



УДК 595.18:579:582.26/27:591.13

Т. В. Рауэн, вед. инж., В. С. Муханов, к. б. н., зав. лаб., А. Н. Ханайченко, к. б. н., ст. н. с.

Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского Национальной академии наук Украины, Севастополь, Украина

ПРОДУКЦИОННЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ КОЛОВРАТОК *BRACHIONUS PLICATILIS* ПРИ ПИТАНИИ МИКРОВОДОРОСЛЯМИ РАЗНЫХ ТАКСОНОМИЧЕСКИХ ГРУПП

Экспериментально определены продукционные показатели коловраток *Brachionus plicatilis* (прирост численности, скорость фильтрации, рацион, удельная скорость и валовая эффективность роста K_1) в накопительной культуре при питании микроводорослями *Dunaliella salina*, *Isochrysis galbana* и *Phaeodactylum tricorutum*. Максимальные численности коловраток (320 экз. мл⁻¹), удельная скорость их роста (1.4 сут⁻¹) и K_1 (27.6%) получены при питании микроводорослями *P. tricorutum*, при этом скорость фильтрации микроводорослей была минимальной (1.4 мкл экз.⁻¹ ч⁻¹). Питание микроводорослями *I. galbana* требовало высоких скоростей фильтрации среды (2.3 мкл экз.⁻¹ ч⁻¹) и величин рациона (0.17 мкг сыр. в. экз.⁻¹ ч⁻¹), но обеспечивало низкую эффективность роста ($K_1 = 11.3\%$). Таким образом, *P. tricorutum* является оптимальным для питания *B. plicatilis*. Бактерии, вносимые в экспериментальную среду с неаксеничными культурами микроводорослей, активно выедались коловратками. Бактериальный рацион коловраток, измеренный в эксперименте (1.5 – 4 нг сыр. в. экз.⁻¹ ч⁻¹), может быть значительно недооценён при условии, что бактериальная продукция в экспериментальных сосудах существенно превышала таковую в контроле.

Ключевые слова: коловратки, *Brachionus plicatilis*, проточная цитометрия, продуктивность, рацион, фильтрация, валовая эффективность роста, микроводоросли, *Dunaliella*, *Isochrysis*, *Phaeodactylum*

Коловратки рода *Brachionus* – незаменимый стартовый корм для личинок многих видов рыб в аквакультурных производствах. Малые размеры, невысокая подвижность и толерантность к аутоингибированию при высоких плотностях определяют их технологичность при выращивании в массовых культурах. В питомниках при культивировании молоди морских рыб используют партеногенетические клоны коловраток *Brachionus plicatilis*, т.к. их продукционные показатели легко поддаются регулированию [10]. Однако проблема совершенствования технологии культивирования *B. plicatilis*, несмотря на все предпринимаемые для её решения усилия [9, 10], остаётся актуальной, т.к. выращивание коловраток требует значительных материальных затрат и повышения рентабельности культивирования за счёт использования более экономных способов массового разведения. Оптимизировать технологии выращивания коловраток можно за счёт изменения целого ряда факторов культивирования, важнейшим из которых является трофический.

По типу питания коловратки *B. plicatilis* являются седиментаторами (вертикаторами) [4] и мо-

гут питаться бактериями, микроводорослями и дрожжами [14]. В аквакультуре часто используют искусственные питательные смеси (SELCO) [2], однако наилучшим кормом для получения качественной продукции коловраток остаются микроводоросли. Видовой состав микроводорослей, которыми могут питаться коловратки, широк. Продукционные показатели их популяции в значительной степени определяются видом микроводорослей, которыми они питаются [22].

Для насыщения коловраток используют неаксеничные культуры микроводорослей, что часто приводит к бактериальной контаминации среды выращивания. Высокие численности бактерий в среде и их активное потребление коловратками может иметь негативные последствия, вплоть до отказа личинок рыб от данного вида корма [20]. Эта проблема остается малоизученной, поскольку выедание бактерий коловратками, сопутствующее их питанию клетками микроводорослей, как правило, не принимается во внимание и не оценивается количественно в эксперименте.

С учётом перечисленных выше проблем, основная задача данного исследования состояла в количественной оценке основных продукционных показателей коловраток *B. plicatilis* при их питании микроводорослями разных таксономических групп с целью оптимизации технологии их выращивания. Специальное внимание было уделено исследованию динамики бактерий в среде выращивания и оценке их вклада в рацион коловраток на стадии истощения основного пищевого ресурса.

Материал и методы. В эксперименте использовали партеногенетический клон коловраток *B. plicatilis* из лаборатории культивирования камбалы-калкана, а также 3 вида микроводорослей: *Dunaliella salina* Teod., 1905 (Chlorophyceae), *Isochrysis galbana* Parke, 1949 (Prymnesiophyceae), *Phaeodactylum tricornutum* Bohlin, 1897 (Bacillariophyceae), полученные из маточных культур коллекции микроводорослей отдела физиологии водорослей ИнБИОМ НАНУ (г. Севастополь). Микроводоросли культивировали на среде Уолна при темпе-

ратуре $24 \pm 1^\circ\text{C}$, постоянном освещении 5 тыс. люкс, без продувки. В экспериментах использовали аликваты культур в экспоненциальной фазе роста.

