



УДК 595.34: 574.583 (262.5)

Д. А. Литвинюк, вед. инж., Д. А. Алтухов, н.с., В. С. Муханов, канд. биол. наук, с.н.с.,  
Е. В. Попова, вед. инж.

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

## ДИНАМИКА ДОЛИ ЖИВЫХ СОРЕРОДА В ПЛАНКТОНЕ СЕВАСТОПОЛЬСКОЙ БУХТЫ И ОТКРЫТОГО ПРИБРЕЖЬЯ В 2010 – 2011 ГГ.

Проведён анализ сезонной динамики общей численности мезозoopланктона, вклада в неё копепод и вида вселенца *Oithona brevicornis*, а также доли живых организмов (ДЖО) на двух реперных точках в центральной части и на траверзе Севастопольской бухты. Для количественной оценки живой/мёртвой компоненты сообщества копепод и *O. brevicornis* использовали метод окраски зоопланктонных проб витальными красителями – нейтральным красным (НК) и диацетатом флуоресцеина (ДФ). Это первый опыт применения ДФ в исследованиях морского зоопланктона. Независимо от сезона и района исследования отмечена высокая вариабельность ДЖО (15 – 98 %). В открытых водах выявлена тенденция к снижению доли живых копепод и их вклада в общую численность мезозoopланктона в весенний период. Статистически достоверная корреляция между этими переменными может быть обусловлена ужесточением конкурентных отношений в сообществе. В подверженных интенсивному загрязнению водах бухты ДЖО в сообществе копепод была несколько выше, чем в открытом побережье (разница статистически недостоверна), что может быть связано как с высокой скоростью разложения погибших организмов, так и с устойчивостью массовых видов копепод к загрязнению. Высокая статистически достоверная корреляция между оценками ДЖО, полученными с помощью НК и ДФ, подтверждает возможность успешного применения ДФ в полевых исследованиях морского зоопланктона в качестве витального маркера.

**Ключевые слова:** Сорерода, *Oithona brevicornis*, живой и мёртвый зоопланктон, смертность, нейтральный красный, диацетат флуоресцеина, Севастопольская бухта

Оценить в полной мере состояние зоопланктонного сообщества, а также влияние антропогенного фактора на морские биоценозы невозможно без данных о соотношении живых и мёртвых организмов. Доля живых организмов (ДЖО) в сообществе может служить индикатором не только его функционального состояния, но и качества среды обитания.

Методики определения долей живого/мёртвого зоопланктона разрабатываются и применяются на практике с 30-х гг. прошлого века и по настоящее время. Для решения подобных задач используют два разных подхода: визуальное дифференцирование [2, 4, 8,9] и применение различных красителей [12 – 15, 18]. В нашей работе мы остановились на методе окрашивания нативной пробы зоопланктона двумя витальными красителями: нейтральным красным (НК) и диацетат флуоресцеином (ДФ), поскольку применение нескольких красителей одновременно позволяет уточнять и дополнять результаты. Это – первый опыт применения

ДФ в полевом исследовании морского зоопланктона.

Цель нашей работы заключалась в: а) сопоставлении результатов оценки ДЖО в зоопланктоне с помощью стандартного (НК) и нового (ДФ) маркеров и б) анализе сезонной динамики доли живого зоопланктона в районах с различной антропогенной нагрузкой.

Анализ ДЖО проводился только для Сорерода в связи, во-первых, с важной экологической ролью этой группы и их существенным вкладом в численность и функциональную активность сообщества зоопланктона [9], и, во-вторых, с методическими трудностями идентификации живых/мёртвых организмов в других группах. Особое внимание уделили недавнему вселенцу в Чёрное море – *Oithona brevicornis*. Этот вид постоянно обнаруживается в планктоне Севастопольской бухты с октября 2005 г. и является доминирующим. Среди

причин, обусловивших успешность его инвазии в Чёрное море, – толерантность к изменениям солёности и температуры [16]. Поскольку *O. brevicornis* достигает наибольшей численности в загрязнённых водах бухты, мы предположили, что данный вид толерантен и к неблагоприятным условиям среды и определили для него ДЖО отдельно.

**Материал и методы.** Пробы зоопланктона собирали ежемесячно на станциях № 1 (открытое

прибрежье – условно чистый район) и № 3 (центральная часть бухты, напротив Сухарной балки – условно грязный район с затруднённым водообменном, подверженный влиянию пресных вод р. Чёрная) по схеме станций долговременного изучения планктонного сообщества Севастопольской бухты и открытого побережья, проводимого отделом планктона ИнБЮМ с 2002 г. (рис. 1).

