

ХАНАЙЧЕНКО А.Н.
ГИРАГОСОВ В.Е.

**ЧЕРНОМОРСКИЙ
КАЛКАН И ЕГО
БЛИЖАЙШИЙ
РОДСТВЕННИК, ТЮРБО**

Севастополь, 2021



*Посвящается всем увлечённым наукой
друзьям и коллегам,
помогающим и поддерживающим
на трудном авторском пути*



Институт биологии южных морей им. А. О. Ковалевского
Российской академии наук
2021

Federal Research Centre
A. O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas
of Russian Academy of Sciences

Khanaychenko A. N.,
Giragosov V. E.

**The Black Sea Kalkan and the Turbot,
its closest relative**

Part 1

Sevastopol
2021

Федеральный исследовательский центр
«Институт биологии южных морей имени А. О. Ковалевского
Российской академии наук»

Ханайченко А. Н.,
Гирагосов В. Е.

**Черноморский калкан и его ближайший
родственник, тюрбо**

Часть 1

Севастополь
2021

УДК 597.556.35
ББК 28.6
X19

Рецензенты:

Булл Любовь Ивановна, канд. биол. наук, доцент,
ФГБОУ ВО «Керченский государственный морской технологический университет»;
Пашков Андрей Николаевич, канд. биол. наук, в. н. с.,
отдел «Краснодарский» Азово-Черноморского филиала
ФГБНУ «ВНИРО» («АзНИИРХ»).

Ханайченко А. Н., Гирагосов В. Е.

X19 Черноморский калкан и его ближайший родственник, тюрбо / Институт биологии южных морей им. А. О. Ковалевского РАН. – Севастополь : ФИЦ ИнБЮМ, 2021. – Ч. 1. – 252 с. : 124 ил., 9 табл., библиогр.: 405 назв.
ISBN 978-5-6044865-6-6 ; <https://doi.org/10.21072/978-5-6044865-6-6>

В данной книге объединён многолетний опыт исследований авторов и отечественных коллег, а также многочисленных европейских и китайских экспериментальных и полевых исследований по биологии развития и физиологии ценных промысловых рыб черноморского калкана (*Scophthalmus maeoticus*) и атлантического тюрбо (*Scophthalmus maximus*), которые являются ближайшими родственниками и, согласно современным генетическим исследованиям, предположительно, одним видом. Представленная в книге история становления (в настоящее время мощной отрасли) промышленной аквакультуры тюрбо основана на анализе многочисленных научных и прикладных исследований по мариккультуре тюрбо и экономических особенностей становления её европейских, в частности испанских и китайских кластеров.

Рекомендуется для научных сотрудников – биологов и биотехнологов, преподавателей ВУЗов, студентов биологических и биотехнологических специальностей, специалистов по аквакультуре, рыбоводству, экологии, а также для более широкого круга читателей, менеджеров, экономистов и операторов аквакультурных предприятий.

УДК 597.556.35
ББК 28.6

Khanaychenko A. N., Giragosov V. E.

The Black Sea kalkan and the turbot, its closest relative / A. O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas. – Sevastopol : IBSS, 2021. – Pt. 1. – 252 p. : 124 il., 9 tabl., bibliogr.: 405 items.

This book resumes many years of research experience of the authors and their colleagues, as well as numerous European and Chinese experimental and field studies on the developmental biology and physiology of valuable commercial fish, the Black Sea kalkan (*Scophthalmus maeoticus*) and the Atlantic turbot (*Scophthalmus maximus*), closest relatives and, according to modern genetic research, presumably, one species. The history of formation of currently powerful industrial turbot aquaculture presented in this book is based on the analysis of numerous scientific and applied research on turbot mariculture and economic features of formation of its European, in particular, Spanish and Chinese clusters.

Recommended for researchers – biologists and biotechnologists, university professors, students of biological and biotechnology specialties, specialists in aquaculture, fish farming, ecology, as well as for a wider range of readers, managers, economists and operators of aquaculture enterprises.

Утверждено к печати учёным советом ФИЦ «Институт биологии южных морей имени А. О. Ковалевского РАН» (протокол № 14 от 25.11.2021)

ISBN 978-5-6044865-6-6

© Ханайченко А.Н., 2021
© Гирагосов В.Е., 2021
© ФИЦ ИнБЮМ, 2021
© Ковтун О., фото на обложке, 2021
© ООО «ПК «КИА», макет, 2021

ВВЕДЕНИЕ

KARADEIZ'DE KALKAN BALIGI

Эпиграф

«*Admirabile rhombi magis rhombum peregrina est belua: cernis erectas in terga sudes?*» (пер с латинского «Удивительно огромна чужеземная камбала эта: Видишь шипы, торчащие у нее на спине?»)

Децим Юний Ювенал (55 – около 128 г.)

Книга I, Сатира IV (адаптированный перевод на русский Д.С. Недовича)



Римская мозаика 3 в. до н. э. (Археологический музей в Сузах). Иллюстрация лова камбалы сетями.

«...Камбала как-то попалась морская громаднх размеров,
Около храма Венеры, что выше дорийской Анконы;
Рыба заполнила сеть — и запуталась в ней наподобье
Льдом меотийским покрытых тунцов (пока лёд не растает),
После ж несомых на устья бурливого Чёрного моря,
Вялых от спячки и жирными ставших от долгих морозов.
Диво такое хозяин челна и сетей обрекает Домициану:
ведь кто бы посмел продавать это чудо,
Или купить, когда берег — и тот был доносчиков полон!
Сыщики, скрытые в травах прибрежных, затеяли б дело
С тем рыбаком беззащитным; не совестно было б сказать им,
Что, дескать, беглая рыба была и долго кормилась
В цезаревых садках, удалось ускользнуть ей оттуда,
Значит, к хозяину прежнему ей надлежит и вернуться.
Чем камбалу бросить – Лучше её подарить.

Ведь уже уступала морозам
Вредная осень, стихала больных лихорадка, и всюду
Была уродка зима, сохраняя свежей добычу.
Впрочем, рыбаки спешит. Путь загроможден при входе
ему удивленным народом;
Вот расступилась толпа, открываются двери на лёгких
Петлях; сенаторы ждут и смотрят, как рыбу проносят
— Прямо к Атриду.
«Прими подношение», — молвит пиценец.
«Слишком она велика для других очагов. Именинник
Будь же сегодня; скорей облегчи свой желудок от пищи,
Камбалу кушай, — она для тебя сохранилась такая,
Даже поймалась сама». Открытая лесть! Однако ж,
Царь приосанился: есть ли такое, чему не поверит
Власть богоравных людей, если их осыпают хвалами?
Блюда вот нет для рыбы такой...
Камбале он удивился всех больше и высказал много...:
«Чужеземная рыба эта;
видишь шипы у нее на спине?»...
Недоставало бы возраст привести да отечество рыбы.
«Пусть глубокое сделают блюдо,
чтобы вместить в его стенки такую громаду;
Нужен для блюда второй Прометей, великий искусник...»

Этот отрывок текста древнеримского периода (Децим Юний Ювенал, книга I, Сатира IV в переводе Д.С. Недовича) особенно интересен как констатация (1) давности попыток аквакультуры в Римской империи времён императора Нерона (рыба «кормилась в цезаревых садках, удалось ускользнуть ей оттуда»), (2) определённости происхождения пойманной рыбы («Чужеземная рыба эта; видишь шипы у нее на спине?») «Слишком она велика для других очагов... Блюда вот нет для рыбы такой. Пусть глубокое сделают блюдо, чтобы вместить в его стенки такую громаду»).

В водах Атлантики, в частности, в Средиземном море, издавна ловили больших камбал – тюрбо, от которых черноморский калкан отличается тем, что на поверхности его тела присутствуют шипы, и он может достигать громадных размеров за долгую (иногда до 25 лет) жизнь. Из этого отрывка становится понятно, что именно черноморского калкана (случайно попавшего в Средиземное море в районе Анконы, ныне северная Италия) выловил рыбаки в начале нашей эры.

Ценившие вкусную и дорогую еду, римляне называли камбалу «морским фазаном». А в Средние Века эта благородная рыба даже удостоилась быть предметом знаменитого теологического дебата, ибо многие Отцы Церкви сочли, что такую рыбу, из-за её деликатного вкуса, нужно считать «мясом», а потому верующие должны были воздерживаться от употребления её во время поста.

В нашей монографии речь пойдёт в основном о черноморском калкане. У этого вида рыб за многие годы скопилось много имён, народных и научных,

латинских и греческих, славянских и тюркских. За калканом многие столетия «охотились» рыбаки, и о нём сочиняли легенды. Первое книжное упоминание названия «достойной похвалы» рыбы «калкан» встречается при описании «прекрасной крепости Керчь» в «Книге путешествия» в Крым в 1666–1667 гг. известного турецкого путешественника Эвлии Челеби (репринт 1996).

Многие десятилетия калкана изучали учёные: сначала в море, где так до сих пор и не смогли найти, в каких именно слоях черноморской воды живут крохотные личинки калкана; потом в лаборатории, где и были открыты удивительные превращения этой рыбы, многие тайны которой все ещё остаются «за семью печатями». В этой книге будет рассказано не только о черноморском калкане, но и о его ближайшем родственнике, атлантическом тюрбо, потому что многие закономерности биологии последнего, во многом сходные с калканом, изучены в более широком диапазоне и на более современном уровне в связи с финансовыми возможностями и технической оснащённостью многочисленных зарубежных исследовательских программ европейских и китайских институтов и деятельности функционирующих около четырёх десятилетий больших промышленных аквакультурных питомников и коммерческих рыбоводных хозяйств.

В настоящее время, на основании современных морфологических (Chanet, 2003) и молекулярно-генетических (Bailly, Chanet, 2010; Vandamme et al., 2014; Turan et al., 2019) исследований, можно считать (но пока ещё не окончательно), что черноморский калкан и атлантический тюрбо являются разными географическими группировками одного вида, *Scophthalmus maximus*, однако, вероятно, черноморский калкан является подвидом, произошедшим от одного общего предка с тюрбо в поздние геологические эпохи до последнего ледникового периода, или, возможно, из-за долгого периода географической изоляции при полном отсутствии обмена генами с популяциями тюрбо на протяжении последних 190 тысяч лет (Vandamme et al., 2014) калкана можно будет считать отдельным видом (Avisé, 2000). Однако до настоящего времени не было проведено ни одного эксперимента по скрещиванию черноморского калкана и атлантического тюрбо и получению от них потомков, способных к воспроизводству, что окончательно бы подтвердило их конспецифичность.

Несмотря на длительную географическую и генетическую изоляцию и адаптацию к различным гидрологическим условиям, черноморский калкана и атлантический тюрбо имеют много сходных биологических и морфологических характеристик, и сходны в своём развитии. В связи с тем, что исследования многих биохимических процессов и изменения экспрессии генов в процессе развития и роста личинок рода *Scophthalmus* были проведены на современном уровне исключительно для личинок тюрбо, мы дополняем этими литературными данными наш обзор по развитию и росту черноморского калкана.

Ареал тюрбо занимает всю акваторию у атлантическое побережье, включая Средиземное и Красное море на юге и Северное и Балтийское на севере, в то время как черноморский калкан занимает исключительно акваторию Чёрного моря, о чём и говорит его название.

Научные дискуссии об отношениях атлантического тюрбо и черноморского калкана, не только на уровне подтверждения их конспецифичности, но и относительно правильном названии их рода, идут до настоящего времени. Ниже (табл. 1, 2) приведены разнообразные латинские названия тюрбо и калкана, которые были использованы в разных работах за период их изучения с начала XVIII века, из которых видно, что исследователи не могли прийти к единому мнению даже в отношении названия рода, к которому принадлежат калкан и тюрбо (Fishbase, электрон. ресурс).

Табл. 1. Синонимы научного названия черноморского калкана (Black Sea turbot, электрон. ресурс).

Synonym	Author	CoL Status	Valid	Synonymy	Combination
Черноморский калкан					
<i>Scophthalmus maeoticus</i>	(Pallas, 1814)	accepted	Yes	senior	new
<i>Pleuronectes maeoticus</i>	Pallas, 1814	synonym	No	senior	original
<i>Psetta maeotica</i>	(Pallas, 1814)	synonym	No	senior	new
<i>Psetta maxima maeotica</i>	(Pallas, 1814)	synonym	No	senior	new
<i>Rhombus maeoticus</i>	(Pallas, 1814)	synonym	No	senior	new
<i>Scophthalmus maeotica</i>	(Pallas, 1814)	synonym	No	senior	new

Ещё в 1930-х годах известный ихтиолог Юлий Юльевич Марти, впервые проводивший подробное изучение биологии черноморского калкана (Марти, 1939), писал: «Род *Rhombus* представлен в Азовско-Черноморском бассейне двумя видами: *Rhombus maeoticus* Pallas и *Rhombus torosus* Rathke. Оба эти вида являются географическими формами, чрезвычайно близкими к *Rhombus maximus* L.»

Странность видового латинского названия «*maeoticus*», которым наделили исходно черноморского калкана (при изменявшихся вариациях в названии его рода: *Pleuronectes*, *Rhombus*, *Psetta*, *Scophthalmus*) заключается в том, что «*maeotica*» в переводе с латыни означает «азовский» (лат. *Maeotica palus* – Азовское море), в то время как для распреснённого Азовского моря характерна близкородственная форма (или подвид) – азовский калкан, который исходно имел видовое название «*torosus*» (в переводе с латыни – мускулистый, мясистый). В настоящее время таксономический статус азовского калкана так же окончательно не определён, в современной литературе его обычно обозначают как подвид с названием *Scophthalmus maeoticus torosa* (Rathke, 1837) (Надолинский и др., 2018).

Табл. 2. Синонимы научного названия тюрбо (Turbot, электрон. ресурс)

Synonym	Author	CoL Status	Valid	Synonymy	Combination
<i>Scophthalmus maximus</i>	(Linnaeus, 1758)	accepted	Yes	senior	new
<i>Pleuronectes maximus</i>	Linnaeus, 1758	synonym	No	senior	original
<i>Psetta maxima</i>	(Linnaeus, 1758)	synonym	No	senior	new
<i>Psetta maxima maxima</i>	(Linnaeus, 1758)	synonym	No	senior	new
<i>Rhombus maximus</i>	(Linnaeus, 1758)	synonym	No	senior	new
<i>Pleuronectes turbot</i>	Lacepède, 1802	synonym	No	junior	original
<i>Pleuronectes cyclops</i>	Donovan, 1806	synonym	No	junior	original
<i>Rhombus magnus</i>	Minding, 1832	synonym	No	junior	original
<i>Rhombus stellosus</i>	Bennett, 1835	ambiguous	No	questionable	original
<i>Rhombus aculeatus</i>	Gottsche, 1835	synonym	No	junior	original
<i>Scophthalmus ponticus</i>	Ninni, 1932	ambiguous	No	questionable	original
<i>Pleuronectes maeoticus</i>	(non Pallas, 1814)	misapplied	No	misapplied	original
<i>Psetta maeotica</i>	(non Pallas, 1814)	misapplied	No	misapplied	new
<i>Rhombus maeoticus</i>	(non Pallas, 1814)	misapplied	No	misapplied	new
<i>Scophthalmus maeoticus</i>	(non Pallas, 1814)	misapplied	No	misapplied	new

В связи с подобной неокончательной согласованностью по латинским названиям этих близкородственных камбал, далее в тексте, мы будем называть для удобства восприятия (несмотря на возможные различия названий в статьях цитируемых авторов) атлантического тюрбо – «тюрбо», а черноморского калкана – «калкан», в зависимости от того, в каком ареале местообитания были получены данные.

Итак, «калкан» – что означает это имя? В переводе с турецкого языка «kalkan» – это «щит». И действительно, форма уплощённого тела взрослого калкана, покрытого, в отличие от атлантического тюрбо, многочисленными жёсткими шипами, очень напоминает именно щит древнего воина (рис. 1).

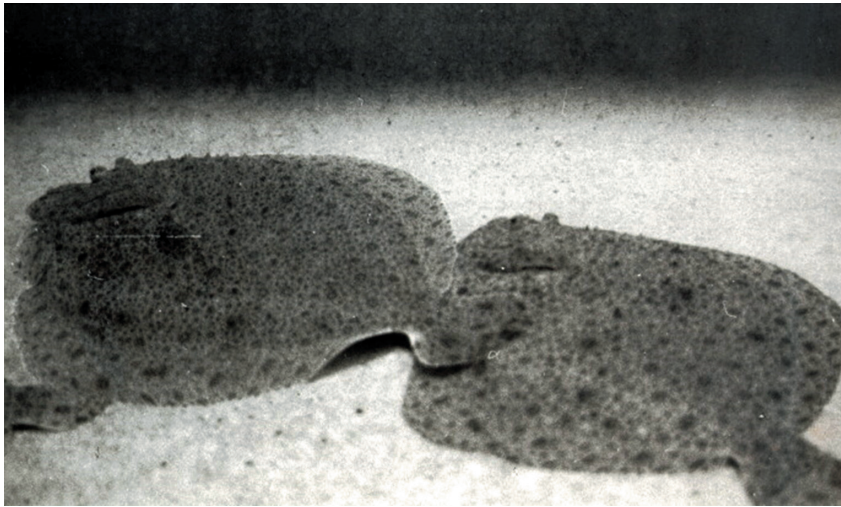


Рис. 1. Черноморский калкан, впервые выращенный в 1990 г. до коммерческих размеров по собственной технологии сотрудниками лаборатории культивирования рыб Института биологии южных морей (ИнБЮМ, г. Севастополь). Фото Л. И. Лысиковой

Распространение черноморского эндемика – бореально-атлантического реликта, черноморского калкана, в естественной среде обитания ограничено шельфовой зоной Чёрного моря до континентального свала глубин, вдоль всего побережья на песчаных и песчано-илистых грунтах, в виде локальных стад, которые, как считается большинством исследователей, мигрируют незначительно в пределах основного ареала, который занимает не более 25% акватории Чёрного моря (рис. 2).

Калкана характеризует продолжительный жизненный цикл и смена среды обитания от стадии икры до взрослого состояния. Взрослый калкан ведёт донный образ жизни и распространяется от 10 до 120 м (10–70 м в зимне-весенний период, и 40–90 м в летне-осенний), предпочитая, слой воды с температурой 8–10°C, совершая пищевые миграции вслед за миграцией видов рыб, которыми в основном питается.

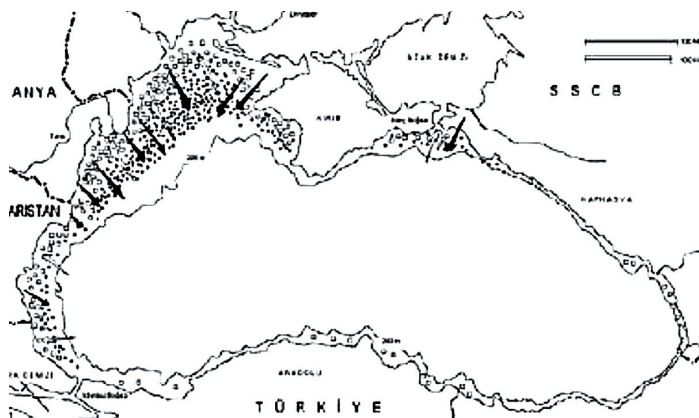


Рис. 2. Карта миграций калкана по территории Чёрного моря (Ivanov, de Beverton, 1985)

Естественное размножение происходит с конца марта до середины июня в придонных слоях, на глубинах от 90 до 40 м при температуре воды от 8° до 12°C, а оплодотворённая икра поднимается к поверхности воды, температура которой в сезон размножения может изменяться от 8°C до 20°C. Икра у калкана пелагическая, с положительной плавучестью (при солёности 18‰), развивается в приповерхностном слое воды (рис. 3 Ia), максимум встречаемости в море – при температуре воды от 11 до 16°C.

Исходно билатерально симметричные личинки развиваются в толще воды (рис. 3 Ib) и через несколько суток после выклева начинают питаться планктоном. В процессе сложного метаморфоза, который начинается через две-три недели после выклева и длится не менее 2 месяцев, происходит переход от билатеральной пелагической личинки к дорсовентральной асимметрии демерсальной ювенильной стадии (малька), маленькой копии взрослого организма. При этом правый глаз мигрирует на левую сторону тела, позвоночник скручивается, ставшая верхней левая сторона тела приобретает серовато-коричневый оттенок, а правая, полностью лишённая пигментных клеток, приобретает молочный оттенок) превращаются в мальков, которые постепенно подходят к берегу.

Калкан (как и тюрбо) претерпевает сложную перестройку всех организменных структур при радикальной смене окружающей среды от планктона к практически пригрунтовой среде обитания, и, соответственно, адаптацию к питанию новым спектром кормовых организмов в радикально изменившихся физических условиях (особенно, к низкой освещённости) и адаптацию иммунной системы к совершенно новой микробиоте окружающей среды.

Подойдя к прибрежным водам метаморфизированные мальки опускаются на дно на небольших глубинах и в течение теплого времени года могут находиться в зоне заплеска, часто в зарослях макрофитов, или на прибрежных банках, преимущественно на илисто-песчаных грунтах (рис. 3 Ic). В этот период жизни они приобретают поведение взрослых рыб, типичных засадных хищников: умеют закапываться в грунт и затаиваться в нём, как в случае опасности, так и для охоты за активной жертвой – ракообразными (копеподы, идотеи, гаммарусы, креветка) и мелкими рыбами, иногда и мелкими моллюсками и излюбленной пищей, многощетинковыми червями полихетами, продолжая подкармливаться зоопланктонными организмами.

Подрастающая молодь калкана с каждым годом, перемещается всё дальше от берега (рис. 3 II). Массовое половое созревание поколения калкана происходит в 3–4-годовалом возрасте (Надолинский и др., 2018) и в этот период оно уже может присоединяться к нерестовым стадам (рис. 3 III), которые концентрируются, начиная с конца марта, на глубинах от 80–120 м, продвигаясь до пика нереста в середине мая ближе к берегу. По мере прогрева воды стада калкана отходят от берега и рассеиваются до наступления осенних пищевых миграций вслед за стадами хамсы, шпрота и мерланга (Попова, 1958).

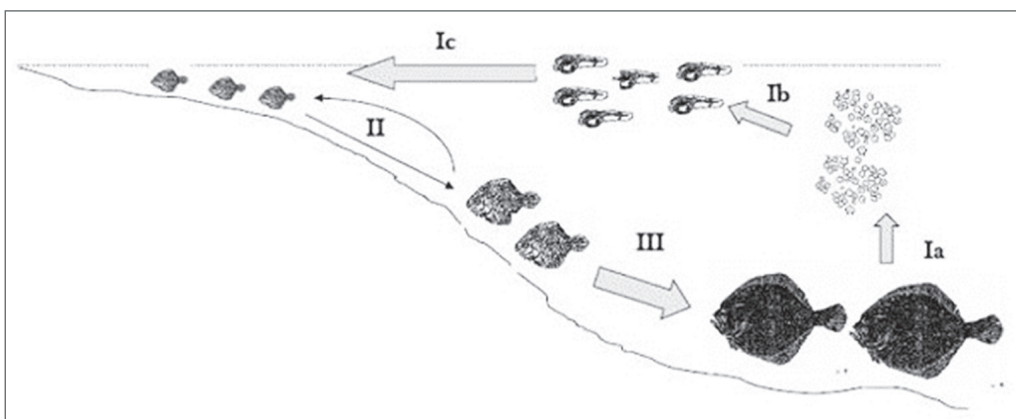


Рис. 3. Схема вертикальных и горизонтальных миграций калкана на протяжении жизненного цикла. Выметанная икра, всплывающая к поверхности моря (Ia), обитание личинок в открытом море (Ib), миграция сформировавшихся мальков на мелководье (Ic), миграция молоди на средние глубины (II), миграция особей, достигших половой зрелости, на большие глубины (III) (рисунок из интернета, авторство не указано)

В данной монографии все схемы-рисунки морфологического строения калкана (за исключением отдельно подписанных) выполнены художницей В.А. Чуприковой. Все фотографии, за исключением отдельно подписанных, сделаны авторами. Все личинки и мальки, за исключением отдельно подписанных, выращены в лаборатории культивирования рыб ИнБЮМ.

Авторы выражают искреннюю благодарность коллегам, с которыми им довелось плодотворно работать в разные годы по аквакультурной и ихтиологической тематикам, рецензентам и редакторам за ценные замечания, а также к.б.н. И.Е. Драпун (ИнБЮМ) за помощь в подготовке иллюстраций.

Работа выполнена в рамках государственного задания ФИЦ ИнБЮМ по теме: «Исследование механизмов управления производственными процессами в биотехнологических комплексах с целью разработки научных основ получения биологически активных веществ и технических продуктов морского генезиса» (№ гос. регистрации 121030300149-0).

Глава 1. ИСТОРИЧЕСКАЯ СПРАВКА О РАЗВИТИИ ИССЛЕДОВАНИЙ ЧЕРНОМОРСКОГО КАЛКАНА В ИнБЮМ

Экспериментальные работы по изучению раннего онтогенеза морских рыб и разработке биотехнологии их культивирования были начаты под руководством к.б.н. Александра Викторовича Чепурнова (1937–1990) (рис. 1.1) в отделе ихтиологии Института биологии южных морей (ИнБЮМ, г. Севастополь). Коллектив созданной в 1975 г. лаборатории «Культивирование рыб» поставил основной целью изучение адаптаций черноморских рыб бычка-кругляка *Neogobius melanostomus* (Pallas, 1814) и черноморского калкана *Scophthalmus maeoticus* (Pallas, 1814) на ранних этапах онтогенеза при их культивировании в специально сконструированных установках с замкнутой циркуляцией воды (Чепурнов и др., 1981; Чепурнов, 1989).

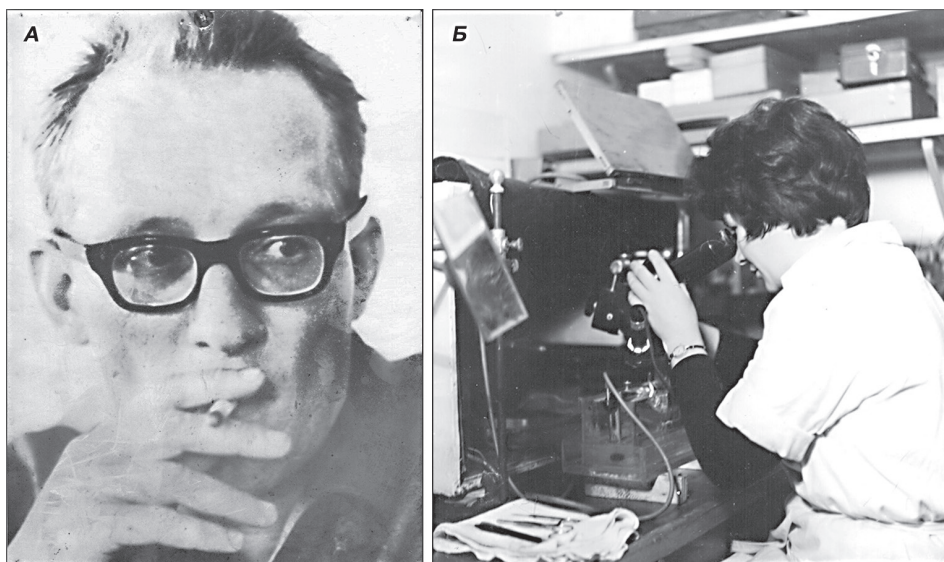


Рис. 1.1. А – Чепурнов А.В., руководитель лаборатории в 1975–1990 гг.,
Б – Битюкова Ю.Е., руководитель лаборатории в 1990–2005 гг.

В рамках данного направления комплексно изучали эмбриологию и биохимию развивающейся икры и личинок рыб в условиях контролируемых температуры, солёности, освещённости, рН, содержания O_2 и CO_2 , органических и неорганических соединений, а также бактериологических характеристик воды в специально разработанных в ИнБЮМ установках замкнутого и проточного цикла. Соответственно, в группу исследователей данного направления были объединены специалисты по гидробиологии, ихтиологии, химии, микробиологии, а также (в отсутствие отечественного специализированного оборудования для аквакультуры морских рыб) инженеры и техники, разрабатывавшие и создававшие собственные конструкции икубаторов, биологических фильтров и выростных установок для кормовых объектов, икры и личинок рыб.

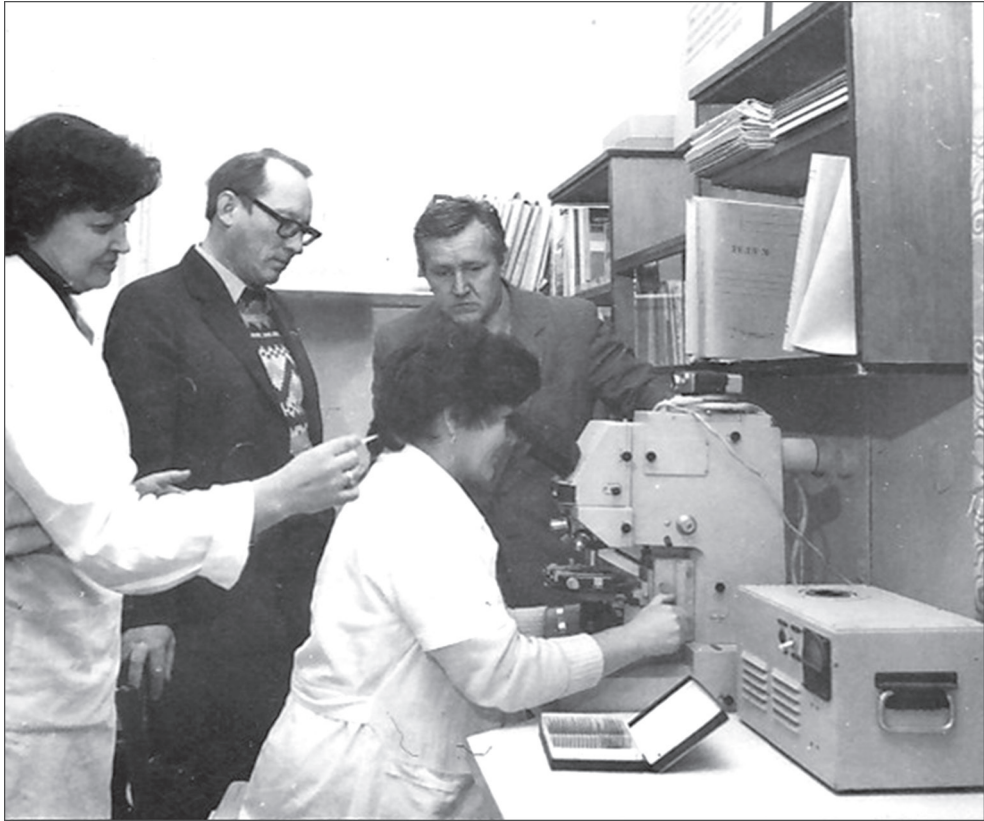


Рис. 1.2. Ткаченко Н.К., Чепурнов А.В., Битюкова Ю.Е., Беляев Б.Н. (1979 г.)

Изучение ранних стадий развития черноморского калкана начиналось с отработки методики получения оплодотворённой икры от отловленных производителей калкана и исследования особенностей его развития и биохимических преобразований в процессе эмбриогенеза и раннего личиночного развития.

Проводимые работы включали три основных направления: изучение морфологических и эколого-физиологических особенностей раннего онтогенеза культивируемых рыб и кормовых беспозвоночных, разработка технологии культивирования рыб и живых кормовых организмов и разработка комплекса технологического оборудования для воспроизводства и культивирования объектов в контролируемых условиях (замкнутых системах).

Создание технических средств, обеспечивающих поддержание параметров среды на заданном уровне, позволило провести комплексные исследования раннего онтогенеза калкана, изучить питание, рост, энергетический обмен и выживаемость личинок. В состав группы занимавшейся исследованиями камбалы-калкана входили 2 научных сотрудника (к.б.н.), 2 инженера, 1 техник и 4 лаборанта с высшим образованием.

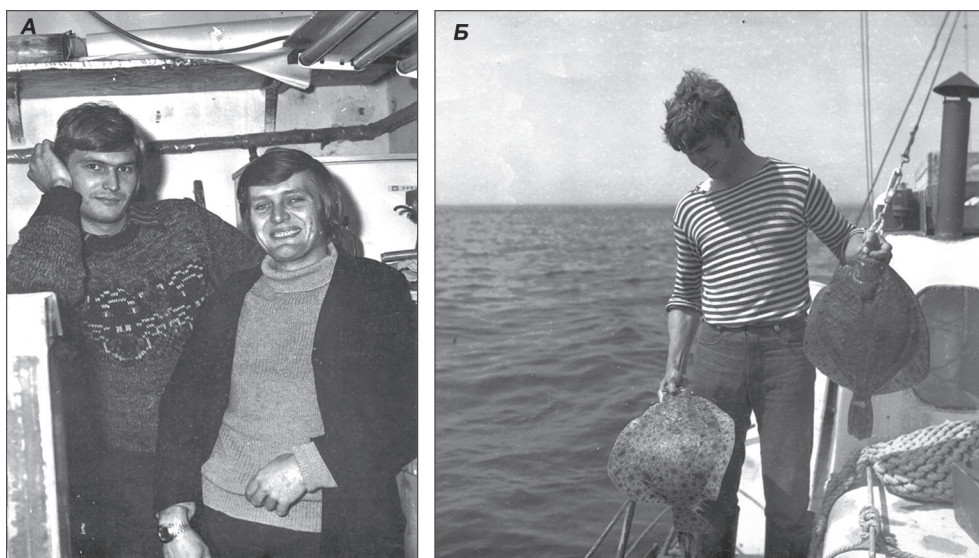


Рис. 1.3. А – Владимирцев В.Б. и Чувилко Ю.Н. (1981 г.), Б – Владимирцев В.Б. на мотоботе при отборе производителей калкана из камбальных сетей (1983 г.)

При экспериментальном искусственном выращивании калкана были получены уникальные научные данные по его биологии: эмбрионально-личиночному развитию, питанию и поведению личинок, характеру их роста от ранних стадий развития до окончания метаморфоза. Следует отметить, что ранние стадии онтогенеза калкана в естественной среде обитания до сих пор слабо изучены из-за несовершенства орудий лова и пробелов в знаниях о распределении личинок в море. В результате научно-исследовательских работ специализированной группы были заложены основы культивирования калкана и получен патент на «Способ искусственного получения жизнестойкой молоди калкана» (Битюкова и др., 1994).

Для осуществления комплексных исследований научный коллектив включал разнопрофильных специалистов, работавших в составе группы, или присоединившихся к ней для решения отдельных поставленных задач. В составе группы под руководством А.В. Чепурнова работали: Нина Кузьминична Ткаченко (рис. 1.2), Юния Евгеньевна Битюкова (рис. 1.1, 1.2), Борис Николаевич Беляев (рис. 1.2), Юрий Николаевич Чувилко (рис. 1.3), Валентина Николаевна Федотова, Антонина Николаевна Ханайченко (рис. 1.5), Владимир Борисович Владимирцев (рис. 1.3, 1.4), Наталья Ильинична Пустоварова, Энгельсина Александровна Чепурнова. С 1990 г. направление, преобразованное в лабораторию культивирования рыб и раннего онтогенеза, возглавила к.б.н. Ю.Н. Битюкова, и в работу лабораторий были в разные периоды включены Ольга Владимировна Пантелева, Тамара Георгиевна Белоиваненко, Ольга Николаевна Данилюк и Денис Вячеславович Ельников, проводившие экспериментальные работы по кормлению личинок и полевые работы по анализу популяции калкана.



Рис. 1.4. Рыбаки мотобота ИнБИОМ и Владимирцев В.Б. перебирают камбальные сети

В результате деятельности коллектива сотрудников, включавшей работы по созданию специализированных установок, и многоплановых исследований влияния различных биологических и физических факторов на развитие и рост калкана, а также исследований биологии, продуцирования, разработки методов культивирования и использования специализированных живых кормов для личинок калкана (коловраток, артемий и копепод) были получены эксклюзивные данные по особенностям морфологии, развития и поведения личинок калкана в онтогенезе от выклева до окончания метаморфоза в искусственных условиях (Битюкова и др., 1978; Битюкова и др., 1984; Битюкова, 1986; Битюкова и др., 1988; Чепурнов, 1989; Bityukova et al., 1990; Ханайченко, Битюкова, 1999; Ханайченко, Битюкова, 2007).



Рис. 1.5. К.б.н. Ханайченко А.Н. в лаборатории за обсуждением результатов проекта

В ходе многолетних плодотворных научно-исследовательских работ были оптимизированы процессы и разработаны первые протоколы выращивания, исследованы морфологические особенности развития калкана и влияние физических факторов среды на развитие от ранних стадий эмбриогенеза до завершения метаморфоза калкана, изучено влияние трофических факторов и биохимических компонентов на развитие разных систем личинок, проведён бактериологический мониторинг в системах выращивания и были запатентованы разные этапы биотехнологии интенсивного выращивания мальков черноморского калкана.



Рис. 1.6. К.б.н. В.Е. Гирагосов, соруководитель научной группы «Культивирование рыб» в 2006–2021 гг.

С 2006 г. (в составе отдела марикультуры под руководством к.б.н. Валерия Николаевича Иванова, позже преобразованном в отдел аквакультуры и морской фармакологии под руководством д.б.н. Виталия Ивановича Рябушко) в составе обновлённой группы под совместным руководством специалиста по исследованию возраста, роста и размножения рыб к.б.н. Виталия Евгеньевича Гирагосова (рис. 1.6) и специалиста по экспериментальному культивированию живых кормов и личинок рыб, к.б.н. Антонины Николаевны Ханайченко, начали работать молодые сотрудники и аспиранты: Татьяна Владимировна Шишкина (Рауэн) (с 2007 г.) (рис. 1.7), Юлия Сергеевна Баяндина (2007–2011 гг.), Лариса Олеговна Аганесова (с 2008 г.) (рис. 1.8), Кирин Максим Юрьевич (2007–2009 гг.), Пуговкина Валерия Александровна (2008–2010 гг.), Смирнов Дмитрий Юрьевич. (2010–2019 гг.), Моисеенко Дмитрий Вячеславович (с 2016 г.), Сорока Наталия Викторовна (с 2021 г.).

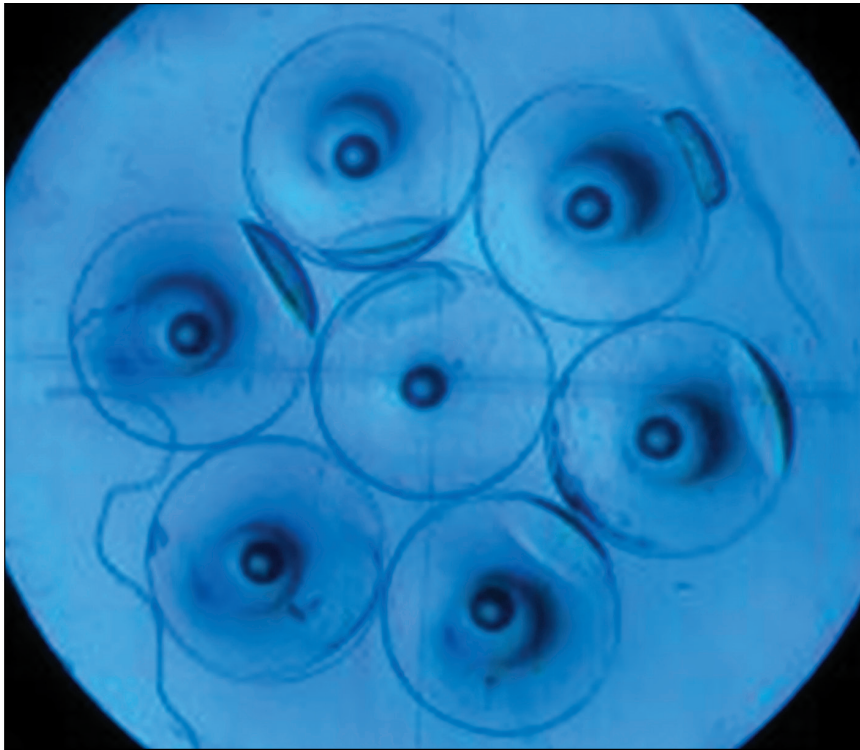


Рис. 1.7. К.б.н. Т.В. Рауэн за работой с культурами кормовых организмов



Рис. 1.8. К.б.н. Л.О. Аганесова

Проведён многолетний мониторинг локального стада черноморского калкана на юго-западном шельфе Крымского п-ова, изучен уровень заболеваемости и аномалий нерестовой популяции, исследованы особенности репродуктивных характеристик самок и самцов, морфологические особенности этапов эмбрионального развития, изучены норма и аномалии формирования хроматофорного комплекса и скелетообразования калкана в процессе развития, взаимодействие живых компонентов в системе искусственного воспроизводства черноморского калкана, выведены новые культуры кормовых организмов и исследованы продукционные и биохимические характеристики культивируемых каланоидных копепод, запатентованы новые методы культивирования живых кормов (2007, 2017, 2018, 2019, 2020), методы альголизации среды выращивания (2017), получения правильно метаморфизированной жизнестойкой молоди калкана (2009, 2016) и адаптации её к выпуску в море (2021).



Глава 2. ИКРА КАЛКАНА В МОРЕ И ЭМБРИОГЕНЕЗ В ИСКУССТВЕННЫХ УСЛОВИЯХ

Наличие высококачественных икры и личинок – одно из важнейших условий эффективного воспроизводства вида, как и плодовитость, влияющая на численность формирующихся поколений. Плодовитость черноморского калкана очень высока, самки потенциально могут выметать порционно в течение нерестового сезона от 2 до 12 млн икринок в зависимости от массы тела самки (Гирагосов, 2020). Однако выживаемость икры и личинок калкана на ранних стадиях развития, как в море, так и в условиях аквакультуры невысока из-за их чувствительности к большому числу негативных внешних (резкие колебания температуры и неблагоприятные гидрологические условия в процессе развития; наличие токсичных компонентов в слое развития икры) и внутренних (генетические аномалии, отклонения от нормы развития, связанные с неправильной экспрессией генов) факторов.

2.1. Икра калкана в море

Естественный нерест черноморского калкана, происходящий ежегодно преимущественно с середины апреля до середины июня, по мнению разных авторов, изучавших нерест в разных регионах северной акватории Чёрного моря, приу-

рочен к глубинам между 20–60 м (Марти, 1939), или к глубинам от 30 до 100 м, но происходит преимущественно на 50-метровой изобате (Битюкова и др., 1984; Гордина, 1990). Развитие икры калкана в естественных условиях Чёрного моря изучено слабо из-за относительно редкой встречаемости данного вида в пробах, полученных стандартными методами ихтиопланктонного сбора (ихтиопланктонной сетью Богорова-Расса). Икру калкана находили и только в приповерхностном слое (Дехник, Павловская, 1950), и до глубин 20 м (Водяницкий, 1936); в массовом количестве в открытом море в слое до 30–40 м (Косякина, 1938), между 0 и 100 м с преобладанием в верхнем 0–10 м слое (Гордина, 1990), и в слое 0–50 м с преобладанием её в верхнем (Климова, 1993).

Суммируя данные разных исследователей по нахождению икры калкана над разными изобатами в разные годы, можно считать, что нерест калкана проходит с апреля по июнь на разных глубинах черноморского шельфа, на глубинах от 30 до 160 м при температуре придонного слоя воды 6–12°C при вариациях температуры поверхностного слоя воды от 6.9 и даже до 25.1°C (Водяницкий, 1936; Марти, 1939; Дехник, Павловская, 1950; Попова, 1954; Битюкова и др., 1984; Гордина, 1990, 1999; Климова, 1993; Климова, 1998; Гордина, Морочковский, 1994). В пик нереста, в мае, температура поверхностного слоя воды над изобатами 50–90 м варьирует, в зависимости от года, от 11 до 15°C. Максимальное количество икры калкана над глубинами 10–25 м обнаруживали при 12–13°C, над глубинами 25–50 м при прогреве поверхностного слоя воды до 18.5–19.5°C (Климова, 1993).

Температурный фактор, безусловно, влияет на скорость развития и выживаемость калкана в период эмбриогенеза, так же, как и на размер его годовой генерации, так как развитие икры по времени совпадает с резкими сменами температуры поверхностного слоя воды, часто происходящими в период весенних штормов. Отсутствие эффективного нереста калкана до прогрева поверхностного слоя воды до 10°C наиболее правдоподобно. Именно поэтому икринки калкана очень редки в ихтиопланктонных ловах в первую декаду апреля, и даже к окончанию второй декады их численность обычно незначительна. Это подтверждают исследования распределения икры калкана на Севастопольском взморье над изобатами от 10 до 90 м с марта по июнь 1991 г. (Гордина, Морочковский, 1994). Единичные икринки калкана появлялись в планктоне только с прогревом поверхностного слоя до 9.5°C 19 апреля, а пик нереста, с 73% икринок калкана на самых ранних этапах, происходил над глубинами 40–50 м и приходился на первую–вторую декаду мая, когда температура придонного слоя составляла 10°C, а температура поверхностного слоя возрастала от 11.5 до 13°C.

В 1970-е годы максимальное количество живых икринок, пойманных в течение 10-минутного поверхностного лова ихтиопланктонной сетью Богорова-Расса в период нереста калкана составляло более 50 штук в Севастопольском районе (Дехник, 1973) и до 80 шт. в Керченском районе (Попова, 1972). В 1992–1997 гг. численность икринок калкана в Севастопольском районе не превышала 1.5–2.6 шт. 10 м² (Гордина, 1999). Такая низкая численность икры калкана считается

результатом его перелова, так как в 1990 г., после 5-летнего запрета на его промысел, максимум численности икринок в период пика нереста (в начале мая) за 10 минутный поверхностный лов сетью Богорова-Расса в Севастопольском регионе составлял 136 шт., а вертикальные ловы сетью Богорова-Расса в мае 1991 г. составляли от 6 до 26 икринок под 10 м² над изобатами 40–50 м (Гордина, 1999). Эти данные сопоставимы со значениями численности икринок в 1950–60 гг. (Дехник, 1973), когда состояние промыслового запаса калкана оценивалось как сравнительно благополучное.

Наиболее полные представления о распределении икры калкана основаны на данных, полученных в конце 1980-х – начале 1990-х гг. благодаря масштабному сбору ихтиопланктонного материала над разными глубинами Чёрного моря в экспедициях различных научно-исследовательских судов в период нереста калкана. Длительный период запрета на лов калкана в территориальных водах (1985–1995 гг.) значительно способствовал восстановлению численности локальных стад, их размерно-возрастной структуры и улучшению условий воспроизводства. Экспедиционные исследования 1989–1993 гг. пришлись на период восстановления популяций калкана, и именно тогда по всему нерестовому ареалу северной части Чёрного моря наблюдали высокую численность икры калкана (Климова, 1993; Климова, 1998; Гордина, 1999; Гордина, Морочковский, 1994). Данные, полученные в эти годы, показали, что икра калкана (на долю первого этапа развития приходилось более 70%) распределена в основном в поверхностном слое воды, преимущественно над глубинами 20–50 м.

Узкий временной диапазон высокой численности жизнеспособной (без отклонений в развитии) икры наблюдали в течение двух недель в мае 1991 г. (Гордина, Морочковский, 1994). Высокую численность икры калкана обнаруживали в районе Днепро-Бугского лимана в период позднего нереста калкана в мае–июне 1987 г., где в поверхностном слое моря численность икры составила 33 экз. · 100 м⁻³ (Гордина, 1990; Гордина, 1999); в верхнем слое 0–15 м в районах Варны, Днепро-Бугского лимана, мыса Тарханкут и Новороссийска в мае–июне 1989 г. более 20 экз. · 100 м⁻³, в районе Евпатории – 46 экз. · 100 м⁻³ (Климова, 1993); в мае 1991 г. на шельфе Крымского полуострова в районах мыса Лукулл, Ялты, Феодосии и в Керченском предпроливье 20 экз. · 100 м⁻³, а максимальная численность (53 экз. · 100 м⁻³) была зарегистрирована в слое 0–5 м над глубиной 160 м в Керченском предпроливье (Климова, 1993).

Вскоре после отмены полного запрета лова калкана, в 1997 гг., в разгар нереста отмечено снижение средней численности икры калкана в 5 раз по сравнению с 1991 г. (Гордина, 1999). В дальнейшем, на протяжении 1995–2007 гг. сборы ихтиопланктона производили исключительно в прибрежных районах, над малыми глубинами, поэтому оценить изменения численности икры калкана было сложно.

Для представления состояния уровня воспроизводства калкана в естественных условиях в период с 2008 по 2013 гг. параллельно с научным ловом производителей калкана во время нерестового (апрель – середина июня) и пост-нерестового периода (середина июня – середина июля) для оценки качества икры

и спермы, отбирали контрольные ихтиопланктонные пробы с помощью ихтиопланктонной сети Богорова-Расса и нейстонной сети Зайцева в районе, ограниченном координатами $44^{\circ}37'26'' - 44^{\circ}51'59''$ с.ш. и $33^{\circ}22'16,6'' - 33^{\circ}30'23,5''$ в.д., над глубинами 80, 50 и 30 м. Для идентификации живой и мёртвой икры использовали модифицированную методику 10-минутного окрашивания проб прижизненным красителем нейтральным красным (Муртази, 1950) непосредственно после отбора в сгущенном сетном планктонном материале с последующей фиксацией забуференным 10% формалином. Анализ проб на наличие икры калкана проводили в камере Богорова под бинокляром при увеличении 8×2 . Икринки калкана полностью отсутствовали в пробах, отобранных сетью Богорова-Расса, но периодически в небольшом количестве встречались в пробах, отобранных гипонейстонной сетью Зайцева.

В гипонейстонных ловах периодически встречалась неоплодотворенная икра калкана в значительном количестве. Так, в пик нереста, 18 мая 2012 г. в одном 5-минутном лове нейстонной сетью Зайцева над изобатой 80 м в акватории Севастополя было обнаружено более 900 неоплодотворенных икринок калкана.

В ихтиопланктонных ловах, проводившихся с 9 до 12 часов, икра калкана встречалась преимущественно на ранних стадиях: со стадии морулы, реже – на стадии хвостовой почки и стадии эпиболии, что подтверждает мнение о том, что процесс естественного нереста калкана, так и не описанный до настоящего времени, происходит ночью. Нормально развивающиеся симметричные эмбрионы в живых икринках калкана из нейстонных проб чётко окрашивались нейтральным красным (рис. 2.1А), нежизнеспособные икринки имели слабое оранжевое окрашивание некоторых структур отмирающих аномальных эмбрионов (рис. 2.1Б, В), умершие икринки с остатками эмбрионального материала неопределенной формы имели мутно-желтоватую окраску и гранулы прижизненного красителя не откладывались в их клетках (рис. 2.1Г).

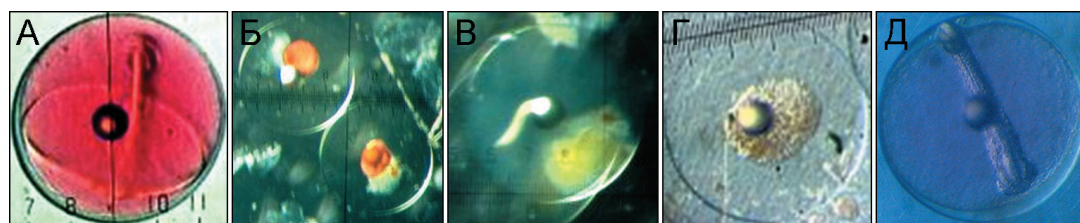


Рис. 2.1. Икринки калкана из ихтиопланктонных проб после окрашивания нейтральным красным и последующей фиксации 10% формалином. А – нормально развивающийся симметричный эмбрион на стадии обрастания в живой икринке; Б, В – умершие икринки с остатками эмбрионального материала мутно-желтоватой окраски, не окрашиваемые нейтральным красным; Г – остановившийся в развитии эмбрион калкана на стадии мелкоклеточной бластулы; Д – нормально развивающийся симметричный эмбрион на стадии образования хвостовой почки

В нейстонных пробах доля неоплодотворённой икры калкана составляла 14% от общего количества пойманных икринок; 17% икринок находилось на стадии дробления; 55% – на стадии бластулы (20% нормы развития). Наибольшая доля

икринок калкана, найденных в нейстонных пробах, находилась на этапе бластуляции, из которых нормально развивалось 56% эмбрионов. У всех обнаруженных икринок на стадиях гастрюляции и органогенеза (14% от общего количества икринок) была идентифицирована норма развития; икра на стадии подвижного эмбриона не встречалась в пробах, и только у единственной икринки была определена стадия начала выклева. Доля нормально развивавшихся икринок, пойманных на поверхности, снижалась от 80 м изобаты к 50 м, и с конца апреля к концу мая. Над глубинами 30 м икра калкана не была обнаружена. Наши данные свидетельствуют о том, что даже при естественном нересте калкана в море значительная часть оплодотворённой икры оказывается нежизнеспособной, с различными аномалиями, несовместимыми с развитием и, соответственно, элиминируемой до завершения гастрюляции.

Низкая общая численность икры калкана в море, обнаруженная нами, свидетельствовала о незначительном количестве производителей в нерестовом стаде в Севастопольском районе. Большое количество аномалий икры калкана и её высокая смертность в море обнаружена также ранее другими исследователями: до 90% нежизнеспособной икры калкана в период нереста отмечалась как в начале 1950-х годов (Попова, 1954, 1972). (Дехник, Павловская, 1950), так и в 2016–2017 гг. (Климова и др., 2016; Игнатъев и др., 2017). Безусловно, в естественных условиях икра калкана может быть подвержена влиянию многочисленных негативных факторов, включая загрязнение различными поллютантами поверхностных слоев морской воды (Cameron et al., 1992). Например, непосредственный контакт эмбрионов балтийского тюрбо *Scophthalmus maximus* с поверхностным микрослоем воды с высоким содержанием нефтяных углеводородов приводил к развитию несовместимых с жизнью аномалий и к смертности 100% икры (Westernhagen et al., 1987). Однако нельзя исключать и возможность спонтанных мутаций у икры, что было установлено для многих морских рыб, в том числе и для черноморского калкана, для которого спонтанная хромосомная изменчивость у эмбрионов, полученных путём искусственного оплодотворения от одной пары производителей, варьировала от 1.5 до 20% клеток с aberrантными хромосомами (Иванов, 1975).

Норма морфогенетических характеристик на каждом этапе эмбриогенеза должна обеспечивать норму развития личинок после выклева, их жизнеспособность и эффективный переход на внешнее питание и, как следствие, обеспечивать высокую выживаемость генерации.

2.2. Морфологические характеристики икры рыб рода *Scophthalmus*

В условиях марикультуры потенциальную способность сцеживаемой икры к оплодотворению и относительную долю правильно развивающихся эмбрионов, приводящему к выклеву жизнеспособных личинок, можно оценить по морфологическим характеристикам.

Первые опыты по получению половых продуктов у отловленных производителей и искусственному оплодотворению икры черноморской камбалы калкан были проведены на Императорской Севастопольской Биологической Станции. Первые упоминания находим в книге Зернова (Зернов, 1913, с. 158) «...Н. Рагоза... целое лето 1906 г. был занят ... искусственным разведением рыб», и «в мае (15 мая 1907 г.) и в начале июня мы делали удачное искусственное оплодотворение *Rhombus maoticus*» (устаревшее латинское название камбалы-калкана).

В ранних экспериментах по искусственному оплодотворению икры калкана с целью разработки стандартной техники оплодотворения (часть исследователей применяет вместо «оплодотворения» термин «осеменение») для получения посадочного материала для генетических (Иванов, 1969; 1975) и аквакультурных исследований (Попова, Романенко, 1975; Чепурнов и др., 1975) проводили с использованием раздавленных семенников калкана, а не с использованием сцеженной спермы у текущих самцов. В Югниро (г. Керчь) у текущих самцов калкана сцеживали сперму в градуированные пробирки и оплодотворение икры проводили полусухим способом (Туркулова, Новоселова, 2012)

Эффективность оплодотворения икры может зависеть (помимо качества спермы, её концентрации и соотношения с икрой, и длительности их контакта) от того, естественным или индуцированным было созревание половых продуктов, длительности периода до оплодотворения икры после овуляции ооцитов, температуры содержания производителей и температуры, при которой производители оплодотворение. У самок рыб рода *Scophthalmus* оогенез контролируется в основном фотопериодом, в то время как температура, совместно с фотопериодом, регулирует скорость вителлогенеза (Devauchelle, 1987).

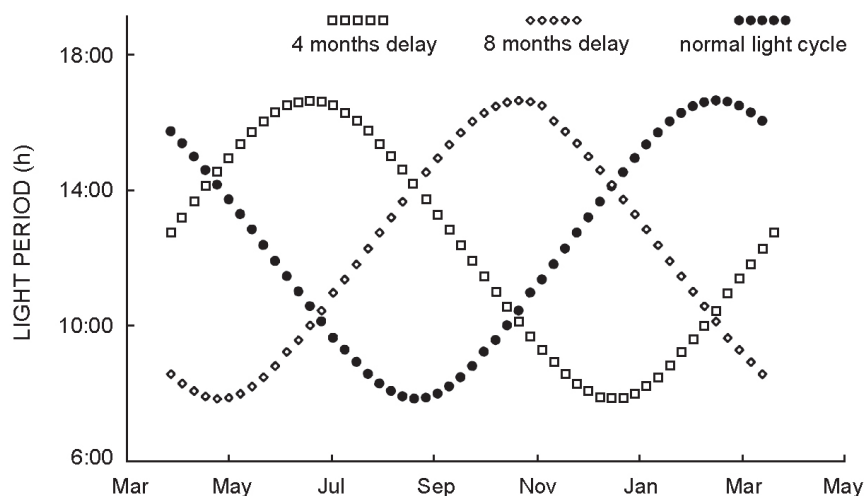


Рис. 2.2. Схема сдвинутого фотопериода, применяемого для стимуляции нереста тюрбо в аквакультуре (модифицировано из (Howell and Baynes, 2004)). Обобщенные кривые изменения длительности светового дня в течение года: естественный цикл (Natural light cycle) и два искусственных – со сдвигом на 4 (4 month delay) и на 8 месяцев (8 month delay), используемые в питомниках тюрбо для получения гамет от производителей в разные периоды года, то есть в марте, июле и ноябре, соответственно

Начало естественного нереста калкана и тюрбо в море приходится на максимальную скорость прибавления длительности дня, и поэтому для стимуляции нереста у тюрбо из маточных стад, содержащихся в искусственных условиях аквакультуры, применяют обычно сочетание искусственно сдвинутых фотопериодов (McEvoy L.A., McEvoy J., 1992; Imsland et al., 2003) (рис. 2.2) с дополнительной температурной регуляцией.

В качестве альтернативы искусственно сдвинутого фотопериода в условиях аквакультуры применяется метод гонадотропной стимуляции (инъекции половых гормонов) для синхронизации овуляции икры у производителей и для предотвращения получения перезрелой икры. Например, для стимуляции нереста калкана используют инъекции гипофизарной суспензии из ацетонированных гомопластических гипофизов своего собственного вида (Туркулова, Новоселова, 2012) или искусственную гормональную стимуляцию путём имплантации производителям тюрбо синтетических аналогов капсул замедленной эмиссии аналога гонадотропина (*англ.* a sustained-release GnRH-a pellet) (Mugnier et al., 2000), которые влияют на завершающие этапы созревания половых клеток, приводят к овуляции и помогают скоординировать время, необходимое для созревания порций икры у подготовленных к нересту производителей.

В наших экспериментальных работах с калканом не производили никакой искусственной стимуляции производителей в связи с отсутствием в экспериментальных условиях исследовательского института специализированных бассейнов с необходимой регуляцией температурного и светового режимов и сильным протоком морской воды. Были использованы два варианта получения половых продуктов. В первом – при срезке камбальных сетей отбирали наиболее качественных здоровых производителей и проводили оплодотворение икры непосредственно на борту судна. Сцеживание икры производили у «текучих» самок (у которых в полости яичника присутствуют овулировавшие ооциты), сцеживание спермы – у «текучих» самцов (у которых при лёгком массаже абдоминальной области происходило свободное выделение спермы). Второй вариант – перемещение производителей, пойманных сетями, в лабораторию, сцеживание у них икры и спермы и помещение рыб в бассейн с периодически заменяемой водой до созревания следующей порции гамет в течение 1–3 суток.

Предварительную оценку качества икры до её искусственного осеменения производили по её физическим признакам – прозрачности и плавучести. Использование в экспериментах икры и спермы, полученных в течение нерестового периода от производителей из нерестового стада у побережья Севастополя, позволяло нам произвести мониторинговую оценку естественного репродуктивного потенциала самок и самцов калкана в данном районе.

От 10 самок, перемещённых в интактном состоянии в экспериментальные условия в полупроточный бассейн при температуре воды около 12°C в течение 7 суток возможно было получить в среднем 10 партий икры разного качества. Обычно, около 60% из этих партий икры выбраковывали ещё до осеменения в связи с её отрицательной плавучестью (оседанием) и другими физическими характеристика-

ми (отсутствие прозрачности, неправильная и неоднородная форма обводнённых ооцитов), которые характеризуют её как «перезрелую», находящуюся в полости яичника от 6 до 24 часов после овуляции. Морфологические характеристики овулировавшего ооцита калкана можно считать надёжным показателем качества икры до оплодотворения, реализации возможности её оплодотворения и, в дальнейшем, качества развивающегося эмбриона. Производили искусственное оплодотворение только высококачественной икры, которая имела следующие внешние признаки: положительную плавучесть, правильную и однородную форму, прозрачность и бесцветность икринок, приобретающих после обводнения форму шара, с правильными оболочками и одной жировой каплей шарообразной формы.

Процент оплодотворения икры калкана, оцениваемый через несколько часов после оплодотворения, на стадии 8–16 бластомеров варьировал между различными партиями, полученными в течение 2006–2018 гг. от 5 до 95%. В среднем, для партий икры с 90% икринок с положительной плавучестью и партий спермы с более 70% подвижных сперматозоидов, процент оплодотворения варьировал в пределах 40–89%. Выживаемость морских рыб обусловлена в значительной степени правильным развитием икры и коррелирует с выживаемостью личинок. Свойства развивающейся икры зависят как от генотипических характеристик, полученных от обоих родителей, самца и самки, так и от биохимических характеристик желтка и жировой капли, накапливаемых в процессе развития ооцита в яичнике и зависящих от совокупности разнообразных факторов. Надёжным показателем качества икры является низкая вариабельность размера икринок, полученной от одной самки, что повышает вероятность нормального развития большей части эмбрионов (Павлов, Емельянова, 2008).

Для рыб рода *Scophthalmus* – черноморского калкана (Баяндина, 2013Б) и близкородственного атлантического тюрбо (McEvoy, 1984; McEvoy L., McEvoy J., 1991) – показано, что высокая вариабельность размеров икры от одной самки совпадает как с низким процентом оплодотворения, так и с низкой выживаемостью икринок в процессе эмбриогенеза. Вариабельность качества икры приводит к вариабельности нормы и скорости развития, процента выклева и качества личинок. Значительная вариабельность размеров и качества икринок в одной сцеженной партии может быть связана со смешиванием в полости яичника двух последовательно овулировавших порций икры вследствие отсутствия возможности естественного вымета икры, например, при длительном пребывании самки в рыболовных сетях (Гирагосов, 2020) или запоздалого сцеживания икры в искусственных условиях. При этом икра из первой (более ранней) порции практически всегда перезрелая.

Каждой самке присущ свой собственный ритм овуляции, который, например, у тюрбо при 12–14°C варьирует от 2 до 4 суток (McEvoy, 1984). Овуляция порций икры происходит последовательно, и икра остаётся жизнеспособной в течение очень короткого времени после овуляции. Нарушение ритма овуляции и икрематания (или сцеживания) у калкана приводит к наличию в полости яичника, как незрелой, так и, с большей долей вероятности, «перезрелой» икры (рис. 2.3).

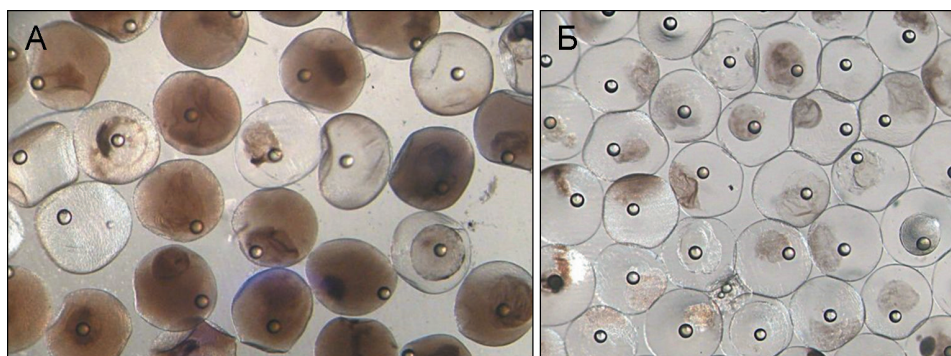


Рис. 2.3. Пробы свеженной икры калкана, смешанные порции. **А** – преимущественно перезревшие ооциты, более 24 ч после овуляции, **Б** – ооциты, свеженные около 12 ч после овуляции

Пик естественной овуляции у самок калкана приходится на ночные часы, а сцеживание икры у самок может быть проведено в лучшем случае в утренние часы, не ранее, а чаще всего более чем через 6 часов после овуляции. При содержании самок в неволе снижение качества икры происходит чаще всего из-за того, что при задержке в полости яичников более 6–10 часов (при температуре 10–12°C) овулировавшие ооциты резко снижают свою способность к оплодотворению и поэтому, соответственно, в искусственных условиях часто получают порции икры, в которой доля неправильно развивающихся эмбрионов может достигать 30% (Devauchelle et al., 1986; Devauchelle et al., 1988; Kjørsvik et al., 2003). Если процент оплодотворения у только что овулировавших ооцитов в норме не выше 90%, то задержка сцеживания после овуляции до 24 часов приводит к значительному снижению вероятности их оплодотворения и правильного развития даже на ранних стадиях (McEvoy, 1984).

Повышение вдвое частоты сцеживания икры не только повышает вдвое её выживаемость (72% vs. 46%), но и увеличивает процент выклева и продукции жизнеспособных личинок на выклеве, с вариациями от 11% до 35%, и от 20 до 65 тыс. личинок, соответственно, на 1 кг массы самки (Fauvel et al., 1992). Наиболее быстрый и доступный метод определения пост-овуляционной задержки свеженной икры – по изменению рН овариальной жидкости, которая снижается у самок рода *Scophthalmus* от 8.1 непосредственно после овуляции икры до 7.1 у «перезревшей» икры (Fauvel et al., 1993a).

Овуляция зрелого ооцита калкана происходит после второго митотического деления созревания на стадии метафазы II, когда ядро содержит гаплоидный набор хромосом. В этом состоянии ооцит находится до момента его эмиссии самкой в море во время нереста, или до искусственного сцеживания икры. При овуляции освобождённый из фолликулярной и соединительнотканной оболочки ооцит, окружённый собственной и студенистой оболочками, выпадает в полость яичника.

В овариальной жидкости овулировавшая икра рыб рода *Scophthalmus* может сохранять способность к оплодотворению до 10 мин (Fauvel et al., 1992), однако, в воде или вне полостной жидкости, это состояние сохраняется считан-

ные минуты. Таким образом, снижение качества икры может быть связано как с задержкой овулировавших ооцитов в яичниках, приводящей к получению перезревшей икры при сцеживании, так и в связи со снижением способности к оплодотворению при выдерживании сцеженной икры в овариальной жидкости.

Содержание органических и неорганических компонентов в зрелом ооците перед овуляцией должно обеспечить развитие зародыша всеми необходимыми компонентами не только вплоть до выклева, но и выклюнувшуюся личинку вплоть до перехода на внешнее питание. В зрелой икре (недавно овулировавшем ооците) калкана липидные и желтковые компоненты сливаются, образуя желточную массу, окружённую мембраной, и ооцит выглядит однородным. На этой же стадии в норме образуется одна жировая капля икры калкана. Цитоплазма расположена равномерно по поверхности желтка, на периферии ооцита, в слое между желтком и оболочкой икры, а кортикальные альвеолы расположены под плазматической мембраной.

Строение зрелого ооцита (неоплодотворённой икры). Нормальная неоплодотворённая зрелая икра калкана имеет положительную плавучесть, бесцветна, прозрачна, не адгезивна, с большим центрально расположенным желтком и одной жировой каплей, расположенной на поверхности желтка (рис. 2.4А). Оболочка икры – прочная сложная геликоидная конструкция, состоящая из многочисленных решетчатых концентрированных слоев кератиноподобных склеропротеиновых волокон в белковом матриксе (Kjørsvik et al., 2004), формируется ещё в яичнике, и в дальнейшем обеспечивает физическую защиту развивающемуся эмбриону. Первичная оболочка (*zona radiata*) происходит от поверхностной протоплазмы ооцита, сверху неё образуется вторичная оболочка икры, продуцируемая фолликулярными клетками и называемая хорионом.

Прозрачная светопреломляющая оболочка неоплодотворённой икры черноморского калкана, как и у близкородственного тюрбо, имеет волнообразную структуру и пронизана гладкими порами, остатками радиальных канальцев, расположенными регулярно на определённом расстоянии друг от друга, отчётливо видимыми под электронным микроскопом (Терещенко и др., 1992; Bian et al., 2010). Через поры ооциты ассимилируют необходимые питательные вещества во время их развития в яичнике. Пористая и волнистая структура оболочки достаточно хорошо видна и под световым микроскопом (рис. 2.4В).

Эти поры являются отпечатками крохотных радиальных канальцев, через которые пальцеобразные микровиллы ооцитов ассимилируют во время развития в яичнике необходимые питательные вещества из пространства между собственной плазматической мембраной и фолликулярным эпителием (Lubzens et al., 2010). Непосредственно перед овуляцией микровиллы отпадают от оболочки ооцита, и от них на оболочке икры остаются поры. Регулярное расположение канальцев придаёт оболочке икры вид радиальной исчерченности, именно поэтому её чаще всего называют *zona radiata*. Впервые структура *zona radiata* икры рыб рода *Scophthalmus* с применением растровой электронной микроскопии была изучена именно у черноморского калкана в начале 1990-х (Терещенко и др., 1992).

К сожалению, результаты этих первых исследований, опубликованные только на русском языке, оказались неизвестными за рубежом, и поэтому пионерами в изучении микроструктур икры рыб рода *Scophthalmus* на примере икры тюрбо считаются изучившие её с помощью электронного сканирующего микроскопа на 20 лет позже китайские исследователи (Bian et al., 2010).

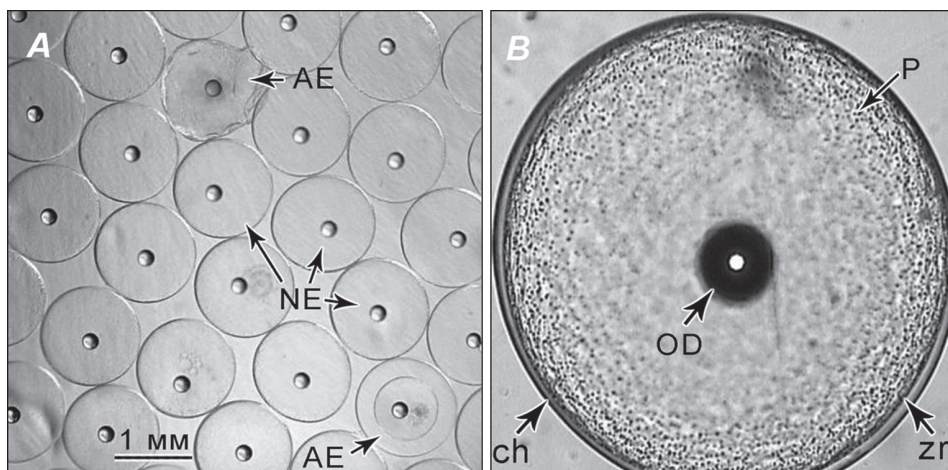


Рис. 2.4. Неоплодотворённая икра черноморского калкана: **А** – свеженные икринки в верхнем слое воды, **В** – икринка крупным планом.

Условные обозначения: NE – нормальная икра, AE – anomalous egg (возможно, это икринка, созревшая ранее, не была выметана, активировалась и начала отмирать), OD – жировая капля, P – поры, zr – *zona radiata*; ch – хорион.

2.3. Оплодотворение икры

При искусственном оплодотворении икры используют методику «сухого», иначе называемого «русским» (разработанным одним из первых успешных русских рыборазводчиков – В.П. Врасским) способом, при котором икру перемешивают с неразбавленной спермой. В нём используется свойство сперматозоидов активироваться и длительное время сохранять подвижность в полостной жидкости самок, которая свеживается одновременно с икрой. Но для дальнейшего проникновения спермия через микропиле и активации икры, необходима морская вода, поэтому через пару минут приливают немного воды и повторяют перемешивание. В искусственных условиях, для достижения максимально высокого уровня оплодотворения у видов рыб рода *Scophthalmus* при использовании «сухого» метода оптимальным считается соотношение 6000 сперматозоидов на икринку (при времени контакта 3–5 мин.) (Suquet et al., 1995).

Часто при работе с видами рыб рода *Scophthalmus* применяется «полусухой» способ оплодотворения икры (Person-Le Ruyet et al., 1991; Fauvel et al., 1992), когда к свеженной в сухую посуду икре приливают незначительно разбавленную морской водой сперму от нескольких самцов (Туркулова, Новосёлова, 2012; Маслова, 2013) и после перемешивания производят дополнительное разбавле-

ние морской водой. Оптимальными соотношениями при оплодотворении икры рода *Scophthalmus* с использованием «сухого» способа считают объёмное соотношение спермы и икры >9000 сперматозоидов на икринку, а полусухого 3000–4000 сперматозоидов (Chereguini et al., 1999).

Механизм внешнего оплодотворения морских рыб, повышающий вероятность встречи гамет, заключается в одновременности вымета сперматозоидов и икры в море и в особом механизме проникновения сперматозоида в яйцеклетку. Взаимодействие гамет условно делится на несколько фаз. В период дистантного взаимодействия яйцеклетка продуцирует видоспецифичные низкомолекулярные вещества, активирующие привлечение движение сперматозоидов своего вида (особый род хемотаксиса). Контактное взаимодействие заключается в проникновении единственного сперматозоида через единственный, расположенный на *zona radiata* анимального полюса икры, канал микропиле. Эффективность оплодотворения и пропорция необходимого количества сперматозоидов на яйцеклетку зависит не только от активности сперматозоида, но от морфологии ооцита и видоспецифичных структур на поверхности хориона (желобков, англ. grooves), которые направляют сперматозоид к микропиле, и складок (англ. ridges) микропиле, которые способствуют прохождению сперматозоида через микропиле к протоплазматической мембране ооцита (Pereira-Santos et al., 2017).

Микропиле, являющееся отпечатком особой микропилярной клетки, отпавшей в ходе овуляции, диаметром 4.2 ± 0.4 μm у видов рода *Scophthalmus*, имеет специфическую конструкцию – это воронкообразное углубление с ребрами, винтообразно закрученными по часовой стрелке изнутри наружу (рис. 2.5А) (Bian et al., 2010).

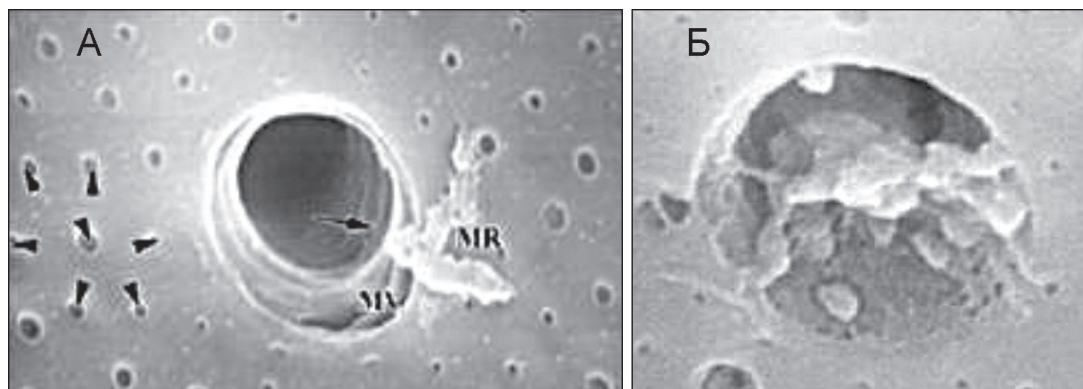


Рис. 2.5. Микрофотографии оболочки (*zona radiata*) в области анимального полюса икры *Scophthalmus maximus* (полученной в искусственных условиях рыбоводческой фермы провинции Шандун, Китай) под сканирующим электронным микроскопом JEOL-JSM-840 (Bian et al., 2010) А – канал микропиле неоплодотворённой икры с воронкообразным углублением с рёбрами, закрученными по часовой стрелке; Б – микропиле с закрытым экструдированной пробкой каналом.

Условные обозначения: стрелка с направляющей указывает на углубление микропиле; стрелки – поры/каналы вокруг микропиле; MR (аббревиатура от англ. micropyle region) – область микропиле; MV (аббревиатура от англ. micropyle vestibule) – вход в микропиле

Особенности микроструктуры оболочки икры и микропиле, а также ультраструктурные изменения, происходящие с оболочкой и микропиле в процессе и после оплодотворения, являются филогенетическими приспособлениями, направляющими сперматозоид в микропиле. После проникновения спермия через микропиле часть жидкости перивителлинового пространства экструдируется через микропилярный канал наружу и формирует пробку, закрывающую вход в микропиле (см. рис. 2.5Б) (Bian et al., 2010), которая блокирует не только прохождение других сперматозоидов (предотвращая полиспермию), но и исключает проникновение в оплодотворённую икру патогенов, бактерий, вирусов и грибов, сохраняя стерильность перивителлинового пространства икры на протяжении эмбриогенеза.

Как только головка спермия соприкасается с микропиле, происходит контакт между мембраной сперматозоида и протоплазматической мембраной ооцита, и при слиянии их мембран образуется канал, по которому проходят ядро и центриоль сперматозоида (Макеева, 1992). Ионы натрия из мембраны сперматозоида поступают в цитоплазму яйца, и происходит кратковременная смена мембранного потенциала яйцеклетки с положительного на отрицательный (*быстрый блок полиспермии*). За этим следует сложная каскадная цепь биохимических реакций, связанная с конформацией белка, активирующего фосфолипазу, расщепляющую фосфотидил-инозитол дифосфат, приводящий к подъёму синтеза белка в цитоплазме яйцеклетки и синтезу ДНК в мужском и женском ядрах.

Активация икры, образование бластодиска. Во время активации икры прекращается блокировка процесса мейоза, происходят завершение второго мейотического деления, перестройка ядерного аппарата и сложная морфологическая и биохимическая трансформация экстраклеточного матрикса: преобразование структуры оболочки неоплодотворённой икры в структуру оболочки оплодотворённой икры (Kjøtsvik et al., 2004).

В результате связывания кальция в кортикальном слое икры, в поверхностном слое цитоплазмы, происходит экзоцитоз кортикальных альвеол (гранул), называемый кортикальной реакцией. Волна кортикальной реакции продвигается от анимального к вегетативному полюсу икры и сопровождается высвобождением содержимого кортикальных альвеол (коллоидной субстанции, содержащей различные компоненты, в том числе гликопротеиды) вблизи протоплазматической мембраны, в пространство между плазмалеммой и желточной оболочкой. Осмотически активные гликопротеиды втягивают воду между оболочками, вызывая их расслоение; внешняя оболочка икры поднимается и отделяется от внутренней цитоплазматической (вителлиновой) мембраны, и между ними образуется перивителлиновое пространство, которое у икры калкана в норме занимает очень небольшой объём и заметно в основном на анимальном полюсе.

После этого в процессе обводнения происходит преобразование и затвердевание оболочки, которая в результате становится недоступной для сперматозоидов (*медленный блок полиспермии*). Повышение плотности оболочки икры происходит в результате экзоцитоза кортикальных гранул и повышения давления тургора жидкости, направленного на внутреннюю поверхность оболочки. У оплодот-

ворённой икры калкана (по сравнению с неоплодотворённой) оболочка более плотная, равномерно гладкая, волнистость поверхности отсутствует, и форма икринки практически шарообразная.

Затвердевшая оболочка оплодотворённой икры калкана выдерживает очень высокие физические нагрузки. В норме у правильно развивающейся икры калкана в период от дробления до ранней бластулы перепад давления в жидкости перивителлинового пространстве сначала возрастает с $0.6 \cdot 10^3$ до $3 \cdot 10^3$ Па, сохраняется в пределах $3-3.5 \cdot 10^3$ Па до завершения гастрюляции, и падает на последующих поздних этапах до $1 \cdot 10^3$ Па, снижаясь перед выклевом до $0.3-0.6 \cdot 10^3$ Па (Терещенко и др., 1992). Сравнительно низкая плотность ($1.011 \text{ г} \cdot \text{см}^{-3}$), высокая оводнённость (94.5–95.6%) (Битюкова, Ткаченко, 1998) и наличие жировой капли обеспечивают оплодотворённой икре калкана положительную плавучесть и распределение в верхнем слое черноморской воды (солёность 17.5–18‰).

По данным растровой электронной микроскопии, *zona radiata* оплодотворённой икры калкана (диаметр ~ 1.26 мм) состоит из 6 слоёв общей толщиной 3 мкм, которые пронизывают поры диаметром 0.4 мкм, расположенные в определённом порядке, плотностью 275 тыс. пор на 1 мм^2 (Терещенко и др., 1992). Через сквозные каналы *zona radiata* осуществляется дыхание зародыша, происходит обмен метаболитами между развивающимся зародышем и жидкостью перивителлинового пространства, выводятся в окружающую среду продукты его метаболизма. В *zona radiata* оплодотворённой икры тюрбо (диаметр 1.09 мм) насчитывают 7–8 слоёв; а плотность расположенных на её поверхности в гексагональном порядке пор (со сходным с калканом диаметром 0.4 мкм) составляет 266 тыс. на 1 мм^2 (Bian et al., 2010).

Морфологические особенности, характерные для последовательных стадий развития (до и после оплодотворения, дробления, бластуляции, гастрюляции, эпиболии и нейруляции, вплоть до выклева) черноморского калкана, представлены серией цифровых фотографий с описанием трансформирующихся эмбриональных структур. В связи с тем, что развитие икры калкана может проходить нормально в оптимальном для эмбриогенеза температурном диапазоне ($14-16^\circ\text{C}$), но отличается по длительности развития, временные интервалы эмбрионального развития калкана представлены в единицах относительного времени (временного отрезка от оплодотворения до момента появления структуры, выраженного в процентах от общей длительности эмбриогенеза, %RT).

Иногда кортикальная реакция оказывается незавершённой, и кортикальные гранулы обнаруживаются у икры даже на стадии дробления (Pavlov et al., 2004). Предполагают, что динамика кортикальной реакции связана с качеством икры, хотя пока для этого утверждения нет достоверных данных. Доля оплодотворённой икры варьировала в разных партиях от 5 до 95%. Даже при использовании высококачественных половых продуктов при искусственном оплодотворении определённая часть икры (5–15%) остаётся неоплодотворённой (рис. 2.6А). Для партий икры с 90% прозрачных икринок с положительной плавучестью и партий спермы с более 70% подвижных сперматозоидов доля оплодотворённой икры может достигать 90%.

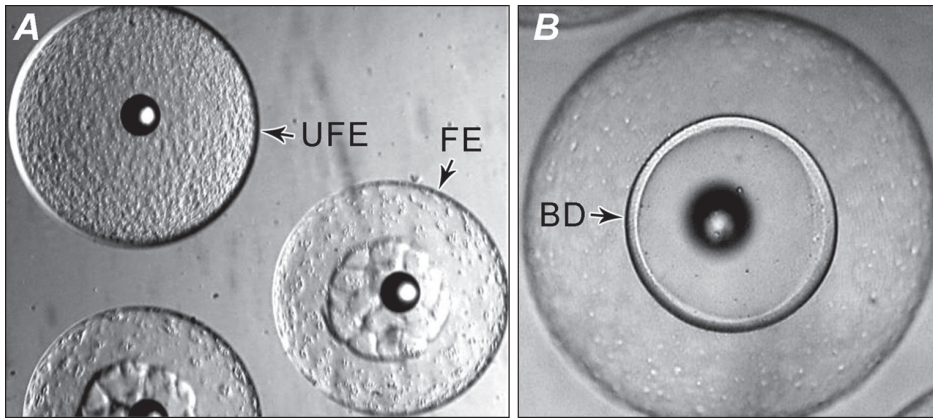


Рис. 2.6. Икра калкана после оплодотворения. **А** – икринки из одной порции (~ 4 ч после оплодотворения) верху слева – незрелая неактивированная икра калкана, внизу справа – оплодотворённая икра на стадии дробления. **В** – оплодотворённая икринка с образовавшимся бласто-диском (~1.5 ч после оплодотворения).

Условные обозначения: UFE – неоплодотворённая икринка, FE – оплодотворённая икринка на стадии дробления, BD – бластодиск

В оплодотворённой икре калкана в течение от 0 до 1%RT, приблизительно через 15–60 минут (в зависимости от температуры и состояния икры) после соприкосновения оболочек икры и спермы, свободная от желтка цитоплазма икры начинает аккумулироваться на анимальном полюсе. Приблизительно к 1.5%RT после оплодотворения образуется дископодобная выпуклость – зародышевый диск, или бластодиск (рис. 2.6В), в центральной части которого происходит сближение и слияние пронуклеусов ооцита (женского) и сперматозоида (мужского) и соединение хромосомных наборов пронуклеусов; и в дальнейшем икра и сперматозоид представляют одну клетку; завершается второе деление мейоза, и формируется зигота, которая лежит на поверхности вегетативной части ооцита – желточной массе, в центре которой находится одна жировая капля.

При соприкосновении неоплодотворённой икры (ооцита) с морской водой до проникновения в неё сперматозоида, в результате кортикальной реакции, в ней может произойти агрегация цитоплазмы и иногда образование на анимальном полюсе ложного плазматического диска, развивающейся партеногенетически, в котором может произойти несколько спонтанных (но не более двух) делений и образоваться до 4 ложных бластомеров. Такие бластомеры обычно имеют неправильную форму, и чаще их нечётное число, что свидетельствует о неравномерной скорости дробления. Неоплодотворённая икра может некоторое время оставаться живой и абсолютно прозрачной, с положительной плавучестью, но отмирает и оседает в тот же временной период, когда нормально развивающиеся эмбрионы калкана достигают начала стадии эпиболии – обрастания желтка.

Норма морфогенетических характеристик на каждом этапе эмбриогенеза обеспечивает норму развития личинок после выклева, их жизнеспособность, эффективный переход на внешнее питание и, как следствие, высокую выживаемость

потомства. Наиболее подробным ранним исследованием морфологических особенностей эмбриогенеза калкана является поэтапное описание эмбрионального развития по материалу ихтиопланктонным проб (Дехник, 1973). Прозрачность оболочек икры калкана позволяет легко оценить постадийное развитие эмбриона от дробления до стадии вылупления под бинокуляром и световым микроскопом.

После оплодотворения и обводнения в икре рыб рода *Scophthalmus* содержится в среднем 91.5% воды – на 25% больше, чем в икре из гонад (Devauchelle et al, 1988). Диаметр оплодотворённой икры калкана, полученной в разных экспериментах при искусственном оплодотворении с использованием гамет разных самцов и самок из нерестовой популяции калкана, варьировал в разных партиях от 1.26 ± 0.14 до 1.31 ± 0.15 мм (Ханайченко и др., 2009Б) с вариациями диаметра жировой капли от 21 ± 7 до 22 ± 9 мкм, и находился в пределах вариаций размерных характеристик икринок калкана из моря по результатам ранних исследований ихтиопланктона (Дехник, 1973), в которых диаметр икры калкана варьировал в пределах 1.10–1.33 мм, а диаметр жировой капли – 0.17–0.23 мкм.

Показано (Ханайченко и др. 2009Б; Баяндина, 2011), что размер икры калкана так же, как и других видов рыб (Павлов, Емельянова. 2008), не является надёжным показателем её качества, в то время как низкая вариабельность размера икры, полученной в одной порции от одной самки, повышает вероятность её нормального развития. Диаметр икринки, варьирующий в пределах 10% в зависимости от партии икры, сам по себе не является характеристикой качества икры; низкая вариабельность диаметра икры в одной партии, напротив, является косвенным показателем её качества.

Морфологические характеристики оплодотворённой икры могут изменяться в зависимости от происхождения икры и питомников, в которых её получают. Диаметр оплодотворённой икры атлантического тюрбо в море может изменяться в пределах 0.9–1.5 мм (Russel, 1976). В европейских лабораториях и питомниках диаметр икры тюрбо варьирует: в Великобритании – 0.9–1.2 мм (Jones, 1972); 0.92–1.05 мм (McEvoy et al, 1991); 1.45 ± 0.04 мм с жировой каплей 0.36 ± 0.03 мм (Gibson, Johnston, 1995); во Франции 0.97–1.13 мм с жировой каплей 0.15–0.22 мм (Devauchelle et al., 1988). На протяжении нерестового сезона диаметр икры самок *S. maximus* (при содержании в искусственных условиях) в среднем может снижаться на 6% (рассчитано по McEvoy, 1991): от 1.03 ± 0.02 мм до 0.97 ± 0.03 мм. Икра тюрбо из китайских питомников (описанная как прозрачная с желтоватым желтком и коричневатой-желтоватой жировой каплей) имеет диаметр, варьирующий от 0.97 ± 0.06 мм (Tong et al., 2013) до 1.09 ± 0.05 мм (Bian et al., 2010).

Удельный вес оплодотворённой икры калкана (1.011 г/см^3), её высокая оводненность (94.5–95.6%) (Битюкова, Ткаченко, 1998) и жировая капля обеспечивают высокую плавучесть икры, которая располагается на поверхности черноморской воды с солёностью 17.5–18‰. Значимых различий в содержании белков и липидов у ооцитов в гонадах и у оплодотворённой икры рода *Scophthalmus* не обнаружено (Devauchelle et al., 1988). В результате биохимических преобразований в процессе эмбриогенеза плотность икры калкана незначительно возраста-

ет, и на последних этапах развития происходит её незначительное заглубление (Терещенко и др., 1992).

На характер реализации генома зародыша, также как на эффективность утилизации его запасных веществ, полученных от женского организма, может влиять не только материнский, но и отцовский геном. Обнаружена зависимость между процентом оплодотворения икры одной самки, оплодотворенной двумя разными самцами (75% vs 35%), и выживаемостью потомков от оплодотворенной икры до жизнеспособных личинок калкана (40% vs 20%), и длиной личинок к моменту перехода на внешнее питание ($SL=3.46\pm 0.03$ vs 3.20 ± 0.06 мм) в связи с различной эффективностью утилизации желтка (Ханайченко и др., 2009Б).

Известно существование корреляции между правильным развитием в процессе эмбриогенеза и выживаемостью личинок (Павлов, Емельянова, 2008; Kjorsvik et al., 2004). Норма развития эмбрионов калкана характеризуется одинаково для всех выборок, и для нормы эмбрионального развития калкана характерны признаки, одинаковые для всех выборок икры.

2.4. Морфологические особенности черноморского калкана в период эмбрионального развития

Материалом для описания особенностей нормы эмбриогенеза черноморского калкана (Ханайченко, Гирагосов, 2019) послужила искусственно оплодотворенная икра, полученная от производителей калкана, отловленных камбальными сетями в шельфовой зоне моря в районе г. Севастополь. Экспериментальные работы по оплодотворению и инкубированию икры проводили в 2006–2018 гг. в период естественного нереста калкана – в апреле – мае. Морфологические характеристики развивающихся эмбрионов калкана на разных стадиях эмбриогенеза исследовали по микроскопическим цифровым фотографиям (более 5000) интактных икринок (более 2000 экз.). Цифровую фотосъемку осуществляли с помощью аналоговой видеокамеры, подсоединенной к микроскопу Nikon Eclipse-200, а также с помощью цифровой фотокамеры Canon PowerShot A720, подсоединенной к стереомикроскопам МБС-9 и МБС-10. Размеры икринок и эмбрионов и их морфологических элементов оценивали по окуляр-микрометру и по цифровым фотографиям.

В связи с тем, что при проведении исследования развития живых эмбрионов калкана отсутствовала возможность применения электронной микроскопии и гистологического анализа, для более достоверного описания процесса эмбриогенеза наши собственные материалы были органично дополнены описанием некоторых развивающихся в процессе эмбриогенеза структур близкородственного тюрбо по литературным данным.

Впервые описание эмбриогенеза черноморского калкана на основании отловленных из ихтиопланктона икринок было сделано Т.В. Дехник (Дехник, 1973); ею эмбриогенез этого вида был условно разделён на классические шесть этапов, каждый из которых уже содержит некоторые черты следующего: I дробле-

ние (от оплодотворения до образования бластулы); II бластуляция, заканчивающаяся образованием эпителиальной бластулы; III гастрюляция до образования бластопора; IV органогенез (в течение которого образуются слуховые капсулы, зачатки сердца и развивается пигментация до появления хвостовой почки); V рост хвостового отдела (до начала пульсации сердца); VI подвижный эмбрион (до вылупления). В описаниях развития атлантического тюрбо эмбриогенез обычно разделяют на этапы дробления, гастрюляции, нейруляции, органогенеза (Devauchelle et al., 1988; Tong et al., 2013).

В данном описании эмбриогенеза калкана мы придерживаемся терминологии и интервалов развития (оплодотворение, дробление, бластуляция, гастрюляция, органогенез, начало мышечной моторики и подготовка к вылуплению) аналогично описанию эмбриогенеза по (Махотин, 2016). В связи с тем, что описание развития эмбриональных структур калкана рассматривали в диапазоне оптимальных температур от 14 до 16°C, при которых длительность разных этапов значительно отличается, хронология появления и трансформации морфологических структур в процессе эмбриогенеза калкана приводится в относительных единицах (относительном возрасте эмбриона относительно общей продолжительности эмбриогенеза, $RT - \%$), аналогично безразмерной характеристике τ_0 (Махотин, 2016).