Коловраток предварительно адаптировали к условиям эксперимента и к питанию каждым из видов микроводорослей. Для очищения среды *B. plicatilis* от клеток микроводорослей, которые могли бы повлиять на результат, за 12 ч до начала эксперимента коловраток промыли, сконцентрировали и разбавили их культуру стерильной морской водой. Подготовленную культуру коловраток поместили в конические колбы, содержащие 200 мл вышеперечисленных видов микроводорослей. Начальные численности коловраток в экспериментальных колбах составляли 25 экз. мл⁻¹, биомассы микроводорослей ≈ 175 мкг сыр. в. мл⁻¹ (табл. 1).

Концентрацию клеток микроводорослей разных видов перед экспериментом уравнивали по биомассе путем разбавления исходной культуры стерильной морской водой.

Табл 1 Начальная численность, объём и биомасса клеток микроводорослей в экспериментальных (с коловратками) и контрольных (без коловраток) сосудах

Table 1 Initial numbers, biomasses and cell volumes of microalgae in experimental (with rotifers) and control (with no rotifers) vessels

Вид микроводорослей	Объём клетки (мкм ³ \pm дов. инт.)	Численность (тыс. кл. мл ⁻¹)	Биомасса (мкг сыр. в. мл ⁻¹)
<i>Dunaliella salina</i>	151.3 \pm 7.5	1158.3	175
<i>Isochrysis galbana</i>	48.5 \pm 3.3	3606.58	175
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	27.2 \pm 0.2	6623.02	180

Для учёта роста численности клеток микроводорослей в опытных сосудах в эксперимент ввели контрольные сосуды с микроводорослями (без выедателей), биомасса которых также была равна (≈ 175 мкг сыр. в. мл⁻¹). Все дальнейшие расчёты проводили с учётом контроля.

Эксперимент проводили в течение 4-х сут. Для оценки численности коловраток, микроводорослей и бактерий в экспериментальных сосудах отбирали пробы воды каждые 24 ч в трёх повторностях. Численность коловраток определяли прямым подсчётом в камере Богорова, биомассу животных рассчитывали по их размерам (средний сырой вес особи составлял 3.05 мкг). Для пересчёта сырого веса в сухой и в единицы углерода применяли соотношение 20:10:1 [8, 11].

Численность микроводорослей и бактерий, а также размеры клеток микроводорослей опреде-

ляли цитометрическим методом. Биомассу микроводорослей (сыр. в.) рассчитывали по их размерам. Цитометрические данные калибровали микроскопическим методом, учитывая морфологию клеток каждого из видов микроводорослей [5, 6].

Цитометрические измерения и анализ проводили с помощью проточного цитометра CytomicsTM FC 500 (Beckman Coulter, США), оборудованного 488 нм однофазным аргоновым лазером, и программного обеспечения СХР. Общую численность микроводорослей определяли в неокрашенных пробах с помощью гейтинга популяции клеток на 2-параметрических цитограммах прямого светорассеивания (FS) и автофлуоресценции в красной области спектра (FL4, 675 нм) на безразмерных логарифмических шкалах. Численность бактерий определяли в пробах, окрашенных SYBR Green I (Molecular Probes, США), с помощью гейтинга

популяции клеток на 2-параметрических цитограммах прямого светорассеивания (FS) и флуоресценции SYBR Green I в зелёной области спектра (канал FL1, 525 нм) на безразмерных логарифмических шкалах.

Окраску бактерий SYBR Green I производили в соответствии с [17]. Рабочий раствор красителя готовили в разбавлении 10^{-2} и хранили в замороженном состоянии при -20°C . Конечное разбавление в пробе составляло 10^{-4} . Окраску производили в темноте в течение 30 мин непосредственно перед цитометрическими измерениями.

Концентрацию клеток бактерий и микроводорослей рассчитывали по скорости протока пробы (соответственно 15 и 60 мкл мин. $^{-1}$), времени счёта (100-360 с) и количеству клеток, зарегистрированных в этот промежуток времени (в пробах микроводорослей – минимум 3000 кл. для каждой из повторностей). Контроль качества измерений производили с помощью калибровочных флуоросфер Flow-CheckTM (Beckman Coulter) с известной концентрацией в пробе.

В ходе эксперимента проведён сравнительный анализ основных продукционных показателей коловраток, таких как прирост численности, скорость фильтрации, рацион, удельная скорость и валовая эффективность роста (K1) при питании каждым из видов микроводорослей; исследована также динамика численности бактерий в опыте (среде с коловратками) и в контроле (в отсутствии коловраток) в зависимости от вида микроводорослей.

В основу расчётов индивидуального рациона коловраток (G , мкг сыр. в. экз. $^{-1}$ час. $^{-1}$) и скорости фильтрации ими микроводорослей (F , мкл экз. $^{-1}$ час. $^{-1}$) (иными словами, скорости осветления среды – clearance rate) положены следующие формулы [12]:

$$F = \frac{V}{n} \times \frac{\ln C_t^k - \ln C_t^o}{\Delta t}, \quad G = F \times \frac{C_t^o - C_o}{\ln C_t^o - \ln C_o},$$

где V – объём среды в сосуде (мл); n – число коловраток в сосуде (экз.); C_o – начальные численности микроводорослей в контроле и эксперименте (кл. мл $^{-1}$); C_t^k и C_t^o – конечные численности микроводорослей, соответственно, в контроле и эксперименте, Δt – продолжительность эксперимента (ч).

