

КУЛЬТИВИРОВАНИЕ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ *ISOCHRYSIS GALBANA* И *CHLORELLA* SP. ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ РАЗЛИЧНЫХ ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫХ ЛАМП: ЛД – 40, OSRAM FLUORA L 18W/77 И SYLVANIA CORALSTAR

Кваша А.В.

г. Севастополь, «Общеобразовательная школа №36 начального и основного общего образования», 8 класс

Научный руководитель: Найданова О.Г., ОП «Севастопольский морской Аквариум-музей», ГБОУ ДО «Севастопольский центр эколого-натуралистического творчества учащейся молодежи»

Данная статья является реферативным изложением основной работы. Полный текст научной работы, приложения, иллюстрации и иные дополнительные материалы доступны на сайте III Международного конкурса научно-исследовательских и творческих работ учащихся «Старт в науке» по ссылке: <https://www.school-science.ru/0317/1/28151>. Проблема кормов относится к числу важнейших проблем морской аквакультуры. При выращивании водных животных в искусственных условиях используемые корма должны полностью удовлетворять потребности организма рыб или беспозвоночных в питательных веществах (белках, жирах и углеводах), минеральных солях, микроэлементов и витаминах. На разных этапах развития гидробионтов пища должна быть соответствующего размера и формы [3].

Особенно остро в аквариумистике стоит вопрос о кормлении мальков рыб и мелких беспозвоночных животных. Например, кораллы, у которых нет симбиотических водорослей зооксантелл, должны получать корм извне, а поскольку в аквариумах обычно развивается небольшое количество фитопланктона, то в отсутствие дополнительного корма они находятся в угнетенном состоянии (рис. 1, а и б). Для поддержания нормального, здорового состояния коралла, его нужно кормить искусственно минимум раз в неделю [1, 2].

Еще одна проблема – это выращивание мальков, в частности их выкармливание. Важным этапом в жизни многих водных животных становится переход к самостоятельному питанию. Оказывается, что рыбы и ракообразные особенно требовательны к кормам именно на ранних этапах онтогенеза. Установлено, что для нормального развития и оптимального роста личинок и молоди культивируемых гидробионтов предпочтительны живые корма. В морской аквакультуре используются те кормовые организмы, которые можно выращивать в необходимом количестве в искусственных условиях [3].

В природе существует большое разнообразие зоопланктонных организмов, которые по размерам подходят в качестве корма для личинок рыб и беспозвоночных. В рыбоводстве делались попытки использовать в качестве корма зоопланктон, обитающий в естественных условиях. К недостаткам этого способа относятся неравномерность распределения зоопланктона, временные флуктуации численности, наличие форм неподходящего размера, а также нежелательных видов, которые могут оказаться хищниками или конкурировать с культивируемыми организмами. В связи с этим, если в качестве корма используется зоопланктон, его выращивают в монокультуре [7]. Многие исследователи считают, что культивирование зоопланктона как корма для морских гидробионтов необходимо проводить на одноклеточных микроводорослях (рис. 2). Одноклеточные водоросли удовлетворяют требованиям массового культивирования зоопланктонных организмов по множественным параметрам. В отличие, например, от дрожжей, они: 1) более питательны, и зоопланктон, питающийся ими, соответствует по биохимическому составу потребностям личинкам морских рыб и беспозвоночных для нормального роста и развития (табл. 1); 2) находятся в толще воды в подвижном состоянии, а не оседают на дно; 3) улучшают гидрохимический фон среды, включая в свой метаболизм отходы жизнедеятельности организмов в форме как неорганических, так и органических соединений [18].

