

Муниципальное бюджетное учреждение дополнительного
образования «Центр детского творчества «Танкодром»
МБОУ «Лицей №159» г. Казани

**ПЕРСПЕКТИВА ИСПОЛЬЗОВАНИЯ БИОПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ
ЯЧМЕНОЙ СОЛОМЫ ДЛЯ БОРЬБЫ С НЕЖЕЛАТЕЛЬНЫМИ
ВОДОРОСЛЯМИ.**

Выполнил:

Кузьмин Н.Б., 10 класс

Научный руководитель:

к.г.н., доцент кафедры
прикладной экологии КФУ
О.В. Никитин

Республика Татарстан, Казань – 2020

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	3
ГЛАВА 1 ЭВТРОФИРОВАНИЕ ПОВЕРХНОСТНЫХ ВОД И ЕГО ПОСЛЕДСТВИЯ.....	5
1.1 Проблема эвтрофирования поверхностных вод	5
1.2 Методы снижения эвтрофирования и борьбы с нежелательным «цветением» водорослей.....	6
1.3 Биологические методы борьбы с водорослями	6
ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	9
ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	11
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	16
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	17
ПРИЛОЖЕНИЕ.....	19

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность выбранной темы объясняется тем, что одной из самых распространенных экологических проблем последних десятилетий является эвтрофирование поверхностных вод и связанное с ним «цветение» водорослей.

«Цветение» водных объектов является широко распространенной проблемой. Массовое развитие водорослей вызывает ухудшение органолептических качеств воды – изменяется ее цвет, появляется неприятный запах. В процессе отмирания и разложения водорослей поглощается значительное количество растворенного кислорода, что приводит к гипоксическим условиям в водоеме. Недостаточное количество растворенного кислорода в воде может привести к гибели гидробионтов. Кроме того, некоторые виды синезеленых водорослей могут продуцировать разнообразные вторичные метаболиты – цианотоксины, которые оказывают губительный эффект на водную флору и фауну (Никитин и др., 2012; Степанова и др., 2012; Nikitin et al., 2014; Государственный доклад..., 2017).

В настоящее время разработано множество методов для борьбы с эвтрофированием водных объектов и их «цветением» – физических, химических, биологических. Доступные методы снижения эвтрофирования широко варьируются в зависимости от эффективности, стоимости, частоты использования и диапазона применимости. К биологическим методам борьбы с массовым развитием водорослей относят мероприятия по вселению или расселению в водоеме организмов или биологических субстанций, которые выделяют в воду аллелопатические вещества, ингибирующие рост фитопланктона.

В разных странах используют биологический метод борьбы с массовой продукцией водорослей, основанный на внесении ячменной соломы. Наиболее широкое применение данный метод нашел в Великобритании и США, где с его помощью удалось улучшить качество воды в прудах, озерах и водохранилищах. Теоретической основой метода является то, что при разложении соломы в воду выделяются вещества, ингибирующие развитие водорослей – различные окисленные фенольные соединения (продукты разложения лигнина) и некоторые другие (Никитин и др., 2015).

Своевременное выявление «цветения» водорослей и принятие превентивных решений, направленных на его устранение, **может обеспечить экологическую безопасность поверхностных вод и понизить уровень экологического риска.**

В нашей работе рассматривается перспектива использования биологического метода очистки воды от массовой продукции водорослей, основанного на внесении в водоем биопрепарата на основе ячменной соломы.

Цель–

Для достижения поставленной цели были сформулированы **задачи:**

Задачи:

1. Оценить альгистатическую эффективность различных доз биопрепарата из ячменной соломы в лабораторных экспериментах.
2. Оценить возможный токсический эффект от применения биопрепарата при помощи биотестирования на дафниях.
3. Оценить экономическую эффективность биопрепарата и предложить технологию использования биопрепарата для водных объектов.

Гипотеза: биопрепарат из ячменной соломы обладает альгистатическими свойствами, в связи с чем, может быть использован в качестве средства против «цветения» водорослей.

Объект исследования: зеленая одноклеточная водоросль *Chlorella vulgaris*.

Предмет исследования: количественные показатели развития водоросли в контрольных условиях и при воздействии биопрепарата из ячменной соломы (*Hordeum vulgare*).

Район исследования: исследования проводились в лабораторных условиях на кафедре прикладной экологии КФУ.

Публикации по теме проекта:

1. Кузьмин Н.Б. Перспектива применения экстракта из ячменной соломы для борьбы с «цветением» водоемов / О.В. Никитин, К.Г. Атюкова, Н.Б. Кузьмин, М.В. Глякина, В.З. Латыпова // Водоочистка. Водоподготовка. Водоснабжение. – 2019. – № 7 (139). – С.24-28. (РИНЦ).

2. Kuzmin N.B. The effects of barley straw extract on the microalgae growth / O.V. Nikitin, N.B. Kuzmin, E.I. Nasyrova, M.V. Gliakina, N.Yu. Stepanova // Abstract Book of International Conference on Agribusiness, Environmental Engineering and Biotechnologies – AGRITECH-2019, Krasnoyarsk, Russia, June 20-22, 2019. – Krasnoyarsk: Krasnoyarsk Science and Technology City Hall, 2019. – P. 141.

3. Kuzmin N.B. The effects of barley straw extract on the microalgae growth / O.V. Nikitin, N.B. Kuzmin, E.I. Nasyrova, M.V. Gliakina, N.Yu. Stepanova // IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. –2019. – Vol. 315. – Art. №. 042051. – DOI: 10.1088/1755-1315/315/4/042051. (Scopus, WoS).

ГЛАВА 1 ЭВТРОФИРОВАНИЕ ПОВЕРХНОСТНЫХ ВОД И ЕГО ПОСЛЕДСТВИЯ

1.1 Проблема эвтрофирования поверхностных вод

Эвтрофирование вод – это повышение биологической продуктивности водных объектов в результате накопления в воде биогенных элементов (ГОСТ 17.1.1.01–77). Процесс антропогенного эвтрофирования можно отнести к числу глобальных процессов, скорость которых в последние десятилетия резко возросла. Хотя проблема эвтрофикации и не является единственной для водных экосистем, но именно ее называют доминирующей в современных условиях (Søndergaard et al., 2007). Явление антропогенного эвтрофирования носит глобальный характер, проявившись как в олиготрофных холодноводных озерах Европы, Северной Америки, Азии, так и на мезо- и эвтрофных водохранилищах умеренных широт. Исследования показали, что 54 % озер в Азии эвтрофны; в Европе – 53 %; в Северной Америке – 48%; в Южной Америке – 41 %; и в Африке – 28% (Bartram et al., 1999). В Южной Африке исследование, проведенное с использованием дистанционного зондирования, показало, что более 60 % обследованных водохранилищ были эвтрофными. Актуальна эта проблема и для России, и для Республики Татарстан в частности (Никитин и др., 2015).