I этап – подготовка икринки к дроблению. Диаметр оплодотворённой икры калкана, полученной в разных экспериментах при искусственном оплодотворении с использованием гамет разных самцов и самок из нерестовой популяции калкана, варьировал в разных партиях от 1.26 ± 0.14 до 1.31 ± 0.15 мм с вариациями диаметра жировой капли от 0.21 до 0.22 мм, и находился в пределах вариаций размерных характеристик икринок калкана из моря по результатам ранних исследований ихтиопланктона (Дехник, 1973), в которых диаметр икры калкана варьировал в пределах 1.10–1.33 мм, а диаметр жировой капли 0.17–0.23 мм. В результате активации икры прекращается блокировка процесса мейоза, происходят завершение второго мейотического деления, перестройка ядерного аппарата и сложная морфологическая и биохимическая трансформация экстраклеточного матрикса: преобразование структуры оболочки неоплодотворённой икры в структуру оболочки оплодотворённой икры (Kjørsvik et al., 2004). Осмотически активные гликопротеиды вытягивают воду между оболочками, вызывая их расслоение; внешняя оболочка икры поднимается и отделяется от внутренней цитоплазматической (вителлиновой) мембраны, и между ними образуется перивителлиновое пространство, которое у икры калкана в норме занимает очень небольшой объём и заметно в основном на анимальном полюсе.

II этап. Дробление цитоплазматического диска оплодотворённой икры начинается с первого митотического цикла, во время которого приблизительно в возрасте $2.5\%RT$ (образуются два одинаковых бластомера (рис. 2.7А). В образовании новых клеточных мембран при дроблении участвуют два механизма: синтез мембран *de novo* и растягивание плазматической мембраны ооцита (Макеева, 1992). В результате двух непрерывных скоординированных процессов – кариокинеза (митотического деления ядра) и цитокинеза (деления клетки) бласто-

диска – восстанавливается характерное для соматических клеток ядерно-плазменное отношение, и важная для развития генетическая информация распределяется между разными клеточными областями. Из-за отсутствия роста клеток на начальных стадиях дробления совокупность бластомеров не превосходит по своим размерам зиготу. Первые борозды деления проходят меридионально (вертикально), и образуются правильной формы практически равные по размеру и симметричные бластомеры. После второго деления образуются 4 бластомера (рис. 2.7В), возвышающихся над цитоплазмой (рис. 2.7С).

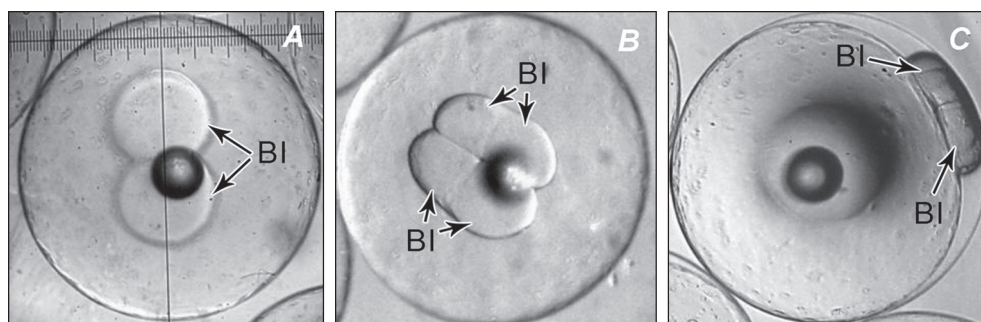


Рис. 2.7. Микрофотография оплодотворённой икры калкана на этапе дробления: **А** – стадия 2 бластомеров, **В** – стадия 4-х бластомеров, **С** – стадия 4-х бластомеров (латеральная проекция).

Условные обозначения: Bl – бластомеры. Бинокляр. Увеличение 8x4.

По мере дробления специфические клетки начинают изменять свой морфологический и функциональный фенотип. Спецификация клеток эмбриона калкана происходит уже после 4-го деления: 4 центральных бластомера обособлены от массы желтка, а 12 периферических (краевых=маргинальных) бластомера сохраняют связь с желточной массой. В норме, большинство эмбрионов одной партии находится на одной стадии дробления. Приблизительно через 4.5 часа (окончание 5-го митотического цикла), в возрасте 4.5%RT, в результате деления 4-х центральных бластомеров широтными, а 12 краевых – меридиональными бороздами, формируется 32 бластомера, значительно отличающихся по форме и размеру (рис. 2.8А); образуется крупноклеточная морула, закладывается поверхностный слой центральной части бластодиска; бластомеры плотно прилегают друг к другу, свободных пространств между ними нет, а центральные бластомеры расположены в два слоя. К 6.5%RT, после 6-го по счёту, первого горизонтального деления, бластодиск калкана состоит из 64 бластомеров; и внутренние клетки формируют мембраны быстрее, чем краевые.

Некоторая десинхронизация деления клеток зародыша калкана, свидетельствующая о начале их дифференциации между 6-м и 7-м делением, наступает после 7%RT; бластодиск насчитывает около 128 мелких бластомеров (рис. 2.8В), с плотно прилегающими друг к другу клеточными мембранами, образующими межклеточные контакты. Внешние периферические бластомеры уплощаются, а внутренние, глубокие клетки, из которых в дальнейшем формируется эмбрион

– округляются. После 8-го митотического цикла в зародыше калкана насчитывается около 256 клеток, упакованных в не менее чем 4 слоя. В этот период клетки ещё поддерживают коммуникацию, но затем возрастает асинхронность формирования поверхностных, внутренних и краевых бластомеров, и около 10%RT эмбрион переходит к бластуляции.

Внешние периферические бластомеры уплощаются, а внутренние, глубокие клетки, из которых в дальнейшем формируется эмбрион – округляются. В результате дробления бластодиск преобразуется в горку бластомеров, возвышающихся над поверхностью желточной сферы.

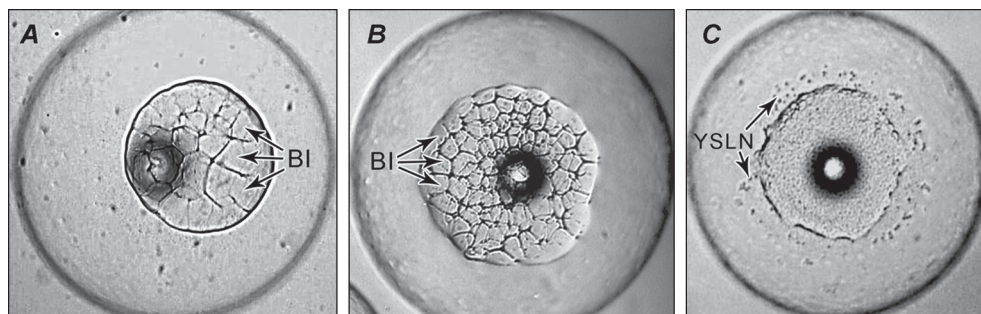


Рис. 2.8. Эмбрион калкана: **A** – на стадии 32 бластомеров; **B** – на стадии 128 бластомеров; **C** – на стадии > 512 бластомеров, по периферии бластодиска видны ряды синцитиальных ядер перибласта.

Условные обозначения: Bl – бластомеры, YSLN – ядра перибласта

Дробление может происходить и в отсутствие транскрипции, так как процессы, происходящие при раннем развитии зародыша, обусловлены использованием матриц (молекул мРНК), подготовленных в ооците ещё при оогенезе в материнском организме, поэтому в течение периода дробления зародыш – точная генетическая копия материнского организма.

III этап – Бластуляция характеризуется десинхронизацией деления клеток; условно делится на раннюю, среднюю и позднюю бластулу; и заканчивается образованием эпителиальной бластулы (приблизительно в возрасте 15%RT). В результате постоянного деления верхних бластомеров с плотными межклеточными контактами на ранней бластуле, называемой также «высокая бластула» (англ. high blastula), или «бластомерная бластула» (по устаревшей терминологии), происходит куполообразное выпячивание бластодермы на анимальном полюсе. В течение средней бластулы, одновременно с нормализацией ядерно-плазменного соотношения и удлинением клеточного цикла, начинается период асинхронных делений клеток; пробуждается транскрипционная активность собственно генома зародыша, происходит синтез различных видов РНК на матрицах ДНК, т.е. пробуждается транскрипционная активность генома зародыша. Гены, внесенные в геном зародыша со сперматозоидом, проявляют свое действие только после пробуждения транскрипционной активности генома зародыша (гены зиготы). С этой критической стадии развития, которую называют точкой перехода

на стадии средней бластулы (*англ.* mid-blastula transition point – МВТР) клетки самого зародыша калкана способны к автономным движениям, необходимым для морфогенетических процессов, и зародыш становится полноценным эмбрионом, в котором начинает действовать его собственный геном. Если геном эмбриона не активируется, дальнейшее развитие не происходит (Kane, Kimmel, 1993), так как внутренние клетки бластодиска не способны к правильной дифференциации на слои гипо- и эпибласта. Зародыш перестаёт быть генетической копией матери, т.е. по выражению американского биолога Дэвидсона эмбрион «берет свою судьбу в собственные руки» (цит. по (Маслова, Сидоров, 2008).

К стадии поздней бластулы в зародышах калкана (по схеме всех костистых рыб) формируются морфологически обособленные группы клеток: поверхностные клетки с плотными межклеточными контактами (образующие эпителиальный пласт – перидерму, которая обрастает поверхность бластодермы и покрывает эмбрион и желток) и глубокие клетки с неплотными контактами (Макеева, 1992).

В норме боковые клеточные мембраны плотно прилегают друг к другу, образуя плотные межклеточные контакты. Происходят слабые движения глубоких клеток, у которых периодически образуются короткие выступы – лобоподии, которыми клетки касаются друг друга, и цитоплазматическая моторика приводит к вращению икринок вокруг собственной оси, перемешиванию перивителлиновой жидкости, способствуя кислородному обмену эмбриона (Терешенко и др., 1992).

В течение 10–11-го митотического деления (приблизительно 512–1024 клеток) (около 12%RT) в бластодерме окончательно происходит дифференциация особого слоя. У крайних бластомеров происходит деление только ядер вместо деления цитоплазмы, клеточные мембраны отсутствуют; и эти бластомеры начинают сливаться с субстанцией желтка. Ядра крайних бластомеров мигрируют из клеточного материала и располагаются несколькими рядами в цитоплазме, образуя специализированный слой клеток, не относящийся к структуре собственно зародыша, а являющийся как бы прослойкой между желтком и собственно зародышем – образуется слой, связанный с желтковыми запасами, Желточный синцитиальный слой (*англ.* yolk syncytial layer, YSL), называемый также перибластом (см. рис. 2.8С).

Желточный синцитиальный слой, или перибласт – уникальная временная экстра-эмбриональная синцитиальная структура, дифференцирующаяся во время дробления и присутствующая в эмбрионе вплоть до выклева. Ядра перибласта с начала поздней бластулы начинают увеличиваться в размере (в результате постоянного удвоения в них ДНК) и продолжают парасинхронные (не сопровождаемые цитотомией) митотические деления вплоть до гастрюлы, после наступления которой в перибласте уже не происходит делений. Соответственно, перибласт становится симпластом – тканью, характеризующейся отсутствием границ между клетками и расположением ядер в сплошной цитоплазме непрерывной системы протопластов, связанных плазмодесмами и ограниченными клеточной стенкой с полиморфными полиплоидными ядрами (Kondakova, Efremov, 2014). Перибласт контролирует эпиболию, структурирование, спецификацию клеток и морфогенез слоёв зародыша в процессе гастрюляции.

Высокодинамичные движения этого слоя (YSL) скоординированы с движением поверхностных клеток предшественников (Carvalho, Heisenberg, 2010). Во время поздней бластулы часть ядер перибласта перемещается под край бластодиска и образуют внутренний желточный синцитиальный слой (*англ.* internal yolk syncytium layer, I-YSL), который обособляет бластодерму от желтка и существует до окончания эмбриогенеза (рис. 2.9) (из Carvalho, Heisenberg, 2010).

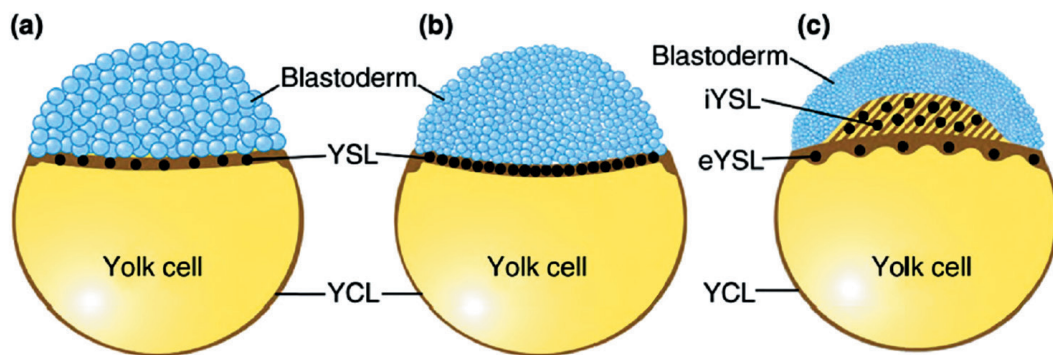


Рис. 2.9. Схема перехода икры от крупноклеточной (а) к мелкоклеточной моруле и ранней (б) и поздней бластуле (с) с образованием внутреннего (iYSL) и внешнего (eYSL) желточных синцитиальных слоёв (из Carvalho, Heisenberg, 2010)

Затем часть клеток внешнего покрывающего слоя (*англ.* enveloping layer, EVL) = «перидермы» значительно уплощается, перибласт (желточный синцитиальный слой) распространяется спереди от края бластодермы по желтковой массе и формирует наружный желточный синцитиальный слой (*англ.* external yolk syncytium layer, E-YSL). Между бластодермой и внутренним желточным синцитиальным слоем эмбрионов рода *Scophthalmus* образуется небольшая щелевидная эллипсоидная полость (Tong et al, 2013), которая не является гомологом бластоцели.

IV этап. Гастрюляция у калкана, как и у других костистых рыб происходит без образования бластопора и не приводит к формированию кишечной трубки (Макеева, 1992), у них отсутствует типичное для других позвоночных гастрюляционное подворачивание (инволюция), и комплекс осевых зачатков эмбриона образуется в результате интенсивных делений и морфогенетических перемещений клеток разных слоев, происходящих согласно их детерминации (Ballard, 1982). Гастрюляция калкана, как и всех костистых рыб, осуществляется двумя взаимно-перпендикулярными перемещениями клеток бластодермы: эпиболией, или обрастанием желточной сферы бластодермой, увлекаемой перибластом (замещение перибластом с перидермой желточной мембраны) – пассивной миграцией клеток в меридиональном направлении; и осевой конвергенцией – активным движением клеток в широтном направлении к будущей оси билатеральной симметрии зародыша (Макеева, 1992; Махотин, 2016), в процессе которых продолжается дифференцировка и специализация отдельных групп клеток.

В начале гаструляции в процессе эпиболии желтка происходит процесс замещения желточного цитоплазматического слоя многоядерным симпластом (перипластом), и приблизительно к 20%RT у эмбриона калкана по периферии бластодиска формируется плотный сектор – утолщение из мигрировавших, в результате центробежного движения, клеток гипобласта – зародышевое кольцо (англ. germ ring, GR) (рис. 2.10А–С).

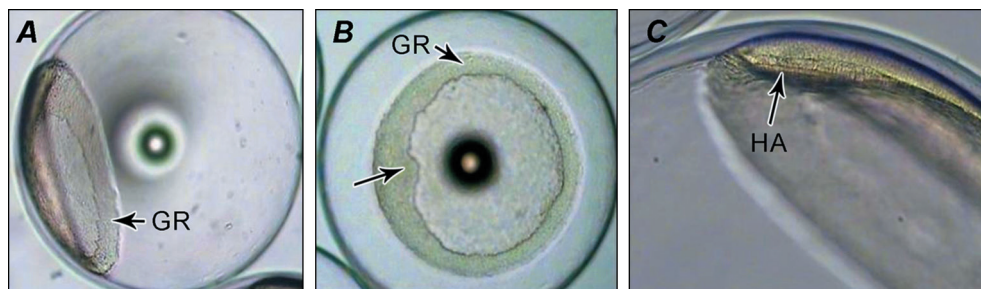


Рис. 2.10. Начало гаструляции эмбриона калкана: **А** – зародышевое кольцо вид сбоку, **В** – зародышевое кольцо – вид сверху (стрелка указывает на участок зародышевого кольца, разрастающийся в направлении анимального полюса, будущего зародышевого щитка, соответственно будущей переднезадней оси зародыша), **С** – зародышевое кольцо (увеличение $\times 400$), будущая головная часть эмбриона калкана.

Условные обозначения: GR – зародышевое кольцо, HA – будущая головная часть

По всей окружности зародышевого кольца эмбриона рода *Scophthalmus* располагаются два слоя клеток, образовавшихся из глубоких клеток, мигрировавших из центра бластодермы: поверхностный, выстилающий поверхность зародышевого диска, адгезивный слой клеток – эпибласт, который находится под и в непосредственном контакте с кроющим эпителием; и внутренний мобильный слой – гипобласт, в котором мезодерма и энтодерма не разделены и образуют единый слой эмбриональных клеток – мезэнтодерму (син. эндомезодерма); и именно он находится в контакте с желточным синцитиальным слоем (перипластом) (Tong et al., 2013).

В клетках гипобласта увеличивается число клеточных органелл, и возрастает их адгезия и активность. В начале обрастания они передвигаются сначала по радиусам, которые затем сочетаются с движениями осевой конвергенции (в широтном направлении к оси зародыша). В процессе дальнейшего развития эпибласт развивается в эктодерму; гипобласт дифференцируется в мезодерму и энтодерму. В дальнейшем 1) эктодерма станет эпидермисом и нервной тканью 2) из мезодермы образуются мышцы и кости; 3) энтодерма сформирует ткани печени и кишечника.

В процессе гаструляции, перемещение клеток эпибласта и гипобласта по своим траекториям, разрастание слоя перипласта от анимального в сторону вегетативного полюса и концентрация большей части клеток («зародышевый узелок») в дорсальном секторе зародышевого кольца (рис. 2.11А–С) приводят к его асимметрии и образованию в возрасте около 25%RT зародышевого щитка (англ. embryonic shield, ES), разрастающегося соответственно будущей переднезадней

оси зародыша. Зародышевый щиток служит организатором дорсо-вентральной эмбриональной оси, которая формируется у калкана в результате удлинения зародышевого щитка и образования зародышевой полоски (рис. 2.11D) над остальной бластодермой в период от 20 до 50% эпиболии.

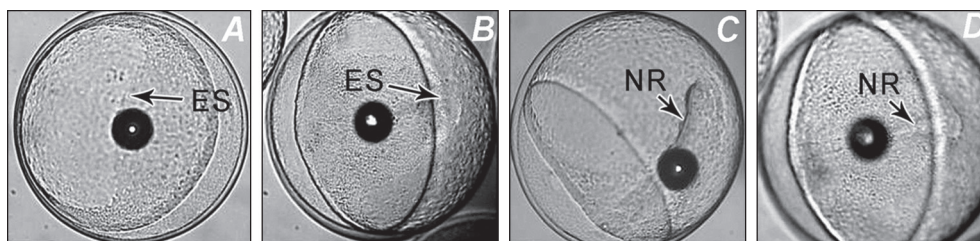


Рис. 2.11. Эмбрион черноморского калкана: **A–B** – разрастание зародышевого щитка от 20 до 50% эпиболии, **C–D** – формирование зародышевой полоски и зачатка нотохорды (увеличение $\times 100$).

Условные обозначения: ES – зародышевый щиток, NR – нейральная пластинка

Гастрюляцию можно считать завершённой по достижении 30 % эпиболии желточной сферы эмбриона (Махотин, 2016), наблюдаемой у калкана приблизительно в возрасте около 28%RT. Почти одновременно с гастрюляцией в результате центробежной миграции внутренней массы бластомеров, с самого начала лежащих на разных уровнях (карта презумптивных зачатков у костистых рыб с самого начала является трёхмерной) (Ballard, 1982) начинается закладка осевых зачатков. Эпиболия желточной сферы бластодермой продолжается в течение последующих процессов нейруляции, начала сомитогенеза вплоть до полного обрастания желтка и формирования хвостовой почки.

Когда бластодерма эмбриона калкана охватывает зародышевой полоской (валиком) желточную сферу на 60–70% (к 40–42%RT), в её анимальной (будущей головной) части, над зачатком хорды, в виде плотных тяжей вдоль будущей оси тела эмбриона формируются зачатки отделов головного мозга (рис. 2.12A, B).

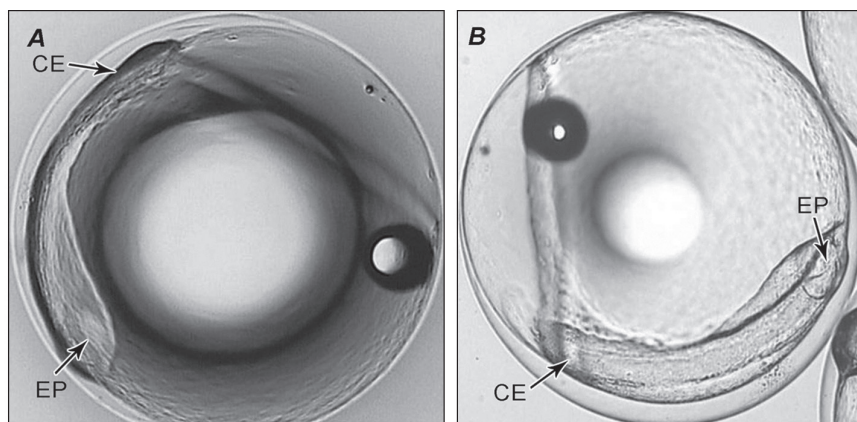


Рис. 2.12. Формирование зародышевой полоски эмбриона калкана; **A** – 60%, **B** – обрастание 65%. Условные обозначения: EP – зачатки глазных пузырей, CE – каудальная часть эмбриона

К 75% эпиболии (в возрасте 45%RT) в передней части по центру сплошной клеточной эмбриональной массы зародыша клетки нервной пластинки (*группа клеток неврального гребня*) расширяются вентрально и образуют над мезодермальными клетками в передней части будущего рудиментарного мозга так называемый нейральный «киль» (*англ. neural keel*) (рис. 2.13А–В), вдавленный в ткань мезодермы. От передней части нейральной пластинки образуется три мозговых пузыря: передний (*prosencephalon*), который дифференцируется на передний (*telencephalon*) и промежуточный (*diencephalon*) мозг; средний (*mesencephalon*) и задний (*rhombencephalon*). Оптические примордии (изначально сплошные эллиптические массы клеток глазных пузырей) формируются из боковых выпячиваний передней части нервной трубки, от *diencephalon*; а слуховые плакоды (рис. 2.13С) формирует *rhombencephalon* (Tong et al., 2013). В этот же период становится видимой нотохорда по центральной части эмбриона.

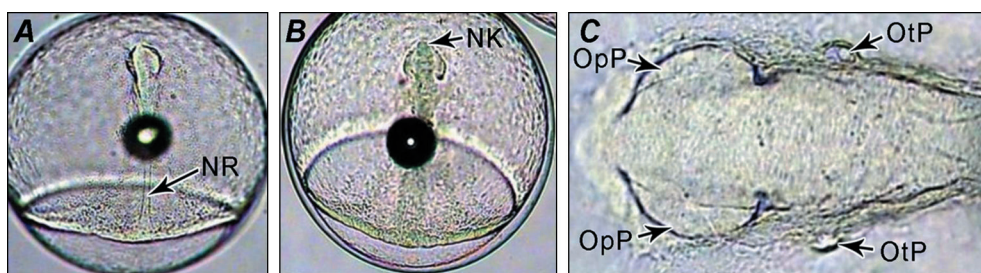


Рис. 2.13. Эмбрион калкана: **А** – формирование нейральной пластинки, **В** – формирование нейрального кия, **С** – формирование мозга, зачатков глаз и слуховых камер (увеличение $\times 100$).

Условные обозначения: NR – нейральная пластинка, NK – нейральный киль, OpP – зачаток глаза, OtP – зачаток слуховой камеры

Сегментация (разделение параксиальной мезодермы зародышевого валика сегментарными пластинками на отдельные параллельные блоки – сомиты), или сомитогенез, играет важную роль в формировании скелета и мышц. Первые сомиты у эмбриона калкана в середине туловища (рис. 2.14А) обнаруживаются вскоре после появления нотохорды и нейральной пластинки, ко времени замещения перибластом цитоплазматической мембраны желтка на 70% (42%RT). Параллельные границы в гипобласте между осевой хордомезодермой (нотохордой) и параксиальной мезодермой сегментарной пластинки (которая формирует сомиты) образуются в виде параллельных борозд, последовательно, одна за другой в переднезаднем направлении, и уже отчётливо видны при 90% обрастания. Образование начальных сомитов у эмбрионов рыб рода *Scophthalmus* происходит независимо от температуры (в диапазоне 12–16°C) каждые 75 мин. Однако в единицах относительного времени (стадиях развития в процентах от всей длительности эмбриогенеза) сомиты появляются раньше при 12°C, чем при 16°C (Gibson, Johnston, 1995).

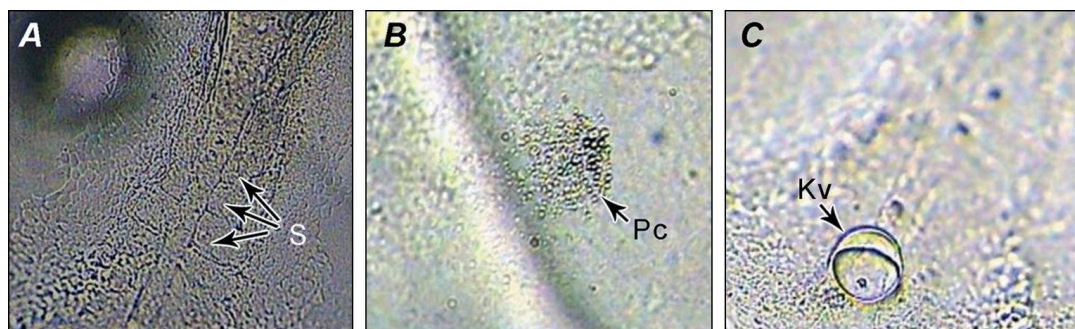


Рис. 2.14. Эмбрион калкана в начале сегментации (увеличение $\times 400$): **А** – формирование первых сомитов в середине туловища эмбриона (70% эпиболии), **В** – клетки-предшественники Купферова пузырька, **С** – Купферов пузырёк.

Условные обозначения: S – сомиты, Pc – клетки-предшественники, Kv – Купферов пузырёк

В начале сегментации между желтком и каудальной частью эмбриона калкана, на его вентральной поверхности, появляется сначала еле заметный (только при увеличении $400\times$) зачаток временной структуры Купферова пузырька (*англ.* Kupffer vesicle, Kv) (рис. 2.14C). В свете современных представлений Kv образуется следующим образом (Essner et al., 2004): предшественники реснитчатых клеток Kv, дорсальные поверхностные эпителиальные клетки, в начале гастрюляции появляются в виде разбросанных по горизонтальной линии клеток, а в дальнейшем группируются (рис. 9B) и мигрируют к вегетативному полюсу, образуя в процессе быстрой эпителизации и цилиогенеза структуру из группы клеток, которая к окончанию эпиболии в области будущей хвостовой почки образует конденсированную клеточную массу, которая и превращается в Kv (рис. 2.14C). По данным гистологии эмбрионов рыб рода *Scophthalmus* (Tong et al., 2013) с вентральной стороны Kv формируют клетки внутреннего слоя YSL, а с дорсальной – призматические клетки. Хотя все функции Kv до настоящего времени окончательно не определены, считается, что реснитчатые клетки этой структуры во время раннего сомитогенеза определяют право-левостороннюю симметрию таких органов, как сердце, мозг и кишечник (Essner et al., 2004); Kv является ориентиром появления будущей хвостовой почки и хвостового отдела калкана. Обнаружена связь между нормой развития Kv и последующего развития хвостового отдела калкана (Ханайченко и др., 2017).

В течение 80–85% обрастания (рис. 2.15A, B) в эллипсоидных глазных пузырьках эмбриона калкана начинают образовываться полости, а Купферов пузырёк возрастает в объёме. К 80% эпиболии у зародыша калкана происходит формирование открытого неврального(нейрального) тяжа, возникающего вследствие расхождения клеток начиная с головной части (образование головного мозга сводится к эверсии – «выворачиванию») (рис. 2.15A, B). Достигнув вегетативного полюса, наружный перибласт смыкается, перидерма и края бластодермы окружают желтковую сферу; процесс обрастания желтка бластодермой (эпиблия) завершается в возрасте 49%RT. К этому времени эмбрион и, особенно, его головная часть, приобретают более чёткие очертания: в удлинённых глазных пузырьках образуются щели,

и они преобразуются в глазные бокалы. Дальнейшая дифференцировка отдельных элементов глаз происходит по трем направлениям: развитие за счет внутреннего и внешнего зародышевого листков, структур, воспринимающих свет и проводящих нервное возбуждение в центральные отделы мозга; совершенствование структур, преломляющих свет и создающих изображение объектов на сетчатке (хрусталик, стекловидное тело) и дифференцировка оболочек глаза, выполняющих функцию кровоснабжения, защитную и рефлекторную (Битюкова, 1984).

В туловище эмбриона, расположенном от анимального к вегетативному полюсу и охватывающем половину желточной сферы, образовано >20 пар сомитов (рис. 2.15С). Начиная с завершения эпиболии, желток, окружённый перибластом и клеточным материалом, называется желточным мешком (*англ.* yolk sac, YS) и является неотделимой частью эмбриона калкана, так как он выполняет многообразные функции, в том числе трофическую; дифференцирующийся энтодермальный пласт продуцирует ферменты, расщепляющие желток (Tong et al., 2013).

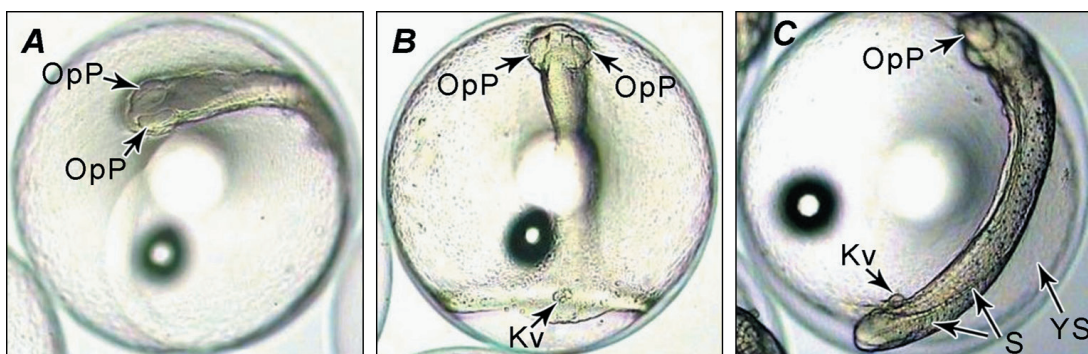


Рис. 2.15. Эмбрион калкана на стадии завершения эпиболии: **А** – эпиболия 80%; **В** – эпиболия 85% цитоплазматической мембраны желтка; **С** – после завершения эпиболии, стадия сегментации (более 20 сомитов) – удлинённые глазные бокалы, в которых образована полость, Купферов пузырьёк в хвостовой части.

Условные обозначения: OpP – глазной пузырь, преобразующийся в глазной бокал, Kv – Купферов пузырьёк, S – сомиты, YS – желточный мешок

Процесс осевой конвергенции клеток гипобласта завершается их агрегацией в каудальной части зародыша и формированием хвостовой почки (*англ.* tail bud, ТВ) – зачатка хвостового отдела эмбриона калкана. При завершении эпиболии, как только Купферов пузырьёк достигает максимального размера (рис. 11А), оказываясь внутри ткани будущей хвостовой почки, он уменьшается в объёме и исчезает (рис. 2.16В). Формирование хвостовой почки – зачатка хвостового отдела эмбриона калкана происходит к 60%RT (рис. 2.16В). В этот же период времени в глазных бокалах формируются линзовые плакаты (рис. 2.16А, В).

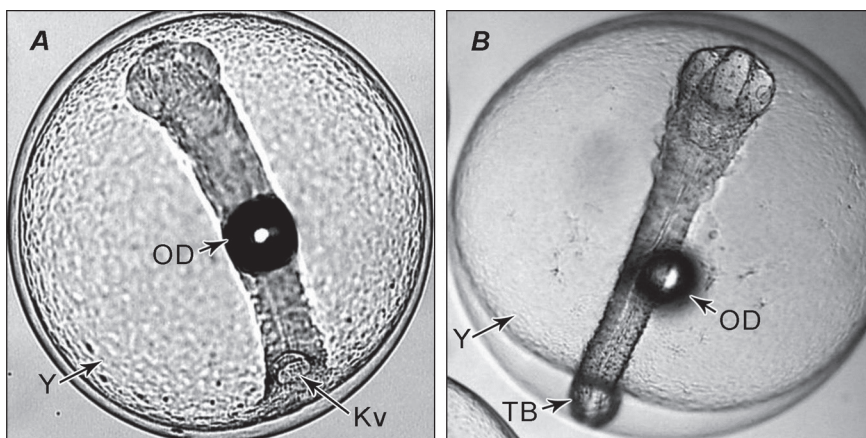


Рис. 2.16. Эмбрион калкана после завершения эпиболии: **А** – Купферов пузырьк максимального объёма накануне образования хвостовой почки, **В** – сформирована хвостовая почка.

Условные обозначения: Kv – Купферов пузырьк, OD – жировая капля, ТВ – хвостовая почка, Y – желток

В хвостовой почке формируется участок нотохорды (рис. 2.17А), от которого происходит дальнейший рост хвостового отдела. Около 65%RT начинается вакуолизация нотохорды: поверхностный слой клеток каждого сомита эпителизируется, соседние миотомы отделены друг от друга поперечными миосептами из соединительной ткани, а масса внутренних клеток формирует миотомы (или мускульные сегменты); они приобретают форму конусов, направленных вершиной в сторону головы эмбриона, и сохраняют метамерную организацию. Соседние миотомы отделены друг от друга поперечными миосептами из соединительной ткани, и в результате формирования уплотнённой оболочки ткани, поддерживающей её упругость (Tong et al, 2013), «шевроноподобные» сегменты становятся хорошо заметны при увеличении $\times 100$ и в течение короткого периода времени выглядят как «стопка монеток» (рис. 2.17В).

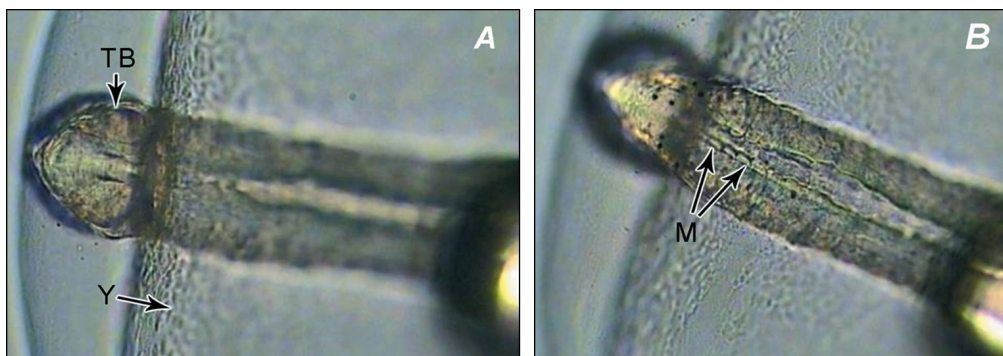


Рис. 2.17. Хвостовая часть эмбриона калкана: **А** – правильно сформированная хвостовая почка, **В** – посредине хвостовой части выделяются разделённые миосептами шевроноподобные миотомы.

Условные обозначения: М – миотомы, ТВ – хвостовая почка; Y – желток

В период между 65 и 70%RT из мигрирующих клеток нервного гребня начинают дифференцироваться хроматофоры, и на туловище эмбриона калкана появляются точечные меланофоры (рис. 2.18А). Около 70–72%RT в месте соединения мезодермальных боковых клеток под головным отделом зародыша калкана, от задней вентральной части среднего мозга в направлении передней части заднего мозга, дифференцируется сердечная трубка (на предсердие и желудочек). Начинают формироваться свободные лопасти парных грудных плавников.

Глазные бокалы, соприкасаясь с эктодермой головы эмбриона, начинают преобразовываться в двуслойную глазную чашу (рис. 2.18В): внутренний слой – зачаток сетчатки, наружный – пигментного эпителия, место перегиба внутреннего слоя в наружный – зачаток радужки (Битюкова, 1984). Глазные чаши связаны с боковой стенкой промежуточного мозга узким глазным стебельком под некоторым углом к нему (Tong et al., 2013), и поэтому на препаратах видны у основания переднего мозга (Битюкова, 1984). Покровная эктодерма в месте соприкосновения с нейральным зачатком глаза начинает инвагинировать внутрь вторичной полости глаза, образуя хрусталиковые плакоды (рис. 2.18В), состоящие, согласно гистологическим исследованиям, из округлённых клеток (Tong et al., 2013). Затем края хрусталиковой плакоды смыкаются, образуя **зачаток хрусталика**, который приобретает шарообразную форму (**пузырёк**) и отделяется от покровной эктодермы, которая просветляется над ним и превращается в **роговицу глаза** (лат. *corneus* – роговой; англ. *cornea* – роговица глаза) (Битюкова, 1984, Tong et al., 2013).

Дальнейшая дифференцировка отдельных элементов глаз эмбриона калкана происходит по трем направлениям: развитие (за счет внутреннего и внешнего зародышевого листков) структур, воспринимающих свет и проводящих нервное возбуждение в центральные отделы мозга; совершенствование структур, преломляющих свет и создающих изображение объектов на сетчатке (хрусталик, стекловидное тело) и дифференцировка оболочек глаза, выполняющих функцию кровоснабжения, защитную и рефлекторную (Битюкова, 1984).

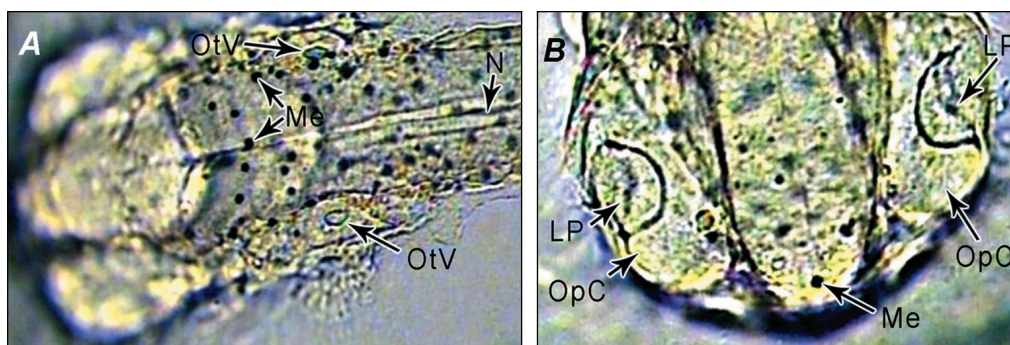


Рис. 2.18. Передняя и головная часть туловища эмбриона калкана. **А** – сегментированная нотохорда посередине, меланофоры на поверхности тела, по бокам – парные полости слуховых пузырьков, **В** – образование хрусталиковых плакод внутри полости глазной чаши.

Условные обозначения: LP – хрусталиковые плакоды, Me – меланофоры, N – нотохорда, OpC – глазной бокал, OtV – слуховой пузырёк

Растущий хвостовой отдел отделяется от границы желточной сферы; в нём дифференцируются хорда, спинной мозг, и продолжается дальнейшая сегментация и образование сомитов. Отчленение хвостового отдела от желточного мешка начинается в возрасте 70–75%RT. В дальнейшем тело зародыша удлинняется за счёт сомитогенеза и укрупнения хвостовых мускульных сегментов. Кишечный тракт и почки детерминируются на вентральной стороне туловища зародыша около 70–72 ч, и вскоре под нотохордой возникает зачаток почек. Ко времени исчезновения Купферова пузырька, в задней части будущего пищеварительного тракта появляются реснички (Tong et al., 2013).

VI этап. Начало нейромышечной моторики эмбриона калкана (нервно-мышечных сокращения мускульных сегментов туловищного отдела) регистрируется около 80%RT. Зачаток сердца формируется на стадии около 9 сомитов; в месте соединения мезодермальных боковых клеток под головным отделом зародыша, от задней вентральной части среднего мозга в направлении передней части заднего мозга, сердечная трубка дифференцируется на предсердие и желудочек (Tong et al., 2013). Пульсация сердца к возрасту 80%RT достигает 50 ударов в мин. Хвост эмбриона к этому моменту охватывает более 60% поверхности желточного мешка; дифференцируются ксантофоры, придающие телу эмбриона розоватый оттенок.

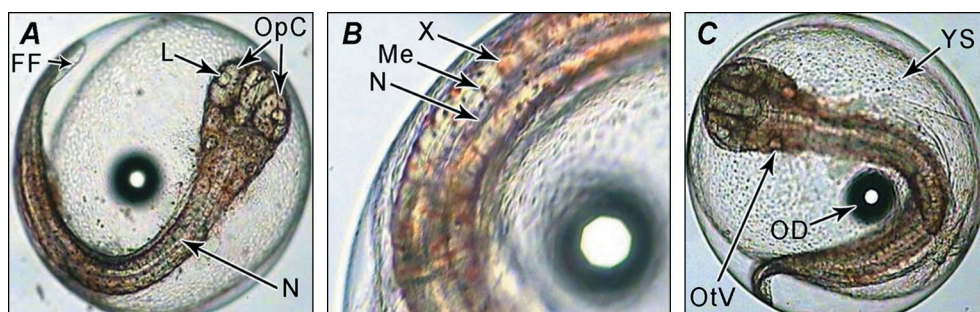


Рис. 2.19. Эмбрион калкана: **А** – стадия свободного хвоста, Эмбрион подвижный. В головном отделе чётко очерчены **непигментированные глазные бокалы с хрусталиками**. Ниже по бокам – слуховые камеры с отолитами. Посредине туловища, покрытого хроматофорами, видна сегментированная хорда. В середине тела формируются свободные лопасти грудных плавников. На прозрачном желтке расположены хлоридные клетки. В окончании хвоста видна прозрачная плавниковая кайма. **В** – ксантофоры и меланофоры середины туловища, **С** – стадия подвижного эмбриона.

Условные обозначения: FF – плавниковая складка, N – нотохорда, OpC – глазные бокалы, L – хрусталик, Me – меланофоры, X – ксантофоры, YS – желточный мешок, OD – жировая капля

К 90–95%RT в головном отделе калкана чётко очерчены непигментированные глазные бокалы с хрусталиками, ниже по бокам – слуховые камеры с отолитами (рис. 2.19А–С), в туловищном отделе отчётливо видна сегментированная нотохорда (рис. 2.19А). Хвост почти дорастает до головы. Дифференцирована непарная плавниковая складка, окаймляющая хвостовой отдел эмбриона (рис. 2.19А), в середине тела видны свободные лопасти грудных плавников (рис. 2.19С). Эмбрион не только совершает свободные движения хвостовым отделом, но и изги-

бают тело, совершая волнообразные движения. На спинной стороне тела в дерме калкана присутствуют меланофоры и ксантофоры (рис. 2.19B). На внутренней поверхности оболочки эмбриона из эпибласта дифференцируются хлорид-секретирующие клетки.

VII этап. Подготовка к вылуплению. Около 98%RT хвост зародыша калкана охватывает большую часть желточного мешка и практически соединяется с головой, почти полностью отсоединяется от желточного мешка, и эмбрион свободно вращается внутри оболочки икринки. Эмбриональная мышечная моторика способствует конвективной и нестационарной диффузии кислорода и ионов в перивителлиновой жидкости, омывающей поверхность зародыша (Терещенко и др., 1992). Перед головным отделом на желточном мешке, на переднем конце головы и над глазными бокалами появляются крупные округлые клетки, которые дифференцируются в железы вылупления (Tong et al., 2013). Под действием ферментов вылупления оболочка икринки становится эластичной, и во время энергичных вращений зародыша она постепенно растягивается (рис. 2.20A, B). Накануне выклева у эмбриона калкана уже различимы полукружные каналы в сформированных на каждой стороне тела в норме развиты 3 слуховых камеры (рис. 2.20C), в каждой из которой сформировано по отолиту.

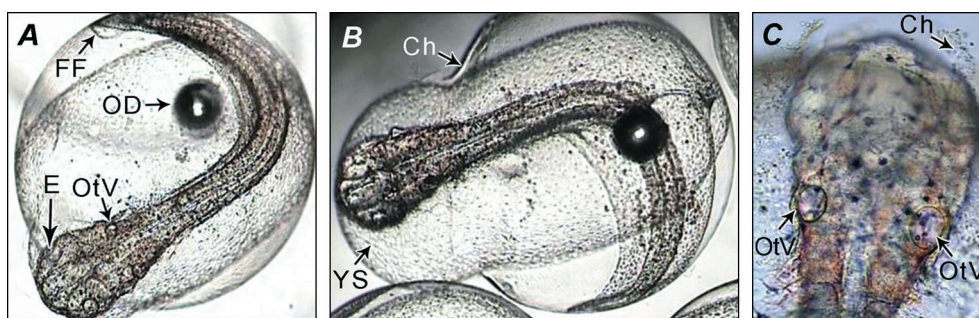


Рис. 2.20. Выход эмбриона калкана из оболочки икры: **A** – растягивание оболочки головным отделом, **B** – растягивание оболочки икры перед разрывом, **C** – разрыв хориона в области головы (увел. $\times 400$).

Условные обозначения: Ch – хорион, E – глаз, FF – плавниковая кайма, OD – жировая капля, OtV – слуховые камеры, YS – желточный мешок

Перед выклевом в туловище эмбрионов калкана насчитывается 33–38 сомитов, сердечный ритм калкана достигает 75–80 ударов в мин. Активные резкие движения эмбриона приводят к растягиванию, утончению, разрыву оболочки и выходу из неё эмбриона головой вперёд (рис. 2.20A–C). Обонятельные плакоды эмбрионов рыб рода *Scophthalmus* перед выклевом трансформируются в обонятельные ямки (Doldán et al., 2011). Во время выхода эмбриона из оболочки около 20–25% массы икринки высвобождается в окружающую среду.

Общая продолжительность эмбриогенеза при повышении температуры инкубации икры с 14 до 16°C сокращается со 114 до 94 ч. Индивидуальный процесс выклева эмбриона из оболочки при оптимальных температурах продолжается

около 1 ч. В партии правильно развивающейся качественной икры выклев происходит довольно синхронно – в течение 1–2 ч. Чем более синхронно развивалась однородная икра одной партии икры, тем более синхронно происходит выклев из неё более качественных личинок. Процесс выклева смешанных партий оплодотворённой икры от нескольких производителей, или икры с невысокой жизнеспособностью (с разнородным физиологическим и генетическим материалом), а также при низких температурах, процесс выклева личинок может растянуться на 12–18 часов. В оптимальных условиях инкубации икры, полученной в результате смешивания качественных гамет от одной пары производителей калкана, после выклева можно получить до 85% качественных предличинок калкана от общего количества оплодотворённой икры одной порции от одной самки.

Хронология изменений и появления новых эмбриональных структур у рассмотренных стадий эмбриогенеза калкана представлена на шкале морфологических изменений (рис. 2.21) в единицах относительного времени (RT, %, т.е. интервал времени появления структуры, выраженный по отношению к общей длительности эмбриогенеза в процентах) в диапазоне оптимальных температур 14–16°C (Ханайченко, Гиригосов, 2019).

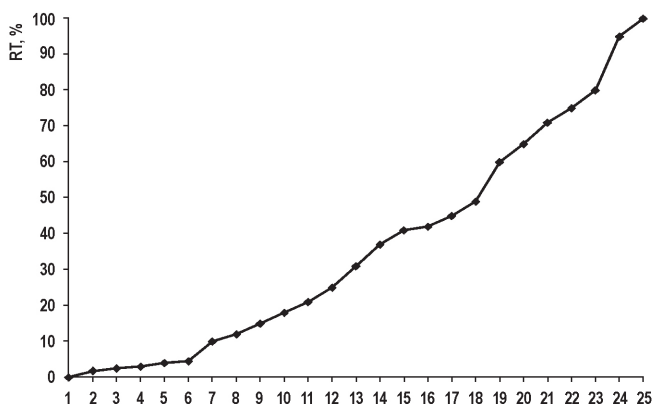


Рис. 2.21. Хронологическая шкала морфологических изменений (1–25) калкана в течение эмбриогенеза, представленная в единицах относительного времени (RT, %) в диапазоне оптимальных температур 14–16°C.

1 – оплодотворение, 2 – бластодиск, зигота, 3 – 2 бластомера, 4 – 4 бластомера, 5 – 16 бластомеров, 6 – 32 бластомера, 7 – 256 бластомеров, 8 – образование перибласта, 9 – эпителиальная бластула, 10 – гастрюляция, 11 – зародышевое кольцо, 12 – зародышевый щиток, 13 – 50% эпиболия, 14 – нейральный киль, 15 – первый сомит, 16 – Купферов пузырьёк, 17 – 75% эпиболия, 18 – завершение эпиболии, 19 – хвостовая почка, 20 – рост хвостового отдела, 21 – пульсация сердца, 22 – свободный хвост, 23 – нейромышечная моторика, 24 – активный эмбрион, 25 – выклев

Непосредственно после выклева голова предличинки калкана плотно прилегает к желтку (рис. 2.22А). Через прозрачные ткани головы хорошо различимы участки мозга (рис. 2.22А). В непигментированных глазах чётко очерчены зрачки. По бокам туловища распределены параллельные ряды меланофоров. На поверхности большого овального прозрачного желтка, занимающего до 2/3 туловища (рис. 2.22В), расположены хлоридные клетки.

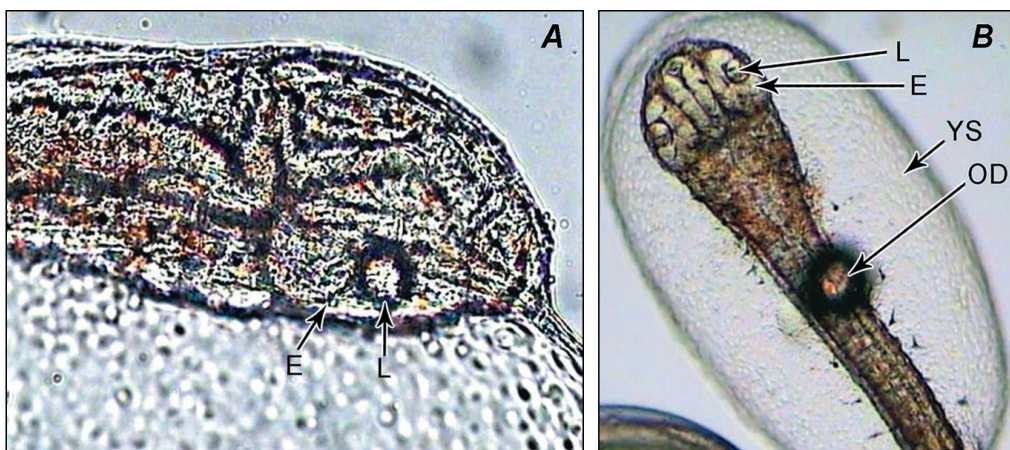


Рис. 2.22. Предличинка калкана непосредственно после выклева. **А** – передняя часть тела, голова плотно прилегает к желтку; **В** – дорсальная проекция тела, туловище лежит на большом вытянутом овальном желточном мешке. Условные обозначения: **Е** – глаз, **Л** – хрусталик, **OD** – жировая капля, **YS** – желточный мешок

2.5. Влияние температуры и солёности на эмбриогенез калкана

Исследования физических факторов, в том числе температуры и солёности, влияющих на особенности эмбрионального развития калкана, в контролируемых экспериментальных условиях были проведены в процессе аквакультурных исследований в ИнБЮМ в 1970 – 1990-х гг. (Битюкова и др., 1982; 1984; 1986).

Температурная толерантность калкана в течение эмбриогенеза была изучена в экспериментальных лабораторных условиях на икре, полученной от производителей, отловленных камбальными сетями из нерестового стада калкана Севастопольского района (Битюкова и др., 1984; собств. неопубл. данные). Результаты исследований показали, что полное развитие эмбрионов калкана может происходить только при температурах выше 10°C на ранних этапах развития, но нижняя зона с выклевом более 50% жизнеспособных личинок ограничена 12°C (Битюкова и др., 1984; Ханайченко и др., 2017).

Термочувствительность калкана неодинакова на разных этапах развития, и толерантность к пониженным температурам в начале эмбриогенеза выше, чем на этапах завершения гастрюляции и выклева: при 7°C у большинства эмбрионов происходит правильного развития к окончанию обрастания, и даже выжившие в конце гастрюляции эмбрионы, не проходят правильного развития, и их гибель происходит до выклева. При 10°C развитие резко замедляется во время органогенеза, и выклев личинок сопровождается множественными аномалиями, несовместимыми в дальнейшем с жизнью. Диапазон толерантных температур для эмбриогенеза – 12–21°C, диапазон оптимальных температур 13–18°C, но максимальный выклев жизнеспособных предличинки приурочен к 14–16°C. Общая продолжительность эмбриогенеза черноморского калкана, сокращается от 220 ч (при 10°C) до 132 ч (при 12°C) и до 84 ч (при 16°C).

В сходном температурном диапазоне были исследованы закономерности развития искусственно оплодотворённой икры черноморского калкана (икры и спермы, полученных от производителей, выращенных в Центральном Исследовательском Институте Рыболовства (CFRI) Трабзона (Турция). Эмбриогенез калкана из Трабзона оказывался более длительным и растянутым по времени, особенно, в нижнем диапазоне температуры – 230 ч (50%) – 242 ч (100% выклев) при 10°C, 153–162 ч (при 12°C), и 88–92 ч (при 16°C) (Polat et al., 2018). Вероятно, различия между температурной зависимостью эмбриогенеза калкана с севера (Севастополь) и юга (Трабзон) Чёрного моря связаны с температурной адаптацией производителей и с характером стимуляции созревания самок, так как температура, при которой содержатся производители, и температура воды при оплодотворении влияют сопряженно на качество икры и процент её оплодотворения (McEvoy, 1984).

У производителей калкана из нерестового стада Севастопольского района происходило естественное созревание гонад при температуре 7.5–11°C и естественном возрастании длины светового дня, в то время как производители, выращенные в Трабзоне, были адаптированы к более высокой температуре (10–14°C), и самок для созревания ооцитов стимулировали искусственными гормонами. По трём показателям, проценту оплодотворения, проценту выклева и аномалиям у выклюнувшихся личинок, температура 14°C считается оптимальной для инкубации икры турецкого калкана. Максимальная выживаемость до выклева у севастопольской икры калкана (до 87%) при 15°C оказалась выше максимальной выживаемости трабзонской икры (77%) при 14°C.

Влияние солёности на эмбриональное развитие калкана. Данные по развитию икры калкана, полученной от производителей, адаптированных к 18‰, но оплодотворённой и развивавшейся в воде разной солёности в сходном диапазоне солёности, полученные разными исследователями в разных лабораториях, показали сходные параметры развития по влиянию пониженной, по сравнению с черноморской, солёностью, но солёности выше 18‰ оказывали разное воздействие на развитие икры калкана разного происхождения.

Развитие икры калкана из Севастопольского региона в широком диапазоне солёности было синхронно только на ранних этапах эмбриогенеза. Начиная с этапа гастрюляции при более высокой, чем черноморская (18‰) солёности наблюдали ускорение эмбриогенеза: при 24.4‰ длительность развития от оплодотворения до 50% эпиболии происходит на 2–3 час быстрее по сравнению с 16‰, а к моменту закрытия бластопора различия составляли уже 5–6 час. Однако, на этапах органогенеза и подвижного эмбриона высокая солёность приводит к нарушениям развития, выклев задерживается и происходит дольше. При 18–19‰ длительность эмбриогенеза сокращалась на 2–3 час по сравнению с 16‰ (Битюкова, Ткаченко, 1998).

По данным турецких исследователей в диапазоне солёности 18–30‰ процент выклева, аномалий у личинок и длина личинок на выклеве из икры черноморского калкана из района Трабзона, оплодотворённой и инкубированной при

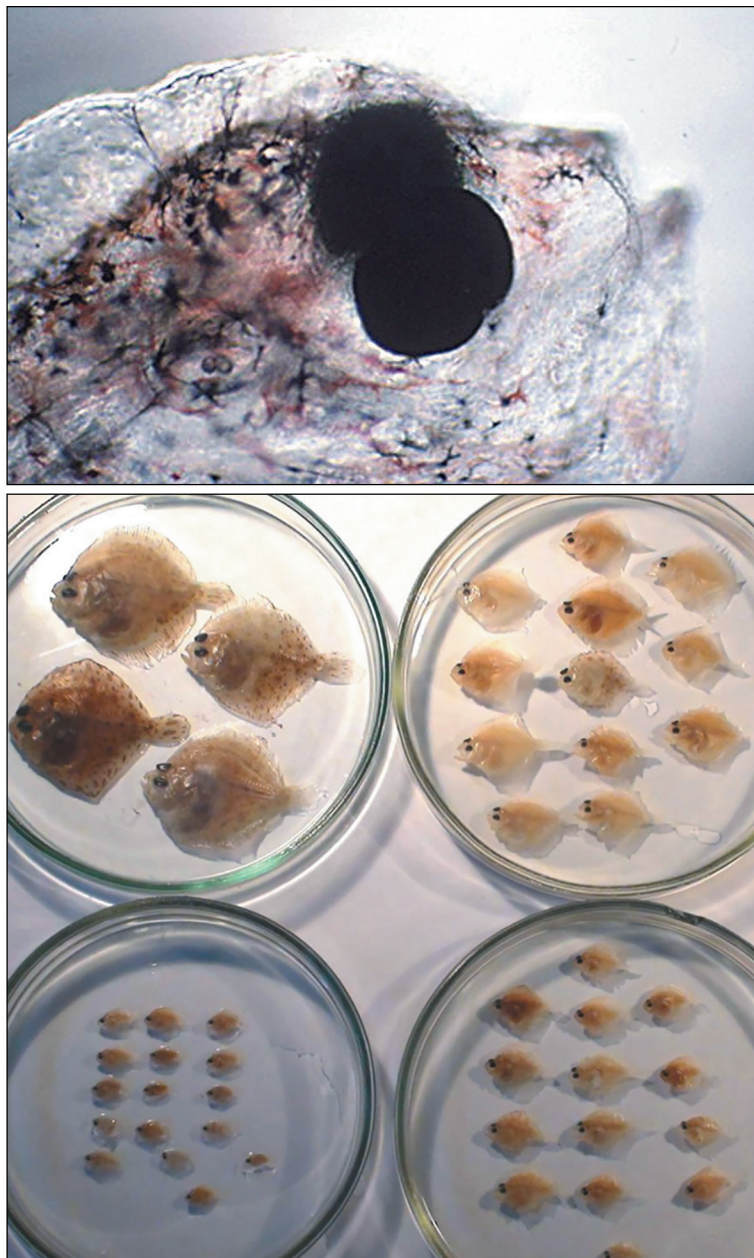
соответствующих солёностях, варьировали незначительно в пределах 76–69%, 4.3–4.7% и 2.68–2.69 мм, соответственно (Polat et al., 2018).

Совершенно отличные от результатов турецких исследователей по влиянию повышенной солёности на развитие икры калкана результаты были получены ранее для калкана из Севастопольского региона (Битюкова, Ткаченко, 1998). Наибольшее количество эмбрионов с нормально протекающей стадией дробления (80%), свидетельствующей об оплодотворении икры, было получено в значительно более узком диапазоне солёностей – 16–20‰. Отклонение в сторону более низкой (до 14‰) и высокой солёности (23‰) приводило к снижению оплодотворяемости икры до 60%. Максимальный выклев нормально развивающихся эмбрионов реализовывался только в очень узком диапазоне солёности 17–19‰, отклонения от этой солёности вызывали увеличение доли аномалий развития эмбрионов и, соответственно, снижение процента выклева. Солёность 16‰ соответствовала нейтральной плавучести, оплодотворённая икра распределялась в приповерхностном слое и начинала правильно развиваться, однако, на этапе гастрюляции начинали возрастать нарушения, которые особенно проявлялись в течение органогенеза и к моменту выклева приводили к увеличению до 10–15% нежизнеспособных, аномальных эмбрионов. При 15.5‰ оплодотворённая икра калкана тонула, и далее нормально не развивалась. Повышение солёности до 22–26‰, начиная с органогенеза, периода, соответствующего усилению обмена между перивителлиновым пространством и внешней средой, приводило к многочисленным функциональным нарушениям, нежизнеспособности эмбрионов калкана на выклеве, особенно к нарушениям в освобождении головы от внешней оболочки.

Влияние солёности на развитие эмбрионов, возможно, в значительной степени зависит от адаптации локальной популяции. Так, в отличие от черноморского калкана, который адаптирован к 18‰, балтийский тюрбо адаптирован к более низким солёностям (икра балтийского тюрбо оплодотворяется и развивается даже при 6‰ как демерсальная, однако оптимум солёности для оплодотворения и эмбрионального развития у балтийского тюрбо оказывается более высоким и составляет 15–20‰ (Kuhlmann, Quantz, 1981; Nissling et al., 2006).

Личинки калкана с наибольшими длиной тела и объёмом желточного мешка при выклеве были получены при температуре инкубации 15°C и солёности 18.3‰ (Битюкова и др., 1984).

Глава 3. РАЗВИТИЕ И РОСТ ЛИЧИНОК И МАЛЬКОВ КАЛКАНА И ТЮРБО



Особенности развития черноморского калкана (*Scophthalmus maeoticus*) от выклева до завершения метаморфоза в естественных условиях не исследованы до настоящего времени из-за отсутствия личинок калкана в ихтиопланктонных пробах при применяемых стандартных методах лова. В собранных сетью Богорова-Расса ихтиопланктонных пробах в конце мая – начале июня очень редко встречаются единичные экземпляры личинок калкана непосредственно после

выклева и исключительно редко – к моменту перехода на внешнее питание. Пелагические личинки калкана на стадиях экзогенного питания до настоящего времени в ихтиопланктонных сборах не встречались. По-видимому, стандартные методы лова с использованием ихтиопланктонных, гипонейстонных и макропланктонных сетей пока не позволяют выявить распределение ранних пелагических личинок калкана.

Редкие упоминания о нахождении в море личинок атлантического тюрбо (*Scophthalmus maximus*), близкородственного черноморскому калкану, подтверждают наши предположения. Отдельные экземпляры личинок тюрбо на ранних этапах развития до завершения метаморфоза (Last, 1979; Tully, Ó'Ceidigh, 1989) находили в разных регионах Атлантики при ловах гипонейстонной сетью в пределах верхних слоев водной толщи и в верхнем гипонейстонном слое (35–50 см) исключительно во время сумерек (Nellen, Hempel, 1970). Личинок близкородственного азовского калкана (*Scophthalmus maeoticus torosus*), длиной $8,5 < SL < 15,3$ мм в период прохождения метаморфоза, отлавливали в пелагиали центральной и западной части Таганрогского залива над глубинами 5–6 м, при температуре поверхностного слоя воды 17–19°C (Михман, Брызгунова, 1975).

В связи с отсутствием данных по последовательному развитию личинок рыб рода *Scophthalmus* в природных условиях, морфология, биология и пищевое поведение личинок калкана, так же как и близкородственного ему тюрбо, были изучены в экспериментальных условиях.

Личиночное развитие калкана разделяют на 8 качественно обособленных этапов (Дехник, 1973; Битюкова, 1986). Деление личиночного развития на стадии весьма условны, так как большая часть морфологических черт при окончании предыдущей стадии уже характерны для начала следующей (Битюкова и др., 1988). По использованию типа субстратов для роста и жизнедеятельности периоды постэмбрионального развития калкана относятся к **эндогенному** (I–II этапы), **смешанному** (III этап) и **экзогенному** (IV–VIII этапы) типу питания.

По характеру симметрии личиночные делятся на **билатерально-симметричную** (I–IV этапы), **переходную** (V этап) и **дорсально-вентрально асимметричную** (VI–VIII этапы – собственно период метаморфоза) формы организма, которые определяют в значительной степени его этологические и экологические характеристики.

По особенностям образа жизни личиночные стадии калкана можно разделить на **пелагическую** (I–V), **промежуточную** (VI–VII) и **демерсальную** (VIII) фазы. Ниже приведено описание развития экспериментально выращенных личинок калкана согласно этапизации развития данного вида в раннем онтогенезе (I–VII) по Битюковой (1986), для удобства соотнесённой с принятого в европейских исследованиях постадийного описания развития близкородственного атлантического тюрбо (S1–S5) по Al-Mag hazachi, Gibson (1984) и Segner et al. (1995). Далее в тексте римскими цифрами приводятся этапы личиночного развития калкана (I–VII) по Битюковой (1986), соответствующие стадиям развития тюрбо (S1–S5) по Al-Mag hazachi, Gibson (1984).

Личиночное развитие калкана начинается после выхода эмбриона из зародышевой оболочки, наступающее при 13–15°C через 116–93 часа, соответственно, после оплодотворения (собственные данные; Битюкова и др., 1988; Polat et al., 2018). Считается, что эмбриональный период развития калкана не заканчивается выходом зародыша из оболочки, а продолжается после выклева до начала смешанного питания. В этот период организм находится на примитивной стадии развития, и так же, как и эмбрион, развивается исключительно за счет запасов желтка, то есть ему присуще исключительно эндогенное питание. Его называют предличинка и классифицируют свободным эмбрионом со свойственными ему особенностями строения органов дыхания, кровообращения, пищеварения и других систем до момента, пока не начинают функционировать пищеварительная, жаберная и другие системы, свойственные свободной личинке. Тем не менее, для удобства в дальнейшем в данном тексте мы называем черноморского калкана после выхода из оболочки икры и до завершения метаморфоза – «личинка».

3.1. Период эндогенного и смешанного питания личинок

В течение 3–6 сут после выклева, в обратной зависимости от температуры в пределах 12–17°C (Битюкова и др. 1989; Ханайченко и др., 2017), метаболизм, сложные интенсивные морфообразовательные процессы дифференцировки всех жизненно важных систем, рост и движение личинок калкана с их слабосформированными зачатками органов, происходят исключительно за счёт эндогенных запасов и преобразования их в ткани развивающегося организма.

Этап I личинок черноморского калкана (Дехник, 1973; Битюкова, 1986) соответствует стадии **S1a** атлантического тюрбо (Al-Magazachi, Gibson, 1984). Личинки калкана после выклева билатерально-симметричные, глаза не пигментированы, реакция на свет отсутствует (рис. 3.1A). Стандартная длина личинок, нормально развивающихся в течение эмбриогенеза при температурах 13–15°C, после вылупления варьирует в зависимости от наследственности, исходных характеристик икры, эндогенных запасов и температуры, при которой происходит эмбриональное развитие, для разных партий в следующих пределах стандартной длины 2.53 ± 0.13 мм < SL \pm SD < 2.91 ± 0.10 мм (Ханайченко и др., 2009).

В течение нескольких часов после выклева голова предличинки отделяется от желтка. Большой овальный желточный мешок, занимающий до 50% длины тела, и жировая капля диаметром 0.21–0.22 мм, расположенная в задней трети желточного мешка, создают положительную плавучесть, удерживая малоподвижных личинок в подповерхностных слоях. Личинки распределены относительно равномерно в подповерхностном слое воды в горизонтальном положении, брюшной стороной вверх. Единая плавниковая складка окаймляет туловище и хвостовой отдел личинки. Грудные плавники, имеющие вид небольших складок, слабо подвижны. Голова плотно прижата к желточному мешку, глаза не пигментированы и не функциональны, хрусталик слегка смещен к переднему сектору глаза, ротовое

отверстие отсутствует (рис. 3.1Б). Сетчатка глаз не дифференцирована на слои, но в ней происходит интенсивное деление клеток (Битюкова, 1984); реакции фототаксиса отсутствуют, отношение к свету безразличное.

В отсутствие развитых органов дыхания (жаберная полость закрыта) и развитой системы кровообращения, дыхание осуществляется путём диффузии кислорода всей поверхностью тела личинок (Битюкова, 1986), по которой распределены многочисленные хлоридные клетки (рис. 3.1В), основной функцией которых является осморегуляция (Tytler, Ireland, 1995). Туловище почти прозрачных личинок окрашено в ярко-розовый цвет рассеянными вдоль всего туловища разветвленными липофорами (ксантофорами), на фоне которых располагаются крупные меланофоры, часть которых расположена на желточном мешке и жировой капле. На прозрачной плавниковой складке в середине хвостового отдела образуется пигментный пояс, состоящий из розовых ксантофоров и тёмно-коричневых меланофоров (рис. 3.1А).

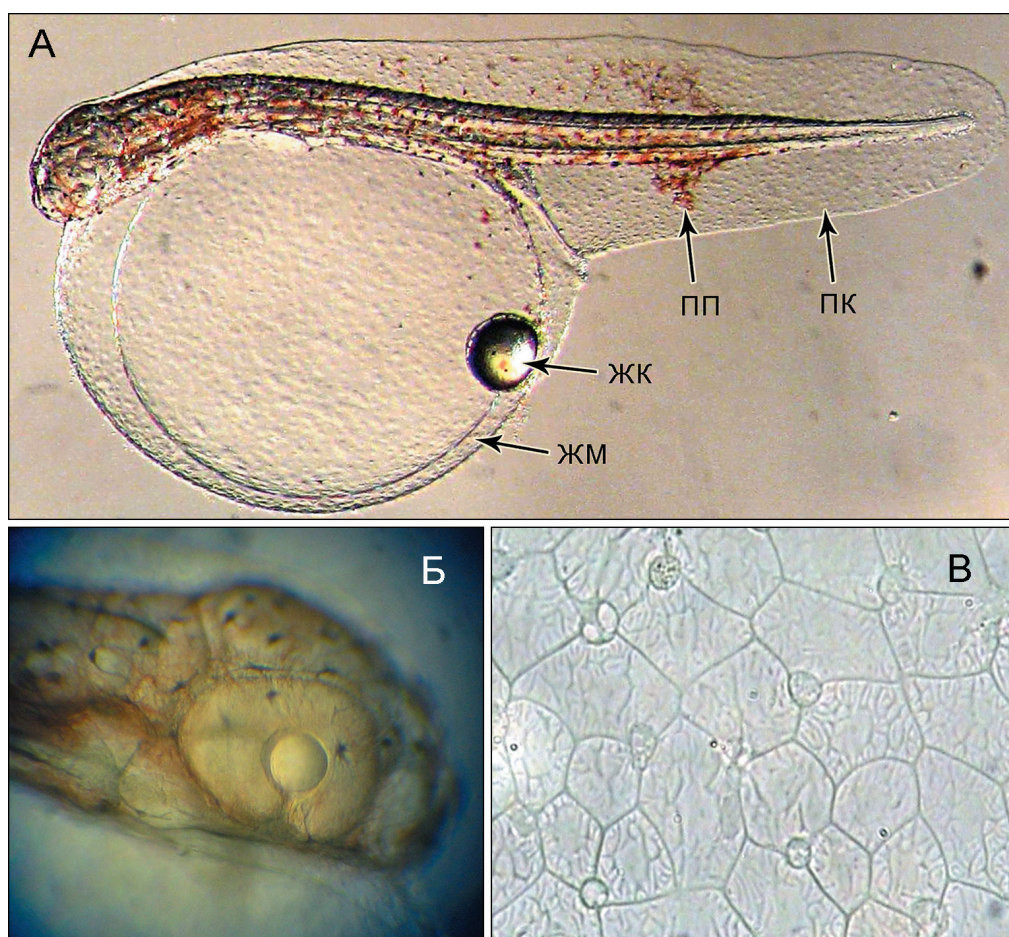


Рис. 3.1. Личинка калкана через ~1,5 ч после выклева (А); голова личинки калкана через ~1,5 ч после выклева. Ув. 8×7 (Б); хлоридные клетки на поверхности тела личинки калкана 4×8 зум Nikon Увел. 10×40 NikonEclipse 200 (В). Условные обозначения: ЖМ – желточный мешок, ЖК – жировая капля, ПП – пигментный пояс, ПК – плавниковая кайма.

Пищеварительный тракт вылупившихся личинок на этапе I (S1a) состоит из кишечника, имеющего форму прямой узкой недифференцированной трубки без просвета (рис. 3.2a) (Битюкова, 1986; Битюкова и др., 1988). Трубка выстлана кишечным эпителием, состоящим из простого слоя столбчатых клеток, а бокаловидные клетки (*англ.* goblet cells) отсутствуют, однако в эпителии уже присутствуют ферменты для контактного пищеварения (Segner et al., 1994).

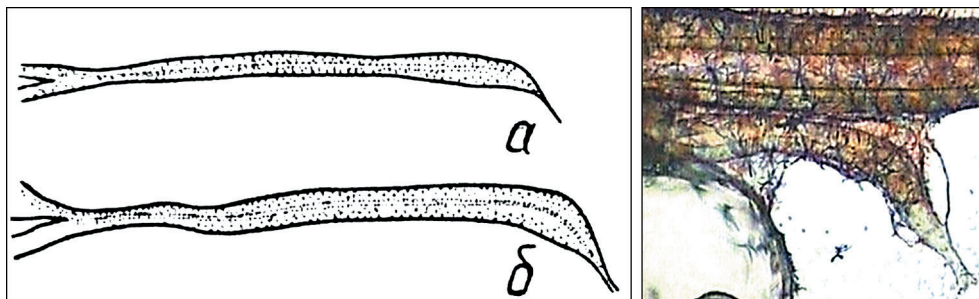


Рис. 3.2. Слева – Строение пищеварительной системы (кишечника) личинки калкана: в возрасте 0 сут (а) и 1 сут (б) в форме **нерасчленённой узкой трубки** без просвета (схематические рисунки из Битюкова и др., 1988). Справа – кишечник калкана в возрасте 1 сут. Через полупрозрачные ткани видна прямая кишечная трубка без просвета, и сформированный, но закрытый анус. Микрофотография Nikon Eclipse-TS-200, увел. 4×10

У личинок функциональны сердце и пронефрос (Al-Magazachi, Gibson, 1984; Битюкова, 1986). Количество миотомов личинок после выклева варьирует в зависимости от температуры, при которой проходил эмбриогенез (Gibson, Johnston, 1995): в туловищном отделе – 13–16, в хвостовом – 19–22 миотомов (Битюкова, 1986; *собств. данные*). По мере роста и развития личинок в течение первых суток голова удлиняется, постепенно освобождаясь от желтка (рис. 3.3), а желточный мешок сокращается в размере. К окончанию стадии 1 (S1a) голова полностью отсоединяется от желточного мешка, относительный размер головы и глаз больше, чем у только что выклюнувшихся личинок. Кишечная трубка удлиняется, но анус ещё закрыт (см. рис. 3.2).



Рис. 3.3. Личинка калкана ~ 18 часов после выклева.

Через 22–26 часов личинки (этап I, стадия 2; S1b) вырастают до длины $2,99 \text{ мм} < \text{SL} < 3,32 \text{ мм}$ за счёт резорбции желточного мешка, который приобретает более круглую форму, сокращаясь на 35–40%, и, хотя размер жировой капли остаётся практически постоянным, плавучесть становится отрицательной, и личинки слегка погружаются вниз, оставаясь в основном в приповерхностном слое (рис. 3.4). У личинок закладывается ротовое углубление, глаза не пигментированы (рис. 3.4), но в них происходит дифференциация элементов сетчатки и хрусталика, и образуется область высокой светочувствительности, в центральной части которой формируются конусовидные сегменты.

В пигментном эпителии участка центральной части сетчатки, равной диаметру зрачкового отверстия, в возрасте около 1.5 суток появляются про-пигментные гранулы, в которых начинает синтезироваться меланин (Битюкова, 1984; Moteki et al., 2001), но личинки всё ещё не реагируют на свет.

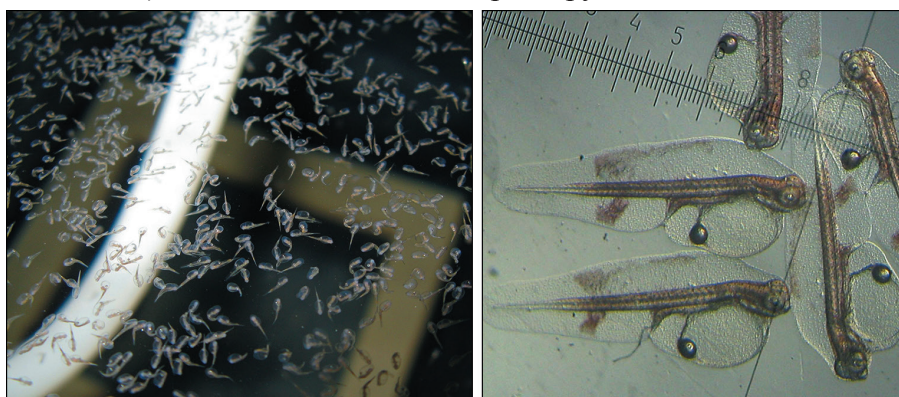


Рис. 3.4. Личинки калкана в возрасте 1 сут. Слева – расположение личинок в поверхностном слое инкубатора; справа – личинки при увел. 4×8 под бинокляром

В возрасте 44–50 ч (1.8–2 сут) у личинок длиной 3.25–3.47 мм (рис. 3.5) удлинится голова, формируются челюсти, жаберные дуги и жаберная крышка, жировая капля смещается к головному отделу.

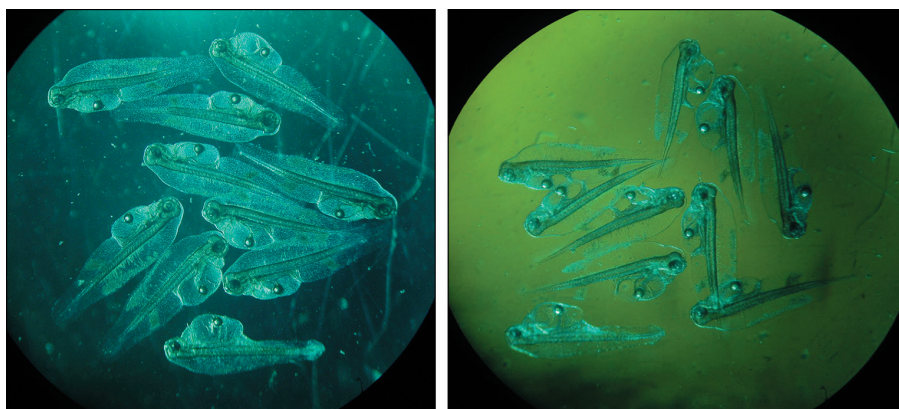


Рис. 3.5. Личинки калкана в возрасте 2 сут. Снято под бинокляром, увел. 4×8

В пищеварительном тракте увеличивается просвет кишечника, формируется мочевой пузырь, увеличивается печень (Битюкова, 1986), анус закрыт. Полость будущего плавательного пузыря дифференцируется от клеток заднего кишечника (Nash et al., 1977).

В возрасте 2 сут личинки калкана становятся более активными. Происходит быстрое развитие структур, связанных со зрением: хрусталик заполняет всю внутреннюю полость глаза, пигментация начинается с появления темно-коричневого пигмента в локальных участках сетчатки, и образуется узкий тяж пигмента от зрачка к темпоральной части (Битюкова, 1984). В начале пигментации глаз у личинок отрицательный фототаксис, и они перемещаются в тёмные зоны. Вскоре личинки группируются, преимущественно на границе света и тени; происходит так называемое «роение» (рис. 3.6А), и они совершают постоянные челночные движения к поверхности и от неё, опускаясь на 7–12 см (рис. 3.6Б). Считается, что такое поведение связано с заглатыванием пузырька воздуха и с первоначальным заполнением небольшой полости плавательного пузыря; в момент поднятия личинки пробивают поверхностную плёнку и после этого опускаются вниз.

Двухсуточные личинки ($3.1 < SL < 3.2$ мм) приобретают розово-серый цвет за счёт подстилающих липофоров и серых поверхностных меланофоров, чёрный цвет глаз (рис. 3.6В) свидетельствует о том, что в клетках пигментного эпителия начинает синтезироваться меланин. Хроматофоры распространяются на головной отдел, в область обонятельных и слуховых капсул (рис. 3.6В) и головного мозга (рис. 3.6Г). В туловищном отделе, наряду с ярко-розовыми личиночными липофорами (ксантофорами), содержащими липидо-растворимые пигменты-каротиноиды) дифференцируются личиночные коричнево-чёрные меланофоры с длинными разветвлёнными отростками, содержащие пигмент меланин (рис. 3.6Г).

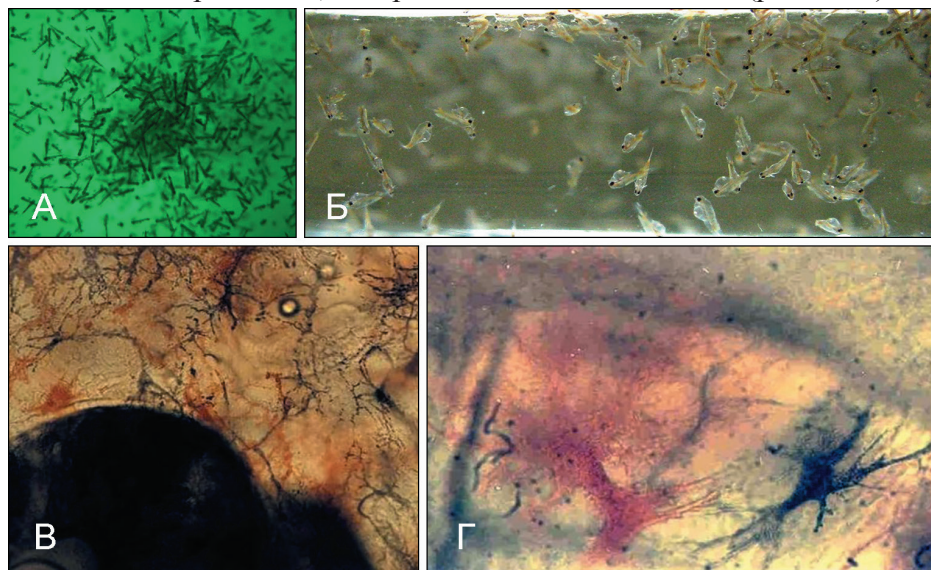


Рис. 3.6. Личинки калкана в возрасте $> 2 < 3$ сут. А – «роение» личинок на поверхности инкубатора (вид сверху); Б – вертикальные челночные передвижения личинок (вид сбоку); В – пигментация тела 2-суточных личинок в области глаз, рядом слуховая капсула с отолитами; Г – хроматофоры (красные ксантофоры и чёрные меланофоры) на теле 2-суточных личинок

В возрасте 68–78 ч (2.8–3.5 сут) в зависимости от температуры у личинок длиной $3.2 < SL < 3.6$ мм открывается рот, сформированы челюсти (но анус ещё закрыт), жировая капля смещена вперёд, глаза полностью пигментированы (рис. 3.7А). К этому возрасту у личинок формируется хрусталик, заполняющий всю внутреннюю полость глаза; пигментация глаз усиливается и продолжается дифференциация слоёв сетчатки, развивается положительная реакция на свет (Битюкова, 1984). К моменту открытия рта жировую каплю личинки окружает лишь незначительная часть от первоначального объёма (~ 10%) желточного мешка.

Личинок считают перешедшими на **II этап** (Битюкова, 1986), соответствующий стадии **S1c** (Al-Magazachi, Gibson, 1984), когда в возрасте около **3 сут** у них появляется **эритроцитарное кровообращение**, обеспечивающее более высокий уровень метаболических процессов; однако, большие и круглые личиночные эритроциты значительно отличаются от взрослых продолговатых эритроцитов (Kjorsvik et al., 2004).

Начало активного питания – один из самых важных периодов в раннем развитии калкана, так как за очень короткий срок до его начала происходят важные морфологические изменения, определяющие правильное развитие и выживаемость личинок.

Во-первых, для дальнейшего нормального развития должен заполниться плавательный пузырь – временная, но очень важная личиночная структура калкана, являющегося закрытопузырным видом рыб (физоклистом) (Doroshev et al 1981; Woolley et al., 2010). Он считается важной структурой для правильного формирования позвоночного столба в процессе личиночного развития.

Личинки рыб рода *Scophthalmus*, как многие другие физоклисты, в течение очень короткого начального периода являются физостомами, первоначально заполняющими плавательный пузырь, заглатывая воздух над поверхностной плёнкой. Считается, что первоначальное заполнение плавательного пузыря на ранних этапах развития после открытия рта происходит за счёт заглатывания атмосферного воздуха с поверхности воды и переносу его в развивающийся плавательный пузырь через незакрытый пневматический (воздушный) канал (лат. *ductus pneumaticus*) (Nash et al., 1977). Пневматический канал доставляет проглоченный воздух к развивающемуся плавательному пузырю и опорожняет газовый пузырь, пропуская пузырьки газа в пищеварительный канал. Вскоре проток зарастает, пневматический канал дегенерирует и зарастает, и в дальнейшем объём плавательного пузыря регулируется секрецией и абсорбцией в него газов через сосудистую капиллярную сеть в стенке плавательного пузыря, называемую *rete mirabile* (лат. «чудесная сеть»).

Исходно плавательный пузырь калкана, как и всех закрытопузырных рыб, возникает в виде закрытого мешка из перитонеальных тканей между почками и пищеварительным трактом (Nash et al., 1977; Cousin, Baudin-Lorencin, 1985; Битюкова, 1986). Эндодермальная ткань, инвагинировавшая из пищеварительного тракта и формирующая первичную выстилку первичного плавательного пузыря, в процессе развития дифференцируется в секреторные клетки. Группа

секреторных клеток, называемых газовой железой, регулирует секрецию и абсорбцию газов через *rete mirabile*. Сеть *rete mirabile* функционирует как обменная система противотока, позволяющая пассивную диффузию газов из венозной в артериальную кровь.

У личинок калкана в возрасте 3.5–5 сут плавательный пузырь в начале заполнения почти не заметен, но он уже хорошо различим в конце этапа смешанного питания. Обычно заполнение плавательного пузыря у личинок рода *Scophthalmus* (рис. 3.7Б – пп) совпадает по времени с резорбцией желтковых запасов (желточного мешка) (Cousin *et al.*, 1986); у калкана оно наблюдается через 6–8 час после появления форменных элементов в крови, когда на структуре с толстыми стенками и небольшой полостью, обособленной от дорсальной стенки пищевода (рис. 3.7Б – п), развивается сосудистое красное тело и газовая железа (Чепурнов и др., 1986).

Раннее наполнение плавательного пузыря воздухом очень важно для увеличения плавательной активности личинок, так как экономит их энергию при горизонтальном положении тела (Blaxter, 1986; 1988). В результате заполнения плавательного пузыря, уменьшения эндогенных резервов небольшого желточного мешка (рис. 3.7Б – ж.м.) и жировой капли (рис. 3.7Б – ж.к.), размещенных под передним отделом кишечника (рис. 3.7Б – к.), и увеличения дорсальной плавниковой складки у личинок возрастает плавучесть; они становятся более активными, из поверхностных слоёв опускаются в толщу, переходят к постоянному горизонтальному плаванию в более глубоких слоях воды и находятся в движении в 5–7 раз дольше, чем в покое (Битюкова и др., 1988).

При недостаточном заполнении плавательного пузыря личинки не способны длительно плавать, что приводит к их пассивному парению «вниз головой», опусканию ко дну и к гибели от голода из-за невозможности отлавливать пищевые объекты (Spectorova, Doroshev, 1976; собств. набл.). Однако, гиперинфляция плавательного пузыря также приводит к гибели личинок (Nash *et al.*, 1977; Булли Л.И., личн. сообщ.). Перечень патологий плавательного пузыря, обнаруживаемых на протяжении ранних стадий развития личинок рода *Scophthalmus*, обширен. Среди них нарушения его заполнения, неправильное формирование – гипертрофия газовой железы или гиперплазия *rete mirabile*, дистрофия воздушного протока, или незаполнение в результате чрезмерного расширения пневматического канала, или инвазия плавательного пузыря бактериями при несоблюдении гигиенических правил и присутствии бактериальной плёнки на поверхности воды (Padrós *et al.*, 1993). При развитии на поверхностной плёнке инфузорий *Euplotes* spp. личинки могут их заглатывать, инфузории попадают через незакрытый воздушный канал в плавательный пузырь, некоторое время находятся там живыми, и личинки калкана вскоре погибают (собств. наблюдения).

Воздушный проток может быть открыт вплоть до окончания IV этапа (S3). Скорость заполнения плавательного пузыря зависит от температурных условий и, по-видимому, от фотопериода.

Во-вторых, к моменту перехода на внешнее питание у личинок калкана должна присутствовать функциональная пищеварительная система, хотя и по безжелудочному типу, в которой основную роль в процессах переваривания и всасывания играет развитый кишечник, дифференцированный на передний, средний и короткий задний отделы (рис. 3.7Б). В дифференцировке и подготовке пищеварительного тракта к внешнему питанию важную роль играет питание желточными запасами. На протяжении желточного питания в энтероцитах кишечника не обнаруживается микроворсинок и признаков абсорбции липидов эпителием кишечной трубки (Segner et al., 1994), но энтероциты кишечника уже готовы к поглощению свободных аминокислот, которое происходит при поглощении личинками морской воды и пассивном заглатывании с ней микроорганизмов (Korsgaard, 1991), хотя этот процесс, по-видимому, незначительно влияет на баланс питательных веществ у личинок.

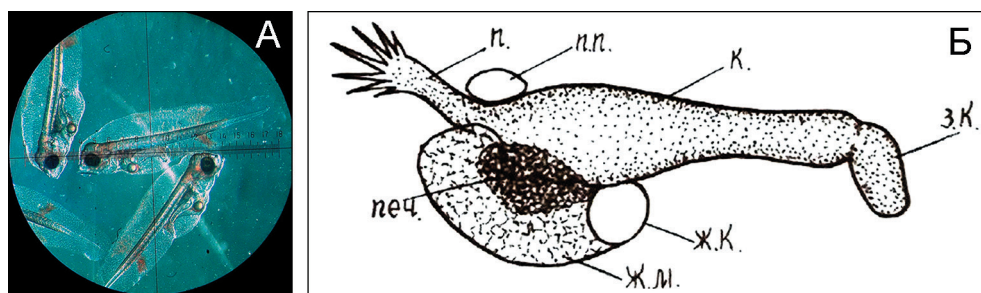


Рис. 3.7. Особенности строения личинок калкана в возрасте 3-х суток. А – фото личинок – глаза пигментированы, рот открыт, но челюсти пока не функциональны, жировая капля сдвинута вперёд. Б – схематический рисунок пищеварительной системы личинок калкана к окончанию эндогенного питания: пищевод (п.); плавательный пузырь (п.п.), печень (печ.), желточный мешок (ж.м.), жировая капля (ж.к.), кишечник (к.), задняя часть кишечника (з.к.) (из Битюкова и др., 1988)

Печень у личинок находится в непосредственной близости к желточному мешку, так как играет важную роль в переносе питательных веществ желтка в кишечник и другие органы и регулирует синтез липопротеинов с использованием желточных запасов во время эндогенного питания, аккумулируя преимущественно гликоген вплоть до начала внешнего питания (Hoehne-Reitan & Kjørsvik, 2004; Rønnestad et al., 2013). К окончанию эндогенного питания (3–4 сут) объём печени увеличивается (см. рис. 3.7 – печ.), оформляется поджелудочная железа, а между печенью и кишечником дифференцируется желчный пузырь и желчный проток, выходящие в переднюю часть кишечника; формируется мочевой пузырь (Битюкова, 1986; Segner et al., 1994); происходит первичная дифференцировка эпителиальной выстилки; увеличивается диаметр и пищеварительный тракт уже подразделяется (см. рис. 3.7) на пищевод (п.) и начинающие обособляться гистологически передний и средний (к.) и задний кишечник (з.к.). Между средним и задним отделами кишечника оформляется предректальная складка эпителия (будущий сфинктер, разделяющий средний и задний отделы кишечника у более поздних личинок) по (Битюкова и др., 1988).

Таким образом, к началу внешнего (смешанного) питания у личинок имеются функциональные кишечник с энтероцитами, способными к абсорбции аминокислот и липидов, поджелудочная железа, печень и желчный пузырь, обеспечивающие кишечник спектром необходимых ферментов (Cousin *et al.*, 1987).

В-третьих, ко времени перехода на внешнее питание глаза личинок должны быть пигментированы за счёт пигментации клеток наружного листка глазного бокала, и в них должна произойти дифференциация слоёв сетчатки. Глаза ранних личинок рода *Scophthalmus* не способны к точной фокусировке, и хотя глазодвигательные мышцы уже начинают функционировать, однако предметное зрение ещё отсутствует. Пигментированный участок сетчатки играет роль фоторецепторного органа, вызывающего фотокинетическую реакцию, но в нём присутствует только один тип фоторецепторов (Битюкова, 1984; de Miguel Villegas *et al.*, 1997) – колбочки (рис. 3.8А).

Низкую светочувствительность глаза личинок калкана, его низкий зрительный порог, на ранних этапах развития компенсирует наиболее дифференцированный участок сетчатки в темпоральном секторе (*temporalis*; лат. *tempus, temporis* – висок) глаза, где формируется область с наибольшей толщиной пигментного эпителия с зёрнами меланина (рис. 3.8Б), в которой удлинённые колбочки с коническими наружными сегментами распределены с наиболее высокой плотностью (Битюкова, 1984).