В Севастопольском морском Аквариуме-музее, на базе которого проводились исследования, огромное количество гидробионтов, содержащихся в искусственных экосистемах. Это не только рыбы, но и многие представители беспозвоночных. В связи с потребностью обеспечения их качественным живым кормом, возникла необходимость культивирования микроводорослей. В научной литературе, посвященной данной теме, для массового культивирования микроводорослей используются люминесцентные

лампы ЛД – 40 [19], в то время как на рынке появились и активно рекламируются специальные люминесцентные лампы, способствующие ускоренному росту растений – OSRAM FLUORA L 18W/77. Для подсветки океанических аквариумов часто используется специальная лампа SYLVANIA Coralstar, которую тоже решено было включить в эксперимент – дело в том, что некоторые морские организмы – в частности, актинии, кораллы и тридакны, содержат в своих тканях одноклеточные симбиотические водоросли (зооксантеллы). Эти водоросли существуют за счёт фотосинтеза и требуют хорошего освещения (в настоящее время термин

«зооксантеллы» является устаревшим, в современной классификации – Symbiodinium) [6]. Виды *Symbiodinium sp.* обладают очень важным свойством, а именно, способностью к фотосинтезу. Для роста кораллов, несущих в своих тканях представителей Symbiodinium, требуется свет, потому что питательные вещества, полученные в результате фотосинтеза, необходимы не только для жизнедеятельности зооксантелл, но и для поддержания энергоёмкого процесса кальцификации (построения скелета) самих кораллов [17]. Именно поэтому было интересно, как реагируют микроводоросли на подсветку лампой SYLVANIA Coralstar.

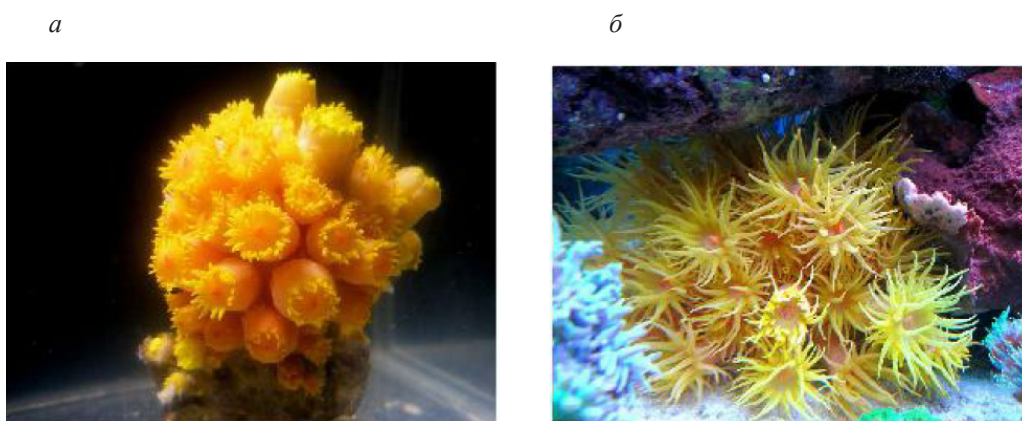


Рис. 1. а – голодная и очень слабая тубастрея в отсаднике на откорме; б – сильная сытая тубастрея на постоянном месте в аквариуме

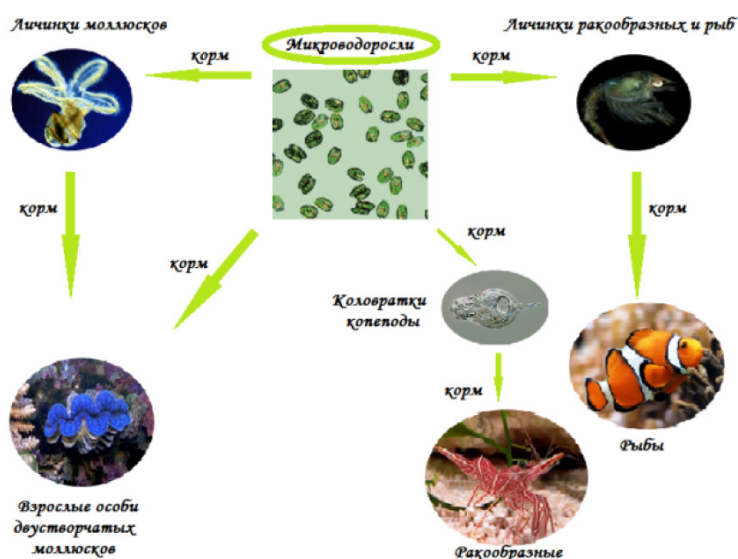


Рис. 2. Использование микроводорослей в аквакультуре

Таблица 1

Максимальное содержание (% от сухого веса) белка, углеводов, липидов в кормовых микроводорослях и их суммарная калорийность (ккал/г СВ)

