



УДК:582.263:639.64

**Еркин БАЙМУРЗАЕВ,**

PhD, Национальный университет Узбекистана, Ташкент, Узбекистан

E-mail:erkin9414@gmail.com Orcid: 0000-0002-9234-7620

**Анатолий ТОНКИХ,**

Кандидат биологических наук, Института микробиологии АН РУз, Ташкент, Узбекистан

**Ольга ВЕРУШКИНА,**

PhD, Института микробиологии АН РУз, Ташкент, Узбекистан

На основании рецензии профессора НУУз, д.б.н А.Вахабова

### КУЛЬТИВИРОВАНИЕ МИКРОРАЧКОВ ARTEMIA НА ОСНОВЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МИКРОВОДОРОСЛИ DUNALIELLA SALINA

Аннотация

В работе оценена возможность культивирования микрорачков *Artemia parthenogenetica* Аральской популяции в искусственных водоёмах при использовании микроводоросли *Dunaliella salina* в качестве единственной кормовой базы. Показано, что при моноалиментарном кормлении биомассой *D. salina* артемии успешно развиваются до половой зрелости и стадии цистообразования: с 12-х суток регистрировались самки с яйцевыми мешками, к 19-м суткам выживаемость стабилизировалась на уровне около 80%, при этом самки продуцировали 8–24 науплия. Понижение температуры до 16–18 °С после 21-х суток индуцировало переход к откладке цист. В целом показатели роста, выживаемости и репродукции соответствовали литературным данным, однако отмечено некоторое удлинение периода полового созревания.

**Ключевые слова:** Аральская популяция, *Artemia parthenogenetica*, цисты, искусственное культивирование, *Dunaliella salina*.

### DUNALIELLA SALINA MIKROSUVUTLARIDAN FOYDALANGAN HOLDA ARTEMIA MIKROQISQICHBAQALARI KULTIVATSIYASI

Annotatsiya

Ushbu ishda Orol populyatsiyasiga mansub *Artemia parthenogenetica* mikrosuv jonivorlarini yagona ozuqa bazasi sifatida *Dunaliella salina* mikrosuv o'tlaridan foydalangan holda sun'iy suv havzalarida yetishtirish imkoniyati baholangan. *D. salina* biomassasi bilan monoalimantar oziqlantirilganda artemiyalarning jinsiy yetuklik va sista hosil qilish bosqichigacha muvaffaqiyatli rivojlanishi ko'rsatib berilgan: 12-kundan boshlab tuxum xaltali urg'ochilar qayd etilgan, 19-kunga kelib yashovchanlik 80% atrofida barqarorlashgan, bunda urg'ochilar 8 tadan 24 tagacha naupliy (lichinka) hosil qilgan. 21-kundan so'ng haroratning 16–18 °C gacha pasayishi sista qo'yish jarayoniga o'tishni rag'batlantirgan. Umuman olganda, o'sish, yashovchanlik va reproduksiya ko'rsatkichlari adabiyotlardagi ma'lumotlarga mos kelgan, biroq jinsiy yetilish davrining biroz uzayganligi qayd etilgan.

**Kalit so'zlar:** Orol populyatsiyasi, *Artemia parthenogenetica*, sistalar, sun'iy yetishtirish, *Dunaliella salina*.

### CULTIVATION OF ARTEMIA MICROCRUSTACEANS USING THE MICROALGA DUNALIELLA SALINA

Annotation

This study evaluated the feasibility of cultivating the microcrustacean *Artemia parthenogenetica* from the Aral Sea population in artificial ponds using the microalga *Dunaliella salina* as the sole feed source. It was shown that on a monodiet of *D. salina* biomass, *Artemia* successfully developed to sexual maturity and the cyst-formation stage: females with egg sacs were observed from day 12, and by day 19, the survival rate stabilized at approximately 80%, with females producing 8–24 nauplii. A decrease in temperature to 16–18 °C after day 21 induced the transition to cyst laying. Overall, the growth, survival, and reproduction parameters were consistent with published data; however, a slight extension of the sexual maturation period was noted.