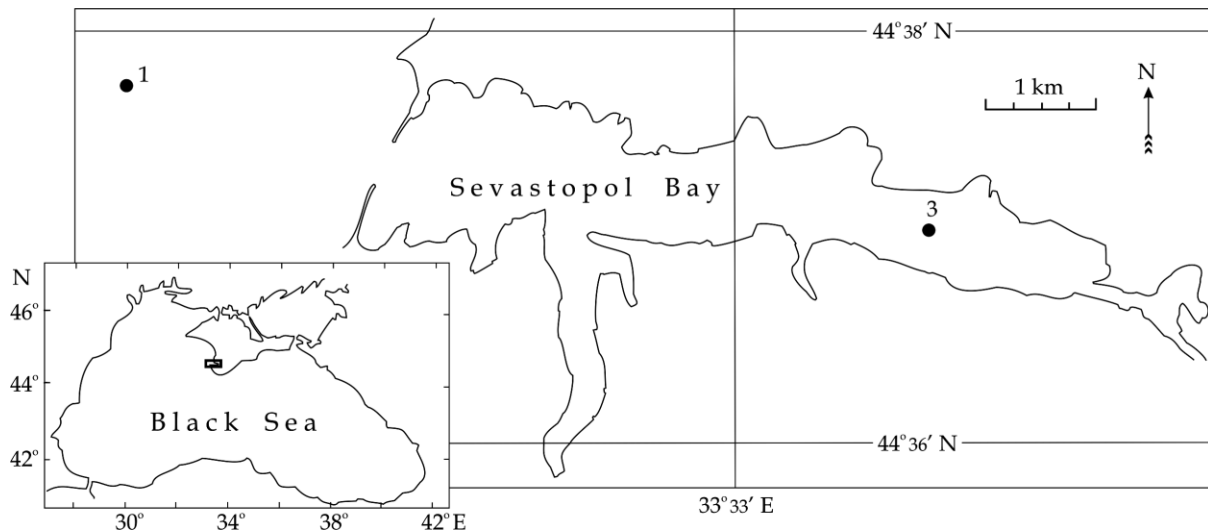


Рис. 1 Схема станций отбора проб; Fig. 1 The scheme of sampling stations

Выбор станций основан на опубликованных ранее гидрохимических данных по загрязнению грунтов и вод Севастопольской бухты и открытого побережья биогенными элементами, нефтепродуктами и тяжёлыми металлами [3, 5, 7]. В соответствии с результатами, представленными в [5], индекс суммарного загрязнения донных осадков центральной части бухты (ст. 3), как минимум, в пять раз превышает таковой на внешнем рейде в миле от бухты. По содержанию нефтепродуктов эта разница ещё более выражена и составляет несколько порядков величин. Имеющиеся гидрохимические данные дают достаточно оснований для того, чтобы считать корректным рассмотрение биологических переменных, измеренных на ст. 1 и 3, в аспекте сравнения морских акваторий, подверженных слабой и сильной антропогенной нагрузке.

Отбор проб производили большой сетью Джеди (размер ячеек 150 мкм) в утренние часы (10 – 12 ч) с октября 2010 по июнь 2011 гг. на ст. 1 и эпизодически в октябре 2010 и с февраля по июнь 2011 гг. – на ст. 3. На каждой станции отбирали по две пробы. Первую фиксировали формалином (конеч-

ная концентрация 4 %) для получения данных по общей численности зоопланктона стандартным методом обработки. Подсчёт организмов производили в камере Богорова под стереомикроскопом. Пробы обрабатывали порционным методом [11]. Определение веслоногих ракообразных производили до вида на всех стадиях развития (I – VI копеподитные стадии). Численность организмов пересчитывали на 1 м<sup>3</sup>. Вторую пробу не фиксировали и в течение короткого времени (до 2 ч) транспортировали в лабораторию в щадящих условиях (температура *in situ*, затемнение) для дальнейшей окраски и обработки новым запатентованным методом (заявка на изобретение № а201012023 от 11.10.2010) для подсчёта ДЖО. В лаборатории свежесобранную пробу в специальном стейнере разделяли на две равные части. Одну аликвоту окрашивали витальным красителем – нейтральным красным (НК), другую – диацетатом флуоресцеина (ДФ).

Окраску нейтральным красным производили в темноте по стандартному протоколу [18],

применяемому для морского зоопланктона (из расчёта на 1 мл пробы 1.5 мл красителя). Время окраски увеличивали до 2 – 4 ч для усиления её интенсивности и получения резерва времени для обработки проб ДФ.

Рабочий раствор ДФ готовили в диметилсульфоксиде (5 мг мл<sup>-1</sup>) и хранили при +4°C. Окрасивание пробы с помощью ДФ проводили из расчёта 1 мкл раствора ДФ на 1 мл пробы в соответствии с методом, широко применяемым в исследованиях морского фитопланктона [17]. Краситель добавляли по частям малыми порциями при интенсивном встряхивании колбы с пробой. Далее пробу инкубировали в темноте от 40 мин до 2 ч.

Окрашенные НК и ДФ пробы поочередно сливали, промывали от излишков маркёров фильтратом морской воды (3 мкм) и смывали в планктонный стакан до объёма, равного для обоих красителей. С помощью штемпель-пипетки (объём 1, 2 и 5 мл) отбирали одинаковые аликвоты из одинакового объёма минимум в двух повторностях. Количество особей, обработанных для каждого красителя, составляло от 100 до 450 экз.

Обработку проводили в камере Богорова, на микроскопе Nikon Eclipse TS100-F, оборудованного камерой Ikegami ICD-848P, в световом (светлое и тёмное поле для НК) и люминесцентном режимах (набор светофильтров для возбуждения в синей области спектра для ДФ).

Визуально оценивали наличие/отсутствие цвета у организмов, разделяя на три группы: живые (L), мёртвые (D) и спорные (Q). В режиме тёмного поля живые копеподы, окрашенные НК, имели красный цвет, в то время как мёртвые оставались бесцветными. Во флуоресцентном режиме организмы, окрашенные ДФ, светились зелёным цветом, а мёртвые были едва различимы. Копеподы, цвет/свечение которых был выражен слабо или фрагментарно, мы относили к группе организмов со спорной окраской (Q). Для того, чтобы решить проблему с группой «сомнительных» организмов использовали многомерный разведочный дискриминантный анализ (ДА) в пакете Statistica v.6.1, который позволил на основании обучающей выборки (L и D) с определённой долей вероятности отнести Q особи к группе живых или мёртвых. К тому же, ДА даёт возможность выявлять (в случае ошибки) организмы с неправильной классификацией, тем самым дополнительно подтвердить точность полученных данных.

