

Муниципальное бюджетное учреждение
дополнительного образования «Станция юных натуралистов»
Асбестовского городского округа

**Региональный этап
Всероссийского конкурса юных исследователей окружающей
среды имени Б.В. Всесвятского (с международным участием)**

Номинация «Прикладная клеточная биология, биотехнология, генетика и селекция»

**«ВЛИЯНИЕ СУСПЕНЗИИ ВОДОРОСЛИ CHLORELLA НА ХИМИЧЕСКИЙ
СОСТАВ ЛИСТЬЕВ РАСТЕНИЙ В УСЛОВИЯХ ГИДРОПОНИКИ»**

Участник: Байбородова Елена Андреевна,
11 класс, МБУДО СЮН,
творческое объединение «Мир вокруг нас»

Руководитель: Столярова Оксана Александровна,
педагог дополнительного образования ВКК,
МБУДО «СЮН» АГО
контактный телефон: 89043832799

Свердловская область, г.Асбест, 2023 г.

Содержание

Введение	3
Обзор литературы	4
Хлорелла как стимулятор роста и развития растений.....	4
Значение растительных пигментов для человека	5
Биологические свойства аскорбиновой кислоты	6
Методика проведения исследования.....	7
Результаты и их обсуждение	12
Выводы	18
Заключение	19
Список источников информации	20
Приложения.....	22

Введение

В последние годы в мире растет спрос на органическую продукцию, выращенную без применения химических препаратов. Одним из препаратов, которые можно применить в производстве органической продукции, является культура водоросли *Chlorella*.

Эксперименты по применению препаратов хлореллы проводились разными исследователями на древесных растениях, зерновых и зеленых культурах [3]. Проводятся исследования о влиянии водоросли хлорелла на рост и развитие растений в открытом и защищенном грунте. Авторы исследований отмечают повышение почвенного плодородия, микробиологической активности, урожайности сельскохозяйственных культур, их качества и ускорение сроков вегетационного периода [3, 19].

Возникает вопрос, будет ли подобное действие оказываться на растения при добавлении суспензии водоросли в гидропонный раствор. В процессе наращивания биомассы водоросли *Chlorella* в культуральной жидкости накапливается большое количество различных физиологически активных веществ, которые могут оказать своё влияние на развитие растений.

Изучив научную литературу, мы узнали, что группа исследователей из ФГБОУ ВО «БГПУ им. М. Акмуллы» рекомендуют использование суспензии водоросли хлорелла при выращивании растений методом гидропоники. Ими было установлено положительное влияние водоросли на биомассу корней огурца посевого [2].

В своём исследовании мы определим, как суспензия водоросли хлорелла влияет на химический состав листьев растений, выращенных в условиях гидропоники. Также определим плотность суспензии водоросли *Chlorella*, оказывающую наибольшее стимулирующее действие на развитие растений. В этом и состоит **практическая значимость** нашей работы.

Гипотеза: суспензия водоросли *Chlorella* стимулирует синтез химических соединений в листьях растений.

Объект исследования: листья растений (салат, горчица, редис).

Предмет исследования: химический состав листьев растений (основные фотосинтетические пигменты, аскорбиновая кислота).

Цель работы: определить влияние суспензии водоросли *Chlorella* на химический состав растений, выращенных в условиях гидропоники.

Для достижения цели мы поставили перед собой следующие задачи:

1. культивировать водоросль *Chlorella*;
2. вырастить объекты исследования на экспериментальных растворах с добавлением разной концентрации суспензии водоросли *Chlorella*;
3. оценить химические параметры листьев растений (концентрация фотосинтетических пигментов и аскорбиновой кислоты);
4. определить концентрацию суспензии *Chlorella*, оказывающую наибольшее стимулирующее действие на развитие растений.

Обзор литературы

Хлорелла как стимулятор роста и развития растений

Хлорелла – одноклеточная микроскопическая водоросль изумрудно-зеленого цвета, обладающая шаровидной или эллипсоидной формой и размером от 1,5 и до 15 микрон. По своим размерам она соответствует эритроциту человека, но обладает не дискообразной, а выпуклой формой. Ее клетки покрыты толстой хитин-целлюлозной оболочкой. Ее главная особенность – ярко-изумрудный цвет, обусловленный очень высоким содержанием хлорофилла (до 7% от общего веса) [17].

Известно использование водоросли хлорелла в качестве биологического регулятора роста растений. Хлорелла является активным продуцентом биомассы, включающей все необходимые вещества для развития здоровой живой клетки. Всего более 650 элементов в сбалансированном состоянии: это большое количество витаминов, богатое разнообразие минералов, белок высочайшего качества, превосходящего все известные растительные белки [9].

Все вещества невозможно перечислить, но в целом в состав суспензии водоросли *Chlorella* входят:

1) комплекс фитогормонов и физиологически активных веществ (цитокининов, ауксинов, фенолов, фитостеролов, гиббереллинов). Они влияют на обменные процессы, активируют процессы клеточного деления;

2) белок, включающий более 40 аминокислот, в числе которых 20 основных;

3) витамины (А, В1, В2, В5, В6, В9, В12, С, D, Е, К, РР и др.), среди них

- каротин — участвует в поглощении световой энергии и защищает хлорофилл от разрушения;

- тиамин — активирует рост, помогает пережить неблагоприятные условия;

- пиридоксин — стимулирует иммунную систему, ускоряет адаптацию после пересадки;

- токоферол — защищает растение от оксидативного стресса, возникающего в результате засухи, избыточного полива, механического повреждения, засоления почвы и атаки патогенов;

- никотиновая кислота — пробуждает в растении способность к репродукции, восстанавливает больные и ослабленные экземпляры;

- аскорбиновая кислота — повышает сопротивляемость заболеваниям, помогает при хлорозах.

4) широкий набор макро- и микроэлементов в биодоступной форме (фосфор, калий, магний, кальций, железо, марганец и др.);

5) природный антибиотик «хлореллин» (снижает риск заражения корневой системы паразитарной и бактериальной флорой) [12].

Хлорелла используется в обработке почвы, активации зародышей семян и черенков, подкормке и защита растений, обработка растений при борьбе с вирусными и грибковыми заболеваниями.

Алголизация почв водорослевой биомассой способствует микробиологическим и химическим процессам, которые увеличивают количество

легкодоступных и полезных гуминовых кислот и другой почвенной органики. В результате повышается плодородие почвы, сокращается время роста сельскохозяйственных культур, а урожай увеличивается в 2,5 раза [11].

Таким образом, водоросль хлорелла оказывает положительное стимулирующее действие на развитие растений в условиях защищенного грунта.

Значение растительных пигментов для человека

За последние несколько лет зеленая пища стала мега популярной среди сторонников здорового питания. Ведь только растения содержат в своем составе хлорофилл и каротиноиды [14]. Но они необходимы не только растительному, но и человеческому организму. Млекопитающие не способны синтезировать каротиноиды и хлорофилл и вынуждены получать их извне с пищей для обеспечения своих жизненных процессов.

Хлорофилл - зеленый пигмент, присутствующий во всех растениях. Польза хлорофилла для организма человека неоспорима [15].