Эта схема расчёта учитывает изменения численности (или биомассы) микроводорослей в контрольных сосудах, однако она применима толь-

ко в том случае, если начальные численности микроводорослей одинаковы в контрольных и экспериментальных сосудах. Если же ставится задача исследования динамики изменений G и F во времени, которая предполагает проведение серии измерений, это условие невыполнимо для всех исследуемых промежутков времени, начиная со второго (из-за расхождения кривых роста микроводорослей в контроле и эксперименте). Поэтому мы модифицировали приведённые выше формулы, включив в них обе начальные численности микроводорослей – в контроле и эксперименте, и введя расчёт средней численности выедателей для случаев, когда она меняется на протяжении эксперимента. Универсальная схема расчёта G и F , использованная нами:

$$F = \frac{1}{N_{av}} \times \frac{\ln C_t^o - \ln C_t^k}{\Delta t}, \quad N_{av} = \frac{N_t - N_o}{\ln N_t - \ln N_o},$$

$$C^k = C_t^k + C_o^o - C_o^k, \quad G = F \times \frac{C_t^o - C_o^o}{\ln C_t^o - \ln C_o^o},$$

где N_{av} , C_o^o и C_t^o – средняя, начальная и конечная численности (или биомассы) микроводорослей в эксперименте (кл. мл $^{-1}$ или мкг сыр. в. мл $^{-1}$); C_o^k и C_t^k – начальная и конечная численности микроводорослей в контроле; N_o и N_t – начальная и конечная численности коловраток (экз. мл $^{-1}$) в каждом из исследуемых временных интервалов. Скорость фильтрации рассчитывали по численностям микроводорослей, рацион – по биомассам.

Удельную скорость роста (μ , сут. $^{-1}$) коловраток рассчитывали по формуле [3]:

$$\mu = \frac{\ln N_t - \ln N_o}{\Delta t}.$$

Индивидуальную (в расчёте на одну особь) продукцию (P , мкг сыр. в. экз. $^{-1}$ час. $^{-1}$) коловраток определяли как отношение прироста их общей биомассы к средней численности за этот же период времени по формуле:

$$P = \frac{1}{N_{av}} \times \frac{B_t - B_o}{\Delta t},$$

где B_t и B_o – начальная и конечная биомассы коловраток. Общую биомассу (мг сыр. в.) рассчитывали по средним размерам организмов и их численности.

Валовую эффективность роста культуры (K1, %) коловраток определяли как отношение индивидуальной продукции P к рациону G [3].

Результаты и обсуждение. Динамика роста коловраток существенно отличалась при их питании разными видами микроводорослей (рис. 1 А), однако, в первые сутки эксперимента эти отличия были минимальны. На вторые

сутки удельные скорости роста коловраток достигли максимальных величин во всех сосудах (рис. 1 Б), при этом отмечено значительное отставание в росте численности коловраток при их питании *I. galbana* (рис. 1 А).

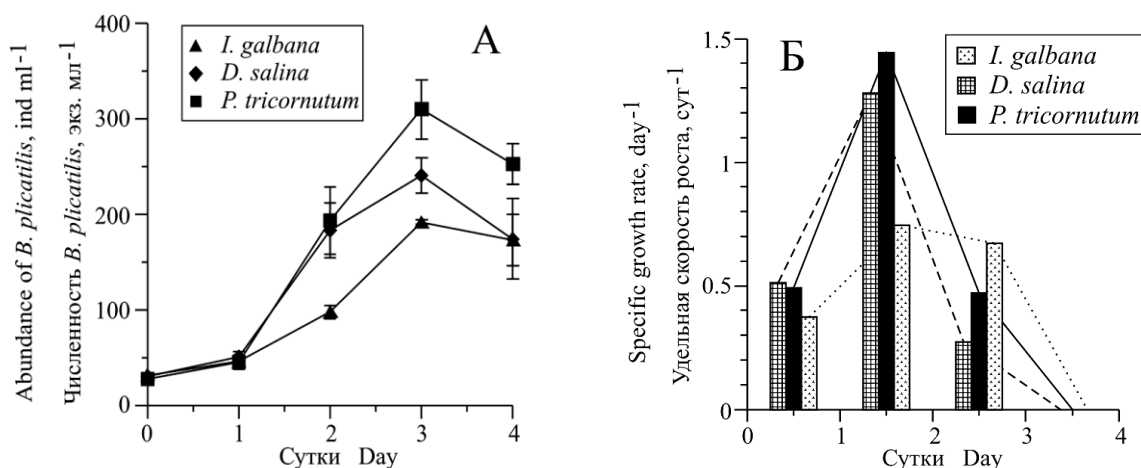


Рис. 1 Динамика численности (А) и удельная скорость роста (Б) *B. plicatilis* при питании микроводорослями *D. salina*, *I. galbana* и *P. tricornutum*

Fig. 1 Dynamics of abundance (А) and specific growth rate (Б) in *B. plicatilis* feeding on *D. salina*, *I. galbana* and *P. tricornutum*

В целом удельные скорости роста коловраток, полученные в наших экспериментах, соответствуют ранее опубликованным величинам [4], охватывая весь диапазон их изменений от 0 до 1.5 сут⁻¹. По [7], максимальная скорость роста *B. plicatilis* не превышает 0.054 ч⁻¹, т.е. около 1.3 сут⁻¹. Однако при питании водорослью *Synechococcus* (7×10^6 кл мл⁻¹) этот вид демонстрировал рекордные скорости роста – до 1.58 сут⁻¹ [13]. Близкие значения μ мы получили на вторые сутки эксперимента с культурами *D. salina* и *P. tricornutum*. Рост коловраток в первые сутки характеризовался меньшими величинами μ , 0.35 – 0.5 сут⁻¹, которые типичны при питании разными водорослевыми кормами, включая *I. galbana* [2, 15]. Начальная концентрация микроводорослей в наших экспериментах была высока (около 10 мкг С мл⁻¹), что может служить одним из объяснений высокой удельной скорости роста коловраток.

