

4. Наибольшими проблемами для ихтиофауны озера Иссык-Куль являются загрязнение акватории неочищенными бытовыми и промышленными стоками, рекреационная нагрузка, браконьерство и использование садков для получения товарной продукции.

ЛИТЕРАТУРА

1. Турдаков Ф.А. Перестройка рыбного промысла на Иссык-Куле. Вестник АН СССР, 1961, № 2, С. 55.
2. Конурбаев А.О., Фолиян Л.А.. Перспективы развития рыбного хозяйства Киргизии. // Биологические основы рыбного хозяйства водоемов Средней Азии и Казахстана, 1978, Изд-во Илим, Фрунзе, С.340-342.
3. Конурбаев А.О., Турдаков А.Ф., Фолиян Л.А., Павлова М.В. // Акклиматизация рыб и беспозвоночных в водоемах СССР. 1972, Фрунзе, С.43-45.
4. Пивнев И.А. Рыбы Киргизии. Фрунзе, Изд-во Кыргызстан, 1990, С. 95-96.

Бұл мақалада Ыстықкөл бассейнінде шаруашылықтың жұмыстардың нәтижесінде туындаған мәселелер мен себептердің талдауы, балық түрлерін тұйық суқоймалар ихтиофаунасына жерсіндіру, жерсіндіру жұмыстарының жағымды және жағымсыз жақтары қарастырылады, аборигенді түрлердің қалыптасу және сақтау шаралары ұсынылады.

In the article, there is given an analysis of reasons and problems resulted after human activity in Issyk-Kul Lake Basin, in particular after introduction and acclimatization of some fishes into this drainless water body. Also there are considered positive and negative consequences of any works on acclimatization, and some measures are recommended which can promote to conservation and renewal of aboriginal fish populations.

УДК: 561.26.016

Л.П. Лебедева, Джокебаева С.А.

ОПТИМИЗАЦИЯ РОСТОВЫХ ПРОЦЕССОВ ХЛОРЕЛЛЫ И СПИРУЛИНЫ И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЧИСТЫХ ЭКСТРАКТОВ В КАЧЕСТВЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ДОБАВОК К КОРМАМ РЫБ

Казахский национальный университет им. аль-Фараби, Алматы, Казахстан

Описаны работы по оптимизации ростовых процессов сине-зеленых и зеленых водорослей на примере спирулины и хлореллы. Найдена оптимальная среда для выращивания имеющегося штамма хлореллы, и оптимальная концентрация клеток и продолжительность выращивания для спирулины. Также опытным путем доказан прирост культуры при постоянном барботаже кислородом. По имеющимся методикам был определен аминокислотный состав хлореллы и количество чистого белка в спирулине. Все данные были обработаны и представлены в табличной форме.

В настоящее время одним из наиболее перспективных направлений в исследовании является использование растений для восполнения недостатка белка в рационе как человека, так и животных. Благодаря простоте выращивания, быстрым темпам роста и размножения, большому количеству легкоусвояемого белка, а так же содержание с своим составе витаминов, жирных кислот, микро и макроэлементов, делает микроводоросли спирулину и хлореллу лидерами данного направления.

Цель работы состояла в получении экстрактов микроводорослей *Chlorella vulgaris* и *Spirulina sp* и разработке на их основе биологически активных добавок к кормам рыб. Для решения этой цели были поставлены следующие задачи:

1. Усовершенствование методики выращивания микроводорослей *Chlorella vulgaris* (штамм Т-4) и *Spirulina sp*
2. Получение чистых культур и выделение чистых экстрактов *Chlorella vulgaris* (штамм Т-4) и *Spirulina sp*.
3. Определение аминокислотного состава *Chlorella vulgaris* штамма Т-4.
4. Разработка на основе полученных экстрактов биологически активных добавок в пищу декоративных видов рыб.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Для получения монокультуры микроводорослей цианобактерии культивировали на жидких средах в конических колбах, объемом 100 мл в люминаторе с круглосуточным освещением при температуре 26-28 градусов Цельсия. Продолжительность культивирования 30 дней. Для культивирования использовались среды Зарукка, Тамия, Еленкина и Чу-10.

