

Определение оптимальных параметров инкубации цист артемии сибирских популяций

Канд. биол. наук Л.И. Литвиненко, М.В. Гуженко – лаборатория промысловых беспозвоночных ФГУП «Госрыбцентр»

Технология выращивания молоди рыб и ракообразных предусматривает использование живых кормов как обязательное условие получения жизнестойких личинок. По признанию практиков всего мира, науплиусы артемии являются лучшим стартовым кормом. Это объясняется устойчивостью цист к неблагоприятным факторам среды, удобством в обращении, полноценным биохимическим составом и малыми размерами науплиусов. Однако выклев науплиусов из цист, находящихся в диапаузе, зависит от многих факторов. Поэтому для наиболее полного использования этого недешевого корма важно знать как оптимальные параметры инкубации, так и такие характеристики качества цист, как эффективность и темп выклева.

Основной ареал распространения галофильного жаброного рачка (артемии) в пределах России приурочен к степной и лесостепной зонам Западной Сибири. Годовые запасы цист артемии в сибирских соляных озерах, по данным ФГУП «Госрыбцентр», колеблются в пределах от 3 до 7 тыс. т. Промысел в разные годы ведется на 9–30 озерах. Ежегодно заготавливается около 800 т цист (в сыром весе). Цисты, заготовленные в водоемах юга Западной Сибири, обеспечивают стартовым кормом почти все рыболовные хозяйства страны, кроме того, значительная их часть отправляется за границу.

Большой литературный материал, накопленный за предыдущее 50-летие по качеству цист артемии, свидетельствует о том, что цисты из разных популяций, обладают разными характеристиками качества и имеют разные пределы оптимума для инкубации. Сибирские популяции артемии до сих пор слабо изучены в этом отношении.

Цисты артемии были собраны в озерах Западной Сибири и Казахстана. Качество цист: процент, эффективность и темп выклева – определяли по общепринятым методикам (*Инструкция по использованию артемии в аквакультуре. Тюмень: Изд-во Госрыбцентра, 2000. 58 с.*).

Показатели выклева планктонных и бентосных цист

Некоторая часть цист артемии, даже если их поместить в оптимальные для эмбрионального развития условия, остается в

состоянии диапаузы, или обратимо прерванного метаболизма. Этот механизм был сформирован как защитная реакция для сохранения жизни популяции в резко меняющихся условиях жизни.

После активации цист показатель выклева значительно повышается. В природных условиях активация цист происходит под действием низких зимних температур.

За все время исследований показатели выклева цист, взятых непосредственно с водоемов (без хранения и искусственной активации), находились в пределах 1,3–77,6 %.

Проанализировав показатели выклева бентосных и планктонных цист по сезонам года (*табл. 1*), пришли к выводу, что самый низкий процент выклева наблюдается в зимнее время; весной происходит резкое его увеличение. Выклев цист, образованных в летнее время, ниже показателей выклева осенних и весенних цист. Показатели выклева планктонных цист в весеннее время достоверно выше выклева цист в летнее и осеннее время. Для бентосных цист достоверных различий не обнаружено. Наиболее важен для популяции этот показатель в весеннее время, когда формируется численность рачков 1 генерации. Как видно из *табл. 1*, процент выклева планктонных цист в разных озерах весной колеблется от 17 до 77,6 % (в среднем – 35,9 %); бентосных цист – от 1,3 до 57,5 % (в среднем – 19,1 %).

Оптимальные условия инкубации цист местных популяций артемии

1. Определение оптимальной солености

Для проведения инкубации, как правило, используется морская вода соленостью около 35 ‰. При отсутствии природной морской воды готовят раствор, состоящий из двух основных солей: $NaCl$ и $NaHCO_3$, т.е. из пищевой нейодированной поваренной соли и соды. Соду используют в количестве 2 г/л для улучшения буферных способностей раствора. Поваренная соль используется в концентрациях 30–35 г/л или 5 г/л.