Вид водорослей	Белок	Углеводы	Липиды	Суммарная калорийность
<i>Isochrysis galbana</i> [18]	49,8	28,4	25,6	6,24
<i>Chlorella sp.</i> [8]	40 – 55	35,0	5 – 10	4,15

Таким образом, была определена цель исследования: изучить продукционные характеристики двух культур микроводорослей *Isochrysis galbana*, *Chlorella sp.* при подсветке их различными люминесцентными лампами, обычно используемыми в аквариумистике: ЛД – 40, OSRAM FLUORA L 18W/77 и SYLVANIA Coralstar. Для достижения поставленной цели следовало решить ряд задач:

1. Ознакомиться с литературой по теме исследования;
2. Изучить теоретические основы культивирования микроводорослей;
3. Подготовить посуду и необходимое оборудование;
4. Освоить микроскопию с использованием микроскопа БИОЛАМ;
5. Приготовить среду Уолна для культивирования микроводорослей;
6. Освоить методы подсчета микроводорослей;
7. Произвести посев микроводорослей в подготовленную среду;
8. Вести ежедневный подсчет количества клеток водорослей в накопительной культуре;
9. Свести все полученные данные в таблицы, произвести необходимые расчеты, построить графики;
10. Сделать выводы.

Материалы и методы

В экспериментальных исследованиях были использованы следующие микроводоросли (табл. 2) [15].

РАН, исходно полученные из музея-коллекции живых культур морских микроводорослей ИМБИ РАН (ранее ИнБИОМ).

Isochrysis galbana – золотистая микроводоросль. Клетки сферические подвижные, с двумя равными жгутиками [19].

Chlorella sp. – микроскопическая зеленая водоросль [11].

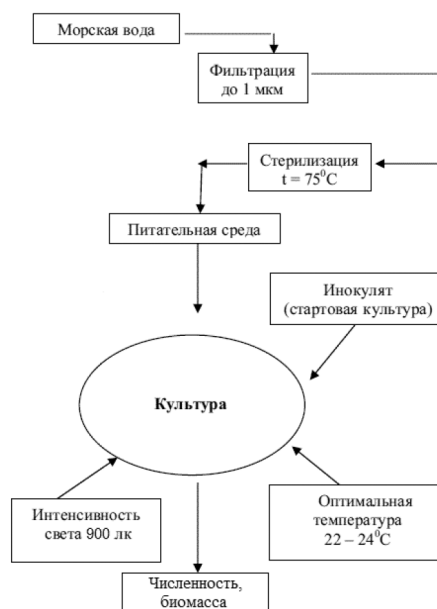


Рис. 3. Схема подготовки питательной среды и массового культивирования микроводорослей

Таблица 2

Размерные характеристики и объемы клеток микроводорослей

Вид микроводорослей	Длина клетки (мкм)	Объем клетки (мкм ³)	Класс
<i>Isochrysis galbana</i>	3 – 5	39,19	Prymnesiophyceae
<i>Chlorella sp.</i>	2 – 4	14,14	Trebouxiophyceae

Источником моновидовых накопительных культур этих микроводорослей служили линии микроводорослей, выращенные группой культивирования рыб отдела аквакультуры и морской фармакологии ИМБИ

Использованные в экспериментах микроводоросли выращивали в накопительном режиме на основе стерилизованной черноморской воды обогащенной средой Уолна [12], при температуре $23 \pm 1.5^\circ\text{C}$ (рис.

3). Круглосуточное освещение интенсивностью 900 lux осуществляли с помощью люминесцентных ламп: ЛД – 40, OSRAM FLUORA L 18W/77 и SYLVANIA Coralstar (рис. 4, А и Б).

ки; 10^4 – коэффициент пересчета кубических миллиметров в кубические сантиметры.

Плотность (численность) клеток водорослей подсчитывают в каждой колбе, отбирая по две аликвоты.