Максимальная численность *B. plicatilis* во всех экспериментальных сосудах была достигнута на третьи сутки роста, причем наи-

большой прирост был получен на *P. tricornutum*, а наименьший – на *I. galbana*. В это же время удельные скорости роста коловраток при питании *D. salina* и *P. tricornutum* резко снизились в связи с их значительным выеданием и резким снижением концентрации их. Начиная с 4-х суток эксперимента, численность коловраток во всех сериях экспериментов резко упала, что связано с полным исчерпанием пищевых ресурсов (микроводорослей). Таким образом, с учётом того, что стартовая численность коловраток и биомассы предложенных в качестве корма видов микроводорослей были одинаковы, можно заключить, что наибольший прирост биомассы коловраток был получен при питании *P. tricornutum*, а наименьший – при питании *I. galbana*, который широко используется в аквакультуре *B. plicatilis*.

Рост микроводорослей в контроле отличался незначительно (рис. 2 А). Несмотря на то, что при питании коловраток *P. tricornutum* был получен максимальный прирост их численности, биомасса микроводорослей этого

вида снижалась медленнее, видимо, в связи с тем, что темпы выедания его клеток были ниже по сравнению с другими видами. В соответствии с динамикой биомассы микроводорослей, рацион коловраток, питающихся *P. tricornutum* в первые сутки эксперимента, был значительно ниже, чем на других видах микроводорослей (рис. 2 Б). На вторые сутки он резко снижался во всех сосудах, в большей степени – при питании *I. galbana* и *D. salina*, поскольку коловратки быстрее их отфильтровывали.

Относительно высокие значения рациона коловраток на вторые сутки эксперимента, полученные при их питании *P. tricornutum*, можно также объяснить большим приростом микроводорослей в контроле (следовательно, и в экспериментальных сосудах). На третьи сутки с увеличением плотности коловраток (рис. 1) и снижением биомассы микроводорослей (рис. 2) происходило снижение рациона во всех экспериментальных сосудах, что согласуется с ранее опубликованными результатами [1].

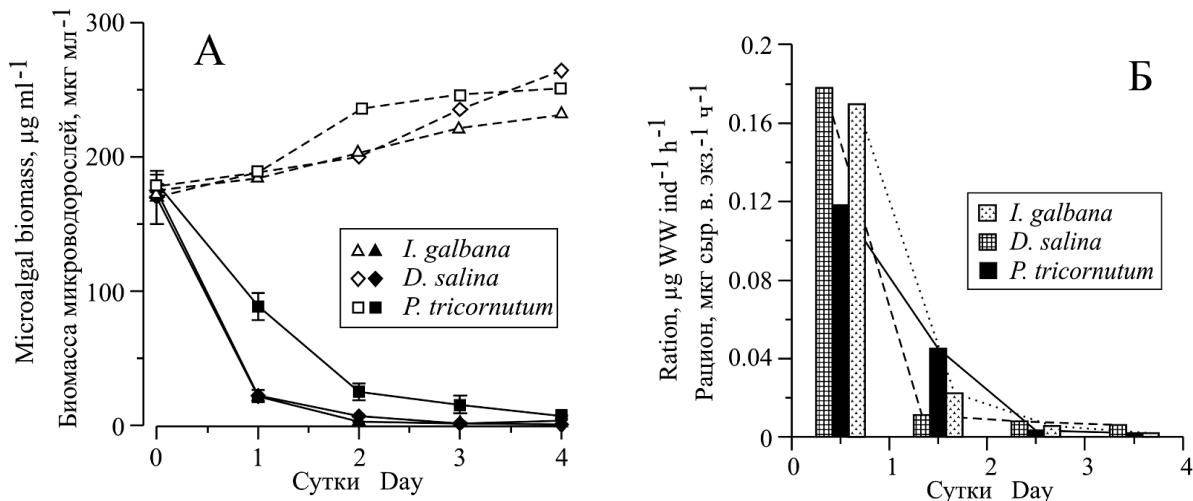


Рис. 2 Динамика биомассы микроводорослей (А) в контроле (пунктирные линии) и опыте (сплошные линии) и рациона коловраток *B. plicatilis* (Б) при питании микроводорослями *D. salina*, *I. galbana* и *P. tricornutum*