Для выявления оптимального вида среды для каждой конкретной культуры проводили определение динамики прироста концентрации клеток (в случае одноклеточных культур), или прироста биомассы. Определение проводили через каждые 5 суток в процессе 30-дневного культивирования. В пробах просчитывали концентрацию клеток с помощью камеры Горяева. Для определения прироста биомасс все содержимое колбы наливали в стеклянные бюксы, упаривали при темп 105 градусов в течение 1 часа, сушили ночь над CaCl_2 и взвешивали, повторяя эту операцию неоднократно для доведения до постоянного веса. Сухой вес биомассы определяли с точностью до 0,0001г. Для определения коэффициента размножения (КР), который использовался нами как критерий роста культур , пользовались следующей формулой

$$\text{КР} = m_2 / m_1,$$

где m_2 – сухой вес биомассы в конце опыта (конечная концентрация клеток), m_1 – сухой вес посевного материала (начальная концентрация клеток).

Плотность клеток определяли на фотоэлектроколориметре, который использовали как нефелометр. Для снятия влияния зеленого цвета микроводорослей, измерение проводили при 540 и 590 нм, т.е. в зеленых лучах спектра.

Аминокислотный состав белков в среде определяли методом бумажной хроматографии. Культуральную жидкость микроводорослей упаривали при 45 °С на водяной бане с вентилятором. Сухой остаток растворяли в 70 проц спирте и наносили на полоски хроматографической бумаги. Параллельно с опытными растворами наносили пятна метчиков стандартных аминокислот. Сушили пятна с помощью фена. Хроматограммы разгоняли в системе растворителей БУВ. Окрашенные пятна лилового, сиреневого и фиолетового цветов располагались вдоль линии разгонки. Пятна вырезали и растворяли в 0,1 М CaCl₂. Поглощение растворов измеряли на ФЭК при 420 нм. Полученные данные оптической плотности сопоставляли с калибровочными графиками, построенными по растворам соответствующих стандартных аминокислот.

При статистической обработке результатов исследования рассчитывали среднюю арифметическую, ошибку средней арифметической.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты культивирования и выделения спирулины и хлореллы

Спирулину выращивают в открытых и закрытых фотокультиваторах. Существуют проекты по выращиванию микроводоросли в больших открытых культиваторах на берегу крупных водоемов. Благодаря быстрому росту, водоросль дает протеина в 20 раз больше с единицы площади, чем соя и в 200 раз больше, чем говядина.

Нами были предприняты усилия по оптимизированию процесса выращивания спирулины *Spirulina sp* в лабораторных условиях. Для определения оптимальной концентрации и продолжительности выращивания спирулины, цианобактерии выращивали в различных концентрациях на среде Зарукка в течение 30 суток при 24 ч освещении. Через равные промежутки времени определяли массу сухой смеси (рисунок 1) и коэффициент размножения (рисунок 2).

По результатам экспериментов наибольший прирост наблюдался при выращивании спирулины в течение 15 суток. В это время можно собирать цианобактерии. Оптимальная концентрация для посадки спирулины составляет 0,01 мг/л.

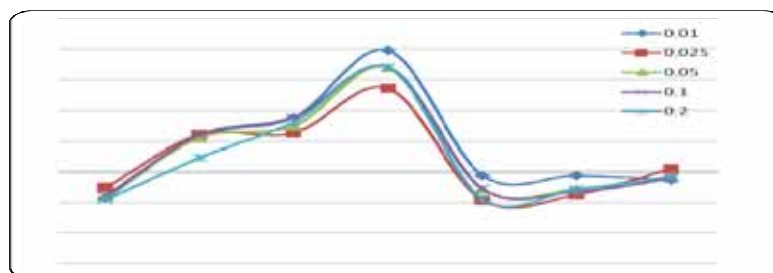


Рисунок 1 Масса сухой смеси спирулины при выращивании её в различных концентрациях на среде Зарукка в течение 30 дней при 24 ч освещении.

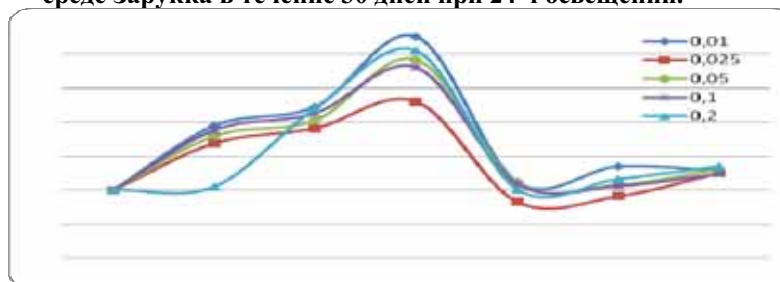


Рисунок 2 Коэффициент размножения спирулины при выращивании её в различных концентрациях на среде Зарукка в течение 30 дней при 24 ч освещении.

