая удельная скорость роста получена на отрезке старших науплиальных стадий N4 – N6. Влияние вида микроводорослей на удельную скорость роста зависит как от качественных характеристик микроводоросли, так и от стадии развития копепоид.

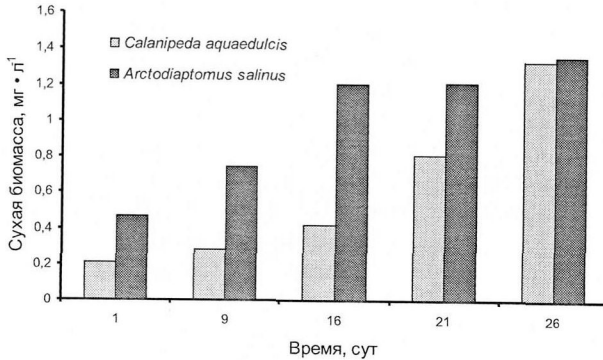


Рис. 8. Рост сухой биомассы копепоид *Calanipeda aquaedulcis* и *Arctodiaptomus salinus* (по компонентам) в смешанной культуре в объеме 600 л

Так, при оптимальной для *A. salinus* температуре 21 °С максимальная удельная скорость его роста на протяжении стадий N1 – C5 составляет 0,29, а *C. aquaedulcis* – 0,43 сут⁻¹ и у последнего вида она возрастает до 0,75 сут⁻¹ при оптимальной для его развития температуре (25 °С). Максимальная суточная продукция (Pt) *C. aquaedulcis* при питании *I. galbana* (в объеме 1 л) составила 0,24 мг·сут⁻¹·л⁻¹ при 25 °С, минимальная – 0,01 мг·сут⁻¹·л⁻¹ при 17 °С. Для *A. salinus* наиболее высокие значения продукции получены при 21 °С (0,26 мг·сут⁻¹·л⁻¹), самые низкие (0,11 мг·сут⁻¹·л⁻¹) – при 17 °С. Наиболее высокие значения среднесуточного коэффициента Р/В при питании смесью микроводорослей (в объеме 40 л) составили 0,073 – для монокультур *C. aquaedulcis* и *A. salinus* при 21 °С. Учитывая, что в целом для копепоид Р/В колеблется от 0,05 до 0,2 (Заика, 1983; Сажина, 1987; Сажина, 1996), Р/В для *C. aquaedulcis* и *A. salinus* имеет более низкие значения по сравнению с другими видами каляноидных копепоид.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные в экспериментальных условиях данные по влиянию температуры и трофического фактора на продукционные характеристики двух убиквитных видов копепоид *Calanipeda aquaedulcis* и *Arctodiaptomus salinus* включают новые сведения и могут быть использованы для понимания жизненных стратегий и ареалов видов из двух таксономически и экологически близких семейств. Различие между ними заключается в том, что развитие *C. aquaedulcis* в температурном диапазоне 17 – 25 °С проходит быстрее, чем *A. salinus*, и оптимум скорости развития *A. salinus* приходится на более низкие температуры, чем *C. aquaedulcis*. Иными словами, температурный оптимум

развития *A. salinus* сдвинут в сторону умеренных температур, *C. aquaedulcis* – в сторону высоких. Полученные для *C. aquaedulcis* и *A. salinus* данные по влиянию питания микроводорослями разных таксонов на такие характеристики как длительность развития и выживаемость в эмбриональный и пост-эмбриональный период, подтвердили тенденцию, выявленную ранее для некоторых видов морских каляноидных копепод, что наиболее оптимальными микроводорослями для развития и выживаемости, и, следовательно, продукции копепод являются микроводоросли *I. galbana* и *P. cordatum*.