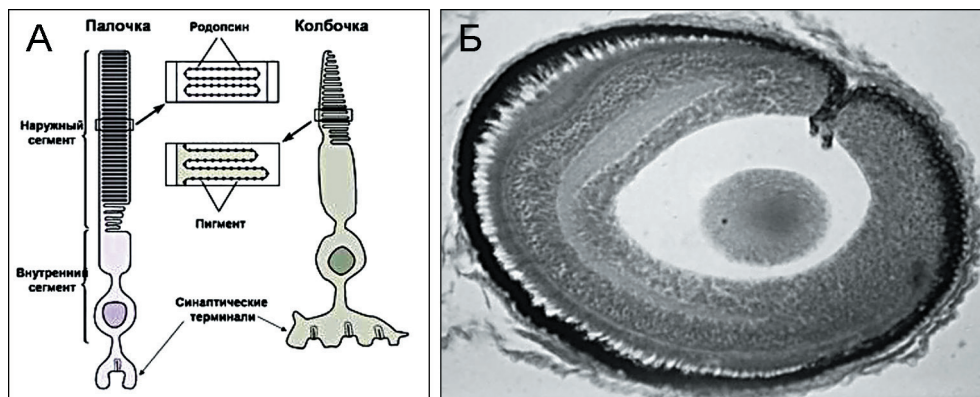


Рис. 3.8. Схематическое функциональное строение светочувствительных клеток – палочек и колбочек сетчатки глаза (А) (рис. из интернета). Гистологический саггитальный срез глаза личинки калкана перед переходом на внешнее питание (Б) (Битюкова и др., 1988)

В этой области глаза многочисленные ядра сетчатки образуют плексиформные слои (сплетения нервных волокон с множеством синаптических контактов) (Cid *et al.*, 2011), и высокая разрешающая способность колбочковой сетчатки (ретины) реализуется именно в переднем поле зрения личинок благодаря повышенной толщине слоя и длине колбочек, более плотному слою пигментного эпителия, а также смещению хрусталика к назальному краю глаза (Битюкова, 1984). Структурные особенности темпорального сектора глаза позволяют личинкам чётко воспринимать только объекты, находящиеся именно в переднем поле зрения.

Смешанное питание. Через 3–4.5 сут после выклева (в обратной зависимости от температуры в диапазоне 15.5–18°C) личинки (этап III, или стадия S1d–S2a) передвигаются на световые пятна, в оптимальные для зрительной ориентации условия, начинают активно искать пищевые объекты и переходят на смешанное (эндогенно-экзогенное) питание, в период которого развитие и метаболизм личинок происходят за счёт смешанных ресурсов желтка и пищи, поступающей извне (желточного мешка, жировой капли и живых кормов).

Личинки 3–4.5 суток абсолютно билатерально симметричны, имеют хорошо **пигментированные глаза, подвижные грудные плавники, развитые жаберные дуги** (однако, жабры не функциональны к моменту начала питания, и их последовательная дифференциация происходит вплоть до метаморфоза), вкусовые железы, функциональные подвижные челюсти, дифференцированный кишечник и открытое анальное отверстие.

В возрасте 3.5–4.5 сут у личинок при длине 3.3 <SL <3.8 мм сохраняются незначительные остатки желточного мешка, сконцентрированные около смещённой к голове сократившейся жировой капли; у них хорошо пигментированы глаза, снижается головной синус и дорсальная плавниковая кайма (рис. 3.9); а функциональные прозрачные грудные плавники (рис. 3.9) находятся почти постоянно в движении.



Рис. 3.9. Личинка калкана возрастом 3.5 сут. (SL=3.4 мм), перешедшая на смешанное питание. Бинокляр, увел. 0.6×10. Глаза хорошо пигментированы, челюсти функциональны, жировая капля смещена вперёд, кишечник наполнен, в нём присутствует зеленоватый пищевой комок. Анус открыт. Справа – вид сверху в середине тела 4-х суточной личинки калкана (SL=3.5 мм) – видны функциональные, постоянно подвижные прозрачные грудные плавники. Фотографии при увел. 4×10 (инвертированный микроскоп Nikon Eclipse).

Нормальный морфогенез пищеварительной системы личинок калкана происходит только при успешном переходе личинок на активное питание. У нормально развивающейся питающейся личинки калкана в начале **этапа III** высокая передняя половина тела и хорошо наполненные пищей отделы кишечника (рис. 3.9). Уже через несколько часов после начала активного питания наблюдается всасывание липидов в среднем кишечнике и абсорбция макромолекул белка (с помощью пиноцитоза) энтероцитами задней кишки. В среднем отделе кишечника питающейся личинки обычно видны полупереваренные остатки пищевых объектов (рис. 3.10А) – прозрачные панцири коловраток *Brachionus plicatilis* и коричнево-зеленоватые гранулы пигмента микроводорослей *Isochrysis galbana*.

Между средним и задним кишечником отчётливо виден формирующийся клапан (будущий сфинктер), за которым, в начале заднего отдела кишечника, находится мастакс (хитинизированный челюстной аппарат коловраток – единственная непереваренная структура пищи), что свидетельствует о высокой активности пищеварительных ферментов и о полноценном переваривании кормовых организмов в кишечнике. Напротив, у голодающих более суток личинок кишечник «подтянут» (рис. 3.10Б), его диаметр уменьшается, складки эпителия сглаживаются, происходит деструкция клеток кишечника (Битюкова и др., 1988) и следующая за ней гибель личинок.

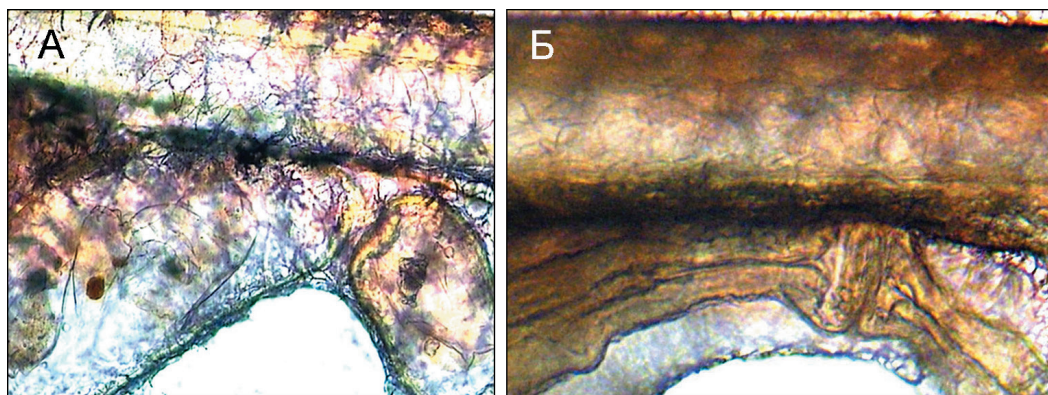


Рис. 3.10. А – брюшной отдел нормально питающейся личинки калкана в начале этапа III. Вверху – вакуолизирующая хорда, пигментированная меланофорами и ксантофорами. В среднем отделе кишечника – прозрачные панцири переваренных коловраток и коричневая гранула пигмента микроводорослей *Isochrysis galbana*, которыми питались коловратки. Между средним и задним кишечником – формирующийся клапан; в начале заднего отдела кишечника – мастакс (челюстной аппарат), внутренняя хитинизированная структура коловраток. **Б – брюшной отдел голодающей более суток личинки калкана в начале этапа III.** Кишечник «подтянут», его диаметр сужен. Микроскоп Nikon Eclipse, увел. 10×10.

Длительность этапа смешанного питания, при котором пищеварение проходит по безжелудочному типу, зависит от условий перехода на смешанное питание, которые определяет комбинация эффективности использования на рост оставшихся запасов желточного мешка и жировой капли, активной охоты, успешной поимки личинкой адекватных её потребностям живых планктонных пищевых объектов и ассимиляции пищи. По литературным данным (Jones, 1972; Al-Maghazachi, Gibson, 1984) у личинок тюрбо желток полностью резорбируется при достижении длины 3.4–3.8 мм в возрасте 4–6 сут. Согласно нашим собственным данным, при условии своевременного успешного перехода на экзогенное питание и при обилии пищи у жизнеспособных личинок калкана остатки запасов желтка могут сохраняться до длины $3.8 < SL < 4.5$ мм (7–8 сут).

3.2. Период полностью экзогенного питания

Когда у личинок калкана полностью резорбирован желток, но ещё присутствует небольшая жировая капля (остатки которой изредка могут сохраняться в условиях избыточного питания до 14 сут), они переходят на исключительно экзогенное питание, т.е. питаются только живыми планктонными организмами. Этот период соответствует **IV этапу (S2d)** развития, который обычно продолжается от 8–9 до 14 сут при возрастании длины тела **TL** от ~ **4.2 мм** до ~ **6.5 мм**. Тело личинок симметрично, хорда прямая, плавниковая складка не дифференцирована.

К началу полностью экзогенного питания у калкана (~9 сут) происходит усложнение строения пищеварительной системы (рис. 3.11А) (по Битюкова, 1986; Битюкова и др., 1988).

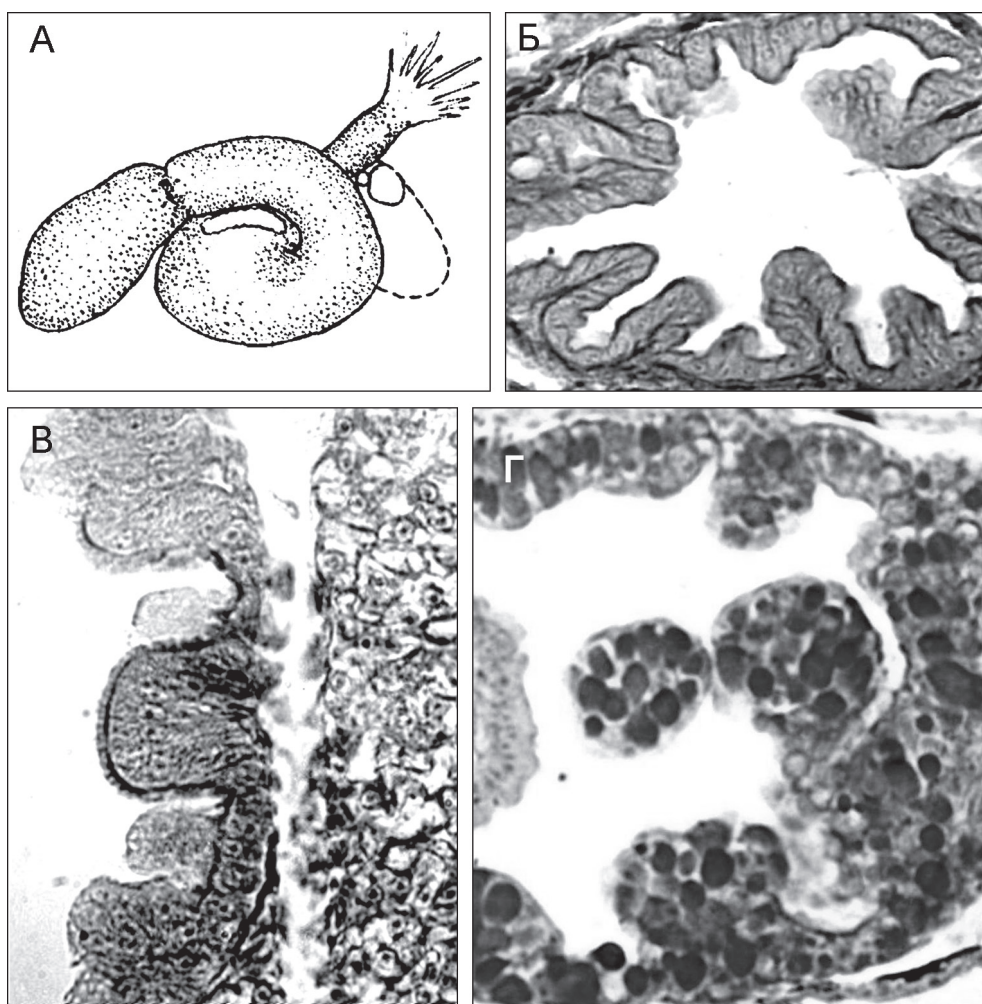


Рис. 3.11. Анатомо-гистологическое строение пищеварительной системы 9-суточных личинок калкана. **А** – схема строения пищеварительной системы 9-суточной личинки калкана; **Б** – поперечный срез в области презумптивного желудка, **В** – поперечный срез среднего отдела кишечника, **Г** – гистологический срез задней кишки личинки калкана, ацидофильные гранулы. Рисунки и фотографии модифицированы из (Чепурнов и др., 1984; Битюкова и др., 1988).

Стенка кишечника состоит из тонкого слоя мышц, соединительной ткани и кишечного эпителия (энтероцитов, обновляемых гораздо быстрее клеток других тканей), покрытого многочисленными микроворсинками, обращёнными в просвет кишки и поглощающими пищевые частицы. Продвижение пищевых частиц по пищеварительному тракту происходит благодаря перистальтическим движениям гладкой мускулатуры кишечника.

В переднем отделе кишечника выделяются еще не обособленные морфологически, но различимые гистологически, пищевод и презюмтивный (зачаточный) желудок, расположенный в задней области переднего отдела кишечника (рис. 3.11А). Слизистая пищевода состоит из многослойного эпителия с большим количеством слизевых клеток. Внутренняя поверхность презюмтивного желудка выстлана призматическим (цилиндрическим) эпителием, под которым в дальнейшем дифференцируются клетки, образующие на более позднем этапе желудочные железы.

Глубокие складки кишечника (рис. 3.11Б), особенно в его вентральной области, свидетельствуют о нормальном развитии пищеварительного тракта здоровых личинок (Cousin et al. 1986). Средний отдел кишечника выстилает слой цилиндрических эпителиальных клеток со щёточной каёмкой (рис. 3.11В), осуществляющих процессы всасывания и переваривания, и среди них появляются единичные бокаловидные клетки (англ. *goblet cells*), свидетельствующие об усложнении процессов переваривания. Компактная печень развивается слева от среднего отдела кишечника, под тонким кишечником расположена селезёнка, увеличивается объём жёлчного пузыря (Битюкова и др., 1988).

В пищеварительной системе ранних личинок рода *Scophthalmus* ещё отсутствуют структуры пищеварительных желёз, и, соответственно, отсутствует пепсиноген (зимоген пепсина, секретируемый в желудок для расщепления сложных протеинов); желудочные железы (англ. *gastric glands*) начинают формироваться около 10 сут после вылупления (Cousin, Baudin-Laurencin, 1985; Segner et al., 1994). Главную роль (до развития полноценного желудка) в процессах переваривания и всасывания играет кишечник, в котором гидролиз низкомолекулярных белковых структур мелких кормовых организмов осуществляется преимущественно мембранными пептидазами.

Энтероциты, расположенные в среднем отделе кишечника, абсорбируют преимущественно липиды. Появление крупных ацидофильных гранул в эпителии заднего отдела кишечника калкана (рис. 3.11Г) (Битюкова и др., 1988) свидетельствует о поглощении энтероцитами капелек жидкости с белковыми компонентами (макромолекулами протеинов, т.е. о внутриклеточном пищеварении пищевых частиц, поглощённых путём пиноцитоза энтероцитами заднего отдела кишечника (O'Connell, 1976 цит. по Conway et al., 1993). Ацидофильные гранулы образуются только в эпителии заднего отдела кишечника, только у питающихся личинок при наличии достаточного количества пищевых частиц в кишечнике и только на этапе безжелудочного пищеварения (Битюкова, 1986).

Гистологические различия в строении разных отделов пищеварительного тракта и особенно пиноцитоз, происходящий в заднем отделе кишечника, свидетельствуют об усложнении процессов переваривания пищи и о начале расщепления высокомолекулярных белковых компонентов пищи. Выстилка кишечника является не только основным местом переваривания и абсорбции питательных веществ, но и вовлечена в гормональную и нейральную активацию энзимов, синтез желчи и их последующую секрецию из поджелудочной железы и печени. Активный пиноцитоз во время питания живыми кормами является также свидетельством развития неспецифической иммунной системы личинок рыб (Conway et al., 1993; Akayli et al., 2017).

Считается, что при питании естественным планктоном (преимущественно копеподами) личинки рода *Scophthalmus* сохраняют одинаковую эффективность переваривания пищи на протяжении роста от 0.6 до 5 см, однако усвоения липидов полностью не происходит в связи с отсутствием липазы, и поэтому выдвигалось предположение (Conway et al., 1993), что личинки камбал могут накапливать запасы поступающих липидов, утилизируя их впоследствии в процессе метаморфоза.

До начала метаморфоза, в возрасте ~ 3–15 сут, развитие пищеварительной системы определяется характером питания личинок и характеризуется интенсификацией дифференцировки кишечного тракта. Обеспечение достаточной площади всасывающей поверхности слизистой для пищеварения и дальнейшего роста личинок происходит за счёт постоянного удлинения и увеличения диаметра кишечника, изгибающегося вентрально, возрастания его складчатости, скручивания и образования петель (Битюкова и др., 1988). В результате возрастает скорость прохождения пищи в кишечнике, эффективное время пищеварения и эффективность переваривания и усвоения пищи (Segner et al., 1994).

Благодаря интенсивно заполняющейся полости плавательного пузыря (хорошо заполненному к концу IV этапа), который выполняет основную гидростатическую функцию, и удлинившимся функциональным грудным плавникам нормально развивающиеся личинки могут удерживать тело в толще воды, легко маневрировать и осуществлять вертикальные миграции. Нормально развивающиеся личинки в возрасте 9–10 сут ($4.9 < TL < 5.3$ мм при 19°C) могут периодически заглатывать более крупные кормовые объекты (это могут быть науплии артемий, поздние науплии или ранние копеподиты копепод), а на 11–13 сут (при достижении длины (TL) ~ 6.5 мм) могут переходить на преимущественное питание ими. В этом возрасте тело личинок становится более удлинённым, сжатым с боков (более «прогонистым»), высота тела резко снижается за анусом.

В период привыкания к питанию артемиями, значительно отличающимися по биохимическому составу от коловраток и, соответственно, требующего изменений в ферментативной системе, личинки, испытывая адаптационный стресс, могут темнеть (рис. 3.12).

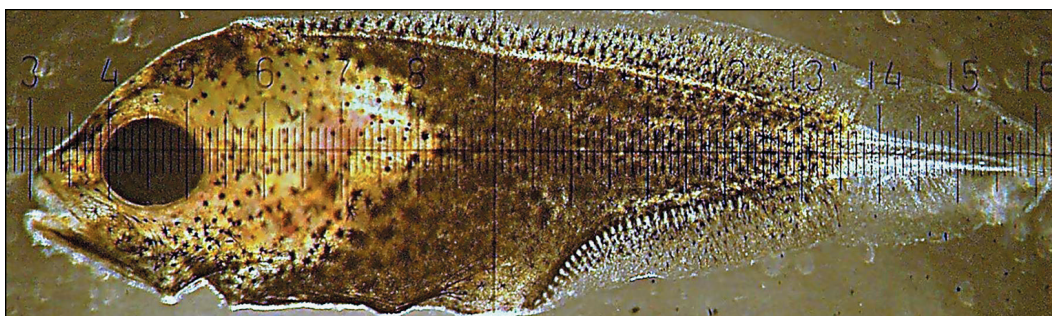


Рис. 3.12. Личинка калкана, IV этап развития; тёмная пигментация обусловлена стрессом личинки в период адаптации к питанию артемиями. Бинокляр, увел. 8×2

Размеры личинок и уровень их развития значительно варьируют в зависимости от питания и температуры, при которой происходит их развитие. Определённые структуры развиваются только при достижении определённого размера тела личинки: шипы на жаберной крышке, в ушной области нейрокраниума и в области кости *dentale* начинают формироваться, начиная с длины TL 4.8 мм (SL=4.5 мм). Личинки калкана к 11 сут при 18°C и питании смесью коловраток и науплиев артемий (с добавлением зелёных микроводорослей) достигали TL 4.5±0.5 мм, а при 21°C и добавлении в корм каланоидных копепод (акарций) и перидиниевых микроводорослей их длина уже составляла 6.3±0.5 мм, и образовывалось «облако» в хвостовом отделе (сгущение мезенхимы). При 18°C личинки при питании коловратками и артемиями достигают средней TL 5.3±0.5 мм на 13 сут, и 6.2±0.6 мм на 14 сут, в то время как при добавлении к их рациону акарций при 21°C личинки уже на 12 сут могут достигать TL 6.5±0.7 мм, а при 22°C – 6.6±0.8 мм.

У нормально развивающихся жизнеспособных личинок в среднем, в течение IV этапа длина возрастает от 3.8<TL<4.2 мм в начале до 5.6<TL<6.6 мм (в зависимости от питания и температуры в диапазоне 18–22°C) к концу IV этапа. К этому возрасту у личинок полностью резорбирована жировая капля, задний конец хорды значительно сужается к концу, в нижней лопасти хвостового плавника происходит сгущение мезенхимы, вдоль плавниковых лучей начинают дифференцироваться проксимальные членики птериigioфоров, дорсальная складка высокая, и плавательный пузырь продолжает заполняться (рис. 3.13А). У личинок, в рацион которых входили копеподы, с 11–12 суток начинается кальцификация скелета, которая прогрессирует от первых элементов челюстного аппарата *premaxilare*, *maxillare*, *dentale*, при достижении длины TL 5.9 мм у личинок остифицированы не только кости челюстного аппарата *premaxilare*, *maxillare*, *dentale*, а также частично *frontale*, *basioccipitale*, *praeoperculum*, *cleitrum* (рис. 3.13Б). После окончательного расходования жировой капли, в конце IV этапа (~к 14 сут), личинки с низкой скоростью роста, не достигающие длины TL=5.5 мм, обычно элиминируют.

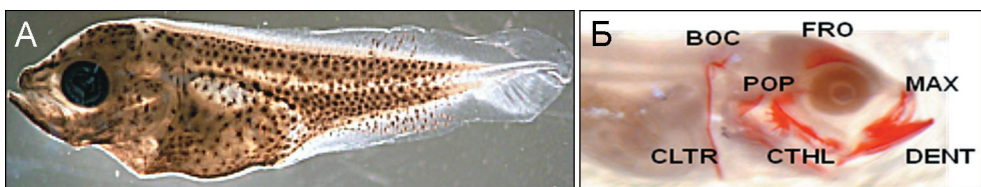


Рис. 3.13. А – личинка калкана в конце IV – начале V этапа, TL = 5.8 мм. Заполненный плавательный пузырь, сгущение мезенхимы в нижней лопасти хвостового плавника. Пигментные клетки распространяются на дорсальную и анальную части плавниковой складки. Б – формирование шипов на краниуме личинки калкана TL = 5.9 мм. Окраска ализарином кальцифицированных элементов. Обозначены окрашенные костные элементы: MAX – *maxillare*, DENT – *dentale*, FRO – *frontale*, BOC – *basioccipitale*, POP – *praeoperculum*, CLTR – *cleitrum*

На протяжении V этапа (S3–S4а, 14–19 сут в зависимости от температуры 18–22°C и питания) личинки (от ~5.5 до ~7.9 мм) сохраняют билатерально-симметричное строение; глаза их расположены симметрично, но в их сетчатке уже появляются палочки (см. рис. 3.8), и возрастает острота зрения. В этот период происходит дальнейшее формирование непарных плавников; а в плавниковых лопастях появляются лучи, развиваются птериigioфоры и лепидотрихии (рис. 3.14А).



Рис. 3.14. А – симметричная пелагическая личинка калкана TL 6.8 мм, SL 6.5 мм на V этапе (S3b). Нотохорда почти прямая, в хвостовом плавнике более 8 лучей, начинают формироваться гипуральные элементы. Плавательный пузырь полностью заполнен. (Фото Рауэн Т.В.). Б – симметричная пелагическая личинка калкана 16 сут (TL 6.8 мм, SL 6.5 мм) в начале метаморфоза (V этап (S3b): красным (ализарином) окрашены кальцифицированные структуры костей краниума (*dentale*, *angulare*, *maxillare*, *premaxillare*, *operculum*, *praeoperculum*, *frontale*, *parietale*, *pteroptocum*, *basioccipitale*, *parasphenoideum*, *hyomandibularae*, *quadratum*) и, частично, гемальные и невральные дуги и тела позвонков; формируются шипы на *frontale* и *praeoperculum*

Происходит дальнейшая интенсивная остификация костных элементов скелета, у личинок остифицированы *dentale*, *angulare*, *maxilare*, *premaxilare*, *operculum*, *preaeoperculum*, *frontale*, *parietale*, *pterotocum*, *basioccipitale*, *parasphe-noideum*, *hyomandibularae*, *quadratum*) и, при питании копеподами, происходит остификация позвонков, гемальных и невральных дуг, формируются шипы на неврокраниуме (рис. 3.14Б). При питании смесью с копеподами при 22.5°C личинки уже в 14 сут достигают длины TL=7.2–8.2 мм и задний конец их хорды (уростиль) начинает загибаться вверх.

В конце **V этапа (S4a)** у билатерально-симметричных личинок в возрасте 17–19 сут при длине тела $6.6 < TL < 9$ мм (при 18–21°C) плавательный пузырь полностью заполнен; формируется большая часть плавниковых лучей (дорсальный и анальный плавники, зачатки брюшных плавников позади клейтрума); задний конец хорды (уростиль) отклоняется в дорсальном направлении на 45°, число направленных вниз и назад хвостовых лучей достигает 15–16 (рис. 3.15). На этой стадии в пищеварительной системе калкана дифференцируются первые желудочные железы и развиваются пилорические придатки; формируются глоточные зубы. Жабры становятся функциональными, в них появляются первые жаберные лепестки (Битюкова и др., 1988), и газовый обмен личинок, происходивший ранее исключительно через поверхностные покровы, частично заменяется жаберным дыханием.



Рис. 3.15. Личинка калкана TL= 9 мм, **V этап (S4a)**. Питание метанауплиями артемий. Уростиль отклонен вверх под углом около 30° (Фото Рауэн Т.В.)

Промежуток развития между окончанием **V** и началом **VI этапа** (между **S4a** и **S4b**) считается критическим предметаморфозным периодом в развитии личинок рода *Scophthalmus*, в течение которого под воздействием поступающих в организм с кормом эссенциальных компонентов определяется последовательность каскадов сигнальных молекул, сериями следующих друг за другом событий и направляющих характер экспрессии генов, ответственных за комплекс событий метаморфоза: дифференциации и роста групп клеток, связанных с миграцией

глаза, трансформацией костной ткани и дифференциацией хроматофоров на разных сторонах тела, определяющим характер асимметричной пигментации (Ханайченко, Битюкова, 2007). В этот период личинки калкана особенно нуждаются в правильном соотношении компонентов пищи для нормы прохождения метаморфоза.

На **VI этапе (S4b)** развития, приблизительно на 17–19 сут, в зависимости от температуры и питания, начинается миграция глаза, являющаяся внешним признаком начала метаморфоза. Смещение правого глаза в верхне-переднем направлении относительно левого глаза происходит в результате сложных физиолого-биохимических процессов, находящихся под генетическим и гормональным контролем, приводящих к частичной резорбции и асимметричному развитию костей, преимущественно черепа. Один из наиболее критических периодов в развитии личинок калкана приходится приблизительно на возраст 10 до 20 сут после выклева, когда происходит трансформация от примитивного движения и способа захвата пищи к более функционально развитым способам плавания и поимки кормовых объектов (Kohn et al., 2001).

Метаморфозу предшествуют существенные морфо-образовательные процессы, связанные с органолитической и гистологической дифференцировкой: закладкой хрящевого скелета плавников, переходом к желудочному типу пищеварения, заменой пиноцитоза на внеклеточное переваривание. Начало его приурочено к достижению личинками определённой длины $6.8 < TL < 7.3$ мм, до которой они дорастают в зависимости от питания и температуры (в диапазоне 18–24°C) в возрасте от 20 до 15 сут (Битюкова и др., 1988; Битюкова, Ткаченко, 1997).

Так, при температуре выращивания $22 \pm 0.5^\circ\text{C}$ при питании смесью метанауплиев артемий и копеподами (акарциями) у личинок калкана в 17 сут уже заметна асимметрия глаз, и они начинают «заваливаться» набок, изменяя ориентацию оси тела относительно поверхности воды (рис. 3.28). В этих условиях в возрасте 21 сут наиболее крупные личинки достигают длины TL 13.2 мм; SL 10.4 мм, и в результате значительной миграции глаза плавают уже почти горизонтально (рис. 3.28); в 25 сут в среднем длина калкана варьирует в пределах $13.5 < TL < 15$ мм; $10.5 < SL < 11.5$ мм.

При 18°C и питании только метанауплиями артемий личинки калкана в возрасте 20 сут длиной TL 8.3 ± 0.4 мм не обнаруживают внешних признаков миграции глаза (Sahin, Üstündag, 2003). Личинки тюрбо на 20 сут при выращивании при 19°C и питании науплиями (500 мкм) и метанауплиями артемий (800–900 мкм), насыщенными специализированными смесями, достигают средней длины TL 10 мм, и миграция глаза у них к этому времени только начинается; а к 25 сут они достигают длины $TL=15$ мм, но глаз только начинает быть виден с левой стороны (Person-Le Ruyet, 2002). У личинок калкана, питавшихся смесью зоопланктона (преимущественно, копеподами) из солёных озёр при выращивании в экстенсивных условиях, в системе УЗВ, перемещение правого глаза на левую сторону начинается в возрасте 22–25 сут при длине $15 < TL < 19$ мм (Туркулова и др., 2013).

У личинок калкана в возрасте 26 сут при питании смесью науплиев артемий и копеподами при температуре выращивания $21.5 \pm 0.5^\circ\text{C}$ длиной TL 14.6 ± 0.9 мм мигрирующий глаз уже оказывается в профиле головы, а при температуре выращивания $18 \pm 0.5^\circ\text{C}$ и питании только насыщенными метанауплиями артемий личинки они не превышают длины TL 13.3 ± 1.5 мм, и мигрирующий глаз только приближается к верхней границе с правой стороны (наши данные) (рис. 3.16А, Б).

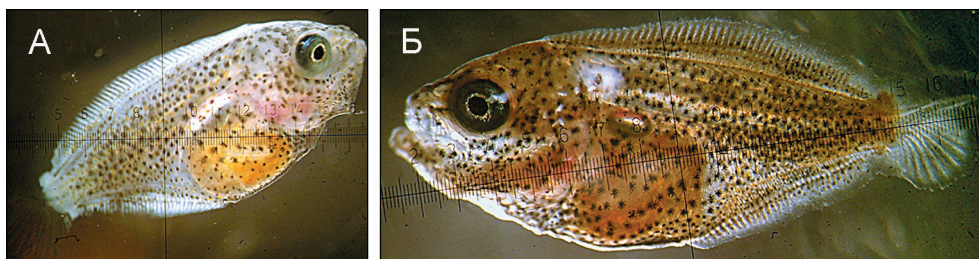


Рис. 3.16. А – личинка калкана TL – 13.3 мм) в возрасте 26 сут, при $18 \pm 0.5^\circ\text{C}$ и кормлении метанауплиями артемиями. Начало VI этапа (S4b), правая сторона тела. Б – левая сторона тела. Правый глаз расположен выше левого, но ещё не достиг вершины головы. Нотохорда в хвостовой части поднимается на угол менее 45° , формируются лучи плавников. (Фото Рауэн Т.В)

В течение VI этапа (S4b-S4c) у калкана исчезают остатки плавниковой каймы. Уростиль отклоняется дорсально $>80^\circ$ и изогнут под углом, полностью развиты лучи хвостового плавника, происходит быстрое развитие и объединение гипуральных элементов в хвостовую пластину (рис. 3.17).

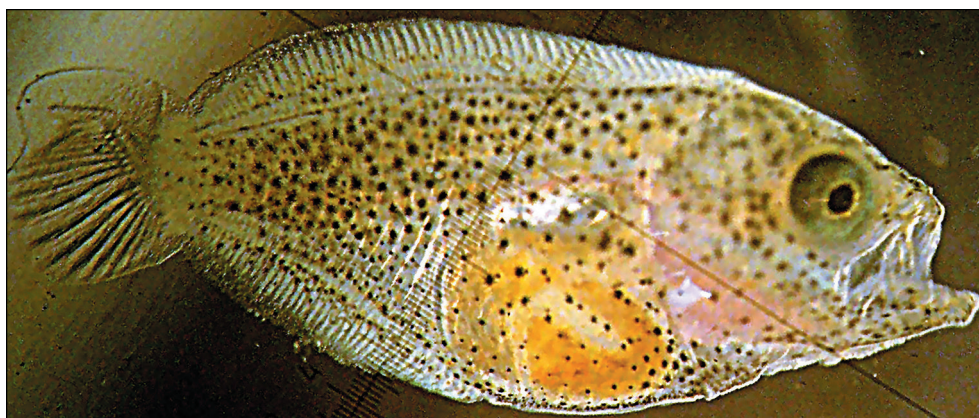


Рис. 3.17. Личинка калкана VI этап (S4b-S4c). Правый глаз расположен выше левого, но орбитальный крест ещё не виден с левой стороны. Нотохорда в хвостовом отделе выгнута наверх около 80° , уростиль изогнут под углом; ниже уростиля лучи хвостового плавника, происходит развитие гипуральных элементов в хвостовую пластину. Фото Рауэн Т.В.

Правый глаз продолжает мигрировать наверх, и к концу VI этапа (S4d) его верхний край достигает вершины головы личинки калкана (рис. 3.18). На рис. 3.18А видно, что с правой стороны тела сквозь полупрозрачные ткани личинок просвечивает левый глаз, расположенный значительно ниже правого.

С левой стороны тела (рис. 3.18Б) мигрирующий правый глаз ещё не виден. В процессе миграции глаза оба надглазничных гребня с многочисленными шипами на них перемещаются в дорсо-каудальном направлении и максимально приближаются друг к другу, когда правый глаз поднимается над профилем головы (Битюкова и др., 1988). Тело сильно сжато с боков, и максимальная высота составляет 50–60% от длины. Брюшная полость тела короткая и высокая, сзади она ограничена первым интергемальным лучом (рис. 3.23), нижний конец которого изгибается вперёд по направлению к заднему отростку тазовой кости.

Уростиль отклоняется дорсально на 90° , исчезает остаток плавниковой складки, хвостовой плавник становится гомоцеркальным (рис. 3.18А, Б), его верхняя лопасть представляет собой остаток плавниковой складки. В непарных плавниках дифференцируются хрящевые элементы; лепидотрихии хвостового плавника становятся членистыми. Позади нижнего конца клейтрума появляются зачатки лучей брюшных плавников. Брюшная полость тела короткая и высокая, сзади ограничена первым интергемальным лучом, нижний конец которого на VI этапе изгибается вперёд по направлению к заднему отростку тазовой кости. На челюстях появляются одиночные тонкие зубы.

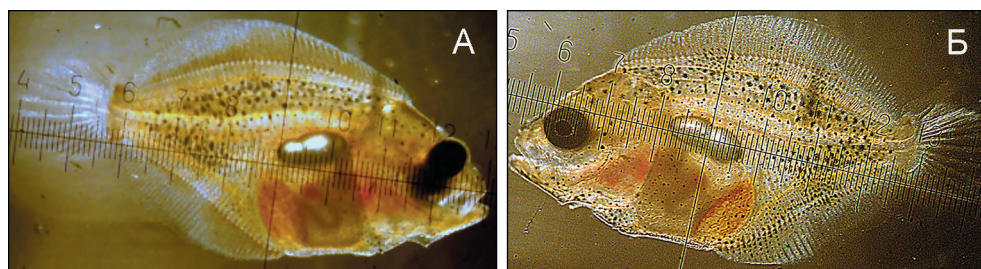


Рис. 3.18. Личинка калкана к концу VI этапа (S4c-S4d). А – правая (будущая слепая) сторона тела. Б – левая (будущая зрячая) сторона тела. Верхний край правого глаза достигает вершины головы, но ещё не виден с левой стороны. Нotoxopдa изогнута наверх 90° . Гипуральные элементы хвостовой пластины объединены

На протяжении V–VI этапов (в возрасте 14–26 сут в зависимости от температуры и питания) в пищеварительном тракте личинок калкана (рис. 3.19) (Битюкова, 1986) формируются узкий короткий пищевод и объёмный мускулистый желудок, отделённый от среднего кишечника пилорическим клапаном (*англ.* pyloric sphincter), за которым расположены два пилорических придатка. Средний отдел кишечника отделён сформированным сфинктером от заднего отдела кишечника (рис. 3.19). В пищеварительном тракте присутствует две петли, одна из которых образована желудком и нисходящей ветвью среднего кишечника, вторую образует восходящая ветвь среднего отдела кишечника и задний отдел кишечника (Битюкова и др., 1988).

В желудке сформированы многочисленные желудочные железы; образована единая железа гепатопанкреас. Протоки желчного пузыря и поджелудочной железы открываются отдельно в начале среднего отдела кишечника, эпителий

которого представлен энтероцитами и большим количеством бокаловидных клеток. В заднем кишечнике исчезают ацидофильные гранулы; и в дальнейшем пищеварение личинок происходит по желудочному типу (Segner et al., 1994). Усложнение пищеварения в результате более эффективного и длительного переваривания пищи в желудке и увеличения всасывающей поверхности кишечника за счёт формирования петель кишечника и возрастания его складчатости (рис. 3.19Б), обеспечивает поступление большого количества питательных веществ, необходимых при возрастании энергетических затрат в процессе роста и метаморфоза личинок (Битюкова и др., 1988).

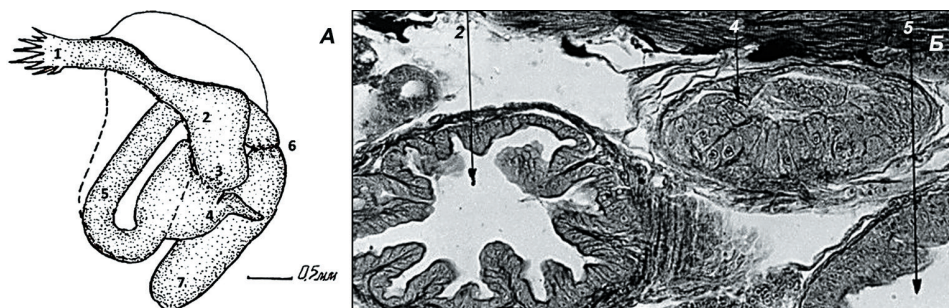


Рис. 3.19. А – схема строения кишечника личинки калкана в возрасте 23 суток. Б – гистологический сагитальный срез складчатого кишечника калкана.

1 – передний отдел кишечника (пищевод), 2 – желудок, 3 – пилорический клапан, 4 – пилорический придаток, 5 – средний отдел кишечника, 6 – сфинктер, 7 – задний отдел кишечника. Рисунки модифицированы из (Битюкова и др., 1988)

В начале VII этапа (S5a) у личинок калкана дорсальная часть мигрирующего правого глаза выступает над профилем головы, в котором образуется углубление (рис. 3.20). В течение VII этапа у личинок в возрасте ~ 23–38 сут, длиной $9 < TL < 15.5$ мм, происходит перемещение правого глаза к центру профиля головы, развиваются жаберные тычинки, первый интергемальный луч значительно отклоняется вперёд, основа хвостового плавника полностью формируется из гипуральных элементов, а лепидотрихии плавника становятся членистыми.

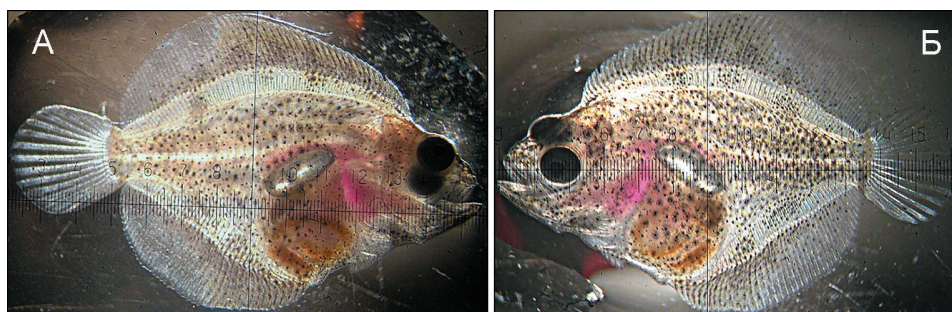


Рис. 3.20. Личинка калкана в процессе метаморфоза – миграции глаза. Начало VII этапа (S5a). Дорсальная часть мигрирующего правого глаза выступает над профилем головы. Сформированы непарные спинной и брюшной плавники, гомоцеркальный хвостовой плавник, парные грудные плавники. А – правая (будущая слепая) сторона тела, Б – левая (будущая зрячая) сторона тела

На протяжении VII личиночного этапа развития перемещение правого глаза сопровождается возрастанием асимметрии тела калкана (рис. 3.21). Дорсальная часть правого глаза выступает над профилем головы. По мере прохождения метаморфоза прогрессирует асимметрия элементов скелета (особенно это заметно в костях *frontale*; и отдельных элементах челюстных костей). Увеличивается длина челюстей и количество мелких зубов на них, но рост правой верхней челюсти происходит медленнее, и на глазной стороне она становится длиннее и круче изогнутой. Некоторые системы органов также становятся в той или иной степени асимметричными, например, органы обоняния, система латеральных линий (рис. 3.29); в то время как другие сохраняют относительную билатеральную симметрию.

Пигментация тела к окончанию VII этапа (S5b) становится асимметричной: будущая слепая (правая) сторона теряет пигментацию (рис. 3.21А) в результате диссоциации личиночных меланофоров, а будущая зрячая (левая) сторона тела приобретает «пятнистость» (рис. 3.21Б) за счёт чередования в дерме скоплений дифференцированных хроматофоров (меланофоров, ксантофоров и гуанофоров) взрослого типа (Ханайченко, Битюкова, 2007). Происходит резорбция костной ткани надглазничного гребня, шипов на челюстях и жаберных крышках. У личинок калкана в 29–30 сут грудные плавники также становятся асимметричными: левый уже и длиннее на 6–7%, чем правый (Битюкова и др., 1988). Обонятельное отверстие правой стороны смещается к вершине головы. Анус открывается с правой стороны. Высота тела составляет 55–60% от его длины.

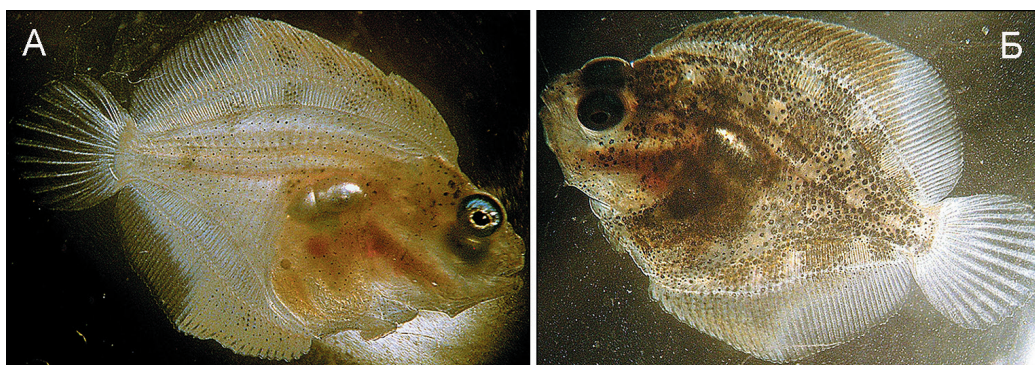


Рис. 3.21. Личинка калкана в процессе метаморфоза – миграции глаза. Середина VII этапа (S5b). А – Правая (будущая слепая) сторона тела калкана. Мигрирующий правый глаз наверху головы, расположен значительно выше левого, просвечивающего чуть ниже через полупрозрачное тело личинки. Пигментация с правой стороны уже почти отсутствует. Б – левая (будущая зрячая) сторона тела калкана. Верхняя половина мигрирующего правого глаза наверху видна с левой стороны. Левая сторона полностью пигментирована. Пигментация имеет «пятнистый» характер за счёт «пятен» (скоплений) гуанофоров. Непарные плавники полностью сформированы. Нotoxopora в хвостовом отделе изгибается под углом 90°. Основа хвостового плавника состоит из гипуральных элементов, сам плавник – из членистых лепидотрихий.

Во время метаморфоза температура и питание комплексно влияют на скорость роста и развитие личинок. При $21 \pm 1^\circ\text{C}$ длина личинок калкана на 24–25 сут варьирует в пределах $10.5 < TL < 11.5$ мм, а в возрасте 30 сут – $17 < TL < 19$ мм.

В этот период особенно значимо проявляется разнокачественность скорости роста личинок калкана даже из одной партии икры (сиблингов) при одинаковых условиях выращивания: у наиболее быстро растущих особей при температуре $> 21^{\circ}\text{C}$ мигрирующий глаз достигает вершины головы в 29 сут, в то время как у большинства личинок правый глаз перемещён в центр профиля головы; правая сторона оказывается слепой в возрасте 33–37 сут.

При $21 \pm 1^{\circ}\text{C}$ и питании смесью копепод и метанауплиев артемий личинки калкана на 34 сут достигают длины $17.5 < \text{TL} < 21$ мм. При $18 \pm 1^{\circ}\text{C}$ при том же рационе, большинство личинок в 30 сут значительно меньше, $10.1 < \text{TL} < 11.5$ мм, а в 32 сут их длина варьирует в пределах $11.3 < \text{TL} < 17.5$ мм, хотя при достижении личинками $\text{TL} > 16$ мм левый глаз находится уже за вершиной головы. При температурах $\leq 17^{\circ}\text{C}$ миграция глаза происходит чрезвычайно медленно или может полностью затормозиться.

При выращивании по экстенсивной технологии в мезокосмах 2000 м^3 (при низкой плотности личинок и кормлении их смесью естественного зоопланктона с преобладанием копепод и примесью ювенильных амфипод) при колебаниях температуры в пределах $17\text{--}22^{\circ}\text{C}$ личинки тюрбо в 30 сут также вырастали средней длины $\text{TL} 20$ мм (Berg et al., 1985; Meeren, van der, Naas, 1997). При выращивании по интенсивной технологии (при высокой плотности личинок и кормлении их коловратками и метанауплиями артемий, насыщенными специализированными смесями) при стабильной температуре 19°C личинки тюрбо в 30 сут достигали средней длины $\text{TL} 18$ мм (Person-Le Ruyet, 1989).

В китайских питомниках при выращивании по интенсивной технологии при температуре $22 \pm 1^{\circ}\text{C}$ личинки тюрбо в возрасте 29 сут достигали $\text{TL} 15$ мм, а к 34 сут вырастали до $\text{TL} 27.0$ мм (Lv et al., 2019).

По мере развития личинок происходит усложнение их зрительной системы. Ранним личинкам рода *Scophthalmus* присуще примитивное строение сетчатки глаза, состоящей исключительно из колбочек (Битюкова, 1984; de Miguel Villegas et al., 1997), и небольшая потенциальная дистанция восприятия, не превышающая одной длины их тела (Blaxter, 1986). В течение метаморфоза строение глаза личинок становится более сложным, и возрастает дистанция восприятия объекта. В сетчатке глаза дифференцируются палочки (Битюкова, 1984; de Miguel Villegas et al., 1997; Cid et al., 2013), и она превращается в двойную сетчатку, содержащую фоторецепторы двух типов – палочки и колбочки (см. рис. 3.8), характерную для взрослых особей, что способствует тому, что к окончанию метаморфоза ко времени перехода к демерсальному образу жизни у мальков устанавливается сумеречное зрение.

По мере развития слоёв сетчатки у калкана устанавливается предметное зрение и увеличиваются относительные размеры глаз (Битюкова, 1984), которые достигают максимального относительного размера в возрасте 20–25 сут. Кроме того, усиленное кровоснабжение сосудистой оболочки и других структур глаза, участвующих в его защите и движении, способствуют совершенствованию зрительных характеристик (de Miguel Villegas et al., 1997). В этот период пищевая

атака личинок калкана на взрослых копепод акарций, копепод, характеризующихся очень высокой скоростью броска, завершается 100% успехом (собств. данные). Относительно большой размер глаз на этом этапе развития, по-видимому, компенсирует погрешности зрения, связанные с процессом миграции глаз.

К концу VII этапа (S5c) правый глаз достигает вершины головы личинок, оказывается в углублении, погружённым в ткани перед спинным плавником, в центре профиля головы, и его зрительная ось разворачивается влево на 90° по сравнению с первоначальным положением (рис. 3.22, 3.23). Длина личинок в зависимости от температурного режима и питания варьирует в диапазоне $14 < TL < 20$ мм.

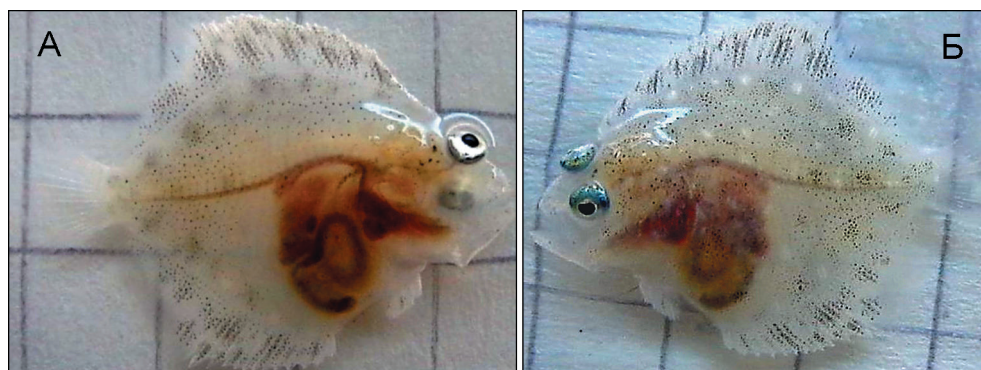


Рис. 3.22. Личинка калкана в возрасте 37 суток, TL 19 мм. Правый глаз в профиле головы погружен в ткани, виден с обеих сторон тела, ось глаза развернута на 90°. **А** – вид с правой (будущей слепой) стороны, на которой пигментация практически отсутствует. **Б** – вид с левой (будущей зрячей) стороны. Левая сторона пигментирована чередующимися белыми (скопление гуанофоров) и чёрными (скопление меланофоров) пятнами.

После того, как личинки рода *Scophthalmus* проходят пик метаморфоза (37–38 сут), можно с высокой достоверностью предсказать их дальнейшее развитие, и обычно в экспериментальных лабораториях и промышленных питомниках в этом возрасте определяют норму роста и развития (по степени миграции глаза, правильности асимметричной пигментации тела и нормального формирования кальцифицированных костных элементов скелета (рис. 3.23) (Kjørsvik et al., 2003; Kjørsvik et al., 2004). В процессе дальнейшей трансформации тела и миграции правого глаза на левую сторону правая сторона тела становится полностью слепой. Дорсальный плавник зарастает от уровня хрусталика мигрировавшего правого глаза.

Хорошо развитый плавательный пузырь помогает метаморфизирующим личинкам держаться долгие периоды как у поверхности, так и в других слоях воды, мигрировать вертикально и, очевидно, способствует прохождению метаморфоза именно на пелагической фазе развития. Считается, что он необходим личинкам в качестве пневматической прокладки между желудком и позвоночником, обеспечивает его правильное развитие, осуществляя давление, направленное дор-

сально и вентрально, подталкивая позвоночный столб вверх, в результате чего он образует арочный изгиб и абдоминальную полость, которая в свою очередь способствует изменению формы растущего пищеварительного тракта (Cousin, Vaudin-Laurencin, 1985).

Максимального размера плавательный пузырь достигает в период с 19 по 25 сут, когда, согласно гистологическим исследованиям, «газовая железа» наиболее развита (Men, Lei, 2002) Начиная с пика метаморфоза происходит пролонгированная дегенерация плавательного пузыря и переход наиболее развитых особей к демерсальному образу жизни. В этом возрасте у некоторых наименее развитых личинок плавательный пузырь ещё присутствует. Длительность VII этапа развития личинок рода *Scophthalmus* при оптимальном питании с повышением температуры в пределах оптимального диапазона сокращается: при $18\pm 1^\circ\text{C}$ она составляет 12–14 сут, а при $22\pm 1^\circ\text{C}$ – 10–11 сут.

Этап VIII (S5d). Перемещение правого глаза из центра профиля головы на её левую сторону. На протяжении этого этапа развития происходит дальнейшая и практически полная остификация (кальцификация) элементов скелета (рис. 3.23): костей черепа, позвоночника, парных и непарных плавников, зубов. Усиливается асимметрия элементов скелета: челюстей, парных плавников, а также пигментации верхней и нижней стороны тела. Плавательный пузырь редуцируется, и начало дорсального плавника дорастает до уровня хрусталика верхнего (правого) глаза. Личинки плавают на боку, периодически опускаются на дно. Длительность этапа составляет 10–15 суток при температуре $22\text{--}23^\circ\text{C}$ (Битюкова и др., 1988).

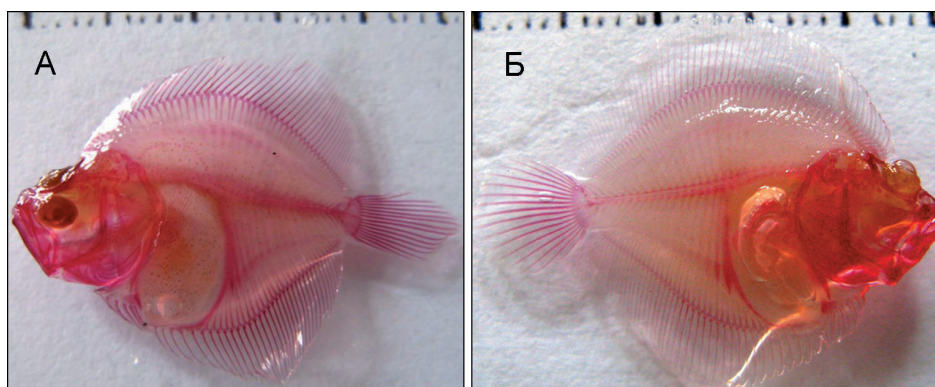


Рис. 3.23. Остификация костных элементов скелета калкана в возрасте 38 сут; TL 25мм, SL 19 мм. Правый глаз сохраняет положение в профиле головы погружен в ткани, виден с обеих сторон тела, ось глаза развернута на 90° . Почти все элементы скелета, кроме скелета хвостового плавника, кальцифицированы (окрашены красным – ализарином). Интергемальный луч ограничивает брюшную полость. **А** – левая (зрячая) сторона тела, видны кальцифицированные нейромасты изогнутой над позвоночником боковой линии. **Б** – правая (слепая) сторона тела

В начале VIII этапа правый (мигрирующий) глаз личинок рода *Scophthalmus* расположен в центре профиля головы, глубоко погруженный в ткани перед спинным плавником. На 33–38 сутки (в зависимости от температуры и питания) длина тела, в среднем, составляет 15–17 мм, а высота – 65–70% от длины.

В течение VIII этапа происходит дальнейшая перестройка костей черепа, мигрирующий правый глаз сохраняет своё положение в центре профиля головы, но его ось разворачивается дополнительно ещё на 90° (рис. 3.23), и при плавании калкана на правом боку правый глаз направлен вверх. В течение метаморфоза и особенно к его завершению происходит окончательное формирование анатомических отделов пищеварительного тракта.

К возрасту 40–45 сут (при SL $20.2 \pm 3,6$ мм) **пищеварительный тракт** калкана (рис. 3.24) состоит из **короткого пищевода** (с большим количеством слизевых клеток на поверхности выстилки), составляющего 8–10%, длинного сифонообразного **желудка** (ж.), достигшего дефинитивного объёма 19% от общей длины, **среднего отдела кишечника** (с.к.) с **двумя пилорическими придатками** (п.пр.) – 50–62%, и **заднего отдела кишечника**, 14–15% от общей длины пищеварительного тракта (Битюкова, 1986). Окончательное формирование двух равных функциональных пилорических придатков, характерной анатомической структуры вида, и объёмного желудка, с функциональными желудочными железами и продукцией пепсина, обеспечивающими полостное пищеварение, более интенсивное усвоение и возможность расщепления белковых соединений, являются последними этапами формирования пищеварительного тракта калкана, и характеризуют окончание личиночного и переход к мальковому периоду.

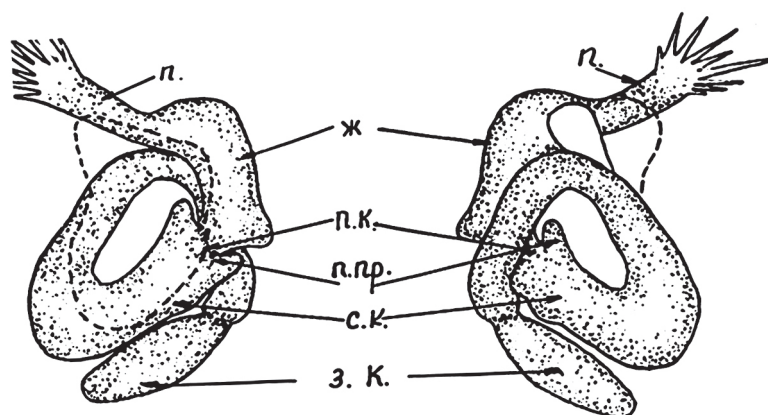


Рис. 3.24. Схема пищеварительного тракта калкана в 45 сут: п. – пищевод; ж – желудок; п.к. – пилорический клапан; п.пр. – пилорические придатки; с.к. – средний отдел кишечника; з.к. – задний отдел кишечника (из Битюкова и др., 1988).

Глоточные и хорошо развитые конические зубы на челюстях (рис. 3.25В) позволяют захватывать и заглатывать большие порции пищи, а анатомические и ферментативные характеристики пищеварительного тракта позволяют её длительно и полноценно переваривать в условиях длительного пребывания в желудке. Таким образом, переход личинок калкана на желудочный тип пищеварения приводит к изменению их экологии питания.

Характеристики пищеварительного тракта приближаются к соотношениям разных разделов тракта взрослого калкана, у которого на пищевод приходится около 10–12% общей длины пищеварительного тракта, 19–22% тракта – на сифонообразный желудок, на кишечник с короткими пилорическими придатками – 52–55%, а расширенный преанальный задний участок задней кишки составляет 10–11% (Попова, 1958).

Снижение подвижности камбал во время метаморфоза также связано с изменениями метаболизма и строения скелетных мышц. В этот период происходит реорганизация личиночной мышечной системы во взрослую: сильно возрастает гликолитическая активность, происходит сдвиг от полностью аэробного метаболизма личинок к смешанному аэробно-анаэробному метаболизму мальков, который отражает сдвиг от полностью аэробных мышц к мышцам взрослого типа – аэробным красным мышцам и анаэробным белым мышцам (Segner et al., 1995). Газовый обмен, который у личинок происходил за счёт всей поверхности тела, у мальков калкана переносится в жабры, в которых заканчивается дифференциация жаберных тычинок, и окончательно устанавливается жаберное дыхание. Личинки часто опускаются на дно, или прикрепляются к вертикальным стенкам бассейнов.

На протяжении **VIII личиночного этапа** (длина нормально развивающихся личинок составляет 2.0–2.2 мм) мигрирующий правый глаз полностью перемещается из центра профиля головы на левую сторону, но все еще расположен у верхнего края (рис. 3.25А). Правая нижняя сторона тела оказывается слепой. Спинной плавник разрастается до уровня правого, мигрировавшего на левую сторону тела, глаза.

К **окончанию VIII личиночного этапа** (началу малькового периода) у калкана мигрировавший правый глаз сдвигается от верхнего края в сторону левого глаза (рис. 3.25Б), полностью редуцируется плавательный пузырь, окончательно становятся асимметричными челюсти, полностью **окостеневают зубы и кости черепа** (рис. 3.25В). Периоды нахождения в покое на дне начинаются с 5–10 минут, постепенно удлиняются, и мальки калкана большую часть времени находятся на дне, периодически поднимаясь к поверхности питаться.

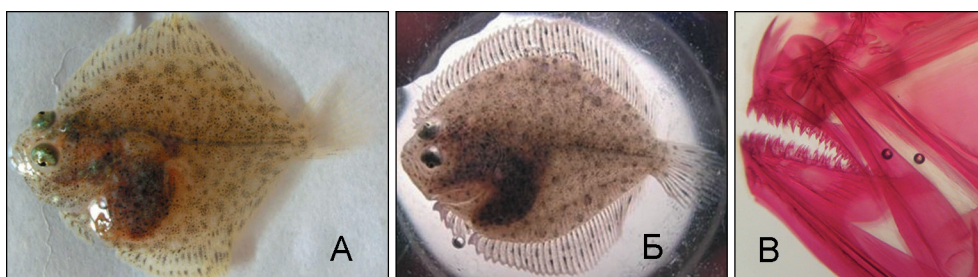


Рис. 3.25. А – калкан, конец VIII этапа (50 сут). Б – метаморфозированный малёк калкана, IX этап, возраст 60 сут. В – полностью окостеневшая после завершения метаморфоза висцеральная часть черепа малька калкана – челюсти с многочисленными коническими зубами (окраска ализарином)

Переход на желудочный тип пищеварения, функционирование желудочных желёз обеспечивают полостное пищеварение, более интенсивное усвоение и возможность расщепления белковых соединений в условиях длительного пребывания пищи в желудке (Битюкова, 1986).

Полное завершение метаморфоза происходит уже в течение малькового периода в возрасте от 70 до 85 сут при вариабельности общей длины $3.5 < TL < 6.5$ см в зависимости от температуры (18–24°C) и вариаций питания в течение предшествующих личиночного и малькового периодов (живых кормов – коловраток, артемий, и/или копепод; разных насыщающих их смесей; от возраста перевода на питание инертными кормами и их состава), и мальки становятся полностью демерсальными.

Внешние признаки полного завершения метаморфоза у рода *Scophthalmus* следующие: 1) заканчивается полная миграция глаз: левый глаз смещается к центру головы, а правый глаз одновременно перемещается от верхнего края к левому глазу; 2) миграция правого и перемещение левого глаза происходит в результате перестройки (перекручивания) костей черепа, 3) в результате которой на левой стороне головы формируется глазница правого глаза из двух костей *frontale*, а у левого глаза глазница отсутствует и её функцию выполняют ткани и подстилающие кости (рис. 3.29Б); 4) дорсальный плавник дорастает до уровня переднего края мигрировавшего правого глаза; расстояние между анальным плавником и задними лучами брюшного плавника сокращается до минимума; 5) происходит обрастание плавниками вентральной части тела (см. рис. 3.26Б).

Тело становится асимметрично дорсовентрально уплощенным. Двусторонняя боковая (латеральная) линия, сформированная нейромастами, приобретает изгибы, соответствующие её взрослым линиям (рис. 3.26А). Характерные для калкана шипы (костяные бляшки) на коже развиваются обычно сначала над грудными плавниками по средней линии (рис. 3.26А).

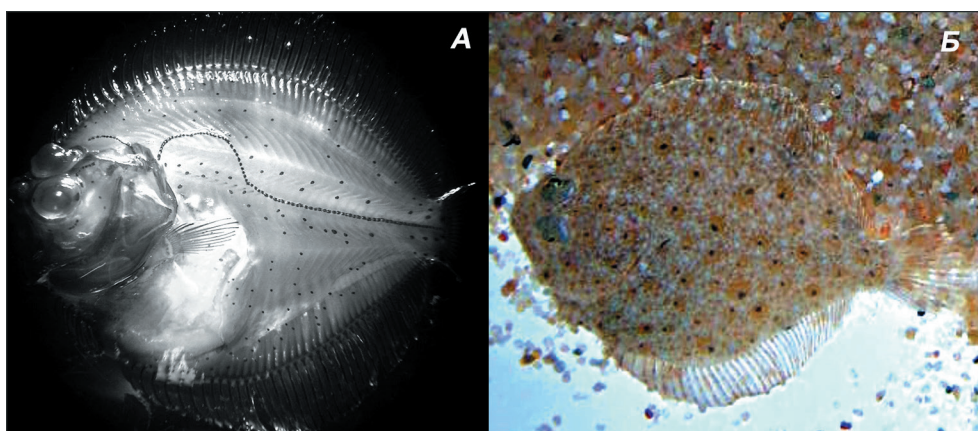


Рис. 3.26. А – малёк калкана с изогнутой боковой линией, сформированной нейромастами и недавно образовавшимися костяными бляшками (шипам) на поверхности дермы. Окраска ализарином, просветление перекисью водорода и трипсином. Б – малёк калкана, возраст 3 мес., полностью камуфлировавшийся под цвет грунта.

В норме слепая, правая сторона тела приобретает молочный оттенок, а зрячая, левая сторона тела полностью пигментирована и приобретает окраску, варьирующую от светло-серой то тёмно-коричневой, которая по истечении времени адаптации может камуфлировать под соответствующий оттенок грунта (рис. 3.26Б). После завершения метаморфоза мальки обладают высокой двигательной активностью, сформированным пищевым поведением и хорошо развитой иммунной системой.

В условиях, близких к экстенсивному типу выращивания, при использовании смешанных кормовых организмов как из природных солоноватоводных водоёмов, так и искусственно выращенных (инфузорий, коловраток, копепод, кладоцер, артемий), в системе УЗВ (с комплексной очисткой воды) и в оптимальном диапазоне температур (18–24°C) калкан к 30 сут может достигать общей длины 20<TL<25 мм при сыром весе (WW) 60–80 мг, к 45 сут – 35<TL<40 мм и 80<WW<150 мг; к 60–65 сут – 35<TL<45 мм, а на 75–80 сут мальки достигали 53 <TL<55 мм при сыром весе 800< WW<1200 мг (Новоселова, Туркулова, 2012; Туркулова и др., 2013).

3.3. Феномен метаморфоза камбалообразных

Метаморфоз камбалообразных – это комплексный биологический феномен функционально-морфологического преобразования **билатерально симметричных структур пелагических личинок** в **дорсо-вентрально асимметричные структуры** (рис. 3.27), присущие сформированным малькам и взрослым рыбам, ведущим **демерсальный** образ жизни. Последовательность и правильность прохождения метаморфоза определяет выживаемость калкана при переходе от фазы пелагической личинки к фазе демерсального малька и характеристики морф, полученных при завершении метаморфоза.

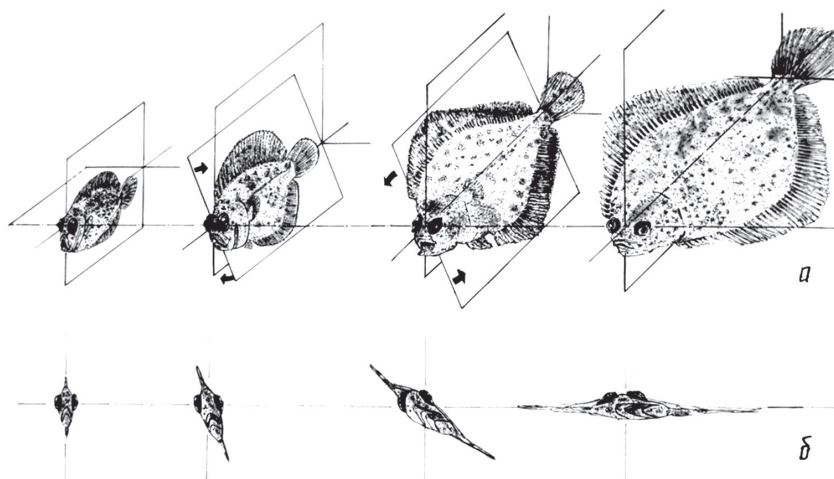


Рис. 3.27. Трансформация билатерально симметричных структур пелагических личинок калкана в дорсо-вентрально асимметричные структуры демерсальных мальков: миграция правого глаза и уплощение тела (а); изменение угла наклона оси тела при плавании в 3-х мерной проекции (б) (из Битюкова, 1986). Рисунок выполнен В.А. Чуприковой

Существенная трансформация практически всех важных систем организма личинок в процессе метаморфоза весьма чувствительна как к внутренним, так и к внешним сигналам и факторам, которые регулируют все изменения в организме до климакса метаморфоза и вплоть до его завершения. В основе внешних морфологических изменений лежат многочисленные взаимосвязанные молекулярные и биохимические процессы, управляемые напрямую или непосредственно эндокринной системой (Power *et al.*, 2008).

Метаморфоз включает в себя основные проявления феномена трансформации разных структур организма, проявляющихся внешне в формировании **асимметричной пигментации** и **миграции правого глаза на левую сторону**, в результате чего у калкана и тюрбо образуются полностью слепая (абокулярная) и зрячая (окулярная), в норме, соответственно, правая (лишённая пигментации) и левая (полностью пигментированная) стороны тела.

Для миграции глаза у личинок рода *Scophthalmus* необходима значительная реорганизация **вестибулярного и окулярного аппаратов**, а также трансформация **нервов**, проходящих через глаза к лабиринтам **отолитов** и к мозгу, которые, помимо других функций, определяют понятие «верха». Оптический нерв (лат. *optic tectum*) мигрирующего глаза начинает извиваться и удлинняться перед началом миграции глаза (~17 сут) и происходят соответствующие перестройки нервов, ведущих к лабиринтам отолитов и мускулам вокруг глаз, а также некоторые изменения в оптической перемычке (рис. 3.28).

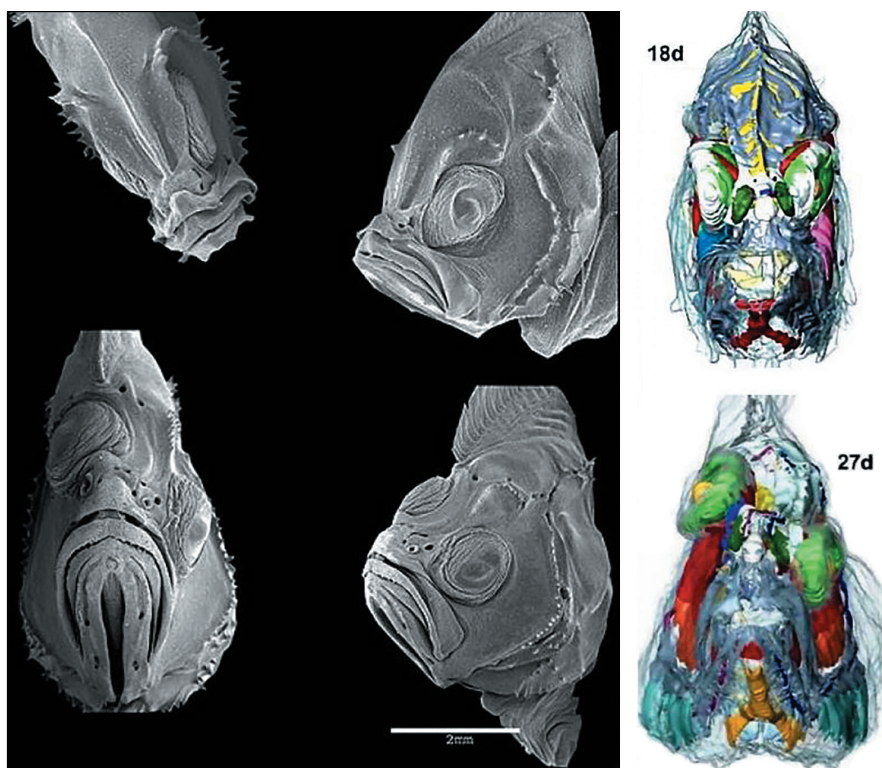


Рис. 3.28. Реконструкция 4D трансформации разных систем головы тюрбо в течение первой половины метаморфоза с 17 по 27 сут (по Grundmann, Неß, 2007).

Полушария конечного мозга (лат. *telencephalon*) развиваются, совпадая по хронологии с другими событиями метаморфоза, приводящими к асимметрии организма личинки.

К пику метаморфоза (~27 сут), соответствующему состоянию трансформации на рис. 3.28 правый *optic tectum* у личинок рода *Scophthalmus* оказывается на 10% длиннее, чем левый, а правая часть *telencephalon* оказывается значительно меньше левой (Griffón et al., 1993). После завершения метаморфоза *telencephalon* так и остаётся асимметричным, а длина оптических нервов выравнивается. Однако, оптический хиазм (скрещивание оптических нервов), отвечающий за передачу зрительных сигналов, не видоизменяется в процессе ремоделирования структур во время метаморфоза рода *Scophthalmus*.

Соответствующая мигрирующему глазу вестибулярная система (отолит и лабиринт) не смещаются, однако, во время изменений, связанных с метаморфозом, происходит существенное увеличение числа нейронов, ведущих от глазного нерва к вестибулярно-нервному комплексу головного мозга, и происходит их реорганизация (Jansen, Enger, 1996). Несмотря на то, что отолиты остаются на обеих сторонах головы, реорганизация нейронов означает, что у рыб изменяется невральное определение физического значения «верх». Органы обоняния у калкана, в отличие от миграции глаз, так же, как и вестибулярный аппарат, не изменяют свое положение, однако в процессе метаморфоза они приобретают значительную морфологическую асимметрию (см. рис. 3.28).

Период миграции глаза занимает более короткий промежуток времени по сравнению с общим периодом метаморфоза и варьирует по длительности в зависимости от комплекса факторов. Процесс метаморфоза в организме личинок начинается с изменений в физиологических и биохимических процессах, наблюдаемых значительно раньше морфологических изменений. Внешним морфологическим изменениям предшествуют и сопровождают их многочисленные внутренние изменения в тканях и органах, которые подготавливают организм к изменению пищевых, метаболических и поведенческих аспектов. При нарушении процесса на одном из этапов метаморфоза личинки могут продолжать расти, но метаморфоз может быть незавершённым или завершённым неправильно по совокупности или по отдельному признаку (рис. 3.32). Происходит это при неравномерном росте и неправильной дифференциации клеток различных тканей личинок на этапах, предшествующих метаморфозу, или в течение метаморфоза.

Считается, что во время метаморфоза последовательно иницируются 1) изменения на уровне нервной системы, за которыми следуют 2) изменения в росте и скелетообразовании (трансформации скелетных элементов), затем происходят 3) изменения в кровеносной системе (становление эритроцитарного кровотока и развитие гемоглобина), и в процессе трансформации скелета (осуществлении поворота тела на 90° вокруг его продольной оси) и 4) миграции глаза, происходит 5) дифференциация хроматофоров взрослого типа, замещающих хроматофоры личиночного типа, на зрячей стороне, и полная редукция хроматофоров на слепой стороне, приводящая к получению

асимметричной окраски. В результате поворота тела и морфологических изменений «верх-низ» происходит замена типа движений от дорсо-вентральных изгибаний тела к латеральным (Алеев, 1956).

Экспериментально доказано, что рост и преобразование невральная, скелетной, мышечной, кровеносной и пигментной систем камбалообразных во время метаморфоза – биохимически раздельно управляемые процессы (Power *et al.*, 2008). Морфологическим изменениям в течение метаморфоза соответствует ряд внутренних изменений в тканях и органах, которые подготавливают развивающийся организм к изменениям в питании, метаболизме, движении и экологии.

Метаморфоз оказывается самым энергетически затратным процессом за весь период роста и поэтому конкурирующим с процессом роста. Соответственно, линейный рост организма в период метаморфоза замедляется. Рост в период метаморфоза происходит преимущественно не за счёт гиперплазии (увеличения количества клеток), а в результате **гипертрофии** (увеличения размеров клеток), который считается более выгодным энергетическим путём увеличения размеров организма (Tong *et al.*, 2010). Поэтому важным критерием выживаемости в течение метаморфоза является **размер** планктонных личинок камбалы **к началу метаморфоза**, так как он определяет запасы энергии и времени, которые им необходимы для завершения метаморфоза и перехода к сформированному малькам с демерсальным образом существования.

Рост, развитие и выживаемость связаны с метаболизмом вида приводит к ускоренным метаболическим процессам, ускоренному росту и, соответственно, к началу и прохождению метаморфоза при больших размерах. Начало метаморфоза у калкана при 16, 18, 21 и 24°C отмечено соответственно на 19, 16, 15 и 14 сут при длине личинок 6,8–7,5 мм. Завершение метаморфоза возможно только в температурном диапазоне 18–24°C, в возрасте от, минимум, 54 сут (при 24°C) до, максимум, 85 сут (при 18°C) (Битюкова и др., 1988). При температурах $\leq 18^\circ\text{C}$ происходит замедление скорости роста, особенно во второй половине метаморфоза, и в некоторых случаях он может не завершаться полностью, что может выражаться, например, в неполной миграции глаза. При температуре 24°C и адекватном питании у большинства личинок метаморфоз завершается в среднем в возрасте 54–65 сут.

Влияние температуры на метаболизм осуществляется через эндокринную систему. Предполагают (Meng *et al.*, 2016), что в регулировании метаморфоза рыб рода *Scophthalmus* значительную роль играют инсулиноподобные факторы роста (ИФР, англ. Insulin-like growth factors, IGFs), 70-аминокислотные пептиды, которые являются важными эндокринными факторами и участвуют в регуляции роста костной ткани. Уровень мРНК ИФР возрастает в начале метаморфоза, достигает максимума в период раннего метаморфоза и постепенно снижается от пика метаморфоза к его завершению.

Несмотря на достаточную изученность происходящих во время метаморфоза камбал ткане-специфических морфологических изменений, до настоящего времени существует относительно мало информации о молекулярно-генетических

механизмах, реагирующих на состояние щитовидной железы и о генетических регуляторах, определяющие развитие личинок во время метаморфоза.

Метаморфоз камбалообразных контролируется тиреоидными гормонами (ТГ) – гормонами щитовидной железы (йодированными производными аминокислоты тирозина): тироксином (T_4) и три-йод-тиронином (T_3) – важными эндокринными регуляторами роста, развития, обмена веществ организма и метаморфоза (Solbakken et al., 1998; Power et al., 2008). Под их контролем происходят рост и развитие, миграция глаза, изменения пигментации и развитие и остификация скелетных элементов, формирование мышечной ткани, а также другие процессы, в том числе дифференциация элементов различных взрослых тканей, заменяющих их личиночные аналоги. Так, в период метаморфоза возрастает кислородная ёмкость крови, обусловленная преобразованием субъединиц гемоглобина и морфологии эритроцитов от личиночной к взрослой форме (от круглых с маленьким ядром к эллиптическим), а также различные морфологические и биохимические изменения в пищеварительном тракте (Estévez et al., 1999).

То, что желудочные железы впервые появляются ещё до пика уровня ТГ, который совпадает с кульминацией метаморфоза, предполагает сложное влияние уровня ТГ на развитие желудочных желез. Известно, что конверсия T_4 в биологически активный T_3 происходит посредством воздействия де-йодиназы. Дейодиназы йодтиронинов катализируют удаление остатка йода с внешнего или внутреннего кольца молекулы прогормона тироксина (T_4), продуцируя либо активную (T_3), либо неактивную (обратный T_3 , oT_3) форму трийодтиронина.

В определённые временные «критические окна» («critical windows») необходимы такие условия, при которых в организме личинок должна происходить правильная и своевременная экспрессия генов, регулируемых концентрацией ТГ и их производных (Marchand et al., 2004). Роль ТГ в метаморфозе рыб неоспорима в связи с тем, что их уровень достигает пика при кульминации метаморфоза: наиболее высокие концентрации ТГ у личинок камбал определяются в период между началом и окончанием миграции глаза, называемым пиком метаморфоза.

Уровень ТГ в свою очередь модифицируется различными факторами (Fosant et al., 2003). Активация тиреоидной (щитовидной) железы регулируется тиреоид-стимулирующим гормоном (англ. Thyroid-Stimulating Hormone, TSH), секретлируемым гипофизом (Gomes et al., 2015). В отличие от метаморфоза амфибий, метаморфоз камбалообразных активируется TRa мРНК, а не TRb мРНК, и ТГ регулирует генетический каскад посредством повышения экспрессии TR (Marchand et al., 2004).

Биохимический состав тела личинок к началу метаморфоза, ещё во время пелагической фазы, в значительной степени определяется биохимическим составом потребляемых ими кормовых планктонных организмов; получаемые из пищи эссенциальные компоненты модифицируют экспрессию генов и, таким

образом, питание безусловно влияет на ход метаморфоза камбалообразных (Hamre et al., 2005). При отсутствии определённых прекурсоров тироксина в пище, или при аномальном развитии мозга, и/или биохимического состава нейральных тканей (Estévez, Kanazawa, 1996; Sargent et al., 1999) запускаются механизмы, затрудняющие прохождение нормального метаморфоза у камбал (Estévez et al., 1999). Так, недостаток или диспропорция эссенциальных компонентов в составе пищи личинок рода *Scophthalmus* на разных стадиях развития до и во время метаморфоза может привести к нарушениям дифференцированной по времени экспрессии разных генов, проявляющихся на разных стадиях развития. Изменение факторов, стимулирующих щитовидную железу к продуцированию тиреоидных гормонов выше или ниже нормы, может приводить к различным нарушениям метаморфоза, его неправильному ходу или незавершённому метаморфозу (Pradet-Balade et al., 1999).

К эссенциальным компонентам пищи, регулирующим процесс метаморфоза у рыб рода *Scophthalmus*, относятся ненасыщенные жирные кислоты, фосфолипиды и витамин А. Проблема заключается в том, что пищеварительная система калкана недоразвита до окончания метаморфоза, и на стадии пелагических личинок практически отсутствует липазная активность и элонгазы, однако, существует потребность в ВНЖК с высокой пропорцией ДГК (см. подробнее в Главе 4). Эссенциальные жирные кислоты и аминокислоты должны входить в состав корма в доступных формах.

Незаменимая жирная кислота ДГК, полученная из пищи, включается исключительно в состав фосфолипидов, особенно, в фосфатидилэтанолхолин и фосфатидилсерин в нервной ткани, в отличие от ЭПК, которая откладывается преимущественно в тканях печени и мышц. Избыток арахидоновой кислоты (АРК) в пище и избыток производных от неё эйкозаноидов, включающихся в ткани мозга, или гипофиза, очевидно, нарушают нейроэндокринный контроль процессов метаморфоза рода *Scophthalmus*. Недостаток полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) или изменение оптимальной пропорции ДГК, ЭПК и АРК в составе фосфолипидов пищи могут вызвать прекращение развития или отклонения от нормы метаморфоза у личинок камбалообразных (Estévez et al., 1999; Bell et al., 2003; Hamre et al., 2005).

Фосфатидилинозитол выполняет разнообразные функции в клетках: помимо его роли как структурного компонента клеточной мембраны, он является вторичным мессенджером, регулирующим поступление кальция в клетку, и мембранным якорем для огромного разнообразия поверхностных протеинов, а также вовлечен в сигнальную систему контролирующую разнообразные процессы в раннем развитии личинок.

Активность T_4 определяется в микросомальных фракциях различных тканей, но его наиболее высокую активность наблюдают в печени, в которой она возрастает с интенсивностью питания, особенно, если пища богата протеинами с соответствующим аминокислотным составом, высоким содержанием тестостерона и гормонов роста. Известно, что T_4 стимулирует абсорбцию жиров в сред-

нем отделе кишечника, пиноцитоз аминокислотных и белковых соединений в заднем отделе кишечника и повышает аккумуляцию гликогена в печени личинок (Tanaka et al., 1995).

Обработка тиреоидным гормоном (синтетическим гормоном L-тироксидом) личинок черноморского калкана на определённых этапах развития приводила к снижению гетерогенности роста личинок из однородной группы и нормализации их развития во время метаморфоза (Березовская, Булли, 2016). Влияние ТГ изменялось в зависимости от их дозы, возраста личинок (фазы метаморфоза) и вида кормовых организмов (поступающих с пищей эссенциальных компонентов). После обработки небольшими дозами ТГ у личинок калкана в любом возрасте наблюдали повышение пищевой активности.

При дозе L-тироксина 2 мкг/л, введённом 12 и 17 сут личинкам калкана, происходило ускорение их роста в длину и ширину и ускоренная миграция глаза на вершину головы, а увеличение дозы вдвое приводило к ещё более ускоренной миграции глаза и даже раннему оседанию личинок при размерах менее 2 см. Тем не менее, состав пищи личинок значительно модифицировал воздействие ТГ на процессы метаморфоза. Так, при воздействии одинаковой дозы гормонов в возрасте 22 сут у личинок калкана при питании коловратками высота их тела составляла 58–60%, а правый глаз ещё не успевал мигрировать до середины головы, а при питании копеподами высота тела составляла 67–70% его длины и правый глаз уже находился на середине головы (Березовская, Булли, 2016).

Питание личинок, начиная с ранней фазы метаморфоза, влияет на фенотип пигментации, получаемый в процессе метаморфоза, так же, как и на скорость минерализации и формирование нормы или аномалий (разнообразных дефектов) костного скелета. Рост костной ткани и замена её на новую происходят в результате разнонаправленного взаимодействия клеток двух типов: остеобластов, секретирующих коллагено-протеогликановый комплекс, который связывает соли кальция, и, таким образом, строит костную ткань, и остеокластов, которые растворяют органический и неорганический матрикс костной ткани.

Основными внутренними факторами, контролирующими равновесие между популяциями этих двух клеток, являются содержание тиреоидных гормонов и витаминов А и Д (Leitch et al., 2020), и особенно на рост популяций остеобластов и остеокластов значительно влияет содержание витаминов А и ТГ в теле личинок во время критического периода до и в начале метаморфоза (Sæle et al., 2003). Питание копеподами по сравнению с питанием коловратками, очевидно, усиливает эффективность воздействия ТГ на организм личинок калкана в начале метаморфоза (Березовская, Булли, 2016). Питание личинок (на примере палтуса) копеподами (в отличие от артемий), в состав которых входят все необходимые для роста и стимуляции активности тиреоидных гормонов компоненты (необходимое соотношение эссенциальных жирных кислот, входящих в состав преимущественно фосфолипидов, высокое содержание свободных аминокислот и пр.) способствует возрастанию уровня ТГ и их ак-

тивности в теле личинок, ускоряет прохождение правильного метаморфоза и увеличивает степень и скорость остификации (Sæle et al., 2003). Питающиеся копеподами личинки на любом этапе развития имеют более высокую степень кальцифицирования скелета, а асимметрия краниума и миграция глаза у них начинаются и проходят значительно быстрее и успешнее, чем у личинок, питающихся коловратками и артемиями, даже при их насыщении специализированными смесями Super Selco.

Эффект питания копеподами однозначно связан с их влиянием на уровень тиреоидных гормонов, которые в свою очередь влияют на функции остеобластов и остеокластов, от которых зависит развитие и функционирование костной ткани. По-видимому, «критическим временным окном», в течении которого личинки калкана особенно нуждаются в специфическом питании, которое приводит в дальнейшем к правильному завершению метаморфоза, является время начала остификации костей первой висцеральной дуги черепа *maxillare*, *premaxillare* и *dentale* ещё у абсолютно симметричных личинок калкана

Различия в росте, формировании скелета и ход миграции глаза личинок зависят от комплексного воздействия температуры и пищи. При температуре 18°C и при питании копеподами первые признаки кальцификации скелета (элементов челюстного аппарата кости *dentale*, *maxillare*, *premaxillare*), важных для захвата пищи, у калкана обнаруживаются в 11 сут (SL 4.5 мм); в возрасте 14 сут (SL 5.9–6.0 мм) кальцифицированы полностью или частично *articulare*, *angulare*, *operculum*, *ceratohyale*, *quadratum*, *parasphenoideum*, *cleithrum*, и у наиболее развитых особей отмечается начало минерализации элементов позвоночника; к 16 сут (SL 6.5 мм) при питании копеподами минерализуются уже значительная часть костей нейрокраниума, включая *vomer*, *frontale*, *exoccipitale*, *pteroiticum*, *entoptyergoideum*, в висцерокраниуме *palatinum*, *angulare*, в подвесочном аппарате *hyomandibulare*, *symplecticum*, в значительной степени минерализованы *operculum*, *radii branchiostegii*, *ceratobranchialia*, а также значительная часть *arcus haemalis* и *arcus neuralis* в позвоночном столбе (см. рис. 3.14Б), а к 35–38 сут (17.9 <TL< 25 мм; 15 <SL<19 мм) уже остифицированы практически все элементы скелета, за исключением некоторых элементов скелета хвостового плавника (см. рис. 3.23).

При кормлении коловратками и артемиями и температуре 18–21°C у личинок тюрбо в 18 (Wagemans et al., 1998) – 19 сут (Lv et al., 2019) при достижении длины 8.3 < TL < 9.3 мм остификация костей челюстного аппарата только начинается одновременно с началом остификации невральных и гемальных дуг; и у личинок калкана при питании коловратками и артемиями остификация гемальных и невральных дуг начинается только в 20 сут при SL 8.9 мм (Kohno et al., 2001).

Процесс миграции глаза у билатерально симметричной личинки начинается с асимметричного роста дорсо-медиальных частей этmoidной пластины (Wagemans et al., 1998) (структур исходно находившихся в симметричном положении между глазами) совместно с фронтальными костями (рис. 3.29).

Продвижение мигрирующего глаза происходит в результате роста плотной популяции фибробластов вентрально по отношению к мигрирующему глазу, очевидно являющейся силой, подталкивающей его в дорсальном направлении. Плотный клеточный слой остеобластов формирует дермальную часть кости *ethmoideum laterale*, и, в дальнейшем, после полной миграции глаза, они заполняют освобождённое мигрировавшим глазом пространство (Sæle *et al.*, 2006). При нормально проходящей миграции глаза кость *frontale* начинает выгибаться в направлении будущей окулярной стороны и вскоре приобретает форму, изогнутую вперёд (Wagemans *et al.*, 1998). Факторы, вовлечённые в завершение правильного метаморфоза и миграции глаза у камбалообразных влияют на сигналы, вызывающие как остификацию костей этmoidной группы, так и remodelирование уже минерализованных фронтальных костей (Sæle *et al.*, 2006).

На протяжении VII и VIII этапов позднего личиночного развития калкана в процессе метаморфоза происходят сложные перестройки в орбитальной части черепа. В результате асимметричного роста и трансформации костей головы происходит дальнейшее перемещение правого глаза. Хрящевая дуга правой *taenia marginalis* частично резорбируется, подготавливая место для мигрирующего правого глаза и поддерживающих его структур (Wagemans *et al.*, 1998). Особенно очевидна неравномерная трансформация фронтальных костей черепа, которая приводит к формированию характерной для взрослых особей калкана асимметричной костной системы (Yelnikov, Khanaychenko, 2013).

При норме миграции правого глаза удлинённые сросшиеся параэтмоиды изгибаются назад, а фронтальные кости ремоделируются под мигрирующий глаз и, вложенные одна в другую, формируют его орбиту (рис. 3.29А). У метаморфизированных особей разросшаяся правая *praefrontale* (предфронтальная кость), соединяясь с правой *frontale* образует верхнюю границу новой глазницы правого глаза. Серповидный отросток правой лобной кости вместе с *mesethmoideum* и правой *ectoethmoideum* образуют заднюю границу глазницы правого глаза. Многослойный большой широкий серповидный отросток в нижней части левой лобной кости (*frontale*) соединяется впереди левой боковой обонятельной костью (*ectoethmoideum*) и разделяет орбиты левого и правого глаза. Левый глаз после завершения метаморфоза не ограничен собственной костной глазницей; он расположен непосредственно на челюстных мышцах за пределами осевого черепа, а дно глазницы левого глаза образует переплетение костей висцерального скелета (рис. 3.29Б) (Yelnikov, Khanaychenko, 2013).

Обе лобные кости (*frontalia*) деформируются в сторону окулярной (левой) стороны, и правый латеральный этмоид (*ethmoideum laterale*) изгибается для формирования вентро-назального квадрата орбиты глаза. Правая *frontale* претерпевает значительное смещение и скручивание вдоль своей продольной оси. Она оказывается более глубокой по сравнению с левой и более вытянутой в продольном направлении, а её серповидный отросток более длинным, тонким и плоским, по сравнению таковым левой *frontale* (рис. 3.29Б).

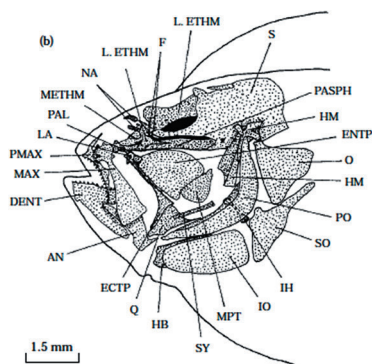


Рис. 3.29. А – Схема строения остеокраниума тюрбо в возрасте 57 сут. (из Wagemans *et al.*, 1998). Условные обозначения костей: AN - *angulare*, DENT – *dentale*, MAX – *maxilare*, PMAX - *premaxilare*, O – *operculum*, PO – *preaeoperculum*, F – *frontale, parietale, pterotocum, basioccipitale*, PASHI *parasphenoideum*, HM – *hyomandibularae*, Q – *quadratum* ECTP – *ectopterygoideum*; ENTP *entopterygoideum*, H.B. – *hyoid bar*, IH – *interhyale*; IO – *interoperculum*; LA – *lacrymale* L. ETHM – *ethmoideum laterale*, METHM - *mesethmoideum*; MPT – *metapterygoideum*; NA – *nasale*; O – *operculum*, SO – *suboperculum*. SY – *symplecticum*; UH – *urohyale*, PAL – *palatinum*). Б – асимметричные левая и правая лобные кости (*frontalia*) взрослого калкана.

На определённых этапах развития существуют лишь небольшие временные «окна», в течение которых можно изменить условия для завершения трансформации разных систем, и в эти периоды личинки, имеющие нарушения развития, несовместимые с жизнью, элиминируются. Однако, в случае, если личинки имеют аномалии развития, совместимые с жизнью на данном и последующих этапах развития, они выживают, но отклонения некоторых морфологических признаков необратимо закрепляются во взрослом состоянии (рис. 3.32).

Морфологические аномалии пигментации калкана. Наиболее часто встречающиеся аномалии у рода *Scophthalmus* формируются преимущественно в период от раннего до позднего метаморфоза. Они включают формирование неправильной пигментации, нарушения миграции глаза, аномальные кости головного отдела и позвоночника. Происхождение этих аномалий, наиболее часто встречающихся при выращивании в питомниках, относят к взаимодействию разнообразных факторов, особенно таких, как нарушение обмена при неправильном питании (особенно, отсутствии или неправильном соотношении эссенциальных ВНЖК), неправильной освещенности, плотности искусственных популяций (Shelburne, 1974; Seikai, 1985; Estevez *et al.*, 1999; Bolker, Hill, 2000).