А



Б

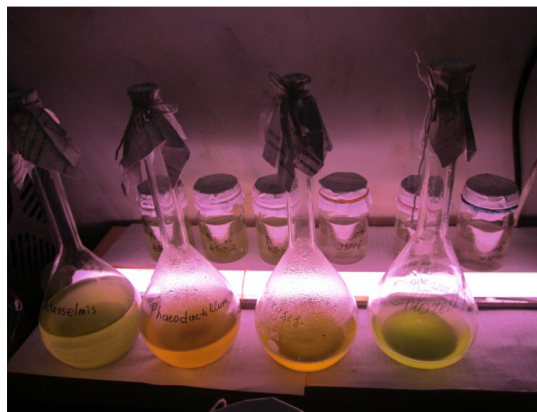


Рис. 4. Подсветка опытных емкостей с культурам микроводорослей: А – лампа ЛД-40 и SYLVANIA Coralstar; Б – лампа OSRAM FLUORA L18W/77

Определение плотности (численности) клеток водорослей методом прямого подсчета в камере Горяева [13]. Содержимое колбы с водорослями перемешивали вручную, затем пипеткой отбирали суспензию водорослей (аликвоту) и наносили по одной капле на верхнюю и нижнюю части сетки счетной камеры Горяева. Затем камеру накрывали покровным стеклом, которое притирали по бокам до появления колец интерференции. Капли суспензии водорослей наносили не подряд из одной пипетки, а при двукратном взятии суспензии в пипетку из одной и той же колбы. Через 1–2 мин после оседания клеток водорослей камеру Горяева помещали под объектив бинокулярного микроскопа БИОЛАМ ЛОМО с фазовым контрастом КФ-4 и подсчитывали количество клеток водорослей во всех 25 больших квадратах сетки (рис. 5).

Плотность (численность) клеток водорослей в 1 см суспензии водорослей рассчитывали по формуле:

$$X = m \cdot 10^4,$$

где m – суммарное количество клеток водорослей в учтенных больших квадратах сетки



Рис. 5. Подсчет численности клеток микроводорослей методом прямой микроскопии с фазовым контрастом

Биомасса водорослей. Принимая удельный вес клетки пресноводных и солоноватоводных видов равным единице, биомассу водорослей вычисляли по формуле [5]:

$$W_{кл.} = V_{кл.} \cdot \rho \text{ (мкг/мл)},$$

где $W_{кл.}$ – биомасса; $V_{кл.}$ – объем клетки; ρ – удельный вес.

Удельную скорость роста ($\mu_{ср.}$) за определенный промежуток времени определяли по формуле

$$\mu_{ср.} = \frac{\ln X_1 - \ln X_0}{t_1 - t_0} \text{ (сут}^{-1}\text{)},$$

где X_1 и X_0 – биомасса организмов соответственно в начале и конце роста; $t_1 - t_0$ – время роста [4, 5].

Люминесцентные лампы, использованные в эксперименте и их характеристики

На рис. 6 представлены пики фотосинтеза и синтеза хлорофилла, которые приходятся на длины волн 445 нм и 660 нм [16].

Лампа ЛД-40 – «белая»

Лампы люминесцентные серии ЛД – лампы люминесцентные низкого давления (рис. 7). Все люминесцентные лампы отличаются повышенной световой отдачей, небольшим потреблением энергии и очень длительным сроком службы [9].

FLUORA L 18W/77 (T8) – «розовая»

Люминесцентная трубчатая лампа FLUORA L 18W/77 (T8) идеальна для подсветки растений и аквариумов [20]. Благодаря увеличенной доли красного и синего спектрального излучения лампы, позволяет обеспечить фотобиологические процессы (фотосинтез и фотоморфогенез), способствующие ускоренному росту растений (рис. 8). Использование в аквариуме данной лампы позволяет значительно ускорить рост, улучшить окраску и форму аквариумных растений.