Обнаруженные нами видоспецифические особенности влияния температуры и хемотаксономических характеристик микроводорослей на жизнеспособность эмбрионов и развитие копепод в процессе онтогенеза, по-видимому, обусловлены различиями в репродуктивной стратегии видов. Для *C. aquaedulcis*, размножающегося только субитанными яйцами, населяющего постоянные водоемы, обитающего на небольших, легко прогреваемых глубинах, важна быстрота популяционного роста, реализуемая в результате быстрого развития и скорости продуцирования яиц, развивающихся в большое количество науплиев даже при нестабильном источнике питания самок. Для копепод *A. salinus*, населяющего как постоянные минерализованные озера с большими глубинами с большими перепадами температур, так и временные пересыхающие соленые водоемы, важна способность к высокой выживаемости в процессе жизненного цикла вне зависимости от источника пищи, т.е. более высокая пищевая лабильность в процессе развития, а жизнеспособность эмбрионов *A. salinus*, должна быть обеспечена высоким содержанием эссенциальными компонентами.

ВЫВОДЫ

На основании результатов исследования влияния трофического и температурного факторов на продукционные характеристики копепод двух видов *Calanipeda aquaedulcis* и *Arctodiaptomus salinus* установлены оптимальные условия для наиболее эффективного получения их продукции.

1. Выживаемость копепод изученных видов на протяжении онтогенеза зависит от вида микроводорослей, которыми они питаются. Максимальная выживаемость копепод на протяжении развития от N1 до C6 для *Calanipeda aquaedulcis* обеспечивается при питании *Prorocentrum cordatum* ($92,5 \pm 8,9 \%$) и *Isochrysis galbana* ($82,9 \pm 5,9 \%$), для *Arctodiaptomus salinus* - *Isochrysis galbana* ($94,5 \pm 6,1 \%$).

2. Минимальная длительность развития от N1 до C6 составляет для *Calanipeda aquaedulcis* – 9 сут при $25 \pm 1,5 \text{ }^\circ\text{C}$, для *Arctodiaptomus salinus* – 20 сут при $21 \pm 1,5 \text{ }^\circ\text{C}$ и питании копепод микроводорослями *Isochrysis galbana* и *Prorocentrum cordatum*.

3. Суточный рацион *Calanipeda aquaedulcis* и *Arctodiaptomus salinus* увеличивается до максимального, соответственно, $0,023$ и $0,046 \text{ мг} \cdot \text{экз}^{-1} \cdot \text{сут}^{-1}$, при достижении концентрации *Isochrysis galbana* $0,06 \text{ мг} \cdot \text{мл}^{-1}$. Повышение концентрации *I. galbana* до $0,2 \text{ мг} \cdot \text{мл}^{-1}$ сопровождается снижением интенсивности питания *C. aquaedulcis* до $0,009$, а *A. salinus* – до $0,014 \text{ мг} \cdot \text{экз}^{-1} \cdot \text{сут}^{-1}$.

4. Суммарная плодовитость самок копепод *Calanipeda aquaedulcis* за репродуктивный период при оптимальных трофических условиях и температуре $21 \pm 1,5$ °C составляет $149,53 \pm 2,1$ яиц·самку⁻¹, а у *Arctodiaptomus salinus* - $151,76 \pm 3,7$ яиц·самку⁻¹. Среднесуточная плодовитость самок за жизненный цикл при оптимальных трофических условиях и температуре $21 \pm 1,5$ °C составляет $4,10 \pm 0,64$ для *C. aquaedulcis* и $1,76 \pm 0,10$ яиц·самку⁻¹ для *Arctodiaptomus salinus*.

5. На жизнеспособность яиц *Arctodiaptomus salinus*, в отличие от *Calanipeda aquaedulcis*, вид микроводоросли, которыми питаются самки, оказывает значительное влияние. Питание самок *Isochrysis galbana* и *Prorocentrum cordatum* обеспечивает максимальный процент выклева яиц: *Calanipeda aquaedulcis* – 100%, *Arctodiaptomus salinus* – 85 и 63 %, соответственно. Питание самок *Dunaliella salina* приводит у *A. salinus* к нежизнеспособности 98 % яиц, но у *C. aquaedulcis* снижает их выклев только до 50 %.

6. Максимальная среднесуточная продукция (Pt) копепод достигается для *Calanipeda aquaedulcis* при $25 \pm 1,5$ °C и составляет $0,24$ мг·сут⁻¹·л⁻¹, для *Arctodiaptomus salinus* при $21 \pm 1,5$ °C – $0,26$ мг·сут⁻¹·л⁻¹.