Эволюцию изменения в пигментации (реструктурирование хроматофорного комплекса) калкана можно наблюдать в процессе его развития от пелагической личинки к демерсальному мальку при температуре 18°C (Ханайченко, Битюкова, 2007). Хотя на стадии пелагической личинки ещё невозможно понять, правильно ли будет пигментирован калкан после прохождения метаморфа, однако, уже в 18 сут можно увидеть различия в формировании хроматофорного комплекса и отдельных типов хроматофоров на микроскопическом уровне в группах личинок, питающихся морскими копеподами (рис. 3.30а, с) или коловратками и артемиями (рис. 3.30b и 3.30d).

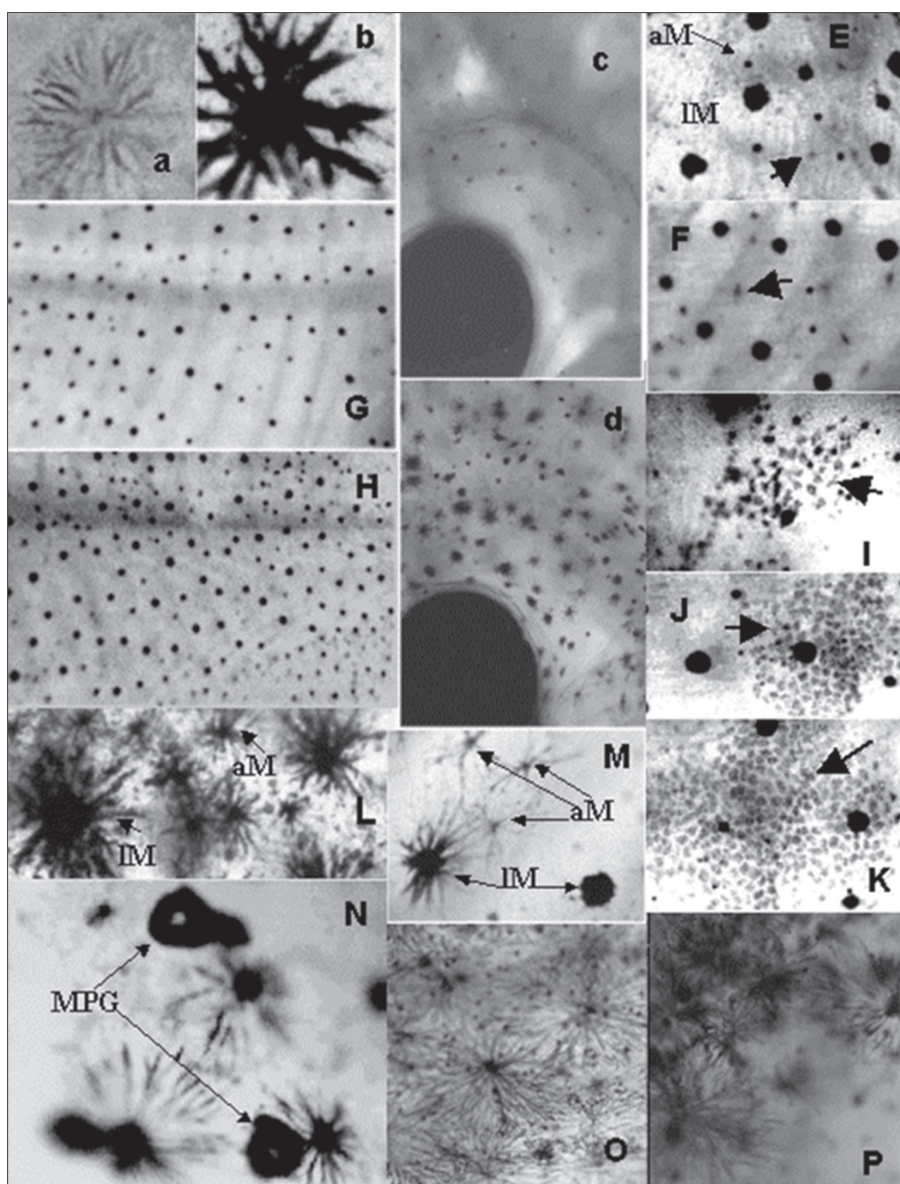


Рис. 3.30. Поверхностная дерма калкана: различия, вызываемые питанием, в строении (a) и (b) и распределении меланофоров в области глаз – (c) и (d) – BZ1 – на 18 сут при питании копеподами (a) и (c) и коловратками (b) и (d). Группирование гуанофоров на левой стороне туловища: (E) – на 20 сут; (F) – 23 сут; (I) – 24 сут; (J) – 26 сут; (K) – 32 сут. Различия в распределении меланофоров на туловищных миомерах на 26 сут: (G) – правой и (H) левой стороны. Личиночные (крупноклеточные) и взрослые (мелкоклеточные) меланофоры на 47 сут – (L) – в состоянии сильного возбуждения; (M) – в состоянии слабого возбуждения. 47 сут – (N) – меланофаги. Меланофоры в состоянии дисперсии у калкана в возрасте 60 сут: (O) – у группы MZ2, (P) – BZ2. Условные обозначения: IM – личиночный меланофор; aM – взрослый меланофор; MPG – меланофаг; черная короткая стрелка – гуанофоры (Объяснения в тексте). (из Ханайченко, Битюкова, 2007)

Однако, развитие пигментного комплекса калкана от начала экзогенного питания до 60 сут характеризуется некоторыми закономерностями, независимыми от состава корма личинок.

На ранних стадиях метаморфоза, в возрасте от 20 до 30 сут, начинается асимметричное развитие хроматофоров в дерме левой и правой сторон тела. Начиная с 20 сут у личинок обнаруживаются первые отдельные рассеянные клетки гуанофоров (ГФР) обеих групп (рис. 3.30Е, 3.30F), сначала вдоль хвостовой части хорды, а затем в области туловища и головы обеих сторон. Одновременно на левой, будущей зрячей стороне, появляются мелкоклеточные меланофоры (МФР) взрослого типа. Группирование ГФРов в определённых участках дермы левой стороны туловища происходит, начиная с 23–24 сут (рис. 3.30F–I), плотные скопления ГФРов впервые отмечены в возрасте 26–32 сут (рис. 3.30J, K). В процессе миграции глаза у личинки калкана (в 26 сут) при норме развития уже можно увидеть различия на микроскопическом уровне в распределении МФРов на туловищных миомерах правой (будущей слепой) (рис. 3.31.G) и левой (будущей зрячей) (рис. 3.31H). К 47 сут количество личиночных (крупных) МФРов на левой стороне тела, часто встречаются чёрные крупные клетки неправильной расплывчатой формы, у которых отсутствуют как центросома, так и разветвления, меланофаги (рис. 3.30N, MPG). Скорость распространения возбуждения (движения меланиновых зёрен) по дендритам взрослых МФРов (рис. 3.30M, aM) происходит быстрее по сравнению с личиночными (рис. 3.30M).

На правой стороне тела расположены только крупноклеточные контрактированные МФР и небольшое количество липофоров (ЛФР), появляются также редкие отдельные гуанофоры. На левой стороне, помимо крупных МФР и ЛФР, происходит дифференциация большого количества мелких МФР (взрослого типа), плотность которых в поверхностной дерме возрастает по мере роста личинок. Одновременно в дерме левой стороны тела дифференцируются рассеянные ГФР, количество которых и степень агрегированности возрастают от 20 до 36–40 сут; они образуют круглые или овальные скопления, чередующиеся с группировками МФР. В промежуточном слое поверхностной дермы находятся равномерно распределённые ЛФР, которые формируют оттенок поверхностной дермы.

С возрастанием плотности мелкоклеточных МФР на левой стороне, крупноклеточные МФР отмирают, а их остатки утилизируются меланофагами.

В ходе метаморфоза на правой стороне редкие остаточные крупные МФР теряют способность к дисперсии, по-видимому, в результате разрушения структуры микротрубочек, а мелкоклеточные МФР (взрослого типа) не дифференцируются. Визуально создаётся эффект полного отсутствия МФР на слепой стороне тела. Правильное распространение мелкоклеточных МФР по всей поверхностной дерме левой стороны тела определяет правильную левостороннюю пигментацию камбалы.

В двухмесячном возрасте в дерме личинок, питавшимися копеподами (рис. 3.31А) на фоне МФРов распределены чётко сформированные скопления ГФР (0.7–0.9 мм в диаметре), в которых гуаниновые зерна сконцентрированы, четкой формы и яркого голубого оттенка на светлом фоне (рис. 3.31Б). У личинок при питании коловратками и артемиями в том же возрасте (рис. 3.31В) МФРы не только заполняют пространство между ГФРами, но и заходят в область ГФР, состоящих из аморфных зёрен гуанина, имеющих фиолетово-кирпичный оттенок (рис. 3.31Г).

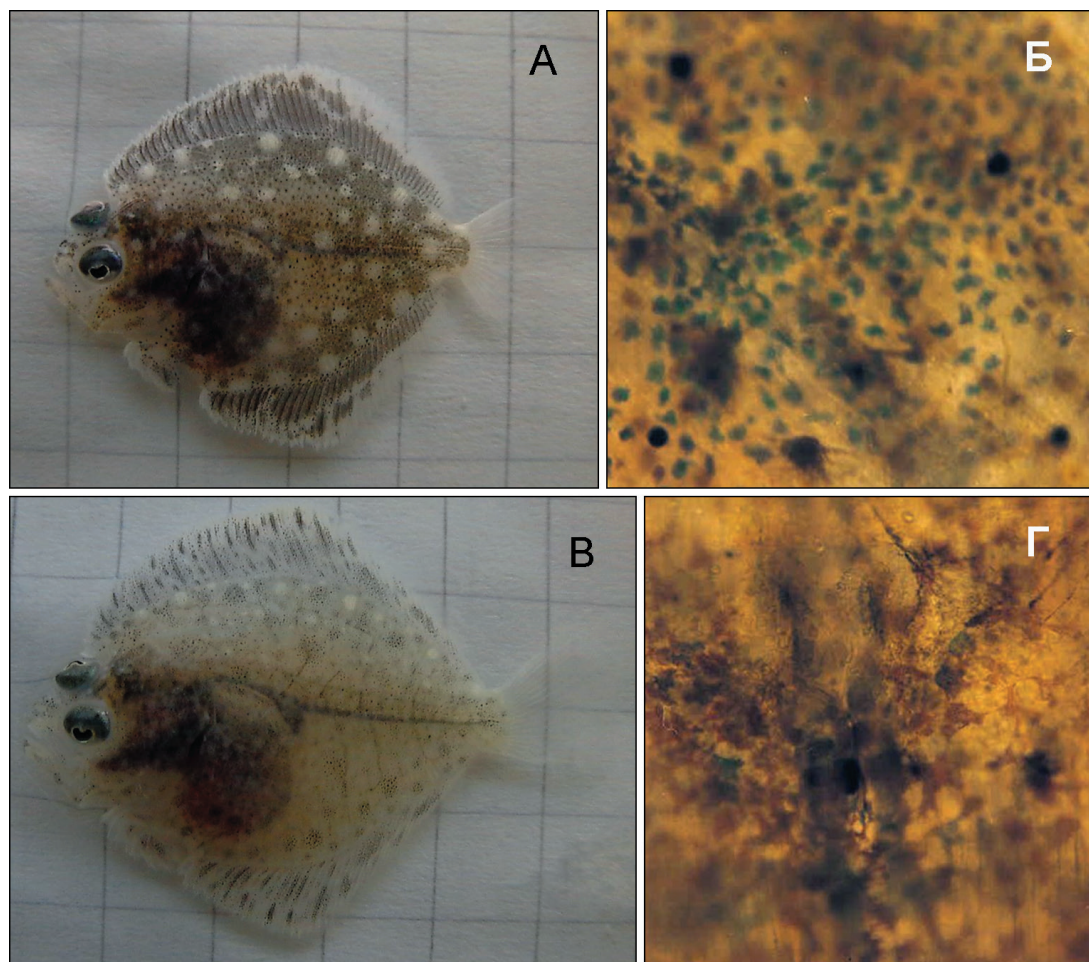


Рис. 3.31. А – пигментация 58-суточных личинок калкана при питании копеподами (SL 19 мм) и коловратками и артемиями (SL 20 мм) и строение гуанофоров (Б и Г) у личинок (А и В), соответственно

При нарушении развития во время метаморфоза у мальков калкана развиваются различные аномалии, например, формируется двусторонняя пигментация (гипермеланизм) (рис. 3.32.1 и 3.32.2). Чаще всего такие нарушения пигментации сопровождаются и нарушением миграции глаза, которая может

затормозиться на разных этапах, например, когда кость *praefrontale* не развивается, а аномальные параэтмоиды развиваются симметрично в виде двух изгибающихся вперёд пластин и глаз останавливается, едва достигнув вершины головы (рис. 3.32.3).

Если правый глаз мигрирует до вершины головы и оказывается в углублении, погружённым в ткани перед спинным плавником, в центре профиля головы, а его зрительная ось успевает развернуться влево на 90° . В других случаях миграция правого глаза проходит до края левой стороны тела, и он разворачивается на 90° до остановки миграции, при этом развивается только частичная пигментация правой (слепой) стороны, но кости черепа развиваются неправильно, и образовавшийся промежуток не зарастает (рис. 3.32.4). Альтернативной аномалией гипермеланизма является гипомеланизм, или так называемый «псевдоальбинизм», когда при достаточно быстром росте и нормальной миграции глаза пигментация не развивается не только на правой (слепой), но и на левой (зрячей) стороне частично (рис. 3.32.5), или полностью (рис. 3.32.6). Гипомеланизация вызывается отсутствием дифференциации взрослых типов меланофоров и может проявляться в виде частичной или полной депигментации «зрячей» стороны тела.

В наиболее ранней классификации аномалий пигментации камбалообразных, встречающихся в природных условиях, Норман (Norman, 1934) называет “spotting” (частичную или точечную окраску) и “true ambicoloration” (полную пигментацию), являющихся внешними проявлениями необратимого процесса дифференциации меланофоров на определенных участках слепой стороны тела, а Кольман (Colman, 1971) называет отсутствие пигментации на зрячей стороне камбалообразных «pseudoalbinism», или «hypomelanism».

При культивировании тюрбо в коммерческих питомниках также часто встречаются мальки с разнообразными аномалиями, например, с аномалиями миграции глаза, когда правый глаз останавливается в процессе миграции ещё на правой стороне тела (рис. 32.9–32.10).

Мальки, приобретающие необратимые аномалии пигментации и миграции глаза после окончания метаморфоза, могут выживать при условии достаточного питания как в искусственных условиях, так и (реже) в море. Например, гипермеланизированные взрослые особи (рис. 3.32.7) были найдены в нерестовых стадах Севастопольского района (Ханайченко и др., 2008), а гипомеланизированные взрослые особи калкана (рис. 3.32.8) были обнаружены в Одесском заливе (Ханайченко и Ковтун, 2009). По-видимому, цвет грунта (тёмный скально-илистый) на больших глубинах в Севастопольском регионе позволяет выживать до взрослого состояния гипермеланизированным малькам и молодежи калкана, а светлые песчаные грунты небольших глубин западного шельфа Чёрного моря обуславливают выживание гипомеланизированного калкана.

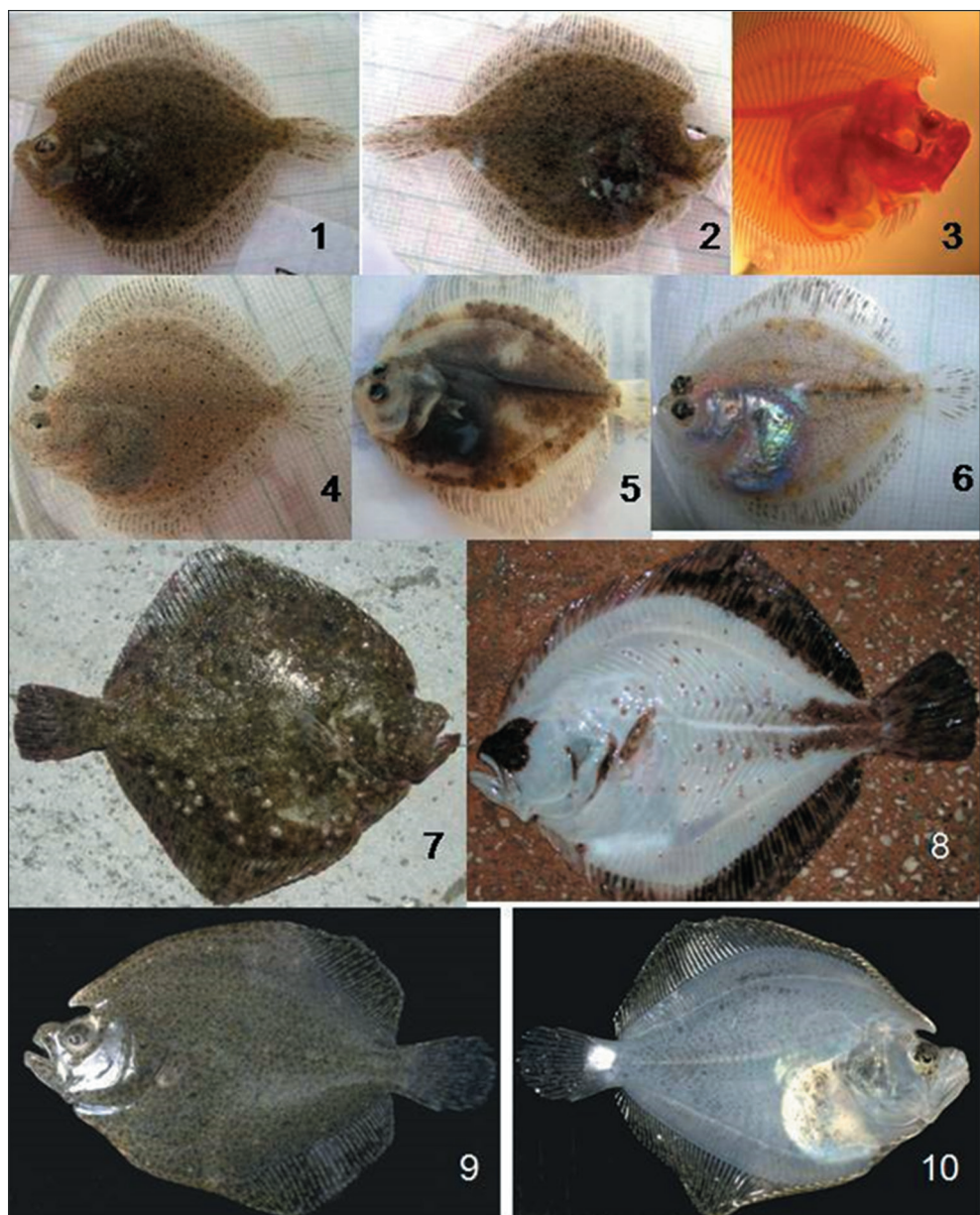


Рис. 3.32. Аномальные мальки калкана в возрасте ~ 3 мес. **1** – двусторонняя гипермеланизация и нарушение миграции глаза – правый глаз зафиксирован в профиле головы, левая сторона; **2** – то же, правая сторона; **3** – то же, окраска ализарином; **4** – неполная миграция глаза (правый глаз у края левой стороны); **5** – частичная (пятнами) гипомеланизация левой стороны; **6** – полная гипомеланизация с левой стороны; **7** – слепая (правая) сторона двусторонне пигментированного взрослого калкана из Севастопольского региона TL 34 см; **8** – зрячая (левая) сторона гипомеланизированного («псевдоальбинизм») калкана TL 35 см из Одесского залива (из Ханайченко, Ковтун, 2009); **9** – аномальный малёк тюрбо из испанского коммерческого питомника (левая сторона тела, виден только левый глаз, спинной плавник не зарос); **10** – правая сторона тела аномального тюрбо с остановившейся миграцией правого глаза

3.4. Рост личинок и мальков

Исследования пластического обмена рыб рода *Scophthalmus* показывают высокую скорость роста на ранних стадиях пелагических личинок. В период от выклева до перехода на внешнее питание эндогенные запасы интенсивно расходуются на рост, развитие и метаболизм активно развивающихся личинок, и поэтому при их быстром линейном росте, их вес падает с удельной скоростью 0.12 сут^{-1} . Удельная скорость роста сухой массы тюрбо (рассчитанной углеводов, белка, липидов) по содержанию (SGR, сут^{-1}), рассчитанная по формуле: $\frac{W_2 - W_1}{T} \cdot \frac{1}{W_1}$, где W_1 – сухая масса (содержание углеводов, белка, липидов) перед началом экзогенного питания, мкг; W_2 – сухая масса, мкг, в момент времени T (сут) (до возраста 13 сут) при выращивании по интенсивной технологии (питании последовательно коловратками и науплиями артемий) при температуре 18°C составила 0.22 сут^{-1} в «зелёной» воде (присутствие микроводорослей) и 0.16 сут^{-1} в отсутствии микроводорослей, составив, соответственно, 349.0 и 191.5 мкг в возрасте 13 сут (Ханайченко и др., 2000).

Аналогичные скорости весового роста демонстрируют и личинки калкана. В среднем, с 3 по 14 сутки при последовательной смене питания коловратками, а затем артемиями при температуре 18°C , она составляет $0.21 \pm 0.01 \text{ сут}^{-1}$, а при 20°C повышается до $0.24 \pm 0.01 \text{ сут}^{-1}$. При добавлении к питанию, помимо коловраток и артемий, науплиев и копеподитов копепод с 10 сут, удельная скорость весового роста при 20°C за тот же период достигает $0.27 \pm 0.01 \text{ сут}^{-1}$. С начала метаморфоза с ~ 15 сут по $\sim 45\text{--}50$ сут скорость линейного роста личинок в результате сложных энергозатратных морфо-образовательных процессов, в том числе трансформации опорно-двигательного скелета, замедляется, составляя в среднем за этот период 0.12 сут^{-1} . Абсолютные приросты длины калкана в период питания коловратками в среднем составляли 0.17 мм сут^{-1} , а при переходе на науплии артемий соответствовали $0.38\text{--}0.58 \text{ мм сут}^{-1}$.

В целом, для пластического обмена личинок на ранних личиночных стадиях после успешного перехода на экзогенное питание в интенсивной системе выращивания в условиях оптимальных температур ($19 \pm 1^\circ\text{C}$) характерна высокая скорость весового роста. При питании коловратками (до 10 сут) абсолютные приросты сырого веса составляли 0.15 мг сут^{-1} , при питании артемиями (10–14 сут) они увеличивались до 0.56 мг сут^{-1} к концу IV этапа. С началом метаморфоза скорость весового роста снижается до 20%, а в течение пика метаморфоза (35–45 сут) может снизиться до 5%. Характерно снижение скорости линейного и весового роста в возрасте 14–17 суток в период подготовки к метаморфозу. Снижение среднесуточной скорости линейного роста, начиная от 14 сут с 6 до 3%, связано с большими энергетическими тратами в течение сложных процессов подготовки к метаморфозу и перестроением многих систем организма (Битюкова и др., 1988).

Влияние температуры на рост и развитие личинок калкана. Температура оказывает как прямое, так и опосредованное влияние не только на скорость роста, но и развития, и даже её незначительные вариации могут влиять на последовательность развития определённых морфологических структур у личинок. Последовательность развития определённых тканей и органов в течение личиночных стадий развития может существенно изменяться в зависимости от температуры и происходить при разной длине личинок. Так, у личинок тюрбо, выращенных при 12°C, функциональные структуры появляются в следующем порядке: плавательный пузырь (15 сут) > петля в кишечнике, совпадает по времени с полной резорбцией желтка (19 сут) > появление хвостового плавника (23 сут) (Gibson, Johnston, 1995). При 16°C петля в кишечнике образуется практически одновременно с образованием хвостового плавника (13 сут), а желток резорбируется одновременно с наполнением плавательного пузыря (9 сут). При этом, личинки, выросшие при 12°C оказываются значительно длиннее, чем выросшие при 16°C к моменту образования одинаковых морфологических структур. Так, плавательный пузырь у личинок развивается при 16°C при длине (TL) 3.12 ± 0.03 мм, а при 12°C – при $TL 3.44 \pm 0.28$ мм. Однако, каудальный плавник начинает формироваться у личинок, независимо от температуры в диапазоне 12–16°C, при достижении одной и той же длины TL 4.1 мм.

Начальный рост внутренней мышечной ткани личинок рода *Scophthalmus maximus* обусловлен преимущественно **гипертрофией**. Во время метаморфоза происходит уплотнение слоя поверхностного мышечного слоя (будущих красных мышц) и появляются тонические мышечные тяжи/волокна. В дальнейшем с 11 сут при 16°C и гораздо позднее, с 26 сут при 12°C преобладает **гиперпластический рост** мышц, и количество мышечных волокон оказывается практически в 3 раза выше при более высокой температуре.

Температурный режим в период метаморфоза влияет не только на скорость роста и развития личинок и на длительность завершения метаморфоза, но также и на **количество тонических мышц**. Небольшое различие температурного режима, при котором происходит развитие, оказывается достаточным, чтобы значительно повлиять на дифференциацию и распределение мышечных волокон и энергетических запасов у личинок рода *Scophthalmus*.

Личинки *Scophthalmus maximus*, полученные из однородной группы, разделенные на две группы при переходе к метаморфозу, которые акклиматизировали и вырастили при 17 и 22°C, завершали метаморфоз в течение разного периода времени, но при сходных длине и массе. Однако, количество тонических (63 vs 43%) в миотоме и площадь поверхностных красных волокон (10.7% vs 7.8%), а также содержание гликогена оказалось значимо выше у метаморфозированных личинок, акклиматизированных к более низкой температуре – 17°C, по сравнению с личинками, акклиматизированными к более высокой температуре – 22°C (Calvo, Johnston, 1992).

Для VII этапа метаморфоза, связанного со значительными изменениями метаболизма и перестройками скелета, особенно важен оптимальный температурный режим. Температура 16°C оказывается сублетальной для завершения метаморфоза, и личинки, достигнув 40–60 сут, не переходят на следующий этап (Битюкова и др., 1988). При температуре 17°C и выше развитие личинок происходит до последнего этапа метаморфоза, хотя со значительным замедлением процессов, при температуре 18°C развитие личинок происходит замедленно, но более синхронно, и он продолжается 12–14 сут. В интервале температур 20–24°C последний этап метаморфоза завершается за 10–11 сут. Таким образом, нахождение правильного метаморфоза и его скорость влияет температура в течение самого метаморфоза, и наблюдается положительная корреляция между температурой и скоростью метаморфоза в диапазоне 17–24°C (Битюкова, 1986).

Даже незначительные различия в температурном режиме на коротком этапе, в период раннего развития калкана, от завершения эмбриогенеза до окончания эндогенного питания, могут оказать значительное влияние на последующий рост личинок. Для оценки влияния разных температурных режимов в период позднего эмбриогенеза – начала личиночного развития на последующий рост калкана в процессе метаморфоза был проведен эксперимент с личинками из одной партии, разделёнными на две группы, у которых температурный режим различался в течение периода от выклева до начала экзогенного питания (табл. 3.1), в дальнейшем температура была одинакова для обеих групп – $17.5 \pm 0.5^\circ\text{C}$ с 8 по 22 сут, и повышена для более быстрого и правильного прохождения метаморфоза, особенно миграции глаза до $20 \pm 1^\circ\text{C}$ в период с 23 сут.

Таблица 3.1. Температура воды в разные периоды развития икры и личинок в двух группах из однородной партии личинок (от одной пары производителей).

Параметры экспериментальных групп	Период эмбрионального развития		Период личиночного развития до завершения метаморфоза		
	1–4	5	1–7	8–22	23–60
Сутки развития	1–4	5	1–7	8–22	23–60
t°C во 1-ой группе	15	17	17	17.5 ± 0.5	20 ± 1
t°C во 2-ой группе	15	15	15	17.5 ± 0.5	20 ± 1

Повышение температуры воды с 15 до 17°C на последнем этапе эмбрионального развития до конца смешанного питания вызывает значительное ускорение роста на протяжении первых двух недель жизни личинок 1-ой группы (17°C) по сравнению с личинками 2-ой группы (15°C). Однако несмотря на то, что, начиная с полностью экзогенного питания (8 сут) личинок обеих групп содержали при одинаковых температуре и питании, у личинок 2-ой группы (15°C) после пика метаморфоза происходит ускоренный (компенсаторный) рост по сравнению с личинками 1-ой группы (17°C) (рис. 3.33).

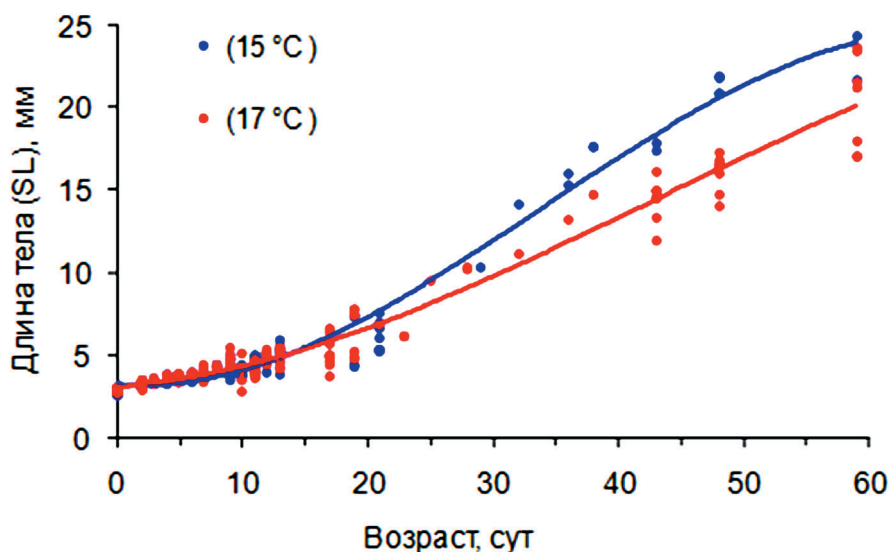


Рис. 3.33. Рост личинок калкана из двух групп, различавшихся по температурному режиму (табл. 3.1) на ранних этапах онтогенеза (красная линия – личинки 1-ой группы (17°C до 8 сут); синяя линия – личинки 1-ой группы (15°C до 8 сут).

При одинаковом кормлении и одинаковом температурном режиме (с 8 по 22 сут $17.5 \pm 0.5^\circ\text{C}$; 23–60 сут $20 \pm 1^\circ\text{C}$) в возрасте 35–50 сут (от начала VII до окончания VIII этапа развития) общая длина личинок 2-ой группы оказывается на 17–30% больше, чем у личинок 1-ой группы (рис. 3.33, 3.34).

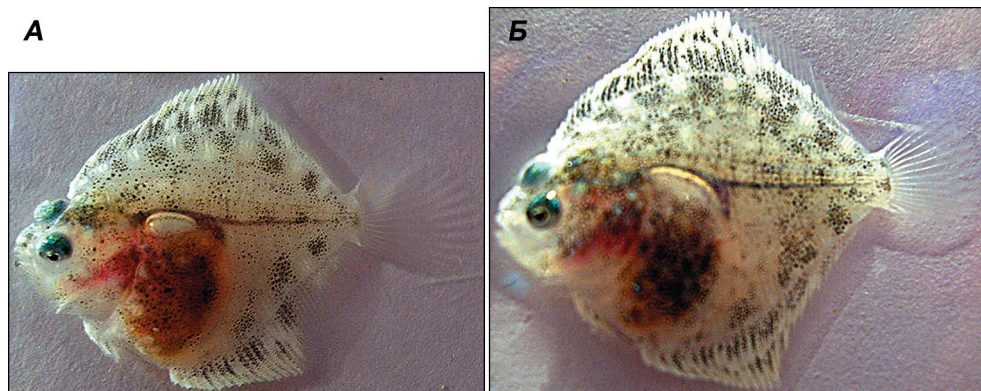


Рис. 3.34. Фотографии типичных личинок калкана (сибсы из одной партии), но 2-х экспериментальных групп (см. табл. 3.1) в возрасте **38 суток** (VII этап). **А** – личинка 1-ой группы, TL 1.88 см; **Б** – личинка 2-ой группы (TL 2.22 см; SL 1.77 см)

Очевидно, что рост личинок калкана в более поздние периоды зависит от предшествующего температурного режима и соответствуют закономерностям изменений в содержании нуклеиновых кислот (РНК и ДНК) и белка в теле личинок рода *Scophthalmus* от начала экзогенного питания (4 сут) до завершения

метаморфоза (60 сут) (Tong et al., 2010). Соотношение РНК/ДНК снижается к 12 сут, затем резко возрастает до 19 сут и варьирует до 35 сут, снижаясь на последующих этапах. Эти изменения оказываются адекватными индикаторами роста личинок на клеточном уровне; подтверждая, что в дометаморфозный период, в процессе перехода от эндогенного к чисто экзогенному питанию (4–12 сут) рост личинок происходит преимущественно за счёт гиперплазии, в период начала и середины метаморфоза – за счёт гипертрофии, а впоследствии процесс роста определяет опять гиперплазия (Tong et al., 2010). Поэтому, можно предположить, что ускоренный (компенсаторный) рост личинок калкана (переведённых из 15°C в 17°C в более поздний период, после 8 сут), наблюдаемый во время метаморфоза, происходит за счёт двойного эффекта – гиперплазии, которую дополняет гипертрофия в период метаморфоза, и, вероятно, количество тонических волокон в миотомах и площадь поверхностных красных волокон у них больше, чем у тех, которые были переведены в 17°C, начиная с возраста 4 сут. Температурный режим выращивания личинок в период метаморфоза влияет не только на скорость роста и развития, и на длительность завершения метаморфоза, но и на количество тонических мышц.

В целом, на ранних личиночных стадиях в пелагической фазе до начала метаморфоза линейная скорость роста составляет в среднем 5,5%, замедляется во время метаморфоза (рис. 3.35), и к окончанию личиночного развития до малька она снижается до 3% в сутки (рис. 3.36).

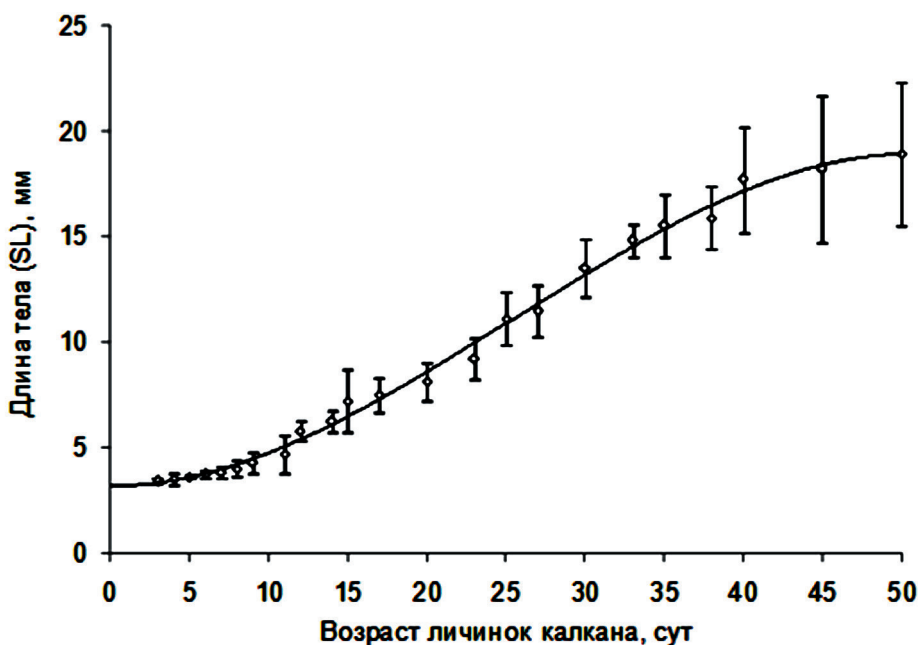


Рис. 3.35. Рост стандартной длины тела (SL, мм) личинок калкана в течение 50 сут при температуре 18°C при последовательном кормлении коловратками и артемиями

Несмотря на то, что по эффективности утилизации субстратов на рост оптимальной температурой для рыб рода *Scophthalmus* является 18°C, рост личинок на ранних стадиях развития реализуется в достаточно широком диапазоне температур от 13 до 24°C. Широкая адаптация вида рода *Scophthalmus* к широким флуктуациям температуры (пелагическая икра оплодотворяется при придонной температуре 8–12°C, и развивается в подповерхностных водах 12–16°C, пелагические личинки растут в открытом море при 17–21°C, а демерсальные мальки могут выживать в прибрежной зоне моря при повышении температуры до 26°C). обусловлена генетическими особенностями и подтверждается наличием в геноме нескольких копий генов *pla2* and *gpx1* (Figueras et al., 2016).

В искусственных условиях при использовании воды из 10-мильной зоны моря с применением биофильтра и техники зеленой воды, при последовательном кормлении коловратками, артемиями и копеподами с 10 до 50 сут, и, начиная с 40 сут, инертными кормами с высоким содержанием рыбного белка, при температуре, повышающейся от 17.5±0.5°C на ранних личиночных этапах до 21.5±1°C к началу метаморфоза, калкан от 2,7–3 мм на выклеве достигает в возрасте 66 сут TL 2.8±0.6 см и SL 2.5±0.4 см; в 87 сут в среднем TL 5.6±0.8 см и SL 4.6±0.7 см; в возрасте 97 сут – TL 6.5±0.8 см и SL 5.2±0.8 см WW 4.8 г.

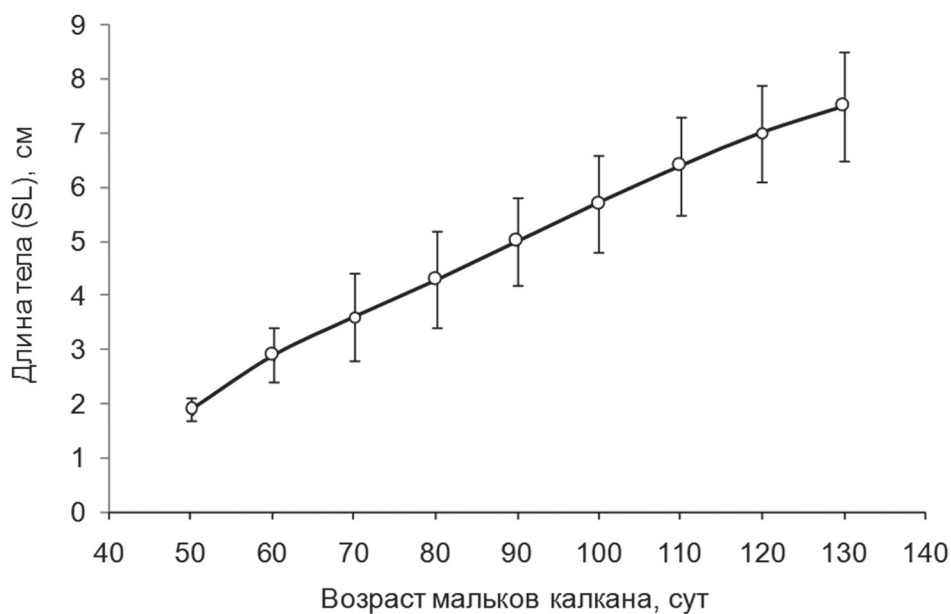


Рис. 3.36. Рост стандартной длины тела (SL, мм) калкана в демерсальной фазе в возрасте от 50 до 130 сут

Важной характеристикой роста, отражающей биологические особенности вида, является высокая вариабельность индивидуальных размеров тела, коэффициент вариации которой возрастает от 3% у 1-суточных личинок до 20% в 2-месячном возрасте даже условиях единого содержания группы мальков, име-

ющих одинаковое происхождение. В период прохождения метаморфоза и во время малькового периода линейный рост калкана замедляется, но при высокой скорости линейного роста метаморфизированные мальки калкана характеризуются быстрым увеличением абсолютной массы тела, и за полгода выращивания мальков от 4 до 10 мес наблюдается 10-кратное увеличение их сырой массы (Bityukova et al., 2001).

Рост калкана в естественных условиях. Исследований роста мальков калкана в естественных условиях известно мало, и разбросанные данные по их поимке относятся к разным десятилетиям и регионам Чёрного моря. Известно, что в естественных условиях Чёрного моря первые два месяца жизни сеголетки калкана проводят в удалении от берега, а в процессе прохождения метаморфоза мальки начинают активно перемещаться от открытого моря к берегам, и самые ранние появления их при переходе к береговой линии зарегистрированы в конце июня. В.А. Зернов (Зернов, 1913) констатировал, что в течение 1910–1911 гг. в период с 10 июня по середину июля (по старому стилю, что соответствует периоду с 23 июня до конца июля по новому стилю), мальков калкана длиной от 2 до 4 см часто наблюдали в прибрежных водах около здания Севастопольской биологической станции (СБС Императорской Академии наук), расположенной непосредственно на скалах напротив открытого входа в Севастопольскую бухту.

Ю.Ю. Марти (1939), проводивший наблюдения за популяциями калкана в районах между восточным Крымом и северным Кавказом отмечал самое раннее появление личинки калкана длиной 1,8 см в Керченском проливе 28 июня 1927 г. При подходе мальков калкана из открытого моря к берегу, в период перехода от пелагической к демерсальной жизни, мальков калкана длиной 3–4 см, плававших на поверхности в открытом море (43°37' с.ш. и 34°30' в.д.), часто наблюдали плававшими на поверхности воды в бухтах Крыма в июле-августе 1922–1927 гг.; в середине июля в Керченской бухте встречались мальки длиной 3.2 и 3.6 см; в июле – августе 1927 г. у северо-западных берегов Чёрного моря длина мальков составляла 4.2–5 см, а в сентябре у побережья Кавказа и Крыма встречались сеголетки калкана длиной 6 см (Марти, 1939). У болгарских берегов мальки калкана размером 4.5–5.5 см подходили к берегу от середины июля до начала августа 1956 г. (Карапеткова, 1957).

Ю.Ю. Марти 10 июля 1925 г. были отловлены метаморфизированные мальки калкана длиной 3–4 см, плававшие на поверхности в открытом море (43°37' с.ш. и 34°30' в.д.), а 15 и 20 июля в Керченской бухте были пойманы мальки 3.2 и 3.6 см. а в марте – апреле (по-видимому, в результате отсутствие роста в зимний период) длина молодежи колебалась в пределах 5.5–6.5 см (Марти, 1939). По наблюдениям М. Карапетковой (1957) у выловленных у болгарского побережья в Варненской бухте в июле 1956 г. длина мальков калкана составляла 4.2 и 4.5 см. В севастопольских бухтах (у берегов Карантинной и Стрелецкой бухт) в период с 1999 по 2011 гг. в июле – августе регулярно появлялись единичные мальки калкана длиной 3.5–5.6 см (собств. данные, неопубл.).

К июлю усреднённая длина мальков калкана составляет $TL\ 3.4\pm 1\text{ см}$ ($1.8 < TL < 5.5\text{ см}$), а в августе $TL\ 5.2\pm 1.1\text{ см}$ ($3.0 < TL < 6.5\text{ см}$) по всем известным данным по отловленным малькам калкана в прибрежных водах северного причерноморья от Кавказского до болгарского побережья (Марти, 1939; Карапеткова, 1957; собственные данные 2002–2011 гг.). Сеголетки ведут придонный образ жизни, приурочены к биоценозу песка и ракушечника. Разброс длин мальков сеголеток калкана (2–6.5 см), отловленных в прибрежных зонах от западного до восточного северного причерноморья и дат их появления в разных прибрежных зонах Чёрного моря обуславливаются межгодовыми и межобластными температурными колебаниями, и возрастом мальков в связи с растянутым на полтора – два месяца нерестом.

После того, как мальки калкана в июле-августе походят к берегам, непосредственно к зоне заплеска (или оседают на мелководные банки, например, Анапская банка, или в районе песчаных кос, например, Тендровская коса), в течение 2–3 мес до наступления холодов (октябрь-ноябрь) они, по-видимому, живут исключительно на малых глубинах, не покидая прибрежной зоны, питаются молодью бычков, атериной и мелкими ракообразными. В течение холодного времени года калкан растёт незначительно: в апреле в прибрежной зоне встречается молодь (в возрасте около года) длиной около 8 см (рис. 3.37А), и к августу калкан может достигать 9.6 см, а к октябрю молодь калкана в возрасте около полутора лет достигает $12.7\pm 2\text{ см}$ ($9 < TL < 16\text{ см}$) (рис. 3.37Б).

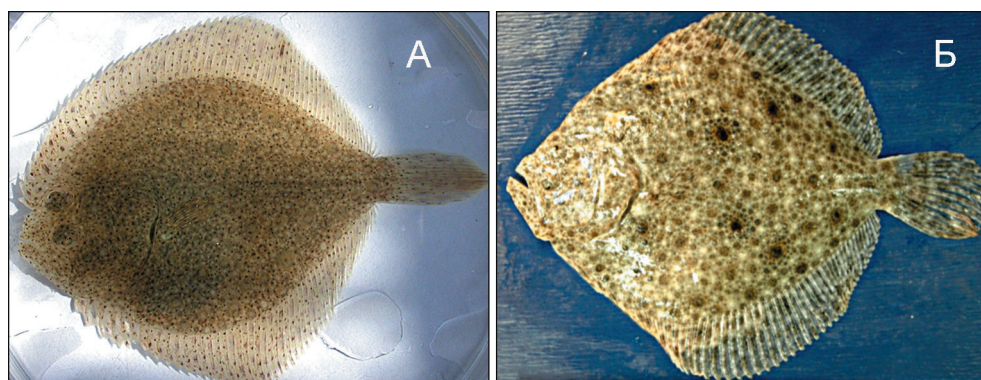


Рис. 3.37. Молодь калкана, отловленная: **А** – 7 апреля 2004 г. в Севастопольской бухте, $TL\ 7.7\text{ см}$; **Б** – 17 сентября 2009 г. в Одесском заливе, $TL\ 14\text{ см}$ (Фото Ковтун О.А.). Пигментация молоди калкана с тёмных скалисто-илистых грунтов (**А**) значительно отличается от пигментации молоди калкана с песчаных грунтов (**Б**)

Таким образом, по-видимому рост сеголеток и мальков в естественных условиях прибрежной зоны северной части Чёрного моря происходит в основном в тёплое время года, достигая к полутора годам максимум 14–16 см. Темпы роста мальков, выращенных в условиях экспериментального искусственного культивирования при оптимальном питании и соответствующем температурном режиме, превосходят рост мальков в море.

Глава 4.

ПИЩЕВОЕ ПОВЕДЕНИЕ, ПИЩЕВЫЕ ПОТРЕБНОСТИ, ПИТАНИЕ И КОРМЛЕНИЕ ЛИЧИНОК И МАЛЬКОВ РЫБ РОДА *SCOPHTHALMUS*

4.1. Общие сведения о питании личинок рыб рода *Scophthalmus*

Особенности пищевого поведения черноморского калкана на ранних стадиях развития до завершения метаморфоза в естественных условиях (в море) до настоящего времени практически не исследованы из-за невозможности поимки планктонных личинок калкана применяемыми стандартными методами лова. Поэтому большая часть приведенных здесь данных получена в экспериментальных исследованиях.

Переход от эндогенного к смешанному питанию и вскоре полностью к экзогенному питанию – это один из самых критических периодов для выживаемости личинок. К началу экзогенного питания у личинок рыб рода *Scophthalmus* с их незначительными желтковыми запасами складывается отрицательный энергетический баланс (Kuhlman et al., 1981; Битюкова и др., 1988; Cuhna, 1996), дефицит которого может быть восполнен только своевременным (в короткий промежуток времени) потреблением живых кормовых организмов, адекватных их пищевым потребностям. Все процессы, обуславливающие правильность развития личинок в наиболее уязвимый период жизни – от перехода на экзогенное (внешнее) питание до пика метаморфоза – также связаны с удовлетворением жизненно необходимыми компонентами потребностей личинок, изменяющимися по мере их развития.

Рост и развитие личинок камбалообразных на ранних этапах развития – высокодинамичный процесс, связанный с быстрыми изменениями доступности, размерного и биохимического соответствия и усвояемости живого корма. Особенность личинок рода *Scophthalmus*, ведущих активный хищнический образ жизни, состоит в том, что они, от открытия рта до формирования полноценного пищеварительного тракта и желудочного пищеварения в течение метаморфоза, должны питаться исключительно живыми кормовыми организмами, несмотря на значительный прогресс в разработке и производстве высококачественных искусственных инертных кормов для культивирования других видов рыб. Поэтому трудность выращивания черноморского калкана, как и тюрбо, в значительной степени определяется своевременным обеспечением личинок необходимой концентрацией живых кормовых организмов, соответствующих размерным, биохимическим, этологическим и экологическим потребностям личинок.

Ряд функциональных изменений, связанных со значительной перестройкой организма в процессе развития, особенно в течение метаморфоза, приводит к смене пелагического на преимущественно донный образ жизни личинок и к их способности потреблять и долго переваривать большое количество пищи в результате формирования желудочного пищеварения и, соответственно, к успешному переходу на питание инертным кормом.

В природных условиях питание личинок рода *Scophthalmus* на ранних пелагических стадиях развития приурочено к весенней вспышке численности и биомассы зоопланктона, и в результате длительной эволюции сложились механизмы биохимической, этологической и экологической адекватности природных кормовых объектов потребностям личинок.

При интенсивном культивировании питание личинок не повторяет природную схему, методика их кормления развивается в направлении интенсификации и индустриализации производства, поэтому при выборе кормовых организмов для личинок руководствуются, в основном, критериями технологичности их культивирования. При этом необходимо учитывать не только комплекс морфологических, биохимических, этологических и экологических критериев выбора живых кормов, условий их выращивания и насыщения, но и соотношение их концентрации к плотности личинок в среде выращивания. Выживаемость личинок зависит от того, насколько используемые живые корма адекватны их пищевым потребностям и физиологическим возможностям, то есть возможности не только отловить, но и переварить и усвоить конкретный вид живого корма, биохимический состав которого должен соответствовать уровню развития пищеварительной системы личинок.

Жизнеспособность личинок при переходе на внешнее питание зависит от их эндогенных запасов и от нормы развития систем организма, позволяющих за короткий период смешанного питания выработать правильное пищевое поведение, определяемое их двигательной активностью, способностью удерживаться в определённых горизонтах водной толщи, особенностями рецепции и точностью пищевых атак (Hunter, 1972). Личинки рода *Scophthalmus* могут приступать к смешанному питанию на 3–4 сутки (в зависимости от температуры) после вылупления с началом функционирования челюстного аппарата. Задержка перехода на внешнее питание личинок на 1–2 сут, т.е. голодание до возраста 4–6 сут вызывает необратимые изменения в их пищеварительной системе, приводящие к дегенерации и отслоению слизистой кишечника (Битюкова, 1986), к снижению активности пищеварительных ферментов и потери способности абсорбировать пищу, дегенерации тканей печени и пищеварительного тракта и, как следствие, к смерти личинок (McFadzen et al., 1994).

Если выживаемость личинок на 3–5 сутки после выклева, до перехода на смешанное питание, отражает их исходное качество, т.е. определяется соотношением нормы/аномалий, сформировавшихся в процессе эмбрионального развития и правильностью манипуляций при пересадках, то выживаемость на 8–9 сут после выклева отражает успешность перехода личинок на внешнее питание, обусловленное обеспеченностью эндогенными запасами желтка и жировой капли, правильным развитием плавательного пузыря и пищеварительной системы и адекватным кормлением.

Согласно нашим данным наиболее высокая доля личинок калкана, успешно перешедших на внешнее питание, может достигать 90%. Случаи высокой смертности к 8–9 сут связаны в основном с тем, что личинки не могут встретить,

поймать, переварить и усвоить для роста и развития достаточное количество адекватного корма, что может быть следствием: 1) недостаточной концентрации необходимого вида живого корма; 2) невозможности его отлова, связанной с неспособностью личинок держаться в определённых слоях и эффективно атаковать жертву, что часто оказывается следствием неправильного заполнения плавательного пузыря; 3) недоразвитием челюстного аппарата личинок; 4) высокой бактериальной нагрузки живого корма, или среды выращивания, приводящей к отказу личинок от питания (Nicolas et al., 1989; Ханайченко и др., 2000); 5) недоразвитием пищеварительной системы, приводящим к проблеме переваривания пищи (Munilla-Moran et al., 1990); 6) характеристик пищевого объекта, в том числе биохимического состава, неадекватного потребностям и возможностям ферментативной системы личинок.

Любая из этих причин приводит к необратимому голоданию личинок и к точке невозврата (англ. “*point-of-no-return*”), и в связи с этим уровень выживаемости личинок в течение первого месяца в промышленных питомниках интенсивного и экстенсивного типов редко превышает 10–20% (Danielssen et al., 1990; Planas, 1994; Minkoff, Broadhurst, 1994; Estévez et al., 1999; Shields, 2001; Lei et al., 2003). Выживаемость до 80% личинок калкана от выклева до возраста 30 сут в условиях пилотного питомника с использованием в качестве кормов коловраток и артемий (Маслова, Разумеев, 2005) представляется нереально высокой.

Максимально возможная выживаемость качественных личинок в оптимальных температурных и трофических экспериментальных условиях даже при применении смеси антибиотиков для снижения бактериальной нагрузки живых кормов и среды выращивания от выклева до 14 сут варьирует в пределах 40–60%, в зависимости от метода культивирования (Estevez et al., 1999; Ханайченко и др., 2000). Даже в лабораторных экспериментах при строго контролируемых асептических условиях и питании коловратками и артемиями выживаемость личинок рода *Scophthalmus* 55% до 14 сут (Munro et al., 1995) и 20–40% до 18 сут в присутствии культур микроводорослей, подавляющих рост патогенной микрофлоры (Stottrup et al., 1995) можно считать очень высокой.

При интенсивном выращивании в турецких экспериментальных питомниках до 40 сут (до TL~2 см) выживаемость личинок калкана варьировала от 1 до 20% (Ustundağ et al., 2002). Выживаемость 40% личинок калкана с 3 до 45 сут приводится для экстенсивной системы выращивания в бассейнах 5–30 м³ с подключённой системой установок замкнутого типа (УЗВ) при кормлении смесью живых кормов из солоноватоводных прудов с преобладанием инфузорий *Metacylis* и *Mesodinium* и копепод *Acartia* и *Calanipeda* (Новосёлова, Туркулова, 2012). Однако в сходных условиях, но при отсутствии в спектре питания *Metacylis* и *Mesodinium* выживаемость калкана до 45 сут не превышала 6% (Туркулова, Новосёлова, 2013). Высокий уровень выживаемости (40%) личинок тюрбо к 40-суточному возрасту достигнут также при использовании рециркуляционной системы в сочетании с низкой исходной плотностью личинок при их кормлении коловратками и артемиями в условиях «зелёной» воды (Olesen, Minck, 1983).

4.2. Влияние особенностей зрения и света на пищевое поведение личинок

Обнаружение и отлов кормовых организмов личинками рыб рода *Scophthalmus* на ранних этапах развития обусловлены уровнем развития их зрительной системы, которая играет важную роль в пищевом поведении (Holmes, Gibson, 1986). На ранних этапах развития личинок зрение – основной рецептор, обеспечивающий ориентацию, поиск, определение расстояния до кормового объекта и его захват.

При переходе личинок калкана на внешнее питание дифференциация тканей их глаза ещё не завершена, и в сетчатке глаза присутствует только один тип светочувствительных клеток (фоторецепторов) – колбочки, обеспечивающие относительно хорошее обнаружение объектов при ярком свете. Бинокулярный угол зрения, составляющий $5-10^\circ$ при вылуплении калкана, достигает $40-45^\circ$ при переходе на смешанное питание, что увеличивает резкость изображения на сетчатке глаза и увеличивает дистанцию восприятия жертвы (Битюкова, 1984; Чепурнов и др., 1986), но в этот период личинки реагируют исключительно на подвижные кормовые объекты, появляющиеся в переднем поле зрения.

Ранним личинкам рыб присуща потенциальная дистанция восприятия (англ. *potential perceptive distance*), равная приблизительно одной длине их тела (Blaxter, 1986), которая возрастает по мере их роста и развития. В связи с низкой остротой зрения при переходе на смешанное питание дистанция восприятия пищи личинкой рода *Scophthalmus* составляет 2.7 мм, к 10 сут возрастает до 4 мм (Битюкова и др., 1986), а скорость перемещения личинок за период с 3 до 10 сут возрастает с 0.4 до 4 мм сек⁻¹, однако, скорость атаки на встреченные пищевые объекты достигает 10 мм сек⁻¹ уже на 7 сут. Успешность атаки, завершающейся поимкой жертвы, у личинок рода *Scophthalmus* в 3–4 сут составляет около 10%, а к 7–9 сут она возрастает до 50% (Битюкова и др., 1986; Huse, Skiftesvik, 1985; Bruno et al., 2018).

Поэтому, в начале внешнего питания в условиях интенсивного выращивания концентрация корма должна быть значительно выше, чем пищевые потребности личинок на этих стадиях. Личинка калкана в возрасте 3.5–4 сут за один час в состоянии обловить объём воды ~50 мл (Чепурнов и др., 1986). После удачного перехода на внешнее питание при плотности коловраток 3–5 экз. мл⁻¹ в среде выращивания и оптимальной эффективности охоты личинка калкана за один час способна захватить около 10 экз. жертв. В возрасте 10 сут личинки рода *Scophthalmus* способны исследовать ~600 мл за один час, и для осуществления успешных атак достаточна плотность жертв 1.5 экз. мл⁻¹, однако при высокой плотности ≥ 20 личинок л⁻¹ при интенсивном выращивании плотность жертв для удовлетворения потребностей личинок должна составлять не менее 5 экз. мл⁻¹ (Howell 1979; Olesen and Minck, 1983; Cuhna, Planas, 1999; Ханайченко и др., 2000). В условиях высокой скорости протока воды в выростных бассейнах в китайских питомниках при интенсивном выращивании тюрбо плотность коловраток поддерживают на более высоком уровне – 10 экз. мл⁻¹ (Lei, Liu, 2010).

По мере дифференцировки в сетчатке глаза светочувствительных клеток типа палочек, ответственных за восприятие в условиях пониженного освещения, у личинок к 14–16 сут развивается сумеречное зрение, и они могут обнаруживать движение объекта при низкой интенсивности света. В процессе развития диаметр глаза увеличивается, обеспечивая более широкий угол зрения и восприятие на больших расстояниях. Поэтому возможность эффективного поиска и поимки жертвы при её низких концентрациях в среде (0.1 экз. мл⁻¹) становится возможной после 20–25 сут, когда устанавливается предметное зрение, и относительные размеры глаза калкана достигают максимума (Битюкова, 1986). Согласно нашим данным правильно метаморфизирующие в 20 сут личинки, плавающие под углом (в результате миграции левого глаза к центру профиля головы (см. рис. 3.27 из главы 3 «Развитие и рост...»), оказываются способными к эффективной поимке (до 100% успешных атак) взрослых каланоидных копепод акарий, ускользящих со скоростью 20 мм с⁻¹ от преследований хищников.

К окончанию метаморфоза при переходе к демерсальному образу жизни у личинок происходит окончательная реорганизация строения глаза, в сетчатке присутствуют светочувствительные клетки обоих типов, плотность колбочек снижается, а палочек – возрастает, происходит преобразование сетчатки в двойственную (Битюкова, 1984; de Miguel Villegas et al., 1997), соответствующую типичному сумеречно-ночному засадному хищнику. С начала вертикальных перемещений у них развивается типичный для рода *Scophthalmus* подвижный вырост дорсальной части радужной оболочки (*operculum pupillare*) – выступ радужины (в виде крышечки) в сторону зрачка (рис. 4.1), функция которого – защита сетчатки от прямого попадания и ограничение потока света в глаз при сохранении широкого угла пространственного зрительного поля в горизонтальной плоскости (Битюкова, 1984).



Рис. 4.1. Подвижный вырост дорсальной части радужной оболочки (*operculum pupillare*) глаза – выступ радужины (в виде крышечки) в сторону зрачка у рыб рода *Scophthalmus* (фото А. Некрасова, модифицировано)

В начале питания интенсивность и длительность светового дня безусловно влияют на питание. Для ранних личинок рода *Scophthalmus* с пищевым поведением, ориентированным на поверхностные слои воды, наиболее подходящими уровнями освещённости для перехода на внешнее питание считают более 800 люкс; а при низкой освещённости, менее 100 люкс, личинки вообще могут не переходить на внешнее питание, и абсолютно не реагируют на кормовые объекты при освещённости 12 люкс (Howell, Baynes, 2004). Незначительные вариации влияния широкого диапазона интенсивности света на пищевое поведение личинок камбал объяснимы онтогенетическими изменениями строения их глаза, и интенсивность света менее 7 люкс ($1 \mu\text{W cm}^{-2}$) они, по-видимому, не воспринимают. При содержании в полной темноте у личинок отсутствует какой-либо ритм активности. Напротив, при освещении, как естественном, так и искусственном, личинки находятся в постоянном движении.

Суточный световой ритм улучшает условия для заполнения плавательного пузыря, который необходим для обеспечения правильного движения и плавучести пелагических личинок, которые, соответственно, повышают их способности поимки жертв и выживаемость. Считается, что процесс первичного заполнения плавательного пузыря успешнее происходит у личинок рода *Scophthalmus* в тёмный период, и секреция газов также стимулируется в ночное время. Фотопериод и интенсивность света оказывают более значительное влияние на рост личинок по сравнению с мальками; но и для личинок, и для мальков выявлена положительная корреляция между длительностью фотопериода и скоростью роста (Champalbert, Le Direach-Boursier, 1998). При регулярном кормлении в течение дня у них вырабатывается ритм активности с дневным максимумом.

Личинки, начиная с внешнего питания, и ранние мальки рода *Scophthalmus* проявляют положительный фототаксис при интенсивности света не менее 7 и до 7000 люкс ($1-1000 \mu\text{W cm}^{-2}$ при 555 нм) (Champalbert, Le Direach-Boursier, 1998). Характер освещения может влиять на распределение, как личинок, так и кормовых организмов, и привести к их пространственному разделению. Например, личинки калкана в результате реакции фототаксиса на отражённый свет могут агрегироваться вдоль стенок, или на дне, или на поверхности выростных бассейнов. Иногда даже незначительное увеличение доли УФ-света приводит к более равномерному распределению личинок и, соответственно, к более высокой скорости потребления живых кормов. Рассеянный свет, в противоположность поляризованному, снижает тенденцию планктонных кормовых организмов (колловраток, артемий, копепод) к «роению» и приводит к их более равномерному распределению в водной толще бассейнов. Однако, с другой стороны, отсутствие пятен с высокой плотностью жертв может также привести к снижению скорости потребления пищи личинками.

По достижению возраста 20–25 сут личинки калкана могут активно питаться и при низкой освещённости ~ 300 лк. Вскоре после завершения метаморфоза у мальков наблюдается отчётливый ритм питания с вечерне-ночным максимумом (Champalbert, Le Direach-Boursier, 1998), характерный для взрослых камбал

(Попова, 1958). Однако, при низкой плотности кормовых организмов в тёмное время их плавательная активность невысока. Появление живых кормов вызывает немедленное возрастание активности личинок, которая падает после их насыщения. При высоких концентрациях пищи в любое время суток и при любой освещенности мальки резко повышают пищевую активность, после которой часто наступает снижение активности на протяжении суток. Трофические условия (вид, размер и концентрация кормовых объектов) играют важную роль в становлении активности личинок и мальков рода *Scophthalmus*.

Таким образом, в связи с особенностями физиологии и поведения личинок калкана освещённость до начала смешанного питания (возраста 3–4 сут) не должна превышать 300–500 лк. В течение планктонной фазы билатеральных личинок при питании коловратками и артемиями необходима постоянная освещённость, ~ 1000–1500 лк, лучше с рассеянным светом, раздробленным затенёнными участками (Битюкова и др., 1988). С началом метаморфоза личинок освещённость лучше снижать до 600–800 лк, а длительность светового периода сократить до 18 ч. При переходе калкана к демерсальному образу жизни, к окончанию метаморфоза, освещённость снижают до 300–400 лк.

4.3. Морфометрические критерии живых кормов

Несоответствие размеров кормового организма размерным характеристикам предпочитаемой личинками жертвы на всех этапах развития вызывает дополнительный расход энергии для поимки эквивалентного энергетическим потребностям личинок количества пищи. Поэтому кормовые организмы должны соответствовать морфологическим характеристикам личинок на каждом этапе развития.

Размер жертвы считается одним из важнейших критериев на начальных этапах внешнего питания (Ивлев, 1955), и предпочтение размера жертвы является функцией соотношения её размера к размеру личинки. Считается, что для пелагических личинок камбалообразных длина (LP, мкм) и ширина (WP, мкм) предпочитаемых ими жертв находятся в следующих соотношениях со стандартной длиной личинки (SL, мм): $LP = 1.4 + 37.4 SL$ и $WP = -179.6 + 99.7 SL$ (Cuhna, Planas, 1999), и оптимальный размер жертвы соответствует 25–50% раскрытия рта. Максимальная ширина жертвы в начале внешнего питания личинок (~140 мкм) соответствует ширине коловраток *Brachionus plicatilis* и к 10-суточному возрасту личинок превышает до 225 мкм (ширина науплиев артемий) (Cuhna, Planas, 1999).

В зависимости от особенностей функциональных систем на каждый момент развития устанавливается предельная величина и оптимальные размеры жертв, которые могут служить добычей личинкам. Однако помимо размерного критерия, при выборе жертвы важную роль может играть комплекс визуальных, химических и механических раздражителей пищевого объекта, воспринимаемых рецепторами личинок, и этими факторами в числе прочих обуславливается селективность питания личинок камбалообразных.

4.4. Хемо– и механорецепторика питания

В процессе питания участвуют различные сенсорные системы. Если зрение (визуальная рецепторика) позволяет идентифицировать объекты в среде на относительно коротком расстоянии, то тактильные и вкусовые рецепторы требуют тесного или прямого контакта с источником стимула. Как только у личинок сформированы химические (обонятельные и вкусовые) и механические (свободные невромасты и боковая линия) сенсорные органы, они помогают им обнаруживать потенциальные кормовые объекты.

Обонятельные рецепторы могут улавливать самые далёкие раздражители, и некоторые метаболиты планктонных организмов (например, аминокислоты) могут служить обонятельными и вкусовыми стимулами питания личинок рыб (Kolkovski et al., 1997). С помощью невромастов и боковой линии личинка может определять специфические динамические характеристики потенциальной жертвы. Одни хеморецепторы позволяют различать запах (химическую информацию о пище) путём обоняния, другой хеморецепторной системой является вкусовая система. Возможности апробирования жертвы на вкус присутствуют у личинок с самого начала внешнего питания и играют значительную роль в их питании. Вкусовые и тактильные рецепторы используются при непосредственном прямом контакте с пищей, позволяют определить качество пищевого объекта, и личинки могут либо проглотить, либо отторгнуть пойманную добычу в соответствии со вкусовыми ощущениями и предыдущим опытом.

Ярким примером соответствия размерных характеристик жертвы личинкам, но несоответствия её вкусовых характеристик являются инфузории солёных водоёмов *Fabrea salina* Henneguy (Ciliophora, Heterotrichida) (рис. 4.6.3). Личинки рода *Scophthalmus* имеют очень хорошее обоняние (хемосенсорные органы), и при внесении в воду аспарагина, глицина, инозина или бетаина (метаболитов, экскретируемых артемиями) демонстрируют явно выраженные поведенческие реакции, характерные для охоты на жертву – специфическое плавание, броски и хватательные движения (Knutzen, 1992), что доказывает важную роль хеморецепции в комплексе характеристик пищевого поведения.

Зрение и обоняние имеют большое значение во время поиска и поимки пищевого объекта, потребление жертвы определяют приобретённый ранее опыт во вкусовом и тактильном контакте с ней. На более поздних стадиях развития зрение и обоняние камбал также определяют миграцию и адаптацию к новым трофическим нишам.

4.5. Этолого-функциональные критерии питания

Даже самые маленькие личинки при переходе на внешнее питание обладают начальными охотничьими инстинктами, но эффективность поимки возрастает по мере развития и роста личинок, изменяясь от пассивного питания, которое зависит от вероятности встречи с жертвой, к активному поиску кормовых организмов и

охоте на них. В связи с постоянно изменяющимся характером поведения личинок камбалообразных в процессе их развития и в процессе перехода от пелагического к донному образу жизни, оптимальным кормовым организмом можно считать тот, который подходит не только по своим морфологическим и биохимическим характеристикам, но и соответствует занимаемой на конкретном этапе развития личинок экологической нише, их зрительным возможностям (остроте зрения), скорости реакции, связанной с локомоторными способностями и строением челюстного аппарата для захвата жертвы на соответствующем этапе ее развития.

Переход на экзогенное питание личинок калкана начинается при ограниченной функциональности челюстного аппарата. В отсутствие полноценного зрения и полноценной функциональной двигательной активности (плавательные способности поддерживаются только грудными плавниками), ранняя личинка способна только к поимке добычи, находящейся непосредственно перед ней. К началу экзогенного питания личинки рода *Scophthalmus* обладают только удлинёнными челюстями, состоящими из дермальных костей, таких как *dentale*, *maxillare* и *palatoquadratum*, соединяющихся с Меккелевым хрящом и гиоидом (Wagemans *et al.*, 1998). В связи с косым и верхним положением конечного рта (обе челюсти имеют одинаковую длину и составлены из нескольких мало функциональных хрящевых элементов (рис. 4.2А) они могут осуществлять поимку добычи только по «всасывающему» типу в буккальную полость (Алеев, 1963), когда взаимодействуют постепенно развивающиеся элементы ротовой полости – суспензорий, подъязычная кость, гиоидная дуга и оперкулярные кости (Kohno *et al.*, 2001).

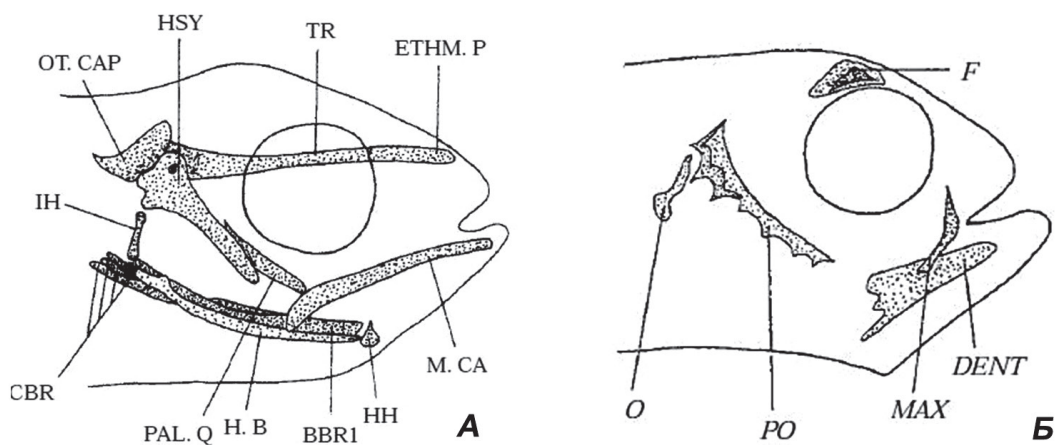


Рис. 4.2. Элементы хондрокраниума (хрящевого скелета). А – в возрасте 5 сут (рисунок слева): BBR1- *basibrachiale*, CBR-*ceratobranchiale*, ETHM.P-*ethmoideum* H.B-*hyoid bar*, IH-*hypohiale*, HSY-*hyosimplecticum*, IH-*interhyale*, M.CA – Меккелев хрящ, OT.CAP – слуховая капсула, PAL.Q – *palatoquadratum*, TR – *trabecula communis*). Б – остеоцраниума (костного скелета) в возрасте 10 сут (рисунок справа): DENT – *dentale*, F – *frontale*, MAX – *maxillare*, O – *operculum*, PO – *preoperculum*) личинки *Scophthalmus maximus*. (Рисунки трансформированы из Wagemans *et al.*, 1998).

Пищевое поведение ранних личинок рыб рода *Scophthalmus* состоит из нескольких последовательных действий. При появлении в поле зрения и обнаружении добычи потенциальной жертвы личинка резко поворачивается к ней головой, подплывает ближе и с помощью грудных плавников и хвостового отдела ориентируется таким образом, что жертва оказывается в центре угла бинокулярного зрения (Битюкова, 1986). После кратковременной остановки личинка принимает позу прицеливания, S-образно изгибая тело, и с помощью колебательных движений головного отдела в вертикальной плоскости нацеливается, совершает резкий бросок и производит захват («всасывание») жертвы.

После того, как добыча поймана, личинка производит быстрые движения головы из стороны в сторону, очевидно помогая прохождению кормового объекта по пищеводу, а затем продолжает обычное плавание и новый поиск добычи. Ранние личинки находятся в постоянном движении в поиске пищи, и периоды покоя составляют всего 3–5% времени.

По мере роста и увеличения грудных плавников и развития хвостового отдела происходят значительные изменения в органах рецепции и локомоции, в возрасте 8–10 сут становятся более функциональными, что способствует повышению точности пищевых атак личинок, которые могут совершать длительные горизонтальные и вертикальные миграции. К 10 сут у личинок уже присутствуют, хотя и не полностью сформированные, первые элементы остеокраниума (*dentale, frontale, maxillare, operculum, preoperculum*) (см. рис. 4.2Б), способствующие оптимизации захвата пищевого объекта, однако тип захвата пищи все еще остаётся «всасывательным», так как челюсти состоят из дермальных мягких костей.

Первые верхние и нижние глоточные зубы различимы у личинок к 6 сут, и их количество возрастает до 10–12 к 12–15 сут (Kohn et al., 2001), и глоточные челюсти могут считаться сформированными к этому возрасту (Wagemans et al., 1998). С 9–13 до 15–20 сут происходит дальнейшее развитие функций челюстного аппарата: первоначальная оссификация костных элементов ротовой полости. Значительный прогресс в развитии челюстного аппарата личинок достигается к 15 сут: сформированы верхняя и нижняя челюсти; *maxillare* расширены кзади и имеют зубчатый край; *praemaxillare* изогнуты спереди и имеют заостренный восходящий отросток; *dentale* и *angulare*, расположенные вплотную, составляют нижнюю челюсть (рис. 4.3А); у личинок сформирована рудиментарная глоточная челюсть, приближающаяся к строению таковой у взрослой рыбы.

Комплекс выдвижных ротовых челюстей без зубов и глоточных зубов облегчает личинкам производить заглатывание добычи (до 500 мкм) путём её функционального «всасывания» выдвижным ртом и её переработку. На нижних и верхних челюстях личинок формируются первые зубы и, в зависимости от питания, оссификация костных элементов либо только начинается (у тюрбо при питании коловратками и артемиями), либо, при дополнении питания copeподами, у личинок калкана уже остифицированы наиболее важные элементы головного скелета (рис. 4.3Б).

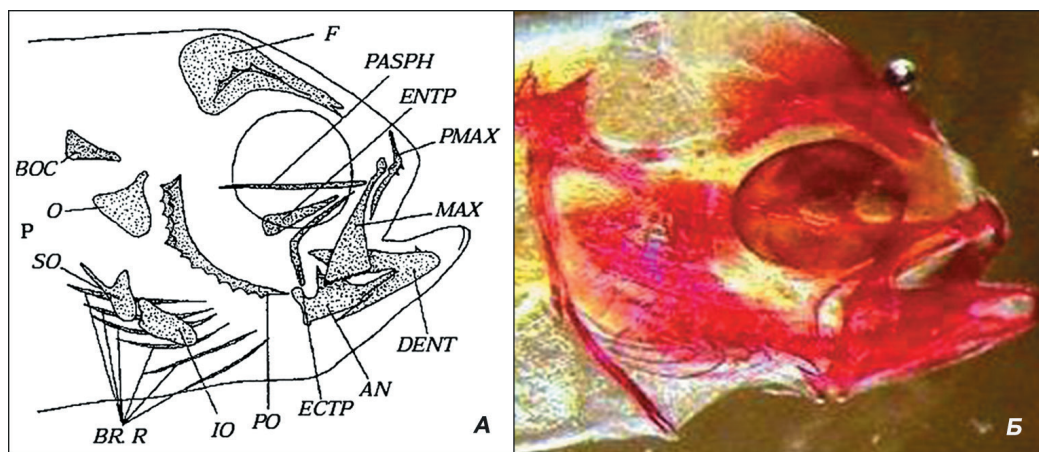
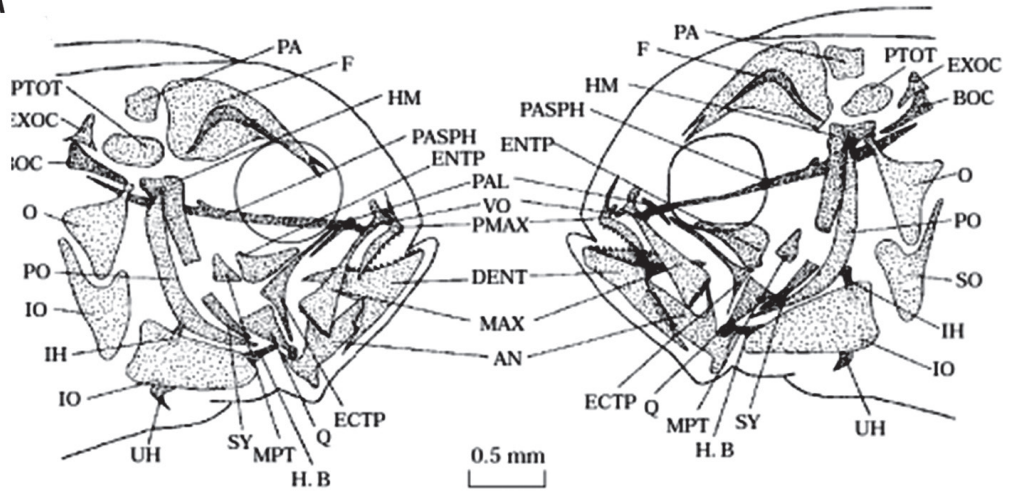


Рис. 4.3. Остеокраниум (костный скелет головы) личинки *Scophthalmus maximus* в возрасте 15 сут при питании коловратками и артемией (А): AN –*angulare*, BOC – *basioccipitale*, BR.R. – жаберные лучи; DENT – *dentale*, ECTP – *ectopterigoideum*, ENTP – *entopterigoideum*, F – *frontale*, IO – *interoperculare*, MAX – *maxillare*, O – *operculum*, PASPH – *parasphenoideum*, PMAX – *premaxillare*, PO – *preoperculare*, SO – *suboperculare*. (Рисунок трансформирован из Wagemans *et al.*, 1998). Б – остифицированные костные элементы (окраска ализарином) головы личинки калкана в возрасте 16 сут при питании копеподами

Между 16 и 30 сут у личинок трансформируется двигательный аппарат: формируются и остифицируются основные элементы осевого скелета (позвонки с развитыми гемальными и нервными дугами), происходит изгибание нотохорды и становление комплекса каудальных элементов скелета, включая лучи хвостового плавника, формируются спинной и анальный плавники; и развивается дополнительная поддержка более быстрым и точным движениям, необходимым для поимки кормового объекта. Одновременно происходит модификация и увеличение числа челюстных и глоточных зубов, достигается значительная степень развития и оссификации большинства костных элементов ротовой полости, а также развитие челюстных мышц, типичных для хищника (Kohno *et al.*, 2001). К 20 сут уже происходит формирование практически неподвижной верхней и выдвигающейся нижней челюстей (рис. 4.4А), оснащенных острыми мелкими клиновидными зубами, направленными назад.

Повышение степени развития позволяет личинкам к ~ 30 сут перейти к функциональному плаванию со сложными элементами движения и от примитивного «всасывающего» захвата к становлению раннего «всасывательно-хватательно-го» типа захвата пищи (Алеев, 1963; Kohno *et al.*, 2001). К 40–45 сут при длине 18–20 мм скелет личинок рода *Scophthalmus* уже значительно оссифицирован, в нём остаётся очень мало элементов хрящевого скелета (Wagemans *et al.*, 1988), у них сформированы функциональные двуслойные мышцы (Gibson, Johnson, 1995), развиты все парные и непарные плавники, сформированы глоточные зубы и конические зубы на ротовых челюстях, и челюстной аппарат (рис. 4.4Б) с поддержкой специфической мускулатуры может выполнять сложную «хватательно-кусательную» функцию (Kohno *et al.*, 2001).

A



Б

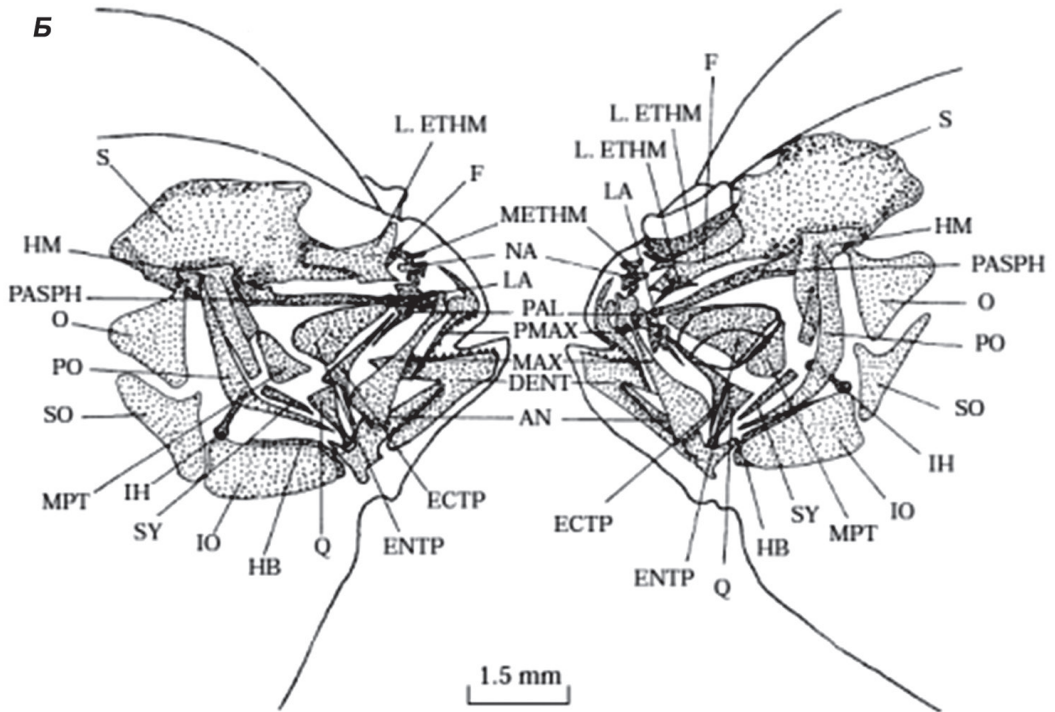


Рис. 4.4. Остеокраниум (костный скелет головы) личинки *Scophthalmus maximus* в возрасте 20 сут (вид справа и слева) (А) и в возрасте 45 сут (вид справа и слева) (Б): AN – *angulare*, BOC – *basioccipitale*, DENT – *dentale*, ECTP – *ectopterigoideum*, ENT – *entopterigoideum*, EPOT – *epioticum*, ETHM – *ethmoideum*, EXOC – *exooccipitale*, F – *frontale*, H.B. – *hyoid bar*, HM – *hyomandibulare*, HSY – *hyosimplecticum*, IH – *interhyale*, IN – *interalare*, IO – *interoperculum*, LA – *lacrimale*, MAX – *maxillare*, METHM – *methethmoideum*, MPT – *metapterigoideum*, NA – *nasale*, O – *operculum*, PA – *parietale*, PAL – *palatinum*, PASH – *parasphenoideum*, PMAX – *premaxillare*, PO – *preoperculum*, PTOT – *pterotic*, Q – *quadratum*, SO – *suboperculum*, SOC – *supraoccipitale*, SPOT – *sphenoticum*, SY – *symplecticum*, UH – *urohyale*, VO – *vomer*

Формирование глоточного аппарата, состоящего из верхнеглоточных и нижнеглоточных площадок, покрытых мелкими зубчиками, характерных для молоди (рис. 4.5А) и взрослого калкана (рис. 4.5Б–Г) позволяет из состояния покоя на дне производить быстрые рывковые движения и захватывать жертву по полноценному «хватательно-кусательному» принципу; и калкан переходит к охоте и захвату пищи по типу «засадного хищника».

Развитие глоточных зубов и мускулатуры челюстного аппарата позволяет переход от простого заглатывания к предварительному прикусыванию жертвы, и затем – к заглатыванию (Попова, 1958). Нижние глоточные площадки продолговатые и узкие, каждая состоит из одной дольки, их строение почти одинаково у особей всех возрастов (рис. 4.5А). Верхнеглоточные площадки претерпевают значительные изменения по мере роста и развития особи: у молоди с длиной тела 6–7 см они однодольчатые (рис. 4.5Б), а по мере роста рыб происходит разделение глоточных площадок на дольки (рис. 4.5Б–Г).

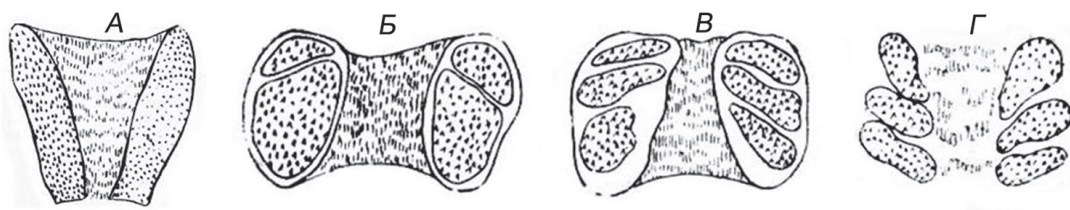


Рис. 4.5. Нижнеглоточная площадка (А), изменение верхнеглоточных площадок в процессе развития калкана у особей TL 6–7 см (Б), TL 27 см (В) и TL 33–38 см (Г) (из Попова, 1958)

Так как успешность атаки на жертву у ранних личинок не превышает 10%, в начале экзогенного питания важное значение имеет концентрация пищевых объектов в окружающей среде, и в условиях интенсивного выращивания концентрации стартовых кормовых организмов должны быть значительно выше, чем потенциальные пищевые потребности личинок. После перехода на внешнее питание при плотности коловраток 3–5 экз. мл⁻¹ личинка калкана за один час способна захватить около 10 экз. коловраток.

В возрасте 5 сут для осуществления успешных атак достаточна плотность кормовых организмов 1.5 экз. мл⁻¹ (Чепурнов и др., 1986), но при высокой плотности личинок (≥ 20 экз л⁻¹) плотность кормовых организмов для соответствия потребностям личинок до 10 сут должна составлять не менее 3–5 экз. мл⁻¹ (Howell 1979; Olesen and Minck, 1983; Cuhna, Planas, 1999; Ханайченко и др., 2000). В китайских питомниках в условиях высокой скорости протока воды в выростных бассейнах при интенсивном выращивании тюрбо плотность коловраток поддерживают на более высоком уровне – до 5–10 экз. мл⁻¹ (Lei, Liu, 2010).

В ранний личиночный период при низком пороге зрения, примитивных челюстном и двигательном аппаратах и низкой скорости реакции, для личинок рода *Scophthalmus* предпочтительны лишь кормовые организмы соответствующих размеров, передвигающиеся преимущественно в водной толще с невысокой

скоростью, и их высокая концентрация в среде особенно важна для успешной атаки и питания для ранних личинок.

Личинки позднего предмалькового периода, перешедшие к донному образу жизни, при высоко развитых зрительной и нервной системах способны применять разные стратегии поимки жертвы – как с использованием засады, так и преследования в толще воды, что позволяет им питаться разнообразными бентосными организмами, ракообразными, личинками и мальками рыб, обладающими высокой скоростью передвижения. В условиях интенсивного культивирования в этот период личинок кормят сбалансированными инертными кормами в связи с возможностью их длительного переваривания.

Быстро растущие поздние личинки рыб рода *Scophthalmus* начинают выбирать жертву, которая была бы оптимальна для получения максимальной энергии при минимальных её затратах, и, как это было показано и для других видов рыб, при высокой плотности личинок, питающихся по типу «засадного хищника», наблюдается феномен каннибализма. Каннибализм характерен и для поздних личинок, и для мальков калкана и тюрбо. Чаще этот феномен наблюдается при сочетании высокой плотности посадки личинок при интенсивном выращивании и даже эпизодической вероятности снижения концентрации корма в среде, и он обусловлен высокой вариабельностью роста и, соответственно, размера даже одновозрастных личинок в потомстве от одной пары родителей (англ. sibling cohort).

4.6. Живые корма при разных схемах выращивания личинок

В начале исследований по выращиванию личинок морских рыб и, в частности, личинок рода *Scophthalmus*, приоритетом был поиск живых кормов, адекватных природным пищевым объектам, в том числе по размерным характеристикам. В практике культивирования тюрбо и черноморского калкана существует два основных способа (метода) выращивания личинок (Divanach, Kentouri, 2000): интенсивный, основанный на высокой исходной плотности посадки личинок (до 30–40 экз. л⁻¹) в закрытых помещениях в бассейнах с тщательно регулируемые физическими и биологическими параметрами (Planas, 1994; Minkoff, 1994), и экстенсивный, основанный на выращивании личинок при их низкой плотности посадки ($\leq 0,5$ экз. л⁻¹) в больших объёмах воды, например, в мешках 200 м³, плавающих в закрытых фьордах (Riaza, Hall, 1993), или в закрытых лагунах (фьордах) (van der Meeren et al., 2001), 4000 м³ Danielssen et al., 1990; Jepsen et al., 2017) при кормлении преимущественно естественным («диким») спонтанно развивающимся или стимулируемым к развитию зоопланктоном, иногда дополняемым разнообразными смесями солоноватоводного и/или культивируемого морского зоопланктона (Urup, 1994).

Остальные варианты – «полу-интенсивный» и «полу-экстенсивный», например, в наружных больших цилиндрических бассейнах 40 м³ при низкой плотности личинок и невысокой плотности кормовых организмов (Riaza,

Hall, 1993) или в мезокосмах 40 – 300 м³ с применением смеси разнообразных кормовых организмов, как выращенных, так и отловленных в солёных прудах (Новоселова, Туркулова, 2012), являются смешением или вариациями первых двух.

При экстенсивной технологии – в лагунах, фьордах, мезокосмах – используется преимущественно зоопланктон морского происхождения, в состав которого при разных условиях могут входить разнообразные виды морских копепод, морских кладоцер и коловратки, личинки разных моллюсков и полихет. При экстенсивном выращивании личинок калкана можно использовать культивируемых морских и солоноватоводных планктонных ракообразных *Oithona davisae*, *Acartia clausi* и *A. tonsa*, *Tisbe furcata*, *Harpacticus littoralis* *Arctodiaptomus salinus*, *Calanipeda aquaedulcis* и *Moina* spp. (Khanaichenko, 1990; Khanaichenko et al., 1994; Khanauchenko et al., 1998; Ханайченко, Битюкова, 1999; Аганесова, 2011; Ханайченко, 2017; Новоселова, Туркулова, 2012; Drapun, Khanauchenko, 2019) (рис. 4.6).

Кормовые организмы, используемые при интенсивном культивировании личинок рыб рода *Scophthalmus*. При интенсивной технологии используются зоопланктонные организмы неморского происхождения. Метод основан на последовательном кормлении личинок (до перехода на инертные корма) двумя стандартными культивируемыми при высокой плотности организмами – солоноватоводными коловратками *Brachionus plicatilis* Muller и жаброногими ракообразными из солёных озёр – разными видами рода *Artemia* (Lavens, Sorgeloos, 1996).

Солоноватоводные коловратки *Brachionus plicatilis* Muller (рис. 4.6.6–4.6.7).

Использование для кормления личинок морских хищных рыб (при интенсивном методе выращивания) живых кормов, нетипичных для естественной морской среды их обитания (солоноватоводных коловраток и науплиев и метанауплиев артемий из солёных озёр), обуславливается их технологичностью, а именно возможностью одновременного неограниченного получения массового количества живых кормов однородного размера и однородного биохимического состава. Это возможно благодаря высокой удельной скорости роста (до 1,5 сут⁻¹) искусственных партеногенетических популяций коловраток *B. plicatilis*, которых выращивают в условиях монокультуры при кормлении их микроводорослями, дрожжами и/или специализированными промышленными смесями преимущественно в накопительных культурах при плотности 200–400 экз. мл⁻¹ в полупроточных условиях (Ханайченко, 1988). При выращивании коловраток в ультрасовременных дорогостоящих проточных культиваторах с мембранными фильтрами возможно содержание ультраплотных интенсивных культур (до 160 тыс. экз. мл⁻¹) (Yoshimatsu, Hossain, 2014). Размерные характеристики коловраток *Brachionus plicatilis* варьируют в зависимости от клона; длина ювенильных коловраток может быть от 120 мкм, а взрослой самки – до 290 мкм (Snell, Carrillo, 1984).