Хлорелла — одноклеточная зеленая водоросль, получившая широкое распространение в качестве биологически активной добавки в корма рыб, домашних животных и птиц, пищевой добавки для людей и средства для очищения водоемов. Уникальность хлореллы заключается в том, что по содержанию витаминов хлорелла превосходит все растительные корма и культуры сельскохозяйственного производства.

Однако не все штаммы хлореллы имеют одинаковую ростовую активность и производительность. Зачастую для каждого штамма необходима отдельная обработка режимов культивирования. Минеральный состав питательной среды и барботация (продувка воздухом) является одним из существенных факторов повышения интенсивности ростовых процессов культур водорослей.

Нами было выделено несколько штаммов *Chlorella Sp* из различных биотопов Алматинской области. Для опытов был выбран штамм ГИ, который культивировали на средах Тамия, ЧУ-10, Еленкина и Фитцджеральда при барботации и без нее в течение 30 суток в люминистате (температура 23-25 °С и освещенность 2000 лк). Темпы роста определялись ежедневно фотоколориметрическим методом (длина волны 590 нм). Концентрацию клеток определяли по калибровочной кривой (рисунок 3).

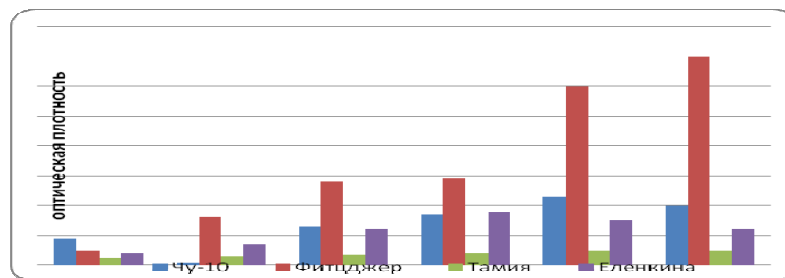


Рисунок 3. Динамика изменения плотности суспензии *Chlorella sp.* штамма Т-4 на различных питательных средах

Полученные данные показали, что рост концентрации клеток хлореллы по мере увеличения срока культивирования на указанных средах, проходил с различной скоростью. На среде Тамия наибольшая концентрация клеток, равная 1×10^7 клеток/мл, достигался при непрерывном культивировании в течение 25 суток. Несколько большая плотность клеток получена при такой же продолжительности культивирования на среде ЧУ-10, что составило $3,4 \times 10^7$ клеток/мл. Культивирование на среде Фитцджеральда дало ускоренное нарастание концентрации клеток хлореллы. Так, на 15-ые сутки культивирования в этом варианте опыта было определено $5,9 \times 10^7$ клеток/мл. При последующем увеличении сроков культивирования на этой среде до 20 суток концентрация клеток практически не менялась, что могло свидетельствовать о выходе кривой роста на «плато». Однако при последующем культивировании до 25 суток концентрация клеток вновь увеличилась в 2,5 раза, достигнув величины $14,7 \times 10^7$ клеток/мл. На 30-ые сутки рост хлореллы на среде Фитцджеральда не прекращался. В результате проведенного опыта выяснено, что наиболее оптимальной средой для культивирования оказалась среда Фитцджеральда.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ результатов опытов с барботацией показал, что продувка воздухом оказала положительное влияние на рост хлореллы. Максимальная интенсивность роста в этих условиях наблюдалась на 20-ые сутки культивирования. Интенсивность роста хлореллы при барботации превышает рост без барботации примерно на 20-ый день опыта, где концентрация клеток достигает показателя $33,3 \times 10^7$ клеток/мл. Оптимальным сроком выращивания хлореллы при барботации является три недели, то есть 20-21 день. Таким образом, установлено, что для культивирования штамма ГИ *Chlorella sp.* Оптимальной средой оказалась среда Фитцджеральда, а барботация воздухом повышала рост водоросли.

Нами был определен аминокислотный состав штамма Т-4 *Chlorella sp.* Штамм выращивали на среде Фитцджеральда при барботации воздухом. Результаты определения аминокислотного состава представлены в таблице 1.