7. Разработанная методика накопительного культивирования копепод *Calanipeda aquaedulcis* и *Arctodiaptomus salinus* в оптимальных трофических и температурных условиях может быть рекомендована для внедрения в биотехнологию культивирования ракообразных с целью получения за определенный срок массового количества кормового планктона однородного возрастного, размерного и биохимического состава.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в изданиях, рекомендованных ВАК:

1. Литвинюк Д.А. Определение доли живых организмов в культуре копеподы *Calanipeda aquaedulcis* после их окраски нейтральным красным и диацетатом флуоресценна / Д.А. Литвинюк, Л.О. Аганесова, В.С. Муханов // Экология моря: сб. науч. тр. – Киев, 2009. – Вып. 78 – С. 65 – 69.
2. Аганесова Л.О. Выживаемость и длительность развития копепод *Calanipeda aquaedulcis* и *Arctodiaptomus salinus* в зависимости от питания микроводорослями разных таксономических групп / Л.О. Аганесова // Морской экологический журнал – 2011. – Т. 10, № 2. – С. 27 – 33.
3. Аганесова Л.О. Репродуктивные характеристики самок копепод *Calanipeda aquaedulcis* и *Arctodiaptomus salinus* при питании микроводорослями разных таксономических групп / Л.О. Аганесова // Морской экологический журнал – 2011. – Отд. вып. № 2. – С. 7 – 10.
4. Аганесова Л.О. Длительность развития копепод *Calanipeda aquaedulcis* и *Arctodiaptomus salinus* при разном температурном режиме культивирования / Л.О. Аганесова // Морской экологический журнал – 2013. – Т. 12, № 1. – С. 19 – 25.
5. Каротиноидный состав каляноидных копепод *Calanipeda aquaedulcis* и *Arctodiaptomus salinus* при питании *Dunaliella salina* / А.Н. Ханайченко,

Н.В. Поспелова, **Л.О. Аганесова**, Т.В. Рауэн // Морской экологический журнал – 2014. – Т. 13, № 1. – С. 82 – 87.

6. Partitioning of respiratory energy and environmental tolerance in the copepods *Calanipeda aquaedulcis* and *Arctodiaptomus salinus* / L. Svetlichny, A. Khanaychenko, E. Hubareva, **L. Aganesova** // Estuarine, Coastal and Shelf Science. – 2012. – Vol. 114. – P. 199 – 207.

Патенты:

7. Пат. № 81055 Ua, МПК А01К 61/00 Спосіб культивування каляноїдних копепод *Arctodiaptomus salinus* (Daday) / **Л.О. Аганесова** // Заявник Інститут біології південних морів. – № 201212034; Заявлено 19.10.2012. Опубл. 25.06.2013. Бюл. №12. – 4 с.

Материалы и тезисы конференций:

8. Литвинюк Д.А. Сравнение методов определения доли живых особей в культуре копепод *Calanipeda aquaedulcis* / Д.А. Литвинюк, **Л.О. Аганесова** // Понт Эвксинский 6 : тез. 6^й междунар. науч.- практ. конф. мол. учёных по проблемам водных экосистем (Севастополь, 21 – 24 сент. 2009 г.). – Севастополь, 2009. – С. 70 – 72.

9. **Аганесова Л.О.** Репродуктивные характеристики самок копепод *Calanipeda aquaedulcis* и *Arctodiaptomus salinus* в зависимости от питания микроводорослями разных таксономических групп / Л.О. Аганесова // Pontus Euxinus 2011 : тез. 7^{ой} междунар. науч.- практ. конф. мол. учёных по проблемам водных экосистем, посвящ. 140-летию Ин-та биологии юж. морей НАН Украины (Севастополь, 24 – 27 мая 2011 г.). – Севастополь, 2011. – С. 18 – 19.

10. **Аганесова Л.О.** Определение рациона копепод *Arctodiaptomus salinus* и *Calanipeda aquaedulcis* при питании микроводорослями разных таксономических групп / Л.О. Аганесова // Понт Эвксинский 2013 : тез. 8^й междунар. науч.-практик. конф. мол. учёных по проблемам водных экосистем, посвящ. 50-летию образования Ин-та биологии юж. морей НАН Украины (Севастополь, 1 – 4 октября 2013 г.). – Севастополь, 2013. – С. 12 – 13.

