

На правах рукописи



Текебаева Жанар Борамбаевна

**Экологические аспекты биомониторинга и биоремедиации
водных экосистем Северного Казахстана с использованием
автохтонных микроорганизмов**

1.5.15. Экология (биологические науки)

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Оренбург - 2026

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Нижевартовский государственный университет».

Научный руководитель: доктор биологических наук, профессор
Кулагин Андрей Алексеевич

Официальные оппоненты: **Розенберг Геннадий Самуилович,**
доктор биологических наук, профессор, член-корреспондент РАН, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт экологии Волжского бассейна Российской академии наук (ИЭВБ РАН) - филиал Федерального государственного бюджетного учреждения науки Самарского Федерального исследовательского центра Российской академии наук, лаборатория исследования экосистем, руководитель научного направления;

Сизенцов Алексей Николаевич,
кандидат биологических наук, доцент, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Оренбургский государственный университет им. В.А. Бондаренко», кафедра биохимии и микробиологии, доцент.

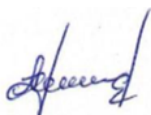
Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский биотехнологический университет» (РОСБИОТЕХ)».

Защита состоится «18» июня 2026 года в 10 часов 00 минут на заседании диссертационного совета 24.2.352.05 на базе федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Оренбургский государственный университет имени В.А. Бондаренко» по адресу: 460018, г. Оренбург, пр. Победы, д.13, аудитория 170215.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Оренбургский государственный университет имени В.А. Бондаренко» по адресу: 460018, г. Оренбург, пр. Победы, д.13 и на сайте <http://www.osu.ru/doc/5595/asp/261>

Автореферат разослан «_____» _____ 2026 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета



Аринжанов Азамат Ерсайнович

1 ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Проблема обеспечения чистой водой, как одного из ключевых факторов экологической безопасности продолжает оставаться актуальной во всем мире, в том числе в России и Казахстане, в связи с возрастающим дефицитом водных ресурсов и увеличивающимся загрязнением водных экосистем (Александрова В.В., 2013; Макарова Е.И. и др., 2019; Камиллов Б.Г. и Юлдашев М.А., 2020; Примак Е.А. и др., 2020; Дуктов А.П. и Лавушев В.И., 2022).

Природные микроорганизмы играют ведущую роль в самоочищении и биологическом равновесии водных экосистем, участвуя в трансформации органических веществ, утилизации биогенов и защите гидробионтов от патогенной микрофлоры, обеспечивая высокие производственные показатели и качество среды обитания (Jahangiri L., Esteban M.A., 2018; Kube M. et al., 2018; Стрелков А.К. и др., 2022; Haripriya U. et al., 2022; Touliabah H.E-S. et al., 2022). Зачастую более информативными критериями оценки экологического состояния водоемов являются не свойства гидрохимического режима (Козлов А.В. и др. 2019), а гидробиологические показатели (Батурина М.А. и др., 2018; Имант Е.Н. и др., 2018). Понимание структуры и функциональной роли микробных и альгологических сообществ отражает текущее состояние экосистем и служит основой для разработки экологически обоснованных методов их восстановления.

Благодаря высоким адаптивным свойствам бактерий и микроводорослей, способным эффективно использовать широкий спектр органических субстратов, участвуя в процессах биоаккумуляции и минерализации различных поллютантов, они имеют практическую ценность в реабилитации загрязненных водных экосистем (Абдельхаким М.М. и др., 2005; Карпенюк Т.А. и др., 2006; Баженов В.И. и др., 2009; Usharani K. et al., 2017; Михеева Т.М., 2018; Bogdanova A.A., Flerova E.A., 2018; Торопов А.Ю. и др., 2020).

В последние годы аквакультура стала одной из наиболее динамично развивающихся отраслей пищевого производства, способной решать проблемы здорового питания и продовольственной безопасности (Пономарев С.В. и др., 2017, Doan H.V. et al., 2021). Для поддержания стабильного физиологического состояния и повышения устойчивости гидробионтов весьма эффективно применяются пробиотические препараты (Ларионов С.В., 2018, Ringo E., 2020; Мирошникова Е.П. и др., 2022). Их использование доказало высокую эффективность в профилактике бактериальных заболеваний рыб и предотвращения загрязнения воды (Özcan D., 2017, Kaktcham P.M. et al., 2018, Ильяшенко А.Н., 2022).

Степень разработанности темы. Вопросы биоремедиации водных экосистем с использованием микроорганизмов широко отражены в трудах как зарубежных, так и отечественных ученых. Эффективность применения бактерий и микроводорослей для очистки водоемов от различных загрязнителей показана в работах Castillo-Carvajal L.C., Usharani K., Sondergaard M., Музафарова А.М., Таубаева Т.Т., Сверчковой Н.В., Сопруновой О.Б., Ключановой М.А., Жуковой О.В., Заядан Б.К., Жубановой А.А. и др. Использование пробиотических микроорганизмов в аквакультуре для профилактики заболеваний гидробионтов рассмотрено в исследованиях Zhang W., Doan H.V., Mohammad M.R., Ноздрина Г.А., Ткачевой И.В., Скурат Э.К., Мирошниковой Е.П., Чижаевой А.В., Дудиковой Г.Н. и др. Недостаточная изученность применения автохтонных микроорганизмов для биомониторинга и биоремедиации водных экосистем Северного Казахстана определяет значимость исследования, направленного на разработку экологически безопасных методических подходов к восстановлению качества вод с учетом региональных климатических условий.

Цель исследования - разработать и обосновать экологически безопасные методы биомониторинга и биоремедиации водных экосистем Северного Казахстана с использованием автохтонных микроорганизмов, адаптированных к региональным условиям и направленных на повышение качества воды и безопасность аквакультуры.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

1. Провести комплексную оценку экологического состояния водных экосистем Северного Казахстана на основе анализа гидрохимических показателей и индикаторных характеристик фитопланктона.
2. Исследовать эффективность биопрепарата на основе автохтонных штаммов зеленых

микроводорослей для улучшения экологического состояния водных экосистем.

3. Определить эффективность биопрепарата на основе автохтонных бактерий-деструкторов, направленный на интенсификацию процессов биоремедиации и минерализации органических соединений в загрязненных водоемах.

4. Установить эффективность пробиотических препаратов на основе молочнокислых бактерий, обеспечивающих профилактику бактериозов и повышение устойчивости гидробионтов при экологически безопасном выращивании в аквакультуре.

Научная новизна. Впервые в условиях Северного Казахстана проведен комплексный биомониторинг 8 ключевых водоемов с применением интегральных показателей загрязнения, включая гидробиологическую оценку по фитопланктону.