Эвтрофирование приводит ко многим экологическим последствиям, но есть три из них, которые вызывают особое беспокойство: снижение биоразнообразия, изменения видового состава и доминирования организмов, обитающих в водном объекте и эффекты токсичности (Строганов, 1976).

Еще одним неблагоприятным последствием эвтрофирования водной экосистемы является массовое развитие водорослей, также известное как «цветение» водоема. Поскольку «водоросли» – это широкий термин, включающий в себя организмы самых разнообразных систематических групп, с самыми разными размерами, темпами роста и потребностями в питательных веществах, нет однозначно признанного порогового уровня в отношении того, что определяется как цветение. Некоторые виды водорослей можно считать «цветущими» тогда, когда их количество достигает миллиона клеток на миллилитр, а другие виды – десятки тысяч клеток на литр. Фотосинтетические пигменты в клетках водорослей определяют цвет цветения и поэтому часто имеют зеленоватый оттенок, но они также могут иметь другие разнообразные цвета, например, желтый, коричневый или красный, в зависимости от вида водорослей и типа содержащихся в них пигментов.

«Цветение» водоемов приводит ко многим неблагоприятным последствиям. Массовое развитие водорослей ведет за собой ухудшение органолептических качеств воды – изменяется ее цвет, появляется неприятный запах. Водоросли имеют тенденцию расти очень быстро при высокой доступности питательных веществ, но их рост недолговечен, в результате отмирания водорослей образуется высокая концентрация органического вещества, которое начинает разлагаться в воде. В процессе разложения поглощается большое количество растворенного кислорода, что приводит к гипоксическим условиям в водоеме (Никитин и др., 2015). Без достаточного количества растворенного кислорода в воде животные и растения могут погибнуть.

Некоторые виды синезеленых водорослей могут продуцировать разнообразные вторичные метаболиты – цианотоксины, которые оказывают губительный эффект на водную флору и фауну. Токсичные «цветения» водорослей вызывают неблагоприятное воздействие на широкий круг водных организмов: млекопитающих, птиц и рыб. Воздействие токсинов на эти организмы может привести к изменениям в их развитии, иммунной, неврологической или репродуктивной системах. При этом, токсичные «цветения» происходят практически во всех странах мира (Никитин и др., 2015).

1.2 Методы снижения эвтрофирования и борьбы с нежелательным «цветением» водорослей

В настоящее время имеется достаточно много методов контроля и снижения массового цветения водорослей. Первые проекты по восстановлению водных объектов успешно были реализованы в странах Западной Европы и Северной Америки. В России таких проектов меньше, но первые исследования антропогенного эвтрофирования были начаты еще в 1963 году (Науменко, 2007).

Доступные методы снижения эвтрофирования широко варьируются в зависимости от эффективности, стоимости, частоты использования и диапазона применимости. Они должны учитывать все процессы, протекающие в водоеме и на его водосборе, структуру сообществ гидробионтов и многие другие аспекты. Например, методы, требующие добавления химических веществ в водный объект, ограничены водоемами малого и среднего размера по экономическим причинам. Методы, которые связаны с использованием биологических агентов, потенциально эффективны при низкой стоимости даже на крупных водных объектах из-за низких начальных затрат и отсутствия затрат на рабочую силу и техническое обслуживание. Многие методы применимы только к одному типу проблемы (например, известкование для смягчения подкисления). Другие будут полезны и эффективны для восстановления озер, деградированных целым комплексом проблем, например, дноуглубительные работы могут использоваться для предотвращения заиления и загрязнения токсичными веществами, а также для накопления питательных веществ. Поскольку эвтрофикация является наиболее распространенной и самой изученной проблемой водных объектов, для восстановления эвтрофированных озер было разработано больше методов, чем для решения всех других проблем.

Методы восстановления водоемов можно разделить на две основные категории: (1) превентивные, или профилактические методы, воздействующие на водосборный бассейн и (2) прямые, проводимые непосредственно в самом водоеме для восстановления или улучшения водной экосистемы (Никитин и др., 2015).

1.3 Биологические методы борьбы с водорослями

К биологическим методам относят мероприятия по вселению или расселению в водоеме организмов или биологических субстанций, которые выделяют в воду аллелопатические вещества (экзометаболиты), ингибирующие рост микроциста. К таким организмам, например, относятся тысячелистника *Myriophyllum spicatum* и роголистник *Ceratophyllum demersum*. Они выделяют в

водоем полифенолы, эффективные для подавления развития цианобактерий. Известным биологическим методом регулирования роста нежелательных водных растений является вселение в водоем растительноядной рыбы - белого толстолобика *Hypophthalmichthys molitrix* Val. Согласно экспериментальным данным, полученным в озере Донгху (Китай) и малом искусственном пруду (Индия), вселение белого толстолобика приводило к элиминации цианобактерий. Однако часто экспериментаторы при вселении рыбы сталкивались с отрицательным эффектом, например, на некоторых водоемах в Венгрии и России (Колмаков, 2006).

Использование ячменной соломы для борьбы с водорослями.

В литературе описаны эксперименты, подтверждающие альгистатические свойства ячменной соломы, проведенные как в лабораторных условиях (Gibson et al., 1990), так и в полевых испытаниях (Welch et al., 1990). Солома проявляла активность при очень низких концентрациях, ингибируя рост ряда водорослей, включая одноклеточные и нитевидные водоросли и цианобактерии (Ridge, Barrett, 1992). Потенциал этого метода контроля нежелательного роста водорослей были подтверждены Newman и Barrett (1993), которые показали, что разлагающаяся ячменная солома ингибировала рост цианобактерий *Microcystis aeruginosa*, которые известны тем, что выделяет в воду опасные токсины.