АННОТАЦИЯ

Аганесова Л.О. Продукционные характеристики копепод *Calanipeda aquaedulcis* и *Arctodiaptomus salinus* в условиях искусственного выращивания. – Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.10 – гидробиология. – Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского, Севастополь, 2014.

В диссертации впервые исследованы продукционные характеристики двух видов каляноидных копепод *Calanipeda aquaedulcis* и *Arctodiaptomus salinus* в широком диапазоне температур (17 – 25 °С) при питании 8 видами микроводорослей, относящихся к классам Bacillariophyceae, Chlorophyceae, Tribouxiophyceae, Dinophyceae, Prymnesiophyceae. Выявлены межвидовые различия закономерности роста копепод в зависимости от температуры и

питания. Развитие *C. aquaedulcis* при любой температуре в указанном температурном диапазоне проходит быстрее, чем *A. salinus*, и максимальная скорость развития *A. salinus* приходится на более низкие температуры (21 °C), чем *C. aquaedulcis* (25 °C). В отличие от *A. salinus*, развитие которого от первой науплиальной стадии до половозрелости происходило при питании любыми микроводорослями, полное развитие *C. aquaedulcis* до стадии C6 – только при их питании *P. cordatum*, *I. galbana* и *Ph. tricornutum*. Минимальная скорость развития и максимальная выживаемость обоих видов копепод была получена при питании *I. galbana* или *P. cordatum*. Хемотаксономический состав микроводорослей, которыми питаются самки *C. aquaedulcis* и *A. salinus*, оказывает значительное влияние на процент выклева яиц, который оказался максимальным при питании *I. galbana*. В оптимальных трофических условиях суточная продукция яиц (EP) *C. aquaedulcis* была в два раза выше, чем *A. salinus*, но из-за более длительного жизненного цикла репродуктивный период *A. salinus* длился в два раза дольше, чем *C. aquaedulcis*. Максимальная среднесуточная продукция (Pt) при питании монокультурами достигается *C. aquaedulcis* при 25 °C и составляет 0,24 мг·сут⁻¹·л⁻¹, для *A. salinus* при 21 °C – 0,26 мг·сут⁻¹·л⁻¹.

Ключевые слова: копеподы, *Calanipeda aquaedulcis*, *Arctodiaptomus salinus*, культивирование, продукционные характеристики, развитие, температура, питание микроводорослями.

SUMMARY

Aganesova L.O. Production characteristics of the copepods *Calanipeda aquaedulcis* and *Arctodiaptomus salinus* in experimental cultivation conditions. – Manuscript.

Thesis for PhD degree in speciality 03.02.10 – hydrobiology. – Institute of Biology of the Southern Seas, Sevastopol, 2014.

For the first time in this PhD Thesis the production characteristics of two species of Calanoida copepods – *Calanipeda aquaedulcis* and *Arctodiaptomus salinus* were studied under wide range of temperature (17 – 25 °C) and trophic conditions (feeding on 8 species of microalgae belonging to Bacillariophyceae, Chlorophyceae, Tribouxiophyceae, Dinophyceae, Prymnesiophyceae). Interspecific differences of growth of copepods depending on temperature and microalgae diet were revealed. Development of *C. aquaedulcis* is faster than that of *A. salinus* at any temperature within the specified temperature range; highest development rate of *A. salinus* falls on the lower temperature (21 °C) than that of *C. aquaedulcis* (25 °C). Unlike *A. salinus*, whose development from the first naupliar stage to maturity took place at any microalgae diet, the full development of *C. aquaedulcis* to stage C6 occurred only when they fed on *P. cordatum*, *I. galbana* and *Ph. tricornutum*. Minimum development rate and maximum survival during development of both copepods on monodiets was obtained with *I. galbana*, or *P. cordatum*. Chemotaxonomic composition of microalgae, which female fed (on maternal diet) had more significant impact on the eggs hatching rate of *A. salinus* than on that of *C. aquaedulcis*. Highest egg hatching rate was found when females of both copepod species fed on *I. galbana*. Maximum daily egg production (EP) of *C. aquaedulcis* was twice higher than