Впервые для условий исследуемого региона выделены и охарактеризованы аборигенные автохтонные микроорганизмы, положенные в основу разработки трех типов биопрепаратов, обладающие потенциалом для биоремедиации водных экосистем и оздоровления аквакультуры (патенты РК № 2984 и № 2985 от 25.06.2018 г., № 7395 от 26.08.2022 г., Евразийский патент на изобретение № 041313 от 07.10.2022 г.).

Впервые оптимизированы питательные среды, обеспечивающие получение стабильной биомассы автохтонных микроорганизмов - ключевых компонентов биопрепаратов, направленных на поддержание экологического равновесия водных экосистем (патент РК № 6907 от 09.09.2022 г., Евразийский патент № 043745 от 19.06.2023 г., патент РК № 10297 от 14.03.2025 г.).

Теоретическая значимость работы заключается в развитии понятий об экологических механизмах участия автохтонных микроорганизмов в процессах самоочищения и биологической реабилитации водных экосистем. Теоретически обоснованы закономерности влияния микроводорослей, бактерий-деструкторов и молочнокислых бактерий на качество и состав водной среды, что дополняет научные сведения о роли микробных консорциумов в стабилизации биотических связей и повышении устойчивости экосистем к различным типам загрязнения. Результаты исследования конкретизируют теоретические основы биомониторинга, дополняя современную концепцию применения автохтонных микроорганизмов в экологически безопасных технологиях биоремедиации и восстановления природных водоемов.

Практическая значимость заключается в обосновании и перспективности применения биопрепаратов дифференцированного действия, предназначенных для регулирования состояния водных экосистем, профилактики бактериальных заболеваний в аквакультуре молоди карпа (*Cyprinus carpio*) и проведении комплексного мониторинга водоемов, что имеет важное значение для сохранения и поддержания экологического баланса водных экосистем. Апробация разработанных биопрепаратов проведена в лабораторных модельных экспериментах (*in vivo* и *in vitro*), а также в полевых условиях, что подтверждает возможность их практического применения в системе природоохранных и рыбохозяйственных мероприятий.

Полученные результаты биомониторинга формируют научно-практическую основу для разработки и корректировки региональных экологических регламентов, программ мониторинга, направленных на рациональное управление и совершенствование методов оценки состояния водных ресурсов, а также принятие управленческих решений в сфере охраны окружающей среды.

Методология и методы исследования. В работе применен междисциплинарный подход с помощью классических и современных методов исследований в области экологии, биотехнологии, микробиологии и гидробиологии с использованием сертифицированного оборудования и приборов, наряду с проведением статистической обработки достаточного объема экспериментального материала при уровне значимости ($p < 0,05$ и $p < 0,01$). Интегрированный подход, основанный на сочетании полевых и лабораторных (модельных) исследований, обеспечил получение достоверных и значимых результатов.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Биомониторинг (биоиндикационный анализ) гидробиологических и гидрохимических показателей водных экосистем Северного Казахстана позволил установить корреляционную зависимость между структурой фитопланктона и классами качества воды ($r = 0,72-0,84$), что отражает степень их антропогенной нагрузки, усиление биогенной нагрузки и уровень

экологического состояния исследуемых водоемов.

2. Биопрепарат на основе автохтонных микроводорослей *Chlorella vulgaris* И2 и *Parachlorella kessleri* У1 обеспечивает эффективное снижение концентрации биогенных элементов (нитратов - до 67,7%) и тяжелых металлов (Fe - до 62,5%), что подтверждает его эффективность в биоремедиации и экологическом восстановлении водных объектов.

3. Биопрепарат на основе бактерий-деструкторов КВ-4 способствует снижению микробного загрязнения до 79% и концентрации загрязняющих веществ (Fe - до 78,4%, ХПК – до 25,6%, хлоридов – до 12,2%), что подтверждает его биоремедиативную эффективность.

4. Пробиотические препараты на основе молочнокислых бактерий КПБ3 и К4, проявляют выраженную антагонистическую активность в отношении условно-патогенной микрофлоры и устойчивостью к стрессовым факторам среды, обеспечивая профилактику бактериозов молоди карпа (*Cyprinus carpio*) и экологическую безопасность в условиях аквакультуры.

Степень достоверности и апробация работы. Положения, сформированные в научной работе, заключение и практические рекомендации согласуются с результатами собственных проведенных исследований. Основные результаты работы вынесены и обсуждены на заседании кафедры экологии ФГБОУ ВО «Нижевартовский государственный университет».

Результаты работ представлены на научно-практических конференциях: Международной научно-практической конференции «Инновация» (Ташкент, Узбекистан, 2017); Международной научно-практической конференции «Микробные биотехнологии: фундаментальные и прикладные аспекты» (Минск, Белоруссия, 2017, 2021); Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы биоразнообразия и биотехнологии» (Нур-Султан, Казахстан, 2019); Международной научно-практической конференции «Экология и природопользование: прикладные аспекты» (Уфа, Россия, 2020, 2021); Международной научно-практической конференции «Каспий и глобальные вызовы» (Астрахань, Россия, 2022).

Связь работы с научными программами. Работа выполнена при финансовой поддержке грантового и программно-целевого финансирования научных проектов Республики Казахстан: АР05131929 «Технология получения штаммов активных микроорганизмов продуцентов биопрепарата альтернативного антибиотикам для лечения и профилактики бактериозов у рыб» (2018-2020 гг.), АР08856679 «Получение препаратов на основе автохтонных штаммов молочнокислых бактерий из кишечника промысловых рыб для борьбы с инфекциями и оценка их эффективности» (2020-2022 гг.), BR18574066 «Создание биобанка биотехнологически значимых промышленных микроорганизмов для биобезопасности в области биотехнологии, экологии, сельского хозяйства» (2022-2024 гг.), а также при финансовой поддержке Фонда научно-технологического развития Югры в рамках научного проекта № 2025-604-04 (Российская Федерация).

Публикации материалов исследований. Основные результаты, выводы и рекомендации диссертационного исследования представлены в 30 научных работах, включая 3 статьи в изданиях, рекомендованных ВАК при Минобрнауки РФ, 4 статьи в изданиях, индексируемых в международных базах данных Scopus / Web of Science, монографию, методические рекомендации, 5 патентов РК и 2 Евразийских патента.

Реализация результатов исследований. Результаты исследований внедрены в образовательный процесс АО «Евразийский национальный университет им. Л.Н. Гумилева» (Астана, Республика Казахстан) при реализации курса по направлению подготовки 8D05208 «Экология и природопользование» в виде методических рекомендаций (2024 г.), что подтверждено актом внедрения. Практическое применение разработанных подходов подтверждено актом внедрения ТОО «Ryboripitomnik Maubalyk» (Астана, Республика Казахстан, 2021).

