

ИЗУЧЕНИЕ РОСТОВЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КУЛЬТУРЫ CHLORELLA SP. STUDY OF GROWTH INDICATORS OF CHLORELLA SP.

И. М. Новик, Е. Э. Бондаренко, К. В. Котлярова, П. В. Суманович
I. M. Novik, E. E. Bondarenko, K. V. Kotlyarova, P. V. Simanovich

ГУО «Средняя школа № 126 г.Минска», г.Минск, Республика Беларусь
natallia1983.83@mail.ru, marina02012013@mail.ru
State Educational Establishment "Secondary School No. 126 of Minsk", Minsk, Republic of Belarus

В данной работе представлены исследования в области альгологии, отражена перспектива использования объекта живой природы – хлореллы, как альтернативного источника для получения биодобавок и очистителя белорусских искусственных водоемов.

This paper presents research in the field of algology, reflects the prospect of using an object of wildlife - chlorella, as an alternative source for obtaining bioadditives and a cleaner of Belarusian artificial reservoirs.

Ключевые слова: хлорелла, альгология, световая микроскопия, среда Тамия, культивирование

Keywords: chlorella, algology, light microscopy, Tamiya medium, cultivation.

<https://doi.org/10.46646/SAKH-2023-2-372-375>

Сувеличением численности населения планеты Земля все более актуальным становится продовольственный вопрос, а в связи с этим – увеличение продуктивности сельскохозяйственных животных. Для производства комбикормов для домашних животных на всех континентах используются зерновые культуры – рожь, пшеница, ячмень, овес, которые богаты растительным белком – клейковиной. Увеличить количество пахотных земель, улучшить химический состав почв, создать новые сорта злаковых – меры, которые позволили бы повысить производительность сельского хозяйства, но данные меры экономически и экологически не выгодны. Значит, актуальным остается вопрос создания способов повышения продуктивности биомассы микроводорослей, которые по содержанию белка в несколько раз превосходят злаковые культуры. Практическое применение микроводорослей (хлореллы) позволит решить три экологические проблемы одновременно: загрязнение пресных водоемов промышленными водами (воды пищевой промышленности); сокращение численности различных видов растений и животных, обитающих в наших реках и озерах; получение дешевой биологической добавки для вскармливания сельскохозяйственных животных.

Целью нашей работы являлось изучение влияния экологических факторов на ростовые показатели культуры *Chlorella sp.*; определение зоны оптимума. В виду этого решались следующие задачи: провести анализ литературы по исследованию влияющих факторов на ростовые показатели культуры *Chlorella sp.*; оценить ростовые показатели культуры в зависимости от действия освещения (естественного и регулируемого) *Chlorella sp.*; от изменения состава селективной среды.

Работы по данной тематике осуществлялись два года. В 2020/2021 учебном году был изучен теоретический материал по данной проблематике. В 2021/2022 учебном году в результате исследования влияния экологических факторов на ростовые показатели хлореллы для некоторых штаммов хлореллы была определена зона экологического оптимума, что может быть использовано в дальнейшем в промышленном культивировании хлореллы.

При изучении литературы было установлено, что хлорелла является перспективным источником возобновляемой энергии, так как ее производство не является сезонным и выход не ограничивается одним или двумя урожаями в год. По сравнению с другим сырьем для производства органических соединений, содержащих большое количество энергии, таких как пшеница и рожь, хлорелла обладает преимуществом в 6–12 раз по производству годовой энергии (Sandefur, Matlock & Costello, 2011).

Все немногочисленные литературные источники о данном объекте живой природы имеют три направления: исследования на улучшение выхода биомассы хлореллы; практическое использование хлореллы для приготовления комбикормов для домашней птицы; практическое использование хлореллы для получения биодобавок. Тематик, связанных с данным объектом живой природы, может быть великое множество, так как и в природе, и тем более в лабораториях существует великое множество штаммов хлореллы. Но на сегодняшний день изучены ростовые показатели лишь для некоторых из них.

Вначале для проведения исследования был выполнен забор воды из трех систем очистки сточных вод. Необходимо было определить какие роды микроводорослей присутствуют в городских очистных сооружениях. Используя определитель водорослей, метод микроскопирования и консультацию сотрудников лаборатории биоразнообразия НАН Республики Беларусь, были установлены следующие роды микроводорослей: *Chlorella*,

Botrydiopsis, *Dictyochloris*, *Ellipsoidon* и *Scenedesmus*. Данные водоросли являются жизнеспособными в сточных водах, а также легко выращиваются в лабораторных условиях.