A. salinus under optimum trophic conditions, but due to a twice longer life cycle and reproductive period of *A. salinus* females the total egg production was equal to that of *C. aquaedulcis*. Maximum daily production (Pt) of copepods fed monoalgal cultures was obtained for *C. aquaedulcis* at 25 °C – 0,24 mg·day⁻¹·l⁻¹, for *Arctodiaptomus salinus* at 21 °C – 0,26 mg·day⁻¹·l⁻¹.

Keywords: copepods, *Calanipeda aquaedulcis*, *Arctodiaptomus salinus*, cultivation, production characteristics, development, temperature, microalgae diet.

АНОТАЦІЯ

Аганесова Л.О. Продукційні характеристики копепод в умовах штучного вирощування. – Рукопись.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.02.10 – гідробіологія. – Інститут біології південних морів ім. О.О. Ковалевського, Севастополь, 2014.

В дисертації вперше досліджені продукційні характеристики двох видів каляноїдних копепод *Calanipeda aquaedulcis* і *Arctodiaptomus salinus* у широкому діапазоні температур (17 – 25 °C) при харчуванні 8 видами мікроводоростей, що відносяться до класів Bacillariophyceae, Chlorophyceae, Tribouxiophyceae, Dinophyceae, Prymnesiophyceae. Виявлено міжвидові відмінності закономірності росту копепод залежно від температури і харчування. Розвиток *C. aquaedulcis* при будь-якій температурі в зазначеному температурному діапазоні проходить швидше, ніж *A. salinus*, і максимальна швидкість розвитку *A. salinus* доводиться на більш низькі температури (21 °C), ніж *C. aquaedulcis* (25 °C). На відміну від *A. salinus*, розвиток якого від першої наупліальній стадії до статевозрілості відбувався при харчуванні будь-якими мікроводоростями, повний розвиток *C. aquaedulcis* до стадії С6 – тільки при їх живленні *P. cordatum*, *I. galbana* і *Ph. tricornutum*. Мінімальна швидкість розвитку і максимальна виживаність обох видів копепод була отримана при харчуванні *I. galbana* або *P. cordatum*. Хемотаксономічний склад мікроводоростей, якими харчуються самки *C. aquaedulcis* і *A. salinus*, робить значний вплив на відсоток виклева яєць, який виявився максимальним при харчуванні *I. galbana*. В оптимальних трофічних умовах добова продукція яєць (EP) *C. aquaedulcis* була в два рази вище, ніж *A. salinus*, але через більш тривалий життєвий цикл репродуктивний період *A. salinus* тривав в два рази довше, ніж *C. aquaedulcis*. Максимальна середньодобова продукція (Pt) при харчуванні монокультурами досягається *C. aquaedulcis* при 25 °C і становить 0,24 мг·доб⁻¹·л⁻¹, для *A. salinus* при 21 °C – 0,26 мг·доб⁻¹·л⁻¹.

Ключові слова: копеподы, *Calanipeda aquaedulcis*, *Arctodiaptomus salinus*, культивування, продукційні характеристики, розвиток, температура, харчування мікроводоростями.

**ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ ЮЖНЫХ МОРЕЙ
им. А.О. КОВАЛЕВСКОГО**

**АГАНЕСОВА
Лариса Олеговна**

**ПРОДУКЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ КОПЕПОД
CALANIPEDA AQUAEDULCIS И *ARCTODIAPTOMUS SALINUS* В УСЛОВИЯХ
ИСКУССТВЕННОГО ВЫРАЩИВАНИЯ**

03.02.10 – гидробиология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание учёной степени
кандидата биологических наук

Отпечатано ЧП Стрижак В.П.
Заказ 20/1. Печать цифровая. Тираж 100 экз.
Формат 64*90/16. Усл. печ. листов 1,4.
г. Севастополь, ул. Репина 21
Свидетельство государственной регистрации
серия ДК № 914 от 16.02.2002