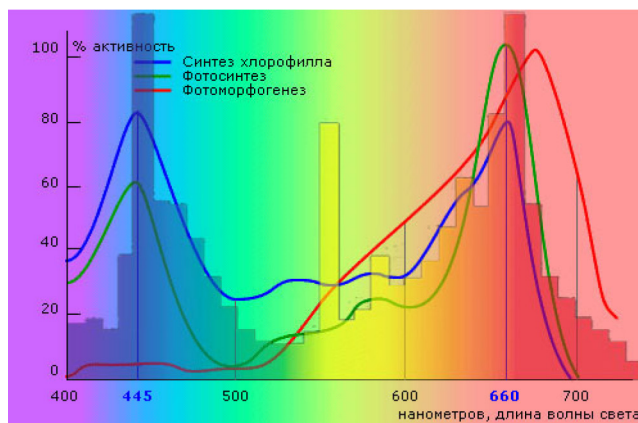


Рис. 6. Влияние длины волны на развитие растения

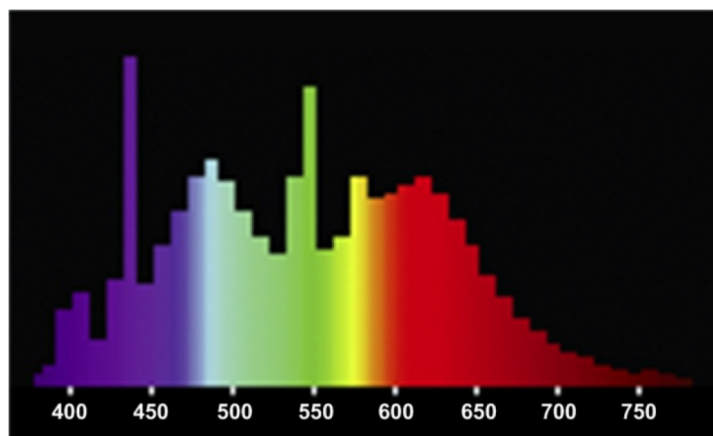


Рис. 7. График спектрального распределения светового потока люминесцентной лампы ЛД-40 («белая»)

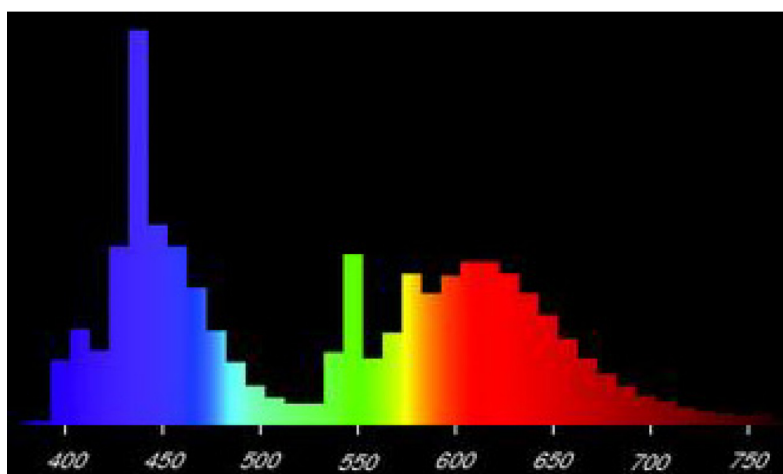


Рис. 8. График спектрального распределения светового потока люминесцентной лампы FLUORA L 18W/77 (T8) («розовая»)

SYLVANIA Coralstar – «голубая»

SYLVANIA Coralstar – люминесцентные лампы для подсветки морских аквариумов, создающие естественные условия освещения как на коралловом рифе при глубине 6 -10 м посредством актинического синего излуче-

ния (рис. 9). Способствуют росту кораллов и беспозвоночных животных. Подчеркивают естественный цвет кораллов. Лампы SYLVANIA Coralstar применяются для освещения кораллов и беспозвоночных животных в аквариумах с морской водой [10].