Известно, что хлорофилл является мощным антиоксидантом и обладает множеством целебных свойств:

- очищает пищеварительный тракт от патогенной кишечной флоры, поддерживает развитие полезной кишечной бактериальной флоры
- нормализует кислотно-щелочной баланс организма,
- стимулирует регенерацию клеток в организме
- нейтрализует токсины, дезактивирует многие канцерогены
- нейтрализует тяжелые элементы в организме,
- помогает в лечении анемии
- активирует ферменты для производства витаминов E, A и K
- снижает потребность в инсулине, который нужен при лечении диабета
- укрепляет сосудистую систему
- стимулирует иммунную систему организма [13].

Каротиноиды составляют обширную группу жирорастворимых желто-оранжево-красных пигментов, производимых всеми фотосинтезирующими организмами, некоторыми прокариотами и грибами. Роль каротиноидов в организме человека:

- каротиноиды оказывают лечебно-профилактическое действие благодаря инактивации активных форм кислорода за счет высокой антиоксидантной активности
- устранение явлений и последствий окислительного стресса с помощью каротиноидов эффективно при коррекции многих метаболических нарушений
- каротиноиды оказывают нейрозащитные эффекты путем купирования окислительных повреждений нейронов
- установлено, что острота зрения и контрастная чувствительность нормального глаза во многом зависят от насыщенности пищи каротиноидами
- каротиноиды оказывают защитное действие при сахарном диабете, в силу своих антиоксидантных свойств и повышению чувствительности к инсулину

- каротиноиды, благодаря высокой антиоксидантной активности, снижают прогрессирование атеросклероза и благотворно влияют на состояние сердечно - сосудистой системы. Применение каротиноидов уменьшает риски сердечно – сосудистых заболеваний, сопровождается нормализацией артериального давления, а также замедляет процессы старения сосудов [4].

- в ряде других исследований более высокое потребление биологически активного каротиноида – лютеина было связано с улучшением познавательных способностей и когнитивных функций человека [18].

Таким образом, благодаря своим биологическим свойствам хлорофилл и каротиноиды играют важную физиологическую роль в жизни человека.

Биологические свойства аскорбиновой кислоты

Так же во всех растительных продуктах содержится большое количество разнообразных витаминов. Одним из важнейших витаминов, который необходим человеку, является витамин С (аскорбиновая кислота).

Аскорбиновая кислота играет в организме человека фундаментальную биохимическую и физиологическую роль. Аскорбиновая кислота обнаружена во всех органах и тканях человека. Очень богаты ею ткани с интенсивным обменом, например, железы внутренней секреции [1]. Даже в небольших количествах витамин С может защитить основные молекулы в организме, такие как белки, липиды (жиры), углеводы, нуклеиновые кислоты (ДНК и РНК), от повреждения активными формами кислорода, которые возникают в процессе метаболизма, а также за счет воздействия токсинов и загрязняющих веществ [5].

Биологические свойства аскорбиновой кислоты в организме человека:

- *Антиоксидантные свойства.* Аскорбиновая кислота наряду с токоферолом, биофлавоноидами и ретинолом является биоантиоксидантом прямого действия [1].

- *Дезинтоксикационные свойства.* Аскорбиновая кислота обезвреживает множество ядовитых веществ, таких как тяжелые металлы, табачный дым, токсины возбудителей заболеваний и многие другие токсины [7].

- *Строительная.* Витамин С необходим для синтеза коллагена и проколлагена, которые необходимы для формирования соединительной ткани в организме человека [6].

- *Ферментные и гормональные свойства.* Аскорбиновая кислота необходима для синтеза многих ферментов и гормонов [7].

- *Защитные свойства.* Витамин С способствует улучшению иммунитета и противостоянию организма различным инфекциям, в том числе и вирусным [6].

- *Антиатеросклеротические свойства.* Аскорбиновая кислота предотвращает пероксидацию холестерина в составе липопротеинов низкой плотности и тем самым препятствует прогрессированию атеросклероза [1].

Методика проведения исследования

Вся работа проводилась в соответствии с планом проведения исследования, представленном в **таблице №1**.

Таблица №1 Планирование исследования

№ п/п	Этап исследования	Период проведения исследования
1	Культивирование водоросли Chlorella	апрель 2023 и в течении всего периода исследования
2	Приготовление экспериментальных растворов в соответствии со схемой эксперимента	апрель 2023 и в течении всего периода исследования
3	Выращивание объектов исследования с контролем основных показателей работы гидропонной установки	май - октябрь 2023 года
4	Оценка химического состава листьев выращенных растений с помощью фотометрического и титриметрического методов количественного химического анализа.	июнь – ноябрь 2023 года

Культивирование водоросли. Культура водоросли Chlorella выращивалась на 50%-ной питательной среде Тамия (**рис.5, приложение №1**), состав которой представлен в **таблице №2**

Таблица №2 Питательная среда Тамия для культивирования водоросли хлорелла [8]

Компоненты среды	Концентрация компонента в 50%-ной среде Тамия, г/дм ³	Концентрация компонента в 2%-ной среде Тамия, г/дм ³	Добавление компонента при приготовлении	
			концентрированных растворов, г /200 см ³	50%-ной среды Тамия, см ³ /дм ³
KNO ₃	2,5	0,1	20	25
MgSO ₄ ·7H ₂ O	1,25	0,05	10	25
KH ₂ PO ₄	0,625	0,025	5	25
Железо лимоннокислое	0,003	0,00012	0,6 (растворять при кипячении)	1
Микроэлементы: - раствор А - раствор Б			*	1 1

Примечание *Растворы А и Б готовятся отдельно. Раствор А (Н₃ВО₃ - 2,86 г/дм³, МnСl₂·4Н₂О - 1,81 г/дм³, ZnSO₄·5 Н₂О - 0,222 г/дм³) и раствор Б (МоО₃ - 17,64 мг/дм³, NbHVO-t, - 22,96 мг/дм³, растворять при нагревании). Затем отдельно стерилизуют каждый раствор 30 мин кипячением, охлаждают до температуры рабочего помещения и плотно закрывают притертой пробкой. Оба раствора можно хранить в холодильнике при температуре от (+2) до (+4) °С до трех месяцев.

Культивирование водоросли проводилось при постоянной температуре 36,0 °С в электрическом суховоздушном термостате. При культивировании соблюдался 16-ти часовой световой режим (рис.6, приложение №1).

Приготовление экспериментальных растворов.

В качестве контрольного раствора в эксперименте использовался раствор Кнопа, состав которого указан в таблице №3.

Таблица №3 Состав питательной среды Кнопа [10]

№ п/п	Название соли	Концентрация соли, г/дм ³
1	Кальциевая селитра (Ca(NO ₃) ₂)	1,0
2	Калия фосфат однозамещенный (KH ₂ PO ₄)	0,25
3	Сульфат магния (MgSO ₄ *7H ₂ O)	0,25
4	Хлорид калия (KCl)	0,125
5	Хлорид железа (FeCl ₃ *6H ₂ O)	0,125

Для проведения исследования нами было выбрано шесть экспериментальных растворов с добавлением разной концентрации суспензии водоросли *Chlorella* (таблица №4).