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 201 страницах компьютерной верстки, состоит из введения, обзора литературы, главы с описанием материалов и методов исследований, главы результатов исследований и их обсуждения, заключения, практических рекомендаций и перспектив дальнейшей разработки. Содержит 16 таблиц, 28 рисунков, 20 приложений. Список использованной литературы включает 248 источников, в том числе 82 зарубежных авторов.

2 ОБЪЕКТЫ, МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Объектами исследований являлись водоемы Акмолинской и Павлодарской областей, культуры зеленых микроводорослей, автохтонные штаммы бактерий, молочнокислые бактерии (МКБ), тест-штаммы, молодь карповых рыб.

Лабораторные эксперименты проводились на базе ТОО «Национальный центр биотехнологии», ТОО «Республиканская коллекция микроорганизмов» (Астана) и ФГБОУ ВО «Нижевартовский государственный университет» в период с 2017 по 2024 г.

Исследования проведены на 8 водных объектах Северного Казахстана, относящихся к 3 водохозяйственным бассейнам в соответствии с Водным кодексом РК: Ишимский - реки Есиль, Акбулак, Астанинское (Вячеславское) водохранилище, озера Майбалык и Большой Талдыколь (Акмолинская область), Нура-Сарыуский - канал Нура-Есиль (Акмолинская область) и Иртышский - реки Иртыш и Усолка (Павлодарская область) (рисунок 1).

Выбор изучаемых водоемов обусловлен их хозяйственно-бытовой, рыбохозяйственной, рекреационной значимостью и антропогенной нагрузкой, требующей регулярной экологической оценки. Регион исследования расположен в Северном Казахстане и относится к аридной зоне с резко континентальным климатом и значительными сезонными колебаниями водного режима.

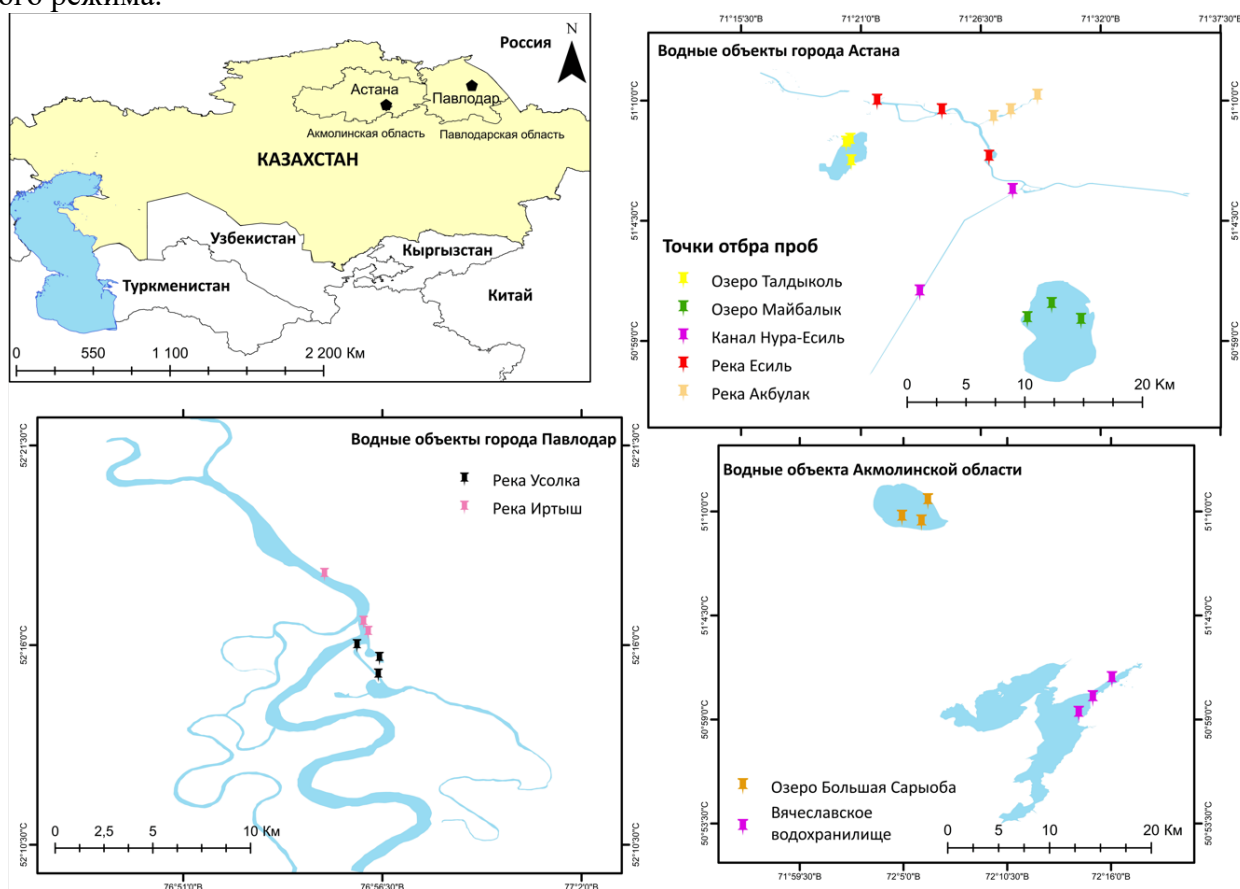


Рисунок 1 - Схема расположения исследуемых водоемов Акмолинской области и Павлодарской области

Мониторинг качества воды 6 водоемов проведен на основе анализа данных РГП «Казгидромет» за 2015-2024 гг., 2 водоема (озера Майбалык и Большой Талдыколь) на момент сбора информации не входили в перечень исследуемых объектов. Гидрохимический анализ проводили на базе аналитической лаборатории «Астана Су Арнасы» (Астана), а также с помощью портативного колориметра DR 900 (Hach, Германия) согласно инструкции производителя.

Биоиндикационные исследования (по фитопланктону) проводились в соответствии с общепринятыми методами в альгологии (Баринаова, 1996; Гайсина и др., 2008; Заядан, 2008; Темралеева и др., 2014; Деревенская, 2015; www.algaebase.org) с определением видового состава и индикаторов сапробности.

Микробиологические исследования включали выделение автохтонных штаммов бактерий и микроводорослей, изучение их фенотипических признаков согласно методам, принятым в микробиологии и альгологии (Нетрусов и др., 2009; Лысак и др., 2015; Гайсина и др., 2008; Заядан, 2008; Темралеева и др., 2014; Мелькумов, 2015; Лавренчук, Ермошин, 2019).

Для идентификации культур микроорганизмов использованы молекулярно-генетические и масс-спектрометрические методы (Tamura, 2011; Schulthess et al., 2014; El-Sheekh et al., 2020).