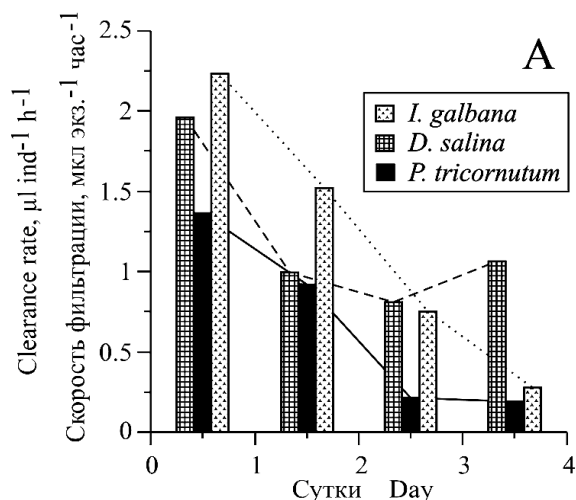
Fig. 2 Dynamics of microalgal biomass (A) in control (dashed lines) and test (solid lines) vessels and ration of *B. plicatilis* (B) feeding on *D. salina*, *I. galbana* and *P. tricornutum*

В соответствии с множественной регрессионной моделью [21], которая описывает зависимость рациона коловраток от веса особи, размеров потребляемого живого корма, объема среды, приходящегося на одну особь, и температуры, рацион *B. plicatilis* в первые сутки нашего эксперимента должен был бы составлять 0.67, 0.06 и 0.13 $\mu\text{г сыр. в. экз.}^{-1} \text{ч}^{-1}$ при питании, соответственно *D. salina*, *P. tricornutum* и *I. galbana*. Величины, которые мы получили (соответственно 0.18, 0.12 и 0.17 $\mu\text{г сыр. в. экз.}^{-1} \text{ч}^{-1}$), в целом хорошо согласуются с моделью. Расхождения связаны, на наш взгляд, с тем, что, во-первых, модель не учитывает концентрацию микроводорослей в среде, и, во-вторых, универсальность модели (она приме-

нима к большой систематической группе – кладоцерам) снижает точность её прогноза. Расчётная величина рациона на основе *P. tricornutum* сильно занижена, по-видимому, из-за малого размера клеток этого вида. Таким образом, модели с высокой степенью обобщения в подобного рода аппроксимациях должны применяться с большой осторожностью.

Применение к нашим данным другой регрессионной зависимости, полученной для пары *B. plicatilis* – *I. galbana* и описывающей связь рациона с температурой и концентрацией микроводорослей [19], даёт величину около 2000 кл. $\text{экз.}^{-1} \text{ч}^{-1}$. В первые сутки эксперимента рацион коловраток, питающихся *I. galbana*, был существенно выше – 3260 кл. $\text{экз.}^{-1} \text{ч}^{-1}$.

Мы не считаем полученные оценки завышенными по нескольким причинам. Во-первых, максимальный рацион коловраток рода *Brachionus* может достигать 4000 кл. экз.⁻¹ ч⁻¹ [23]. Есть и иные работы, в которых приводятся рационы *B. plicatilis* при питании *I. galbana* [15], значительно превышающие те, что получены в нашем исследовании (20 против 9 нг С экз.⁻¹ ч⁻¹). Во-вторых, данная регрессионная модель построена на основе ограниченных экспериментальных данных – численность микроводорослей не превышала 1.0×10^6 кл. мл⁻¹. В-третьих, сам вид зависимости (комбинация кривой Холлинга и сигмоидной функции) предполагает наличие некоторого плато – предельно допустимого значения рациона, который составляет 2040 кл. экз.⁻¹ ч⁻¹ (или 34 кл. экз.⁻¹ мин.⁻¹) и не может быть превышен при увеличении концентрации корма и температуры. Наши результаты указывают на то, что в модели [19] пороговая величина рациона сильно занижена.



Таким образом, результаты, представленные на рис. 1 и 2, позволили предположить, что насыщение коловраток *P. tricorntutum* происходило быстрее. Они утилизировали *P. tricorntutum* для своего роста более эффективно, чем другие виды, и это преимущество могло быть реализовано на всех стадиях питания – от поимки и обработки отдельных клеток микроводорослей до процессов преобразования их биомассы в биомассу выедателей.

Действительно, расчёты скоростей фильтрации микроводорослей *F* (рис. 3, график слева), показали, что при питании *P. tricorntutum* коловратки облавливали меньший объём в единицу времени. Высокие скорости фильтрации *D. salina* и *I. galbana* косвенно указывали на то, что коловратки затрачивали больше усилий (и, следовательно, энергии) на поиск и поимку этих видов, что могло быть одной из причин того, что общий прирост при питании этими видами был низким.

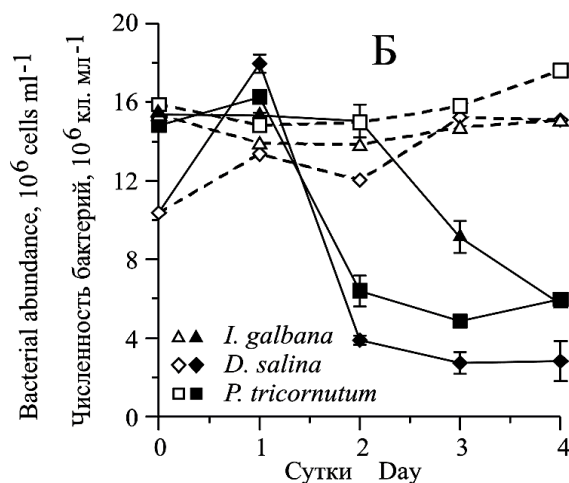


Рис. 3 Скорость фильтрации среды коловратками *B. plicatilis* (А) при питании *D. salina*, *I. galbana* и *P. tricorntutum* и динамика численности бактерий (Б) в контроле (прерывистые линии) и опыте (сплошные линии)
Fig. 3 Dynamics of clearance rate in *B. plicatilis* (A) feeding on *D. salina*, *I. galbana* and *P. tricorntutum* and bacterial abundance (Б) in control (dashed lines) and test (solid lines) vessels