Таблица №4 Экспериментальные растворы и их состав

Вариант эксперимента	Состав экспериментального раствора	Концентрация составляющих раствора
В1	раствор Кнопа + суспензия водоросли <i>Chlorella</i> D=0.200	100 см ³ суспензии / 1 дм ³ раствора
В2	раствор Кнопа + суспензия водоросли <i>Chlorella</i> D=0.400	100 см ³ суспензии / 1 дм ³ раствора
В3	раствор Кнопа + суспензия водоросли <i>Chlorella</i> D=0.800	100 см ³ суспензии / 1 дм ³ раствора
В4	суспензия водоросли <i>Chlorella</i> D=0.200	100%
В5	суспензия водоросли <i>Chlorella</i> D=0.400	100%
В6	суспензия водоросли <i>Chlorella</i> D=0.800	100%

Учитывая ограниченное количество гидропонных установок (2 шт.), 3 и 4 этапы нашего исследования (согласно таблице №1) были разделены на 4 подэтапа:

- 1 подэтап – контроль и В1
- 2 подэтап – В2 и В3
- 3 подэтап – В4 и В5
- 4 подэтап – В6

Все подэтапы проводились поочередно с соблюдением одинаковых микроклиматических условий (таблица №5).

Выращивание объектов исследования проводилось на гидропонной установке типа «водная культура» (плавающая платформа, горшки с рассадой фиксируются на платформе с прорезями, которая устанавливается на емкости с водой), состоящая из :

- каркаса из труб ПП;
- ёмкости для воды (объёмом 10 литров);

- крышки с отверстиями для стаканчиков;
- светодиодных ламп 3000к
- таймера (для контроля светового дня);
- компрессора с распылителями (рис.3, приложение №1).

Выращивались растения в течение 1 месяца (30 дней) с соблюдением 16 – часового светового дня (рис.4, приложение №1).

В качестве субстрата для выращивания использовали смесь торфа с перлитом. Смена питательного раствора производилась 1 раз в 7-10 дней.

В течение всего периода выращивания не реже 1 раза в неделю с помощью датчиков цифровой лаборатории «Сенсор» проводился **контроль основных показателей работы гидропонной установки** (температура, водородный показатель, электропроводность питательного раствора, освещенность ламп).

Результаты измерений представлены в **таблице №5**. В таблице указаны средние арифметические значения показателей за период выращивания объектов исследования.

Таблица №5 Контроль условий проведения эксперимента

Вариант эксперимента	Температура, °С	Водородный показатель, ед.рН	Удельная электропроводность, мСм/см	Освещенность, Лк
К	20,6	6,29	1811	7049
В1	20,8	6,25	1996	7033
В2	20,2	6,25	2154	7045
В3	20,8	6,25	2377	7029
В4	21,0	6,15	3542	7051
В5	20,9	6,19	3853	7049

Определение химического состава листьев растений.

У выращенных растений оценивали химический состав листьев:

- концентрация хлорофилла А
- концентрация хлорофилла В
- концентрация каротиноидов
- концентрация аскорбиновой кислоты

Учитывая, что на химический состав листьев влияет фаза развития растений, на всех этапах исследования срезка проводилась ровно через 30 дней после посадки.

Перед проведением анализа из образцов каждого объекта исследования составлялась смешанная проба. Для этого с разных образцов отбирались небольшие пробы и соединялись в общую.

Определение концентрации основных фотосинтетических пигментов проводили с помощью фотометрического метода количественного химического

анализа (рис.7 – рис.10, приложение №2) [16]. Для экстракции пигментов использовали ацетон.

Навеску листьев (0,1-0,15 г) помещали в фарфоровую ступку, добавляли немного промытого кварцевого песка и растирали с 2-3 мл ацетона. К растертой массе добавляли ещё 4-5 мл ацетона и снова растирали несколько минут.

После отстаивания раствора экстракт осторожно переносили по палочке в воронку с фильтром в мерную колбу объемом 25 см³. Экстракцию небольшими порциями чистого растворителя повторяли до тех пор, пока пигменты не были извлечены полностью (рис.8, приложение №2).

Далее содержимое мерной колбы доводили растворителем до метки, закрывали пробкой, тщательно взбалтывали и использовали для определения оптической плотности (рис.9, приложение №2)..

Плотность экстракта измеряли на спектрофотометре КФК – ЗКМ при длинах волн, соответствующих максимумам поглощения хлорофиллов а и b в красной области спектра (662 и 644 нм) и при длине волны абсорбционного максимума каротиноидов (440 нм) (рис.10, приложение №2).

Концентрацию пигментов рассчитывали по уравнениям Хольма-Веттштейна (для 100% ацетона):

$$C_{\text{хл.а}} = 9,784 D_{662} - 0,990 D_{644};$$

$$C_{\text{хл.б}} = 21,426 D_{644} - 4,650 D_{662};$$

$$C_{\text{хл.а}} + C_{\text{хл.б}} = 5,134 D_{662} + 20,436 D_{644};$$

$$C_{\text{кар.}} = 4,695 D_{440,5} - 0,268 C_{\text{хл.а}} + C_{\text{хл.б}}, \text{ где}$$

$C_{\text{хл.а}}$, $C_{\text{хл.б}}$, $C_{\text{хл.а}} + C_{\text{хл.б}}$ и $C_{\text{кар.}}$ – соответственно концентрации хлорофиллов а, b, их суммы и каротиноидов, мг/л;

D – экспериментально полученные величины оптической плотности при соответствующих длинах волн.

Анализ пигментов выполнялся при комнатной температуре на рассеянном свете, так как при сильном освещении может произойти фотоокисление хлорофилла.

Определение концентрации аскорбиновой кислоты в листьях растений проводили титриметрическим (йодометрическим) методом количественного химического анализа (рис.11 – рис.15, приложение №2) [6].

На технических весах взвешивали 10 г сырья, измельчали в ступке в течение 10 минут (рис.12, приложение №2), затем количественно переносили в мерную колбу вместимостью 100 см³, доводили дистиллированной водой до метки, перемешивали и фильтровали через складчатый бумажный фильтр (рис.13, приложение №2). В коническую колбу отбирали 20 см³ фильтрата, добавляли 1 см³ 2 % раствора соляной кислоты, 0,5 см³ 1 % раствора йодистого калия (KI) и 2 см³ 0,5% раствора крахмала. Титровали полученный раствор 0,001 М раствором йодата калия (KIO₃) до устойчивого синего окрашивания (рис.15, приложение №2).

1 см³ 0,001 М раствора йодата калия соответствует 0,88 мг аскорбиновой кислоты. Содержание аскорбиновой кислоты рассчитывали по формуле:

$$X = (C_3 * 0,88 * C_1 * 100) / (H * C_2)$$

где X – содержание аскорбиновой кислоты, мг %;
 C_1 – общий объем вытяжки, см³;
 C_2 - объем вытяжки, взятый на титрование, см³;
 C_3 - объем 0,001м раствора йодата калия, пошедшего на титрование
опытного образца, см³;
 H - масса навески, г.