Биоаккумуляционную способность микроводорослей *Chlorella vulgaris* И2 и *Parachlorella kessleri* У1, а также их устойчивость к ионам тяжелых металлов изучали по собственным модифицированным методикам, основанным на оценке изменения роста и физиологического состояния культур при воздействии различных концентраций ионов металлов.

Оценку токсичности водных проб проводили на основе биотестирования с использованием *Daphnia magna* и штаммов микроводорослей (РД 52.24.868, 2017).

Оптимизацию условий поверхностного и глубинного культивирования бактерий и микроводорослей проводили согласно собственным методическим подходам, направленным на подбор параметров, обеспечивающих максимальный прирост биомассы культур (температура, аэрация, рН и состав питательных сред, уровень кислорода и освещенности).

Пробиотические свойства МКБ изучали согласно методикам, описанным Kos et al. (2003), Buntin et al. (2008), Lim (2009), с определением антагонистической активности, устойчивости к солям желчных кислот и различным параметрам температуры.

Эффективность применения разработанных биопрепаратов оценивали на экспериментах при модельных бактериозах у молоди карпа по приросту и выживаемости, согласно собственным методическим подходам. Биометрические показатели вычисляли согласно известным в ихтиопатологии методам (Гаврилин, 2006; Методы изучения..., 2019). Заражение производили методом *per os* (Dahia et al., 2012). Пробиотические препараты в концентрации $1,0 \times 10^7$ КОЕ/мл добавляли в качестве добавки к основному корму.

Статистическая обработка экспериментальных данных выполнялась с использованием программ «Statistica 6.0», Microsoft Excel-2003, GraphPad Prism 10.4.1 (2023). Результаты представлены в виде среднего значения и стандартного отклонения ($M \pm SD$) при трехкратной повторности опытов. Достоверность различий оценивали с применением t-критерия Стьюдента при уровнях значимости $p < 0,05$ и $p < 0,01$ (в таблицах обозначены как * $p < 0,05$ и ** $p < 0,01$) (Штернис, 2020). Филогенетический анализ проведен с помощью программы MEGA5.

3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Биомониторинг экологического состояния водных экосистем Северного Казахстана на основе гидрохимических и биоиндикационных показателей

Оценка данных многолетних мониторинговых наблюдений, выполненная на основе годовых информационных бюллетеней РГП «Казгидромет» за 2015-2024 годы, позволила выявить случаи высокого загрязнения (ВЗ) и экстремально высокого загрязнения (ЭЗВ) по ряду гидрохимических показателей в шести исследуемых водоемах: реках Есиль, Акбулак, Иртыш, Усолка, Астанинском водохранилище и канале Нура-Есиль (рисунок 2).

Анализ динамики случаев загрязнения водных объектов показал выраженные колебания частоты случаев ВЗ и ЭЗВ. В 2019 г. зафиксирован пик ВЗ (75 случаев), а в 2023-2024 гг. - повторное увеличение интенсивности загрязнения (26 и 12 случаев соответственно). Полученные данные свидетельствуют о неравномерной пространственно-временной динамике антропогенной нагрузки на реки Есиль, Акбулак, канал Нура-Есиль (Акмолинская область).

Основными загрязняющими веществами являлись ионы солевого состава (Mg^{2+} , Cl^- , Ca^{2+} , SO_4^{2-}), биогенные и органические соединения (NH_4^+ , NO_2^- , ХПК, БПК₅, фосфор общий, железо общее, фосфаты), тяжелые металлы (ТМ) - Mn, Cd, Ni, Pb, а также фенолы и взвешенные вещества.

Исследуемые водные объекты относятся к II классу - «чистые» (реки Иртыш, Усолка), III - «умеренно-загрязненные» (Астанинское водохранилище), IV - «загрязненные» (река Есиль, канал Нура-Есиль) и V - «очень грязные» (река Акбулак) классам качества воды.



Рисунок 2 - Динамика случаев ВЗ и ЭЗВ в исследуемых водоемах за 2015-2024 гг.

Оценка экологического состояния водоемов по *гидробиологическим показателям* (по фитопланктону) позволила определить систематический и таксономический состав альгофлоры восьми исследуемых водоемов Северного Казахстана (рисунок 3).

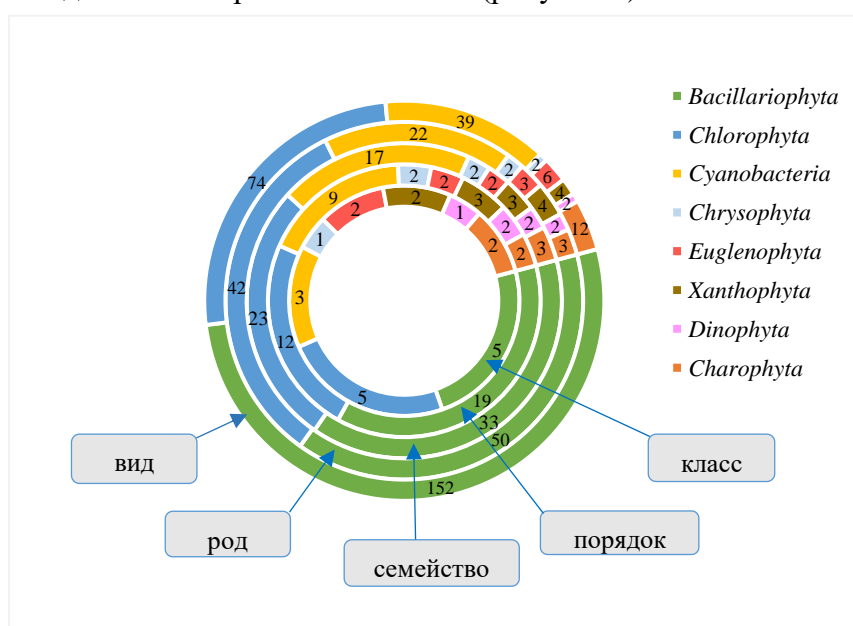


Рисунок 3 - Таксономический анализ фитопланктонных сообществ водоемов Акмолинской и Павлодарской областей Республики Казахстан

В исследуемых водоемах выявлен 291 вид и внутривидовых таксонов (ВВТ) микроводорослей и цианопрокариот, относящихся к 128 родам, 85 семействам, 51 порядку, 21 классу и 8 отделам. Значительную роль в формировании автотрофного фитопланктона составили диатомовые водоросли (*Bacillariophyta*) - 152 вида и ВВТ (52,2%), зеленые водоросли (*Chlorophyta*) - 74 вида и ВВТ (25,4%), цианобактерии - 39 видов и ВВТ (13,4%), что отражает значение этих отделов в формировании фитопланктона водоемов региона. Остальные отделы представлены небольшим количеством видов: харофитовые - 12 видов (4,1%), эвгленовые - 6 видов (2,1%), желто-зеленые - 4 вида (1,4%), динофитовые - 2 вида (0,7%), золотистые - 2 вида (0,7%).