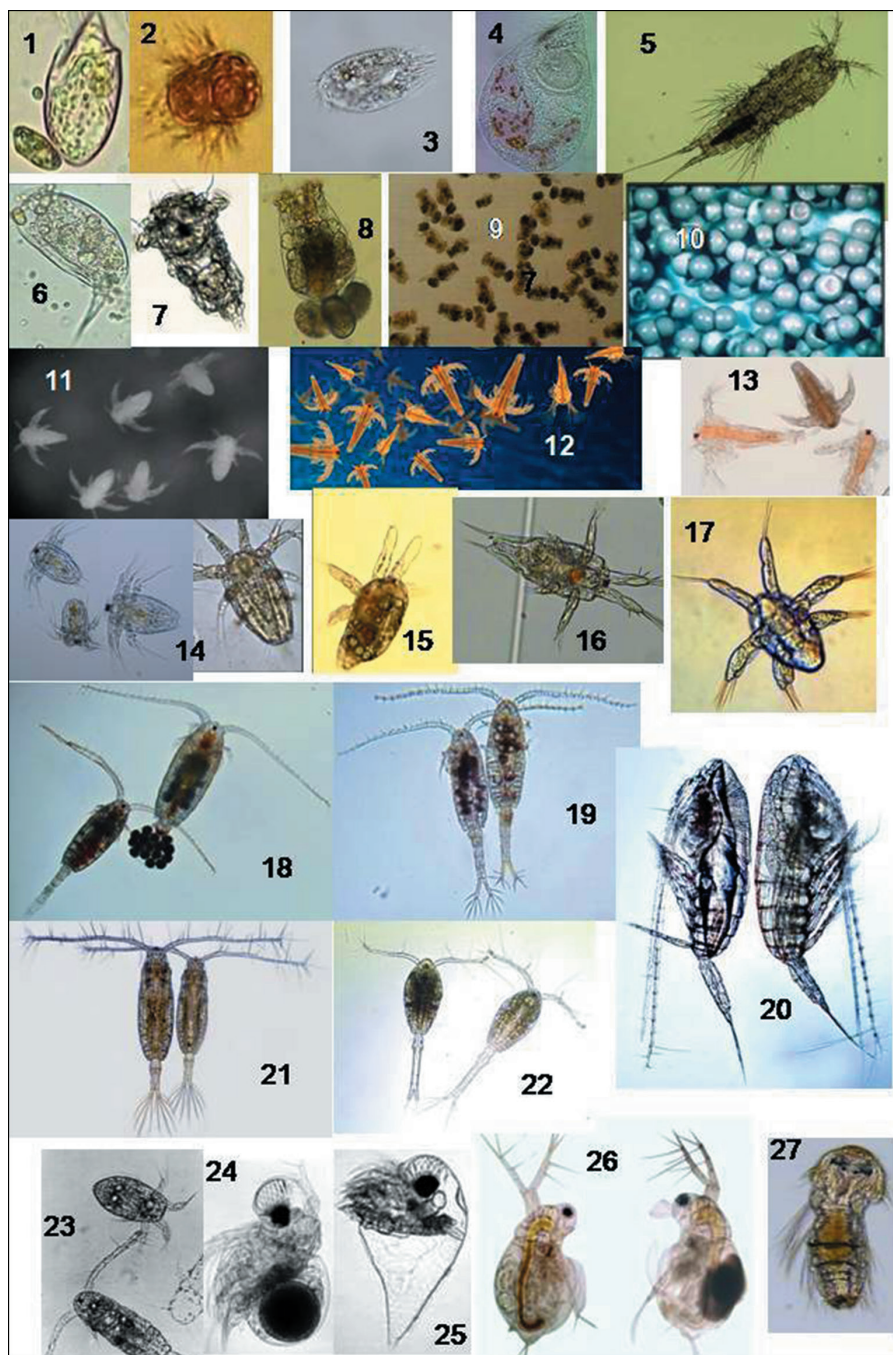


Рис. 4.6. Живые кормовые объекты личинок рода *Scophthalmus*: 1. *Oxyrrhis* sp., 2. *Mesodinium rubrum*, 3. *Euplotes* sp. 4. *Fabrea salina* 5. *Harpacticus littoralis* 6. *Colurella colurus* 7. *Synchaeta Cecilia*, 8. - 9. *Brachionus plicatilis*, 10. цисты артемий, 11. науплии *Artemia sinica*, 12. - 13. метанауплии *Artemia* sp., 14. науплии *Oithona davisae*, 15. науплии *Arctodiaptomus salinus*, 16. науплии *Calanipeda aquaedulcis*, 17. науплии *Calanus hegolandicus*, 18. самка и самец *Arctodiaptomus salinus*, 19. самка и самец *Calanipeda aquaedulcis*, 20. самка и самец *Calanus euxinus*, 21. самка и самец *Acartia tonsa*, науплий и копепоидит, 22. самка и самец *Oithona davisae*, 23. науплий и копепоидит *A.tonsa*, 24. *Podon* sp. 25. *Evadne* sp. 26. Амиктическая (с партеногенетическими яйцами) и миктическая (с эфиппиумами) самки *Moina* sp. 27. личинка полихеты

Ракообразные: артемии *Artemia* spp. (Crustacea, Anostraca).

Для кормления личинок используют науплиев артемий разных видов, которых обычно получают путём инкубации промышленно заготовленных консервированных цист (диапаузирующих яиц - эмбрионов) (рис. 4.6.8), добываемых в массовых количествах в многочисленных солёных озерах по всему миру. Большую часть их годовой продукции (90%, что составляет 2–3 тыс. тонн) добывают в Больших Солёных озёрах (штат Юта, США; Great Salt Lakes, Utah, USA). Несмотря на то, что во многих (преимущественно устаревших) литературных источниках часто употребляется латинское название *Artemia salina* (название вида, распространённого на незначительных территориях исключительно в Греции и в Северной Африке), большинство вариаций артемий, продающихся в консервированном виде аквакультурной промышленностью, не принадлежит к этому виду (Bossier et al., 2004).

Современные генетические исследования показали, что разные виды рода *Artemia* могут представлять как ди-, три-, тетра- и пентаплоидные партеногенетические популяции *A. parthenogenetica*, так и бисексуальные виды: *A. franciscana franciscana*, *A. franciscana monica*, *A. franciscana sp.*, *A. persimilis*, *A. salina*, *A. urmiana*, *A. sinica* или другие, не окончательно определённые виды. В солёных озёрах Крыма пока найдены партеногенетические популяции двух видов артемий: *A. parthenogenetica* и *A. urmiana* (Abatzopoulos et al., 2009).

Использование артемий обусловлено их мягким наружным скелетом и медленным плаванием в толще воды и, соответственно, легкой доступностью для личинок рыб; и особенно благодаря возможности получения в короткие сроки инкубации большого количества науплиев (около 24 ч) и метанауплиев (через 24+8/18 ч) (Белозёрова, Рауэн, 2011; Смирнов и др., 2018), необходимых для синхронного кормления большой партии личинок. Ценность науплиев и метанауплиев артемий как кормового объекта в ларвикультуре морских рыб определяется также их высокой калорийностью (Шишкина и др., 2007), и варьирующим, но высоким содержанием белка (37–71% в зависимости от вида и клона, в среднем 60%) (Lavens, Sorgeloos, 1996).

Размер науплиев артемий варьирует в зависимости от вида и разновидности и влияет на их доступность личинкам в период перехода в питание от коловраток к артемиям. На промышленно заготовленных упаковках, доступных на рынке сухих цист артемий часто не указывают биологический вид, в лучшем случае страну или фирму-производителя, поэтому перед использованием науплиев, полученных из цист, необходимо определение характеристик (процент, скорость и синхронность выклева, размеры науплиев на выклеве и скорость их роста и размеры метанауплиев), и, по возможности, их химический состав.

Длина науплиев артемий на выклеве варьирует в пределах 350–500 мкм в зависимости от вида, места происхождения и, частично, от партии. Так, размеры науплиев *A. urmiana* составляют 485 ± 43 мкм (Jamali et al., 2015). При начальном кормлении личинок тюрбо часто применяют науплиев артемий под торговой маркой *Argentaria*, имеющих размеры на выклеве 471 ± 20 мкм (Planas, Cuhna, 1996).

Размерные характеристики полученных из заготовленных цист науплиев, успешно применявшихся для экспериментального кормления личинок калкана, варьируют в зависимости от вида и места их промышленного сбора и заготовки. Так, длина науплиев артемий из Китая (*A. sinica*) составляет 400 ± 5 мкм, южно-сибирских (*A. parthenogenetica*) – 425 ± 9 мкм (Белозёрова, Рауэн, 2011), из крымских солёных озёр (предположительно *A. parthenogenetica*) – 473 ± 11 мкм (Смирнов и др., 2018).

При интенсивном выращивании личинок рода *Scophthalmus* кормление артемиями начинается при использовании разных технологий либо в возрасте 9–10 сут науплиями (рис. 4.6.9), либо, начиная с 12–13 сут метанауплиями артемий в возрасте 1–2 сут, насыщенными искусственными смесями (рис. 4.6.10–4.6.11). Личинки калкана в диапазоне возраста от 9 до 14 сут переходят от единичных заглатываний науплиев артемий на преимущественное питание ими (рис. 4.7А).

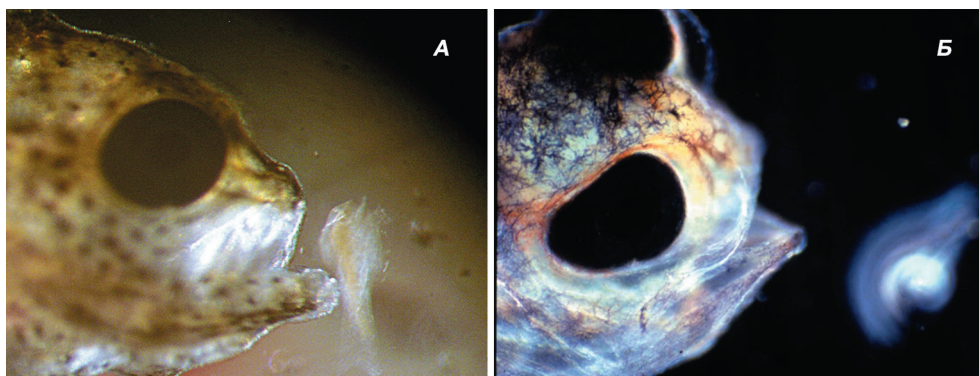


Рис. 4.7. Личинка калкана во время захвата метанауплиуса артемии (слева, фото Рауэн Т.В.). Личинка тюрбо во время отторжения *Fabrea salina* (справа, фото Ханайченко А.Н.)

Коловратки и артемии, используемые в качестве живых кормов при стандартных интенсивных технологиях (в этой книге мы не останавливаемся подробно на методах их культивирования) удобны из-за отсутствия аутоингибирования при содержании в условиях высокой плотности. Однако, в связи с тем, что эти организмы являются исходно пресноводными, в их биохимическом составе отсутствует докозагексаеновая жирная кислота (ДГК), незаменимая для личинок рыб рода *Scophthalmus*. Поэтому их необходимо насыщать (инкапсулировать) смесями, содержащими ДГК, либо микроводорослями, содержащими их в достаточном количестве (Kjørsvik et al., 1991; Minkoff, Broadhurst, 1994).

Насыщение артемий возможно только со стадии метанауплиев, когда они начинают питаться экзогенно, и, по мере развития личинок, используют 1–2-суточных насыщенных артемий. Тем не менее значительного усвоения метанауплиями артемий ДГК не происходит, так как она быстро катаболизируется растущими метанауплияльными стадиями артемий до эйкозапентаеновой жирной кислоты (20:5n-3, ЭПК) и полностью исчезает из их организма через 6 часов после извлечения артемий из насыщающей суспензии (Olsen, 2004).

Поэтому использование инкапсулированных ДГК артемий необходимо осуществлять в короткие сроки после насыщения.

Альтернативные кормовые организмы, используемые при экстенсивном выращивании личинок рыб рода *Scophthalmus*. При экстенсивной технологии выращивания обычно получают молодь камбалообразных наилучшего качества, так называемого «дикого» типа, активных, с минимумом аномалий развития, в результате их питания смесью «дикого» природного планктона, отловленного из моря или культивируемых морских организмов (Khanaichenko, 1990), или планктона из солоноватоводных озёр (Новосёлова, Туркулова, 2012), в состав которого входят инфузории, коловратки, различные стадии каланоидных и гарпактикоидных копепод и кладоцер. Иногда применяют выращивание личинок в мезокосмах или естественных преобразованных фьордах, в которых развивается естественное или искусственно индуцированное планктонное сообщество (Berg et al., 1985; Danielsen et al., 1990; Van der Meeren, 1991; Jepsen et al., 2017).

Однако, периодический отлов или искусственно индуцированная «вспышка» естественного планктона в большой степени зависят от варьирующих природных условий и не гарантируют стабильного состава, количества и качества кормов. Альтернативой получения массового количества необходимых морских планктонных организмов является их культивирование, либо в виде поликультур (с трудно контролируемой сменой таксонов) (Новосёлова, Туркулова, 2012), либо в виде контролируемых моновидовых культур (Ханайченко, 1999; Ханайченко, 2015; Аганесова, 2011). Наиболее успешными разработками массового культивирования морских копепод были осуществлены для рода *Acartia* (Stottrup, 1986; Khanaichenko, 1990; Khanaichenko, et al., 1994; Urup, 1994; Øie et al., 2017).

Среди большого спектра потенциальных кормовых организмов, выделенных из природной среды, которые, согласно их размерным характеристикам и возможностям их массового моновидового культивирования, были проанализированы относительно возможности их использования в качестве пищевых объектов для личинок камбал на разных этапах развития, наиболее известны следующие организмы: инфузории (*Fabrea salina*, *Euplotes* spp., *Mesodinium rubrum*), морские коловратки (*Synchaeta cecilia*; *Colurella colura*), морские кладоцеры (*Podon* sp., *Evadne* sp.), солоноватоводные кладоцеры (*Moina salina*), гарпактикоидные копеподы (*Cletocamptus retrogessus*, *Harpacticus littoralis*, *Tisbe furcata*, *Longipedia* sp.) (Ханайченко, 1996), морские каланоидные копеподы *Acartia clausi*, *A. tonsa* (Ханайченко, 1990; 1999), *Calanus euxinus* (Ханайченко и др., 2001; Ханайченко, 2005), солоноватоводные копеподы *Calanipeda aquaedulcis* и *Arctodiaptomus salinus* (Аганесова, 2011; Svetlichny et al., 2012) и морские циклопоидные копеподы (*Oithona davisae*) (Khanaychenko et al., 2018; Drapun, Khanauchenko, 2019).

Размерные характеристики всех приведенных выше видов живых кормов – планктонных беспозвоночных вписываются в размерный диапазон потенциальных жертв личинок калкана на разных этапах развития (табл. 4.1).

Табл. 4.1. Морфометрические характеристики живых кормов, использованных для экспериментального кормления личинок калкана и возможности их культивирования.

Систематическое положение	Длина организма (мкм)		Культивирование, источник (автор, год)
	min	max	
CILIATA			
<i>Fabrea salina</i>	80	350	Ханайченко, 1996
<i>Euplotes</i> spp.	80	350	Новосёлова, Туркулова, 2012
<i>Mesodinium rubrum</i>	75	100	Новосёлова, Туркулова, 2012
ROTIFERA			
<i>Synchaeta cecilia</i>	100	170	Ханайченко, неоп.
<i>Colurella colurus</i>	50	100	Ханайченко, неоп.
<i>Brachionus plicatilis</i>	140	280	Ханайченко, 1988
CRUSTACEA			
Cladocera			
<i>Moina salina</i>	400	1200	Khanauchenko, 1994
<i>Podon</i> sp.			из моря
<i>Evadne</i> sp.			из моря
Copepoda: Calanoida			
	min N1	max C6	
<i>Acartia clausi</i>	110	1200	Ханайченко, 1990; 2018
<i>Acartia tonsa</i>	100	1000	Ханайченко, 1999; 2018
<i>Calanus euxinus</i>	220	3100	Ханайченко, 2007
<i>Calanipeda aquaedulcis</i>	120	1000	Аганесова, 2011
<i>Arctodiaptomus salinus</i>	170	1500	Аганесова, 2011
Copepoda: Harpacticoida			
<i>Cletocamptus retrogressus</i>	75	510	Ханайченко, не опубликовано
<i>Harpacticus littoralis</i>	80	750	Ханайченко, не опубликовано
<i>Tisbe furcata</i>	60	900	Ханайченко, не опубликовано
Copepoda: Cyclopoida			
<i>Oithona davisae</i>	75	800	Drapun, Khanauchenko, 2019
Anostraca			
<i>Artemia</i> sp. науплии метанауплии	300 700	500 900	Белозёрова, Рауэн, 2011; Смирнов и др., 2018

Инфузории (Ciliophora)

Евригалинные инфузории рода *Euplotes* (Ciliophora, Hypotrichia) (см. рис. 4.6.3). Ряд исследователей рассматривают возможность питания ранних личинок калкана инфузориями рода *Euplotes* (Новосёлова, Туркулова, 2012), популяции которых быстро развиваются в условиях повышенного содержания органики в среде с высокой концентрацией бактерий. Однако наши исследования (нео-

публ., 2010) показали, что присутствие *Euplotes* spp., имеющих тигмотаксис и тяготеющих к распределению на поверхностной плёнке воды или на стенках бассейнов, приводит к заглатыванию их с поверхности воды при переходе личинок на внешнее питание, совпадающем с периодом начального заполнения плавательного пузыря. При незакрытом воздушном протоке это приводит к попаданию живых *Euplotes* spp. в заполняющийся плавательный пузырь личинок, и, как следствие, к быстрой гибели личинок. Более того, присутствие в системах выращивания инфузорий рода *Euplotes* обычно приводит к нежелательному снижению pH среды выращивания.

Морские инфузории *Mesodinium rubrum* Lohmann 1908 (= *Myrionecta rubra* Jankowski 1976).

Морские инфузории (рис. 4.6.2) могут быть эффективным начальным кормом, о чём свидетельствует их успешное использование (в смеси солоноватоводных прудовых организмов) при кормлении личинок калкана в условиях экстенсивного выращивания в 300 м³ мезокосмах (Новосёлова, Туркулова, 2012). Потребление ранними личинками некоторых морских рыб (в том числе камбалы *Platichthys flesus*) крупных планктонных инфузорий, включая *M. rubrum*, может достигать 32–80%; однако личинки другого вида камбалообразных, *Limanda limanda*, в начале питания предпочитали инфузориям динофлагеллят (De Figueiredo et al., 2007).

Инфузории солёных водоёмов *Fabrea salina* Henneguy 1890 (Ciliophora, Heterotrichida) (см. рис. 4.6.4)

Некоторые исследователи предлагают использовать *Fabrea salina* в аквакультуре рыб в качестве перспективных живых кормов (Ануфриева, 2015; Нотос, 2021). Действительно, инфузории *F. salina* легко культивируются, им присущи высокие скорости роста численности популяций в культуре (до 1,3 сут⁻¹) при питании широким спектром разных микроводорослей, они распределяются равномерно по толще водной массы, передвигаются со скоростью, сопоставимой со скоростью атаки ранних личинок калкана, а их размерный диапазон (см. табл. 4.1) совпадает с оптимальными размерами жертвы для личиночных стадий рыб рода *Scophthalmus* (Ханайченко, 1996). Тем не менее, наши эксперименты по кормлению и тюрбо, и калкана инфузориями *F. salina* (при их концентрации в среде 1–5 экз. мл⁻¹), показали, что личинки при переходе на внешнее питание действительно сначала пытаются отлавливать данных инфузорий. Однако, после попадания *F. salina* в ротовую полость у личинок нарушается их нормальное пищевое поведение, они двигаются атипично хаотично, «выплывают» *F. salina* и в дальнейшем их избегают (см. рис. 4.7) (Ханайченко, неопубл.), что связано, по-видимому, из-за присутствия в этих инфузориях негативного для личинок механического, и/либо химического раздражителя/компонента. Личинки и тюрбо и калкана при высокой концентрации *F. salina* в бассейнах для выращивания (в отсутствие других кормов) не переходят на внешнее питание, имеют все признаки голодающих, и при истощении запасов желтка и жировой капли погибают. Только своевременное (до наступления «точки невозврата») дополнительное кормление личинок коловратками или

науплиями копепод приводит к усиленному компенсаторному питанию личинок.

Аналогичный эффект наблюдали и для личинок *Lutjanus campechanus*, которые умирали от голода на 4 сут при обилии *F. salina* в среде выращивания, но выживали при дополнительном кормлении науплиями копепод (Rhodes, Phelps, 2008). Ранние личинки разных видов спаровых (*Diplodus sargus*, *D. vulgaris*, *Sparus aurata*) также сначала хватали, но затем срыгивали и в дальнейшем избегали *F. salina* (Kentouri and Divanach, 1982).

Более того, жирнокислотный состав *F. salina* абсолютно не подходит для кормления личинок морских рыб, особенно камбалообразных, в связи с тем, что даже при их выращивании на микроводорослях *Isochrysis galbana*, в жирнокислотный состав которой входит 22% ПНЖК, преимущественно ДГК, в составе этих инфузорий из незаменимых жирных кислот присутствует только линоленовая кислота, которая абсолютно не может быть трансформирована личинками в необходимые им ДГК и ЭПК (Pandey et al., 2004).

Предположения о возможности эффективного использования данного вида инфузорий в качестве живых кормов в аквакультуре (Ануфриева, 2015; Notos, 2021) не могут основываться исключительно на размерных характеристиках корма, но должны непременно включать экспериментальные работы по питанию и этологии личинок рыб, а также внимательный анализ специализированной литературы по аквакультуре.

Коловратки (Rotifera).

Псаммофильные морские коловратки *Colurella colurus* Ehrenberg, 1830, (Plumida: Lepadellidae) (см. рис. 4.6.6). размножаются партеногенетически, имеют высокие темпы развития, идеально подходят по размерным характеристикам (Khanauchenko, 2018) для перехода на внешнее питание самых ранних стадий морских рыб, включая личинок султанки (Владимирцев, Ханайченко, неопубл.). Однако, по размерным характеристикам этих коловраток (см. табл. 4.1) их можно рекомендовать использовать в качестве корма именно в начале перехода калкана на смешанное питание для повышения выживаемости ранних личинок.

Некоторые виды морских планктонных коловраток например, рода *Synchaeta* (Monogononta: Synchaetidae) (см. рис. 4.6.7), в частности, *Synchaeta cecilia* в оптимальных условиях экспериментального культивирования размножаются партеногенетически (Egloff, 1988) при скорости удельного роста ~ 0.5 сут⁻¹ и являются идеальным кормовым организмом для личинок калкана на ранних этапах развития (Khanaichenko et al., 1994) по размерным характеристикам и равномерному распределению в водной толще, и их наиболее активное потребление приходится на 7–8 сут.

Ракообразные (Crustacea).

Размерные характеристики (см. табл. 4.1) всех стадий копепод (Copepoda: Calanoida (*Arctodiaptomus salinus* (см. рис. 4.6.13 и 4.6.16), *Calanipeda aquaedulcis* (см. рис. 4.6.14 и 4.6.17), *Calanus hegolandicus* var. *euxinus* (см. рис. 4.6.15 и 4.6.18),

Acartia clausi, *A. tonsa* (рис. 4.6.19 и 4.6.21); Copepoda: Cyclopoida (*Oithona davisae*) (см. рис. 4.6.12 и 4.6.20); Copepoda: Harpacticoida (*Tisbe furcata*, *Harpacticus littoralis* (см рис. 4.6.5), *Cletocamptus retrogressus*) соответствуют размерному диапазону потенциальных жертв личинок рода *Scophthalmus* на разных этапах развития (табл. 4.2). Методы их использования для кормления личинок калкана (Ханайченко и др., 2010; 2016), а также методы их культивирования на протяжении множественных (более чем 20) генераций, и получения и хранения их покоящихся яиц защищены патентами РФ (Ханайченко, 2015; 2017; 2018).

Размерный диапазон (60–900 мкм) всех стадий культивируемых гарпактикоидных копепод (*T. furcata*; *C. retrogressus* и *H. littoralis*) соответствует размерному диапазону потенциальных кормовых организмов личинок калкана; их науплиальные стадии *длительный период времени* передвигаются в водной толще; скорости движения совпадают с потенциальными скоростями передвижения личинок калкана III–V этапа, копеподитные – с личинками VI–VIII этапов развития.

При культивировании гарпактицид *C. retrogressus* и *H. littoralis* в условиях монокультур нами были получены высокие плодовитость и темпы роста данных видов копепод и их быстрая адаптация и длительное существование в выростных бассейнах. Но из-за их преимущественного тигмотаксиса, а также специфического метаболизма и предпочтительного питания зелеными микроводорослями и детритом, и несоответствующего потребностям личинок камбалообразных жирнокислотного состава, они не могут считаться оптимальными кормовыми организмами для пелагических личинок калкана, однако, могут потребляться личинками при условии культивирования в поликультуре.

Науплиям морских гарпактицид рода *Tisbe* (например, *Tisbe furcata*), присуще высокое содержание ЭПК (2.0 нг, 20% ЖК) и ДГК (3.3 нг, 33% ЖК) при соотношении ДГК/ЭПК=1,6, сопоставимое с таковым у науплиев акарций (Drillet et al., 2006); и они могут быть рекомендованы в качестве дополнительного кормового объекта. Преимуществом данных копепод являются высокая плодовитость, короткое время генерации и нахождение науплиальных и копеподитных стадий в толще воды (Ханайченко, неопубл.).

Наиболее оптимальны в качестве живых кормов для личинок рода *Scophthalmus* морские каланоидные копеподы рода *Acartia* (*A. clausi* и *A. tonsa*) (100–1100 мкм), интенсивное культивирование которых в ИнБЮМ было начато в 1989 г. (Ханайченко, 1989). Культивируемые акарции характеризуются не только высокой плодовитостью, хорошей выживаемостью и коротким временем генерации (Ханайченко, 1999), но и идеальным временным совпадением в развитии по размерным характеристикам разных стадий, соответствующих последовательным этапам развития личинок (Khanaichenko, 1990; Ханайченко, Битюкова, 1999), а также оптимальным для личинок жирнокислотным составом (Khanauchenko et al., 1998).

В качестве комплементарных кормовых организмов они неоднократно были апробированы при экспериментальном массовом выращивании личинок калкана (Bityukova et al., 1990; Khanaichenko et al., 1994; Ханайченко, Битюкова,

2007; Шишкина и др., 2007; Ханайченко и др., 2016). При питании акарциями (или при использовании их как дополнительного корма в период кормления коловратками и артемиями) личинки калкана проходят метаморфоз без аномалий: у них происходит правильное скелетообразование и миграция глаза, и развивается характерная для калкана пигментация (Ханайченко, Битюкова, 2007).

В настоящее время в европейских странах, несмотря на развитую индустрию технологичных живых кормов (коловраток и артемий) для интенсивной ларвiculture ценных пород морских рыб, происходит параллельное развитие промышленности по интенсивному производству каланоидных копепод, базирующееся на разработках хорошо финансируемых научно-технических проектов и основанное на экономических выкладках о том, что себестоимость качественных мальков тюрбо, выращенных на культивируемых копеподах может быть ниже себестоимости аналогичных мальков, выращенных на коловратках и артемиях (Abate et al., 2016).

Разработан также метод получения синхронных возрастных когорт (от науплиев до взрослых стадий) крупных морских каланоидных копепод *Calanus euxinus* (см. рис. 4.6.15 и 4.6.18) (Ханайченко, 2007; Ханайченко, 2015), размерный спектр (см. табл. 4.1), биохимический состав и пространственное распределение которых оптимально подходят для питания личинок калкана на разных стадиях развития. Но интенсификации их массового производства препятствует длительное время их генерации (минимум 20 сут) и необходимость больших объемов выращивания ($> 2 \text{ м}^3$) при низкой плотности с поддержанием температурного режима не выше 15–18°C. Поэтому при искусственном выращивании может быть рекомендовано использование только науплиальных стадий калянуса для улучшения качества личинок в предметаморфозный период.

Солоноватоводные каланоидные копеподы *A. salinus* (рис. 4.6.13 и 4.6.16) и *C. aquaedulcis* (рис. 4.6.14 и 4.6.17) были успешно апробированы в качестве живых кормов для личинок калкана на разных стадиях развития, начиная с 1990-х годов (Khanaichenko, 1990; Khanaichenko et al, 1994; Новосёлова, Туркулова, 2012). Экспериментальные исследования биологических характеристик, питания и размножения этих копепод (Аганесова, 2013) позволили разработать методику их массового полуинтенсивного выращивания в моно- и поликультурах (Аганесова, 2014) для применения в качестве перспективных культивируемых массовых дополнительных живых кормов при полу-интенсивном культивировании личинок рыб. Адекватность их размерных характеристик и химического и каротиноидного состава (Ханайченко и др., 2014) потребностям личинок калкана подтверждает успешное использование данных видов (в составе смеси зоопланктона из солоноватоводных озёр) для экстенсивного выращивания личинок калкана в мезокосмах (Новосёлова, Туркулова, 2012).

Разработаны методы лабораторных монокультур копепод черноморских видов-вселенцев циклопоидных копепод *O. davisae* (Khanaychenko et al., 2018; Драпун, Ханайченко, 2018). Кормление личинок калкана *O. davisae* в условиях культивирования пока не апробированы, однако высокие индексы наполнения

кишечников ранних личинок рыб в море этими копеподами в период их массового развития (Вдодович и др., 2017) обуславливают перспективность ойтон в качестве живого корма для эффективного раннего перевода на внешнее питание личинок морских рыб, включая калкана.

В естественных условиях личинки калкана питаются смесью планктонных каланодных копепод и кладоцер, обеспечивающих их нормальное развитие. В связи с недостаточной изученностью биологии питания морских кладоцер (*Penilia* spp., *Podon* spp. (см. рис. 4.6.22), *Evadne* spp. (см. рис. 4.6.23), *Pleopis* spp.) (Egloff et al., 1997) методы их культивирования до настоящего времени не разработаны. Однако, в ларвикультуре морских рыб можно успешно использовать галофильных кладоцер, *Moina salina* Daday, 1888 (синоним *Moina mongolica* Daday, 1901, He, 1987) (Crustacea: Branchiopoda: Cladocera: Moinidae) (см. рис. 4.6.24), для которых характерен циклический партеногенез, характеризующийся разделением бесполой (иначе, однополой, а именно, партеногенетических самок) и половой (миктических самок и самцов) фаз размножения (Hebert, 1978). Размеры моин (длина карапакса от 400 мкм у ювенильных особей и до 1250 мкм у половозрелых), их масса ~ 0.25 мг, содержание белка не менее 50%, а незаменимой, эссенциальной для роста аминокислоты метионина ~1.5% (Qian et al., 2016) полностью удовлетворяют потребностям личинок, и рекомендовано их использование для кормления личинок калкана в возрасте от 20 до 45 сут способствует более быстрому достижению ими большей массы тела к началу перехода на питание инертными кормами, и, соответственно, повышает скорость их роста и улучшает их выживаемость в течение периода метаморфоза (Ханайченко, 2021, в печати).

4.7. Пищевое поведение личинок калкана на разных этапах развития

Изменение пищевого поведения личинок калкана, состава их пищевого комка, длительности и степени переваривания жертв, избирательности от начала внешнего питания до завершения метаморфоза в смесях культивируемых организмов и зоопланктона естественного морского и солоноватоводного происхождения в зависимости от состава и плотности жертв, изучали в экспериментальных бассейнах объемом от 50 л до 3 м³ при естественном фотопериоде и освещении в присутствии разнообразных живых кормовых зоопланктонных организмов (Bityukova et al., 1990; Khanaichenko, 1990; Khanaichenko et al., 1994; Ханайченко, Битюкова, 1999; Ханайченко и др., 2000; Ханайченко, Битюкова, 2007) (табл. 4.2).

В период смешанного питания (III этап развития, 3–7 сут, при длине 3.5–4.5 мм) личинки калкана в присутствии смеси различных потенциальных кормовых организмов сначала пытаются атаковать науплиев копепод акарций (100–300 мкм), однако, после 3–4 неудачных попыток прекращают их преследование. Исключение составляют малоподвижные ранние науплии калянуса (~ 210 мкм).

Наиболее предпочитаемыми кормовыми объектами на III этапе развития оказываются коловратки *B. plicatilis* (80–95%) и в небольшом количестве, *C. colura*.

Ранние науплиальные стадии акарций, несмотря на подходящие размеры, не превышают 10% пищевого комка личинки. С переходом к исключительно экзогенному питанию (IV этап, 7–13 сут, 4.2–5.6 мм), спектр предпочитаемых личинками кормовых объектов расширяется.

Кроме коловраток *B. plicatilis* (50%) в пищевом комке личинок обнаруживаются более скоростные коловратки *Synchaeta* (10%), науплиальные стадии гарпактикоидных (10–15%) и каланоидных (20–25%) копепод, и в конце этапа у отдельных личинок – науплии артемий. К окончанию V этапа развития, (14–16 сут, 5.3–7.8 мм) кроме преимущественно захватываемых науплиев копепод (с предпочтением науплиев калянуса) и науплиев артемий, в пищевом комке личинок калкана обнаруживаются кладоцеры (ювенильные *Moina salina* и *Podon poliphemoides*) и копеподиты копепод.

С началом метаморфоза (VI этап, 16–19 сут, 7.1–11.0 мм) личинки калкана более активно потребляют смесь организмов: метанауплии артемий копеподитов *Acartia*, *Paracalanus*, *Oithona*, *Tisbe furcata* и кладоцер *Podon leukartii*, *Moina salina* и *Podon poliphemoides*. На VII этапе развития (20–35 сут, 11–16 мм), когда происходит перемещение глаза с вершины головы на правую сторону, и оба глаза оказываются параллельны поверхности воды, спектр питания калкана расширяется: в состав его пищевых объектов входят практически все присутствующие в мезокосме планктонные организмы (за исключением мелких коловраток и науплиев): копеподиты и взрослые стадии всех копепод, кладоцеры, планктонные личинки полихет и артемий.

Повышается селективность питания: несмотря на присутствие легко доступных метанауплиев артемий. Такие организмы как *Moina salina*, *Harpacticus littoralis*, *Tisbe furcata*, *Oithona spp.*, *Acartia clausi*, *A. tonsa* при их концентрации в выростных бассейнах сопоставимой с метанауплиями артемий – 0.1 экз. мл⁻¹, могут составлять до 60% от общей массы потребленных личинками организмов.

Табл. 4.2. Изменение пищевого предпочтения потенциальных пищевых объектов в течение разных этапов личиночного развития калкана

Этап развития личинок калкана	III	IV	V	VI	VII
Возраст, сутки после выклева	3–7	7–13	14–17	17–23	23–35
Длина (TL) личинок, мм	3.5–4.5	4.2–5.6	5.6–7.3	7–10	9–16
ВИД КОРМА					
ROTIFERA					
<i>Synchaeta</i> spp.	–	+	+	+	–
<i>Colurella colura</i>	+	+	+	–	–
<i>Brachionus plicatilis</i>	++	+++	+	+–	+–
CRUSTACEA					
COPEPODA					
<i>Acartia</i> , N1 - N6	+–	++	++	+	+
<i>Acartia</i> , C1- C6	–	–	–	++	++

<i>Calanus euxinus</i> , N1 - N6	+–	++	+++	+	+
<i>Calanus euxinus</i> , C1- C6	–	–	–	–	+
<i>Calanipeda aquaedulcis</i> N1- N6	–	+	++	++	++
<i>Calanipeda aquaedulcis</i> C1- C6	–	–	+	–	++
<i>Arctodiaptomus salinus</i> N1- N6	–	+	++	++	++
<i>Arctodiaptomus salinus</i> C1- C6	–	–	+	+	+
<i>Oithona nana</i> N1 - N6	+	+	+–	–	–
Oithona nana C1- C6	–	–	+	+	+
Oithona davisae N1 - N6	+	+	+–	–	
Oithona davisae C1- C6	–	–	–	+	+
<i>Harpacticus littoralis</i> , N1 - N6	+	+	+	+	+
<i>Harpacticus littoralis</i> , C1- C6	–	–	+	+	+
<i>Cletocamptus retrogressus</i>	–	–	–	+–	+–
<i>Tisbe furcata</i> , N1 - N6	+	++	+	–	–
<i>Tisbe furcata</i> , C1- C6	–	–	–	++	++
CLADOCERA	–	–	–	–	–
1. Podon leukartii	–	–	–	++	++
<i>Podon poliphemoides</i>	–	–	+	+	++
2. Moina salina	–	–	+	++	+++
BRANCHIOPODA	–	–	–	–	–
<i>Artemia</i> sp. N	–	++	+++	+	+–
<i>Artemia</i> sp. MN	–	–	++	+++	+++
<i>POLYCHAETA Larvae</i>	–	–	–	–	–
<i>Platynereis dumerilii</i>	–	–	+	+	++
<i>Harmotoe imbricata</i>	–	–	+	+	++

Условные обозначения: степень предпочтения + периодически захватываются; ++ часто захватываются; +++ потребляются преимущественно; +– захватываются в отсутствие другого корма), – не захватываются.

На пищевое поведение личинок калкана влияет не только вид, концентрация кормового организма в среде, но и температура. Эксперименты по питанию личинок в смеси разнородных живых планктонных организмов показали, что в при 19°C уровень пищевого поведения личинок в 19 сут ещё невысок, и в смеси планктонных организмов они питаются только метанауплиями артемии, не преследуя ни акарций, ни мойн, но с 20 сут голодные личинки уже начинают преследовать мойн. При 21°C личинки калкана в 18-суточном возрасте, помимо артемий и ранних копеподитов акарции, уже успешно захватывают ювенильные стадии мойн; а самые крупные личинки пытаются охотиться за взрослыми акарциями, однако их пищевые атаки не завершаются успехом.

В возрасте 3–4 сут личинки в состоянии захватывать зоопланктонные организмы в размерном диапазоне ширины 50–250 мкм. Однако смесь различных разноразмерных организмов в начале перехода на внешнее питание в период

адаптации дезориентирует личинок, и интенсивность их питания может оказаться ниже, чем при такой же плотности кормов однородного размера. Поэтому для оптимизации и синхронности перехода на внешнее питание и синхронизации роста одновозрастных личинок в интенсивных системах выращивания рекомендуется использовать для личинок длиной $SL < 4$ мм мелкие фракции живых кормов, а при достижении ими длины $SL > 5,5$ мм полностью переводить на кормление более крупными организмами.

4.8. Изменение пищевого поведения личинок калкана под влиянием типа пищи и температуры

В возрасте 19 сут при 21°C в присутствии артемий личинки калкана переходят к избирательной «охоте» за моинами, и отлавливают их со скоростью 6 экз. ч^{-1} , независимо от их концентрации в среде. При 21°C в возрасте 20 сут личинки, в связи с начавшейся миграцией глаза, начинают плавать наклонно (под углом), и в этом положении успешно охотятся на моин любого возраста. Успешные атаки, завершающиеся поимкой взрослых акарций, начинаются только с 22 сут, в конце VII – начале VIII этапа развития, когда относительные размеры глаза калкана достигают максимума, и личинки после захвата копепод ложатся на дно для переваривания пищи.

Когда уровень развития зрительной, нервной и мышечной систем (к конечной фазе миграции глаза) позволяет личинкам калкана развивать скорости точного броска при преследовании жертв до 20 см/сек, превышающую скорость избегания хищников у взрослых копепод *Tisbe* и *Acartia* (собств. данные), личинки начинают охотиться за ними избирательно, и все их пищевые атаки завершаются 100% успехом. Относительные размеры глаза достигают максимума на 20–25 сутки после выклева, и в этот период в питании личинок преобладают копеподы и кладоцеры.

Личинки калкана, переходящие к VII этапу развития, начинают питаться не постоянно, как в возрасте с 3 до 20 сут, а потребляя более крупные порции пищи за короткий промежуток времени и переваривая её более длительный период времени. Максимальный часовой рацион (по сырой массе) калкана к концу VII этапа развития (TL ~15 мм) во время пика активности дневного питания составил 9.9 мг при питании копеподами акарции (207 экз.), 15.6 мг метанауплиев артемий (1200 экз.) и до 25 мг *Moina salina* (100 экз.) (табл. 4.3).

При снижении концентрации акарций на порядок с 5.0 до 0.5 экз. мл^{-1} скорость их потребления личинками снижалась на 44%, а снижение температуры на 5°C (с 23 до 18°C) при концентрации акарций 5 экз. мл^{-1} снижало скорость их потребления личинками на 78%.

Табл. 4.3. Скорость потребления пищевых организмов калканом на VII этапе

Вид корма	t°C	Плотность жертв (экз. мл ⁻¹)	Среднее кол-во пойманных жертв/личинку (экз. лич ⁻¹ час ⁻¹)	Общая масса потреблённой пищи (мг)
Моины	23	0,5	100	25
Метанауплии артемий	23	5,0	1200	15,6
Акарции	23	5,0	204	9,8
Акарции	18	5,0	114	5,4
Акарции	18	0,5	79	3,8

Пищевое поведение личинок калкана на позднем VII этапе развития по отношению к разным живым кормам, различавшихся по их форме, длине, весу, скорости и типу движения оказалось сходным, как при экспозиции личинок на отдельных кормовых организмах (метанауплии артемий, моин и акарций), так и в смеси этих живых кормовых объектов. При наличии одного вида кормового организма (или в присутствии всех трёх) личинки калкана отлавливали быстрее всего (или в первую очередь) самых крупных и медленно уходящих от преследования жертв – моин (средняя масса 200 мкг), затем более мелких и пассивно движущуюся артемию (12 мкг), и за более длительный срок (или в последнюю очередь) – высокоскоростную жертву, акарций, развивающих скорость ухода от преследования до 20 см сек⁻¹. Возможно, селекция пищевых объектов по максимальному размеру и минимальной скорости передвижения в первую очередь связана с экономией энергетических ресурсов личинок.

Длительность и качество переваривания пищи личинками значительно варьирует в зависимости не только от возраста, развития пищеварительной системы, интенсивности питания, от температуры, но и от пищевого объекта. Несмотря на то, что пищеварительная и ферментативная системы калкана полностью функциональны к концу первого месяца (Битюкова, 1986), наши наблюдения косвенно свидетельствуют о том, что в отличие от артемий (содержащих высокое большое количество липидов с высокой долей триацилглицеридов), копеподы и кладоцеры более соответствуют уровню развития пищеварительной системы и потребностей личинок калкана.

Качественный визуальный контроль за перевариванием трёх кормовых организмов (метанауплиев артемий, каланоидных копепоид *Acartia clausi* и кладоцер *Moina micrura*) личинками калкана на позднем VII этапе развития показал различия не только в скорости потребления разных организмов, но и в скорости прохождения через пищеварительный тракт и степени переваривания разных объектов. При одновременной экспозиции однородных групп личинок калкана (VII этап) после питания по отдельности артемиями (1), акарциями (2) и моина-

ми (3), первые фекальные пеллеты сначала были получены от рыб, питавшихся артемиями (1), затем у тех, которые питались копеподами (2), и в последнюю очередь, у тех личинок, которые питались кладоцерами (3).

В фекальных пеллетах (2) и (3) варианта пищевые объекты были полностью переварены, и обнаруживались только пустые хитиновые оболочки ракообразных. Напротив, в фекальных пеллетах личинок (1), питавшихся артемиями, преобладали полупереваренные рачки. В фекальных пеллетах личинок калкана, питавшихся смесью данных кормовых организмов (1+2+3), наблюдали аналогичную степень перевариваемости пищевых объектов. Кроме того, при питании смесью кормовых организмов был обнаружен эффект «проскальзывания» первыми артемий. В то время как акарии и моины задерживались в отдельных участках пищеварительного тракта более длительный период времени, и при этом происходило их более длительное и более полное переваривание, артемии проходили через пищеварительный тракт как бы «проскальзывая».

Наши наблюдения сходны с особенностями переваривания артемий и копепод личинками трески, питавшихся смесью кормовых организмов. Для личинок трески также было отмечено, что в то время как после поглощения личинками артемии сразу перемещаются в кишечник, копеподы останавливаются перед входом в кишечник, что предположительно связано с выделением определённых энзимов, необходимых для их переваривания (Pedersen, 1984). При выращивании в экстенсивной системе выращивания у личинок калкана в возрасте 15–30 сут также были обнаружены различия в длительности переваривания разных пищевых объектов, составившей для остракод 2 ч, а для копепод – до 4 ч (Новосёлова, Туркулова, 2012).

4.9. Избирательность питания личинок рыб рода *Scophthalmus*

Избирательность определённой жертвы личинками складывается из многих факторов и зависит от доступности жертвы, её органолептических и физических характеристик. Доступность жертвы складывается из её размеров, формы и способности избегать (скорости ухода от преследования) хищника. Размерные характеристики ротового аппарата (длина челюстей и размах открытия рта, которые увеличиваются с ростом личинок) определяют размер потенциальной жертвы личинок. При этом личинки выбирают из потенциально возможных наиболее крупный и наиболее доступный корм, подходящий им по органолептическим и физическим характеристикам.

Избирательность питания достаточно точно характеризует индекс селективности (E_i), предложенный Ивлевым (1955), который широко используется при оценке характера питания личинок и взрослых рыб как в природных условиях, так и при их культивировании. При оценке избирательности личинками рода *Scophthalmus* в экспериментальной интенсивной системе выращивания и питания коловратками и артемиями была получена закономерность, связывающая размеры личинок тюрбо с размерами жертвы (Cuhna, Planas, 1995; 1999).

Личинки демонстрируют слабо выраженную избирательность коловраток ($E_i=+0.2$) только до достижения ими размера 4.3–4.8 мм. Более крупные личинки от 5.3 до 6.0 мм демонстрируют возрастание активной селекции науплиев артемий от $E_i=+0.25$ до $E_i=+0.5$ (табл. 4.4).

Табл. 4.4. Индекс элективности (E_i) личинок тюрбо при кормлении коловратками и артемиями.

Вид кормовых организмов	Размер кормовых организмов, мкм		Длина (SL) личинок, мм			
			4,3	4,8	5,3	6,0
	Длина	Ширина	Индекс E_i			
Коловратки <i>B. plicatilis</i>	262±50	177±18	+0,2	+0,1	-0,1	-0,9
Науплии артемий <i>Argentaria</i>	471±20	237±11	-0,8	-0,1	+0,2	+0,5

Науплии крымских артемий оказались идеально подходящими по размеру (473 ± 11 мкм) (Смирнов и др., 2018) для кормления личинок рода *Scophthalmus* в диапазоне их длины $5.3 < SL < 6.0$ мм.

Избирательность питания личинок калкана в смеси коловраток, науплиев и копеподитов гарпактикоидных и каланоидных копепод в дометаморфозный период в экспериментальной системе выращивания была оценена по индексу элективности (E_i) питания (Ивлев, 1955), как соотношение разности фракции любого кормового организма в кишечнике личинки (G_i) и в пищевом комплексе (D_i) к сумме этих величин, т.е. $E_i = (G_i - D_i) / (G_i + D_i)$. Оценку избирательности личинок, адаптированных к смеси кормовых организмов, производили на трёх этапах развития (Ханайченко, Битюкова, 1999): в возрасте 5 сут (III этап), 10 сут (IV этап) и 15 сут (V этап) при разных вариантах сочетаний потенциальных «жертв» из культивируемого зоопланктона: коловраток (*Brachionus plicatilis*. BP), науплиев (N) и копеподитов (C) гарпактикоидных (H) (*Tisbe furcata*) и каланоидных, (C) (*Acartia clausi*) копепод (табл. 4.5).

Избирательность изменяется в зависимости, как от возраста личинок, так и соотношения разных видов кормовых организмов. В возрасте 5 сут личинки калкана проявляют невысокую избирательность ($E_i=+0.24$) по отношению к коловраткам *Brachionus plicatilis* (BP) при равном соотношении (1:1:1) коловраток, науплиев акарций (NC) и гарпактикоидных копепод (NH), которая снижается ($E_i=+0.14$) при повышении в смеси доли науплиев акарций (Q_{NC}). Личинки в возрасте 10 сут более избирательны; индекс элективности коловраток (E_{BP}) оказывается максимальным, варьируя в пределах ($+0,6 < E_i < +0,8$) в зависимости от их концентрации в среде и соотношения с науплиями акарций (NC) гарпактицид (NH).

Табл. 4.5. Индекс элективности (E_i) в зависимости от квоты жертв (Q) в среде

Возраст личинок, сут	Индекс элективности / квота жертвы в среде				
	E_{BP}/Q_{BP}	E_{NH}/Q_{NH}	E_{CH}/Q_{CH}	E_{NC}/Q_{NC}	E_{CC}/Q_{CC}
5	+0,24/0,33	-0,22/0,33	–	-0,25/0,33	–
5	+0,14/0,50	–	–	-0,19/0,50	–
10	+0,77/0,50	-0,43/0,25	–	-0,43/0,25	–
10	+0,6/0,10	-0,71/0,30	–	-0,04/0,60	–
10	-0,33/0,50	–	+0,5/0,25	–	-1/0,25
15	-0,60/0,80	+0,03/0,05	+0,67/0,05	+0,38/0,05	+0,75/0,05

Примечание. Условные обозначения: E – индекс элективности, Q – квота кормового организма в среде, BP – коловратки *Brachionus plicatilis*, NH – науплии гарпактикоидных копепод, CH – копеподиты гарпактикоидных копепод, NC – науплии каланоидных копепод, CC – копеподиты каланоидных копепод.

Избирательность изменяется в зависимости, как от возраста личинок, так и соотношения разных видов кормовых организмов. В возрасте 5 сут личинки калкана проявляют невысокую избирательность ($E_i=+0.24$) по отношению к коловраткам *Brachionus plicatilis* (BP) при равном соотношении (1:1:1) коловраток, науплиев акарций (NC) и гарпактикоидных копепод (NH), которая снижается ($E_i=+0.14$) при повышении в смеси доли науплиев акарций (Q_{NC}). Личинки в возрасте 10 сут более избирательны; индекс элективности коловраток (E_{BP}) оказывается максимальным, варьируя в пределах ($+0,6 < E_i < +0,8$) в зависимости от их концентрации в среде и соотношения с науплиями акарций (NC) гарпактицид (NH).

При появлении в среде копеподитов гарпактикоид (CH) калкан в 10 сут избегает коловраток ($E_i = -0,33$) и копеподитов каланоид (CC) ($E_i = -1$), и избирательно охотится на копеподитов гарпактикоид (CP) ($E_i=+0,5$). В возрасте 15 сут в присутствии копеподитов гарпактикоидных (CH) и каланоидных (CC) копепод даже при их низкой доле в среде (0,05) личинки калкана активно избегают коловраток ($E_i = -0,6$) даже при их высокой доле, превышающей любые другие пищевые компоненты в 16 раз, а индекс элективности копеподитов гарпактикоид (CH) и копеподитов акарций (CC) вырастает до $E_i=+0,67$ и до $E_i=+0,75$, соответственно.

Таким образом, несмотря на то, что в 5 сут (во время этапа смешанного питания) науплии копепод являются более подходящим кормовым организмом по сравнению с коловратками как по размерным характеристикам (Cuhna, Planas, 1999), так и с точки зрения биохимической адекватности (Meeren et al., 2008), однако из смеси кормовых объектов личинки калкана предпочитают более доступных медленно передвигающихся жертв – коловраток, игнорируя более быстрых

науплиев копепод. Более высокая избирательность коловраток по сравнению с науплиями копепод была также зарегистрирована ранее при кормлении смесью морских и культивируемых кормовых организмов ранних личинок калкана (Spectorova et al., 1974) и тюрбо (van der Meeren, 1991). К началу метаморфоза, в возрасте 15 сут, у личинок более развиты как зрение, так и моторика, и наблюдается активная избирательность более крупных копепод, несмотря на более высокую скорость их передвижения и низкие концентрации в присутствии значимо более высокой концентрации коловраток (Ханайченко, Битюкова, 1999).

Скорость и характер движения объекта оказываются важными аспектами при выборе личинками: в отличие морских копепод *Tisbe furcata* и *Acartia clausi* с их быстрыми динамическими скоростями ухода от хищника, солоноватоводные копеподы *Calanipeda aquaedulcis* и *Arctodiaptomus salinus* с невысокими скоростями передвижения оказываются объектами питания калкана на более ранних этапах (Новосёлова, Туркулова, 2012). Более высокую долю (95%) перешедших на экзогенное питание 5–суточных личинок тюрбо наблюдали при кормлении их медленнодвигающимися науплиями копепод *Eurytemora affinis* по сравнению с коловратками (87%) (Witt et al., 1984).

Согласно нашим данным, при кормлении личинок калкана исключительно коловратками *B. plicatilis* до 99% личинок к возрасту 4 сут переходили на внешнее питание, в то время как при кормлении исключительно науплиями акарций (имеющих значительно более высокую скорость передвижения) доля перешедших на внешнее питание личинок в возрасте 4 сут не превышала 50%.

Сходные нашим данные были получены для личинок тюрбо при выращивании в морских мезокосмах, содержащих смесь коловраток и естественного зоопланктона (van der Meeren, 1991). Коловратки составляли до 90% найденных в кишечниках личинок пищевых объектов; доля гарпактикоидных копепод в пищевом комке возрастала с 10% (8 сут) до 70% в возрасте 11 сут, а копеподитов каланоидных копепод впервые обнаруживали в кишечниках тюрбо с 15 сут. В отсутствие коловраток личинки тюрбо в возрасте до 10 сут из копепод потребляли преимущественно науплиев, а с 10 по 20 сут в их рацион, помимо науплиев, входили почти все группы пелагических организмов, находившихся в морских мезокосмах: кладоцеры *Podon* spp., циклопоидные и гарпактикоидные копеподы, личинки гастропод; и последние 3 группы в совокупности составляли 40% потребляемых организмов в возрасте личинок с 13 по 17 сут.

В рационе личинок тюрбо в возрасте 21 сут ~90% потребляемых пищевых объектов составляли взрослые каланоидные копеподы (Danielssen et al., 1990). Проведенные недавно исследования роста личинок тюрбо в мезокосмах (в связи с возрастающим интересом к выращиванию личинок морских рыб на копеподах в Дании) также показали возрастание активной селекции копепод по размерным классам в зависимости от возраста и размера личинок. (Jepsen et al., 2017).

Таким образом, явление элективности питания следует рассматривать как функцию комплекса особенностей, присущих хищнику, и комплекса особенностей, характеризующих жертву: соотношением между размерами рта личинок

и размерами жертв (Cuhna, Planas, 1996; Planas, 1994; Planas and Cuhna, 1997). Элективность обуславливается остротой и спектральной чувствительностью зрения личинок (Битюкова, 1986), а важными характеристиками жертв, помимо размера, являются их форма, тип и скорость движения и выделение химических веществ, усиливающих вкусовые стимулы личинок (Knutzen, 1992).

Феномен избирательности питания ранних личинок рода *Scophthalmus* складывается из доступности, предпочитаемости, размеров и быстроты движений кормовых организмов. При наличии разнородных пищевых объектов происходит отбор личинками наиболее пассивных жертв возможно больших размеров. Отбор тем успешнее, чем больше таких организмов в среде, т.е. преобладает критерий доступности корма, характерный для «пассивного» хищника. К началу и в процессе метаморфоза у личинок формируется комплекс поведенческих реакций, характерный для «активного» типично «засадного» хищника, для которого основным критерием избирательности становится предпочитаемость и адекватность. Важным фактором оказывается соответствие этологических критериев, в частности, превышение скорости атаки личинки над максимальной скоростью «ухода от погони» жертвы.

Элективность жертвы на ранних стадиях развития личинок калкана направлена в сторону её доступности, и этому критерию соответствуют коловратки и артемии, но не копеподы. Эффективность питания личинок определяется не только вероятностью поимки, но и адекватностью пищевого объекта биохимическим потребностям развивающегося организма и возможностями его переваривания и эффективностью использования пищи на рост, метаболизм и развитие.

В начале перевода на инертный корм личинки предпочитают более мягкие гранулы твёрдым. Оптимизация условий культивирования личинок подразумевает увеличение вероятности поимки адекватной по биохимическим потребностям жертвы с начала экзогенного питания, что увеличивает вероятность выживаемости личинок, чрезвычайно чувствительных к голоданию на раннем этапе развития.

4.10. Биохимические критерии адекватности пищи

При проведении генетического анализа и полной расшифровки генома (22000 генов) (Figueras et al., 2016) было определено, что специфические потребности в высоконасыщенных жирных кислотах в составе пищи личинок рода *Scophthalmus* детерминированы на генетическом уровне. Большая часть их генов связана с формированием тканей и хрусталика глаза, которые должны функционировать в условиях низкой температуры. Различные гены сцеплены со специфическими высоконасыщенными жирными кислотами, которые необходимы для формирования липидного состава и поддержания гомеостаза и уровня текучести двойных клеточных мембран при низких температурах, и относятся к феномену дубликации генома костных рыб (*teleost genome duplication*).

Длительная эволюция последовательной адаптации рыб рода *Scophthalmus* к демерсальному образу жизни и низким температурам обусловила положительную селекцию генов, ассоциированных со зрением, метаболизмом и составом липидов двойных мембран (Figueras et al., 2016).

Специфика личинок рыб рода *Scophthalmus* состоит в том, что они нуждаются в большом количестве и пропорциональном соотношении полиненасыщенных незаменимых жирных кислот (ПНЖК) из липидной фракции пищевых объектов для поддержания текучести клеточных мембран при пониженных температурах, и практически неспособны к преобразованию жирных кислот ввиду отсутствия необходимых ферментов, особенно на ранних стадиях развития. Впервые эссенциальность ненасыщенных жирных кислот для развития личинок рода *Scophthalmus* до метаморфоза была определена в 1975 г. (Owen et al., 1975). Биохимические характеристики кормовых организмов оказались решающими для их роста, развития и выживаемости особенно на протяжении нескольких недель личиночного развития.

Физиологическая роль эссенциальных (незаменимых) жирных кислот. Жирные кислоты, усваиваемые личинками из липидной фракции пищи, крайне необходимы в связи с тем, что они являются: 1) источником энергии для метаболизма, 2) структурными компонентами в фосфолипидах клеточных мембран, 3) прекурсорами/предшественниками биоактивных молекул (Sargent et al., 1999; Tocher, 2010 и 4) факторами, определяющими экспрессию генов в процессе развития (Cunha et al., 2013; Cunha et al., 2015).

В отличие от личинок многих других рыб, потребности которых в жирных кислотах удовлетворяются присутствием в пище альфа-линоленовой (18:3n3) и линоленовой (18:2n6) жирных кислот, для личинок рода *Scophthalmus* свойственна исключительная потребность именно в 20:5n3 (эйкозапентаеновой, ЭПК), и особенно в 22:6n3 (докозагексаеновой, ДГК), жирных кислотах, и их правильном соотношении с 20:4n-6 (арахидоновой, АРК). Эссенциальные длинноцепочечные ПНЖК (*англ.* long-chain LC-PUFA), такие как ДГК, ЭПК и АРК имеют многочисленные физиологические функции, но наиболее важно, что именно они являются: (1) критическими структурными компонентами мембранных фосфолипидов, которые обеспечивают ключевые интра-мембранные реакции и процессы, в которых очень важна ДГК, играющая важную роль в развитии нервной системы и функционировании мозга, нервной ткани и зрения и (2) определяют критические метаболические процессы, будучи прекурсорами эйкозаноидов.

Важным компонентом клеточных мембран, в частности фоторецепторов глаза и мембран синаптических соединений, является ДГК, а комплекс ЭПК, ДГК и АРК необходим для развития нервной, зрительной и иммунной систем организма (Sargent et al., 1999; Tocher, 2010). До прохождения метаморфоза личинки рода *Scophthalmus* не способны к синтезу не только ЭПК и ДГК из предшественников, но и ДГК из ЭПК, и нуждаются в поступлении с пищей достаточного и пропорционального количества ЭПК и ДГК, а также экзоэнзимов (экзогенных ферментов, т.е. привносимых с живыми кормами), необходимых для удлинения жирнокислотных цепей.

Определенные экспериментальным путем потребности личинок камбалообразных в n-3 ПНЖК, являющихся лимитирующим фактором диетической значимости кормов, удовлетворяются при содержании в их пище (Le Millinaire, 1983) минимум 1,3% от сухой массы коловраток и 3% от сухой массы артемий.

Соотношение полиненасыщенных эссенциальных ДГК/ЭПК/АРК в пище особенно важно в определённые временные «окна» развития личинок. Для нормального прохождения метаморфоза и формирования нормальной пигментации на окулярной стороне и отсутствие пигментации кожи на слепой стороне тела необходимо, чтобы в пище личинок камбалообразных в возрастном диапазоне, в течение которого регулируется процесс дифференциации взрослых хроматофоров, называемом «окно пигментации» (McEvoy et al., 1998), соблюдалось оптимальное соотношение ДГК/ЭПК/АРК (Sargent et al., 1999). Соотношение ЭПК/АРК >4 в пище предотвращает формирование неправильной пигментации зрячей стороны у мальков. И абсолютный, и относительный уровни ВНЖК в рационе во время конкретных периоды развития определяют успешность прохождения метаморфоза.

Повышение содержания n-3 ПНЖК в артемиях с 2,5 до 6% от сухого веса при соотношении ДГК/ЭПК=0,6 не оказывало никакого влияния на рост и выживаемость личинок тюрбо (Reitan et al., 1994), так как их потребности удовлетворяются и при более низких значениях незаменимых ВНЖК, однако при низком соотношении ДГК/ЭПК=0,6 происходила неправильная экспрессия генов, отвечающих за дифференциацию и распределение хроматофоров, и у мальков формировалась неправильная пигментация.

В составе организма правильно пигментированных мальков тюрбо соотношение ДГК/ЭПК составляет ≥ 1 (Estévez et al., 1999), а повышение n-3 ВНЖК до 8.8% сух.веса пищи при соотношении ДГК/ЭПК=1.8 и повышении ДГК с 2.2 до 5.4% сух.веса при снижении ЭПК от 3.6 к 2.8% сух. веса существенно повышало долю нормально пигментированных мальков (Reitan et al., 1994). Повышение доли ЭПК в пище снижает возможности включения ДГК из пищи в состав фосфолипидов личинок, и, напротив, повышение ДГК в пище снижает инкорпорацию в фосфолипиды ЭПК (Izquierdo et al., 2000). Эти данные подтверждают, что именно баланс ВНЖК важен для нормального развития камбалообразных.

Считается, что оптимальное соотношение ДГК/ЭПК в начальных живых кормах личинок в возрасте от 4 до 45 сут составляет $\sim 2,1$ (Estévez et al., 1999), определяемое также в составе нормально развивающейся икры рыб рода *Scophthalmus*. Выживаемость личинок тюрбо при солёностных стрессах повышается значительно при соотношении ДГК/ЭПК ~ 2.5 . Но оказывается важным также и соотношение ЭПК/АРК, и его уровень ≥ 10 также приближается к оптимальному, поэтому в составе пищи личинок желателно поддерживать соотношение ДГК/ЭПК/АРК приближающееся к $\sim 2:1:0,1$ (Sargent et al. 1999).

Коловратки и артемии, используемые при интенсивном выращивании, обычно дефицитны по ВНЖК, и особенно ДГК, и должны быть насыщены специализированными микроводорослями или искусственными смесями перед скарм-

ливанием их личинкам. Биохимический состав коловраток обычно четко коррелирует с биохимическим составом питательных смесей или микроводорослей, которыми они питаются. Комплексное влияние температуры культивирования и различий в пищевой цепи может существенно модифицировать долю липидных фракций и содержание жирных кислот в коловратках одного и того же клона *Brachionus plicatilis*.

Снижение температуры с 30 до 15°C приводит к возрастанию втрое содержания фосфолипидов и триацилглицеридов и, соответственно, суммарных липидов, а содержание суммы ПНЖК в составе коловраток возрастает с 0.3 г при питании *Tetraselmis suecica* при 30°C до 1.4 г при питании *Monochrysis lutheri* при 15°C, и питание последними повышало массу питавшихся ими 7-суточных личинок калкана на 10% (Ханайченко и др., 1988).

Жизнеспособность личинок рода *Scophthalmus* на самых ранних стадиях развития в значительной степени зависит от состава икры, обусловленного состоянием производителей в период нереста (Devauchelle, 1980; Devauchelle et al., 1986; Devauchelle et al., 1988). Высокое содержание ДГК (27%) и ПНЖК n-3 (38%) у личинок на выклеве обеспечивает их эффективный начальный рост и правильное развитие до перехода на внешнее питание (Estévez et al., 1999). Однако после полного перехода на экзогенное питание, выживаемость в пределах одной выборки отчётливо коррелирует не только с исходными характеристиками личинок, но и с адекватностью пищи потребностям личинок, так как количество несинтезируемых личинками незаменимых полиненасыщенных жирных кислот ДГК, ЭПК и АРК в составе их тела полностью зависят от состава потреблённой ими пищи.

Биохимический, и в особенности жирнокислотный, состав личинок в возрасте 12–15 сут определяет степень правильного завершения метаморфоза и выживаемость у камбалообразных. Дисбаланс в составе пищи эссенциальных жирных кислот во время личиночного развития оказывает негативное воздействие на формирование их мозга, нейроанатомическую дифференциацию и нейроэндокринную систему, в том числе на неправильное развитие пинеальной и питуитарной систем, которые, очевидно, влияют на синтез меланина и морфогенетические движения хроматофоров, а также влияют на гормональный всплеск тиреоидных гормонов, регулирующих метаморфоз.

Избыток арахидоновой кислоты также вызывает аномалии пигментации у рода *Scophthalmus* (Estévez et al., 1999). Однако, при избыточном насыщении коловраток липидными эмульсиями происходит накопление липидных частиц между эпителиальными клетками кишечника (Kjorsvik et al., 2004), и это может оказывать негативный эффект на абсорбцию белковых компонентов в заднем кишечнике.

Арахидоновая жирная кислота (АК) играет важную роль в пище мальков, так как присутствие в их рационе в качестве единственной высоконасыщенной жирной кислоты АК, приводило к более быстрому росту и высокой выживаемости, чем присутствие смесей ЭПК и ДГК или только ДГК, однако контрольная диета, содержащая 15% натурального рыбьего жира приводила к наибольшей скорости роста (Castell et al., 1994).

Высокий уровень ДГК характерен для общего липидного состава тела личинок рода *Scophthalmus*, селезёнки и жаберного аппарата, и особенно необходим для зрительных и нервных тканей. Низкое содержание ДГК и особенно его диспропорция с другими ЖК, в кормовых организмах может приводить к патологиям нервной, зрительной и других жизненно важных систем организма личинок, снижать их возможность идентификации и поимки жертвы и видоизменять особенности пигментации и скелетообразования.

Отсутствие ДГК в пище личинок вызывает отклонения в развитии и дегенерацию некоторых органов вплоть до остановки роста. Соотношение ДГК/ЭПК > 2:1, а также соотношение ЭПК/АРК > 5:1, безусловно, влияют на формирование правильной пигментации зрячей стороны мальков рода *Scophthalmus*. Об отсутствии или низком содержании ДГК в пище личинок и мальков могут свидетельствовать плохое состояние жаберного эпителия; дефицит ДГК приводит к исчезновению хлоридных клеток, слущиванию эпителия жаберных лепестков и неправильному формированию клеточного материала в межламеллярном пространстве (Bell et al., 1985).

Усвоение липидов из пищи. Коловратки и артемии, используемые обычно в коммерческих питомниках, имеют исходно низкое содержание и соотношение ДГК/ЭПК. Поэтому, для поддержания высоких значений скорости роста и выживаемости личинок эти кормовые организмы насыщают преимущественно жировыми эмульсиями, которые, однако, содержат незаменимые ПНЖК преимущественно в триацилглицеридах (ТАГ), что приводит к тому, что содержание нейтральных липидов (НЛ) в кормах оказывается чрезмерно высоким и избыточным (Morais et al., 2007). Привносимые с насыщенными эмульсиями коловратками и артемиями НЛ являются источником энергии для личинок в виде не-эссенциальных ЖК и содержат избыточное количество насыщенных жирных кислот (НЖК), легко подверженных β-окислению.

Кроме того высокое содержание нейтральных липидов снижает пищеварительную активность и абсорбцию липидов. Напротив, у копепод незаменимые ПНЖК находятся преимущественно в фосфолипидах (ФЛ), используемых для синтеза мембран. Эффективность усвоения продуктов пищеварения может быть связана с длиной цепи и степенью ненасыщенности жирных кислот, составляющих ТАГ или ФЛ, что может влиять на пищеварение и, в конечном итоге, на всасывание компонентов пищи, и предпочтительная липолитическая активность снижается от ПНЖК к насыщенным жирным кислотам (Izquierdo et al., 2000).

В связи с ограниченными возможностями синтезировать ФЛ *de novo* важно, чтобы пища личинок содержала высокий процент ФЛ, в состав которых входило бы необходимое количество ПНЖК, так как именно ПНЖК, содержащиеся в ФЛ-фракции липидов пищи, лучше усваиваются и оказывают благотворное влияние на рост и развитие личинок (Kjørsvik et al., 2009).

Фосфолипиды (ФЛ), являющиеся структурными компонентами биомембран и липопротеинов (Tocher, 1995), могут также функционировать как эмульгаторы в процессе формирования смешанных мицелл в пищеварительном трак-

те (Olsen, 2004). Несмотря на то, что обычно основным источником жирных кислот, метаболизируемых для получения энергии, считаются ТАГ, ФЛ также используются как источники энергии на ранних стадиях развития личинок. Наиболее высокое содержание эссенциальных жирных кислот определяется в ФЛ копепод, являющиеся основой питания личинок в море в естественных условиях (Sargent et al., 1997).

Каланоидные копеподы содержат до 60–75% ФЛ в составе суммарных липидов, а ДГК в разных видах копепод варьирует от 4 мг г⁻¹ до 15–20 мг г⁻¹ сухого веса, а соотношение ДГК/ЭПК колеблется между 1.2 и 3.8 (Evjemo et al., 2003; Khanaichenko et al., 1998; van der Meeren et al., 2008). Именно высокое содержание и правильное соотношение ВНЖК в ФЛ копепод влияет на более быстрое и правильное развитие и скорость оссификации элементов скелета у личинок.

Состав ВНЖК в пище влияет и на поведение личинок калкана: скорость плавания и эффективность поимки кормового объекта, зрительная реакция и уход от преследования у личинок, питавшихся копеподами с высоким содержанием ДГК в фосфолипидной фракции значительно выше, чем у питавшихся дефицитными по ДГК кормом (коловратками и артемиями).

Сравнение биохимического состава артемий и копепод. Выживаемость калкана на 14–16 сутки при интенсивном выращивании отражает успешность перевода личинок на экзогенное питание и инициации метаморфоза и обусловлена множественными факторами: бактериальным сообществом среды выращивания и кормовых организмов, потребляемых личинками, и уровнем развития их неспецифического иммунитета, но одним из основных факторов является адекватность биохимического состава пищи потребностям личинок и нормой развития их пищеварительной и ферментативной систем в этот период.

Впервые преимущество копепод перед артемиями было показано при экспериментальном выращивании двух групп личинок тюрбо из однородной партии икры (Witt et al., 1984) при питании науплиями копепод и артемиями. Выживаемость группы с 3 по 8 сут оказалась значимо выше (38%) при питании копеподами *Eurytemora affinis*, которые содержали 10.8% ДГК, по сравнению с группой личинок (29%), питавшимися коловратками, которые содержали 1.2% ДГК. Выживаемость и рост личинок с 11 по 21 сут при питании науплиями артемии оказались значимо ниже (73% и TL=11.1±1.6 мм, соответственно) по сравнению с личинками, питавшимися взрослыми копеподами *E. affinis* (93% и TL =14.8 ±1.1 мм, соответственно).

Проблема кормления личинок рыб рода *Scophthalmus* артемиями состоит в том, что к возрасту, когда личинки могут по морфологическим критериям потреблять науплиев и метанауплиев (на 9–12 сут) (Cuhna, Planas, 1995), состав и избыточность липидов в артемиях (Navarro et al., 1999) не соответствует ни потребностям (Bell et al., 2003; Morais et al., 2007), ни пищеварительным возможностям личинок (Estévez et al., 1999). Артемии содержат минимум 25% липидов, в составе которых ТАГ составляет до 69–77% от общих липидов, т.е. 17–20% от сух. веса артемий, а соотношение ненасыщенных жирных кислот ЭПК и АРК в

составе даже лучших клонов артемий не превышает 3–4 (van der Meeren et al., 2008). Кроме того, в их составе полностью отсутствует ДГК, и для компенсации используют различные варианты искусственных смесей, которыми насыщают метанауплиев артемий в течение 12–24 час, повышая содержание в них ДГК до 5–27% от жирнокислотного состава липидов, доводя их до 35% от сухого веса (Coutteau, Mourente, 1997; Evjemo et al., 2003; Morais et al., 2007).

Однако в связи с отсутствием липазной активности у личинок тюрбо до 15–16 суток (Cousin et al., 1987) переход на питание артемиями с высоким содержанием липидов может не только приводить к снижению гликогена в печени, но и к перегрузке липидами энтероцитов эпителия среднего кишечника, приводящему к избыточной вакуолизации и далее к отслаиванию и дегенерации эпителия. Артемия несомненно является очень важным живым кормом, позволяющим личинкам получить в достаточном количестве доступную энергию в виде белка и липидов, необходимую для быстрого роста для достижения необходимого размера во время метаморфоза личинок, потребности в которых составляют 45 and 10%, соответственно (Aijun et al., 2005), однако в их составе липиды находятся преимущественно в форме триглицеридов, среди ЖК отсутствует ДГК, и очень низко содержание свободных аминокислот.

Питание копеподами (особенно морскими планктонными каланоидами) – основными кормовыми организмами личинок рыб в естественных условиях – оказывает благотворное влияние на рост и развитие личинок рода *Scophthalmus* (Bityukova et al., 1990; van der Meeren, 1991; Khanaichenko et al., 1994; Jepsen et al., 2017), что, безусловно, связано с их высокой усвояемостью благодаря их биохимическому составу (Bell et al., 2003) и большому количеству привносимых экзоэнзимов (Munilla-Moran et al., 1990).

Наиболее высокое содержание эссенциальных жирных кислот у копепод определяется в ФЛ фракции (Sargent et al., 1997). В среднем, каланоидные копеподы, как в природных условиях (van der Meeren et al., 2008), так и культивируемые (Khanaichenko et al., 1998), характеризуются умеренным содержанием липидов (7–22%), в составе которых 57–58% полярных липидов (6,3% от сух. веса) и не более 30% триацилглицеридов (ТАГ), а также высоким содержанием эссенциальных ВНЖК ЭПК (5–24 %), и ДГК (14–42.3%), в среднем 33% от липидов) при соотношении $2 < \text{ДГК} / \text{ЭПК} < 6$ (Khanaichenko et al., 1998; van der Meeren et al., 2008). Соотношение ненасыщенных жирных кислот ЭПК к АРК в составе копепод составляет от 23:1 до 28:1.

Копеподы содержат 32.7–53% белка – сопоставимо или больше чем у артемий (31% сух. веса), вдвое больше свободных аминокислот – 4,3–9% сух. веса против 2.6–3.4% у артемий (van der Meeren et al., 2008) и значительное количество таурина, стимулирующего пищевое поведение личинок (Drillet et al., 2006).

Свободные аминокислоты и ДГК и ЭПК в составе ФЛ, необходимые для быстрого роста и правильного развития, легко усваиваются личинками рода *Scophthalmus* с недоразвитой пищеварительной системой (Bell et al., 2003). Ещё одно преимущество копепод заключается в их каротиноидном составе: несмотря на

сопоставимое содержание суммарных каротиноидов (в копеподах – 413–1422 мкг/г сух. веса, в артемиях – 600–700 мкг/г), различие заключается в том, что у артемий каротиноиды представлены в форме кантаксантина, а у копепод преимущественно в форме эффективно предохраняющего липиды от перекисного окисления антиоксиданта астаксантина (до 75–80% от суммарных каротиноидов) (van der Meegen et al., 2008), (табл. 4.6) Ханайченко и др., 2014).

Табл. 4.6. Количественное содержание и фракционный состав каротиноидов копепод *Calanipeda aquaedulcis* и *Arctodiaptomus salinus* при питании микроводорослями *Dunaliella salina*.

Каротиноиды копепод	<i>Calanipeda aquaedulcis</i>	<i>Arctodiaptomus salinus</i>
Суммарные каротиноиды (СК) копепод, мкг /г сух. массы	403.1 ± 112.2* (323.8–482.4)**	621.8 ± 220.5* (465.9–777.7)**
Бета-каротин, % СК	13.2 ± 1.6***	13.3±0.8***
Астаксантин, % СК	47.5±1.2***	19.7±0.7***
Моноэфиры астаксантина, % СК	19.1±1.8***	17.1±2.8***
Диэфиры астаксантина, % СК	0.6± 0.1***	45.4±5.7***
Сумма свободного и этерифицированного астаксантина, % СК	67.1±0.6***	82.2±0.6***

Примечание. *среднее значение ± SD (n=4); **диапазон значений (минимум – максимум); ***среднее значение ± SD (n=2).

4.11. Количественные характеристики питания личинок

Личинки камбалообразных рыб рода *Scophthalmus* в условиях интенсивной системы выращивания начинают переходить на внешнее питание при минимальной концентрации коловраток 2.5 экз. мл⁻¹ (Planas, 1994); а при концентрации коловраток 10 экз. мл⁻¹ в последующие дни достигается максимальная скорость потребления пищи и роста личинок (Lei, Liu, 2010).

При исходной плотности личинок тюрбо 20 экз. л⁻¹ и коловраток 3 экз. мл⁻¹ до 4 сут и 5 экз. мл⁻¹ позднее, суточное потребление личинками коловраток на 3 сут варьировало от 6 до 50 экз., а к 4–6 сут возрастало до 81–117 экз. (Makridis et al., 2000). Известны также более высокие значения скорости потребления коловраток личинками тюрбо: с 2 по 6 сут – от 130 до 270 экз. сут⁻¹ (Reitan et al., 1994); с 5 по 12 сут – от 130–400 экз. сут⁻¹ (110–340% сух. веса личинок) (Øie et al., 1997).

Потребление личинками коловраток значительно возрастает от 3 до 10 суток: 50–180 экз. сут⁻¹ на 3 сут, 200–400 экз. сут⁻¹ на 6–8 сут и 300–700 экз. сут⁻¹ на 9–10 сут (Reitan et al., 1994; Hoehne-Reitan et al., 2001).

Максимальное количество пищевых объектов, потреблённых личинкой тюрбо в возрасте 4 сут (при исходной плотности посадки личинок 40 экз. л⁻¹ в сутки при температуре 18±1°C, может составлять 130 коловраток, и возрастать в период от 4 к 7 сут до 270 коловраток в сутки (138% сух.веса личинок). В возрасте 12 сут, однако, при переходе на питание артемиями, удельная скорость питания снижается до 64% сух. веса, составляя 100 науплиев артемий, в связи с тем, что за этот период усвояемость пищи личинками возрастает с 30 до 50%. Относительная скорость весового роста при последовательном питании коловратками и затем артемиями с 4 до 12 сут составляет 26% (Cunha et al., 2007).

Суточные рационы личинок калкана при пилотном интенсивном выращивании (с исходной плотности личинок 20 экз. л⁻¹) в среднем возрастали от 62% по сырому весу (89 коловраток) в 5-суточном возрасте до 79% (578 коловраток плюс 115 науплиев артемий) в возрасте 11 сут; и затем снижались до 23–35% (160–1030 метанауплиев артемий) к 20–30-суточному возрасту (Битюкова и др., 1992).

Более высокие суточные рационы (% сырого веса) личинок калкана были определены при выращивании их в экстенсивной системе выращивания (с использованием системы УЗВ) при кормлении смесью организмов (инфузорий, коловраток, разных видов планктонных ракообразных) из солоноватоводных прудов (Новосёлова, Туркулова, 2012). Рационы изменялись от 78–123% массы тела в возрасте 3–10 сут до 282% в возрасте 20 сут и снижались до 70% в возрасте 50 сут. Они составляли от 3 до 7 сут в пределах 32 – 114% веса личинок; с 8–10 сут – 90–123%, возрастали до 95–280% в период с 10 по 20 сут, и снижались до 50–145% к 30 сут (Новосёлова, Туркулова, 2012).

В возрасте с 5 по 12 сут в кишечнике тюрбо одновременно находили не более 20 коловраток (Øie et al., 1997). В 10 сут максимум содержания жертв в пищевом комке личинок тюрбо составило 16 экз. коловраток и 12 экз. науплиев артемий (Cunha, Planas, 1995). В наших экспериментах одновременное количество коловраток в кишечнике калкана возрастало от 2–6 экз. на 3 сут до 10–15 экз. в возрасте 5 сут (рис. 4.8А).

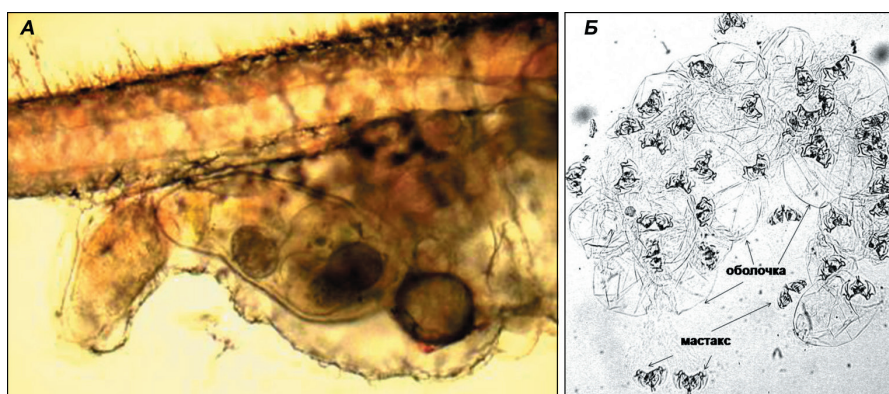


Рис. 4.8. А – область кишечника личинки в возрасте 5 сут: в среднем отделе кишечника: сразу за жировой каплей, окружённой кровеносными сосудами, видны несколько полупереваренных коловраток (2 из них с яйцами). Б – оболочки и мастаксы полностью переваренных коловраток (~37 шт.) в пищевом комке кишечника личинки калкана в 11 сут.

В пищевом комке калкана в возрасте 11 сут одновременно количество оболочек и мастаксов (хитинизированных структур жевательного аппарата коловраток) полностью переваренных коловраток составило около 40 экз. (рис. 4.8Б. Мастаксы). Различия между описанным выше питанием личинок тюрбо и калкана незначительны и могут быть объяснены отличающимися концентрациями и соотношениями коловраток и личинок ввыростных бассейнах, и/или тем, что при более низких рационах личинок происходит более длительное и более полное переваривание коловраток.

4.12. Роль микроводорослей при питании личинок живыми кормами

В современной интенсивной ларвикультуре используют несколько техник выращивания ранних личинок рода *Scophthalmus*: в очищенной фильтрацией и УФ обработкой морской воде (условно называемой «чистой вода»), и с добавлением в выростные системы либо инокулируемых до внесения личинок, либо вносимых регулярно морских микроводорослей (условно называемой «зелёная вода»). Известно, что некоторые морские микроводоросли, добавленные непосредственно в выростные системы, улучшают начало питания, обеспечивают лучшую пигментацию, рост и выживаемость личинок рыб, и хотя до настоящего времени причины этого полностью не выяснены, но, однозначно, они оказывают комплексное позитивное воздействие на развитие личинок.

Есть основания предполагать, что фитопланктонные организмы, особенно с высоким содержанием ненасыщенных жирных кислот, играют значительную роль в питании и метаболизме личинок рода *Scophthalmus*. Среди личинок тюрбо, отловленные в Северном море, 100% особей с длиной тела (TL) 3.5–3.9 мм и 11% особей с длиной 4,0–4,9 мм содержали в кишечнике, помимо других пищевых объектов, фитопланктон, в частности динофлагеллят (см. рис. 4.6.1) (Last, 1979).

Ещё в ранних экспериментах было обнаружено повышение скорости роста и выживаемости личинок тюрбо при питания коловратками с добавлением примнезиофитовых микроводорослей *Isochrysis galbana* (Howell, 1979). Позднее (Tytler et al., 1997) обнаружил, что личинки вскоре после выклева, еще во время эндогенного питания, потребляют клетки *I. galbana* и выявил даже низкую абсорбцию (путем пиноцитоза) клеточного материала микроводорослей (пигментов) в заднем кишечнике.

Активное потребление микроводорослей определяется на протяжении первых 2–4 сут; и в этот период самая высокая скорость потребления обнаружена для зелёных микроводорослей *Tetraselmis* sp. К возрасту 6 сут потребление *Tetraselmis* sp. и *I. galbana* сходно и составляет 28–41 нг С личинку⁻¹ час⁻¹, а скорость ассимиляции клеточного материала *I. galbana* и *Tetraselmis* sp., соответственно (Reitan et al., 1998). Доказано, что во время раннего развития личинок присутствие определённых видов микроводорослей приводит к улучшению роста и выживаемости личинок.

Скорость потребления коловраток и выживаемость личинок возрастает в присутствии микроводорослей, особенно при применении *I. galbana* (Reitan et al. 1993; Øie et al. 1997): без добавления микроводорослей рацион личинок тюрбо на 6 сут составляет 130–318 экз. сут⁻¹, а при добавлении он возрастает до 303–400 экз. сут⁻¹. Несмотря на то, что конверсия белка и углеводов пищи личинками при питании коловратками оказывается выше без добавления микроводорослей (18–28% и 12–19% по сравнению с 6–9% и 4–7%, соответственно), содержание белка и липидов в составе коловраток выше и более постоянно, и личинки потребляют значительно больше коловраток в присутствии микроводорослей (Øie et al., 1997), соответственно. Скорость роста личинок в присутствии *I. galbana* оказывалась значительно выше в связи с потреблением большего количества коловраток (Øie et al., 1998).

Содержание белка в кормовых организмах особенно важно для быстрого роста и высокой выживаемости личинок рода *Scophthalmus* с самых ранних этапов развития, и во время питания коловратками особую роль играет соотношение в них белков и липидов. Значительное улучшение роста и выживаемости личинок к метаморфозу наблюдают при добавлении в интенсивные системы выращивания *I. galbana*, с высоким содержанием ДГК, которые улучшают состав коловраток, увеличивая содержания в них липидов (в частности ДГК) и белков (Reitan et al., 1993).

Использование техники «зелёной воды» с использованием смеси микроводорослей *T. suecica* и *I. galbana* вместо «чистой воды» повышает выживаемость личинок в первые две недели развития (при питании коловратками и науплиями артемий) почти вдвое, усиливая анаболизм белков и липидов и снижая долю нейтральных липидов и содержание жирных кислот n-9 в составе тела личинок; и, соответственно, увеличивает удельную скорость роста сухой массы личинок в период питания коловратками с 16% сут⁻¹ в «чистой» воде до 22% в «зеленой» воде, (Ханайченко и др., 2000). Аналогичная удельная скорость личинок тюрбо в этом же возрастном периоде достигается при выращивании в мезокосмах (Danielsen, 1990).

Показано, что микроводоросли в среде выращивания не только улучшают химический состав коловраток, но и приводит к более раннему развитию энтероцитов кишечника, и улучшают пищеварительные функции поджелудочной железы и кишечника личинок благодаря смеси свободных аминокислот, которые стимулируют активность пищеварительных ферментов, в частности, трипсина (Sahu et al., 1998).

Выживаемость личинок тюрбо до 23 сут оказывается значительно выше – 28–55% – при внесении микроводорослей (техника «зелёной воды») по сравнению с техникой выращивания в «чистой» воде (без внесения микроводорослей) – 4–18% (Reitan et al., 1993; 1997; Øie et al., 1997). В экспериментальных условиях при сочетании техники «зелёной воды», использовании антибиотиков и регулярной подмены стерильной воды максимальная выживаемость до 14 сут составляет 63% (Ханайченко и др., 2000), а к 45 сут – до 36% (Estévez et al., 1999), что зна-

чительно превышает стандартную выживаемость тюрбо (10–15% от начальной численности при переходе на внешнее питание до середины метаморфоза) даже в самых успешных партиях личинок с исходным высоким уровнем ВНЖК в коммерческих компаниях.

На питание, рост и выживаемость личинок рода *Scophthalmus*, безусловно, оказывает влияние вид микроводоросли, вносимый в системы для выращивания при использовании техники «зелёной» воды или для насыщения живых кормов, в зависимости от их питательной ценности, влияния на метаболизм личинок, но также и с созданием определённого видоспецифического для микроводорослей бактериального сообщества (Khanaichenko, Buivolova, 1997).

В зависимости от вида микроводоросли, вносимой в выростные бассейны, удельная суточная скорость роста личинок тюрбо (из однородной партии) с 4 по 18 сут варьировала от 24 до 39%, а выживаемость – от 1 до 42% (Stottrup et al., 1995). В период питания коловратками микроводоросли значительно повышают эффективность использования пищи на рост в связи с тем, что содержание углерода в коловратках выше в 2–25 раза в «зелёной воде» (12,8–20,1) по сравнению с «чистой водой» (6,3–8,2) (Naas et al., 1992; Reitan et al., 1993).

Согласно экспериментальным данным удельная суточная скорость весового роста личинок рода *Scophthalmus* в системе интенсивного выращивания при питании коловратками до 9 сут и артемиями до 13 сут в «зелёной воде» (*Isochrysis galbana* и *Tetraselmis suecica*) находится в пределах 22–28% (Ханайченко и др., 2000) или 29% (Cunha et al., 2007). В экстенсивной системе выращивания при питании личинок тюрбо до 14 сут смесью морских кладоцер, циклопоидных и гарпактикоидных копепод их удельная суточная скорость роста составила в среднем 23% (Danielssen et al., 1990).

Вследствие ограниченной способности к пищеварению ранних личинок рода *Scophthalmus*, высоких энергетических затратах для роста, развития и перестройки организма личинок в период подготовки к метаморфозу и в его начале, соответствующим и ранней трансформации пищеварительного тракта, личинкам требуется частое поступление большого количества питательных веществ и, соответственно, необходимо поддерживать их высокие относительные рационы, которые могут быть обеспечены только постоянным присутствием необходимого количества живых кормов, в составе которых должно быть не менее 36% белка в соотношении с липидами 2:1 (Øie et al., 1997).

Предполагается, что улучшение роста личинок, культивируемых в «зелёной» воде, связано также с улучшением аминокислотного состава коловраток, а возможно и улучшением пищеварения благодаря содержанию определённых пептидов и экзоэнзимов (Øverland et al., 2017). Высокая выживаемость ранних личинок тюрбо (в «зелёной» воде) до завершения метаморфоза (29–54% против 7–24% в отсутствии водорослей) предположительно связана позитивно с возрастанием содержания белка в составе коловраток, но не с содержанием в них липидов, в случае если содержание n-3 ПНЖК адекватно потребностям личинок.

4.13. Влияние вида корма на рост и рационы личинок

Перевод на питание артемиями (науплиями, затем метанауплиями) производят постепенно, снижая концентрацию коловраток, и постепенно увеличивая концентрацию артемий, по разным методикам, начиная с 9–13 сут, начиная от единичных захватываний науплиусов артемий в 9 сут, а к 14 сут личинки переходят на преимущественное питание артемиями. В связи с несоответствием биохимического состава артемий пищеварительным способностям ранних личинок (см. ниже) по отдельным технологиям предпочитают вводить науплии артемий с 12–13 сут, а насыщенных метанауплиев артемий – с 14–15 сут (Маслова, 2013).

Абсолютные приросты длины калкан в период питания коловратками в среднем составляли $0.166 \text{ мм сут}^{-1}$, а при переходе на науплии артемий соответствовали $0.38\text{--}0.58 \text{ мм сут}^{-1}$, а абсолютные весовые приросты составляли максимум 0.15 мг сут , при питании артемиями они увеличивались до 0.56 мг^{-1} к концу IV этапа (Битюкова и др., 1988). Относительные среднесуточные приросты длины личинок увеличиваются до 14-суточного возраста, а затем постепенно снижаются. Минимальная величина скорости роста наблюдается в конце личиночного периода развития (2.9%). Масса тела возрастает значительно быстрее, а её суточный прирост увеличивается от 22% при питании коловратками до 25% – при переходе на питание науплиями артемий.

Для личинок калкана характерно некоторое снижение скорости линейного и весового роста в возрасте 14–17 суток, и к концу личиночного периода скорость роста снижается до 5%. Возможно, замедление роста связано со сложными процессами подготовки к метаморфозу. В период с 15 до ~30-суточного возраста в ходе интенсивного метаморфоза происходит постепенное снижение частоты питания с возрастанием одновременно потреблённой пищи и более длительным её перевариванием и снижением относительной суточной скорости весового роста в среднем до ~15–16%.

Согласно нашим собственным данным (по суточным экспериментам питания) суточные потребности личинок калкана в возрасте 30–35 сут удовлетворяются поимкой 150 ± 27 экз. старших копеподитных и взрослых акарций, или ~900 экз. метанауплиев артемий. При питании акарциями суточный рацион 45-суточных личинок составляет в среднем 288 ± 46 экз. сут^{-1} , а в 48 сут колеблется в пределах 388 ± 146 экз. сут^{-1} . К возрасту 50 сут суточный рацион достигает 1500 ± 146 экз. при питании акарциями и более 2000 экз. 2-суточных метанауплиев артемий.

Максимальный суточный рацион (до полного насыщения) калкана при длине $17.7 < SL < 19.7$ мм при питании живыми кормами варьирует в пределах 29–39% от сырого веса. Характерно, что мальки, питавшиеся в течение более 30 сут акарциями, имели значительно более высокий вес (215 ± 20 мг), но потребляли меньше пищи ($31 \pm 3\%$ от веса), по сравнению с мальками, питавшимися артемиями, которые при весе 159 ± 5 мг потребляли $38 \pm 1\%$ от собственного веса.

Особи калкана, питавшиеся в течение месяца разными кормовыми организмами, незначительно отличались по средней длине, но имели разную вариабельность роста: у питавшихся артемиями SL 17.9 ± 0.4 мм, и SL 18.7 ± 1.4 мм – у питавшихся акарциями, а также имели значимые различия индексов упитанности по Фултону ($K = W/SL^3$, мг мм³): 0027–0028 и 0030–0036, соответственно.

Несмотря на то, что калкан в возрасте 2 мес может продолжать питаться планктонным кормом (копеподами, мойнами, артемиями), совершенно очевидно, что для его более быстрого и эффективного роста необходимо питание другими, более крупными объектами. В природной среде такими объектами являются ракообразные, моллюски и мальки рыб, а в условиях культивирования – влажный корм (преимущественно рыбный фарш) или сухой инертный корм. Переваривание более питательного рыбного фарша калканом в возрасте 30–60 сут происходит вдвое дольше, чем копепод (Новосёлова, Туркулова, 2012), а разовое наполнение желудка составляет около 5% от сырого веса тела (0.75–0.8 мг при массе тела 15.0–16.0 мг) при достижении длины более 17 мм. Соответственно, в связи с развитым желудочным пищеварением и развитой ферментативной системой, одноразовый приём инертной пищи калканом составляет около 1.8–2% от сырого веса.

4.14. Питание личинок рыб рода *Scophthalmus* в естественных условиях, изменения в приоритетах питания с возрастом

Трудность изучения питания личинок калкана в естественных условиях заключается в том, что они обитают в пелагиали на неизвестных глубинах и, по-видимому, распределены очень дисперсно и редко встречаются в пробах ихтиопланктона. Редки отловы даже поздних личинок в процессе метаморфоза или уже на стадии малька. Питание азовского калкана изучено по обильному материалу (195 экз.), собранному ихтиопланктонной сетью в мае 1975 г. в центральной и западной части Таганрогского залива (над глубинами 5–6 м; температура поверхностного слоя воды 17–19°C; солёность 7–11‰). В рационе молоди азовского калкана длиной 8,5–15,3 мм (находящихся на разных стадиях метаморфоза) преобладали копеподы, составлявшие в среднем 90.7% по числу и 86.4% по весу от общего количества найденных в их кишечнике жертв (Михман, Брызгунова, 1978).

