

В. Е. КОКОВА

**НЕПРЕРЫВНОЕ
КУЛЬТИВИРОВАНИЕ
БЕСПОЗВОНОЧНЫХ**



ИЗДАТЕЛЬСТВО
«НАУКА»
СИБИРСКОЕ
ОТДЕЛЕНИЕ

АКАДЕМИЯ НАУК СССР
СИБИРСКОЕ ОТДЕЛЕНИЕ
ИНСТИТУТ БИОФИЗИКИ

<http://biotex.ibss.org.ua>

В. Е. КОКОВА

*НЕПРЕРЫВНОЕ
КУЛЬТИВИРОВАНИЕ
БЕСПОЗВОНОЧНЫХ*

Ответственный редактор
акад. АН СССР *И. А. Терсков*



ИЗДАТЕЛЬСТВО «НАУКА»
СИБИРСКОЕ ОТДЕЛЕНИЕ
Новосибирск · 1982

К о к о в а В. Е. Непрерывное культивирование беспозвоночных. — Новосибирск: Наука, 1982.

В монографии изложены метод и техника непрерывного культивирования свободноживущих простейших и простейших из рубца, коловороток и ветвистоусых рачков. Обеспечивая непрерывный рост и высокую продуктивность культуры различных беспозвоночных, предлагаемый метод может быть использован в научных (определение КПД биосинтеза популяций, исследование биохимического состава беспозвоночных и т. д.), а также в практических (выращивание живых кормов для личинок рыб и т. д.) целях.

Книга адресована зоологам, гидробиологам, ихтиологам, а также рыбоведам, токсикологам, специалистам по санитарной очистке вод и работникам сельского хозяйства.

Табл. 27. Ил. 87. Библиогр. 368.

Валентина Егоровна Кокова

**НЕПРЕРЫВНОЕ
КУЛЬТИВИРОВАНИЕ
БЕСПОЗВОНОЧНЫХ**

Ответственный редактор
Иван Александрович Терсков

Утверждено к печати
Институтом биофизики СО АН СССР

Редактор *Л. Б. Кулакова*
Художественный редактор *Т. Ф. Каминина*
Художник *А. И. Смирнов*
Технический редактор *Н. М. Остроумова*
Корректоры *В. В. Борисова, А. А. Надточий*

ИБ № 23066

Сдано в набор 9.10.81. Подписано к печати 26.06.82. МН-12041. Формат 60×90^{1/16}. Бумага типографская №1. Обыкновенная гарнитура. Высокая печать. Усл. печ. л. 10,5. Усл. кр.-отт. 10,7. Уч.-изд. л. 12. Тираж 1000 экз. Заказ № 749. Цена 1 р. 80 к.

Издательство «Наука», Сибирское отделение,
630099, Новосибирск, 99, Советская, 18.
4-я типография издательства «Наука».
630077, Новосибирск, 77, Станиславского, 25.

КУЛЬТИВИРОВАНИЕ ПРОСТЕЙШИХ

Простейшие — животные организмы, тело которых состоит из одной клетки. Они обитают в самых различных условиях среды.

Инфузории (Infusoria, или Ciliata) по сравнению с другими группами простейших имеют более сложное строение, что связано с разнообразием и сложностью их функций. Различают инфузорий свободноживущих и ведущих эндопаразитический образ жизни. Из последних особенно многочисленны и разнообразны населяющие кишечный тракт копытных животных.

МЕТОДЫ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ

Для изучения микроорганизмов и водных беспозвоночных животных, а также для получения их биомассы разработаны различные методы культивирования. Самый надежный, классический — метод периодического выращивания. Рост периодической культуры — сложный процесс непрерывного изменения условий ей самой и реагирование на это изменением физиологического состояния клеток. Популяцию помещают в сосуд, где при определенных температурах, газовом режиме и оптимальном корме она растет (рис. 1), проходя различные фазы развития. Время ее адаптации к заданным условиям содержания называют лаг-фазой. Длительность лаг-фазы зависит от характера предшествующей среды, свойств клеток и типа культивирования. По мнению некоторых авторов [Работнова, Позмогова, 1979], лаг-фаза возникает тогда, когда не соблюдаются оптимальные условия для роста посевного материала.

В период экспоненциальной фазы роста культура находится в постоянных условиях (достаточно источников питания, нет ингибирования

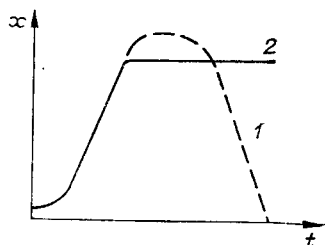


Рис. 1. Динамика плотности в периодической (1) и непрерывной (2) культуре микроорганизмов.

продуктами метаболизма) и растет с максимальной в данных условиях скоростью.

Затем следуют фазы замедления роста и стационарная. Стационарная фаза характеризуется глубоким голоданием или отравлением и ведет к отмиранию.

Для предотвращения гибели организмов берут инокулят из какой-либо фазы роста (экспоненциальной, стационарной) и помещают в свежую среду. Процесс повторяется. Данный метод широко используется в лабораторных условиях для поддержания живой культуры в музее, а также в рыбоводной практике.

Периодический метод позволяет моделировать и рассчитывать непрерывные процессы [Мельникова, Баснакьян, 1976] при условии, если он осуществляется в том же ферментере, что и непрерывный.

Полунепрерывный метод, при котором часть культуры удаляется через соответствующие промежутки времени и заменяется свежей питательной средой, поддерживает ее в одном и том же сосуде продолжительное время. Этот метод — переходный от периодического процесса к непрерывному.

При непрерывном методе постоянно поступает свежая среда и отводится суспензия, причем объем популяции сохраняется постоянным, при этом (см. рис. 1) наблюдается экспоненциальный рост популяции. Методы непрерывного культивирования микроорганизмов подробно описаны Н. Д. Иерусалимским (1963, 1966), И. Малекон (1968) и другими авторами.

Для ведения непрерывного процесса используют два способа. Первый получил название хемостата [Monod, 1950; Novick, Szilard, 1950]. При этом постоянная концентрация клеток в среде поддерживается устойчивой концентрацией в ней лимитирующего субстрата (например, источников углерода, азота и других веществ для микроорганизмов или корма для многоклеточных организмов). Регулирование ведется путем подбора скорости протока среды.

Второй способ — турбидостат, при котором автоматически регулируется скорость протока и соответственно скорость разбавления культуры при выбранном значении плотности популяции.

Один из основных критериев, определяющих состояние популяций при любом способе культивирования, — скорость роста. Различают общую, или валовую, и удельную, или относительную, скорость роста [Иерусалимский, 1963].

Валовая — W равна отношению прироста биомассы ко времени, в течение которого получен этот прирост:

$$W = \frac{dx}{dt}, \quad (1)$$

где dx — прирост биомассы за бесконечно малый промежуток времени dt .

Удельная скорость роста μ равна отношению валовой скорости роста W к концентрации биомассы:

$$\mu = \frac{W}{x} = \frac{1}{x} \cdot \frac{dx}{dt}. \quad (2)$$

В условиях нелIMITирующей среды удельная скорость роста достигает максимальной постоянной величины — μ_{\max} , которая зависит от внутренних свойств организма и условий окружения. В периодической культуре нелIMITирующие условия могут иметь место только в экспоненциальной фазе ее роста, когда

$$\frac{dx}{dt} = \mu x. \quad (3)$$

При проточном методе концентрация биомассы определяется не только приростом, но также и выносом ее части, зависящим от скорости разбавления D , т. е. скорости обмена среды

$$\frac{dx}{dt} = \mu x - Dx = (\mu - D)x. \quad (4)$$

В уравнении (4) скорость разбавления D равна отношению скорости протока (F , см³/ч) к объему культуры (V , см³):

$$D = \frac{F}{V}. \quad (5)$$

Скорость разбавления, так же как и удельная скорость роста, имеет размерность $1/T$, например $1/\text{ч} = \text{ч}^{-1}$; мин^{-1} и т. д.

Уравнение (4) демонстрирует основные закономерности проточного культивирования: при $\mu > D$, $\frac{dx}{dt} > 0$ концентрация биомассы повышается; при $\mu < D$, $\frac{dx}{dt} < 0$ — снижается, т. е. культура вымывается; при $\mu = D$ концентрация биомассы устанавливается на определенном уровне и в реакторе поддерживается динамическое равновесие (см. рис. 1). При $\mu = D$ удельную скорость роста определяют по уравнению [Малек, 1968]

$$\mu = \frac{F}{V}. \quad (6)$$

Для исследования беспозвоночных могут быть использованы различные методы культивирования.

КУЛЬТИВИРОВАНИЕ СВОБОДНОЖИВУЩИХ ПРОСТЕЙШИХ

Разработаны лабораторные [Лозина-Лозинский, 1929; Цингер, 1947; Иванов и др., 1958; Sonneborn, 1970], а также промышленные [Корниенко, 1973] методы культивирования свободноживущих простейших.

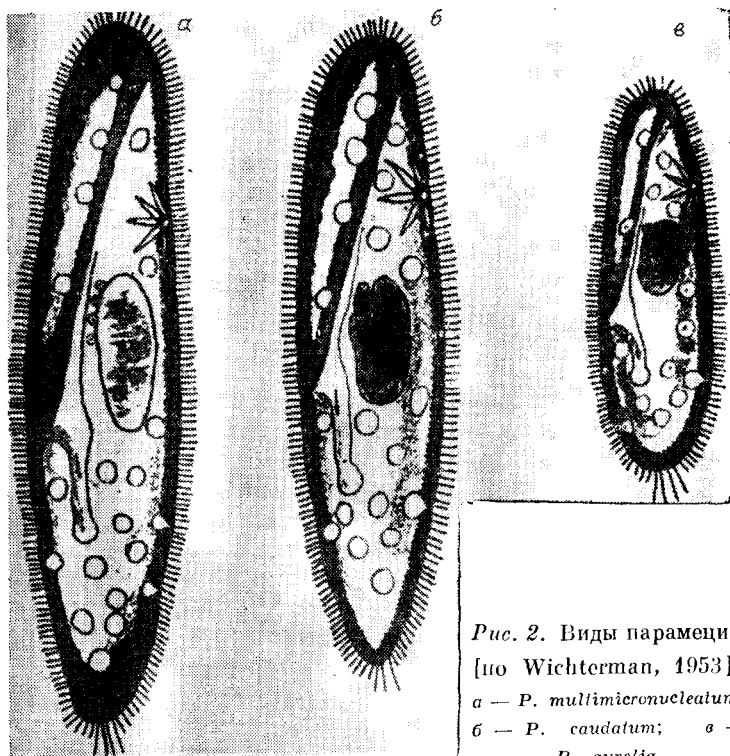


Рис. 2. Виды парамеций
[по Wichterman, 1953].
а — *P. multimicronucleatum*;
б — *P. caudatum*; в —
P. aurelia.

В различных исследованиях широко используется инфузория-туфелька — *Paramecium caudatum*. Ее тело достигает в длину 220 мкм и обладает довольно сложным строением (рис. 2). По строению ядерного аппарата инфузории резко отличаются от других групп простейших. Ядерный аппарат инфузорий характеризуется дуализмом.

Свободноживущие инфузории питаются главным образом бактериями, подгоняя их ресничками ко рту. Ротовое отверстие всегда открыто. Мелкие пищевые частицы проникают через рот в трубковидную глотку и скапливаются на ее дне, на границе с эндоплазмой. Скопившийся на дне глотки пищевой комочек в дальнейшем отрывается от него и вместе с небольшим количеством жидкости поступает в эндоплазму, образуя пищеварительную вакуоль. Последняя не остается на месте своего образования, а, попадая в токи эндоплазмы, проделывает в теле инфузорий сложный путь, называемый циклозом.

Помимо бактерий инфузории питаются дрожжами и водорослями [Radzikowski e. a., 1977]. При кормлении их водорослями следует избегать влияния прямого солнечного света, так как кислород, выделяемый только что заглоченными водо-

рослями, может разорвать тело инфузории [Исакова-Кео, 1946].

Для изучения оптимальных условий широко применяют метод периодического культивирования инфузорий и других простейших, а также метод непрерывного и как его разновидность — непропорционально-проточного культивирования. В связи с тем, что последний нами активно использован, он выделен в самостоятельный раздел.

ПЕРИОДИЧЕСКОЕ КУЛЬТИВИРОВАНИЕ СВОБОДНОЖИВУЩИХ ПРОСТЕЙШИХ

Со времени открытия простейших, т. е. с 1675 г., осуществляется их периодическое культивирование (индивидуальное и массовое) с целью подробного изучения в лабораторных условиях в течение круглого года.

Индивидуальное культивирование свободноживущих простейших. Отдельная клетка помещается в микроаквариум со средой и кормом. Затем через определенные промежутки времени (например через сутки) учитывается количество особей, одна особь снова помещается в свежую среду с кормом и т. д.

Данный метод впервые применен Е. Мопа [Maupas, 1888] для определения темпа деления инфузорий в зависимости от условий кормления и температуры. В опытах использовались стекла с каплей среды, помещенные во влажную камеру. В более поздних исследованиях [Лозина-Лозинский, 1929; Цингер, 1947; и др.] для этих целей применили часовые стекла, помещенные во влажную камеру.

Для стерильного содержания индивидуальной культуры используются либо пластины с лунками, покрытые стеклом, для предотвращения испарения [Полянский, 1957; Ковалева, 1963; Кокова, Лисовский, 1968; и др.], либо стеклянные кольца, помещенные в расплавленный питательный агар до автоклавирования [Curds, Vandyke, 1966].

Время удвоения простейших в индивидуальной культуре К. Кэрде с соавторами [Curds, Vandyke, 1966] определяли по уравнению

$$R = \frac{\log B - \log A}{\log 2}, \quad (7)$$

где А и В — число инфузорий в первый и второй день соответственно.

В индивидуальной культуре подобрана и исследована синтетическая среда для парамеций [Лозина-Лозинский, 1929]. Среда Лозина-Лозинского использовалась многими протозоологами [Полянский, 1957; Ковалева, 1963; и др.] для различных

опытов. В следующем составе она широко применяется и в настоящем (в %): NaCl — 0,01; KCl — 0,001; CaCl₂ — 0,001; MgCl₂ — 0,001; NaHCO₃ — 0,002.

В качестве корма для инфузорий берется смесь дрожжей *Saccharomyces allipoides* и бактерий *Bacillus subtilis* в соотношении 1 : 1 по объему сырой массы [Ковалева, 1963] или различные бактерии [Curds, Vandyke, 1966].

Изучая влияние тепловых шоков и холода на синхронизацию деления *Paramecium aurelia* в зависимости от возраста клеток, Г. Уитсон [Whitson, 1964] использовал индивидуальную культуру. Инфузорий содержали в солонках на отваре салата. Автор отмечает, что под действием тепловых шоков колебания в делении больше при 37,5°C, чем при 36°C. С возрастом клетки они возрастают. Клетки, подверженные влиянию высокой температуры в начале деления, имели необратимые повреждения, что вызывало появление громадных «чудовищ».

Для изучения влияния различного корма и температуры на рост *Paramecium caudatum* нами использованы микроаквариумы, или солонки, 2 см³, с объемом рабочей среды 0,3—0,5 см³. Парамеций содержали на среде Лозина-Лозинского, в качестве корма служили хлорелла, дрожжи, бактерии [Кокова, Лисовский, 1976]. На рис. 3 показана плотность культуры *Paramecium caudatum*, при кормлении смесью дрожжей *Saccharomyces ellipsoides* и бактерий *Bacillus subtilis*. Удельную скорость роста определяли по уравнению

$$\mu = \frac{\ln N}{t}, \quad (8)$$

где N — среднее число организмов, полученных за сутки от исходной особи в результате размножения; t — время культивирования, равное 24 ч. При 22°C μ культуры составила 0,0670 ч⁻¹, а при 26°C — 0,0866 ч⁻¹, что совпадает с литературными данными [Darby, 1929; Curds, Vandyke, 1966].

Массовое периодическое культивирование свободноживущих простейших позволяет исследователям получать большое количество материала и осуществляется аксенно, моноксенно и т. д.

Обычно в сосуд помещается органическое вещество (сено, навоз, гидролизные дрожжи, а также почва, банановые корки и др.), добавляется вода, где и развиваются бактерии, служащие кормом для простейших, например инфузорий.

Наиболее широко для массового периодического метода используется сенной отвар. Берут 10 г сена и помещают в 1 л воды, кипятят в течение 20 мин, затем фильтруют и разбавляют равным количеством воды [Maueg, 1956] или используют без разбавления [Цингер, 1947; Иванов и др., 1958; Sonneborn, 1970].

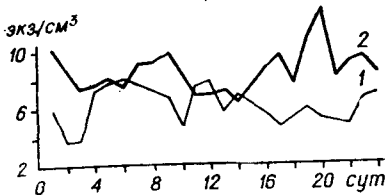


Рис. 3. Динамика максимальной плотности индивидуальной культуры парамеций *P. caudatum* в конце суток при температуре 22 (1) и 26°C (2) [Кокова, Лисовский, 1976].

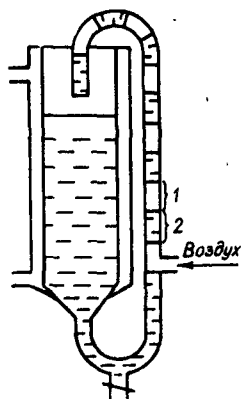


Рис. 4. Культиватор с эрлифтом [Кокова, Лисовский, 1976].

1 — воздух; 2 — культура.

Культивирование простейших и других водных беспозвоночных на отварах ведется либо нестерильно (на отваре развиваются различные бактерии, попавшие из воздуха) или монокультурно (в стерильный отвар высевается один вид бактерий).

Широко применяется также аксенный метод [Everhart, 1972; Finley, 1966] для различных цитологических, физиологических и других исследований. При этом питание осуществляется путем пиноцитоза [Rosenbaum e. a., 1962; Hall, 1968] и т. д. Используя сенной настой, многие авторы [Balbiani, 1898; Кулагин, 1900; Calkins, 1902; Jones, 1932; Proper, Garver, 1966] получали долгоживущую культуру различных инфузорий. Максимальная биомасса в культуре *Colpoda Steinii* составила 12,5 г/л сухого вещества [Proper e. a., 1966].

Нами в периодической массовой культуре исследовано влияние концентрации корма на рост различных видов парамеций. Популяцию содержали в реакторе объемом 0,2 л (рис. 4), который можно использовать в различных модификациях: с пластинами для увеличения площади оседания парамеций и без них для получения гомогенной культуры, с двумя эрлифтами с целью улучшения аэрации (см. рис. 12). В данном случае опыты проводили с двумя эрлифтами и пластинами внутри.

Культуры *Paramecium caudatum* и *P. aurelia* получены в Биологическом институте г. Петергофа. Парамеций содержали нестерильно на среде Лозина-Лозинского, кормом служили дрожжи и бактерии в соотношении 10 : 1. Концентрацию корма корректировали через 2 ч в течение опыта по уравнению

$$V_c = \frac{(S - S_k) V}{S_s}, \quad (9)$$

где V_c — объем исходной суспензии дрожжей, который необходимо внести при коррекции, см³; S — заданный уровень кон-

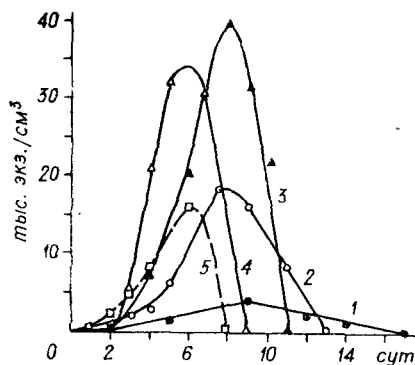


Рис. 5. Влияние концентрации корма на рост накопительной культуры *P. caudatum*.

Концентрация корма (г сух. в-ва/л): 1 — 0,1375; 2 — 0,275; 3 — 0,55; 4 — 1,1; 5 — 2,2.

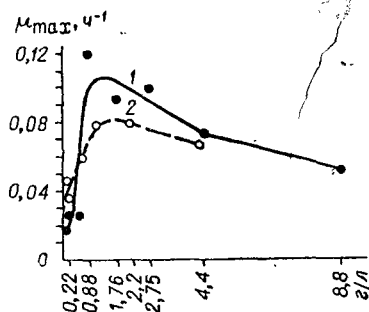


Рис. 6. Зависимость μ_{\max} культур *P. aurelia* (1) и *P. caudatum* (2) от концентрации корма (г сух. в-ва/л).

центрации дрожжевого корма, млн. кл./см³; S_k — фактическая концентрация корма перед коррекцией, млн. кл./см³; S_s — концентрация исходной суспензии дрожжей, используемой для коррекции, млрд. кл./см³; V — объем культуры, см³.

Исследованы следующие концентрации корма для *Paramecium caudatum* (г сух. в-ва/л): 0,1375; 0,275; 0,55; 1,1 и 2,2.

Один или два раза в сутки культуру перемешивали с помощью стеклянной трубки, по которой подавался воздух, и брали 1 мл суспензии для определения ее плотности.

Исходная плотность — 0,1 тыс. экз./см³, динамика плотности показана на рис. 5. Наиболее устойчивый процесс получен при концентрации корма 0,275—0,55 г/л, дальнейшее ее повышение привело к снижению устойчивости и μ_{\max} культуры (рис. 6).

Paramecium aurelia содержали также в реакторе объемом 0,2 л (см. рис. 12). Концентрация корма (г сух. в-ва/л): 0,11; 0,22; 0,44; 0,88; 1,76; 2,75; 4,4 и 8,8. Исходная плотность — 0,1 тыс. экз./см³. Наиболее устойчивая периодическая культура *P. aurelia* с высокой максимальной плотностью наблюдалась при концентрации корма 0,88—1,76 г/л (рис. 7), хотя и при более высоких концентрациях μ_{\max} оставалась высокой, но процесс был неустойчивым, популяция быстро погибала.

При периодическом процессе гибель культуры многие исследователи связывали с изменением физико-химических условий среды [Darby, 1929; 1930; Robertson, 1927; Prescott, 1957; Grebecki, 1961a] и недостатком корма [Chejfec, 1929]. В наших

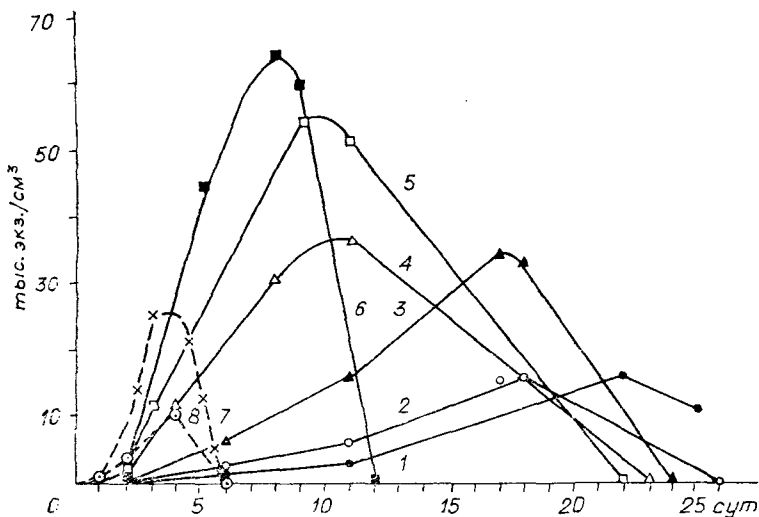


Рис. 7. Влияние концентрации корма на рост накопительной культуры *P. aurelia*.

Концентрация корма (г сух. в-ва/л): 1 — 0,11; 2 — 0,22; 3 — 0,44; 4 — 0,88; 5 — 1,76; 6 — 2,75; 7 — 4,4; 8 — 8,8.

опытах, несмотря на постоянную коррекцию концентрации корма, инфузории гибли. Мы связываем их гибель с изменением химических условий среды, главным образом с увеличением концентрации продуктов метаболизма.

Следует отметить, что *Paramecium aurelia* (см. рис. 7) способна выносить более высокие концентрации корма, чем *P. caudatum*.

В литературе имеются сведения, когда исследователи пытались произвести обмен среды путем добавления свежей среды и удаления отработанной через фильтр, с целью поддержания плотной культуры парамеций [Статкевич, 1903; Grebecki, 1961b; Корниенко, 1970]. А. Гребецки получил плотность популяции *Paramecium caudatum* около 7300 экз./см³, но ее рост при этом прекратился вследствие обрастания фильтра, хотя автор производил обмен среды через фильтр до 10 об./сут. Это позволяет сделать вывод о том, что устойчиво и долго плотная культура простейших может расти в реакторе, где будут созданы оптимальные условия по рН, кислороду, корму, температуре и обмену среды, возможно, без фильтра. Оптимальные условия для *Paramecium caudatum*: рН среды — 6,8 [Morea, 1927; Darby, 1930; Loefler, 1936; Gaw, 1936; Wichterman, 1948, 1953]; температура — 26°C [Суханова, 1968]; корм — дрожжи + бактерии [Полянский, 1957], концентрация бактерий и дрожжей в соотношении 1 : 10 — 0,3—0,5 г/л.

НЕПРЕРЫВНОЕ КУЛЬТИВИРОВАНИЕ СВОБОДНОЖИВУЩИХ ПРОСТЕЙШИХ

Непрерывное культивирование простейших и других организмов может осуществляться как пропорционально-проточное и как непропорционально-проточное. При пропорционально-проточном клетки и среда находятся в том же соотношении в сливаемой части суспензии, что и в реакторе. Данный метод можно использовать в различных вариантах для исследования зависимости между количеством потребляемой пищи и размером инфузорий [Curds, Cockburn, 1971], скоростью потока и ростом культуры [Browning, Lockingen, 1953], содержанием различных веществ в биомассе окрашенных жгутиконосцев [Cook, 1968] и ростом морских беспозвоночных [Smith e. a., 1975; Kinne e. a., 1976].

Для пропорционально-проточного метода используют реакторы с перемешивающим устройством, обеспечивающим равномерное распределение организмов в среде. На рис. 8. показаны установка для непрерывного выращивания *Euglena gracilis* и ее основные узлы [Cook, 1968]. Объем реактора 3 л, освещение осуществляется вертикальными люминесцентными лампами. Данный аппарат, по мнению автора [Cook, 1968], применим для клеток (авто- и гетеротрофных) с генерационным периодом не более 150—200 ч.

Разработана установка [Hjelm, 1970] (рис. 9), перемешивающая культуру и корм. Максимальная плотность тетрахимен составила 600—800 тыс. экз./см³.

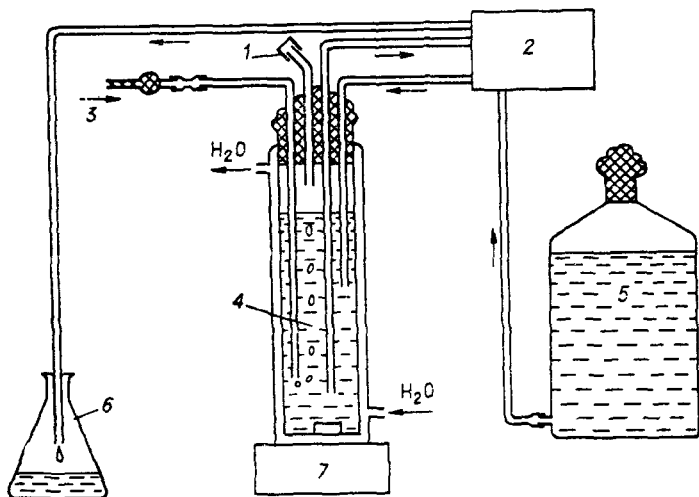


Рис. 8. Схема основных узлов установки [Cook, 1968].

- 1 — стеклянная трубка для инокуляции; 2 — 4-канальный насос;
3 — воздух; 4 — реактор; 5 — резервуар для питательной среды;
6 — сосуд для сливаемой суспензии; 7 — магнитный вибратор.

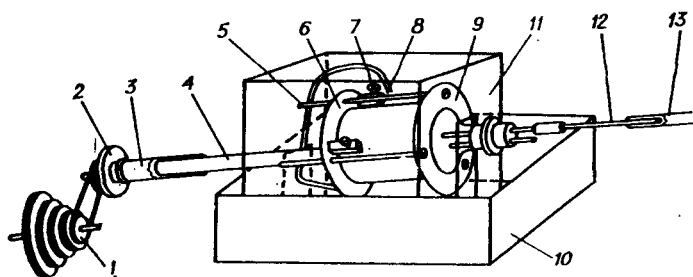


Рис. 9. Вращающийся аппарат для культивирования тетра-химен [Hjelm, 1970].

1 — приводящий шкиф; 2 — винт для фиксации 3 внутри; 3 — трубка; 4 — ось, передвигающая 6; 5 — винты, удерживающие 6 и 9 вместе; 6, 9 — пластины, охватывающие культуральный сосуд; 7 — центрирующие винты; 8 — кран; 10 — водная баня; 11 — прозрачная робка из оргстекла; 12, 13 — трубка из нержавеющей стали.

Для регулирования подачи среды при непрерывном методе используют дозаторы. На рис. 10 показан роликовый двухканальный дозатор, один канал может работать на долив, другой — на слив культуры. Ролики изготовлены из тефлона, шланги — медицинские. Дозатор прикрепляется к мотору с определенным количеством оборотов и работает в заданном режиме. Скорость потока может изменяться за счет сечения шланга и скорости вращения роликов.

Непрерывное культивирование простейших осуществлялось нами в реакторе объемом 0,5 л с автоматическим устройством (рис. 11). Длительность опыта 25 сут, температура 26°C.

Основная часть установки — реактор. Остальные системы обеспечивают нормальный рост парameций. Дозаторы слива и долива, работающие от механического привода, подают питающую суспензию в реактор и удаляют определенный объем отработанной суспензии. Поскольку в условиях небольшого реактора и длительного времени работы установки необходимо очень точно соблюдать равенство доливаемого и слитого объема суспензии, применена система долива и слива определенными порциями. Объем доливаемой (V_d) и слитой (V_c) суспензии регулируется в широких пределах ($V = 5 \div 17 \text{ см}^3$), причем самим устройством дозаторов обеспечивается точное соблюдение равенства

$$V_d \cdot t = V_c t \quad (10)$$

в течение большого промежутка времени ($t > 24 \text{ ч}$). Практически при малых промежутках времени между до-

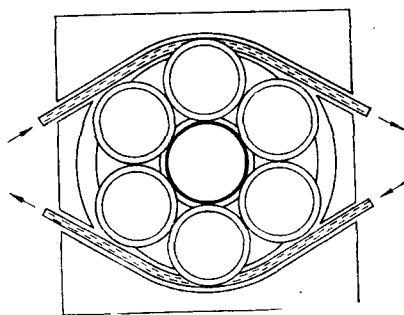


Рис. 10. Роликовый двухканальный дозатор.

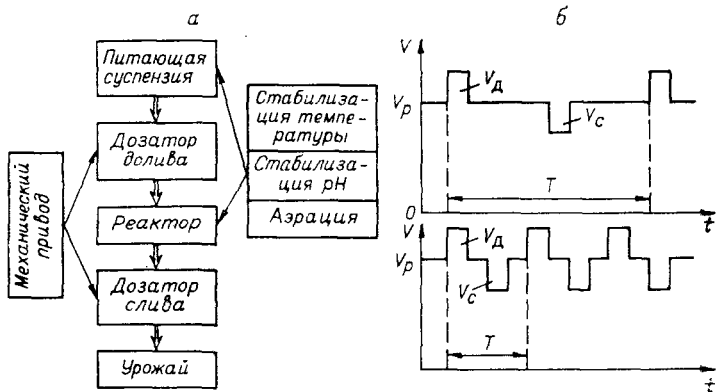


Рис. 11. Схема установки (а) и диаграмма ее работы (условно) (б).

ливами (T) возможен режим равномерного тока суспензии, что благоприятно для роста культуры.

Необходимо отметить, что долив и слив, осуществляемые по такому принципу, лучше подходят для установок с малыми объемами (до 10 л).

Объем суспензии ($V_{пр}$), протекающей через реактор, регулируется объемом дозы V и частотой повторения f , которая может быть вычислена по уравнению

$$f = \frac{1}{T}, \quad (11)$$

где f — частота повторения слива-долива, $ч^{-1}$. В этом случае объем протекающей суспензии за время t будет

$$V = Vft. \quad (12)$$

Опыт эксплуатации установки подтвердил работоспособность всех систем.

Исходная плотность популяции *Paramecium caudatum* составила 1 тыс. экз./см³. На 10-е сутки опыта она достигла 14 тыс. экз./см³ и удерживалась на этом уровне в течение опыта, а продуктивность — 6 тыс. экз./(см³·сут), или 6 г сыр. в-ва/(л·сут).

Метод непрерывного выращивания применяется для получения синхронной непрерывной культуры с целью проведения исследований по цитологии простейших [Padilla, James, 1964; White, Howell, 1971], а также для изучения взаимодействия хищник — жертва на протоке. Исследования по этой проблеме, начатые Г. Гаузе [Gause, 1934] в периодической культуре, продолжены в непрерывной Р. Энде [Ende, 1973], В. Ладыгиной с соавторами (1973) и К. Кэрдсом с соавторами [Curds, Bazin, 1977].

Таким образом, метод непрерывного выращивания простейших способствует проведению исследований по физиологии, экологии и эволюции с объектом, позволяющим получать большое количество поколений за короткое время. Поддерживание оптимальных условий в непрерывной культуре парамеций обеспечивает ее непрерывный рост и продуктивность до 6 г сыр. в-ва/(л·сут), или 0,6 г сух. в-ва/(л·сут).

НЕПРОПОРЦИОНАЛЬНО-ПРОТОЧНОЕ КУЛЬТИВИРОВАНИЕ СВОБодноЖИВУЩИХ ПРОСТЕЙШИХ

Из литературы известно, что биомасса водородных бактерий *Hydrogenomonas autotropha* Z. в непрерывной культуре достигает 15 г сух. в-ва/л [Пономарев и др., 1974] при удельной скорости роста 0,2 ч⁻¹. В связи с тем, что темп деления инфузорий ниже, чем бактерий, при увеличении скорости потока инфузории вымываются [Browning, Lockingen, 1953], их продуктивность снижается.

В наших опытах при непрерывном выращивании *Paramecium caudatum* ее продуктивность составила 0,6 г сух. в-ва/(л·сут), или в 25 раз ниже, чем при непрерывном выращивании водородных бактерий.

Для поддержания оптимальных условий среды в плотной культуре парамеций с целью получения высокой продуктивности применен непропорционально-проточный метод [Коккова, Лисовский, 1976]. Он характеризуется тем, что клетки, или организмы, и культуральная среда в выводимой суспензии находятся в ином соотношении, чем в реакторе. Этот эффект достигается за счет увеличения площади для оседания парамеций (пластины).

Для определения плотности культуры в установке ее перемешивали стеклянной трубочкой, через которую проходил воздух. Урожай из этой части слива или контрольного слива суммировали с полученным в непрерывно сливаемой части суспензии:

$$Y = \frac{X_1 V_1 + X_2 V_2 + \dots + X_n V_n}{V}, \quad (13)$$

где Y — продуктивность, тыс. экз./($\text{см}^3 \cdot \text{сут}$); X_1, X_2, \dots, X_n — плотность культуры в отдельном сливе, тыс. экз./ см^3 ; V_1, V_2, \dots, V_n — объем отдельного слива, см^3 .

Коэффициент непропорциональности определяем по уравнению

$$K = \frac{XV^1}{YV}, \quad (14)$$

где X — плотность культуры в реакторе, тыс. экз./см³; V^1 — суточный объем слива, см³.

В случае, когда не проводится контрольных сливов,

$$K = \frac{X}{X_1}, \quad (15)$$

где X_1 — плотность культуры в непрерывно сливаемой части суспензии, тыс. экз./см³.

Для оценки состояния популяции использовали показатели плотности, продуктивности и μ . Последнюю величину определяли по формуле для непрерывного процесса с введением коэффициента непропорциональности

$$\mu = \frac{F}{VK}. \quad (16)$$

Исследование влияния разной скорости протока на рост непропорционально-проточной культуры парамеций.

Paramecium caudatum содержали в установке с двумя эрлифтами (рис. 12) на среде Лозина-Лозинского при температуре 25°C. Кормом служили дрожжи и бактерии.

Исследованы скорости протока 0,5; 5 и 10 об./сут. Опыты продолжались 24 сут.

В опыте 1 при скорости протока 0,5 об./сут плотность культуры составила 5,5 тыс. экз./см³, а продуктивность — 1,62 тыс. экз./см³ при коэффициенте непропорциональности 2,0. С увеличением скорости протока до 5 об./сут (опыт 2) плотность достигла 50 тыс. экз./см³, а продуктивность — около 20 тыс. экз./см³ при коэффициенте непропорциональности 13,1. Дальнейшее повышение скорости протока до 10 об./сут привело к снижению плотности до 44 тыс. экз./см³ и продуктивности до 17,2 тыс. экз./см³ при коэффициенте непропорциональности 25,5.

Скорость протока от 5 до 10 об./сут при коэффициенте непропорциональности от 10 до 25 оптимальна для *Paramecium caudatum* при 25°C (см. рис. 13). Дальнейшее увеличение скорости протока, вероятно, приведет к снижению плотности и продуктивности популяции при всевозрастающей μ .

Интенсивное непропорционально-проточное культивирование парамеций. Микробиологическая промышленность, используя метод непрерывного выращивания, обеспечивает целые отрасли народного хозяйства продукцией. Бесперебойно рыбное хозяйство снабжается кормовыми дрожжами, хлебопекарная промышленность — дрожжами и т. д.

Важную роль играют микроорганизмы, в том числе простейшие [Curds, 1975], в очистке сточных вод. Однако методов, способствующих получению высокой плотности и продуктивности непрерывно растущей культуры простейших в отличие от микробных, мало и они главным образом лабораторные.

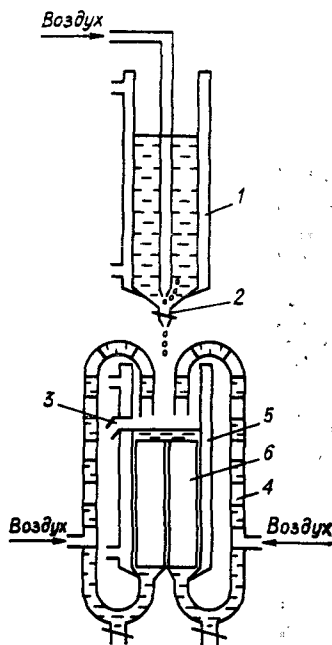


Рис. 12. Культиватор для парameций [по Коковой, Лисовскому, 1976].

1 — сосуд для кормовой суспензии; 2 — дозатор; 3 — трубочка для слива суспензии по уровню; 4 — эрлифт; 5 — реактор с термостабилизирующей рубашкой; 6 — пластины.

Совершенствуя метод и технику непропорционально-проточного выращивания простейших с целью получения плотной культуры и больших количеств биомассы, нами разработан аппарат с эрлифтами объемом 10 л (см. гл. 2). Расход воздуха — 1,5—2 л·мин/л культуры. Установка испытана в лаборатории и в условиях рыбоводного хозяйства. В рыбхозе в качестве среды взята скважинная вода, которую 2 раза в сутки заливали в бак с питающей суспензией. Кормом служили прессованные дрожжи. Дрожжи ресуспендировали в среде и заливали в бак со скважинной водой, где они перемешивались с помощью воздуха. Через час после приготовления суспензия непрерывно подавалась в реактор с простейшими со скоростью 6 об./сут при 26°C. В последние 12 сут опыта плотность культуры удерживалась около 34 тыс. экз./см³, а ежесуточная продуктивность около 17 тыс. экз./см³, или около 20 г сыр. в-ва/(л·сут) (рис. 14) при коэффициенте непропорциональности 12. Удель-

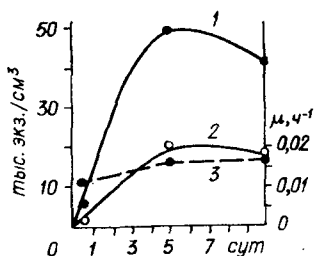


Рис. 13. Зависимость плотности (1), продуктивности (2) и удельной скорости роста (3) культуры *P. caudatum* от скорости протока среды [по Коковой, Лисовскому, 1976].

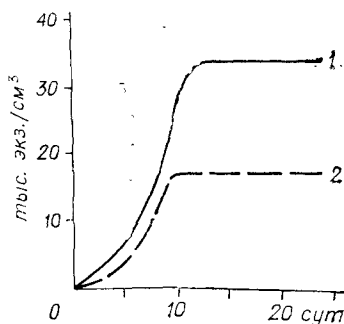


Рис. 14. Плотность (1) и продуктивность (2) непропорционально-проточной культуры *P. caudatum*.

ная скорость роста $0,0208 \text{ ч}^{-1}$. Замечено, что культура с более низкой плотностью (около 20 тыс. экз./см³) способна обеспечить такую же продуктивность при возрастающей μ .

Таким образом, увеличенный в 50 раз реактор по сравнению с лабораторным, способен обеспечить такую же продуктивность — около 20 г/(л·сут), или общую ежесуточную продукцию 200 г сырой биомассы. По нашим расчетам, этой биомассой в сутки можно накормить 200 тыс. личинок карпа весом 1 мг, а для 1 млн. таких же личинок потребуется реактор объемом 50 л.

При выращивании простейших в личиночном цехе рыбхоза создается опасность заражения плесневыми грибами вследствие сырости, а также при использовании различных партий прессованных дрожжей, иногда несвежих. В связи с этим успешное культивирование простейших в больших масштабах мы связываем с созданием двухзвенной трофической цепи микробы — простейшие. Оба звена должны работать в непрерывном режиме, в специально оборудованных помещениях.

Наши опыты [Кокова, Лисовский, 1976] показали, что с увеличением плотности проточной культуры μ снижается в 5—10 раз по сравнению с индивидуальной, однако ежесуточная продуктивность первой при оптимальных условиях в 2—3 тыс. раз превышает продуктивность последней.

Для установления возможности увеличения μ непропорционально-проточной культуры нами проведены опыты с *P. caudatum* при низкой плотности. Известно, что удельная скорость роста в индивидуальной культуре *P. caudatum* составляет $0,087 \text{ ч}^{-1}$, пересев в свежую среду с кормом осуществляется один раз в сутки, отсутствует аэрация.

Применив метод непропорционально-проточного выращивания *P. caudatum* с плотностью $0,4\text{--}0,5$ тыс. экз./см³ при оптимальной скорости протока 10 об./сут и коэффициенте непропорциональности, сниженном до 2,8, нами [Кокова, 1974] получена $\mu = 0,1442 \text{ ч}^{-1}$ (среднее время генерации 4,78 ч), что в 2—3 раза превысило литературные данные для индивидуальной культуры.

Обобщенная зависимость μ от плотности популяции при скорости протока 5—10 об./сут и коэффициенте непропорциональности от 2,8 до 26 показана на рис. 15. С увеличением плотности μ может снижаться в 10—15 раз.

Непропорционально-проточное культивирование различных инфузорий. Данный метод, разработанный для *P. caudatum*, обеспечил непрерывный рост и высокую продуктивность, а также позволил в непропорционально-проточной культуре с низкой плотностью получить удельную скорость роста $0,1442 \text{ ч}^{-1}$, время генерации 4,78 ч, что в 2,5 раза превысило ранее известные μ в индивидуальном режиме.

Метод непропорционально-проточного выращивания применен к другим видам парameций, которых содержали в реакторе

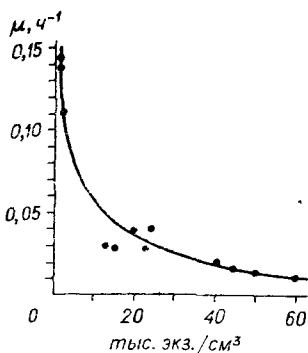


Рис. 15. Зависимость удельной скорости роста непропорционально-проточной культуры *P. caudatum* от плотности культуры [по Коковой, Лисовскому, 1976].

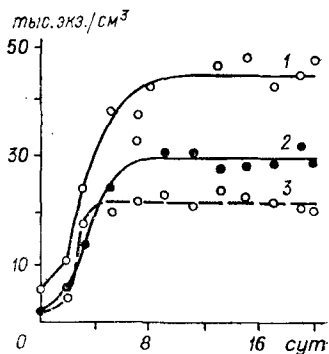


Рис. 16. Динамика плотности непропорционально-проточной культуры различных видов парамеций. 1 — *P. aurelia*; 2 — *P. caudatum*; 3 — *P. multimicronucleatum*.

с двумя эрлифтами, с пластинами внутри при скорости протока среды (среда Лозина-Лозинского) 10 об./сут. Кормом служили дрожжи и бактерии, концентрация дрожжей в питающей суспензии — 80 млн. кл./см³, соотношение дрожжей и бактерий 10 : 1. Температура 26°C, pH 6,5—6,8. В опытах использованы *P. caudatum*, *P. multimicronucleatum* и *P. aurelia* (см. рис. 2 и 16).

Удельная скорость роста культуры в контроле достигла 0,0172 ч⁻¹, в опытах она была несколько ниже (табл. 1). Уменьшение μ *P. multimicronucleatum* по сравнению с *P. caudatum*, вероятно, генетически обусловлено, а в культуре *P. aurelia* мы связываем с неоптимальными по температуре и концентрации корма условиями выращивания.

Непропорционально-проточный метод применен нами [Кокова, Пак, 1974] к другому роду класса Ciliata к *Vlepharisma*.

Таблица 1

Рост различных видов парамеций в непропорционально-проточной культуре

Культура	Средняя плотность, тыс. экз./см ³	Среднесуточная продуктивность		Коэффициент непропорциональности	μ , ч ⁻¹
		тыс. экз./см ³	г сух. в-ва/л		
<i>P. caudatum</i>	30,1	12,4	1,24	24,2	0,0172
<i>P. multimicronucleatum</i>	22,0	8,5	—	25,9	0,0160
<i>P. aurelia</i>	45,1	15,2	0,5	21,6	0,0141

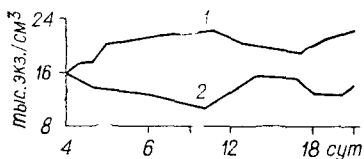


Рис. 17. Плотность непропорционально-проточной культуры блефаризма на смешанном корме (1) и на прессованных дрожжах (2) [Кокова, Пак, 1973].

4 тыс. экз./см³, или 0,3 г сух. в-ва/(л·сут), что в 5—6 раз ниже, чем *Paramecium caudatum*.

Таким образом, метод непропорционально-проточного выращивания пригоден для различных видов инфузорий, однако для получения интенсивной культуры инфузорий различных видов необходимо учитывать оптимальные для каждого вида условия.

Предлагаемый метод культивирования свободноживущих простейших может быть использован с целью изучения простейших, а также при создании искусственных экологических систем.

Не менее интересны в научном плане простейшие, обитающие в различных органах животных-хозяев. Так, жгутиконосцы, живущие в кишечнике термитов, снабжают их продуктами метаболизма целлюлозы, и связи простейших с хозяином настолько тесны, что дефаунация приводит к гибели термитов [Yamin e. a., 1979].

Поразительно, что жвачные животные, питающиеся главным образом грубыми кормами с большим количеством клетчатки, не имеют фермента целлюлазы, который, как известно [Импенецкий, 1953], способствует утилизации клетчатки тем организмам, которые его не имеют. Этот фермент отсутствует у человека. В связи с этим при создании замкнутых экологических систем, включающих человека, а также высшие растения как автотрофное звено, необходимо звено, способное утилизировать клетчатку отходов автотрофного звена. Для этих целей, вероятно, могут быть использованы простейшие из рубца.

КУЛЬТИВИРОВАНИЕ ПРОСТЕЙШИХ ИЗ РУБЦА ЖВАЧНЫХ ЖИВОТНЫХ

Большой вклад в изучение простейших рубца и разработку методов культивирования сделан отечественными [Догель, 1927, 1951; Полянский и Стрелков, 1935] и зарубежными учеными [Cleveland, 1923, 1925; Coleman, 1958, 1960a, б, 1962, 1972, 1975, 1978; Hungate, 1966; Tompkin e. a., 1966; Курихара,

1970; Онодэра, Кандацу, 1970; Coleman e. a., 1972, 1974; Slyter e. a., 1975; и др.].

Как отмечает Я. Курихара (1970), во-первых, простейшие рубца обладают целлюлазой, амилазой и другими ферментами и расщепляют в рубце жвачных животных целлюлозу, крахмал и другие углеводы с образованием летучих жирных кислот (углекислый газ, метан, аммиак и др.), которые усваиваются животными; во-вторых, они аккумулируют в своем организме в форме полисахаридов большое количество углеводов, предупреждают их быструю атаку бактериями и одновременно играют роль резервного депо углеводов в корме и состоянии голодания; в-третьих, их тела, содержащие 10—40% общего азота рубца [Hungate, 1966], — важный источник белка для животных. Белок простейших по питательной ценности для хозяев превосходит белки корма и бактерий (ягнота с простейшими росли быстрее, чем без них) [Jonson e. a., 1944; Abou Akkada e. a., 1964]. Сравнение их аминокислотного состава с таковым луговых трав и бактерий свидетельствует о высоких величинах таких аминокислот, как изолейцин, лейцин, фенилаланин, лизин и др.

В настоящее время методы культивирования простейших из рубца разработаны достаточно хорошо.

Культивирование *in vivo* и *in vitro* простейших из рубца. С целью культивирования простейших рубца *in vivo* заражают только что родившихся животных (например, ягнят), а затем берут пробы с помощью шланга [Полянский, Стрелков, 1935] или через фистулу [Michalowski, 1977]. Однако такой метод отбора проб довольно трудоемкий. Если животное заражено определенным видом простейших, то необходимо следить, чтобы оно не вступало в контакт с другими животными, так как может произойти заражение другими формами. Помимо этого, необходимо четко соблюдать рацион кормления и учитывать физиологические возможности животного [Mowry e. a., 1930; Welch e. a., 1975].

Сравнительная оценка роста простейших и бактерий в рубце бычка (*in vivo*) и в ферменте для непрерывного культивирования (*in vitro*) проведена Л. Слайтером с соавторами [Slyter e. a., 1967] в течение 14 сут. Из простейших в непрерывной культуре обнаружены *Entodinium* и *Diplodinium* во время отбора проб на 3-, 7- и 14-е сутки. *Holotricha* исчезали *in vitro* после 3 сут культивирования.

Авторами не замечено разницы в целлюлозолитической и аминолитической деятельности, а также в продуцировании кислот из глюкозы между микробами в рубце и ферментере. Число простейших было ниже, а число бактерий выше в ферментере, чем в рубце. В рубце и в ферментере установлены аналогичные изменения в числе определенных бактерий.

В последние четыре десятилетия в литературе появилось

много данных по изучению простейших из рубца *in vitro*. Первые работы были связаны с применением сред, содержащих желудочный сок [Coleman, 1958; Tompkin e. a., 1966]. Г. Колеман [Coleman, 1958, 1960] утверждал, что инфузорий *Entodinium* можно выращивать *in vitro* неограниченно долгое время. Однако, отмечает автор, в связи с недостаточно отработанной методикой длительность лаг-фазы иногда затягивается до 2—8 нед.

Влияние различной концентрации жидкости рубца на рост простейших изучали Р. Томпкин с соавторами [Tompkin e. a., 1966]. Они отметили, что желудочный сок с хлопьями отрицательно влияет на *Entodinium in vitro*, поэтому его необходимо центрифугировать. Желудочный сок от беременных овец более сильно стимулирует рост простейших рубца.

Следующий этап культивирования простейших рубца — создание искусственных сред, правда, на первых порах их разработки использовались добавки желудочного сока [Coleman, 1960b, 1972].

Разработав метод выращивания простейших рубца *in vitro*, исследователи использовали его для изучения простейших. Б. Ярвис с соавторами [Yarvis e. a., 1968] при кормлении *Entodinium simplex* различными травами и зерном пшеницы обнаружили, что состав популяции бактерий сильно влияет на рост *E. simplex*.

Г. Колеман [Coleman, 1975] показал, что инфузории и бактерии рубца жвачных взаимно полезны. *Entodinium* spp. заглатывают крахмал и белковый материал и делают сахара и аминокислоты доступными для бактерий, находящихся в среде и цитоплазме. Бактерии, растущие в этих условиях, поддерживают низкий окислительно-восстановительный потенциал, необходимый для роста инфузорий. Простейшие питаются бактериями, заглатывая до 1% от содержимого в рубце.

Для изучения питания простейших используют стерильные культуры, полученные с помощью пенициллина [Coleman, 1960b, 1972]. В такой культуре Г. Колеману удалось выяснить, что *E. simplex*, как и *E. caudatum*, использует углеводы в качестве источника энергии, а предлагаемые определенные виды бактерий — в качестве источника аминокислот для синтеза белков.

Аппараты для непрерывного культивирования простейших рубца разработаны сравнительно давно [Adler e. a., 1958; Rufener e. a., 1963], затем они в различной модификации применялись для изучения и выращивания простейших *in vitro*. В. Руфенер с соавторами [Rufener e. a., 1963] для поддержания культуры простейших рубца в непрерывном режиме использовали смесь искусственной слюны (60 частей) и воды (40 частей), а также различный корм (пшеничные отруби, мука соевых бобов, костяная мука) и добавки известняка. Скорость потока среды — 1,43 об./сут.

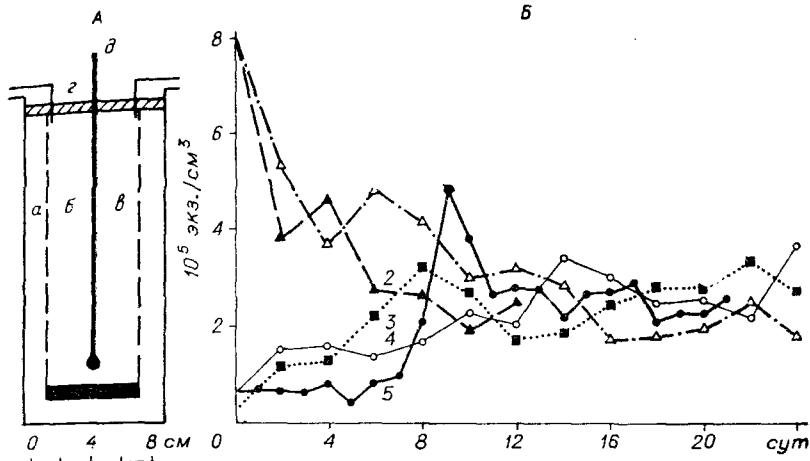


Рис. 18. Культивирование *Entodinia* при высокой плотности культуры [Hino e. a., 1973].

А — культуральный аппарат: а — минеральный солевой раствор, б — культуральная среда, в — целлофан, г — жидкий парафин, д — бодванка для перемешивания, соединенная с мотором; Б — культура простейших при высокой (1, 2) и низкой (3—5) исходной плотности на различных средах.

Л. Слайтер с соавторами [Slyter e. a., 1975] непрерывно культивировали микробы рубца *in vitro* при скорости потока 1,6 об./сут. Гранулированный корм (древесная масса — 83,5%, минеральные соли — 5,5%, соевое масло — 10,9%) подавался автоматически через 37 мин. Мочевина вливалась в различной пропорции (3,4—6,5%) к поданному протеину. Добавлялись свободные аминокислоты. Авторы изучали оптимальные условия синтеза микробов рубца в непрерывной культуре *in vitro*.

Т. Хино с соавторами [Hino e. a., 1973] разработали несколько синтетических сред, которые с различными добавками корма (яйцо, рисовый крахмал, порошок целлюлозы и белого клевера), а также пенициллина обеспечили рост *Entodinium* в течение 10 мес. Ими разработан специальный аппарат (рис. 18, а) для выращивания культуры с высокой плотностью, а также для исследований влияния доли инокулята и различных сред (рис. 18, в) на ее плотность. Для успешного выращивания простейших из рубца требуется оптимальная температура 38—39°C, поддержание анаэробных условий, например, с помощью азота [Adler e. a., 1958] или смеси азота (95%) и углекислого газа (5%) [Coleman, 1972]; pH поддерживается (около 6—7) с помощью добавок искусственной слюны [Rufener e. a., 1963] или с помощью фосфатного буфера [Hino e. a., 1973].

С целью изучения скорости деления получена клональная культура *Entodinium caudatum*, которая выращивалась *in vitro* в течение 14 нед [Hino e. a., 1973]. Культивирование *in vitro*

простейших из рубца способствует развитию цитологических исследований [Stern e. a., 1977].

Таким образом, от литературного обзора видно, что в настоящее время разработаны методы культивирования простейших из рубца *in vivo* и *in vitro*.

Периодическое культивирование *in vitro* простейших из рубца¹. В задачу наших исследований входило освоить методы выращивания *in vitro* простейших из рубца, а также определить скорость переработки ими соломы.

Периодическое культивирование простейших из рубца осуществляли в колбах объемом 350 см³. Колбы закрывали резиновыми пробками. В каждую колбу помещали по 30—50 см³ жидкости рубца, взятой у только что убитого животного (коровы, быка), затем доливали среду с кормом до пробки.

Во всех опытах нами использована синтетическая среда, разработанная Р. Онодэра и М. Кандацу (1970). К 1 л дистиллированной воды добавляли (г): NaCl — 2,6; KCl — 0,2; CaCl₂ — 0,1; MgSO₄ — 0,1; KH₂PO₄ — 9,0; Na₂HPO₄ — 15,0. Соли растворяются в указанном порядке.

Кормом служила пшеничная солома. После добавления корма и среды содержимое колбы газировали углекислым газом 3 мин, пробку заливали парафином и помещали в термостат с температурой 38°C. Один раз в сутки сливали 0,5 объема культуры и доливали свежую среду с кормом.