Таблица 1

Аминокислотный состав штамма Т-4 *Chlorella sp.*

DL-альфа-аланин	γ-амино-уксусная кислота
DL-серин	DL-β-фенил-α-аланин
L-изолейцин	DL-аспаргиновая кислота
L-аспарагин	DL-орнитин
Изатин	DL-треонин
DL-норвалин	DL-лизин солянокислый
DL-лейцин	DL-валин
L-гистидин солянокислый	DL-β-аланин

Как видно из таблицы, помимо общего спектра аминокислот, суспензия хлореллы содержит большинство незаменимых аминокислот. Это делает хлореллу уникальной белковой основой для приготовления кормов для рыб.

ЛИТЕРАТУРА

1. Beijerinck M.W. Cultuurversuche mit Zoochlorella, Lichenengonidien und anderen niederen Algen // Bot. Zeit., 48, 47, Idem in: Verzamelde Geschriften van M.W. Beijerinck, 1921, № 2.
2. Богданов Н.И. Способ культивирования микроводорослей на основе штамма «*Chlorella vulgaris* ИФР № С-111»: пат. Рос. Федерация № 2176667 / Н.И. Богданов, М.В. Куницын ; Бюл. № 34. – 2001.
3. Акзамов А. Продуктивность микроводорослей, выращенных в различных условиях перемешивания без продувания углекислым газом // Физиолого-биохимические аспекты культивирования водорослей и высших водных растений в Узбекистане. Ташкент: Фан Уз ССР, 1976. – С. 92-93.
4. Beijerinck M.W. Cultuurversuche mit Zoochlorella, Lichenengonidien und anderen niederen Algen // Bot. Zeit., 48, 47, Idem in: Verzamelde Geschriften van M.W. Beijerinck, 1921, № 2.
5. Богданов Н.И. Способ культивирования микроводорослей на основе штамма «*Chlorella vulgaris* ИФР № С-111»: пат. Рос. Федерация № 2176667 / Н.И. Богданов, М.В. Куницын ; Бюл. № 34. – 2001.
6. Акзамов А. Продуктивность микроводорослей, выращенных в различных условиях перемешивания без продувания углекислым газом // Физиолого-биохимические аспекты культивирования водорослей и высших водных растений в Узбекистане. Ташкент: Фан Уз ССР, 1976. – С. 92-93.
7. Андреева В.М. Род CLORELLA. Морфология, систематика, принципы классификации / В.М. Андреева – Л.: Изд-во «Наука», Ленингр. отд., 1975. – 110 с.

8. Музафаров А.М. Культивирование и применение микроводорослей / А.М. Музафаров, Т.Т. Таубаев. – Ташкент: Фан УзССР, 1984. – 136 с.
9. Левич А.П. Теоретическая и экспериментальная экология планктонных водорослей. Управление структурой и функциями сообществ / А.П. Левич, В.Н. Максимов, Н.Г. Булгаков // Учебное пособие. – М.: Изд-во НИЛ. 1997. – 184 с.

Жұмыстар ша көк-жасыл және жасыл балдырдың үдерісінің оптимизации өсуінің спирулины және хлореллы мысалында суретте. Хлорелла бар штамма асырал үшін үйлесімді айнала, қарамастан және тордың үйлесімді шоғырлануы және асырал-ұзақтығының үшін спирулина тап. Да тәжірибелі жолмен мәдениеттің өсімі түпкіліктімен барботаже кислородпен дәлелде. Ша бар әдістемелерге тағайынды хлорелла аминокислот құрамы және таза ақтың саны ара спирулина болды. Барлық деректерлер кестенің пішінінде өңде және ұсын болды.

Described work on optimizing of breeding processes of blue-green and green water-plants on the example of spirulina and хлореллы. An optimal environment for growing of present stamm of хлореллы, and optimal concentration of cages and duration of growing is found for spirulina. The increase of culture is also well-proven the experienced way at the permanent bubbling by oxygen. On present methodologies amino acid composition of хлореллы and amount of clean albumen was certain in spirulina. All data were treated and presented in a table form.