**Результаты.** За период наблюдений средняя численность мезозоопланктона в бухте была существенно выше, чем в открытом прибрежье (37163.4 и 11456.3 экз. м<sup>-3</sup>, соответственно) (рис. 2, верхние графики). Максимумы общей численности мезозоопланктона на станциях в бухте (96843 экз. м<sup>-3</sup>) и в открытом прибрежье (26790 экз. м<sup>-3</sup>) зафиксированы в мае 2011 г., минимумы – в феврале 2011 на ст. 3 (6980 экз. м<sup>-3</sup>) и в марте 2011 гг. на ст. 1 (3794 экз. м<sup>-3</sup>).

Наиболее массовой группой зоопланктонных организмов на обеих станциях были копеподы (рис. 2). На ст. 1 их вклад в общую численность мезозоопланктона составлял меньше 50 % только в мае – июне 2011 г., когда происходило массовое развитие гетеротрофной динофлагелляты *Noctiluca scintillans*. На ст. 3 копеподы доминировали с октября 2010 до середины марта 2011 и в конце июня 2011 гг., нередко составляя более 90 % общей численности мезозоопланктона. В марте – мае 2011 г. на ст. 3 наблюдали массовое развитие меропланктонных науплиев *Cirripedia*. В мае 2011 г. наибольший вклад в общую численность мезозоопланктона внесли *N. scintillans* и кладоцера *Pleopis polyphemoides*.

Копеподы представлены каляноидами *Acartia clausi*, *A. tonsa*, *Calanus euxinus*, *Centropages ponticus*, *Paracalanus parvus*, *Pseudocalanus elongatus*, циклопоидами *O. brevicornis* и *O. similis*. Структуры сообществ копепод в открытом прибрежье и в кутовой части бухты существенно отличались. Численность вселенца *O. brevicornis* в открытом прибрежье не превышала нескольких тысяч экз. в м<sup>3</sup> с октября 2010 по январь 2011 гг. и нескольких сотен экз. в м<sup>3</sup> с февраля по июнь 2011 г. (рис. 3, верхние графики). Вид отсутствовал в пробе в мае 2011 г. В кутовой части бухты численность вселенца была очень высокой осенью – зимой 2010 и в июне 2011 гг., когда зафиксировали максимум численности вида за период наблюдений – 72600 экз. м<sup>-3</sup> (рис. 3). Соответственно, и вклад *O. brevicornis* в общую численность копепод на ст. 1 ни разу не превысил

50 %, тогда как в пяти пробах, собранных на ст. 3, превышал 90 %. Чаще других видов копепоид на ст. 1 самым многочисленным был *P. parvus*.

На ст. 3 виды рода *Acartia*, *P. parvus* и *P. elongatus* достигали численности, превышающей 1000 экз. м<sup>-3</sup>.