В опыте 1 в качестве корма использовали пшеничную солому с концентрацией 1,5 г/100 мл среды. В первые сутки в культуре преобладали мелкие формы простейших *Flagellata*. На 20-е сутки опыта плотность *Flagellata* снизилась, а *Entodinium caudatum* достигла 4,5 тыс. экз./см³ и удерживалась до конца 47-суточного опыта (рис. 19).

Таким образом, простейшие из рубца с сопутствующей флорой могут довольно долго расти в периодической культуре при кормлении их соломой.

Для установления скорости переработки биомассы соломы проведен опыт 2. В отличие от опыта 1 биомассу из сливаемой массы суспензии центрифугировали и возвращали в колбу, добавляя при этом свежую среду с кормом. В контроле биомассу из сливаемой части суспензии не возвращали. Один раз в 4—5 сут определяли сухой вес биомассы в культуре. Для этого 50 мл сливаемой части суспензии высушивали, полученный сухой осадок взвешивали.

Исходная плотность смешанной культуры *E. caudatum* и *Diplodinium dentatum* составила 1 тыс. экз./см³. В культуре присутствовало небольшое количество простейших *Flagellata* и флора рубца. Опыты продолжались 30 сут (рис. 20, 21).

В первые сутки возвращаемая биомасса из сливаемой сус-

¹ Опыты проведены совместно с О. И. Караваевой.

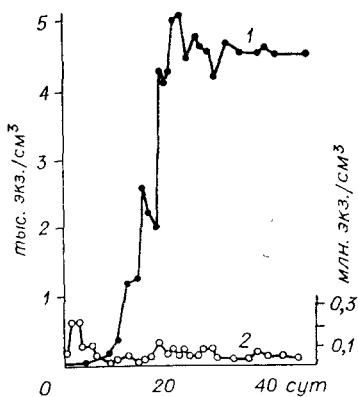


Рис. 19. Плотность культуры *E. caudatum* (тыс. экз./см³) (1) и *Flagellata* (млн. экз./см³) (2).

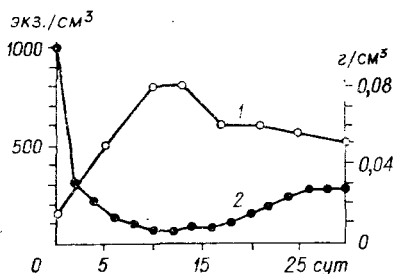


Рис. 20. Динамика плотности смешанной культуры (*D. dentatum* + *E. caudatum*) (1) и биомассы (солома + простейшие) (2) при полунепрерывном культивировании (опыт).

пензии и добавки свежего корма повысили биомассу в культуре до максимально возможной, т. е. переработки не наблюдалось. Это, вероятно, связано с тем, что возвращаемый в колбу осадок успевае охлаждаться в центрифуге и тем самым ухудшал условия для роста простейших. С повышением плотности культуры простейших процесс переработки улучшался. В среднем скорость переработки соломы составила 3 г/(л·сут), что в 3,3 раза ниже, чем микробным ценозом, состоящим из актиномицетов, дрожжей, плесневых грибов в аэробных условиях [Посадская и др., 1976].

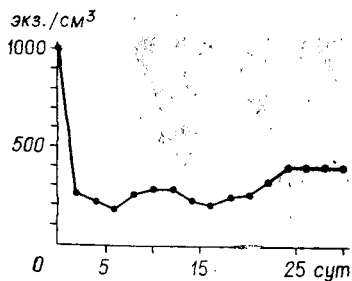


Рис. 21. Динамика плотности смешанной культуры (*D. dentatum* + *E. caudatum*) при полунепрерывном культивировании (контроль).

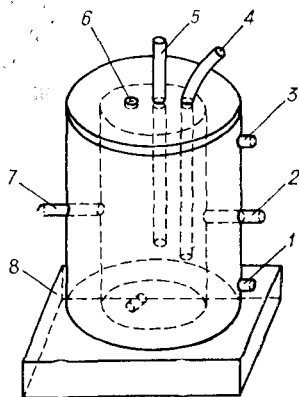


Рис. 22. Общий вид культиватора для проточного культивирования простейших из рубца.

Трубки: 1, 3 — для воды, подаваемой в термостабилизирующую рубашку, 2 — для слива культуры по уровню, 4 — для газирования, 5 — для подачи корма и свежей среды, 6 — для отвода газов, 7 — для «верхнего» газирования, 8 — магнитная мешалка.

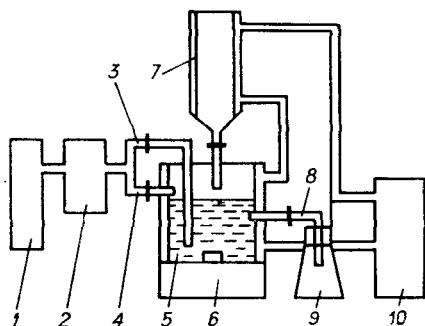


Рис. 23. Схема установки для проточного культивирования простейших из рубца.

1 — емкость с углекислым газом; 2 — ротаметр; 3 — трубка для подачи углекислого газа с целью нижнего газирования; 4 — трубка для верхнего газирования; 5 — реактор; 6 — магнитная мешалка; 7 — термостабилизирующая рубашка; 8 — трубка для слива суспензии по уровню; 9 — урожай; 10 — термостат.

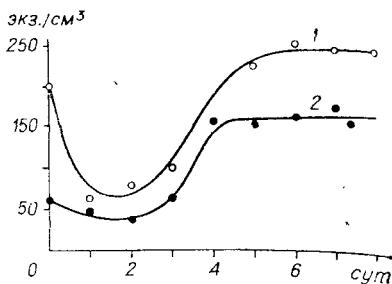


Рис. 24. Динамика плотности культуры *E. caudatum* (1) и *D. dentatum* (2) в проточной культуре при $D = 0,067 \text{ ч}^{-1}$.

Непрерывное культивирование in vitro простейших из рубца. Нами был изготовлен культиватор из оргстекла объемом 250 см^3 цилиндрической формы (рис. 22).

Принцип его работы аналогичен разработанному Л. Слайтером [Slyter e. a., 1964]. Температур акультивирования 39°C . Для обеспечения анаэробных условий проводили верхнее и нижнее газирование углекислым газом. При верхнем газировании газ подавался по трубке 4 через 1,5—2 ч, при нижнем — через трубку 3 после долива свежей среды с кормом. Газирование во всех случаях продолжалось 3 мин. Культуру содержали на среде Р. Онодэра и М. Кандацу (1970) при скорости протока 1,6 об./сут. В качестве корма использовали пшеничную солому (2 г/л) и муку (2 г/л). Кормовую смесь помещали в синтетическую среду и содержали в термостате (не более 1 сут.)

Свежую среду доливали с кормом 4 раза в сутки по 0,4 объема. Сразу же после долива начиналось нижнее газирование CO_2 , затем в течение 10 мин культуру перемешивали и сливали по уровню. Скорость разбавления $0,067 \text{ ч}^{-1}$.

В первые сутки плотность популяции снижается, а затем удерживается для *E. caudatum* более 200 экз./см^3 , а *D. dentatum* — около 150 экз./см^3 (рис. 24).

Таким образом, непрерывное выращивание простейших из рубца возможно на синтетических средах с использованием в качестве корма соломы и муки.

Методы проточного культивирования открывают широкие перспективы дальнейшего исследования простейших из рубца in vitro и их роли в естественных и искусственных ценозах, включающих человека.

Полученная нами скорость переработки соломы в 3 раза ниже, чем в аэробных условиях с помощью различных грибов [По-

садская и др., 1976], однако, учитывая более благоприятную для животных по биохимическому составу биомассу простейших рибца, исследования в этом направлении, вероятно, следует продолжить.

ГЛАВА 2

КУЛЬТИВИРОВАНИЕ КОЛОВРАТОК

Коловратки (класс Rotatoria) в системе животного царства относятся к низшим червям. Они упоминались в самые первые годы открытия микроскопа и долгое время отождествлялись с простейшими. Лишь Кювье выделяет их в самостоятельную группу организмов (Rotifera) и выявляет более высокую их организацию. Биология отдельных групп коловраток достаточно хорошо изучена и описана [Кутикова, 1970; и др.].

Коловратки нередко составляют значительную долю (40% и более) биомассы зоопланктона в озерах и рыбоводных прудах [Уломский, 1955; Галковская, 1965] и обладают избирательной способностью в питании [Галковская, 1963]: *Euchlanis dilatata* может потреблять синезеленые водоросли, *Asplanchna priodonta* — диатомовые, *Conochilus hippocrepis* — протококковые. Автор отмечает, что крупные колониальные водоросли включаются в водоеме в круговорот за счет пожирающих их коловраток (до этого считалось — только за счет бактериального разложения).

В природных условиях довольно сложно проследить влияние различных факторов на рост и развитие коловраток. Для этих целей разработаны лабораторные методы [Эрман, 1956, 1958, 1963; Галковская, 1963; King, 1967; и др.]. Широко распространен метод индивидуального и массового периодического культивирования.

ПЕРИОДИЧЕСКОЕ КУЛЬТИВИРОВАНИЕ КОЛОВРАТОК

Индивидуальное культивирование успешно применяется для изучения продолжительности жизни, влияния различных факторов (корма, температуры и т. д.) на выживаемость и плодовитость коловраток.

Индивидуальное культивирование *Brachionus plicatilis* осуществлено К. Хирояма и Т. Кузано [Hirayama, Kusano, 1972] с целью изучения влияния температуры на рост, выживаемость и плодовитость. По одной-две коловратки были помещены в

5-миллилитровые пробирки, кормом служила морская хлорелла в концентрации около 3 млн. кл./см³. Коловратки адаптировались в условиях индивидуального содержания в течение 10 сут. Потомство учитывали в зависимости от температуры через 12 или 24 ч; рН среды 7,5. Выяснено, что оптимальная температура составляет 27°C, повышение ее до 30°C снизило скорость роста и плодовитость, хотя скорость фильтрации оставалась постоянной при 22—32°C. Для массового культивирования коловраток, по мнению авторов, оптимальная температура 25°C.

В аналогичных условиях определена оптимальная концентрация хлореллы для *Br. plicatilis*, которая составила 1,5 млн. кл./см³ [Hirayama, Watanabe, 1973в], а также исследовано влияние дрожжей на рост этого вида коловраток [Hirayama, Watanabe, 1973а]. Выяснено, что дрожжевой корм по сравнению с хлореллой снижает плодовитость коловраток и может быть использован в качестве добавки к хлорелле. Сухая хлорелла в концентрации 50 мкг/мл менее эффективна, чем живая, хотя лучше дрожжей [Hirayama, Nakamura, 1976].

Не все водоросли могут быть благоприятным кормом для этих коловраток. К. Хирояма с соавторами [Hirayama e. a., 1979] исследовали влияние восьми видов морских водорослей на рост *Br. plicatilis* в стерильных условиях. Коловраток содержали по две особи в пробирках с 8 мл среды при 22°C. Ежедневно учитывали плодовитость, скорость роста и выживаемость. В результате опытов выяснено, что два вида водорослей — *Synechococcus elongatus* и *Chlorella* sp. — были прекрасным для коловраток кормом, четыре — *Chlamydomonas* sp., *Monochrysis lutheri*, *Dunaliella tertiolecta*, *Cyclotella cryptica* — средним и два вида — *Eutreptiella* sp. и *Nitzschia clostelium* — неблагоприятным.

Таким образом, оптимальный для *Br. plicatilis* корм — водоросли хлорелла и сценедесмус с концентрацией около 1,5 млн. кл./см³ [Hirayama e. a., 1973в, 1979].

В индивидуальной культуре *Br. calyciflorus* определены оптимальные условия выращивания по концентрации и качеству корма и др. У. Гольбах и Г. Гольбах-Кеуп [Halbach, Halbach-Keup, 1974] установили, что самая высокая скорость фильтрации у этих коловраток наблюдалась при концентрации хлореллы 0,5 млн. кл./см³. При более низкой она снижалась, вероятно, из-за голодания, а при более высокой — из-за отрицательного влияния метаболитов хлореллы, а также из-за образующихся при этом хлопьев (5 млн. кл./см³). Количество отложенных яиц на одну самку *Br. calyciflorus* в течение жизни было наибольшим при концентрации хлореллы 1 млн. кл./см³. Дальнейшее повышение концентрации корма снижало плодовитость и продолжительность жизни *Br. calyciflorus* [Halbach, Halbach-Keup, 1974].

Таким образом, для планктонных коловраток рода *Bra-
schionus* при индивидуальном выращивании оптимальная кон-
центрация хлореллы — 1—1,5 млн. кл./см³ [Hirayama e. a.,
1973; Halbach e. a., 1974].

В индивидуальной культуре исследованы также бентические
бделлоидные коловратки. Размножаются они, как правило,
партогенетическим путем [Hуman, 1951]. На продолжитель-
ность их жизни влияют корм и температура [Fanestil, Barrows,
1965], возраст родителей и концентрация кальция [Lansing,
1942, 1947, 1948] и другие условия [Владимирова, 1978, 1979].

Е. Даухерти с соавторами [Dougherty e. a., 1960] утвержда-
ли, что для бделлоид водоросли и бактерии — адекват-
ный корм.

Н. Мидоу и К. Барроус [Meadow e. a., 1971a] в индивиду-
альной культуре *Philodina acuticornis odiosa* Milne определили
влияние различного корма на рост. Коловраток содержали
при 24,2°C, с чередованием света и темноты — по 12 ч. К 1 л
дистиллированной воды с 0,4 г N₂HPO₄ anhyd добавляли 0,75 и
0,3 г сухого порошка салата, 5 мин кипятили, затем фильтро-
вали; рН 7,1—7,6.

Кормом служили *Aerobacter aerogenes* и *Pseudomonas* spe-
cies № 6. Авторами выяснено: при потреблении коловратками

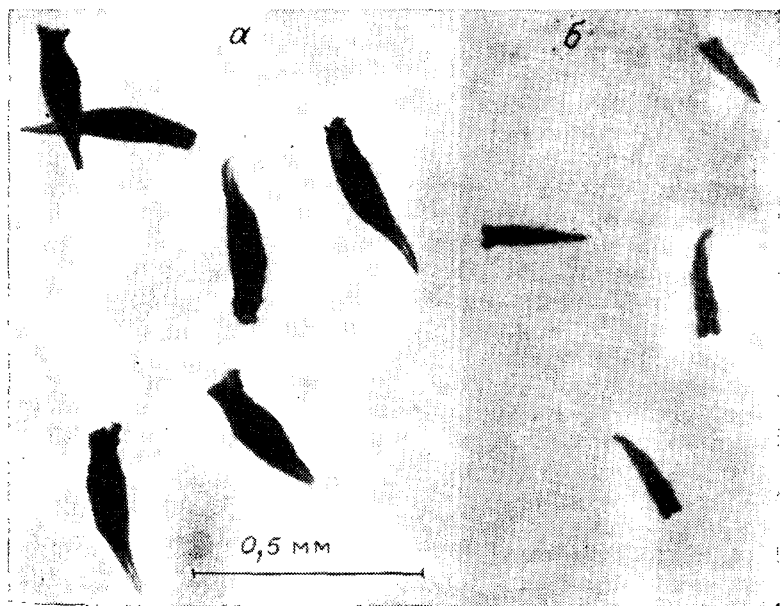


Рис. 25. Влияние *Pseudomonas* species № 6 на рост молоди коловраток *Ph. acuticornis odiosa* [по Meadow, Barrows, 1971a].

а — возраст коловраток 3,5 сут, корм *P. species* № 6 + *Aerobacter aerogenes*;
б — возраст коловраток 3,5 сут, корм только *A. aerogenes*.

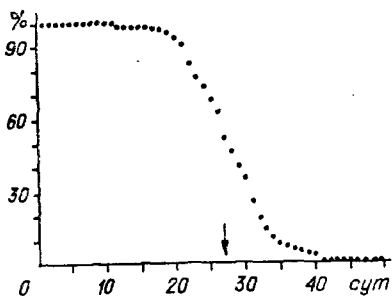


Рис. 26. Выживаемость коловраток *Ph. acuticornis* [по Meadow, Barrows, 1971].

Стрелкой показана средняя продолжительность жизни.

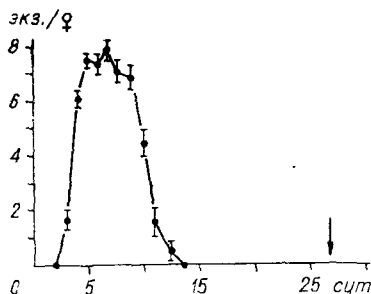


Рис. 27. Скорость продуцирования яиц как функция возраста [по Meadow, Barrows, 1971].

Стрелкой показана средняя продолжительность жизни коловратки.

одного вида бактерий — *A. aerogenes* — их рост и развитие замедляется (рис. 25), смешанный корм (*A. aerogenes* + *Ps. species* № 6) способствует более быстрому росту и развитию *Ph. acuticornis odiosa* (см. рис. 25).

Средняя выживаемость двух групп (синксенной и диксенной) коловраток *Ph. acuticornis odiosa* представлена на рис. 26. Смертность составила 2% до прекращения продуцирования яиц (11 сут). Средняя продолжительность жизни $27 \pm 0,3$ сут. Среднее число яиц на одну самку — $51,7 \pm 0,5$ (рис. 27) [Meadow e. a., 1971].

Таким образом, для бделлоид оптимальны смешанный бактериальный корм [Meadow e. a., 1971a] или водоросли [Dougherty e. a., 1960].

Для создания искусственной трофической системы водоросли — коловратки — личинки рыб нами определена оптимальная концентрация хлореллы и других кормов, а также среды Тамия, в которой выращивалась хлорелла, на рост *Ph. acuticornis odiosa* в индивидуальной культуре. Коловраток по одной особи содержали в микроаквариумах или солонках объемом около 2 см^3 , с $0,3 \text{ см}^3$ среды. Через 48 ч молодь пересчитывали и отсаживали, а взрослую помещали в свежую среду с кормом. Средой служила отстоянная водопроводная вода, кормом — различные водоросли и дрожжи. Температура культивирования $24-27^\circ\text{C}$. Опыты проведены совместно с Н. И. Спицкой.

В первой серии опытов исследовали влияние *Chlorella vulgaris* на рост коловраток. Хлореллу отделяли от среды, ресуспендировали в воде и использовали в концентрации 10, 20, 40, 80 и 160 млн. кл./ см^3 , или $0,1 \div 1,6$ г/л (в расчете на сухое вещество).

Во второй серии для разнообразия корма кроме хлореллы употребляли прессованные дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*. Концентрация корма 0,4 г/л, соотношение хлореллы и дрожжей 2 : 1, 1 : 1, 1 : 3, 1 : 7, 1 : 15.

Влияние концентрации хлореллы на продолжительность жизни и плодовитость коловраток в индивидуальной культуре

Номер опыта	Концентрация норма		Продолжительность жизни ($M \pm m$), сут	Плодовитость ($M \pm m$), экз./♀
	млн. кл./см ³	г/л		
1	10	0,1	11,8±0,92	16,8±1,37
2	20	0,2	17,2±0,73	22,1±1,00
3	40	0,4	18,9±0,74	36,3±1,86
4	80	0,8	16,5±0,67	20,9±0,83
5	160	1,6	16,3±0,61	17,6±1,22

В третьей серии определяли влияние различной концентрации среды Тамия на рост коловраток. Кормом служила хлорелла в концентрации 0,4 г/л. Доля среды Тамия в среде составила 0; 5; 10; 20; 40 и 80%. В этой серии опытов в отличие от предыдущих в солонку отсаживали через 48 ч одну особь среднего возраста.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что при кормлении *Ph. acuticornis odiosa* хлореллой (первая серия опытов) средняя продолжительность их жизни колеблется от 11,8±0,92 до 18,9±0,74 сут. Плодовитость была самой высокой при концентрации хлореллы 0,4 г/л — 36,3±1,86 (табл. 2), число яиц на одну самку — 4±0,9.

При содержании корма 0,4 г/л выживаемость коловраток за 11 сут составила 100% (рис. 28). Довольно высокой она оставалась при 0,8 г хлореллы/л, увеличение последней привело к ее снижению. Выживаемость коловраток была самой низкой при 0,1 г хлореллы/л.

При всех концентрациях хлореллы наибольшая плодовитость отмечена на 4—6-е сут-

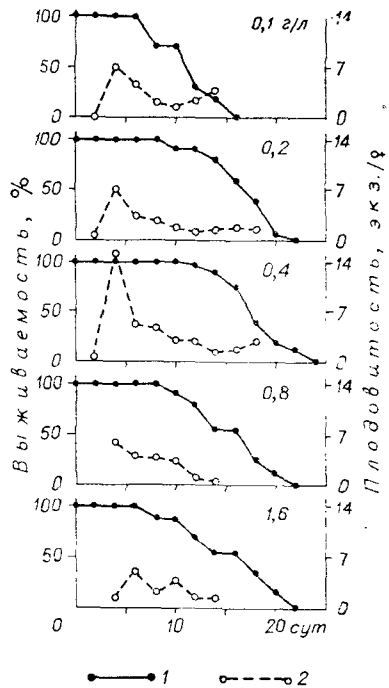


Рис. 28. Влияние концентрации хлореллы на выживаемость (1) и плодовитость (2) коловраток *Ph. acuticornis* в индивидуальной культуре.

Влияние соотношений смешанного корма (хлорелла+дрожжи) на продолжительность жизни и плодовитость коловраток в индивидуальной культуре

Номер опыта	Хлорелла		Дрожжи		Соотношение компонентов		Продолжительность жизни ($M \pm m$), сут	Плодовитость ($M \pm m$), экз./♀
	млн. кл./см ³	г/л	млн. кл./см ³	г/л	хлорелла	дрожжи		
1	27	0,27	5,2	0,13	2	1	14,0±1,01	23,4±1,26
2	20	0,20	8	0,20	1	1	9,0±0,77	14,0±1,08
3	10	0,10	12	0,30	1	3	5,6±0,51	8,5±0,60
4	5	0,05	14	0,35	1	7	6,0±0,44	7,0±0,63
5	2,5	0,025	15	0,375	1	15	4,6±0,60	4,1±0,32

ки опыта, затем она резко падала. Самое длительное время дают потомство коловратки, содержащиеся при концентрации хлореллы 0,4 г/л, вероятно, оптимальной в индивидуальной культуре *Philodina acuticornis odiosa*.

Во второй серии опытов использован смешанный корм (хлорелла + прессованные дрожжи) в различных соотношениях (табл. 3). Общая концентрация приравнена к оптимальной, найденной в предыдущем опыте, — 0,4 г/л. При соотношении хлореллы и дрожжей 2 : 1 выживаемость была самой высокой.

Добавки дрожжей 0,13; 0,2 и 0,3 г/л к хлорелле в концентрации 0,27; 0,2 и 0,1 г/л соответственно (см. табл. 3) снизили плодовитость и выживаемость коловраток по сравнению с теми же концентрациями водорослей в чистом виде (см. табл. 2). Самая высокая плодовитость (23,4 экз./♀) зарегистрирована при соотношении хлореллы и дрожжей 2 : 1.

Результаты первой и второй серий опытов показали, что для

Ph. acuticornis odiosa лучший корм — хлорелла без добавок дрожжей.

В третьей серии опытов установлена оптимальная концентрация среды Тамия для коловраток с целью использования суспензии хлореллы без центрифугирования в вариантах с массовой культурой (рис. 29). При концентрации среды Тамия 5 и 10% полученные результаты по плодовитости сходны с контролем. Увеличение ее до 20 и 40% снизило суточную плодовитость. Концентрация среды Тамия 80% — летальная для коловраток.

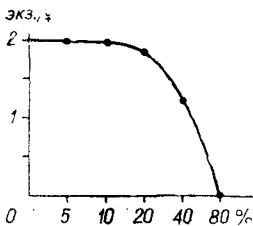


Рис. 29. Влияние концентрации среды Тамия на суточную плодовитость *Ph. acuticornis* в индивидуальной культуре.

Таким образом, в опытах с индивидуальной культурой *Ph. acuticornis odiosa* определено следующее: 1) оптимальная концентрация корма (хлореллы) 0,4 г/л; 2) добавки прессованных дрожжей к хлорелле в пределах оптимальной концентрации корма (0,4 г/л) снижают плодовитость и выживаемость коловраток; 3) концентрация среды Тамия в пределах 15% практически не влияет на их плодовитость.

Массовое периодическое культивирование коловраток. В литературе имеются сведения главным образом по массовому выращиванию планктонных коловраток рода *Brachionus*; *Br. rubens* [Васильева, Окунева, 1961; Pilarska, 1972], *Br. calyciflorus* [Максимова, 1968; Овинникова, 1970; и др.], *Br. plicatilis* [Teilacker, McMaster, 1971; Rothbard, 1975], а также по их биологии, питанию, влиянию температуры на рост [Эрман, 1956, 1958, 1962, 1963; Галковская, 1963, 1965, 1972а, б; Богатова, 1969; Аскеров, 1972; Halbach e. a., 1972; Pierre e. a., 1972, 1973; Pourriot e. a., 1972; Aloia Roland e. a., 1973; Seitz e. a., 1973; Zurek, 1974; Fukusho e. a., 1976; Rougier e. a., 1977; Спекторова и др., 1980; и др.].

Массовая периодическая культура позволяет исследователям получать большое количество материала, подбирать оптимальные условия для коловраток и т. д. В связи с тем, что в массовой периодической плотности культуры выше, чем в индивидуальной, отдельные параметры смещаются. Это, вероятно, связано с возрастающей резистентностью к повреждающим факторам, как это замечено В. М. Горским (1962) у парамедий. Если в индивидуальной культуре оптимальная концентрация водорослей *Chlorella* составила около 1 млн. кл./см³ для *Br. calyciflorus* [Halbach, Halbach-Keup, 1974], то в массовой периодической культуре — 3—6 млн. кл./см³, что позволило В. В. Овинниковой и И. В. Глазачевой (1972) получить ежесуточную продуктивность коловраток 200—250 г/м³ в полиэтиленовых садках объемом 0,5 м³, Г. А. Галковской с соавторами (1979) — 120—150 г/м³ в лотках объемом 0,2—0,4 м³ при 25—30°C. Создавая переменный терморегим в указанном интервале, по утверждению Г. А. Галковской с соавторами (1979), при концентрации хлореллы 3 млн. кл./см³ можно получить урожай примерно 200 г/(м³·сут).

Массовое периодическое культивирование коловраток может осуществляться совместно с водорослями [Teilacker, McMaster, 1971; Спекторова, Аранович, 1973; Спекторова и др., 1975; Spectorova, Doroshev, 1976]. В бассейны объемом 0,06 — 2 м³ заливается среда для водорослей, затем через несколько суток — *Br. plicatilis*. Концентрация водорослей около 50 г сух. в-ва/м³.

Для поддержания в культуре постоянного возраста, состава и уровня оптимальной биомассы коловраток некоторые авторы [Галковская и др., 1979; и др.] предлагают изымать один

раз в 2—3-е суток часть культуры, пропорционально приросту, что составляет 150 г/(м³·сут). При этом отмечается [Галковская и др., 1979], что в процессе культивирования коловраток происходит сильное обрастание сосудов, наблюдаются вспышки инфузорий, в связи с чем и рекомендуется пересевать культуру в чистый сосуд не реже одного раза в неделю.

В. В. Овинникова (1970, 1973), производя сьем продукции регулярно, получила суточную продуктивность *Br. calyciflorus* 217 г/м³. Она отмечает, что в течение всего времени культивирования у этих коловраток наблюдается двуполое размножение. Наибольшее количество зимних яиц наблюдается при максимальной плотности 120—150 экз./см³. Образованию зимних яиц способствует низкая температура, высокая плотность культуры и т. д.

Массовое периодическое культивирование *Br. plicatilis* может осуществляться в бассейнах под открытым небом с использованием хлореллы, или «зеленой воды», как ее называют в Японии, и хлебных дрожжей [Фукусе и др., 1976; Мотидзуки и др., 1978]. С. Росбарт [Rothbart, 1975] отмечает, что выращивание *Br. plicatilis* на смеси «зеленой воды» и хлебных дрожжей, предварительно ресуспендированных в воде, содержащей 1 г EDTA на 10 л (20°C, pH 8, соленость воды 20%), под открытым небом приводит к заражению простейшими *Euplotes*. Автор рекомендует использовать формалин для борьбы с простейшими.

Как видно из литературного обзора, велико стремление исследователей получить большие количества биомассы коловраток в бассейнах объемом от 1 м³ и более. Но, как правило, процесс страдает либо из-за посторонней фауны (простейшие), либо по другим причинам (смещение pH, недостаточное перемешивание культуры и т. д.).

Выращивание коловраток в прудах — еще менее управляемый процесс. А. Г. Крылова (1972) вносила в пруды чистую культуру *Br. calyciflorus*, предварительно выращенную в аквариумах в лаборатории. В пруду развивалась, как правило, смешанная популяция (*Blachionus*, *Asplanchna* и др.). Наиболее длительному и интенсивному развитию смешанной культуры коловраток способствовали подвояленная зеленая растительность и конский навоз, добавляемые в пруды в качестве удобрений.

Кормовые дрожжи также вызывали вспышку в развитии коловраток, однако при их минерализации расходовалось много кислорода, его содержание в воде снижалось до 1,1 мг/л, а иногда и до нуля, что приводило к гибели.

Опыты показали, что в земляных прудах продукция коловраток составила 1,1—1,6 г/(м³·сут), а других беспозвоночных — 1,6—2,2 г/(м³·сут).

Продукционные особенности коловраток изучены слабо [Винберг и др., 1973]. Известно [Васильева, Окунева, 1961;

Максимова, 1968; Овинникова, 1970; Крылова, 1972; Корниенко, 1973; Спекторова и др., 1973; Фукусе и др., 1976], что их периодическая культура обеспечивает продуктивность около 200 г/(м³·сут) и позволяет частично использовать способность организмов к размножению при постоянно изменяющихся условиях среды.

Для повышения продуктивности коловраток, а также для изучения их биологии наиболее перспективен метод непрерывного культивирования.

НЕПРЕРЫВНОЕ КУЛЬТИВИРОВАНИЕ КОЛОВРАТОК

Данный метод развивался главным образом в последнее десятилетие. В связи с тем, что коловратки — многоклеточные организмы и обладают особенностями жизненного цикла, разработка метода непрерывного выращивания была сопряжена с некоторыми трудностями: недостатком знаний по биологии, что приводило к смене партеногенетического размножения на двуполое [Овинникова, 1973], а также условий выращивания, что приводило к снижению плотности популяции, а иногда к гибели. В 1972 г., когда мы начали разрабатывать метод непрерывного выращивания *Ph. acuticornis odiosa*, после успешного непрерывного роста в течение месяца культура погибла, хотя на наш взгляд, были созданы все условия для роста — оптимальный корм, аэрация, оптимальная температура, проток среды.

При внимательном рассмотрении особей в микроскоп обнаружено большое количество яиц внутри каждой. Создавалось впечатление, что у коловратки отсутствуют какие-либо органы, просматривались только яйца. Дальнейший анализ происхождения позволил обнаружить причины их гибели. Во-первых, опыты проводились глубокой осенью, световой день был очень короток, а дополнительное освещение осуществлялось только в дневные часы. Во-вторых, источник искусственного света располагался сверху цилиндрического реактора (см. рис. 12), а плотность культуры была так высока, что биомасса коловраток препятствовала проникновению рассеянного света в реактор.

Введение дополнительного круглосуточного освещения вдоль реактора лампами дневного света обеспечивало непрерывный рост популяции.

Таким образом, несоблюдение только одного параметра культивирования приводит к отрицательным результатам.

Служа прекрасным стартовым кормом для личинок рыб [Спекторова, 1971; Фукусе и др., 1976; Мотидзуки и др., 1978], коловратки вызвали волну исследований по разработке метода непрерывного выращивания с целью получения их биомассы круглогодично.

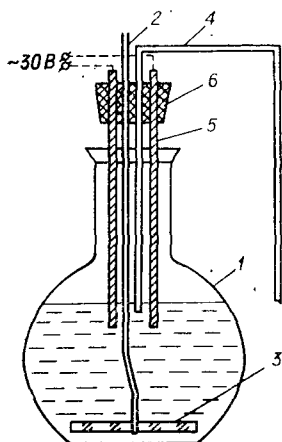


Рис. 30. Установка с электрозаградителем для проточного культивирования *Br. calyciflorus* [Эрман, 1958].

1 — колба на 1 л; 2 — трубка, подающая свежую воду; 3 — пластинка из пластмассы, рассеивающая струю жидкости; 4 — отводящий сифон; 5 — угольные электроды; 6 — резиновая пробка.

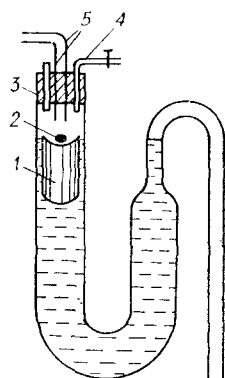


Рис. 31. Гидравлическое реле времени [Эрман, 1958].

1 — стеклянный поплавок; 2 — капля ртути; 3 — резиновая пробка; 4 — подающая воду трубка; 5 — электроды.

Метод проточного культивирования коловраток начал осваиваться Л. А. Эрманом (1958). Он разработал аппарат объемом 1 л с электрозаградителем для выращивания планктонных коловраток (рис. 30). Данная установка была снабжена дозирующим устройством (рис. 31) для подачи свежей среды с кормом.

Принцип работы заключался в том, что в аппарат подавалась свежая среда с кормом, а из него выводилась культуральная среда без коловраток, так как электрозаградитель отпугивал их. В результате получена продуктивность около $125 \text{ г}/(\text{м}^3 \cdot \text{сут})$. Установка, вероятно, может использоваться для работы с клональными популяциями с целью изучения их роста, для физиологических исследований и т. д.

Рыбная индустрия Японии прилагает много усилий для разработки современных методов непрерывного культивирования в управляемых условиях. В 1976 г. разработано устройство для непрерывного выращивания *Br. plicatilis*, которое включает пять емкостей разных размеров и панель управления.

Морская вода, поступившая в запасную емкость, обогащается необходимыми добавками, затем подается в реакторы для выращивания микроводорослей и бактерий. Суспензия этих микроорганизмов с ферментатическими добавками подается в реактор для выращивания коловраток, которые в реакторе 1 (объем 4 м^3) растут и размножаются, затем частично перели-

ваются в реактор 2 (1 м³). В нем с помощью сеточки задерживаются только крупные коловратки, а ювенильные формы возвращаются в реактор 1 вместе с подогретой водой для дальнейшего роста.

Реактор 1 снабжен фильтрующей емкостью объемом 0,2 м³, которая хорошо освещена.

Блок-схема установки для непрерывного культивирования коловраток *Br. plicatilis* приведена в работах Т. Мотидзуки с соавторами (1978). Условия выращивания коловраток: концентрация поваренной соли 0,2%, хлористого кальция — 0,02%, температура постоянная 28°C, рН 8,3—8,4. Количество подаваемого воздуха — 0,01 л/мин на 1 л культуры, корм — смесь микроорганизмов (микроводоросли + бактерии), выращенных на месте в непрерывном режиме.

Скорость разбавления в емкостях 4 м³ — 0,56 и 0,65 об./сут. Производительность установки 3—4 млрд. коловраток, что, по нашим расчетам, составляет 1—2 кг/(м³·сут).

В задачу наших исследований входило: а) разработать метод и технику интенсивного непрерывного выращивания беспанцирных коловраток с целью получения биомассы для научных и практических целей; б) исследовать влияние различных факторов на рост непрерывной культуры коловраток.

НЕПРОПОРЦИОНАЛЬНО-ПРОТОЧНОЕ КУЛЬТИВИРОВАНИЕ КОЛОВРАТОК

Объектом служила *Philodina acuticornis odiosa* [Milne, 1916] из естественных мест обитания в районе г. Красноярска. Популяцию содержали в водопроводной воде в стеклянном цилиндрическом устройстве (200 см³), с оргстеклянными пластинами внутри, что увеличивало площадь прикрепления коловраток (см. рис. 12). Культура освещалась зеркальной лампой ЗН800 и вертикально расположенными лампами дневного света. Аэрацию осуществляли двумя эрлифтами (расход воздуха 1 л·мин/л культуры), что обеспечивало равномерное распределение корма. Свежую среду с кормом (питающая суспензия) подавали из резервуара, помещенного над реактором, где питающая суспензия аэрировалась, чтобы предотвратить оседание корма. Скорость подачи кормовой суспензии регулировали зажимом, излишки культуры выводились через отводную трубочку.

Применен метод непропорционально-проточного выращивания [Кокова, Лисовский, 1976]. В наших экспериментах эффект непропорциональности достигался благодаря оседанию части коловраток на стенках и пластинках устройства. Коэффициент непропорциональности (K) рассчитывали по уравнению (14). Число коловраток в культиваторе устанавливали

один раз в сутки, предварительно встряхивая его для равномерного распределения животных в среде. Количество их в сливаемой части суспензии определяли при каждом сливе с помощью камеры Богорова. За суточную продуктивность (Y) популяции (в стационарный период) принимали отношение числа особей, выведенных из реактора, ко всему объему культуры в нем (см. уравнение 13).

Состояние популяции оценивали по показателям плотности, продуктивности и удельной скорости роста (μ). Последнюю величину находили из уравнения для непрерывного процесса (6) с введением коэффициента непропорциональности (уравнение 16).

Кормом коловраткам служила *Chlorella vulgaris*.

Для того чтобы подобрать оптимальную концентрацию корма для непрерывного выращивания, нами проведен опыт с массовой периодической культурой коловраток с теми же концентрациями хлореллы, что и в индивидуальной культуре, — 0,1—1,6 г/л. Коловраток содержали в аппаратах объемом 0,2 л с двумя эрлифтами и пластинами внутри (см. рис. 12). Культура круглосуточно аэрировалась и освещалась, корм находился во взвешенном состоянии. Концентрацию корма корректировали круглосуточно через 2 ч.

Самая высокая плотность популяции (70 тыс. экз./см³) оказалась в опыте с концентрацией хлореллы 0,40 г/л, однако в пределах 20—80 млн. кл./см³, или 0,2—0,8 г сух. в-ва/л, она оставалась высокой, и процесс был устойчивым (рис. 32).

Полученные в периодической культуре данные по концентрации корма использованы нами при разработке метода интенсивного непропорционально-проточного культивирования.

Исходную суспензию хлореллы готовили в концентрации 10 млрд. кл./см³. Концентрация корма в питающей суспензии 30—40 млн. кл./см³. Расход количества исходной суспензии хлореллы для получения питающей суспензии рассчитывали по уравнению

$$V_c = \frac{SV_s}{S_s}, \quad (17)$$

где V_c — объем исходной суспензии, который необходимо внести в питающую суспензию, см³; S — заданная концентрация хлореллы в питающей суспензии, млн. кл./см³; S_s — концентрация исходной суспензии, млн. кл./см³; V_s — объем питающей суспензии, см³.

Всего выполнено три серии опытов. Первая состояла из двух опытов. Опыт 1 (рис. 33, а) проведен в химическом стакане, объем культуры 200 см³. Ежедневно 0,25 его сливали и доливали свежую среду, концентрацию корма корректировали. Расход количества исходной суспензии для коррекции кон-

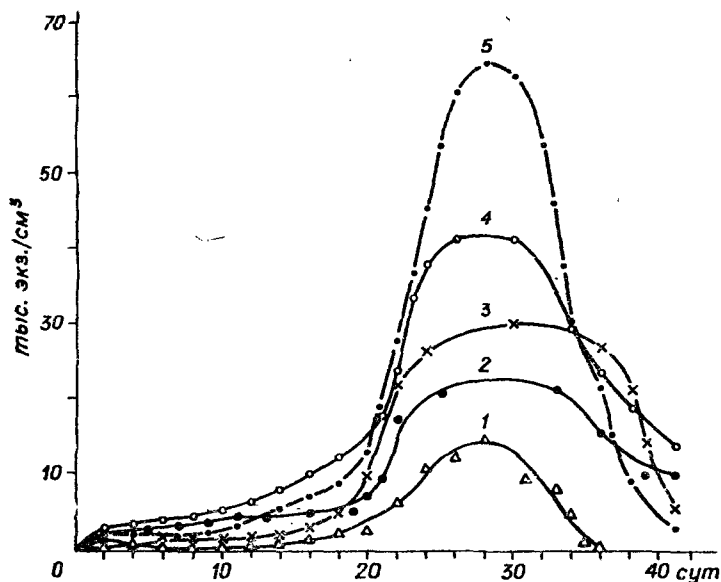


Рис. 32. Изменение плотности периодической культуры *Ph. acuticornis* при различной концентрации хлореллы (г сух. в-ва/л).

1 — 1,6; 2 — 0,1; 3 — 0,8; 4 — 0,2; 5 — 0,4.

центрации корма рассчитывали по уравнению

$$V_c = \frac{(S - S_k) \cdot V + V_n S_k}{S_s}, \quad (18)$$

где S_k — фактическая концентрация корма перед коррекцией, млн. кл./см³; V_n — объем слива, см³.

В опыте 2 (см. рис. 33, б) популяцию содержали в установке с эрлифтами, где в отличие от химического стакана она аэрировалась. Среда заменялась в дневное время непрерывно по каплям в течение 9 ч, т. е. по методу полунепрерывного непропор-

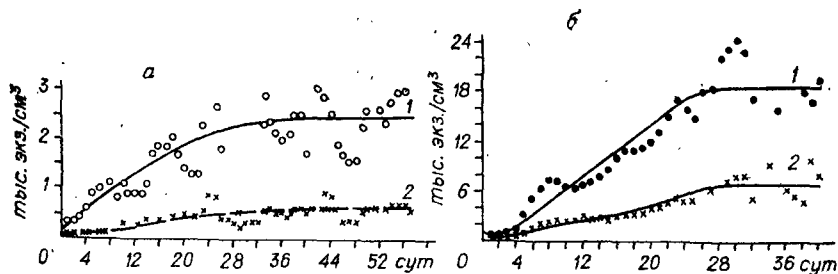


Рис. 33. Плотность (1) и продуктивность (2) культуры *Ph. acuticornis* в опытах 1 (а) и 2 (б).

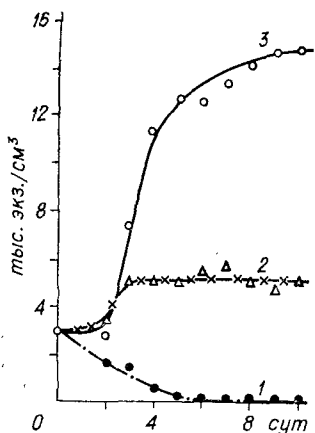


Рис. 34. Плотность культуры *Ph. acuticornis* в зависимости от температуры. 1 — 8°C; 2 — 15°C; 3 — 27°C

В стационарный период в опыте 1 (см. рис. 33, а) плотность популяции равнялась 2500 экз./см³ при ежесуточной продуктивности 600 экз./см³, или 120 мг сух. в-ва/л (сухой вес 1 экз. *Ph. acuticornis odiosa* был 0,18—0,2 мкг). Содержание влаги в биомассе коловраток — 90% [Богатова и др., 1971]. Если допустить, что в биомассе *Ph. acuticornis odiosa* количество влаги такое же, то ее продуктивность в сыром весе составит 1,2 г/(л·сут).

В опыте 2 (см. рис. 33, б) плотность культуры — 18 000 экз./см³, что в 7,5 раза выше полученной в химическом стакане, а продуктивность — 6000 экз./см³, или 12 г/(л·сут), — в 10 раз выше по сравнению с опытом 1. Объясняется это различными условиями. В химическом стакане без аэрации часть внесенного корма через определенное время оседала на дно и была недоступна коловраткам. Увеличение скорости протока здесь, вероятно, привело бы к вымыванию культуры. В аппарате с эрлифтами постепенная смена среды (по каплям) позволяет сохранять ее относительно постоянной. При этом корм поддерживается во взвешенном состоянии за счет круглосуточной работы эрлифтов, и большинство коловраток, прикрепившись к стенкам сосуда и пластинам, спокойно потребляет его.

В опытах по выяснению влияния температуры на плотность и продуктивность непрерывной непропорционально-проточной культуры коловраток получены следующие результаты. С первых суток опыта при 8°C культура вымывалась (см. рис. 34). На 10-е сутки ее плотность составила лишь 15 экз./см³. При 15°C плотность в стационарный период равнялась 5000 экз./см³,

ционально-проточного культивирования. Скорость протока 5 об./сут.

Вторая серия (рис. 34) включала три опыта с различной температурой: 8 (опыт 3), 15 (опыт 4) и 23—27°C (опыт 5). Исходная плотность культуры 3000 экз./см³. Применен метод непрерывного непропорционально-проточного выращивания. Скорость протока 10 об./сут.

Контрольные сливы проводили ежесуточно (по 0,25 объема культуры в культиваторе) с предварительным встряхиванием. Концентрация корма в питающей суспензии 40 млн. кл./см³.

В третьей серии (опыт 6) контрольные сливы были также ежесуточными, но сливали по 0,5 объема культуры. Остальные условия те же, что и в опыте 5.

ежесуточная продуктивность — 1500 экз./см³ (при коэффициенте непропорциональности 33,3), удельная скорость роста — 0,012 ч⁻¹, время удвоения биомассы — 57,5 ч.

При комнатной температуре максимальная плотность достигла 20 000 экз./см³, средняя в стационарный период — 14 000 экз./см³, а ежесуточная продуктивность — 4000 экз./см³ (коэффициент непропорциональности 35). Удельная скорость роста культуры в этом случае равнялась 0,011 ч⁻¹, время удвоения биомассы — 62,7 ч. В контрольных опытах (20 и 30°C) плотность и продуктивность популяции ниже, чем при 23—27°C.

Таким образом, оптимальная температура для непрерывной непропорционально-проточной культуры коловраток находится в пределах 23—27°C. В этих условиях обеспечивается продуктивность 4000 экз./см³, или 0,8 г сух. в-ва/(л.сут) при плотности 14 000 экз./см³.

В опыте 6 коэффициент непропорциональности снижен по сравнению с опытом 5 до 17,8 за счет увеличения в 2 раза объема контрольных сливов (0,5 об./сут). В этом опыте плотность культуры составила 16 000 экз./см³, но продуктивность была выше, чем в опыте 5, и достигала 9000 экз./см³, или 1,8 г сух. в-ва/(л.сут). Удельная скорость роста популяции возросла до 0,023 ч⁻¹, а время удвоения биомассы сократилось до 30 ч.

В опытах 5 и 6 определяли КПД биосинтеза культуры (превращение вещества корма в вещество коловраток) по уравнению [Жокова, Лисовский, 1976]

$$\text{КПД} = \frac{Y_1 \cdot 100}{(S - S_1)V^1 p}, \quad (19)$$

где Y_1 — ежесуточный урожай коловраток, г сух. в-ва; S_1 — концентрация хлореллы в сливе, млн. кл./см³; p — сухой вес 1 млн. клеток хлореллы, г.

При комнатной температуре КПД биосинтеза непрерывной непропорционально-проточной культуры коловраток составил 30—40%. Расход корма на дочернюю особь в этих условиях рассчитывали по уравнению

$$S_g = \frac{V^1 (S - S_1)}{Q}, \quad (20)$$

где S_g — число клеток хлореллы на дочернюю особь, тыс.; Q — ежесуточный урожай коловраток, млн. экз. В наших опытах расход хлореллы на одну дочернюю особь при комнатной температуре 50 тыс. клеток.

Итак, разработанный нами для простейших метод непрерывного непропорционально-проточного культивирования может быть успешно применен при аналогичных работах с многоклеточными беспозвоночными (*Rh. acuticornis*).

Данный метод обеспечил плотность коловраток 16000—18 000 экз./см³ и ежесуточную продуктивность 9 тыс. экз./см³, что составляет 1,8 г сух. в-ва/(л·сут), или 18 г сыр. в-ва/л.

Влияние различных кормов на рост непропорционально-проточной культуры коловраток. Кормом для коловраток служат водоросли [Эрман, 1962; Овинникова, Глазачева, 1972; Корниенко, 1973; Спекторова и др., 1973], дрожжи [Фукусе и др., 1976] и т. д.

В задачу нашего исследования входило выявить влияние различных кормов на плотность, продуктивность и удельную скорость роста непрерывной непропорционально-проточной культуры коловраток.

Коловраток содержали в аппарате объемом 0,2 л с двумя эрлифтами и пластинами внутри.

В опыте 1 в качестве корма использовали прессованные дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* с концентрацией в питающей суспензии 40 млн. кл./см³. Среда — водопроводная вода, скорость протока 5 об./сут. Контрольные сливы проводили через 48 ч по 0,5 объема культуры в реакторе. В опытах 2 и 3 скорость протока 10 об./сут, среда — водопроводная вода, контрольные сливы осуществляли ежесуточно по 0,5 объема культуры в реакторе.

В опыте 2 в качестве корма брали смесь дрожжей *Saccharomyces ellipsoides* и бактерий *Bacillus subtilis*. Концентрация дрожжей в питающей суспензии составила 40 млн. кл./см³, а бактерий в 10 раз меньше (по сухому весу). В опыте 3 кормом служила хлорелла с концентрацией в питающей суспензии 40 млн. кл./см³. В опыте 1 при коэффициенте непропорциональности 14,9 средняя плотность культуры равнялась 5,77 тыс. экз./см³ (рис. 35), а ежесуточная продуктивность 1,6 тыс. экз./см³, или 3,2 г/(л·сут), $\mu = 0,014 \text{ ч}^{-1}$, время удвоения биомассы 49,3 ч.

В опыте 2, где в качестве корма использовали дрожжи и бактерии, при коэффициенте непропорциональности 19,0 плотность популяции составила 10 тыс. экз./см³ при ежесуточной продуктивности 5,3 экз./см³, или 10,6 г/л, $\mu = 0,02 \text{ ч}^{-1}$, время удвоения биомассы 34 ч.

В опыте 3 при коэффициенте непропорциональности 17,8 плотность коловраток была 16,0 тыс. экз./см³ при ежесуточной продуктивности 9 тыс. экз./см³, или 18 г сыр. в-ва/л, $\mu = 0,023 \text{ ч}^{-1}$, время удвоения биомассы 30 ч.

Таким образом, различные корма (хлорелла, дрожжи +

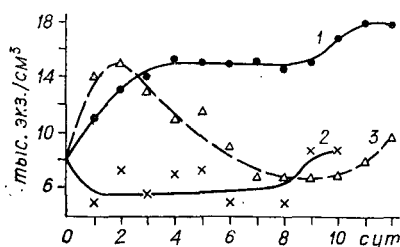


Рис. 35. Плотность культуры коловраток при кормлении хлореллой (1), прессованными дрожжами (2) и смешанным кормом (3).

+ бактерии) обеспечили непрерывный рост культуры и ежесуточные урожаи от 3,2 до 18 г/л. Лучшие результаты получены при кормлении коловраток хлореллой.

Влияние различной скорости протока среды на рост непропорционально-проточной культуры коловраток. Одно из важных условий интенсивного непрерывного культивирования различных организмов — выведение продуктов метаболизма и обновление среды с определенной скоростью. Нами установлено влияние скорости протока среды на плотность, продуктивность и μ культуры коловраток. Коловраток выращивали в аппарате объемом 0,2 л. Средой служила водопроводная вода, температура 27°C. В контроле популяцию содержали без протока.

В первой серии проведено три опыта, корм — хлорелла. В опыте 1 скорость протока среды 2 об./сут, во втором — 5, в третьем — 10 об./сут.

Во второй серии опытов в отличие от первой использован смешанный корм (хлорелла + дрожжи) в соотношении 2 : 1. В опытах 1—3 этой серии кормовую суспензию готовили ежесуточно в разных объемах среды с учетом скорости протока, но количество содержащегося в ней корма было одинаковым — 1 г сухого вещества хлореллы и 0,45 г¹ прессованных дрожжей. Кормовая суспензия подавалась по каплям в течение суток, скорость протока — 2; 10 и 20 об./сут.

В контроле с первых суток плотность культуры возрастает, а удельная скорость роста снижается, а затем становится отрицательной (рис. 36).

Результаты первой серии опытов показаны на рис. 37 и в табл. 4. С увеличением протока среды до 5 об./сут плотность популяции возрастает с повышением коэффициента непропорциональности (см. табл. 4). Усиление протока среды привело к снижению коэффициента непропорциональности и плотности

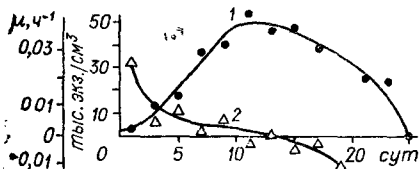


Рис. 36. Динамика плотности (1) и удельной скорости роста (2) периодической культуры *Ph. acuticornis*.

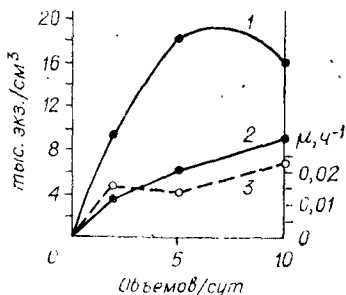


Рис. 37. Зависимость плотности (1), продуктивности (2) и удельной скорости роста (3) культуры *Ph. acuticornis* от скорости протока среды при кормлении коловраток хлореллой.

¹ Сухой вес 1 млрд. клеток прессованных дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* — 0,025 г, сухой вес 1 млрд. клеток *Chlorella vulgaris* — 0,01 г.

Влияние скорости протока среды на рост непропорционально-проточной культуры коловраток *Ph. acuticornis odiosa*

Серия	Номер опыта	Скорость протока среды, об./сут	Коэффициент непропорциональности	Продолжительность, опыта, сут	Средняя плотность культуры в стационарный период, тыс. экз./см ³	Среднесуточная продуктивность		$\mu, ч^{-1}$
						тыс. экз./см ³	г сух. в-ва/л	
I	1	2,15	5,43	38	9,1	3,60	0,72	0,016
	2	5,00	15,00	38	18,0	6,00	1,20	0,014
	3	10,00	17,80	12	16,0	9,00	1,80	0,023
II	1	2,00	7,42	23	3,1	0,84	0,17	0,011
	2	10,00	28,88	23	16,0	5,54	1,11	0,014
	3	20,00	19,72	22	12,7	12,89	2,58	0,042

культуры при возрастании продуктивности и μ (см. рис. 37).

Результаты второй серии опытов сведены в табл. 4 и рис. 38. Обобщенная зависимость плотности, продуктивности и μ культуры показана на рис. 39. С увеличением скорости протока до 10 об./сут плотность популяции возрастает до 16 тыс. экз./см³, однако при высоком коэффициенте непропорциональности (28,9) продуктивность составляет 5,5 тыс. экз./см³. Дальнейшее повышение скорости протока снижает коэффициент непропорциональности и плотность культуры при все возрастающей продуктивности и μ .

Опыты второй серии показали, что при равной скорости протока смешанный корм (хлорелла + дрожжи) обеспечивает продуктивность коловраток почти в 2 раза ниже, чем при кормлении одной хлореллой равной концентрации.

Следовательно, оптимум скорости протока для *Ph. acuticornis odiosa* находится в пределах 5—20 об./сут и тесно связан с коэффициентом непропорциональности.

Разработка реактора для массового непропорционально-проточного культивирования коловраток. Исследования по

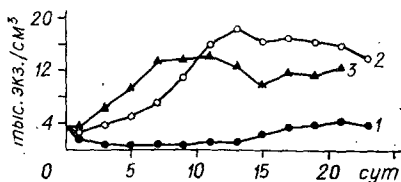


Рис. 38. Динамика плотности культуры *Ph. acuticornis* при скорости протока среды (об./сут): 1 — 2, 2 — 10, 3 — 20 (корм: хлорелла + дрожжи).

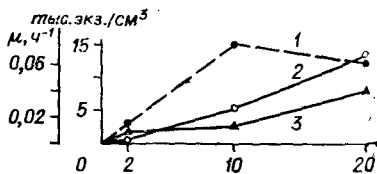


Рис. 39. Зависимость плотности (1), продуктивности (2) и удельной скорости роста (3) коловраток *Ph. acuticornis* от скорости протока среды при кормлении смешанным кормом (дрожжи + хлорелла).

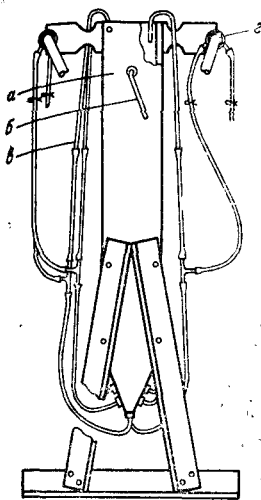


Рис. 40. Схема устройства культиватора для коловраток.

а — реактор; б — трубка для слива по уровню; в — эрлифт; з — ресивер.

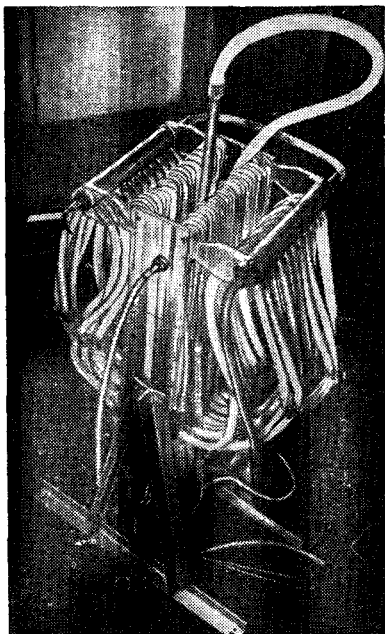


Рис. 41. Общий вид культиватора.