Перед нами стояла задача найти минимальную соленость инкубационной среды, при которой выклев для местных популяций был бы наибольшим. Для этого было проведено несколько экспериментов. Во всех опытах в инкубационные растворы была добавлена сода в концентрации 2 г/л.



Отбор рачков на озере



Самка с цистами

Таблица 1
Процент выклева планктонных и бентосных цист в озерах в разные сезоны года

Сезон года	Название озера	Дата	% выклева цист	
			планктонных	бентосных
Зима	Б. Медвежье	26.02.2001	18,9	12,5
	Филатово	28.02.2001	10,2	5,3
	Актобан	28.02.2001	9,6	6,2
	М±m		12,9±3,0	8,0±4,6
Весна	Б. Медвежье	19.04.2001	41,2	57,5
	Б. Медвежье	03.05.2001	35,6	1,3
	М. Медвежье	26.04.2001	20	13
	М. Медвежье	03.05.2001	25,3	18,6
	Н.-Георгиевское	21.04.2001	77,6	5,9
	Невидим	25.04.2001	50	10,8
	Требушинное	25.04.2001	27	2,3
	Б. Курейное	25.04.2001	40	40
	Ульжай	18.05.2002	17	30,8
	Эбейты	18.05.2002	25	10,5
	М±m		35,9±5,7	19,1
Лето	Эбейты	23.06.2001	7,2	5,1
	Эбейты	12.07.2001	8,5	6,3
	Эбейты	04.07.2002	21	7
	Н.-Георгиевское	04.07.2002	7,1	5,5
	М. Медвежье	04.07.2002	19,9	18,2
	Филатово	04.07.2002	30	23,1
	Вишняковское	04.07.2002	18,6	16,2
	Ульжай	04.07.2002	16,2	15,3
	М±m		15,6±2,9	10,9±2,5
	Осень	Невидим	19.10.1996	16,7
Невидим		24.10.2001	29,3	26
Невидим		16.11.2001	27,8	23
Филатово		18.10.1996	17,1	15,2
Филатово		15.11.2001	18,4	17,2
Окуновское		30.11.1998	45,5	39,3
Ульжай		22.11.1999	10,5	12
Ульжай		16.11.2000	4,5	5,3
Эбейты		10.10.2001	3,1	2,2
Эбейты		09.11.2002	27	19
Эбейты		26.11.2002	27,2	26,3
М. Медвежье		25.10.2001	21,4	19,3
М. Медвежье		18.11.2001	11	8,9
Б.Медвежье		25.10.2001	14,7	13,2
Б. Медвежье		17.11.2001	22,4	23,6
Вишняковское		22.10.2001	4,6	2,3
Б. Курейное		14.11.2001	29	31,3
Гашково		13.11.2001	35,8	37,9
Требушинное		15.11.2001	24,9	26,1
Актобан	14.11.2001	32,8	33,8	
Умрешево	16.11.2001	5,3	4,9	
Н.-Георгиевское	18.11.2001	15,4	15,9	
М±m		19,6±2,4	18,9±2,3	

В первом эксперименте изучалось влияние *NaCl* в следующих концентрациях: 0 (дистиллированная вода); 1; 5; 10; 20; 35 г/л. Во втором эксперименте изучалось влияние *NaCl* в концентрациях: 5; 15 и 30 г/л; в третьем эксперименте – в концентрациях: 5 и 30 г/л.

Результаты эксперимента представлены в *табл. 2*.

Анализ данных первого эксперимента показал, что выклев цист возможен даже в дистиллированной воде (с добавлением соды в количестве 2 г/л), однако процент выклева в этих условиях самый низкий – 6,8 %. Также низкий выклев наблюдался при концентрации соли *NaCl* 1 г/л. Различия в проценте выклева при этих двух соленостях были не достоверны. Увеличение концентрации *NaCl* до 5 г/л приводит к увеличению процента выклева по

сравнению с двумя первыми концентрациями в 3,8–4,9 раз. Последующее увеличение солености среды приводило, как правило, к постепенному увеличению процента выклева. При этом различия в выклеве между концентрациями *NaCl* от 5 до 35 г/л оказались не достоверными. Самый высокий выклев был отмечен при солености 35 г/л (40,1 %).

