

Научно - исследовательская работа

Биология

## **ПРОСТЫЕ СРЕДЫ ДЛЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ХЛОРЕЛЛЫ**

**Выполнила:**

***Кирильченко Юлия Андреевна***

*учащаяся 8 а класса*

*МАОУ Сладковской средней общеобразовательной*

*школы, с. Сладково, Тюменской области*

**Руководитель:**

***Фуникова Ольга Викторовна***

*учитель биологии*

*МАОУ Сладковская средняя*

*общеобразовательная школа,*

*с. Сладково, Тюменской области*

Российская Федерация, с. Сладково

2020 г.

## **Введение**

Рыбохозяйственные озера Сладковского района эвтрофицированы. Донные отложения сапропеля достигают 30-70 сантиметров. Гниющая органика приводит к возникновению зимних и летних заморов. Кроме этого, в рыбохозяйственных озерах Сладковского рыбозавода летом можно наблюдать массовое развитие цианобактерий, которые существенно ухудшают условия обитания для вселяемых видов рыб - пеляди, карпа, щуки и окуня. Сладковский рыбозавод использует один из методов реабилитации водоемов, который основан на вселении культуры зеленой одноклеточной водоросли – хлореллы. Эта водоросль улучшает качество воды, уменьшает загрязнения и является кормом для водных обитателей. Она является конкурентом цианобактериям, подавляя их развитие в водоеме, предотвращает гибель рыбы[1]. Сладковский рыбозавод использует готовую методику выращивания культуры хлореллы и вынужден ежегодно тратить не менее 40 тысяч рублей на закупку субстрата для выращивания водоросли у производителя и разработчика методики[5].

**Гипотеза:** Если для выращивания хлореллы удастся использовать более простые субстраты, то можно удешевить выращивание культуры и снизить затраты предприятия.

**Цель работы:** поиск новых сочетаний веществ субстратов для выращивания хлореллы.

**Задачи:** 1. Изучить методику выращивания хлореллы на предприятии Сладковское товарное рыбоводное хозяйство.

2. Изучив особенности жизнедеятельности хлореллы и технологию переработки рыбы на предприятии, подобрать новые сочетания веществ субстрата для выращивания хлореллы.

3. Апробировать новые сочетания веществ субстрата для выращивания хлореллы.

4. Выйти к предприятию с рекомендациями по удешевлению методики выращивания хлореллы.

Для выращивания хлореллы работники рыбозавода использовали готовую методику, согласно которой брались «реактивы в строгой последовательности согласно их номерам на этикетках[5]. Причем, состав реактивов являлся коммерческой тайной производителя и указан не был. Литературные данные показывают, что исследователи из Башкирии[3] для приготовления субстрата для выращивания хлореллы использовали «Технологическую инструкцию на производство корма - «Суспензия хлореллы» Пензенского научно-исследовательского института альгобиотехнологии[6]. Согласно, данной методики в питательную среду добавляются следующие вещества и соединения:

1. Аммиачная селитра, ГОСТ 2-85 0,14 г
2. Аммофос, ГОСТ 19691-84, 15% раствор 0,10 мл
3. Железо хлорид, ГОСТ 4147-74, 1% раствор 0,15 мл
4. Кобальт азотнокислый, ГОСТ 4528-78, 0,1% раствор 0,1 мл
5. Медь сернокислая, ГОСТ 4165-78, 0,1% раствор 0,1 мл
6. Углекислый газ, раствор (рН 5-7) 10 мл
7. Водопроводная вода по СанПиН 2.1.4.559-96 1000 мл.

Температурные условия и условия освещения на предприятии и в литературных данных совпадали. В Сладковском озерном хозяйстве в качестве источника углекислого газа для хлореллы использовалась культура бактерий, выращенная на голозерном овсе с добавлением комплекса минеральных добавок, состав которых также скрыт[5]. Авторы, использующие пензенскую технологию, использовали солому, которую также замачивали водой и добавляли определенные минеральные ингредиенты[3]. Мы использовали в качестве источника углекислого газа вытяжку из мяса рыбы. На предприятии проводится переработка выловленной рыбы, в результате остается большое количество воды от мытья рыбы - раствор органического вещества, на котором, по- нашему мнению, могут развиваться бактерии.

## Методика исследований

Для определения возможности выращивания культуры хлореллы на разных субстратах нами были заложены три группы экспериментов. В первом эксперименте в качестве субстрата использовались минеральные удобрения Fertika кристалон цветочный, содержащий не только соединения азота, калия и фосфора, но и микроэлементы используемые для комнатных растений. Расчет концентрации удобрения проводился согласно рекомендациям, нанесенным на этикетку удобрения (Рисунок 1).



Рисунок 1- Цветочное удобрение, используемое в эксперименте

Во втором эксперименте в качестве субстрата использовалась водная вытяжка из мяса карасей, которые перерабатываются при производстве продукции на предприятии. Для приготовления вытяжки 100 граммов мяса карася, нарезанного на кусочки, заливали холодной водой объемом 500 мл и настаивали в течение суток в прохладном месте. Полученная вытяжка использовалась при выращивании культуры хлореллы. В третьем эксперименте в качестве субстрата использовался одновременно раствор минеральных удобрений и вытяжка из мяса рыбы в равных долях. Также в одинаковые с экспериментальными субстратами для выращивания хлореллы использовался готовый субстрат, используемый на предприятии.