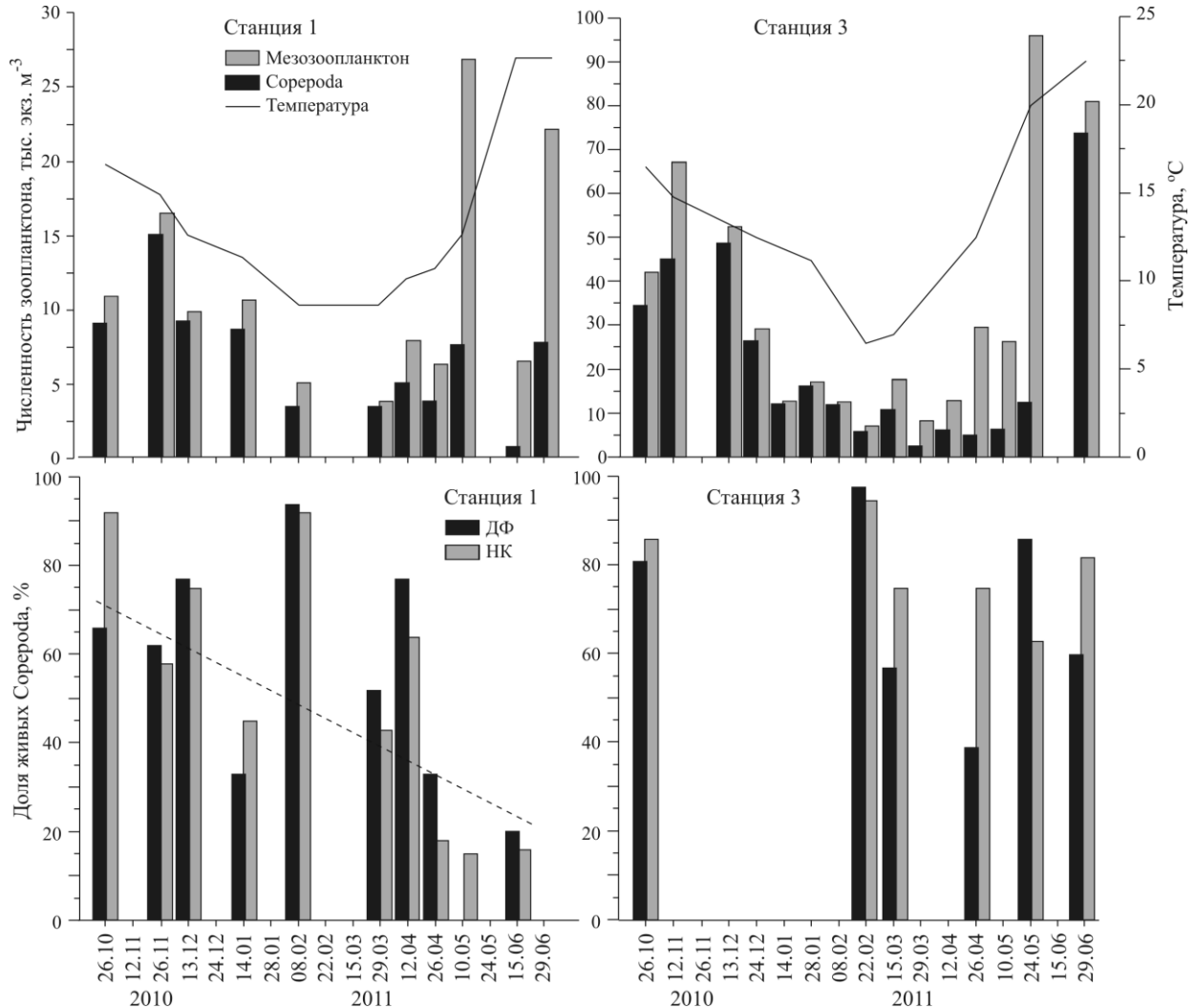


Рис. 2 Сезонная динамика численности (верхние графики) и ДЖО (нижние графики) сообщества копепоид  
 Fig. 2 Seasonal dynamics of abundance (top plots) and alive copepoda assemblage (bottom plots)

Величинам ДЖО, полученным на обеих станциях обоими красителями, была свойственна высокая вариабельность – значения менялись в диапазоне от 15 до 98 % (рис. 2, нижние графики). В открытых водах на ст. 1 выявлена хорошо заметная тенденция снижения ДЖО в сообществе копепоид от холодных (около 70 %) к тёплым месяцам (около 15%) с отдельными эпизодами их роста до 80 – 90 % в феврале и апреле 2011 г. (рис. 2). При этом общая численность копепоид на станции изменялась в небольшом диапазоне (около 5 – 10 тыс.

экз. м<sup>-3</sup>), а сезонный тренд был выражен слабо. Корреляционный анализ не выявил достоверной связи ДЖО с численностью копепоид. В тёплые месяцы вклад копепоид в общую численность мезозoopланктона снижался вследствие развития *N. scintillans*.

Подобного сезонного тренда ДЖО не выявлено в бухте на ст. 3, однако анализ основывается на неполной серии данных (рис. 2). В водах бухты величины расхождения результатов по НК и ДФ были максимальны, особенно

в весенний период. В марте и апреле 2011 г., когда общая численность копепод и их вклад в сообщество мезозoopланктона были минимальны, ДФ показывал низкие значения ДЖО (около 40 – 60 %). Однако в мае 2011 г. при массовом развитии *N. scintillans* и *P.*

*polyphemoides* в мезозoopланктоне ДЖО копепод оставалась высокой (рис. 2).

Результаты анализа ДЖО в популяции *O. brevicornis*, в целом, согласуются с описанными выше, но снижение величин в весенний период на ст. 1 менее выражено (рис. 3).