Использование ячменной соломы является экологически безопасным методом. В литературных источниках нет сообщений о негативных последствиях для водных беспозвоночных или рыб, за исключением случаев, когда на небольших прудах применялось чрезмерное количество соломы, что приводило к дефициту кислорода в водоеме. Эти чрезмерные дозы, по меньшей мере, в 100 раз превышали дозы, рекомендованные различными исследователями.

Теоретической основой метода является то, что при разложении соломы в воду выделяются вещества, ингибирующие развитие водорослей – различные окисленные фенольные соединения (продукты разложения лигнина) и некоторые другие (таблица 1.1). Необходимым условием применения метода является свободный доступ кислорода, который необходим для бактериальной деструкции растительного материала (Русанов, Станиславская, 2007).

Таблица 1.1 – Химические вещества, образующиеся при разложении ячменной соломы (Everall, Lees, 1997)

Наименование вещества
1-метилнафталин
2-(1,1)-диметилэтилфенол
(1,1-диметилэтил)-4-метоксифенол
2,6-диметокси-4-(2-пропенил)-фенол
2,3- дигидробензофуран
5,6,7,7а-тетрагидро-4,4,7а-триметил-2(4н) бензофуранон
1,1,4,4-тетраметил-2,6- бис(метилен) циклогексан
уксусная кислота
2-метилмасляная кислота
3-метилмасляная кислота

Наименование вещества
капроновая кислота
гептановая кислота
октановая кислота
нонановая кислота
декановая кислота
додекановая кислота
тетрадекановая кислота
пальмитиновая кислота
другие вещества

Ячменную солому рекомендуют вносить в теплое время года, непосредственно перед началом массового развития водорослей, в количестве 25–400 г/м³ или 25–50 г/м² (Butler et al., 2005). Близкие значения дозы внесения соломы при расчете на объем водоема и на единицу его акватории объясняются тем, что в интенсивно «цветущем» водоеме глубина фотической зоны не велика и составляет в среднем 1–2 метра.

ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В нашем исследовании ингибирующее (альгистатическое) воздействие биопрепарата из ячменной соломы оценивали по влиянию на развитие одноклеточной зеленой водоросли *Chlorella vulgaris* Beijer. (отдел Chlorophyta) в лабораторных условиях, в период с октября 2018 г. по декабрь 2019 г. (основные этапы исследования представлены в приложении).

В проведенных экспериментах был использован биопрепарат, представляющий собой экстракт из ячменной соломы (*Hordeum vulgare*). Для его приготовления 10 г сухой ячменной соломы измельчали в лабораторной мельнице (размер единичных фрагментов составил в среднем 0,5–1 см). В колбы добавляли по 2,5 г измельченной соломы (для биопрепарата 1 % концентрации – Б1) или 12,5 г (для биопрепарата 5 % концентрации – Б5) и 250 мл дистиллированной воды (BarnsteadPacific RO Water PurificationSystem, ThermoScientific, США). Затем полученную смесь кипятили в течение 2 часов на электрической плитке, после охлаждения раствор фильтровали через бумажный фильтр, объем фильтрата доводили до 250 мл дистиллированной водой (модификация (Balletal., 2001)). Полученный экстракт хранили при $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ в морозильной камере.

Для эксперимента использовали альгологически чистую культуру водоросли, находящуюся в экспоненциальной стадии роста (через одни сутки после пересева в культиватор). Для поддержания экспоненциальной стадии роста водорослей пересев осуществляется ежедневно.

Культура выращивалась в соответствии с методикой (ПНД Ф Т 14.1:2:3:4.10-04), на 50% питательной среде Тамия, приготовленной из концентрированных растворов солей биогенных элементов в культиваторе КВ-05 (Энерголаб, Россия). Количество клеток в культуре и в экспериментах оценивали при помощи измерителя плотности суспензии ИПС-03 (Энерголаб, Россия) при длине волны $\lambda = 560\text{ нм}$. Перед экспериментом культура водорослей разбавлялась (50 %) средой Тамия до оптической плотности 0,125.

Приготовленная тест-культура водорослей вносилась в 3 колбы с контрольной (дистиллированной) и тестируемыми пробами воды (1 и 5% концентрация биопрепарата Б1 и 1 % концентрация биопрепарата Б5 в дистиллированной воде).

При этом в результате 25-кратного разбавления засеваемой культуры содержание элементов питания в тестируемой воде, необходимых для обеспечения роста клеток водоросли, соответствовало 2 % среде Тамия (концентрация фосфора $\sim 2\text{ мг/л}$, ПДК фосфора в воде – $0,2\text{ мг/л}$), а исходная оптическая плотность тест-культуры водоросли составляла $\sim 0,005$ единиц.

Ростовые характеристики культуры водоросли определялись после экспонирования в многокуветном культиваторе КВМ-05 (Энерголаб, Россия). Прибор позволяет в одинаковых и контролируемых условиях по температуре, интенсивности света, снабжению углекислым газом (0,03%) и перемешиванию одновременно выращивать 24 пробы культуры водорослей. При оптимальном режиме ($T=36\text{ }^{\circ}\text{C}$, средней интенсивности света 60 Вт/м^2) увеличение оптической плотности контрольной культуры водорослей и, следовательно, численности

клеток за 22 часа составляет примерно 30–40 раз. За это время сменяется примерно пять поколений клеток водорослей.

По окончании эксперимента, проводилось определение количества клеток хлореллы по оптической плотности культуры на измерителе плотности суспензии ИПС-03, а также определение интенсивности процессов фотосинтеза по флуоресценции хлорофилла на флуориметре Фотон-10 (Энерголаб, Россия).

Для исследования возможного токсического эффекта экстрактов (Б1 и Б5, 1 и 5 %) из ячменной соломы проводилось 96 и 48 ч биотестирование в соответствии с ГОСТ Р 57166–2016 и ПНД Ф Т 14.1:2:3:4.12-06. В качестве тест-объектов были простейшие инфузории (*Paramecium caudatum* Ehrenberg) и ракообразные дафнии (*Daphnia magna* Straus).

Статистическая обработка полученных данных производилась при помощи пакета программ STATISTICA 10.0 и MICROSOFT EXCEL 2007. Вычислялись следующие показатели: среднее, стандартная ошибка среднего.

ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

На рисунке 3.1 представлены результаты исследования изменения прироста клеток водорослей в контрольных условиях и в условиях присутствия биопрепарата Б1. Из представленных данных видно, что через 22 часа прирост клеток водорослей в контрольных условиях составил 45 раз, в то время как в условиях с добавлением биопрепарата из ячменной соломы 25 и 12 раз соответственно (ниже в 1,8 и 3,75 раза).

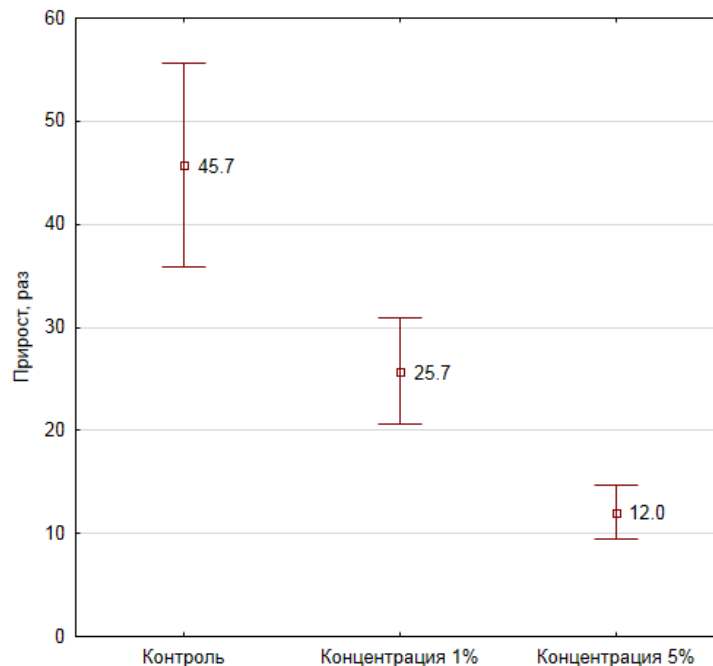


Рисунок 3.1 – Показатели прироста культуры клеток хлореллы (по оптической плотности; среднее \pm стандартная ошибка среднего) в контрольных условиях ($n_k=24$) и с добавлением биопрепарата Б1 из ячменной соломы (1 и 5 % концентрация ($n_{1\%}=24$, $n_{5\%}=24$))

При этом пятикратное увеличение концентрации биопрепарата не привело к пятикратному увеличению эффекта – прирост был меньше контрольного на 44 и 74 % соответственно.

Можно отметить, что в дополнительных экспериментах с экстрактом из пшеничной соломы, которые здесь не приводятся, отмечалось не ингибирование роста водорослей, а напротив, его стимуляция.

В отдельной серии экспериментов была изучена эффективность биопрепарата Б5 в 1 % концентрации (рисунок 3.2). Для изначально более насыщенного экстракта отмечается больший альгистатический эффект при той же дозировке внесения. Можно отметить, что результат в целом похож на результат от внесения препарата Б1 в 5 % концентрации.

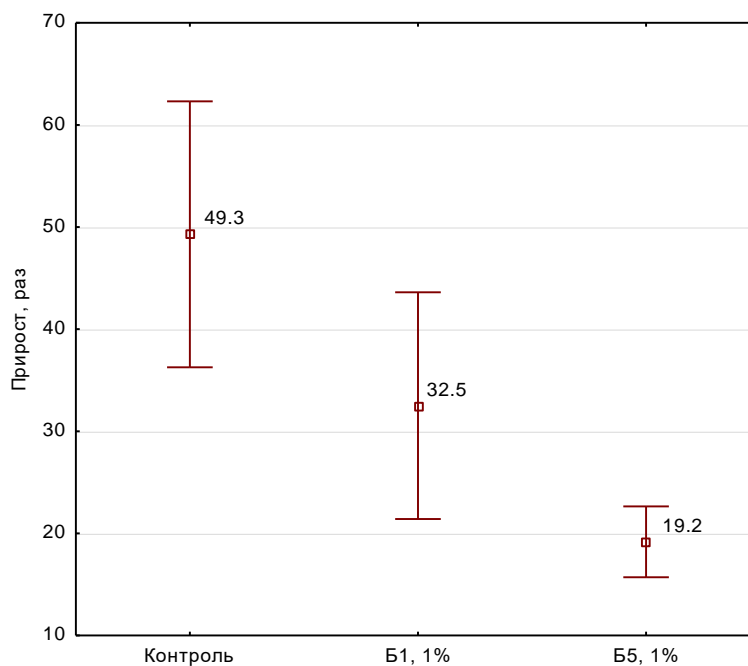


Рисунок 3.2 – Показатели прироста культуры клеток хлореллы (по оптической плотности; среднее \pm стандартная ошибка среднего) в контрольных условиях ($n_k=24$) и с добавлением биопрепарата Б1 и Б5 из ячменной соломы (1 % концентрация ($n^{Б1}_{1\%}=24$, $n^{Б5}_{1\%}=24$))

Для регистрации количества клеток водорослей можно использовать косвенные методы, в частности, через измерение интенсивности нулевого уровня быстрой флуоресценции хлорофилла. Величина данного показателя связана с концентрацией клеток в среде и мало зависит от их физиологического состояния.

Показатели интенсивности флуоресценции хлореллы после 22 часов экспозиции (исходная флуоресценция составляла в среднем 140 имп./с) в контрольных условиях и в экспериментах с добавлением экстракта из ячменной соломы представлены на рисунке 3.3 и 3.4.

В серии экспериментов с биопрепаратом Б1 в контрольных условиях флуоресценция в среднем составляла 3030 имп./с, а при добавлении биопрепарата оказывалась ниже контрольных на 29 и 35 % соответственно (ниже в 1,41 и 1,54 раза). Пятикратное увеличение количества экстракта также не привело к аналогичному увеличению эффекта. В связи с чем, можно рекомендовать придерживаться именно данной дозировки внесения.