Видовое разнообразие альгофлоры варьировало по водоемам: 179 видов (река Есиль), 140 видов (река Акбулак), 100 видов (река Иртыш), 105 видов (канал Нура-Есиль), 97 видов (озеро Майбалык), 81 вид (река Усолка), 80 видов (озеро Большой Талдыколь) и 63 вида микроводорослей (Астанинское водохранилище).

Сформирован список водорослей-индикаторов исследуемых водоемов, включающий 194 вида (66,7% от общего состава альгофлоры), на основе которого проведены сапробиологический анализ (рисунок 4) и оценка качества воды по видовому составу и эколого-географическим характеристикам фитопланктона.

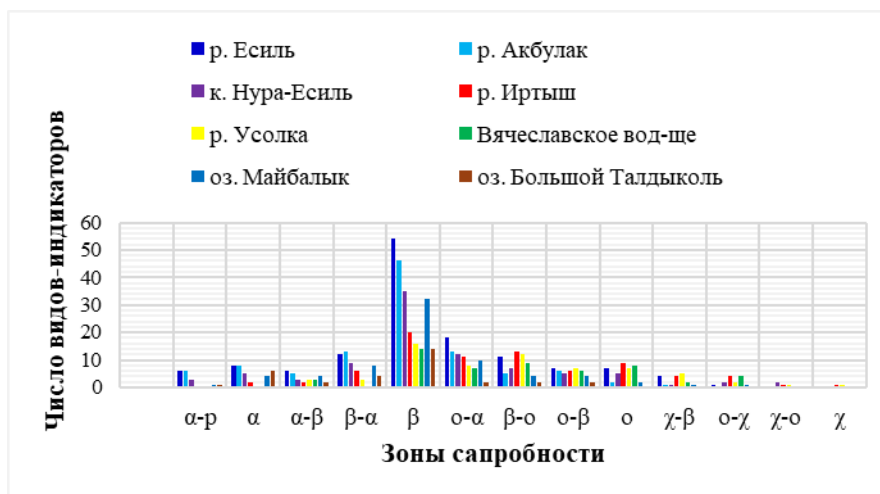


Рисунок 4 - Распределение 194 видов-индикаторов микроводорослей по зонам сапробности

Расчет средней сапробности биоценоза по индексу Пантле-Букка в модификации Сладечека показал, что для рек Иртыш и Усолка значения индекса составили 1,51-1,58 при доле о-сапробионтов 24,7% (87 видов-индикаторов), что соответствует II классу качества - «достаточно-чистые» воды. Для рек Есиль, канала Нура-Есиль, озера Майбалык, Астанинского водохранилища индекс сапробности составил 2,14-2,52 при доле β-сапробионтов 56,2% (171 вид-индикатора), что позволяет отнести их к III классу - «умеренно загрязненные» воды. В озере Большой Талдыколь и реке Акбулак индекс сапробности составил 2,60-2,65 при доле α-мезасапробионтов 20,1% (105 вид-индикатора), что соответствует IV классу - «загрязненные» воды и характеризует эвтрофный характер данных экосистем.

Эколого-географический анализ альгофлоры выявил доминирование планктонных (29,9%) и бентосных (22,2%) форм, отражающих устойчивое развитие водных экосистем, космополитных видов (68%), свидетельствующих о широком диапазоне адаптации. Большая часть видов оказалась индифферентной к солености (50,5%) и представлена алкалифильными и алкабионтными формами при умеренной щелочности рН среды (30,4%). Значительная доля β-мезосапробионтов указывает на умеренное органическое загрязнение и наличие потенциала водных экосистем к восстановлению при использовании биоремедиационных технологий.

Изучение состояния альгофлоры водоемов, проведенное в разные годы в летний период, позволило охарактеризовать их таксономическое и систематическое разнообразие, выявить приоритетные загрязнители. Установлено, что гидробиологические показатели (по структуре фитопланктона) достоверно коррелируют с гидрохимическими параметрами ($r=0,72-0,84$), что подтверждает комплексность оценки степени загрязнения и экологического состояния водоемов от «чистых» до «загрязненных».

3.2 Разработка и оценка эффективности биопрепарата на основе автохтонных штаммов микроводорослей для биоремедиации водных экосистем

Методом многократных пересевов из 11 накопительных культур получены 5 бактериально чистых штаммов зеленых микроводорослей, идентифицированных по 18S рДНК со 100% идентичностью как: *Parachlorella kessleri* У1, *Chlorella vulgaris* И2, *Parachlorella kessleri* Е2, *Chlorella sorokiniana* А3, *Parachlorella kessleri* СВ-5. Изучение оптимальных условий поверхностного культивирования показало максимальную динамику роста клеток у всех штаммов при использовании питательных сред LCH, Тамия и 04 (при рН=6,5-7,0, 25-30°C, 2000-4000 лк). При глубинном культивировании в лабораторном фотобиореакторе наибольшая масса штаммов *Chlorella vulgaris* И2 и *Parachlorella kessleri* У1 достигала на 5-е сутки (в фазу логарифмического роста).

Оценка токсичности с использованием *Daphnia magna* показала отсутствие токсического и ингибирующего воздействия штаммов микроводорослей *Ch. vulgaris* И2 и *P. kessleri* У1 на гидробионты, что подтверждает их экологическую безопасность для применения в аквакультуре и биоремедиации водоемов. Установлена высокая толерантность штаммов к

ионам ТМ, присутствующим и характерным для исследуемых водоемов Северного Казахстана (2018 г.): CuSO_4 (5-10 мг/л), ZnSO_4 (10 мг/л), $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ (25 мг/л) и MnCl_2 (10 мг/л), что свидетельствует об их выраженном адаптивном потенциале и их способности функционировать в условиях антропогенного загрязнения среды (рисунок 5).