Измерение всех показателей (концентрация фотосинтетических пигментов и аскорбиновой кислоты) проводилось в двух повторностях.

Результаты и их обсуждение

В соответствии с методикой проведения исследования определили концентрацию основных фотосинтетических пигментов (хлорофилл А, хлорофилл В и каротиноиды) и аскорбиновой кислоты в листьях выращенных растений.

Результаты измерения оптических плотностей растворов пигментов указаны в таблице №8 (приложение №3), результаты титрования – в таблице №9 (приложение №3). В соответствии с формулами рассчитали концентрации хлорофилла А, хлорофилла В, общую концентрация хлорофиллов, каротиноидов и аскорбиновой кислоты.

Концентрации пигментов и аскорбиновой кислоты представлены в сводной таблице №6, в которой указаны средние значения (как среднее арифметическое двух параллельных измерений).

Таблица №6 Сводная таблица результатов

Образец	Концентрация хл А, мг/г	Концентрация хл В, мг/г	Концентрация хлорофилла (А+В), мг/г	Концентрация каротиноидов, мг/г	Концентрация аскорбиновой кислоты, мг%
К салат	1,33	0,5	1,83	0,48	15,6
К горчица	1,19	0,56	1,75	0,31	48,8
К редис	0,98	0,37	1,35	0,31	11,3
В1 салат	1,35	0,53	1,88	0,47	16,5
В1 горчица	1,29	0,74	2,03	0,32	49,5
В1редис	1,25	0,47	1,72	0,42	13,2
В2 салат	1,49	0,78	2,27	0,49	18,0
В2 горчица	1,83	0,84	2,67	0,70	51,3
В2 редис	1,84	0,98	2,82	0,65	14,5
В3 салат	1,71	0,84	2,55	0,59	19,0
В3 горчица	2,22	0,9	3,12	0,91	52,8
В3 редис	2,09	1,09	3,18	0,88	15,8
В4 салат	1,29	0,38	1,67	0,46	15,3
В4 горчица	1,06	0,52	1,58	0,33	46,2
В4 редис	0,72	0,31	1,03	0,31	11,0
В5 салат	0,99	0,13	1,12	0,24	12,9
В5 горчица	0,83	0,45	1,28	0,27	28,6
В5 редис	0,68	0,21	0,89	0,22	8,1

В таблице №7 представлена кратность изменения содержания химических веществ в листьях растений в сравнении с контрольными образцами. Стрелками в таблице указано увеличения или снижения определенного показателя в соответствии с контролем.

Таблица №7 Кратность изменения содержания химических веществ в листьях растений в сравнении с контрольным образцом

Образец	Концентрация хлорофилла	Концентрация каротиноидов	Концентрация аскорбиновой кислоты
В1 салат	1,0	1,0	1,1
В1 горчица	↑1,2	1,0	1,0
В1 редис	↑1,3	↑1,4	↑1,2
В2 салат	↑1,2	1,0	↑1,2
В2 горчица	↑1,5	↑2,3	↑1,1
В2 редис	↑2,1	↑2,1	↑1,3
В3 салат	↑1,4	↑1,2	↑1,2
В3 горчица	↑1,8	↑2,9	↑1,1
В3 редис	↑2,3	↑2,8	↑1,4
В4 салат	↓ 1,1	1,0	1,0
В4 горчица	↓1,1	1,0	↓1,1
В4 редис	↓1,3	1,0	1,0
В5 салат	↓1,6	↓2,0	↓1,2
В5 горчица	↓1,4	↓1,2	↓1,7
В5 редис	↓1,5	↓1,4	↓1,4

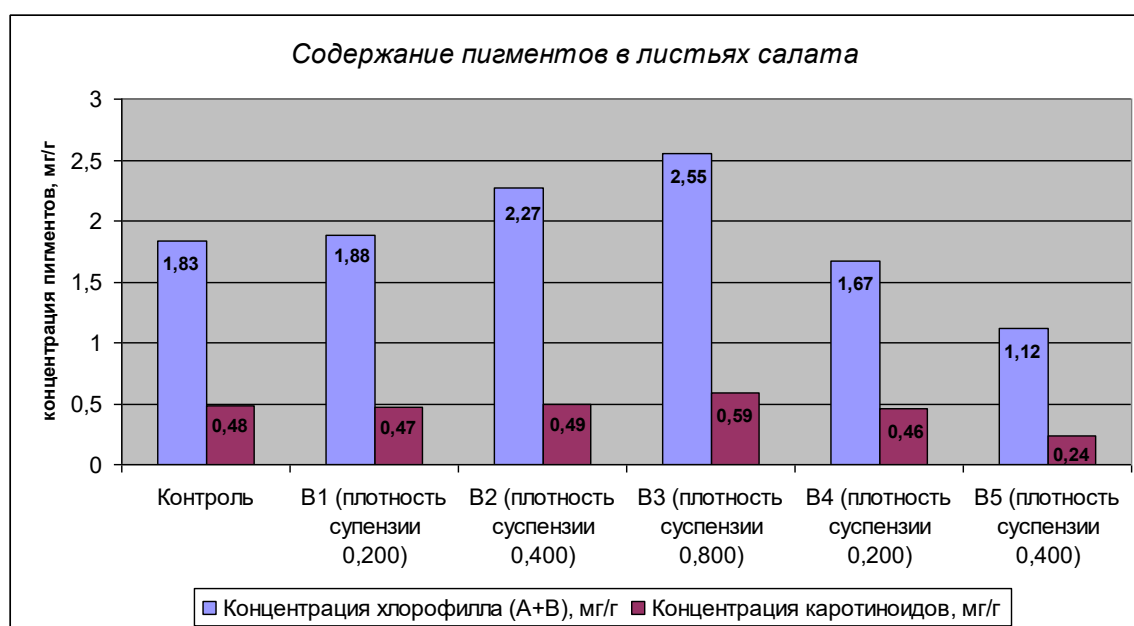
По таблице №7 видно, что при добавлении суспензии водоросли в раствор Кнопа в концентрации $100 \text{ см}^3/1 \text{ дм}^3$ в экспериментальных растворах В1 – В3 в листьях всех объектов исследования (салата, редиса и горчицы) наблюдается увеличение всех видов пигментов в сравнении с контрольными образцами.