Кладоцеры играли незначительную роль в питании азовского калкана (3.4–1.5%), возможно, в связи с тем, что в зоопланктоне их было незначительное количество. Из копепод в рационе личинок калкана преобладали по весу от всех потреблённых жертв *Acartia* (40%), *Calanipeda* (29.2%), *Labidocera* (17.2%). Общие индексы потребления корма личинками калкана варьировали от 36 до 534 ‰, в среднем 321‰. Суточный рацион азовского калкана длиной 8.5 мм < SL < 15.3 мм составлял в среднем 21.4% от веса тела.

Анализ содержимого пищеварительного тракта личинок тюрбо общей длины от 3.5 до 16.9 мм, отловленных в рассветное и закатное время над глубинами 30–60 м в Северном море около северо-западного побережья Англии, показал, что их наиболее значимыми кормовыми объектами являлись морские кладоце-

ры (*Podon leuckarti* и *Evadne nordmanni*) и науплии и копеподиты пяти видов каланоидных копепод, однако, иногда среди пищевых объектов встречалась и *Oikopleura dioica* (Last, 1979). Наибольшее количество пищевых объектов в кишечнике личинки составило 265 экз. Личинки тюрбо длиной до 6 мм в мезокосмах питаются преимущественно науплиями копепод, а основу питания личинок длиной (TL) >6 мм составляли кладоцеры и копеподиты каланоидных копепод (*Centropages typicus*, *Temora longicornis*, *Pseudocalanus minutus*, *Acartia clausi*, *A. longiremis*).

Суточный рацион личинок тюрбо длиной $4 < TL < 16$ мм в среднем составлял 28–35% от веса их тела. Наибольшее количество объектов питания у личинок рода *Scophthalmus* было отмечено между полночью и 2 ч ночи. В 40 сут в природных мезокосмах они начинают переходить на питание более крупными кормовыми организмами; и амфиподы, как более крупный и более энергетически ёмкий корм, постепенно вытесняют в питании тюрбо копепод, составляя до 75% от съеденных личинками организмов (Danielssen et al., 1990). Личинки тюрбо длиной более 12–13 мм в Северном море питались преимущественно личинками декапод (Last, 1979).

Наши экспериментальные данные по избирательности питания и суточному рациону (составляющего 29–39% по весу) черноморского калкана в пределах длин 8–20 мм согласуются как с данными по питанию азовского калкана длиной 8.5–15.3 мм в море, у которых суточное потребление пищи составило в среднем 21,4% от веса личинок (Михман, Брызгунова, 1978), так и с данными по пищевому поведению и рациону личинок тюрбо длиной 4–16 мм в море (Last, 1979), у которых суточный рацион варьировал в среднем в пределах 28–35% от веса тела (Danielssen et al., 1990). Однако данные по суточным рационам калкана в возрасте 50 сут длиной ~ 40 мм при кормлении в экстенсивной системе выращивания зоопланктоном из солоноватоводных прудов предполагают, что они могут быть и выше – до 70% от веса тела (Новосёлова, Туркулова, 2012).

В море пища личинок и мальков рода *Scophthalmus* при переходе от пелагического к демерсальному образу жизни (более изученных в природных условиях благодаря их подходу к берегу и обитанию на небольших глубинах) значительно диверсифицирована. В рацион питания мальков тюрбо длиной 2.2–8.8 см, обитающих в Балтийском море, входят различные представители мейофауны и мелкие рыбы. Мальки длиной менее 3 см потребляют в основном амфипод, длиной более 3 см – мизид, амфипод и рыб (Aarnio et al., 1996). В Северном море в желудках мальков тюрбо находили незначительное количество амфипод и изопод (Jones, 1973). Согласно другим данным тюрбо длиной менее 3 см питаются смесью копепод, хирономид и амфипод; в диапазоне 3–5.5 см – преимущественно мизидами и дополнительно амфиподами; а в рационе мальков более 5.5 см преобладают мальки рыб, в частности, *Pomatoschistus* spp. (Martinsson et al., 2011).

Согласно нашим собственным немногочисленным данным, в рационе отловленных из прибрежной зоны летних сеголеток-мальков калкана преобладают разные виды планктонных и прочих ракообразных, от копепод до амфипод, мелкие личинки и мальки разных видов рыб (рис. 4.9А) и полихеты (рис. 4.9Б).

В желудке сеголеток калкана в прибрежных зонах Анапы (Чёрное море) находили преимущественно амфипод – от 10 до 30 гаммарид (*Gammarus locusta*) и идотей (*Idothea baltica*); желудки сеголеток калкана из Керченского пролива в сентябре содержали молодь хамсы и небольшого представителя бычковых, *Pomatoschistus macrops* (Марти, 1939). Метаморфизированные мальки калкана с длиной тела 4–5 см, осевшие на дно, уже начинают переходить к бентическому питанию, однако, во время нереста полихет (*Nereis spp.*) в поверхностном слое воды, над глубинами 80 м, перемещаются вместе с излюбленным объектом питания и питаются исключительно этими полихетами: «Нередки случаи подходов 4–5 см калканов к лампе подводного освещения в районе Гурзуфа (23.08.1954) при ловле рыбы на электросвет. Желудки сеголеток калкана в конце лета наполнены нерестившимися в это время в поверхностном слое нерейсами» (Попова, 1958). В этом возрасте питание мальков очень разнообразное, в него входят как планктонные организмы, так и типичные представители бентосных организмов, характерных для прибрежных вод.

Попова В.П. (1958) приводит ориентировочный список кормовых объектов мальков калкана длиной до 6 см согласно частоте их встречаемости в кишечниках / доли от веса пищевого комка: *Nereis sp.* (13%/11.4%), *L. leander* (26%/8.3%), Copepoda (4%/1.4%), Mysidae (4%/<1%), ювенильные *Crangon* (40%/6%), мальки хамсы *Engraulis encrasicolus ponticus* (14%/73%). Переход к питанию бентосными организмами в море в основном наблюдается при длине тела 4–5 см, хотя при длине 6–7 см все еще можно обнаружить планктонных копепод. Сеголетки калкана 5–6 см уже являются хищниками, но в их желудках в большом количестве встречаются ракообразные (Попова, 1958).

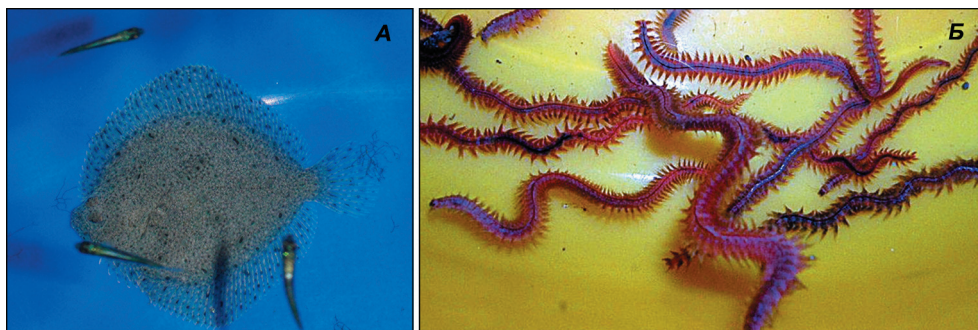


Рис. 4.9. А – малёк калкана (~4 мес) (TL=4.4 см), питающийся мальками атерины. Б – нерейс (*Nereis diversicolor*) – излюбленный объект питания мальков калкана (фото Ельникова Д.В.)

У мальков калкана длиной более 6–6.5 см основной пищей становятся мелкие пелагические рыбы. В Балтийском море у мальков тюрбо в диапазоне длин тела от 2 до 3.9 см доля планктонных каланоид в пище снижалась с 22% по количеству и с 19% по массе до 3.3 и 1.7%, соответственно. Нектобентические виды амфипод *Bathyporeia pilosa* играют важную роль (60–87% по количеству и 11–57% по весу) в питании мальков в размерной группе 2.0–4.9 см.

Рыбы становятся наиболее важной частью питания тюрбо (49–85%) в размерной группе 3–6 см (Kostrzewska-Szlakowska, Szlakowski, 1990).

Наши собственные исследования питания выращенных и отловленных в береговой зоне диких мальков калкана (3.5–5 см, 0.9–3.5 г) в искусственных и имитирующих природные условия также показали, что они, помимо планктонных копепод, успешно питались амфиподами подходящих размеров (Ельников и др., 2005), полихетами, мальками рыб разных видов, в том числе атерины *Aterina hepsetus* (Шишкина и др., 2007), мальками хамсы, атерины и других рыб, а также смешанным рыбным фаршем и фаршем из мидий (Битюкова и др., 1990; Битюкова и др., 2001) и особенно активно потребляли фарш с примесью кальмаров (Шишкина и др., 2007) и красной рыбы (Salmonidae). Суточные рационы и рост мальков варьируют в зависимости от вида пищи.

В естественных условиях в рацион молоди черноморского калкана входят, наряду с другими организмами, гаммариды (Марти, 1939), обитающие в изобилии в прибрежных биоценозах. Избирательность гаммарид молодь калкана была изучена в экспериментальных условиях на культивированных мальках (Ельников, Шишкина, 2007). В экспериментах использовали одновозрастную молодь калкана с длиной (SL) 2.1–3.0 см в возрасте 2.5–3 месяцев, выращенную в искусственных условиях. Установлено, что для мальков с длиной тела 29–39 мм оптимальной является размерная группа ракообразных (*Gammarus olivii*) 4–8 мм. В экспериментальных условиях мальки калкана сначала охотились на самых крупных жертв – гаммарид с длиной тела 8–11 мм, однако попытки оказывались нерезультативными, и спустя 2 часа они начинали охотиться на гаммарид размерных групп 4–6 и 6–8 мм, скорость перемещения которых была сопоставима со скоростью их атаки. Для совокупной выборки мальков калкана показатели элективности колебались в пределах от 0.098 до 0.185 (для размерной группы гаммарид 4–6 мм), от –0.159 до –0.111 (для группы 6–8 мм) и от –0.951 до –0.749 (для группы 8–11 мм). Для выборки мальков с SL 2.1–2.6 см показатели элективности гаммарид составили 0.142; –0.129; –0.871 для гаммарид групп 4–6, 6–8 и 8–11 мм, соответственно. Для выборки мальков с SL 2.8–3.0 см, значения элективности составили 0.157, –0.159, –0.831 для гаммарид размерных групп 4–6, 6–8 и 8–11 мм, соответственно (Ельников, Шишкина, 2007).

Для всех особей калкана наиболее высокие значения избирательности получены для гаммарид наименьших размеров. Наибольшее избегание крупных гаммарид характерно для калкана SL 2.1–2.6 см. Таким образом, данные экспериментов свидетельствует о том, что избирательность гаммарид молодь калкана длиной 2.1–3.0 см связана не только с размером кормовых организмов, но и с их доступностью по скорости передвижения. Результаты данного исследования предлагается использовать при выборе районов выпуска искусственно выращенной молоди калкана (Ельников, Шишкина, 2007).

Влияние вида корма на рационы и приросты мальков калкана с сырой массой 3.5–4 г было изучено при пилотном выращивании в условиях летних температур Чёрного моря – 24–25°C (Ельников и др., 2005). Несмотря на наиболее высокий

(12.2% от сырого веса) суточный рацион мальков при питании амфиподами *Platorchestia platensis*, суточный прирост сырой массы калкана оказался наименьшим – 2.75%. Немногом выше – 2.99% был суточный прирост массы мальков при питании мясом мидий при суточном рационе 9.6% от веса мальков. Наиболее эффективным видом корма оказался рыбный фарш: при наименьшем из трёх видов корма суточном рационе (5.1%) при питании рыбой суточный прирост сырой массы калкана составил 3.1% (Ельников и др., 2005).

Наиболее высокой усвояемостью инертных кормов (60,2%) мальками калкана SL 3.5–5.0 см была при питании фаршем нежирной ставриды (калорийность 3.7 кал/мг) и при питании высококалорийным (5.2 кал/мг) фаршем кальмара (63.5%); а из живых естественных кормов – при питании полихетами (*Nereis diversicolor*) – 52.3% (при калорийности 4.7 кал/мг). Несмотря на большие рационы личинок, питавшихся исключительно копеподами (калорийность 3.9 кал/мг, усвояемость 58.8%), темп роста мальков в этом возрасте был значительно ниже, чем у мальков, питавшихся полихетами и рыбой, у которых была определена наибольшая эффективность использования пищи на рост (6%), и среднесуточный прирост которых достигал 7% (Шишкина и др., 2007).

Оптимальный качественный и количественный состав диеты и смена предпочитаемой пищи тесно связаны с морфологическими, физиологическими и поведенческими поэтапными изменениями личинок рода *Scophthalmus*: окончанием метаморфоза, установлением сумеречного зрения с развитием глаза и двойной сетчатки в нём, переходом к желудочному типу пищеварения и переходом от планктонного образа жизни к демерсальному, которые оказывают влияние на изменение пищевых потребностей и поведения личинок.

4.15. Перевод на питание инертными кормами и подращивание мальков

До настоящего времени все попытки переводить ранних личинок тюрбо и калкана на питание инертными кормами оказались безуспешными, так как даже при условии их потребления в пищеварительном тракте личинок отсутствует ферментативная активность, способная к перевариванию белковой стенки микрокапсул. Ранний перевод личинок тюрбо на влажные пеллеты пытались осуществлять экспериментально, начиная с 19 сут (Witt et al., 1984). По турецко-японской технологии (JICA) (Çiftçi et al., 2002) личинок калкана начинали переводить на инертные корма начиная с 20 сут, и процесс перевода (при одновременном кормлении артемиями) начинался с размера гранулированных кормов 250 мкм, и увеличивался постепенно до 700 мкм к 40 сут.

В некоторых экспериментальных питомниках личинок калкана переводили на инертный корм в 25–28-сут, констатируя, что выживаемость личинок калкана при выращивании по такой схеме достигала 40% и более к концу первого месяца выращивания (Маслова, 2013). Существуют примеры постепенного приучения личинок тюрбо с возраста 24 сут к инертным сухим кормам (Az 25, TetraWerke, Melle, ФРГ), содержащих 64% общего протеина и 13% общих липидов (Segner, Witt, 1990).

В течение первых 9 сут (с 24 по 33 сут) размеры сухих пеллет увеличивают с 200 до 500 мкм, с 10 по 18 сут (в возрасте с 34 по 42 сут) от 200 до 1000 мкм; с 19 по 28 сут (в возрасте с 34 по 42 сут) от 500 до 1000 мкм; с 29 по 42 сут – более 1000 мкм; с 42 сут и далее размер пеллет составляет ~ 2 мм. Удельная скорость роста в период перехода на инертное питание в течение 25 сут (до возраста 50 сут) составила около 8, однако при этом у личинок происходило развитие стеатоза (жировой инфильтрации) печени.

Однако, согласно опыту французских научно-исследовательских институтов и методике, применяемой в наиболее успешных испанских и французских питомниках по настоящее время, а также согласно исследованиям, проведенных в нашей лаборатории и других экспериментальных питомниках, развитие пищеварительной системы личинок рода *Scophthalmus* в возрасте до 30 сут не позволяет им полноценно переваривать и эффективно использовать инертные корма на рост и не может обеспечить высокую выживаемость.

По французской интенсивной технологии перевод на инертное питание личинок тюрбо производят на как можно более позднем этапе развития, когда за период перевода на инертный корм можно рассчитывать на выживаемость личинок до 80–90% (Mahious et al., 2006). Этому критерию соответствует период, когда пищеварительный тракт уже достаточно развит, имеются развитые желудочные железы, устанавливается желудочное пищеварение и происходит более быстрая адаптация личинок, т.е. не ранее 30–35 сут. В течение минимум 15 сут до начала перевода на инертное питание личинок кормят метанауплиями артемий, и только с 30–35 сут начинают чередовать кормления артемиями и инертными кормами, а полный перевод на питание инертными кормами завершают не раньше возраста 40–45 сут.

Личинок калкана также рекомендуется начинать переводить на инертный искусственный корм не раньше возраста 35–40 сут. Но более успешным периодом перевода личинок калкана на инертный корм оказывается завершающий этап второй половины метаморфоза (40–45 сут, при длине тела 18–20 мм и сыром весе 0,15–0,24 г) (Битюкова и др., 1988), после окончательного формирования желудка (обеспечивающего переход организма на желудочный тип пищеварения), полноценного функционирования желудочных желез, гепатопанкреаса, желчного пузыря и поджелудочной железы (обеспечивающих полноценное полостное пищеварение и приводящее к более интенсивному усвоению и возможности расщепления белковых соединений в условиях длительного пребывания пищи в желудке) и усиления процессов всасывания (в результате формирования петель и увеличения складчатости кишечника), а также формирования рта типичного хищника (появления глоточных и конических зубов на челюстях).

Выживаемость калкана на 45–60 сутки отражает успешность прохождения метаморфоза при адекватном потребностям личинок биохимическом составе корма и успешность перевода личинок на инертное питание (Bromley, Howell, 1983) при благоприятном температурном режиме и отсутствии вспышек заболеваний у личинок с высоким уровнем неспецифического иммунитета.

Для того чтобы приучить личинок к вкусу инертного корма, за несколько суток до его введения в кормление метанауплиев артемий насыщают измельчённым инертным кормом перед внесением в бассейны с личинками. Затем начинают частые кормления инертным кормом, чередуя с кормлением артемиями, и в течение двух недель постепенно уменьшая количество кормлений артемиями и увеличивая количество кормлений инертными кормами. Перевод осуществляется в невысоких бассейнах с уровнем воды 30–50 см с плоским дном при повышении протока воды при минимальном сухом весе личинок 30–40 мг (Stoss et al., 2004). Молодь около 75 мг сырой массы выращивают при плотности 3 000–5 000 экз. м².

После перевода на инертное питание суточный рацион калкана снижается до $15 \pm 1\%$ от сырого веса, а разовое наполнение кишечника составляет ~ 18 мг при двукратном суточном кормлении, и личинки потребляют пищу опускаясь на дно. Согласно данным разных исследователей в оптимальных температурных ($21 \pm 1^\circ\text{C}$) и трофических условиях (при питании хорошо усвояемым инертным кормом с высоким содержанием белка и оптимальным соотношением ПНЖК) калкан в возрасте 2 мес. может достигать длины 3–4 см при сухой массе 0.2–0.35 г (Битюкова и др., 1988; Туркулова и др., 2013). При оптимальном питании и температурном режиме мальки тюрбо также достигают в возрасте 2 мес. длины 3 см и около 1.5 г сырого веса.

В искусственных условиях при интенсивном типе культивирования калкан, в зависимости от температурных (в диапазоне $18\text{--}22^\circ\text{C}$) и трофических (вариации состава живого и инертного корма) условий полностью завершает метаморфоз в возрасте 2–3 мес. при длине 4–6 см, когда мальки окончательно переходят к придонному образу жизни и их кормят адекватными по размеру и составу высококачественными комбикормами в низких (с уровнем воды 40–60 см) бассейнах.

В ранний мальковый период в условиях пилотного питомника суточный рацион калкана по сырой массе варьирует в пределах 10–12%, а удельная суточная скорость весового роста составляет 4–6% (Bityukova et al., 2001). Наиболее быстро мальки калкана растут при кормлении их рыбным фаршем при температурах $21.5 \pm 1^\circ\text{C}$. В возрасте от 2 до 3 мес. относительные среднесуточные приросты длины калкана составляют 1.5%, среднесуточный прирост веса мальков достигает 7%, при увеличении длины тела от TL 3.5 ± 0.5 см до TL 5.3 ± 0.5 см (4.2 – 5.6 см) и сырого веса в среднем от 0.65 мг до 2.84 г.

С 3 до 4 мес. суточный рацион калкана по сырой массе варьирует в пределах 7–12%, и мальки достигают в 4 мес. в среднем размеров TL 8.6 ± 0.6 см при весе 10.2 ± 1.4 г. Средняя удельная скорость суточного весового роста в этот период варьирует в пределах 3.7–4.9% (Битюкова и др., 1988).

При подращивании калкана (от 4 мес.) в рециркуляционной системе при колебаниях температуры в пределах $13\text{--}15^\circ\text{C}$ и кормлении смесью рыбного и мидийного фарша мальки в возрасте 8 мес. достигали длины TL 13.9 см, и сырой массы 59.5 г (Bityukova et al., 1990). В условиях некондиционированного экспериментального питомника при более значительных температурных колебаниях с августа по апрель в диапазоне $14\text{--}24^\circ\text{C}$, при кормлении рыбным фаршем,

калкан характеризуется высокой скоростью роста: с 3 до 8 мес его длина увеличивалась в среднем от TL 6.1±0.5 см до TL 14±1 см (см. табл. 4.6). К 11 мес. (апрель) средний сырой вес особей составлял 249.8 г при длине TL 21.7±1.4 см (Bityukova et al., 2001). Суточный рацион мальков при кормлении сырыми пеллетами из смеси замороженной рыбы (*Ammodites sp.*, мерланга *Odontogadus merlangus* и скумбрии *Trachurus mediterraneus ponticus*) в период с 3 до 11-месячного возраста снижался с 12.2 до 2.7% сырого веса.

По мере возрастания среднего веса калкана (и при сезонном снижении температуры) в течение 3–11 мес. выращивания удельная суточная скорость роста сырой массы (SGR, %) снижалась с 4.1% (4–11 г при 22–24°C в августе) до 1.2% (130–250 г при 17–18°C в марте – апреле), составляя в среднем за период 8 мес. выращивания 1.7%. (см. табл. 4.6). Усредненный индекс упитанности рыб по Фултону ($K = WW/TL^3$ г/см³, где K – индекс упитанности, W – сырой вес рыбы, TL – общая длина рыбы) составил $K = 0.021$ г/см³ и превысил индекс, установленный для диких мальков калкана – $K = 0.017$ г/см³ (Марти, 1939). Коэффициент конверсии пищи на рост молоди калкана снижался незначительно от 3.3 до 2.4, в среднем в пределах вариации коэффициента конверсии пищи, определяемого для одновозрастных мальков атлантического тюрбо (Devesa, 1995).

Табл. 4.6. Параметры роста молоди калкана в условиях экспериментального питомника (из Bityukova et al., 2001).

Возраст, мес.	Средне-мес. t, °C	Средний сырой вес рыб, г	SGR, %	Суточный рацион, % сыр. веса	Коэфф. конверсии пищи /рост	Весовой прирост в месяц, %
3	23.9	4.0	4.1	12.2	3.2	30.8
4	21.6	11.2	2.7	9.5	3.5	28.9
5	17.3	16.7	2.7	7.2	2.8	35.9
6	15.7	32.3	1.7	5.6	3.4	29.2
7	13.9	54.2	1.5	3.8	2.5	39.8
8	14.7	88.1	1.4	3.9	2.9	34.7
9	17.8	130.4	1.2	4.6	2.9	34.2
10	17.2	189.4	1.0	2.4	2.5	41.0
11	16.7	249.8	1.1	2.7	2.4	43.5

Потенциал весового роста рыб рода *Scophthalmus* особенно высок именно в первый год: 200 г в возрасте 9 мес (Bityukova et al., 1990) и до 350 г и более через 12 мес (Bityukova et al., 1990; Bityukova et al., 2001; Person Le-Ruyet, 2002; Маслова, 2013; Туркулова, Новосёлова, 2013). Но в промышленных выростных хозяйствах не всегда достигается высокая скорость роста, и часто, при пониженных температурах, через 9 мес. вес тюрбо может оказаться не выше 60–75 г, так как коэффициент конверсии пищи при кормлении сухими пеллетами может

достигать 0,8, а выживаемость, зависящая в основном от качества используемой воды, может достигать 85% (Person Le-Ruyet, 2002).

Рост одновозрастной группы калкана даже в одинаковых условиях, но в разных когортах может значительно варьировать: в 3 мес. в пределах 0.5 – 2 г сырого веса; в 8 мес – в пределах 60.4 ± 22.5 г сырого веса, достигая в более быстро растущей когорте среднего веса 88 г, в 11 мес вариации веса могут составлять 228.6 ± 91.5 г. Сеголетки калкана к 200 сут при выращивании в установках УЗВ и кормлении комбикормами вырастали до 14–19 см при колебаниях сырого веса 45–140 г (Туркулова и др., 2013) при средней (для всего периода выращивания от вылупившейся личинки) удельной скорости весового роста 5.7%. Рост калкана характеризуется высокой вариабельностью даже в группе сиблов: в возрасте 1.5 лет калкан достигает средней длины 30.56 ± 20.34 (при разбросе длин от 27.5 до 35.4 см) при сыром весе 501.8 ± 12.05 г (при вариациях веса от 410 до 650 г) (Туркулова и др., 2013).

Значительный разброс длины и массы одновозрастных рыб, даже находившихся при искусственном выращивании в оптимальных трофических условиях (ежедневное кормление до насыщения) предполагает необходимость периодического разделения групп быстро и медленно растущих особей во избежание каннибализма. Различия в скорости роста разных особей молоди рода *Scophthalmus* особенно заметны начиная с 8 мес., когда наступает период полового созревания, так как у самцов в значительной степени по сравнению с самками замедляется рост. В возрасте 30 мес. при интенсивном культивировании самки черноморского калкана весят значительно больше самцов: 1.45 ± 0.37 кг и 1.19 ± 0.25 кг, соответственно (Aydin et al., 2011). Поэтому в промышленной аквакультуре рыб рода *Scophthalmus* возникла заинтересованность в выращивании исключительно самок, из-за их быстрого весового роста и более позднего созревания. Для получения в потомстве исключительно самок во время фазы искусственного оплодотворения икры индуцируют гиногинез (Piferrer et al., 2004), который используют в случае, если самки вида являются гомогаметным полом.

Фаза подращивания (On-growing). К окончанию фазы питомника (hatchery-nursery), когда мальки тюрбо достигают веса 10 г, в возрасте 4–5 мес. после выклева, на промышленных аквакультурных фермах их переводят в фазу подращивания (Person Le-Ruyet, 2002). (В испанских аквакультурных предприятиях фазу подращивания начинают при достижении мальками веса от 1 до 10 г и заканчивают при достижении молодью веса 100–150 г через 7–9 мес.). Подращивание мальков по французской технологии обычно производят в закрытых помещениях оранжерейного/тепличного типа, с подведённой подогретой морской водой (проточной или рециркуляционного типа). Мальков выращивают в неглубоких бассейнах (цементных или из стекловолокна) с поверхностью дна $10\text{--}20$ м² и $0.25\text{--}0.50$ м полезной высоты (водного слоя). Плотность рыб повышают от 10 кг м⁻² в начале выращивания до 30 кг м⁻² в конце фазы подращивания (150 экз м⁻²). Первую размерную сортировку рыб обычно проводят когда тюрбо достигают 50–60 г, к окончанию фазы подращивания.

Частота кормления инертными кормами может влиять на скорость роста мальков черноморского калкана в ранний период подращивания в искусственных условиях (Türker, 2006). Наиболее быстрый белковый рост мальков со значительным повышением веса от 15 ± 3 г до 74 ± 2 г в течение 2-месячного периода даже при низкой температуре воды в зимний период ($\sim 8^\circ\text{C}$) наблюдали при кормлении дважды в сутки до насыщения.

Относительное потребление корма по весу снижается по мере роста тюрбо, и суточный рацион у особей весом 20 г составляет $\sim 1\%$ от веса и снижается у рыб весом 100 г до $\sim 0.5\%$ от веса; с возрастом рыбы питаются реже, но большими порциями (Person Le-Ruyet, 2002). Несмотря на то, что разработано много разнообразных автоматических кормушек, на многих фермах по производству тюрбо продолжают использовать кормление вручную, потому что визуальный контроль позволяет не только более экономно кормить партии рыб адекватно их потребностям, легко контролировать длительность и дозу кормления, но и не позволяет загрязнять бассейны для выращивания излишками несъеденного корма.

Длительность кормления сильно зависит от аппетита рыб, и обычно составляет приблизительно 15 мин для группы 50–100 рыб. Для повышения аппетита и роста мальков калкана (30–150 г, при температуре $12\text{--}18^\circ\text{C}$) используют пищевые добавки 0.1–0.27% инозина, 0,9% L-Глутаминовой кислоты при оптимальной рН корма 7.1–7.5 (Erteken, Nezaki, 2002).

Коэффициент конверсии корма (FCR) при выращивании тюрбо варьирует в зависимости от типа корма, и составляет около 6 для влажного рыбного фарша, 2–3 – для влажного гранулированного корма, и около 1 – для изготовленного локально на ферме гранулированного корма.

Разработкой инертных кормов для тюрбо занимались многочисленные исследовательские институты и промышленные компании, и влажные гранулированные комбикорма были разработаны первыми и оказались очень эффективными для кормления и удобными в использовании и хранении. Однако быстрое разложение их в воде приводило к ухудшению качества воды и возникновению вспышек заболеваний. В настоящее время наиболее эффективно при промышленном товарном выращивании тюрбо используют сухие гранулированные комбикорма с торговой маркой BiomarR and AllereR.

Фирма BioMar предлагает программу, обеспечивающую полный цикл кормления рыб рода *Scophthalmus* после перехода на питание инертными кормами. Европейские фирмы LARVIVA и INICIO Plus. предлагают разнообразные корма для ранних стадий развития личинок с включением в них пробиотика, одобренного Европейским Контролем Пищевой промышленности (Bactocell), который оказывает хорошо подтвержденный задокументированный эффект снижения разнообразных деформаций при развитии личинок и мальков рыб, а также позитивно влияющий на их здоровье и резистентность к инфекционным заболеваниям.

Скорость потребления пищи для недавно переведенных на инертное питание тюрбо составляет около 20% от их веса в сутки, но начиная с длины 2 см суточное потребление корма падает до 10–15% от веса тела, а после достижения ими общей длины TL ~10 см, суточная норма снижается до 2–3%.

Кормление мальков производится преимущественно вручную. Даже незначительные и кратковременные ограничения в пище у мальков могут вызывать торможение роста, поэтому кормление должно производиться ежедневно до насыщения (Blanquet et al., 2010), однако, значительные периоды недоедания впоследствии могут вызывать значительный компенсаторный рост.

4.16. Потребности мальков в белках, липидах и жирных кислотах

Из литературных данных известно, что для роста и развития молоди камбаловых необходимо составлять стартовые искусственные корма, исходя из их специфических потребностей в высоком содержании протеинов и с повышенной долей фосфолипидов по сравнению с триацилглицеридами и полиненасыщенных жирных кислот по сравнению с насыщенными жирными кислотами в составе липидов. Из литературных данных известно, что наиболее высокий рост мальков происходит при питании кормом с высоким содержанием протеинов и относительно низким – жиров (Bromley, 1980; Bromley, Sykes, 1985). Избыточное содержание липидов в составе пищи приводит к замедлению роста мальков, но при этом улучшается эффективность усвоения протеинов.

Липидный эффект экономии протеинов особенно выражен, когда мальки получают 75% от рациона насыщения при содержании липидов не более 6%. При этих условиях 42% от содержания протеинов в корме конвертируется в протеины малька, по сравнению с 32% от рациона насыщения с содержанием 0.5% липидов в корме. Мальки камбалообразных не способны с высокой эффективностью конвертировать линоленовую кислоту в докозагексаеновую. Обнаружена только слабая активность синтеза ДГК из ЭПК и определена высокая доля (около 23%) включения арахидоновой жирной кислоты из кормов в состав фосфоинозитола. Наибольшей степенью включения в состав мальков из состава корма обнаружена для докозагексаеновой кислоты (69% от общих липидов) (Linares, Henderson, 1991). Особенно важна ДГК для нервной системы и головного мозга, специфическая аккумуляция ДГК в общие липиды мозговой ткани возрастает от 40 до 100-суточного возраста с 8 до 28% (Mourente *et al.*, 1991; Mourente, 2003).

Витамин Е – антиоксидант, предохраняющий от перекисных процессов полиненасыщенные кислоты, и повышает резистентность мальков в результате включения антиоксидантной системы защиты (Tocher et al., 2002), поэтому предлагается вводить в состав инертных кормов витамин Е – около 2% от входящей в его состав ДГК. Помимо того, что повышение доли фосфолипидов более благоприятно для роста камбалообразных, полиненасыщенные жирные кислоты n-3 в составе фосфолипидов кормов ассимилируется ими эффективнее в сравнении с эфирами n-3 жирных кислот (Geurden et al., 1997).

В связи со специфическими потребностями мальков составлена ориентировочная рецептура опытного инертного корма, в состав которого обязательно должны входить фарш рыбы нежирных сортов, рыбий жир, мидийная добавка, смесь незаменимых аминокислот и микроэлементов, а соотношение протеинов к липидам должно составлять не менее 4 (т.е. соответственно 56 и 14%), фосфолипидов – не менее от общей доли липидов, и ДГК – не менее 1% от всех жирных кислот.

В состав инертных кормов, которые позволяют в переходный период (при переводе на инертные корма) достигать удельной скорости весового роста 8–9% входит 64% общего белков, с содержанием до 60% рыбного фарша с добавлением 14% концентрата рыбного протеина, и около 13% общих липидов, с добавлением жира печени трески ~ 4% (Mahious et al., 2006).

Несмотря на то, что рыбы рода *Scophthalmus* после достижения малькового периода легко адаптируются к качественным сухим комбикормам, они предпочитают им рыбный фарш или другие влажные корма, причём рост рыб при кормлении влажным фаршем может быть на 18% выше, чем при кормлении сухим комбикормом, несмотря на сходный биохимический состав (Person Le-Ruyet, 2002). В ранний мальковый период (масса тела особей – до 10 г) для оптимального роста тюрбо оптимальное содержание общих белков в сухом корме согласно разным исследованиям должно составлять от 50% (Danielssen & Hjertnes, 1993) до 69.8% (Caceres-Martinez et al., 1984). Но наиболее высокие темпы роста тюрбо (у особей с массой тела до 10 г) были получены при содержании в корме до 60% протеинов, но такое высокое содержание белков в корме значительно удорожает продукцию. Содержание в корме белков ниже 45% и липидов выше 12% приводит к нарушению обмена веществ у рыб и к получению низких весовых приростов и нежелательному отложению жира на ранних этапах выращивания (Person-Le Ruyet, 2002).

В связи со специфическими потребностями мальков рода *Scophthalmus* и для ускорения их роста при составлении инертного корма обычно придерживаются соотношения протеинов к липидам не менее 4 (не менее 55–56% белка к 14–16% липидов). В состав влажных кормов обязательно должны входить фарш рыбы (нежирных сортов), рыбий жир, добавка фарша моллюсков (кальмар предпочтительнее мидий), смесь незаменимых аминокислот и микроэлементов.

Для удешевления выращивания калкана были проведены эксперименты по возможности замещения ценного рыбного фарша продуктами отходов птицеводства. Черноморский калкан с начальным весом 30 г в течение 60 сут потреблял корма, уравненные по энергетике и содержанию белка (из расчёта 550 ± 0.35 г кг⁻¹), но с протеинами разного происхождения – использовали 100% рыбный фарш и фарш с добавлением продуктов отходов птицеводства. В результате повышения доли продуктов отходов птицеводства до 25% не было получено различий в скорости роста, эффективности утилизации белка и финальном весе рыб по сравнению с кормлением 100% рыбным фаршем (Yigit et al., 2006).

Несмотря на то, что у мальков камбалообразных известна незначительная активность синтеза ДГК из ЭПК, конвертировать линоленовую жирную кислоту в докозагексаеновую они не могут, однако именно ДГК, которая особенно важна для нервной системы и головного мозга, наиболее эффективно встраивается из состава корма в состав тканей мальков (69% от общих липидов) (Linares, Henderson, 1991; Estévez et al., 1999). Специфическая аккумуляция (включение) ДГК в общие липиды и особенно в фосфолипиды мозговой ткани, в диапазоне возраста мальков от 40 до 100 сут возрастала с 8 до 28%. (Mourente et al., 1991).

В связи с тем, что витамин Е – антиоксидант, предохраняющий от перекисных процессов полиненасыщенные кислоты, и повышающий резистентность мальков в результате стимуляции их антиоксидантной системы защиты, рекомендуется включать его в состав инертных кормов в соотношении ~ 2% от доли ДГК в составе корма (Tocher et al., 2002). Повышение относительной доли фосфолипидов в пище благоприятно для роста камбалообразных и, помимо этого, полиненасыщенные жирные кислоты n-3 в составе фосфолипидов кормов ассимилируются на порядок эффективнее в сравнении с эфирами n-3 жирных кислот (Geurden et al., 1997).

Состав кормов является также важным фактором, детерминирующим состав тела рыб в зависимости от их возраста и веса. При составлении искусственных инертных (и особенно стартовых) кормов для улучшения роста и развития молоди камбалообразных необходимо учитывать не только их специфические потребности в определённом составе липидов (повышенной доле фосфолипидов по сравнению с триацилглицеридами, полиненасыщенных жирных кислот по сравнению с насыщенными жирными кислотами в составе липидов и повышенное содержание ДГК в жирнокислотном составе), но и их специфические потребности в высоком содержании протеинов.

Мальки рода *Scophthalmus* нуждаются для роста в большом количестве белков, и наиболее быстрый рост происходит на диете с высоким содержанием протеинов и относительно низким содержанием липидов (Bromley, 1980). Считается, что существует спарринг-эффект, т.е. липиды в составе пищи регулируют эффективность использования белков пищи на рост, и при высоком уровне липидов в кормах они могут оказывать угнетающее воздействие на рост мальков (Caceres-Martinez et al., 1984; Danielssen and Hjertnes, 1993).

При содержании липидов в корме от 6 до 42% от содержания протеинов, они конвертируются в протеины тела малька (Caceres-Martinez et al., 1984), и количество потреблённой пищи мальками с массой тела 10 г (в течение 42 сут эксперимента) не изменяется в зависимости от соотношения протеинов и липидов в корме. С повышением содержания протеинов в пище удельная скорость роста SGR возрастает, однако при этом коэффициент конверсии пищи на рост снижается.

Самое высокое значение SGR (2,5%), при наиболее высоком ежедневном приросте белка тела личинок, наиболее высоком коэффициенте использования

пищи на рост FC (0.57) и наибольшем содержании липидов в печени мальков было получено при соотношении в корме 69.8% протеинов и 10% липидов, в то время как повышение содержания липидов (более 15%) в пище оказывало негативное влияние на рост и конверсию пищи. Однако наиболее эффективное усвоение протеина из пищи (protein efficiency ratio, PER=3.1%) и самый высокий коэффициент утилизации белка (protein utilization coefficient, PUC=50%), были получены при соотношении в корме 37.5% протеинов и 20% липидов (Cifcrl et al., 2002).

На основании сопоставления экспериментальных данных по эффективности усвоения пищи, скорости прироста и удельной скорости роста было рассчитано оптимальное соотношение белка и липидов в составе пищи молоди тюрбо – 55 и 16.8% на сухой вес, соответственно (Cho et al., 2005). Наиболее высокая усвояемость белка и весовой рост мальков тюрбо от начального веса 89 г в течение 45 сут были получены при содержании не менее 49% протеинов в корме (Lee et al., 2003). Липиды в составе тела обычно положительно коррелируют с составом липидов корма. Содержание липидов в корме ниже нормы тюрбо обычно компенсируют повышенным потреблением пищи.

У тюрбо весом > 200 г (202.3 г – 15.6°C), выращиваемого в течение двух месяцев на корме, в составе которого было одинаковое (43%) количество белков, но разное количество липидов, не было замечено различий в составе белков и массы тела, но было значительно больше липидов (8.2 против 6.3%) и меньшее количество воды (71.2 против 73%) (Sæther, Jobling, 2001).

Рост тюрбо в более позднем возрасте (при начальном весе 580 г) также значительно повышается при содержании в корме 50% протеинов и 15% липидов по сравнению с 35–42% протеина и 25% липидов, однако, в этом возрасте рыбы уже могут более эффективно утилизировать высокое содержание липидов в пище на рост (Leknes et al., 2012).

При кормлении тюрбо (при начальном весе 660 г) в течение 3 мес. экспериментальным кормом, содержащим 59% легко-усвояемого протеина и рыбьего жира при вариациях содержания липидов от 10 до 25%, наилучший рост был получен при содержании в пище 10–15% липидов. Независимо от содержания липидов в корме, содержание их в мышцах тюрбо не превышало 1.1–1.7%, и в этой возрастной категории не наблюдали спарринг-эффекта липидов даже при их высокой концентрации в корме (Regost et al., 2001).

В более старшей группе тюрбо с большей массой тела (> 800 г) корм с одинаковой долей протеинов (60%), но различный по доле липидов, значимо влиял не только на состав, но и рост рыб. При повышенной доле липидов в корме (20–25%) рост снижался, и в теле откладывалось больше липидов, особенно в подкожном жировом слое, по сравнению с группой, питавшейся кормом, в составе которого доля липидов находилась в пределах 10–15% (Regost et al., 2001).

Температура выращивания в диапазоне 16–22°C при одинаковом рационе не влияла на удельный рост, и никак не влияла на вариабельность весового роста тюрбо ($\Delta CV_w = 1.00–1.13\%$).

Коэффициент конверсии пищи на рост был максимален при 65% от максимально возможного рациона, причем выше при 16°C (1.30 г г⁻¹) чем при 22°C (1.17 г г⁻¹) (Van Nam et al., 2003).

Наиболее адекватные для рода *Scophthalmus* коммерческие комбикорма имеют высокое содержание белков (52–54% от сухого веса) и низкое содержание липидов (~ 12%), тем не менее культивируемые тюрбо оказываются жирнее (иногда до 40%), чем тюрбо, выловленные из моря (Azam et al., 1993).

Корма с более высоким содержанием липидов (до 20%) используются в основном только испанскими производителями для тюрбо весом более 1.5 кг, так как на локальных испанских рынках предпочитают более жирную рыбу. Содержание протеинов в пище не менее 55% может быть рекомендовано как оптимальное, с аминокислотами как основным источником белка, и которые предпочтительнее для получения высокого качества мяса рыбы. Таким требованиям соответствует мясо кальмаров, которые являются излюбленной пищей тюрбо в море, и они потребляют кальмаров до полного насыщения, что и также используется производителями на последних этапах выращивания для получения вкусовых оттенков мяса тюрбо.

При интенсивном выращивании тюрбо используют довольно высокую плотность посадки рыб, возрастающую по мере их роста: 30–35 кг м² для особей массой 300 г, 45 кг м² – для 750 г и 60–80 кг м² – для более крупных рыб. В благоприятной по химическому составу воде тюрбо может выдерживать очень высокую плотность посадки (до 100 кг м² и до 4 слоев рыб), но такую плотность используют при выращивании в рециркуляционных установках.

Глава 5. РЕТРОСПЕКТИВА РАЗВИТИЯ ПРОМЫШЛЕННОЙ МАРИКУЛЬТУРЫ ТЮРБО

Рыба всегда имела большое значение для человечества, поскольку она является частью сбалансированной диеты, а в настоящее время её используют как источник белка более 3.3 млрд человек. Помимо ценных белковых соединений и незаменимых аминокислот в состав рыбы входят фосфолипиды, длинноцепочечные жирные кислоты омега-3, которые важны для иммунитета, нервной системы и, в частности, для деятельности мозга; она является источником йода, который способствует развитию нервной системы и влияет на функции щитовидной железы, и содержит витамин D, который регулирует иммунитет и влияет на состояние костной системы.

Среднее потребление рыбных продуктов во всем мире поднялось с 9 кг на душу населения в 1961 г. до 20.5 кг в 2019 г., удвоившись по сравнению с 1973 г. (APROMAR, 2020, электрон. ресурс). В результате постоянно прогрессирующего рыболовства рыбные ресурсы Мирового океана резко снизились особенно за последние 20 лет, и количество биологически устойчивых рыбных запасов резко сократилось за последние несколько десятилетий. Если в 1974 г. они составляли 90% от эксплуатируемых ресурсов, то к 2017 г. снизились до 65.8%, несмотря на то, что тотальный объём вылова морской рыбы не повышается с 1980-х гг.

В 2018 г. глобальная продукция рыболовства достигла рекордного уровня 96.4 млн т, и превысила на 5% средний уровень за предыдущие 3 года, при этом на семь ведущих рыболовных стран (Китай, Индонезии, Перу, Индии, Российской Федерации, США и Вьетнама) приходилось почти 50% от общего объема вылова.

Для непосредственного потребления людьми (свежей и охлажденной рыбы) в 2018 г. было использовано 88% выловленной рыбы, и лишь 12% израсходовано на непродовольственные цели. Производство рыбной муки и рыбьего жира в мире сокращается, хотя именно они считаются наиболее легкоусвояемыми и более питательными ингредиентами инертных кормов. А вот что касается аквакультуры, то до 35% её мировой продукции ежегодно теряется, что говорит о недостаточной устойчивости данного сектора и о необходимости расширения его доступа к рынкам.

Рыба и рыбные продукты являются одними из самых продаваемых пищевых продуктов в мире. В 2018 г. на международном рынке было продано 67 миллионов тонн рыбы (в эквиваленте живого веса), а общая стоимость экспорта составила 164 млрд долларов, и продажи составили ~ 38% всей рыбы, выловленной или выращенной во всем мире. Китай с 2002 г. является крупнейшим экспортером рыбы в мире, а второе место с 2004 г. занимает Норвегия.

С 1990 по 2018 гг. глобальный вылов рыбы вырос на 14%, в то время как глобальная продукция рыбы в аквакультурном секторе увеличилась более чем в 5 раз (FAO. 2020, электрон. ресурс). По прогнозам ФАО (FAOSTAT, электрон. ресурс)

потребление рыбы с 2009 г. до 2030 г. должно было возрасти в 1.2 раза, с 122.9 до 151.8 млн т. Однако в настоящее время уже ожидают, что к 2030 году общее производство рыбы возрастёт до 204 млн т, так как глобальное потребление рыбы с 1990 по 2018 гг. выросло на 122%. По прогнозам ФАО, в этом секторе по-прежнему будет доминировать Азиатский регион, особенно Китай с его быстро растущим населением, который вероятнее всего будет потреблять более 70% продукции рыбной промышленности. Поэтому при расчётной цифре населения Земли около 9.7 млрд к 2050 г. аквакультуре отводится серьёзное место в глобальном обеспечении человечества полноценными пищевыми рыбными продуктами.

В последние годы аквакультурный сектор стабильно увеличивал производство. Совокупная продукция рыбы, потребляемой населением мира, в 2018 г. составляла 211.9 млн т (из которых 97.4 млн т (или 46%), получено в секторе рыболовства, а 114.5 млн т (или 54%) в секторе аквакультуры), что на 2.6% больше по сравнению с 2017 г. (APROMAR, 2020, электрон. ресурс). Азия доминирует последние два десятилетия, производя практически 92% от мировой продукции аквакультуры (рис. 5.1), но имеет также и самую большую долю в рыболовстве (52%). Значительно меньшие доли аквакультурной продукции распределяются между Америкой (3.2%), Европой (2.7%), Африкой (2.0%) и Океанией (0.2%). Из 59.5 млн человек, вовлечённых в мире в рыбную промышленность в 2018 г., на аквакультурных предприятиях работали 20.5 млн, а 39 млн – в рыболовстве.

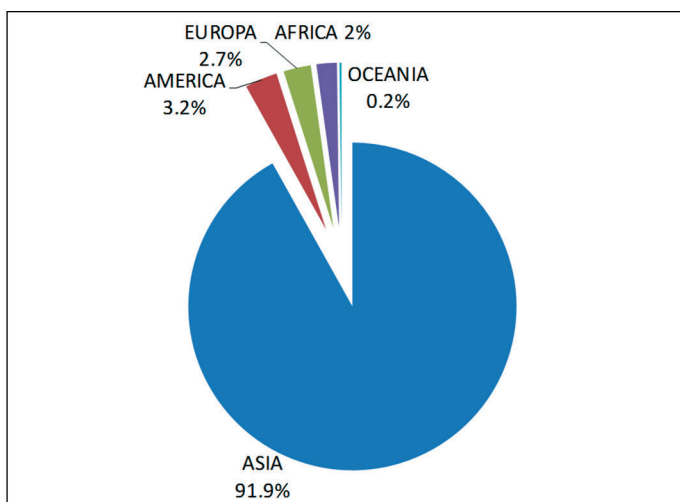


Рис. 5.1. Распределение доли аквакультурной продукции в разных географических регионах

Анализируя глобальную статистику продукции аквакультуры, ФАО отмечает, что, несмотря на то, что аквакультурой занимаются почти во всех странах мира, реальных успехов достигают только те страны, которые развивают сектор аквакультуры стратегически, в течение длительного времени. Именно поэтому только 10 основных стран-производителей общей продукции аквакультуры во всем мире в 2019 г. увеличили объем производства с общим темпом роста 3.6%

и произвели 101.1 млн т продукции, то есть 90% от общего объема производства, из которых безусловный лидер, Китай, произвёл более 64 млн. т, или 57.5% (APROMAR, 2020, электрон. ресурс).

Морское рыбководство (марикультура рыб) заняла прочное место среди мировой промышленности как отрасль производства высококачественной белковой пищи. Если в 1974 г. рыбная продукция, выращенная на аквакультурных фермах, не превышала 7% от общего потребления рыбы, то в настоящее время её доля уже превысила 50%, и в 2016 г. глобальное потребление искусственно выращенной морской рыбы достигло 80 млн т (FAO, 2017)

К 2030 г. по оценкам экспертов ФАО (FAOSTAT, электрон. ресурс) доля потребляемой морской рыбы, производимой марикультурной промышленностью, должна достигнуть 62% от общего количества рыбной продукции и приблизиться к 94 млн т. Предполагается, что Азиатский регион будет потреблять до 70%, а Китай, с его особенно быстро растущим населением, приближающимся к 1.5 млрд человек, до 38% от общемировой рыбной продукции. (ФАО, 2019).

Одним из видов высокорейтинговых ценных культивируемых рыб, как на европейском, так и на других рынках, считается атлантическая камбала тюрбо *Psetta maxima* (или *Scophthalmus maximus*), вид близкородственный (или, как считается в настоящее время, конспецифичный) черноморской камбале калкан (Turun et al., 2019). Только страны ЕС осваивают 15 тыс. т тюрбо (выловленного и произведённого аквакультурными предприятиями), преимущественно в свежем виде; а основное потребление его в Европе сосредоточено в Испании, Франции и Италии (EUMOFA, 2018).

Хотя по объёму производства среди всех производимых мировой аквакультурой видов рыб тюрбо стоит на 104 месте, скорость наращивания аквакультурного производства тюрбо в период становления отрасли впечатляющая, со среднегодовым приростом 22%. С 1997 по 2018 г. глобальное производство этого вида выросло с 3.3 до 58.8 тыс. тонн на сумму 310 М€ (млн евро), из которых европейскими предприятиями было выращено 11.6 тыс. т тюрбо на сумму 73.2 М€ (APROMAR, 2020, электрон. ресурс). Остальная продукция сосредоточена в Китае, который в 1992 г. только начал производство интродуцированного тюрбо, а к 2017 г. уже производил 80% от его мировой продукции (FAO, 2017).

В Европе основной страной-производителем тюрбо является Испания, которая произвела 8258 т в 2019 г. и 8337 т в 2020 г. по среднегодовой цене 9.25 €/кг; на долю Португалии (2350 т) приходится 21.6%; и, существенно ниже, 14.4% от общеевропейской продукции тюрбо, производят совокупно Франция и Нидерланды (APROMAR, 2020, электрон. ресурс). Пандемия коронавируса несколько снизила темпы производства, так как продажа свежей рыбы в Испании, а также в других европейских странах упали, в основном, из-за полного закрытия туризма и общественного питания. Для возмещения ущерба аквакультуре и рыболовству ЕС разработал специальные программы финансовой поддержки через Европейский фонд морского судоходства и рыболовства (EMFF), но на полное восстановление этих отраслей уйдёт немало времени.

Культивирование атлантического тюрбо находится в Европе в фазе промышленного выращивания уже 35 лет. Развитие европейского сектора товарного выращивания тюрбо было простимулировано резким падением уловов этой ценной рыбы в связи с переломом её естественных популяций (подрывом запасов) всеми европейскими странами: в 1990 г. было выловлено 10 тыс. т тюрбо, и к 1999 г. общий вылов тюрбо (при этом абсолютно легально вылавливали даже неполовозрелых рыб весом 0.5 кг) упал до 6500 т (рис. 5.2). Динамика выловов и промышленного выращивания тюрбо). Начиная с этого периода вылов атлантического тюрбо оставался приблизительно на том же уровне.

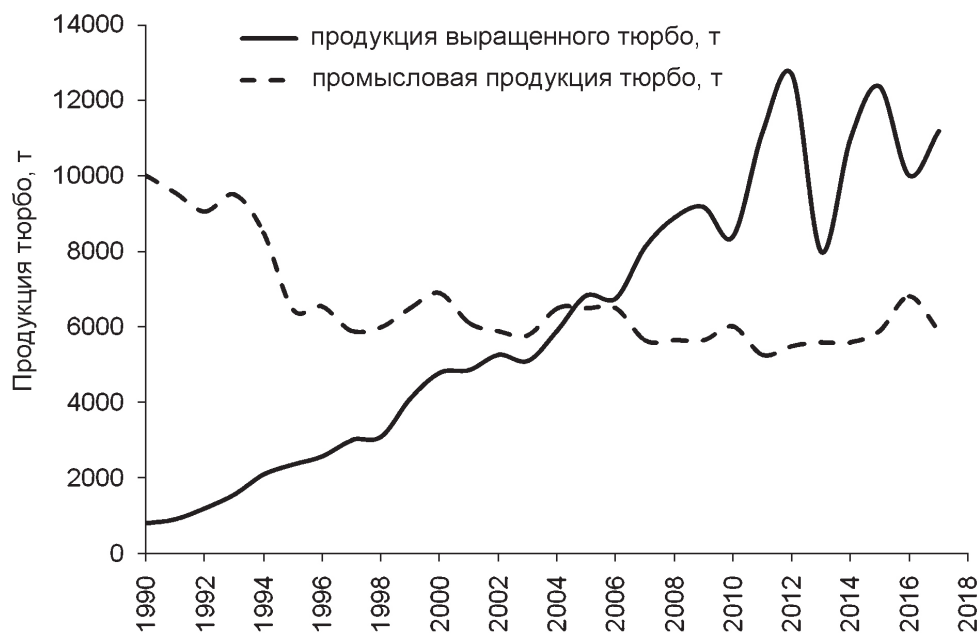


Рис. 5.2. Динамика выловов и промышленного выращивания (аквакультурными предприятиями) тюрбо в Европе

В течение 2011–2018 гг. всеми странами Западной Европы 33–37% продукции тюрбо было выловлено тралами и жаберными сетями, преимущественно в Северном море; в 2015–2018 гг. она составляла около 6 тыс. т, из которых 85% вылавливала Великобритания. Остальная часть продукции тюрбо была выращена на европейских аквакультурных предприятиях. В 2016 г. рыболовным флотом Испании было выловлено только 61 т тюрбо; а остальные более 99% испанской продукции тюрбо выращено в условиях наземных аквакультурных ферм (EU-MOFA, 2018).

5.1. Программы, научно-технические разработки и финансовые затраты на развитие промышленного выращивания тюрбо

Безусловно, социальным толчком к развитию марикультуры и её поддержки государственным и частным секторами было резкое снижение рыболовства и освобождение большого количества рабочих рук в результате сокращения рыболовецкого флота. Эффективной переориентации населения с рыболовецкой деятельности на марикультурную способствовали специально разработанные европейские и национальные программы технического профобразования.

Для становления этой рыбоводной отрасли в Европе за 35 лет были осуществлены огромные финансовые вливания в научно-исследовательские программы по изучению особенностей воспроизводства тюрбо в экспериментальных условиях и в инновационные проекты по разным технологическим этапам производства тюрбо как в рамках международных программ, так и на локальных уровнях. Примером того, как окупались финансовые инвестиции в научно-технические разработки является опыт одной из ведущих испанских ферм по производству молоди тюрбо, в которой вложение 200 тыс. долларов в 1990-х годах дало 10-кратный экономический эффект в течение 4 лет (Planas, 1994). Только в Испании с 1982 по 2009 г. было поддержано финансово 82 региональных, национальных и европейских научно-исследовательских проекта, связанных с разработкой различных технологических аспектов аквакультуры тюрбо (Fernández-González et al., 2021B).

Неоценимый вклад в совершенствование разносторонних знаний о тюрбо, позволивших разработать современные научно-обоснованные технологии выращивания данного вида рыб, внесли как многочисленные научно-исследовательские программы и инновационные проекты, объединяющие эффективные команды исследователей из разных европейских институтов, поддержанные в течение последних десятилетий как Европейской Комиссией (ЕК), так и финансовые инвестиции частных компаний, направленные на разработку конкретных, локальных модификаций технологий. Результаты научно-исследовательских разработок по направлению «Исследования и Развитие» (Research and Development) воплощались в совершенствование технологий выращивания тюрбо на современных марикультурных предприятиях. Соответственно, постоянно происходило взаимодействие высокотехнологичных аквакультурных предприятий со специализированными лабораториями научно-исследовательских институтов и промышленностью, производящей современное оборудование для марикультуры.

Немаловажно, что разработки учёными составов насыщающих смесей, инертных кормов и вакцин для рыб разных возрастов от различных инфекционных заболеваний достаточно быстро реализовывались компаниями в промышленных масштабах. В течение 1990–2005 гг. только Европейской Комиссией (ЕК), помимо вложений частного капитала, на крупномасштабные научно-технические совместные проекты специализированных европейских институтов, целью ко-

торых была разработана различные аспекты искусственного выращивания тюрбо, было затрачено несколько миллиардов евро (каждый проект стоимостью от 0.5 до 2 млн. евро). Например, более 2 млн. евро было выделено на научно-технический проект (2000–2003 гг.) по разработке технологических процедур по применению пробиотиков при культивировании личинок тюрбо, а на европейский проект по разработке дополнительных технологических характеристик для товарного производства тюрбо (2006–2008 гг.) ЕК выделила более 1.5 млн. евро.

Для того, чтобы аквакультура камбалообразных, в частности тюрбо, приобрела статус самокупаемой высококачественной промышленной индустрии, производящей высококачественную продукцию и приносящей большие доходы, над разработкой разных аспектов биотехнологии на основании научно-обоснованных данных работали многочисленные научно-исследовательские лаборатории разных стран; начиная с конца 1970-х гг. – европейских, и с конца 1990-х – китайских институтов, поддерживаемых государственными и частными хорошо финансируемыми программами. Об огромной работе, проделанной специалистами разных отраслей биологических наук, свидетельствует количество опубликованных научных работ. Из 67 тыс. научных работ, посвящённых разносторонним исследованиям тюрбо, опубликованных за последние 30 лет в высокорейтинговых научных журналах, около 30% выполнены научными лабораториями Китая за период 1999–2021 гг. (статистические данные Google Academia).

Современная европейская промышленность по производству специализированных марикультурных технических средств, технологий по производству высококачественных живых кормов, специализированных насыщающих смесей, инертных кормов и пробиотиков, необходимых для производства тюрбо и других ценных морских рыб, быстро развивалась благодаря быстрому внедрению в промышленность дорогостоящих научно-технических разработок при финансовой поддержке специализированных научно-технических институтских и университетских программ для подготовки специалистов-технологов по аквакультуре, как государственными, так и общеевропейскими структурами.

Крупные капиталовложения были осуществлены в самые современные питомники тюрбо в Европе, производящие миллион мальков в год, например, в Alrogal (стоимость капиталовложений 8.9 млн евро), или в San Cibrao (стоимость 7.9 млн евро) (группа Acuidoro). Группа Песканова (Pescanova) только в 2003 г. вложила в разработку и организацию выращивания тюрбо только в одном из своих филиалов 50 млн евро, из которых 25 млн евро было израсходовано на строительство промышленных марикультурных структур, расположенных на 300 тыс. м², включая строительство собственной системы электроснабжения, обеспечивающей прокачку чистой морской воды объемом 50 тыс. м³/час. В создание одного из самых современных питомников в Испании по производству молоди тюрбо только с 2004 по 2007 г. было вложено около 100 млн евро. Для модернизации и наращивания продукции тюрбо с 400 до 4000 т в год, в одну из марикультурных ферм Галисии в 2006 г. были предусмотрены дополнительные капиталовложения 72 млн евро.

В Португалии для строительства и ввода в строй завода для производства моллюсков и выращивания товарной продукции тюрбо, начавшего функционировать в 2009 г., было затрачено 200 млн евро (El rodaballo, el primer..., электрон. ресурс).

Однако, для прогрессивного развития марикультуры морских рыб, в частности, рода *Scophthalmus* (тюрбо и калкан) необходимо совмещение многочисленных факторов, в том числе, не только (1) свободный рынок подготовленных технических кадров, (2) подходящие климатические и геологические условия, (3) тщательно разработанная система правовых основ, и, особенно, (4) государственная и частная финансовая поддержка оснащённых технически на современном уровне научных биологических исследований, но непременно (5) востребованность и (6) конкурентоспособность товарной продукции культивируемых камбалообразных в связи с возрастающей (7) потребностью современного общества в высококачественной продукции ценных морских видов рыб (Fernández-González et al., 2021A).

5.2. Ранние эксперименты по культивированию рыб, в частности камбалообразных

Культивирование рыб – не недавнее изобретение. Известно, что ещё древние египтяне, влюблённые в свою великую реку Нил, подращивали рыбу (преимущественно тилапию) 4000 лет тому назад в специально сооруженных садках. Но пионерами, положившими начало аквакультуре рыб, по-видимому, являются китайцы. В Китае практика разведения рыб начиналась около 4000 лет назад (Nash, 2011), а 2500 лет назад культивирование (карпа) уже было исключительно доходным делом (Beveridge, Little, 2002). Существование древнекитайской практики получения посадочного материала и разведения рыб было подтверждено в ряде законов, созданных при Си Вэнь Мин, основателе и первом императоре династии Ся в Китае около 2070 г. до н.э., известном как Да Ю (Великий Ю, 大禹), которого также именовали «Великий Ю, контролирующий воды» (Да Ю Джи Шу, 大禹治水) (рис. 5.3А), так как он успешно разработал систему защиты от наводнений, которая сыграла решающую роль в обеспечении процветания центральной части Китая, устроил систему оросительных каналов, сброса паводковых вод на поля и произвёл дноуглубительные работы русла рек. Некоторые из введённых им законов регулировали рыболовную практику и периоды года, в течение которых можно было ловить нерестующих рыб, что подтверждает, что уже в те стародавние времена икра и личинки рыб были важным предметом регулируемой торговли в Древнем Китае.

Самые ранние подробные записи о содержании рыб в неволе найдены в классических трудах древнекитайской династии Чжоу (1112–221 гг. до н.э.). Записи об отлове мальков рыб и их транспортировке найдены в письмах Чау Мит 1243 г. и в записях Хсу Хванг в 1639 г. В 1735 г. миссионер-иезуит, написавший Историю Китайской империи, описывал традиционные майские собрания торговцев на берегах реки Янцзы для закупки икры нерестующих рыб, которую отлавливали крестьяне, перекрывая реку ковриками, сотканными из камыша.

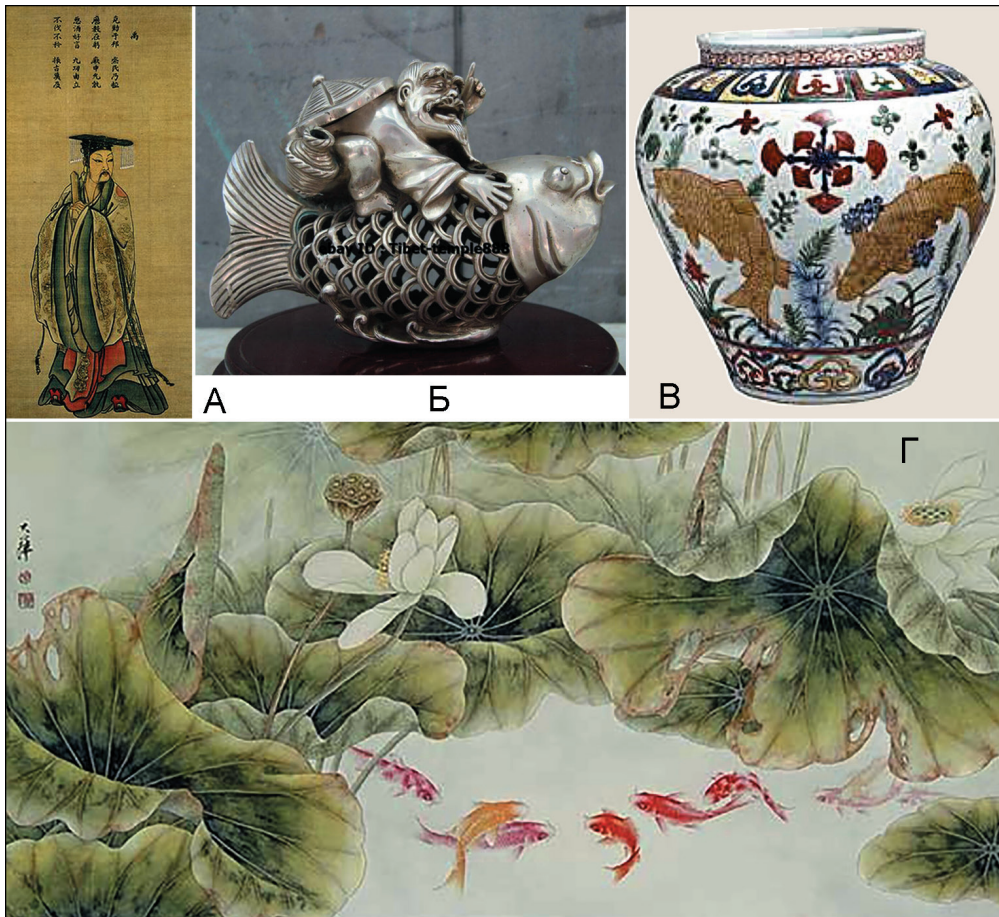


Рис. 5.3. А – 大禹治水 – «Великий Ю, контролирующий воды»; Б–Г – «рыбная» символика в китайских предметах роскоши (серебряной статуэтке и фарфоровой вазе) и картине: Б – образ старца-мудреца Цинь Гао, пересекающего границы времени на карпе – символ мудрости, духовных достижений и укрощения стихий; В – старинная фарфоровая ваза: Ming dynasty, Lajing mark and period (1522–1566); Г – рыбки в пруду, художник Лоу Да Хуа (The Tea Horse Caravan; Nowheretostay; Рыбы в китайской живописи, электрон. ресурсы)

Вероятно, начало одомашнивания рыб было связано с тем, что людям было удобно и целесообразно каждый день иметь свежую рыбу. В результате легко разводимая рыба карп стала символом различий в социальной иерархии в Китае. Наиболее богатые знатные граждане древнего Китая содержали рыбу в неволе в декоративных прудах для украшения садов, для еды и для подчёркивания своего благосостояния и социального статуса. Обыкновенный карп стал символом удачи в Китае, и, следовательно, весьма желательным подарком друзьям или потенциальным партнёрам. Подношение живого карпа или изображения рыбы, выполненного в виде росписи на ткани, фарфоре, в нефрите, слоновой кости, металле (рис. 5.3Б–Г) подчёркивало важность получателей подарка (Nash, 2011) и заняло определённое место в китайском символическом изобразительном искусстве.

Расписанные вручную древние свитки часто иллюстрировали сцены из жизни, с безмятежными садами, где в декоративных прудах среди экзотических растений плавали рыбы; и аналогичные картины с изображением рыб (рис. 5.3Г) до настоящего времени символизируют долголетие, достаток, процветание, исполнение желаний и успеха, и пользуются большим спросом в Китае.

Римляне начали разводить в лагунах устриц, а также содержать рыбу в закрытых садках около 500 г. до н.э. Эта традиция была впоследствии перенята в средневековой Европе (рис. 5.4).

«Золотой эрой» продвижения идеи морских рыбоводных питомников в Европе и в Америке можно считать конец XIX – начало XX столетия. В этот период коммерческие питомники, возникавшие по всему миру, не подвергались столь суровому критицизму, которому позже подвергались все предприятия, не соответствующие основным современным принципам и уровню практики стандартных морских рыбоводных питомников.

Век XX начался исследованиями в питомниках для личинок морских рыб, изначально нацеленных исключительно на искусственное производство оплодотворённой икры и получение из неё личинок на стадии выклева. Европейская и американская техники получения и инкубации оплодотворенной икры в ранний период становления питомников морских рыб отличались.



Рис. 5.4. Фреска «Ловля рыбы в садках (настенная картина в Папском дворце, Авиньон, Франция) RMN-Grand Palais / Martine Beck-Coppola – Louis-Joseph Yperman, *La pêche au vivier*, peinture murale du Palais des Papes, Avignon, France, 1910 (Relevé de peinture..., электрон. ресурс)

Американцы предпочитали полагаться на естественный нерест рыб. Специально обученные технологи работали на американских рыболовецких судах, отбирали из свежих уловов рыбу, готовую к нересту, и производили искусственное оплодотворение на борту судна по стандартной методике. Оплодотворенную икру доставляли в ближайший рыбопитомник первым же поездом после захода

судна в порт. Только в институте Вудсхолл (Woods Hole, Бостон, Массачусетс, США) отловленных производителей трески содержали в плавучих ящиках до момента их созревания, затем икру и сперму сцеживали и производили искусственное оплодотворение через определенные интервалы времени до момента окончания нереста.

Метод, принятый за основу большинством европейских питомников, был разработан известным в Европе «первопроходцем» морской аквакультуры, норвежским капитаном рыболовецких судов Гюндер Мартисен Данневи́г (Срт. Gunder Marthisen Dannevig, 1841–1911) (рис. 5.5А), известным в Европе экспертом по рыболовству, организовавшим в 1882–1884 гг. недалеко от норвежского рыболовецкого центра Арендаль первый рыбный частный питомник Flodevigen (Solemdal, Sinclair, 1989). В питомнике содержали маточное стадо рыб в специальных морских прудах; и получали икру в результате их естественного нереста, используя как основу идеи экспериментов 1860-х известного профессора Георга Оссиана Сарса (Georg Ossian Sars).

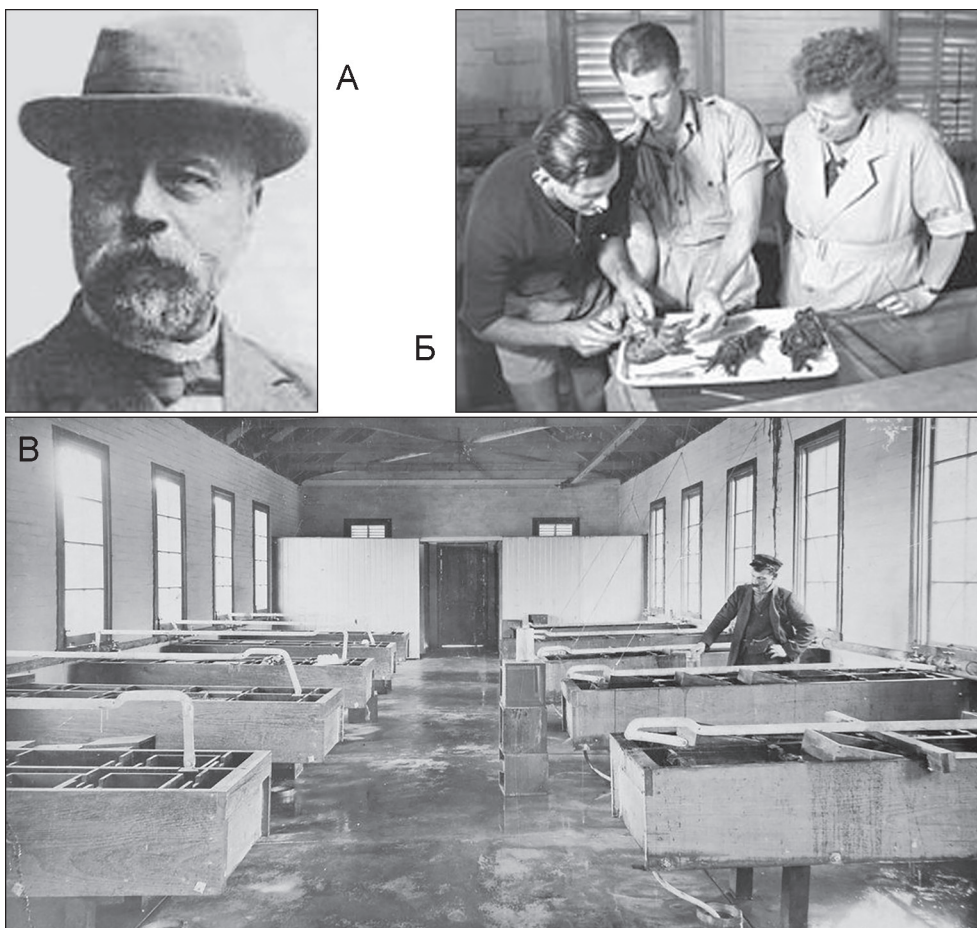


Рис. 5.5. А – организаторы первых питомников морских рыб в Европе – норвежцы Г.М. Данневи́г. Б – Г.Х. Данневи́г с сотрудниками лаборатории в Данбар (Шотландия). В – рыбный питомник в Корнулле (Австралия)

Гаральд Христиан Данневиг (Harald Kristian Dannevig, 1871–1914) (рис. 5.5Б), сын Данневига-старшего, с детства обученный практическому рыболовству и лову рыб сетями и тралами, работая на промысловых судах и в рыбных питомниках, учился в Университете Христианиа (г. Осло, Норвегия) у профессора Сарса, и был рекомендован европейским Советом по Рыболовству (*Fisheries Council*) для завершения организации питомника морских рыб в Данбер (Dunbar, Шотландия, Великобритания); позднее он руководил рыбным питомником в Корнулле (Cornulla, Австралия) (рис. 5.5В).

Американцы модифицировали приспособления, ранее использовавшиеся в питомниках для пресноводных рыб, как для пелагической, так и демерсальной икры морских рыб, в которых постоянное движение икры поддерживалось периодическим подъемом и снижением уровня воды в инкубаторах. Г.Х. Данневиг (Dannevig, 1910) аналогичного эффекта достигал путем автоматического покачивания своих инкубационных ящиков в проточном лотке. Но при неблагоприятной погоде и в отсутствии адекватного контроля инкубационной среды, при любой из этих техник икра гибла в большом количестве.

Несмотря на отдельные неудачи, годовая продукция выклюнувшихся личинок, которых выпускали в локальные морские воды, исчислялась астрономическими цифрами. Скептики, однако, требовали подтверждения эффективности «выпусков» личинок морскими питомниками, чтобы понять, действительно ли в результате «выпусков» повышается обилие коммерческих рыб? В противовес им представляли доказательства, основанные большей частью на слухах, но как бы экспериментально доказанные в Норвегии и Шотландии. Еще в 1883 г. Рыбная комиссия США (*the U.S. Fish Commission*) констатировала появление в прибрежных водах Глочестера (Gloucester, MA, USA) серой трески в невероятных количествах, ранее не наблюдавшихся. Этот феномен сочли успешным результатом выпуска нескольких миллионов выклюнувшихся в условиях питомника личинок, полученных из искусственно оплодотворенной икры (Smith *et al.*, 2002), а само явление назвали «треска Рыбной Комиссии» (*“Fish Commission cod”*) (Solemdal, Sinclair, 1989).

Деятельность Данневига в Норвегии поддерживали местные округа, советы, морские коммерческие общества и рыбаки, которые подтверждали, что необычно большое количество молоди трески появилось именно в тех фьордах, куда выпускали искусственно полученных личинок, и эта молодь трески имеет несколько отличную окраску от локальной расы трески. Напротив, ведущие критики морских питомников (Hjort and Dahl, 1900) утверждали, что появление повышенного числа молоди никак не может быть связано с выпуском ранних личинок, а является результатом естественных колебаний численности и приближения стад рыб к прибрежным зонам в результате изменения природных условий. Эти дискуссии привели к решению провести совместный эксперимент; и представители обеих фракций, Данневиг и Даль (Capt. Dannevig и Knat Dahl), провели в 1903–1905 гг. мониторинг молоди трески до и после выпуска личинок на борту большого рыболовческого сейнера в двух фьордах Скагеррака (Норвегия). Результаты этого мони-

торинга были обобщены, но не очевидны; и стороны продолжали придерживаться каждая своего мнения; и был сделан единственный вывод о том, что необходимо регулярно проводить научно-обоснованный многолетний мониторинг.

К 1917 г. три американских морских питомника за год производили более 3 млн. личинок морских рыб на выклев, что значительно превышало количество личинок, получаемых в Европе до начала первой мировой войны в 1914 г. Личинок морских рыб для выпуска производили в массовом количестве в Вудсхолле (Woodshall) вплоть до 1943 г., когда институт передали военно-морскому ведомству США (U.S. Navy Department). Остальные американские питомники для личинок морских рыб были закрыты немного позднее, в течение 1950–1952 гг. Отказ американцев от аквакультуры морских рыб сопровождался немногословным официальным комментарием “Продукция молоди морских рыб в питомниках провалилась, не оправдав надежды на выгоды от зарыбления ими морских акваторий» (“since research had failed to disclose that worthwhile benefits were obtained from such stocking”) (Duncan and Meehan, 1954). Однако, даже совсем недавно (1986 г.) скептическое мнение относительно того, что «марикультурные питомники, несмотря на большие вложения, не только не оказывают никакого влияния на природные ресурсы, но, напротив, оказывают в большей степени вредное, нежели благотворное влияние» (MacCall, 1989), не смогло предотвратить развитие марикультурных предприятий по производству морских рыб.

5.3. От начальных экспериментов до доходной отрасли рыбной промышленности – аквакультуры тюрбо в Европе

В 1859 г. в Конкарно (Concarneau, Бретань, Франция) была создана первая в мире лаборатория с рыбным бассейном (The Concarneau “fishpool-laboratory”) (рис. 5.6А), позднее переименованная в Морскую биологическую станцию Конкарно (Le Gal, 2009). На этой станции в конце 1880-х гг. Фабр-Домерг (Fabre-Domergue) (рис. 5.6Б) и его коллега Бьетрикс (Viéatrix) достигли значительного успеха в начальных шагах аквакультуры рыб.



Рис. 5.6. А – Морская биологическая станция Конкарно с рыбным бассейном (Concarneau Marinarium, 1859), Б – д-р Фабр-Домерг (Fabre-Domergue) (Open edition journals, электрон. ресурс)

Из пойманной в море оплодотворенной икры ими впервые было выращено небольшое количество мальков морского языка (*Solea vulgaris*), которых в процессе их развития кормили смесью жгутиковых микроводорослей и планктона, собранных в прибрежных солёных прудах. Выращивание языка производили в 45 л сосуде с часто подменяемой свежей морской водой; для перемешивания среды использовали геликоидальный диск, который вращался на вертикальной оси (Fabre-Domergue, Viétrix, 1905).

Более серьёзные попытки культивирования камбалообразных были сделаны в рыбных питомниках Великобритании, построенных в 1893–1897 гг. в Шотландии и на побережье Ирландского моря, а позднее, в 1902 г., в порту Эрин (Isle of Man) (Shelbourne, 1964). Успешное искусственное оплодотворение икры атлантического тюрбо из Северного моря впервые было зарегистрировано в 1892 г., а первые, выклюнувшиеся в экспериментальных условиях, личинки тюрбо были получены в питомнике для морских рыб в Шотландии (Dannevig, 1895). В 1897 г. Г.Х. Данневи́г удалось вырастить несколько первых метаморфизированных мальков морской камбалы *Pleuronectes platessa*, поместив в 45-литровые стеклянные сосуды 1200 личинок на выклев, поддерживая их в режиме постоянного мягкого конвекционного перемешивания и подкармливая отловленным в море планктоном.

Первые удачные партии личинок атлантического тюрбо, вылупившиеся из икры, оплодотворенной при естественном спонтанном нересте производителей в больших бассейнах и инкубированной в 50-литровых бочках с постоянной аэрацией (рис. 5.7Б), были впервые получены в 1898 г. в лаборатории, расположенной на Нормандском побережье Франции (St.Vaast-la-Hougue) (Malard, 1899). В этой же лаборатории в 1907 г. личинки тюрбо впервые были переведены на внешнее питание естественным планктоном и выращены до начала метаморфоза.



Рис. 5.7. А – Карикатура на первых сторонников-пропагандистов аквакультуры морских рыб во французской прессе 1890-х годов. Б – сосуд для культивирования икры и личинок тюрбо (Anthony, 1910)

Об этом достижении и о возможности культивирования тюрбо был сделан доклад на Четвертом Международном Конгрессе Рыболовства в Вашингтоне в 1908 г. Автор (Anthony, 1910) амбициозно провозгласил: «*Что ещё может быть сделано по культивированию тюрбо?*» (“*What is left to be done in the culture of turbot?*”).

Однако эти патетические слова были слишком далеки от истины. Личинки тюрбо в искусственных условиях не проходили стадию метаморфоза. Для того чтобы перевести первые удачные эксперименты на промышленный уровень, нужно было сделать еще очень многое, и, в первую очередь, решить проблему получения большой массы однородных качественных живых кормовых организмов для личинок в промышленных масштабах. Первые попытки осуществить промышленное культивирование тюрбо начались только через 60 лет (Jones, 1972).

Первый шаг к промышленной аквакультуре морских рыб был сделан ещё в конце 1930-х гг. в экспериментальном питомнике в Трондхейме (Trondhjem, Норвегия), когда было показано, что для кормления личинок морской камбалы *Pleuronectes platessa* (рис. 5.8А) можно использовать науплиев артемий, которых можно очень быстро и легко получать в большом количестве из цист (рис. 5.8Б). Оказалось, что этими планктонными ракообразными из солёных озёр, артемиями, называемыми в тот период исключительно по имени только одного из известных в настоящее время видов артемий – *Artemia salina*, можно успешно кормить одновременно несколько тысяч личинок рыб. Первые эксперименты по кормлению ими личинок *P. platessa* были проведены в освещенном бассейне на 200 л, снабженном протоком свежей морской воды (Rollefsen, 1939).

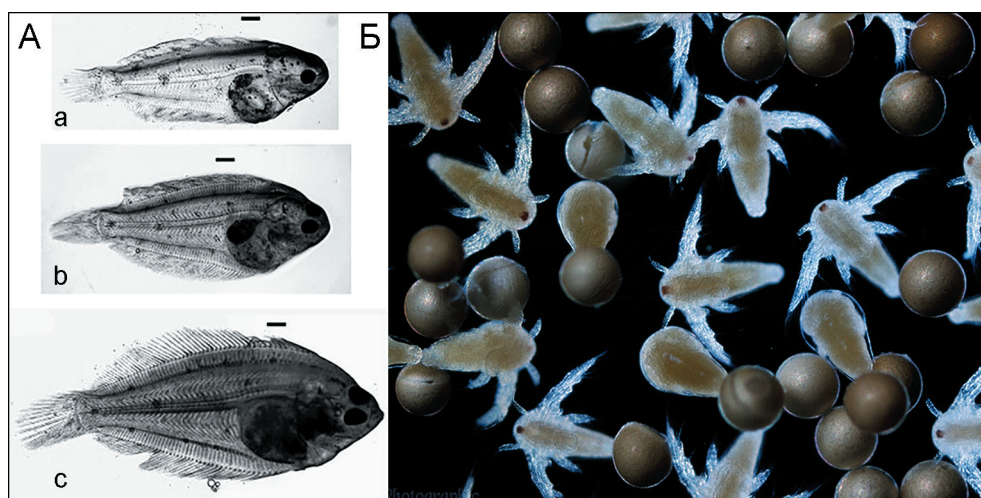


Рис. 5.8. А – личинки морской камбалы *Pleuronectes platessa* на разных стадиях развития (из статьи Geffen et al., 2007): а, в начале метаморфоза; б, во время метаморфоза; с, демерсальная личинка к окончанию метаморфоза; Б – науплии артемий, вылупившиеся из цист (трансформировано из (Warren Photographic..., электрон. ресурс)

Это многообещающее начало массового культивирования морских рыб, в частности, камбалообразных, было прервано второй мировой войной. Когда эксперименты по выращиванию были продолжены (Dannevig and Hansen, 1952), то экспериментаторы столкнулись с многочисленными проблемами: высокой смертностью личинок по многочисленным причинам, включая «газовую болезнь», необходимость регуляции освещённости бассейнов в разные фазы развития, бактериальными и паразитическими инфекциями, загрязнением среды выращивания продуктами метаболизма выращиваемых рыб и их живых кормов и т.д. Тем не менее, к 1952 г. в питомнике Трондхейма впервые из искусственно оплодотворенной икры были выращены также мальки сельди. Но дальнейший прогресс в развитии промышленной аквакультуры морских рыб оказался возможен только после открытия японскими учёными (Ito, 1960) возможностей выращивания и использования в качестве эффективного живого корма во время перехода личинок морских рыб на внешнее питание повсеместно распространённой в солоноватоводных водоёмах коловратки *Brachionus plicatilis*. Открытие, собственно, произошло, как и многие другие открытия, несколько спонтанно, в процессе изучения «негативного» явления: в Японии в солоноватоводных прудах, используемых для разведения угрей, крохотные планктонные коловратки размножались очень быстро, в таких огромных количествах и настолько мешали фермерам, что их называли «мицугавари» (“Mizukawari”), что в переводе с японского означает «чума» (Ito, 1955).

Таким образом, разработка промышленного искусственного выращивания морских рыб, и, в частности, тюрбо, от выклева до прохождения метаморфоза оказалось возможной только после совершенствования интенсивных технологий получения большой биомассы однородных живых кормов: солоноватоводных коловраток *Brachionus plicatilis* и науплиев планктонных ракообразных солёных озёр артемий *Artemia* spp.

С самого начала первых исследований проводились эксперименты, направленные на улучшение выживаемости личинок, связанные с улучшением качества кормовых объектов, добавлением фитопланктона в среду выращивания и изучение различных факторов среды, которые влияют на выживаемость личинок, таких как температура, интенсивность света, тип культиваторов и плотность кормовых объектов (Jones et al., 1974; Howell, 1973; Baynes et al., 1979).

Технологические разработки массового культивирования морских планктонных микроводорослей (Walne, 1966), которые можно было использовать для выращивания коловраток (Theilacker, McMaster, 1971), позволили ускорить дальнейшее развитие технологий искусственного выращивания живых кормов для кормления личинок морских рыб.

5.4. Разработка технологии выращивания камбал

Большой вклад в прикладные исследования по марикультуре атлантического тюрбо внесли британские, французские, норвежские, испанские и датские научно-исследовательские институты и частные компании.

Систематические эксперименты по разработке технологии искусственного выращивания морских камбал начались в Великобритании с 1951 г. А в конце 1950-х годов два важных прикладных исследовательских проекта получили поддержку в рамках генеральной программы биологических исследований Великобритании. Одним из них был проект по разведению европейских устриц под руководством Питера Уолна (Peter Richard **Walne**, 1926–1978) (Cole, 1981) в научно-исследовательской экспериментальной лаборатории в **Conwy** (Уэлс, Великобритания). Разработанная Уолном в рамках этого проекта питательная среда для выращивания биомассы морских планктонных микроводорослей для кормления спата устриц (Walne, 1966), фигурирующая в разных публикациях под разными названиями, либо под названием **среда Уолна** (по имени автора среды, д-ра **Walne**), либо под названием **среда Конви** (по имени лаборатории **Conwy**, в которой была создана среда), используется эффективно в марикультурной индустрии и в настоящее время. На ней выращивают морские микроводоросли многочисленных видов, которые используют в марикультуре разнообразных видов моллюсков, рыб и ракообразных, а также для промышленного получения массы морских микроводорослей, используемых для разработок фармакологии и фармацевтики (Anderson, 2005).

Второй проект под руководством Джеймса Шельбурна (James **Shelbourne**) был направлен на размножение и разведение морских камбалообразных (**marine flatfish**) в лаборатории Лоустофт (Lowestoft, Шотландия, Великобритания). Уже в 1961 г. британская полугосударственная организация the British White Fish Authority (British W.P.A.), которая работала совместно с частными рыболовными предприятиями, поддержала эти проекты для доведения многообещающих результатов научных исследований до их коммерческой реализации.

Британские и французские учёные были первыми, кто использовал открытие новых легко культивируемых технологичных живых кормов – науплиев артемий – для кормления личинок морской камбалы *Pleuronectes platessa* и морского языка *Solea solea* Дж. Шельбурн в Шотландии (Shelbourne, 1964), и коловраток – для кормления личинок малоротой камбалы *Microstomus kitt* (Howell, 1972) и морского языка во Франции, во французской государственной лаборатории в Бресте (Girin, 1974). Гирэн (Girin) в дальнейшем применил модификацию этой технологии для культивирования личинок морского окуня лаврака *Dicentrarchus labrax*, который впоследствии стал одним из самых успешно промышленно культивируемых морских рыб в Европе. Полноценное искусственное выращивание атлантического тюрбо, *Scophthalmus maximus*, началось с середины 60-х годов в замкнутой системе выращивания в лаборатории рыбоводства в Лоустофт (Lowestoft) (рис. 5.9А) под руководством д-ра Колин Пурдом (Colin Purdom) (Purdom et al., 1972) (рис. 5.9Б) и в условиях проточной системы в Порт-Эрин (Port Erin) (Великобритания) (Howell, 1973; Jones et al., 1974).

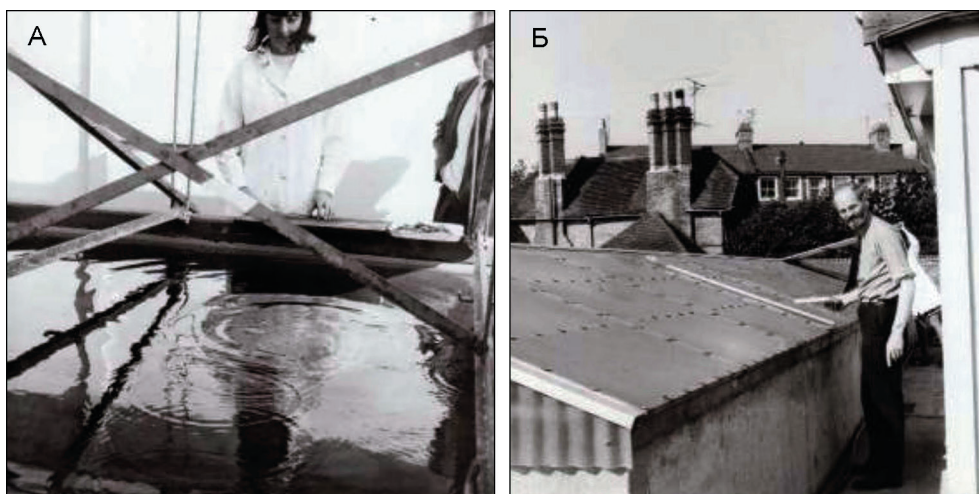


Рис. 5.9. А – кормление мальков тюрбо в лаборатории Лоустофт; Б – д-р Колин Пурдом (Colin Purdom) около бассейна для производителей тюрбо в Лоустофт (Англия, Великобритания)

В 1964 г. в Ардтоэ, в районе западного нагорья Шотландии, в закрытом рукаве морского озера («лох», от шотл. “loch”), было организовано хозяйство для разведения камбалы *Pleuronectes platessa*. В 1966 г. налажено также экспериментальное хозяйство для исследования возможностей ускорения роста камбалы *Microstomus pacificus* при использовании нагретой морской воды из охладителей АЭС в Хантерстоне (Hunterstone). Опыт этих двух лабораторий изучали учёные, приезжавшие из разных стран, в том числе большие делегации приезжали из СССР и Японии. Делегация из СССР в 1968 г. была самой необычной, так как она состояла не только из учёных-ихтиологов, но включала и физиков-атомщиков. Непосредственная близость к этим двум лабораториям университета Стерлинг (University of Stirling) в Шотландии привела к совместным прикладным научно-исследовательским проектам и впоследствии привела к созданию мощного направления аквакультурных исследований в этом университете (Nash, 2010).

К 1967 г. исследования показали возможность успешного длительного содержания в искусственных условиях небольших партий отловленных мальков тюрбо. Однако серьезный интерес к промышленному культивированию тюрбо возник только в 1970-х годах, когда результаты подращивания мальков тюрбо, отловленных из моря, показали возможность их быстрого роста в искусственных условиях при высоком коэффициенте использования пищи на рост и хорошей выживаемости; и экспериментальные работы были продолжены широко-масштабно (Purdom et al., 1972). Начиная с этого времени одновременно в трёх лабораториях: Лоустофт (Jones, 1973) и Порт Эрин (Alderson, Bromley, 1973) в Великобритании, и в Бретонском Океанологическом Центре во Франции (Girin, 1974), приступили к разработке методик выращивания тюрбо, при которых личинки проходили метаморфоз в искусственных условиях.

Первые полностью метаморфизированные мальки тюрбо были выращены в 1972 г. в Лоустофте (Великобритания) (Howell, 1998). В результате экспериментальных работ было выяснено, что добавление определённых видов микроводорослей (*Isochrysis galbana*) одновременно с коловратками и артемиями в бассейны для выращивания повышают выживаемость личинок тюрбо (Howell, 1973) благодаря высокому содержанию в них полиненасыщенных жирных кислот, особенно необходимых для развития камбалообразных, в частности, тюрбо (Scott, Middleton, 1979).

Первая полупромышленная партия молоди тюрбо в количестве 1800 штук была выращена в искусственных условиях в 1974 г. на морской ферме в Ардтоу (Hull, Edwards, 1976). В дальнейшем, британские и французские учёные начали применять технологию, разработанную изначально Шельбурном (Shelbourne, 1964), не только для камбалообразных (тюрбо и языка), но и для других видов морских рыб, пользовавшихся популярностью на рынках. К этому времени стало понятно, что аквакультура морских рыб, и особенно камбалообразных, требует **мультидисциплинарного подхода взаимосвязанных комплексных специализированных исследований** в области морской биологии, ихтиологии, эмбриологии, микробиологии, химии, физиологии питания, ветеринарии, инженерии, экономики и, непременно, генетики (Colin Purdom, 1975).