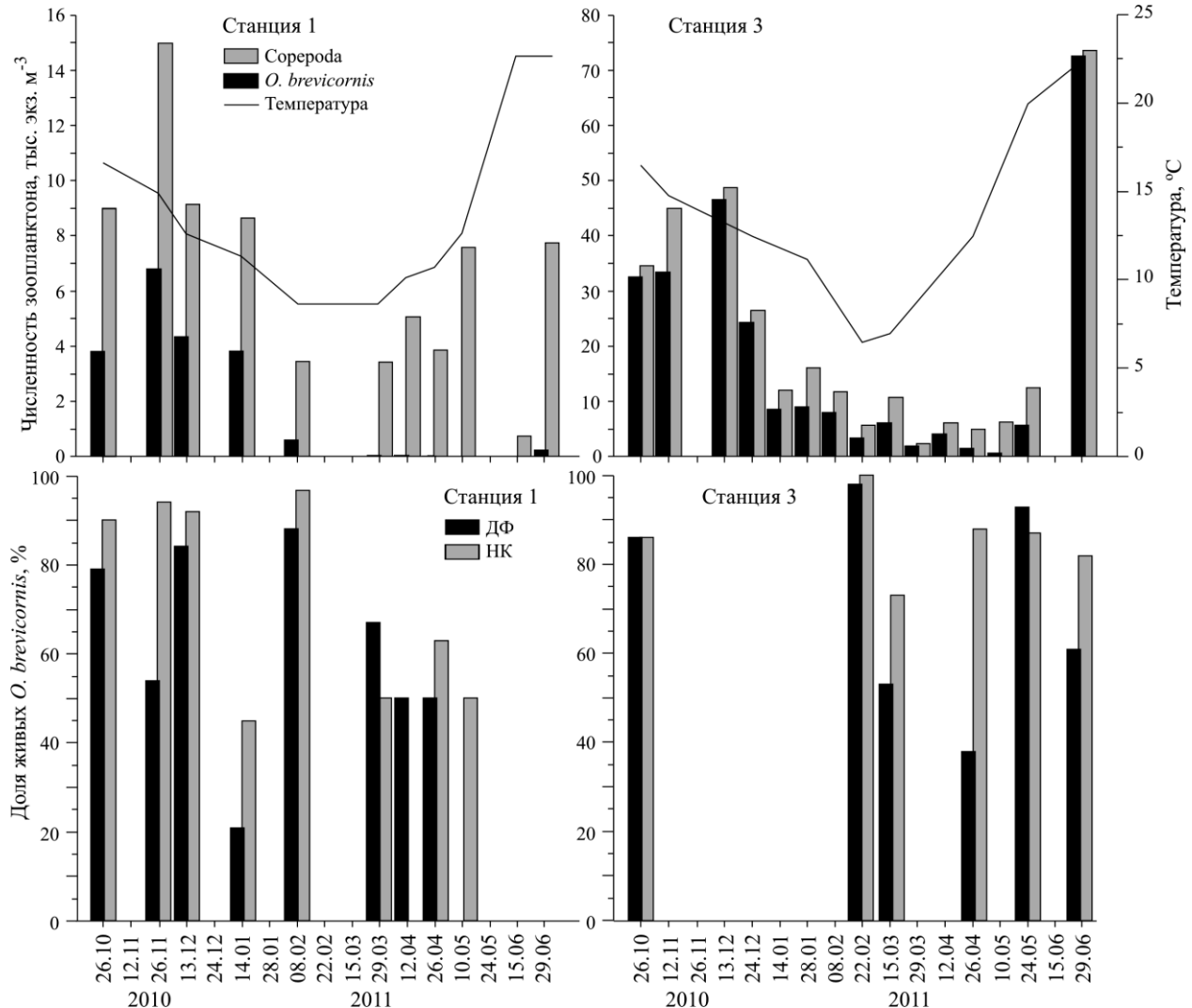


Рис. 3 Сезонная динамика численности (верхние графики) и ДЖО (нижние графики) *O. brevicornis*  
 Fig. 3 Seasonal dynamics of abundance (top plots) and alive *O. brevicornis*

Тем не менее, корреляционный анализ этих данных показал наличие статистически значимой ( $p < 0.05$ ) положительной связи между долей живых *O. brevicornis* и долей копепод в общей численности мезозoopланктона (0.68 и 0.67, соответственно для ДФ и НК). Как указывалось выше, вклад копепод в общую численность мезозoopланктона снижался в результате

активного развития ноктилюки. Спектр объектов питания этого организма достаточно широк и включает как бактерии, так и фитопланктон (диатомовые, динофлагелляты, см. например [4]), т.е. ноктилюка и планктонные копеподы утилизируют сходные пищевые ресурсы. Конкурентные отношения внутри сообщества, на наш взгляд, могли бы служить одним из

объяснений снижения ДЖО на ст. 1 в тёплые месяцы.

Поскольку для ст. 3 были получены лишь фрагментарные данные, сравнительный анализ открытого побережья (ст. 1) и вод бухты (ст. 3) по величинам ДЖО оказался возможным лишь для выборочных промежутков времени – октября 2010 г., февраля, марта, апреля и июня 2011 г. В этой серии данных значения ДЖО были несколько ниже в открытых водах ( $53 \pm 29$  против  $67 \pm 23$  % по ДФ и  $52 \pm 38$  против  $83 \pm 8$  % по НК, указаны станд. откл.), но достоверность различий была на границе значимости ( $p = 0.054$  для ДФ и  $0.0497$  для НК, парный  $t$ -тест). Если исходить из предположения, что в более эвтрофированных и загрязнённых водах смертность организмов выше, можно было бы ожидать обратного соотношения. Однако баланс численности живых и мёртвых организмов сам по себе не даёт прямой информации о скорости элиминации популяции. Во всякий момент времени этот баланс обеспечивается процессами, которые определяют численности живых и мёртвых организмов. Для первых, – это размножение и все формы гибели организмов, для вторых – некоторые формы гибели (при которых не происходит быстрого разрушения/изъятия организмов, как, например, при выедании хищниками), разложение вследствие бактериальной активности и, опять же, выедание мёртвых особей хищниками. Таким образом, ДЖО морских организмов сама по себе не может служить индикатором загрязнения среды, а представляет лишь «срез» текущего функционального состояния сообщества или популяции.

При прочих равных условиях смещение баланса в сторону увеличения ДЖО может быть связано с более высокой скоростью разложения мертвых организмов. Действительно, можно ожидать, что в водах бухты с намного более высокой численностью и активностью бактериопланктона, средняя скорость разложения копепод в столбе воды выше, нежели в открытом море, однако это предположение требует экспериментальной проверки. Для всей Морской экологичний журнал, Отд. вып. № 2. 2011

совокупности данных корреляция между оценками ДЖО, полученными с помощью НК и ДФ, была велика и составляла  $0.77$  (статистически значима,  $p < 0.05$ ). Характер связи между этими величинами хорошо иллюстрирует рис. 4 – коэффициент регрессионной кривой близок к единице. Вместе с тем, разброс точек велик, а расхождения в результатах применения разных маркеров существенны: в некоторых случаях они достигали  $36$  % ДЖО (в среднем  $13 \pm 10\%$ , станд. откл.).

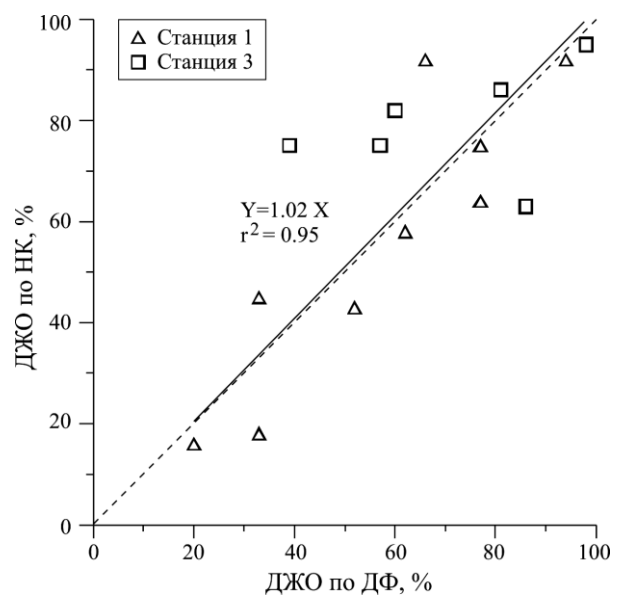


Рис. 4 Соотношение оценок ДЖО, полученных с помощью НК и ДФ

Fig. 4 Alive copepods counted after neutral red versus fluorescein diacetate staining