влиянию корма, температуры, скорости потока позволили подобрать оптимальные условия для непропорционально-проточного выращивания *Ph. acuticornis odiosa* и получить высокую ежесуточную продуктивность коловраток — от 18 до 25,8 г/л, или около 20 г/л. Работы выполнены в реакторе объемом 0,2 л, ежесуточная производительность которого составила 4 г сухой биомассы л.

С целью получения для научных и практических целей больших количеств биомассы коловраток нами разработан реактор увеличенного (7 л) объема (рис. 40 и 41).

Основная часть культиватора — реактор (см. рис. 40, а), который изготовлен из оргстекла и имеет форму параллелепипеда (8×24×50 см) с зауженным дном. Аэрация осуществлялась с помощью 44 эрлифтов (см. рис. 40, в) диаметром 8 мм. Воздух от компрессоров (1,4 л/мин на 1 л культуры) подавался в ресивер (см. рис. 40, з), диаметр которого был больше, чем у эрлифтов, — 30 мм. Это позволило создать определенное давление воздуха в системе, что обеспечило равномерность его подачи в эрлифты. Излишки культуры выводились через отводную трубочку по уровню (см. рис. 40, б). В 1,5 м над установкой подвешивалась лампа ЗН, которая давала освещенность на поверхности культуры 1500 лк. С одной стороны реактора освещен-

ность была 1500 лк, с противоположной — 200 лк. Питающая суспензия (вода + хлорелла) подавалась по каплям со скоростью протока 2,15 об./сут. Концентрация хлореллы в питающей суспензии 30—60 млн. кл./см³. Два раза в сутки проводили коррекцию концентрации хлореллы в культуре до 30—40 млн. кл./см³. Контрольные сливы с предварительным перемешиванием осуществляли ежедневно по 0,15 объема. Исходная плотность культуры 40 экз./см³, средняя плотность за последние 20 сут опыта (длительность опыта 38 сут) 10 тыс. экз./см³, а максимальная достигла 34 тыс. экз./см³. При коэффициенте непропорциональности 1,5 средний ежедневный урожай составил 6,5 тыс. экз./см³ культуры в реакторе, или 13 г сыр. в-ва/л.

Таким образом, метод непропорционально-проточного выращивания коловраток в культиваторе, увеличенном в 35 раз по сравнению с ранее используемым, при скорости протока 2 об./сут обеспечил устойчивый рост популяции и ежедневную продукцию 90 г сыр. в-ва/л.

Если весь урожай использовать для личинок карпа или растительноядных рыб по нормам Г. С. Корниенко (1971) или Л. А. Корнеевой с соавторами (1972), то можно прокормить ежедневно около 100 тыс. личинок в первые сутки постэмбрионального развития.

В культиваторе объемом 7 л из-за неравномерного освещения часть коловраток образовывала зимние яйца. Для равномерного распределения света нами разработан специальный культиватор (рис. 42) для непропорционально-проточного выращивания коловраток. Реактор объемом 10 л имеет цилиндрическую форму. Полый внутренний цилиндр 8 изготовлен из оргстекла, культура освещается люминесцентной лампой ЛДЦ-20(6), вставленной внутрь прозрачного цилиндра, что обеспечивает более равномерное, чем в предыдущей конструкции, распределение света. Для того чтобы лампа не соприкасалась со стенками прозрачного цилиндра, ее верхний конец помещен в отверстие решетчатой крышки, а нижний закреплен во фланце 7.

Наружная двустенная часть корпуса 3 изготовлена из нержавеющей стали, одновременно она служит термостабилизирующей рубашкой. Через отводные трубки культура поступает в эрлифты 2, воздух в них круглосуточно подается через ресивер 1 со скоростью 1 л/мин на 1 л культуры. С помощью эрлифтов перемешивается корм и популяция обогащается кислородом. Средой служит отстоянная водопроводная вода. Питающая суспензия (вода + хлорелла в концентрации 80—100 млн. кл./см³ в стационарный период) подается в культиватор со скоростью 2 об./сут, излишки по уровню сливаются через трубку 10.

В опытах применен метод непропорционально-проточного культивирования коловраток, при котором часть коловраток

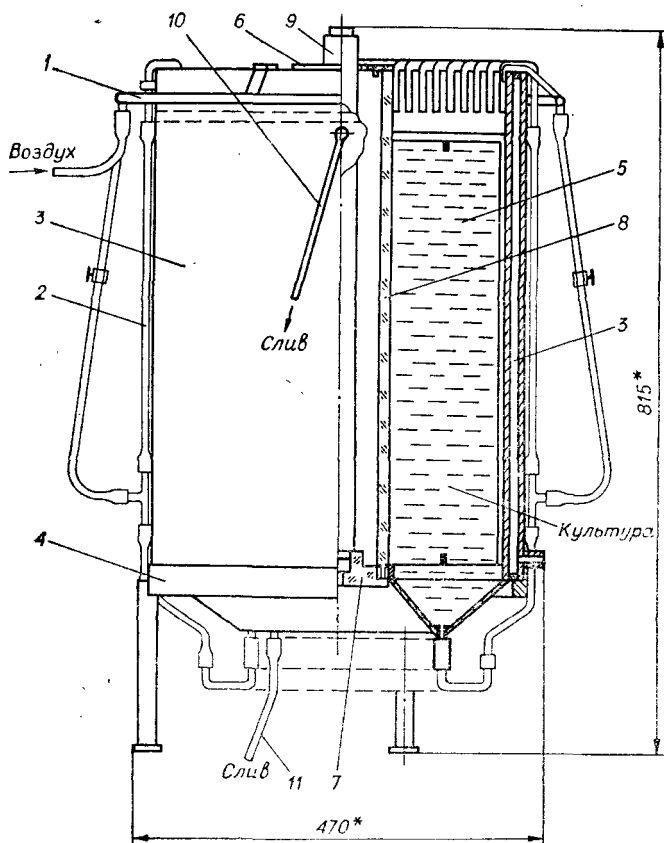


Рис. 42. Схема устройства культиватора для коловраток.
Объяснение см. в тексте.

седают на стенках реактора и радиально расположенных пластинах 5. Раз в сутки культуру перемешивали с помощью воздуха, подаваемого в реактор через стеклянную трубочку, и определяли ее плотность контрольным сливом через трубку 11 по 0,1—0,2 объема. Концентрацию корма в реакторе поддерживали на уровне 40 млн. кл./см³. Общий вид установки показан на рис. 43.

В стационарный период плотность коловраток составила 9 тыс. экз./см³, а ежесуточная продукция с культиватора — 200 г сырой биомассы. Предлагаемый вариант установки может быть увеличен до 60 л (см. рис. 43) и применен для непропорционально-проточного выращивания различных видов коловраток, а также простейших и использоваться для научных и практических целей (выращивание живых кормов для личинок рыб, очистка сточных вод и т. д.).

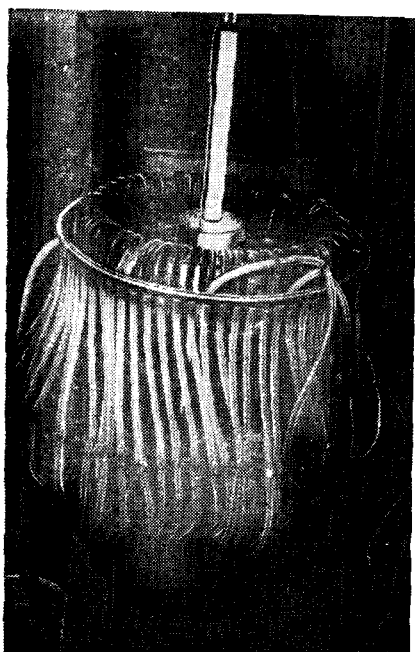


Рис. 43. Общий вид культиватора.

продуктивность около 20 г/(л·сут), что в десятки раз превышает данные, полученные в периодической и непрерывной культуре планктонных коловраток.

ГЛАВА 3

КУЛЬТИВИРОВАНИЕ ВЕТВИСТОУСЫХ РАЧКОВ

Ветвистоусые рачки (*Cladocera*) — небольшие по размерам (длина тела у большинства до 1 мм) и очень разнообразны по внешнему виду. Морфология и биология рачков подробно изложены Е. Ф. Мануйловой (1964) и Н. Н. Смирновым (1975).

Тело ветвистоусых рачков состоит из более или менее ясно разделенных головы и туловища (рис. 44). Число сегментов тела не определено, так как задняя его часть у большинства лишена сегментации. Голова, имеющая различную форму, более или менее наклонена книзу. Назначение ротовых конечностей кладоцер фильтраторов — направлять в кишечный канал образующийся в пищевом желобке комок. С помощью ко-

Таким образом, интенсивное изучение биологии коловраток и совершенствование метода периодического культивирования позволило получить продуктивность планктонных коловраток *Br. plicatilis* и *Br. calyciflorus* около 200 г/(м³·сут) [Овинникова, 1970; Фукусе и др., 1976; Галковская и др., 1979].

Т. Мотидзуки с соавторами (1978) на основе метода непрерывного выращивания получили продуктивность *Br. calyciflorus* 1—2 кг/(м³·сут) (по нашим расчетам), что в 10 раз больше, чем в периодической культуре.

Разработанные нами метод и техника непропорционально-проточного культивирования *Ph. acuticornis odiosa* обеспечили ее продук-

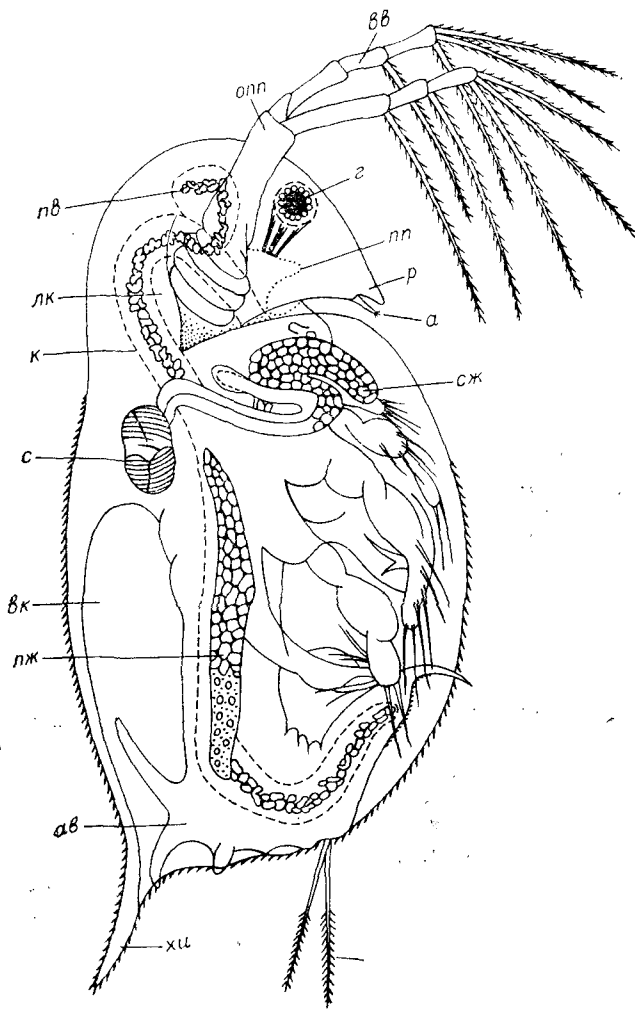


Рис. 44. Строение самки *Daphnia pulex*.

Г — глаз; пп — пигментное пятно; р — рострум; а — антеннулы; сжс — скорлуповая железа; пв — печеночные выросты; лк — латеральный киль головы (форникс); к — кишечник; с — сердце; ск — выводящая камера; лж — половые железы; хп — хвостовая игла; ав — абдоминальные выросты; хц — хвостовые щетинки; гб — верхняя ветвь плавательных антенн; опп — основание плавательных антенн [по Мануйловой, 1964].

В то время, когда пищеварительный тракт заполнен и происходит пищеварение.

Пищеварительная система представлена кишечником, который подразделяется на три примерно равных по длине отдела — пищевод (передняя кишка), среднюю и заднюю кишку. У *Daph-*

niidae передняя часть средней кишки образует парные слепые отростки, так называемые печеночные выросты. Кровеносная система развита слабо. Имеется мешковидное сердце, замкнутое сзади и снабженное выходным отверстием спереди и парой остий по обеим сторонам. Сердце сокращается быстро (до 250 раз/мин). Полостная жидкость (кровь) бесцветна или слабо окрашена и включает мелкие (7—8 μ в диаметре) амёбовидные клетки. Кровеносные сосуды не развиты. Из сердца кровь поступает в пространство между органами.

Половая система представлена половыми железами, почти одинакового строения у самцов и самок. Яичники в виде парных трубок тянутся по сторонам кишечника, открываясь короткими яйцеводами в выводковую камеру. Оплодотворение осуществляется обычно в момент прикрепления самца к заднему краю раковины самки.

Из яичника через специальный канал яйца попадают в выводковую камеру, где развиваются. Выводковая камера — пространство между туловищем и спинным краем створок — играет огромную роль в распространении *Cladocera* [Аладин, 1979].

В образовании защитных оболочек вокруг оплодотворенных яиц принимает участие часть раковинки, формируется эфипиум. В формировании седловидного эфипиума *Daphniidae* участвует только задняя часть спинного края раковинки. Партеногенетические яйца во время нахождения в выводковой камере постепенно превращаются в подвижных зародышей, которые, оформившись в молодых рачков, выходят из камеры с помощью движений постабдомена самки.

Созревающие в яичнике ооциты соединяются по четыре и располагаются группами, в каждой из которых развивается одна клетка, а остальные служат питательными. Яйца бывают миктические, подлежащие оплодотворению, с гаплоидным числом хромосом и амиктические, или партеногенетические, — диплоидные. Пол яйца обусловлен воздействием окружающей среды. За 15 мин до откладки яйца в выводную камеру внешние воздействия могут повлиять на пол будущего зародыша. На фенотипическое определение пола указывалось в литературе [Dehn, 1948; Rzoska, 1961; и др.].

Эмбрион в выводковой камере развивается от 1 до 4 сут. Молодь выходит во время линьки, вслед за этим в выводковую камеру поступают яйца следующего помета. У *Daphnia magna* в летнее время при достаточном количестве пищи в начале и в конце жизни молодь нового помета отрождается каждые 2 дня, в середине жизни — ежедневно.

Молодь, покинувшая выводковую камеру, претерпевает несколько линек, каждая из которых длится от нескольких секунд до 1—3 мин [Banta, 1939].

Голодание задерживает наступление линек [Paranicolau,

1910; Grunewald, 1915; Ingle e. a., 1937]. Особенно чувствительны к недостатку пищи первая и предшествующая половозрелости стадии. Половая зрелость, сопровождающаяся формированием партеногенетических яиц, наступает при определенной концентрации пищи. При ее недостатке рачки могут жить не размножаясь.

По данным Н. М. Крючковой (1979), продолжительность постэмбрионального развития ветвистоусых рачков одинакова в достаточно широком диапазоне концентраций полноценной пищи, т. е. вид может обитать лишь в тех водоемах, где находит необходимые для нормального развития пищевые условия. Это позволило автору [Крючкова, 1979] вычислить среднюю величину продолжительности постэмбрионального развития для рода дафний, которая составила $7,9 \pm 2,1$ сут.

Для определения скорости поглощения корма различными видами дафний проведены опыты [Burns, 1969] с озерной (*Daphnia galeata*) и прудовой (*D. pulex*) формами. Дафнии содержались в лаборатории в течение нескольких месяцев (15°C, в сутки 12 ч — свет и 12 ч — темнота). Пищей служили различные водоросли (*Euglena gracilis*, *Chlamydomonas reinhardtii* или *Selenastrum*).

Для проверки роли размера частиц пищи в питании использованы сферические пластиковые шарики различной величины, но одной формы.

Все исследования проведены в сходных условиях, размеры дафний были в основном одинаковые. Перед опытом их отмывали от водорослевой пищи и оставляли на 1 мин в профильтрованной воде. Затем дафний помещали в суспензию шариков (1—30 мкм в диаметре) и дрожжевых клеток (*Rhodoturlula glutinis*). Через 15 мин их фиксировали 3%-ным формалином.

При подсчете частиц в кишечнике дафний не замечено различия в количестве и качестве заглоченных частиц, находящихся во взвешенном состоянии во вращающихся бутылках. В условиях, когда осадок имел место, *Daphnia pulex* заглатывали высокий процент больших частиц (диаметром >14 мкм), а *D. galeata* — маленьких (<14 мкм). Среднее число заглоченных на одно животное пластиковых частиц и процент животных, употребивших более 20 шариков, были всегда выше для *D. pulex*, чем для *D. galeata*. По мнению К. Бэнс [Burns, 1969], это можно объяснить тем, что *D. pulex* — обитатель прудов, где много пищи и высокая температура. *D. galeata* — обитатель озер, и медленная скорость обновления кишечника объясняется видовой специфичностью.

М. Н. Крючкова (1972) изучила закономерности роста некоторых видов ветвистоусых рачков (*Moina rectirostris* и *D. pulex*) в зависимости от концентрации корма (*Chlorella*, *Scenedesmus*, *Chlamydomonas*, *Stichococcus*). В результате выяснено следующее: 1) среднесуточный прирост озерных видов без учета раз-

множения значительно ниже, чем у прудовых, при одинаковой концентрации корма; 2) при концентрации фитопланктона 5—10 мг/л плодовитость у исследованных видов максимальная; 3) трофические условия в пределах 0,5—20 мг/л не оказывают заметного влияния на скорость потребления кислорода рачками.

Туловищные конечности у *Cladocera* утратили функцию органов движения, а приобрели функцию собирания мелких пищевых частиц. Брюшная стенка тела превратилась в пищевой желобок — единственный путь транспортировки пищи к ротовому отверстию, а створки раковинки наряду с защитной функцией приобрели приспособления, позволяющие регулировать поступление пищевых частиц.

Все действия аппарата осуществляются многочисленными, различными по строению щетинками. Одни из щетинок конечностей выполняют функцию фильтрации, другие — очистительную, третьи подхватывают пищу и направляют ее в пищевой желобок. Многочисленные мельчайшие щетинки, покрывающие стенки пищевого желобка, обеспечивают дальнейшее продвижение пищевых частиц. Все устройство и действие фильтровального аппарата *Cladocera* исключает возможность активного отбора частиц в соответствии с их пищевой ценностью [Мануйлова, 1964].

Фильтрационный аппарат ракообразных обладает высокой улавливающей способностью [Гутельмахер, Алимов, 1979]. При низкой концентрации взвеси практически все частицы, попадающие в их фильтрационную камеру, направляются в рот. Нижний предел размера потребляемых ими частиц определяется расстоянием между фильтрующими пластинками (1—2 мкм), а верхний зависит от размера тела. Важно, что у ветвистоусых ракообразных создаваемые в процессе фильтрации токи воды приносят не только корм, но и кислород.

Скорость фильтрации воды планктонными ракообразными находится в обратной зависимости от концентрации корма в среде. Критическая концентрация, начиная с которой рацион остается постоянным, близка к характерной для условий местообитания животных [Гутельмахер, Алимов, 1979]: $C = Fq$, где C — рацион одной особи, мг/сут; F — скорость фильтрации одной особи, мл/сут; q — средняя концентрация пищи, мг/мл.

Таким образом, по данным Е. Ф. Мануйловой (1964), Б. Л. Гутельмахера и А. Ф. Алимова (1979), ветвистоусые рачки не отбирают пищевые частицы в соответствии с их кормовой ценностью, хотя в литературе есть сведения иного характера. Н. С. Гаевская (1949) отмечала, что *Cladocera* избирают растительные организмы, а не механически отфильтровывают доступный по размеру сестон.

Кормом для *Cladocera* служат: нансестон — одноклеточные водоросли, частицы детрита, мелкие простейшие и ультраसे-

стон — бактерии, очень мелкий детрит и растворенное органическое вещество [Крючкова, Рыбак, 1976]. Разные компоненты, составляющие пищу *Cladocera*, имеют неодинаковую пищевую ценность: наибольшей обладают из микроорганизмов — водоросли *Chlorella* и другие протококковые, из грибов — клетки дрожжей, из бактерий — *Azotobacter* и др. Животные и растительные остатки, составляющие детрит, — хорошая пища для *Cladocera*. Огромное содержание бактерий в детрите еще больше повышает его пищевую ценность [Мануйлова, 1964].

Детрит, частицы мертвого вещества совместно с обитающими в них организмами — важный и вместе с тем наиболее слабо изученный компонент водных экосистем [Павлютин, 1979]. В литературе нет единого мнения о значении детрита в питании беспозвоночных.

По мнению А. П. Павлютина (1979), на трофическую роль детрита указывают следующие факторы: 1) в нем содержится много веществ, которые могут быть легко усвоены водными животными; 2) частицы детрита в значительном количестве встречаются в кишечниках водных беспозвоночных животных; 3) его органическое вещество способно гидролизироваться пищеварительными ферментами.

Г. А. Васильева (1959) установила, что в зависимости от состава детрит имеет различную пищевую ценность. При потреблении темно-коричневого мелкозернистого детрита, не содержащего клеток мелких зеленых водорослей, ветвистоусые находились в депрессивном состоянии, тогда как при наличии в водоеме зеленоватого детрита, в котором содержались целые или разрушающиеся клетки протококковых, состояние рачков было удовлетворительным, но значительно хуже, чем при достаточном количестве водорослевого корма.

М. А. Есипова (1969, 1971) изучала темп роста, сроки созревания и плодовитости *Moina rectirostris*, *Ceriodaphnia quadrangula* и *Simocephalus vetulus* при кормлении детритом разного состава. Для опыта брали только что покинувших камеру материнского организма рачков и рассаживали по одной особи в сосуды со 100 см³ воды.

Кормом служил молодой (10—15 сут) и старый (40—45 сут) детрит, образованный фитопланктоном, животными организмами, высшей растительностью (тростником, ряской, водяным перцем), нитчаткой, и детрит с ложа прудов. Для опытов его получали в полиэтиленовых садках, а с ложа прудов собирали в день спуска. Температура культивирования 18—21°C. Концентрация корма 150—220 мг/л.

Кроме того, проведены опыты с перечисленными кормами, обработанными раствором Люголя. Используемая концентрация (22—8) убивала основную массу бактерий и в то же время не оказывала губительного действия на рачков.

Из всех испытанных кормов наибольшей пищевой ценностью обладал детрит водорослевого происхождения, как и в опытах, где корм обрабатывался раствором Люголя.

Водорослевый детрит естественного происхождения, по мнению М. А. Есиновой (1969), — высокопитательный корм для дафний, он обладает большей пищевой ценностью, чем живые водоросли. Эффективность детрита из фитопланктона почти в 2 раза выше, чем гидролизных дрожжей, служащих основным кормом при массовом заводском культивировании дафний.

М. А. Есипова (1969) в отличие от Е. Ф. Мануйловой (1964) отмечает, что пищевую ценность детрита в большей степени определяет его качество, а не количество присутствующих в нем бактерий. Об этом свидетельствует худший рост рачков на богатом бактериями детрите из зоопланктона и с ложка прудов по сравнению с детритом из фитопланктона и водорослями.

Материалы по детриту получены в кратковременных опытах, продолжительность питания животных в которых колебалась от нескольких минут или часов (радиоизотопные методы) до нескольких суток (весовой и химические методы) [Павлютин, 1979]. Позволяя определить рационы, усвояемость, удельную скорость накопления углерода и т. д., они практически не характеризуют полноценной жизни, т. е. ее способности достаточно долго поддерживать существование и воспроизведение популяции животных.

Более подробно изучено значение различных водорослей как корма для рачков.

И. Б. Богатовой (1969б) проведены исследования в полиэтиленовых садках объемом 600—700 л, где вычислялись коэффициенты корреляции между биомассами *D. magna* и основных планктонных водорослей. При выедании коэффициент корреляции имел отрицательное значение, при его отсутствии — положительное.

Результаты свидетельствуют о большом пищевом значении для *D. magna* эвглен (*Euglena proxima*, *E. acus*, *E. texta*, *E. tripteris*, *E. granulata*), трахеломонасов (*Trachelomonas volvocina*, *T. planctonica*), хламидомонаса (*Chlamydomonas conferta*) и о слабом пищевом значении *Oscillatoria microporum* для *D. magna* и *Coelastrum microporum* для *M. rectirostris*.

И. Б. Богатова (1969б) предлагает использовать для изучения пищевых связей в водоеме метод учета корреляционных связей между количеством организмов-потребителей и потребляемых организмов в сочетании с другими.

М. А. Кастальская-Карзинкина (1942) установила, что жгутиковые зеленые водоросли (*Pandorina*, *Chlamydomonas*, *Euglena*, *Astasia* и др.) перевариваются полностью, а *Scenedesmus* остается нетронутым.

Г. А. Васильева (1959) заметила, что в природных водоемах в конце апреля — начале мая, когда развиваются зеленые во-

доросли, кишечники дафний бьвуют ярко-зелеными от содержания непереваренных и частично переваренных клеток сценедезмуса, хлореллы, эвдорины и других мелких зеленых водорослей. Фекалии выбрасывались мелкими порциями и были рыхлыми. Осенью, когда в фитопланктоне опять появлялись зеленые водоросли, кишечники дафний снова наполнялись и наблюдался второй максимум развития.

В случаях, когда в водоеме находилось большое количество протококковых и эвдорин, состояние популяции *Cladocera* было очень хорошим: все самки были с яйцами или эмбрионами, содержание яиц или эмбрионов в выводковых камерах самок достигало максимума, молодеь составляла 60—80% общего числа животных, самцы, как правило, отсутствовали. При уменьшении протококковых в водоеме состояние популяции ветвистоусых рачков ухудшалось: количество партеногенетических яиц значительно снижалось (до 1—3), часть самок закладывала эфипиумы, начинали преобладать самки без яиц, появлялись самцы, число молодежи сокращалось. Экспериментальные работы Н. С. Гаевской (1945) и других исследователей по кормлению *Daphnia magna* показали большое пищевое значение протококковых водорослей. Следовательно, протококковые, эвглены и эвдорины служат одним из основных пищевых компонентов ветвистоусых. Однако при кормлении *D. pulex* только хлореллой *Chlorella pirenoidosa* или *Chlamydomonas reinhardtii* они теряли способность к нормальному размножению [Taub, Dollar, 1961, 1968], их жизненный цикл укорачивался, овуляция ослаблялась и большой процент овулированных яиц не был способен к полному развитию эмбриона. Добавление водорослей к воде из аквариума поддерживало нормальный жизненный цикл и хорошее размножение.

Сделан вывод [Taub, Dollar, 1964, 1968]: водоросли не способны обеспечить пищевых потребностей *D. pulex*, и их кажущаяся способность утилизировать зависит от организмов, которые попадают с водорослями, например бактерий, поступающих вместе с водой из естественных источников или из аквариумов с рыбами. Однако авторы отметили, что опыты с аквариумной водой не были одинаково успешными.

Высокая концентрация водорослей [Taub, Dollar, 1964, 1968] и старые клетки хлореллы [Ryther, 1954] ингибируют питание *Cladocera*.

Многие исследователи считают, что синезеленые водоросли — неблагоприятный для рачков корм. Г. А. Васильева (1959) наблюдала в природе следующую закономерность: летом, с уменьшением количества зеленых водорослей в фитопланктоне и развитием синезеленых, кишечники некоторых дафний были пустыми, у других содержали некоторое количество хорошо переваренной пищи. Фекалии выделялись очень редко и были

очень плотными. Водорослей в фекалиях не определено или они встречены единично. Дафний в водоеме зарегистрировано мало. Если в водоеме находились синезеленые и зеленые водоросли, последних в кишечниках ветвистоусых было значительно меньше, чем тогда, когда синезеленых в водоеме не отмечено. Синезеленые водоросли, по мнению Г. А. Васильевой, не являясь кормовым объектом для рачков, как бы препятствуют использованию зеленых водорослей.

А. Стросс [Stross, 1973] отмечает, что с развитием в водоеме синезеленых водорослей дафнии исчезают. Экспериментальные работы некоторых авторов по кормлению *D. magna* раздробленными нитями синезеленых водорослей осциллятории и микроцистиса дали отрицательный результат: дафнии плохо росли и не давали потомства [Родина, 1950; Васильева, 1959]. Н. С. Гаевская (1948) установила, что синезеленые служат трофическим тузиком. Однако И. Б. Богатовой (1964, 1965) показано, что синезеленые водоросли потребляются в природных условиях ракообразными.

Анализируя работы о составе корма и размере частиц, потребляемых планктонными животными-фильтраторами, Н. М. Крючкова (1974) пришла к выводу, что хотя некоторые из синезеленых водорослей потребляются и усваиваются ветвистоусыми рачками, все же очень немногие из них способны поддерживать жизнь популяции без других источников корма.

Размножение. Ветвистоусые рачки размножаются двумя способами — партеногенетическим и двуполом, или гамогенетическим. Наступление двуполого размножения, в результате которого формируются покоящиеся яйца, связано с воздействием внешних факторов [Goulden, 1968]: низких температур [Grosvenor, Smith, 1913], накопления продуктов обмена [Banta, Brown, 1923], голодания [Allen, Banta, 1929; Stuart, Banta, 1931] и других условий обитания.

Во многих работах указывается, что *D. magna* Straus, *D. pulex* (De Geer) и виды рода *Moina* под влиянием внешних воздействий легко меняют способ размножения. В естественных условиях вследствие изменений условий обитания для них характерна частая смена способа размножения (полициклия).

А. Вейсман [Weismann, 1879] выдвинул гипотезу, что *Cladocera* обладают врожденным сексуальным циклом, не зависящим от окружающих условий.

В более поздних работах отношение к этой теории различно: а) полное согласие [van Herwerden, 1918]; б) частичное — предполагается существование врожденного сексуального цикла, который, однако, более или менее подчиняется изменяемым условиям или контролю [Papanicolaou, 1910]; в) на сексуальное проявление у *Cladocera* влияют не врожденные факторы, а внешняя среда [Spandl, 1925].

Проведенные А. Банта [Banta, 1925] опыты с индивидуальной и массовой культурой *M. macroscopa* позволили сделать выводы: 1) партеногенетическая репродукция может быть непрерывна в течение сотен генераций и, по-видимому, неограниченна, без внедрения сексуальной репродукции; 2) культуры, полученные из сексуальных яиц (эфишиум), более склонны к продуцированию самцов, чем происходящие от предков, имеющих до 300 генераций, хотя и эти популяции могут давать самцов.

Опыт длительного выращивания *D. magna*, *D. pulex*, *M. macroscopa* и *Eurycercus lamellatus* в лаборатории показывает, что способность переходить от партеногенеза к обоеполюму размножению у них неодинакова [Маркрушин, 1968]. Появление эфициальных самок у *E. lamellatus* в лабораторных условиях наблюдается чрезвычайно редко. Гораздо легче можно вызвать образование эфишиев у *D. magna* и *D. pulex*. Требуется много усилий, чтобы воспрепятствовать появлению самцов и эфициальных самок у *M. macroscopa*, хотя в природе в постоянных водоемах моины склоняются к моноциклии [Spandl, 1925].

Выяснение причин смены способов размножения у ветвистых имеет большое практическое и теоретическое значение. Полученные результаты [Spandl, 1925; Маркрушин, 1968] свидетельствуют о том, что виды, населяющие водоемы различного типа, неодинаково быстро могут менять способ размножения. Неспособность *E. lamellatus* быстро переходить от одного способа размножения к другому, возможно, — одна из причин его отсутствия в малых, астатических водоемах.

Изменение количества пищи играет решающую роль в наступлении двуполого размножения. Для образования эфишиумов требуется более сильное воздействие внешних условий, чем для появления самцов [Mortimer, 1936]. Экспериментальные исследования [Mortimer, 1936] не подтверждают теорию депрессии, согласно которой обоеполюму размножению всегда предшествует неизбежное после нескольких партеногенетических поколений состояние депрессии, когда воспроизводительная система особенно легко поддается воздействию внешних условий.

Наряду с общими требованиями к условиям среды у *Cladocera* имеются различия.

Рассмотрим оптимальные условия культивирования для представителей двух родов (*Daphnia* и *Moina*) семейства Daphniidae.

Многие исследователи считают, что моины и дафнии наиболее перспективны для массового выращивания с целью получения биомассы. Для успешного культивирования этих рачков необходимо хорошо знать их биологию, а также влияние различных факторов на их развитие.

ПЕРИОДИЧЕСКОЕ КУЛЬТИВИРОВАНИЕ ВЕТВИСТОУСЫХ РАЧКОВ

Периодическое культивирование моин. Моины — ценный живой корм для личинок рыб, доступный многим личинкам с первых дней их существования. В связи с этим повышен интерес к изучению их биологии и продуктивности.

Индивидуальное культивирование. А. Валандер [Walander, 1940] подробно описал развитие и рост моин (рис. 45). В индивидуальной культуре они размножаются партеногенетически. Личники у самки можно видеть рано, затем яйца поступают в яйцевую камеру. В целом число яиц в

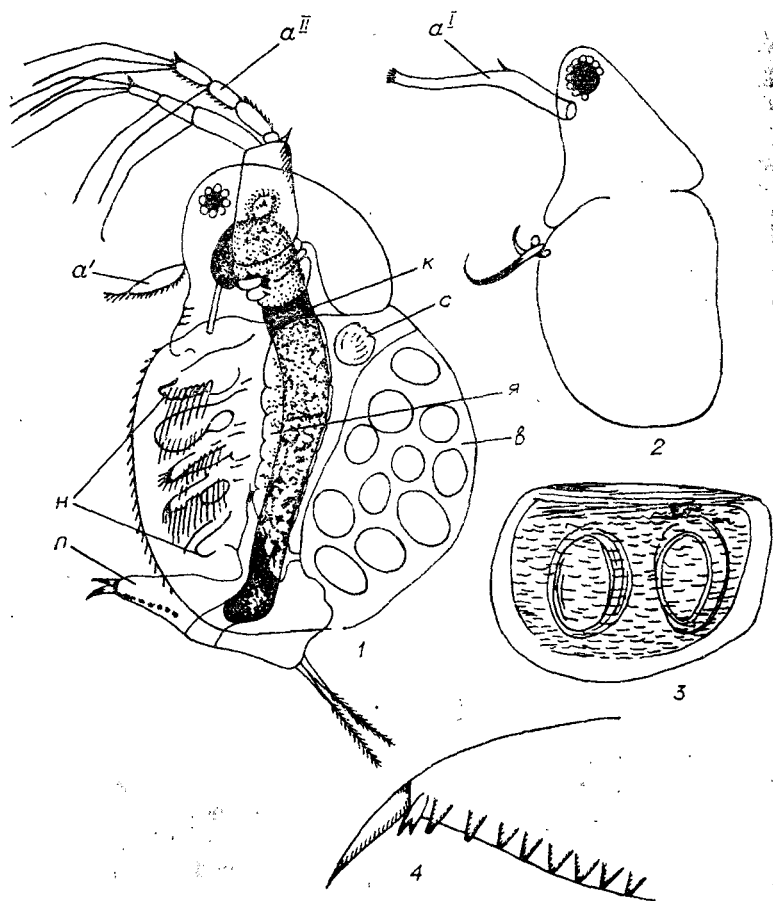


Рис. 45. *Moina macroscopa*.

1 — самка; 2 — самец; 3 — эфиппий; 4 — вооружение постабдомена самки;
 a^I — первая антенна; a^{II} — вторая антенна; к — кишечник; с — сердце;
 я — яичник; в — выводковая камера с яйцами; н — грудные ножки; п —
 постабдомен [по Максимовой, 1969].

первых пометах меньше, чем в последующих. Яйца величиной примерно 0,1 мм в первом помете имеют фиолетовую окраску, в последних — коричневую. Наибольший рост мойн наблюдается первые 3 сут, затем он замедляется. На 6-е после выплывания сутки появляется первое потомство. Следует заметить, что это происходит во время линьки, перед которой рост мойны замедляется. Яйцевая камера опустошается около 2 ч, затем самка энергично отталкивается и освобождается от старой раковины, после чего новая яйцевая камера готова к приему яиц. Линька для самок связана с большой опасностью для жизни. Яйца имеют неправильную овальную форму. Сначала они появляются непосредственно за сердцем, затем передвигаются к заднему концу и попадают в яйцевую камеру. Здесь они вращаются вокруг своей продольной оси, а также смещаются туда и обратно. (Такие движения А. Валадер [Walander, 1940] считает пассивными.) Через 12—24 ч можно различить голову и хвостовое окончание, несколько различим глаз. Через 1,5 сут молодые животные совершают активные движения в яйцевой камере. Группами они покидают все более и более размягчающуюся камеру и сразу же свободно перемещаются. Некоторые рождаются менее развитыми, они неподвижно падают на дно и начинают передвигаться позже.

Когда рост животных замедлен, а их длина достигает 1,3—1,5 мм, они плавают медленнее, движения их ног становятся не такими энергичными, они все чаще опускаются на дно. Одновременно они уже не могут содержать себя в чистоте, освобождаются от сапрофитов, бледнеют, их очертания становятся менее отчетливыми. Все это свидетельствует о скором отмирании.

Особенность мойн заключается в том, что при кратковременном воздействии неблагоприятных условий и быстрой смене их на благоприятные самки мойны, начав формировать зимние яйца или уже сбросив эфиппимы, быстро возвращаются к партеногенетическому размножению [Максимова, 1969].

А. П. Лензо (1972) для изучения индивидуальной культуры использованы стаканчики объемом 15 см³, куда высаживалось по одной *M. rectirostris*, взятой от одной самки. Кормом служили водоросли из пруда: в первой серии опытов — *Pediastrum duplex* (14—30 мкм) с незначительной примесью сценедесмуса, во второй — клетки *Dictyosphaerium* sp. (4 мкм) с примесью *Ankistrodesmus* (20 — 8×3 мкм). Среду меняли через сутки. Первый помет самки давали на 4-е сутки. Общее число пометов в течение жизни одной самки колебалось от 6 до 8, продолжительность жизни в первой серии опытов составила 16,5 сут, во второй — 21 сут. Среднее количество потомков на одну самку в первой серии равно 47, во второй — 85.

Г. А. Васильева (1959) отметила, что на пищевых дрожжах жизнедеятельность *M. rectirostris* несколько лучше, чем *D. pu-*

lex. Однако, по ее мнению, оптимальным кормом для моин служат бактерии + протококковые водоросли или только протококковые водоросли. При этом самки достигают 1,5—1,7 мм длины, дают по 3—6 пометов и живут 14—17 сут, оставляя до 72 потомков. Эти показатели ниже наблюдаемых в природе [Васильева, 1959].

М. К. Аскеров (1959) наибольшее количество потомков от одной самки (216 особей) *M. macroscora* получил при использовании кормовых дрожжей. Первый помет, как правило, самки давали в возрасте 6 сут. Число пометов колебалось от 2 до 6, наибольшее количество потомков было во втором помете. Максимальное число особей в одном помете на одну самку — 64.

В опытах Л. П. Максимовой (1968) самки моины, имевшие при рождении длину 0,42—0,50 мм, при 20,2—24,4° С давали первое потомство на 4-е сутки, при 13—15° С — на 6-е. Количество молоди в каждом помете различно: оно увеличивается от первого к третьему-четвертому, а затем уменьшается. Общая численность потомков от одной самки колеблется в зависимости от температуры, достигая максимума (100 потомков/♀) при 26—31° С. При низкой температуре (13—15° С) число потомков на одну самку составило лишь 31,6 [Максимова, 1969]. Самки *M. macroscora* при температуре 26—31° С созревают через сутки после рождения и дают первое потомство через 2 сут. Интервал между пометами у самок равен суткам, число пометов колеблется от 3 до 13, у одной самки насчитывается от 65 до 214 потомков (в среднем около 100), максимум молоди в помете 32.

Продолжительность жизни моин колеблется от 6 до 25 сут [Максимова, 1968]. Большое варьирование длительности жизни моин при одинаковых условиях содержания отмечалось и раньше, но причины этого явления до сих пор неясны.

Как и для большинства кладоцер, основное значение в питании *M. macroscora* имеют водоросли и бактерии. На использовании моинной и другими кладоцерами преимущественно бактериального корма основано применение в аквариумах сред — навозной, почвенно-навозной, из рисовых отрубей, соевых бобов, раствора овсянки и т. д. [Banta, Stuart, 1932; Arato Tereo e. a., 1934; Bellosillo, 1937; Galtstoff e. a., 1959; Conklin, Provasoli, 1977]. При массовом культивировании моин кормом для них обычно служили водоросли и бактерии [Аскеров, 1960; Максимова, 1968; Лензо, 1972].

Н. М. Крючкова и В. Г. Кондратюк (1966) определяли оптимальную температуру питания для *M. rectirostris*, *D. pulex*, *Simocephalus vetulus*. В качестве корма использовали протококковую водоросль *Chlorella vulgaris*, выращенную в проточной культуре на среде Тамия. Начальная концентрация водорослей 0,4 млн. кл./мл. Для *M. rectirostris* на одно животное приходилось 2,5—10 мл воды. Сухой вес моин составляет 10,4% от сырого. Температура в опытах была 14—38° С. Наибольший

рацион и максимальная скорость фильтрации у *M. rectirostris* достигаются при 22° С, что согласуется с заключением Г. А. Васильевой (1959) для данного вида в природе. Отклонение от этой температуры резко ухудшает состояние культуры. Использование более молодой хлореллы в качестве корма повысило скорость фильтрации.

Культивирование моины в талой воде способствовало усилению плодовитости по сравнению с водопроводной [Conklin, Provasole, 1977]. Оптимальная температура для *M. macroscopa* 26—31° С, летальная — 41° С и около 0° С [Banta, Brown, 1932; Аскеров, 1959].

Moina macroscopa при рН от 5,2 до 9,2 размножается нормально, 5 или 9,4 — летально, 5,5—8,8 — оптимально [Максимова, 1969], хорошо переносит колебания окисляемости в пределах 16,5—75,1 мг O₂/л, содержание углекислоты — от 7,3 до 9,25 мг/л [Bellosillo, 1937; Аскеров, 1959] и недостаток кислорода: при выращивании в бассейнах она давала массовое развитие при 0,3—4,6 мг O₂/л [Аскеров, 1959, 1960]. Лучший рост *Moina macroscopa* отмечен при 4 мг O₂/л или выше [Максимова, 1968].

Таким образом, в индивидуальной культуре моин было выявлено следующее: 1) оптимальная температура для *M. macroscopa* — 26—31° С [Аскеров, 1959; Максимова, 1969]; 2) лучший корм для *M. macroscopa* — смесь водоросли + бактерии или дрожжи + водоросли (хлорелла) в концентрации 0,4 мг/л [Крючкова, Кондратюк, 1966]; 3) рН среды 5,5—8,8 [Максимова, 1969]; 4) оптимальное содержание кислорода в среде 4 мг/л и выше [Максимова, 1969]; 5) среднее количество потомков на одну самку при оптимальных условиях выращивания около 10 экз./сут [Максимова, 1969].

М а с с о в о е п е р и о д и ч е с к о е к у л ь т и в и р о в а н и е м о и н. Подобрал оптимальные условия в индивидуальной культуре, исследователи стремились перенести их в массовую для изучения биологии моин, а также для получения их биомассы.

Опыты с массовой периодической культурой моин проведены в различных вариантах. Ф. П. Полканов (1975) выращивал моин (живородку) в домашних условиях. Он отметил, что живородка мягка, из пруда легко транспортируется без воды, рыбы потребляют ее с жадностью в отличие от дафний, которых в отдельных случаях, по мнению автора, рыбы вообще не едят. Летний по природе рачок требует освещения на менее 14 ч/сут. Большой свет не нужен, достаточно отблеска от лампы, освещающей аквариум с рыбками. Моины культивировались в аквариуме объемом 20 л. Вода водопроводная, треть ее объема меняли раз в неделю. Питаются рачки бактериями и дрожжами. Ф. П. Полканов добавлял бактерий из настоя банановой корки, репы, иногда использовал молоко или воду, в которой мыли

мясо. Но проще и лучше всего, по мнению автора, использовать дрожжи. Если к ним прибавить немного сахара (на 20 л — кусочек с горошину), грибки будут делиться, и культура растет хорошо. Температура 22—28° С. Ежедневно вылавливалось 7—10 г мойн, или 300 г/м³.

Г. А. Васильева (1959) проводила опыты с различными видами мойн в лабораторных условиях. *Moina rectirostris*, имея по 15 яиц в выводковой камере, размещались по 5 особей в 50 см³ воды. В качестве корма использованы протоккокковые водоросли. За 21 сут опыта плотность культуры составила 11 экз./см³.

Moina brachiata при кормлении протоккокковыми водорослями становилась половозрелой на 4-е сутки, через день давала жизнестойкую молодежь, число которой в пометах достигало 30—50, длительность жизни 10—11 сут. Количество мойн в популяции нарастало быстро, за 9 сут число рачков возросло с 2 до 625 на 50 см³, или 12,5 экз./см³. Г. А. Васильева (1959) установила следующие закономерности развития популяции: с увеличением численности рачков падала их плодовитость, возрастало число самок с эфиппиями и без яиц, состояние рачков ухудшалось и наблюдалась их массовая гибель. *Moina brachiata* не могла выйти из состояния депрессии даже при уменьшении численности рачков, вся популяция погибала.

Мойны созревают быстрее и плодовитее, чем дафнии, поэтому рекомендуется выращивать их для получения живых кормов [Васильева, 1959].

Л. П. Максимова (1968) культивировала *M. macroscopa* в лаборатории при 17—23° С. Кормом служили дрожжи с небольшими добавками хлореллы. Биомасса мойн в культуре достигала 200 мг/л (при плотности 1500—2000 экз./л). Автор отмечает, что такая биомасса — предельная для мойн. При ежедневной подкормке гидролизными дрожжами по 50 мг/л продуктивность периодической культуры составила 50—68 мг/(л·сут).

Л. П. Максимова (1969) разработала специальные бассейны для массового выращивания мойн объемом 1 м³ и разместила их в два яруса в специальном цехе в условиях экспериментального рыбоводного хозяйства. При кормлении мойн гидролизными дрожжами она получила продуктивность *M. macroscopa* 40—50 г/(м³·сут) в весенне-летнее время, а в зимнее — 10 г/(м³·сут).

Г. М. Павлович и А. В. Павлович (1978) культивировали *M. macroscopa* в оранжерее в 12 прямоугольных бассейнах по 12 м² при глубине наполнения 0,4—0,5 м. В зимнее время, как и в бассейнах Л. П. Максимовой (1969), вода подогревалась трубами. Кормом служили бактерии, которые развивались на перегнивающих кормовых дрожжах в бассейне, а также кормовые дрожжи. Последние за 2—3 ч до кормления рачков замачи-

вались в мешочках из мельничного газа № 46. Норма кормления — 20—50 г/(м³·сут).

Бассейны заряжали культурой по 30—50 г/м³, на 4—8-е сутки культивирования биомасса рачков увеличилась до 150—400 г/м³. Плодовитость моин в это время составляла 5—6 яиц на самку.

На 10—12-е сутки количество кислорода снижалось до 3—4 мг/л, на 15—16-е — до 1,5 мг/л. Через 7—8 сут спускали 1/2—1/3 объема воды в бассейне и добавляли свежую, на пути слива ставили сетку. Затем отлавливали моин сачком в бассейне, который использовали 4—8 нед.

За 7 мес работы цеха получено 120 кг живых кормов при расходе кормовых дрожжей 129 кг. Ежесуточная продуктивность 20—40 г/м³, в отдельных случаях — 100 г/м³. Развитие культуры моин в таких бассейнах лимитирует, по мнению авторов, гидрохимический режим.

М. К. Аскеров (1955, 1957), используя три вида удобрений (минеральные, конский навоз и зеленую траву), выращивал моин в бассейнах под открытым небом при 24—25° С; рН 7,3—8,95, содержание кислорода 0,4—0,9 мг/л. В бассейнах под открытым небом развивались водоросли, которыми питались моины. Использование минеральных удобрений для выращивания моин обеспечило их ежесуточную продуктивность 46 г/м³, конского навоза — 29 и зеленых удобрений — 36 г/м³.

В 1959, 1960 гг. М. К. Аскеров в качестве удобрения применил кормовые дрожжи. При этом в бассейнах под открытым небом развивались водоросли, достигая плотности 37 млн. кл./см³. Рачки приобретали бледно-розовую окраску, которая, по мнению М. К. Аскерова, — лучший показатель их упитанности и хорошего состояния популяции. При концентрации водорослей менее 5 млн. кл./см³ у самок моин появлялись эфипшиумы.

Таким образом, массовая периодическая культура моин имеет продуктивность при использовании в качестве удобрений гидролизных дрожжей около 50 г/(м³·сут) [Максимова, 1969; Павлович и др., 1978], а прессованных дрожжей и бактериальных добавок — до 300 г/(м³·сут) [Полканов, 1975].

Развитие массовой периодической популяции заканчивается, как правило, с появлением эфипшиальных самок в плотной культуре. М. К. Аскеров (1959) отмечает, что появление эфипшиальных самок может быть связано помимо высокой плотности с концентрацией корма.

В массовой периодической культуре моин содержание корма должно быть выше, чем в индивидуальной, приблизительно в 5—10 раз и составлять не менее 5 млн. кл./см³, в ином случае, по утверждению М. К. Аскерова (1959), могут образовываться эфипшиальные самки.

Массовое периодическое выращивание мoin в бассейнах объемом 1—6 м³ обеспечивает ежесуточную продуктивность культуры от 10 г/м³ в зимнее время [Максимова, 1969] до 40—50 г/м³ в весенне-летнее [Максимова, 1969; Павлович и др., 1978] и до 300 г/м³ в реакторе объемом 20 л [Полканов, 1975].

Периодическое культивирование дафний осуществляется при индивидуальном содержании особей и в массовой периодической культуре.

Индивидуальное культивирование. В. В. Овинникова и З. И. Орлова (1970) рассаживали только что отродившуюся молодь *D. magna* по одной в стеклянные трубки U-образной формы, с коленами разной длины, затянутыми с обеих сторон газом № 64. Трубки подвешивали в водоеме на глубине 30 см. Длину тела животных измеряли ежедневно, молодь подсчитывали и удаляли.

Рост *D. magna* продолжается в течение всей жизни и прекращается лишь в период созревания яиц (рис. 46). Более высокий темп наблюдается в первом периоде индивидуальной жизни *D. magna* (10—12 сут), в дальнейшем он снижается.

Новорожденная молодь имела в среднем длину тела 800 мк, вес 0,02 мг. При размере 2300 мк и весе 0,9 мг самки достигали половой зрелости. Эмбриональное развитие молоди из яйца продолжалось от 2 до 3 сут (в среднем 2,4 сут при 20°C). Половозрелость наступала на 6—7-е сутки при 20°C, что согласуется с результатами Н. М. Крючковой (1979).

Максимальный вес дафний в опыте достигал 3 мг, в пробах зоопланктона — 4,5 мг. Средняя плодовитость *D. magna* в опыте составила 16 яиц (от 11 до 18), в природной популяции — от 8,5 до 22,3 яиц.

Г. А. Васильева (1959) в опытах с отдельными животными (рачки содержались по 1—3 в 50 мл воды) определяла наступление половой зрелости, число пометов и потомства, отнесенное не к общему количеству подопытных самок, а к количеству самок, давших потомство.

При кормлении пищевыми дрожжами *Daphnia pulex* давали летальное потомство, и длительность жизни самок была значительно короче, чем при кормлении протококковыми водорослями. Животные были бесцветными и малоподвижными.

По мнению Г. А. Васильевой (1959), на жизнедеятельность рачков большое влияние оказывают доопытные условия. Животные, взятые в опыт из различных культур, даже при кормлении хлореллой жили в первой серии опытов

По мнению Г. А. Васильевой (1959), на жизнедеятельность рачков большое влияние оказывают доопытные условия. Животные, взятые в опыт из различных культур, даже при кормлении хлореллой жили в первой серии опытов

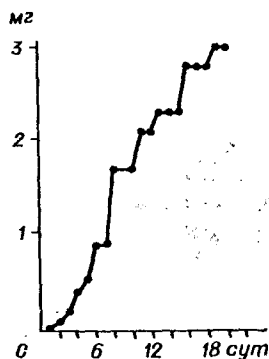


Рис. 46. Рост особи *Daphnia magna* [по Овинниковой, Орловой, 1970].

19—26 сут, дав 4—7 пометов, в которых насчитывалось 23 — 52 новорожденных, а во второй серии (из удовлетворительной культуры) жили до 47 сут и дали по 10—12 пометов, количество молоди в них составило 189—251.

Продуктивность *D. magna*, как и любого животного, зависит от роста и размножения. Развитие партеногенетических яиц детально описано В. Обресковым и А. Фразер [Obreskove, Fraser, 1940]. По их наблюдениям в течение первых 18 ч развития яйца сохраняют сферическую форму и не увеличиваются в размерах (0,275 мм). Через 21 ч яйцо начинает вытягиваться, длина его в это время 0,337 мм. Первые признаки движения туловища и начало биения сердца у эмбрионов наблюдается через 30 ч. Все развитие яйца до свободного плавания организма продолжается 46 ч. Длина животного при выходе из выводковой камеры 0,47 мм. Из наблюдений в природе М. А. Пятаков (1956) приводит более крупные размеры яиц — 0,358 мм. Длительность так называемого выводкового периода, т. е. периода от появления яйца в выводковой камере до выхода молодого животного во внешнюю среду, по данным Б. Андерсон и Дженкинса [Anderson, Jenkins, 1942], в начале жизни самки составляет 48,4 ч, а в конце жизни — 58,5 ч, по Е. Войнарович [Woynarovich, 1959] — 3 сут. Из выводковой камеры молодежь выходит во время линьки, затем в нее через 1—3 ч поступают яйца следующего помета [Woynarovich, 1959]. От вылупления организма до образования у него первых яиц в зависимости от условий проходит 6—8 сут [Богатова, 1963], или $7,9 \pm 2,1$ сут [Крючкова, 1979]. Первые яйца появляются у самок при длине 2,15—2,95 мм [Green, 1954; Пятаков, 1956]. Из зимующих яиц молодежь выходит через 3 сут после их замачивания [Богатова, 1963]. В опытах И. Б. Богатовой вылупившиеся из эфипшиума самки давали первое потомство через 10—11 сут. В течение жизни они достигают длины 5—6 мм [Бенинг, 1941; Green, 1954; Пятаков, 1956; Woynarovich, 1959]. Самки *D. magna* могут давать в одном помете до 100 и более яиц [Green, 1955; Woynarovich, 1959].

Число молоди в одном помете *D. magna* меняется в зависимости от температуры и составляет в среднем у одной самки при 28°C 15 экз., при 18°C — 49, при 8°C — 36 [MacArthur, Baillie, 1929]. Среднее количество молоди в помете изменяется с возрастом самок [Woynarovich, 1959]. От условий питания меняется плодовитость *D. magna*. По данным Е. Войнарович [Woynarovich, 1959], при концентрации хлореллы 1 млн. кл./см³ среднее число молоди в помете равнялось $19,3 \div 51,3$, при 0,5 млн. — $14,6 \div 31,7$, при 0,25—1,7 — $19,6$. При содержании хлореллы 0,125 млн. кл./см³ самки давали только три помета, число молоди — $2,1 \div 10,8$. Максимум линек и пометов у одной самки — 24 [Anderson, 1932].

В течение жизни одна самка дает по 1172 особей молоди [Woynarovich, 1959]. Продолжительность жизни партеногене-

тических самок *D. magna* может составлять 4—5 мес [Green, 1955].

По темпу роста, плодовитости и длительности жизни *D. magna* превосходит такие пресноводные формы, как *D. pulex*, *D. longispina*. Используя данные Е. А. Заринской (1939) и других авторов, Г. И. Шпет и М. Л. Пидгайко (1967) рассчитали потенциальную продуктивность некоторых представителей планктона и бентоса. Потенциальная продуктивность одной самки *D. magna* оказалась, по расчетам этих авторов, равной 129—142 кг за 36 сут.

Таким образом, метод индивидуального выращивания дафний позволяет изучать влияние различных факторов на рост, плодовитость, длительность жизни и т. д.

Для массового культивирования дафний необходимо знать основные параметры культивирования.

По данным И. Б. Богатовой (1951), при хорошем питании *D. magna* может жить при содержании кислорода 0,2 мг/л. При низких концентрациях O_2 плодовитость у дафний снижается до 8—10 особей, в то время как при 3 мг/л составила 13—15, а при 6—7 мг/л — 16—29 особей. Культивирование дафний в цементных бассейнах на конском и коровьем навозе оказалось возможным при наличии в среде 0,72—1,11 мг O_2 /л [Шпет, 1950]. В таких же бассейнах вследствие повышения плотности *D. magna* содержание O_2 снижалось до 0,2—1,09 мг/л [Богатова, 1951, 1963].

А. М. Герберт [Herbert, 1954], пропуская через воду смесь азота и кислорода, определила, что 50% *D. magna* погибают при 0,3 мг O_2 /л. В тех же условиях озерная форма *D. hialina* погибла при 0,69 мг O_2 /л.

Г. А. Галковская и соавторы (1979) считают, что в границах толерантности *D. magna* реагирует на повышение концентрации кислорода гораздо острее, чем понижение. При 15 мг O_2 /л в условиях оптимальной температуры в течение суток гибнет 100% популяции, представленной разновозрастными особями.