Во втором эксперименте, когда испытывалось влияние трех концентраций *NaCl*, опыты проводились при двух температурах: 22 и 25°С. При *t* = 22°С происходило достоверное снижение выклева с увеличением концентрации *NaCl* от 40,0 % (при 5 г/л) до 23,8 % (при 30 г/л). При температуре 25°С эти изменения были не столь существенны: от 36,7 % (при 5 г/л) до 33,0 (при 30 г/л).

В третьем эксперименте, когда испытывалось влияние двух концентраций *NaCl*, опыты проводились с цистами из трех разных популяций при одинаковой температуре (25°С), а также с цистами одной популяции, но при двух температурах – 22 и 25°С. В первом варианте опыта с разными популяциями оказалось, что цисты из оз. Медвежье почти одинаково выклевались при обеих концентрациях *NaCl*; из оз. Невидим выклев был выше при низкой концентрации, однако эти различия не достоверны. Цисты из оз. Б. Яровое выклевались достоверно лучше при концентрации *NaCl* 5 г/л. Во втором варианте опыта с цистами из популяции оз. Невидим выклев был выше при обеих исследуемых температурах при концентрации *NaCl* 5 г/л, однако различия достоверны были только при температуре 22°С.

Таким образом, можно заключить, что при отсутствии морской природной воды для инкубации цист артемии в целях экономии лучше использовать раствор солей: 5 г/л *NaCl* и 2 г/л *NaHCO₃*, поскольку увеличение концентрации *NaCl* в растворе существенно не повышает процент выклева науплиусов, а в некоторых случаях даже снижает его.

Таблица 2
Процент выклева науплиусов при разной солености инкубационной среды

№ опыта	Место сбора цист	Концентрация <i>NaCl</i> , г/л	<i>t</i> , °С	<i>M</i> ± <i>m</i> , %	<i>cv</i>	Различия не достоверны с концентрациями <i>NaCl</i>
1	Оз. Медвежье	0	25	6,8±1,2	42	1
		1	25	8,9±1,4	39	0
		5	25	33,4±1,9	14	10; 20; 35
		10	25	31,5±0,8	7	5; 20; 35
		20	25	37,8±1,0	7	5; 10; 35
		35	25	40,1±2,4	14	5; 10; 20
2	Оз. Медвежье	5	22	40,0±1,2	7	
		15	22	36,4±1,2	8	
		30	22	23,8±0,9	10	
		5	25	36,7±0,8	6	15
		15	25	37,7±0,9	6	5
		30	25	33,0±1,0	7	
3	Оз. Медвежье	5	25	32,0±5,4	41	30
		30	25	31,5±0,4	3	5
	Оз. Невидим	5	25	77,8±1,2	4	30
		30	25	72,9±0,6	2	5
	Оз. Невидим	5	22	76,9±0,8	3	
		30	22	68,1±0,6	2	
Оз. Б. Яровое	5	25	58,9±0,9	4		
	30	25	52,2±1,0	5		

2. *Определение оптимальной температуры*

В природе выклев науплиусов начинается при прогреве воды до 4–5°С. Большинство исследователей для инкубации рекомендуют поддерживать температуру в пределах 25–30°С, мотивируя это тем, что при температуре ниже 25°С темп выклева цист замедляется, а при температуре выше 33°С метаболизм необратимо останавливается.

В экспериментах испытывалось влияние трех типов температур на выклев: ниже общепринятого оптимума, в пределах оптимума и выше оптимума (табл. 3).

В первом варианте опытов сравнивались результаты выклева при температурах 21 и 29°С (цисты оз. Медвежье); 23 и 27°С (сухие цисты оз. Б. Яровое); 24 и 28°С (цисты озер Казахстана). В первых двух случаях выклев был лучше при более низкой температуре. В третьем случае анализ данных 14 популяций показал, что выклев при увеличении температуры среды может как увеличиваться, так и снижаться. В целом по всем озерам на 24 ч инкубации он был почти одинаков (40,5 и 41,2 %); на 30 ч различия уже больше (44,8 и 43,0 %).