Данная зависимость также отражена на диаграммах (рис.1). Причем увеличение концентрации пигментов прямо пропорционально увеличению вносимой в раствор плотности водоросли:

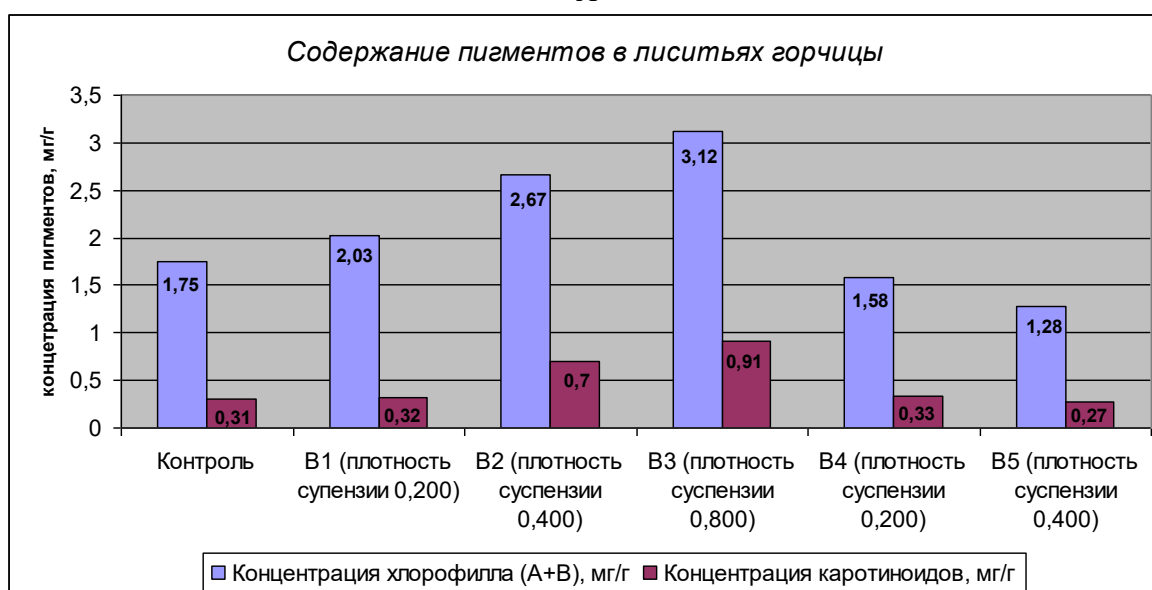
- В1 (раствор Кнопа + плотность суспензии 0,200) – максимальное увеличение хлорофилла в 1,3 раза, каротиноидов - в 1,4 раза,

- В2 (раствор Кнопа + плотность суспензии 0,400) – максимальное увеличение хлорофилла и каротиноидов в 2,1 раза,
- В3 (раствор Кнопа + плотность суспензии 0,800) – максимальное увеличение хлорофилла в 2,3 раза, каротиноидов - в 2,9 раза (**таблица №7**)

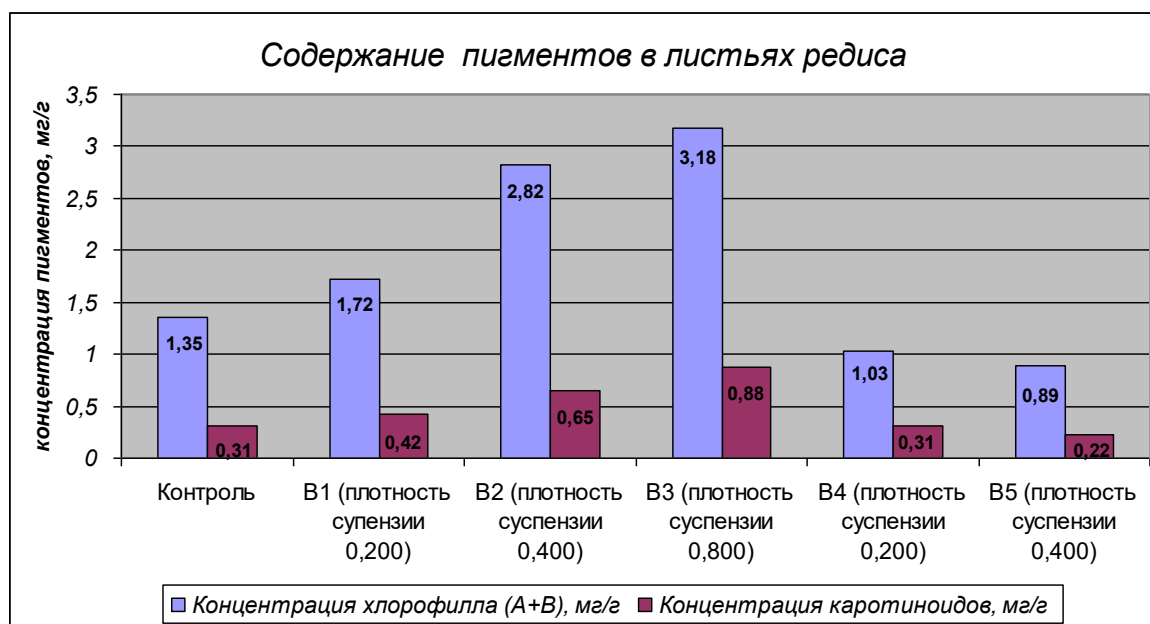
То есть, в данном случае мы видим стимулирующее действие водоросли хлорелла на пигментный состав листьев растений. Изучая источники информации о культуре водоросли хлорелла, мы обратили внимание на наличие в её составе каротина, которые участвует в поглощении световой энергии и защищает хлорофилл от разрушения. Поэтому увеличение концентрации основных фотосинтетических пигментов в листьях растений при увеличении плотности суспензии водоросли, возможно объяснить наличием каротина в суспензии хлореллы.



А



Б



В

Рис.1 Содержание пигментов в листьях растений, выращенных на экспериментальных растворах В1 – В5 (А – листья салата, Б – листья горчицы, В – листья редиса)

Совершенно другая ситуация наблюдается при выращивании растений на суспензии водоросли в экспериментальных растворах В4 и В5. Концентрация всех пигментов снижена по сравнению с контрольным вариантом (рис.1.). При этом кратность снижения концентрации всех пигментов увеличивается с повышением плотности суспензии (таблица №7):

- В4 (плотность суспензии 0,200) – максимальное снижение хлорофилла в 1,3 раза,
- В5 (плотность суспензии 0,200) – максимальное снижение хлорофилла в 1,6 раза, каротиноидов - в 2,0 раза (таблица №7).

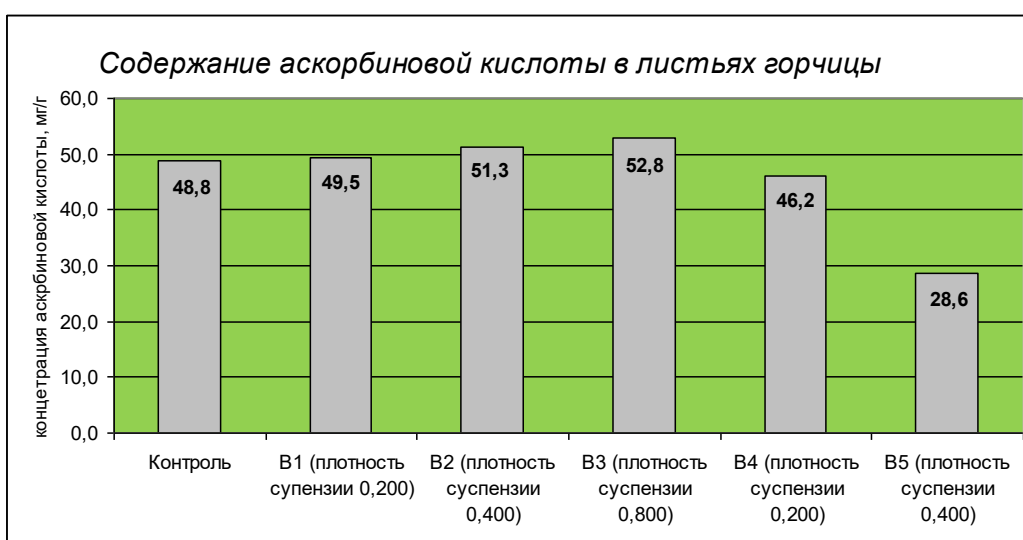
Это было заметно и без проведения химического анализа – растения имели признаки хлороза (рис.16, приложение №3). При этом у растений, выращенных на растворе В5, признаки хлороза были выражены сильнее, чем у растений, выращенных на растворе В4. При выращивании растений на других экспериментальных растворах (В1 – В3) подобного симптома у растений не наблюдалось. Мы предполагаем, что, не смотря на богатый состав суспензии водоросли хлорелла, в ней, скорее всего, содержится недостаточное количество азота (которые израсходовался на наращивание биомассы водоросли), с чем и связано такое развитие растений.