Daphnia magna выносит широкий диапазон колебаний температуры, она может давать потомство при 2—4°C [Аскеров, 1958; Брискина, Журавлева, 1958] и даже при наличии льда на поверхности воды имеет летние яйца [Брискина, Журавлева, 1958]. Однако созревание дафний крайне замедленно и длится 40—50 сут зимой и 5—8 сут — летом [Богатова, 1971]. *D. magna* выдерживает суточные колебания от 0 до 22°C, *D. pulex* при таких колебаниях погибает [Коновалов, 1956]. По наблюдениям И. Б. Богатовой (1971), *D. magna* в бассейнах под открытым небом, питаясь водорослями, продолжала развиваться при 5—7°C. При более низких температурах в культуре сохранялись образовавшиеся ранее самки с партеногенетическими яйцами и не было самок с эфиппиумами. При 4°C размножение *D. magna* прекращалось [Mortimer, 1936].

Верхний температурный порог для *D. magna* 35°C [Brown, 1929a—c; Mortimer, 1936]. По данным М. К. Аскерова (1958), *D. magna* при 36,3° С опускается на дно бассейна, при 39,2° С погибают взрослые особи, при 40,4°С — молодь.

Влияние температуры на продолжительность жизни дафний изучено достаточно полно [McArthur e. a., 1929; Сун Да Сян, 1962].

Ф. Гавлена (1955) отмечает, что срок получения первой молодки от новорожденных дафний и количество особей в каждом помете при единых условиях культивирования тесно связаны с температурой. При 20—24°С первый помет наблюдался на 9—10-е сутки, одна самка за 15—17 сут давала 162—177 особей. При 17°С первый помет получен на 11-е сутки, но одна самка давала за 15 сут в среднем только 73 особи. Температура 11°С неблагоприятна для развития дафний: первый малочисленный помет получен на 26-е сутки.

Корм наиболее интенсивно потребляется при 18 — 28°С: за 2 ч животные выедали его более 40%. Автор [Гавлена, 1955] считает необходимым вносить корм несколько раз в сутки небольшими порциями до концентрации сценедесмуса 1—2 млн. кл./см³. При 32°С дафнии погибали.

Оптимальная температура для роста *D. magna* 18 — 24°С [Кастальская-Карзинкина, 1942]. В пределах этой температурной зоны отмечены большое количество желтка в яйце [Fries, 1964], максимальная абсолютная плодовитость [Wouparovich, 1959] и эффективность массового культивирования [Гавлена, 1955; Богатова, 1973]. За пределами этой зоны рацион падает [Гавлена, 1955].

Г. А. Галковская с соавторами (1979), определяя ускоряющий эффект переменной температуры на рост массовой культуры *D. magna*, проверили четыре амплитудных терморегима. В экспериментах принята синусоидальная форма изменения температуры. Испытаны 24- и 6-часовые циклы. Авторами выбраны терморегимы в пределах толерантной зоны. Два режима — 20±3 и 23±3°С — охватывают зону, которая считается наиболее благоприятной для роста и развития *D. magna*; режим 20±5°С несколько шире оптимального диапазона, в котором четко срабатывают механизмы саморегулирования процессов роста и размножения; режим 20±10° С захватывает крайние пределы видовой толерантности. Эффект амплитудного терморегима на увеличение численности потомков отмечен в терморегиме 20±5° С; он составил 31,3% относительно средней константной температуры.

Ускорение роста численности связано с тем, что укорачивается ювенильный период, увеличивается продолжительность периода половой зрелости и общая продолжительность жизни особей. В амплитудном режиме, по мнению авторов, срабатывают гомеостатические механизмы, которые «экономи-

зируют» жизнедеятельность организма. При экспериментальном выращивании чистых линий от самок одного помета при 20° С получено 546 особей, при 20±10° С — 528, при 20±5° С — 2915. При переменных температурах увеличивается эффективность использования усвоенной пищи на рост [Галковская и др., 1979].

Наиболее благоприятные условия — естественное чередование света и темноты (цикл — 12 ч), при которых происходит исключительно партеногенетическое развитие *D. magna* [Fries, 1964].

По мнению Е. Войнарович [Woynarovich, 1959], *D. magna*, содержащаяся в темноте, размножается так же интенсивно, как на свету.

Ф. Гавлена (1955) указывает, что интенсивность питания в ночные темновые часы и на свету в течение суток не меняется. Суточный кормовой коэффициент *D. magna* весом 2,6 мг при концентрации корма около 1 млн. кл./см³ при 19—20,5° С равнялся 6. *Daphnia magna* может жить и давать высокую продукцию в широком диапазоне освещения. Н. Д. Депп (1898) и И. В. Ивлева (1969) отмечают, что *D. magna* — светолюбивая форма и даже в условиях юга, где количество и яркость света достигают очень больших величин, она концентрируется в местах, подвергающихся наиболее сильному освещению.

Е. Грин [Green, 1961] считает, что дафнии проявляют положительный фототаксис при голодании, а соотношение света и темноты 16 : 8 способствует отрождению только партеногенетических самок [Stross, 1969].

Известно, что хлорелла — оптимальный корм для планктонных рачков рода *Daphnia* [Гаевская, 1945; Васильева, 1959; Сущенко, 1975]. По данным Л. М. Сущенко (1975), при концентрации хлореллы 2,3 млн. кл./см³ суточный рацион *D. magna* размером 0,9—1,45 мм достигает 98—105% веса тела.

Г. А. Галковская с соавторами (1979) при стабильном возрастном составе в процессе длительного выращивания *D. magna*, снимая избытком корма (2 млн. кл./см³) «эффект корма» при плотности 0,5 экз./см³ (средний вес одной особи составил 0,069 мг сухого вещества, или 400 г/м³ сырой биомассы), получили ежесуточную продуктивность культуры 80 г/м³ сырой биомассы.

Оптимальная концентрация сценедесмуса для дафний 2,3 млн. кл./см³ [Кастальская-Карзинкина, 1942], а гидролизных дрожжей — 30—50 г/м³ [Ивлева, 1969].

Таким образом, для *D. magna* оптимальны следующие условия культивирования.

1. Содержание кислорода 6—7 мг/л [Богатова, 1951].
2. Температура 18—24° С [Гавлена, 1955; Woynarovich, 1959]; положительный эффект переменной температуры отмечен в терморегиме 20±5° С [Галковская и др., 1979].

3. Концентрация корма: сценедесмус — 1—2,3 млн. кл./см³ [Кастальская-Карзинкина, 1942; Гавлена, 1955]; хлорелла — 1—2 млн. кл./см³ [Антипчук и др., 1979; Галковская и др., 1979]; гидролизные дрожжи — 50 г/м³ [Ивлева, 1959].

4. Чередование света и темноты при соотношении 12 : 12 [Fries, 1964] или 16 : 8 ч [Stross, 1969].

При оптимальной температуре дафнии созревают на 7,9 ± 2,1-е сутки [Крючкова, 1979] и быстрее при переменном терморегиме [Галковская и др., 1979]. Общее число потомков на одну самку за 47 сут — 189—251 [Васильева, 1959], за 15—17 сут — 162—177 [Гавлена, 1955], или 5—10 в сутки.

При переменном терморегиме 20 ± 5° С (продолжительность жизни не указана) одна самка *D. magna* может давать в течение жизни 2915 особей [Галковская и др., 1979].

Массовое периодическое культивирование дафний в бассейнах. По многолетним наблюдениям Н. А. Дешпа (1889), лучшая пища для мальков рыб — дафнии, как по относительно большой их величине, так и по легкости выращивания. По мнению автора, малькам даже самым маленьким необходимо давать взрослых дафний, так как мальки кормятся их молодью, появившейся в том же резервуаре. Подрастая, они начинают заглатывать взрослых дафний.

В качестве удобрений Н. А. Дешп использовал птичий помет, свежий коровий навоз и их смесь. Скорость развития микробов и дафний во многом зависит от погоды и температуры воздуха: в теплую и солнечную погоду микроорганизмы и дафнии развиваются быстрее, чем в пасмурную и холодную. При низкой температуре дафнии зарываются в ил и приплода не дают; в тени и при оптимальной температуре дафнии размножаются очень медленно.

Для приготовления настоя автор не рекомендует использовать удобрений больше, чем положено по норме, так как иначе начинается сильное брожение, препятствующее развитию микроорганизмов и дафний.

М. К. Аскеров (1965) культивировал *D. magna* в апреле — июле и сентябре—октябре в бассейнах объемом 33—40 м³. Воду пропускали через мельничный газ. В качестве удобрений взяты: 1) конский навоз — по 1,5 кг/м³ при зарядке и половина дозы при подкормке через 8 сут; 2) кормовые дрожжи — 15—20 г/м³ при зарядке и половина дозы при подкормке через 5 сут; 3) минеральные (суперфосфат, аммиачная селитра или сульфат аммония) — по 7 мг фосфора или 12 мг азота на 1 л воды; 4) различные комбинации органических и минеральных удобрений.

При использовании конского навоза результаты, как правило, были неустойчивы; средний срок эксплуатации одного бассейна составлял 22 сут, продукция — 9,7 г/(м³·сут). Кормо-

вые дрожжи обеспечили продукцию 12,6 г/(м³·сут). Отрицательный момент в культивировании дафний на дрожжах — развитие питчатых водорослей. Применяв минеральные удобрения, получена продукция 12,7 г/(м³·сут). При данном методе выращивания дафний культура была перенасыщена кислородом, поэтому автор рекомендует объединить его с методом органических удобрений. Комбинированный метод (дрожжи + аммиачные удобрения) позволил получить продукцию 31,2 [Аскеров, 1965] и 40—50 г/(м³·сут) [Аскеров, 1960]. От действия прямых солнечных лучей дафнии гибнут, поэтому М. К. Аскеров (1960) советует затемнять бассейны.

М. М. Брискина (1956) культивировала *D. magna* в цементных бассейнах с непроточной водой. Площадь бассейнов 50 м², объем 25—30 м³.

В качестве удобрений использовали кормовые дрожжи *Torulopsis utilis*. Для получения 1 кг дафний взято 250 г дрожжей, причем в августе при 21,3°С израсходовано 172 г, а в ноябре при 6,2°С — 480 г.

Чистый бассейн заполняли профильтрованной через газ № 61 водой. На следующий день вносили дрожжи в сухом или растертом виде из расчета 8—16 г/м³. Вода зацветала через 2—3 сут. До начала цветения дрожжи вносили ежедневно или через сутки. Затем подкормку прекращали и возобновляли только после просветления воды. Одновременно с дрожжами вносили дафний от 10 до 40 г/м³ (30 г/м³ — наиболее оптимальная доза). На 5—6-е сутки культура начинала развиваться; при 15—20°С она созревала через 25—30 сут, при 23—25°С — через 18—20 сут. Зимой при 2,5—4°С подо льдом самки имели летние яйца, но созревали они не менее 40—50 сут. В марте—апреле в выводковой сумке самки насчитывалось до 142 яиц. В это время все самки были половозрелыми. Наличие партеногенетического размножения зимой автор объясняет хорошими кормовыми условиями. Это свидетельствует о том, что способ размножения определяется кормовыми условиями, а температурный режим лишь определяет интенсивность размножения [Брискина, 1960]. При низких температурах культура сохранялась всю зиму, и весной ее не надо было получать из эфиппиумов, что экономило до 30 сут. Суточная продукция с мая по октябрь составила 12—42 г/м³ [Брискина, 1960]. В опытах применили частичный сьем продукции (60% биомассы дафний в бассейне в сутки), это позволило получить продукцию выше, чем при единовременном объеме (спуск воды из бассейна).

С января до апреля самки с партеногенетическими яйцами преобладают над неполовозрелыми особями, так как развитие яиц и молоди при низких температурах (3—11°С) очень замедленно. В остальное время года молодь доминирует над взрослыми, что характеризует нормальное развитие популяции [Брискина, 1958].

Ф. Гавлена (1955), выращивая дафний в бассейнах объемом 50—600 л, в качестве корма использовал: смеси сценедесмуса и пищевых дрожжей, сценедесмуса и бактерий, полученных в настое сухой травы, хлореллы и дрожжей с добавлением почвенной вытяжки. В опытах длительностью 12—34 сут получена ежесуточная продукция 30—50 г/м³. В бассейнах под открытым небом продуктивность дафний колебалась от 20 (корм — пищевые дрожжи) до 27 г/(м³·сут) (корм — водоросли + бактерии), при кормлении водорослями и пищевыми дрожжами — 24 г/(м³·сут). Автор отмечает, что периодическое снятие урожая привело к более высокому получению продукции на единицу объема культуры в культиваторе. Качество продукции при этом лучше: особи хорошо упитаны, в выводковых камерах значительное количество молоди. При одноразовом снятии продукции в момент угасания культуры большая часть дафний не имеет эмбрионов, а часть дафний начинает закладывать эфипсии.

Г. А. Васильева (1959) рекомендует ежедневно сливать около 30% объема культуры. В этих условиях среднесуточная продукция составляет 72,7 г/м³, приросты после слива устойчивы. После слива бочку заливали водой до прежнего уровня и определяли плотность культуры. Если сравнить прирост продукции со сливом и без него, то окажется, что прирост в первом случае в 2,3 раза больше, а затраты пищи в 1,44 раза меньше по сравнению с культурой без слива.

И. Б. Богатова (1963), культивируя *D. pulex* и *D. magna* на Выгском рыбноводном заводе, пришла к выводу, что *D. magna* — более продуктивная форма. В условиях данного завода хорошо идет смешанная культура *D. magna* + *Chydorus sphaericus*. Хидорус питается пищей, прошедшей через кишечник дафний и особенно успешно развивается в затухающей культуре дафний. И. Б. Богатова (1971) подсчитала, что при зарядке 10 г *D. magna* на 1 м³ при среднем весе самки 2 мг потенциальная суточная продукция может выразиться 17 916—19 722 кг. Наибольшая средняя величина продукции, снимаемой в бетонных бассейнах, — 56 г/сут, что составляет только 0,00025—0,00027% от потенциально возможной. Автор заключает, что для повышения продукции дафний следует искать способы непрерывного обновления среды и поддержания численности популяции на оптимальном уровне.

С целью интенсификации процесса А. Ф. Антипчук и соавторы (1979) определили оптимальные параметры культивирования *D. magna* на *Chlorella vulgaris* в аквариумах объемом 15 л при заданной температуре, с аэрацией и без нее. Испытывались концентрации хлореллы 0,25—4 млн. кл./мл. Воду для опытов брали из пруда, пропуская через капроновый газ № 76. Аэрировали с помощью микрокомпресса «Скалярый». В контроле использован комбикорм для рыб с концентрацией 60 г/м³.

В результате исследований установлено, что оптимальная концентрация водорослей без аэрации составляет 1,1 млн. кл./мл, а с использованием аэрации — 1,5 млн. кл./см³. К концу опыта в большинстве аквариумов количество кислорода увеличивалось, наиболее высоким его содержание было при концентрации хлореллы 0,9—1,5 млн. кл./мл. Средняя фактическая оптимальная продуктивность за период опыта (продолжительность опыта не указана) равнялась 58,9 г/м³ при концентрации водорослей 1,1 млн. кл./см³ (без аэрации) и 156,6 г/м³ в контроле, где в качестве корма использован комбикорм. В бассейнах с аэрацией при концентрации водорослей 15 млн. кл./мл продукция достигла 725,3 г/м³, а при кормлении комбикормом — 380 г/м³. Опыты не были продолжены в направлении дальнейшего увеличения концентрации водорослей в варианте с «аэрацией», возможно, это привело бы к увеличению продукции.

Выращивание дафний бассейновым методом вышло за рамки лаборатории. Ежегодный сбор биомассы дафний на различных заводах составляет 2—10 т [Богатова и др., 1974]. Валовой съём продукции достигается главным образом за счет использования большого количества бассейнов. На Куринском производственно-экспериментальном заводе общий объем бассейнов 2521,6 м³ [Богатова и др., 1974].

Таким образом, метод массового периодического выращивания обеспечивает рост ветвистоусых рачков в течение 22 сут [Аскеров, 1965] в накопительном режиме или 4—8 нед [Павлович и др., 1978] при сливе части культуры и добавлении свежей среды раз в неделю.

В массовой периодической культуре рачков развиваются нитчатые водоросли [Аскеров, 1965] и другие виды животных организмов [Богатова, 1963; Максимова, 1968], меняется освещенность [Аскеров, 1960], снижается содержание кислорода до 1,5 мг/л [Павлович и др., 1978].

Продуктивность популяции рачков составляет лишь 10—80 г/(м³·сут) [Максимова, 1968; Галковская и др., 1979], что при возрастающих потребностях в живых кормах на рыбных предприятиях страны приводит к увеличению емкостей для культивирования, например на Куринском заводе до 2—3 тыс. м³ [Богатова и др., 1974].

Потенциальные возможности рачков к размножению в массовой периодической культуре используются не полностью.

Для повышения обмена среды и разнообразия корма массовое выращивание ветвистоусых рачков осуществляется в садках из сетки. Садки были расположены в водоемах и в бассейнах-охладителях ТЭС и АЭС.

Существует три вида садков.

1. Садки полиэтиленовые. По мнению И. Б. Богатовой (1970), их целесообразно применять вначале, когда необходимо

из лабораторной культуры накопить необходимое количество для зарядки в капроновые садки.

Н. А. Тагирова (1972) при выращивании *Ceriodaphnia reticulata* в полиэтиленовых садках за 7 мес получила среднесуточную продуктивность около 21 г/м³. В качестве корма использованы гидролизные дрожжи.

В 1969 г. И. Б. Богатова определяла продукцию прудового зоопланктона в полиэтиленовых садках, вычитая из конечной биомассы начальную. Погибших организмов было очень мало, так как культура находилась в состоянии роста. Автор указывает, что чистая культура *D. magna* или *D. longispina*, которых удавалось поддерживать в полиэтиленовых садках, более продуктивна, чем смешанная (*D. longispina*, *C. quadrangula*, *Br. calyciflorus*, *Asplanchna* sp.). Как отмечает И. Б. Богатова (1971), полиэтиленовые садки очень трудоемки.

2. Садки из латуновой сетки, в которых задерживается только маточная культура, а молодь выходит в водоем, разработаны В. А. Конец (1961) и О. Д. Романычевой (1963). Биомасса дафний в них к концу 33 суток составила 15 кг/м³ [Конец, 1961]. В это время все особи обладали эфипшиумами. В течение всего периода развития подкормку не проводили, однако дафнии имели розоватую окраску тела, что, по мнению А. Г. Родиной (1950), связано с отложением капелек жира и свидетельствует о благоприятных внешних условиях.

3. Садки из капроновой сетки, разработанные И. Б. Богатовой (1970), полностью задерживают культивируемые организмы. Среда в них обновляется, корм поступает из водоема. Автором испытаны следующие садки: а) закрытые — их можно устанавливать в любом месте водоема; б) открытые — удобны в эксплуатации и обеспечивают лучшие условия освещения. В садках открытого типа средняя суточная продукция *D. magna* колебалась от 99 до 32 г/м³ [Богатова, Лензо, 1969]. В опытах И. Б. Богатовой и Н. А. Тагировой (1972) продукция составила 252 г/м³, т. е. в 10 раз больше, чем в бетонных бассейнах при использовании метода удобрений.

Закрытые садки обеспечивали продуктивность 39,4 г/(м³·сут). Особей отлавливали раз в 16—21 сут.

Н. А. Тагирова (1972), выращивая мелких ракообразных в капроновых садках, получила за 5 мес ежесуточную продуктивность 59,6 г/м³. Кормом служили кормовые дрожжи, через ячею садков проникали водоросли.

В 1973 г. И. Б. Богатова и В. И. Филатов, выращивая мелких ракообразных в полиэтиленовых и капроновых садках, получили ежесуточную продуктивность культуры *Chidorus spaericus*, *M. macrocopa* и *C. reticulata* 12,5 — 17,9 г/м³, а Н. А. Тагирова (1975) — 55—98,6 г/м³.

Цена 1 кг дафний, выращенных в бассейнах, составляет от 30 коп. до 3 р. 80 к. [Кязимов, 1970], а в капроновых садках

И. Б. Богатовой (1970) — 20 коп., 1 кг *C. reticulata* — 30 коп.

Процесс выращивания ветвистоусых рачков в садках не управляем. Колебания продуктивности культуры, например по сезонам и годам, довольно значительны: от 9,9—32 г/м³ [Богатова, Лензо, 1969] до 252 г/м³ [Богатова, Тагирова, 1972].

Выращивание *D. magna* в прудах еще менее управляемо. Однако разработаны методы культивирования рачков в прудах [Богатова, 1969а, 1973а,б], которые обеспечивают повышение рыбопродуктивности. До внесения в выростные пруды *D. magna* содержат в полиэтиленовых садках или в небольших прудах (100 г/га). Затем их вносят в частично залитые пруды (лучше канавы), добавляют дрожжи за 5—6 сут до посадки личинок карпа. В это время дафнии не встречают там хищников и конкурентов. В первое время (примерно 2 нед) после полной заливки пруда личинки рыб настолько малы, что не могут поедать не только крупных, но и средних дафний. В этот период они питаются мелкими циклопами и коловратками и таким образом обеспечивают для *D. magna* еще лучшее развитие, уничтожая хищников и конкурентов. К тому времени, когда подрастает молодь, дафнии доминируют, и им не грозит полное поедание рыбой. В период максимального развития дафний в пруду биомасса составила 150—250 г/м³ в конце июня — начале июля. Разница рыбопродуктивности опытных прудов с контрольными — 2,29 ц/га [Богатова, 1973].

И. Б. Богатова и Н. В. Печникова (1973) после первого года культивирования дафний в выростных прудах, где остались эфиппиумы, заполнили пруд водой на второй год и добились увеличения продукции карпа на 1 ц/га.

З. И. Орлова (1973), выращивая *D. magna* в прудах Новгородской области, получила биомассу 320—545 г/м³ при низких температурах (5—10°C).

В выростных прудах Латвийской ССР продукция дафний составила 21,5 г/(м³·сут) [Овинникова, Орлова, 1970], в то время как в средней полосе СССР — 4,2—124,1 г/м³ [Богатова, 1969]. Таким образом, продукция дафний в прудах колеблется в зависимости от географической широты. При интенсивном развитии дафний в местах массового скопления в прудах с карпами (плотность посадки 40—60 тыс. экз./га) их биомасса достигала 10 г сыр. в-ва/л, или 10 кг/м³, количество бактерий — 100—200 тыс. кл./см³ [Акимов, 1973].

В природных водоемах максимальная биомасса моин равна 0,4—2,8 кг/м³ [Крючкова, 1967].

Итак, в природных условиях биомасса дафний может составлять 10—15 г/л, или 10—15 кг/м³ [Копец, 1961; Акимов, 1973], моин — 2,8 кг/м³ [Крючкова, 1967]. В периодической культуре отмечен уровень биомассы дафний и моин около 400 г/м³ [Павлович и др., 1978; Галковская и др., 1979], т. е. в 7—40 раз ниже, чем в природе. Известно, что культура парameций со

значительной плотностью обеспечивает более высокую продуктивность при сниженной по сравнению с индивидуальной удельной скоростью роста [Кокова, Лисовский, 1976]. Вероятно, высокую продуктивность рачков можно получить, приближая плотность популяции к максимально известной в природе, создавая необходимые условия для роста в управляемых режимах при непрерывном культивировании.

НЕПРЕРЫВНОЕ КУЛЬТИВИРОВАНИЕ ВЕТВИСТОУСЫХ РАЧКОВ

Разработка метода непрерывного культивирования ветвистоусых рачков, как и коловраток, затруднена из-за сложности строения и поведения объекта. Для обеспечения благоприятных условий роста периодической культуры исследователи предлагают регулярно отлавливать рачков пропорционально приросту [Гавлена, 1955; Брискина, 1960; Галковская и др., 1979], либо производить отлов и сливать часть культуры один раз в неделю [Павлович и др., 1978] или 30% ежесуточно [Васильева, 1959], корм давать до 2 раз в сутки [Гавлена, 1955].

Методы непрерывного выращивания рачков интенсивно разрабатываются в последнее десятилетие и предусматривают непрерывный обмен среды и подачу корма, поддержание оптимальных значений рН и температуры.

П. Соргелус и Г. Перзун [Sorgeloos, Persoone, 1972, 1973] разработали установку с эрлифтом для культивирования различных водных беспозвоночных. В ней обеспечены автоматические подача корма и непрерывное отделение молоди от взрослых особей.

В качестве корма для *D. magna* служили водоросли *Chlorella pyrenoidosa* или *Scenedesmus opoliensis*, которые обеспечивали их хороший рост.

Водоросли выращивали в накопительном режиме. В конце логарифмической фазы роста их центрифугировали, заливали водой и помещали в камеру для корма, где они сохранялись до 1 нед. Концентрация водорослей перед подачей в реактор — 1 млн. кл./см³, в камере с водорослями — 10 млн. кл./см³.

Взрослых особей было 25 экз./л. При 25°C каждая продуцировала через сутки приблизительно 40 потомков. Аппарат постоянно освещался, чтобы избежать производство самцов. Дафнии в культуральном сосуде для взрослых заменялись через 3 нед.

А. Гарвей [Harvey, 1972, 1973] применила полунепрерывный метод выращивания *D. pulex*. Этот вид выбран автором по следующим соображениям: во-первых, *D. pulex* — яйцекладущее животное; во-вторых, особи различного возраста сходны между собой, за исключением размеров; в-третьих, при партено-

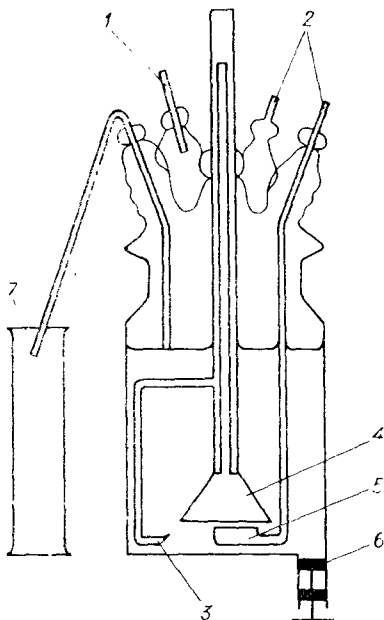


Рис. 47. Культуральный сосуд для рачков [по Harvey, 1972].

1 — среда; 2 — влажный стерильный воздух; 3 — циркулирующая струя; 4 — воронка для перемешивания; 5 — стеклянный фильтр для подачи воздуха; 6 — клапан для удаления отходов; 7 — для слива по уровню.

шальке или при аэрации пузырями погибает в течение суток. Автором применено мягкое перемешивание, заимствованное у В. Греве [Greve, 1968] для выращивания планктона. Сырой стерильный воздух пробулькивает через пористый стеклянный диск, находящийся в перевернутой воронке внутри сосуда. Воронка имеет вытянутую головку 8-миллиметровой трубки, открытую выше культуральной поверхности и помещенную в наружную высокую 14-миллиметровую трубку, которая связана со средой выходным отверстием диаметром 0,8 мм. Среда с пищей поступает в культуральную среду, пробулькивает через трубку к воронке и распределяется под ней. Отверстие воронки, затянутое нейлоном, предохраняет от сильного перемешивания. Воронка стандартная, со стеклянным разветвлением в узкой длинной части. Другие детали (для струи и подающие воздух трубочки) — из силиконовой резины. Проток среды должен строго соответствовать времени генерации. Слив культуры производится с интервалами через трубку диаметром 4 мм и осуществляется за счет отрицательного давления в сосуде для урожая.

генетическом размножении обеспечивается непрерывность, так что отдельный индивидум может продуцировать генетически идентичный клон, уменьшая вариабельность между различными животными.

Пищевая цепь хлорелла — дафнии по методу Ф. Тауб и А. Доллар [Taub, Dollar, 1964] использована А. Гарвей. *Chlorella vulgaris* культивировалась в хемостате. Клональная культура дафний получена от одной особи путем проведения ее через восемь аквариумов со стерильной средой по методу Ф. Тауб и А. Доллар (1964). Полученное потомство пропущено через решетку и через все стерильные ванны.

В опытах применен 2-литровый сосуд с 14-миллиметровым отверстием на дне (рис. 47). Гомогенная культура — необходимое условие хемостата [Evans e. a., 1970], однако *D. pulex* чувствительна к сильному перемешиванию и на магнитной мешалке

Отходы (хлопья, раковинки) удалялись с помощью шприца. Сосуд предварительно наклонялся в сторону отверстия в дне.

Весь процесс проводился стерильно при 20°C. Суспензия хлореллы в концентрации 1,5 млн. кл./см³ [Ryther, 1954; McMahon, Rigler, 1963], выращенная в хемостате, вместе со средой подавалась помпой в культиватор с дафниями. Объем подаваемой суспензии 1200 см³. В первые сутки плотность культуры возрастала, на 6-е сутки устанавливалась на одном уровне. В описанных условиях время удвоения 5 сут, так что 20% культуры использовалось ежедневно. Воздухом поддерживалось отрицательное давление среды, которую регулярно автоматически отбирали.

В. Ф. Хаткевич (1970) для *D. pulex* исследованы следующие корма: хлорелла (паста), сенная палочка (мутная жидкость, взятая на второй день после замачивания сена в водопроводной воде), смесь хлореллы и сценедесмуса из аквариума без рыбы, смесь хлореллы сценедесмуса и сапрофитных бактерий из аквариумов, перегруженных рыбой. Самый лучший корм — из аквариума с рыбами, затем сенная палочка, смесь зеленых микроводорослей. Хлореллу-пасту дафнии не употребляют, видимо, из-за комочков, которые образованы слившимися клетками хлореллы. Вода из аквариума с рыбами содержала как автотрофные, так и гетеротрофные организмы и широко использовалась в опытах. При отсутствии «грязной воды» дафний кормили сенной палочкой и хлореллой. Выбраны две системы факторов: экологическая без учета этологических факторов и этологическая без учета экологических факторов.

Для проверки экологической системы построен агрегат, имевший три отсека, каждый объемом 20 л. В первом культивировали *D. pulex*, во втором — хлореллу, в третьем готовили кормовую суспензию. Второй отсек был снабжен перемешивающим устройством и аэратором, освещен двумя люминесцентными лампами. Все три отсека соединялись сифонами, проток осуществлялся методом эжекции; рН поддерживали фосфатным буфером, температуру — термоконтактным устройством.

Во втором отсеке культура хлореллы имела постоянную высокую плотность, а у дафний после небольшого пика она быстро угасала, но отдельные особи продолжали жить в течение нескольких месяцев, не давая потомства. Со сменой различных параметров среды получалась та же картина: пик размножения, угасание, отсутствие размножения.

При выращивании дафний с учетом этологических факторов, действующих на колебания плотности культуры, за основу взято следующее: 1) фактор занятой и свободной территории; 2) влияние взаимодействия молодежи и взрослых особей на рост первых и плодовитость последних; 3) наличие между отдельными организмами сенсорных связей.

Молодь дафний от взрослых отделяли размерной сортировкой при помощи мельничных сит.

Для того чтобы не нарушать структуры распределения особей внутри популяции одного аквариума, а также не уничтожать градиенты различных параметров среды и те каналы, по которым осуществляются связи между организмами, в аквариумах исключалось принудительное перемешивание воды, за редким исключением на 15—30 мин. Такое нечастое вмешательство в жизнь популяции не приносит особого вреда, дафнии быстро восстанавливают необходимую им структуру. В. Х. Хаткевич (1970) замечено следующее поведение дафний в популяции, в которую помещен электрический контактный обогреватель. Два больших скопления дафний — одно в непосредственном контакте с обогревателем и датчиком окружало все горячие точки прибора, второе в дальнем холодном углу аквариума и между ними два встречных пронизывающих потока дафний на всех уровнях от дна до поверхности.

Каждая особь находилась в скоплении до 30 с, затем разворачивалась и перемещалась в противоположное по температурному параметру. Не найдено ни одной особи, не участвующей в общем потоке движения популяции. Попытки разрушить картину движения механическим перемешиванием палочкой не увенчались успехом: после некоторой заминки дафнии восстанавливали ритм движения. Через 5 ч дафнии рассеялись и прибор застучал. Подобное явление переноса тепла встречается у муравьев.

При сильных нехватках кислорода дафнии могут устраивать циркуляцию воды. При плотности посадки 100 тыс. экз./л и более популяция *D. pulex* устраивает вертикальную циркуляцию воды, мойны ведут себя иначе, оставаясь у поверхности, особи в мономерном хороваде устраивают водоворот.

Выполнение трех описанных правил выращивания дафний привело к тому, что автор всегда имел необходимое количество рачков для очистки воды для рыб и для экспериментов. Вся методика свелась к следующему: в чистую промытую емкость заливали смесь свежей водопроводной воды и культуру молоди дафний. Затем раз в неделю или чаще, в зависимости от экологических условий, капроновым ситом из сосуда убирали молодь и добавляли корм и свежую водопроводную воду в соотношении 1 ч. старой воды : 1 ч. корма : 1 ч. свежей воды. Течения воды и аэраций не должно быть. При таком режиме *D. pulex* имела постоянную высокую плотность (размерность не указана) в зимнее время и наиболее однородную структуру, свободную от самцов и эфипшиальных самок.

Постоянства плотности мойн автором не достигнуто. Характерная особенность развития популяции мойн — очень быстрое нарастание плотности и выравнивания размеров особей, прекращение размножения при определенной плотности и затем затухание культуры.

Анализ опыта выращивания дафний и моин показал [Хаткевич, 1976], что учет этологических аспектов динамики численности животных дает возможность создать хорошие методики разведения дафний.

Из приведенного обзора по непрерывному культивированию рачков видно, что во всех опытах исследователи стремились избежать сильного перемешивания популяции, использовали разнообразный корм, круглосуточное освещение и обмен среды с целью предотвращения появления самцов. Авторы [Harvey, 1972, 1973; Sorgeloos e. a., 1972, 1973] использовали в опытах популяцию рачков низкой плотности.

В задачу наших исследований входило разработать метод и технику непрерывного выращивания рачков с высокой плотностью и продуктивностью.

НЕПРОПОРЦИОНАЛЬНО-ПРОТОЧНОЕ КУЛЬТИВИРОВАНИЕ МОИН

Метод непропорционально-проточного выращивания многоклеточных водных организмов — коловраток — обеспечил непрерывный рост и продуктивность популяции около 20 г/(л·сут). Ветвистоусые рачки, как и коловратки, многоклеточные организмы, не каждые сутки дают потомство. Для получения непрерывно растущей культуры рачков с высокой продуктивностью нами применен метод непропорционально-проточного культивирования.

Разработка метода начата в 1972 г. Популяцию *M. macrocopa* содержали в стеклянных химических стаканах. В качестве среды использовали водопроводную воду, кормом служила хлорелла, а также смесь дрожжей и бактерий.

В опыте 1 моин содержали в химическом стакане объемом 1 л. Средой служила водопроводная вода, скорость протока составила 0,6 объема в сутки. В 9 и 17 ч по 0,3 объема сливали и добавляли свежую воду, а также корректировали концентрацию корма по уравнению (18). Корм — хлорелла в концентрации 5 млн. кл./см³.

В опыте 2 метод тот же, корм смешанный: дрожжи *Saccharomyces ellipsoides* и бактерии *Bacillus subtilis*. Концентрация дрожжей 5 млн. кл./см³, бактерий по сухому весу вносили в 10 раз меньше. Полученные результаты показаны на рис. 48.

Непрерывную культуру моин с высокой плотностью и продуктивностью возможно получить при условии достаточного количества кислорода в среде, поддержания корма во взвешенном состоянии, оптимальном рН среды и т. д.

Все попытки ввести аэрацию при культивировании моин закончились безуспешно, популяция погибала.

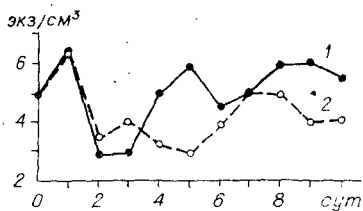


Рис. 48. Плотности полунепрерывной культуры моин.
1 — корм хлорелла; 2 — корм бактерии + дрожжи.

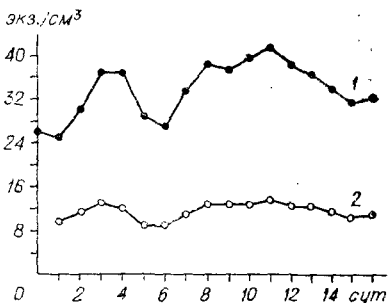


Рис. 49. Плотность (1) и продуктивность (2) непрерывной непропорционально-проточной культуры моин.

Нами изготовлен [Кокова и др., 1975] реактор объемом 700 см^3 (см. рис. 56) с зауженным дном, которое заканчивается трубочкой с зажимом (через нее удаляется осадок). По уровню культуры припаяна трубочка, по которой сливаются излишки. Над реактором помещен сосуд с питающей суспензией, суспензия аэрируется и перемешивается воздухом для предотвращения оседания корма. Питающая суспензия поступала по каплям в культуру моин круглосуточно. Скорость протока 3 об./сут. Концентрация хлореллы в питающей суспензии $10 \text{ млн. экз./см}^3$. На расстоянии 1,5 м над культиватором подвешена зеркальная лампа мощностью 500 Вт для освещения в ночное время. Температура комнатная.

В 16-суточном опыте при коэффициенте непропорциональности 32 в непрерывном непропорционально-проточном режиме плотность культуры удерживалась около 35 экз./см^3 (около 1,5 г сыр. в-ва/1 л, сырой вес одной моины равен 43 мкг), а ежесуточная продуктивность 12 экз./см^3 , или $0,516 \text{ г/л}$ (рис. 49), $\mu = 0,0055 \text{ ч}^{-1}$.

Для интенсификации метода непропорционально-проточного культивирования исследовано влияние различных кормов, выращенных в проточном режиме в лаборатории (хлорелла) или произведенных в промышленных масштабах (гидролизные дрожжи), на продолжительность жизни и плодовитость моин.

Исследование влияния различных кормов на рост культуры моин. Опыты проведены при индивидуальном и массовом периодическом выращивании моин. С индивидуальной культурой моин поставлено девять опытов при 25°C . В качестве корма использованы зеленые водоросли *Platymonas viridis* и *Chlorella vulgaris*, синезеленая морская водоросль *Synechococcus elongatus*, а также дрожжи *Saccharomyces ellipsoides* и гидролизные, полученные от Красноярского гидролизного завода.

Концентрация корма в среде 5 млн. кл./см^3 , или $0,05 \text{ г}$ сухого вещества в 1 л, в опытах по кормлению хлореллой и

рис. 50. Динамика выживаемости (1) и плодовитости (2) при индивидуальном культивировании моин на различных кормах.

а — хлорелла; б — платимонас; в — гидролизные дрожжи; г — дрожжи.

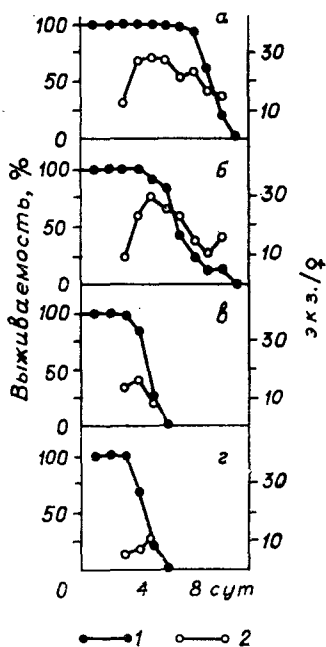
дрожжами. Концентрация других кормов приравнена к этой: 15 млн. кл./см³ для синехококкуса, 105 млн. кл./см³ для платимонаса. Перед приготовлением суспензии водоросли отмывали от среды центрифугированием.

Односуточных *M. macroscopa* по одной рассаживали в 50 см³ приготовленной суспензии и ежедневно пересевали взрослую особь в свежую воду с кормом, молодь подсчитывали и отсаживали.

Первые потомки в индивидуальной культуре получены через 4 сут, за исключением опыта с синехококкусом. При кормлении синезеленой водорослью моин жили 2 сут, затем, как правило, погибали. Лишь отдельные особи давали потомство, которое часто состояло из живых и погибших молодых, а иногда взрослая моин погибала, оставив хорошее жизнеспособное потомство. Полученные результаты отрицательного влияния синезеленых водорослей на *Cladocera* согласуются с литературными данными [Васильева, 1959].

Самая высокая выживаемость наблюдалась при кормлении моин хлореллой (рис. 50), выращенной в проточном режиме в реакторе с ксеноновой лампой. Особи, как правило, не погибали в течение 7 сут (см. рис. 50, а). Средняя продолжительность жизни $8,7 \pm 0,15$ дня. Первые потомки появились на 3-и сутки опыта, затем отмечались ежедневно. Лишь отдельные особи не давали молодь ежедневно, но такие перерывы составили лишь сутки в течение всей жизни особи. Число молоди увеличивалось во втором помете, затем стабилизировалось или незначительно возрастало и после четвертого помета снижалось; это согласуется с литературными данными [Максимова, 1968]. Общее число потомков на одну особь — $153 \pm 4,8$; максимум потомков в одном помете достигал 32.

При кормлении моин морской водорослью платимонасом выживаемость индивидуальной культуры была ниже, чем при кормлении хлореллой (см. рис. 50, б). Отдельные особи начали погибать на 5-е сутки опыта, все погибли на 11-е сутки. Их средняя продолжительность жизни $6,8 \pm 0,35$ сут. Число потомков



на одну моюну — 97 ± 6 . Гидролизные дрожжи (см. рис. 50, в) и *Saccharomyces ellipsoides* (см. рис. 50, г) обеспечили одинаково низкие результаты по выживаемости моюн. Все особи погибали в 6-суточном возрасте. При кормлении дрожжами моюны давали три помета и гибли. Число потомков на одну самку при кормлении гидролизными дрожжами — $31 \pm 3,6$, что в 3,4 раза больше, чем при выращивании на прессованных дрожжах (табл. 5).

Для разнообразия корма были приготовлены смеси с различным соотношением дрожжей *S. ellipsoides* и хлореллы (1 : 4; 2 : 3; 3 : 2; 4 : 1). По мере снижения доли хлореллы в смеси количество потомков на одну особь уменьшалось от 106 ± 8 до $76 \pm 5,8$. Однако выживаемость была 100% в течение 7 сут при соотношении дрожжей и хлореллы 1 : 3 (рис. 51, а) и 2 : 3 (см. рис. 51, б) и в течение 6 сут при соотношении этих же кормов 3 : 2 (см. рис. 51, в) и 4 : 1 (см. рис. 51, г).

Некоторые особи давали потомков через сутки, что вызвало колебания количества потомков по суткам. Однако число пометов на смеси хлореллы и дрожжей 4 : 1 было выше, чем отдельно на хлорелле, и составило 10 (см. табл. 5).

В контроле (опыт 9, см. табл. 5) использована хлорелла, выращенная на лиминостае. Среднее количество потомков снижено до 103 ± 7 , что на 50 экз. меньше, чем в опыте 1, где брали хлореллу, выращенную в непрерывном режиме с применением

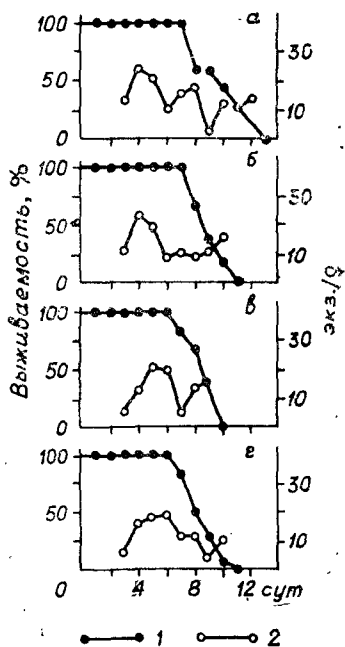
Таблица 5

Влияние различных кормов в концентрации сухого вещества 0,05 г/л на рост индивидуальной культуры *Moina macroscopa* (26°C)

Номер опыта	Корм	Соотношение корма в смеси		Продолжительность жизни ($M \pm m$)	Первый помет	Среднее число пометов	Плодовитость ($M \pm m$), экз./♀	Коэффициент варьирования потомков
		дрожжи	хлорелла					
				сут				
1	Хлорелла	—	—	$8,7 \pm 0,15$	4,0	8	$153 \pm 4,8$	15,0
2	Платимонас	—	—	$6,8 \pm 0,35$	4,0	8	$97 \pm 6,0$	24,7
3	Гидролизные дрожжи	—	—	$4,0 \pm 0,05$	4,5	3	$31 \pm 3,6$	43,0
4	Дрожжи <i>S. ellipsoides</i> (контроль)	5	—	$4,0 \pm 0,01$	4,5	3	$9 \pm 0,8$	35,5
5	Хлорелла + дрожжи	1	4	$9,0 \pm 0,58$	4,0	10	$106 \pm 8,0$	23,3
6	» »	2	3	$8,7 \pm 0,96$	4,0	8	$90 \pm 6,7$	19,3
7	» »	3	2	$8,0 \pm 0,40$	4,0	7	$78 \pm 7,5$	30,8
8	» »	4	1	$7,9 \pm 0,46$	4,0	8	$76 \pm 5,8$	23,6
9	Хлорелла (контроль)	—	5	$7,7 \pm 0,60$	4,0	8	$103 \pm 7,0$	21,2

Рис. 51. Динамика выживаемости (1) и плодовитости (2) в индивидуальной культуре мойн при различном соотношении дрожжей и хлореллы в кормовой суспензии.

а — 1 : 4; б — 2 : 3; в — 3 : 1; г — 4 : 1; общая концентрация корма 0,05 г сух. в-ва/л,



ксеноновой лампы. В другом контроле (опыт 4) при кормлении только дрожжами мойны давали потомков короткое время и в небольшом количестве на одну особь. При этом отмечены значительные вариации в числе потомков между особями, взятыми в опыт (см. табл. 5). Таким образом, кормление мойн смешанным кормом в соотношении дрожжей и хлореллы 2 : 3 обеспечило количество молоди, близкое к полученным от мойн, которые питались только хлореллой.

Для успешного массового выращивания на протоке необходимо определить оптимальные параметры культивирования в том же реакторе при периодическом процессе.

Мойны *масгосора* содержали в реакторе объемом 0,5 л при 26°C. Освещенность — круглосуточно 1500 лк. Среда — отстоянная водопроводная вода, корм — различные водоросли. Коррекцию концентрации корма производили один раз в сутки, доводя ее до 0,05 г сух. в-ва/л, или 5 млн. кл./см³ для хлореллы, 15 для синехококкуса и 1,5 млн. кл./см³ для платимонаса.

При коррекции осадок со стен и дна не снимали, так как образующиеся при перемешивании хлопья приводят к гибели мойн. В длительных опытах (45—65 сут) плотность культуры колебалась (рис. 52), при кормлении хлореллой достигала максимума (19 экз./см³) на 8—10-е сутки, затем резко снижалась. Второй максимум (6 экз./см³) наступал лишь на 49-е сутки.

При кормлении синехококкусом динамика плотности культуры аналогичная. Первый максимум (13—14 экз./см³) зарегистрирован на 5—6-е сутки развития, а второй (6 экз./см³) — на 29-е.

Если в индивидуальной культуре мойны погибали при кормлении синезелеными водорослями, то в массовой этого не наблюдалось. Вероятно, это связано с образованием детрита на дне и стенках сосуда, содержащего большое количество бактерий. Из литературы известно, что детрит из водорослей (включая и синезеленые), выловленных сачком из водоема, позволяя

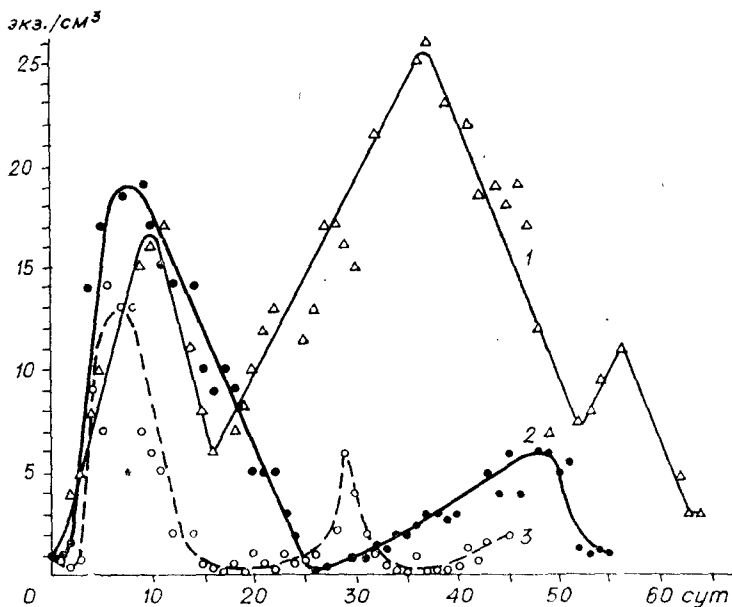


Рис. 52. Динамика плотности культуры мoini при периодическом культивировании на различных кормах.
 1 — платимонас; 2 — хлорелла; 3 — синехококкус.

получать лучшие результаты по росту ветвистоусых рачков [Есипова, 1969], чем при кормлении их свежими водорослями.

В опыте с платимонасом первый максимум по плотности культуры (16 экз./см³) достигнут на 10-е сутки развития и второй, более высокий (26 экз./см³), — на 37-е. Опыт наглядно показал, что морские водоросли могут быть использованы в качестве корма для пресноводных ветвистоусых рачков-мoini. Максимум плотности периодической культуры мoini составляет 26 экз./см³, или около 3 г/л сырой биомассы, однако метаболиты и другие изменения среды приводят к гибели периодической культуры.

Опыты свидетельствуют о том, что оптимальный для мoini корм — хлорелла или платимонас, а также смесь дрожжей и хлореллы (2 : 3). Хлорелла, выращенная в интенсивном непрерывном режиме, более благоприятна, чем выращенная на люминостате.

Исследование влияния различной скорости протока на рост непропорционально-проточной культуры мoini. Задача исследования — определить оптимальную скорость протока, обеспечивающую высокую плотность и продуктивность популяции.

Мoini содержали в реакторах объемом 0,5 л с эрлифтом. Расход воздуха — 0,7 л/мин на 1 л культуры. Среда — отстаиванная от хлора водопроводная вода, корм — смесь *Chlorella*

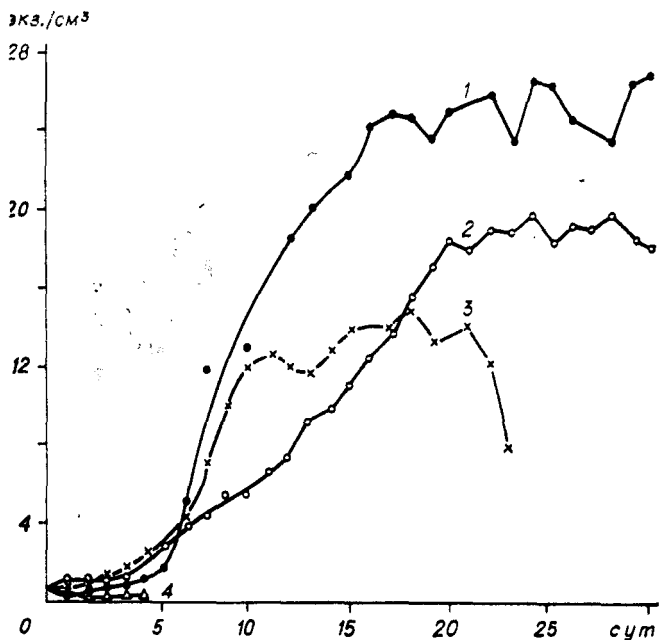


Рис. 53. Динамика плотности культуры мочи при различной скорости протока среды.
1 — 3; 2 — 1,5; 3 — 0,64 об./сут.

vulgaris и *Saccharomyces ellipsoides*. Исследованы скорости протока 0,64; 1,5; 3 и 6 об./сут. При этом концентрация корма в питающей суспензии менялась в зависимости от скорости протока и составила 100, 40, 20 и 10 млн. кл./см³ соответственно, что обеспечило одинаковое количество корма в питающей суспензии. Соотношение хлореллы и дрожжей в смеси 1 : 1 по количеству клеток и по весу (сухой вес 1 млрд. клеток этих микроорганизмов составляет 0,01 г).

При скорости протока 0,64 об./сут средняя плотность в стационарный период (12 сут из 22) культивирования была $13 \pm 0,37$ экз./см³ (рис. 53) при коэффициенте непропорциональности 2,8. Ежесуточная продуктивность 4 экз./см³ при μ , равной 0,010 ч⁻¹. При этой скорости протока процесс был неустойчивым. На 22-е сутки опыта плотность и продуктивность снизилась.

Увеличение скорости протока до 1,5 об./сут при возросшем коэффициенте непропорциональности до 4,1 средняя плотность культуры составила $18,4 \pm 0,25$ экз./см³, а ежесуточная продуктивность — 6,3 экз./см³, μ повысилась до 0,015 ч⁻¹.

Усиление скорости протока до 3 об./сут при коэффициенте непропорциональности 8,0 обеспечило плотность культуры

Состояние культуры моин в зависимости от ско

Номер опыта	Скорость протока, об./сут	Средняя плотность культуры ($M \pm m$), экз./см ³ в стационарный период	Коэффициент варьирования плотности культуры	Суточная продуктивность			
				культуры		культиватора	
				экз./см ³	г сыр. в-ва/л	тыс. экз.	г сух. в-ва
1	0,64	13,0 ± 0,37	10,0	4,0	0,440	2,00	0,022
2	1,50	18,4 ± 0,25	4,9	6,3	0,690	3,15	0,033
3	3,00	24,5 ± 0,40	6,0	9,1	0,819	4,55	0,046

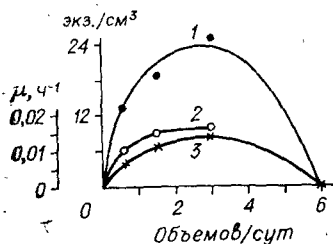
в стационарный период (16 сут из 30) $24 \pm 0,4$ экз./см³ при ежесуточной продуктивности 9 экз./см³, или 0,819 г/л. Удельная скорость роста культуры по сравнению с предыдущим опытом возросла незначительно — 0,017 ч⁻¹. Это и привело к вымыванию популяции моин при дальнейшем увеличении скорости протока до 6 об./сут (см. рис. 53). КПД биосинтеза культуры при разной скорости протока изменялся от 10,5 до 20% (табл. 6).

Таким образом, оптимальная скорость протока при данных условиях лежит в довольно узких пределах — от 1,5 до 3 об./сут (рис. 54). Ее повышение, вероятно, возможно только при увеличении коэффициента непропорциональности, например с помощью сеточки, задерживающей моин.

Довольно близкие результаты при скорости протока 3 об./сут получены нами [Кокова и др., 1975] при кормлении моин только хлореллой. Ежесуточная продуктивность при этом составила 0,516 г сыр. в-ва/л.

Контрольные опыты с популяцией моин проведены в реакторе объемом 3 л. Скорость протока среды 2 об./сут. Питающая суспензия с концентрацией 0,2 г сух. в-ва/л (0,1 г/л хлореллы + 0,1 г/л дрожжей) подавалась круглосуточно. Популяция аэрировалась эрлифтами со скоростью 0,7 л/мин на 1 л культуры. Температура 28°C. Длительность опыта 30 сут.

Рис. 54. Зависимость плотности (1), продуктивности (3) и удельной скорости роста (2) культуры моин от скорости протока среды.



Динамика плотности и продуктивности в стационарный период (20 последних суток из 30) показана на рис. 55. Средняя плотность культуры составила 26,2 экз./см³, а ежесуточная про-

рости протока (объем культиватора 0,5 л; 26°C)

Коэффициент непропорциональности	μ, ч ⁻¹	Вес 1 особи, мкг		Суточное количество корма				Расход корма на дочернюю особь, млн. кл.	КПД
		сырой	сухой	введенного	выведенного	использованного	г сух. в-ва		
2,8	0,010	110	11,0	25,75	2,64	21,11	0,21	10,5	10,5
4,1	0,015	105	10,5	22,12	1,46	20,65	0,21	6,6	15,7
8,0	0,017	90	9,0	22,83	0,05	22,78	0,23	5,0	20,0

дуктивность — 6,2 экз./см³ при коэффициенте непропорциональности 8,5.

В сливаемой части суспензии взрослые особи составили в среднем 40%. Средний вес одной особи мойн в стационарный период культивирования — 101 мкг сырого вещества. Ежедневный урожай 0,626 г/л.

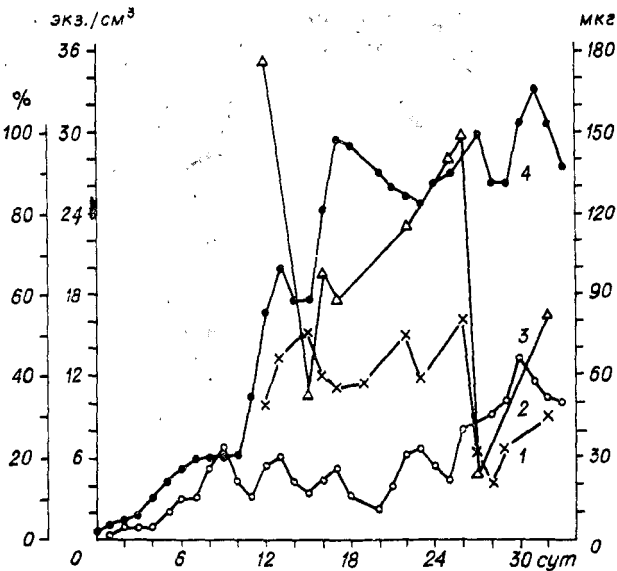


Рис. 55. Зависимость сырого веса *M. macroscopa* от плотности, продуктивности и структуры (соотношение взрослых особей мойн и их молоди) урожая непрерывной культуры мойн.

1 — количество взрослых особей в сливаемой части культуры мойн (%); 2 — продуктивность культуры, экз./см³; 3 — сырой вес одной особи мойн, мкг; 4 — плотность культуры мойн, экз./см³.