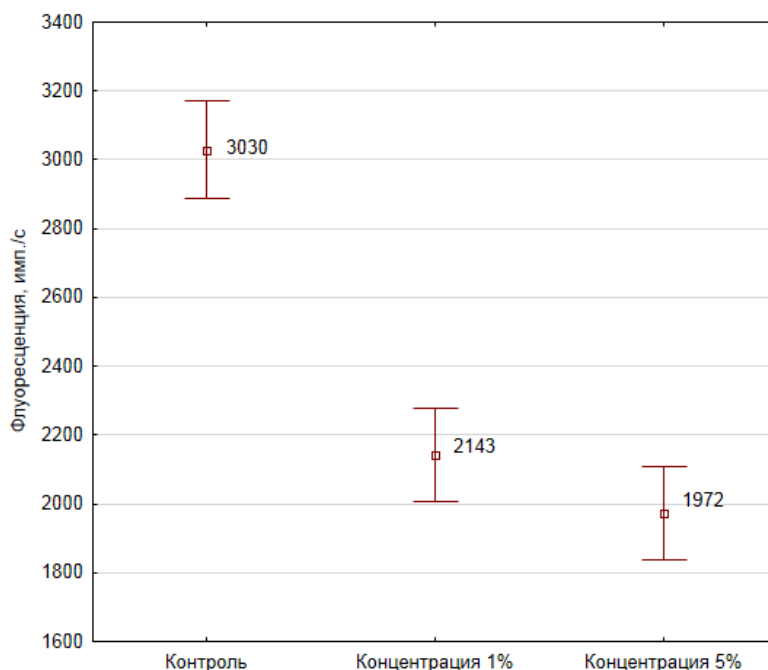


Рисунок 3.3 – Показатели интенсивности флуоресценции хлореллы (среднее \pm стандартная ошибка среднего) в контрольных условиях ($n_k=48$) и с добавлением биопрепарата из ячменной соломы (1 и 5 % концентрация ($n^{B1}_{1\%}=48, n^{B1}_{5\%}=48$))

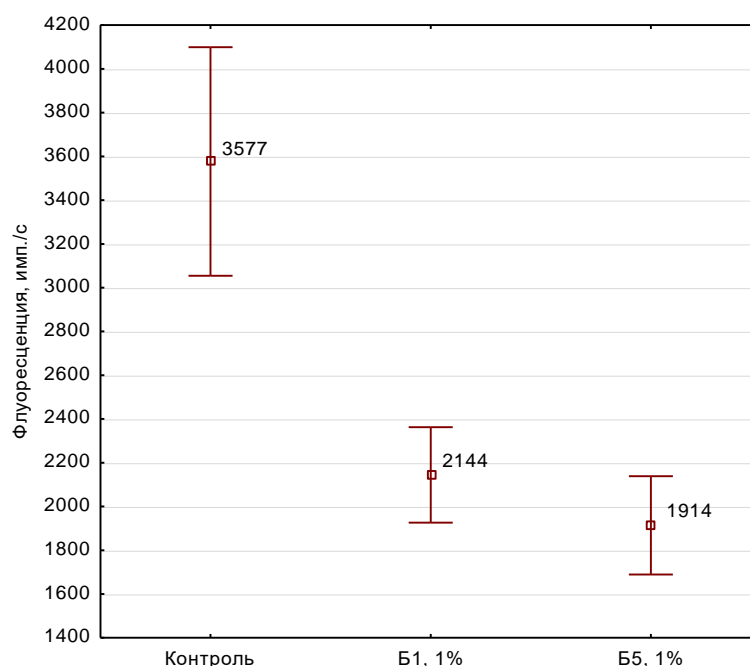


Рисунок 3.4 – Показатели интенсивности флуоресценции хлореллы (среднее \pm стандартная ошибка среднего) в контрольных условиях ($n_k=48$) и с добавлением биопрепарата Б1 и Б5 из ячменной соломы (1 % концентрация ($n^{B5}_{1\%}=48, n^{B5}_{1\%}=48$))

В серии экспериментов с биопрепаратами Б1 и Б5 в контрольных условиях флуоресценция в среднем составляла 3577 имп./с, а при добавлении биопрепаратов оказывалась ниже контрольных на 40 и 47 % соответственно (ниже в 1,67 и 1,87 раза).

При повышении концентрации активных компонентов в экстракте (Б5) усиливаются его альгистатические свойства при той же дозировке его внесения.

Можно отметить, что замораживание и хранение биопрепарата не сказывалось на его эффективности.

На основании полученных данных, нами были получены зависимости, связывающие количество клеток хлореллы (по оптической плотности) и уровень флуоресценции хлорофилла (рисунок 3.5), а также численность клеток (определенных в камере Горяева методом прямого счета) и оптическую плотность: $N=k \times D$, где N – это количество клеток, тыс./мл; k – коэффициент пропорциональности (23702; $R^2 = 0,894$), D – оптическая плотность, определенная при помощи ИПС-03 (Nikitin et al., 2019).

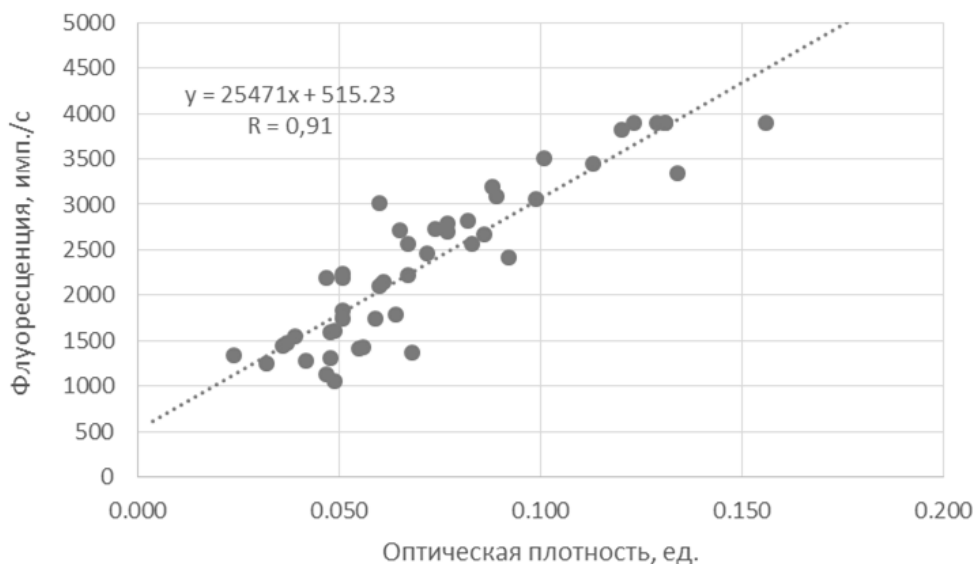


Рисунок 3.5 – Зависимость уровня флуоресценции хлореллы от оптической плотности

Найденные зависимости показывают прямую связь между количеством клеток водорослей и интенсивностью их фотосинтеза, что может быть использовано для оперативного контроля (по показателям флуоресценции и оптической плотности) процессов «цветения» водорослей, выявления потенциально опасных ситуаций на водном объекте и **минимизации экологического риска**. В частности, из литературных данных известно (Степанова и др., 2014), что при численности синезеленых водорослей выше 21 млн.кл/л наблюдается превышение нормативов (рекомендованных Всемирной организацией здравоохранения) содержания цианотоксинов в воде.