Подобная динамика определена и при накоплении аскорбиновой кислоты в листьях растений:

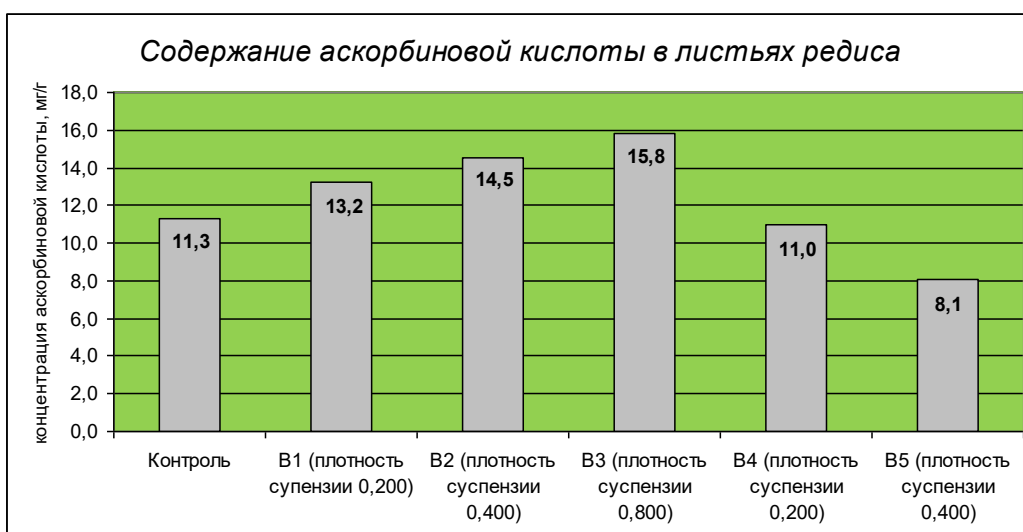
- наблюдается увеличение концентрации витамина С при добавлении водоросли хлорелла в раствор Кнопа в концентрации $100 \text{ см}^3/1 \text{ дм}^3$ в экспериментальных растворах В1 – В3 (рис.2)
- и снижение концентрации при выращивании растений на суспензии водоросли в экспериментальных растворах В4 и В5 (рис.2).



А



Б



В

Рис.2 Содержание аскорбиновой кислоты в листьях растений, выращенных на экспериментальных растворах В1 – В5 (А – листья салата, Б – листья горчицы, В – листья редиса)

Так же мы обратили внимание на видоспецифичность по отношению к использованию суспензии водоросли хлорелла. Используемые в эксперименте растения с разной интенсивностью «откликаются» на внесение суспензии водоросли хлорелла в питательный раствор.

Анализируя полученные данные, мы отметили, что наибольшая кратность изменений концентраций веществ (**таблица №7**) наблюдалось у листьев редиса. Так, концентрации хлорофилла в листьях редиса увеличилась максимум в 2,3 раза, а каротиноидов – в 2,8 раз, аскорбиновой кислоты – в 1,4 раза. Для сравнения, в листьях салата максимальное увеличение концентрации хлорофиллов составило 1,4 раз, каротиноидов – 1,2 раз, аскорбиновой кислоты – 1,2 раза.

Учитывая, что с увеличением плотности суспензии водоросли хлорелла наблюдается увеличение кратности снижения определяемых показателей химического состава листьев растений, а также ярко выраженные признаки хлороза растений, мы приняли решение не проводить выращивание объектов исследования на экспериментальном растворе В6.

Выводы

В результате проведения исследования мы:

1. с соблюдением условий культивирования на питательной среде Тамия получили суспензию водоросли *Chlorella* разной плотности (0,200; 0,400; 0,800)

2. на шести экспериментальных растворах в три этапа в соответствии со схемой эксперимента вырастили три вида растений (горчица, редис и салат)

3. с помощью титриметрического и фотометрического методов количественного химического анализа определили концентрацию хлорофилла, каротиноидов и аскорбиновой кислоты в листьях растений, выращенных с добавлением разной концентрации и плотности суспензии водоросли *Chlorella* и установили:

- добавление в питательный раствор Кнопа суспензии водоросли *Chlorella* в концентрации $100 \text{ см}^3/1 \text{ дм}^3$ стимулирует синтез основных пигментов листьев растений (хлорофилла А, хлорофилла В, каротиноидов) и аскорбиновой кислоты;

- в нашем эксперименте наибольшее стимулирующее действие на синтез веществ оказывает суспензия водоросли *Chlorella* с **плотностью 0,800** при добавлении её в питательный гидропонный раствор;

- выращивание растений на суспензии водоросли *Chlorella* не эффективно, так как приводит к снижению всех показателей по сравнению с контрольными образцами.

Наша гипотеза подтвердилась - суспензия водоросли хлорелла оказывает положительное влияние на синтез химических соединений в листьях растений, выращенных в условиях гидропоники.

При этом важна концентрация водоросли – в нашем эксперименте стимулирующее действие на химический состав листьев растений оказывала суспензия хлореллы в концентрации 100 см^3 на 1 дм^3 питательного гидропонного раствора.

Заключение

Суспензию водоросли *Chlorella* успешно можно использовать при выращивании растений не только в закрытом и открытом грунте, но и добавлять в гидропонный питательный раствор. Внесение суспензии водоросли стимулирует в листьях растений синтез хлорофилла, каротиноидов и аскорбиновой кислоты, которые играют важную роль не только для растения, но и имеют высокое физиологическое значение для человека.

Таким образом, регулируя факторы выращивания растений, мы увеличиваем содержание в них полезных для здоровья человека соединений. При этом не маловажно то, что добиться увеличения концентрации этих веществ в выращиваемой продукции позволяет *натуральная* добавка.

Так как суспензия водоросли хлорелла оказывает стимулирующее действие на развитие растений в условиях гидропоники при условии добавления её в питательный раствор, в перспективе развития нашего исследования – оценка стимулирующего действия водоросли хлорелла других концентраций (например, $200 \text{ см}^3 - 300 \text{ см}^3 / 1 \text{ дм}^3$).