**Keywords:** Aral population, *Artemia parthenogenetica*, cysts, artificial cultivation, *Dunaliella salina*.

**Введение.** В гиперсолёных водоёмах Приаралья широко распространён галофильный рачок *Artemia parthenogenetica*, питающийся галофильным планктоном, адаптированным к высоким концентрациям солей [8, 9]. Одним из наиболее ценных кормовых объектов для артемии является микроводоросль *Dunaliella salina*, богатая каротиноидами и обладающая высокой биологической ценностью. Наибольшее хозяйственное значение имеют цисты артемии, из которых получают науплии, широко используемые в аквакультуре в качестве стартового корма при выращивании молоди рыб, включая ценные виды; кроме того, цисты и высушенная биомасса применяются в рыбоводстве, косметической промышленности и производстве биологически активных добавок [9].

Рост международного спроса на цисты артемии и наличие потенциальных потребителей в Узбекистане обуславливают актуальность рационального использования биоресурсов аральской артемии и развития их промышленной переработки. Гидрохимические условия водоёмов Южного Приаралья характеризуются значительной сезонной вариабельностью солёности (10–50 г·л<sup>-1</sup> весной и до ≥130 г·л<sup>-1</sup> в отдельных водоёмах), что определяет особенности жизненного цикла *Artemia*: выплывание цист происходит преимущественно при 30–60 г·л<sup>-1</sup>, развитие до

взрослых особей - при  $\geq 90$  г·л<sup>-1</sup>, а при солёности свыше 110 г·л<sup>-1</sup> наблюдаются цистообразование и живорождение, позволяющие получать 1 - 2 урожая цист в год [2, 4].

Для повышения продуктивности применяются биотехнологические методы, включающие инкубацию цист с получением науплиусов и их последующую интродукцию в естественные и искусственные водоёмы, где при формировании кормовой базы из микропланктона (включая *Dunaliella* sp. и др.) [3, 5] и использовании органических субстратов обеспечивается эффективное культивирование артемии. При среднем цикле развития около 15 суток в открытых прудовых системах возможно получение многократных циклов продукции в течение тёплого сезона при относительно низких трудозатратах [1].

Культивирование *Dunaliella salina* является технологически специфичным процессом, однако данная микроводоросль представляет ценность не только как корм для артемии, но и как источник коммерчески значимых метаболитов ( $\beta$ -каротина, липидов, глицерина и витаминов). В связи с этим интеграция производства биомассы *D. salina* и культивирования артемии в рамках единого биотехнологического комплекса рассматривается как перспективный и экономически устойчивый подход [6, 7].

Исходя из изложенного, целью настоящего исследования являлось изучение возможности культивирования артемии в искусственных условиях при использовании микроводоросли *Dunaliella salina* в качестве единственной кормовой базы.

**Материалы и методы.** Объектом исследования служили цисты артемии, отобранные в западной части Аральского моря. В качестве кормовой базы использовали Аральский штамм микроводоросли *Dunaliella salina*, полученный из коллекции микроорганизмов Института микробиологии АН РУз.

Культивирование *D. salina* осуществляли на минеральной среде Артари (NaCl - 116 г·л<sup>-1</sup>, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O - 50 г·л<sup>-1</sup>, KNO<sub>3</sub> - 2,5 г·л<sup>-1</sup>, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> - 0,2 г·л<sup>-1</sup>, NaHCO<sub>3</sub> - 1,0 г·л<sup>-1</sup>) с добавлением микроэлементов (H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, MnCl<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O, ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, MoO<sub>3</sub>, NH<sub>4</sub>VO<sub>3</sub>) в следовых концентрациях. Культивирование проводили в 10 л. стеклянных баллонах при освещённости 6000–8000 лк (108–144  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ), температуре 25–28 °C и непрерывном барботировании воздухом (5–6 л·мин<sup>-1</sup>). В 9 л питательной среды вносили 1 л инокулята с плотностью  $2\times 10^6$  клеток/мл; к 5-м суткам концентрация клеток достигала  $\sim 2\times 10^6$  клеток/мл при биомассе около 1 г·л<sup>-1</sup>.

