

СИСТЕМА УПРАВЛЕНИЯ КАЧЕСТВОМ ВОДЫ ДЛЯ ВЫ- РАЩИВАНИЯ МОЛОДЫ КАМ- БАЛЫ КАЛКАН

Г.А. Толкаченко*, Ю.Е. Битюкова,
Н.К. Ткаченко, А.Н. Ханайченко,
О.В. Пантелеева**

Морской гидрофизический инсти-
тут*, Институт биологии южных
морей** НАН Украины

Разработка биотехнологий выращивания молоди ценных пород морских рыб способствует решению проблеме воспроизводства биологических ресурсов моря. Выбор камбалы калкана в качестве перспективного объекта культивирования обусловлен ее высокими пищевыми качествами и ценными технологическими свойствами (высокая плодовитость, быстрый темп роста, низкий кормовой коэффициент и др.). Подорванные к настоящему времени промысловые запасы камбалы могут быть восстановлены путем зарыбления естественных мест ее обитания.

Основные трудности культивирования камбалы калкана связаны с получением жизнестойкой молоди. Они вызваны тем, что рацион личинок камбалы составляется из живых кормовых объектов, биохимический состав которых должен соответствовать экологическим и этологическим параметрам личинок на различных стадиях их развития. Кроме того, каждой стадии развития соответствуют строго определенные параметры среды обитания. Эти обстоятельства и определяют требования к методам и средствам, которые используются для управления качеством воды в процессах инкубирования икры, производства живых кормов, содержания производителей, личинок и молоди.

Разработанная в ИнБЮМ НАН Украины интенсивная технология культивирования камбалы калкан [1]

предусматривает выращивание личинок камбалы в бассейнах с высокой начальной плотностью посадки при контролируемых условиях среды, питании стандартным кормовым зоопланктоном в присутствии микроводорослей. Для реализации этих задач в рамках проекта «Камбала» Миннауки НАН Украины была проведена работа, в процессе выполнения которой создана pilotная установка [2], которая включает систему водоподготовки и модули для культивирования микроводорослей, кормового зоопланктона, инкубирования икры и подращивания личинок до состояния жизнестойкой молоди.

Требования, предъявляемые к качеству воды в каждом из модулей, зависят от назначения модуля, режима его функционирования и стадии развития выращиваемых организмов. Система управления качеством воды должна обеспечивать оптимальные условия развития личинок рыб и кормовых организмов на всех этапах культивирования. Показатели качества воды в различных блоках системы являются производными от функционального назначения блоков и выбираются из условий оптимизации биотехнологических процессов продуцирования по основным абиотическим (температура, освещенность, газовый режим) и биотическим (качественным и количественным характеристикам корма).

Для описания качества воды используются различные наборы параметров среды обитания. В зависимости от вида гидробионтов и стадии их развития значения этих параметров изменяются в соответствии с технологическими нормативами. Загрязнителями воды при культивировании гидробионтов являются любые примеси, вредные для организмов, выращиваемых в этой воде. Такими примесями чаще всего оказываются патогенные микроорганизмы, которые могут быть занесены в среду обитания гидробионтов

при неправильной стерилизации культуральной среды, воздуха для аэрации или стартовых культур.

Система водоподготовки.

Одной из основных технологических операций системы жизнеобеспечения гидробионтов является очистка морской воды перед ее использованием для культивирования кормовых объектов, инкубации икры и выращивания личинок камбаловых. Система водоподготовки включала в себя накопительный резервуар-отстойник, напорный резервуар, блок гравийно-песчаных фильтров грубой очистки, мембранный и картриджные фильтры тонкой очистки, насосы и блоки стерилизации воды. Максимальный размер частиц, прошедших через систему водоподготовки не превышал 5 мкм. Для уничтожения патогенных микроорганизмов морская вода перед подачей в модули культивирования пропускалась через УФ-стерилизатор или блок пастеризации.

Культивирование микроводорослей.

Наиболее важными параметрами, регулирующими рост микроводорослей, являются: концентрация питательных веществ, плотность светового потока, pH и температура воды. Оптимальные значения этих параметров зависят от вида микроводорослей, концентрации клеток и цели их выращивания.

Химические параметры. Культивирование микроводорослей производится при высоких концентрациях клеток, значительно превышающих их концентрации в естественной морской среде. Питательные среды включают макроэлементы, которые микроводоросли потребляют в большем количестве (углерод, азот, фосфор, магний) и микроэлементы (марганец, железо, цинк, кобальт, медь, кобальт и др.), необходимые в микродозах. Без макроэлементов нормальный рост клеток

невозможен. Из макроэлементов в состав среды обычно входят нитраты, фосфаты, калий, сера и магний. Для ускорения процессов роста и обмена в состав среды вводят стимулирующие витамины группы В - биотин, кобаламин и др. Наиболее распространенной и хорошо сбалансированной по соотношению компонентов макро- и микроэлементов средой для массового культивирования микроводорослей является среда Уолна [3]. В условиях искусственного выращивания микроводорослей проблемы с обеспечением клеток минеральными веществами обычно не возникают.