Во втором варианте опытов было проведено сравнение выклева цист из двух популяций (цисты озер Медвежье и Ульжай) при температурах 25 и 29°С. В обоих случаях показатели выклева были выше при температуре 25°С.

Таблица 3
Процент выклева науплиусов при разной температуре инкубационной среды

Место сбора цист	t, °С	24 ч	30 ч
Оз. Невидим	29	60,8	62,6
	31	36,5	38,1
Оз. Медвежье	21	49,7	54,6
	29	33,4	35
Оз. Медвежье	25	50	
	29	34,5	
Оз. Ульжай	25	35,5	
	29	29,7	
Оз. Б. Яровое сухие цисты	23	77	81
	27	73,1	74,8
Озера Казахстана			
1	24	10,2	15,3
	28	19,4	21,2
2	24	50,4	56,2
	28	48,2	50,1
3	24	20,4	25,3
	28	17,5	19,8
4	24	40,1	44,2
	28	39,6	41,3
5	24	92,4	92,7
	28	91,4	91,6
6	24	37,2	42,8
	28	39,4	41,6
7	24	52,5	58,6
	28	74,9	74,9
8	24	32,5	37,6
	28	24,5	26,9
9	24	35,9	41,3
	28	24,7	27
10	24	44	49,2
	28	49	51,2
11	24	39	44,3
	28	48,4	50,2
12	24	58,8	59,3
	28	49,2	52,1
13	24	49,8	55,7
	28	49,1	51,3
14	24	3,9	4,9
	28	1,5	2,3

В третьем варианте испытывалось влияние близких высоких температур – 29 и 31°С (цисты оз. Невидим). Оказалось, что температура 31°С уже отрицательно влияет на выклев и снижает его в 1,7 раза.

Таким образом, проведенные исследования позволяют заключить, что для выклева артемии сибирских популяций, а также популяций Казахстана более благоприятна температура воды от 21 до 25°С. При более низких температурах, поскольку происходит задержка темпа выклева, сроки инкубации следует продлить до 30 ч.

3. *Изучение влияния интенсивности света*

Освещение цист, по крайней мере, в течение первых часов после их полной гидратации, является одним из главных факторов для получения максимального процента выклева. Оптимальная интенсивность света для разных популяций различна и определяется толщиной и цветом оболочки цист. Об этом свидетельствует тот факт, что у декапсулированных цист пороговая величина интенсивности света значительно снижается. В методиках по инкубации рекомендуют использовать интенсивность света, равную как 1000, так и 2000 люкс (*Sorgeloos P., Lavens P., Leger Ph., Tackaert W., Versichele D. Manual for the culture and use of brine shrimp in aquaculture. 1986. Belgium: Chent universiteit. 319 pp.*).

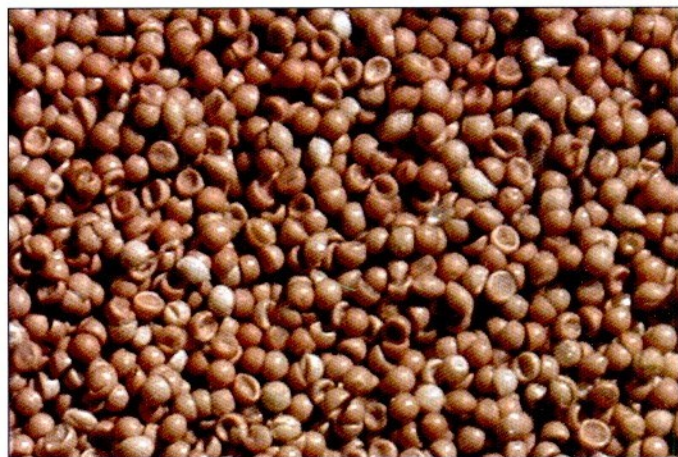
Чтобы проверить, какая интенсивность света более подходит для местных популяций, в основном имеющих толстую оболочку цист, провели опыты с двумя режимами освещенности: 1000 и 2000 люкс, регулируемым расстоянием до лампы дневного света.