Необходимым условием возможного применения биопрепарата является его безопасность для гидробионтов. Выполненный двухдневный тест на токсичность с использованием в качестве тест-объектов инфузорий (*Paramecium caudatum* Ehrhart.) и ракообразных (*Daphnia magna* Straus) показал отсутствие токсического эффекта экстракта из ячменной соломы как для 1 %, так и для 5 % концентрации. Индекс токсичности в обоих случаях был равен 0 %, т.е. дафнии себя чувствовали также, как и в контрольной культивационной воде.

Другим важным показателем применимости биопрепарата является экономическая эффективность. В таблице 3.1 представлены расчетные данные по исследуемому биопрепарату (Б1 и Б2) в случае его 1 % дозировке внесения, в сравнении с коммерчески доступным аналогом (King British Barley Straw Extract,

Великобритания), также изготавливаемым из ячменной соломы. Можно отметить, что стоимость предлагаемого биопрепарата в ~10 раз ниже импортного решения.

Таблица 3.1 – Сравнение технологий устранения нежелательного «цветения» водорослей в расчете на модельный водоем объемом 1 000 м³

	Исследуемый препарат	Коммерческий препарат King British Barley Straw Extract
Рекомендуемая дозировка для водоема	10 000 л	56 л
Стоимость препарата для водоема	$\frac{3116 \text{ руб.}^*}{4716 \text{ руб.}}$	43 000 руб.

Примечание: * – числитель – препарат Б1, знаменатель – препарат Б5.

Расчет стоимости биопрепарата, рассматриваемого в данной работе, был произведен исходя из стоимости растительного сырья (соломы), воды и энергозатрат (на кипячение объема воды с соломой) на его приготовление(приложение). Стоимость альтернативного препарата получена при анализе коммерческих предложений производителей в сети интернет.

Можно предложить следующую технологию использования биопрепарата для водных объектов: биопрепарат из ячменной соломы рекомендуется вносить с плавсредства в поверхностные воды методом разбрызгивания или внесения в кильватерную струю. Рекомендуемая периодичность внесения препарата – 1 раз в 2 недели в течение вегетационного периода (с конца мая по конец августа). Дозировка препарата зависит от объема водоема. Для водоемов с уже существующей проблемой «цветения» начальное количество экстракта рекомендуется увеличить. В качестве превентивных мер можно вносить небольшое количество экстракта до начала массового развития водорослей. Исходя из литературных данных можно предположить, что наиболее эффективно применение биопрепарата будет для малых водоемов (например, озера Лебяжье, Глубокое, хотя возможно применение и на более крупных акваториях (например, озеро Нижний Кабан).

Таким образом, проведенное исследование показало, что биопрепарат, полученный из ячменной соломы, достаточно эффективен для ингибирования роста водорослей и может применяться для подавления их избыточного развития. Считается, что у данного метода отсутствуют негативные экологические последствия, и в целом, применение рассмотренного биологического метода предотвращения развития водорослей – это эффективный и экономичный метод борьбы с «цветением» воды.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные исследования позволяют сделать следующие **выводы**:

1. Полученный биопрепарат на основе ячменной соломы оказывает ингибирующее воздействие на культуру зеленой водоросли *Chlorellavulgarisi* может быть использован для борьбы с нежелательными водорослями.

2. Альгистатический эффект при 22 часовой экспозиции 1 и 5 % концентрации биопрепарата Б1, оцененный по приросту клеток культуры хлореллы (по оптической плотности), составил 44 и 74 % соответственно, пятикратное увеличение концентрации биопрепарата не привело к пятикратному увеличению эффекта; эффект 1 % концентрации биопрепарата Б5 составил 61 %, результат в целом похож на результат от внесения препарата Б1 в 5 % концентрации.

3. Альгистатический эффект 1 и 5 % концентрации биопрепарата Б1, оцененный по показателям интенсивности флуоресценции клеток хлореллы, составил 29 и 35 % соответственно; эффект 1 % концентрации биопрепарата Б5 составил 47 %.

4. При повышении концентрации активных компонентов в экстракте (Б5) усиливаются его альгистатические свойства при той же дозировке его внесения.

5. Получена зависимость, связывающая уровень флуоресценции хлорофилла и количество клеток хлореллы (по оптической плотности) и: $Y = 25471 \times X + 515,23$ ($R^2 = 0,83$) и зависимость, связывающая численность клеток и оптическую плотность: $N = k \times D$, где N – это количество клеток, тыс./мл; k – коэффициент пропорциональности (23702; $R^2 = 0,894$), D – оптическая плотность, определенная при помощи ИПС-03.

6. Найденные зависимости могут быть использованы для оперативного контроля (по показателям флуоресценции и оптической плотности) процессов «цветения» водорослей, выявления потенциально опасных ситуаций на водном объекте и минимизации экологического риска.

7. Биотестирование на инфузориях и дафниях 1 и 5 % концентрации биопрепарата Б1 и Б5 показало отсутствие токсического эффекта (индекс токсичности составил 0 %).

8. Стоимость применения биопрепарата на основе ячменной соломы (при 1 % дозировке внесения) составляет 3116 и 4716 руб. на 1000 м³ для Б1 и Б5 соответственно. Применение биопрепарата примерно в 10 раз дешевле коммерчески доступного аналога.