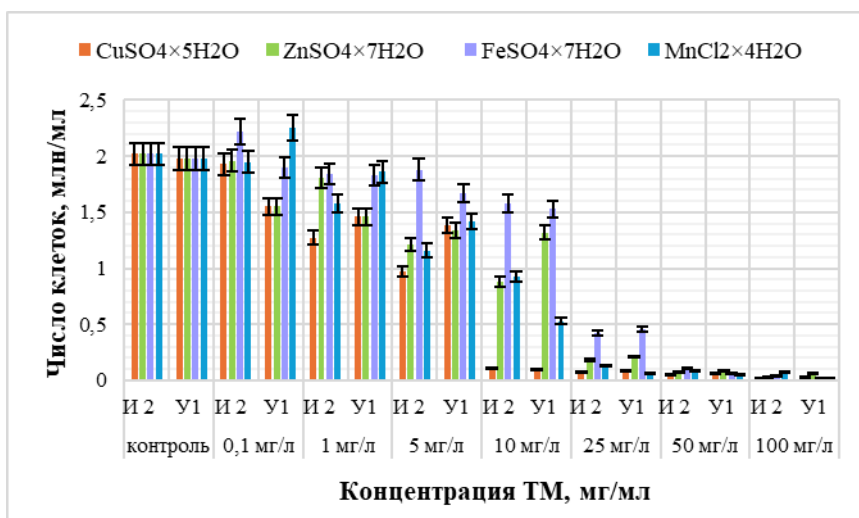


Рисунок 5 - Влияние различных концентраций ионов ТМ на рост микроводорослей *Chlorella vulgaris* И2 и *Parachlorella kessleri* У1

Полученные результаты легли в основу технологии разработки биопрепарата на основе штаммов зеленых микроводорослей рода *Chlorella*, направленного на улучшение экологического состояния водных экосистем (рисунок 6).



Рисунок 6 - Технологические этапы получения биомассы биопрепарата на основе зеленых микроводорослей в лабораторных условиях

Целесообразность применения питательной среды LCH собственной модификации (патент РК на полезную модель № 6907 от 09.09.2022 г. и Евразийский патент на изобретение № 043745 от 19.06.2023 г.) в сравнении с классическими средами, обеспечила получение продуктивной и стабильной биомассы микроводорослей в лабораторных условиях.

В модельных экспериментах 2019-2021 гг. на природной воде рек Иртыш, Усолка, Есиль, Акбулак и канала Нура-Есиль внесение биомассы зеленых микроводорослей в течение 14 суток обеспечило снижение приоритетных загрязняющих веществ. Штамм *Chlorella vulgaris* И2 проявил более выраженную ассимиляционную активность в отношении биогенных элементов (NH_4^+ , NO_3^- , NO_2^-) и главных ионов (SO_4^{2-} , Mg^{2+}), тогда как штамм *Parachlorella kessleri* У1 - аккумулирующую способность к ионам тяжелых металлов (Fe^{3+} , Zn^{2+} , Mn^{2+}), что подтверждает их эффективность в процессах биоремедиации водных экосистем.

Эффективность биопрепарата на основе ассоциации микроводорослей *Chlorella vulgaris* И2 и *Parachlorella kessleri* У1 (далее И2+У1) оценивали при его применении в водной среде озера Майбалык в июне 2021 г. (однократное внесение). Гидрохимические и микробиологические параметры определяли на исходном этапе и через 30 суток после применения микроводорослей (таблица 1).

Таблица 1 - Гидрохимический и микробиологический анализы проб воды озера Майбалык

| Гидрохимический анализ | | | | | |
|---------------------------|-------------------------|-------------------------|------------------------------|--------------------|--------------------------|
| № п/п | Наименование показателя | ПДК, мг/дм ³ | Значения показателей, мг/л | | Эффективность очистки, % |
| | | | исходные | конечные | |
| 1 | рН | 6,5-8,5 | 8,1±0,08 | 7,96±0,09 | 1,7 |
| 2 | БПК ₅ | 3,0 | 2,8±0,12 | 1,5±0,06* | 46,4 |
| 3 | ХПК | 30,0 | 50,0±0,14 | 35,0±0,22** | 30,0 |
| 4 | Взвешенные вещества | 0,25 | 30,6±0,18 | 18,0±0,11** | 41,2 |
| 5 | Хлориды | 300 | 1030,0±0,25 | 1018,0±0,18** | 1,2 |
| 6 | Фосфат-ионы | 0,15 | 0,16±0,008 | 0,14±0,006* | 12,5 |
| 7 | Азот аммонийный | 0,5 | 0,9±0,03 | 1,44±0,07* | 0 |
| 8 | Нитриты | 0,08 | 0,013±0,001 | 0,018±0,002 | 0 |
| 9 | Нитраты | 40,0 | 24,8±0,19 | 8,0±0,25* | 67,7 |
| 10 | Железо общее | 0,1 | 0,40±0,05 | 0,15±0,007* | 62,5 |
| 11 | СПАВ | 0,1 | 0,22±0,01 | 0,15±0,006* | 31,8 |
| 12 | Сульфаты | 100 | 130,0±0,20 | 45,0±0,35** | 65,4 |
| 13 | Фториды | 0,05 | 0,38±0,01 | 0,28±0,009* | 26,3 |
| Микробиологический анализ | | | | | |
| № п/п | Группы микроорганизмов | Обозначение | Значения показателей, КОЕ/мл | | Эффективность очистки, % |
| | | | исходные | конечные | |
| 1 | Общее микробное число | ТС | 392±0,41 | 111±0,75** | 71,7 |
| 2 | Колиформные бактерии | CF | 232±0,25 | 10±0,31* | 95,7 |
| 3 | Гетеротроф. бактерии | AQ | 226±0,19 | 57±0,41** | 74,8 |
| 4 | Грибы и дрожжи | УМ | 24±0,25 | 16±0,5* | 33,3 |
| 5 | Энтеробактерии | ЕТВ | 125±0,41 | 2±0,1* | 98,4 |
| 6 | <i>Ps. aeruginosa</i> | РА | 36±0,24 | 8±0,34* | 77,8 |
| 7 | <i>B. cereus</i> | X-BC | 15±0,5 | 4±0,21 | 73,3 |
| 8 | <i>E. coli</i> | ЕС | 258±0,31 | 9±0,18* | 96,5 |
| 9 | <i>S. aureus</i> | X-SA | 56±0,25 | 50±0,25** | 10,7 |
| 10 | <i>E. faecium</i> | ЕТС | 6±0,15 | 1±0,04* | 83,3 |
| 11 | <i>S. enteritidis</i> | SL | 20±0,65 | 10±0,5* | 50,0 |

Примечание: ПДК для водоемов рыбохозяйственного значения (Инф. бюллетень РК, 2018); * - $P \leq 0,05$, ** - $P \leq 0,01$, по отношению к исходным значениям

Внесение биомассы микроводорослей через 30 суток способствовало снижению концентрации большинства загрязняющих веществ: БПК₅ - на 46,4% ($P \leq 0,05$), ХПК - на 30% ($P \leq 0,01$), нитратов - на 67,7% ($P \leq 0,05$), сульфатов - на 65,4% ($P \leq 0,01$), железа - на 62,5% ($P \leq 0,01$), 31,8% для СПАВ ($P \leq 0,05$). При этом зафиксировано повышение концентрации аммонийного азота на 37,5% и нитритов на 27,7%, что может свидетельствовать о неполной трансформации азотистых соединений, обусловленных свежим фекальным загрязнением. Микробиологический анализ подтвердил значительную степень подавления условно-патогенной и патогенной микрофлоры: снижение энтеробактерий на 98,4% ($P \leq 0,05$), кишечной палочки - на 96,5% ($P \leq 0,05$), колиформных бактерий - на 95,7% ($P \leq 0,05$), общего микробного

числа - на 71,7% ($P \leq 0,01$), псевдомонад - на 77,8% ($P \leq 0,05$) и гетеротрофных бактерий – на 74,8% ($P \leq 0,01$).