Доступные в литературе оценки скорости осветления среды *B. plicatilis* варьируют в широком диапазоне – от 0 до 90 мкл экз.⁻¹ ч⁻¹, однако величины *F* в несколько десятков мкл вызывают большие сомнения. В некоторых случаях приводятся некорректные значения,

по-видимому, вследствие опечаток или ошибок в расчётах. Например, в [26] на графике величины *F* составляют 8 – 28 мкл экз.⁻¹ ч⁻¹, тогда как в соответствии с табличными данными из этой же работы фильтрация *I. galbana* в смеси микроводорослей равна 35 мкл экз.⁻¹ ч⁻¹ (при кон-

центрации изохризиса 0.3×10^6 кл. мл⁻¹), что более чем на порядок выше наших оценок. В [24] приведены значения 5 – 7 мкл экз.⁻¹ ч⁻¹ для *D. salina*, однако указана абсурдно низкая концентрация микроводорослей – 50 – 200 кл. мл⁻¹. Другие авторы [15] получили близкие значения для пары *B. plicatilis* - *I. galbana* – 0.1 – 8.0 мкл экз.⁻¹ ч⁻¹, которые хорошо согласуются с нашими данными и публикациями по другим видам коловраток. Величина *F* составляла около

1 мкл экз.⁻¹ ч⁻¹ при концентрации микроводорослей 10 мкг С мл⁻¹, что несколько ниже наших оценок.

Экспериментальные данные о приросте и рационе коловраток при питании каждым из видов микроводорослей позволили оценить индивидуальную продукцию *B. plicatilis* в единицах биомассы и эффективность роста *K_I* (табл. 2).

Табл. 2 Продукционные показатели и рацион *B. plicatilis* в первые сутки эксперимента
Table 2 Productivity indices and ration in rotifer *B. plicatilis* in the first day of the experiment

Продукционные показатели и рацион	<i>D. salina</i>	<i>P. tricornutum</i>	<i>I. galbana</i>
Общая продукция (мкг сыр. в. мл ⁻¹ ч ⁻¹)	33.7	28.3	17.9
Продукция на особь (нг сыр. в. экз. ⁻¹ ч ⁻¹)	35.3	32.6	19.2
Рацион (нг сыр. в. экз. ⁻¹ ч ⁻¹)	178	118	170
Эффективность роста <i>K_I</i> (%)	19.8	27.6	11.3

Расчёты произведены только для первых суток эксперимента, поскольку в подобно-го рода измерениях их ошибка растёт с увеличением его продолжительности [2]. Расчёты показали, что величина *K_I* изменялась в широком диапазоне (от 10 до 30%) в зависимости от вида корма: при питании *P. tricornutum* она составила 27.6, *D. salina* – 19.8 и *I. galbana* – 11.3% (табл. 2). Эти величины *K_I* хорошо согласуются с немногочисленными опубликованными оценками эффективности роста *B. plicatilis* на микроводорослевых кормах, которые лежат в диапазоне 0.2 – 0.4 [2, 16]. Валовая эффективность роста *B. plicatilis* на *I. galbana* оказалась столь низкой, что вышла за пределы этого диапазона

Таким образом, максимальный прирост численности коловраток в течение первых 3 сут эксперимента при питании *P. tricornutum* был достигнут при более низком рационе, скорости фильтрации (и, следовательно, при более низких физиологических тратах на фильтрацию) и при самой высокой эффективности роста по сравнению с группами коловраток, питавшихся *D. salina* и *I. galbana*.

В случае дефицита кормовых ресурсов *B. plicatilis* способны восполнять свой рацион бактериями, поэтому особый интерес представляла информация о динамике бактериальной популяции в каждом из экспериментальных сосудов.

В контроле она менялась незначительно, тогда как в опыте – снижалась более чем вдвое (рис. 3 Б). Это действительно указывало на то, что после исчерпания основного пищевого ресурса – микроводорослей, коловратки пополняли свой рацион бактериями, причём скорость их фильтрации была достаточно велика – максимальные величины составляли 0.58 (*P. tricornutum*, 2-е сут), 0.38 (*D. salina*, 2-е сут) и 0.17 мкл экз.⁻¹ ч⁻¹ (*I. galbana*, 3-е сут). Однако вклад бактерий в общий рацион коловраток оказался на 2 порядка ниже – его расчётные величины составляли от 1.5 до 4 нг сыр. в. экз.⁻¹ ч⁻¹ (против 120 – 180 нг сыр. в. экз.⁻¹ ч⁻¹ для микроводорослей). Следует отметить, что бактериальная часть рациона коловраток могла быть сильно недооценена из-за заниженной оценки бактериальной продукции в опыте. Несмотря на малый прирост бактерий в контроле,