Для дальнейшего исследования ростовых показателей культуры *Chlorella vulgaris* была использована чистая лабораторная микроводоросль.

В ходе проведения эксперимента по изучению ростовых показателей культуры *Chlorella vulgaris* мы использовали следующие методы: световая микроскопия, приготовление питательной среды Таммийа, культивирование (выращивание) при различных условиях, взвешивание, анализ полученных данных.



Рисунок 1 – Световая микроскопирования



Рисунок 2 – Определение биомассы *Chlorella vulgaris*



Рисунок 3 – Фильтрация суспензии *Chlorella vulgaris*



Рисунок 4 – Взвешивание биомассы *Chlorella vulgaris*

Культура выращивалась при естественном освещении с 22.03.2022 по 02.04.2022 в эксперименте по изучению влияния минерального питания на продуктивность хлореллы использовали стандартную среду Таммийа, состав которой (KNO_3 – 5,0 г/л, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 2,5 г/л, KH_2PO_4 – 1,25 г/л, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,003 г/л, ЭДТА (этилендиаминтетрауксусная кислота) – 0,044 г/л.

ЭДТА (этилендиаминтетрауксусная кислота) препятствует выпадению солей в осадок и способствует лучшему поглощению их клетками водоросли.

Провели три эксперимента:

1. Ростовые показатели культуры хлореллы *Chlorella vulgaris* (биомасса) при разных разбавлениях среды Таммийа. Сухие вещества взвешивали на электронных весах и готовили среду Таммийа. Проводили 4 опыта: 1 опыт: изучение влияния 100 % среды Таммийа на ростовые показатели культура *Chlorella vulgaris*; 2 опыт: изучение влияния 50 % среды Таммийа на ростовые показатели культура *Chlorella vulgaris*; 3 опыт: изучение влияния 25 % среды Таммийа на ростовые показатели культура *Chlorella vulgaris*; 4 опыт: изучение влияния 10 % среды Таммийа на ростовые показатели культура *Chlorella vulgaris*. Биомассу клеток во всех 12 культуральных сосудах взвешивали через каждые трое суток. Для этого использовали 100 мл культуральной среды хлореллы в каждом биологическом реакторе. Ежедневно контролировали также уровень жидкости в биологических сосудах (биореакторах). Потерю воды из питательной среды за счет ее испарения компенсировали, добавляя водопроводную воду с температурой 23 °С. Производить сравнение культур было решено на 9 сутки культивирования, так как этого срока культивирования было достаточно для выхода кривых на плато.

Вывод 1. Биомасса клеток хлореллы в культуральных сосудах, где использовалась 50 % питательная среда Таммийа преобладала над биомассой клеток, выращенных на 100 %, 25 % и 10 % растворе Таммийа. Значит, данная концентрация химических веществ является оптимальной для роста и развития *Chlorella vulgaris*.



Рисунок 5 – Зависимость прироста биомассы *Chlorella vulgaris* от воздействия 50 % раствора Тамия (биомасса исчисляется в граммах)

2. Ростовые показатели культуры хлореллы *Chlorella vulgaris* (биомасса) при различных показателях содержания углекислого газа. Для данного эксперимента мы использовали культуру хлореллы объемом 100 мл (в каждом биологическом реакторе), выращенную на 50% питательной среде Тамия (при выращивании на данной питательной среде биомасса хлореллы была максимальной). Создали два биореактора с разной аэрацией: первый биореактор с естественной аэрацией (без подачи с помощью катетера воздуха; второй биореактор с использованием катетера, через который подавался дополнительный воздух. Соответственно, через второй биореактор пропусклось большее количество углекислого газа, чем через первый. В третий биореактор поместили к питательной среде Тамия дополнительный источник энергии – дисахарид (сахарозу), в ходе разложения из которого образуется углекислый газ.

Вывод 2. Углекислый газ стимулирует продуктивность биомассы культуры хлореллы, культивируемой на 50 % питательной среде Тамия. В биореакторе, в котором производили обогащение среды культивирования хлореллы углекислым газом, биомасса микроводоросли оказалась выше, чем в биореакторе, в котором не производилось обогащение углекислым газом. Самым производительным биореактором оказался тот, в котором были добавлены сахара.