Инкубацию цист артемии проводили в 1 л. сосудах в солевом растворе (60 г·л<sup>-1</sup>) при температуре 25–28 °C и постоянном аэрировании для поддержания суспензии цист. Через 24 ч получали науплии I стадии с уровнем выплывания 70–90% в зависимости от качества цист. Науплии развивались в солевом растворе без дополнительного питания за счёт эндогенных резервов до II стадии в течение 6 суток. На 7-е сутки по 100 науплиусов переносили в 1-л ёмкости со средой Артари, содержащей клетки *Dunaliella salina* различной концентрации, и оценивали их выживаемость при разных трофических условиях. Численность клеток микроводоросли определяли микроскопически в камере Горяева и фотометрически по оптической плотности суспензии при 550 нм с использованием калибровочного графика.

**Результаты.** Анализ проб воды, отобранных в начале июня в западной части Аральского моря, показал, что популяция *Artemia* была представлена преимущественно ювенильными особями (около 60%; 5 - 7 мм, 3 - 4 мг), тогда как доля половозрелых рачков (8–10 мм, 5–6 мг) составляла около 30%, а личинки I - IV метанауплиарных стадий (0,5 - 4 мм) - около 10%. Исследование содержимого пищевого комка выявило преобладание фитопланктона, представленного зелёными, диатомовыми и цианобактериальными водорослями как планктонных, так и бентосных форм, а также наличие детрита и переваренной органической массы, служащих дополнительным источником питания. Видовой анализ показал доминирование зелёных водорослей (*Chlorophyta*) - до 82% от общего числа водорослей, среди которых наиболее часто встречались *Oocystis borgei*, *Oocystis marssoni*, *Dunaliella salina* и *Dunaliella minima*; доля *Chrysophyta* (включая *Chromulina ovalis*) составляла около 8%, диатомовых водорослей (*Nitzschia*, *Cocconeis*, *Coscinodiscus*, *Amphora*) - около 5%, цианобактерий (*Claeocapsa*, *Synechococcus*) - около 2%, тогда как прочие представители фитопланктона суммарно не превышали 3%.

Экспериментальная часть была направлена на оценку роста, развития и выживаемости артемии при моноалиментарном питании *Dunaliella salina*. С учётом литературных данных о суточной пищевой потребности одной особи ( $\sim 0,1$  мг, что эквивалентно  $\approx 2\times 10^5$  клеток *Dunaliella*), опыты проводили в четырёх 1-л сосудах со средой Артари, содержащей культуру *D. salina* в начале линейной фазы роста ( $\approx 5\times 10^5$  клеток/мл). В каждый сосуд вносили по 100 науплиусов 7-суточного возраста. Культивирование осуществляли при непрерывной аэрации (1–2 л·мин<sup>-1</sup>), освещённости 6000–8000 лк (108–144  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) и температуре 25–28 °C; ежедневно регистрировали концентрацию клеток микроводоросли, численность и размеры артемий. В ходе эксперимента концентрация клеток *D. salina* увеличивалась до  $\sim 2,2\times 10^6$  клеток/мл; при её снижении в среду дополнительно вносили биогенные элементы (N, P, K), что способствовало возобновлению роста культуры. При данных условиях отмечался стабильный рост артемий с увеличением длины тела до 8–9 мм. (рис. 1)

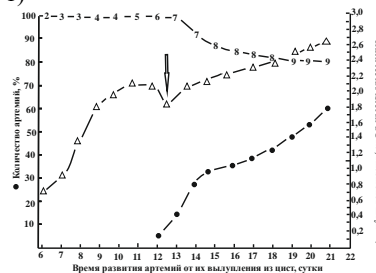


Рис 1. Динамика изменения концентрации клеток *Dunaliella salina* и развития артемий. Треугольниками обозначена концентрация клеток *Dunaliella salina*. Стрелкой обозначен момент добавки расходуемых питательных элементов (N, P, K). Цифрами обозначен округлённо размер артемий в мм, а положение их количество. Чёрными кружками обозначено количество самок артемий с яйцевыми мешками.