в опытных сосудах бактериальная продукция могла быть велика, например, из-за разрушения клеток микроводорослей в процессе их выедания и, как следствие, поступления в среду большого количества органических веществ. На это, в частности, указывает всплеск бактериальной численности в опытных сосудах в первые сутки эксперимента (пики бактериальной численности в сосудах с *P. tricorutum* и *D. salina* в опыте на вторые сутки эксперимента, рис. 3 Б). Кроме того, в ряде экспериментальных и полевых исследований показано, что увеличение пресса выедания стимулирует рост бактериальных популяций [18]. Чтобы корректно и в полной мере оценить долю бактерий в общем рационе *B. plicatilis*, необходимо измерять валовую бактериальную продукцию в опытных сосудах, а это методологически сложно. Одним из решений этой задачи могло бы стать применение метода разбавлений [25], который позволяет одновременно измерять как скорость элиминации микроорганизмов вслед-

ствие их выедания, так и удельную скорость их роста.

Выводы. 1. При равных стартовых биомассах микроводорослей наибольший прирост численности коловраток получен при их питании *Phaeodactylum tricorutum*, наименьший – при питании *Isochrysis galbana*. 2. Эффективность роста (K_1) коловраток также была максимальна (27.6%) при питании *P. tricorutum* и минимальна (11.3%) – при питании *I. galbana*. Рацион и скорость фильтрации зависели от величины K_1 , а именно, при низких значениях K_1 (*Dunaliella salina*, *I. galbana*) коловратки облавливали больший объём среды и тем самым увеличивали рацион. 3. Доля бактерий в общем рационе коловраток увеличивалась по мере исчерпания основного пищевого ресурса – микроводорослей, однако вклад бактерий в питание коловраток можно считать незначительным. 4. *P. tricorutum* может быть рекомендован в качестве одного из эффективных кормов при культивировании коловраток *B. plicatilis*.

1. Бакаева Е. Н. Эффективность роста коловраток в условиях аквакультуры: Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. – Мн., 1992. – 20 с.
2. Галковская Г. А., Митянина И. Ф., Головчиц В. А. Эколого-биологические основы массового культивирования коловраток. – Мн.: Наука и техника, 1988. – 143 с.
3. Заика В. Е. Сравнительная продуктивность гидробионтов. – Киев: Наук. думка, 1983. – 208 с.
4. Киселев И. А. Планктон морей и континентальных водоемов. – Л.: Наука, 1980, т 2. – С. 316 – 317.
5. Сеничкина Л. Г. Вычисление объёмов клеток диатомовых водорослей с использованием коэффициентов объёмной полноты // Гидробиол. журн. – 1986. – 22, № 1. – С. 56 – 59.
6. Сеничкина Л. Г. К методике вычисления объема клеток фитопланктона // Гидробиол. журн. – 1978. – 14, № 5. – С. 102 – 105.
7. Boraas M. E. Population dynamics of food – limited rotifers in two-stage chemostat culture // Limnol. Oceanogr. – 1983. – 28. – P. 546 – 563.
8. Bottrell H. H., Duncan A., Gliwicz Z. M., Grygierek E. et al. A review of some problems in zooplankton production studies // Norw. J. Zool. – 1976. – 24. – P. 419 – 456.
9. Dhert P., Rombaut G., Suantika G., Sorgeloos P. Advancement of rotifer culture and manipulation techniques in Europe // Aquaculture. – 2001. – 200. – P. 129 – 146.
10. Dhert P. Rotifers. In: Manual on the Production and Use of Live Food for Aquaculture. FAO Fisheries Technical Paper. – №. 361. P. Lavens & P. Sorgeloos (Eds.). – Rome, FAO. – 1996. – P. 298.
11. Doohan M. An Energy Budget for adult *Brachionus plicatilis* Muller (Rotatoria) // Oecologia. – 1973. – 13. – P. 351 – 362.
12. Frost B. W. Effects of size and concentration of food particles on the feeding behavior of the Marine planktonic copepod *Calanus Pacificus* // Limnol. Oceanogr. – 1972. – 6. – P. 805 – 815.
13. Ito N., T. Iwai T. Studies on the 'Mizukawari' in eel-culture ponds. IV. The vertical distributions of *Brachionus plicatilis* in 'Mizukawari' ponds // Rep. Fac. Fish. prefect. Univ. Mie. – 1956. – 2. – P. 335 – 346.
14. Joontaek L., Taeyun K., Seokhwan H. Treatment of fish-processing wastewater by co-culture of *Candida rugopelliculosa* and *Brachionus plicatilis* // Water Research. – 2003. – 37. – P. 2228 – 2232.