Таким образом, оптимальная скорость протока для непрерывного непропорционально-проточного выращивания мойн 2—3 об./сут в реакторах с объемом 0,5—3 л при скорости аэрации 0,5—0,7 (л·мин)/л культуры, концентрация корма (дрожжи + хлорелла) в питающей суспензии около 15 млн. кл./см³ (0,15—0,2 г сух. в-ва/л), что обеспечивает оптимальную (0,05 г/л) концентрацию корма в культуре.

Разработка культиватора для массового непропорционально-проточного выращивания ветвистых рачков с высокой плотностью и продуктивностью — цель наших исследований. Для успешного культивирования рачков необходимо следующее: 1) аэрация культуры для поддержания корма во взвешенном состоянии, а также для обогащения ее кислородом; 2) освещение с целью предотвращения появления самцов; 3) обмен среды; 4) оптимальная температура; 5) удаление твердых частиц (хитиновые покровы и трупы погибших мойн).

Предварительные результаты показали, что аэрация эрлифтом и магнитной мешалкой привела к гибели популяции мойн, полученной из природы. В связи с этим разработан реактор из оргстекла без аэрации (рис. 56) объемом 3 л. Температура стабилизировалась с помощью «змеевика», через который пропускается вода заданной температуры. Дно реактора заужено и снабжено трубочкой для удаления твердых частиц и погибших мойн, а также для контрольных сливов. *Moina macrocora* содержали на водопроводной воде, отстоянной от хлора, в течение 2 сут. Свежую питающую суспензию (вода + дрожжи + хлорелла) подавали по каплям круглосуточно. Скорость протока среды 2 об./сут, т. е. 6 л. Концентрация корма в питающей суспензии от 2,5 до 10 млн. кл./см³. Температура 28°C, освещенность 1500 лк.

Средняя плотность культуры за 26 сут опыта составила 3,6 экз./см³, а в последние 10 сут снизилась до 2,4 экз./см³. Максимальная плотность культуры 11,5 экз./см³. Ежедневная продуктивность в последние 10 сут уменьшилась до 1,4 экз./см³, или 0,168 г сыр. в-ва/л, в то время как средняя за опыт — 0,216 г/л.

Таким образом, в реакторе объемом 3 л без аэрации при скорости протока среды 2 об./сут стабильной плотности и продуктивности культуры не получено.

Реактор № 2 объемом 3 л для улучшения аэрации оборудован эрлифтами (рис. 57). От эрлифтов популяция изолирована стаканами из мельничного газа. Объем наружного стакана, погруженного в среду, составил около 1 л, внутреннего — 0,4 л (см. рис. 57). Эрлифты расположены так, что среда, циркулирующая в них, попадает не в стаканы, а в среду за наружным стаканом, иногда вплотную к его стенке, которая как бы гасит пузыри, выходящие из эрлифтов вместе со средой.

Культура мойн, находившаяся в стаканах, в обогащенной

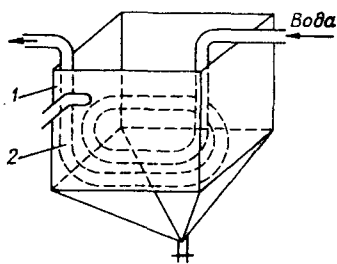


Рис. 56. Культиватор № 1 для непропорционально-проточного культивирования мион [Кокова и др., 1975].

1 — реактор; 2 — змеевик для поддержания заданной температуры.

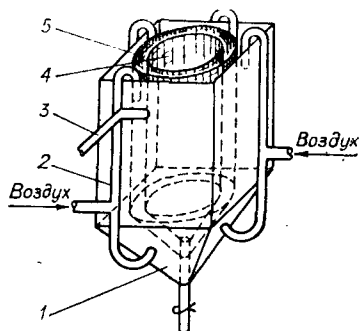


Рис. 57. Культиватор № 2 для непропорционально-проточного культивирования мион.

1 — реактор; 2 — эрлифт; 3 — трубочка для сливаемой суспензии по уровню; 4 — внутренний «стакан»; 5 — наружный «стакан».

кислородом среде при непрерывной подаче свежей среды с кормом имела плотность в стационарный период (10 последних суток из 26) $68,9 \text{ экз./см}^3$ (табл. 7). Ежесуточная продуктивность мион получена двумя путями в сливаемой части суспензии из наружного стакана и из трубочки, расположенной на дне внутреннего стакана. Вторым путем получали ежедневно 100 мл суспензии (после 10 сут опыта) из внутреннего стакана, мионы здесь были в основном старые и крупные. В суспензии, сливаемой по уровню из наружного стакана, преобладали мелкие особи, но приблизительно 20—30% было взрослых, так как молодь, вышедшая из внутреннего стакана во внешний, не успевала вымываться протоком, росла и размножалась в наружном стакане. Таким образом, в сливаемой части суспензии была смешанная популяция мион (взрослые особи и молодь). Еже-

Таблица 7

Изменение плотности и продуктивности культуры мион в течение опыта и в стационарный период

Номер культиватора	Объем культиватора, л	Длительность опыта, сут	Плотность культуры, экз./см ³	Вес 1 особи, мкг сыр. в-ва	Продуктивность		Коэффициент непропорциональности
					экз./см ³ ·сут	г сыр. в-ва/(л·сут)	
1	3	26	3,6	120	1,8	0,216	4,0
	3	10	2,4	120	1,4	0,168	3,4
2	1(+2)*	26	31,9	100	10,7	1,07	3,0
	1(+2)	10	68,9	43	26,3	1,13	16,0
3	3	26	26,2	110	3,8	0,418	7,9
	3	10	26,2	101	6,2	0,625	8,5

* Расчеты сделаны на объем стаканов, т. е. на 1 л; (+2) — объем вне стакана.

суточная продуктивность культуры составила 26,3 экз./см³ обоих стаканов, или 1,13 г сыр. в-ва/л. Максимальная плотность культуры во внутреннем «стакане» 147 экз./см³, что в 12,8 раза выше максимума в установке № 1.

Однако реактор № 2 имел недостаток — не весь рабочий объем был использован, и настолько высокую плотность и продуктивность культуры получали лишь в 1/3 его объема, т. е. в 1 л. Замечено, что популяция моин после 1,5—2 лет содержания в лаборатории адаптировалась к непрерывному проточку среды, к корму (хлорелла + дрожжи) и выдерживала прямую аэрацию эрлифтами с расходом воздуха 0,7 л·мин/л культуры.

Культиватор № 3 типа № 2, но без «стаканов». Моины не были изолированы от эрлифтов, а круглосуточно свободно по ним циркулировали. Средняя плотность популяции в течение 28 сут была 15,1 экз./см³. Ежедневная продуктивность 3,8 экз./см³, или 0,418 г/л, однако в стационарный период — 6,2 экз./см³, или 0,625 г/л (см. табл. 7). Таким образом, в культиваторе № 3 получен урожай сырой биомассы 625 г/(м³·сут).

С повышением плотности культуры моин особи становятся мельче, их вес резко снижается (см. табл. 8). Вероятно, установки типа № 2 можно использовать с целью получения живого корма для личинок рыб, только что вылупившихся из икринок. Вместе с тем такие реакторы позволяют сократить площади при промышленном выращивании моин, но, вероятно, сливаемую часть суспензии следует помещать в такие условия, где моины могут подрасти (например, в емкости с более низкой температурой, чем в реакторе с аэрацией и кормом), с тем, чтобы накопить живой корм к моменту вылупления личинок. На основе культиватора № 3 можно создать более крупные установки.

Нами разработаны и изготовлены макеты промышленных установок объемом 0,3—1 м³. Высота слоя культуры в реакторе 60 см³. Установка (см. рис. 57) состоит из реактора объемом 0,3—1 м³, 10—30 эрлифтов с расходом воздуха 0,4 л·мин/л культуры и ресивера. За счет аэрации эрлифтами в реакторе поддерживалось около 5—6 мг О₂/л. Температура 26°C стабилизировалась с помощью змеевика, подключенного к ультратермостату U-10. Установка испытана в производственных условиях в Волгореченском рыбхозе.

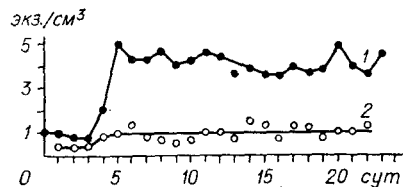


Рис. 58. Динамика плотности (1) и продуктивности (2) непропорционально-проточной культуры *Daphnia magna*.

Объектом культивирования служили *D. magna*. В качестве среды использовали скважинную воду, которую перед использованием аэрировали для снижения концентрации сероводорода. Корм — хлорелла и дрожжи в концентрации по 5 млн. кл./см³.

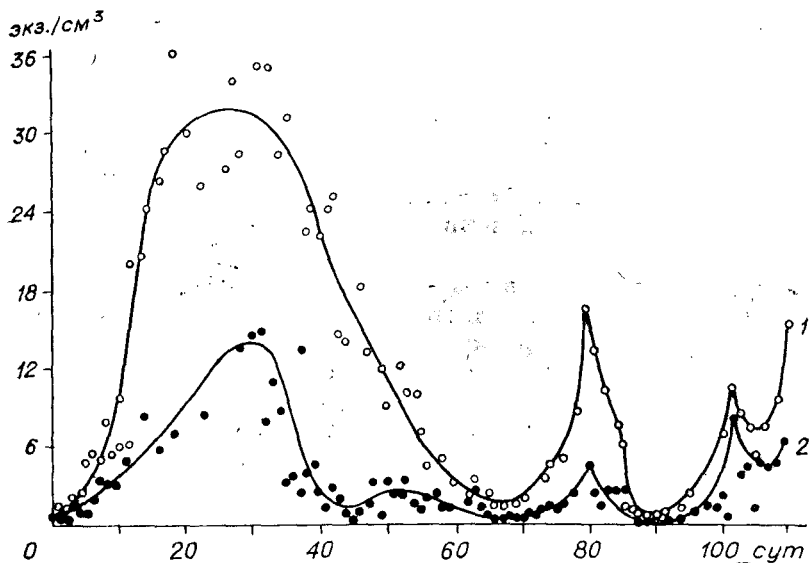


Рис. 59. Динамика плотности (1) и продуктивности (2) *Moina macroscopa* при неперенормально-проточном культивировании.

Питающую суспензию подавали непрерывно со скоростью протока $2/3$ об./сут. Сливная трубочка была затянута капроновой сеткой № 7, обеспечивающей проход только молодежи и среднего возраста дафний. Маточная культура при круглосуточном освещении люминесцентными лампами в условиях непрерывного поступления свежей среды и корма имела среднюю плотность около 4 экз./см³ и ежесуточную продуктивность около 1 экз./см³, или около $0,5$ г/л (рис. 58), или 500 г/м³.

Таким образом, испытания макетов промышленных образцов реакторов для непрерывного выращивания ветвистоусых рачков обеспечили продуктивность популяции в 10 раз выше, чем известно из литературы.

Предлагаемые нами макеты промышленных реакторов и технология, вероятно, могут быть использованы для разработки методов выращивания живых кормов в тепловодных рыбоводных хозяйствах.

Опыты, проведенные нами с *D. magna* в культиваторе объемом $0,3$ м³, показали, что культура дафний в отличие от мoin не имеет высоких всплесков и падений по плотности и продуктивности. Длительное содержание мoin в реакторе (3 л) с эрлифтами без стаканов на 60-е сутки привело к снижению плотности и продуктивности популяции. Затем амплитуды колебаний участились (рис. 59), как это известно для непрерывных культур различных микроорганизмов. Полученные данные согласуются с литературными [Макрушин, 1968; Хаткевич, 1970].

Вероятно, целесообразно использовать культуру мшин, полученную из природы для краткосрочных опытов, и одновременно проводить селекционную работу на протоке с целью получения длительно растущей популяции без самцов.

ВЫРАЩИВАНИЕ ХЛОРЕЛЛЫ КАК КОРМА ДЛЯ ВОДНЫХ БЕСПОЗВОНОЧНЫХ

Для успешного ведения процесса по производству биомассы коловраток и ветвистоусых рачков необходима свежая хлорелла. Интенсивная культура водных беспозвоночных возможна только в монокультуре, без примеси. Следовательно, корм, поступающий в реактор с популяцией водных беспозвоночных, должен быть чистым. Используемая для опытов вода не должна содержать каких-либо организмов.

В 1941 г. Н. С. Гаевская вместо сложной системы совмещения в одном объеме удобрения для микробного корма и культивируемых водных беспозвоночных животных предложила раздельный метод выращивания микробного корма (протококковые водоросли) и водных животных. По мнению автора [Гаевская, 1941], выделение двух-трех звеньев пищевой цепи делает ее простой, а главное — более устойчивой. Расчеты Н. С. Гаевской (1945) показали, что объем водорослевых культур при продуктивности 0,4 г сух. в-ва/(л·сут) должен соответствовать 25% объема дафниевой популяции (продуктивность последней 7,5 г/(м³·сут). Метод и техника раздельного выращивания микробного корма и рачков, предложенные автором, не нашли широкого применения из-за больших объемов установок для хлореллы и площадей под них.

Существует несколько аппаратов для выращивания одноклеточных водорослей, в том числе хлореллы. Разработаны теория и технология непрерывного культивирования, световые и газовые режимы, общие рекомендации по проектированию установок [Штоль и др., 1976].

В наших исследованиях применена установка упрощенного типа в лаборатории и в условиях тепловодного рыбоводного хозяйства для проточного культивирования хлореллы. Работа выполнена при участии А. В. Болсуновского и В. Э. Берзина.

Установка для выращивания хлореллы изготовлена из двух плоскопараллельных кювет одностороннего освещения (рис. 60, А), каждая из которых состоит из прозрачной стенки 2, выполненной из оргстекла, металлической стенки 4, резиновой прокладки 1. Общий рабочий объем кювет 3 составил около 16 л. Между кюветами помещен источник света 5. Установка воспроизводит один из ранее разработанных культиваторов [Штоль и др., 1976] с некоторыми изменениями в первичной конструкции. В частности, лампы ДКсТВ-6000, применение

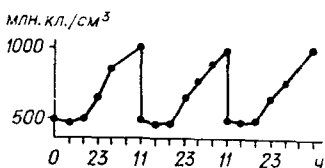
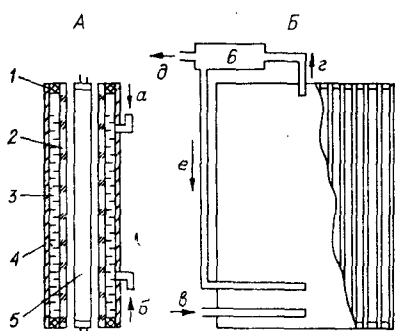


Рис. 61. Динамика плотности культуры хлореллы в течение цикла.

Рис. 60. Схема установки для выращивания хлореллы. Объяснение см. в тексте.

которых требует оснащения аппарата и самих ламп системой автоматической термостабилизации, значительно усложняющей технологию производства и эксплуатацию установки, заменены на люминесцентные. В данной установке использовалось 20 ламп типа ДЛЦ-80 (см. рис. 60, А, 5).

Объектом исследования служила одноклеточная водоросль *Chlorella vulgaris*. Запуск установки и поддержание нормального процесса культивирования требуют соблюдения несложных операций по обслуживанию и контролю. В заранее приготовленную минеральную среду Тамия вводится биомасса живых клеток хлореллы. Суспензия клеток хлореллы заливается в кюветы через верхнее отверстие *a* не более чем на 5/6 объема установки. Затем последовательно включается сепаратор-пеногаситель (см. рис. 60, Б, 6), система подачи воздуха и углекислого газа *в*, источник света. Выполнение этих операций и служит запуском установки. В процессе работы необходим регулярный контроль за пеногасителями, системой освещения и герметичностью кювет. Особого внимания требует система барботаж (расход воздуха 40 л/мин) и подача углекислого газа (0,6—1 л/мин). Включение этих систем вызывает сильное перемешивание популяции хлореллы. Образующаяся пена устремляется через трубку *г* в пеногаситель *б*, откуда газовая фракция уходит через трубку *д*, а жидкая возвращается в установку по трубке *е*.

Плотность культуры определяется методом прямого счета в камере Горяева или с помощью ФЭКа. При плотности около 1 млрд. кл./см³ ежедневно сливается 0,5—0,7 объема, т. е. 8—12 л, и при выключенном барботаже вводится равный объем питательной среды Тамия. Это обеспечивает дальнейший рост хлореллы (рис. 61), т. е. применяется метод полунепрерывного культивирования.

Слитую суспензию клеток хлореллы уплотняли на центрифуге при скорости 2000 об./мин в течение 15 мин, затем промывали и использовали в качестве корма для коловраток и рачков.

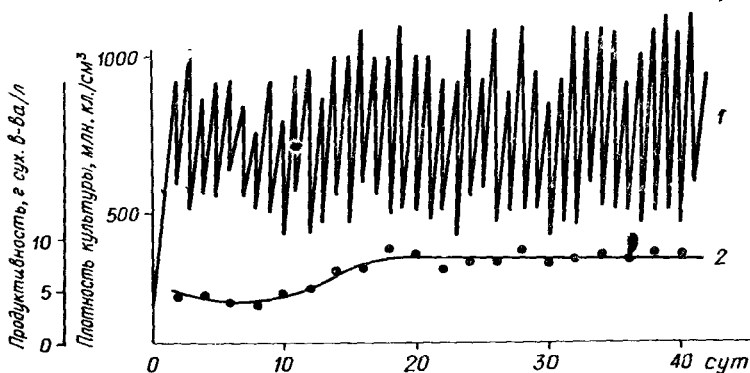


Рис. 62. Динамика плотности (1) и продуктивности (2) культуры хлореллы.

В 45-суточном опыте ежедневная продуктивность культуры составляет 8 г сух. в-ва/л (рис. 62), что в 20 раз превышает результаты, полученные А. С. Гаевской (1945). Производительность установки около 120 г сух., или около 400 г сыр. в-ва/сут. Метод непропорционально-проточного культивирования коловраток обеспечивает продуктивность популяции около 20 г сыр., или 2 г сух. в-ва/(л·сут). КПД (эффективность использования на рост потребленного корма) в популяции коловраток равен 30—40%. Следовательно, предлагаемый водорослевый культиватор может обеспечить продукцию коловраток около 400 г сыр., или 40 г сух. в-ва/сут.

Применение проточного метода выращивания хлореллы позволит круглогодично обеспечить работу трофических цепей хлорелла — коловратки и хлорелла — ветвистоусые рачки полноценным кормом. Предлагаемая модификация установки закрытого типа даст возможность получать хлореллу без каких-либо посторонних организмов, она проста в обслуживании и применима для научных и практических целей.

Таким образом, метод непрерывного культивирования различных беспозвоночных — простейших (свободноживущих и обитателей желудка жвачных животных), коловраток и ветвистоусых рачков — обеспечивает непрерывный рост популяции и открывает широкие возможности для исследований по биологии, физиологии, трофологии и т. д.

Непропорционально-проточное выращивание водных беспозвоночных дает продуктивность от 0,5 до 20 г/(л·сут), что в десятки раз превышает литературные данные.

Рассмотрим возможные варианты применения указанного метода в науке и практике.

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА НЕПРЕРЫВНОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ВОДНЫХ БЕСПОЗВОНОЧНЫХ

Интерес к водным беспозвоночным как продуцентам белка возрастает не только с научной, но и с практической точки зрения. Рассмотрим биохимический состав некоторых представителей водных беспозвоночных, выращенных в непропорционально-проточной культуре, а также другие возможные варианты применения метода.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КПД ПОПУЛЯЦИИ С ПОМОЩЬЮ МЕТОДА НЕПРЕРЫВНОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ

Для изучения продукционных процессов в естественных и искусственных водных экосистемах необходимо знать количественные соотношения всех трофических звеньев.

Строительство ГЭС и ТЭС влечет за собой создание новых водных экосистем. Для увеличения производительности экосистем, а также управления всеми процессами в них требуются количественные характеристики каждого звена. Эти данные также важны при создании экосистем биологической очистки сточных вод и т. д.

Различают несколько трофических уровней. Первый занят автотрофными организмами (фототрофами и хемотрофами), второй — растительноядными животными, третий — хищниками первого порядка и т. д. [Одум, 1975; Ройс, 1975].

Взаимоотношения компонентов экосистемы могут быть выражены количественно. Г. Г. Винберг (1962) считает, что для подобных расчетов необходимо знать: C — рацион, т. е. количество энергии, поступающей с пищей с предыдущего трофического уровня за единицу времени, P — продукцию (прирост) данного трофического уровня, выраженного в единицах энергии за единицу времени; R — затраты энергии на обмен за единицу времени; F — энергию неусвоенной за единицу времени пищи, т. е. $C = P + R + F$.

Важно знать коэффициент использования потребленной пищи на рост [Ивлев, 1977]:

$$K_1 = \frac{P}{C}. \quad (21)$$

По мнению Л. В. Камлюк (1979), рыболовные пруды могут служить сжатой во времени, удобной моделью исследования

многих структурных и функциональных особенностей водных сообществ в условиях легкорегулируемого прессы хищников, функции которых в нагульных прудах выполняют двухлестные карпы.

Значение зоопланктона для продуктивности пруда заключается в его способности трансформировать энергию первичного органического вещества зеленых растений в форму, доступную для потребления рыбами. В связи с этим интересны расчеты эффективности переноса энергии между первым, вторым и конечными звеньями, которые позволяют судить о КПД экосистемы с точки зрения рыбохозяйственного эффекта.

По расчетам Л. В. Камлюк (1979), отношение продукции карпов (P_k) к продукции фитопланктона (P_f) равно 10,1% для экспериментальных прудов, где P_k формировалась за счет искусственных и естественных кормов. В контрольных прудах без кормления оно составляет 3,1%, что совпадает с данными других авторов [Винберг, 1974; Ройс, 1975].

Доля инфузорий в общей численности и даже биомассе зоопланктона, как показали исследования последних лет, может быть очень значительной. В отдельных случаях инфузории составляют до 40% общей численности зоопланктона [Мордухай-Болтовская, 1965; Мамаева, 1976, 1979] или в высокоэвтрофных прудах Кубани — 85% [Корниенко, 1972].

Однако, как отмечает Т. В. Хлебович (1979), количественные закономерности питания свободноживущих инфузорий, играющих заметную роль в трансформации бактериальной и первичной продукции, малоизвестны. Для инфузорий с разным типом питания — фитофагов (*Stokesia*), седиментаторов (*Paramecium*, *Colpoda*, *Tetrahymena*) — критическая концентрация корма определена в 15—60 мг/л сырого веса. Коэффициент использования потребленной пищи на рост у инфузорий колеблется от 0,11 до 0,45.

Для определения K_1 необходимо знать количество потребленного корма. О количественных особенностях питания рачков-фильтратов имеется обширная литература [Гаевская, 1945; Сущенко, 1958, 1973, 1975; Печень-Финенко, 1954, 1979; и др.].

Методика определения скорости фильтрации довольно сложна. Л. М. Сущенко (1958) для установления скорости фильтрации и количества потребляемого корма четырьмя видами пресноводных Cladocera использовал цилиндрические сосуды с объемом 40 мл, в которые помещалось конкретное число животных. Чтобы избежать размножения водорослевого корма, рачков содержали в темноте. Продолжительность опыта 1—2, иногда 4 ч. Данный метод позволил получить количественные характеристики, необходимые при создании и расчетах экосистем.

Г. А. Печень-Финенко (1965) установила, что K_1 для *D. pulex* при кормлении сценедесмусом — 20%, у мoin — не

выше 5%. По мнению автора, последнее свидетельствует о непригодности данного вида водорослей для питания мoin. Эффективность использования пищи *D. pulex* при питании хлореллой составляет 20%.

По данным С. Ричмана [Richman, 1958], при кормлении *D. pulex* (De Geer) зелеными водорослями *Chlamydomonas reinhardii* Dang. с концентрацией 25, 50, 75 и 100 тыс. кл./см³ K_1 с возрастанием концентрации водорослей снижается от 13 до 4%.

Аналогичная зависимость K_1 от концентрации корма получена другими авторами [Крючкова, 1967; Сущеня, 1975].

При расчетах усвояемости корма (относительная безразмерная величина, означающая долю усвоенного корма от потребленного) по рациону, приросту и тратам на обмен выяснено, что она снижается по мере возрастания концентрации корма [Крючкова, 1967; Сущеня, 1975].

Г. А. Печень-Финенко (1979) утверждает, что животные хорошо регулируют количество потребленного и ассимилированного корма, сохраняя постоянную эффективность усвоения. Это не дает основания считать, что «избыточное питание» характерно для животных в природных условиях.

Н. М. Крючкова (1967) отмечает, что для *M. rectirostris* K_1 закономерно изменяется в течение жизни.

В литературе имеются данные по K_1 по коловраток, рыб и т. д. Л. А. Эрман (1962), изучая питание *Br. calyciflorus* водорослью *Lagerheimia ciliata*, установил, что максимальный коэффициент использования потребленного корма на рост равен 38%.

Таким образом, из краткого литературного обзора видно, что в зависимости от концентрации корма и других внешних условий K_1 меняется [Richman, 1958].

Определение K_1 методом непрерывного культивирования открывает возможности создавать исследуемые условия неограниченно долгое время. Выше приведены примеры длительно непрерывного выращивания коловраток (155 сут), мoin (110 сут), простейших (47 сут). Культура находится в повторяемых условиях по обмену среды, концентрации корма, температуре и т. д. Это позволяет снять различные количественные характеристики: скорость потребления корма, расход корма на одну дочернюю особь, что, вероятно, более важно, чем скорость фильтрации и, наконец, КПД биосинтеза культуры (превращение вещества корма в вещество водных беспозвоночных). В работе В. А. Павлютина (1979) отмечено, что важным этапом исследования влияния детрита на рост водных беспозвоночных является проведение длительных опытов для того, чтобы получить многие поколения популяции, определить поведение культуры в конкретных условиях по концентрации детрита, его составу и т. д. На наш взгляд, названные характеристики

Культура	Корм
<p>Простейшие</p> <p><i>Paramecium caudatum</i> <i>Blepharisma undalans</i> <i>Paramecium caudatum</i> <i>Blepharisma undalans</i></p>	<p>Прессованные дрожжи » Дрожжи+бактерии »</p>
<p>Коловратки</p> <p><i>Philodina acuticornis</i></p>	<p>Хлорелла</p>
<p>Ветвистоусые рачки</p> <p><i>Moina macroscopa</i></p>	<p>Хлорелла+дрожжи</p>

можно получить в непрерывной культуре гидробионтов. Для определения КПД биосинтеза популяции нами использовано следующее уравнение:

$$\text{КПД} = \frac{Y_1 \cdot 100}{(S_0 - S_1) \cdot V^1 p}$$

Это уравнение можно преобразовать [Ивлев, 1977]:

$$K_1 = \frac{P}{C}$$

Расход дрожжевого корма в культуре инфузорий на продуцирование одной дочерней особи рассчитывали по уравнению

$$Sg = \frac{V^1 (S_0 - S_1)}{Q}$$

При кормлении прессованными дрожжами для *P. caudatum* он составил 11 250 кл., а для *B. undalans* — 20 875 кл. [Кокова, Лисовский, 1976], при использовании хлореллы для *Philodina acuticornis* — 50 тыс. кл. (см. гл. 2), для *M. macroscopa* — 10,5 млн. кл. (дрожжи+хлорелла) при скорости протока 0,64 об./сут и снизился до 5 млн. кл. при скорости протока 3 об./сут (см. табл. 6).

КПД биосинтеза популяции изменяется в зависимости от ее вида и условий (табл. 8), что согласуется с утверждением Г. В. Никольского (1965): «Популяция — это трансформатор энергии, поступающей извне. Характер и темп этой трансформации, а также КПД специфичны для вида, хотя и меняются в известных пределах в связи с изменением окружающей обстановки».

различных беспозвоночных

Метод	K ₁ , %	Литературный источник
Полунепрерывный	43,5	Кокова, Лисовский, 1976
»	13,0	Тот же
»	52,0	»
»	22,0	»
Непрерывный	30—40	Кокова, см. наст. кн.
»	10,5—20,0	Кокова, см. наст. кн.

ПОВЫШЕНИЕ УТИЛИЗАЦИИ МИКРОБНОГО КОРМА НЕПРЕРЫВНОЙ КУЛЬТУРОЙ ГИДРОБИОНТОВ

Метод непрерывного непропорционально-проточного выращивания водных беспозвоночных обеспечивает непрерывный рост и ежесуточную продуктивность популяции простейших [Кокова, Лисовский, 1976] и коловраток до 20 г сыр. в-ва/(л · сут), что в десятки раз превышает результаты, полученные другими авторами [Эрман, 1958; Васильева, Окунева, 1961; Овишников, 1970; Корниенко, 1971] в периодической культуре. При непропорционально-проточном выращивании часть корма (30—80%) не успевает использоваться гидробионтами и уходит из реактора в сливаемой части суспензии, что удорожает продукцию.

Цель наших исследований — разработать методы, позволяющие повысить утилизацию микробного корма (хлореллы, дрожжей) из сливаемой части суспензии при непрерывном выращивании различных гидробионтов.

В опытах использованы коловратки (*Ph. acuticornis odiosa*), парамеции (*P. caudatum*) и моины (*M. macrocopa*), кормом служили хлорелла (*Chlorella vulgaris*), дрожжи (*Saccharomyces ellipsoides*) и бактерии (*Bacillus subtilis*).

В опыте 1 культуру коловраток содержали в реакторе объемом 0,2 л. Скорость протока среды составила 5 об./сут. Проток среды обеспечивали лишь в дневное время суток в течение 7 ч. Опыт проводили при комнатной температуре в течение 155 сут. Кормом для коловраток служила хлорелла, которую ежесуточно отделяли центрифугированием (10 мин при 5—6 тыс. об./мин). Полученный осадок ресуспендировали в свежей водопроводной воде. Концентрацию хлореллы корректировали

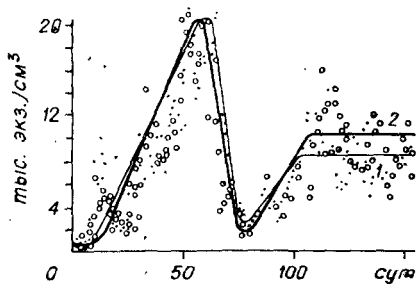


Рис. 63. Динамика плотности культуры коловраток в опыте (1) и контроле (2).

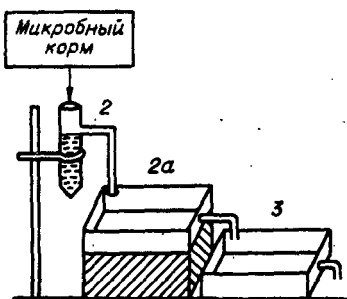


Рис. 64. Схема трехзвенной трофической цепи.

1 — микробный корм; 2 — культура коловраток; 2а — смешанная культура (коловратки + мойны); 3 — личинки карпа.

в питающей суспензии до заданной (60 млн. кл./см^3) и на следующие сутки использовали в качестве корма для коловраток.

В контроле хлореллу из сливаемой части популяции коловраток не возвращали в питающую суспензию. Ежедневно использовали свежую хлореллу и свежую водопроводную воду для приготовления питающей суспензии. Остальные условия культивирования одинаковые с опытом.

При повторном использовании хлореллы, отделяемой из сливаемой части популяции коловраток с помощью центрифуги, получена плотность культуры в стационарный период 8 тыс. экз./см³, в контроле 10 тыс. экз./см³ (рис. 63). Результаты свидетельствуют, что можно повторно использовать хлореллу при непропорционально-проточном культивировании коловраток, что, вероятно, сократит расходы на корм. Однако при данном методе наблюдались потери урожая. При центрифугировании часть коловраток вместе с хлореллой попадала в осадок и, следовательно, возвращалась в систему.

В опыте 2 применен другой способ утилизации микробного корма. Трофическая цепь состояла из трех звеньев (рис. 64). Питающая суспензия (вода + хлорелла) круглосуточно по каплям поступала в реактор с культурой коловраток, а сливаемая часть суспензии — в аквариум с мойнами. Смешанная популяция (коловратки + мойны) поступала в последнее звено трофической цепи — к личинкам рыб *Surginus carpio*.

Коловраток содержали в реакторе объемом 0,2 л. Кормом служила хлорелла в концентрации 60 млн. кл./см^3 . Питающая суспензия (вода + хлорелла) поступала непрерывно по каплям, скорость протока 10 об./сут. Температура среды 27°C , рН 6,8, количество кислорода 8—8,5 мг/л.

Мойны находились в аквариуме объемом 10 л. Скорость протока 0,6 об./сут (2 л — сливаемая часть суспензии из установки

с культурой коловраток и 4 л — свежая водопроводная вода). Среду доливали по каплям в течение суток. Отводная трубочка из аквариума с мойнами была закрыта, что повышало уровень среды. Через каждые 6 ч ее открывали и 1,5 л смешанной популяции (коловратки + мойны) переливалось в аквариум с личинками рыб. В первые 3 сут опыта на трубочку из аквариума с мойнами надевали мельничный газ № 16, через который проходили только коловратки и мелкие мойны.

Личинок карпа с исходным весом 1 мг (0,15 мг сух. в-ва) содержали в аквариуме объемом 10 л, с плотностью посадки 4 экз./л. Температура среды 25°C, рН 6,8—7,0, количество кислорода 5—7 мг/л. Скорость протока 0,6 об./сут. Излишки среды выводили по уровню через отводную трубочку с сеткой № 24, которая задерживала мойн и личинок рыб. Личинок кормили в течение опыта равномерно, без учета возраста 4 раза в сутки соотношение коловраток и мойн в смешанном живом корме приблизительно 1:1.

В звене 2 при средней плотности культуры коловраток 15,7 тыс. экз./см³ в сливаемой части суспензии оставалось 44,3% хлореллы. КПД биосинтеза культуры коловраток (превращение вещества хлореллы в вещество коловраток) составил 44,3% (табл. 9).

Плотность популяции мойн (звено 2а) 3 экз./см³, а ежесуточный урожай — 1 экз./см³, или 0,043 г сыр. в-ва/л. Биомасса мойн, ежесуточно поступающих в аквариум с рыбами, достигла 0,43, а коловраток — 0,55 г сыр. в-ва/сут. Общий вес кормов, поступающих в аквариум с рыбами, — 0,980 г сырого вещества (0,098 г сух. в-ва) в сутки, или 24,6 мг сырого вещества на одну личинку в сутки. В сливаемой части суспензии из аквариума с мойнами хлореллы оставалось 7,2% от биомассы, поступившей в звено 2 (см. табл. 9).

В конце 10-суточного опыта средний вес одной личинки карпа составил 66,7 мг сырого, или 9,25 мг сухого вещества; сред-

Т а б л и ц а 9

Усвоение микробного корма в звеньях 2 и 2а трофической цепи, г сух. в-ва

Звено	Вариант	Корм			Продукция за 9 сут				КПД	
		микробный	введен- ный	выведен- ный	использо- ванный	параме- ций	мойн	коловра- ток		смешан- ной куль- туры
а	Опыт	Хлорелла	9,08	4,03(44,3)	5,05	—	—	2,09	—	41,3
	Контроль	Дрожжи и бактерии	10,77	9,52(88,3)	1,26	0,452	—	—	—	36,0
	Опыт	Хлорелла	4,03	0,66(7,2)	3,37	—	0,43	0,55	0,980	29,2
	Контроль	Дрожжи и бактерии	9,52	0,73(7,4)	8,80	0,238	0,036	—	0,274	3,1

Примечание. В скобках — процент.

Усвоение микробов и живых кормов в третьем звене трофической цепи

Вариант	Живой корм, г				Вес личинок, мг			Абсолютный прирост, г	КПДр	Микробный корм, г сух. в-ва		КПДц
	введенный сме-шанный	выведен-ный		исходный	в конце опыта	Выживаемость личи-нок, %	выведенный из звена			использованный		
		параме-ции	коловат-ки									
Опыт	0,98	—	0,05	0,93	0,15	9,25	92,5	0,34	36,6	0,35 (3,8%)	8,73	3,9
Контроль	0,274	0,127	—	0,147	0,15	1,24	70,0	0,03	20,4	0,55 (5,1%)	10,22	0,3

няя длина в конце опыта 17,8 мм, выживаемость 92,5%. В сливаемой части суспензии из аквариума с карпами оставалось 3,8% хлореллы от поступившей из звена 1 данной трофической цепи. КПДр (превращение вещества живого корма в вещество личинок рыб) в опыте составил 36,5%, что согласуется с литературными данными [Филатов, 1971; Тагирова и др., 1973], а КПД всей трофической цепи — лишь 3,9 (табл. 10).

В контроле в отличие от опыта 1 звено 1 было представлено гетеротрофными микроорганизмами (дрожжи + бактерии). Предполагалось, что в звене 2а будет смешанная культура (парамеции + моины), однако, как только в аквариум с моинами (звено 2а) поступала сливаемая часть суспензии из культиватора с парамециями (звено 2), моины практически исчезали. Следовательно, вторая трофическая цепь состояла из следующих звеньев: 1 — микробный корм (дрожжи + бактерии), 2 и 2а — парамеции, 3 — личинки карпа.

В звено 3 данной трофической цепи поступало 274 мг сырого вещества живых кормов, или около 7 мг сырого вещества на одну личинку в сутки. В конце опыта вес одной личинки карпа достиг 6,6 мг сырого, или 1,24 мг сухого вещества. Средняя длина личинки — 6,8 мм, выживаемость 70%. В названную трофическую цепь поступило 10,77 г дрожжей и бактерий (сухое вещество), а ушло из системы в сливаемой части среды из аквариума с рыбами 0,55 г, или 5,1%. КПД трофической цепи 2 — 0,3% (см. табл. 10).

Личинки карпа в контроле, где они получали в качестве корма парамеций с первых суток опыта, раньше, чем в опыте, становились подвижными. В контроле в 2,5-суточном возрасте все они были подвижны, а в опыте в это время свободноплавающих было лишь 20—50%. Это, вероятно, связано с тем, что парамеции более доступны для личинок карпа, чем коловатки.

Используемые в опыте коловратки имеют смешанное поведение. Большинство из них приклеиваются ногой к стенке аквариума, и только малое число коловраток свободно плавают. Очевидно, целесообразно с первых суток постэмбрионального развития личинок карпа для ускорения перевода их в активное состояние использовать в качестве живого корма парамеций. Однако необходимо разработать иную технологию подачи парамеций к личинкам карпа. Например, подавать свежую культуру парамеций прямо к личинкам карпа, минуя культуру мoin.

Полученные величины КПД или K , близки к встречаемым в природе [Ройс, 1975] или превышают их.

Следовательно, выращивать мoin с использованием в качестве корма гетеротрофных микроорганизмов в предложенном аппарате практически невозможно. Продолжительное (10 сут) кормление личинок карпа только парамециями во втором опыте снизило их рост по сравнению с первым опытом. Однако эффективность парамеций как живого корма, вероятно, может быть так же, как и коловраток, достаточно высокой, если ветвистых рачков выращивать иным способом и добавлять их наряду с парамециями непосредственно в аквариум с личинками рыб.

Предлагаемый метод утилизации корма в трехзвенной трофической цепи (микроскопические растительные организмы — беспозвоночные — рыбы) может быть использован в научных и практических целях (производство живых кормов для личинок рыб и т. д.).

БИОХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ НЕКОТОРЫХ ВОДНЫХ БЕСПОЗВОНОЧНЫХ, АВТОТРОФНЫХ И ГЕТЕРОТРОФНЫХ ОДНОКЛЕТОЧНЫХ, ВЫРАЩЕННЫХ В НЕПРЕРЫВНОЙ КУЛЬТУРЕ

Метод непропорционально-проточного культивирования позволяет получать ежедневно до 0,5 г/л биомассы мoin и дафний, около 20 г/л биомассы коловраток и инфузорий и использовать ее для различных исследований.

В литературе имеются данные по качественному аминокислотному составу *P. caudatum* [Lee, 1956] и Tetrahymenidae [Hamilton e. a., 1952]. Количественный состав свободных аминокислот исследован у нескольких видов амёб [Friz, 1968], у *E. gracilis* [Miller, 1976].

Для определения общего биохимического состава водных беспозвоночных многие авторы [Маликова, 1956; Степанова, 1967, 1968; Albrecht, 1969; Богатова и др., 1971] использовали биомассу водных беспозвоночных, выловленных из прудов и рек, а также из полиэтиленовых (панцирные коловратки *Br. ca-*

lyciflorus) или сетчатых капроновых (ветвистоусые рачки) садков [Богатова и др., 1971; Богатова, 1973].

Во-первых, полученная из природы биомасса неоднородна, во-вторых, не ясно, какой корм использовали беспозвоночные в природных водоемах и садках, расположенных в водоемах. В литературе имеются данные общего биохимического состава *Ph. acuticornis odiosa*, выращенных в лабораторных условиях [Meadow e. a., 1971]. Биомасса коловраток содержала (в %): сырого протеина — 43—54, жира — 14—24 (у старых коловраток количество жира увеличивалось), золы — 6,9 и РНК у молодых — 5,6 и у старых — 1,7.

Цель наших исследований — установить количественный аминокислотный состав белка инфузорий, коловраток и ветвистоусых рачков и сравнить его с таковым фотосинтезирующей водоросли (*Chlorella vulgaris*), хемосинтезирующих водородных бактерий (*Hydrogenomonas*) и гетеротрофных микроорганизмов — дрожжей, а также продукта животного происхождения — казеина.

Определен количественный биохимический состав *P. caudatum*, выращенных в непрерывной непропорционально-проточной культуре [Кокова и др., 1973].

Клональную культуру парамеций содержали на среде Лозина-Лозинского с рН 6,8, кормом служила смесь дрожжей *Saccharomyces ellipoides* и бактерий *Bacillus subtilis*. Слитую часть культуры парамеций оставляли без корма в течение 12 ч. За это время они полностью выедали дрожжевой корм. От бактерий культуру отмывали 3 раза по 2—3 мин центрифугированием при 1000 об./мин. Ниже дан биохимический состав липофильно высушенных *Paramecium caudatum* (в %):

Сырой протеин	58,1
Связанные жиры	11,8
Свободные жиры	19,9
Углеводы	4,0
Зола	3,4

Эти данные близки к полученным ранее [Grobicka, Wasilewska, 1925]. Аминокислотный состав различных одноклеточных определяли методом одномерной нисходящей хроматографии на бумаге [Андреева, Кокова, 1974]. В табл. 11 и 12 представлены экспериментальные данные по аминокислотному составу биомассы и белка парамеций и *Bl. undulans*. Кроме этого, приводится аминокислотный состав фотосинтезирующей водоросли хлореллы и хемосинтезирующих водородных бактерий *Hydrogenomonas*, выращенных в условиях интенсивного непрерывного культивирования [Терсков и др., 1964, 1969].

Биомасса всех одноклеточных организмов содержит полный набор незаменимых аминокислот. У ненакормленных парамеций количество аминокислот уменьшается по сравнению

Аминокислотный состав биомассы инфузорий, хлореллы, водородных бактерий и казеина, % на сух. в-во

Аминокислота	Парамеции		Блефаризмы	Хлорелла	Водородные бактерии	Казеин
	накормленные	ненакормленные				
Лизин	2,7±1,12	2,7±0,11	3,2	5,2±0,11	4,5±0,12	8,1
Гистидин	1,8±0,35			1,2±0,28	2,7±0,29	2,6
Аргинин	4,0±0,19	2,9±0,18	3,1	2,9±0,16	5,6±0,18	3,9
Аспарагиновая	6,1±0,59	3,5±0,32	2,8	4,1±0,42	5,8±0,43	7,6
Серин	2,4±0,31	2,8±0,25		2,1±0,30	2,7±0,29	5,7
Глицин	2,9±0,27		2,9	3,2±0,26	4,0±0,25	2,1
Глутаминовая	7,3±0,35	5,2±0,28	5,7	5,4±0,32	7,2±0,31	20,3
Треонин	3,5±0,63	4,5±0,57	3,2	3,9±0,58	4,2±0,58	4,4
Аланин	3,7±0,39	3,2±0,28	3,0	5,1±0,40	6,5±0,33	3,4
Пролин	1,8±0,47			3,5±0,29	2,3±0,39	6,9
Тирозин	2,8±0,35	2,1±0,39	1,1	2,5±0,28	2,4±0,35	7,3
Метионин	0,7±0,59			1,2±0,48	1,3±0,48	2,3
Валин	3,8±0,24	2,7±0,29	4,5	2,2±0,28	3,1±0,22	5,7
Фенилаланин	3,6±0,47	3,7±0,45	2,2	2,8±0,41	3,5±0,47	4,1
Лейцин						7,1
Изолейцин	8,2±0,35	7,2±0,24	5,4	6,1±0,28	8,7±0,38	5,8
Триптофан	0,7±0,28	Следы		0,7±0,29	0,9±0,24	1,5
Цистин	0,9±0,17	0,5±0,12	Следы	0,5±0,18	0,8±0,12	—
Всего	56,9	41,0	37,1	52,6	66,3	98,8

с хорошо накормленными за счет лизина, гистидина, аргинина, серина, глицина, глутаминсвой кислоты, метионина + валина. Анализ биомассы блефаризм показал более низкий суммарный аминокислотный состав по сравнению с парамециями.

В табл. 12 приведены данные аминокислотного состава белка парамеций, хлореллы и водородных бактерий, рассчитанные по ранее приведенным результатам, в сравнении с белком животного происхождения — казеином. Во всех образцах отмечено высокое содержание незаменимых аминокислот (39—40%). Белок парамеций по ряду аминокислот (глутаминовая, лейцины, изолейцины) стоит ближе к животному белку — казеину, чем к белку фото- и хемотрфов.

Помимо одноклеточных организмов нами совместно с В. А. Барашковым и И. Н. Трубочевым исследован биохимический состав многоклеточных водных беспозвоночных, выращенных в непропорционально-проточной культуре. В качестве объекта исследования использованы беспанцирные коловратки (низшие черви) *Ph. acuticornis odiosa* и ветвистоусые рачки *M. macrocора*. Для корма им взяты дрожжи *Saccharomyces ellip-*

Аминокислотный состав белка парameций, хлореллы, водородных бактерий и казеина, % на белок

Аминокислота	Парамеции (накормленные)	Хлорелла	Водородные бактерии	Казеин
Лизин	4,7	9,3	6,8	8,1
Гистидин	3,2	2,1	4,1	2,6
Аргинин	7,1	5,3	8,4	3,9
Аспарагиновая	10,7	7,3	8,7	7,6
Серин	4,2	3,7	4,1	5,7
Глицин	5,1	5,7	6,0	2,1
Глютаминовая	12,8	9,6	10,8	20,3
Треонин	6,1	6,9	6,3	4,4
Аланин	6,5	9,1	9,8	3,4
Пролин	3,2		3,4	6,9
Тирозин	4,9	6,2	3,6	7,3
Метионин	1,2	2,1	2,4	2,3
Валин	6,7	3,9	4,6	5,7
Фенилаланин	6,3	5,0	5,3	4,1
Лейцин	14,4	10,9	13,1	5,8
Триптофан	1,2	1,2	1,4	1,5
Цистин	1,6	0,9	1,3	—
Незаменимые	40,6	39,3	39,9	39,0

soides, дрожжи прессованные *S. cerevisiae* и хлорелла *Chlorella vulgaris*. В некоторых опытах использован смешанный корм: хлорелла + дрожжи *Saccharomyces ellipsoides* (А) и хлорелла + прессованные дрожжи (Б). Соотношение компонентов в смеси 1 : 1

Коловраток отделяли от среды центрифугированием, а мойн — с помощью капроновой сетки. Биомассу сушили при 105°C и использовали для анализов. Содержание сырого протеина рассчитывали умножением общего азота, определяемого по Кьельдалю на коэффициент 6,25, углеводы — антроновым методом, фракции углеводов — по методике А. Н. Белозерского и Н. И. Проскуракова (1951), нуклеиновые кислоты — по А. С. Спирину (1958). Для установления аминокислотного состава образцы предварительно гидролизовались 6 н. соляной кислотой при 110°C в течение 22 ч в запаянных ампулах. Цистин и метионин определяли после окисления биомассы надмуравьиной кислотой и последующего гидролиза в запаянных ампулах 6 н. соляной кислотой в течение 18 ч. Содержание аминокислот в гидролизатах находили на автоматическом анализаторе КЛА-3В («Хитачи»).

В табл. 13 представлены данные по биохимическому составу коловраток и мойн. Основным биохимическим компонентом являются белки, их количество составляло 50—60% сухого

Биохимический состав коловраток и моин, % на абс. сух. в-во

Объект исследования	Корм	Общий азот	Сырой протеин	Общие углеводы	Трудно-гидролизуемые полисахариды	Зола	Жир	Нуклеиновые кислоты
Коловратки Моины	Хлорелла	9,6	60	9,0	0,4	5,0	25,6	6,9
	А	8,1	50,6	11,0	0,5	Не определялось		4,7
	Б	9,4	58,7	10,6	0,6	5,8	24,3	5,2

веса биомассы (см. табл. 13), что согласуется с литературными данными [Маликова, 1956; Степанова, 1968; Богатова и др., 1971].

В биомассе коловраток отмечено низкое содержание трудногидролизуемых полисахаридов — 0,4%. Количество золы по сравнению с панцирными коловратками [Богатова и др., 1971] снизилось на 1% и равнялось 5%.

В биомассе моин трудногидролизуемые углеводы составили 0,5—0,6, зола — 5,8%. Из литературы известно, что количество золы в биомассе ветвистоусых рачков может колебаться от 7,6 (молодь цериодафний) до 38,1% (биомасса взрослых дафний из пруда) [Богатова и др., 1971] и зависит не только от возраста популяции, но и от условий выращивания. В биомассе дафний, выращиваемых в условиях систематического кормления, золы было лишь 9,9% [Богатова, 1973а]. Исползованный нами метод непрерывного культивирования создает условия для непрерывного роста культуры, в которой находится много молодых организмов, что вероятно, обеспечивает получение биомассы моин с низким содержанием золы — около 6%. Количество жира в биомассе коловраток и моин, определенное по разности, составило значительную величину (24—26%). Из литературы известно [Meadow e. a., 1971], что концентрация жира в биомассе коловраток *Ph. acuticornis odiosa* колеблется от 14 (в возрасте 5,5 сут) до 24% (9,5 сут) и далее не изменяется. Вероятно, в наших опытах в биомассе преобладали коловратки не моложе 8—10-суточного возраста. Основное небелковое азотистое вещество беспозвоночных — нуклеиновые кислоты (РНК и ДНК). Накопление этих компонентов зависит от природы организма, физиологического состояния, главным образом скорости роста. Из литературы известно [Meadow e. a., 1971], что в биомассе исследованных нами коловраток содержание РНК колеблется от 1,7% у старых особей (20 сут и более) до 5,6% у молодых (4, 5 сут). Известно, что коловратки *Ph. acuticornis* наиболее активно растут до 10-суточного воз-

Аминокислотный состав коловраток и моин в зависимости от условий выращивания и корма, % на абс. сух. в-во

Аминокислота	Коловратки, выращенные на		Моины, выращенные на				
	хлорелле	дрожжах	хлорелле	дрожжах	смешанном корме А		смешанном корме Б с аэрацией
					с аэрацией	без аэрации	
Лизин	4,86	2,35	3,17	2,78	3,05	3,47	3,60
Гистидин	1,33	0,81	1,20	1,01	1,19	1,22	1,29
Аргинин	4,15	2,49	3,76	2,52	3,04	3,44	3,39
Аспарагиновая	6,81	7,75	7,08	4,83	5,64	5,65	5,58
Треонин	3,30	2,75	3,51	2,63	2,80	2,71	2,91
Серин	3,69	3,03	3,52	2,63	3,10	3,09	2,71
Глутаминовая	7,07	7,13	9,02	6,27	5,44	6,14	6,11
Пролин	4,16	2,47	3,50	2,68	3,58	3,40	3,67
Глицин	2,94	2,69	3,49	2,61	2,40	2,34	2,44
Аланин	3,56	3,06	4,74	3,76	3,45	3,48	3,56
Цистин	0,84	0,97	1,03	0,54	0,74	0,69	0,72
Валин	2,82	1,77	2,47	2,27	2,71	2,64	2,53
Метионин	1,42	0,93	1,08	0,76	1,15	1,19	1,16
Изолейцин	2,31	1,48	1,54	1,32	1,88	1,87	1,89
Лейцин	4,99	3,55	4,07	2,68	3,98	4,15	4,51
Тирозин	2,69	1,64	2,12	1,58	2,35	2,17	2,39
Фенилаланин	3,01	2,26	2,17	1,42	2,42	2,51	2,73
Всего . . .	59,95	47,13	57,47	42,29	49,02	50,16	51,20

раста. В наших опытах биомасса коловраток получена из проточной культуры, характеризующейся постоянной удельной скоростью роста ($0,018 \text{ ч}^{-1}$). Судя по количеству суммарных нуклеиновых кислот (6,9%), в популяции преобладали коловратки среднего возраста.

Аминокислотный состав биомассы коловраток и моин представлен в табл. 14. Суммарный аминокислотный состав коловраток и моин, питавшихся дрожжами, был ниже, чем при питании хлореллой, соответственно на 12,82 и 15,18%.

Аминокислотный состав моин, питавшихся смешанными кормами А и Б, имел средние значения как по суммарному составу, так и по многим отдельным аминокислотам по сравнению с биомассой этих организмов, выращиваемых отдельно на дрожжах или хлорелле. Вероятно, род дрожжей не влияет на аминокислотный состав биомассы моин.

В табл. 15 приведен аминокислотный состав белка моин и коловраток, выращенных на различных кормах, а также для сравнения использованных в опытах кормов и казеина — белка животного происхождения.

Все исследованные белки содержат полный набор незаменимых аминокислот.

Аминокислотный состав белков различного происхождения, % на белок

Аминокислота	Коловратки, выращенные на		Моины, выращенные на			Корм		Казеин
	хлорелле	дрожжах	хлорелле	дрожжах	смешанном корме Б	хлорелла	дрожжи*	
Лизин	8,08	4,98	5,50	6,57	7,03	5,98	7,2	7,33
Гистидин	2,20	1,71	2,08	2,38	2,51	1,81	2,8	2,20
Аргинин	6,92	5,28	6,53	6,00	6,62	7,74	3,9	3,19
Аспарагиновая	11,35	16,44	12,30	11,46	10,90	9,49	8,8	7,11
Треонин	5,50	5,83	6,10	6,21	5,68	4,88	5,1	4,22
Серин	6,15	6,42	6,11	6,21	5,29	4,86	4,1	5,72
Глутаминовая	11,80	15,12	15,69	14,82	11,93	13,12	12,9	22,20
Пролин	6,93	5,24	6,08	6,33	7,16	5,74	3,4	10,41
Глицин	4,90	5,70	6,07	6,16	4,76	6,34	4,2	1,80
Аланин	5,93	6,49	8,24	8,88	6,95	9,18	5,5	2,96
Цистин	1,40	2,05	1,80	1,27	1,40	1,37	0,5	0,42
Валин	4,70	3,75	4,29	5,36	4,94	5,41	5,4	5,72
Метионин	2,36	2,00	1,86	1,79	2,26	2,16	1,3	2,47
Изолейцин	3,85	3,00	2,68	3,12	3,69	3,55	4,9	4,10
Лейцин	8,32	7,53	7,08	6,30	8,81	8,91	7,8	9,39
Тирозин	4,50	3,47	3,68	3,75	4,66	3,13	3,4	4,75
Фенилаланин	5,01	4,70	3,77	3,35	5,33	4,41	4,4	4,62
Триптофан	Не определялось					1,58	1,0	1,35
Незаменимые	37,84	31,88	31,28	32,69	37,74	36,88	37,1	39,20

* По Покровскому и др., 1972.

Отмечено, что белок коловраток и моин накапливает лишь отдельные аминокислоты в таком же количестве, как в корме. При кормлении коловраток хлореллой наблюдается сходство с кормом лишь по содержанию цистина и изолейцина, а у моин — по содержанию лизина и гистидина. В белке коловраток, потреблявших дрожжи, отмечена одинаковая с кормом концентрация лейцина и тирозина, а в белке моин — тирозина и валина.

В белке моин, питавшихся смешанным кормом (хлорелла + дрожжи), отмечено равное количество лизина с белком дрожжей, а цистина, метионина, изолейцина и лейцина с белком хлореллы. Вероятно, моины выбирают из смешанного корма главным образом хлореллу.

Отмечено более высокое содержание аргинина, аспарагиновой кислоты, глицина, аланина, цистина и более низкое — глутаминовой кислоты и пролина в белке коловраток и моин по сравнению с казеином, количество остальных аминокислот достаточно точно согласуется с казеином. В этом отношении белок водных беспозвоночных стоит ближе к животному белку — казеину, чем корма (хлорелла и дрожжи).

По сумме незаменимых аминокислот коловратки, накормленные хлореллой, и мойны, питавшиеся смешанным кормом, имеют сходство с кормом. Потребление коловратками только дрожжей и мойнами только дрожжей либо хлореллы привело к снижению содержания аминокислот на 3—4% по сравнению с кормом. В целом суммарное количество незаменимых аминокислот в биомассе мойн и коловраток было ниже, чем в казеине и белке парameций, на 2—7% в зависимости от корма. Вероятно, это связано с достаточно однообразной пищей. Увеличение разнообразия корма, например за счет бактерий, приведет к возрастанию незаменимых аминокислот.

Данные по общему биохимическому составу парameций, питавшихся дрожжами и бактериями, а также коловраток и мойн, накормленных хлореллой, показывают, что количество белка в их биомассе составляет 57,47—59,95%. Белок исследованных водных беспозвоночных стоит ближе к животному белку — казеину и содержит полный набор незаменимых аминокислот при высоком их значении (37—40%), что свидетельствует о его высоком пищевом качестве.