Опыты, повторенные несколько раз, показали, что выклев при повышенной освещенности был равен 45,0±3,7 (cv = 20 %); при пониженной освещенности – 31,9±1,7 (cv = 13 %). Различия оказались достоверными на высоком уровне значимости (p = 0,009).

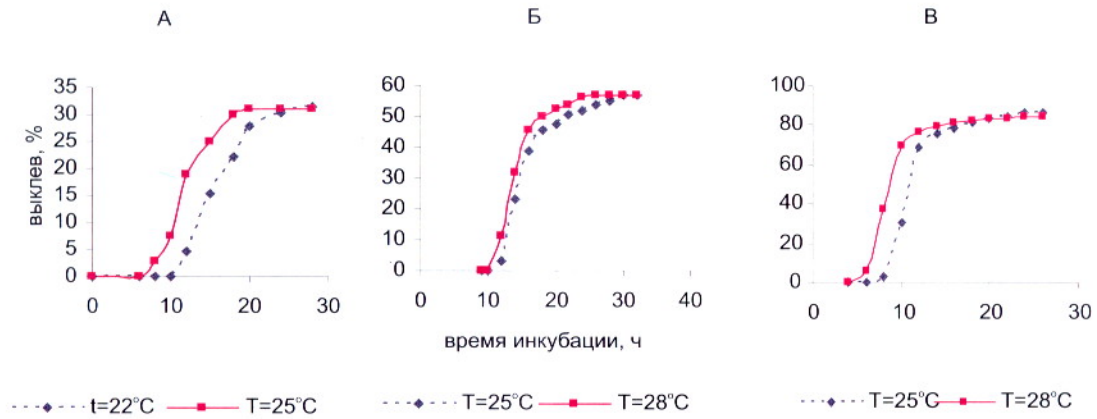
Таким образом, для улучшения показателей выклева не просто необходимо обеспечивать освещение, а освещение должно быть интенсивным.

Эффективность выклева артемии

Эффективность выклева (ЭВ) – это число науплиусов, получаемых из 1 г сухих яиц, если инкубация проходит при стандартных условиях (24–48 ч инкубации; раствор NaCl – 5–35 г/л, NaHCO₃ – 2 г/л; температура 25–29°С; минимум 1000 люкс освещения; pH 8–8,5). Средние значения ЭВ для артемии разных географических рас находятся в пределах 130–270 тыс. экз. Лучшая зафиксированная продукция – 300–330 тыс. науплиусов на 1 г яиц (*Sorgeloos et al., 1986*). Этот критерий дает представление о чистоте пробы яиц и их выклеве и зависит от размеров яиц, т.е. чем больше яйца по размерам, тем их меньше в 1 г вещества.



Цисты



Темп выклева цист артемии при разных температурах: А – неактивированные цисты оз. Медвежье (Курганская область); Б – цисты из оз. Солёный Кулат (Челябинская область); В – цисты из малых озёр Алтайского края

Нами была изучена ЭВ цист из трех географических мест: Алтайский край (оз. Б. Яровое), Курганская область и Казахстан (табл. 4).

Число цист в 1 г сухого вещества в изученных популяциях было в пределах 116–199 тыс. шт., что ближе к нижней границе средних значений для разных географических рас. Это можно объяснить более крупными размерами цист сибирских популяций и особенно цист из Казахстана (число цист в этих популяциях наименьшее). Эффективность выклева была в пределах от 111 до 168 тыс. науплиусов на 1 г сухих цист при выклеве более 75 % и всего 35,5 тыс. науплиусов на 1 г сухих цист при выклеве 30,6 %. Таким образом, эта величина очень сильно зависит от процента выклева.