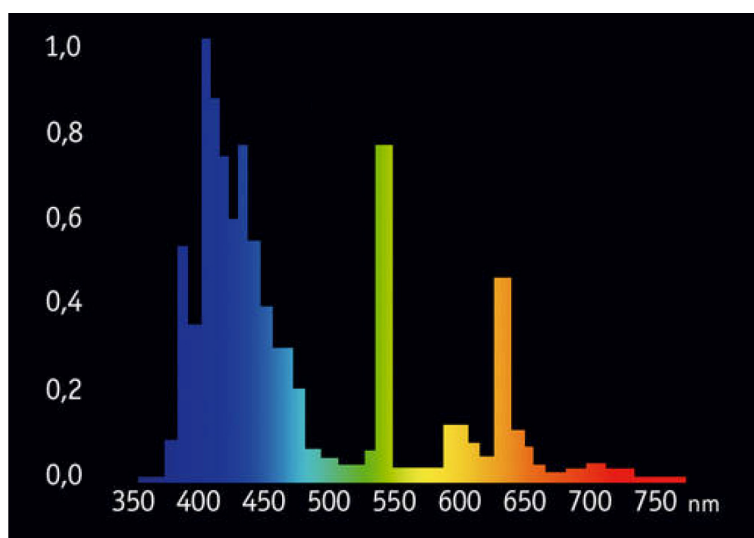


Рис. 9. График спектрального распределения светового потока люминесцентной лампы SYLVANIA Coralstar («голубая»)

Список литературы

1. Акропора – морской коралл. Условия выращивания коралла Акропора в аквариуме. <http://domznaniy.info/akropora-morskoj-korall.html>.
2. Безрук А. Кормление кораллов. – <http://aqualog.ru/topic/5533-kormlenie-korallov/>.
3. Виноградов А.К. Как пополнить кладовые Нептуна! – М.: «Пищевая промышленность», 1978. – 208 с.
4. Галковская Г.А. Эколого-биологические основы массового культивирования коловраток / Г.А. Галковская, И.Ф. Митянина, В.А. Головниц. – Минск: Наука и техника, 1988. – 143 с.
5. Заика В.Е. Сравнительная продуктивность гидробионтов / В.Е. Заика; АН УССР, Ин-т биологии юж. морей им. А.О. Ковалевского. – К.: Наук. думка, 1983. – 208 с.
6. Зооксантелла <https://www.aquawiki.ru/Зооксантеллы>.
7. Культивирование зоопланктона http://fish-industry.ru/t_akvakultura/2363-kultivirovanie-zooplanktona-chast-1.html.
8. Куницын М.В. Хлорелла – будущее птицеводства / Журнал «Птицеводство», №4, М: ООО «Авиан», 2009. – С. 11 – 13.
9. Лампа ЛД-40. Характеристики http://energ2010.ru/Katalog_oborudovaniya/Lampy/Lampa_LD_40.html.
10. Лампы для аквариумов и террариумов <http://www.lampa28.ru/sylvania/CoralStar.htm>
11. Маллаалиева А. Хлорелла – это... Водоросль хлорелла <http://fb.ru/article/239139/hlorella>.
12. Микулин А.Е. Живые корма. – М.: Дельфин, 1994. – 104 с.
13. Национальный стандарт Российской Федерации. Вода – ГОСТ Р 54496–2011.
14. Освещение аквариума. – <http://the-light.ru/osveschenie-akvariuma>.
15. Рауэн Т.В. Взаимодействие живых компонентов в системе искусственного воспроизводства черноморского калкана: Дисс. ... канд. биол. наук. – Севастополь: ИнБЮМ им А.О. Ковалевского, 2014. – 130 с.
16. Свет для растений <http://svetisad.ru>.
17. Тим Уиджгерде. **Зооксантеллы: биология и научное исследование.** – <https://reefcentral.ru/articles/0/8592/>.
18. Ханайченко А.Н. Питание и продуцирование коловраток в экспериментальных популяциях при комбинированном воздействии температуры и трофических условий (на примере *Brachionus plicatilis* Muller, 1786): автореф. дис. ... канд. биол. наук: спец. 03.00.17 «Гидробиология» / А.Н. Ханайченко. – Минск; Севастополь, 1988. – 24 с.
19. Холодов В.И., Пиркова А.В., Ладыгина Л.В. Выращивание мидий и устриц в Черном море / под. ред. В.Н. Еремеева; Национальная академия наук Украины, Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского. – Севастополь, 2010. – 422 с.
20. Электротехника. Автоматика. – http://www.elaut.ru/shop/UID_464.html.