Для определения биологической ценности белка был использован тест-организм *Tetrahymena*. Опыты проведены совместно с М. Ю. Соколович.

Биомассу водных беспозвоночных получали методом непропорционально-проточного культивирования. В качестве корма для парameций служили прессованные дрожжи, для мойн — хлорелла, для дафний — хлорелла + гидролизные дрожжи.

Относительную биологическую ценность (ОБЦ) биомассы водных беспозвоночных определяли по методике, разработанной под руководством Н. Г. Беленького (1977). Тест-организмом служили *Tetrahymena pyriformis* W.

Питательная углеводно-солевая дрожжевая (УСД) среда содержала (г): глюкозы — 1,5, дрожжевого экстракта — 0,1, морской соли — 0,1. Дистиллированную воду (до 100 мл, рН 7,1) разливали по флакончикам по 1 мл, туда же вносили испытуемый образец в виде сухого растертого порошка из расчета 0,07 мг азота на 1 мл УСД. Флакончики закрывали и автоклавировали при 1 атм в течение 30 мин. Каждый образец исследовали в трех повторностях, опыт повторяли 3 раза.

После охлаждения проводили посев по 0,02 мл 3-суточной культуры тетрахимен, выращенных при 25°C на пептонной среде (г): пептон — 2,0, дрожжевой экстракт — 0,1, глюкоза — 0,5, хлористый натрий — 0,1, дистиллированная вода — до 100 мл (рН 7,1).

Инфузорий выращивали 4 сут при 25°C. Затем во флакончики вносили 3 мл фиксирующего раствора (20 мл 36%-ного формалина, 175 мг KH_2PO_4 , 170 мг K_2HPO_4 , 440 мл дистиллированной воды) и подсчитывали инфузорий в камере Фукса — Ро-

Относительная питательная ценность биомассы различных беспозвоночных

Биомасса	Общий азот, %	Плотность культуры тетрахимен ($M \pm m$), тыс. экз./см ³	ОБЦ, %
<i>P. caudatum</i>	10,8	367,3 ± 15,2	179,2
<i>M. macroscopa</i>	9,4	331,2 ± 17,5	161,6
<i>D. magna</i>	7,2	285,8 ± 7,3	139,5
Гидролизат казеина (контроль)	11,1	204,9 ± 18,2	100,0

Примечание. Количество азота в УСД среде 0,07 мг/см³.

зенталя (в 10 квадратах). Для последующего расчета брали среднее количество инфузорий в одном квадрате.

Относительная биологическая ценность биомассы (ОБЦ) определяется отношением числа инфузорий, выросших на опытном образце, к числу инфузорий, выросших на контроле (экстракте казеина).

Результаты сведены в табл. 16. Относительная биологическая ценность биомассы (ОБЦ) парамеций составила 179,2%, а ветвистоусых рачков (моин и дафний) — 139,5—161,6%.

В целом опыты показали, что биомасса водных беспозвоночных (парамеций, моин, дафний) имеет высокие кормовые и пищевые качества.

Таким образом, методы непрерывного культивирования открывают широкие возможности исследования водных беспозвоночных, а также определения их роли в экологических системах.

ГЛАВА 5

ПРАКТИЧЕСКОЕ ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА НЕПРЕРЫВНОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ВОДНЫХ БЕСПОЗВОНОЧНЫХ

Индустриальное рыбоводство выдвинуло проблему обеспечения полноценным кормом рыб на всех этапах их развития. Особенно сложен период перехода личинок рыб на внешнее питание [Владимиров, 1975]. В настоящее время личинки карповых и сиговых рыб полностью не удовлетворены стартовыми кормами.

В данной главе приведены некоторые варианты решения этой проблемы с применением метода непрерывного и непропорционально-проточного культивирования различных водных беспозвоночных как живых кормов для личинок рыб.

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ СТАРТОВЫХ КОРМОВ НА РОСТ ЛИЧИНОК РЫБ

Для выращивания личинок рыб используются живые и искусственные стартовые корма. Однако обеспечение личинок доступным и полноценным кормом в промышленных условиях все еще остается проблемой, хотя в искусственном рыборазведении она существовала много лет назад [Депп, 1889; Ивлев, 1959].

В естественных условиях при высокой температуре личинки карпа в первые сутки имеют прирост 50—70% от массы рыбы [Остроумова и др., 1980б]. При благоприятных условиях молодь карпа в возрасте 1 мес может достигать 1 г и более.

И. Н. Остроумова с соавторами (1980б), изучая пищеварительные органы личинок, обнаружили, что у карпа массой 10 мг, в течение 5 сут питавшегося естественной пищей, недостаточно развита пищеварительная система, поджелудочная железа не сформирована, активность щелочных протеаз (ферментов, расщепляющих белок) кишечника очень слаба. Ферментативная активность вытяжек из науплиусов артемии и зоопланктона (коловратки, босмины, циклоны) в 2—3 раза выше, чем кишечника личинок. Следовательно, молодь карпа использует ферменты беспозвоночных, подаваемых в качестве живого корма. Таково мнение многих исследователей.

Однако И. Н. Остроумова с соавторами (1980б), включая в стартовые искусственные корма экзогенные ферменты (протосубтилин, амилосубтилин), заметили, что вначале рост личинок несколько стимулировался, затем наступало его угнетение вследствие угнетения развития пищеварительных ферментов молоди.

К аналогичному выводу приходит Е. Я. Яковенко (1980). Она утверждает, что «фактор живого корма» влияет на внутреннюю ферментативную систему карпа и не связан с применением гидролитических экзогенных ферментов. Однако, объясняет автор, «фактор живого корма» связан с общей активацией биохимических процессов в организме рыб.

Исследование биохимического состава живых организмов, служащих живым кормом для личинок рыб, показало наличие в них свыше 50% белков [Богатова и др., 1971; Meadow e. a., 1971; Кокова и др., 1973], а в белке — большого количества (свыше 50% к белку) низкомолекулярных пептидов и свободных аминокислот, что позволяет личинкам усваивать их без существенной ферментативной обработки в полости пищеварительного тракта [Остроумова и др., 1980б]. В связи с этим по аналогии с постнатальным молочным периодом пищеварения млекопитающих авторы предположили, что в раннем онтогенезе рыб преобладает также мембранное переваривание, которое осуществляет расщепление низкомолекулярных соединений.

Помимо этого определенную роль в пищеварении ранней молодки могут играть, как указывалось, экзогенные ферменты заглоченных организмов [Остроумова и др., 1980].

По мнению Г. В. Никольского (1974), у личинок сазана в кишечнике появляются специальные клетки, которые вырабатывают ферменты, переваривающие ракообразных (*Cyclops*, *Daphnia*) еще до развития поджелудочной железы, выделяющей у взрослых рыб необходимые ферменты.

Таким образом, сложный вопрос питания личинок не исследован окончательно, однако живые корма необходимы личинкам рыб на первых этапах развития.

Вопрос об оптимальном наборе живых кормов для тех или иных рыб не решен окончательно. Наиболее спорны вопросы применения очень мелких живых кормов (парамеции, колорватки) или крупных (например, *D. magna*).

Живые корма средних размеров (например, род *Moina* или *Ceriodaphnia*), по мнению многих авторов [Аскеров, 1955, 1957; Барацова, 1975; Баранова и др., 1979; и др.], доступны и полноценны для личинок многих рыб.

Простейшие как живой корм для личинок рыб. Личинки различных рыб [Догель, 1951], в том числе сиговых [Кожов, 1947; Волкова, 1963; Максимова, 1965], активно питаются простейшими на первых этапах развития, а пелядь даже на 13-е сутки развития все еще питается простейшими [Максимова, 1965].

Исследования по питанию растительноядных рыб в природе показали, что их молодь довольно долго питается простейшими [Веригин, 1950]. В связи с тем, что личинки растительноядных рыб в течение первой недели жизни потребляют только живые корма [Панов и др., 1969; Суханова и др., 1969], инфузории могут служить для них приемлемой пищей [Коршиенко, 1970].

Г. С. Коршиенко вносила культуру простейших из полнэтиленовых садков в пруды с личинками. Количество инфузорий в опытном пруду увеличилось до 600 тыс. экз./л, в контрольном — лишь 1 тыс. экз./л. В прудах с добавлением инфузорий выживаемость личинок достигла 60—67% при общей 52%.

Инфузории как корм для личинок рыб в искусственных условиях выращивания оцениваются по-разному. В. П. Баранова (1975) не рекомендует применять их в качестве живого корма для личинок карпа из-за трудности отделения от культуральной среды, с которой вносится инфекция. В. Ф. Полканов (1975) отмечает, что инфузории съедобны для личинок всех аквариумных рыб. Автор подчеркивает, что при внесении их в аквариум необходимо соблюдать некоторые требования (например, снизить количество бактерий в культуре).

В качестве живого корма могут быть использованы жгутиковые простейшие. *Platymonas viridis* применен в качестве живого корма для личинок черноморской смариды [Спекторова, 1971].

Противоречивые мнения относительно простейших как корма для личинок рыб, вероятно, связаны с методами их выращивания. В периодической культуре накапливаются метаболиты, смещается рН, плотность культуры, как правило, составляет 1—2 тыс. экз./см³. В связи с этим для создания необходимой концентрации корма в аквариуме или лотке с рыбами придется вносить большое количество суспензии парамеций, содержащей метаболиты, которые оказывают вредное влияние на молодь рыб.

Коловратки как живой корм для личинок рыб. В работах некоторых авторов [Амелина, 1941; Воноков, 1952; Богатова, 1969а; Богатова, Петрова, 1980] отмечено основное значение коловраток в питании карповых и растительноядных рыб, а также личинок анчоуса [Teilacker e. a., 1971].

Л. В. Спекторова и соавторы (1976) считают, что для личинок камбалы наиболее доступный и полноценный стартовый живой корм — молодь коловраток *Br. plicatilis*. Качество коловраток как живого корма зависит от водорослей, которыми они питались [Howell, 1973].

Ветвистоусые рачки как живой корм для личинок рыб. В опытах с личинками осетра [Аскеров, 1955, 1957] при кормлении их только мойнами и только дафниями установлено, что личинки рыб охотно потребляют мойн и быстрее при этом растут. При исходном весе личинок осетра 37 мг и средней длине 20 мм за 10 сут опыта вес личинок достиг 105 и 138,7 мг соответственно при кормлении дафниями и мойнами. М. К. Аскеров считает, что личинки осетра в таком возрасте не могут активно питаться дафниями из-за их больших размеров.

При кормлении молоди осетра различными живыми кормами (олигохеты, мойны, мойны + олигохеты, дафнии + олигохеты, дафнии) самая лучшая кровь была у личинок рыб, выращенных на мойнах [Аскеров, 1959]. Автор отмечает, что их следует использовать в качестве стартового корма для молоди осетра, а затем переводить личинок на смешанный корм — олигохеты + дафнии. Личинки потребляют молодь ракообразных с 3—4-суточного возраста [Кражан, Антипчук, 1978]. Взрослые половозрелые самки дафний имеют длину тела 2,2—6 мм, а их молодь — 0,7—0,8 мм, мойны — соответственно 1,2—1,7 и 0,45—0,6 мм, хидорусы — 0,3—0,5 и 0,18—0,22 мм. Авторы предлагают производить разделение массы рачков на размерные группы при помощи разделительных сачков.

Молодь карпа питается зоопланктоном с первых дней жизни и до 30—40 г, причем, когда есть выбор корма, в первую очередь поедаются дафнии, затем бентос [Шпет, 1950]. У карпа весом 500 г обнаружено в кишечнике более 500 тыс. остатков *D. magna* [Woinarovich, 1959]. В кишечнике карпов весом 5 г 81,6% содержимого (по весу) составляли дафнии [Богатова, 1971]. По мнению И. Б. Богатовой, *D. magna* охотно поедается

молодью таких типичных бентофагов, как осетровые. Дафнии широко используются в качестве корма для молоди лосося, семги и др. Семга весом 94—595 мг активно выбирала из зоопланктона пруда дафний и пренебрегала более мелкими рачками (*Bosmina* sp.).

Таким образом, *Daphnia* — оптимальный корм для молоди рыб на первом и втором году жизни.

М. К. Аскеров (1972) отметил, что в условиях Азербайджана можно успешно культивировать коловраток совместно с моинами и получать живой корм для личинок осетровых, что сокращает их гибель.

Артемия как живой корм для личинок рыб. Яйца артемии собирают в природных условиях, затем активизируют и инкубируют [Богатова и др., 1980б], а полученные наупсиусы используют в качестве корма для личинок различных рыб [Спекторова и др., 1976].

Приведенные литературные данные позволяют судить о большой значимости живых кормов для личинок рыб на первых этапах развития после вылупления из икринок.

Технология интенсивного выращивания живых кормов на рыбоводных предприятиях пока не разработана, а мощности рыбоводных заводов растут с каждым годом. В связи с этим интенсивно разрабатываются искусственные стартовые корма для личинок рыб [Крисс, Асман, 1955; Канидьев, Люкшина, 1977; Appelbaum e. a., 1978; Остроумова и др., 1979, 1980].

Искусственные стартовые корма для личинок рыб. А. Е. Крисс и А. В. Асман (1955) кормили молодь различных рыб дрожжами и бактериями. Во всех опытах сухой микробный корм уступал живым животным кормам (циклопы, дафнии, олигохеты, личинки хирономид): молодь хуже росла на микробном корме, выживаемость была низкой.

С. Аппельбаум и соавторы [Appelbaum e. a., 1978] с 24—48-часового возраста и до помещения личинок карпа в пруды кормили их сухим кормом (дрожжи *Candida lipolitica*) и в контроле науплиусами артемии в смеси с желтком. В опыте и контроле было по 50 тыс. личинок карпа. Личинки помещали в емкости (100×100×60 см), обмен воды в которых осуществлялся со скоростью 3—4 л/мин, аэрация — двумя керамическими фильтрами. Кислород составил 7 мг/л, температура воды — 24—26°C, pH — 7,5. С наступлением темноты тенки с личинками освещались, общая продолжительность светового периода 14—15 ч, т. е. все время кормления, которое проводили 6—7 раз в сутки. В первые 2—3 сут подавались гранулы размером не более 250 м (по 15 г в сутки), на 3-и сутки — 500 м (25 г) и далее до конца 10-суточного эксперимента — 750 м (до 40 г).

На 10-е сутки опыта размер личинок в опыте составил $\bar{x} = 10,37-0,69$ мм, в контроле $\bar{x} = 9,02-0,7$ мм. Разница в

средней длине личинок двух групп значительная ($P < 0,05$).

После 10 сут опыта все личинки переведены на артемию. Опытные личинки охотно заглатывали артемию без акклиматизации. Через 3 сут всех личинок поместили в земляные пруды. Через 3 нед в пруду отмечено 33 500 экз. молоди карпа со средним весом 1,5 г.

Таким образом, доказано, что личинки карпа в возрасте 24—48 ч способны утилизировать сухой корм, как и планктон. Подращенные личинки могут быть помещены в пруд, где им не страшны хищники и т. д. Использование сухого корма позволяет сократить расход живого корма, который сложно получить, он требует больших затрат труда, вследствие чего дорог [Appelbaum e. a., 1978].

В 1977—1978 гг. на базе Черепетского тепловодного рыбхоза И. Н. Остроумова с соавторами (1979) кормили личинок ранней молоди карпа искусственными кормами в лотках. Через сутки после выклева подопытных личинок средней массой 1,8—2,5 мг размещали в ваннах объемом 30 л с проточной водой (смена воды 4—6 раз в час) и в небольших садках, установленных в водохранилищах. В начале опыта применяли газ № 16, затем № 10. Содержание кислорода в ваннах 6—8 мг/л, в садках — 5—7 мг/л. Плотность посадки личинок в ваннах 40—50 экз./л, в садках — 3 тыс. экз./м³. Общая численность подопытных личинок 40 тыс. экз. Температура воды колебалась от 19 до 26°C. Кормом служили пять различных видов гранулированных кормов, яичная взвесь, в контроле — зоопланктон. Сухие корма и яйцо давали 16 раз в дневное время суток (через 1 ч), зоопланктон — 5—6 раз в сутки. Искусственный корм использовали с первого дня перевода личинок на внешнее питание. Суточный рацион составлял 100% массы тела рыбы. Сначала в кишечниках личинок обнаруживались только босмины. Следовательно, планктон, поступающий с током воды, играл существенную роль в питании личинок в первые дни жизни, несмотря на наличие искусственных кормов.

Сухие корма личинки карпа начали заглатывать на 5-е сутки опыта при массе 10—16 мг, у более крупных личинок в кишечнике преобладали босмины.

За 22 сут опыта средний вес личинок, содержащихся на искусственных кормах, не превышал 60 мг, выживаемость — 47—57%. Средний вес личинок, принимавших живой корм, был в 6 раз выше. Очевидно, все применявшиеся в опытах искусственные корма и желток непригодны для карпа в первые сутки жизни.

В садках личинки росли быстрее, чем в ваннах. Однако этот способ малоперспективен из-за трудности обслуживания садков (газ постоянно забивается), а также из-за низкой посадки личинок.

Во второй серии опытов, проводимых И. Н. Остроумовой и соавторами (1979), личинок содержали в ваннах. Первые 5 сут

их ежедневно кормили зоопланктоном в количестве 200—300% от массы тела рыбы в зависимости от температуры. Кормление было приурочено ко времени вылова зоопланктона из водохранилища (5—6 раз в сутки) в количестве 100—300% их веса. С 6-х суток при массе личинок 14—15 мг добавлялись сухие корма к зоопланктону в соотношении 1 : 1. Смешанный корм подавался в течение 15—20 сут. По достижении массы 150 мг молодь перевели в делевые садки.

Таким образом, в опытах И. Н. Остроумовой и соавторов (1979) личинки карпа с первых суток питались живым кормом либо из воды, поступающей в лоток с личинками, либо зоопланктоном, выловленным из водоема-охладителя. Личинки, достигшие 10—16 мг, могли потреблять искусственные корма.

Совершенствуя искусственные корма с целью их использования для личинок карпа с первых суток постэмбрионального развития, авторы [Остроумова и др., 1980б] разработали стартовый корм «Эквизо» следующего состава (%):

Сырой протеин	47,8
Безазотистые экстрактивные	
в-ва	25,0
Влажность	12,0
Жир	7,0
Зольные элементы	8,2

Без применения естественного корма при 28—30°C личинки карпа с начальной массой 2 мг за 11 сут достигли массы свыше 100 мг при выживаемости 50—60%. Еще через 10 сут их средний вес был около 1 г.

По мнению авторов [Остроумова и др., 1980а], корм «Эквизо» можно использовать для личинок карпа, растительноядных и сиговых рыб.

Приведенные литературные данные по кормлению личинок искусственными кормами довольно противоречивы. Следует отметить, что в опытах И. Н. Остроумовой и соавторов (1979, 1980а) использованы личинки 1,8—2,5 мг, т. е. до опытов они уже получали корм, вероятно, живой. Во время экспериментов в кишечниках личинок обнаружены живые корма — босмины [Остроумова и др., 1979]. Таким образом, использование воды из водоема-охладителя влечет за собой добавление живых кормов. Капроновая сеточка, через которую цедили воду для опытов, вероятно, не может предотвратить проникновение простейших и других мелких беспозвоночных в лотки с личинками рыб.

В опытах С. Аппельбаум и соавторов [Appelbaum e. a., 1978] в возрасте 10 сут личинки имели длину 10 мм, т. е. их вес при хорошей упитанности достигал, по нашим расчетам, около 10 мг (реального веса автор не приводит). Неизвестно, были бы жизнеспособны эти личинки, если их перевести на обычный режим индустриального выращивания без прудов.

В силу природных условий пруды не везде могут быть использованы для выращивания личинок круглый год, поэтому предлагаемый автором [Аррелбаум е. а., 1978] корм, вероятно, может быть использован для поддержания жизнеспособных личинок рыб в короткий период аварийных ситуаций на рыбноводном предприятии с полициклическим методом производства личинок.

Таким образом, для получения полноценной молоди с целью ускоренного выращивания товарной рыбы в условиях промышленных предприятий живые корма необходимы для личинок [Баранова, 1975] и их нельзя заменить искусственными даже самой сложной рецептуры [Богатова, 1973].

Технология производства живых кормов. По мнению В. П. Вьюшковой (1978), заготавливать живой корм целесообразно путем отлова из водоема, для чего необходимо знать динамику развития зоопланктона в природе. Автор предлагает использовать его для личинок и взрослых рыб, выращиваемых в садках и лотках.

Б. А. Шишкин и соавторы (1980) утверждают, что наиболее перспективен зоопланктон, отловленный в водоемах-охладителях. Стоимость 1 кг сырой биомассы зоопланктона из водоема-охладителя (по затратам рабочей силы) 12—50 коп.

Некоторые авторы [Богатова, Петрова, 1980а; Богатова и др., 1980в] предлагают выращивать живые корма в садках или проводить совместное выращивание живых кормов и личинок рыб в садках, где молодь питается коловратками, мoinами, босминами, циклопами. В садках при плотности посадки карпа 10—30 тыс. экз./м³ и личинок белого толстолобика 1 тыс. экз./м³ средняя масса личинок карпа через 10—14 сут колебалась от 8 до 22,6 мг, а белого толстолобика за 20 сут — 700 мг.

В нашей стране помимо тепловодных предприятий существуют сезонные рыбноводные заводы, расположенные в суровых климатических условиях Сибири. Г. М. Павлович с соавторами (1978) отмечают, что выклев личинок омуля приходится на апрель — май, когда в природе еще мало живого корма, поэтому живые корма для личинок в условиях Восточной Сибири, по их мнению, можно вырастить только в закрытых помещениях.

При всем разнообразии живых кормов из природы в кажущейся их дешевизне они не могут обеспечить нужды промышленного рыбноводства вследствие неустойчивости их продукции и сезонности. Исключение составляют яйца артемии, которые могут храниться и использоваться по потребности. Но природные запасы яиц артемии ограничены [Шишкин и др., 1980].

В настоящее время широко развернулись исследования по выращиванию живых кормов в условиях тепловодных предприятий, в управляемых условиях на протоке.

В закрытых помещениях живые корма выращиваются по двум направлениям: совместное и отдельное культивирование

микробов, беспозвоночных и рыб (микробы и беспозвоночные — в проточном режиме).

Опыты по первому направлению проводились на экспериментальной базе АзчерНИРО [Спекторова и др., 1975, 1976]. Личинки камбалы в момент выклева достигали длины 2,9—3,0 мм. Выращивали их в облицованных кафелем цементных бассейнах емкостью 2 м³ и в 60-литровых деревянных лотках с полиэтиленовыми вкладышами. Воду фильтровали, в нее добавляли питательные соли и смесь витаминов, необходимых для роста одноклеточных жгутиковых водорослей *Dunaliella tertiolecta*, *D. viridis*, *Nephrochloris salina* и *Platymonas viridis*, а также диатомовой водоросли *Phaeodactylum tricorutum*.

Рост водорослей обеспечивался сильным освещением (около 5000 лк на поверхности воды) дуговыми ртутными лампами 400 вт и продувкой CO₂. Максимальное их развитие наступало после 3—4 сут культивирования, плотность культур колебалась от 0,1 до 1,2 млн. кл./см³. В момент максимального развития водорослей вносили культуру морской коловратки *Br. plicatilis*. В течение нескольких суток ее плотность увеличивалась до 5—10 экз./см³, а концентрация водорослей снижалась. В это время в бассейн помещали по 5 тыс. личинок камбалы-калкана. Температура воды 17—19°C. С момента посадки личинок освещенность снижали до 2000 лк на поверхности воды, в ночное время (0—7 ч) свет выключали, продувку проводили только воздухом, снижая интенсивность.

Выживаемость личинок не определяли, так как погибших личинок было трудно удалить из бассейна. Через 3—4 сут личинки достигали длины 3,5 мм и начинали активно питаться коловратками. На 6—7-е сутки их кормили науплиусами артемии, инкубируемыми отдельно. Проток среды (1—3 л/мин) обеспечивался во время перехода личинок на питание артемией. Через 2—3 сут по 10 личинок брали на анализы: определяли длину, вес, диаметр желточного мешка, наполняемость желудка и морфологические отклонения. В возрасте 16 сут средняя длина личинок составила 7 мм. По мнению Л. В. Спекторовой и соавторов (1976), раннее кормление личинок науплиусами артемии способствует более быстрому росту камбалы.

Предлагаемый авторами [Спекторова и др., 1976] метод выращивания позволил на 21-е сутки опытов получать молодь камбалы плоской формы, но, как правило, в это время вся молодь погибала, причины гибели неизвестны.

Совместное выращивание личинок рыб и корма имеет следующие преимущества [Спекторова и др., 1976]: дает возможность личинкам выбрать коловраток различного размера; повышает пищевую ценность коловраток, у которых пищеварительный тракт, как правило, заполнен водорослями; позволяет поддерживать высокое содержание кислорода в среде за

счет водорослей, несмотря на отсутствие протока в культуре в первые сутки кормления личинок.

Раздельное выращивание живых кормов и личинок рыб. Непрерывное непропорционально-проточное культивирование различных водных беспозвоночных, источников живых кормов, может обеспечивать высокие урожаи постоянно, что очень важно для рыбоводных предприятий с полициклическим методом получения личинок. Продуктивность непрерывной культуры беспозвоночных в десятки раз выше периодической и позволяет в десятки раз сократить объемы реакторов для выращивания живых кормов. Получаемая биомасса последних может быть использована для личинок различных рыб круглогодично.

КОРМЛЕНИЕ ЛИЧИНОК СИГОВЫХ РЫБ ПАРАМЕЦИЯМИ

Вселение личинок и икры в водоемы для увеличения численности сига оказывается неэффективным [Стерлигов, 1975]. В связи с этим возникла необходимость использовать наиболее жизнестойкий посадочный материал — сеголеток, которых необходимо подращивать в специально оборудованных цехах и водоемах.

А. В. Стерлигов (1975) отмечает, что масса вылупившихся личинок может различаться по годам на 2 мг. Личинки сига 2—3-суточного возраста, выпущенные в озеро, сразу начинают питаться, но из-за различного содержания корма растут не всегда одинаково. Личинки чудского сига в 22—24-суточном возрасте весили в 1970 г. в среднем 84,6 мг, а в 1971 г. — лишь 37,2 мг. Среднесуточный прирост в первом случае составил 3,9, а во втором — 1,5 мг.

С целью получения сеголеток П. С. Стариков, И. Г. Топорков и Д. С. Норенко (1965) выращивали личинок омуля в прудах. В качестве корма для них использовали дафний, которых культивировали в ямах, находящихся на берегу. При исходном весе 6,5—6,9 мг и длине 12 мм средняя масса личинок на 10-е сутки достигла 27 мг, длина — 16 мм; на 18—20-е соответственно — 31—100 мг и 17—25 мм. Авторы считают, что в прудах личинки повреждались хищными насекомыми: стрекозами, гребляками-гладышами, жуками-плавунцами. Выживаемость колебалась от 0,9 до 23,2%. Аналогичные явления наблюдали в прудах Волгоградского осетрового завода М. П. Мирошниченко и В. П. Барапова (1965). В природных водоемах не только старались вырастить молодь сиговых, но и выяснить, чем питается молодь. Г. Д. Максимова (1965), изучая питание сеголеток пеляди в Себежском сиговом питомнике, обнаружила, что ее личинки в возрасте 9 сут питались *Paramecium*, коловратками *Keratella quadrata* и др. На 13-е сутки у них рас-

сасывался желточный мешок, а в кишечнике были найдены простейшие *Pandorina*, *Eudorina*, колдовратки *Keratella quadrata*, а также *Bosmina longirostris*.

П. М. Ковалева (1965) выделяет следующие этапы развития модели сига: 1) от вылупления (исходная длина 10—12 мм) до 13,5 мм, экзогенная пища, в основном *Cyclops* — 97,55% (по весу от веса пищевого комка); 2) длина 13,5—17 мм, корм — *Cyclops*, *Bosmina*, *Chydorus*, *Ceriodaphnia*; 3) длина 16,5—19 мм, пища — более крупные беспозвоночные корма, а также личинки других рыб; 4) длина 18,5—23,5 мм, корм — *Tendipedidae* и личинки рыб (57,61%).

Ж. А. Черняев (1973) отмечает, что личинки байкальского озерного сига через 5—7 ч после выклева из икринок активно питаются колдовратками и мелкими *Copepoda*. По данным других авторов [Шкорбатов и др., 1959; Коровина и др., 1968], это происходит на 2—3-и сутки постэмбрионального развития, задолго до рассасывания желточного мешка. В это время первоначальным кормом для личинок рыб могут служить простейшие, колдовратки, моины, дафнии и другие формы зоопланктона [Максимова, 1965; Корниенко, 1971; Teilacker, McMaster, 1971; Волкова, 1973; Баранова, 1975; Полканов, 1975], размеры которых не превышают 0,5—0,6 мм [Богданова, 1975].

Личинки пеляди на 3—4-е сутки потребляют колдовраток, затем мойн, на 7—8-е сутки мойны — основной корм личинок пеляди. Кормление только колдовратками задерживает развитие личинок. Пелядь, не получавшая пищи, не развивалась дальше первого этапа [Максимова и др., 1965].

Л. В. Волкова (1963) изучала влияние живых кормов на рост личинок пеляди. Первая группа получала корм (инфузорию, циклопы, моины, дафнии) с момента перехода на активное питание. На 6—7-е сутки длина личинок достигла 8,6—8,7 мм. Вторая группа корма не получала (рис. 65).

У личинок первой группы определены морфологические

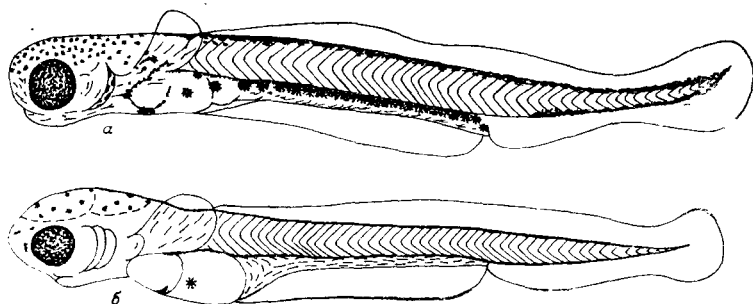


Рис. 65. Личинки пеляди, питающиеся смешанным кормом (а) и желтком (эндогенно) (б) на этапе смешанного питания [Волкова, 1963].

изменения. Тело личинок стало прозрачным, пигмент располагался главным образом на голове, двумя рядами вдоль спины и наиболее сконцентрировался вдоль верхней части кишечника. В плавниковой складке имелись выемки. В области спинного, анального и брюшного плавников установлены мезенхимные скопления. Жаберно-челюстной аппарат был подвижным, способным к активному заглатыванию корма. Длина личинок увеличилась в среднем от 8,7 до 9,2 мм.

Отношение длины желточного мешка к длине тела личинок уменьшилось от 12,6 (в начале этапа) до 3,4% (к 11-м суткам развития). К концу этапа желточный мешок исчез. В кишечнике наметилась складчатость. Личинки были активны и жизнеспособны, держались стайками у поверхности воды, единичные экземпляры — в ее толще. Положение тела было наклонным, головой вверх.

Во второй серии при питания личинок только за счет желтка размеры их не увеличивались, длина оставалась прежней — 8,7 мм. На 20-е сутки личинки в контроле погибли.

Таким образом, кормление пеляди на первых этапах постэмбрионального развития мелкими живыми кормами (инфузориями), а также рачками обеспечило нормальный рост и развитие личинок.

На питание пеляди и других сиговых рыб простейшими в природе указывается в литературе [Кожин, 1957; Максимова, 1965], однако нет сведений об оптимальных сроках кормления личинок.

С целью определения влияния различных парамедий на выживаемость и рост нами проведены опыты с тремя видами сигов.

Кормление личинок сиговых рыб *Paramecium caudatum*. В 1973—1975 гг. осуществлены опыты (каждый в двух повторностях) с 2-суточными личинками сига *Coregonus lavaretus ludoga* (Poljakov), байкальского омуля *C. atumnalis migratorius* (Georgi) и пеляди *C. peled* (Gmelin). Их получали на Ужурском рыбноводном заводе (Красноярский край). Личинок содержали в аквариумах объемом 600 см³ на отстоянной водопроводной воде, ежедневно обменивая 0,16—0,5 ее объема, при температуре для пеляди 15°C, для сига и омуля — 12°C. Температуру поддерживали ультратермостатом У-10. Плотность посадки колебалась от 17 до 42 экз./л. Длину и вес личинок определяли в начале и в конце опыта.

В качестве корма использовали *Paramecium caudatum* (Ehrhb.), *Philodina acuticornis odiosa*, *Moina macrocopa* (Straus) и *Daphnia pulex*. Соотношение исходного веса личинок и веса корма меняли в различных опытах. Живой корм получали методом непропорционально-проточного культивирования [Коква и др., 1975; Коква, Лисовский, 1976]. Сливаемую часть суспензии простейших и коловраток отстаивали от хлопьев, затем надосадочную часть суспензии центрифугировали при

1—1,5 тыс. об./мин. Полученную биомассу ресуспендировали в свежей воде и использовали как исходную суспензию при коррекции концентрации корма. Ее объем, а также объем вносимого корма рассчитывали по уравнению

$$V_c = \frac{(S - S_k) + S_k V_n}{S_s}$$

Моин и дафний отделяли сачком от культуральной среды и помещали в свежую воду.

Проведено три серии опытов. Цель первой — определить влияние живых отмытых от среды парameций в сравнении с живыми дафниями и сухими парameциями на выживаемость личинок сига и пеляди. Соотношение исходного веса личинок и веса корма — 1 : 2. В контроле личинки корм не получали. Плотность их посадки 17 экз./л воды. Исходная длина личинок сига 13 мм, пеляди — 8 мм. Температура воды 12°С. Ежедневно меняли 0,16 объема воды в аквариуме.

Результаты первой серии приведены в табл. 17, динамика выживаемости личинок сига и пеляди в этой серии показана на рис. 66.

Личинки сига в контроле (рис. 66, а) начали погибать на 12-е сутки, остальные — на 18-е. Динамика их выживаемости в среде с дафниями сходна с контролем. Это, вероятно, связано с тем, что большинство личинок не употребляло корма из-за его недоступности. Некоторые из них заглатывали дафний, благополучно проходящих через пищевод и достигающих первого

Таблица 17

Влияние различных кормов на выживаемость личинок сига и пеляди

Номер опыта	Корм	Отношение исходного веса личинок к весу корма	Вес личинок в конце опыта, мг	Выживаемость, %
-------------	------	---	-------------------------------	-----------------

Личинки сига

1	Парameции	2,6 : 1	Не опр.	80
2	»	1 : 2,2	40,2	90
3	Сухие парameции	1 : 2,2	Не опр.	30
4	Дафнии	1 : 2,2	»	20
5	Без корма (контроль)	—	»	0

Личинки пеляди

6	Парameции	1 : 1	Не опр.	100
7	»	1 : 2	4,5	85
8	Сухие парameции	1 : 2	Не опр.	0
9	Дафнии	1 : 2	»	0
10	Без корма (контроль)	—	»	0

Примечание. Длительность опыта с личинками сига 18 сут, с пелядью — 21 сут. 1-й и 6-й опыты продолжены до 33 и 41 сут соответственно. Исходный вес личинок сига 7,96 мг, пеляди — 2,68 мг.

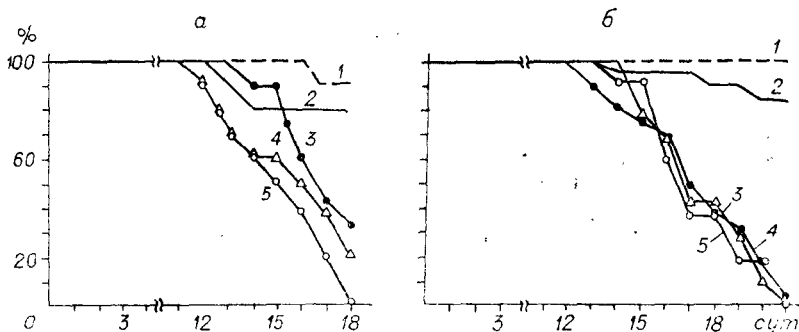


Рис. 66. Выживаемость личинок сига (а) и пеляди (б) при кормлении парамециями (1 и 2), сухими парамециями (3), дафниями (4) и в контроле без кормления (5).

отдела кишечника, затем погибали. Выживали только те, которые заглатывали мелких дафний. Выживаемость личинок в конце опыта составила лишь 20% (см. табл. 17).

Личинки сига, получившие сухих парамеций, погибали довольно быстро (см. рис. 66, а). Они активно заглатывали частички сухого корма, когда он находился на поверхности воды в аквариуме. Однако через некоторое время сухой корм памокал и оседал на дно, где был недоступен. Большинство личинок становились малоподвижными и погибали, вероятно, от голода.

Динамика выживаемости личинок пеляди в зависимости от различного корма показана на рис. 66, б. В контроле личинки развивались так же, как описано Л. В. Волковой (1963) (см. рис. 65), и начинали погибать на 14-е сутки, все умерли на 21-е. Одновременно с контролем погибли те из них, которые в качестве корма получали дафний и сухих парамеций. Причины гибели те же, что и в опытах с сиговыми.

Личинки, имевшие пищу парамеций, резко отличались от голодных и были сходны с накормленной молодеью пеляди в опытах Л. В. Волковой (см. рис. 65).

Выживаемость личинок в опытах, где они получали в качестве корма живых парамеций, показана на рис. 66. В опытах 1 и 2 с сигом, и 7 с пелядью их гибель наблюдали на 12—14-е сутки в течение короткого промежутка времени, затем она прекратилась, и к концу опытов выживаемость составила 80—90%. В опыте 6 (см. рис. 66, б) личинки выжили на 100%. Вес сига и пеляди в конце опытов соответственно 10,2 и 4,5 мг (см. табл. 17).

Опыты 1 и 6 (см. табл. 17) были продолжены (рис. 67). На 14-е сутки личинки сига получали смешанный корм (парамеции + дафнии). Они активно заглатывали дафний, однако погибли по тем же причинам, что и раньше. На 33-и сутки опыта

умерли все. Динамика выживаемости пеляди показана на рис. 67. Личинки получали смешанный корм (парамеции + дафнии) в более поздний срок — на 32-е сутки. Молодь заглатывала мелких дафний и погибала. В этом опыте все личинки умерли на 41-е сутки.

Таким образом, при кормлении парамециями выживаемость личинок сига и пеляди составила 80—100%, однако не удалось перевести их на более крупный корм (дафний) соответственно в 14- и 32-суточном возрасте.

Вторая серия опытов проведена для установления влияния живых парамеций (в сравнении с живыми коловратками и мoinнами, сухими парамециями) на выживаемость личинок сига и пеляди при вдвое увеличенной плотности посадки. Соотношение исходного веса личинок и корма 1:1. Кроме парамеций в качестве живого корма использована беспанцирная коловратка *Ph. acuticornis odiosa*, вес которой лишь в 2 раза больше веса используемых в опытах *P. caudatum*. Вместо дафний взяты более мелкие рачки — монны.

Известно, что для личинок растительных рыб в возрасте около недели инфузории — оптимальный корм [Корниенко, 1971]. В связи с этим на 8-е сутки добавили мoinн тем личинкам, которые в качестве корма получали парамеций и коловраток. В контроле личинки не получали корма. Исходная длина личинок сига 12,66 мм, пеляди — 9,1 мм. Воду в аквариуме меняли ежедневно по 0,5 объема. В опытах с пелядью температура была повышена до оптимальной — 15°, а с сигом равнялась 12°C.

Результаты опытов приведены в табл. 18. В контроле личинки погибли на 12-е сутки, т. е. в 14-суточном возрасте. Более раннюю гибель сига во второй серии опытов мы связываем с меньшим исходным весом, а личинок пеляди — с повышенной температурой. Указанные сроки гибели личинок сиговых при этой температуре соответствуют литературным данным [Коровина и др., 1968].

Выживаемость личинок сига и пеляди, получавших сухих парамеций, была низкой — соответственно 20 и 40% (см. табл. 18). Так же невысокой она отмечена в опытах, где кормом служили парамеции (хотя вес личинок в конце опыта был выше, чем в первой серии) — соответственно 40 и 30%. Большой вес мы связываем с тем, что на 8-е сутки опытов в отличие от первой серии личинки получали смешанный корм (парамеции + мoinны).

Высокая выживаемость личинок сига (85,8%) получена в опыте, где в качестве корма использовали коловраток, однако

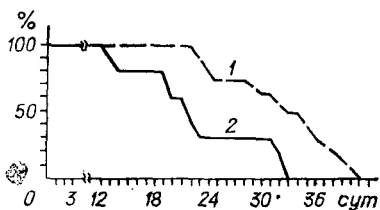


Рис. 67. Выживаемость личинок пеляди (1) и сига (2) при кормлении парамециями и дафниями.

Влияние различных кормов на выживаемость личинок сига и пеляди

Номер опыта	Корм	Вес личинок в конце опыта, мг	Выживаемость, %
<i>Личинки сига</i>			
1*	Парамеции	16	40,0
2*	Коловратки	16	85,8
3	Моины	34	66,0
4	Смешанный	27	95,0
5*	Сухие парамеции	—	20,0
6	Без корма (контроль)	—	0
<i>Личинки пеляди</i>			
7*	Парамеции	6,5	30,0
8*	Коловратки	4,0	30,0
9	Моины	14,7	77,5
10	Смешанный	17,3	80,0
11*	Сухие парамеции	4,1	40,0
12	Без корма (контроль)	—	0

Примечание. Плотность посадки 33 экз./л, длительность опыта 12 сут. В опытах, помеченных звездочкой, на 8-е сутки добавлены моины (соотношение веса кормов 1:1). Исходный вес личинки сига 7 мг, пеляди — 3 мг.

самой значительной (95%) она была в опыте со смешанным кормом (парамеции + коловратки + моины). При этом вес сига в конце опыта достигал 27 мг — 80% веса личинок, получавших только моин (см. табл. 18).

Пелядь, питающаяся парамециями и коловратками, показывала довольно низкую выживаемость (30%). Вес личинок, получавших в качестве корма коловраток, был ниже, чем у получавших парамеций (см. табл. 18). Это, вероятно, связано с тем, что личинки пеляди в первые сутки после вылупления из икринок не могут свободно заглатывать корм. В опытах использовались главным образом коловратки, прикрепляющиеся к стенкам и дну аквариума. Личинки пеляди подплывали к стенкам аквариума и пытались схватить коловратку, но она в это время сжималась, затем распрямлялась и отпугивала личинку.

Самую высокую выживаемость (80%) в опытах с пелядью обеспечил смешанный корм (парамеции + коловратки + моины), при этом вес личинок составил 17,3 мг, что на 2,6 мг превысило вес пеляди, получавшей только моины. Следовательно, указанный смешанный корм дает не только высокую выживаемость личинок сига (95%) и пеляди (80%), но и большой их вес в конце опытов (см. табл. 18).

Влияние различных кормов на выживаемость омуля

Номер опыта	Корм	Вес личинок в конце опыта, мг	Выживаемость, %
1	Парамеции	20,0	4
2	Коловратки	13,3	36
3	Парамеции и коловратки	—	0
4	Парамеции и мойны	28,5	70
5	Коловратки и мойны	22,0	80
6	Коловратки, парамеции и мойны	18,4	62
7	Сухие парамеции	—	2
8	Мойны	31,2	90
9	Без корма	—	0

Примечание. Исходный вес личинок омуля 7,62 мг. Отношение исходного веса личинок к весу корма 1 : 1.

В третьей серии опытов использованы 2-суточные омули с длиной 12,4 мм. Мы выясняли влияние живых парамеций в сравнении с другими кормами (коловратками, мойнами, сухими парамециями) на выживаемость их личинок. Плотность посадки 42 экз./л воды. Воду в аквариуме меняли по 0,5 об./сут. Температура 12°C, длительность опыта 20 сут (табл. 19; рис. 68). Личинки начали погибать на 4-е сутки опыта. Массовая гибель личинок в контроле наблюдалась на 9-е сутки, все погибли на 19-е сутки. В опытах со смешанным кормом выживаемость омуля колебалась от 62 до 80%. Самой высокой (90%) она была в опыте, где кормом служили мойны. Следует отметить, что в этом опыте исходная культура мойн содержала коловраток, часть которых оставалась даже после тщательной

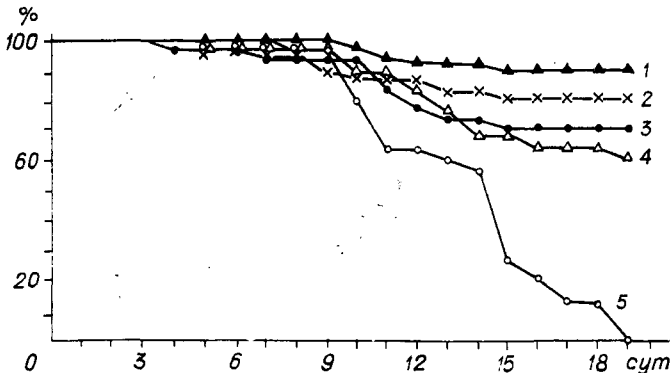


Рис. 68. Выживаемость личинок омуля при кормлении мойнами (1), коловратками и мойнами (2), парамециями и мойнами (3), парамециями, коловратками и мойнами (4) и в контроле без кормления (5).

промывки. Концентрация коловраток иногда достигала 12 экз./см³. Вес одной личинки омуля в конце этого опыта был равен 31,2 мг, а получавших смешанный корм (парамеции + + мойны) — незначительно меньше — 28,5 мг (см. табл. 19).

Опыты показали, что выживаемость сига и пеляди с плотностью посадки 17 экз./л воды при питании живыми парамециями в соотношении исходного веса личинок и корма 1 : 2 составляет 85—90%. Однако абсолютный среднесуточный прирост сига лишь 0,12 мг, что в 22,5 раза ниже, чем определено А. В. Стерлиговым (1975) в природе. Абсолютный среднесуточный прирост личинок пеляди на аналогичном корме 0,09 мг. Уменьшенная в 5 раз концентрация парамеций в опыте с сигом и в 2 раза в опыте с пелядью (см. табл. 17) обеспечила выживаемость личинок, равную соответственно 80 и 100%.

Таким образом, парамеции способствуют высокой выживаемости сига и пеляди при довольно низком абсолютном среднесуточном приросте. Для того чтобы увеличить его, в первой серии опытов в качестве добавки к парамециям использовали дафний. Личинкам сига они добавлены в 14-суточном возрасте, пеляди — в 33-суточном. Личинки активно заглатывали дафний и погибали.

Во второй серии опытов с увеличенной в 2 раза плотностью посадки личинок к парамециям добавили мойн, причем в более ранние сроки (на 8-е сутки), так как они мельче дафний. Однако в опыте с сигом и пелядью выживаемость их составила лишь 40 и 30% соответственно (см. табл. 18). Это, вероятно, связано с довольно поздними добавками мойн, так как смешанный корм (парамеции + мойны) в опытах с сигом и пелядью с первых суток обеспечил выживаемость соответственно 95 и 80% (см. табл. 18).

Опыты показали, что живые коловратки в отличие от живых парамеций способствуют более высокой выживаемости сига и омуля, однако в вариантах с пелядью эти корма почти идентичны. Мойны — ценный живой корм для личинок сиговых рыб, однако они по сравнению со смешанным кормом обеспечивают более низкую выживаемость личинок пеляди и сига.

Наиболее целесообразно, вероятно, использовать для личинок сиговых смешанный корм. Он позволяет личинкам выбирать доступные организмы. Нами замечено, что личинки сига и пеляди в зависимости от роста в разное время начинают заглатывать даже мелких мойн. Некоторые слабые личинки в первые сутки опыта питаются только парамециями или коловратками, затем, окрепнув, переходят на более крупный корм. Помимо этого, смешанный живой корм дает возможность безошибочно определить время перевода личинок на более крупный (мойн, дафний и др.).

Кормление личинок сиговых рыб различными видами парамеций. В задачу исследования входило определить влияние

различных видов инфузорий рода *Paramecium*, биомасса которых получена методом непрерывного культивирования, на выживаемость личинок сига и пеляди.

Опыты осуществлены в лаборатории в 1976—1977 гг. Методика описана в предыдущем разделе. Плотность посадки личинок сига и пеляди 42 экз./л воды. Воду в аквариуме меняли по 0,5 об./сут. В качестве корма использовали суспензию парамедий из культиватора, не отделяя от хлопьев, остатков корма (бактерий и дрожжей) и культуральной среды. Объем корректируемого корма рассчитывали по уравнению (18).

Концентрация *P. caudatum* и *P. multimicronucleatum* 300 экз./см³, а *P. aurelia* — 900 экз./см³, в то время как биомасса парамедий была уравнена. Исходный вес личинок сига 7,4 мг.

Соотношение веса корма, добавляемого за сутки к исходному весу личинок 1 : 1. Концентрация коловраток 150 экз./см³, мойн — 3—5 экз./см³. Суспензия коловраток и мойн использовалась без отделения организмов от культуральной среды. На 3-и сутки в аквариумы, где кормом служили парамедии и коловратки, добавляли мойн. Соотношение мойн и других компонентов в смешанном корме 1 : 10, концентрацию парамедий и коловраток на 3-и сутки снижали в 2 раза. С 3-х суток и до конца опыта соотношение веса корма и исходного веса личинок составило 0,7 : 1, или 25—30% веса личинок в конце опыта. Аналогичное соотношение веса корма и молоди желтокрылки предложено П. Я. Тугариной с соавторами (1965), а также В. М. Коровиной с соавторами (1968) для сиговых.

Т а б л и ц а 20

Влияние различных парамедий на выживаемость личинок сига и пеляди

Номер опыта	Корм	Личинки в конце опыта		Выживаемость, %
		вес, мг	длина, мм	

С и г

1	<i>P. aurelia</i>			0
2	<i>P. multimicronucleatum</i>	14,2	14,8±0,59	60
3	<i>P. caudatum</i>	14,0	15,0±0,50	70
4	Коловратки	9,2	14,6±0,22	50
5	Мойны	15,0	16,4±0,75	60
6	Без корма (контроль)	—	—	0

П е л я д ь

7	<i>P. aurelia</i>	6,7	11,6±0,24	4
8	<i>P. multimicronucleatum</i>	6,0	11,40±0,35	50
9	<i>P. caudatum</i>	4,2	10,6±0,21	20
10	Коловратки	3,8	10,3±0,17	54
11	Мойны	6,4	11,4±0,20	12
12	Без корма (контроль)	—	—	0

П р и м е ч а н и е. Исходный вес личинок сига 7,4 мг, пеляди — 2,7 мг. Отношение исходного веса личинок к весу корма 0,7 : 1,0.

Методика кормления личинок пеляди и сигов одинакова. Температура в аквариумах 15°C. Плотность посадки 42 экз./л. Исходный вес личинок пеляди 2,7 мг.

Концентрация *P. multimicronucleatum* и *P. caudatum* 110 экз./см³, а *P. aurelia* — 330 экз./см³. Концентрация коловраток достигла 55 экз./см³, мойин — 2—3 экз./см³. Соотношение корма к исходному весу личинок в начале опыта было 1 : 1, а через 3 сут — 0,7 : 1 (табл. 20).

Личинки сига в контроле погибли на 15-е сутки опыта (рис. 69). При употреблении *P. aurelia* они погибли раньше, чем в контроле. Результаты, полученные при питании сига *P. multimicronucleatum* и *P. caudatum*, были сходны с найденными при кормлении коловратками и мойнами (см. рис. 69), при этом выживаемость колебалась от 50 до 70% (см. табл. 20).

Вес сига при использовании мелких кормов (парамеций, коловраток) в первые сутки опыта снижается (рис. 70). Вероятно, это связано с периодом адаптации личинок к предлагаемому корму, а возможно, с непроизводительными затратами на его отлов.

Таким образом, даже при очень низкой концентрации корма (5,5 мг на одну личинку сига в сутки) получена высокая выживаемость (60—70%) сига при кормлении *P. multimicronucleatum* и *P. caudatum* в смеси с мойнами. При этом по весу мойин содержалось в 5—10 раз меньше, чем парамеций.

Личинки сига при кормлении смешанными кормами находились в конце второй стадии развития, мойнами — в начале третьей.

Результаты, полученные при кормлении личинок пеляди различными видами парамеций, сведены в табл. 20. Личинки

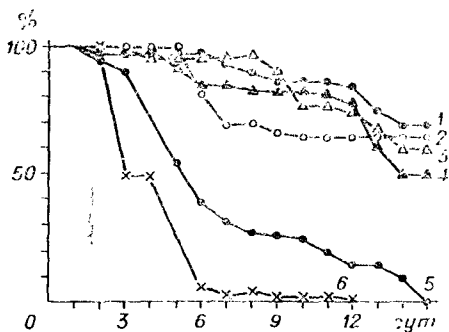


Рис. 69. Выживаемость личинок сига при кормлении *Paramecium caudatum* (1), *P. multimicronucleatum* (3), *P. aurelia* (6), *Ph. acuticornis* (4), *Moina macroscora* (2) и в контроле без кормления (5).

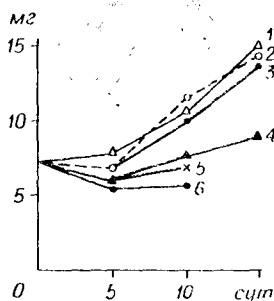


Рис. 70. Вес личинок сига при кормлении *Paramecium caudatum* (3), *P. multimicronucleatum* (2), *P. aurelia* (5), коловратками *Ph. acuticornis* (4), мойнами (1) и в контроле без кормления (6).

без кормления в контроле погибли на 15-е сутки опыта (рис. 71). При кормлении *P. aurelia* они начали погибать раньше, чем в контроле. Отрицательное влияние *P. aurelia* на выживаемость личинок сига мы связываем с двумя причинами, — размеры и вес парамеций. Поскольку вес *P. aurelia* ниже, чем *P. caudatum*, в 3 раза, то личинки, вероятно, тратили на его отлов энергии в несколько раз больше, чем при питании более крупными парамециями.

И вторая возможная причина — наличие капша-частиц, которые наблюдаются только у этого вида.

Самая высокая выживаемость личинок пеляди была при кормлении *P. multimicronucleatum* и коловратками (см. табл. 20) — 50—54%. До 10-х суток опыта высокая выживаемость личинок была при кормлении *P. caudatum*. Опыты показали, что кормление личинок сига и пеляди неотмытыми парамециями не снижает их выживаемость по сравнению с отмытыми от среды *P. caudatum* (см. табл. 18).

КОРМЛЕНИЕ ЛИЧИНОК СИГА СМЕШАННЫМИ ЖИВЫМИ КОРМАМИ

Во второй серии опытов исследовано влияние смешанного корма (*Ph. acuticornis* + *M. macrocora* и *P. caudatum* + мойны) на рост и выживаемость личинок сига. Опыты проводились по схеме, изображенной на рис. 64.

Личинок содержали в аквариуме объемом 10 л при 12°C на отстоянной водопроводной воде с плотностью посадки 20 экз./л. В опыте 1 этой серии подача корма и обмен воды осуществлялись следующим образом. Первым звеном в данной трофической цепи служила хлорелла, которая поступала в звено 2 к коловраткам. Биомассу последних получали методом пропорционально-проточного культивирования в реакторе объемом 0,2 л. Скорость протока среды 10 об./л (2л·сут). Пищей служила хлорелла с концентрацией 60 млн. кл./см³ в питающей суспензии. Ее сливаемая часть круглосуточно поступала по каплям в аквариум с мойнами (звено 2а). Из литературы известно, что

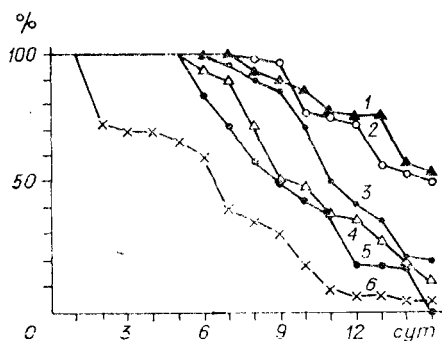


Рис. 71. Выживаемость личинок пеляди при кормлении *Paramecium caudatum* (3), *P. multimicronucleatum* (2), *P. aurelia* (6), коловратками *Ph. acuticornis* (1), мойнами (4) и в контроле без кормления (5).

возможно совместное культивирование мойн и коловраток [Максимова, 1968; Аскеров, 1972]. Мойн содержали в аквариуме объемом 10 л. В качестве корма использовали хлореллу из сливаемой части суспензии коловраток. Воду в аквариуме с мойнами меняли за счет поступающей суспензии коловраток (2 л) и свежей воды (4 л). Излишки смешанной культуры (коловратки + мойны) выводили через отводную трубочку по уровню. Мойны, как правило, роятся у стен и в углах аквариума. При сливе из аквариума по каплям они практически не попадали в аквариум с личинками рыб. В связи с этим корм к личинкам подавали порциями. Через 6 ч открывали отводную трубочку из аквариума и смешанная культура поступала в третье звено трофической цепи — к личинкам рыб. В первые 3-е суток опыта отводная трубочка из аквариума с мойнами была затянута капроновой сеточкой № 16, ячеи которой пропускали только мелких мойн и коловраток. Затем сеточку убрали, и к личинкам рыб прощкали разновозрастные мойны.

Перед подачей корма из аквариума с личинками излишки среды выводили через отводную трубочку по уровню. Трубочка была оборудована капроновой сеточкой № 22, ячеи которой пропускали воду и коловраток, но задерживали мойн и личинок рыб.