На наш взгляд, некорректно оценивать пригодность ДФ и потенциал его применения в качестве витального маркера по результатам окраски тех же проб НК. В первую очередь, из-за несовершенства самого НК – в некоторых случаях он может окрашивать до  $4\%$  мёртвых особей [18]. Кроме того, в проводимых ранее экспериментах с модельной культурой копепод [6] ДФ давал достоверные и воспроизводимые результаты. Можно предположить, что наблюдаемые расхождения между результатами окраски НК и ДФ могут быть связаны с разной природой действия красителей. Если механизм окраски ДФ ясен (внутриклеточная активность

ферментов группы эстераз), то физиологическое действие НК не вполне понятно, несмотря на то, что этот витальный маркер применяется давно и широко [12, 14, 15, 18]. Вероятно, точность определения ДЖО с помощью ДФ более высока из-за быстрой остановки ферментативных процессов в клетках погибших животных.

В любом случае, комбинирование двух красителей, несмотря на громоздкость этого подхода, может дать ценную дополнительную информацию о физиологическом статусе исследуемого сообщества.

Очевидно, что наибольшие расхождения в результатах для НК и ДФ должны быть получены для погибающих или недавно погибших особей. В ходе анализа, по крайней мере, часть из них классифицируются как организмы со спорной окраской (класс Q). Следовательно, должна существовать связь между долей организмов в классе Q и величиной расхождения в результатах, полученных с помощью НК и ДФ. Действительно, зависимость между этими переменными оказалась хорошо выраженной при окраске ДФ (рис. 5, коэффициент детерминации регрессии  $r^2 = 0.6$ ), и слабо выраженной – при окраске НК ( $r^2 = 0.05$ ). Этот результат свидетельствует о большей «чувствительности» ДФ в определении момента смерти организмов. Если исходить из того, что численность особей «в процессе умирания» (погибающих и только что погибших) пропорциональна скорости элиминации, то величина расхождения в ДЖО по НК и ДФ может служить показателем смертности как процесса, т.е. скорости элиминации организмов. Проверка этой гипотезы требует дополнительных экспериментальных исследований. Если она окажется верна, откроется перспектива экспресс-оценки смертности зоопланктона путём комбинирования двух маркеров физиологического состояния организмов.

Применение этого подхода к нашим данным позволяет придать результатам более глубокий биологический смысл.

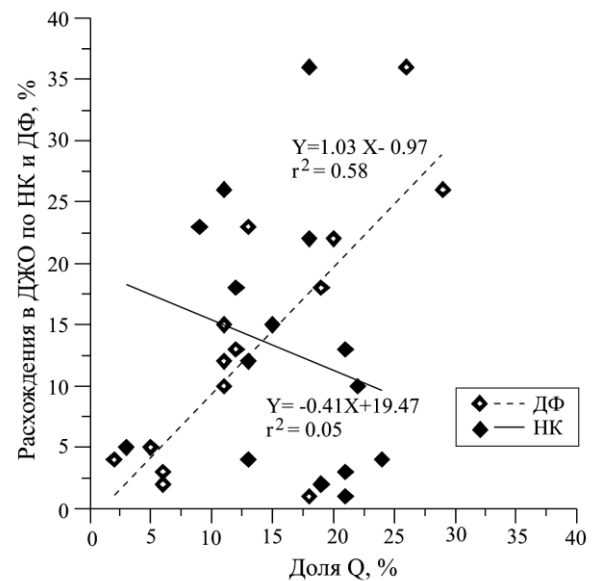


Рис. 5 Зависимость расхождений в оценках ДЖО по НК и ДФ от доли особей со спорной окраской Q  
Fig. 5 Discrepancy between the NR- and FDA-based viability assays as a function of the questionable specimens Q

На рис. 6 представлена сезонная динамика величин расхождения в оценке ДЖО по двум красителям:  $\Delta\text{ДЖО} = |\text{ДЖО}_{\text{НК}} - \text{ДЖО}_{\text{ДФ}}|$ . Для всей совокупности данных, объединяющей обе станции, характерен хорошо выраженный тренд снижения показателя в холодные месяцы и его рост – в тёплые месяцы. Динамика его изменения в открытых водах и в бухте сильно отличается – на ст. 3  $\Delta\text{ДЖО}$  существенно возрастает от зимних месяцев к летним, на ст. 1 – наоборот, снижается, но незначительно (рис. 6).

Сопоставление станций 1 и 3 по  $\Delta\text{ДЖО}$  для временной выборки, о которой шла речь выше, показывает, что для бухты характерны более высокие значения ( $16.8 \pm 13.5$  против  $11.2 \pm 9.7$  % на ст. 1, указаны станд. откл.), однако из-за большого разброса данных и отличия динамики  $\Delta\text{ДЖО}$  на станциях, эта разница статистически недостоверна ( $p = 0.24$ , парный  $t$ -тест). Очевидно, что интерпретация  $\Delta\text{ДЖО}$  в качестве показателя скорости элиминации сообщества копепод хорошо согласуется с пониманием состояния морской экосистемы в целом – в более загрязнённых водах смертность

копепод в среднем выше и её скорость возрастает к летним месяцам, когда ухудшается общее санитарное состояние вод бухты, нарастает масштаб трофических процессов в ней. Это дает надежду на применение подобного подхода в будущем, но, одновременно, и требует проведения дополнительного методологического исследования, в котором оценки ДЖО сравнивались бы с результатами применения стандартных методов определения скорости элиминации (смертности) зоопланктона *in situ* с помощью седиментационных ловушек [13] или по численному соотношению возрастных стадий копепод [15].

