

ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОГО МЕТОДА КОНТРОЛЯ ЧИСЛЕННОСТИ КЛЕТОК ПРИ КУЛЬТИВИРОВАНИИ ВОДОРΟΣЛЕЙ ДЛЯ ЦЕЛЕЙ АКВАКУЛЬТУРЫ

КОЗЛОВА Тамара Васильевна, *д.с.-х.н., доцент*
Гродненский государственный аграрный университет
ДМИТРОВИЧ Наталья Павловна, *ассистент*
Полесский государственный университет

Введение. Водоросли, являясь неотъемлемой частью природных экосистем, представляют собой источник разнообразных ценных и уникальных биоорганических соединений, богаты белками, витаминами, микроэлементами и биологически активными веществами [2]. Это способствуют широкому спектру использования водорослей. Выделяя в окружающую среду различные биологически активные вещества, они способны оказывать регуляторное воздействие на другие организмы [4]. Культивирование в специальных установках водорослей, в частности хлореллы и сценедесмуса, позволяет получать суспензию, которую применяют в качестве ценного корма и биостимулятора в животноводстве, птицеводстве, пчеловодстве и аквакультуре.

Аквакультура как управляемая система технологических приемов воспроизводства и выращивания гидробионтов базируется на использовании комбикормов. В рыбоводстве обычно используются корма, сбалансированные по всем компонентам и питательным веществам [3]. Известно, что добавки в них водорослей способствуют нормализации обменных процессов у рыб, ускоряют

рост естественной полезной микрофлоры при пищеварении и способствуют укреплению иммунного статуса организма.

Материалы и методы. Водоросли *Chlorella vulgaris* и *Scenedesmus acutus* выращивали в накопительном режиме в сосудах (V=1 л) при температуре 25±1°C. Освещенность на поверхности сосудов – 5000-5500 Лк, продолжительность световых и темновых фаз составляла 16ч/8ч для *Chl. vulgaris* и 12ч/12ч – для *Sc. acutus*. Культивирование *Chl. vulgaris* проводилось с использованием 6 питательных сред: среда №1 (модифицированная среда Тамийя), среда №2 (удобрение “Kristalon” универсальный), среда №3(Тамийя), среда №4 (*Chlorella medium*), среда №5 (BG-11), среда №6 (Чу-10) [1,5]. Для культивирования *Sc. acutus* использовали 4 питательные среды: среда №1 (среда Кнопа 1:2, в авторской модификации), среда №2 (удобрение “Kristalon” универсальный), среда №3 (среда Тамийя 1:5), среда №4 (ЧУ-10) [1,5]. При выращивании водорослей использовали продувку воздухом различной степени интенсивности: без барботажа (продувка №1), 40-45 л/ч (продувка №2), 60-65 л/ч (продувка №3) для *Chl. vulgaris* и без барботажа (продувка №1), 30 л/ч (продувка №2), 60 л/ч (продувка №3) для *Sc. acutus*.

Подсчет клеток проводили визуально с помощью камеры Нажотта под микроскопом ЛОМО Микмед-5 (×40). Оптическую плотность (ОП) измеряли на спектрофотометре Metertech SP8001 при следующих длинах волн: 500, 560 и 680 нм.

Результаты. Определение численности клеток водорослей методом измерения оптической плотности суспензии является известным приемом. Этот метод является менее трудоемким и более быстрым в сравнении с подсчетом количества клеток в счетной камере. На основании сравнительного анализа экспериментальных данных построены графики линейного и экспоненциального роста, определены коэффициенты детерминации и построены уравнения регрессии. Это отражает связь между численностью клеток, подсчитанной с помощью счетной камеры, и ОП суспензии при определенных длинах волн: 500 и 560 нм – для суспензии хлореллы и 500, 560 и 680 нм – для суспензии сценедесмуса.