В опыте 2 при аналогичных условиях звено 2 в трофической цепи было представлено парамециями *P. caudatum*. Кормом для них служили дрожжи *Saccharomyces ellipsoides* и бактерии *Bacillus subtilis*. Концентрация дрожжей в питающей суспензии составляла 60 млн. кл./см³, а бактерий в 10 раз меньше (по сухому весу).

В опыте 3 (контроль) личинки не получали корм. С первых суток опытов 1 и 2 сига давали смешанный корм. В опыте 1 он состоял из двух компонентов (коловратки + мойны), расход его на одну особь достигал 20 мг/сут. На 10-е сутки, когда погибли личинки в контроле, в опыте 1 они находились на третьем этапе развития, выживаемость составила 90%, средний вес сига — 47 мг, длина ($M + \sigma$) — $16,1 \pm 0,7$ мм. Подача корма через 6 ч обеспечила его довольно высокую утилизацию, при этом потери коловраток составили лишь 3%.

В опыте 2 во втором звене трофической цепи плотность *P. caudatum* была 8 тыс. экз./см³, ежесуточная продуктивность около 6 тыс. экз./см³. В звене 2а средняя плотность культуры мойн лишь 0,3 экз./см³. Следовательно, в этом опыте в качестве корма сиг получал практически только парамеций. Последние, попадая в аквариум, предназначенный для мойн, приобретали свойства, которые оказывали неблагоприятное действие на личинок. Это происходило потому, что корм, находящийся в сливаемой части культуры парамеций, был недоступен им, так как оседал на дно аквариума. Он разлагался, а затем, попадая в аквариум с личинками, ухудшал газовый режим и т. д. Вслед-

ствие этого выживаемость составила лишь 15,5%, средний вес одной особи 8,5 мг, длина ($M \pm \sigma$) 12,9 мм. Опыт показал, что моины не могут питаться дрожжами и бактериями, поступающими в сливаемую часть суспензии из культиватора с парамециями, вероятно, по причине присутствия метаболитов, а возможно, парамеции затрудняли работу фильтрационного аппарата моин, непрерывно шныряя в среде и пугая рачков. Следовательно, при использовании парамеций в качестве звена 2 трофической цепи парамеции + моины — личинки сига необходимо применить иную технологию их подачи, например, минуя аквариум с моинами, как это было в опытах, где кормом сига служили *P. caudatum* и моины, выращенные отдельно. При этом выживаемость личинок составила 70%.

Использование смешанного корма коловратки + моины (1 : 1) в количестве 20 мг/сут на одну личинку в соотношении коловраток и моин 1 : 1 при скорости протока среды в аквариуме с сигом 0,6 об./сут обеспечило средний вес одной особи в конце 10-суточного опыта 47 мг при выживаемости 90%. Довольно низкая скорость протока (0,6 об./сут) в аквариуме с личинками была возможна, вероятно, потому, что среда в аквариуме круглосуточно аэрировалась, живые корма выращивались методом проточного культивирования, который обеспечивал непрерывный рост популяции различных живых кормов и удерживал количество метаболитов на определенном уровне. Ежедневно получаемый урожай живых кормов был использован для личинок рыб. Таким образом, целесообразно применять метод непрерывного выращивания различных живых кормов для личинок сиговых рыб.

КОРМЛЕНИЕ ЛИЧИНОК КАРПА РАЗЛИЧНЫМИ ЖИВЫМИ КОРМАМИ В ПРОИЗВОДСТВЕННЫХ УСЛОВИЯХ

Опыты проведены в 1979 г. в Волгореченском рыбхозе. Целью эксперимента было проверить влияние мелких живых кормов (парамеций) в смеси с ветвистоусыми рачками на рост личинок карпа в условиях тепловодного рыбного хозяйства.

В опыт взято 25 тыс. личинок *Surginus carpio* в возрасте 12 ч. Их выращивали в Ейском лотке, объем воды в котором был 400 л, скорость тока воды через лоток — 8,5 об./сут. Температура 20—24,5°C.

Для поддержания высокого уровня кислорода в воде ее аэрировали воздухом через керамические распылители. Скорость подачи воздуха 10 л/мин на лоток. Содержание кислорода 7,1—7,8 мг/л. На сливную трубку из лотка надевали капроновую сетку № 22, которая задерживала личинок и молодь ветвистоусых рачков. Парамеции через эту сетку проходили.

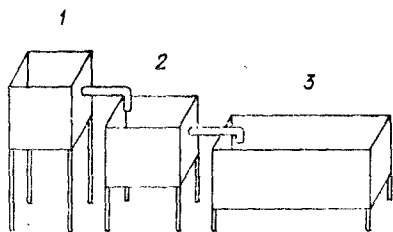


Рис. 72. Схема кормления личинок карпа.

1 — культиватор с водными беспозвоночными; 2 — отстойник; 3 — лоток с личинками рыб.

В опыте 1 кормом служили *P. caudatum*, *M. macrocora* и *D. magna*. Парамеций выращивали в культиваторе с эрлифтами (см. рис. 43). При выращивании беспозвоночных в качестве среды использовали скважинную воду. Скорость потока среды в реакторе с парамециями составила 6 об./сут. Кормом для парамеций служили прессованные дрожжи. Сливаемая часть суспензии парамеций непрерывно по каплям поступала в лоток с личинками рыб. Для предотвращения отрицательного влияния оставшихся дрожжей сливаемая часть суспензии парамеций поступала через отстойник (рис. 72), в котором оседали хлопья и часть дрожжей. В течение 6 сут опыта ежедневно подавали по 100 г сырой биомассы парамеций, из них лишь около 20% уходило в сливаемой части воды из лотка. В первые 4 сут 80—90% рациона составляли парамеции (рис. 73).

Дафний и мoinн выращивали методом непропорционально-проточного культивирования в реакторах с эрлифтами. Сливаемая часть суспензии мoinн поступала прямо в лоток. В первые 3 сут опыта в рационе было около 10% мoinн, а в последующие сутки наблюдались лишь следовые количества.

Дафнии поступали из реактора в лоток с личинками рыб через затянутое капроновой сеткой № 7 сливное отверстие по уровню. Средний вес дафний около 2 мг. Некоторые особи имели сумки с эмбрионами. Попав в лоток, где содержалось небольшое количество хлореллы и дрожжей, а также бактерий, крупные дафнии размножались, а их молодь поедалась личинками рыб. На 6—7-е сутки опыта практически все они поедались личинками карпа. Общая доля дафний в рационе — 67,8%, мoinн — 1,7, парамеций — 30,5%. Ежесуточный расход живых кормов 175 г, или около 8 мг на одну личинку, что в 3 раза меньше, чем в лаборатории. Продолжительность опыта 9 сут, температура 22—25°C.

В контроле личинки карпов (25 тыс. экз.) корма не получа-

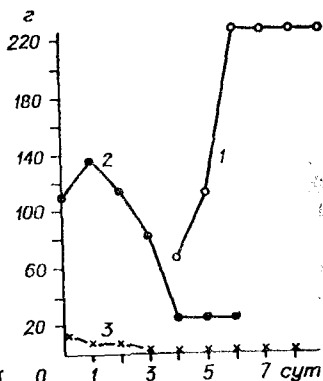


Рис. 73. Динамика подачи различного корма личинкам карпа.

1 — дафнии; 2 — парамеции; 3 — мoinн.

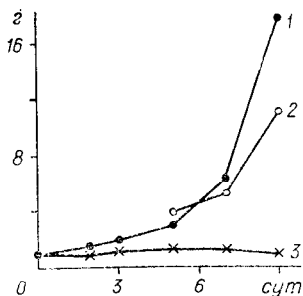


Рис. 74. Вес личинок карпа при кормлении различными кормами (в мг).

1 — смешанный корм (мошны + парамеции + дафнии); 2 — науплиусы артемии; 3 — в контроле без кормления.

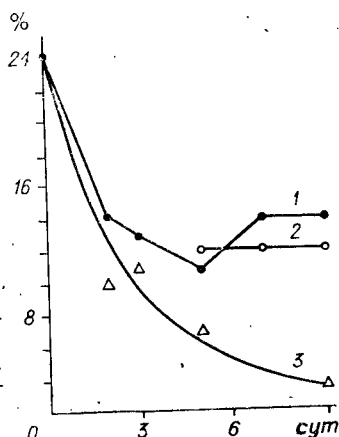


Рис. 75. Содержание сухого вещества в биомассе личинок карпа при кормлении смешанным кормом (1), науплиусами артемии (2), в контроле без кормления (3).

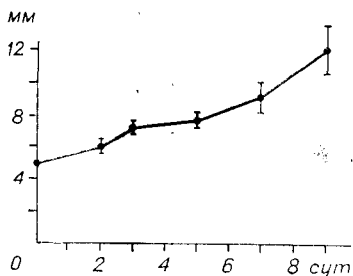


Рис. 76. Длина личинок карпа ($M \pm m$) при кормлении смешанным кормом (парамеции + мошны + дафнии).

ли, в 9-суточном возрасте они имели средний вес ниже исходного (рис. 74). В опыте в первые 5 сут вес карпов возрастал незначительно, но с переходом на дафниевый корм он резко увеличился и уже на 9-е сутки составил 18 мг (см. рис. 74). На рис. 74 для сравнения показан рост заводских личинок, которых кормили только науплиусами артемии (плотность посадки заводских личинок в 2 раза выше, чем в опыте, при значительно более интенсивном водообмене в лотке). Содержание сухой биомассы у опытных и контрольных личинок изменялось в течение опыта (рис. 75): в последние сутки у опытных личинок — 14%, что на 2% выше, чем в биомассе заводских, получавших живой корм одного вида.

КПД биосинтеза (превращение потребленного вещества корма в вещество личинок) составил в опыте 32,2.

Парамеции, содержащиеся в рационе, способствовали более быстрому (на 8—12 ч) отклеиванию личинок карпа от стен и дна лотка, чем другие живые корма (например, коловратки). Как только личинки начинали свободно плавать, они группировались у трубочки, из которой поступал корм, и круглосуточно потребляли его. Непрерывная подача живого корма по 8 мг/сут на одну личинку приводила к появлению личинок-ли-

дерев, которые успевали съесть лучший корм. При выживаемости около 90% средняя длина личинок ($M \pm m$) составила $12 \pm 1,4$ мм (рис. 76) при коэффициенте варьирования 37,5%.

Полученные данные свидетельствуют о том, что методика непрерывной подачи корма личинкам может быть, вероятно, приемлема в том случае, если увеличить долю живого корма на одну личинку в сутки. Другой путь, снижающий число личинок-лидеров, — подача корма через определенные интервалы, например, через 6 ч, как в лабораторных условиях (см. гл. 4).

КОРМЛЕНИЕ ЛИЧИНОК КАРПА ЖИВЫМИ И ИСКУССТВЕННЫМИ КОРМАМИ В ПРОИЗВОДСТВЕННЫХ УСЛОВИЯХ

На некоторых рыбоводных заводах страны широко используются науплиусы артемии как стартовый живой корм в смеси с искусственным. При возрастающих темпах строительства тепловодных живорыбных заводов в перспективе с полициклическим методом получения личинок рыб природные запасы артемии едва ли смогут обеспечить их бесперебойную работу.

Цель наших исследований — заменить в рационе, состоящем из живых и искусственных кормов, часть живого корма (артемии) на парameций и дафний, выращенных в непрерывном режиме в условиях лоткового цеха, а также осуществить кормление личинок через определенные промежутки времени с тем, чтобы получить более однородную по размерам популяцию личинок карпа.

Эксперименты проведены в 1980 г. в лотковом цехе Волго-реченского рыбхоза. В опыт взято 10 тыс. 2-суточных карпов с исходным весом 2,4 мг. Личинок содержали в Ейском лотке: объем воды 400 л, скорость ее тока 40 мл/с. Плотность посадки 25 экз./л. С целью обогащения воды кислородом подавался воздух через керамические распылители со скоростью 10 л/мин на лоток. Температура удерживалась в пределах 22,5—24°C, количество кислорода — 7—8 мг/л. Кормом служили парameции (11%) и дафнии (56%), выращенные в непрерывном режиме, и артемия (33%), предоставленная для опытов рыбхозом (табл. 21). Ежедневно в течение 20 сут вносили по 241 г живого корма. Искусственный корм «Эквизо», разработанный Государственным научно-исследовательским институтом озерного и речного рыбного хозяйства, вносили круглосуточно со вторых суток опыта с помощью автоматической кормушки через несколько минут в течение 26 сут. Таким образом, 20 сут личинок кормили смесью живого и искусственного корма, с 20 до 26-х суток — только искусственным.

В контроле использовано также 10 тыс. личинок карпа. Пищей служили науплиусы артемии. Искусственный корм по-

давался со 2-х суток опыта. В связи с тем, что в контроле личинок содержали по технологии рыбхоза, аэрация отсутствовала. Все остальные параметры были одинаковы с опытом.

В опыте живой корм (парамеции, дафнии) поступал круглосуточно через 6 ч. Сливаемая часть суспензии из реакторов с простейшими или дафниями собиралась в разные аэрируемые емкости. Кормовую суспензию подавали с помощью шланга, стараясь не поднимать осадок со дна лотка, который чистили раз в сутки утром. Парамеции поступали к личинкам рыб через отстойник по схеме: реактор — отстойник — резервуар для сливаемой суспензии — личинки рыб. На рис. 77 показана динамика подаваемых в лоток и вымываемых из него парамеций. Количество потребленных личинками парамеций составило около 50% (табл. 22).

В 1-е сутки в составе живого корма преобладали науплиусы артемии, а с 10-х суток увеличилась доля дафний. Личинки потребляли искусственную пищу со 2-х суток опыта. В течение опыта ее количество увеличивалось (рис. 78, 79). До 7—8-х суток доля живого корма равнялась приблизительно 50%, затем резко снижалась, на 20-е сутки — лишь около 3%. Общее содержание живого корма (% на абс. сух. в-во) 9,35% (см. табл. 21).

В контроле подавался один вид живого корма — науплиусы артемии — в течение 20 сут (рис. 80), соотношение живого и искусственного кормов было аналогично опыту (рис. 81). Общая доля артемии в смешанном корме 9,23% (см. табл. 21). Динамика веса (рис. 82) и длины личинок рыб (рис. 83) наглядно показывает, что живые корма в смешанном варианте (парамеции + дафнии + науплиусы артемии) обеспечивают рост личинок не хуже, чем артемия. В опыте и контроле личинки карпа одинаково росли в начале опы-

Таблица 21

Влияние различных стартовых кормов на рост личинок карпа

Вариант	Корм, г сух. в-ва (%)				Средняя длина личинок (M±m), мм	Средний сырой вес личинок, мг	Выживаемость, %	
	Парамеции	Дафнии	Артемия	Соотношение в смеси				
				живой				«Эквиво»
				Всего				
Опыт	53,02 (14)	269,7 (56)	159,5 (33) 461,5 (100)	482,22 (9,35) 461,5 (9,23)	4675,5 (90,65) 4540,5 (90,77)	245 181	96,5 70,0	
								Контроль

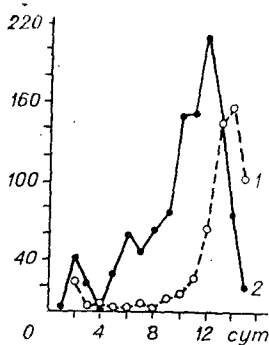


Рис. 77. Динамика подачи (2) и вымывания (1) биомассы парамеций (вг) при кормлении личинок карпа в опыте.

та, однако, как только личинки в опыте перешли на питание взрослыми дафниями, они росли быстрее, были более активными, чем в контроле. Личинки в опыте более быстро реагировали на работу автоматической кормушки. На 26-е сутки длина личинок в опыте составила $30,1 \pm 2,6$ мм, а средний вес — 530 мг; в контроле — соответственно $27,8 \pm 2,2$ мм и 340 мг. Кормовой коэффициент в опыте 2,85, в контроле — 6,1 (см. табл. 23).

На 26-е сутки по 7000 тыс. личинок из опыта и контроля поместили в садки. Наблюдения, проведенные специалистами рыбхоза через месяц, показали, что средний вес карпа в садках в опыте достиг 1,54 г, а в контроле — 1,32 г при одинаковой выживаемости — около 90%.

Опыты позволяют сделать вывод, что смешанные живые корма, на 67% состоящие из зоопланктона, выращенного в условиях лоткового цеха на протоке с добавками артемии, позволяют не только снизить расход артемии, но и получить средний вес молоди карпа в садках выше, чем в контроле.

Предлагаемый рацион позволяет сократить расход науплиусов артемии на 2/3 от необходимого количества живых кормов.

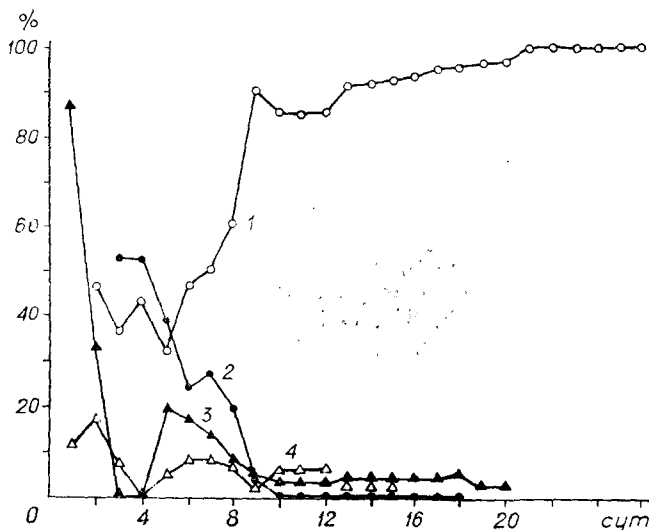


Рис. 78. Доля искусственного корма (1), артемии (2), дафний (3) и парамеций (4) в рационе в опыте.

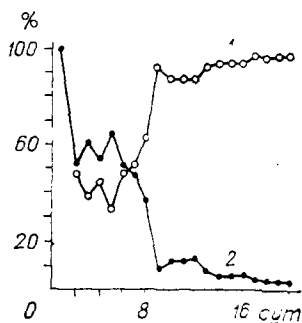


Рис. 79. Доля искусственного (1) и живого корма (2) в рационе в опыте.

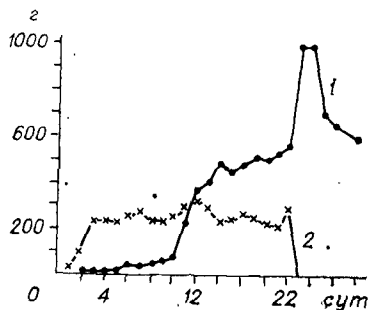


Рис. 80. Доля искусственного корма (1) и артемии (2) в рационе в контроле.

В связи с тем, что артемия долго созревает (14—15 сут [Спекторова, Аронович, 1973]), непрерывное культивирование ее, вероятно, невозможно. А природные запасы яиц артемии не смогут удовлетворить все рыболовные заводы страны, особенно

Таблица 22

Влияние различных методов подачи парамеций в лоток с личинками карпа

Метод	Биомасса парамеций, г		Съедено рыбами корма	
	введено	вымыто	г	%
Непрерывный	638,2	157,2	481,00	75,4
Периодический (4 раза в сутки)	1097,0	566,8	530,20	48,3

при переводе их технологии на полициклическую технологию получения личинок. Такого же мнения придерживаются и другие исследователи [Шипкин и др., 1980].

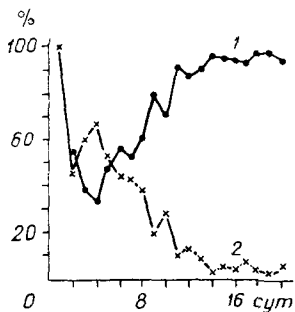


Рис. 81. Доля искусственного (1) и живого корма (2) в рационе в контроле.

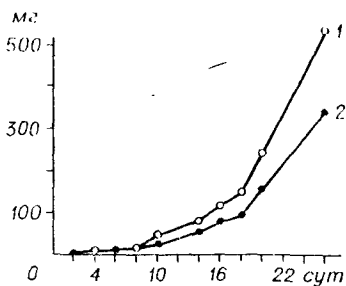


Рис. 82. Вес личинок карпа в опыте (1) и контроле (2).

Таблица 23

Зависимость кормового коэффициента от состава корма

Вариант	Количество личинок в конце опыта, экз.	Средняя биомасса личинок в конце опыта, мг	Прирост биомассы рыбы, кг	Введенный в лоток корм, кг		Кормовой коэффициент
				живой биомасса, (сырая биомасса, (12% влаги)	искусственный (12% влаги)	
Опыт	9650	530	5,01	4,8	9,5	2,85
Контроль	7000	340	2,28	4,6	9,3	6,1

Примечание. Продолжительность опыта 26 сут, средняя исходная биомасса личинок 10 г.

Таблица 24

Влияние смешанного корма (парамеции + искусственный корм «Эквиво») на рост личинок карпа (длительность опыта 7 сут, температура 22—24,5°C)

Вариант	Корм, г сух. в-ва				Средняя длина личинок ($M \pm m$), мм	Средний вес личинок, мг	Выживаемость, %
	парамеции		«Эквиво»	всего			
	введено	выведено					
Опыт	17,53	8,62 (42,4%)	8,91 (87,6%)	63	71,91	7,65 ± 0,23	58,4
Контроль	—	—	—	63 (100%)	63,00	7,15 ± 0,16	49,0

По утверждению некоторых авторов, живой корм играет большую роль для личинок рыб как «фактор живого» [Яковенко, 1980] или как источник низкомолекулярных пептидов и свободных аминокислот [Остроумова и др., 1980], содержание которых в белках зоопланктона достигает 50%. В этой связи особенно интересно было проверить влияние мелкого живого корма, например парameций, в смеси с искусственным кормом «Эквизо». Как отмечалось, КПД биосинтеза культуры парameций достигает 40–50%, продуктивность культуры простейших составляет около 20 г сыр. в-ва/(л.сут).

В опыт взято 2 тыс. личинок карпа в возрасте 12 ч. В контроле использовано также 2 тыс. личинок карпа. Рыбу содержали в аквариумах объемом 50 л, оборудованных сливным отверстием по уровню, которое закрывали капроновой сеткой № 16. Температура 22–24°C. Скорость протока воды 20 мл/с.

В качестве корма взяты парameции *P. caudatum*, получаемые методом проточного культивирования. Из отстойника их заливали в сосуд с отводной трубкой и подавали 3–4 раза в сутки в аквариум с карпами. Подачу осуществляли каплями в течение 1 ч. Живого корма расходовали 25 г сыр. в-ва/сут (табл. 24), или 12,5 мг на одну личинку, 50% вымывалось. Общее количество живого корма (сухое вещество), использованного личинками, составило в их рационе 12,4%. Остальная

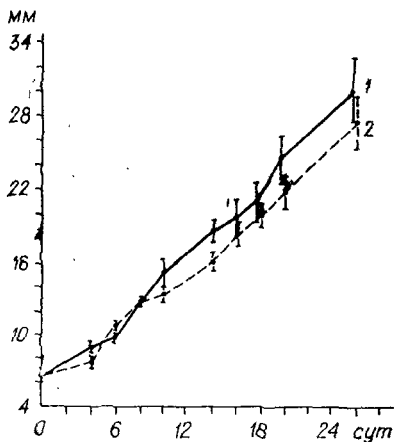


Рис. 83. Длина личинок карпа в опыте (1) и контроле (2).

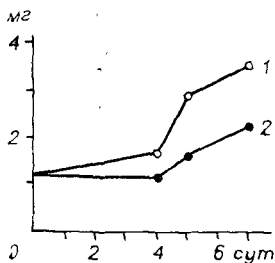


Рис. 84. Вес личинок карпа при кормлении смешанным кормом (парameции + «Эквизо») (1) и только «Эквизо» (2).

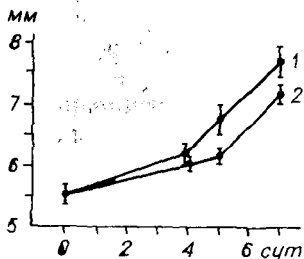


Рис. 85. Длина личинок карпа при кормлении смешанным кормом (парameции + «Эквизо») (1) и только «Эквизо» (2).

часть рациона была представлена «Эквизо», его подавали круглосуточно, 4—11 раз.

В контроле использовали только сухой корм «Эквизо» (см. табл. 24). За 7 сут при довольно низкой температуре для личинок карпа (22—24,5°C) их средний вес достиг в опыте 3,5 мг, в контроле — 2,2 мг при выживаемости 58,4 и 49% соответственно. На рис. 84 и 85 показаны вес и длина личинок соответственно.

В данном опыте мы не получили высоких результатов по среднему весу личинок, вероятно, из-за довольно слабо разработанной методики подачи корма, а также из-за относительно низкой температуры.

Проведенный опыт наглядно показал, что мелкий живой корм, например парамеции, позволяет получать не только более высокие результаты по весу личинок, но и более активную молодь карпа с хорошо выраженными пигментными пятнами, более активно берущую сухой искусственный корм.

РАСЧЕТЫ ОБЪЕМОВ РЕАКТОРОВ ДЛЯ НЕПРЕРЫВНОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ЖИВЫХ КОРМОВ НА ПРОМЫШЛЕННЫХ ПРЕДПРИЯТИЯХ

Полносистемные тепловодные рыбоводные предприятия по получению личинок рыб полициклическим методом требуют круглогодичного обеспечения их живыми кормами.

Наиболее перспективным, обеспечивающим непрерывный рост водных беспозвоночных организмов, являющихся ценными живыми кормами, является метод непрерывного культивирования. Данный метод культивирования уже далеко перешагнул за рамки лаборатории в микробиологической промышленности, а также был применен нами для культивирования живых кормов в условиях тепловодного рыбоводного предприятия во время производственных испытаний. Проведенные испытания позволяют рассчитать объемы реакторов для производства живых кормов, их стоимость, разработать схему их непрерывного выращивания на отходах производства, а также объемы реакторов для микробов. Все расчеты выполнены для тепловодного рыбоводного предприятия, производящего живой рыбы около 16 тыс. ц/год.

В практике рыбоводных хозяйств, как правило, применяется метод периодического выращивания живых кормов. В табл. 25 сведены результаты за последние 40 лет по продуктивности периодической культуры живых кормов. При этом продуктивность коловраток за 10 лет выросла почти в 10 раз, причем наиболее высокие урожаи получены при кормлении коловраток хлореллой [Овинникова, 1970].

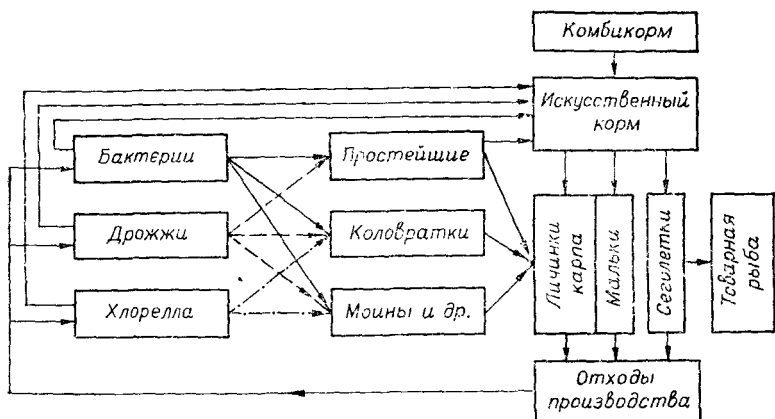


Рис. 86. Технологическая схема живорыбного завода.

За 40 лет продуктивность популяции дафний при периодическом выращивании и в садках практически не увеличилась (см. табл. 25). Только И. Б. Богатова (1973а) получила продуктивность культуры дафний в садках в 4 раза выше, чем 40 лет назад Н. С. Гаевская (1941) в бассейнах.

Следует отметить, что совершенствование периодического метода позволило В. В. Овишиковой (1970) получить продуктивность коловраток такую же, как в опытах Л. А. Эрмана (1958) на проточке.

В течение последних 10 лет применение метода непрерывного непропорционально-проточного культивирования для изучения простейших, коловраток и ветвистоусых рачков (моин, дафний), а также с целью получения их биомассы в макетах

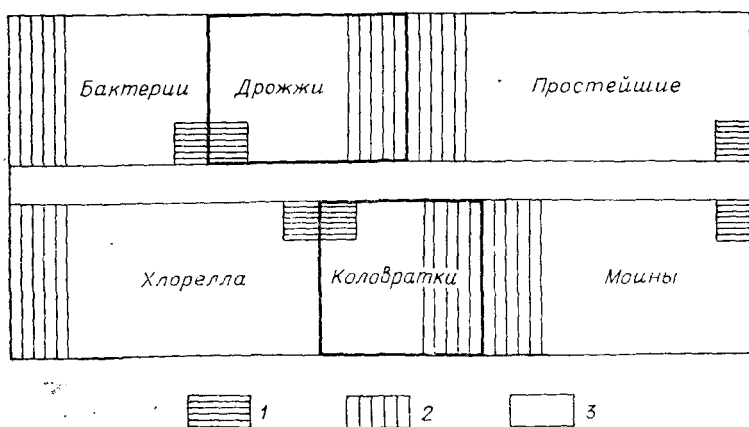


Рис. 87. Схема цеха живых кормов.

1 — подсобные помещения, 2 — лабораторные комнаты, 3 — залы для реакторов.

Продуктивность культуры беспозвоночных, используемых в качестве

Культура	Среда	Корм
<i>Периодическое</i>		
Простейшие Коловратки	Отвар сена Вода	Бактерии Хлорелла
	»	»
	»	Дрожжи
	»	Водоросли
Моины	»	Дрожжи
Дафнии	»	Хлорелла + бактерии
» в садках	»	Смешанный
»	»	»
<i>Непрерывное</i>		
Парамеции	Среда Лозина-Лозинского	Бактерии + дрожжи
Коловратки	Вода	Прессованные дрожжи
	»	Водоросли
	»	Хлорелла + бактерии
	»	Хлорелла
Моины	»	»
Дафнии	»	»

* Продуктивность культуры (г/м³) рассчитана нами.

установок промышленного масштаба позволило нам получить продуктивность водных беспозвоночных, в десятки раз превышающую литературные данные (см. табл. 25).

Таким образом, метод непрерывного непропорционально-проточного культивирования позволяет получать самую высокую продуктивность различных живых кормов.

Для водных беспозвоночных оптимален смешанный корм (протококковые водоросли + бактерии и т. д.). В связи с этим в технологическую схему живорыбного завода необходимо включить технологию по производству различных микробов (рис. 86) и разнообразных живых кормов с целью кормления личинок рыб смешанными живыми кормами.

Для интенсивного выращивания хлореллы необходима сильная аэрация, снабжение CO₂, оптимальная температура и свет. Для производства биомассы хлореллы в цехе живых кормов (рис. 87) необходимо предусмотреть подсобное помещение для компрессора и баллонов с углекислым газом. Стоимость 1 кг сухой хлореллы при искусственном освещении (цена электроэнергии 1,5 коп. за 1 кВт·ч) составляет 7 руб., или 2 руб. за 1 кг сырой биомассы [Ковров и др., 1973]. Применение метода проточного выращивания хлореллы позволит в условиях цеха жи-

живых кормов для личинок рыб, при различных методах выращивания

Продуктивность, г/(л·сут)	Продуктивность, г/(м ³ ·сут)	Литературный источник
<i>культивирование</i>		
—	2,7—18	Корниенко, 1973
—	2,7—20	Васильева, Окунова, 1961
—	28—50	Максимова, 1968
—	5—7	Тот же
—	217	Овчинникова, 1970
—	40—50	Максимова, 1969; Максимова и др., 1975, 1978
—	50—75	Гаевская, 1941
—	19,7—300	Богатова, 1973а; Богатова и др., 1980в
—	68,8	Кражан, Антипчук, 1978
<i>культивирование</i>		
20	20 000	Кокова, Лисовский, 1976
20	20 000	Кокова, см. наст. кн.
0,125	125	Эрман, 1958
1—2	1000—2000	Мотидзуки и др., 1978 *
20	20 000	Кокова, см. наст. кн.
0,5	500	Кокова и др., 1975
0,5	500	Кокова, см. наст. кн.

вых кормов обеспечить ценным микробным кормом водных беспозвоночных круглогодично.

Биомассу других микроорганизмов (бактерии, дрожжи) можно также получать в условиях цеха живых кормов, используя отходы живорыбного завода (см. рис. 86). Биосинтез возможен в условиях непрерывного обмена среды, хорошей аэрации перемешивания культуры и насыщения ее кислородом. Стоимость 1 кг биомассы бактерий и дрожжей составит около 54 коп.

Наиболее хорошо разработана технология выращивания парameций. Применение метода их непропорционально-проточного культивирования с использованием скважинной воды при скорости протока среды 5—10 об/сут и прессованных дрожжей (цена 54 коп. за 1 кг) в качестве корма обеспечивает при 26°C продуктивность культуры парameций около 20 г/(л·сут). КПД биосинтеза культуры парameций составляет в зависимости от состава корма 30—50%. Следовательно, стоимость 1 кг парameций (сырая биомасса) около 54 коп. (по затратам корма).

Цена 1 кг коловраток (по затратам корма), выращенных на хлорелле, около 3,5 руб., на смешанном корме (хлорелла + бактерии или дрожжи) — менее 3 руб.

Цена 1 кг ветвистоусых рачков (по затратам корма) составит при выращивании на хлорелле 3—5 руб., на смеси хлореллы и бактерий или дрожжей — около 3—4 руб.

Все культуры (микробы и беспозвоночные) должны выращиваться в специальных помещениях (см. рис. 87) с целью предотвращения заражения их друг другом. Урожай автоматически подается к потребителям. Утилизация отходов производства — одна из сложных задач при разработке рыбохозяйственных комплексов, построенных на теплых водах. Эффективная технология утилизации отходов производства позволит удешевить конечный продукт живорыбного предприятия — рыбу, а также обеспечит сброс очищенной воды в водоем-охладитель.

По мнению В. И. Филатова и А. В. Ширяева (1980), полициклическая схема тепловодных рыбоводных хозяйств реальна только при замкнутой системе водоснабжения.

Как отмечает В. Г. Пикульский (1980), проектирование бассейновых рыбоводных хозяйств ведется, как правило, на оборотном водоснабжении. По мнению автора, это дает возможность предусмотреть очистку сбрасываемой воды, достичь экономии электроэнергии и получить рентабельные рыбоводные хозяйства.

Количество отходов в отработанной воде при бассейновом выращивании годовиков карпа на теплых водах было рассчитано нами по данным Т. Г. Галасун и соавторов (1975). В опытах они использовали годовиков карпа с массой от 12 до 115 г. Таким образом, средний исходный вес равнялся 63 г, плотность посадки — 100 экз./м². Глубина бассейна — 1 м, следовательно, плотность посадки — 100 экз./м³. Для кормления карпов использовали кормовую смесь следующего состава: комбикорм Вр. Укр. Ш-3 — 60%, белковую добавку (рыбную муку, куколок тутового шелкопряда, кормовые дрожжи) — 40%. Продукты жизнедеятельности рыб и остатки кормов составили 60% от заданного корма.

По данным М. А. Щербиной (1973), у двухлетнего карпа перевариваемость искусственных кормов по сырой клетчатке составила 26,6%, по сырому протеину — 76,4%, а сухого вещества кормов — от 48,6 до 54,6% в зависимости от рациона.

Таким образом, количество продуктов жизнедеятельности и остатков корма в 1 л воды, использованной для выращивания сеголеток карпа в бассейнах на теплых водах, достигает 0,021 г (табл. 26), причем клетчатка преобладает. Для успешного культивирования бактерий и дрожжей необходимо увеличить концентрацию отходов производства до 1—3 г/л. Это можно осуществить, например, электрическим способом [Конрадт и др., 1975].

Возможно, целесообразно использовать воду для рыб несколько раз с целью накопления в ней продуктов обмена и ос-

Содержание продуктов жизнедеятельности и остатков корма в отработанной воде при бассейновом выращивании годовиков карпа на теплых водах
[по Галасун, Желтову, 1975]

Опыт	Продолжительность опыта, сут	Вес карпа		Внесенный корм, г/(м ³ ·сут)	Расход воды		Продукты жизнедеятельности и остатки корма	
		средний, г	общий, кг/м ³		л·с/кг рыбы	л/(м ³ ·сут)	г/(м ³ ·сут)	г/л
Начало	—	63	6,3	756	0,04	21 773	454	0,021
Конец	45—60	273	27,3	3276	0,04	94 344	1966	0,021

Примечание. Плотность посадки карпа 100 экз./м³; норма одноразового кормления 2% от веса рыбы, количество кормлений — 6 раз в сутки. Данные по удельному расходу воды по Корнееву и др., 1975.

татков корма, улучшая кислородный режим за счет дополнительной аэрации. Отработанную воду можно, например, сбрасывать в отстойники, откуда осадок с небольшим количеством воды поступает в микробные отделы цеха живых кормов.

Предположим, что на живорыбном заводе мощностью 16 тыс. ц рыбы в год съем товарной продукции предполагается производить по 1400 ц/мес. Предположим, что на заводе ежедневно на разных стадиях выращивания будет находиться не менее 1400 ц рыбы (при условии, что товарная рыба весит 1 кг). Если на 1 кг живой рыбы воды требуется 0,04 л, а в каждом сбрасываемом литре содержится 0,021 г отходов производства, то ежедневно завод будет выбрасывать около 10 т отходов производства. При условии, что биомасса содержит около 20% влаги, количество сухой биомассы составит 8 т.

Дальнейшее улучшение искусственных кормов с целью повышения усвоения их биомассы [Желтов, Федоренко, 1980], а также совершенствование методов их подачи, например с помощью автокормушек конструкции В. В. Лавровского «по поедаемости» [Попов и др., 1980], вероятно, значительно сократят потери корма.

Использование отходов производства (8 т) позволит ежедневно выращивать 2—4 т сух. в-ва различных микробов. Полученная биомасса даст возможность культивировать различных водных беспозвоночных и получать их биомассу в следующих количествах (т сух. в-ва): только парамеций — около 1—2; только коловраток — 0,7—1, только ветвистоусых рачков — более 0,4—0,8 т.

Заводу, производящему рыбы 16 тыс. ц/год с 12 циклами получения личинок, необходимо около 300 тыс. личинок карпа в одном цикле. По нашим расчетам, для их выращивания ежедневно требуется 7,5 кг живых кормов (35 руб./сут) в смеси с искусственным в течение 20 сут (табл. 27).

Ежесуточный расход микробного корма для водных беспозвоночных (парамеций, коловраток, ветвистоусых рачков) со-

Расчет объемов реакторов для выращивания живых кормов

Рацион	Расход корма, г в-ва/сут		Объем реактора для беспозвоночных, м ³	КПД биосинтеза культуры беспозвоночных	Расход микробов, г в-ва/сут		Объем реактора для микроорганизмов, м ³
	сырого	сухого			сырого	сухого	
1:							
Парамеции	750	75	0,04	40	562,5	187,5	0,02
Дафнии	4500	4500	9,00	20	6750,0	2250,0	0,30
Артемия	2250						
2:							
Парамеции	750	75	0,04	40	562,5	187,5	0,02
Дафнии	5250	525	10,00	20	7875,0	2625,0	0,30
Моины	1000	100	2,00	20	1500,0	500,0	0,05
3:							
Парамеции	7500	750	0,50	40	5625,0	1875,0	0,20
4:							
Коловратки	7500	750	0,5	30	7500,0	2500,0	0,30

Примечание. В одном цикле использовано 300 тыс. личинок; расход живых кормов — 25 мг/сут на личинку и 7,5 кг суммарный.

ставит около 7 кг. Остальная микробная масса может быть использована для приготовления искусственных кормов (см. рис. 86).

Для обогащения искусственных кормов белковыми добавками за счет биомассы беспозвоночных часть микробов можно использовать для выращивания различных беспозвоночных (см. рис. 86).

Таким образом, способ непрерывного культивирования живых кормов позволит обеспечить живорыбные заводы с полициклическим методом производства личинок рыб в течение года. Применение технологии безотходного производства живой рыбы позволит сократить затраты на живые корма за счет использования отходов при условии дешевой технологии выделения их из воды.

Объемы реакторов для живых кормов в зависимости от рациона составят около 0,5—10 м³ для живорыбного завода, производящего рыбы 16 тыс. ц/год.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Различные методы выращивания беспозвоночных способствуют решению многих научных и практических задач. Классический метод периодического культивирования широко используется для изучения их биологии, влияния различных факторов на рост в индивидуальной и массовой культуре и т. д., а также в практике с целью выращивания живых кормов для молоди рыб. Вместе с тем он не позволяет выяснить такие вопросы, как зависимость роста культуры от постоянной концентрации субстрата, адаптация к заданной концентрации субстратов или ингибиторов, взаимоотношения в системе хищник — жертва и т. д. Эти и многие другие проблемы могут быть решены с помощью метода непрерывного культивирования, перспективного для исследования простейших из рубца. Сложные взаимодействия этих простейших и хозяев не изучены, на наш взгляд, из-за отсутствия непрерывной клональной культуры *in vitro*. Разработка данного метода будет способствовать выяснению роли простейших из рубца в замкнутых экологических системах как утилизаторов отходов автотрофного звена и как возможных источников пищи.

Метод особенно интересен в практическом плане. Непрерывное культивирование водных беспозвоночных как живых кормов на рыбоводных предприятиях с полициклическим способом производства личинок рыб позволит подрачивать молодь в любое время года в различных климатических зонах СССР.

Учитывая сложность организации рачков как биологического объекта с целью ликвидации непроизводительных расходов на кормление старых особей в условиях производства можно ввести временное использование одновозрастной культуры [Sorgeloos, Persoone, 1973] или каскадного метода [Шпет, 1965]. По нашему мнению, объединение этих двух способов позволит осуществить непрерывное производство биомассы рачков в непропорционально-проточном режиме.

Одновременно следует продолжить исследования по непрерывному отделению взрослых особей из популяции рачков, например, как это предложено нами, путем слива ее части из нижнего отдела реактора с садком, где находятся в основном взрослые рачки. Это даст возможность получать непрерывно

растущую культуру, длительно использовать один реактор.

Метод интенсивного непрерывного культивирования, вероятно, целесообразно совершенствовать по пути получения культуры с высокой плотностью и продуктивностью. В наших опытах максимальная плотность мюин достигала 147 экз./см³, или 6 кг/м³, что превышает отмеченные в природе (2,8 кг). Это оказалось возможным в условиях непрерывного обмена среды в плотной популяции, напоминающей «рой», непрерывной подачи свежего корма, круглосуточного освещения, создания оптимального газового режима с учетом этологического фактора. Оптимальные условия выращивания обеспечили непрерывный рост культуры мюин в течение опыта с плотностью 3 г/л и ежесуточной продуктивностью с садка 1,13 г/л, или 1,13 кг/м³.

Работающий в непрерывном режиме реактор можно использовать для получения и изучения непрерывной культуры различных рачков с высокой плотностью, а также в практических целях, например, для выращивания живых кормов в рыбоводных хозяйствах. Практика масштабного культивирования различных беспозвоночных с целью круглогодичного получения биомассы ставит вопрос о промышленной технологии. Непрерывное культивирование дает возможность получать выше продуктивность с единицы объема оборудования, однороднее продукт в силу стабильности процессов, оно легче поддается автоматизации, не зависит от сезона года.

Получение точных количественных характеристик (КПД биосинтеза популяции, расход корма на дочернюю особь) с помощью метода непрерывного культивирования создает предпосылки исследования трофических цепей, а также их создания на рыбоводных предприятиях. Одним из звеньев в такой трофической цепи должна быть, вероятно, хлорелла, так как она благоприятно влияет на газовый режим и обеспечивает хороший рост гидробионтов во втором звене трофической цепи: хлорелла — живые корма (коловратки, рачки) — рыбы и имеет большое значение как корм для личинок, находясь в кишечнике водных беспозвоночных [Фукусе и др., 1976].

Создание рыбоводных и других комплексов на теплых водах выдвинуло проблему очистки отработанных теплых вод. На большое значение простейших и других водных беспозвоночных в их очистке указывают Х. Кэрдс [Curds, 1975] и другие исследователи. Непрерывное выращивание позволяет создать сложные экологические системы для изучения их динамики и развития с целью прогнозирования процессов в искусственных водоемах, а также в системах очистки сточных вод и др.

Метод непрерывного культивирования беспозвоночных дает возможность получать биомассу с необходимым биохимическим составом жиров, углеводов, белков и набором аминокислот. Его можно рассматривать как одно из направлений научно-технического прогресса в искусственном рыборазведении, марикультуре и микробиологической технологии массового получения новых ценных продуктов животного происхождения.

ЛИТЕРАТУРА

- Акимов В. А.** Влияние дафний в рыбоводных прудах на численность бактерий и физико-химические характеристики воды.— В кн.: Прудовое рыбоводство М., 1973, с. 164—165.
- Аладин Н. В.** Морфо-физиологические адаптации морских ветвистоусых ракообразных. Автореф. канд. дис. Л., 1979. 23 с.
- Амелина Л. Г.** Питание молоди карповых рыб в пойменных водоемах дельты р. Волги.— Труды ВНИРО, 1941, т. 16, с. 119—132.
- Андреева Р. И., Кокова В. Е.** Аминокислотный состав парамеций в сравнении с одноклеточными автотрофами в непрерывной культуре.— Микробиол. пром., 1974, № 3 (111), с. 33.
- Антипчук А. Ф., Кражан С. А., Литвинова Т. Г., Мушак П. А.** Использование хлореллы при выращивании ветвистоусых ракообразных (*Daphnia magna*) в замкнутых системах.— Рыбное хоз-во, 1979, № 28, с. 44—49.
- Аскеров М. К.** К вопросу разведения *Moina rectirostris* Leydig в качестве живого корма для осетровых рыб.— Учен. зап. Азерб. ун-та им. С. М. Кирова, 1955, № 7, с. 59—62.
- Аскеров М. К.** Разведение *Moina rectirostris* в качестве живого корма молоди осетровых рыб.— Изв. АН АзССР, 1957, № 1, с. 127—139.
- Аскеров М. К.** Культивирование дафний в течение круглого года.— Учен. зап. Азерб. ун-та им. С. М. Кирова, 1958, № 5, с. 73—83.
- Аскеров М. К.** Перспективы массового разведения мoinны *Moina macroscopa* Straus как корма для молоди осетровых и лососевых рыб.— Учен. зап. Азерб. ун-та им. С. М. Кирова, 1959, № 3, с. 19—31.
- Аскеров М. К.** Биотехника разведения живых кормов на Куринском экспериментальном осетровом заводе.— В кн.: Материалы совещания по вопросам рыбоводства. М., 1960, с. 194—199.
- Аскеров М. К.** Комбинированный метод разведения дафний для молоди осетровых рыб.— Учен. зап. Азерб. ун-та им. С. М. Кирова, 1965, № 3, с. 43—48.
- Аскеров М. К.** Разработка биотехники разведения новых мелких видов живых кормов (коловраток) для молоди осетровых рыб.— Труды ЦНИИ осетрового хоз-ва, 1972, № 4, с. 228—234.
- Баранова В. Н.** Элементы биотехники выращивания личинок карпа на живых кормах.— В кн.: Всесоюзное совещание по рыбохозяйственному использованию теплых вод энергетических объектов. М., 1975, с. 26—28.
- Баранова В. П., Галкина З. И., Сахаров А. И., Конрадт А. Г.** Методические указания по выращиванию ранней молоди карпа в тепловодных хозяйствах на водоемах — охладителях ГРЭС. Л., 1979. 10 с.
- Белозерский А. Н., Проскуряков Н. И.** Практическое руководство по биохимии растений. М., 1951. 188 с.
- Бенинг А.** Кладоцера Кавказа. Тбилиси, 1941. 384 с.
- Богатова И. Б.** Опыт разведения планктонного корма для молоди осетровых.— Труды Саратов. отд. Касп. фил. ВНИРО, 1951, т. 1, с. 148—163.

- Богатова И. Б.** Культивирование дафний и *Chydorus sphaericus* на Выгском рыбноводном заводе.— Труды ВНИИ прудового рыбного хоз-ва, 1963, т. 12, с. 169—177.
- Богатова И. Б.** Питание планктонных ракообразных синезелеными водорослями.— Сб. науч.-техн. информ. ВНИРО, 1964, т. 3, с. 19—22.
- Богатова И. Б.** Значение синезеленых водорослей в питании дафний и диатомусов.— В кн.: Вопросы гидробиологии. М., 1965, с. 36.
- Богатова И. Б.** Питание сеголетков карпа в прудах и пищевое значение коловраток.— Труды ВНИИ прудового рыбного хоз-ва, 1969а, т. 16, с. 151—160.
- Богатова И. Б.** Оценка пищевого значения различных водорослей для *Daphnia magna* Straus и *Moina rectirostris* Leydig по корреляционным связям.— В кн.: Сб. по прудовому рыбноводству ВНИРО. М., 1969б, с. 57—61.
- Богатова И. Б.** Культивирование ветвистоусых ракообразных в садках на теплых водах. М., 1970, 24 с.
- Богатова И. Б.** *Daphnia magna* Straus как объект массового культивирования.— Труды ВНИИ прудового рыбного хоз-ва, 1971, т. 20, с. 98—124.
- Богатова И. Б.** Новые методы культивирования *Cladocera* — В кн.: Трофология водных животных. М., 1973а, с. 340—360.
- Богатова И. Б.** Биотехника и производственные результаты культивирования *Daphnia magna* Straus в зарыбленных выростных прудах.— В кн.: Прудовое рыбноводство. М., 1973б, с. 17—20.
- Богатова И. Б., Гусев Е. Е., Шмакова З. И.** Массовое получение науплиусов *Artemia salina* с использованием сухих яиц и активации перекисью водорода.— В кн.: Второе Всесоюзное совещание по использованию теплых вод ТЭС и АЭС для рыбного хозяйства. М., 1980, с. 13—14.
- Богатова И. Б., Ерофеева Ж. И., Козовкова Н. А., Тагирова Н. А.** Использование органического вещества сбросных сточных вод рыбноводных предприятий для выращивания живых кормов.— В кн.: Второе Всесоюзное совещание по использованию теплых вод ТЭС и АЭС для рыбного хозяйства. М., 1980, с. 15—16.
- Богатова И. Б., Лензо А. П.** Культивирование *Daphnia magna* Straus в садках на теплых водах.— В кн.: Рыбноводство в теплых водах СССР и за рубежом. М., 1969, с. 143—149.
- Богатова И. Б., Петрова Т. А.** Культивирование мoin в садках на теплых водах и подращивание на них личинок карпа и белого толстолобика.— В кн.: Второе Всесоюзное совещание по использованию теплых вод ТЭС и АЭС для рыбного хозяйства. М., 1980, с. 16—18.
- Богатова И. Б., Печникова Н. В.** Эффект последействия культивирования *Daphnia magna* Straus в зарыбленных выростных прудах.— В кн. Прудовое рыбноводство. М., 1973, с. 62—64.
- Богатова И. Б., Тагирова Н. А.** Продукция *Daphnia magna* Straus при культивировании в садках.— В кн.: Индустриальные методы рыбноводства. Вып. 1. М., 1972, с. 29—37.
- Богатова И. Б., Тагирова Н. А., Овинникова В. В.** Руководство по промышленному культивированию в садках планктонных животных для кормления личинок. М., 1974. 56 с.
- Богатова И. Б., Филатов В. И., Садыхов Д. Р.** Химический состав некоторых представителей пресноводного зоопланктона.— В кн.: Вопросы прудового рыбноводства. Вып. 6. М., 1971, с. 70—81.
- Богатова И. Б., Филатов В. И.** Культивирование мелких *Cladocera* при низких температурах.— В кн.: Прудовое рыбноводство. М., 1973, с. 68—69.
- Богатова И. Б., Щербина М. А., Овинникова В. В., Тагирова Н. А.** Химический состав некоторых планктонных животных при разных условиях выращивания.— Гидробиол. журн., 1971, № 5, с. 54—58.

- Богданова Л. С. Методика перевода личинок сига на активное питание.— Рыбное хоз-во, 1965, № 11, с. 10—11.
- Брискина М. М. Методика разведения низших ракообразных и гаммарид на Чайкендском рыбоводном заводе. Аннотация к работам, выполненным ВНИИ Морского рыбного хозяйства и океанографии в 1955 г. М., 1956, № 1, с. 5—9.
- Брискина М. М. Биотехника промышленного разведения дафний на Чайкендском рыбоводном лососевом заводе с применением в качестве удобрений кормовых дрожжей.— Аннотация к работам, выполненным ВНИИ Морского рыбного хозяйства и океанографии (ВНИРО) в 1956 г. М., 1958, № 3, с. 38, 39.
- Брискина М. М. Способы обеспечения живыми кормами молоди рыб.— В кн.: Материалы совещания по вопросам рыбоводства. М., 1960, с. 133—142.
- Брискина М. М., Журавлева Л. Г. Биотехника промышленного разведения дафний с применением в качестве удобрения кормовых дрожжей.— В кн.: Биотехника разведения дафний на рыбоводных заводах. Обмен передовым техническим опытом в рыбной промышленности. М., 1958, с. 6—28.
- Васильева Г. А. Исследование по экологии ветвистоусых в связи с выращиванием их как живого корма для рыб.— Труды Моск. технол. ин-та рыбной пром., 1959, т. 10, с. 88—138.
- Васильева Г. А., Окунева Г. А. Опыты по разведению коловратки *Brachionus rubens* Ehrbg как корма для молоди рыб.— Вопросы ихтиол., 1961, т. 1, вып. 4 (21), с. 752—761.
- Веригин Б. В. Возрастные изменения молоди толстолобика *Hypophthalmichthys molitrix* (val) в связи с ее биологией.— В кн.: Труды Амурской ихтиологической экспедиции 1945—1949 гг. Т. 1. М., 1950, с. 303—318.
- Винберг Г. Г. Энергетический принцип изучения трофических связей и продуктивность экологических систем.— Зоол. журн., 1962, т. 41, вып. 11, с. 1618—1630.
- Винберг Г. Г. Некоторые общие соотношения между биомассой планктонных фильтраторов и их пищи.— Гидробиол. журн., 1974, т. 10, № 5, с. 109—112.
- Винберг Г. Г., Алимов А. Ф., Галковская Г. А. и др. Успехи и состояние изучения обмена, роста, питания и продукции беспозвоночных животных.— Гидробиол. журн., 1973, т. 9, № 3, с. 123—129.
- Владимирова Т. М. К биологии *Rotatoria rotatoria* (Pallas) (Rotatoria, Bdelloidea).— Информ. бюл. «Биол. внутр. вод», 1978, т. 40, с. 31—34.
- Владимирова Т. М. К биологии *Philodina Roseola* Ehrebg. (Rotatoria, Bdelloidea).— Информ. бюл. «Биол. внутр. вод», 1979, т. 41, с. 44—47.
- Волкова Л. В. Значение смешанного питания для развития личинок пеляди.— Докл. АН БССР, 1963, т. 7, № 4, с. 274—276.
- Волкова Л. А. Влияние освещенности на доступность кормовых организмов некоторым видам рыб оз. Байкал.— Вопр. ихтиол., 1973, т. 13, вып. 4 (81), с. 709—722.
- Воноков И. К. Питание мальков карповых в дельте р. Волги.— Труды Каспийского бассейнового фил. ВНИРО, 1952, т. 12, с. 121—150.
- Владимиров В. И. Критические периоды развития рыб.— Вопр. ихтиол., 1975, т. 15, вып. 6 (95), с. 955—975.
- Вьюшкова В. П. Зоопланктон как источник живых кормов в промышленном рыбоводстве.— Рыбное хоз-во, 1978, № 11, с. 21—23.
- Гавлена Ф. Выращивание водорослевых и дафниевых кормов для нужд рыбного хозяйства. Автореф. канд. дис. М., 1955. 13 с.
- Гаевская Н. С. О методах выращивания живого корма для рыб.— Труды Моск. технол. ин-та рыбной пром. и хоз-ва им. А. И. Микояна, 1941, вып. 3, с. 3—16.