Так же, учитывая, видоспецифичность на внесение суспензии водоросли, будет продолжено исследование влияния суспензии хлореллы на других культурах растений.

Список источников информации

1. Абдуллина Г.М., Кулагина И.Г., Тимирханова Г.А. Витамин С: классические представления и новые факты о механизмах биологического действия [Электронный источник] // Научная электронная библиотека «КиберЛенинка» URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/vitamin-s-klassicheskie-predstavleniya-i-novye-fakty-o-mehanizmah-biologicheskogo-deystviya/viewer> (дата обращения: 06.12.2023 г.)
2. Вильданова Г.И., Минахметова И.И., Порхун М.Ю., Чумак В.А., Черноусова О.В., Гайсина Л.А. Использование суспензии водоросли CHLORELLA VULGARIS при выращивании огурца посевным методом гидропоники [Электронный источник] // Научная электронная библиотека «КиберЛенинка» URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/ispolzovanie-suspenzii-vodorosli-chlorellavulgaris-pri-vyraschivanii-ogurtsa-posevnogo-metodom-gidroponiki/viewer> (дата обращения 27.12.2023 г.)
3. Зыкин Д.А. Влияние обработки культурой Хлореллы на морфологию и урожайность гречихи сорта Дикуль [Электронный источник] // Научная электронная библиотека «КиберЛенинка» URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/vliyanie-obrabotki-kulturoy-hloreilly-na-morfologiyu-i-urozhaynost-grechih-sorta-dikul?ysclid=lqqibvk98s35223497> (дата обращения 25.11.2023 г.)
4. Колдаев В.М., Крпотов А.В. Каротиноиды в практической медицине [Электронный источник] // Научная электронная библиотека «КиберЛенинка» URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/karotinoidy-v-prakticheskoy-meditsine/viewer> (дата обращения 21.12.2023 г.)
5. Махова А.А., Ших Е.В. Роль аскорбиновой кислоты и токоферола в профилактике и лечении заболеваний с точки зрения доказательной медицины [Электронный источник] // Научная электронная библиотека «КиберЛенинка» URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/rol-askorbinovoy-kisloty-i-tokoferola-v-profilaktike-i-lechenii-zabolevaniy-s-tochki-zreniya-dokazatelnoy-meditsiny/viewer> (дата обращения: 06.12.2023 г.)
6. Определение аскорбиновой кислоты йодометрическим методом [Электронный ресурс] // Хелпикс URL: <https://helpiks.org/2-51114.html> (дата обращения: 24.04.2023 г.)
7. Определение и свойства аскорбиновой кислоты [Электронный источник] // Studfiles URL: <https://studfile.net/preview/3557858/#2> (дата обращения: 24.04.2023 г.)
8. ПНД Ф Т 14.1:2:3:4.10-04 Токсикологические методы контроля. Методика измерений оптической плотности культуры водоросли хлорелла (*Chlorella vulgaris* Beijer) для определения токсичности питьевых, пресных природных и сточных вод, водных вытяжек из грунтов, почв, осадков сточных вод, отходов производства и потребления [Электронный ресурс] // Библиотека нормативной документации URL: <https://files.stroyinf.ru/Index2/1/4293763/4293763986.htm?ysclid=lq237rdh9r727480715> (дата обращения 24.04.2023 г.)

9. Руководство по использованию суспензии хлореллы в растениеводстве [Электронный источник] // Фермер.Ру URL: <https://fermer.ru/files/v2/sale/355622/hlorelladlyarasteniyopodrobnyeinstrukcii.pdf?ysclid=lqqjpdtyue962768697> (дата обращения 29.04.2023 г.)
10. Рыжак П. Рецепты питательных растворов [Электронный источник] // Гидропоника URL: <https://gidroponika.com/content/view/35/237/> (дата обращения: 25.04.2023 г.)
11. Суспензия хлореллы как удобрение для растений [Электронный источник] // Hlorella-lab URL: <https://hlorella-lab.ru/stati/post/hlorella-kak-udobrenie?ysclid=lpwhe9gfj2497051107> (дата обращения 19.05.2023 г.)
12. Хлорелла, биостимулятор [Электронный источник] // Stop-pest URL: <https://stop-pest.ru/hlorella/?ysclid=lp708wuusn989469611> (дата обращения 15.10.2023 г.)
13. Хлорофилл и его польза для здоровья человека, применение [Электронный источник] // Arthroforum--spb URL: <https://arthroforum--spb.ru.turbopages.org/arthroforum-spb.ru/s/info/hlorofill-poleznye-svoystva-i-primeneniye> (дата обращения 05.12.2023 г.)
14. Хлорофилл – источник энергии и здоровья [Электронный источник] // Аптека Медси URL: <https://apteki.meds.ru/articles/khlorofill-istochnik-energii-i-zdorovya.html> (дата обращения 05.12.2023 г.)
15. Хлорофилл: свойства и принцип действия, влияние на организм, области применения, правила использования здоровья [Электронный источник] // ЕДАТОП URL: <https://edatop.ru/4019-hlorofill.html> (дата обращения 05.12.2023 г.)
16. Чернышенко О.В., Практикум по физиологии растений: (для студентов направления подготовки 35.03.01 «Лесное дело», бакалавриат). - М.: МГУЛ, 2015. – 44с.
17. Что такое хлорелла и как она используется [Электронный источник] // Hlorella - lab URL: <https://hlorella-lab.ru/stati/post/chto-takoe-hlorella?ysclid=lqqjn414fs469149441> (дата обращения 19.05.2023 г.)
18. Япаров А.Э. Влияние ликопина и других каротиноидов на когнитивную функцию используется [Электронный источник] // Международный студенческий научный вестник URL: <https://eduherald.ru/ru/article/view?id=20208&ysclid=lqqm0f9axm293253517> (дата обращения 19.12.2023 г.)
19. Чмулев И.С. Исследования по изучению влияния суспензии микроводоросли *Chlorella Vulgaris* BIN на сорта и сортообразцы картофеля, выполненные впервые в условиях Магаданской области [Электронный источник] // Научная электронная библиотека «КиберЛенинка» URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/issledovaniya-po-izucheniyu-vliyaniya-suspenzii-mikrovodorosli-chlorella-vulgaris-bin-na-sorta-i-sortoobraztsy-kartofelya?ysclid=lqs2v91rtv919239483> (дата обращения 27.12.2023 г.)