Эксперимент проводился в трех повторностях. Каждый раз для каждого эксперимента были взяты 60 колб, в каждую из которых добавляли 15 мл готовой

суспензии хлореллы. В первые 15 колб добавили по 5 мл раствора минерального удобрения, во вторые 15 колб добавили по 5 мл рыбной вытяжки, в третьи 15 колб добавили по 2, 5 мл минерального удобрения и вытяжки мяса рыбы. В 15 колб помещалась готовая суспензия хлореллы, взятая на предприятии (Рисунок 2).



Рисунок 2 – Процесс приготовления растворов и снятия замеров

Колбы с различными растворами и суспензией хлореллы с предприятия установили в изолированную емкость и создали температуру +28 градусов, как предложено методикой. Выдерживали в течение 3 суток, используя подсветку лампой дневного света. По истечении 3 суток измеряли прозрачность раствора с помощью мобильного компьютера Nova 5000 (цифровая лаборатория Архимед) и датчика для определения прозрачности – колориметра. Согласно методике [4] чем ниже концентрация взвеси в растворе, тем выше прозрачность раствора. Дистиллированная вода имеет прозрачность 100% - она являлась контролем для калибровки колориметра при измерении прозрачности среды, в которой выращивалась хлорелла.

## Результаты исследования и их обсуждение

После проведения измерения прозрачности растворов, в которых выращивалась хлорелла, было выяснено, что средние показатели прозрачности исследованных растворов составила от 31,43% в растворе с рыбным настоем до 67,71% в субстрате, взятом с предприятия. Вычисленный t-критерий показывает, что отличия прозрачности используемых растворов достоверны. Прозрачность раствора на минеральных удобрениях составила 65,75%. Вероятно, это связано с тем, что в удобрениях не содержался весь спектр необходимых хлорелле минеральных веществ, а также отсутствовал источник углекислого газа - бактерии, которые развивались на органических средах. Возможно, в растворе истощились ресурсы. Прозрачность раствора со смесью минеральных удобрений с настоем рыбы составил 31,5%. Кроме этого, суспензия имела светло-зеленую окраску, запах гниения ощущался в 4 колбах. Это свидетельствует о том, что концентрация микрофлоры, в том числе и хлореллы, в данном растворе высокая (Рисунок 3).

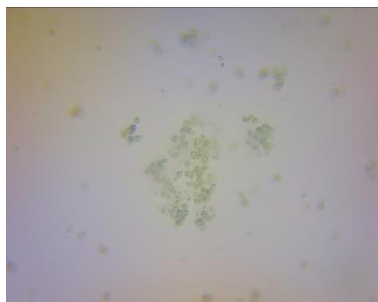


Рисунок 3 – Микропрепарат хлореллы, выращенной на растворе минеральных удобрений и рыбного настоя.

Прозрачность культуры на рыбном растворе составила 31,43%. Толща раствора в 11 колбах была почти не окрашена, а хлорелла в виде зеленого осадка находилась на дне. Визуально на микропрепарате, приготовленного с рыбного раствора, клеток в поле зрения было меньше, чем на микропрепарате с раствора со смесью минеральных удобрений и рыбным настоем. (Таблица 1).

Таблица 1- Средние показатели прозрачности сред в эксперименте

Растворы для выращивания хлореллы	Средние показатели прозрачности сред, %
Раствор с минеральным удобрением	65,75±6,57
Раствор с рыбным настоем	31,43±4,76
Раствор с минеральным удобрением и рыбным настоем	31,50± 5,96
Раствор с субстратом предприятия	67,71± 3,26

Низкая прозрачность раствора с органическими добавками показывает на возможность использования на предприятии отходов переработки рыбы для выращивания суспензии бактерий как источника углекислого газа при культивировании хлореллы. Отсутствие затрат на покупку голозерного овса и реактивов, которые используются для выращивания бактерий поможет снизить затраты на выращивание хлореллы и создаст финансовую выгоду предприятию.

#### **Выводы:**

1. После изучения методики выращивания хлореллы и технологии переработки рыбы в Сладковском товарном рыбоводном хозяйстве были подобраны 3 субстрата.
2. Субстраты, содержащие вытяжку из отходов рыбного производства, имели достоверно более низкую прозрачность. Это говорит о более высокой концентрации микрофлоры в этих средах по сравнению с субстратом, содержащим только минеральные удобрения.
3. Можно рекомендовать предприятию рассмотреть возможность использования в качестве источника углекислого газа для хлореллы бактерий, выращенных на органических средах - отходах переработки рыбы на предприятии.