Определение темпа выклева

Темп выклева (ТВ) свидетельствует о периоде времени от начала инкубации до освобождения науплиусов от оболочек. Важность определения этого показателя связана с тем, что науплиусы артемии используются как стартовый корм для личинок рыб и ракообразных. Поскольку науплиусы артемии очень быстро растут, их размеры могут выйти за пределы кормовой доступности. Поэтому желательно отбирать продукцию как можно в более ранние сроки, после достижения максимального выклева (90 % от всех выклюнувшихся науплиусов – T_{90}). У разных рас артемии T_{90} находится в пределах от 18 до 42 ч. Амплитуда колебаний этого показателя высокая, поэтому для каждой расы необходимо экспериментально определять T_{90} .

Таблица 4
Эффективность выклева цист артемии из разных мест обитания

Место обитания цист артемии	ЭВ, тыс. науплиусов на 1 г сухих цист	Выклев, %	Число цист в 1 г сухого вещества
Оз. Б. Яровое	153	87,6	175
Курганская область	111–168	74,5–84,8	168–199
Казахстан	35,5	30,6	116

При изучении ТВ принимают во внимание также следующие интервалы времени: T_0 , T_{10} , что соответствует времени инкубации до появления первых свободноплавающих науплиусов (для разных рас оно, как правило, равно 14–20 ч) и времени инкубации до появления 10 % науплиусов (для разных рас – 15–21 ч). Кроме того, важным показателем является мера синхронности выклева (T_s), которая определяется как разность между T_{90} и T_{10} . Лучшие зафиксированные результаты T_s равны 4,4–5,0 ч; средние – в пределах 5,3–10,0 ч.

Известно, что с увеличением температуры метаболические процессы в организмах ускоряются, поэтому следует ожидать, что ТВ будет существенно различаться в зависимости от температуры инкубационной среды.

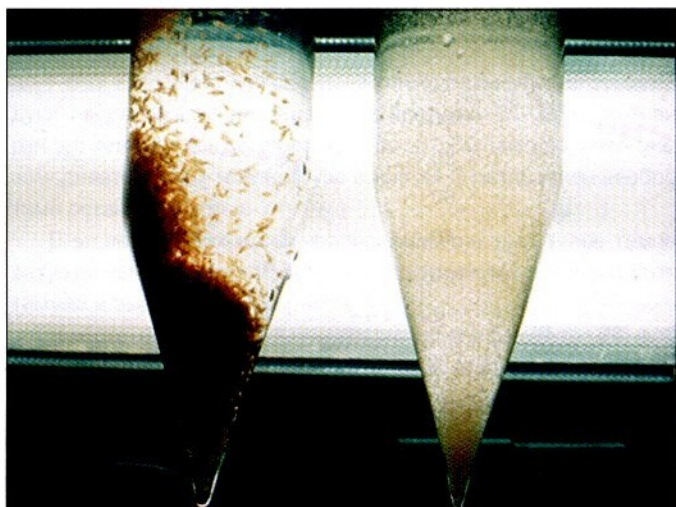
Для выяснения влияния температуры опыты проводили в двух вариантах: в первом сравнивали ТВ при 22 и 25°С, во втором – при 25 и 28°С (рисунок).



Береговые выбросы цист



Опыты с цистами



Выклев науплиусов в инкубационной емкости

Опыты показали, что для сибирских популяций T_0 находится в пределах от 6 до 10 ч; T_{10} – от 7 до 12; T_{90} – от 12 до 22; T_s – от 5 до 10 ч.