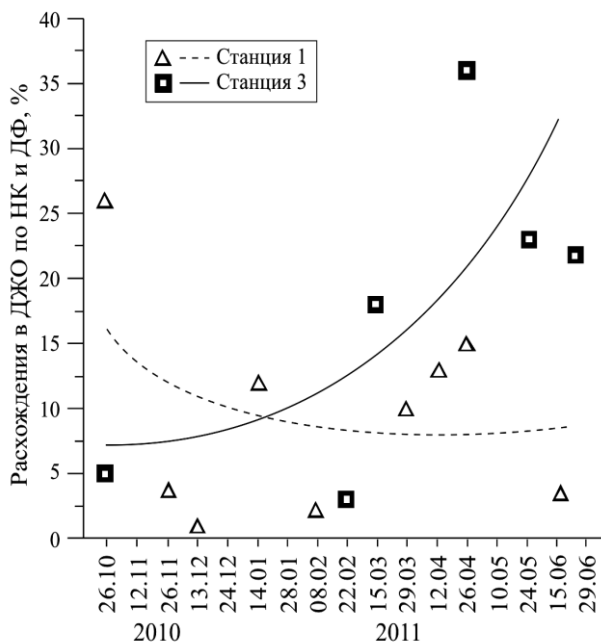


Рис. 6 Сезонная динамика величин расхождений в оценках ДЖО по НК и ДФ

Fig. 6 Seasonal trends in the discrepancy between the NR- and FDA-based viability assays

Сравнение величин ДЖО, полученных для морского зоопланктона в нашем исследовании, с аналогичными данными из разных районов Мирового океана затруднено из-за исключительно высокой вариабельности этого показателя. Полный диапазон его изменений – от 10 до 100 % (см. обзор [14]). Наши данные (15 – 98 %) почти полностью его перекрывают,

несмотря на то, что получены они для ограниченного района и периода исследований.

В соответствии с результатами многолетнего (1998 – 2006 гг.) исследования некротоопланктона севастопольских бухт [8], среднегодовые величины ДЖО зоопланктона составляли от 51 до 93%, причём в сильно загрязнённой Южной бухте значения были ниже, чем на более благополучной в этом отношении станции на выходе из Севастопольской бухты. Наши средние ДЖО, рассчитанные для всего периода исследования, лежат в пределах указанного диапазона (ст. 1:  $55 \pm 15\%$  ДФ,  $52 \pm 17\%$  НК,  $n = 11$ ; ст. 3:  $70 \pm 18\%$  ДФ,  $79 \pm 9\%$  НК,  $n = 6$ ). Однако, как указывалось выше, мы получили обратное соотношение ДЖО в относительно грязных и чистых водах.

**Выводы. 1.** Величинам ДЖО характерна высокая вариабельность независимо от сезона и района исследования. **2.** Выявлена статистически достоверная корреляция между ДЖО и вкладом копепод в общую численность сообщества мезозоопланктона. **3.** ДЖО в сообществе планктонных копепод открытых вод была ниже, чем в экологически неблагополучной бухте. Смещение этого баланса может быть связано с более высокой средней скоростью разложения погибших особей в водах с повышенной микробной активностью. **4.** Высокая, статистически достоверная корреляция между оценками ДЖО, полученными с помощью НК и ДФ, подтверждает возможность успешного применения ДФ в полевых исследованиях морского зоопланктона в качестве витального маркера. **5.** Выдвинуто предположение, что расхождения в результатах окраски пробы НК и ДФ могут служить показателем скорости элиминации (смертности) особей в сообществе.

**Благодарности.** Авторы выражают глубокую признательность анонимным рецензентам и д.б.н. проф. Э. З. Самышеву за детальное рассмотрение рукописи и ценные замечания.