Рисунок 6 – Зависимость прироста биомассы *Chlorella vulgaris* от продолжительности воздействия освещения желтым светом (биомасса исчисляется в граммах)

3. Ростовые показатели культуры хлореллы *Chlorella vulgaris* (биомасса) при различном освещении (использовали лампы с теплым и холодным светом). Изучалось влияние теплого, холодного и нейтрального света на ростовые показатели хлореллы. Использовались светодиодные лампочки одинаковой мощности – 6 Вт. Культуру *Chlorella vulgaris* в биореакторах располагали под светильником на различном расстоянии. Контрольный вариант культуры *Chlorella vulgaris* располагали на подоконнике.

Вывод 3. Качество света существенно влияет на продуктивность биомассы культуры *Chlorella vulgaris*. Экспериментально подтверждено влияние регулируемого освещения на рост культуры хлореллы. Значительно большее количество биомассы хлореллы производится в биореакторе с желтым светом по сравнению с синим светом. Но размер клетки хлореллы, культивируемой под голубым светом, больше, чем культивируемой под красным светом. Однако, средний размер клеток наблюдался при культивировании с использованием естественного освещения.



Рисунок 7 – Зависимость прироста биомассы *Chlorella vulgaris* от продолжительности воздействия на культуру сахаров (биомасса исчисляется в граммах)

В данной работе проведен анализ литературы по влиянию освещения, содержания углекислого газа, минерального питания на рост культуры хлореллы, на образование ее биомассы.

В работе экспериментально доказано, что экологическим оптимумом ростовых показателей хлореллы является использование следующих экологических факторов: 50% питательная среда Тамия (средний показатель биомассы хлореллы составил 0,93 г/литр культивируемой среды), использование желтого освещения (средний показатель биомассы хлореллы составил 2,37 г/литр культивируемой среды), повышенная концентрация углекислого газа в культивируемой среде (средний показатель биомассы хлореллы составил 6,21 г/литр культивируемой среды).

В трех экспериментах наблюдалось активное увеличение биомассы на протяжении первых 5 суток, затем темпы роста снизились, а на 15 сутки не наблюдалось значительных изменений в приросте биомассы хлореллы, график выходит на плато.

Изучив влияние экологических факторов на ростовые показатели хлореллы, мы сможем культивировать экологически чистую хлореллу с целью получения важных источников биодобавок.

Chlorella vulgaris – микроводоросль, которая широко распространена во всех очистных сооружениях, где вода загрязнена неорганическими и органическими, N- и P- содержащими соединениями. Для хлореллы эти химические элементы являются благоприятной средой обитания. Значит, возможна перспектива использования сточных вод для массового размножения хлореллы.

При выращивании хлореллы на сточных водах любых производств использовать ее в пищу нельзя. Но в этом случае хлорелла помогает выводить из воды опасные вещества, аккумулируя их, или используя в качестве питательных веществ. Хлорелла по завершении жизненного цикла оседает на дно водоемов и дальнейшее ее использование в народном хозяйстве возможно в качестве удобрения (когда чистят водоемы и вывозят ил на поля) но только, если в этот водоем не поступали стоки производств, содержащие тяжелые металлы и другие опасные вещества.

Таким образом, в результате проделанной работы у учащихся сформировано представление об одноклеточной водоросли *Chlorella sp.* Приобретая исследовательские компетенции по биологии, учащиеся развивают свои способности, поисковую и познавательную деятельность, обогащают свои знания, формируют экологическую культуру учащихся.

ЛИТЕРАТУРА

1. Мельникова С.С., Мананкина, Е.Е., Самович, Т.В., Козел, Н.В., Шалыго, Н.В. Оптимизация условий выращивания хлореллы. – Минск, Весці НАН Беларусі, серыя біялагічных навук, 2014, №3. С. 52–57.
2. Мельников С.С., Мананкина Е.Е. Использование хлореллы для кормления сельскохозяйственных животных // Наука и инновации. – 2010. – № 8 (90). – С. 40–43.
3. Шалыго Н.В., Мананкина, Е.Е., Ромашко, А.К., Ерошевич, В.С. Рекомендации по использованию биологически активных биологических добавок на основе водорослей (суспензии хлореллы в птицеводстве), НАН Беларуси, ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии», РУП «Опытная научная станция по птицеводству», НПЦ НАН Беларуси по животноводству, – Минск, 2012. – С. 38.
4. Шалыго Н.В., Мельников С.С. Хозяйственно полезные виды водорослей и их использование в народном хозяйстве // Наука и инновации. – 2009. – № 3. – С. 34–36.