5.5. Начало коммерциализации аквакультуры тюрбо

Коммерциализация аквакультуры тюрбо началась в Шотландии (Великобритания). В 1976 г. в Великобритании были выращены и проданы первые 10 т этого вида (Jones et al., 1981A; Jones et al., 1981B), а в 1985 г. годовая промышленная продукция тюрбо в Великобритании составила уже 80 т товарной массы и 200 тыс. экземпляров молоди.

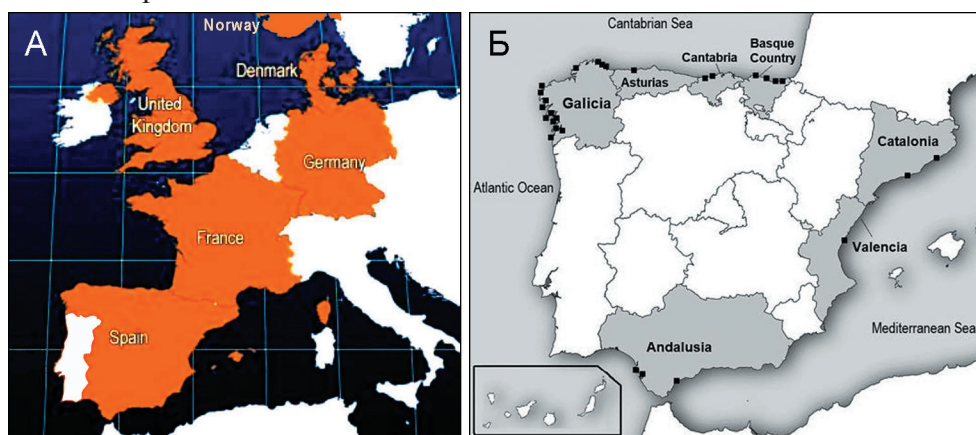


Рис. 5.10. А – Карта начального распределения предприятий по выращиванию тюрбо в европейских странах (ФАО, 2006); Б – карта расположения предприятий по производству тюрбо на территории Испании (из Fernández-González et al., 2021C)

Несмотря на то, что тюрбо распространен в естественных условиях в Северном и Балтийском морях, вдоль Исландского побережья, от 68°с.ш. по побережью Скандинавии до Марокканского побережья на юге, и встречается в Средиземном море, фермы по его выращиванию, в которых попытки искусственного воспроизводства тюрбо начинались задолго до его промышленного выращивания, располагались с начала 1980-х гг. по Атлантическому побережью Европы в шести европейских странах (Норвегии, Дании, Великобритании, Германии, Франции и Испании) (рис. 5.10А).

Промышленная марикультура тюрбо в Европе получила быстрый толчок к развитию, начиная с 1990-х годов, и в течение двух десятилетий Европа была мировым лидером по продукции тюрбо. С конца 1990-х годов фермы для промышленного выращивания интродуцированного тюрбо, были построены в Чили, а с 2000 г. – в Китае (Lei, Liu, 2010). Годовая товарная продукция искусственно выращенного тюрбо во всем мире с 1998 по 2002 г. возросла с 3435 до 7863 т; из них 5500 т было выращено в Европе.

В 2003 г. во всем мире на аквакультурных предприятиях было выращено уже 9000 т тюрбо, из которых 5700 т – в Европе, 3000 т – в Китае, 350 т – в Чили. В 2008 г. европейские аквакультурные компании произвели 9000 т тюрбо (стоимостью 7.9 евро/кг) на сумму более 70 млн евро. Из этой продукции 72% принадлежало испанским фермам (рис. 10Б), 16% – французским и 9% – Португалии. Согласно информации APROMAR (Asociación Empresarial de Productores de Cultivos Marinos – испанской ассоциации производителей культивируемых морских продуктов) **самый высокий уровень совокупной европейской аквакультурной продукции тюрбо (12675 т), достигнутый в 2012 г., более чем вдвое превышал вылов этого вида рыб из моря (5590 т) (Bouza et al. 2014) (рис. 5.11А).**

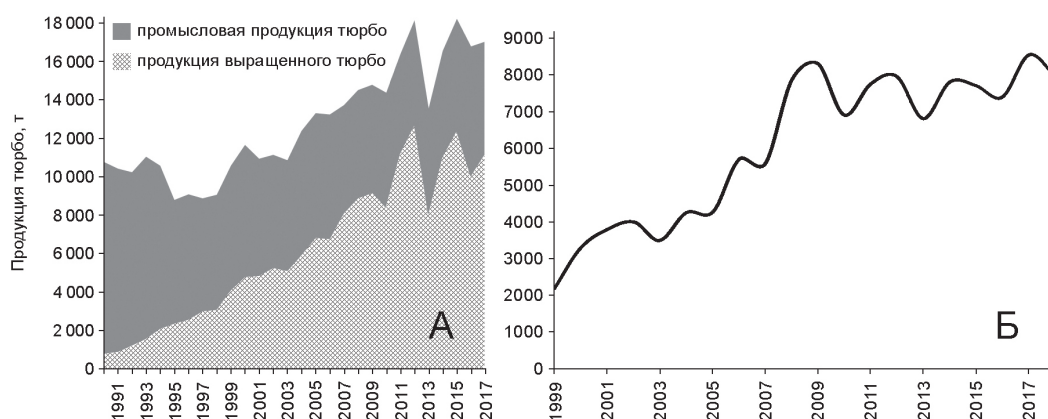


Рис. 5.11. А – Динамика совокупной продукции атлантического тюрбо за счёт общеевропейского вылова и общеевропейской аквакультурной продукции. **Б** – динамика роста аквакультурной продукции тюрбо в Испании (данные по APROMAR, 2019, электрон. ресурс)

В 2014 г. общеевропейская аквакультурная продукция тюрбо составила **11000 т**, в 2015 г. – **10173 т**. В 2016–2018 гг. годовое производство тюрбо европейской аквакультурной промышленностью варьировало в пределах 10–11 тыс. т, оцениваемых в ~ 76 млн. евро. Стоимость выращиваемой аквакультурной продукции тюрбо может колебаться от 8 до 21 доллара за кг в зависимости от страны, компании и времени года; и спрос и потребление тюрбо наиболее высоки на традиционных испанских, французских и итальянских рынках (El godaballo, el grimer..., электрон. ресурс).

С развитием промышленной аквакультуры стало очевидно, что рентабельность культивирования тюрбо до рыночных размеров связана с температурным режимом морских вод. В связи с тем, что подращивание мальков и товарное выращивание тюрбо нерентабельно как при низких, так и при высоких температурах, но эффективно при относительно постоянной умеренной температуре воды, производство тюрбо стало реализовываться преимущественно в умеренных зонах побережья. Благоприятные естественные условия, круглогодичная доступность большого количества чистой морской воды температуры 12–18°C, обусловили наиболее быстрое развитие марикультуры тюрбо в зоне атлантического побережья; и основные европейские предприятия по промышленному выращиванию тюрбо сосредоточились исключительно на открытом побережье Атлантики, частично во Франции и, преимущественно, в Испании.

Наиболее быстрыми темпами производство тюрбо развивалось в Испании. Важную роль в становлении этой области рыбной промышленности сыграло вхождение Испании в зону ЕС и финансирование развития марикультуры ЕС на фоне снижения испанского рыболовства из-за введения 200-мильной зоны, и, как следствие, необходимости профильной переориентации ранее занятого в рыболовной промышленности населения. Благодаря сочетанию этих двух – экономического и социального – факторов, а также, благоприятному климату и неограниченному доступу чистой морской воды оптимальной для роста тюрбо температуры на Атлантическом побережье, Испания перехватила лидерство у Франции и начала производить 85% от европейской продукции, при оставшемся устойчивом годовом объеме продукции Франции около 800 т (Danancher, Garcia-Vasquez, 2007).

Сначала Испания стала основной европейской страной, выращивающей атлантическую камбалу тюрбо до рыночной массы из молоди, импортируемой из Северной Европы. За десятилетний период с 1985 по 1995 гг. общая продукция тюрбо в Испании возросла с 40 до 2400 т, и в 2002 г. составила 4135 т (рис. 5.11Б).

В испанских провинциях Кантабрии и Галисии товарным выращиванием тюрбо с 1980-х годов занимались многочисленные морские фермы, разбросанные по всему испанскому атлантическому побережью, и большинство из них работало при научно-технической поддержке научно-исследовательских центров Испанского Института Океанографии (Instituto Espanol de Oceanografia, I.E.O), где были получены первые результаты по высокой приспособляемости и росту

диких тюрбо в искусственных условиях. Большая часть научно-исследовательских работ по физиологии питания и роста личинок тюрбо была проведена в лаборатории питания и физиологии рыб института морских исследований в Виго (Laboratorio de Nutricion y Physiologia de Peces, Instituto de los Investigaciones Marinos, ИМ, Vigo, Galicia, Испания) под руководством д-ра Мигеля Планас (Dr. M. Planas). Биохимические исследования питания личинок и молоди тюрбо под руководством д-ра Алисии Эстевец (Dr. A. Estevez) в Экспериментальном Центре Аквакультуры (Centro de Experimentacion en Acuicultura, Galicia, La Coruna, Испания). Огромная работа по исследованию инфекционных заболеваний тюрбо и по созданию современных антибактериальных и противовирусных вакцин проведена, начиная с начала 1980-х, в Университете Сантьяго-де-Компостелла (Universidad de Santiago de Compostela, Испания).

С начала фазы промышленного выращивания основное производство тюрбо сосредоточивалось на атлантическом побережье Пиренейского полуострова, и в итоге 20-летнего отбора и конкуренции сосредоточилось на северо-западе испанского побережья (см. рис. 5.10Б). В последние годы продукция Испании составляет около 80% от общего европейского производства, и 99% испанской и 75% европейской продукции тюрбо выращивается в наиболее благоприятной по сочетанию природных, экономических и социальных условий для аквакультуры данного вида – в испанской северо-западной провинции Галисия (Galicia), имеющей береговую линию, протяжённостью 1200 км (APROMAR, 2019, электрон. ресурс). До начала XXI века, начала развития аквакультурной промышленности тюрбо в Китае, именно Галисия была на первом месте в мире по продукции тюрбо.

Начиная с 2000 г. Китайская Народная Республика (КНР), используя опыт и покупая консультационные и промышленные услуги европейских компаний, стала быстрыми темпами наращивать собственное производство и вскоре производить самую значительную часть аквакультурной продукции тюрбо в мире. В 2012 г. продукция тюрбо, выращенного в КНР (60 тыс. т; максимальный вес рыб ~ 0.5 кг), уже в 6 раз превышала европейскую – 10 тыс. т тюрбо (рыб весом от 1 до 2.5 кг). По данным разных, не всегда достоверных, источников, в 2016–2017 гг. в КНР выращивали 65–75 тыс. т тюрбо (APROMAR, 2017, электрон. ресурс). Согласно неофициальным источникам, в 2018 г. продукция тюрбо предприятиями КНР достигла уровня около 108 тыс. т, хотя эти сведения могут быть неточными (IPac. Acuicultura, электрон. ресурс).

В то же время ФАО приводит данные по совокупному мировому ежегодному производству тюрбо аквакультурной промышленностью около 70 тыс. т (с межгодовыми вариациями 14%).

Динамика роста производства мальков тюрбо. Интенсивная марикультура рыб требует производства мальков (до возраста 3–4 месяца) в специализированных изолированных питомниках, расположенных отдельно от товарных ферм, куда они поступают для дальнейшего товарного выращивания после достижения ими определённого возраста и размера. Только с 1985 по 1992 гг. продукция

мальков тюрбо в Европе возросла на порядок – с **0.3** до **2.5–3** млн. экземпляров, из которых 80% было выращено по интенсивной технологии. В 1992 г. ещё ни один европейский питомник, от Норвегии до Испании, производивший от 10 до 750 тыс. мальков тюрбо в год, не получал прибыли от выращивания молоди тюрбо. Стоимость 1 экз. молоди тюрбо в тот период составляла около 2 долларов США (Minkoff, Broadhurst, 1994).

К середине 1990-х гг., благодаря усовершенствованию технологий выращивания, производство молоди тюрбо стало коммерчески выгодным. Средний показатель выживаемости личинок к моменту перевода на искусственные корма (~30 сут после выклева из икры) в питомниках, применявших интенсивные технологии, установился к концу 1990-х, достигнув возможного максимума – 20% от начальной численности посаженных выклюнувшихся личинок (Shields, 2001).

В 1992 г. большая часть европейских товарных фирм по выращиванию тюрбо зависела от продукции мальков 12-тью европейскими питомниками, 40% из которых поставляла фирма France Turbot (Labarta, 2000). К 1998 г. количество основных европейских питомников сократилось до четырех, но их общая продукция уже достигала **6 млн** мальков тюрбо (Labarta, 2000).

Автономность в получении собственной, гарантированно качественной молоди – это практически треть успеха выращивания товарной продукции тюрбо, который зависит в основном от качества посадочной молоди, помимо качества и температуры воды (Imsland, et al, 2003; Imsland, et al, 2007) и контроля патологий (особенно, вибриоза и фурункулёза). Поэтому в конце 1990-х гг. основные компании товарного выращивания тюрбо в Галисии (Galicia, северная Испания) начали самостоятельно выращивать мальков тюрбо и через 5 лет достигли полной автономии, производя в совокупности около 5 млн мальков в год (APROMAR, 2014, электрон. ресурс). К 2006 г. совокупная годовая продукция только испанских питомников тюрбо (**5.5 млн мальков**) обеспечивала посадочным материалом как национальные, так и некоторые зарубежные выростные хозяйства. К 2007 г. годовая продукция мальков тюрбо в Испании составляла более 12 млн в год, а в 2012 г. достигла пика – почти 19 млн (APROMAR, 2014; APROMAR, 2018, электрон. ресурс).

Однако в связи с насыщением рынка, в 2013 г. их производство сократилось на 30%, составив немногим более 13 млн экз., а к 2017 г. опустилось ниже уровня 2006 г. – до 6.7 млн экз. Продукция мальков тюрбо в испанских питомниках установилась на относительно стабильном уровне, удовлетворяющем спросу товарной продукции, и с 2017 по 2019 гг. немного выросла до более 7 млн экз. (стоимостью в среднем 1.30 евро/экз), большая часть которых была выращена также в испанской провинции Галисия.

5.6. Истории развития наиболее известных крупных европейских компаний по производству тюрбо

Развитие промышленной марикультуры тюрбо в Великобритании. Первые протоколы технологии промышленного выращивания тюрбо от метаморфизированных мальков до подрощенной молоди (Smith, 1976), с которых и началась **промышленная аквакультура**, были разработаны в **Шотландии**, а именно в компании Golden Sea Produce Ltd. (**GSP**), Hunterston, Scotland, UK (Великобритания). Используя тёплую воду с охладителей атомной станции, они выращивали тюрбо при оптимальной температуре 15–16 °С, и годовая продукция достигла 50 тонн уже к концу 1970-х (Jones *et al.*, 1981A), однако по разным причинам в дальнейшем компания экспортировала свою технологию в Испанию (Svasand *et al.*, 2004).

Развитие марикультуры тюрбо во Франции. В то время как в Великобритании ранние исследования охватывали весь цикл товарного выращивания тюрбо с использованием молоди, отловленной в море, во Франции исследования первоначально были сосредоточены в основном на фазе питомников молоди тюрбо, так как в начале 1980-х гг. одной из основных проблем ферм выращивания тюрбо был дефицит качественных мальков.

Год 1983 оказался основополагающим для развития разных компаний тюрбо на разных побережьях Европы; они часто перекупали друг у друга производства тюрбо, и основывали новые компании. Так, компания **Shearwater** основала в 1983 г. во Франции специализировавшуюся на тюрбо компанию **Ferme Marine de Douhet (FMD)**, которая просуществовала до 1990-х годов.

Французский гигант по производству тюрбо – Франс Тюрбо (**France Turbot**, часть группы **Adrien**), начал специализироваться на продукции личинок, мальков и товарной продукции тюрбо с 1987 г. Эта компания была создана Мишелем Адриен (Michel Adrien), который с 13 лет начал работать рыбаком (рис. 5.12А), а в 1957 г., в возрасте 24 лет, уже купил свой первый рыболовецкий корабль, продолжив потомственную профессию своего отца и деда. В 1979 г. он создал общество для анализа продукции рыболовецких артелей, которое, проанализировав прошлое и настоящее, спрогнозировало будущее рыболовства. В результате Адриен понял необходимость переориентировать свою деятельность на аквакультуру, и в 1987 г. организовал France Turbot. Он был бессменным президентом France Turbot, и достиг вершины своего финансового успеха, имея капитал в 1.5 млрд франков в 2001 г. (рис. 5.12Б), владея 24 аквакультурными предприятиями в пяти странах на трёх континентах, в которых работало около 4 тыс. человек. Продав Франс Тюрбо в 2003 г., он совместно с китайцами начал строить индустриальный питомник на 2 млн. мальков тюрбо в Китае, недалеко от Пекина.

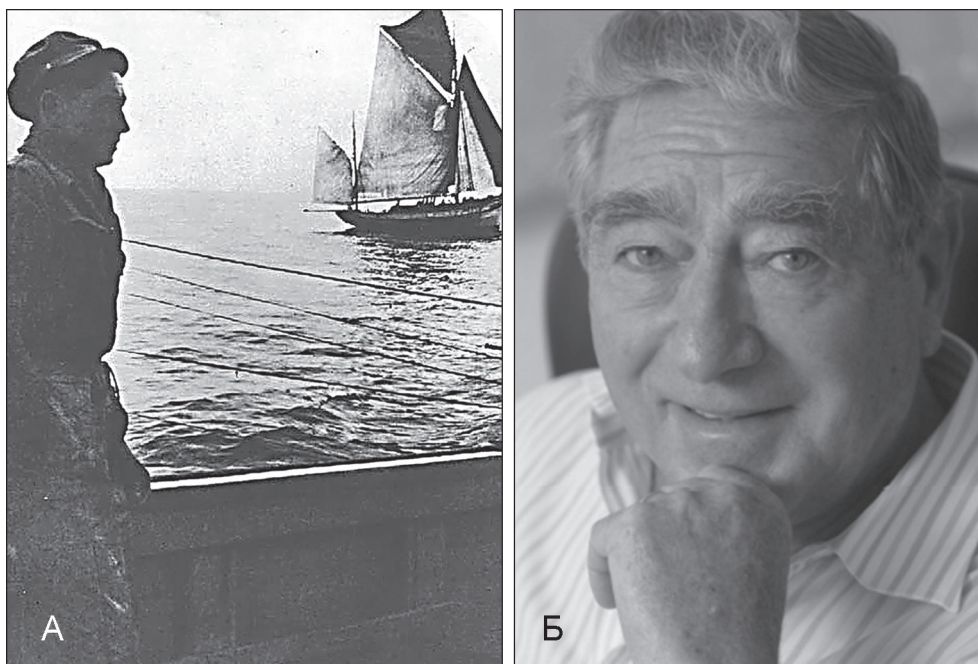


Рис. 5.12. А – рыбак М. Адриен на рыболовецком промысле в Дакаре в 1957 г.; Б – глава корпорации Франс Тюрбо (**France Turbot**) М. Адриен в 2001 г. (Noirmoutier Les..., электрон. ресурс)

В течение 1970–1980 гг. во Франции были сделаны следующие основные шаги для развития марикультуры тюрбо: произведена тщательная отработка каждого технологического шага выращивания личинок тюрбо: инкубация икры, выклев личинок, перевод их на внешнее питание, кормление живыми кормами, перевод на инертные корма, оптимизация условий воспроизводства производителей, улучшение качества живых кормов и насыщения их незаменимыми компонентами, разработка специфических для тюрбо комплексных инертных кормов, генетика роста, поведенческие аспекты, качество воды и улучшение качества продукции, разработка методов и условий выращивания и создание специализированных кормов для нагула товарных рыб. Именно по заказу компании France Turbot в результате разнонаправленной работы 1500 ученых известного французского Института научных исследований по эксплуатации морей (франц. **Institut Francais de Recherches de la Mer** аббревиатура **IFREMER=ИФРЕМЕР**) на базе лабораторий (рис. 5.13), расположенных в г. Бресте (Бретань, Франция) в 1987 г. был разработан **первый промышленный протокол выращивания тюрбо** во Франции.



Рис. 5.13. Институт научных исследований по эксплуатации морей (франц. **Institut Francais de Recherches de la Mer**, аббревиатура **IFREMER**=ИФРЕМЕР) – лаборатории, расположенные в г. Бресте (Бретань, Франция) (Noirmoutier Les..., электрон. ресурс)

В течение длительного периода времени большая группа ученых ИФРЕМЕР в рамках научно-технических проектов, хорошо финансируемых совместно французским правительством, государственными и частными корпорациями и европейскими международными проектами, проводила многоплановую экспериментальную работу и создавала научно-технические разработки для каждого технологического шага выращивания тюрбо.

Разные группы ученых этого института исследовали условия содержания производителей, круглогодичное получение качественных гамет тюрбо, создание специализированных инкубаторов и выростных систем, гидрологических режимов для инкубации оплодотворенной икры, личинок и мальков, разрабатывали технологии выращивания живых кормов для личинок на каждом этапе выращивания и индустриализации их культивирования, создавали формулы инертных кормов для личинок, мальков и взрослых рыб, решали проблемы повышения выживаемости при высокой плотности культивирования личинок и правильного прохождения метаморфоза тюрбо в искусственных условиях, рационального режима кормления, методику транспортировки и перевода тюрбо с одного технологического цикла на другой и т.п. (Person Le-Ruyet, 2002).

Начав промышленное производство мальков тюрбо в **1989** г. и выращивая сначала незначительный объем товарной продукции (50 т), благодаря огромным капиталовложениям в производства, расположенные на острове Нуармутье (l'Île de Noirmoutier) и Трезардек (Trédarzec) на побережье Бретани (Франция) (рис. 5.14), концерн Франс Тюрбо (**France Turbot**) через несколько лет стал мировым лидером по контролируемому производству мальков тюрбо, производя **6.5 млн** особей в год.



Рис. 5.14. Фермы Франс Тюрбо на острове Нуармутье (Noirmoutier) слева, и в Тредарзек, Кот д'Армор (Trédarzec, Côtes d'Armor), справа (Noirmoutier Les..., электрон. ресурс)

Расположение аквакультурного предприятия на острове Нуармутье позволяло использовать исключительно собственные ресурсы скважинной чистой океанической морской воды с постоянным составом отличного качества и производить выращивание мальков тюрбо по интенсивной технологии, по протоколу, разработанному специально для Франс Тюрбо. Сочетание качественной чистой морской воды с хорошо разработанной технологией кормления и содержания (рис. 5.15), а также своевременного ранжирования и выбраковки мальков в течение разных периодов роста (рис. 5.16) позволило наладить производство высококачественной молоди тюрбо (рис. 5.17).

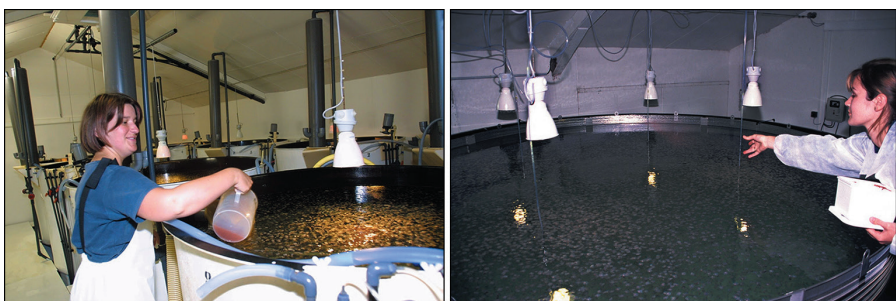


Рис. 5.15. Кормление мальков тюрбо вручную: метанауплиями артемий (слева) и инертными кормами (справа) в питомнике France Turbot (Noirmoutier Les..., электрон. ресурс)



Рис. 5.16. Ранжирование (слева) и сортировка (проверка качества) (справа) мальков тюрбо на производстве France Turbot (Noirmoutier Les..., электрон. ресурс)



Рис. 5.17. Мальки и молодь тюрбо, выращенные на ферме France Turbot в Трезардек (Trezardec, France) (Noirmoutier Les..., электрон. ресурс)

Увеличение роста производства тюрбо с 15 до 700 т в период с 1990 по 1995 г. вывело Францию на второе место в мире. Каждый экземпляр тюрбо, выращиваемого на предприятиях **France Turbot** идентифицирован, отслеживается от выклева до момента продажи и сертифицирован (рис. 5.18). В 2003 г. мальки тюрбо, выращиваемые **Франс Тюрбо**, распределялись следующим образом: треть поступала на промышленное товарное выращивание в испанские марикультурные фермы, треть мальков импортировали в Китай, треть оставалась в Европе, из которых 900 тыс. мальков поступали на товарное выращивание в филиалы **Франс Тюрбо**.

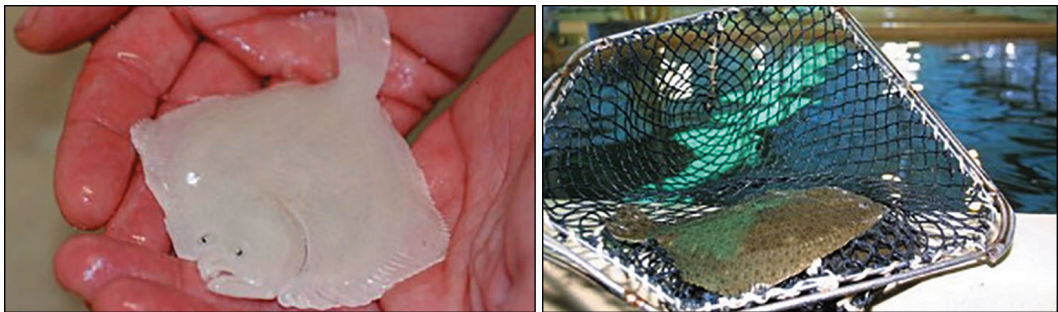


Рис. 5.18. Каждый экземпляр тюрбо компании **France Turbot** идентифицируют и отслеживают от рождения до продажи (Noirmoutier Les..., электрон. ресурс)

Товарная продукция выращенных взрослых тюрбо компании Франс Тюрбо достигла наивысшего успеха в **2002 г.**, получив сертификат, высшую марку качества «**Красная Марка**» (“**Label Rouge**”), за вкусовые качества выращенной рыбы, конкурирующие с вкусовыми характеристиками «дикого» тюрбо, выловленного из моря (рис. 5.19).



Рис. 5.19. Подготовленный к продаже экземпляр тюрбо с маркой качества «Красная Марка» (“Label Rouge”), выращенный на производстве компании Франс Тюрбо (Noirmoutier Les..., электрон. ресурс)

В 2002 г., используя собственные разработки и достижения других, **France Turbot** совместно с крупным испанским капиталом спланировала и начала строить современный **питомник-гигант Alrogal** (аббревиатура *исп.* «**Alevines de rodaballo de Galicia**» – «Мальки тюрбо из Галисии»), расположенный на 12 тыс. м² в испанской Галисии (рис. 5.20), который на супер-современном высокотехнологичном оборудовании (рис. 5.21) к 2006 г. должен был производить 6 миллионов мальков тюрбо в год.



Рис. 5.20. Супер-питомник тюрбо Alrogal (12 тыс. м²)



Рис. 5.21. Автоматизированный зал по подращиванию мальков тюрбо в питомнике Alrogal

Для разработки и введения в строй нового питомника было предусмотрено капиталовложений на более чем 70 млн евро в течение трёх лет. Вскоре после начала функционирования нового питомника **Alrogal** практически полностью вытеснил с рынка прародительскую фирму **France Turbot** (французы шутили «Ребёнок съел своего родителя»). В 2005 г. питомник тюрбо **Alrogal** был перекуплен испанской промышленной группой **Pares**, а в 2007 г. перекуплен для укрупнения капитала испанской промышленной корпорацией **Acuidoro**, занимающейся товарным выращиванием тюрбо. С 2012 г. часть питомников France Turbot была переориентирована на производства мальков других культивируемых морских рыб и на производство спата устриц. Тем не менее, в 2016 г., компанией France Turbot, ориентированной исключительно на качество мальков и товарной продукции, был произведен **миллион мальков тюрбо**, из которых 75% были проданы другим компаниям, а из 25% мальков было выращено на собственных предприятиях 200 т товарного тюрбо под маркой **Label rouge** («Красная марка») (см. рис. 5.19).

Во Франции откорм тюрбо при товарном выращивании производят преимущественно в неглубоких прудах (на севере Бретани и атлантических Пиренеях), в которых чаще используется **чистая скважинная морская вода с относительно постоянной температурой 13°C**; и до **достижения рыбами веса 1.5 кг проходит около 2 лет**. Последние годы Франция занимает средне-европейское место по продукции товарного тюрбо (менее 1000 т), хотя продолжает относительное первенство по продукции молоди тюрбо, экспортируемой в Европейские и Китайские питомники.

Новая **рециркуляционная** (англ. **RAS, Recirculation Aquaculture Systems**) технология, разработанная специально для Франс Тюрбо и распространяемая

во все филиалы фирмы, по мнению разработчиков, создаёт оптимальные условия для тюрбо и минимизирует воздействие на окружающую среду. Однако согласно исследованиям Галисийского института аквакультуры (IgaFA), в системах замкнутого цикла (RAS) тюрбо растёт быстрее только в первый сезон (Bischoff et al., 2018).

Эволюция индустрии марикультуры тюрбо в Испании. Используя опыт специалистов из трёх стран, Великобритании (Шотландии), Франции и Норвегии, в Испании в начале 1990-х гг. была разработана **комбинированная технология (экстенсивная /полуинтенсивная)**, сочетающая элементы экстенсивного норвежского метода, обеспечивающего стабильность выростных систем, со строгим контролем микробиологического режима и пищевой ценности кормовых организмов, свойственным интенсивным технологиям.

Эволюцию становления индустрии аквакультуры тюрбо в Испании (сосредоточенной на 99% в Галисии) разделяют на **четыре фазы/периода** (Rodríguez-Rodríguez et al., 2016).

Первая фаза, с 1978 по 1985 гг., это первые опыты производства и поставка на локальный рынок первых выращенных тюрбо. **В 1983 г.** на северо-атлантическом побережье Галисии, в O'Grove, тремя предпринимателями было создано первое в Испании индустриальное производство тюрбо – фирма **Insuiña, S.A.** (рис. 5.22), которая совместно с «Центром морских исследований Галисии» провела серию экспериментов по товарному выращиванию тюрбо и в 1985 г. продала свои первые 40 т выращенного тюрбо по 15 евро/кг на локальных испанских рынках (Devesa, 1995). Эта компания во главе со своим основателем с-р. Девеса (Sr. Devesa) сыграла основную роль в создании и развитии «Галисийской Системы Продукции и Инноваций в Аквакультуре» (**Galician System of Production and Innovation in Aquaculture**, сокращенно **GSPIA**). Быстрый успех компания **Insuiña** был достигнут потому, что они начинали свою деятельность не с создания собственного питомника для выращивания мальков, а сразу с фазы товарного выращивания (и только одного вида – тюрбо), используя мальков, выращенных другими фирмами, и уже разработанную технологию товарного выращивания из Норвегии. Таким образом, они успели быстро занять свою нишу на рынке, выиграв деньги и время для решения проблем с созданием собственного питомника. Пока другие продолжали отрабатывать технику культивирования мальков в питомниках, **Insuiña** уже получала доход от продажи товарного тюрбо. Этому способствовали три основных фактора: локальный спрос на их продукцию тюрбо (большое количество ресторанов в регионе, в которых можно было быстро реализовывать выращенную рыбу), специализация компании (другие компании работали сразу с несколькими видами морских рыб, в то время как **Insuiña** специализировалась исключительно на тюрбо) и предприимчивость основателя компании (Devesa), который очень правильно организовал логистику.

Вскоре компания **Insuiña** стала независимой от поставок мальков из других компаний и доминировала в этой области.



Рис. 5.22. Компания Insuina, расположенная в Луго (Галисия, Испания)

Вторую фазу развития аквакультуры тюрбо в Испании, с 1986 по 1992 гг., можно назвать первой фазой роста «счастливого время роста производств» (англ. first expansion «happy growth»). Это была первая волна успешного роста аквакультурной продукции тюрбо. В течение первых двух лет **Insuiña** была единственной компанией, демонстрировавшей все признаки компании, достигшей финансового успеха в этой области. Начиная с середины 1980-х годов появляются новые компании, имитирующие ту же модель и получающие техническую и финансовую поддержку от **Insuiña**, и к 1990 г. их число достигает 16-ти. За этой стратегией стояла комбинация финансовых и идеологических соображений, так как считалось, что множество мелких ферм по выращиванию тюрбо, объединенных кооперативной моделью, может привести к удачному развитию сельской (до этого слаборазвитой) местности Галисии. Однако большинство этих ферм имели очень низкий уровень продукции (15–50 т) и не имели финансовых возможностей нанимать квалифицированных технологов, а, соответственно, не могли обеспечивать грамотные технологические приемы на высоком уровне.

Для развития в Галисии аквакультурной промышленности необходимо было повысить уровень подготовленности рабочих кадров, и для этого испанское правительство запустило образовательную программу, названную «Планом подготовки современных технологов аквакультуры» (**Training Plan for Advanced Technicians in Aquaculture**), которая в результате теоретических и практических тренингов на национальном и международном уровнях в течение трёх лет (1984–1987 гг.) подготовила большое количество испанских квалифицированных технологов марикультуры, в результате чего часть марикультурных фирм смогла нанять для работы высококвалифицированных специалистов. В 1988 г. была создана Ассоциация производителей тюрбо в Галисии (**AROGA – Asociación Rodaballo Galicia**), а в 1989 г. был создан первый кооператив производителей тюрбо **Mar Novo Galician Turbot**. В этот же период времени была разработана и впервые использована технология кормления тюрбо с использованием сырых инертных кормов.

Однако прогресс и бум развития аквакультуры тюрбо был прерван разразившимся первым основным индустриальным кризисом: при производстве 1000 т тюрбо затраты составляли 7.7 евро/кг, а цены закупок – 5.9 евро/кг. Ценовой кризис продолжался в течение 1991–1992 гг. Причинами неудач, приведших к кризису, оказались маленькие размеры ферм, недостаточное техническое сопровождение и отсутствие сети коммерческого маркетинга, что и привело с 1992 по 1996 гг. к сокращению числа выращивающих тюрбо испанских компаний вдвое из-за их полного закрытия или поглощения более крупными. В результате была произведена реструктуризация производства. В этот же период впервые стали использовать сухие экструдированные корма, специализированные для тюрбо.

Третий период становления (1993–2004 гг.) связан с привлечением иностранных инвестиций и с соревнованиями за питомники. Иностранный капитал был привлечён в Галисию удивительно гармоничным сочетанием её экономических, социальных и природных условий, а также серьёзного политического местного интереса для развития экономики региона в направлении марикультуры, в связи со значительным сокращением рыболовных предприятий из-за резкого падения уловов, и, соответственно, огромным рынком свободной рабочей силы и необходимостью её перепрофилирования, а также круглогодичной доступностью океанической воды с низким уровнем эвтрофикации умеренной температуры (12–18°C) на атлантическом побережье этой испанской провинции.

Внедрение британской и норвежской технологий выращивания тюрбо в их испанских модификациях дало дополнительные преимущества галисийским компаниям. Разработанная в Хантерстоун, Великобритания (**Golden Sea Produce Ltd., Hunterston, Scotland, UK, GSP farm**) британскими специалистами технология выращивания тюрбо пришла в испанскую Галисию двумя альтернативными путями. Первый – **адаптация британской технологии** непосредственно к собственным условиям, произведенная в компании **Insuiña**; второй – непосредственная **передача британской технологии** через прямые инвестиции из Hunterston в Галисию. В 1983 г. **Norsk Hydro** купила шотландскую ферму по производству тюрбо **GSP (Golden Sea Produce)** и совместно с менеджером **GSP** Ги Мэйс (Guy Mace) было решено переместить выращивание тюрбо в Галисию, на северо-запад Испании.

Собственно иностранный капитал доминировал в аквакультуре тюрбо в Испании уже начиная с 1985 г., когда крупная норвежская нефтегазовая и металлургическая компания **Norsk Hydro** (более 40% акций которой принадлежит правительству Норвегии) совместно с крупным испанским банком (Bank of Bilbao) основали компанию **Prodemar**. Становление выращивания тюрбо в **Prodemar** проводили именно **британские технологи** (Riaza, Hall 1993; Barrington, 2012). Британский технолог Джеймс Холл (James Hall) (рис. 5.23) в течение 35 лет сотрудничал с **Prodemar** (в настоящее время **Stolt Sea Farm, SSF**), и являлся основным менеджером по продукции этой компании. Соответственно, в **Prodemar (SSF)**, руководствовались в большей степени британскими, нежели испанскими научно-техническими разработками.



Рис. 5.23. Британский технолог Джеймс Холл (James Hall) с 35-летним стажем работы в Prodemar (в настоящее время Stolt Sea Farm, SSF)

Компания **Prodemar** начала выпускать собственную продукцию тюрбо в 1987 г., когда уже несколько компаний работали в этом направлении. В 1988–1996 гг. филиалы **Prodemar** (рис. 5.24) размещались на двух участках северо-западного побережья испанской Галисии. Ежегодная продукция тюрбо составила в 1993 г. 700 т товарной продукции и 500 тыс. мальков весом в 2 г. **Prodemar** оказывается наиболее известной и устойчивой по росту компанией по производству тюрбо в Испании (Rodríguez-Rodríguez et al., 2016). После кризиса 1991–1992 гг. **Prodemar** становится основой для **Галисийской Системы Инноваций в Аквакультуре (GSPIA)**, так как из-за финансовых проблем 1990-х годов часть питомников закрылась, а остальные были выкуплены иностранными компаниями, также в основном норвежскими (**Oye Havbruk** и **Stolt Sea Farm**).



Рис. 5.24. Бассейны для выращивания товарной продукции тюрбо компании PRODEMAR

В 1983–1991 гг. **Stolt Sea Farm (SSF)**, мультинациональная компания, часть огромной компании **Stolt-Nielsen**, принадлежащей норвежскому капиталу), созданная в 1972 г. для производства молоди лосося, для диверсификации производства приобретает рыбные питомники на побережье Испании и Франции и, помимо выращивания спата моллюсков и молоди креветок, начинает заниматься выращиванием молоди тюрбо в Норвегии. Объединив норвежские компании, производящие молодь тюрбо (2–5 г), и испанские, выращивающие тюрбо от молоди до рыночных размеров (от 1.5 до 3 кг), **SSF** оказалась конкурентно-способной на Европейском рынке выращиваемых тюрбо.

Когда в 1993 г. **SSF** приобрела **Prodemar**, то вступление объединённой компании в состав **Технологического Центра Галисийской Аквакультуры (Technological Centre of the Galician Aquaculture, CETGA)** было скорее результатом политики, так как **Prodemar** уже имел устойчивую финансовую позицию и был способен самостоятельно решить любые технические проблемы благодаря связям с инновационной системой северных стран (**Nordic Countries System of Innovation**).

В течение 1992–1998 гг. **SSF** концентрируется на производстве тюрбо под маркой **Prodemar™** и приобретает для этого рыбозаводную ферму в Португалии и несколько ферм в испанской Галисии. В начале 1990-х годов для товарного выращивания тюрбо группа **Prodemar** в испанской Галисии покупала до 50% от общего количества молоди тюрбо (350–450 тыс. мальков весом 2–5 г) у норвежского питомника **Tinfos Aqua**; в 1994 г. из этой молоди в **Prodemar** было выращено и продано более 1000 т тюрбо (от 1.5 до 3 кг). В результате наращивания продукции тюрбо до 1200 т в год, компания **SSF** совместно с её испанским филиалом **Prodemar** начали доминировать в секторе **товарного выращивания тюрбо**. В 1999 г., когда 70% (до 1.2 млн. особей) мальков для товарного выращивания компании **Prodemar** уже обеспечивалось собственным производством, а суммарная годовая товарная продукция этой группы достигла 1700 т, **SSF** открывает ещё одну большую ферму – **Lira (Carnota)**, в испанской провинции **La Coruña**; и общая продукция тюрбо марки **Prodemar™** возрастает до 2000 т.

Новые производства тюрбо, принадлежащие **Stolt Sea Farm**, открываются также во Франции и Португалии. В 2005 г. товарная продукция тюрбо корпорации **SSF** составила 3.5 тыс. т, и она открыла ещё одну, самую крупную в мире ферму по производству камбалообразных на атлантическом побережье Испании, на мысе **Vilán-Samariñas**, с капиталовложениями €17 млн, и другие (рис. 5.25). К 2007 г. годовая продукция **SSF** выросла до 4 тыс. т. В 2012 г. **SSF** приобрела фермы для выращивания тюрбо и других камбалообразных **Acuidoro и Alrogal** (Испания) и подняла уровень годовой продукции тюрбо до 5.4 тыс. т. В 2018 г. **Stolt Sea Farm** располагала 11 аквакультурными предприятиями-филиалами, расположенными по Атлантическому побережью Испании (**Stolt Sea Farm**, электрон. ресурс).



Рис. 5.25. Фермы по выращиванию тюрбо норвежской компании **Stolt Sea Farm (SSF)** в разных регионах побережья Галисии (северное атлантическое побережье Испании).

Корпорация **SSF** помимо Испании, имеет аквакультурные предприятия в Норвегии, Исландии и Великобритании, и поставляет свою продукцию в 20 стран мира, продолжая вкладывать деньги в новые научно-технологические проекты, такие как, например, «Прогресс в вакцинации камбалообразных» (“Progress in flatfish vaccination”, IDI-20160679), через европейские мульти-региональные оперативные программы для интеллектуального роста 2014–2020.

Промышленное производство тюрбо в компании **SSF** на всех этапах контролируется **информационными компьютерными системами** не только для **определения характеристик качества воды**, но и для **контроля большинства технологических процессов выращивания, включая систему кормления и разных манипуляций с рыбами**, а также **поэтапной очистки использованной морской воды для сброса её в море**.

В 2013 г. продукция тюрбо **SSF** марки **Prodemar™** получила сертификат «*Friend of the Sea*» (в переводе с англ. «Друг моря»), так как в процессе оценки качества продукции компания предоставила все **документы, подтверждающие соответствие системы выращивания международным нормам и сертификации помещений для культивирования согласно ISO (International Standards Organisation)**, а также документацию, удостоверяющую, что в процессе выращивания тюрбо этой компанией не используются ни гормоны роста, ни какие-либо канцерогенные химические соединения в кормах.

Доступные ИнтернетВидеоРесурсы о предприятиях компании **SSF** по выращиванию тюрбо на побережье испанской Галисии:

SSF Camariñas <https://www.youtube.com/watch?v=IU1h9Br3ORk>;

Сброс воды: https://www.youtube.com/watch?v=TzpcZnvOf_E;

Euronews <https://www.youtube.com/watch?v=lpU9ZLdKLug>.

В настоящее время в испанской Галисии, аквакультурной продукцией тюрбо в основном занимаются две Мега-группы (Rodríguez-Rodríguez et al., 2017). Одна из них, **Stolt Sea Farm (SSF)** – мультинациональная компания, которой принадлежат фермы по выращиванию и питомников тюрбо в Галисии, а также в Португалии, Франции и Норвегии. На январь 2021 г. **SSF** обеспечивала свои филиалы на 100% мальками собственного производства, выращивала тюрбо (5700 т в год) и морского языка (1700 т в год) на 14 разных производствах, расположенных на испанском, португальском, французском, исландском и норвежском побережьях, а к 2035 г. **SSF** планирует выращивать более 23 тыс. т тюрбо и морского языка (*Turbot farmer considers IPO*, электрон. ресурс).

Вторая мегагруппа – отивка испанской группы **Grupo Nueva Pescanova – Insuiña SL**, которой также принадлежат питомник и четыре фермы по выращиванию в Галисии. Если **Stolt Sea Farm** росла за счёт приобретений чужих предприятий, то **Insuiña SL** (благодаря поддержке крупной испанской мультинациональной промышленной группы **Pescanova**) развивалась в основном через создание новых предприятий. Для повышения эффективности промышленного выращивания тюрбо **Pescanova** сделала ставку на научные исследования в области технологии, и около 4.5% её расходов составляют затраты на научно-технические исследования, и она участвовала в 50 научно-исследовательских инновационных программах (I+D+i). В штат сотрудников одного из самых известных филиалов **Pescanova – Insuiña**, входят 10 научно-технических экспертов I+D. Технология группы **Pescanova** позволяет проследить процесс продукции тюрбо от производителей до товарной продукции. Компания **Pescanova – Insuiña** для получения икры и личинок в собственных питомниках использует выращенных производителей, длительную селекцию которых проводили на основании самых лучших скрещиваний от 10 тыс. особей.

С ростом мощностей аквакультурных компаний по выращиванию тюрбо началась гонка по созданию собственных питомников по выращиванию мальков, так как только такой подход мог обеспечивать автономию и конкурентоспособность, благодаря гарантированным качеству и количеству контролируемого по заболеваниям, патологиям и иммунитету посадочного материала. История создания самой большой фермы по культивированию тюрбо в Европе, макрозавода **Pescanova**, является наиболее наглядным примером конфронтации марикультуры и дикой природы. В процессе конкуренции и гонки за супердоходами, испанская финансовая группа **Pescanova** решила в 2007 г. создать наиболее современную индустрию для гигантского производства тюрбо, которое по планам руководства должно было достигнуть в 2014 г. 20 тыс. т.

Для конструкции завода-гиганта на атлантическом побережье Португалии корпорация **Pescanova** выбрала значительную часть уникальной охраняемой территории, **570 тыс. м² девственной местности песчаных пляжей** Costa da Morte (Берега Смерти), вдающейся на 1 километр в Атлантический океан (рис. 5.26А), находившейся под защитой **Красной Книги Природы (la Red Natura)**. Однако, при поддержке правительства Португалии во главе с **премьер-министром и с помощью колоссальных инвестиций**, несмотря на активное сопротивление международных организаций и общественности, значительная площадь португальского прибрежного природного заповедника **Mira** была отторгнута и застроена конструкциями компании **Pescanova**.

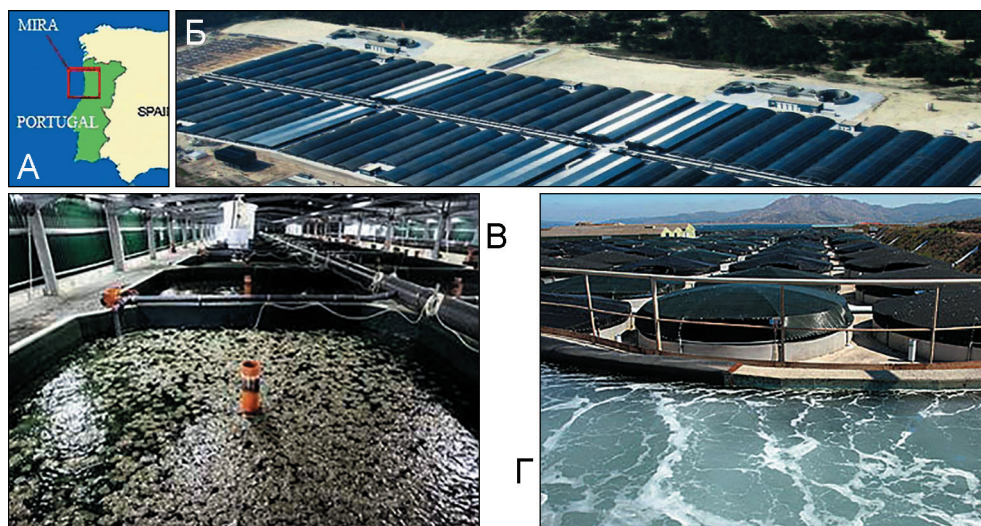


Рис. 5.26. А – Расположение компании Mira-Pescanova на карте Португалии; Б – бассейны по выращиванию тюрбо на территории Mira-Pescanova; В – бассейны для выращивания мальков в компании Acuinova 2010 г.; Г – бассейны для выращивания товарной продукции тюрбо и сброс очищенной отработанной воды в море (Acuinova)

Инаугурация аквакультурного предприятия в Мира (Mira) под названием **Acuinova** состоялось в июне 2009 г., в присутствии членов правительств Португалии и Галисии, а также многочисленных приглашённых представителей прессы. Благодаря огромным инвестициям (около 200 млн евро) было сооружено **1800 бассейнов, вмещавших 1.5 млн. мальков** (рис. 5.26Б–Г). В 2010 г. годовая товарная продукция тюрбо **Acuinova** составила 7 тыс. т.

Однако, этот аквакультурный гигант, памятник мегаломании президента компании **Pescanova**, просуществовал недолго. Он как будто был наказан за погубленное уникальное экологическое пространство. Вскоре после введения в строй аквакультурного завода **Acuinova**, несколько незначительных на первый взгляд недоучётов и дефектов в технических конструкциях привели к вспышкам заболеваний, вызвав массовую смертность культивируемых тюрбо, в том числе от асфиксии. В результате компания **Acuinova** потеряла сначала 70 млн евро,

а затем задолжала португальским банкам 127 млн евро. Как писали в португальской и испанской прессе: «5 июля 2017 г. закончилась бесславная авантюра строительства Разрушающей и Разрушительной Аквакультурной Химеры» (так окрестили макрозавод **Pescanova-Acuinova** защитники природы и поддерживавшие их журналисты).

Мощности одной из ферм обновлённой корпорации **Nueva Pescanova** состоят из питомника Insuiña-Mougás, расположенного в провинции Понтеведра (Pontevedra, Испания) (рис. 5.27А), для получения мальков, которых затем для подращивания до товарных размеров перемещают на ферму Insuiña-Xove, расположенную в провинции Луго (Lugo, Испания) (рис. 5.27Б), где находятся 900 бассейнов для откорма 2800 т тюрбо в год с общей продукционной площадью 63 тыс. м², из которых свежая рыба продается на испанских рынках в тот же день.

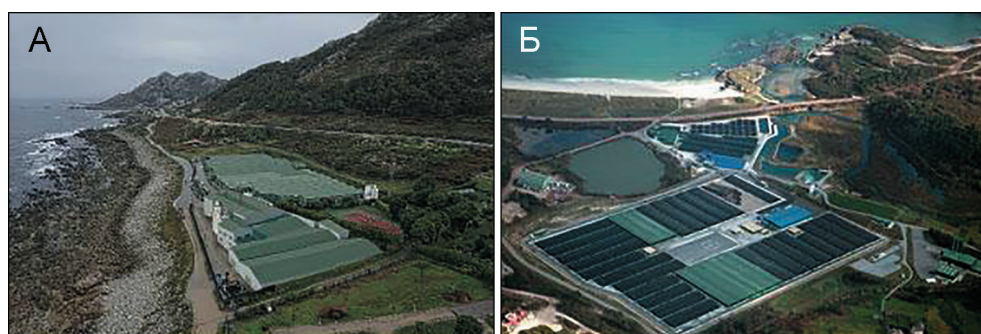


Рис. 5.27. А – питомник для получения мальков тюрбо Insuiña Mougás (Pontevedra, Испания). Б – ферма для выращивания товарной продукции тюрбо Insuiña-Xove (Lugo, Испания)

Несколько важных вех научно-технического прогресса в области культивирования тюрбо в Испании в 2000–2017 гг.:

2000 – получен европейский патент на комплексную вакцину для тюрбо (GAVA-3 vaccine);

2007 – впервые произведено генетическое картирование тюрбо и зарегистрирована первая вакцина против паразитарных инфекций;

2011 – испанскими (Галисийскими) компаниями произведено более 17 млн мальков тюрбо;

2014 – раскодирован полный геном тюрбо (22 тыс. генов);

2017 – создан первый частный научно-исследовательский центр в Галисии.

Аквакультура тюрбо в других странах ЕС.

В Германии, несмотря на довольно удачное сочетание экстенсивной (кормление копеподами) и интенсивной (кормление коловратками) технологий (Kuhlmann *et al.*, 1981) и применение в питомниках установок с замкнутым циклом выращивания, мальков тюрбо получали в количестве не более 150 тыс. экз/год в связи с их не востребованностью для товарного выращивания. Сочетание кли-

матических, экономических и социальных условий в Германии оказалось неэффективным и нерентабельным для товарного выращивания тюрбо, и последние 60 т было выращено в 2008 г.

В настоящее время небольшая часть европейской продукции мальков и товарной продукции тюрбо производится в Норвегии, Дании, Нидерландах, Исландии и Ирландии.

Особенности аквакультуры тюрбо в Дании. В Дании с самого начала развития промышленности по ларвикультуре тюрбо параллельно были разработаны методы массового культивирования копепод и полуинтенсивная технология получения молоди тюрбо (Støttrup et al., 1986). Использование копепод обеспечивало производство молоди высокого качества (95% и более не имеют нарушений пигментации), но существенно повышало затраты на их выращивание (Støttrup et al., 1998). Питомник тюрбо **Maximus A/S**, технология выращивания которого основывалась на использовании в качестве живых кормов искусственно выращенных морских копепод по технологии, разработанной д-ром Бент Уруп (Bent Urup), начал использование полу-экстенсивной системы выращивания копепод для выращивания мальков тюрбо с начала 1990-х, и к 1994 г. выпускал около 0.5 млн экз. высококачественных мальков тюрбо (Urup, 1994; Støttrup, 2003).

При выращивании личинок в компании Maximus A/S удачно сочеталось частичное применение копепод (от науплиальных стадий до взрослых) для кормления разных стадий развития личинок тюрбо. В течение первых трех недель после выклева личинки тюрбо (3–4 мм) питались копеподами на разных стадиях развития и достигали веса ~ 50–60 мг. Применяя эту технологию кормления личинок в сочетании с рециркуляционной системой для подращивания молоди, компания Maximus A/S в 1990 г. была первой в мире, научившейся производить равномерно выраставших мальков тюрбо без деформаций скелета и аномальной пигментации и имеющих хорошо развитую иммунную систему, которые достигали в возрасте 3 месяцев веса ~ 5 г (рис. 5.28). С 1990 по 2013 г. большую часть мальков, выращенных Maximus A/S перевозили в северную Испанию, где температура воды наиболее благоприятна для товарного выращивания тюрбо.



Рис. 5.28. Мальки тюрбо (около 5 г), выращенные в Maximus A/S, перед отправкой на фермы для товарного выращивания

В настоящее время, через 25 лет после основания, модифицированный питомник – **Aqua-Partners ApS** (3 тыс. м² внутренних производственных помещений и 35 тыс. м³ наружных производственных бассейнов) продолжает производить мальков тюрбо самого высокого качества, и применяет использовать элементы этой технологии для выращивания молоди морского языка, тунца и сериолы (рис. 5.29).



Рис. 5.29. Питомник Aqua-Partners ApS. Открытые бассейны для культивирования копепод и выращивания мальков рыб компании **Aqua-Partners ApS**

Недавние комплексные исследования в рамках биотехнологического проекта по разработке эффективных кормов для личинок морских рыб показали, что новые технологии по выращиванию мальков тюрбо с применением культивируемых морских копепод (по полу-экстенсивной технологии) более чем в четыре раза выше рентабельности производства мальков с применением артемий (по интенсивной технологии) по статьям издержек (Abate et al., 2016).

Датская группа AKVA Denmark A/S в настоящее время уже коммерциализировала производство морских копепод для аквакультуры, и на развитие этого направления производства живых кормов Инновационным Фондом Датского правительства было выделено более 1 млн. долларов.

Норвегия. В начале 1980-х годов, когда интенсивная технология (основанная на последовательном кормлении коловратками и артемиями) выращивания личинок ещё не была хорошо развита, и товарное выращивание тюрбо зависело от поставки мальков, в Норвегии было налажено их производство по экстенсивной технологии, т.е. выращивание происходило при низкой исходной плотности личинок либо с использованием для их кормления отловленного из моря зоопланктона, либо откармливание личинок проводили в изолированных фьордах, в которых создавали условия для естественного развития зоопланктона; существовал также метод выращивания личинок в мезокосмах 20–60 м³ (Meeren,

Naas, 1997; Meeren et al., 2008). В 1989 г. в Норвегии функционировало 15 питомников, однако к 1994 г. в стране оставался уже только один питомник, использовавший не природный зоопланктон, а морских копепод, выращиваемых в искусственных условиях (Urup, 1994).

Норвегия была лидирующей страной по производству мальков тюрбо, начиная с 1983 г. Так, компания **Tinfos** выращивала тюрбо, используя подогретую морскую воду из охладителей близлежащего химического завода в Квинсдале (рис. 5.30). В 1990 г. несколько небольших норвежских заводов производили 615 тыс. мальков тюрбо. В 1990-х – начале 2000-х, одна норвежская компания **Tinfos Aqua S.** производила ежегодно 450 тыс. мальков тюрбо, составлявших в начале 1990-х около 70% мировой продукции). Этих мальков использовали преимущественно испанские компании. Группа **Prodemar** закупала до 50% от общего числа выращиваемых мальков для их дальнейшего товарного подращивания; и в 1994 г. она продала более 1000 т тюрбо, выращенной из молоди, произведённой компанией **Tinfos**.



Рис. 5.30. Теплоэлектростанция, расположенная во фьорде на юге Норвегии (Квинсдал) и расположенные на её территории (выделено черным прямоугольником) выростные бассейны для тюрбо (**Tinfos-SSF**), обогрев воды в которых происходит за счёт сбросного тепла электростанции.

Но по мере развития питомников тюрбо в других странах, компания **Tinfos**, которая с 1992 г. стала принадлежать **Stolt Sea Farm**, оказалась единственной компанией в Норвегии, производившей до 250 т аквакультурной продукции тюрбо в год. В последние годы в Норвегии, как и в Дании, при поддержке совместных проектов биотехнологических институтов и частных компаний проводятся разработки технологий по интенсивному производству морских копепод на коммерческой основе для кормления ранних личинок морских рыб. Аналог датской группы **AKVA group Denmark A/S**, в Норвегии компания **C-Feed** уже производит копепод в коммерческих масштабах.

В Нидерландах рыболовный флот до настоящего времени продолжает вылавливать до 2.5 тыс. т тюрбо в год, а аквакультурная продукция тюрбо выпускается лишь одной компанией **Seafarm BV**, с производственным потенциалом до 280 т, которая в течение 2007–2016 гг. выращивает от 100 до 260 т. Компания **Seafarm BV** использует для выращивания тюрбо исключительно многоэтажные рейсвейсы в сочетании с рециркуляционной системой (RAS).

В 2015 г. нидерландская фирма **Seafarm** совместно с Grovisco основала современный питомник тюрбо **Fry-Marine**, в котором все соответствует современным «зелёным» технологиям. Для экономии энергии и создания стабильных климатических условий крыши покрыты **солнечными батареями**, а стены сделаны из **16 см изоляционного материала**. В условиях питомника **Fry-Marine** производители тюрбо находятся при **естественных режимах освещения и температуры, регулируемые изменения которых индуцируют их нерест естественным путём, без применения гормональных или прочих средств**, что улучшает их физическое состояние и повышает качество гамет. Условия выращивания личинок соответствуют **условиям супер-гигиены**, необходимой для личинок тюрбо, которых выкармливают **исключительно живыми кормами: микроводорослями, выращиваемыми в биореакторах, копеподами, коловратками**. Личинок содержат **в закрытой рециркуляционной системе**, в которой вода обрабатывается до **оптимального для личинок состояния, обеспечивающего высокое качество и выживаемость личинок до возраста 40 сут**. В рециркуляционную систему входит **ультрафильтрационный блок**, обеспечивающий гигиену в бассейнах для выращивания. В результате получают высококачественную молодь тюрбо, которая обеспечивает полностью их собственные товарные мощности.

Личинок тюрбо к 40-суточному возрасту переводят в систему рейсвейсов (рис. 5.31), длинных плоских бассейнов, вода в которых постоянно обновляется, что гарантирует как достаточный уровень кислорода для рыб, так и постоянное удаление отходов из системы выращивания. Пища распределяется равномерно по всей длине бассейна и обеспечивает одинаковые условия питания всех рыб, что снимает их стресс и улучшает их физическое состояние. В то время как при интенсивном выращивании морских рыб заболевания неизбежно контролируются применением антибиотиков, в компании Seafarm антибиотики не используются, так как поддержание оптимального качества воды и выращивания рыб при низкой плотности посадки приводит к отсутствию вспышек заболеваний.

Технологии выращивания тюрбо в рециркуляционных системах в северной Европе начали разрабатывать давно (Oygarden, 1988) (рис. 5.31). Но, несмотря на аргументацию относительно эффективности и экологичности выращивания в рейсвейсах рециркуляционных систем (Bjørndal, Øiestad, 2010), пока в них производится незначительное количество тюрбо.



Рис. 5.31. Рециркулярные системы выращивания. Рейсвейсы для подращивания мальков. Рейсвейсные бассейны для товарного выращивания тюрбо (Oygarden, 1988; Vjørndal, T., & Øiestad, V., 2010)

Приведенные выше примеры постоянной жесткой конкурентной борьбы ма-рикультурных компаний за площади и финансирование новых мощностей по производству тюрбо свидетельствуют о высоких доходах, получаемых от этой промышленности. По данным 2020 г., в Европе стоимость тюрбо варьирует в зависимости от размера, страны, времени года и происхождения: искусственно выращенный может стоить от 8.5 до 11 евро за кг, а выловленный из моря от 9.5 до 26 евро. Спрос и потребление тюрбо (до 3 кг) наиболее высоки на французских и итальянских, а также на американских рынках. Похоже, за последние пять лет производство тюрбо в Европе пришло к определённым балансу с его потреблением, и вряд ли в ближайшее время появится стимул поднимать выше уровень производства тюрбо во избежание кризиса его перепроизводства.

5.7. Развитие аквакультуры тюрбо в Китае

Если в Европе место первенства по объёмам производства атлантического тюрбо занимает испанская Галисия, то в мире в настоящее время лидером по производству тюрбо стал Китай (Китайская Народная Республика, КНР). В огромном государстве с почти 1.5 миллиардным населением существует поговорка «обед без рыбы – не обед». И согласно статистике потребление морепродуктов в Поднебесной составляет около 26 кг на жителя в год (на 10 кг больше, чем в Европе), и ожидается, что оно возрастет на 40% в ближайшее 10-летие.

Государственная политика КНР в течение последних десятилетий направлена на поддержание развития аквакультуры, общий уровень производства которой в 2020 г. ожидался около 23.5 тыс. т на площади 318 га, в то время как в 2001 г. в КНР для искусственного производства морских рыб не использовалось ни одного гектара земли.

Если длина Галисийского побережья Испании, на котором расположены основные европейские производства тюрбо, составляет 1869 км, то китайское морское побережье простирается на 18 тыс. км. Холодные воды Северного Китая не позволяли выращивание многих морских рыб, однако китайские учёные нашли выход из создавшегося положения – закачивание в бассейны больших объёмов морской воды с больших глубин (до 120 м), температура которых варьирует в пределах 14–18 С.

Кстати, уже в 2004 г. в КНР насчитывалось наибольшее количество населения, задействованного в рыбной ловле и аквакультуре (13 млн или 31% от мирового). Из этих 13 млн – 4.5 млн специализировались в области культивирования рыб, и эту специальность они приобрели в результате программ по реформированию/перепрофилированию населения, направленных на сокращение рыболовецкого флота.

Атлантический тюрбо не является эндемичным видом Тихоокеанского бассейна. Этот вид рыб был ввезен в КНР с целью разнообразить аквакультурную продукцию локальных видов камбалообразных, и его выращивание развилось до больших масштабов очень быстрыми темпами – менее чем за 20 лет. Впервые идея выращивать атлантического тюрбо в КНР возникла у директора научно-исследовательского института рыбного хозяйства Китайской академии рыболовства (Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences – Научно-исследовательского института рыболовства Желтого моря Китайской Академии Ихтиологических наук), доктора Ванг Цингуин (Wang Qingyin), во время организованного ФАО научного визита китайской делегации в исследовательские центры Великобритании в 1980 г.

Через 12 лет первые партии мальков тюрбо прибыли из Великобритании в научно-исследовательский институт рыбного хозяйства Желтого моря для проведения экспериментов и создания собственных модификаций технологии выращивания, кормления, контроля за пигментацией и здоровьем рыб, подращивания молоди, созревания производителей и получения искусственно оплодотворённой качественной икры. Из первой партии тюрбо (200 мальков длиной 5–6 см), импортированной в Китай из Великобритании в 1992 г., было выращено маточное стадо, достигшее половозрелости в 1995 г., от которого в 1997 г. были получены первые партии оплодотворённой икры (Lei, Liu, 2010). В настоящее время молодь, предназначенную для пополнения маточных стад в китайских питомниках, импортируют из питомников Франции, Дании, Исландии и Норвегии для предотвращения инбридинга.

Используя многолетний научно-производственный опыт европейской аквакультуры, при финансовой поддержке на должном уровне китайской государственной аквакультурной программой и используя высокую адаптируемость к новым технологиям локальных частных производств, китайские исследователи добились хороших результатов и быстрого внедрения собственных исследований в промышленное производство. Первое успешное товарное выращивание тюрбо было осуществлено в 1999 г. под руководством академика Леи Дзилин

(Lei Jilin) из научно-исследовательского института рыбного хозяйства Китайской академии рыболовства (Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences), расположенного в Циндао (Qingdao), провинция Шаньдун. Первые партии выращенного тюрбо были проданы на крупных рынках Гуанчжоу, Шеньчжень и Шанхай по цене 80 долларов США/кг (Lei, Liu, 2010).

Высокая цена тюрбо в КНР и на азиатском рынке (в основном, как дорогого рыбного блюда в ресторанах) в конце 90-х годов явилась мотивацией и стимулом к быстрому развитию этой отрасли рыбоводной промышленности. На побережье северного Китая, откуда, собственно, и начался бум выращивания тюрбо, местные крестьяне говорили: «Стоимость двух выращенных тюрбо равна стоимости большой жирной свиньи: за год прибыль от производства этой рыбы покрывает все расходы». Первые полно-циклические выростные системы тюрбо были построены вдоль побережья Бохайского залива (Bohai Bay) и Желтого моря (Yellow Sea), и в них используют преимущественно солёную воду из глубоких скважин.

В 2002 г. в КНР существовало уже 400 рыбопроизводных предприятий с продукцией от нескольких до 50 т в год, а общая товарная продукция тюрбо составила 7 тыс. т на 150 млн долларов США (21 доллар США/кг) (Shi et al., 2004). Большую часть посадочного материала в начале развития производства тюрбо Китай закупал во французской фирме France Turbot (см. выше).

После начальных успехов промышленного выращивания тюрбо в провинциях Вэйхай (Weihai) и Шаньдун (Shandong) производство тюрбо быстро распространилось и стало важной отраслью аквакультуры для многих прибрежных областей северного Китая (рис. 5.32). Однако, до настоящего времени более 90% исходного посадочного материала (мальков) продолжают производить именно в провинциях Вэйхай и Шаньдун.

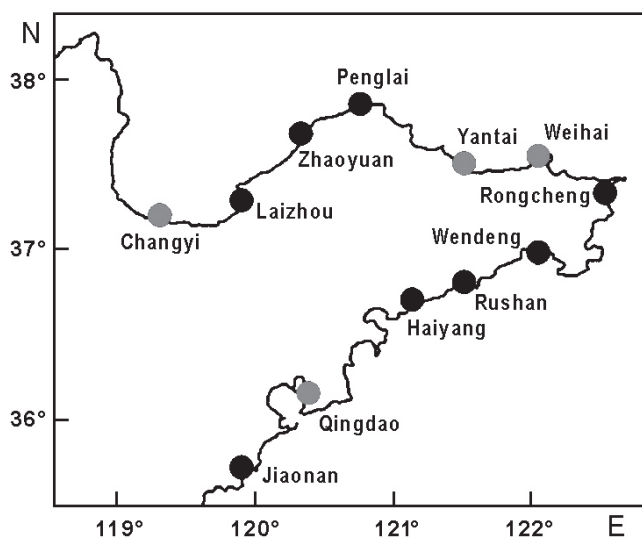


Рис. 5.32. Карта расположения основных рыбопроизводных ферм тюрбо в Китае.

Быстрый рост аквакультурного производства тюрбо в Китае был связан не только с многочисленной дешевой рабочей силой, но также еще и с иными, по сравнению с европейскими, принципами и нормами промышленного производства тюрбо. В отличие от европейских рынков, покупатели которого предпочитают тюрбо весом не менее 1.5 кг, а чаще 2.5 кг, на азиатских рынках, локальных китайских, тайваньских, корейских и японских, востребован товарный размер тюрбо весом не более 0.5 кг, по принципу «одна рыба – одно блюдо» (рис. 5.33).



Рис. 5.33. Товарный размер тюрбо, востребованный на китайских рынках и в ресторанах («одна рыба – одно блюдо») (фото Помозов А.)

Это приводит к более короткому циклу промышленного выращивания рыбы и, соответственно, к его удешевлению и более быстрому обороту денег в промышленности. К 2006 г. общая годовая продукция тюрбо, произведенная только в провинции Шаньдун, уже составляла 40 тыс. т (рис. 5.34), а в целом в Китае – 50 тыс. т, на общую сумму 4500 млн. юаней, или более 413 млн евро. Эту продукцию почти полностью потреблял внутренний рынок и Гонконг.

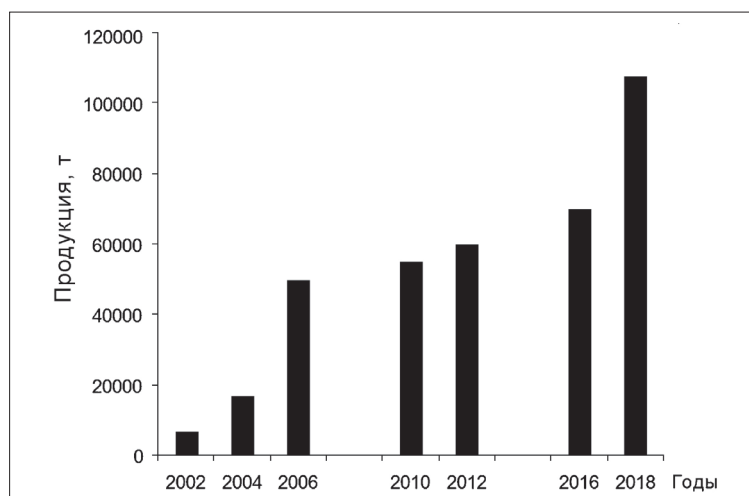


Рис. 5.34. Рост годовой общей продукции тюрбо в КНР с 2002 по 2018 гг. (по данным китайских и испанских источников по аквакультуре тюрбо) (Galicia cede a China..., электрон. ресурс)

Обратной стороной медали в истории бума промышленного выращивания тюрбо в Китае было обилие и быстрый рост количества небольших фермерских хозяйств с практически неконтролируемыми условиями выращивания и высокой плотностью посадки рыбы, что недопустимо для этого вида рыб со слабой иммунной системой и с высокой подверженностью к контагиозным заболеваниям. Поэтому для контроля вспышек заболеваний в процессе выращивания фермеры применяли большое количество химических антибактериальных средств, в том числе с канцерогенным эффектом. Этот фактор и привел к нестабильности производства тюрбо. В 2006 г., когда на Шанхайском рыбном рынке проанализировали выращенного в Китае тюрбо, в его мясе были обнаружены высокие остаточные концентрации широкого спектра антибактериальных химических веществ, запрещенных к применению в аквакультуре: канцерогенных метаболитов фуранового ряда (нитрофуран, фуразолидон, фуралатон и др.), а также других – малахитового зелёного, эритромицина, окситетрациклина, ципрофлоксацина, энрофлоксацина и др., и разразился громкий серьёзный скандал.

Как следствие, самые крупные азиатские рынки (Шанхай, Пекин, Гуанчжоу, Гонконг) закрыли свой рынок для произведенных в Китае тюрбо, и по всему китайскому побережью были проведены проверки аквакультурных компаний. Все компании, в образцах продукции которых были найдены запрещенные вещества, были юридически наказаны и были вынуждены уничтожить большие партии продукции тюрбо. В основном пострадали аквакультурные производства провинции Шаньдун (рис. 5.35).



Рис. 5.35. Уничтожение продукции тюрбо на ферме в провинции Шаньдун (КНР) в связи с фурановым скандалом (фото от 2 декабря 2006 г. агентства Xinhua)

Последствием фуранового скандала было резкое падение закупочных цен на тюрбо с 60 до 40 юаней за кг. Провинция Шаньдун была затоварена 50 млн мальков тюрбо, и экономические потери составили более 3 млн долларов. В 2008 г. для научно-технических разработок безопасного производства тюрбо китайское правительство выделило более 2 млн долларов. В течение времени, прошедшего после фуранового скандала, китайские учёные провели огромное количество финансируемых правительственными программами современных научных исследований в области патологии, иммунологии, молекулярной биологии, эмбриологии, генетики, биохимии и физиологии (только в англоязычных изданиях цитируется более 15 тыс. китайских научных публикаций за период с 2000 г.). В результате уровень технологии культивирования тюрбо в Китае значительно повысился, а компании стали использовать тщательный протокол выращивания и современные стандарты санитарных норм при строительстве и эксплуатации питомников и ферм товарного выращивания тюрбо (рис. 5.36А–Г).

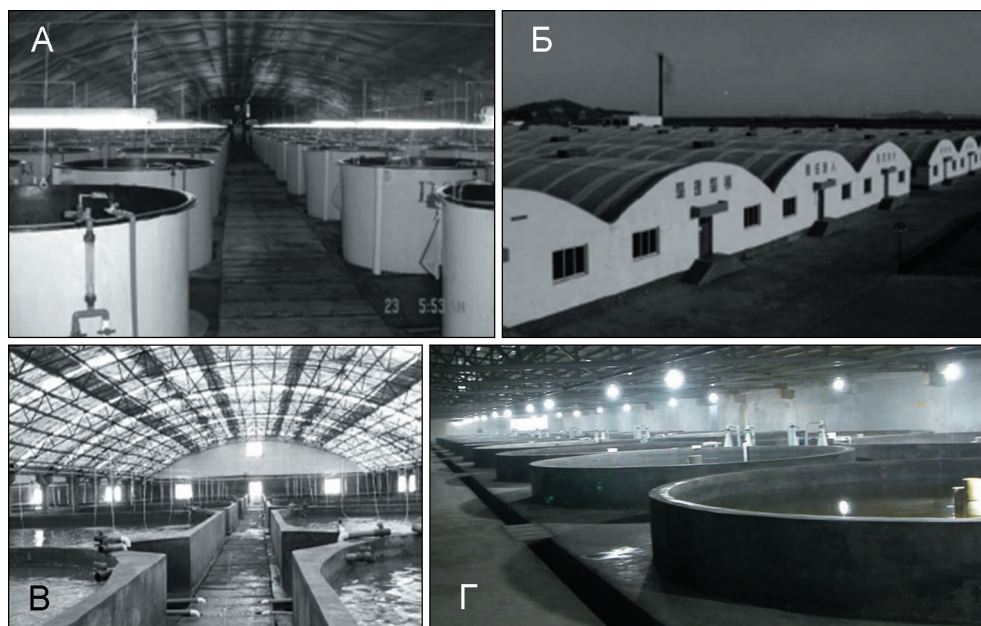


Рис. 5.36. Оборудование компании **SunShine flatfish**, Китай. **А** – бассейны для выращивания личинок тюрбо, **Б** – внешний вид питомника для выращивания молоди тюрбо, **В, Г** – закрытые бассейны для подращивания молоди и для товарного выращивания тюрбо (Ciencia Marina..., электрон. ресурс)

По данным государственных структур Китая в 2010 г. на его территории производилось ежегодно около 55 тыс. т тюрбо (Lei, Liu, 2010), а в 2012 г. по разным оценкам (*достоверность китайских источников считается неоднозначной европейскими экспертами*) общее производство тюрбо (весом максимум по 0.5 кг) в Китае составило 65 тыс. т, более чем в шесть раз превышая европейское, которое к этому времени составляло около 10 тыс. тонн тюрбо (весом 1.5–2.5 кг).

Для повышения эффективности использования площадей и водных ресурсов в Китае некоторые крупные китайские компании начали интенсивно использовать разработанные исходно европейскими инженерами рециркуляционные системы подращивания тюрбо (рис. 5.37, 5.38), в которых плотность посадки рыб может достигать 60 кг/м^3 (Li et al., 2013). Современные питомники и фермы по товарному производству используют разработанные технологии и соответствуют современным требованиям санитарных норм.



Рис. 5.37. Выращивание тюрбо в современных системах рейсвейсов в провинции Далян, Китай. Тюрбо в выростной системе китайской компании, использующей рециркуляционные технологии (UNI-Aqua, разработанной Aqua-Partners ApS).



Рис. 5.38. Кормление тюрбо инертным кормом. Шандун, Янтай (Shandong Yantai, Китай, 2007)

К 2013 г. именно на побережье Шаньдуна сосредоточены более 76% квот на использование сельскохозяйственных земель под марикультурные фермерские хозяйства, и до 67% объема продаж и 86% продукции приходится на выращенных тюрбо. Однако в связи с саморегуляцией производства и потребления тюрбо, его рыночная цена после самой высокой (до фуранового скандала 2006 г. – 60 юаней за кг) упала до 40 юаней, а закупочная до 20 юаней за кг, и таким образом, практически сравнялась со средневропейской ценой.

В настоящее время в КНР существуют как крупные фермы по производству тюрбо, так и небольшие фермерские хозяйства, использующие научно-технические разработки. Примером возможностей развития мелкого и среднего предпринимательства в области аквакультуры в КНР служит пример молодой семьи фермеров Гуо Ци (Guo Qi), получивших инженерное образование. Они начали выращивать тюрбо в 2011, а к 2019 г. уже имели три выростных хозяйства (рис. 5.39) в разных провинциях Liaoning и Hebei. Помимо тюрбо, они занимаются выращиванием трепанга и предоставляют места работы 100 служащим (Xinhua Español, электрон. ресурс).



Рис. 5.39. Фермер Гуо Ци на своих выростных предприятиях по производству тюрбо в Гайджоу (Gaizhou, провинция Liaoning, на северо-восточном побережье Китая), демонстрирует выращенный ею экземпляр тюрбо (фото 22 сентября 2019 г. испанского агентства Синхуа) (Xinhua Español, электрон. ресурс)

Долгий период времени китайские компании либо использовали сырые инертные корма собственной заготовки, либо закупали инертные корма для тюрбо в европейских компаниях, но к 2020 г. уже были сертифицированы качественные китайские специализированные инертные корма, разработанные совместно с европейскими компаниями.

К внешнему виду выращенных тюрбо, например, к их пигментации, на китайском рынке, по-видимому, относятся, в отличие от европейского, безразлично, так как на многочисленных рекламных фотографиях китайской продукции тюрбо, размещённых в сети, можно встретить обилие как неправильно пигментированных, так и имеющих разные отклонения в развитии рыб (неприемлемых для европейского покупателя) (рис. 5.40), что практически не влияет на их продажу на азиатских рынках.

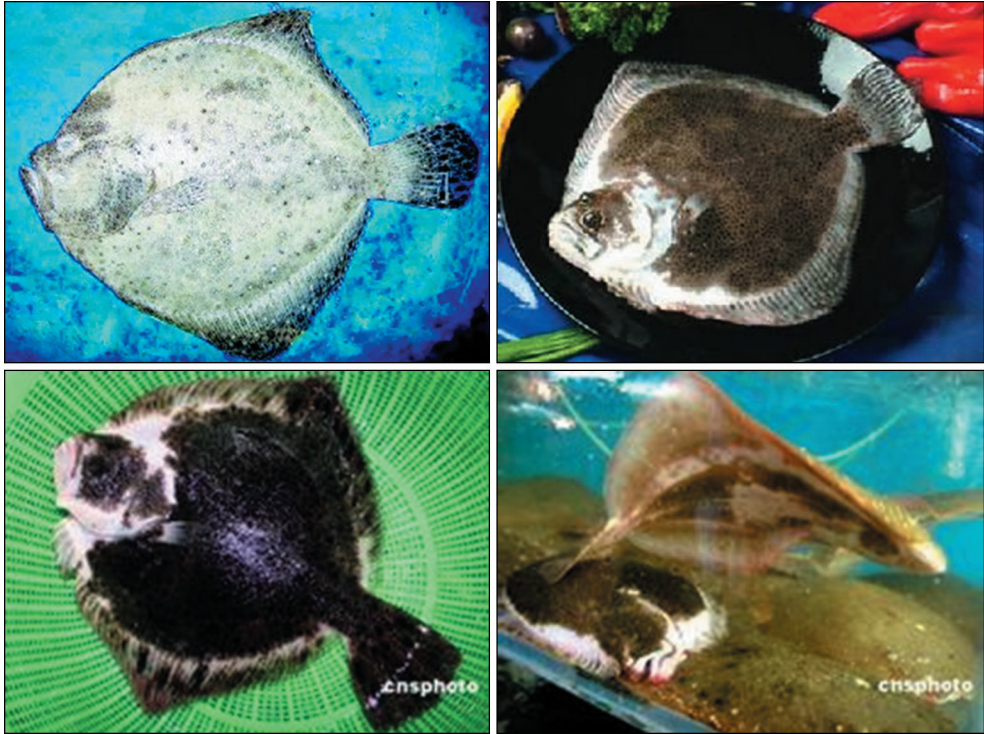


Рис. 5.40. Рекламируемые разными китайскими компаниями лоты выращенного тюрбо, выставленные на продажу в Китае. У всех особей необратимые аномалии пигментации, полученные тюрбо в процессе метаморфоза

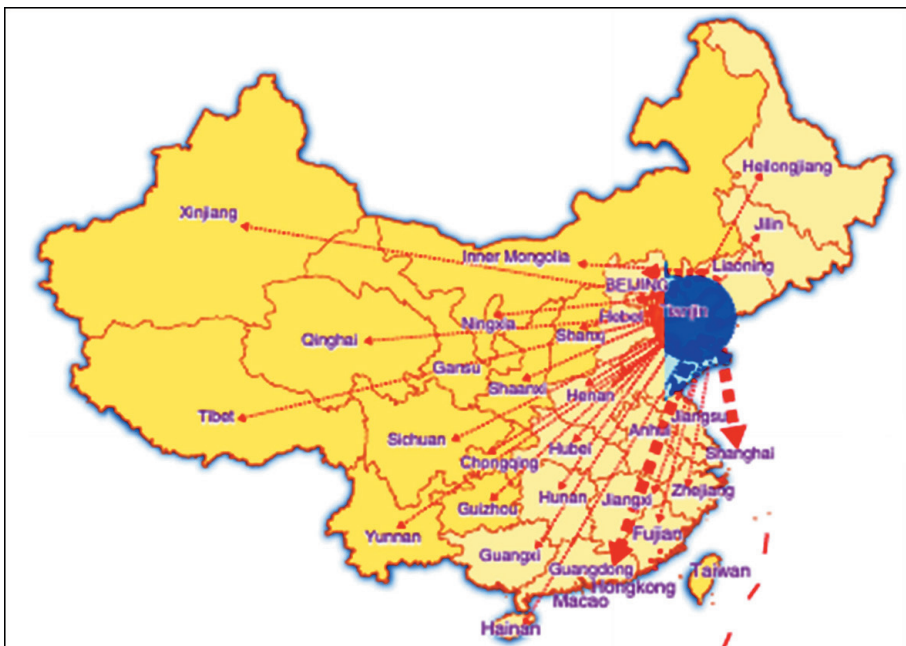


Рис. 5.41. Распределение ферм по выращиванию тюрбо на северном побережье и (показано стрелками) рынки сбыта тюрбо в провинциях КНР.

В настоящее время тюрбо производят на фермах, расположенных на северо-восточном побережье Китая, большая часть из них сосредоточена недалеко от Пекина (Beijing) (рис. 5.41), откуда продукция поступает на разные азиатские рынки КНР и за его пределами.

Таким образом, опыт развития марикультурной промышленности тюрбо как в Европе, так и в Китае, показывает, что тюрбо – очень рентабельный объект для индустриального выращивания. Но для успешного развития эффективной аквакультурной промышленности этого вида в конкретной стране или регионе необходимо сочетание не только биотехнологических и инженерно-технических наработок, но также и экологических, климатических, социальных и экономических факторов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Биологические ресурсы Мирового океана, в первую очередь запасы промысловых рыб, истощены в результате перелова и ухудшающихся условий их естественного воспроизводства. То же самое можно сказать о рыбных ресурсах Чёрного моря. Мировой опыт показывает, что единственной альтернативой морскому рыболовству может быть марикультура. Актуальность развития аквакультурных технологий в мире в целом и в Российской Федерации в частности определена рядом демографических, экономических, социальных, экологических и политических причин.

Нельзя недооценивать вклад науки в переход российской аквакультуры на новый качественный уровень. Реализация современных подходов к проведению исследований требует соответствующей технологической и приборной базы, привлечения высококвалифицированного персонала.

Одним из перспективных объектов морского рыбоводства является черноморская камбала-калкан. Промысловый запас калкана в черноморских водах РФ находится в умеренно депрессивном состоянии, а объём вылова уже давно не удовлетворяет потребности рынка.

Для разработчиков технологии культивирования черноморского калкана важен факт его близкого родства с атлантическим тюрбо – это даёт возможность использовать богатый опыт исследовательской и производственной работы в области культивирования тюрбо в европейских странах и Китае. Целесообразно изучать и использовать зарубежные наработки, как в сфере товарного производства тюрбо, так и в программах пополнения природных популяций выращенной молодью. Однако абсолютное копирование технологии культивирования тюрбо не может быть успешным в связи с наличием определённых физиологических и экологических различий между калканом и тюрбо. К тому же далеко не все технологические приёмы отражены в открытой научной печати, поскольку являются коммерческой тайной.

Наличие отечественных разработок, в том числе созданных в ИнБЮМ, по культивированию черноморского калкана, позволит применить их в пилотных проектах с перспективой развития массового производства молоди калкана, которую можно будет использовать для зарыбления прибрежных акваторий и выращивания товарной рыбы на специализированных фермах.

Важное значение имеют также результаты исследования особенностей биологии калкана в природной среде с целью оценки состояния его популяций (стад) и разработки рекомендаций по рациональной эксплуатации промыслового запаса.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аганесова Л.О. 2011. Репродуктивные характеристики самок копепод *Calanipeda aquaedulcis* и *Arctodiaptomus salinus* при питании микроводорослями разных таксономических групп. *Морской экологический журнал*. 2 (отд. вып.): 7-10.
2. Аганесова Л.О. 2013. Длительность развития копепод *Calanipeda aquaedulcis* и *Arctodiaptomus salinus* при разном температурном режиме культивирования. *Морской экологический журнал*. 12(1): 19-25.
3. Аганесова Л.О. 2014. Продукционные характеристики копепод *Calanipeda aquaedulcis* и *Arctodiaptomus salinus* в условиях искусственного выращивания: автореф. дис... канд. биол. наук. Севастополь. 24 с.
4. Алеев Ю.Г. 1956. О некоторых закономерностях роста рыб. *Вопросы ихтиологии*. 6: 76-95.
5. Алеев Ю.Г. 1963. Функциональные основы внешнего строения рыбы: АН СССР. 247 с.
6. Ануфриева Е. В. 2015. Проблема живых кормов в аквакультуре: перспективные объекты в гиперсоленых водоемах Крыма. *Актуальные проблемы аквакультуры в современный период*: материалы Междунар. науч. конф. С. 9-11.
7. Баяндина Ю.С. 2011. Вариабельность размеров икры и личинок в зависимости от комплекса факторов. *Pontus Euxinus* 2011. Тезисы VII Международной научно-практической конференции. Севастополь, 2011. С. 34.
8. Баяндина Ю.С. 2013. Вариабельность характеристик спермы камбалы калкан в зависимости от фазы нерестового периода. *PontusEuxinus* 2013: VIII междунар. науч. практ. конф. по проблемам водных экосистем. 1-4 октября 2013 г.: тезисы докл. Севастополь, 2013. С. 21-22.
9. Белозёрова В.В., Рауэн Т.В. 2011. Динамика и эффективность выклева артемий разных географических рас в зависимости от температуры. «Понт Эвксинский–2011»: Тез. докл. VII Междунар. научно-практ. конф. мол. ученых (Севастополь, 24–27 мая 2011 г.) – Севастополь, 2011. С. 37-38.
10. Березовская Д.С., Булли Л.И. 2016. Влияние тиреоидных гормонов на развитие и рост личинок черноморского калкана. II Всероссийская молодежная конференция «Рыбохозяйственные исследования на внутренних водоемах». С. 26-29.
11. Битюкова Ю.Е. 1984. Развитие зрительной рецепции у личинок черноморского калкана *Psetta maeotica* (Pallas). Сенсорная физиология рыб. Аппатиты. 1984. С. 110-112.
12. Битюкова Ю.Е. 1986. Морфо-экологические особенности раннего онтогенеза черноморской камбалы калкана *Psetta maeotica* (Pallas) в условиях искусственного выращивания. ИЭМЭЖ. Автореф. канд. дисс.- М., 1986, с 24.
13. Битюкова Ю.Е., Владимирцев В.Б., Ткаченко Н.К. 1989. Развитие и рост камбалы калкан *Psetta maeotica* (Pallas) от вылупления до завершения метаморфоза при искусственном выращивании. Тез. докл. Междунар. симп. по соврем. проблемам марикультуры в соц. странах (Утриш, 25 сент.–5 окт., 1989). М.: ВНИРО. С. 123-124.

14. Битюкова Ю.Е., Владимирцев В.Б., Ханайченко А.Н. и др. 1988. Разработка критериев выбора объектов культивирования и мест размещения марихозяйств. *Разработка биотехнологии культивирования морских рыб*. Закл. отчёт по т. 17. – 1983-1988. – Научный архив ИнБИОМ НАНУ (ИМБИ РАН). – 1988. – Описание №2, ед.хр. № 1358.- 91 л.
15. Битюкова Ю.Е., Терещенко В.А., Ткаченко Н.К., Чепурнов А.В. 1982. Температурные адаптации черноморской камбалы калкана в период эмбрионального развития. V Всесоюзн. Конф. по экологической физиологии и биохимии рыб. Тезисы докл. Киев. Ч.3. С.14-15.
16. Битюкова Ю.Е., Ткаченко Н.К. 1997. Особенности развития и роста личинок черноморской камбалы *Psetta maeutica* (Pallas) в условиях искусственного культивирования. *Итоги и перспективы развития марикультуры в России*. - Ростов-на-Дону. 1997. С. 30-34.
17. Битюкова Ю.Е., Ткаченко Н.К. Влияние солёности на эмбриональное развитие черноморской камбалы калкана *Psetta maeutica* (Pallas). *Экология моря*. 1998. 47: 25 -29.
18. Битюкова Ю.Е., Ткаченко Н.К., Владимирцев В.Б., Ханайченко А.Н., Пустоварова Н.И. 1992. Способ искусственного получения молоди черноморской камбалы калкана. Патент N 2017413 Россия RU C15 АО1К/ 1/00. N 5054176/13, Заявл. 20.04.92, опубл.15.08.94.Бюл. N 15, Приоритет 20.04.92.1992. - 10 с.
19. Битюкова Ю.Е., Ткаченко Н.К., Чепурнов А.В. 1978. К вопросу о морфо-физиологических показателях перевода личинок камбалы Чёрного моря на внешнее питание при искусственном разведении. Тез докл. II Всесоюз. конф. по биологии шельфа. Ч. 1. Киев. С. 22-23.
20. Битюкова Ю.Е., Ткаченко Н.К., Чепурнов А.В. 1984. Термочувствительность калкана *Psetta maeutica* (Pallas) (Scophthalmidae) в период эмбрионального развития при искусственном выращивании. *Вопросы ихтиологии*. 24(2): 459-464.
21. Битюкова Ю.Е., Ткаченко Н.К., Чепурнов А.В. 1986. Аномальные эмбрионы черноморской камбалы калкана *Psetta maeutica* (Pallas). *Гидробиологический журнал*. 22(1): 81.
22. Вдодович И.В., Ханайченко А.Н., Губанова А.Д. и др. 2017. Определение некоторых массовых пищевых объектов в кишечниках личинок и молоди рыб. *Морской биологический журнал*. 2(1): 3-10.
23. Водяницкий В.А. 1936. Наблюдения над пелагическими яйцами рыб Черного моря. *Труды Севастопольской биологической станции*. 5:3-44.
24. Гирагосов В.Е. 2020. Формирование и реализация плодовитости у черноморского калкана *Scophthalmus maeuticus* (Scophthalmidae) на юго-западном шельфе Крымского полуострова. *Вопросы ихтиологии*. 60(4): 442–451. DOI: 10.31857/S0042875220040062.
25. Гордина А.Д. 1990. О нересте камбалы-калкана - *Psetta maeutica* (Pallas) (Scophthalmidae, Pisces) в Черном море в мае-июне 1987 г. *Экология моря*. 1990. 35: 40-43.
26. Гордина А.Д. 1999. Многолетние колебания численности икринок камбалы калкана *Psetta maeutica* (Scophthalmidae) в районе Севастополя. *Вопросы ихтиологии*. 39(6): 850-853.