Начиная с 12-х суток наблюдалось формирование самок с яйцевыми мешками, а с 14-го дня фиксировалось оседание на дно мёртвых особей; к 19-м суткам выживаемость стабилизировалась на уровне около 80%. С 19-го дня самки приступали к рождению науплиусов в количестве 8–24 особей на самку. После 21-го дня при снижении температуры среды до 16–18 °С отмечалось начало откладки цист. В течение всего эксперимента концентрация клеток *Dunaliella salina* многократно превышала пищевые потребности 100 особей артемии. В целом показатели роста, развития и выживаемости артемий соответствовали опубликованным литературным данным, однако период полового созревания оказался несколько удлинённым.

**Заключение.** Результаты исследования демонстрируют возможность успешного культивирования *Artemia parthenogenetica* в искусственных условиях при использовании в качестве единственного корма микроводоросли *Dunaliella salina*, обеспечивающей полноценное развитие, высокую выживаемость и репродукцию артемий, включая продукцию науплиусов и цист.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Романова Е.М., Романов В.В., Любомирова В.Н., & Фазилов Э.Б.О... Факторы, регулирующие онтогенез *A. salina* и ее продуктивность при культивировании *in vitro* //Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. – 2022. – №. 3 (59). – С. 148-153.
2. Руднева И.И. Артемия. Перспективы использования в народном хозяйстве. - Киев: Наукова думка. 1991.- 138 с.
3. Castro, M.J., Castro, M.G., Flores, G.A.F., Tinoco, L.P.I., & Salvat, N.K.A.. *Artemia* sp. biomass production using three different microalgae (*Pinnularia* sp., *Porphyridium* sp., and *Dunaliella* sp.) with yeast supply //International Journal of Fisheries and Aquatic Studies. – 2023. – Т. 11.
4. Chernova N.I., Kiseleva S.V. The resource potential of the territory of Uzbekistan for microalgae cultivation for energy purposes //Applied Solar Energy. – 2022. – Т. 58. – №. 2. – С. 311-317.
5. Guermazi, W., Athmouni, K., Annabi-Trabelsi, N., Elloumi, J., Ayadi, H., & Leignel, V.. Energy transfers in a predator–prey context involving *D. salina* (microalga), *F. salina* (ciliate) and *A. salina* (crustacean), living in salterns of Sfax (Tunisia) //Aquatic Ecology. – 2024. – Т. 58. – №. 2. – С. 429-449.
6. Gui L., Xu, L., Liu, Z.Y., Zhou, Z.G., & Sun, Z. Carotenoid-rich microalgae promote growth and health conditions of *Artemia nauplii* //Aquaculture. – 2022. – Т. 546. – С. 737289.
7. Megarajan S., Avadhanula R.K., Suresh R.D. *Artemia* culture techniques for marine finfish larval rearing. – 2023.
8. Ogburn, N.J., Duan, L., Subashchandrabose, S.R., Sorgeloos, P., O'Connor, W., Megharaj, M., & Naidu, R. Agricultural wastes for brine shrimp *Artemia* production: A review //Reviews in Aquaculture. – 2023. – Т. 15. – №. 3. – С. 1159-1178.
9. Van Stappen G., Sorgeloos P., Rombaut G. Manual on *Artemia* production and use. – Food & Agriculture Org.[Author][Author], 2024.