Таким образом, гипотеза «биопрепарат на основе ячменной соломы обладает альгистатическими свойствами, в связи с чем, может быть использован в качестве средства против «цветения» водорослей» нашла свое подтверждение в ходе выполненных исследований.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Государственный доклад «О состоянии природных ресурсов и об охране окружающей среды Республики Татарстан в 2016 году». – Казань: МЭПР, 2017. – 428 с.
2. ГОСТ 17.1.1.01–77. Охрана природы. Гидросфера. Использование и охрана вод. Основные термины и определения. – Введ. 1978–30–06. – М.: Гос. ком. СССР по стандартам, 1977.
3. ГОСТ Р 57166-2016 Вода. Определение токсичности по выживаемости пресноводных инфузорий *Parameciumcaudatum*Ehrenberg. – Введ. 2016–10–17. – М.: Стандартинформ, 2016.
4. Науменко М.А. Эвтрофирование озер и водохранилищ / М.А. Науменко. – СПб.: РГГМУ, 2007. – С. 9–10.
5. Никитин О.В., Атюкова К.Г., Кузьмин Н.Б., Глякина М.В., Латыпова В.З. Перспектива применения экстракта из ячменной соломы для борьбы с «цветением» водоемов // Водоочистка. Водоподготовка. Водоснабжение. – 2019. – № 7 (139). – С. 24–28.
6. Никитин О.В., Латыпова В.З., Поздняков Ш.Р. Экотехнологии восстановления водоемов: учебное пособие. – Казань: Изд-во Казан. ун-та, 2015. – 139 с.
7. Никитин О.В., Степанова Н.Ю., Мукминов М.Н. Индикация цианотоксинов в природных водах Республики Татарстан // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2012. – Т. 212. – С.341–344.
8. ПНД Ф Т 14.1:2:3:4.10-04. Токсикологические методы контроля. Методика измерений оптической плотности культуры водоросли хлорелла (*Chlorellavulgaris*Beijer) для определения токсичности питьевых, пресных природных и сточных вод, водных вытяжек из грунтов, почв, осадков сточных вод, отходов производства и потребления.
9. ПНД Ф Т 14.1:2:3:4.12-06. Токсикологические методы контроля. Методика измерений количества *Daphnia magna*Straus для определения токсичности питьевых, пресных, природных и сточных вод, водных вытяжек из грунтов, почв, осадков сточных
10. Русанов А.Г., Станиславская Е.В. Оценка эффективности ячменной соломы как ингибитора нитчатых водорослей в лабораторных условиях // Теория и практика восстановления внутренних водоемов. – СПб.:Лема, 2007. – С. 328–334.
11. Степанова Н.Ю., Халиуллина Л.Ю., Никитин О.В., Латыпова В.З. Структура и токсичность цианобактерий в рекреационных зонах водоемов Казанского региона // Вода: химия и экология. – 2012. – №11. – С. 67–72.
12. Строганов Н.С. Токсическое загрязнение водоемов и деградация водных систем / Н.С. Строганов // Итоги науки и техники. Общая Экология. Биоценология. Гидробиология. Т. 3. Водная токсикология. – М.: ВИНТИ, 1976. – С. 5–47.
13. Ball A.S., Williams M., Vincent D., Robinson J. Algal growth control by a barley straw extract // Bioresource Technology. – 2001. – Vol. 77. – P. 177–181.

14. Bartram J., Carmichael W.W., Chorus I., Jones G., Skulberg O.M. Introduction // Toxic cyanobacteria in water: a guide to their public health consequences, monitoring, and management / I. Chorus, J. Bartram (eds.). – London; New York: E & FN Spon. – 1999. – P. 1–14.
15. Butler R., Reedyk S., Murrell S., Mah B. Use of barley straw for algal control in Prairie Dugouts: Final report. – Regina, Saskatchewan: Agriculture and Agri-food Canada, Prairie Farm Rehabilitation Administration. – 43 p.
16. Everall N.C., Lees D.R. The identification and significance of chemicals released from decomposing barley straw during reservoir algal control // Water Research. – 1997. – Vol. 31, Issue 3. – P. 614–620.
17. Gibson M.T., Welch I.M., Barrett P.R.F., Ridge I. Barley straw as an inhibitor of algal growth II: laboratory studies // Journal of Applied Phycology. – 1990. – P. 241–248.
18. Newman J.R., Barrett P.R.F. Control of *Microcystis aeruginosa* by decomposing barley straw // Journal of Aquatic Plant Management. – 1993. – Vol. 31. – P. 203–206.
19. Nikitin O.V., Kuzmin N.B., Nasyrova E.I., Gliakina M.V., Stepanova N.Yu. The effects of barley straw extract on the microalgae growth // Abstract Book of International Conference on Agribusiness, Environmental Engineering and Biotechnologies – AGRITECH-2019, Krasnoyarsk, Russia, June 20–22, 2019. – Krasnoyarsk: Krasnoyarsk Science and Technology City Hall, 2019. – P. 141.
20. Nikitin O.V., Kuzmin N.B., Nasyrova E.I., Gliakina M.V., Stepanova N.Yu. The effects of barley straw extract on the microalgae growth // IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. – 2019. – Vol. 315. – Art. №. 042051.
21. Nikitin O.V., Stepanova N.Yu., Latypova V.Z. Human health risk assessment related to blue-green algae mass development in the Kuibyshev Reservoir // Water Science and Technology: Water Supply. – 2015. – Vol. 15. – P. 693–700.
22. Ridge I., Barrett P.R.F. Algal control with barley straw // Aspects Applied Biology. – 1992. – Vol. 29. – P. 457–462.
23. Søndergaard M. et al. Lake restoration: successes, failures and long-term effects // Journal of applied ecology. – 2007. – Vol. 44. – P. 1095–1105.
24. Welch I., Barrett P. R. F., Gibson M.T., Ridge I. Barley straw as an inhibitor of algal growth 1: Studies in the Chesterfield Canal // Journal of Applied Phycology. – 1990. – Vol. 2. – P. 231–239.