Установлено, что применение биопрепарата И2+У1 при внесении биомассы в озеро Майбалык обеспечивает эффективную биодеструкцию органических загрязнителей и снижение содержания нитратов (до 67,7%, $P \leq 0,05$), что приводит к улучшению качества водной среды. Полученные данные подтверждают перспективность использования автохтонных штаммов микроводорослей в комплексных технологиях биоремедиации и экологического восстановления пресноводных экосистем Северного Казахстана.

3.3 Разработка и оценка эффективности биопрепаратов на основе автохтонных штаммов бактерий для улучшения состояния водной среды

Из исследуемых водных объектов выделено 27 бактериальных изолятов, представленных как грамотрицательными (14 изолятов), так и грамположительными палочками (13 изолятов). По результатам идентификации методом MALDI-TOF Biotyper и анализа гена 16S rRNA установлена их родовая принадлежность: *Arthrobacter* (7 штаммов), *Bacillus* (5), *Serratia* (3), *Shewanella* (3), *Pseudomonas* (3), *Chryseobacterium* (1), *Stenotrophomonas* (1), *Enterobacter* (2), *Halomonas* (1) и *Rhodococcus* (1 штамм). На основе физиолого-биохимических свойств выявлены 9 активных штаммов, обладающих разной степенью антагонистической, фосфатрастворяющей, протеолитической, липолитической, амилолитической и нитрифицирующей активностями.

Консорциум KB-4 разработан на основе четырех наиболее активных штаммов автохтонных бактерий: *Arthrobacter nicotinovorans* БТ-2, *Serratia marcescens* БТ-4, *Pseudomonas extremorientalis* БС-4, *Chryseobacterium gleum* У1-2ж, депонированные в Биобанк РКМ. Для сравнительной оценки дополнительно сформирован консорциум КК-4 из коллекционных штаммов бактерий-деструкторов: *Pseudomonas putida* ЗГ-2В-РКМ 0652, *Bacillus subtilis* 6В-РКМ 0031, *Arthrobacter citreus* В-РКМ 0499 и *Saccharomyces cerevisiae* РКМ 0099.

Проверка биосовместимости консорциумов KB-4 и КК-4 показала отсутствие взаимного ингибирования штаммов при совместном культивировании. Оценка жизнеспособности (ЖСП) установила высокий титр клеток - $10,7 \pm 0,88 \times 10^8$ КОЕ/мл для консорциума КК-4 и $12,0 \pm 1,0 \times 10^9$ КОЕ/мл для консорциума KB-4. Подобраны оптимальные питательные среды (МПБ, МХ и ВНИ) и условия для их совместного культивирования (рН от 3 до 9, от 20 до 37°C).

Оба консорциума проявили устойчивость к ряду антибиотиков (β -лактамы, тетрациклины, макролиды, аминогликозиды, фторхинолоны, рифамицины, фузидины, линкозамиды), что свидетельствует об их адаптивном потенциале и стабильности в стрессовых условиях водной среды.

Результаты оценки антагонистической активности методом отсроченного антагонизма (таблица 2) показали, что оба консорциума эффективно подавляют рост санитарно-значимых микроорганизмов, определяющих микробиологическое состояние водной среды (*E. faecium*, *E. coli*, *S. aureus*, *S. enteritidis*, *Kl. pneumonia*). При этом консорциум KB-4 характеризуется более выраженным и широким спектром ингибирующего действия (11,0-20,0 мм, $P \leq 0,05$), достоверно превосходя консорциум КК-4.

Таблица 2 – Антагонистическая активность консорциумов

| Консорциум | <i>E. faecium</i> | <i>E. coli</i> | <i>S. aureus</i> | <i>S. enteritidis</i> | <i>Ps. taiwanensis</i> | <i>Ps. aeruginosa</i> | <i>A. punctata</i> | <i>Kl. pneumonia</i> |
|------------|-------------------|----------------|------------------|-----------------------|------------------------|-----------------------|--------------------|----------------------|
| КК 4 | 13,3±0,63 | 15,3±0,75 | 15,0±0,9 | 11,0±0,41 | н/о | н/о | н/о | 12,8±0,25 |
| KB 4 | 11,3±0,25 | 15,8±0,25* | 16,3±0,25* | 12,0±0,32* | 20,0±0 | 11,5±0,29 | 11,0±0 | 15,3±0,75* |

Примечание: Антагонистическая активность исследованных культур считается нулевой при ширине зоны отсутствия роста до 1,0 мм, низкой – при 1,1 – 4,9 мм, средней – при 5,0 – 8,9 мм, высокой при 9,0 мм и более; н/о – не обнаружено; М±SD (n=3); * - $P \leq 0,05$, различия достоверны при сравнении с консорциумом КК-4

Отработка оптимальных параметров получения микробной массы консорциумов КК-4 и KB-4 методом глубинного культивирования в лабораторном ферментере объемом 7,5 л дала возможность разработать основы технологии получения биопрепаратов (рисунок 7).



Рисунок 7 - Технологические этапы получения биомассы биопрепаратов на основе бактериальных деструкторов в лабораторных условиях

Испытание разработанных консорциумов KB-4 и KK-4, проведенное в летний период 2022 г. на модельных образцах воды озера Большой Талдыколь показало их эффективность в снижении уровня гидрохимических показателей (таблица 3). Уже через 10 суток после внесения консорциумов отмечалось снижение концентраций БПК₅ (до 34,2%, $P \leq 0,05$), ХПК (до 25,6%, $P \leq 0,05$), железа (до 78,9%, $P \leq 0,05$) и фторидов (до 73%, $P \leq 0,05$), и улучшение органолептических характеристик воды.