Оптимальным при культивировании большинства микроводорослей был диапазон pH 7 ÷ 9 с оптимумом 8,2 ÷ 8,9. Добавление CO₂ в смеси с воздухом (из расчета 1,5% углекислоты от объема газовой смеси) при аэрировании культуры позволяло поддерживать значение pH в заданном диапазоне за счет образования в воде буферной системы CO₂/HCO₃.

Физические параметры. Основными контролируемыми параметрами при культивировании микроводорослей являются интенсивность освещения и температура культуральной среды.

Маточные культуры содержали при низкой (до 1000 люкс) освещенности для поддержания медленного роста клеток при их невысокой концентрации. Массовое культивирование микроводорослей проводили при значениях освещенности от 3000 до 5000 люкс и световом периоде от 18 до 24 часов в сутки.

Оптимальные температуры для большинства используемых в марикультуре микроводорослей находятся в диапазоне 27 ÷ 30°C. Однако, при возрастании температуры культивирования снижается как абсолютное содержание липидов, так и относительное содержание в них незаменимых высоконенасыщенных жирных кислот

(ВНЖК). Специально проведенные исследования показали, что оптимальная температура для получения максимального содержания ВНЖК в культивируемых микроводорослях находится в пределах 20–24°C [4].

Вторым критерием для выбора температурного режима культивирования микроводорослей была необходимость совмещения температуры супензии водорослей с температурой воды в модулях выращивания личинок и культивирования зоопланктона. Оптимальным температурным режимом выращивания основного объекта культивирования – личинок камбалы калкан – является возрастание температур от 17°C до 20°C [6] на протяжении периода развития личинок, во время которого применялись микроводоросли. Для получения качественной по биохимическим показаниям продукции и предотвращения температурного шока при градиенте температур 10°C (разницы между оптимальной для роста микроводорослей температурой и температурой воды в бассейнах с личинками) водоросли выращивали при температуре 20±2°C [5].

Период массового культивирования микроводорослей для личинок камбалы калкан начался в феврале и продолжался до июня. Температура воздуха в помещениях, где размещена пилотная установка, в этот период изменялась от 4°C до 36°C. Поэтому применялись специальные меры для поддержания температуры культивирования в заданных бионормативами пределах. Основная часть оборудования модуля культивирования микроводорослей была смонтирована в изолированном помещении с автоматическим управлением тепловым режимом. При этом были удовлетворены высокие санитарно-гигиенические требования к установке, получено удобное средство для регулирования температуры культуральной среды и использована возможность утилизации теп-

ловой энергии, выделяемой осветительными устройствами. Стабилизация температурного режима установки обеспечивается блоком контроля и управления.

Культивирование кормового зоопланктона.

На ранних этапах развития личинок камбалы их основным кормовым объектом являются коловратки *Brachionus plicatilis*, биохимический состав которых определяет выживаемость и формирование личинок камбаловых. Оптимальные условия культивирования коловраток определялись необходимостью продуцирования максимального количества коловраток в единицу времени при фиксированных значениях солености среды и концентрации микроводорослей [5].

Наиболее важным параметром определения биохимического состава зоопланктона является содержание в нем ВНЖК. При температуре 30°C и начальной концентрации водорослей $1 \cdot 10^6$ кл·мл⁻¹ максимум плотности культуры коловраток 250 экз·мл⁻¹ достигается через 3 суток. Рост культуры прекращается при снижении концентрации микроводорослей до $2 \cdot 10^3$ кл·экз⁻¹. Хотя *B. plicatilis* выдерживает диапазон солености от 1 до 97‰, оптимальная для ее размножения соленость находится в пределах 18+35‰. Для предотвращения гибели коловраток партеногенетический клон *B. plicatilis* был переведен на среду с соленостью 18‰.

Для исключения температурного шока при переносе коловраток из культивационных емкостей в бассейны для выращивания личинок был выбран температурный диапазон 20–24°C.

Инкубирование икры.

Изучено влияние температуры, солености, концентрации кислорода на развитие эмбрионов камбалы калканы на отдельных этапах развития. В есте-

ственных условиях нерест происходит с апреля по июнь при температурах воды 8–12°C в узком диапазоне солености 19–21,5‰.

Температура. Влияние температуры на эмбриогенез изучено в диапазоне 8–23°C [6]. В исследуемом диапазоне температурной толерантности эмбрионов низкие и высокие температуры (9–11°C и 21–23°C) приводят к значительной их гибели при вылуплении. Количество нормально развивающихся зародышей при этих температурах составляет не более 20–23%. В зонах крайних температур снижается подвижность эмбрионов, ухудшаются условия дыхания.