27. Гордина А.Д., Морочковский В.А. 1994 Численность и распределение икринок камбалы калкана *Psetta maeotica* (Scophthalmidae, Pisces) в районе Севастополя. *Гидробиологический журнал*. 30(1): 99-108.
28. Дехник Т.В. 1973. Ихтиопланктон Черного моря. Киев : Наукова Думка, 235 с.
29. Дехник Т.В., Павловская Р.М. 1950. Распределение икры и личинок некоторых рыб Черного моря. *Тр. АзчерНИРО*. 14: 151-176.
30. Драпун И.Е., Ханайченко А.Н. 2018. Морфология науплиальных стадий и продолжительность науплиального периода черноморского вселенца *Oithona davisae* Ferrarì and Orsi, 1984 (Copepoda: Oithonidae) в условиях лабораторной культуры. *Российский журнал биологических инвазий*. 11(4): 17-30.
31. Ельников Д.В., Ткаченко Н.К., Битюкова Ю.Е. 2005. Содержание мальков камбалы-калкан (*Psetta maeotica*) в условиях различной солености // «Проблемы и решения в современном рыбном хозяйстве на Азовском бассейне»: Материалы Юбилейной научно-практической конференции, посвященной 30-летию Юбилею основания в г. Бердянске рыбохозяйственной науки. Мариуполь : Рената, 2005. С. 63-64.
32. Ельников Д.В., Шишкина Т.В. 2007. Избирательность гаммарид молодью черноморской камбалы калкан. «Понт Эвксинский-V». Тезисы V Международн. научно-практ. конф. молодых ученых по проблемам водных экосистем. (24 - 27 сент. 2007 г., Севастополь). С. 33-34.
33. Зайцева Ю.В. 2012. Молекулярно-генетические особенности Quorum Sensing систем грамотрицательных бактерий (на модели *Serratia*) и изучение их роли в регуляции клеточных процессов: автореф. дис. канд. биол. наук / Ю. В. Зайцева; ФГБУН Институт молекулярной генетики РАН - Москва, 24 с.
34. Зернов С.А. 1913. К вопросу об изучении жизни Чёрного моря. *Записки Императорской АН, серия VIII, физико-математический отдел*, 32(1): 299 с.
35. Иванов В.Н. 1969. Хромосомы черноморской камбалы *Rhombus maeoticus* Pallas. *Доклады Академии наук*. 187(6): 1397-1401.
36. Иванов В.Н. 1975. Вопросы цитогенетики камбалы-калкана в связи с возможностями ее искусственного разведения. *Биологические основы морской аквакультуры*. 1: 51-54.
37. Иванов В.Н. 1975. Получение икры камбалы-калкана для инкубации в лабораторных условиях. Опыт массовой инкубации экспериментального материала. *Биологические основы морской аквакультуры*. 1: 21-24.
38. Климова Т.Н. 1993. Особенности вертикального распределения икринок камбалы-какана *Psetta maeotica* (Pallas) (Scophthalmidae: Pisces) в Черном море. Деп. В ВИНТИ 20.05.93 №1346-B93. 15 с.
39. Климова Т.Н. 1998. Динамика видового состава и численности ихтиопланктона Черного моря в районе Крыма в летний период 1988-1992 годов. *Вопросы ихтиологии*. 38(5): 669-675.
40. Климова Т.Н., Игнатъев С.М., Вдодович И.В., Губанов В.В. 2016. Состояние ихтио- и макропланктонного комплексов на шельфе Крымского полуострова в апреле 2016 г. *Международная научно-техническая конференции «Системы контроля окружающей среды – 2016»* 24-27 окт. 2016 г. – Севастополь: ИПТС, 2016. С. 159.

41. Косякина Е.Г. 1938. Пелагическая икра рыб в районе Новороссийска. *Труды Новороссийской биологической станции*. 2(2): 7–29.
42. Макеева А.П. 1992. Эмбриология рыб. М. : Изд- во МГУ. 246 с.
43. Марти Ю.Ю. 1939. Материалы к биологии черноморской камбалы-калкана (*Rhombus maeoticus* Pallas). *Сборник, посвященный научной деятельности Н.М. Книповича (1885-1939)*. М.: Изд-во АН СССР. С. 232-254.
44. Маслова Г.Т., Сидоров А.В. 2008. Биология развития: ранние стадии: курс лекций. Минск: БГУ, 95 с. <https://studfiles.net/preview/1726534/>
45. Маслова О. Н. 2013. Разведение и товарное выращивание черноморской камбалы-калкана *Scophthalmus maeoticus*: проблемы и методы. *Труды ВНИРО*, 150: 35-49.
46. Маслова О.Н., Разумеев Ю.В. 2005. Разведение черноморского калкана: достижения и проблемы. *Рыбное хозяйство*. 5: 64-66.
47. Махотин, В.В. 2016. Эмбриональное и раннее личиночное развитие беломорской трески *Gadus morhua marisalbi* (Gadidae). *Вопросы ихтиологии*. 56(2): 177-199.
48. Михман А.С., Брязгунова М.И. 1978 Питание личинок калкана *Scophthalmus maeoticus* и *Platichthys flecsus luscus* в Таганрогском заливе. *Вопросы ихтиологии*. 18(5/112): 961-963.
49. Мургази Ф.Ф. 1950. Дифференциация и характер витального окрашивания перидермы выюна в процессе развития. *Доклады Академии наук СССР*. 70(1): 157-160.
50. Надолинский В.П., Шляхов В.А., Александрова У.Н. 2018. Камбалы Азово-Черноморского бассейна (Bothidae, Scophthalmidae, Pleuronectidae, Soleidae). *Вопросы рыболовства*. 19(4): 424-444.
51. Новоселова Н.В. 1996. Массовое культивирование некоторых видов веслоногих ракообразных – объектов питания личинок морских рыб. *Состояние и перспективы научно-практических разработок в области марикультуры России* : Материалы совещ. – М.: ВНИРО, 1996. С. 211-216.
52. Новоселова Н.В., Туркулова В.Н. 2012. Влияние некоторых экологических факторов среды на рост и выживаемость молоди черноморского калкана (*Psetta maeotica maeotica*, Pallas) при выращивании в искусственных условиях. *Материалы VII международной конференции «Современные рыбохозяйственные и экологические проблемы азово-черноморского региона» Т. 2. г. Керчь, 20-23 июня 2012 г.* Керчь. С. 30-36.
53. Павлов Д.А., Емельянова Н.Г. 2008. Морфологические критерии качества икры морских рыб: активация и дробление яиц *Zebrasoma scopas* (Acanthuridae). *Вопросы ихтиологии*. 4(4): 537-552.
54. Попова В.П. 1954. Распределение камбалы в Черном море. *Тр. ВНИРО*. 28: 151-159.
55. Попова В.П. 1958. Питание камбалы калкан в Черном море. *Тр. АзчерНИРО*. 17: 141-151.
56. Попова В.П. 1972. Особенности биологии размножения черноморской камбалы-калкана *Scophthalmus maeoticus* Pallas. *Вопросы ихтиологии*. 6: 1057-1063.
57. Попова В.П., Романенко В.Ф. 1975. Методика получения, инкубации икры и подращивания личинок камбалы калкана в экспериментальных условиях. *Биологические основы морской аквакультуры*. 1: 5-12.

58. Рауэн Т.В., Белозёрова В.В. 2011. Динамика и эффективность выклева артемий разных географических рас в зависимости от температуры. *Pontus Euxinus 2011 по проблемам водных экосистем, посвящ. 140-летию Института биологии южных морей НАН Украины: тезисы 7 ой междунар. науч.-практ. конф. молодых ученых* (Севастополь, 24–27 мая 2011 г.). Севастополь, 2011. С. 37.
59. Рыбы в китайской живописи. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://www.liveinternet.ru/users/kroshka_50369/post136748352/ Дата обращения: 25.11.2021.
60. Смирнов Д.Ю., Аганесова Л.О., Ханайченко А.Н. 2019. Влияние микроводорослей как кормовых объектов на размерные характеристики и выживаемость науплиусов крымских артемий *Artemia* spp. (Branchiopoda: Anostraca). *Морской биологический журнал*. 4(1): 91-99.
61. Терещенко В.А., Битюкова Ю.Е., Ткаченко Н.К. 1992. Движения зародышей камбалы калкана *Psetta taeotica* и изменения механических свойств оболочки икры в период эмбриогенеза. *Вопросы ихтиологии*. 32(6): 175-178.
62. Туркулова В.Н., Булли Л.И., Новоселова Н.В. и др. 2013. Динамика роста и выживаемости молоди черноморского калкана (*Psetta taeotica taeotica* Pallas) при годичном цикле выращивания в условиях бассейнового хозяйства научно-исследовательской базы ЮгНИРО «Заветное». *Современные рыбохозяйственные и экологические проблемы Азово-Черноморского региона: материалы VIII международной конференции*. Керчь, 26-27 июня 2013 г. Керчь: ЮгНИРО, 2013. С. 120-128.
63. Туркулова В.Н., Новоселова Н.В. 2012. Эколого-физиологические особенности стимуляции созревания производителей черноморского калкана (*Psetta taeotica taeotica* Pallas) в условиях искусственного воспроизводства. *Материалы VII междунар. конф. «Современные рыбохозяйственные и экологические проблемы Азово-Черноморского региона»*. Т. 2, Керчь, 0–23 июня 2012 г., Керчь. С. 22-29.
64. Ханайченко А.Н. 1988. Питание и продуцирование коловраток в экспериментальных популяциях при комбинированном воздействии температуры и трофических условий (на примере *Brachionus plicatilis* Muller, 1786): автореф. дис. канд. биол. наук. Минск ; Севастополь, 24 с.
65. Ханайченко А.Н., Битюкова Ю.Е. 2007. Особенности формирования хроматофорного комплекса камбалы калкан, *Psetta maxima* var. *taeotica*, в онтогенезе в зависимости от пищевой цепи. *Морской экологический журнал*. 6(3): 17-33.
66. Ханайченко А.Н., Битюкова Ю.Е. 2007. Особенности формирования хроматофорного комплекса камбалы калкан, *Psetta maxima* var. *taeotica*, в онтогенезе в зависимости от пищевой цепи. *Морской экологический журнал*. 6(3): 17-33.
67. Ханайченко А.Н. 1989. Массовое культивирование копепод в полупроточных системах. Вклад молодых ученых в решение совр. проблем океанологии и гидробиологии. Всесоюз. науч.-техн. конф. Севастополь, С. 66-67.
68. Ханайченко А.Н. 1996. Критерии выбора живых кормов в аквакультуре. *Материалы конф. «Состояние и перспективы исследований и развития Российской аквакультуры»* Ростов-на-Дону. С. 325-331.
69. Ханайченко А.Н. 2004. ПАТЕНТ на винахід № 79254 «Способ культивування каланоїдних копепод *Calanus euxinus* (чорноморського калянуса). № заявки

20040705266. Дата подання заявки: 01.07.2004. Дата публікації відомостей про видачу патенту та номер бюлетеня: 11.06.2007, Бюл. № 8. 8 с.
70. Ханайченко А.Н. 2017. Пат. 2614644 РФ. МПК А01К 61/00 Способ интенсивного когортного культивирования акарций (морских каланоидных копепод). / Ханайченко А.Н.; заявитель и патентообладатель ФГБУН «ИМБИ имени А.О. Ковалевского РАН» -№ 2015147611; заявл. 05.11.2015; опубл. 28.03.2017, Бюл. №1010.
 71. Ханайченко А.Н. 2018. Пат. 2670159 РФ. МПК А01К 61/00. Способ длительного хранения яиц каланоидных копепод акарций для получения синхронной культуры одновозрастных науплиев / Ханайченко А.Н. (RU); заявитель и патентообладатель ФГБУН «ИМБИ имени А.О. Ковалевского РАН» -№ 2017142059; заявл. 01.12.2017; опубл. 18.10.2018 Бюл. № 29.
 72. Ханайченко А.Н., Битюкова Ю.Е. 1999. Избирательность личинок камбалы калкан и выбор стратегии их кормления. *Экология моря*. 48: 63-67.
 73. Ханайченко А.Н., Битюкова Ю.Е. 1999. Искусственное разведение камбаловых: история вопроса и перспективы их выращивания на Черном море. *Рыбное хозяйство Украины*. 4(7): 15-17.
 74. Ханайченко А.Н., Битюкова Ю.Е. Найданова О.Г. и др. 2000. Мониторинг микрофлоры в системе выращивания личиночных стадий камбалы калкана *Psetta taeotica* Pallas. *Экология моря*. 53: 82-87.
 75. Ханайченко А.Н., Гирагосов В.Е. 2019. Морфологические особенности черноморского калкана (*Scophthalmus taeoticus*) в период эмбрионального развития. *Морской биологический журнал*. 4(4): 62–81. DOI: 10.21072/mbj.2019.04.4.06.
 76. Ханайченко А.Н., Гирагосов В.Е., Баяндина Ю.С., Ельников Д.В. 2009. Выживаемость и вариабельность аномалий икры черноморского калкана *Psetta maxima taeotica* из нерестового стада юго-западного шельфа Крыма. *Тези II Міжнародної іхтіологічної науково-практичної конференції* (Севастополь, 16-19 вересня 2009 р.). – Севастополь, 2009. – С. 156-159.
 77. Ханайченко А.Н., Гирагосов В.Е., Ельников Д.В., Данилюк О.Н. 2008. Аномалии пигментации черноморской камбалы калкана *Psetta maxima taeotica* (Pleuronectiformes: Scophthalmidae). *Морской экологический журнал*. 7(2): 87-95.
 78. Ханайченко А.Н., Гирагосов В.Е., Рауэн Т.В., Ельников Д.В. 2010. Способ интенсивного выращивания мальков камбалы калкан. Пат. 95428 С2 UA, МПК А01К 61/00 Спосіб інтенсивного вирощування мальків камбали калкан / Ханайченко А.М. (UA), Гірагосов В.Є. (UA), Єльников Д.В. (UA), Рауен Т.В. (UA); заявник Інститут біології південних морів ім. О.О.Ковалевського НАН України (UA). – № а201013904; заявл. 22.10.2010; опубл. 25.07.2011 Бюл. № 14.
 79. Ханайченко А.Н., Ковтун О.А. 2009. Первые находки гипомеланизированной камбалы калкан в Черном море. *Морской экологический журнал*. 8(3): 84.
 80. Ханайченко А.Н., Планас М.И., Карнеро Д. Г. 2000. Рост, выживаемость и химический состав личинок тюрбо (*Scophthalmus maximus* L.) при интенсивном выращивании в «чистой» и «зеленой» воде. *Экология моря*. 50: 78-82.
 81. Ханайченко А.Н., Поспелова Н.А., Аганесова Л.О., Рауэн Т.В. 2014. Каротиноидный состав каляноидных копепод *Calanipeda aquaedulcis* и *Arctodiaptomus salinus* при питании *Dunaliella salina*. *Морской экологический журнал*. 13(1): 82–87.

82. Ханайченко А.Н., Светличный Л.С., Гирагосов В.Е., Губарева Е.С. 2017. Дыхание икры черноморского калкана (*Scophthalmus maximus* var. *maeoticus*) как показатель нормы её развития. *Журнал Сибирского федерального университета. Серия «Биология»*. 10(1): 9-19. DOI: 10.17516/1997-1389-0004.
83. Челеби Э. 1996. Книга путешествий. Походы с татарами и путешествия по Крыму (1641–1667 гг.). Симферополь: Таврия. - 240 с.
84. Чепурнов А.В. 1989. Культивирование рыб Черного моря в замкнутых системах. АН УССР, Ин-т биологии юж. морей им. А. О. Ковалевского. Киев : Наукова думка. 104 с.
85. Чепурнов А.В., Битюкова Ю.Е., Ткаченко Н.К. 1986. Пищевое поведение личинок камбалы калкана *Psetta maeotica* (Pallas) на этапе смешанного питания и плотность кормовых организмов при культивировании. *Биология моря*. 24: 38-87.
86. Чепурнов А.В., Битюкова Ю.Е., Ткаченко Н.К., Беляев Б.Н. 1981. Способ искусственного разведения черноморской камбалы-калкана. А.С. № 847961 МКИ А 01 К 61/00. Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского (СССР). №2836435/28-13; Заявл. 25.10.79; Оpubл. 23.01.81. Бюл.№12.
87. Чепурнов А.В., Ткаченко Н.К., Денисова Л.И. 1975. К вопросу о морфофизиологической изменчивости камбалы-калкана Черного моря на ранних этапах онтогенеза в связи с проблемой искусственного разведения. *Биологические основы морской аквакультуры*. 1: 12-21.
88. Шишкина Т.В., Ельников Д.В. 2007. *Подбор оптимального штамма артемий для кормления личинок камбалы калкан. «Понт Эвксинский – V».* Тезисы V Международн. научно- практ. конф. молодых ученых по проблемам водных экосистем. (24-27 сент. 2007 г., Севастополь). Севастополь. С. 118-119.
89. Шишкина Т.В., Ельников Д.В., Ханайченко А.Н., Гирагосов В.Е., Ковиршина Т.Б., Белоиваненко Т.Г. 2007. Методы подготовки молоди камбалы калкан к выпуску в прибрежные акватории Черного моря. *Рибне господарство України*. 1/2(48/ 49): 2-7.
90. Aarnio K., Bonsdorff E., Rosenback N. 1996. Food and feeding habits of juvenile flounder *Platichthys flesus* (L.), and turbot *Scophthalmus maximus* (L.) in the Aaland archipelago, northern Baltic Sea. *Journal of Sea Research*. 36: 311-320.
91. Abate T.G., Nielsen R., Nielsen M., Jepsen P.M., & Hansen B.W. 2016. A cost-effectiveness analysis of live feeds in juvenile turbot *Scophthalmus maximus* (Linnaeus, 1758) farming: copepods versus Artemia. *Aquaculture Nutrition*. 22(4): 899-910.
92. Abatzopoulos T.J., Amat F., Baxevanis A.D., Belmonte et al. 2009. Updating geographic distribution of *Artemia urmiana* Günther, 1890 (Branchiopoda: Anostraca) in Europe: an integrated and interdisciplinary approach. *International Review of Hydrobiology*, 94(5): 560-579.
93. Aijun M., Chao C., Qilin L. et al. 2005. The effect of protein and n-3HUFA on the reproduction of turbot (*Scophthalmus maximus*). *Marine Fisheries Research*, 26(1), 7-12.
94. Akayli T., Erkan M., Çanak Ö., Ürkü Ç. 2017. Formation of pinocytic activity in cultured common dentex (*Dentex dentex*) larvae intestine. *The Israeli Journal Aquaculture - Bamidgeh*, IJA_69. 1377, 7 p.
95. Alderson R., Bromley P. J. 1973. A method for rearing larvae of the turbot, *Scophthalmus maximus* L., to metamorphosis. *ICES CM*. 20(7): 11 p.

96. Al-Maghazachi S., Gibson S. 1984. The developmental stages of larval turbot, *Scophthalmus maximus* (L.). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 82: 35-51.
97. Andersen R.A. 2005. *Algae Culturing Technique*. New York, Elsevier Academic Press. 578 p.
98. Anthony R.L. F. 1910. The cultivation of the turbot: From Bulletin of the Bureau of fisheries, vol. 28, 1908. *Proceedings of the Fourth International Fishery Congress*, Washington, 1908 / U.S. Govt. Printing Office, Bureau of Fisheries document. (Iss. 686). P. 859-871.
99. APROMAR, 2014. La acuicultura en Espana 2014. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.apromar.es/content/publicado-el-informe-la-acuicultura-en-espa%C3%B1a-2014>. Дата обращения: 14.11.2021.
100. APROMAR, 2017. La acuicultura en Espana 2017. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: http://www.apromar.es/sites/default/files/2017/informe/APROMAR_Informe_ACUICULTURA_2017.pdf. Дата обращения: 15.11.2021.
101. APROMAR, 2018. La acuicultura en Espana 2018. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.apromar.es/content/la-acuicultura-en-espa%C3%B1a-2018>. Дата обращения: 15.11.2021.
102. APROMAR, 2019. La acuicultura en Espana 2019. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: http://www.apromar.es/sites/default/files/2018/APROMAR_Informe_ACUICULTURA_2018.pdf. Дата обращения: 16.11.2021.
103. APROMAR, 2020. La acuicultura en España 2020. Cádiz: Informe realizado por la Asociacion Empresarial de Acuicultura de Espana., 95 p.
104. Avise, J.C. 2000. Phylogeography: the history and formation of species. *Harvard university press*. Cambridge, Massachusetts. 477 p.
105. Aydin, I., Sahin, T., Kolotoglu, L., & Özongun, M. 2011. The effect of sexual dimorphism on growth of the Black Sea turbot, *Psetta maxima*. *Journal of Fisheries Sciences*. 5(1): 47-51.
106. Azam P., Sveier H. Weigel C. Wathne E. 1993. Development of a grower feed for turbot (*Scophthalmus maximus*) from R&D to commercial enterprises. *From discovery to commercialization*. Abstracts of contributions presented at the International Conference World aquaculture '93. Torremolinos, Spain, May 26-28, p. 310.
107. Baer A, Schulz C, Traulsen I, Krieter J. 2011. Analysing the growth of turbot (*Psetta maxima*) in a commercial recirculation system with the use of three different growth models. *Aquaculture International*. 19(3): 497-511.
108. Bailly N., & Chanet B. 2010. *Scophthalmus* Rafinesque, 1810: The valid generic name for the turbot (*S. maximus*) (Linnaeus, 1758) Pleuronectiformes: Scophthalmidae. *Cybiurn*, 34(3): 257-261.
109. Ballard W.W. 1982. Morphogenetic movements and fate map of the cypriniform teleost, *Catostomus commersoni* (Lacepede). *Journal of Experimental Zoology*. 219(3): 301–321.
110. Barrington J., 2012. Personal interview. *Fish Farmers, special edition*, pp. 24-25.
111. Baynes S.M., Emerson L., Scott A.P. 1979. Production of algae for use in the rearing of larval fish. *Fisheries Research Technical Report*. 53. 13-18.

112. Bell J.G., McEvoy L.A., Estevez A. et al. 2003. Optimising lipid nutrition in first-feeding flatfish larvae. *Aquaculture*. 227(1). 211-220.
113. Bell M.V., Henderson R.J., Pirie B.J.S., Sargent J.R. 1985. Effects of dietary polyunsaturated fatty acid deficiencies on mortality, growth and gill structure in the turbot, *Scophthalmus maximus*. *Journal of Fish Biology*. 26(2): 181-191.
114. Berg L., Baarøy V., Danielssen D.S. et al. 1985. Production of juvenile flatfish species in different sized mesocosms. *ICES Comm. Meet.* F:65.
115. Beveridge M.C., Little D.C. 2002. The history of aquaculture in traditional societies. *Ecological aquaculture. The evolution of the Blue Revolution*. 3-29.
116. Bian X., Zhang X., Gao T. et al. 2010. Morphology of unfertilized mature and fertilized developing marine pelagic eggs in four types of multiple spawning flounders. *Ichthyological Research*. 57(4): 343-357.
117. Bischoff A.A., Lutz M., Buck B.H. 2018. Juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L., 1758) farmed in a modern low-water exchange RAS device: Growth performance using different diets and its commercial implications. *Journal of Applied Aquaculture*. 30(1): 15-28.
118. Bityukova Y.E., Tkachenko N.K., Khanaychenko A.N., Vladimirtsev V.B. 1990. Rearing of viable juveniles of the Black Sea turbot in experimental conditions. *Hydrore* (Trieste, Italy) – Sevastopol Marine Research. 7(8): 78-81.
119. Bityukova Yu.E., Tkachenko N.K., Stolbov A.Ya., Khanaychenko A.N. 2001. Growth and oxygen metabolism of the Black Sea Kalkan, *Psetta maeotica* (Pallas), during experimental ongrowing. *Proceedings of Aquaculture Europe 2001 Conference*. 4-7 August 2001. p. 223-224.
120. Bjørndal T., Øiestad V. 2010. The development of a new farmed species – Production technology and markets for turbot. *SNF Working Paper No. 51/10*. Norway: Institute for Research in Economics and Business Administration. 38 p.
121. Black Sea turbot *Scophthalmus maeoticus* (Pallas, 1814) [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.fishbase.se/summary/Scophthalmus-maeoticus.html>. Дата обращения: 05.12.2021.
122. Blanquet I., Oliva-Teles A. 2010. Effect of feed restriction on the growth performance of turbot (*Scophthalmus maximus* L.) juveniles under commercial rearing conditions. *Aquaculture Research*. 41(8): 1255-1260.
123. Blaxter J.H.S. 1986. Development of sense organs and behaviour of teleost larvae with special reference to feeding and predator avoidance. *Trans. Am. Fish. Soc.* 115: 98-114.
124. Blaxter J.H.S. 1988. Pattern and variety in development. In “*Fish Physiology*” (W.S. Hoar and D.J. Randall, eds). Academic Press, London, pp. I-58.
125. Bolker J.A., Hill C.R. 2000. Pigmentation development in hatchery-reared flatfishes. *Journal of Fish Biology*. 56(5): 1029-1052.
126. Bossier P., Xiaomei W., Catania F. et al. 2004. An RFLP database for authentication of commercial cyst samples of the brine shrimp *Artemia* spp. (International Study on *Artemia* LXX). *Aquaculture*, 231(1-4): 93-112.
127. Bouza C., Vandamme S., Hermida M. et al. 2014. AquaTrace species leaflet Turbot (*Scophthalmus maximus*). *Knowledge Review, FP7 project AquaTrace/WP2*.

128. Briñón J.G, Medina M, Arévalo R. et al. 1993. Volumetric analysis of the telencephalon and tectum during metamorphosis in a flatfish, the turbot *Scophthalmus maximus*. *Brain, Behavior and Evolution*. 41(1): 1-5.
129. Bromley P.J. 1980. Effect of dietary protein, lipid and energy content on the growth of turbot (*Scophthalmus maximus* L.). *Aquaculture*. 19(4): 359-369.
130. Bromley P.J., Howell B.R. 1983. Factors influencing the survival and growth of turbot larvae, *Scophthalmus maximus* L., during the change from live to compound feeds. *Aquaculture*, 31(1): 31-40.
131. Bromley P.J., Sykes P.A. 1985. Weaning diets for turbot (*Scophthalmus maximus* L.), sole (*Solea solea* L.) and cod (*Gadus morhua* L.). *Nutrition and feeding in fish*. Academic Press, London, pp. 191-211.
132. Bruno E, Højgaard J.K., Hansen B.W. et al. 2018. Influence of swimming behavior of copepod nauplii on feeding of larval turbot (*Scophthalmus maximus*). *Aquaculture International*. 26(1): 225-36.
133. Caceres-Martinez C., Cadena-Roa M., Metailler R. 1984. Nutritional requirements of turbot (*Scophthalmus maximus*): I. A preliminary study of protein and lipid utilization. *Journal of the World Mariculture Society*. 15(1-4): 191-202.
134. Cahu C.L, Zambonino Infante J.L, Péres A. et al. 1998. Algal addition in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae rearing: effect on digestive enzymes. *Aquaculture*. 161(1-4): 479-489.
135. Cameron P., Berg, J., Dethlefsen V., Von Westernhagen H. 1992. Developmental defects in pelagic embryos of several flatfish species in the southern North Sea. *Netherlands Journal of Sea Research*. 29(1-3): 239-256.
136. Carvalho L., Heisenberg C.-P. 2010. The yolk syncytial layer in early zebrafish development. *Trends in Cell Biology*. 20(10): 586-592. doi:10.1016/j.tcb.2010.06.009.
137. Castell J.D., Bell J.G., Tocher D.R., Sargent J.R. 1994. Effects of purified diets containing different combinations of arachidonic and docosahexaenoic acid on survival, growth and fatty acid composition of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*). *Aquaculture*. 128(3-4): 315-333.
138. Champalbert G., Le Direach-Boursier, L. (1998). Influence of light and feeding conditions on swimming activity rhythms of larval and juvenile turbot: *Scophthalmus maximus* L.: An experimental study. *Journal of Sea Research*. 40(3): 333-345.
139. Chanet B. 2003. Interrelationships of scophthalmid fishes (Pleuronectiformes: Scophthalmidae). *Cybium*, 27(4): 275-286.
140. Chereguini O., García De La Banda I., Rasines I., Fernandez A. 1999. Artificial fertilization in turbot *Scophthalmus maximus* (L.): different methods and determination of the optimal sperm-egg ratio. *Aquaculture Research*. 30(5): 319-324.
141. Cho S.H., Lee S.M., Lee S.M., Lee J.H. 2005. Effect of dietary protein and lipid levels on growth and body composition of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.) reared under optimum salinity and temperature conditions. *Aquaculture Nutrition*. 11(4): 235-240.
142. Cid P., Doldán M.J., Rodríguez M.S. et al. 2013. Analysis of the morphogenesis and cell proliferation in the retina of a pleuronectiform fish, the turbot *Psetta maxima* (Pleuronectiformes: Teleostei). *Microscopy Research and Technique*. 76(6): 588-597.

143. Ciencia Marina y otros asuntos. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://www.madrimasd.org/blogs/ciencia_marina/2007/07/19/70273. Дата обращения: 3.12.2021.
144. Çiftci Y., Ustündağ C., Erteken A. et al. 2002. Manual for the seed production of turbot, *Psetta maxima*, in the Black Sea. Publ. No. 2. Trabzon, 80 p.
145. Cole H.A. 1981. “Peter Richard Walne”. *ICES J. Mar. Sci.* 39(3): 209-210.
146. Colman J.A. 1971. Abnormal pigmentation in the sand flounder (note). *N.Z. J. Marine and Freshwater Research.* 6 (1-2): 208-213.
147. Conway D.V.P., Tranter P.R.G.; Coombs S.H. 1993. Digestion of natural food by larval and post-larval turbot *Scophthalmus maximus*. *MAR.-ECOL.-PROG.-SER.* 100(3): 221-231.
148. Cousin J.C.B., Balouet G., Baudin-Laurencin F. 1986. Altérations histologiques observées chez des larves de turbot (*Scophthalmus maximus* L.) en élevage intensif. *Aquaculture.* 52(3): 173-189.
149. Cousin J.C.B., Baudin-Laurencin F. 1985. Morphogenèse de l'appareil digestif et de la vessie gazeuse du turbot, *Scophthalmus maximus* L. Morphogenesis of the digestive system and swim bladder of the turbot, *Scophthalmus maximus* L. *Aquaculture.* 47(4): 305-319.
150. Cousin J.C.B., Baudin-Laurencin F., Gabaudan J. 1987. Ontogeny of enzymatic activities in fed and fasting turbot, *Scophthalmus maximus* L. *Journal of Fish Biology.* 30(1): 15-33.
151. Coutteau, P., & Mourente, G. 1997. Lipid classes and their content of n-3 highly unsaturated fatty acids (HUFA) in *Artemia franciscana* after hatching, HUFA-enrichment and subsequent starvation. *Marine Biology.* 130(1): 81-91.
152. Cunha I., Conceição, L. E., Planas, M. 2007. Energy allocation and metabolic scope in early turbot, *Scophthalmus maximus*, larvae. *Marine Biology.* 151(4): 1397-1405.
153. Cunha I., Galante-Oliveira S., Rocha E. et al. 2013. Dynamics of PPARs, fatty acid metabolism genes and lipid classes in eggs and early larvae of a teleost. *Comparative Biochemistry and Physiology. Part B: Biochemistry and Molecular Biology.* 164(4): 247-258.
154. Cunha I., Galante-Oliveira S., Rocha E. et al. 2015. Expression of intercellular lipid transport and cholesterol metabolism genes in eggs and early larvae stages of turbot, *Scophthalmus maximus*, a marine aquaculture species. *Marine Biology.* 162(8): 1673-1683.
155. Cunha I., Planas M. 1995. Ingestion rates of turbot larvae (*Scophthalmus maximus*) using different-sized live prey. Mass-rearing of juvenile fish. Selected-papers from a symposium held in Bergen, 21-23-JUNE 1993. (Pittman, -K.; Batty, -R.S.; Verreth, J. eds.), Vol. 201, pp. 16-20.
156. Cunha I., Planas M. 1999. Optimal prey size for early turbot larvae (*Scophthalmus maximus* L.) based on mouth and ingested prey size. *Aquaculture.* 175(1): 103-110.
157. Cunha I.C. 1996. Comportamiento trófico y Fisiología energética de las larvas de rodaballo (*Scophthalmus maximus* L.) en condiciones de cultivo. *Tesis Doctoral, Universidad de Santiago de Compostela.* 283 p.

158. Danancher D., García-Vázquez E. 2007. Genetic effects of domestication, culture and breeding of fish and shellfish, and their impacts on wild populations. Turbot – *Scophthalmus maximus*. P. 55-61, In: Svåsand, T., Crosetti, D., García-Vázquez, E., Verspoor, E., (eds). *Genetic impact of aquaculture activities on native populations. Genimpact final scientific report* (EU contract n. RICA-CT-2005-022802).
159. Danielssen D.S., Haugen A.S., Øiestad V. 1990. Survival and growth of turbot (*Scophthalmus maximus* L.) in a land-situation mesocosm. In: *Flødevigen rapportserie*. 2: 11-45.
160. Danielssen D.S., Hjertnes T., 1993. Effect of dietary protein levels in diets for turbot (*Scophthalmus maximus*) to market size. In: Kaushik S.J., Luquet P. (Eds.) *Fish Nutrition in Practice*, Biarritz, France, 24-27/01/1991, INRA Editions. Les Colloques. 61: 89-96.
161. Dannevig A., Hansen S. 1952. Faktorer av betydning for fiskeeggenes og fiskeyngelens oppvekst. Dannevig A., Hansen S. Factors involved in hatching and rearing fish eggs and larvae. *Fishkeridirektoratets Skrifter Serie Havundersokelser*. 10: 5-36.
162. Dannevig G.M. 1910. Hatching cod and lobsters in Norway. *US Comm. Fish. Bull.* 6: 13-14.
163. Dannevig H. 1895. The influence of temperature on the development of the eggs of fishes. *Rep. Fish. Board Scotl.* 13: 147-52.
164. Dannevig H.C. 1910. Second Report by the Director on Fishing Experiments Carried Out by the FIS "Endeavour". *Parl. Pap. Cwth. of Australia*. 70: 60 p.
165. De Figueiredo G.M., Nash R.D. Montagnes D.J. 2007. Do protozoa contribute significantly to the diet of larval fish in the Irish Sea? *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*. 87(4): 843-850.
166. de Miguel Villegas E., Dans M.J.D., Paz-Andrade Castillo C. Alvarez R.A. 1997. Development of the eye in the turbot *Psetta maxima* (Teleosti) from hatching through metamorphosis. *Journal of Morphology*. 233(1): 31-42.
167. Devauchelle N. 1980. Étude expérimentale sur la reproduction, les oeufs et les larves de bar (*Dicentrarchus labrax*), daurade (*Sparus aurata*), mullet (*Liza ramada*), rouget (*Mullus surmuletus*), sole (*Solea solea*) et turbot (*Scophthalmus maximus*). PhD thesis, University of Brest, Brest.
168. Devauchelle N. 1987. Four marine spawners in european hatcheries. In: *Production controlee en ecloserie. Synthèse des papiers presentes dans le cadre du MEDRAP a Roviny-Zadar (Yugoslavia)*. Rapport FAO, Rome. 50 pp.
169. Devauchelle N. Alexandre J.C., Le Corre N., Letty Y. 1988. Spawning of turbot (*Scophthalmus maximus*) in captivity. *Aquaculture*. 69(1): 159-184.
170. Devauchelle N., Letty Y., Quere M. 1986. Experimental units for incubation and larval rearing with special reference to four marine fish species. *Aquaculture*. 58(3-4): 297-304.
171. Devesa S. 1995. El cultivo de rodaballo (*Scophthalmus maximus* L.). In *Acuicultura Mariña en Galicia*. 2as Xornadas de Medio Mariño e Acuicultura, Novembro-92/Febrero- 93, Sada (A Coruña), Edicións do Castro, pp. 95-112.
172. Divanach P, Kentouri M. 2000. Hatchery techniques for specific diversification in Mediterranean finfish larviculture. *Cah. Opt. Medit.* 47: 75-87.
173. Doldán M.J., Cid P., Mantilla L., de Miguel Villegas, E. 2011. Development of the

- olfactory system in turbot (*Psetta maxima* L.). *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 41(3): 148-157.
174. Doroshev I, Cornacchia J.W, Hogan K. 1981. Initial swimbladder inflation in the larvae of physoclistous fishes and its importance for larval culture. In: Lasker R, Sherman K, editors. *The early life history of fish: recent studies. Rapp P-v Re'un Cons Int Explor Mer*. 178:495–500.
 175. Drapun I.E., Khanaychenko A.N. 2019. Morphology of the Nauplii and Duration of Naupliar Development of the Black Sea Alien Species *Oithona davisae* Ferrari and Orsi, 1984 (Copepoda: Cyclopoida) in Laboratory Culture. *Russian Journal of Biological Invasions*. 10(1): 12-21.
 176. Drillet G., Jørgensen N. O., Sørensen T. F et al. 2006. Biochemical and technical observations supporting the use of copepods as live feed organisms in marine larviculture. *Aquaculture Research*. 37(8): 756-772.
 177. Duncan L.M., and O.L.Meehan. 1954. Propagation and distribution of food fishes for the calendar years 1951-1952. *Stat. Dig. US Fish Wildl. Serv*. 32: 36 pp.
 178. Egloff D.A. 1988. Food and growth relations of the marine microzooplankton, *Synchaeta cecilia* (Rotifera). *Hydrobiologia*. 157(2): 129-141.
 179. Egloff D.A., Fofonoff P.W., Onbé T. 1997. Reproductive biology of marine cladocerans. *Advances in Marine Biology*. 31: 79-167.
 180. El rodaballo, el primer genoma de un vertebrado 100% ‘made in Spain’. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.elmundo.es/ciencia/2016/03/09/56dff5af46163f4e318b45e4.html> Дата обращения: 12.06.2021.
 181. Erteken A., Nezaki G. 2002. Effects of feeding stimulants, and diet pH on the growth of Black Sea turbot, *Psetta maxima*. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 2(1): 19-22.
 182. Essner J.J., Amack J.D., Nyholm M.K. et al. 2004. Kupffer’s vesicle is a ciliated organ of asymmetry in the zebrafish embryo that initiates left-right development of the brain, heart and gut. *Development*. 132: 1247-1260.
 183. Estévez A., Kanazawa A. 1995. Effect of (n-3) PUFA and vitamin A *Artemia* enrichment on pigmentation success of turbot, *Scophthalmus maximus* (L). *Aquacult. Nutr*. 1(3): 159-168.
 184. Estévez A., McEvoy L.A., Bell J.G., Sargent J.R. 1999. Growth, survival, lipid composition and pigmentation of turbot (*Scophthalmus maximus*) larvae fed live-prey enriched in arachidonic and eicosapentaenoic acids. *Aquaculture*. 180 (3-4): 321-343.
 185. EUMOFA – European Market Observatory for Fisheries and Aquaculture Products, 2018. *The EU fish market*. 115 p.
 186. Evjemo J.O., Reitan K. I., Olsen Y. 2003. Copepods as live food organisms in the larval rearing of halibut larvae (*Hippoglossus hippoglossus* L.) with special emphasis on the nutritional value. *Aquaculture*. 227(1-4): 191-210.
 187. Fabre-Domergue P.L.M., Biérix E. 1905. Développement de la sole (*Solea vulgaris*): introduction à l’étude de la pisciculture marine. Vuibert et Nony, Paris: Travail du Laboratoire de Zoologie Maritime de Concarneau. *Bulletin du Muséum d’Histoire Naturelle Paris*. 3: 57-86.

188. Family Scophthalmidae – Turbots [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.fishbase.se/summary/FamilySummary.php?id=515&lang=english>. Дата обращения: 03.12.2021.
189. FAO. 2019. FAO yearbook. Fishery and Aquaculture Statistics 2017/FAO annuaire. Statistiques des pêches et de l'aquaculture 2017/FAO anuario. Estadísticas de pesca y acuicultura 2017. Rome/Roma. 106 p.
190. FAO. 2020. The State of World Fisheries and Aquaculture 2020. Sustainability in action. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.fao.org/3/ca9229en/ca9229en.pdf>. Дата обращения: 14.12.2021.
191. FAOSTAT (FAO Statistical Databases). [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://faostat.fao.org>. Дата обращения: 08.12.2021.
192. Fauvel C., Omnes M.H., Suquet M., Normant Y. 1992. Enhancement of the production of turbot, *Scophthalmus maximus* (L.), larvae by controlling overripening in mature females. *Aquacult. Fish. Manage.* 23: 209–216.
193. Fauvel C., Omnes M.-H., Suquet M., Normant Y. 1993a. Reliable assessment of overripening in turbot (*Scophthalmus maximus*) by a simple pH measurement. *Aquaculture*. 117 (1-2): 107–113.
194. Fernández-González R, Pérez-Pérez M, Garza-Gil MD. 2021B. An analysis of production factors for Galician-farmed turbot: From boom to stagnation. *Aquaculture Economics & Management*. 25(3): 320-338.
195. Fernández-González R, Pérez-Pérez MI, Garza-Gil MD. 2021A. Market concentration in the Spanish turbot aquaculture sector: *A regional analysis. Papers in Regional Science*. 100(3): 777-794.
196. Fernández-González R, Pérez-Pérez MI, Garza-Gil MD. 2021C. Main issues and key factors for development of turbot aquaculture in Spanish regions: A social-ecological perspective. *Aquaculture*. 544: 737140.
197. Figueras A, Robledo D, Corvelo A. et al. 2016. Whole genome sequencing of turbot (*Scophthalmus maximus*; Pleuronectiformes): a fish adapted to demersal life. *DNA Research*. 23(3): 181-92.
198. Focant B., Vandewalle P., & Huriaux F. 2003. Expression of myofibrillar proteins and parvalbumin isoforms during the development of a flatfish, the common sole *Solea solea*: comparison with the turbot *Scophthalmus maximus*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*. 135(3): 493-502.
199. Galicia cede a China el liderazgo del cultivo de rodaballo. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: http://elpais.com/diario/2007/12/29/galicia/1198927101_850215.html. Дата обращения: 7.12.2021.
200. Geffen A.J., Van der Veer H.W., & Nash R.D.M. 2007. The cost of metamorphosis in flatfishes. *Journal of Sea Research*. 58(1): 35-45.
201. Geurden I., Bergot P., Schwarz L., Sorgeloos P. 1998. Relationship between dietary phospholipid classes and neutral lipid absorption in newly-weaned turbot, *Scophthalmus maximus*. *Fish Physiology and Biochemistry*. 19(3): 217-228.
202. Geurden I., Coutteau, P., Sorgeloos P. 1997. Effect of a dietary phospholipid supplementation on growth and fatty acid composition of European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.)

- and turbot (*Scophthalmus maximus* L.) juveniles from weaning onwards. *Fish Physiology and Biochemistry*. 16(4): 259-272.
203. Gibson S, Johnston I.A. 1995. Scaling relationships, individual variation and the influence of temperature on maximum swimming speed in early settled stages of the turbot *Scophthalmus maximus*. *Marine Biology*. 121(3): 401-408.
 204. Gibson S., Johnston I.A. 1995. Temperature and development in larvae of the turbot *Scophthalmus maximus*. *Marine Biology*. 124(1):17-25.
 205. Girin M. 1974. Régime alimentaire et pourcentage de survie chez la larve de turbot (*Scophthalmus maximus* L.). *Colloque sur l'Aquaculture. Actes de colloques*, 1, CNEXO Ed.: 187-203.
 206. Gomes A.S., Alves R.N., Rønnestad I., & Power D.M. 2015. Orchestrating change: The thyroid hormones and GI-tract development in flatfish metamorphosis. *General and Comparative Endocrinology*. 220: 2-12.
 207. Grundmann C, Heß M. 2007. Pseudo 4D reconstruction of the flatfish head during metamorphosis in the turbot *Psetta maxima*. *100th Annual meeting of the German Zoological Society*, Cologne, Germany, September 21–24, 2007, abstract book: 184.
 208. Hamre K., Moren M, Solbakken J. et al. 2005. The impact of nutrition on metamorphosis in Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). *Aquaculture*. 250(3-4): 555-565.
 209. He Z.H., Qin J.G., Wang Y. et al. 2001. Biology of *Moina mongolica* (Moinidae, Cladocera) and perspective as live food for marine fish larvae. *Hydrobiologia*. 457(1): 25-37.
 210. Hebert P.D.N. 1978. The population biology of *Daphnia* (Crustacea, Daphnidae). *Biol. Rev.* 53(3): 387-426.
 211. Hjort J., Dahl K. Fishing experiments in Norwegian fjords. 1900. *Report on Norwegian Fishery and Marine Investigations*. 1(1): 9-214.
 212. Hoehne-Reitan K, Kjørsvik E. 2004. Functional development of the liver and exocrine pancreas in teleost fish. *American Fisheries Society Symposium*. 40: 9-36.
 213. Hoehne-Reitan K., Kjørsvik E., & Reitan K.I. 2003. Lipolytic activities in developing turbot larvae as influenced by diet. *Aquaculture International*. 11(5): 477-489.
 214. Holmes R.A., & Gibson R.N. 1986. Visual cues determining prey selection by the turbot, *Scophthalmus maximus* L. *Journal of Fish Biology*. 29(sA): 49-58.
 215. Hotos G.N. 2021. A preliminary survey on the planktonic biota in a hypersaline pond of Messolonghi Saltworks (W. Greece). *Diversity*. 13(6): 270.
 216. Howell B.R. 1972. Preliminary experiments on the rearing of larval lemon sole *Microstomus kitt* (Walbaum) on cultured foods. *Aquaculture*. 1: 39-44.
 217. Howell B.R. 1979. Experiments of the rearing of larval turbot, *Scophthalmus maximus* L. *Aquaculture*. 18(3): 215-225.
 218. Howell B.R. 1979. Experiments on the rearing of larval turbot, *Scophthalmus maximus* (L.). *Aquaculture*. 18(3): 215-225.
 219. Howell B.R. 1998. Development of turbot farming in Europe. *Bulletin of the Aquaculture Association of Canada*. 1: 4-10.
 220. Howell B.R., 1973. Marine fish culture in Britain. VIII. A marine rotifer, *Brachionus*

- plicatilis* Muller, and the larvae of the mussel, *Mytilus edulis* L., as foods for larval flatfish. *J. Cons. int. Explor. Mer.* 35: 1-6.
221. Howell B.R., Baynes S.M. 2004. Abiotic factors, Ch.2 In: Moksness E. Kjorsvik E., Olsen Y. (eds) *Culture of cold-water marine fish*. pp. 7-27.
 222. Hull S.T., Edwards R.D. 1976. Experience in farming turbot, *Scophthalmus maximus*, in floating sea cages - progress since 1970. *The British White Fish Authority, Marine Farming Unit, Ardtoe, Acharacle, Argyll, Scotland*. Febrero de 1976.
 223. Hunter J.R. 1972. Swimming and behavior of larval anchovy *Engraulis mordax*. *Fish Bull. U.S.* 70(3): 821-839.
 224. Huse I., Skiftesvik A.B. 1985. Qualitative and quantitative behaviour studies in starving and feeding turbot (*Scophthalmus maximus* L.) larvae. *ICES*. 14:108–115.
 225. Imsland A.K., & Jonassen T.M. 2003. Growth and age at first maturity in turbot and halibut reared under different photoperiods. *Aquaculture International*. 11(5): 463-475.
 226. IPac. Acuicultura [Электронный ресурс]. – Режим доступа: http://www.ipacuicultura.com/noticias/en_portada/76720/la_cosecha_de_peces_marinos_en_espana_se_incremento_en_2019_un_11_hasta_las_53_920_toneladas.html. Дата обращения: 10.10.2021.
 227. Ito T. 1955. Studies on the “Mizukawari” in eel culture ponds. I. The feeding activity of *Brachionus plicatilis* on phytonannoplankton. *Rep Fac Fish Prefect Univ Mie*. 2: 162–167.
 228. Ito T. 1960. On the culture of mixohaline rotifer *Brachionus plicatilis* OF Muller in the sea water. *Report of Faculty of Fisheries, Prefectual University of Mie*. 3: 708-740.
 229. Ivanov L., and Beverton R.J.H. 1985. The fisheries resources of the Mediterranean, Part 2: Black Sea. *GFCM. Stud. Rev.* 60: 135.
 230. Izquierdo M.S., Socorro J., Arantzamendi L., & Hernández-Cruz C.M. 2000. Recent advances in lipid nutrition in fish larvae. *Fish Physiology and Biochemistry*. 22(2): 97-107.
 231. Jamali H, Imani A, Abdollahi D, Roozbehfar R, Isari A. 2015. Use of probiotic *Bacillus* spp. in rotifer (*Brachionus plicatilis*) and *Artemia* (*Artemia urmiana*) enrichment: Effects on growth and survival of Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, Larvae. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*. 7(2): 118-125.
 232. Jansen J.K, Enger P.S. 1996. Pre-and postmetamorphic organization of the vestibular nuclear complex in the turbot examined by retrograde tracer substances. *Journal of Comparative Neurology*. 364(4): 677-689.
 233. Jepsen P.M., Jakobsen H.H., Rayner T. et al. 2017. A production season of turbot larvae *Scophthalmus maximus* (Linnaeus, 1758) reared on copepods in a Danish (56° N) semi-intensive outdoor system. *Aquaculture Research*. 48(9): 4958-4974.
 234. Jones A. 1972. Studies on egg development and larval rearing of turbot, *Scophthalmus maximus* L., and Brill, *Scophthalmus rhombus* L., in the laboratory. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 52: 965-986 doi:10.1017/S0025315400040698.
 235. Jones A. 1973A. The ecology of young turbot, *Scophthalmus maximus* (L.), at Borth, Cardiganshire, Wales. *Journal of Fish Biology*. 5(3): 367-383.
 236. Jones A. 1973B. Observations on the growth of turbot larvae *Scophthalmus maximus* L.

- reared in the laboratory. *Aquaculture*. 2: 149-155.
237. Jones A. 1974. Sexual maturity, fecundity and growth of the turbot *Scophthalmus maximus* L. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*. 54(1), 109-125.
238. Jones A., Alderson R., & Howell B.R. 1974. Progress towards the development of a successful rearing technique for larvae of the turbot, *Scophthalmus maximus* L. In: *The early life history of fish*. Springer, Berlin, Heidelberg. P. 731-737.
239. Jones A., Brown J.A.G., Douglas M.T., Thompson S.J., & Whitfield R.J. 1981A. 1981. Progress towards developing methods for the intensive farming of turbot (*Scophthalmus maximus* L.) in cooling water from a Nuclear Power Station. In: K. Tiews. *Aquaculture in heated effluents and recirculation systems*. Tech. Pap. FAO, Stavanger. 16-17: 481-496.
240. Jones A., Prickett R.A., & Douglas M.T. 1981B. Recent developments in techniques for rearing marine flatfish larvae, particularly turbot (*Scophthalmus maximus* L.), on a pilot commercial scale. *Rapp. Proc. Verb. Réunion. Cons. Intern. Explor. Mer*. 178: 522-526.
241. Kane D.A., Kimmel C.B. 1993. The zebrafish midblastula transition. *Development*. 119(2): 447-456.
242. Katechakis A., Stibor H. 2004. Feeding selectivities of the marine cladocerans *Penilia avirostris*, *Podon intermedius* and *Evadne nordmanni*. *Marine Biology*. 145(3): 529-539.
243. Kentouri M., Divanach P., Paris J., 1984. Approche du comportement trophique des larves du sar {*Diplodus sargus*}, de la daurade (*Sparus auratus*), du charax (*Puntazzo puntazzo*) et du marbré (*Lithognathus mormyrus*). In *L'Aquaculture du Bar et des Sparidés* (Ed. G. Barnabe & R. Billard), INRA, Paris. pp. 139-159.
244. Khanaichenko A.N., Bitukova Y.E., Tkachenko N.K. 1994. Experiences in rearing endemic Bleak Sea turbot larvae. In Lavens P. & R.A.M. Remmerswaal (Eds.) *Turbot culture: problems and prospects*. *European Aquaculture Society EAS Spec. Publ.* 22: 349-358.
245. Khanaichenko A.N. 1990. Variety of food organisms and their rearing for the Black Sea turbot *Hydrores*. *Triest*, 7(8): 68-71.
246. Khanaichenko A.N. 1998. Approach to optimize copepods cultures exploitation. *Aquaculture and Water. Fish culture, shellfish culture and water usage*: Abstracts of Intern. Conf. Aquaculture Europe'98 (Bordeaux, France, October 7-10, 1998. *EAS Spec. Publ.* № 26. Oostende (Belgium). P. 133-134.
247. Khanaichenko A.N., Dhert P., Van Ryckeghem K., Sorgeloos P. 1998. Evaluation of fatty acid composition of live feed fed Dinophyceae. *Aquaculture and Water. Fish culture, shellfish culture and water usage*: Abstracts of Intern. Conf. Aquaculture Europe'98 (Bordeaux, France, October 7-10, 1998. *EAS Spec. Publ.* № 26. Oostende (Belgium). P. 135-136.
248. Khanaychenko A., Mukhanov V., Aganesova L., Besiktepe S., Gavrilova N. 2018. Grazing and feeding selectivity of *Oithona davisae* in the Black Sea: Importance of cryptophytes. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 18: 937-949.
249. Kjørsvik E., Hoehne-Reitan K., Reitan K. I. 2003. Egg and larval quality criteria as predictive measures for juvenile production in turbot (*Scophthalmus maximus* L.). 3rd Fish & Shellfish Larviculture Symposium: Proceedings of the "Larvi" symposia (1991, 1995, 2001) at Ghent University, Ghent, Belgium, September 3-6, 2001. Fish & Shellfish

- Larviculture Symposium N°3, Ghent , Belgium. 2003. 227(1-4): 9-20.
250. Kjørsvik E., Olsen Y., Rosenlund G., Vadstein O. 1991 Effect of various lipid enrichments in rotifers on the development of early stages in turbot. *Fish and Crustacean Larviculture Symp.*, Gent (Belgium), 27-30 Aug 1991. SO: LARVI-91. Lavens P., Sorgeloos P., Jaspers E., Ollevier F. 15: 39-40.
 251. Kjørsvik E., Pittman K., Pavlov D. 2004. From fertilisation to the end of metamorphosis - functional development. In: Moksness E., Kjorsvik E., Olsen Y. (eds) *Culture of cold-water marine fish*, pp. 204-278.
 252. Knutsen, J. A. 1992. Feeding behaviour of North Sea turbot (*Scophthalmus maximus*) and Dover sole (*Solea solea*) larvae elicited by chemical stimuli. *Marine Biology*. 113(4): 543-548.
 253. Kohno H., M. Moteki, K. Yoseda et al. 2001. Development of swimming and Feeding Functions in Larval Turbot, *Psetta maxima*, Reared in the Laboratory. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 1: 7-15.
 254. Kolkovski S, Arieli A, Tandler A. 1997. Visual and chemical cues stimulate microdiet ingestion in sea bream larvae. *Aquaculture International*. 5(6): 527-536.
 255. Kondakova E.A., Efremov V.I. 2014. Morphofunctional transformations of the yolk syncytial layer during zebrafish development. *Journal of morphology*. 275(2): 206-216.
 256. Korsgaard B. 1991. Metabolism of larval turbot *Scophthalmus maximus* (L.) and uptake of amino acids from seawater studied by autoradiographic and radiochemical methods. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 148(1): 1-10.
 257. Kostrzewska-Szlakowska I., & Szlakowski J. 1990. Summer food of juvenile turbot, *Psetta maxima* (L.) and flounder, *Platichthys flesus* (L.), at Świętousć, Pomeranian Bay. *Acta Ichthyologica et Piscatoria*. 20(1): 73–89.
 258. Kuhlmann D., Quantz G., & Witt, U. 1981. Rearing of turbot larvae (*Scophthalmus maximus* L.) on cultured food organisms and postmetamorphosis growth on natural and artificial food. *Aquaculture*. 23(1-4): 183-196.
 259. Labarta U. 2000. Desarrollo e innovación empresarial en la acuicultura: una perspectiva gallega en un contexto internacionalizado. *Documentos de Economía*, n.º 6, 74 pp., CIEF, Fundación Caixa Galicia.
 260. Last J.M. 1979. The food of the larvai turbot *Scophthalmus maximus* L. from the west central North Sea. *ICES Journal of Marine Science. J. Cons. int. Explor. Mer*, 38(3): 308-313.
 261. Lavens P., & Sorgeloos, P. 2000. The history, present status and prospects of the availability of *Artemia* cysts for aquaculture. *Aquaculture*. 181(3-4): 397-403.
 262. Le Gal Y. 2009: The Concarneau marine biology laboratory celebrates its 150th anniversary. *La lettre du Collège de France*. 1(4): 51-54.
 263. Le Milinaire C., Gatesoupe F.J., & Stephan, G. 1983. Approche du besoin quantitatif en acides gras longs polyinsaturés de la série n-3 chez la larve de turbot (*Scophthalmus maximus*). *Comptes rendus des séances de l'Académie des sciences. Série 3, Sciences de la vie*. 296(19), 917-920.
 264. Lee J. K., Cho S.H., Park S.U. et al. 2003. Dietary protein requirement for young turbot (*Scophthalmus maximus* L.). *Aquaculture Nutrition*. 9(4): 283-286.

265. Lei J., Liu X., Guan C. 2012. Turbot culture in China for two decades: achievements and prospect. *Prog. Fish. Sci.* 33: 123–130
266. Lei J., Liu X. 2010. Culture of turbot: Chinese perspective. *Practical Flatfish Culture and Stock enhancement*. Eds. Daniels H.V., Watanabe W.O. P. 185-202.
267. Lei J.L., Ma A.J., Liu X.F. 2003. Study on the development of embryo, larva and juvenile of turbot *Scophthalmus maximus* L. *Chin J Oceanol Limnol.* 34:9-19.
268. Lei J.L., Men Q., Wang Y.G., Wang B.X. 2002. Review of “green house+ deep well seawater” industrialized culture pattern of turbot (*Scophthalmus maximus*). *Marine Fisheries Research.* 23(4): 1-7.
269. Leitch V.D., Bassett J.D., & Williams G.R. 2020. Role of thyroid hormones in craniofacial development. *Nature Reviews Endocrinology.* 16(3): 147-164
270. Leknes E., Imsland A.K., Gústavsson A. et al. 2012. Optimum feed formulation for turbot, *Scophthalmus maximus* (Rafinesque, 1810) in the grow-out phase. *Aquaculture.* 344: 114-119.
271. Li X., Liu Y., & Blancheton J.P. 2013. Effect of stocking density on performances of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*) in recirculating aquaculture systems. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology.* 31(3): 514-522.
272. Linares F., Henderson R.J. 1991. Incorporation of ¹⁴C-labelled polyunsaturated fatty acids by juvenile turbot, *Scophthalmus maximus* (L.) *in vivo*. *Journal of Fish Biology.* 38(3): 335-347.
273. Lubzens E, Young G, Bobe J, Cerdà J. 2010. Oogenesis in teleosts: how fish eggs are formed. *General and Comparative Endocrinology.* 165(3): 367-389.
274. Lv X., Xu S., Liu Q. et al. 2019. Osteological ontogeny and allometric growth in larval and juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*). *Aquaculture.* 498: 351-363.
275. MacCall A.D. 1989. Against marine fish hatcheries: ironies of fishery politics in the technological era. *Calif. Coop. Oceanic Fish. Invest.* 30: 46-48.
276. Mahious A.S., Gatesoupe F J., Hervi M. et al. 2006. Effect of dietary inulin and oligosaccharides as prebiotics for weaning turbot, *Psetta maxima* (Linnaeus, C. 1758). *Aquaculture International.* 14(3): 219.
277. Makridis P., Fjellheim A.J., Skjermo J., Vadstein O. 2000. Colonization of the gut in first feeding turbot by bacterial strains added to the water or bioencapsulated in rotifers. *Aquaculture International.* 8(5): 367-380.
278. Malard A.E, 1895. Sur le developpement et la pisciculture du turbot, des Sciences, Paris, 17 juillet, 1899, Comptes rendus de l'Academie.
279. Marchand O., Duffraisie M., Triqueneaux G. et al. 2004. Molecular cloning and developmental expression patterns of thyroid hormone receptors and T3 target genes in the turbot (*Scophthalmus maximus*) during post-embryonic development. *General and Comparative Endocrinology.* 135(3): 345-357.
280. Martinsson J. & Nissling, A. 2011. Nursery area utilization by 0-group turbot (*Psetta maxima*) and flounder (*Platichthys flesus*) at Gotland, Baltic Sea. *Boreal Environment Research.* 16: 60–70.
281. Maslova O.N. 2002. Problems and achievements in seed production of the Black Sea turbot in Russia. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences.* 2: 23-27.

282. McEvoy L.-A. 1984. Ovulatory rhythms and over-ripening of eggs in cultivated turbot, *Scophthalmus maximus* L. *Journal of Fish Biology*. 24: 437–448.
283. McEvoy L.A., Estevez A., Bell J. G. et al. 1998. Influence of dietary levels of eicosapentaenoic and arachidonic acids on the pigmentation success of turbot (*Scophthalmus maximus* L.) and halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). *Bulletin of Aquaculture Association of Canada*. 17-20.
284. McEvoy L.A., McEvoy J. 1991. Size fluctuation in the eggs and newly hatched larvae of captive turbot (*Scophthalmus maximus*). *Journal of the Marine Association of the United Kingdom* 71(3): 679-690.
285. McEvoy L.A., McEvoy J. 1992. Multiple spawning in several commercial fish species and its consequences for fisheries management, cultivation and experimentation. *Journal of Fish Biology*. 41: 125-136.
286. McFadzen I.R.B., Lowe D.M., Coombs S.H. 1994. Histological changes in starved turbot larvae (*Scophthalmus maximus*) quantified by digital image analysis. *J.-FISH-BIOL.* 44(2): 255-262.
287. Meeren T. van der, H.J. Fyhn, J. Pickova et al. 2001. Biochemical composition of copepods: seasonal variation in lagoon-grown zooplankton. Larvi'01. Fish and Shellfish Larviculture Symp. Oostende, Belgium (C.J.Hendry, G.van Stappen, M.Wille and P.Sorgeloos (Eds.) EAS Spec.Publ. N 30: 635 -636.
288. Meeren T. van der, Olsen R.E., Hamr K., Fyhn H.J. 2008. Biochemical composition of copepods for evaluation of feed quality in production of juvenile marine fish. *Aquaculture*. 274: 375-397
289. Meeren T. van der. 1991. Selective feeding and prediction of food consumption in turbot larvae (*Scophthalmus maximus* L.) reared on the rotifer *Brachionus plicatilis* and natural zooplankton. *Aquaculture*. 93(1): 35-55.
290. Meeren T. van der., Naas K.E. 1997. Development of rearing techniques using large enclosed ecosystems in the mass culture of marine fish fry. *Reviews in Fisheries Science*. 5 (4): 367-390.
291. Men Q., Lei J.L. 2002. Morphology and histology of swim bladder development in the turbot. *Journal of Fishery Sciences of China*. 10(2): 111-114.
292. Meng Z, Hu P, Lei J, Jia Y. 2016. Expression of insulin-like growth factors at mRNA levels during the metamorphic development of turbot (*Scophthalmus maximus*). *General and Comparative Endocrinology*. 235: 11-17.
293. Minkoff G., Broadhurst A.P. 1994. Intensive production of turbot *Scophthalmus maximus* fry. In: *Turbot Culture Problems and Prospects*. Lavens P. and R.A.M. Remmerswaal (Eds.). European Aquaculture Society, special Publication No. 22, Gent, Belgium, pp. 14-31.
294. Morais S., Conceicao L.E.C., Ronnestad I., Koven W., Cahu C., Zambonino Infante J.L. Dinis M.T. 2007. Dietary lipid level and source in marine fish larvae: effects on digestive physiology and food intake. *Aquaculture*. 268(1-4): 106-122
295. Moteki M., Yoseda K., Sahin T. et al. 2001. Transition from endogenous to exogenous nutritional sources in larval Black Sea turbot *Psetta maxima*. *Fisheries Science*. 67(4): 571-578

296. Mourente G. 2003. Accumulation of DHA (docosahexaenoic acid; 22: 6n-3) in larval and juvenile fish brain. In: Browman H., Skiftesvik, A.B. (Eds.), *The Big Fish Bang*. Institute of Marine Research, Bergen, Norway, pp. 239-248.
297. Mourente G., D.R. Tocher, J.R. Sargent. 1991. Specific accumulation of docosahexaenoic acid (22:6n-3) in brain lipids during development of juvenile turbot *Scophthalmus maximus* L., *Lipids*. 26: 871-877.
298. Mugnier C., Guennoc M., Lebegue E., Fostier A., Breton B. 2000. Induction and synchronisation of spawning in cultivated turbot (*Scophthalmus maximus* L.) broodstock by implantation of a sustained-release GnRH-a pellet. *Aquaculture*. 181: 241-255.
299. Munilla-Moran R., Stark J.R., Barbour A. 1990. The role of exogenous enzymes in digestion in cultured turbot larvae (*Scophthalmus maximus* L.). *Aquaculture*. 88(3-4): 337-350.
300. Munro P.D., Barbour A., Birkbeck T.H. 1995. Comparison of the growth and survival of larval turbot in the absence of culturable bacteria with those in the presence of *Vibrio anguillarum*, *Vibrio alginolyticus*, or a marine *Aeromonas* sp. *Applied and Environmental Microbiology*. 61(12): 4425-4428.
301. Naas K.E., Næss T., Harboe T. 1992. Enhanced first feeding of halibut larvae (*Hippoglossus hippoglossus* L.) in green water. *Aquaculture*. 105(2): 144-155.
302. Nash C.E. 2011. *The History of Aquaculture*. WileyBlackwell, Ames, 244 p.
303. Nash CE, Kuo CM, Madden WD, Paulsen CL. 1977. Swim bladder inflation and survival of Mugil cephalus to 50 days. *Aquaculture*. 12(1): 89-94.
304. Navarro J.C., Henderson R.J., McEvoy L.A. et al. 1999. Lipid conversions during enrichment of *Artemia*. *Aquaculture*. 174(1-2): 155-166.
305. Nellen W., Hempel G. 1970: Beobachtungen am Ichthyoneuston der Nordsee. – Observations on the ichthyoneuston of the North Sea. *Ber. Dt. Wiss. Komm. Meeresforsch.* 21:311-348
306. Nicolas J.L, Robic E., Ansquer D. 1989. Bacterial flora associated with a trophic chain consisting of microalgae, rotifers and turbot larvae: influence of bacteria on larvae survival. *Aquaculture*. 83: 237-248.
307. Nissling A., Johansson U., & Jacobsson M. 2006. Effects of salinity and temperature conditions on the reproductive success of turbot (*Scophthalmus maximus*) in the Baltic Sea. *Fisheries Research*. 80(2): 230-238.
308. Noirmoutier Les humeurs de l'île. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://humeurs85ileno.blogspot.com/2013/03/france-turbot-portes-ouvertes.html>. Дата обращения: 8.10.2021.
309. Norman J. R. 1934. *A Systematic Monograph of the Flatfishes (Heterosomata)*. Vol. 1. Psettodidae, Bothidae, Pleuronectidae. - London, British Museum. - 459 pp.
310. Nowheretostay. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://nowheretostay.blogspot.com/2016/08/emperor-yus-great-flood.html> Дата обращения: 30.11.2021.
311. Øie G., Galloway T., Sørøy M. et al. 2017. Effect of cultivated copepods (*Acartia tonsa*) in first-feeding of Atlantic cod (*Gadus morhua*) and ballan wrasse (*Labrus bergylta*) larvae. *Aquaculture Nutrition*. 23(1): 3-17.
312. Øie G., Makridis P., Reitan K. I., Olsen Y. 1997. Protein and carbon utilization of rotifers (*Brachionus plicatilis*) in first feeding of turbot larvae (*Scophthalmus maximus* L.).

- Aquaculture*. 153(1-2): 103-122
313. Olesen J.O., Minck F. 1983. A technical solution to the mass-culturing of larval turbot. *Aquacultural Engineering*. 2(1): 1-12.
314. Olsen Y. 2004 . Live food technology of cold-water marine fish larvae. *In: Moksness E., Kjørsvik E., Olsen Y. (eds) Culture of cold-water marine fish*. pp. 73-128. ISBN 0-85238-276-6 (Blackwell Publishing)
315. Open edition journals [Электронный ресурс]. – Режим доступа: (<https://journals.openedition.org/lettre-cdf/779>). Дата обращения: 11.10.2021.
316. Øverland M., Mydland L.T., & Skrede A. 2019. Marine macroalgae as sources of protein and bioactive compounds in feed for monogastric animals. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 99(1): 13-24.
317. Owen J. M., Adron J. W., Middleton C., & Cowey C.B. 1975. Elongation and desaturation of dietary fatty acids in turbot *Scophthalmus maximus* L., and rainbow trout, *Salmo gairdnerii* rich. *Lipids*. 10(9): 528-531.
318. Padrós F, Minkoff G, Sala R, Crespo S. 1993. Histopathological events throughout the development of turbot (*Scophthalmus maximus* L.) larvae. *Journal of Comparative Pathology* 109(4): 321-334.
319. Pandey B.D., Yeragi S.G., & Pal A.K. 2004. Nutritional Value of a heterotrichous ciliate, *Fabrea salina* with emphasis on its fatty acid profile. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. 17(7): 995-999.
320. Pavlov D., Kjørsvik E., Refsti T., Andersen Ø. 2004. Broodstock and egg production. *In: Moksness E. , Kjørsvik E., Olsen Y. (eds) Culture of cold-water marine fish*. pp.129 – 225. ISBN 0-85238-276-6 (Blackwell Publishing, Oxford).
321. Pedersen, B.H. 1984. The intestinal evacuation rates of larval herring (*Clupea harengus* L.) predated on wild plankton. *Dana*. 3(2): 21-30.
322. Pereira-Santos M., Shimoda E., de Andrade A.F. et al. 2017. Grooves surrounding the micropyle decrease the inseminating dose in fish. *Zygote*. 25(6): 731-739.
323. Person-Le Ruyet J. 1989. The hatchery rearing of turbot larvae (*Scophthalmus maximus*). *Cuadernos de Area de Ciencias Marinas, Seminario de Estudios Galegos*. 3: 57-91.
324. Person-Le Ruyet J. 2002. Turbot (*Scophthalmus maximus*). Growout in Europe: Practices, Results and Prospects. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 2: 29-39.
325. Person-Le Ruyet J., Baudin-Laurencin F., Devauchelle N. et al. 1991. Culture of turbot (*Scophthalmus maximus*). *In: CRC Handbook of mariculture*. EDITORS> Vol. II. P. 21- 41.
326. Person-Le Ruyet J., Baudin-Laurencin F., Devauchelle N. et al. 1990. Culture of turbot, *Scophthalmus maximus* L., C.R.C. press. Handbook of mariculture, V. II – Finfish aquaculture ed. Mc 21-44 p.
327. Piferrer F., Cal, R.M., Alvarez-Blazquez B. et al. 2004. Induction of Triploidy in 2004 Induction of gynogenesis in the turbot (*Scophthalmus maximus*): Effects of UV irradiation on sperm motility, the Hertwig effect and viability during the first 6 months of age. *Aquaculture*. 238(1-4): 403-419.
328. Planas M. 1994. R & D production systems. *Turbot Culture: Problems and Prospects*. - Lavens P. and R.A.M. Remmerswaal (Eds.) - Gent, Belgium, 1994. - EAS Sp. Publ. N 22. - P. 57-73.

329. Polat H., Özen M.R., & Keskin S.Y. 2018. The Embryonic Development of Black Sea Turbot (*Psetta maxima* Linnaeus, 1758) Eggs in Different Incubation Temperatures and Salinities. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 18(3): 475-482
330. Power D.M., Einarsdóttir I.E., Pittman K. et al. 2008. The molecular and endocrine basis of flatfish metamorphosis. *Reviews in Fisheries Science*. 16(1): 95-111.
331. Pradet-Balade B., Burel C., Dufour S. et al. (1999). Thyroid hormones down-regulate thyrotropin β mRNA level in vivo in the turbot (*Psetta maxima*). *Fish Physiology and Biochemistry*. 20(3): 193-199.
332. Purdom C. E., Jones A., Lincoln R. F. 1972. Cultivation trials with turbot (*Scophthalmus maximus*). *Aquaculture*. 1: 213-230.
333. Purdom C.E., Jones A., Lincoln R.F. 1972. Cultivation trials with turbot (*Scophthalmus maximus*). *Aquaculture*. 1: 213-230.
334. Qian J., Li H., Yang Z. et al. 2016. Effects of different algae on survival and reproduction of *Moina mongolica*. *Jiangsu Agricultural Sciences*. 44(7): 477-480.
335. Rainuzzo J. R., Reitan K. I., & Olsen Y. 1997. The significance of lipids at early stages of marine fish: a review. *Aquaculture*. 155(1-4): 103-115.
336. Regost, C., Arzel, J., Cardinal, M., Robin, J. et al. 2001. Dietary lipid level, hepatic lipogenesis and flesh quality in turbot (*Psetta maxima*). *Aquaculture*. 193(3-4): 291-309.
337. Reitan K.I., Rainuzzo J.R., Olsen, Y. 1994. Influence of lipid composition of live food on growth, survival and pigmentation of turbot larvae. *Aquaculture International* 2: 33-48.
338. Reitan K.I., Natvik C.M., Vadstein O. 1998. Drinking rate, uptake of bacteria and microalgae in turbot larvae. *Journal of Fish Biology*. 53(6): 1145-1154.
339. Reitan K.I., Rainuzzo J.R. Øie G., Olsen Y. 1993. Nutritional effects of algal addition in first-feeding of turbot (*Scophthalmus maximus* L.) larvae. *Aquaculture*. 118(3-4): 257-275.
340. Relevé de peinture murale du mur nord de la chambre du cerf du palais des papes à Avignon; la pêche au vivier. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.photo.rmn.fr/archive/92-005160-2C6NU004PEF2.html>. Дата обращения: 28.11.2021.
341. Rhodes M.A., & Phelps R.P. 2008. Evaluation of the ciliated protozoa, *Fabrea salina* as a first food for larval red snapper, *Lutjanus campechanus* in a large scale rearing experiment. *Journal of Applied Aquaculture*. 20(2): 120-133.
342. Riaza A., Hall J. 1993. Large scale production of turbot. In H. Reinertsen, L. A. Dahle, L. Jorgensen, and K. Tvinnereim (ed.), *Fish Farming Technology*. P. 147-148.
343. Riaza A., Hall J. 1993. Large scale production of turbot. In H. Reinertsen, L. A. Dahle, L. Jorgensen, and K. Tvinnereim (ed.), *Fish Farming Technology*. P. 147-148.
344. Rodríguez-Rodríguez G., Morrison A., Troncoso-Ojeda R. 2016. Emergence and development of an aquaculture system of innovation in Galicia (Spain). On the emergence and evolution of clusters. *Unfolding Cluster Evolution*. 104.
345. Rollefson G. 1939. Artificial rearing of fry of sea water fish. Preliminary communication. *Rapp. P.-v. Reun. Cons. perm. int. Explor. Mer*, 109(3): 133.
346. Rønnestad I., Yúfera M., Ueberschär B. et al. 2013. Feeding behaviour and digestive physiology in larval fish: current knowledge, and gaps and bottlenecks in research. *Reviews in Aquaculture*. 59-98.

347. Sæle Ø., Silva N., Pittman K. 2006. Post-embryonic remodelling of neurocranial elements: a comparative study of normal versus abnormal eye migration in a flatfish, the Atlantic halibut larvae. *Journal of Anatomy*. 209: 31-41.
348. Sæle Ø., Solbakken J. S., Watanabe K. et al. 2003. The effect of diet on ossification and eye migration in Atlantic halibut larvae (*Hippoglossus hippoglossus* L.). *Aquaculture*. 220(1-4): 683-696.
349. Sæther B.S., & Jobling M. 2001. Fat content in turbot feed: influence on feed intake, growth and body composition. *Aquaculture Research*. 32(6): 451-458.
350. Sahin T., Üstündağ C. 2003. Effect of different rearing systems on hatchery reared Black Sea turbot. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 3:25-27.
351. Sargent J., McEvoy L., Estévez A. et al. 1999. Lipid nutrition of marine fish during early development: current status and future directions. *Aquaculture*. 179(1-4): 217-229.
352. Schreiber A.M. 2006 Asymmetric craniofacial remodeling and lateralized behavior in larval flatfish. *The Journal of Experimental Biology*. 209: 610-621, doi:10.1242/jeb.02056
353. Schreiber AM. 2001. Metamorphosis and early larval development of the flatfishes (Pleuronectiformes): an osmoregulatory perspective. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*. 129(2-3): 587-95.
354. Scott A.P., Middleton C. 1979. Unicellular algae as a food for turbot (*Scophthalmus maxima*) larvae – the importance of dietary long chain polyunsaturated fatty acids. *Aquaculture*. 18(3): 227-240
355. Segner H., & Witt U. 1990. Weaning experiments with turbot (*Scophthalmus maximus*): electron microscopic study of liver. *Marine Biology*, 105(3): 353-361.
356. Segner H., Storch V., Reinecke M. et al. 1994. The development of functional digestive and metabolic organs in turbot, *Scophthalmus maximus*. *Marine Biology*. 119(3): 471-486.
357. Segner H., Storch V., Reinecke M. et al. 1995. A tabular overview of organogenesis in larval turbot (*Scophthalmus maximus* L.). *ICES mar Sci. Symp.*, 201: 35-39.
358. Shelbourne J.E. 1964. The artificial propagation of marine fish. In: *Advances in Marine Biology*. Academic Press. 2: 1-83.
359. Shelbourne J.E. 1974. Population effects on the survival of tank-reared plaice larvae. In *Sea Fisheries Research* (Harden Jones, F. R., ed.), New York: John Wiley, pp. 357-377.
360. Shields R.J. 2001. Larviculture of marine finfish in Europe. *Aquaculture*. 200(1-2): 55-88.
361. Smith P.L. 1976. The development of a nursery technique for rearing turbot, *Scophthalmus maximus*, from metamorphosis to ongrowing size-Progress since 1970 by the British White Fish Authority. In FAO, Rome (Italy). Fishery Resources and Environment Div. FAO Technical Conference on Aquaculture. Kyoto (Japan). 26 May 1976.
362. Smith T.D., Gjosæter J., Stenseth N.C. et al. 2002. A century of manipulating recruitment in coastal cod populations: the Flodevigen experience. *ICES Marine Science Symposia*. 215: 402-415.
363. Snell T.W., Carrillo K. 1984. Body size variation among strains of the rotifer *Brachionus plicatilis*. *Aquaculture*. 37(4): 359-367.
364. Solbakken J.S., Norberg B., Watanabe K., & Pittman, K. 1998. Thyroxine as a mediator

- of metamorphosis of Atlantic halibut, *Hippoglossus hippoglossus*. In: *When do fishes become juveniles?* Springer, Dordrecht, pp. 53-65.
365. Solemdal P., Sinclair M. 1989, Rapp. P-v. Reun. Cons. Int. Explor Mer, 191: 339-344.
366. Spectorova L.V., & Doroshev S.I. 1976. Experiments on the artificial rearing of the Black Sea turbot (*Scophthalmus maeoticus maeoticus*). *Aquaculture*. 9: 275-286.
367. Spectorova L.V., Aronovich T.M., Doroshev S.I., Popova V.P. 1974. Artificial rearing of the Black Sea turbot larvae (*Scophthalmus maeoticus*). *Aquaculture*. 4: 329-340.
368. Stolt Sea Farm. Youtube. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.youtube.com/watch?v=NGByIQYNTOE>. Дата обращения: 5.12.2021.
369. Stoss J., Hamre K., Ottera H. 2004. Weaning and nursery. In *Culture of cold-water marine fish*. Moksness, E., Kjorsvik, E., & Olsen, Y. (Eds.). P. 337-362.
370. Støttrup J.G., Gravingen K. and N.H.Norsker. 1995. The role of different algae in the growth and survival of turbot larvae (*Scophthalmus maximus* L.) in intensive rearing systems. *ICES mar. Sci. Symp.* 201: 173-186.
371. Støttrup J.G., Richardson K., Kirkegaard E., Pihl N.J. 1986. The cultivation of *Acartia tonsa* Dana for use as a live food source for marine fish larvae. *Aquaculture*. 52(2): 87-96.
372. Støttrup J.G., Shields R., Gillespie M. et al. 1998. The production and use of copepods in larval rearing of halibut, turbot and cod. *Bulletin of the Aquaculture Association of Canada*. pp. 41-45.
373. Støttrup J.G. 2003. Production and nutritional value of copepods. *Live Feeds in Marine Aquaculture*. 2: 145-205.
374. Suquet M., Billard R., Cosson J. et al. 1995. Artificial insemination in turbot (*Scophthalmus maximus*): determination of the optimal sperm to egg ratio and time of gamete contact. *Aquaculture*. 133: 83-90.
375. Svåsand T., Otter H. M., Taranger G. L. 2004. The status and perspectives for the species. *Culture of cold-water marine fish* / Eds. E. Moksness, E. Kjorsvik, Y. Olsen. - Oxford: Blackwell Pub. P. 475-486.
376. Svetlichny L., Hubareva E., & Khanaychenko A. 2012. *Calanipeda aquaedulcis* and *Arctodiaptomus salinus*. are exceptionally euryhaline osmoconformers: evidence from mortality, oxygen consumption, and mass density patterns. *Marine Ecology Progress Series*. 470: 15-29.
377. Tanaka M., Tanangonan J. B., Tagawa M. et al. 1995. Development of the pituitary, thyroid and interrenal glands and applications of endocrinology to the improved rearing of marine fish larvae. *Aquaculture*. 135(1-3): 111-126.
378. The Tea Horse Caravan. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.theteahorsecaravan.com/2012/06/>. Дата обращения: 30.11.2021.
379. Theilacker G.H., McMaster M.F. 1971. Mass culture of the rotifer *Brachionus plicatilis* and its evaluation as a food for larval anchovies. *Marine biology*. 10(2): 183-188.
380. Theilacker G.H., McMaster M.F. 1971. Mass culture of the rotifer *Brachionus plicatilis* and its evaluation as a food for larval anchovies. *Marine biology*. 10(2): 183-188.
381. Tocher D.R. 2010. Fatty acid requirements in ontogeny of marine and freshwater fish. *Aquaculture Research*. 41(5): 717-732.

382. Tocher D.R., Mourente G., Eyjemo J.O. 2002. Effects of dietary vitamin E on antioxidant defense mechanisms of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L). *Aquaculture Nutrition*. 8: 195-207.
383. Tong S., Xu H., Liu Q. H. et al. 2013. Stages of embryonic development and changes in enzyme activities in embryogenesis of turbot (*Scophthalmus maximus* L.). *Aquaculture International* 21(1): 129-142 DOI 10.1007/s10499-012-9540-6.
384. Tong X.H, Liu Q.H, Xu S.H et al. 2010. Changes in RNA, DNA, protein contents and growth of turbot *Scophthalmus maximus* larvae and juveniles. *Journal of Fish Biology*. 77(3): 512-525.
385. Tully O., Ó'Céidigh P. 1989. The ichthyoneuston of Galway Bay (Ireland). *Marine Biology*. 101(1): 27-41.
386. Turan C., Ivanova P.P., Raykov V.S., Gurlek M., Erguden D., Yaglioglu D., Karan S., Dogdu S. A., Uyan A., Ozturk B., Nikolov V., Dobrovolev I., Khanaychenko A.N, Giragosov V.E. 2019. Genetics Structure Analysis of Turbot (*Scophthalmus maximus*, Linnaeus, 1758) in the Black and Mediterranean Seas for Application of Innovative Management Strategies. *Frontiers in Marine Science*. 6. 740 (9 p.). DOI: 10.3389/fmars.2019.00740.
387. Turbot farmer considers IPO [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://thefishsite.com/articles/turbot-farmer-considers-ipo> Дата обращения: 27.11.2021.
388. Turbot *Scophthalmus maximus* (Linnaeus, 1758) [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.fishbase.se/summary/Scophthalmus-maximus.html>. Дата обращения: 05.12.2021.
389. Türker A. 2006. Effects of feeding frequency on growth, feed consumption, and body composition in juvenile turbot (*Psetta maxima* Linnaeus, 1758) at low temperature. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*. 30(2): 251-256.
390. Tytler P., Ireland J.J. 1995. The influence of temperature and salinity on the structure and function of mitochondria in chloride cells in the skin of the larvae of the turbot (*Scophthalmus maximus*). *Thermal-Biol*. 20(1-2): 1-14.
391. Tytler, P., Ireland, J., Murray, L. 1997. A study of the assimilation of fluorescent pigments of microalgae *Isochrysis galbana* by the early larval stages of turbot and herring. *Journal of Fish Biology*. 50(5): 999-1009.
392. Urup B. 1994. Methods for the production of turbot fry using copepods as food. In: *Turbot Culture: Problems and Prospects* (ed. by P. Lavens & R.A.M. Remmerswaal), European Aquaculture Society, Gent, Belgium. pp. 47-55.
393. Ustundağ C., Ciftci Y. and Sakamoto F. 2002. Rearing of larvae and juveniles of Black Sea turbot, *Psetta maxima*, in Turkey. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 2(1): 13-17.
394. Van Ham E.H., Berntssen M.H., Imsland A.K. et al. 2003. The influence of temperature and ration on growth, feed conversion, body composition and nutrient retention of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*). *Aquaculture*. 217(1-4): 547-558.
395. Vandamme S.G., Maes G.E., Raeymaekers J.A. et al. 2014. Regional environmental pressure influences population differentiation in turbot (*Scophthalmus maximus*).

Molecular Ecology. 23(3): 618-636.

396. Wagemans F., Focant B., & Vandewalle P. 1998. Early development of the cephalic skeleton in the turbot. *Journal of Fish Biology*. 52(1): 166-204.
397. Walne P.R. 1966. Experiments in the large scale culture of the larvae of *Ostrea edulis*. *Fishery Invest.*, Lond. (ser 2). 25: 1-53.
398. Warren Photographic – Inspirational Animals in Action Images/ [Электронный ресурс]. – Режим доступа: www.warrenphotographic.co.uk/16394-brine-shrimp-eggs-hatching. Дата обращения: 5.10.2021.
399. Westernhagen H. von, Sperling K.R., Janssen D. et al. (1987). Anthropogenic contaminants and reproduction in marine fish. *Berichte der Biologischen Anstalt Helgoland*. 3: 1–70.
400. Witt U., Quantz G., Kuhlmann D., Kattner G. 1984. Survival and growth of turbot larvae (*Scophthalmus maximus* L.) reared on different food organisms with special regard to long chain PUFA, *Aquacultural Engineering*. 3:177-190.
401. Woolley L.D., Qin J.G. 2010. Swimbladder inflation and its implication to the culture of marine finfish larvae. *Reviews in Aquaculture*. 2(4): 181-190.
402. Xinhua Español [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://spanish.xinhuanet.com/photo/2019-09/23/c_138414103.htm. Дата обращения: 4.12.2021.
403. Yelnikov D.V. and Khanaychenko A.N. 2013. Morphological Features of Cephalic Skeleton of the Adult Black Sea Turbot (Kalkan) *Scophthalmus maximus* var. *maeotica* (Pleuronectiformes, Scophthalmidae). *Vestnik Zool.* 47: 42-51. [http:// doi.org/10.2478/vzoo-2013-0047](http://doi.org/10.2478/vzoo-2013-0047).
404. Yigit M., Erdem M., Koshio S. et al. 2006. Substituting fish meal with poultry by-product meal in diets for Black Sea turbot *Psetta maeotica*. *Aquaculture Nutrition*, 12 (5): 340-347.
405. Yoshimatsu T., Hossain M.A. 2014. Recent advances in the high-density rotifer culture in Japan. *Aquaculture International*. 22(5): 1587-1603.

СОДЕРЖАНИЕ

Введение

Глава 1. Историческая справка о развитии исследований черноморского калкана в ИнБЮМ	5
Глава 2. Икра калкана в море и эмбриогенез в искусственных условиях	13
2.1. Икра калкана в море	19
2.2. Морфологические характеристики икры рыб рода <i>Scophthalmus</i>	23
2.3. Оплодотворение икры	29
2.4. Морфологические особенности черноморского калкана в период эмбрионального развития	35
2.5. Влияние температуры и солёности на эмбриогенез калкана	51
Глава 3. Развитие и рост личинок и мальков калкана и тюрбо	54
3.1. Период эндогенного и смешанного питания личинок	56
3.2. Период полностью экзогенного питания	67
3.3. Феномен метаморфоза камбалообразных	84
3.4. Рост личинок и мальков	99
Глава 4. Пищевое поведение, пищевые потребности, питание и кормление личинок и мальков рыб рода <i>Scophthalmus</i>	107
4.1. Общие сведения о питании личинок рыб рода <i>Scophthalmus</i>	107
4.2. Влияние особенностей зрения и света на пищевое поведение личинок	110
4.3. Морфометрические критерии живых кормов	113
4.4. Хемо- и механорецепторика питания	114
4.5. Этолого-функциональные критерии питания	114
4.6. Живые корма при разных схемах выращивания личинок	120
4.7. Пищевое поведение личинок калкана на разных этапах развития	131
4.8. Изменение пищевого поведения личинок калкана под влиянием типа пищи и температуры	134
4.9. Избирательность питания личинок рыб рода <i>Scophthalmus</i>	136
4.10. Биохимические критерии адекватности пищи	140
4.11. Количественные характеристики питания личинок	147
4.12. Роль микроводорослей при питании личинок живыми кормами	149
4.13. Влияние вида корма на рост и рационы личинок	152
4.14. Питание личинок рыб рода <i>Scophthalmus</i> в естественных условиях, изменения в приоритетах питания с возрастом	153

4.15. Перевод на питание инертными кормами и подращивание мальков	157
4.16. Потребности мальков в белках, липидах и жирных кислотах	163
Глава 5. Ретроспектива развития промышленной марикультуры тюрбо	168
5.1. Программы, научно-технические разработки и финансовые затраты на развитие промышленного выращивания тюрбо	172
5.2. Ранние эксперименты по культивированию рыб, в частности камбалообразных	174
5.3. От начальных экспериментов до доходной отрасли рыбной промышленности – аквакультуры тюрбо в Европе	179
5.4. Разработка технологии выращивания камбал	182
5.5. Начало коммерциализации аквакультуры тюрбо	185
5.6. Истории развития наиболее известных крупных европейских компаний по производству тюрбо	190
5.7. Развитие аквакультуры тюрбо в Китае	210
Заключение	220
Список литературы	221

CONTENTS

Introduction	5
Chapter 1. Historical summary on the Black Sea turbot research in IBSS	13
Chapter 2. The Black Sea turbot eggs in the sea and embryogenesis in experimental conditions	19
2.2. The Black Sea turbot eggs in the sea	19
2.2. Morphology of <i>Scophthalmus</i> eggs	23
2.3. Fertilization of the eggs	29
2.4. Morphological changes in the Black Sea turbot during embryonic development	35
2.5. Impact of temperature and salinity on embryogenesis of the Black Sea turbot	51
Chapter 3. Development and growth of the larvae and fry of the Black Sea and the Atlantic turbot	54
3.1. Endogenous and mixed feeding period	56
3.2. Exogenous feeding period	67
3.3. Phenomenon of metamorphosis in flatfish	84
3.4. Larval and fry growth and development	99
Chapter 4. Feeding behavior, nutritional requirements, nutrition and feeding of larvae and fry of <i>Scophthalmus</i> genera	107
4.1. General information on nutrition of turbot larvae	107
4.2. Impact of visual perception and light on larvae feeding	110
4.3. Live food morphometric criteria	113
4.4. Chemo – and mechanoreception in feeding	114
4.5. Ethological and functional criteria in feeding	114
4.6. Live food in different rearing systems	120
4.7. Changes of foraging behavior during turbot development	131
4.8. Impact of prey and temperature on larvae feeding	134
4.9. Selectivity of feeding	136
4.10. Biochemical criteria of food and larvae nutrient requirements	140
4.11. Quantitative characteristics of larvae feeding	147
4.12. Role of microalgae during live food feeding	149
4.13. Effect of live food prey on growth and development	152
4.14. Changes in live food prey priorities with developmental stage of turbot in natural environment	153
4.15. Transition to inert food and growing of turbot fry in captivity	157

4.16. Nutritional requirements of turbot in proteins, lipids and fatty acids	163
Chapter 5. Retrospective of industrial mariculture of turbot	168
5.1. Programmes, research and development and financial support for development of industrial mariculture of turbot	172
5.2. Early experiments on fish cultivation, flatfish in particular	174
5.3. From initial experiments to profitable industry – industrial turbot aquaculture in Europe	179
5.4. Development of flatfish rearing technology	182
5.5. Start of turbot aquaculture commercialization	185
5.6. The history of formation and development of the most famous industrial turbot aquaculture companies in Europe	190
5.7. Rapid development of turbot aquaculture in China	210
Conclusions	220
References	221

Научное издание

Ханайченко А. Н., Гирагосов В. Е.

Черноморский калкан и его ближайший родственник, тюрбо

Часть 1.

Подписано в печать 01.12.2021

Формат 84x108/16. Печать офсетная.

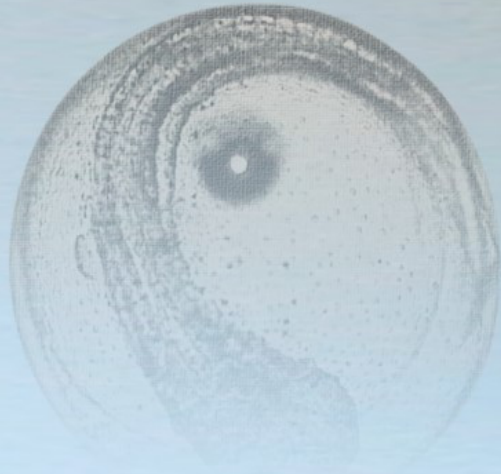
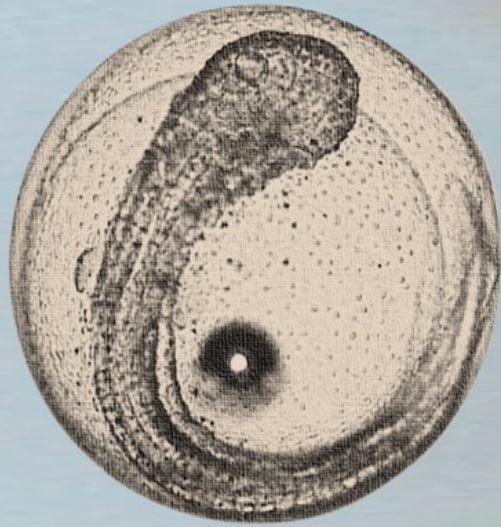
Бумага офсетная. Гарнитура Times New Roman.

Усл.-печ. л. 26.46 Тираж 300 экз. Заказ № 253

Вёрстка и печать: ООО «Полиграфический комплекс «КИА»

Россия, г. Севастополь, пр. Героев Сталинграда, 51,

тел. (8692) 42-28-78, e-mail: kia01@mail.ru



ISBN 978-5-6044865-6-6



9 785604 486566