- Гаевская Н. С. Опыт установления кормового коэффициента водорослевого корма для *Daphnia magna* в полевых условиях.— Зоол. журн., 1945, т. 24, вып. 2, с. 79—89.
- Гаевская Н. С. Трофологическое направление в гидробиологии, его объект, некоторые основные проблемы и задачи.— В кн.: Сб. памяти акад. Зернова С. А. М., 1948, с. 27—47.
- Гаевская Н. С. О пищевой элективности животных фильтраторов.— Труды Всесоюз. гидробиол. о-ва, 1949, т. 1, с. 159—174.
- Галасун Т. П., Желтов Ю. А. Тепловодное бассейновое хозяйство донрыбкомбината при Мироновской ГРЭС.— В кн.: Всесоюзное совещание по рыбохозяйственному использованию теплых вод энергетических объектов. М., 1975, с. 70—72.
- Галковская Г. А. Об использовании пищи на рост и об условиях максимального выхода продукции коловратки *Brachionus calyciflorus* Pallas.— Зоол. журн., 1963, т. 42, вып. 4, с. 506—512.
- Галковская Г. А. К вопросу питания планктонных коловраток.— Докл. АН БССР, 1963, т. 7, № 3, с. 202—205.
- Галковская Г. А. Утилизация водорослей фитопланктона планктонными коловратками.— В кн.: Вопросы гидробиологии. М., 1965, с. 87—88.
- Галковская Г. А. Влияние концентрации пищи на ее усвоение коловраткой *Brachionus calyciflorus* Pallas.— Труды Белорусск. НИИ рыбного хоз-ва, 1972а, т. 8, с. 104—109.
- Галковская Г. А. Методы определения продукции планктонных коловраток.— Труды Белорусск. НИИ рыбного хоз-ва, 1972б, т. 8, с. 98—104.
- Галковская Г. А., Еремова Н. Г., Митянина И. Ф., Семенюк Г. А. Теоретические основы создания непрерывных массовых культур кормовых планктонных организмов (дафний и коловраток). Минск, 1979. 45 с.
- Горский В. М. Действие повреждающих факторов на *Paramecium caudatum* в зависимости от их агрегации.— Цитология, 1962, т. 4, № 3, с. 353—358.
- Гутельмахер Б. Л., Алимов А. Ф. Количественные закономерности фильтрационного питания водных животных.— В кн.: Общие основы изучения водных экосистем. Л., 1979, с. 57—77.
- Догель В. А. Общая протистология. М., 1951. 603 с.
- Деш Н. Д. Способ размножения дафний для корма рыбных мальков.— Вестн. рыбопром., 1889, № 1, с. 83—85.
- Догель В. А. Monographie der Familie ophryoscolecidae.— Arch. Prot., 1927, Bd 59.
- Есипова М. А. О возможности использования детрита в качестве корма при культивировании *Simocephalus vetulus* (O. F. Muller).— В кн.: Рыбоводство в теплых водах СССР и за рубежом. М., 1969, с. 149—161.
- Есипова М. А. Рост и развитие популяции *Daphnia magna*, *D. pulex*, *D. longispina* при питании детритом.— Труды ВНИИ прудового рыбного хоз-ва, 1971, т. 20, с. 125—130.
- Желтов Ю. А., Федоренко В. А. Результаты испытаний новой рецептуры кормосмесей с разным соотношением животных, растительных и микробиологического синтеза компонентов для выращивания товарного карпа в садках и бассейнах.— В кн.: Второе Всесоюзное совещание по использованию теплых вод ТЭС и АЭС для рыбного хозяйства. М., 1980, с. 28—29.
- Заринская Е. А. Выращивание молоди осетровых и разведение корма для них.— Труды ВНИРО, 1939, т. 8, с. 3—26.
- Ивлев В. С. Состояние и задачи научно-исследовательской работы в области выращивания молоди лососевых рыб.— В кн.: Труды V научной конференции по изучению внутренних водоемов Прибалтики. Минск, 1959, с. 151—161.

- Ивлева И. В.** Биологические основы и методы массового культивирования кормовых беспозвоночных. М., 1969, с. 1—170.
- Ивлев В. С.** Экспериментальная экология питания рыб. Киев, 1977. 272 с.
- Имщенецкий А. А.** Микробиология целлюлозы. М., 1953. 438 с.
- Иванов А. В., Полянский Ю. А., Стрелков А. А.** Большой практикум по зоологии беспозвоночных. Ч. 1. М., 1958.
- Иерусалимский Н. Д.** Основы физиологии микробов. М., 1963. 242 с.
- Иерусалимский Н. Д.** Принципы регулирования скорости роста микроорганизмов.— В кн.: Управляемый биосинтез. М., 1966, с. 5—7.
- Исакова-Кео М. М.** Особенности пищеварения туфельки при питании водорослями на прямом солнечном свете.— Зоол. журн., 1946, т. 25, вып. 6, с. 571—572.
- Камлюк Л. В.** Эффективность биотической трансформации энергии в нагульных карповых прудах.— В кн.: Общие основы изучения водных экосистем. Л., 1979, с. 246—257.
- Кастальская-Карзинкина М. А.** Материалы по питанию дафний.— Зоол. журн., 1942, т. 21, вып. 4, с. 153—163.
- Ковалева Н. Е.** Влияние температуры на пищеварительную функцию инфузорий *Paramecium caudatum*, облученных рентгеновскими лучами.— В кн.: Морфология и физиология простейших. М.—Л., 1963, с. 133—144.
- Ковалева П. М.** Питание личинок сига в Чудском озере.— В кн.: Вопросы гидробиологии. М., 1965, с. 213—214.
- Ковров Б. Г., Черепанов О. А., Штоль А. А., Шугалов В. С.** Одноклеточные водоросли как промышленная культура.— Микробиол. промышл., 1973, № 1, с. 9—15.
- Кожов М. М.** Животный мир озера Байкал. Иркутск, 1947. 303 с.
- Кожин Н. И.** Проблема разведения живых кормов для молоди рыб.— Труды проблемных и тематических совещаний ЗИН, 1957, вып. 7, с. 78—81.
- Кокова В. Е.** Возможности увеличения удельной скорости роста культуры *Paramecium caudatum* при непропорционально-проточном культивировании.— Цитология, 1974, т. 16, № 1, с. 82—87.
- Кокова В. Е., Андреева Р. И., Трубочев И. П.** Биохимический состав парамедий, выращенных в непрерывной культуре.— В кн.: Управление биосинтезом организмов. Красноярск, 1973, с. 209—210.
- Кокова В. Е., Лисовский Г. М.** Непропорционально-проточная культура простейших. Новосибирск, 1976, с. 1—74.
- Кокова В. Е., Лисовский Г. М.** Питание *Paramecium caudatum* хлореллой.— Изв. СО АН СССР, 1968, № 15. Сер. биол.-мед. наук, вып. 3, с. 107—109.
- Кокова В. Е., Лисовский Г. М.** Влияние скорости протока среды на плотность, продуктивность и удельную скорость роста культуры *Paramecium caudatum*.— Цитология, 1972, т. 14, № 4, с. 516—523.
- Кокова В. Е., Лисовский Г. М.** Непропорционально-проточная культура простейших. Новосибирск, 1976, с. 1—74.
- Кокова В. Е., Пак С. В.** Непропорционально-проточная культура *Blepharisma undulans*.— Изв. СО АН СССР, 1973, № 5. Сер. биол. наук, вып. 1, с. 12—14.
- Кокова В. Е., Пак С. В., Белоголовкин В. М.** Непропорционально-проточная культура моин.— В кн.: Рыбохозяйственное использование теплых вод энергетических установок. Л., 1975, с. 54—56.
- Коновалов П. М.** Дафнии в условиях Аральского моря.— Природа, 1956, № 5, с. 105—106.
- Конрадт А. Г., Смирнов С. В., Кузнецов В. В., Светлицкий А. С.** О некоторых путях генерации теплых вод при их рыбохозяйственном использовании.— В кн.: Всесоюзное совещание по рыбохозяйственному использованию теплых вод энергетических объектов. М., 1975, с. 126—128.

- Конец В. А.** Культивирование *Daphnia magna* Straus в сетчатых садках.— Труды АзНИИРХ, 1961, вып. 4, с. 142—144.
- Корнеев А. Н., Корнеева Л. А., Фарберов В. Г.** К вопросу о нормировании водопотребления при бассейновом выращивании товарного карпа на теплых водах.— В кн.: Всесоюзное совещание по рыбохозяйственному использованию теплых вод энергетических объектов. М., 1975, с. 66—68.
- Корнева Л. А., Титарева Л. Н., Корнеев А. Н.** Испытание эффективности различных кормосмесей при подращивании личинок карпа в садках на теплых водах ГРЭС.— В кн.: Индустриальные методы рыбводства. М., 1972, вып. 1, с. 60—66.
- Корниенко Г. С.** Культивирование инфузорий для растительноядных рыб.— В кн.: Материалы Всесоюзного совещания по культивированию живых кормов. М., 1970, с. 110—124.
- Корниенко Г. С.** Роль инфузорий в питании личинок растительноядных рыб.— Вопросы ихтиол., 1971, т. 11, вып. 2 (67), с. 303—310.
- Корниенко Г. С.** Инфузории в составе планктона естественных водоемов Кубани.— Гидробиол. журн., 1972, т. 8. № 4, с. 16—26.
- Корниенко Г. С.** Повышение естественной кормовой базы мальковых прудов зоны Северного Кавказа.— В кн.: Прудовое рыбоводство. М., 1973, с. 73—75.
- Коровина В. М., Максимова Л. П., Лебедева Л. И., Бурмакина Т. Н.** Зависимость роста и развития личинок волховского сига (*Coregonus Lavaretus* Vaeri Kessler) от срока перевода их на активное питание в разных температурных условиях.— Изв. Гос. науч.-исслед. ин-та озерного и речного рыбного хозяй-ва, 1968, т. 67, с. 136—164.
- Кражан С. А., Антипчук А. Ф.** Методические рекомендации по культивированию некоторых видов зоопланктона на отработанных теплых водах энергетических объектов. Львов, 1978. 12 с.
- Крисс А. Е., Асеман А. В.** Микроорганизмы как пища рыб.— Докл. АН СССР, 1955, т. 105, № 3, с. 606—609.
- Крючкова Н. М.** Использование пищи на рост *Moina rectirostris* Leydig.— Зоол. журн., 1967, т. 46, вып. 7, с. 1030—1036.
- Крючкова Н. М.** Рост и скорость потребления кислорода у некоторых видов ветвистоусых ракообразных при разных трофических условиях.— В кн.: Энергетические аспекты роста и обмена водных животных. Киев, 1972, с. 89—90.
- Крючкова Н. М.** О составе пищи и размере пищевых частиц, потребляемых планктонными животными-фильтраторами.— Гидробиол. журн., 1974, т. 10, № 3, с. 117—123.
- Крючкова Н. М.** Продолжительность постэмбрионального развития ветвистоусых раков и трофические условия.— В кн.: Общие основы изучения водных экосистем. Л., 1979, с. 89—99.
- Крючкова Н. М., Кондратюк В. Г.** Зависимость скорости фильтрационного питания от температуры у некоторых представителей отряда ветвистоусых ракообразных.— Докл. АН СССР, 1966, т. 10, № 2, с. 120—123.
- Крючкова Н. М., Рыбак В. Х.** Рост *Daphnia magna* Straus в среде, обогащенной растворенными органическими веществами.— Гидробиол. журн., 1976, т. 12, № 2, с. 62—66.
- Крылова А. Г.** Выращивание коловраток в земляных прудах.— В кн.: Полезные и вредные животные Краснодарского края. Краснодар, 1972, с. 28—35.
- Кулагин Н. М.** К биологии инфузорий. М., 1900.
- Курихара Я.** Исследования простейших рудца жвачных. Сообщение 1. История и обзор.— Сэйбуцу кагаку, 1970, т. 21, № 4, с. 161—167. На япон. яз.
- Кутикова Л. А.** Коловратки фауны СССР (Rotatoria). Л., 1970. 742 с.
- Кязимов И. Б.** Культивирование водных беспозвоночных на рыбоводных заводах Азербайджана.— В кн.: Материалы Всесоюзного совещания по культивированию живых кормов. М., 1970, с. 47—59.

- Ладыгина В. П., Печуркин Н. С.** Анализ поведения трехзвеного микробного ценоза с учетом непосредственного влияния 1-го звена на 3-е.— В кн.: Экспериментальное и математическое моделирование искусственных и природных экосистем. Красноярск, 1973, с. 98—99.
- Лензо А. П.** К биологии *Moina rectirostris* Leydig.— В кн.: Индустриальные методы рыбоводства. Вып. 1. М., 1972, с. 12—19.
- Лозина-Лозинский Л. К.** К физиологии питания инфузорий.— Изв. Науч.-исслед. ин-та им. Л. Ф. Лесгафта, 1929, т. 15, вып. 1—2, с. 91—136.
- Максимова Г. Д.** Исследования питания сеголетков чудского сига, пеляди, нельмы в Себежском сеговом питомнике.— В кн.: Вопросы гидробиологии. М., 1965, с. 274—275.
- Максимова Л. П.** Биология мойн и коловраток и их разведение в качестве живых кормов для личинок сиговых рыб.— Изв. ГосНИОРХ, 1968, т. 67, с. 107—135.
- Максимова Л. П.** Методические указания по разведению планктонного рачка *Moina macroscopa* Straus. Л., 1969. 22 с.
- Максимова Л. П., Волхонская Н. И., Есипова Н. В.** Культивирование мойны для личинок рыб, выращиваемых на теплых водах.— В кн.: Всесоюзное совещание по рыбохозяйственному использованию теплых вод энергетических объектов. М., 1975, с. 45—46.
- Максимова Л. П., Волхонская Н. И., Есипова Н. В.** Усовершенствование методики культивирования мойны (*Moina macroscopa* Straus).— Рыбохозяйственное изучение внутр. водоемов, 1978, № 23, с. 47—50.
- Максимова Л. П., Лебедева Л. И., Коровина В. М.** Опыт подращивания личинок сиговых рыб с применением живых кормов.— В кн.: Вопросы гидробиологии. М., 1965, с. 279.
- Максимова Л. П., Романова А. П.** Зависимость между развитием бактериопланктона и продукцией мойны при выращивании ее в качестве живого корма.— В кн.: Биологические исследования на внутренних водоемах Прибалтики. Минск, 1973, с. 49—52.
- Макрушин А. В.** Состояние ичника эфиппидных самок некоторых видов *Cladocera*.— Изв. ГосНИОРХ, 1968, т. 67, с. 365—368.
- Малек И.** Непрерывное культивирование микроорганизмов. М., 1968.
- Маликова Е. М.** Пищевая ценность некоторых беспозвоночных как корма для рыб.— Биохимия, 1956, т. 21, вып. 2, с. 173—181.
- Мамаева Н. В.** Планктонные инфузории Ивановского водохранилища.— Зоол. журн., 1976, т. 55, № 5, с. 657—664.
- Мамаева Н. В.** Инфузории бассейна Волги. Л., 1979. 149 с.
- Мануйлова Е. Ф.** Ветвистоусые рачки фауны СССР. М., 1964. 233 с.
- Мельникова В. А., Баснакьян И. А.** Периодическое культивирование как основа прогнозирования некоторых аспектов непрерывного культивирования микроорганизмов.— Микробиол., 1976, т. 5, с. 76—91.
- Методические рекомендации по биологической оценке продуктов животноводства и кормов с использованием тест-организма тетрахимена пириформис. М., 1977. 15 с.**
- Мирошвиченко М. П., Баранова В. П.** Развитие планктона и бентоса и условия питания молоди осетровых в прудах Волгоградского осетрового рыбозводного завода.— В кн.: Вопросы гидробиологии. М., 1965, с. 293—294.
- Мордухай-Болтовская Э. Д.** Материалы по биологии инфузорий Рыбинского водохранилища.— Труды Ин-та биол. внутр. вод АН СССР, 1965, вып. 8 (11), с. 3—11.
- Мотидзуки Т. и др.** Исследование вопросов разведения зоопланктонных животных. Сообщения I—III.— Суйсан дзосёку, 1978, т. 25, № 4, с. 134—144. На япон. яз.

- Никольский Г. В.** О теории динамики численности популяции водных организмов.— В кн.: Вопросы гидробиологии. М., 1965, с. 311—312.
- Никольский Г. В.** Экология рыб. М., 1974. 367 с.
- Овинникова В. В.** К вопросу культивирования коловратки *Brachionus calyciflorus* Pallas.— В кн.: Материалы Всесоюзного совещания по культивированию живых кормов. М., 1970, с. 72—108.
- Овинникова В. В.** Получение маточной культуры *Brachionus calyciflorus* Pallas.— В кн.: Прудовое рыбоводство. М., 1973, с. 203—232.
- Овинникова В. В., Глазачева И. В.** Интенсивность питания и продукция *Brachionus calyciflorus* Pallas при разных концентрациях кормовых микроводорослей.— В кн.: Индустриальные методы рыбоводства. Вып. 1. М., 1972, с. 171—180.
- Овинникова В. В., Орлова З. И.** Продукция *Daphnia magna* Straus при ее культивировании в выростных прудах Латвийской ССР.— В кн.: Материалы Всесоюзного совещания по культивированию живых кормов. М., 1970, с. 174—182.
- Одум Ю.** Основы экологии. М., 1975. 740 с.
- Онодэра Р., Кандацу М.** Аминокислотный и белковый обмен у ресничных желудка жвачных животных. Сообщение V. Изучение искусственного буферного раствора, необходимого для обнаружения азотистых соединений.— Нихон Тикусан гаккайхо, 1970, т. 41, № 7, с. 343—348. На япон. яз.
- Орлова З. И.** Раннее культивирование *Daphnia magna* Straus в нерестовых прудах Новгородской области.— В кн.: Прудовое рыбоводство. М., 1973, с. 65—67.
- Остроумова И. Н., Князева Л. М., Турецкий В. И.** О кормлении личинок карпа в условиях теплых вод.— Рыбное хоз-во, 1979, № 3, с. 17—20.
- Остроумова И. Н., Турецкий В. И., Ильина И. Д.** Физиологические основы кормления личинок рыб.— В кн.: Второе Всесоюзное совещание по использованию теплых вод ТЭС и АЭС для рыбного хозяйства. М., 1980а, с. 82—83.
- Остроумова И. Н., Турецкий В. И., Иванов Д. И., Деметьева М. А.** Полноценный стартовый корм для личинок карпа в условиях теплых вод.— Рыбное хоз-во, 1980б, № 6, с. 41—44.
- Павлович Г. М., Павлович А. В.** Культивирование живых кормов в условиях Восточной Сибири.— Рыбное хоз-во, 1978, № 11, с. 23—25.
- Павлютин А. П.** Пищевая ценность детрита для водных животных.— В кн.: Общие основы изучения водных экосистем. Л., 1979, с. 106—113.
- Панов Д. А., Сорокин Ю. И., Мотенкова Л. Г.** Экспериментальное изучение питания молоди толстолобиков.— Вопросы ихтиол., 1969, т. 9, вып. 1 (54), с. 138—152.
- Панов Д. А., Сорокин Ю. И., Мотенкова Л. Г.** Усвоение растительных и животных кормов молодью белого амура и белого толстолобика.— В кн.: Сб. по прудовому рыбоводству. М., 1969, с. 153—158.
- Печень-Финенко Г. А.** Продукция ветвистоусых ракообразных озерного планктона. Автореф. канд. дис. Минск, 1965. 15 с.
- Печень-Финенко Г. А.** Усвояемость пищи у планктонных ракообразных.— В кн.: Общие основы изучения водных экосистем. Л., 1979, с. 78—88.
- Пикульский В. Г.** Опыт проектирования рыбоводных хозяйств на теплых водах.— В кн.: Второе Всесоюзное совещание по использованию теплых вод ТЭС и АЭС для рыбного хозяйства. М., 1980, с. 87—88.
- Покровский А. А., Сомин В. И.** Аминокислотный состав некоторых одноклеточных организмов.— В кн.: Медико-биологические исследования углеводородных дрожжей. М., 1972, с. 103—109.

- Полканов Ф. П. Комнатная культура живородки.— Рыбоводство и рыболовство, 1975, № 4, с. 47—48.
- Полянский Ю. И., Стрелков А. А. О влиянии фауны инфузорий рубца на рост жвачных.— Труды Петергофск. биол. ин-та, 1935, № 13-14, с. 68—87.
- Полянский Ю. И. Температурные адаптации у инфузорий.— Зоол. журн., 1957, т. 36, № 11, с. 1630—1646.
- Пономарев П. И., Рубцов И. Д., Сальников М. В., Безруких В. И. Установка для непрерывного культивирования водородных бактерий.— В кн.: Непрерывная культура водородокисляющих бактерий как средство биосинтеза белка. Красноярск, 1974, с. 26—38.
- Посадская М. Н., Трубачев И. Н., Вебер М. И. Аэробное разложение соломы в микробном культиваторе периодического действия.— Изв. СО АН СССР, 1976, № 5, Сер. биол. наук, вып. 1, с. 62—66.
- Попов Е. П., Богданова Л. К., Гоник А. С. Выращивание двухлетков карпа на сбросных подогретых водах Киришской ГРЭС с применением автокормушек.— В кн.: Второе Всесоюзное совещание по использованию теплых вод ТЭС и АЭС для рыбного хозяйства. М., 1980, с. 88—89.
- Пятаков М. А. По поводу сезонного изменения плодовитости у ветвистоусых.— Зоол. журн., 1956, т. 35, № 12, с. 1814—1819.
- Работнова И. Л., Позмогова И. Н. Хемостатное культивирование и ингибирование роста микроорганизмов. М., 1979. 206 с.
- Родина А. Г. Экспериментальное исследование дафний.— Труды Всесоюз. гидробиол. о-ва, 1950, т. 2, с. 169—193.
- Ройс В. Ф. Введение в рыбохозяйственную науку. М., 1975. 272 с.
- Романычева О. Д. Разведение дафний при помощи сетчатых садков.— Рыбное хоз-во, 1963, № 3, с. 15—17.
- Смирнов Н. Н. Зоология беспозвоночных. Т. 3. Биология ветвистоусых ракообразных, 1975, 117 с.
- Спекторова Л. В. Выращивание живых кормов для личинок морских рыб.— Рыбное хоз-во, 1971, № 11, с. 14—15.
- Спекторова Л. В., Аронович Т. М. Еще раз о живых кормах для личинок морских рыб.— Рыбное хоз-во, 1973, № 3, с. 16—17.
- Спекторова Л. В., Аронович Т. М., Аронов М. П. Плотность популяции коловраток в зависимости от концентрации корма и солености воды.— Гидробиол. журн., 1975, т. 11, № 1, с. 39—45.
- Спекторова Л. В., Дорошев С. И., Попова В. П. Опыты по искусственному разведению черноморской камбалы-калкана.— Рыбное хоз-во, 1975, № 5, с. 25—27.
- Спекторова Л. В., Силкин В. А., Горонкова О. И., Савчук-Вижевский В. И. Разведение живых кормов в аквакультуре.— Рыбное хоз-во, 1980, № 2, с. 34—37.
- Спириин А. С. Спектрофотометрическое определение суммарного количества нуклеиновых кислот.— Биохимия, 1958, т. 23, с. 650—656.
- Стариков П. С., Топорков И. Г., Норенко Д. С. О выращивании молоди омуля в рудах Большереченского рыбоводного завода.— Изв. Биол-геогр. НИИ при Иркутск. ун-те, 1965, т. 18, вып. 1—2, с. 62—69.
- Статкевич П. Г. К методике биологических исследований над протистами. Новые методы разводов протистов и наблюдения их движения. М., 1903.
- Степанова Г. М. О возрастных различиях биохимического состава *Daphnia magna* Straus и *Ceriodaphnia affinis* Lill.— В кн.: Материалы конференции молодых ученых Молдавии. Кишинев, 1967, с. 27—28.
- Степанова Г. М. Химический состав и пищевая ценность некоторых видов *Daphniidae*.— Изв. АН СССР. Сер. биол. и хм. наук, 1968, № 1, с. 55—57.
- Стерлигов А. В. Рост молоди сига в озерных питомниках Карелии.— Рыбное хоз-во, 1975, № 4, с. 22—23.

- Сун Да Сян. В культивировании *Daphnia magna*.— Дунью сюэбао, 1962, т. 14, № 1, с. 49—62.
- Суханова К. М. Температурные адаптации у простейших. М., 1968. 266 с.
- Суханова Е. Р., Корниенко Г. С., Стрелова А. И. Разработка биотехники выращивания личинок толстолобиков и амуров до жизнестойких стадий.— Сб. науч.-тех. информ. Краснодар, 1969, вып. 1, с. 45—50.
- Сущенко Л. М. Количественные данные о фильтрационном питании планктонных рачков.— Науч. докл. высшей школы. Биол. науки, 1958, № 1, с. 16—20.
- Сущенко Л. М. Количественные закономерности питания в связи с обменом и ростом ракообразных.— В кн.: Энергетический обмен водных животных. М., 1973, с. 93—116.
- Сущенко Л. М. Количественные закономерности питания ракообразных. Минск, 1975. 205 с.
- Тагирова Н. А. Культивирование *Ceriodaphnia reticulata* (Jurine) в садках на теплых водах ГРЭС.— В кн.: Индустриальные методы рыбоводства. Вып. 1. М., 1972, с. 21—28.
- Тагирова Н. А. Биомасса и продукция мелких *Cladocera* в садках на теплых водах.— Труды ВНИИ прудового рыбного хоз-ва, 1975, т. 24, с. 115—119.
- Тагирова Н. А., Овинникова В. В., Филатов В. И. Опыт использования живого корма для выращивания личинок карпа в садках на теплых водах.— В кн.: Прудовое рыбоводство. М., 1973, с. 70—72.
- Терсков И. А., Войтович Я. В., Пономарев П. И. Перспективы использования культуры водородных бактерий как биогенеративного агента в СЖО.— В кн.: Управляемый биосинтез и биофизика популяций. Красноярск, 1969, с. 123—125.
- Терсков И. А., Гительзон И. И., Сидько Ф. Я. и др. Интенсивное непрерывное культивирование хлореллы в плотностатном режиме при различной освещенности.— В кн.: Управляемое культивирование микроводорослей. М., 1964, с. 55—84.
- Тугарина П. Я., Лыскова В. Н. Кормовой коэффициент и суточный рацион молоди байкальского бычка-желтокрылки в искусственных условиях.— В кн.: Вопросы гидробиологии. М., 1965, с. 422—423.
- Уломский С. Н. К экологии ракообразных и коловраток внутренних водоемов Крыма.— Труды Карадагской биол. станции АН СССР, 1955, вып. 13, с. 163—186.
- Филатов В. И. Количественные данные по питанию личинок карпа *Moina rectirostris* (Leydig).— В кн.: Вопросы прудового рыбоводства. М., 1971, с. 234—240.
- Филатов В. И., Ширяев А. В. Пути использования сбросных теплых вод энергообъектов для выращивания рыбы.— В кн.: Второе Всесоюзное совещание по использованию теплых вод ТЭС и АЭС для рыбного хозяйства. М., 1980, с. 112—114.
- Фукусе К., Хара О., Ёсио Д. Массовое производство коловраток в больших емкостях с хлореллой и хлебными дрожжами.— Суйсан дзосёку, 1976, т. 23, № 3, с. 96—101. На япон. яз.
- Хаткевич В. Ф. Культивирование дафний и мoin в условиях интенсивного аквариумного хозяйства и некоторые эволюционные аспекты динамики численности животных.— В кн.: Материалы Всесоюзного совещания по культивированию живых кормов. М., 1970, с. 144—161.
- Хлебович Т. В. Количественные показатели питания инфузорий.— В кн.: Общие основы изучения водных экосистем. Л., 1979, с. 100—106.
- Цингер Я. А. Простейшие. М., 1947.
- Черняев Ж. А. Размножение и развитие байкальского озерного сига *Coregonus lavaretus baicalensis* Düb. в связи с вопросом его искусственного разведения.— Вопросы ихтиол., 1973, т. 13, вып. 2(79), с. 259—274.

- Шишкин Б. А., Волхонская Н. И., Галеева Т. И., Есипова Н. В. Обеспечение живыми кормами личинок карпа при весеннем их получении.— В кн.: Второе Всесоюзное совещание по использованию теплых вод ТЭС и АЭС для рыбного хозяйства. М., 1980, с. 123—124.
- Шкорбатов Г. Л., Уманская М. А., Бескровный А. М. Интенсивность потребления кислорода и некоторые особенности поведения личинок сиговых рыб.— Науч. докл. высш. школы. Биол. науки, 1959, № 4, с. 35—37.
- Шпет Г. И. Разведение дафний как живого корма в рыбоводстве.— Труды Украинского ин-та прудового и озерно-речного рыбного хоз-ва, 1950, т. 7, с. 72—106.
- Шпет Г. И. Производственный опыт разведения дафний как живого корма в рыбоводстве.— В кн.: Вопросы гидробиологии. М., 1965, с. 462—463.
- Шпет Г. И., Пидгайко М. Л. К сравнительной продуктивности водных беспозвоночных.— Гидробиол. журн., 1967, т. 3, № 6, с. 37—47.
- Штоль А. А., Мельников Е. С., Ковров Б. Г. Расчет и конструирование культиваторов для одноклеточных водорослей. Красноярск, 1976. 94 с.
- Щербина М. А. Переваримость и эффективность использования питательных веществ искусственных кормов у карпа. М., 1973. 131 с.
- Эрман Л. В. О количественной стороне питания коловраток.— Зоол. журн., 1956, т. 35, вып. 7, с. 965—971.
- Эрман Л. А. Новые лабораторные установки для культивирования коловраток и изучения их питания.— Науч. докл. высшей школы. Биол. науки, 1958, с. 11—15.
- Эрман Л. А. Об использовании трофических ресурсов водоемов планктонными коловратками.— Бюл. МОИП, 1962, т. 67, вып. 4, с. 32—47.
- Эрман Л. А. Питание коловраток. Автореф. канд. дис. М., 1963.
- Яковенко Е. Я. Физиологические аспекты влияния живого корма на рыб.— В кн.: Второе Всесоюзное совещание по использованию теплых вод ТЭС и АЭС для рыбного хозяйства. М., 1980, с. 126—127.
- Abou Akkada A. R., Shazly K. Effect of absence of ciliate protozoa from the rumen on microbial activity and growth of lambs.— Appl. Microbiol., 1964, v. 12, p. 384—390.
- Adler J. H., Dye J. A., Boggs D. E., Williams H. H. Growth of rumen microorganisms in an in vitro continuous — flow system on a protein — free diet.— Cornell Vet., 1958, v. 48, p. 53—66.
- Aloia Roland C., Moretti R. L. Sterile culture techniques for species of the rotifer *Asplanchna*.— Trans. Amer. Microsc. Soc., 1973, v. 92, N 3, p. 364—371.
- Albrecht M. L., Breitsprecher B. Untersuchungen über die chemische Zusammensetzung von Fischnährtieren und Fischfuttermitteln.— Zeitschrift für Fischerei, 1969, Bd 17, H. 1, S. 143—163.
- Allen E., Banta A. Groth and maturation in the partenogenetic and sexual eggs of *Moina macrocopa*.— J. Morphol. and Physiol., 1929, v. 48, N 1, p. 123—143.
- Anderson B. G. The number of pre-adult instars, growth, relative growth, and variation in *Daphnia magna*.— Biol. Bul., 1932, v. 63, N 1, p. 81—98.
- Anderson B. G., Jenkins J. C. A time study of events in the life span of *Daphnia magna*.— Biol. Bul., 1942, v. 83, N 2, p. 260—272.
- Appelbaum S., Dor U. Ten day experimental nursing of carp larvae with dry feed.— Bamidgen, 1978, v. 30, N 3, p. 85—89.
- Arato T., Joshio Jh. Effect of the ice water on the population growth of the water-flea *Moina macrocopa*, Straus.— Proceedings of the Imperial Acad., Tokyo, 1934, v. 10, N 10, p. 637.
- Balbani E. G. Studies sur l'action des sels sur les infusories.— Arch. d'anat. Microbiol., 1898, v. 2, p. 318—600.
- Banta A. M. The relation between previous sexual reproduction and the pro-

- duction of male offspring in *Moina macrocopa*.— The Amer. Naturalist, 1925, v. 59, N 660, p. 50—61.
- Banta A. M., Brown L. A.** Some data on control of sex in *Cladocera*. Eugenics genetics and the family.— In: Scientific papers of the second International Congress of Eugenics. V. 1. S. I., 1923, p. 142—149.
- Banta A. M., Stuart C. A.** The critical period for control of sex in *Moina*.— Proc. of the Soc. Exp. Biol. Med., 1932, v. 29, N 9, p. 1253—1255.
- Bellosillo G. C.** The biology of *Moina macrocopa* Straus with the special reference to artificial culture.— The Philippine J. of Sci. (Manila), 1937, v. 63, N 3, p. 307—348.
- Brown L. A.** The natural history of *Cladocerans* in relation to temperature. I. Distribution and the temperature limits for vital activities.— The Amer. Naturalist, 1929a, v. 63, N 686, p. 248—264.
- Brown L. A.** The natural history of *Cladocerans* in relation to temperature. II. Temperature coefficient for development.— The Amer. Naturalist, 1929b, v. 63, N 687, p. 364—352.
- Brown L. A.** The natural history of *Cladocerans* in relation to temperature. III. Preadaptation and despersal.— The Amer. Naturalist, 1929c, v. 63, N 688, p. 443—454.
- Browning I., Lockingen L. S.** Apparatus for stabilizing the chemical and physical environment of certain free-living cells.— Texas Repts Biol. and Med., 1953, v. 2, p. 200—206.
- Burns C. W.** Particle size and sedimentation in the feeding behaviour of two species of *Daphnia*.— Limnol. Oceanogr., 1969, v. 14, p. 392—402.
- Calkins G. N.** Studies on the life-history of *Protozoa*.— Arch. Entwicklungsmech. Organ, 1902, v. 15, p. 138—186.
- Chejfec M.** Die Lebensdauer von *Paramecium caudatum* in Abhängigkeit von der Nahrungsmenge.— Acta Biol. Exp. Exptl., 1929, Bd 4, S. 73—118.
- Cleveland L. R.** Symbiosis between termites and their intestinal *Protozoa*.— Proc. of the Natural Acad. of Sci. USA, 1923, v. 9, p. 424—428.
- Cleveland L. R.** The effects of oxygenation and starvation of the symbiosis between the termite *Termopsis* and its intestinal flagellates.— Biol. Bul., 1925, v. 48, p. 309—327.
- Coleman G. S.** Maintenance of oligotrich protozoa from the sheep rumen in vitro.— Nature, 1958, v. 182, p. 1104—1105.
- Coleman G. S.** The cultivation of sheep rumen oligotrich protozoa in vitro.— J. Gen. Microbiol; 1960, v. 22, p. 555—563.
- Coleman G. S.** The effect of penicillin on the maintenance of rumen Oligotrich protozoa.— Nature, 1960, v. 187, p. 88—90.
- Coleman G. S.** The preparation and survival of almost bacteriafree suspensions of *Entodinium caudatum*.— J. Gen. Microbiol., 1962, v. 28, p. 271—281.
- Coleman G. S.** The metabolism of starch, glucose, amino acids, purines, pyrimidines and bacteria by the rumen ciliate *Entodinium simplex*.— J. Gen. Microbiol., 1972, v. 71, p. 117—131.
- Coleman G. S.** The role of bacteria in the metabolism of rumen entodiniomorphid protozoa.— Symp. Soc. Exp. Biol., 1975, N 29, p. 533—558.
- Coleman G. S.** The metabolism of cellulose, glucose, and starch by the rumen ciliate protozoon *Eudiplodinium maggii*.— J. Gen. Microbiol., 1978, v. 107, p. 359—366.
- Coleman G. S., Laurie J. I.** The metabolism of starch, glucose, amino acids, purines, pyrimidines and bacteria by three *Epidinium* spp. isolated from the rumen.— J. Gen. Microbiol., 1974, v. 85, p. 244—256.
- Coleman G. S., Davies J. I., Cash M. A.** The cultivation of the rumen ciliates *Epidinium ecaudatum caudatum* and *Polyplastron multivesiculatum* in vitro.— J. Gen. Microbiol., 1972, v. 73, p. 509—521.
- Conklin D. E., Provasoli L.** Nutritional requirements of the water flea *Moina macrocopa*.— Biol. Bull., 1977, v. 152, p. 337—350.

- Continuous production equipment of rotifers.**—Technocrat, 1976, v. 9, N 3, p. 87.
- Cook J. B.** A continuous culture device for protozoan cells.—J. Protozool., 1968, v. 15, N 3, p. 452—455.
- Curds C. R.** Protozoa.—In: Ecological aspects of usedwater treatment. V. 1. L.—N. Y.—S—F, 1975, p. 203—268.
- Curds C. R., Bazin M. J.** Protozoan production in batch and continuous culture.—Adv. Aquat. Microbiol., 1977, v. 1, p. 115—176.
- Curds C. R., Cockburn A.** Continuous monoxenic culture of *Tetrahymena pyriformis*.—J. Gen. Microbiol., 1971, v. 66, p. 95—108.
- Curds C. R., Vandyke J. M.** The feeding habits and growth rates of some fresh-water ciliates found in activated-sludge plants.—J. Appl. Ecol., 1966, v. 3, p. 127—137.
- Darby H. H.** The effect of the hydrogen ion concentration on the sequence of protozoan forms.—Arch. Protistenk., 1929, v. 65, p. 1—37.
- Darby H. H.** Studies on the growth acceleration in Protozoa and yeast.—J. Exptl. Biol., 1930, v. 7, p. 308—316.
- Dehn M. V.** Experimentelle Untersuchungen über den Generations wechsel der *Cladoceren*. II. Cytologische Untersuchungen bei *Moina rectirostris*.—Chromosoma, 1948, Bd 3, H. 3, S. 167—194.
- Dougherty E. C., Solberg B., Harris L. G.** Synxenic and attempted axenic cultivation of rotifers.—Science, 1960, v. 132, p. 416—417.
- Ende P.** Predator-Prey interaktions in continuous culture.—Science, 1973, v. 181, N 4099, p. 562—564.
- Evans C. G., Herbert D., Tempest D. W.** The continuous culture of microorganisms. 2. Construction of a chemostat.—In: Methods in Microbiology, v. 2. L.—N. Y., 1970, p. 277—323.
- Everhart L. P.** Methods with Tetrahymena.—Jn.: N. Y.—L., Methods in cell physiology., 1972, v. 5, p. 219—288.
- Fanestil D. D., Barrows C. H.** Aging in the Rotifer.—J. of Gerontology, 1965, v. 20, p. 462—469.
- Finley H. E.** Cultivation of some Peritrichida.—Acta Protozool., 1966, v. 4, N 10, p. 67—74.
- Fries G.** Über die Einwirkung der V Tagesperiodik und der Einer von *Daphnia magna* Straus.—J. Morphol und Ökol. Tierre, 1964, Bd 53, H. 5, S. 475—516.
- Friz C. T.** The free-amino acid levels of *Pelomyxa carolinensis*, *Amoeba dubia* and *proteus*.—J. Protozool., 1968, v. 15, N 1, p. 149—152.
- Galtsoff P. S., Lutz T. E., Welch P., Needham J.** Culture methods for invertebrate animals. N. Y., 1959. 279 p.
- Gause G. F.** The struggle for existence. Baltimore, 1934.
- Gaw H. Z.** Physiology of the contractile vacuole in ciliates.—Arch. Protistenk., 1936, v. 87, p. 185—224.
- Goulden C. E.** The systematics and evolution of the Moinidae.—Trans. Amer. Phil. Soc. New. Ser., 1968, v. 58, Pt 6, p. 1—101.
- Grebecki A.** Experimental studies on the selection and adaptability in *Paramecium caudatum*.—Acta Biol. Exptl., 1961a, v. 21, p. 35—52.
- Grebecki A.** O stanach niedogoszczenia i przegeszenia w kulturach *Paramecium caudatum*.—Ekol. Polska, 1961b, A 9, N 8, p. 141—154.
- Green J.** Size and reproduction in *Daphnia magna* (Crustacea: Cladocera).—Proc. Zool. Soc. Sci. L., 1954, v. 124, Pt 3, p. 534—545.
- Green J.** Haemoglobin in the fat-cells of *Daphnia*.—Quart J. Microsc. Sci., 1955, v. 96, Pt 2, p. 173—176.
- Green J. A.** A biology of Crustacea.—In: Quadranglebook.—Chicago, 1961. 180 p.
- Greve W.** The «planktonkreisel», a new device for culturing zooplankton.—Marine Biol., 1968, v. 1, N 3, p. 201—203.
- Grobicka J., Wasilewska J.** Essei d'analyse chimique quantitative de L'infusoire *Paramecium caudatum*.—Trav. Inst. Nencki Warszawa, 1925, v. 3, p. 1—23.

- Grünewald M.** Über Veränderungen der Eibildung bei *Moina rectoris*.— Biol. Centralblatt, 1915, Bd 35, H. 8—9, S. 341—374.
- Halbach U., Halbach-Keup G.** Einfluß von Außenfaktoren auf den Fortpflanzungsmodus heterogoner Rotatorien.— Oecologia, 1972, Bd 9, H. 3, S. 203—214.
- Halbach U., Halbach-Keup G.** Quantitative Beziehungen zwischen Phytoplankton und der Populationsdynamik des Rotators *Brachionus calyciflorus* Pallas.— Archiv. für Hydrobiol., 1974, Bd 73, H. 3, S. 273—309.
- Hall R. P.** Protozoa nutrition. N. Y.— L.— Toronto, 1965, 83 p.
- Hall R. P.** Nutrition and growth of Protozoa.— In: Research in protozoology. V. 1. L., 1968, p. 337—401.
- Hamilton L., Hutner S. H., Provasoli L.** The use of Protozoa in analysis.— The Analyst, 1952, v. 77, p. 618—628.
- Harvey A. M.** A semi-continuous culture technique for *Daphnia pulex*.— J. Appl. Ecol., 1972, v. 9, N 3, p. 831—834.
- Harvey A. M.** Apparatus for semi-continuous culture of *Daphnia*.— Lab. Pract., 1973, N T-2, p. 114—115.
- Herbert M.** The tolerance of oxygen deficiency in the water by certain *Cladocera*.— Mem. inst. Ital. Hydrobiol., 1954, v. 8.
- Herwerden M. A.** Untersuchungen über die parthenogenetische und geschlechtliche Fortpflanzung von *Daphnia pulex*.— Verhandelingen der Koninklijke Acad. van Wetenschappen, Amsterdam, 1918, section 2, Bd 20, N 3, S. 1—30.
- Hino T., Kametaka M., Kandatsu M.** The cultivation of rumen Oligorich Protozoa. II. Growth of *Entodinia* in vitro.— J. Gen. Appl. Microbiol., 1973, v. 19(5), p. 325—327.
- Hirayama K., Kusano T.** Fundamental studies on Physiology of Rotifer for its Mass Culture. II. Influence of water temperature on population growth of Rotifer.— Bul. Jap. Soc. Sci. Fish., 1972, v. 38, N 12, p. 1357—1363.
- Hirayama K., Nakamura K.** Fundamental studies on the physiology of rotifers in mass culture. V. Dry chlorella powder as a food for rotifers.— Aquaculture, 1976, v. 8, N 4, p. 301—307.
- Hirayama K., Watanabe K.** Fundamental studies on physiology of rotifer for its mass culture. IV. Nutritional effect of yeast on population growth of Rotifer.— Bul. Jap. Soc. Sci. Fisch., 1973a, v. 39, N 11, p. 1129—1133.
- Hirayama K., Watanabe K.** Fundamental studies on physiology of Rotifer for its mass culture. III. Influence on phytoplankton density on population growth.— Bull. Jap. Soc. Sci. Fisch., 1973b, v. 39, N 11, p. 1123—1127.
- Hirayama K., Takagi K., Kimura H.** Nutritional effect of eight species of marine phytoplankton on population growth of the rotifer *Brachionus plicatilis*.— Nippon suisan gakkaiishi; Bul. Jap. Soc. Sci. Fish., 1979, v. 45, N 1, p. 11—16.
- Hjelm K. K.** A technique for cultivation of *Tetrahymena* in rotating bottles.— J. Exp. Cell. Res., 1970, v. 60(2), p. 191—198.
- Howell B. R.** The effect of unicellular algae of the growth of early larvae of the turbot (*Scophthalmus maximus* L.).— Fish. Improv. Comm., 1973, v. E, N 2, p. 6.
- Hungate R. E.** The rumen and its microbes. N. Y., 1966. 122 p.
- Hyman L. H.** The invertebrates. V. 3. N. Y., 1951.
- Ingle L., Wood T. R., Banta A. M.** A study of longevity, growth reproduction and heart rate in *Daphnia longispina* as influenced by limitations in quantity of food.— J. Exp. Zool., 1937, v. 76, p. 325—352.
- Johnson B. C., Hamilton T. S., Robinson W. B., Garvey J. C.** On the mechanism of non-protein nitrogen utilization by ruminants.— J. Animal. Sci., 1944, v. 3, p. 287—298.

- Jones E. P. *Paramecium* infusion histories.— Biol. Bul., 1929, v. 59, p. 275—284.
- Jones E. P. Concentrating *Paramecium* and rotifers without centrifuging.— Science, 1932, v. 75, p. 52.
- King C. E. Food, age and the dynamics of a laboratory population of rotifers.— Ecology, 1967, v. 48, p. 111—128.
- Kinne O., Wiley J., Sons. Marine ecology. A comprehensive, integrated treatise on life in oceans and coastal waters. P. 1. V. 3. Cultivations. L.— N. Y.— Sydney — Toronto, 1976. 577 p.
- Lansing A. I. Some effects on hydrogen ion concentration, total salt concentration calcium and citrate on longevity and fecundity of the rotifer.— J. of Exp. Zool., 1942, v. 91, p. 185—211.
- Lansing A. I. A transmissible, cumulative, and reversible factoroin aging.— J. of Gerontol., 1947, v. 2, p. 228—239.
- Lansing A. I. Evidence for aging as consequence for growth cessation.— Proc. of the Natur. Acad. Sci., 1948, v. 34, p. 304—310.
- Lee J. W. Paper chromatographic analysis of certain patterns in *Paramecia*.— Trans. Amer. Micr. Soc., 1956, v. 75, p. 228.
- Loefor J. B. Bacteria-life culture of *Paramecium bursaria* and concentration of the medium as a factor in growth.— J. Exp. Zool., 1936, v. 72, p. 161—172.
- Maupas E. Recherches experimentales sur la multiplication des infusoires cilies.— Arch. Zool. Exp. Gen., 1888, v. 6(2), p. 163—277.
- Mayer M. Kultur und Präparation der Protozoen. Stuttgart, 1956. 82 p.
- McArthur I. W., Baillie W. T. Metabolic activity and duration of life. 2. Metabolic rates and their relation to longevity in *Daphnia magna*.— Exp. Zool., 1929, v. 53, N 2, p. 221—242.
- McMahon J. N., Rigler F. H. Mechanism regulating the feeding rate of *Daphnia magna* Straus.— Can. J. Zool., 1963, v. 41, p. 321—332.
- Meadow N. D., Barrows C. H. Studies on aging in a Bdelloid Rotifer. II. The effects on various environmental conditions and maternal age on longevity.— J. of Gerontol., 1971a, v. 26, N 3, p. 302—309.
- Meadow N. D., Barrows C. H. Studies on aging in a Bdelloid Rotifer. I. The effect of various culture systems on longevity and fecundity.— J. Exp. Zool., 1971b, v. 176, p. 303—313.
- Michalowski T. Diurnal changes in concentration of rumen ciliates and in occurrence of dividing forms in water buffalo (*Bubalus bubalus*) fed once daily.— Appl. and Environ. Microbiol., 1977, v. 33, N 4, p. 802—804.
- Miller J. H., Kempner E. S. The molecular biology of *Euglena gracilis*. X. Amino acid composition of protein.— J. of Protozool., 1976, v. 23, N 3, p. 444—446.
- Monod J. La technique de culture continue. Theorie et application.— Ann. Inst. Pasteur, 1950, v. 79, p. 390.
- Morea I. Influence de la concentration en ions H sur la culture de quelques infusoires.— Compt. rend. Seances. Biol. et Ciliates, 1927, v. 97, p. 49—50.
- Mortimer G. Experimentelle und cytologische Untersuchungen über die Generationswechsel der Cladoceren.— Zool. Jahrbuch., Abt. allg. Zool., 1936, Bd 56, H. 3, S. 323—388.
- Mowry H. A., Backer E. R. Experiments on the biology of infusoria inhabiting the rumen of goats.— Iowa State Coll., J. Sci., 1930, v. 5, p. 35—59.
- Novick A., Szilard L. Distribution of the chenostat.— Science, 1950, v. 112, p. 715.
- Obreskove V., Fraser A. Growth and differentiation of *Daphnia magna* eggs in vitro.— Biol. Bul. Woods Hole, 1940, v. 78, N 3, p. 428—436.
- Padilla G. M., James T. W. Continuous Synchronous Cultures of Protozoa.— In: Methods in Cell Physiology. V. 1. N. Y.— L., 1964, p. 141—157.
- Papanicolau G. Experimentelle Untersuchungen über die Fortpflanzungsver-

haltnisse der Daphniiden (*Simocephalus vetulus* und *Moina rectirostris*).— Biol. Cen., 1910, Bd 30, N 21, S. 689.

- Pierre C., Roger P.** Photoperiodisme et cycle heterogonique chez certains rotifer monogonontes. I. Observations preliminaires chez *Notommata copeus*.— Arch. Zool. Exp. et Gen., 1972, v. 113, N 1, p. 41—50.
- Pierre C., Roger P.** Influence de la densite de population sur la production de femelles mictiques induites par la photoperiode chez *Notommata copeus* (Rotifere).— Acad. Sci., 1973, D276, N 24, p. 3151—3154.
- Pillarska J.** The dynamics of growth of experimental populations of the rotifer *Brachionus rubens* Ehrbg.— Pol. Arch. Hydrobiol., 1972, v. 19, N 3, p. 265—277.
- Pourriot Roger, Clement Pierre.** Influence de photoperiodisme sur l'apparition de phases de reproduction sexuee chez *Notommata copeus* (Rotifere): etude du spectre d'action de la limicre visible.— Acad. Sci., 1972, D274, N 3, p. 398—401.
- Prescott D. M.**— Change in physiological state of cell population as a function of culture growth and age.— Exp. Cell. Res., 1957, v. 12, N 1, p. 126—134.
- Proper G., Garver J. C.** Mass culture of the protozoa *Colpoda steinii*.— Biotechn. and Bioeng., 1966, v. 8, N 2, p. 287—296.
- Radzikowski S., Golembiński M.** *Chilodonella steinii* the ciliate specifically feeding on diatoms — routine culture method.— Suppl. J. of Protozool., 1977, v. 24, N 2, p. 27.
- Richman S.** The transformation of energy by *Daphnia pulex*.— Ecol. Monograph., 1958, v. 28, N 3, p. 273—320.
- Robertson T. B.** On some conditions affecting the viability of cultures of infusoria and the occurrence of allelocatalysis therein.— Austral. J. Exptl. Biol. and Med., 1927, v. 4, p. 1—23.
- Rosenbaum R. M., Wittner M.** The activity of intracytoplasmic enzymes associated with feeding and digestion in *Paramecium caudatum*.— Arch. f. Protistenk., 1962, Bd 106, H. 2, S. 223.
- Rothbard S.** Control of Euplotes sp. by formalin in growth tanks of *Chlorella* sp. used growth medium for the rotifer *Brachionus plicatilis* which serves as feed for hatchlings.— Bamidgen, 1975, v. 27, N 4, p. 100—109.
- Rougier C., Pourriot P.** Aging and control of the reproduction in *Brachionus calyciflorus* Pallas (Rotatoria).— Exp. Geront., 1977, v. 12, p. 137—151.
- Rufener W. H., Nelson W. O., Wolin M. J.** Maintenance of the rumen microbiol population in continuous culture.— Appl. Microbiol., 1963, v. 11, p. 196—201.
- Ryther J. M.** Inhibitory effects on phytoplankton upon the feeding of *Daphnia magna* with reference to the growth, reproduction and survival.— Ecology, 1954, v. 35, N 4, p. 522—533.
- Rzoska J.** Observations of tropical rainpools and general remarks on temporary waters.— Hydrobiologia, 1961, v. 17, N 4, p. 265—286.
- Seitz A., Halbach U.** How is the population density regulated?— Naturwissenschaften, 1974, Bd 60, N 1, S. 51.
- Slyter L. L., Mosi A., Ward G.** Wood pulp area, acid growth factors and rumen microbe synthesis in vitro.— J. Anim. Sci., 1975, v. 41, p. 432.
- Slyter L. L., Nelson W. O., Wolin M. L.** Modifications of a device for maintenance of rumen microbial population in continuous culture.— Appl. Microbiol., 1964, v. 12, N 4, p. 374—377.
- Slyter L. L., Putnam P. A.** In vivo vs. in vitro continuous culture of ruminal microbial populations.— J. Anim. Sci., 1967, v. 26, p. 1421—1427.
- Smith W. L., Chenley M. H.** Culture of marine invertebrate animals. N. Y., 1975. 338 p.
- Sonneborn T. M.** Methods in *Paramecium* research.— In: Methods in Cell Physiology. N. Y.— L., 1970, p. 241—339.

- Sorgeloos P., Persoone G.** Three simple culture devices for aquatic invertebrates and fish larvae with continuous recirculation of the medium.— *Marine Biology*, 1972, v. 15, p. 251—254.
- Sorgeloos P., Persoone G.** A culture system for *Artema*, *Daphnia* and other invertebrates with continuous separation of the larvae.— *Arch. für Hydrobiol.*, 1973, Bd 72, H. 1, S. 133—138.
- Spandl H.** Die Tierwelt vorübergehendes Gewässer Mitteleuropas.— *Arch. Hydrobiol.*, 1925, Bd 16, H. 1, S. 74—135.
- Spectorova L. V., Doroshev S. I.** Experiments on the artificial rearing of the *Blacksea turbot* (*Scophthalmus maeoticus maeoticus*).— *Aquaculture*, 1976, v. 9, p. 275—286.
- Stern M. D., Hoover W., Leonard J.** Ultrastructure of rumen holotrichs by electron microscopy.— *J. Dairy Sci.*, 1977, v. 60, N 6, p. 911—918.
- Stross R. G.** Photoperiod control of diapause in *Daphnia*. III. Two—stimulus control of long-day, short-day induction.— *Biol. Bul.*, 1969, v. 137, N 2, p. 359—374.
- Stross R. G.** Zooplankton reproduction and water Blooms Bioassay techniques and environment chemistry.— Copyright, Ann Arbor Sci. Publ. Inc., 1973, p. 467—478.
- Stuart C., Banta A.** Available bacteria and the sex ratio in *Moina*.— *Physiol. Zool*, 1931, v. 4, p. 72—86.
- Taub F., Dollar A.** A *Chlorella*—*Daphnia* food-chain study: the design of a compatible chemicalley defined culture medium.— *Limnol. Oceanogr.*, 1964, v. 9, p. 61—74.
- Taub F., Dollar A.** The nutritional inadequacy of chlorella and chlamydomonas as a food for *Daphni pulex*. *Limnol. Oceanogr.*, 1968, v. 13, N 3, p. 607—617.
- Teilacker G. H., McMaster M. F.** Mass culture of the rotifer *Brachionus plicatilis* and its evaluation as a food for larvae anchovies.— *Mar. Biol.*, 1971, v. 10, N 2, p. 183—188.
- Tompkin R. B., Pusser D., Weisner H.** Influence of rumen fluid source upon Establishment and cultivation in vitro of the rumen protozoon *Entodinium*.— *J. Protozool.*, 1966, v. 13(1), p. 55—58.
- Walander A.** Wachstum von *Mina rectirostris*.— *Arch. Entw. Organismen*, 1940, Bd 140, H. 1, S. 39—58.
- Weismann A.** Beiträge zum Naturgeschichte der *Daphniden*.— *Zeitsch. Wis-sen. Zool.*, 1879, Bd 33, S. 55—270.
- Welch J., Reese W., Smith A. M.** Rumen PH, osmotic pressure and rumination.— *J. Anim. Sci.*, 1975, v. 41, p. 432.
- White R. W., Howell J. A.** Continuous synchronous culture of *Tetrahymena pyriformis*.— *Biotechn. and Bioenginier.*, 1971, v. 13, N 5, p. 657—662.
- Whitson G. L.** Temperature sensitivity and ist Relations to changes in growth, control of cell division and stability of morphogenesis in *Paramecium aurelia*, Syngen 4, Stock 51.— *J. Cell. and Comp. Physiol.*, 1964, v. 64, N 3, p. 455—464.
- Wichterman R.** The hydrogen- ion in the eight species of *Paramecium*.— *Biol. Bul.*, 1948, v. 95, p. 272.
- Wichterman R.** The biology of *Paramecium*. Blakiston, N. Y., 1953. 527 p.
- Woynarovich E.** Productions biologische charakterisierung der *Daphnia magna* Straus.— *Acta Biol.*, 1959, v. 9, N 3, p. 229—244.
- Yamin M., Trager W.** Cellulolytic activity of an axenically-cultivated termite flagellate, *Trichomitopsis termopsidis*.— *J. Gen. Microbiol.*, 1979, v. 113, N 2, p. 417—420.
- Yarvis B., Hungate R.** Factors influencing agnotobiotic cultures of the rumen ciliate, *Entodiniumsimplex*.— *Appl. Microbiol.*, 1968, v. 16, N 7, p. 1044—1052.
- Zurek R.** The zooplankton biomass and production of some species of rotifers and *Cladocerans* in three ponds with different second year carp fry stocking.— *Acta Hydrobiol.*, 1974, v. 16, f. 3-4, p. 299—317.

ОГЛАВЛЕНИЕ

Глава 1. Культивирование простейших	3
Методы культивирования	—
Культивирование свободноживущих простейших	5
Периодическое культивирование свободноживущих простейших	7
Непрерывное культивирование свободноживущих простейших	12
Непропорционально-проточное культивирование свободноживущих простейших	15
Культивирование простейших из рубца жвачных животных	20
Глава 2. Культивирование коловраток	27
Периодическое культивирование коловраток	—
Непрерывное культивирование коловраток	35
Непропорционально-проточное культивирование коловраток	37
Глава 3. Культивирование ветвистоусых рачков	48
Периодическое культивирование ветвистоусых рачков	58
Непрерывное культивирование ветвистоусых рачков	75
Непропорционально-проточное культивирование мoini	79
Выращивание хлореллы как корма для водных беспозвоночных	92
Глава 4. Применение метода непрерывного культивирования для исследования водных беспозвоночных	95
Определение КПД популяции с помощью метода непрерывного культивирования	—
Повышение утилизации микробного корма непрерывной культурой гидробионтов	99
Биохимический состав некоторых водных беспозвоночных, автотрофных и гетеротрофных одноклеточных, выращенных в непрерывной культуре	103
Глава 5. Практическое применение метода непрерывного культивирования водных беспозвоночных	111
Влияние различных стартовых кормов на рост личинок рыб	112
Кормление личинок сиговых рыб парамециями	120
Кормление личинок сига смешанными живыми кормами	131
Кормление личинок карпа различными живыми кормами в производственных условиях	133
Кормление личинок карпа живыми и искусственными кормами в производственных условиях	136
Расчеты объемов реакторов для непрерывного культивирования живых кормов на промышленных предприятиях	142
Заключение	149
Литература	151