ПРИЛОЖЕНИЕ

Схема культивирования водорослей:

- Приготовление питательной среды Тамия →
- Выращивание водоросли в культиваторе КВ-05 →
- Определение количества клеток в культуре при помощи ИПС-03

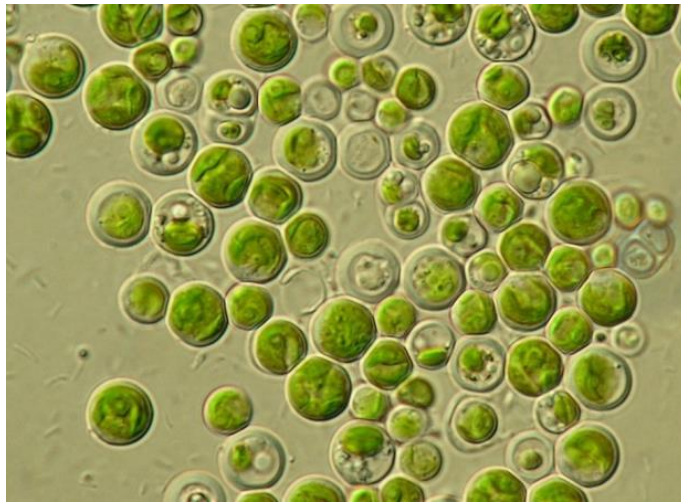


Рисунок 1 – Объект исследования – водоросль *Chlorellavulgaris*



Рисунок 2 – Культиватор водорослей КВ-05
и измеритель плотности суспензии ИПС-03

Приготовление биопрепарата:

- Измельчение ячменной соломы при помощи лабораторной мельницы →
Взвешивание необходимого количества на весах →
- Добавление дистиллированной воды и кипячение на электроплитке →
- Фильтрация и доведение водой до исходного объема →
- Хранение в морозильной камере



Рисунок 3 – Ячмень обыкновенный (*Hordeum vulgare*)



Рисунок 4 – Приготовление биопрепарата
(неотфильтрованный экстракт из ячменной соломы)

Постановка эксперимента:

- Приготовление культуры клеток хлореллы с опт.плотностью 0,125 ед. →
- Разбавление в 25 раз (до оптической плотности 0,005) и разделение на три группы: контрольную (с добавлением дистиллированной воды), с добавлением экстракта в 1 % концентрации, с добавлением экстракта в 5 % концентрации →
- Экспозиция в течение 22 часов в культиваторе КВМ-05



Рисунок 5 – Культиватор водорослей многоцветный КВМ-05

Оценка развития клеток культуры водоросли после эксперимента:

- Определение количества клеток хлореллы по оптической плотности культуры на измерителе плотности суспензии ИПС-03 →
- Определение интенсивности процессов фотосинтеза по флуоресценции хлорофилла на флуориметре Фотон-10 →
- Математическая обработка результатов



Рисунок 6 – Измеритель плотности суспензии ИПС-03 с установленной культивационной кюветой



Рисунок 7 – Флуориметр Фотон-10

Расчет стоимости применения биопрепарата:

Рассчитаем количество экстракта и количество ячменной соломы, необходимого для использования в 1000 л (1 м³) воды:

– Необходимое количество экстракта можно определить, исходя из его дозировки в экспериментах. Согласно подсчетам, для 1000 л воды необходимо 10 л экстракта Б1 или Б5, чтобы получить 1 % концентрацию и 50 л экстракта для получения 5 % концентрации.

– Необходимое количество ячменной соломы можно определить, исходя из технологии приготовления экстракта, используемого в работе. Для того чтобы приготовить 250 мл экстракта использовалось 2,5 г (Б1) или 12,5 г (Б2) ячменной соломы. Следовательно, для 10 л экстракта понадобится 100 (Б1) и 500 (Б2) г ячменной соломы.

Рассчитаем примерную стоимость препарата для использования в водоемах объемом 1000 м³. Средняя цена за один тюк соломы составляет от 4 руб./кг (в зависимости от объема закупки), для 1000 м³ воды потребуется 100 и 500 кг ячменной соломы, для приготовления биопрепаратов Б1 и Б5 соответственно (дозировка экстракта – достижение 1 % концентрации), следовательно, стоимость сырья для приготовления экстракта данных концентраций, необходимого для использования в водоеме объемом 1000 м³, составит 400–2000 и 2000–10 000 рублей соответственно.

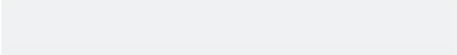
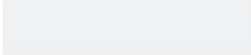
Также необходимо рассчитать затраты на кипячение экстракта в течение 2 часов на электрической плитке. Расчеты, произведенные на сайте <http://nagrev24.ru/voda/> показали, что стоимость нагрева и кипячения 10 000 л экстракта (Б1 и Б2), необходимого для использования в водоеме объемом 1000 м³, составит 2540 руб.

В результате всех подсчетов получили стоимость биопрепарата на основе ячменной соломы при 1 % дозировке внесения, равной 3116 и 4716 рублей для Б1 и Б5 соответственно.

СПРАВКА

о результатах проверки текстового документа на наличие заимствований

Проверка выполнена в системе
Антиплагиат.Структура

Автор работы	Кузьмин Н.Б.
Подразделение	ИнЭП
Тип работы	Не указано
Название работы	Кузьмин Никита - 10 класс, 2019 (РТ)
Название файла	Кузьмин Никита - 10 класс, 2019 (РТ-2).docx
Процент заимствования	14.58 %
Процент цитирования	2.75 %
Процент оригинальности	82.67 %
Дата проверки	14:28:30 10 января 2020г.
Модули поиска	Модуль поиска ИПС "Адилет"; Модуль выделения библиографических записей; Сводная коллекция ЭБС; Коллекция РГБ; Цитирование; Модуль поиска переводных заимствований; Модуль поиска переводных заимствований по eLibrary (EnRu); Модуль поиска переводных заимствований по интернет (EnRu); Модуль поиска переводных заимствований по Wiley (RuEn); Коллекция eLIBRARY.RU; Коллекция ГАРАНТ; Модуль поиска Интернет; Модуль поиска "КПФУ"; Коллекция Медицина; Модуль поиска перефразирований eLIBRARY.RU; Модуль поиска
Работу проверил	Никитин Олег Владимирович ФИО проверяющего
Дата подписи	  Подпись проверяющего

Чтобы убедиться
в подлинности справки,
используйте QR-код, который
содержит ссылку на отчет.



Ответ на вопрос, является ли обнаруженное заимствование
корректным, система оставляет на усмотрение проверяющего.
Предоставленная информация не подлежит использованию
в коммерческих целях.