Приложения

Приложение №1



Рис.3 Гидропонная установка



Рис.4 Объекты исследования на гидропонной установке

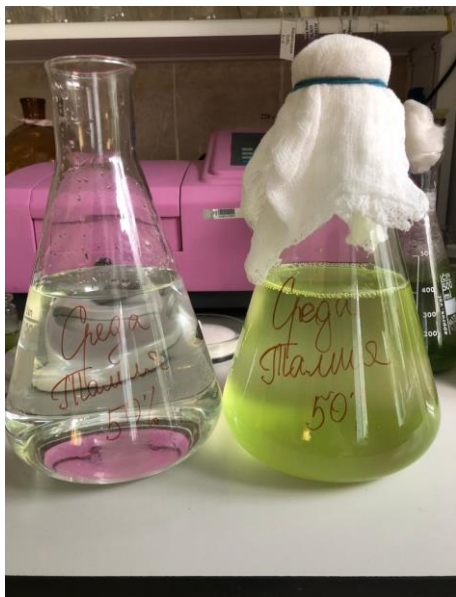


Рис.5 Суспензия водоросли хлорелла



Рис.6 Выращивание водоросли хлорелла в термостате

Определение химического состава листьев растений

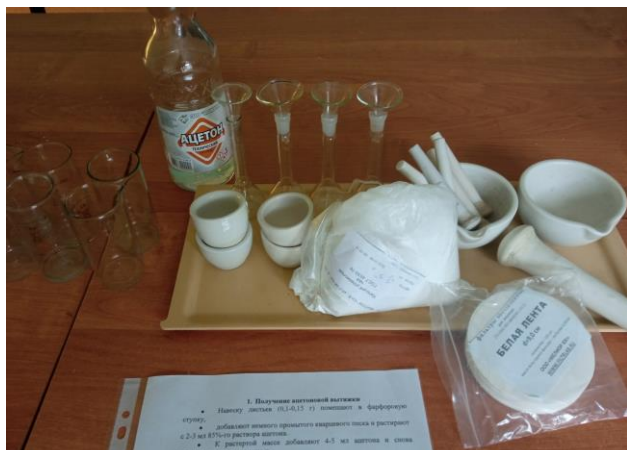


Рис.7 Материалы и реактивы для экстракции пигментов



Рис.8 Фильтрация ацетоновой вытяжки пигментов



Рис.9 Растворы для фотометрирования



Рис. 10 Фотометрирование растворов



Рис.11 Реактивы для йодометрического определения аскорбиновой кислоты



Рис.12 Пробоподготовка листьев к титрованию



Рис.13 Фильтрация водной втяжки аскорбиновой кислоты



Рис.14 Йодометрическое определение аскорбиновой кислоты

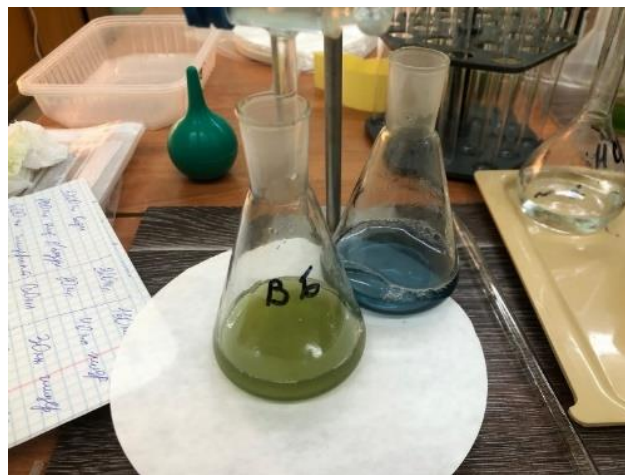


Рис.15 Водные втяжки растворов до и после титрования

Результаты исследования

Таблица №8 Результаты фотометрических измерений оптической плотности ацетоновой вытяжки пигментов

Образец	Параллель	Навеска листьев, г	Объем вытяжки, см ³	Оптическая плотность вытяжки при длине волны 662нм	Оптическая плотность вытяжки при длине волны 644нм	Оптическая плотность вытяжки при длине волны 440нм
К салат	1	0,150	25	0,839	0,320	1,236
	2	0,150	25	0,859	0,328	1,239
К горчица	1	0,150	25	0,788	0,344	1,008
	2	0,150	25	0,734	0,302	0,990
К редис	1	0,150	25	0,620	0,240	0,860
	2	0,150	25	0,626	0,240	0,866
В1 салат	1	0,200	25	1,146	0,448	1,666
	2	0,200	25	1,154	0,449	1,668
В1 горчица	1	0,150	25	0,831	0,387	1,101
	2	0,150	25	0,829	0,388	1,096
В1 редис	1	0,150	25	0,795	0,305	1,124
	2	0,150	25	0,800	0,302	1,123
В2 салат	1	0,150	25	0,967	0,436	1,412
	2	0,150	25	0,944	0,418	1,407
В2 горчица	1	0,200	25	1,476	0,570	2,311
	2	0,200	25	1,652	0,737	2,507
В2 редис	1	0,100	25	0,791	0,355	1,197
	2	0,100	25	0,786	0,355	1,201
В3 салат	1	0,150	25	1,120	0,490	1,649
	2	0,150	25	1,076	0,459	1,612
В3 горчица	1	0,150	25	1,410	0,555	2,237
	2	0,150	25	1,432	0,564	2,237
В3 редис	1	0,100	25	0,904	0,399	1,473
	2	0,100	25	0,888	0,397	1,475
В4 салат	1	0,110	25	0,602	0,207	0,852
	2	0,110	25	0,598	0,211	0,854
В4 горчица	1	0,120	25	0,547	0,235	0,768
	2	0,120	25	0,545	0,236	0,770
В4 редис	1	0,100	25	0,307	0,121	0,508
	2	0,100	25	0,304	0,129	0,499
В5 салат	1	0,130	25	0,541	0,150	0,597
	2	0,130	25	0,539	0,148	0,598
В5 горчица	1	0,145	25	0,520	0,240	0,755
	2	0,145	25	0,508	0,229	0,758
В5 редис	1	0,110	25	0,322	0,113	0,432
	2	0,110	25	0,310	0,111	0,436

Таблица №9 Результаты титрования

Образец	Навеска, г	Параллельные измерения	Объём вытяжки для титрования, см ³	Объём титранта, см ³
К салат	9,850	1	20	1,75
	9,850	2	20	1,75
К горчица	10,000	1	20	5,55
	10,000	2	20	5,55
К редис	9,900	1	20	1,25
	9,900	2	20	1,30
В1 салат	10,005	1	20	1,90
	10,005	2	20	1,85
В1 горчица	9,780	1	19	5,45
	9,780	2	21	5,55
В1 редис	9,855	1	20	1,50
	9,855	2	20	1,45
В2 салат	8,570	1	20	1,70
	8,570	2	19	1,80
В2 горчица	10,000	1	23	5,80
	10,000	2	24	5,85
В2 редис	10,000	1	20,5	1,70
	10,000	2	21,5	1,60
В3 салат	7,980	1	19	1,75
	7,980	2	20,5	1,70
В3 горчица	10,000	1	20	5,95
	10,000	2	20	6,05
В3 редис	10,000	1	19,5	1,75
	10,000	2	20	1,85
В4 салат	5,625	1	20	0,95
	5,625	2	20	1,00
В4 горчица	5,720	1	20	3,00
	5,720	2	20	3,00
В4 редис	4,415	1	20	0,55
	4,415	2	20	0,55
В5 салат	4,950	1	20	0,70
	4,950	2	20	0,75
В5 горчица	9,245	1	20	3,00
	9,245	2	20	3,00
В5 редис	6,000	1	20	0,40
	6,000	2	20	0,70



Рис.16 Хлороз листьев растений на растворах В4 и В5