15. Korstad J., Vadstein O., Olsen Y. Feeding kinetics of *Brachionus plicatilis* fed *Isochrysis galbana* // Hydrobiologia. – 1989. – **186/187**. – P. 51 – 57.
16. Kureha H. The experimental studies on the population growth of marine rotifer, *Brachionus plicatilis* O. F. Mueller: Investigation of culture systems // Aquaculture. – 1979. – **26** (4). – P. 178 – 182.
17. Marie D., Partensky F., Jacquet S. et al. Enumeration and cell cycle analysis of natural populations of marine picoplankton by flow cytometry using the nucleic acid stain SYBR Green I // Appl. Environ. Microbiol. – 1997. – **63**. – P. 186 – 193.
18. McManus G. B., Fuhrman J. A. Control of marine bacterioplankton populations: Measurement and significance of grazing // Hydrobiologia. – 1988. – **159** (1). – P. 51.
19. Montagnes D., Kimmance S., Tsounis G. et al. Combined effect of temperature and food concentration on the grazing rate of the rotifer *Brachionus plicatilis* // Mar. Biol. – 2001. – **139**. – P. 975 – 979.
20. Nicolas J.L., Robic E., Ansquer D. Bacterial flora associated with a trophic chain consisting of microalgae, rotifers and turbot larvae: Influence of bacteria on larval survival // Aquaculture. – 1989. – **83**. – P. 237 – 248.
21. Peters R. H., Downing J. A. Empirical analysis of zooplankton filtering and feeding rates // Limnol. Oceanogr. – 1984. – **29** (4). – P. 763 – 784.
22. Planas M., Estevez A. Effects of diet on population development of the rotifer *Brachionus plicatilis* in culture // Helgoland Marine Research. – 1989. – **43**. – P. 171 – 181.
23. Pourriot R. Food and feeding habits of Rotiferes // Arch. Hydrobiol. Beih. – 1977. – **8**. – P. 243 – 260.
24. Schlosser H. L., Anger K. The significance of some methodological effects on filtration and ingestion rates of the rotifer *Brachionus plicatilis* // Helgolander Meeresunters. – 1982. – **35**. – P. 215 – 225.
25. Tremaine S. C., Mills A. L. Tests of the critical assumptions of the dilution method for estimating bacterivory by microeucaryotes // Appl Environ Microbiol. – 1987. – **53** (12). – P. 2914 – 2921.
26. Zhou W., Tang X., Qiao X. et al. Ingestion of *Brachionus plicatilis* under different microalgae conditions // Chinese J. Oceanol. Limnol. – 2009. – **27** (3). – P. 473 – 479.

Поступила 20 октября 2011 г.
Поле доработки 11 мая 2012 г.

Продукційні показники коловраток *Brachionus plicatilis* при харчуванні мікроводоростей різних таксономічних груп. Т. В. Рауен, В. С. Муханов, А. Н. Ханайченко. Експериментально визначені продукційні показники коловраток *B. plicatilis* (приріст чисельності, швидкість фільтрації, раціон, питома швидкість і валова ефективність зростання K1) в накопичувальній культурі при харчуванні мікроводоростями *Dunaliella salina*, *Isochrysis galbana* і *Phaeodactylum tricornutum*. При цьому швидкість фільтрації мікроводоростей була мінімальна (1.4 мкл екз.⁻¹ ч⁻¹), тобто коловратки витрачали менше зусиль на піймання жертви. Харчування мікроводоростями *I. galbana* вимагало високих швидкостей фільтрації середовища (2.3 мкл екз.⁻¹ ч⁻¹) і величин раціону (0.17 мкг сир. ст екз.⁻¹ ч⁻¹), але забезпечувало низьку ефективність зростання (K1 = 11.3%). Таким чином, *P. tricornutum* є оптимальним для живлення *B. plicatilis*. Бактерії, що вносяться до експериментального середовища з неаксеничними культурами мікроводоростей, активно виїдалися коловратками. Бактерійний раціон коловраток, виміряний в експерименті (1.5 – 4 нг сир. ст екз.⁻¹ ч⁻¹), міг бути значно недооцінений за умови, що бактерійна продукція в експериментальних судинах істотно перевищувала таку в контролі.

Ключові слова: мікроводорості, коловратки, *Brachionus plicatilis*, проточна цитометрія, продуктивність, раціон, фільтрація, ефективність зростання, *Dunaliella*, *Isochrysis*, *Phaeodactylum*.

Productivity indices in rotifer *Brachionus plicatilis* feeding on microalgae of different taxonomic groups. T. V. Rauen, V. S. Mukhanov, A. N. Khanaichenko. Major productive indices (the rates of production, grazing and clearance; specific growth rate; gross growth efficiency) were estimated experimentally in batch cultures of the parthenogenetic strain of *Brachionus plicatilis* fed by *Dunaliella salina*, *Isochrysis galbana* and *Phaeodactylum tricornutum*. The highest rotifer numbers (320 ind ml⁻¹) their specific growth rates (1.4 day⁻¹) and gross growth efficiency (K1 = 27.6 %) were observed when they were fed by *P. tricornutum*. The rotifer clearance rate was lowest (1.4 μl ind⁻¹ h⁻¹), providing an indirect evidence that the rotifers made less efforts on locating and catching *P. tricornutum*. Feeding on *I. galbana* demanded higher clearance rate (2.3 μl ind⁻¹ h⁻¹) and ration (0.17 μg WW ind⁻¹ h⁻¹) but resulted in much lower K1 (11.3%). Thus, *P. tricornutum* proved to be the best live food for *B. plicatilis*. Bacteria introduced to the experimental medium with non-axenic microalgal cultures were actively grazed by rotifers. The bacterial ration of the rotifers (1.5 to 4 ng WW ind⁻¹ h⁻¹) was probably underestimated if the bacterial production in the test flasks was sufficiently higher than in the control ones (with no grazers).

Keywords: microalgae, rotifers, *Brachionus plicatilis*, flow cytometry, productivity, ration, clearance rate, gross growth efficiency, *Dunaliella*, *Isochrysis*, *Phaeodactylum*