## Список литературы

- 1.Калайда М.Л., Галеева М.Э. Эксперименты по альголизации водоемов одноклеточной водорослью *Chlorella vulgaris* – научная статья по специальности «Экологические биотехнологии», [Электронный ресурс] – URL:<https://cyberleninka.ru/article/n/eksperimenty-po-algolizatsii-vodоеmov-odnokletochnoy-vodoroslyu-chlorella-vulgaris> ( дата обращения 10.09.2020).
- 2.Obiznese.populjarno//Сведения о микроводорослях хлореллы для биологической очистки пруда, [Электронный ресурс] URL:[https://obiznese.populjarno.com/photo/razvedenie\\_ryby\\_i\\_rakov/razvedenie\\_vodoroslej\\_dlja\\_ryb/khlorella\\_dlja\\_ochistki\\_vodоеmov/7-0-43](https://obiznese.populjarno.com/photo/razvedenie_ryby_i_rakov/razvedenie_vodoroslej_dlja_ryb/khlorella_dlja_ochistki_vodоеmov/7-0-43)( дата обращения 25.05.2020).
3. Выращивание хлореллы в домашних условиях: Опытно - экспериментальная работа Министерство образования Республики Башкортостан МУ «Отдел образования» администрации МР Гафурийский район РБ МОБУ СОШ с. Белое Озеро, [Электронный ресурс] – URL:<https://educontest.net/ru/1797799/исследовательская-работа-выращиван-2/> (дата обращения 10.04.2020).
- 4.Цифровая лаборатория Архимед 4.0 Лабораторные работы по биологии. – Сборник лабораторных работ:-Москва: Мытная, 50, 2017.- с.43-46.
5. Система электронной торговли ООО НПО «Альгобиотехнология». Ижевское водохранилище - <http://algobiotehnologija.ru/shop/1583818/1583821.html>  
<http://algobiotehnologija.ru/shop/1583818/1583821.html>
- 6.«Технологическая инструкция на производство корма - «Суспензия хлореллы» Некоммерческое учреждение Научно-исследовательский институт альгобиотехнологии. : Пенза, 2004.- 25 с-[Электронный ресурс] – URL: <http://chlorella-v.narod.ru/river.html> ( дата обращения 21.05.2020).



## ПРИЛОЖЕНИЕ I

Таблица 2- Показатели прозрачности раствора хлореллы с минеральным удобрением

№ Колбы	Прозрачность, % Опыт 1	Прозрачность, % Опыт 2	Прозрачность, % Опыт 3
1	71	72	59,7
2	64,7	57,4	72,4
3	74,6	68,9	61,1
4	53,5	64,7	72
5	52,6	63,4	61
6	71	70	69
7	71,5	54,7	62,4
8	72,4	58,5	65,4
9	67,7	74,8	71,8
10	68,7	67,4	63,7
11	57,8	74,6	66,4
12	53,3	74,4	62,7
13	57,4	73,5	62,7
14	67,4	68,6	63,2
15	71,8	55,6	71,4
Среднее значение 65,75111±6,57281			

Таблица 3-Показатели прозрачности раствора хлореллы с минеральным удобрением и рыбным настоем

№ Колбы	Прозрачность, %	Прозрачность, %	Прозрачность, % Опыт 3
---------	-----------------	-----------------	---------------------------

	Опыт 1	Опыт 2	
1	29,4	27,8	31,2
2	43,1	36,5	29,7
3	31,5	34,7	42,1
4	40,5	24,5	37,6
5	27,5	36,8	25,5
6	23,4	29,7	22,4
7	31,5	33,9	34,8
8	24,3	36,4	26,9
9	23	25,1	37,3
10	25,5	39,2	34,7
11	25,6	38,7	36,7
12	21,9	39,7	24,5
13	31	38,7	34,7
14	33,5	32,7	26,7
15	30,5	29,4	24,6
Среднее значение $31,5 \pm 5,96521$			

Таблица 4- Показатели прозрачности раствора хлореллы с рыбным настоем

№ Колбы	Прозрачность % Опыт 1	Прозрачность % Опыт 2	Прозрачность, % Опыт 3
1	34	35	32,1
2	35,3	32	24,7
3	30,3	36,7	21,7
4	41,1	28,4	26,4
5	40,5	37,6	34,7

6	33	31,8	31,6
7	24,5	29,7	26,7
8	25,8	38,1	35
9	25,6	34,7	32,4
10	31	34,5	36,7
11	23,4	32	35,7
12	31,6	31	28,7
13	31,7	24,7	26,3
14	34,5	27,5	37,1
15	27	26,7	34,7
Среднее значение 31,42667±4,76522			

Таблица 5- Показатели прозрачности суспензии хлореллы с предприятия

№ Колбы	Прозрачность, %, Опыт 1	Прозрачность, %, Опыт 2	Прозрачность, % Опыт 3
1	67	71	71
2	69	65.2	65
3	62,9	72	63
4	70	65,9	65.8
5	71	66.4	59,4
6	65,8	61,8	66,3
7	65.2	63,7	62,3
8	64.9	64	63
9	66	62,8	68
10	63.9	65	68,5
11	62.5	67	59,9
12	67	62.6	70

13	69	64.9	64,9
14	68	73	69
15	67,9	72	70,3
Среднее значение $67,71111 \pm 3,26411$			