УДК 65.012:504.06 (262.81)

Э. Мамедов

О МЕРОПРИЯТИЯХ РАБОЧИХ ГРУПП ПРОЕКТА КАСПЭКО, НАПРАВЛЕННЫХ НА ВОССТАНОВЛЕНИЕ ИСТОЩЕННЫХ РЫБНЫХ РЕСУРСОВ КАСПИЙСКОГО МОРЯ

Проект ГЭФ-ПРООН КАСПЭКО, elchin_mamedov@caspeco.org

В статье рассматриваются технические мероприятия рабочих групп, состоящих из экспертов всех Прикаспийских стран проекта ПРООН-ГЭФ КАСПЭКО, направленных на восстановление истощенных рыбных ресурсов Каспийского моря на основе экосистемного подхода по управлению водными биоресурсами и укреплению природоохранной структуры моря. Проект поддерживает усилия Прикаспийских стран по сдерживанию тенденции снижения биоресурсов и восстановлению подорванных запасов рыб Каспийского моря. Представлены основные результаты рабочих групп КАСПЭКО по управлению биоресурсами на основе экосистемного подхода (УБЭП), инвентаризации нерестилищ рыб и рыбоходным сооружениям.

Каспийское море, являясь уникальным водоемом планеты, поддерживает одну из наиболее важнейших экосистем и обладает ценнейшими биоресурсами глобального значения. Современное состояние экосистемы моря сложилось под воздействием многочисленных природных (колебания уровня моря, изменения климата, сейсмической активности) и антропогенных (загрязнение, нелегальный промысел, сверхэксплуатация рыбных ресурсов, вселение чужеродных видов) факторов [Панин и др., 2005; TDA, 2007; Мамедов, 2009]. По данным спутникового мониторинга, отмечается ежегодное увеличение температуры поверхности моря, достигающее 0,3 °C/год и повышение уровня моря со средней скоростью 7,5 см/год [Костяной и Зонн, 2007]. Более того, подводными исследованиями (Камакин и др., 2008) выявлено заиливание грунтов на значительных площадях дна Каспийского моря, вызванное осаждением продуктов метаболизма *Mnemiopsis leidyi*, а также отмиранием самих организмов в больших количествах. Все это не может не отразиться на функционировании экстрасенсорной фауны замкнутого внутреннего водоема. В сложившихся обстоятельствах экосистемный подход, постепенно завоевывающий мировое признание, является приоритетным методом управления водными биоресурсами Каспийского моря и обеспечения благополучия морской экосистемы. При этом также особо отмечается, что при экосистемном подходе экономическая и социальная устойчивость прибрежных сообществ во многом зависит от устойчивости экологической [Ward et al., 2002; Royal Society, 2003].

Следует особо отметить, что за последние три десятилетия осетровые, кильки и другие коммерческие виды рыб Каспийского моря претерпели драматические снижения в запасах. Несмотря на их важность для экономики и продовольственной безопасности региона, промысел почти всех проходных рыб в Каспийском море существенно подорван. За последние столетие уловы осетровых снизились на 95 % (в 65 раз) с 39 тыс. тонн в начале XX века до 0,6 тыс. тонн в 2010 г [по сообщению Ходоревской, 2010].

Наиболее ярким примером воздействия чужеродных видов для Каспия является сокращение промысловых запасов каспийских килек и соответственно приостановка промысла вследствие проникновения из Азово-Черноморского бассейна в экосистему моря гребневика *Mnemiopsis leidyi*. В течение короткого промежутка времени произошло серьезное истощение промысловых запасов каспийских килек с 430 тыс. т. в 2000 г. до 135 тыс. т. в 2004 г. [Mamedov and Daskalov, 2007].

В настоящее время все 6 видов осетровых рыб рассматриваются как виды, находящиеся на грани исчезновения, и занесены в Красную Книгу IUCN/МСОП. Более того, по оценкам МСОП (2010/IUCN), 85 % осетровых планеты находятся под угрозой исчезновения, что делает их наиболее уязвимой группой животных в Красном списке МСОП. Усилия прикаспийских стран, направленные на приостановление снижения запасов этих рыб путем осуществления программы по восстановлению и увеличению численности рыб, включающие выпуск более 100 млн. экз. молоди осетровых, к сожалению, имели ограниченное влияние. Даже каспийский лосось, ранее вылавливаемый в промысловых количествах, в настоящее время едва выживает и как малочисленный вид занесен в Красные книги Азербайджанской Республики и Республики Казахстана. По оценкам специалистов, убытки рыболовству Каспийского моря составляют от 2 до 7 млрд. долларов США в год [TDA, 2007], вызывая существенные экономические затруднения для местных сообществ прибрежных районов.