1. *Виноградов М. Е.* Методы сбора и обработки материала // Вертикальное распределение океанического зоопланктона. – М.: Наука, 1968. – С. 26 – 46.
2. *Губарева Е. С., Светличный Л. С., Ишинбилір М.* Распределение живого и мёртвого мезозоопланктона в прибосфорских районах Чёрного и Мраморного морей: солёностная толерантность *Acartia clausi* и *A. tonsa* // Морск. экол. журн. – 2008. – 7, №4. – С. 27 – 39.
3. *Иванов В. А., Овсяный Е. И., Репетин Л. Н., Романов А. С., Игнатъева О. Г.* Гидролого-гидрохимический режим Севастопольской бухты и его изменения под воздействием климатических и антропогенных факторов. – Севастополь: ЭКО-СИ-Гидрофизика, 2006. – 90 с.
4. *Коваль Л. Г.* Зоо- и некрозоопланктон Чёрного моря. – К.: Наук. думка, 1984. – 128 с.
5. *Копытов Ю.П., Минкина Н.И., Самышев Э.З.* Уровень загрязненности воды и донных отложений севавтопольской бухты (Черное море) // Системы контроля окружающей среды: Сб. науч. тр. МГИ. – Севастополь, 2010. – Вып. 14. – С. 199 – 208.
6. *Литвинюк Д. А., Аганесова Л. О., Муханов В. С.* Определение доли живых организмов в культуре копеподы *Calanipeda aquaedulcis* после их окраски нейтральным красным и диацетатом флуоресцеина // Экология моря. – 2009. – Вып.78. – С. 65 – 69.
7. *Овсянный Е. И., Кемп Р. Б., Репетин Л. Н.* Гидролого-гидрохимический режим Севастопольской бухты в условиях антропогенного воздействия (по наблюдениям 1998 – 1999 гг.) // Экологическая безопасность прибрежной и шельфовой зон и комплексное использование ресурсов шельфа. – Севастополь, 2000. – С. 79 – 103.
8. *Павлова Е. В., Мельникова Е. Б.* Зоопланктон прибрежных вод юго-западного Крыма (1998 – 2006 гг.) // Морск. экол. журн. – 2011. – 10, № 3. – С. 33 – 41.
9. *Петуна Т. С.* Трофодинамика копепод в морских планктонных сообществах. – Киев, 1981. – 243 с.
10. *Петуна Т. С., Павлова Е. В.* Смертность зоопланктона в Севастопольской бухте // Доповіді Національної академії наук України. – 1995. – № 6. – С.146 – 148.
11. *Яинов В. А.* Инструкция по сбору планктона и обработке его в полевых условиях. – М.: Изд. ВНИРО, 1939. – 22 с.
12. *Dressel D. M., Heinle D. R., Grote M. C.* Vital starting to sort dead and live copepods // Chesapeake Sci. – 1972. – 13. – P. 156 – 159.
13. *Dubovskaya O. P., Gladyshev M. I., Gubanov V. G.* Study of non-consumptive mortality of Crustacean zooplankton in a Siberian reservoir using staining for live/dead sorting and sediment traps // Hydrobiologia. – 2003. – 504. – С. 223 – 227.
14. *Elliott D. T., Tang K. W.* Simple staining method for differentiating live and dead marine zooplankton in field samples // Limnol. Oceanogr. – 2009. – 7. – P. 585 – 594.
15. *Elliott, D.T., K.W. Tang,* Influence of carcass abundance on estimates of mortality and assessment of population dynamics in *Acartia tonsa* // Marine Ecology Progress Series. – 2011. – 427. – P. 1-12.
16. *Gubanova A. D., Altukhov D. A.* Establishment of *Oithona brevicornis* Giesbrecht, 1892 (Copepoda: Cyclopoida) in the Black Sea // Aquatic Invasions. – 2007. – 2, 4. – P. 407 – 410.
17. *Onji M., Sawabe T., Ezura Y.* An evaluation of viable dyes suitable for marine phytoplankton // Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ. – 2000. – 51, 3. – P. 153 – 157.
18. *Tang K. W., Freund C. S., Schweitzer Ch. L.* Occurrence of copepod carcasses in the lower Chesapeake Bay and their decomposition by ambient microbes // Estuar. Coast. Shelf Sci. – 2006. – 68. – P. 499 – 508.

Поступила 10 ноября 2011 г.

**Динаміка долі живих Copepoda в планктоні Севастопольської бухти і відкритого прибережжя у 2010-2011 рр.** Д. А. Літвінюк, Д. А. Алтухов, В. С. Муханов, О. В. Попова. Проведено аналіз сезонної динаміки загальної чисельності мезозоопланктона, внеску в неї копепод і вида-вселенця *Oithona brevicornis*, а також частки живих організмів (ЧЖО) на двох реперних точках в центральній частині та на траверсі Севастопольської бухти. Для кількісної оцінки живої/мертвої компоненти угруповання копепод і *O. brevicornis* використовували метод забарвлення зоопланктону проб вітальними барвниками – нейтральним червоним (НЧ) і діацетат флуоресцеїну (ДФ). Це перший досвід застосування ДФ в дослідженнях морського зоопланктону. Відзначено високу варіабельність ЧЖО (15 – 98 %) незалежно від сезону і району дослідження. У відкритих водах виявлена тенденція до зниження частки живих копепод та їх внеску в загальну чисельність мезозоопланктона у весняний період. Статистично достовірна кореляція між цими змінними може бути обумовлена посиленням конкурентних відносин в угрупованні. В інтенсивно забруднених водах бухти ЧЖО копепод була трохи вищою, ніж у відкритому прибережжі (різниця статистично недостовірна), що може бути пов'язано як з високою швидкістю розкладання загинувших організмів, так і зі стійкістю масових видів копепод до забруднення. Висока, статистично достовірна кореляція між оцінками ЧЖО, отриманими за допомогою НЧ і ДФ,

підтверджує можливість успішного застосування ДФ в польових дослідженнях морського зоопланктону як вітального маркера.

**Ключові слова:** Copepoda, *Oithona brevicornis*, живий і мертвий зоопланктон, смертність, нейтральний червоний, діацетат флуоресцеїну, Севастопольська бухта

**Dynamics of live Copepoda in plankton of Sevastopol bay and open coastal waters (the Black sea) in 2010-2011. D. A. Litvinyuk, D. A. Altukhov, V. S. Mukhanov, E. V. Popova.** At two stations in coastal waters off Sevastopol (the Black Sea), analysis of the seasonal dynamics of mesozooplankton community and its components (total copepods and the invader *Oithona brevicornis*) was combined with viability assays. The latter was conducted after staining zooplankton samples with two vital markers – neutral red (NR) and fluorescein diacetate (FDA). It is the first experience of applying FDA in a field study of marine zooplankton. The percentage of live copepods (PLC) was highly variable (15-98%) irrespective of the site or season. In the open waters, a trend was revealed for PLC and copepods' contribution to the total mesozooplankton abundance to decrease from cold to warm months. Statistically significant correlation between these variables may be explained by increasing inter-species competition in the community. In heavily polluted waters of Sevastopol bay, the PLC was insignificantly higher than in more clear, open waters that might be due to either higher bacteria-associated decomposition of dead specimens in the water column or better adaptation of the dominating copepod species to polluted environments. High correlation between the PCL estimates obtained by NR and FDA makes the new, FDA-based method promising for applying it successfully in field studies of marine zooplankton.

**Keywords:** Copepoda, *Oithona brevicornis*, live and dead zooplankton, mortality, neutral red, fluorescein diacetate, Sevastopol bay