Уравнения регрессии, отражающие связь между численностью клеток и ОП для суспензии *Chl. vulgaris* имели следующий вид:

$$\text{Количество клеток (млн. кл/мл)} = 3 \cdot 10^6 - 87970 \cdot \text{ОП}_{500} \quad (r^2=0,641, P<0,001);$$

$$\text{Количество клеток (млн. кл/мл)} = 3 \cdot 10^6 e^{-0,038 \cdot \text{ОП}_{500}} \quad (r^2=0,667, P<0,001).$$

Исследованиями установлено, что измерение оптической плотности может осуществляться как при длине волны 500 нм, так и при 560 нм, так как полученные уравнения регрессии абсолютно идентичны. Учитывая, что коэффициент ковариации выше в экспоненциальном уравнении ($r^2=0,667$), следует, что именно уравнение регрессии такого вида наиболее полно отражает взаимные изменения обоих параметров в процессе культивирования.

Уравнения регрессии, отражающие связь между численностью клеток и оптической плотностью при культивировании водоросли *Sc. acutus* имели следующий вид:

$$\text{Количество клеток (млн. кл/мл)} = 4 \cdot 10^6 + 209841 \cdot \text{ОП}_{500} \quad (r^2=0,804, P<0,001);$$

$$\text{Количество клеток (млн. кл/мл)} = 4 \cdot 10^6 e^{0,0409 \cdot \text{ОП}_{500}} \quad (r^2=0,792, P<0,001).$$

При культивировании сценедесмуса также как и при культивировании хлореллы, установлено, что измерение оптической плотности можно осуществлять при длинах волн 500, 560 и 680 нм, так как полученные уравнения регрессии абсолютно идентичны. Однако, коэффициент ковариации выше в линейном уравнении ($r^2=0,804$), из этого, следует, что именно уравнение регрессии такого вида наиболее полно отражает взаимные изменения обоих параметров при культивировании водоросли сценедесмус.

Заключение. Таким образом, для определения численности клеток суспензии по ОП при культивировании следует использовать следующие уравнения:

– для *Chl. vulgaris* экспоненциальное уравнение вида:

$$\text{Количество клеток (млн. кл/мл)} = 3 \cdot 10^6 e^{-0,038 \cdot \text{ОП}_{500}} \quad (r^2=0,667, P<0,001);$$

– для *Sc. acutus* линейное уравнение вида:

$$\text{Количество клеток (млн. кл/мл)} = 4 \cdot 10^6 + 209841 \cdot \text{ОП}_{500} \quad (r^2=0,804, P<0,001).$$

Применение спектрофотометрического метода для определения численности клеток суспензии при культивировании водорослей с целью использования их в качестве добавки в корма, в том числе и для рыб, позволяет снизить трудоемкость процесса культивирования водорослей.

Список использованных источников

1. Гайсина, Л. А., Современные методы выделения и культивирования водорослей: учеб. пособ. / Л. А. Гайсина, А. И. Фазлутдинова, Р. Р. Кабиров. – Уфа: Изд-во БГПУ, 2008. – 152 с.

2. Георгицина, К. А. Водоросли – продуценты биоорганических соединений / К. А. Георгицина // Pontus Euxinus 2011: тезисы VII Междунар. науч.-практ. конф. по проблемам водных экосистем, посвящённой 140-летию Института биологии южных морей Национальной академии наук Украины, Севастополь, 24–27 мая 2011 г. / ЭКОСИ-Гидрофизика, 2011. – С. 66-67.

3. Мухрамова, А.А. Исследование влияния кормов с биологически активными добавками на рост осетровых рыб при бассейновой технологии выращивания / А.А. Мухрамова, С.К. Койшибаева // Вестник КазНУ. Сер. экологическая. – 2012. – № 1 (33). – С. 106-108.

4. Судницына, Д. Н. Экология водорослей Псковской области: учебное пособие / Д. Н. Судницына. – Псков: ПГПУ, 2005. – 128 с.

5. Belcher, H. Culturing algae: guide for schools and colleges / H. Belcher, E. Swale. – Cambridge : Titus Wilson & Son Ltd, 1988. – 28 p.