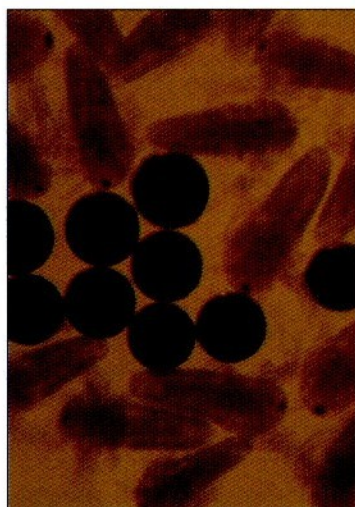
В обоих вариантах даже небольшое снижение температуры (на 3°C) приводило к замедлению темпа выклева. Так, T_0 и T_{10} были на 1–3 ч больше при меньшей температуре. Различия в T_{90} были более существенными и составляли 3–4 ч (табл. 5). Важный для производства живых кормов показатель синхронности выклева T_s был меньше при более высокой температуре: разница составила 1–3 ч.

Таблица 5
Показатели темпа выклева цист артемии трех популяций при разной температуре инкубационной среды

Место обитания цист артемии	t, °C	T_0	T_{10}	T_{90}	T_s
Оз. Медвежье	22	10	11	20	9
	25	7	8	16	8
Оз. Солёный Кулат	25	10	12	22	10
	28	9	11	18	7
Малые озера Алтайского края	25	8	9	15	6
	28	6	7	12	5

Таким образом, снижая температуру инкубационной среды до $21\text{--}23^\circ\text{C}$, мы можем существенно увеличить процент выклева местных популяций артемии, однако при этом проигрываем в синхронности выклева, являющейся одним из важных показателей качества цист.

Итак, можно сделать следующие выводы. Способность к выклеву науплиусов из цист, находящихся непосредственно в водоеме, сильно различается по сезонам (весной – максимум, летом и зимой – минимум) и находится в пределах от 1,3 до 77,6 %. Оптимальные условия для инкубации цист артемии сибирских популяций: температура – $21\text{--}23^\circ\text{C}$; освещенность – 2000 люкс; солевой раствор, состоящий из 5 г/л NaCl и 2 г/л NaHCO₃. Эффективность выклева цист составляет от 111 тыс. до 168 тыс. науплиусов на 1 г сухих цист при выклеве 75 %. Темп выклева науплиусов артемии сибирских популяций имеет следующие характеристики: T_0 находится в пределах от 6 до 10 ч; T_{10} – от 7 до 12; T_{90} – от 12 до 22; T_s – от 5 до 10 ч. Увеличение температуры инкубационной среды на 3°C приводит к снижению T_s на 1–3 ч.



Выклев науплиусов

Litvinenko L.I., Guzhenko M.V.

Definition of optimal parameters for hatching of Siberian Artemia cysts

It is known that cysts from different populations differ in quality and have different critical parameters for optimal hatching. The Siberian Artemia populations are poorly investigated in this respect. Nauplii hatching from cysts depends on many factors. Therefore for the fullest use of this expensive forage it is important to know both optimum parameters of incubation, and such characteristics of cyst quality as hatching efficiency and hatching rate.

Naturally in lakes of Western Siberia hatching of Artemia cysts is in limits from 1,3 to 77,6 %, the highest values are observed in spring when the first generation of shrimps is forming. In this period hatching rate of planktonic cysts in different lakes varies from 17 to 77,6 (on the average 35,9 %), benthic cysts - from 1,3 to 57,5 (on the average 19,1 %).

The author gives the optimal mixtures for Artemia cysts incubation in the absence of sea natural water. In the paper the data are presented on optimal thermal regimes for cysts ($21\text{--}25^\circ\text{C}$ for Siberian populations).

Hatching of Siberian populations cysts being characterized by thick cyst shell is optimal under conditions of high illuminance.

The cysts abundance for investigated populations was about 116000-199000 cysts/g. Hatching efficiency varied from 111000 to 168000 nauplii per gram of dry cysts at hatching level higher than 75 %, and only 35500 nauplii/g at hatching level of 30,6 %.

Hatching rate of cysts from Siberian populations has the following characteristics: T_0 - from 6 to 10, T_{10} - from 7 to 12, T_{90} - from 12 to 22, T_s - from 5 to 10. Increase of temperature of the incubatory environment by 3°C decreases T_s by 1-3 hours.