Выживаемость эмбрионов выше 70% наблюдалась при температурах 13–18°C. На основании данных о скорости развития личинок различных возрастных групп от температуры выявлены зоны оптимальных температур для каждой стадии их развития. Наиболее благоприятными режимами инкубации были: постепенное повышение температуры с 13 °C до 16°C для икры, используемой в начале нереста и с 14 °C до 17°C – в конце нерестового сезона.

Соленость оказывает значительное влияние на способность икры к оплодотворению [7]. При солености 9‰ наблюдалась лишь единичные оплодотворенные икринки. В воде соленостью 13‰ количество оплодотворенной икры не превышало 35%. В диапазоне солености 9–11‰ наблюдалось нарушение клеточного деления и отмечалась значительная разноразмерность клеток бластодиска. На стадии крупноклеточной морулы развитие икры прекращалось. Наибольшее количество нормально дробящихся яиц наблюдалось при оплодотворении икры в воде соленостью 16–20‰. При более высоких значениях солености (22–26‰) наблюдалось снижение количества вылупившихся личинок и увеличение доли аномально развитых

личинок. Максимальный выклев нормально развивающихся эмбрионов наблюдался при инкубации в воде соленостью 17–18‰ [7].

Насыщенность кислородом. Развитие икры калканы в Черном море происходит в условиях высокого насыщения воды кислородом (80–120%). Интенсивность потребления кислорода в процессе эмбриогенеза возрастает. Чувствительность к содержанию O₂ увеличивается после замыкания желточной пробки и на этапе перехода личинок к экзогенному питанию. Снижение концентрации кислорода до 60% (5,4 мг·л⁻¹) приводит к снижению подвижности эмбрионов, задержке их выклева, повышению смертности при вылуплении. Насыщенность воды кислородом была не ниже 80–90% (7,12–8,01 мг·л⁻¹).

Освещенность. В период инкубации был выбран естественный световой режим со сменой дня и ночи при уровне освещенности в дневное время не более 300–400 лк.

Выращивание личинок камбалы калкан.

При определении параметров качества воды при выращивании камбалы калкан необходимо ориентироваться специфические особенности биологии животных и, в первую очередь, на этапность их развития, которая проявляется в характерных чертах их морфологии, физиологии развития, в адаптационных механизмах, в поведении и т.д. На каждом этапе развития личинок требования к условиям среды изменяются [8], что необходимо учитывать при выборе параметров среды для выращивания личинок и стратегии их кормления. В развитии личинок камбалы калкан выделено 8 качественно обособленных этапов. По источникам энергии они относятся к эндогенному (I-II этапы), смешанному (III этап) и экзогенному питанию (IV-VIII этапы). Переход с этапа на этап

происходит при достижении определенного уровня развития личинок и их размеров. Процессы роста и дифференциация оказываются взаимосвязаны и взаимообусловлены не только эндогенными факторами, но и условиями выращивания. Отставание в развитии или задержка роста свидетельствуют о несбалансированности системы культивирования и служат индикаторами необходимости корректировки режимов ее работы по абиотическим или биотическим факторам.

Разработанный вариант биотехнологии разведения камбалы калкана основан на применении метода «зеленой воды» (с частым добавлением фитопланктона при низкой освещенности и дробным внесением насыщенных микроводорослями и биодобавками кормовых организмов).

При выращивании личинок по этой технологии на трети сутки после выклева личинок переносили из инкубаторов в бассейны для выращивания объемом 3 м³. Бассейны за 3 дня до пересадки личинок заполняли профильтрованной до 5 мкм и стерилизованной ультрафиолетом водой и засевали 50 л морской хлореллы. Стартовая плотность личинок составляла 30-40 экз л⁻¹.

Режимы питания. Количество потребляемой в сутки пищи определяли методом прямого учета. Для этого на каждом этапе одноразмерных личинок рассаживали в емкости объемом 40 л по 5 экз. в трех повторностях. Массу потребляемой пищи рассчитывали методом реконструированных весов. Исходная концентрация коловраток при смешанном питании микроводорослями и зоопланктоном поддерживалась круглосуточно и составляла 8 – 10 экз мл⁻¹. При предельных рационах эффективность утилизации пищи оказывается ниже некоторой максимальной величины, которая достигается при оптимальной величине рационов.

Освещенность, создаваемая лампами дневного света в светлое время суток на поверхности инкубаторов составляла 300-400 лк, ночью ее снижали до 50-60 лк. К концу вторых суток у личинок начинается пигментация глаз и развивается отрицательная реакция на свет: предличинки уходят из освещенной зоны, концентрируясь в темных участках бассейнов [8]. В связи с отрицательным фототаксисом в бассейнах необходимо поддерживать умеренную стабильную освещенность около 300 - 400 лк. Свет определяет активность и пищевое поведение личинок, поэтому при переходе на экзогенное питание в бассейнах поддерживается круглосуточное освещение на уровне 1000-2000 лк на поверхности воды. С 14-суточного возраста устанавливается естественный ход освещенности со сменой дня и ночи.

Температура. Уровень метаболических процессов личинок камбалы определяется температурой воды в выростных бассейнах [8]. В период эндогенного питания ее необходимо поддерживать на уровне 15°C и постепенно повышать до 17°C к моменту перехода на внешнее питание. Дальнейшее выращивание личинок проводят при температуре 18-19°C. К концу метаморфоза личинок температуру повышали до 20-22°C.

Показатели качества воды и методы измерений.

Проведенные экспериментальные работы и положительные результаты выращивания жизнестойкой молоди в нерестовые периоды с 1997 по 1999 гг., позволили определить минимальный набор параметров, достаточный для оценки качества воды в установке. Рекомендуемые для использования параметры качества воды с указанием диапазонов измеряемых величин сведены в таблицу.

Таблица. Показатели качества воды при культивировании камбалы калкан.

Показатель качества	Диапазон значений	Методы и приборы измерений
Температура, °C	5 + 35	Термометр
Соленость, ‰	10 + 25	Электропроводность
Насыщенность кислородом, %	50 - 100	Измеритель раствор. O ₂
pH	5,0 + 10,0	pH-метр
Освещенность, лк	0 + 10000	Люксметр
Концентрация CO ₂ , %	1 + 5	Ротаметр
Биомасса микроводорослей (сухой вес), г·л ⁻¹	0 + 2	Вес сухого осадка
Концентрация зоопланктонана, экз·мл ⁻¹	0 + 3000	Прямой учет

Из таблицы видно, что для измерения физических и химических параметров среды могут быть использованы стандартные приборы и оборудование, легко адаптируемые в автоматизированную систему контроля и управления параметрами качества воды. Для автома-

тизации измерений биологических параметров целесообразно использовать оптические методы и аппаратуру [9], которые позволяют определять не только концентрации взвеси, но и содержание оптически активных компонент растворенной органики.

Литература

1. Битюкова Ю.Е., Ткаченко Н.К., Владимирцев В.Б., Ханайченко А.Н., Пустоварова Н.И. Способ искусственного получения молоди черноморской камбалы калкан. Патент № 2017413, Россия RU C15 AO1K/1/00. № 5054176/13. Заявл. 20.04.92, опубл. 15.08.94. Бюл. № 15, приоритет 20.04.92.1992. 10 с.
2. Tolkachenko G.A., Bityukova Y.E., Khanichenko A.N. Biotechnical systems development for marine aquaculture species. Abstracts of contribution presented at the International Conference "Sea Technology". Spesial Publication No. 2. University of Constanta, Romania. May 24 - 28. 1998.
3. Brown M.R., S.W. Joffrey and C.D. Garland, 1989. Nutritional aspects of microalgae used in mariculture: a literature review. Rept./CSIRO, Mak.Lab., Australia. 205(1), p.1-44.
4. Khanaichenko A.N., 1990. The variety of food organisms and their rearing for the Black Sea turbot. In Proc. 4 Conv.Reg. Feder.Ital. Maricolt. Hydrores (Triest, Italy): 7(8), p.68-71.
5. Ханайченко А.Н., 1988. Питание и продуцирование коловраток в экспери- ментальных популяциях при комбинированном воздействии температуры и трофических условий (на примере *Brachionus plicatilis* Muller, 1786). Канд. дисс. Минск/Севастополь, 159 с.
6. Битюкова Ю.Е., Ткаченко Н.К., Чепурнов А.В., 1984. Термочувствительность калкана *Psetta maxima* (Pallas) в период эмбрионального развития при искусственном выращивании. Вопр. ихтиологии, т.24, в.3, с.459-464.
7. Битюкова Ю.Е., Ткаченко Н.К., 1998. Влияние солености на эмбриональное развитие черноморской камбалы калакана *Psetta maxima* (Pallas). Экология моря, вып.47, с.25-28.
8. Y.E.Bityukova, N.K.Tkachenko, A.N. Khanaichenko and V.B.Vladimirtsev, 1990. Rearing of viable juveniles of Black sea turbot in experimental conditions. Hydrores (Trieste, Italy). Anno VII N 8, p. 78 - 81.
9. Ли М.Е. Контроль гидробиологических параметров физическими методами. Концепция построения автоматизированной системы экологического контроля вод Украины: Сб. научн.тр.МГИ НАНУ – Севастополь, 1997, с.148 – 155.