Таблица 3 - Гидрохимический и микробиологический анализы проб воды озера Большой Талдыколь

| Гидрохимический анализ | | | | | |
|---------------------------|-------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-------------------|-------------------|
| Наименование показателя | ПДК сточных вод, мг/л | Исходные показатели, мг/л | Конечные показатели, мг/л | | |
| | | | Контроль | KB-4 | KK-4 |
| pH | 6-9 | 8,19±0,05 | 8,2±0,06 | 8,18±0,05 | 8,12±0,05 |
| БПК ₅ | ≤ 6 | 3,8±0,12 | 3,5±0,11 | 2,5±0,12* | 3,5±0,13 |
| ХПК | ≤ 30 | 168±2,5 | 139±1,8 | 125±2* | 126,8±2,2 |
| Взвешенные вещества | 300 | 58,1±0,9 | 48,6±0,8 | 43,4±0,7* | 52,4±0,09** |
| Хлориды | ≤ 350 | 2450±25 | 2104±22 | 2152±23 | 2196±24 |
| Фосфаты | ≤ 3,5 | 0,35±0,02 | 0,38±0,02 | 0,38±0,02 | 0,60±0,03* |
| Азот аммонийный | ≤ 2 | 1,87±0,08 | 2,10±0,09* | 1,87±0,08* | 1,72±0,07* |
| Нитриты | ≤ 3,3 | 0,61±0,03 | 0,55±0,03 | 0,58±0,03 | 0,80±0,04* |
| Нитраты | ≤ 45 | 1,53±0,06 | 0,87±0,05 | 1,30±0,06 | 1,65±0,07* |
| Железо | ≤ 0,3 | 3,79±0,12 | 0,69±0,04 | 0,80±0,04* | 0,82±0,04* |
| СПАВ | ≤ 0,5 | 0,42±0,02 | 0,33±0,02 | 0,19±0,01* | 0,57±0,03 |
| Сульфаты | 500 | 180±3 | 157±2* | 156±2 | 178±3 |
| Фториды | ≤ 1,2 | 1,41±0,05 | 1,38±0,04* | 0,38±0,02* | 1,36±0,03* |
| Микробиологический анализ | | | | | |
| Группы микроорганизмов | Сокращенное обозначение | Исходные показатели, КОЕ/мл | Конечные показатели, КОЕ/мл | | |
| | | | Контроль | KB-4 | KK-4 |
| Общее микробное число | ТС | 423±20,05 | 484,7±16,6* | 316±15,4* | 378±12,55* |
| Колиформные бактерии | CF | 116±4,58 | 123±15,13 | 35±0,3** | 57±2,8* |
| Гетеротрофы | AQ | 367,7±22,5 | 370,3±30,01 | 298±7,5* | 322±19,23 |
| Грибы и дрожжи | YM | 8,3±3,06 | 6,3±2,08 | 2±0,02** | 4±1,0 |
| Энтеробактерии | ETB | 39,3±12,9 | 41,3±7,51 | 19±0,95* | 14±0,7* |

Продолжение таблицы 3

| | | | | | |
|-----------------------|------|-----------|-------------|-----------------|---------------|
| <i>Ps. aeruginosa</i> | PA | 27,3±5,03 | 21,3±4,51 | 4±0,03** | 15,3±2,07 |
| <i>B. cereus</i> | X-BC | 7±1,73 | 6±1,73 | 2,2±0,09* | 3±0,61 |
| <i>E. coli</i> | EC | 168±19,29 | 140,3±11,24 | 36±1,76* | 51±1,25* |
| <i>S. aureus</i> | X-SA | 54,3±5,51 | 51±9,64 | 19±3,31 | 28±4,35 |
| <i>E. faecium</i> | ETC | 11±3,61 | 15,3±2,52 | 8±0,4* | 8±0,4* |
| <i>S. enteritidis</i> | SL | 6,3±1,51 | 8,3±2,08 | 0 | 0 |

Примечание: * - $P \leq 0,05$; ** - $P \leq 0,01$, по отношению к исходным значениям

Внесение биопрепаратов KB-4 и KK-4 способствовало выраженному улучшению санитарных показателей воды озера Большой Талдыколь по сравнению с исходными и контрольными образцами. Отмечено снижение численности общей микрофлоры ($P \leq 0,05$), колиформных ($P \leq 0,01$ и $P \leq 0,05$ у KB-4 и KK-4 соответственно), гетеротрофных бактерий ($P \leq 0,05$), псевдомонад ($P \leq 0,01$), грибов и дрожжей ($P \leq 0,01$), энтерококков ($P \leq 0,05$) и энтеробактерий ($P \leq 0,05$), а также отсутствие сальмонелл. Полученные данные подтверждают целесообразность использования консорциума KB-4 в качестве основы биопрепарата для биоремедиации и улучшения экологического состояния водных экосистем.

3.4 Разработка и оценка эффективности биопрепаратов на основе пробиотических штаммов для профилактики бактериозов у рыб

Охарактеризованы 37 изолятов МКБ, выделенных из микробиома кишечника карпа (*Cyprinus carpio*), представленных грамположительными палочками (22 изолята) и кокками (15 изолятов).

Первоначальный скрининг по антимикробной активности выявил 13 наиболее активных изолятов МКБ с антагонистической активностью в отношении условно-патогенной флоры (зоны ингибирования от $11,0 \pm 0,41$ до $25,5 \pm 0,65$ мм).

Молекулярно-генетическая идентификация с помощью гена 16S rRNA позволила отнести изоляты к следующим видам *Lactobacillus fermentum* (6 штаммов), *Lactobacillus paracasei* (2 штамма) и *Pediococcus pentosaceus* (2 штамма). По показателям ЖСП отобраны 4 перспективных штамма МКБ: *L. paracasei* 9C, *P. pentosaceus* 10/9K, *L. paracasei* 12/2C, *L. fermentum* 24C с титром клеток $5,0 \times 10^7$ КОЕ/мл - $4,0 \times 10^8$ КОЕ/мл, на основе которых разработаны два варианта пробиотических консорциумов - КПБЗ и К4.

Оптимизированы условия культивирования и состав питательных сред (собственной модификации MRS_m, MPC-5, молочная сыворотка с лактозой (МСЛ), среда собственной модификации LCH), обеспечивающих повышенный выход биомассы МКБ как поверхностным, так и глубинным способом (патент РК на полезную модель №10297 от 14.03.2025 г.) за счет недорогих и доступных ингредиентов по сравнению с коммерческими средами. Установлено, что криохранение обеспечивает лучшую сохранность в сравнении с лиофилизацией (снижение титра на 2-3 порядка) за 4 года, при этом консорциум К4 характеризуется более высокой стабильностью, что определяет его перспективность для дальнейшего биотехнологического применения.

Для получения полной картины антимикробных свойств штаммов МКБ и их консорциумов расширен спектр условно-патогенных микроорганизмов: *Sh. ximenensis*, *Ps. taiwanensis*, *Ps. aeruginosa*, *A. punctata*, *S. aureus*, *E. coli*, *Ent. faecalis*, *Kleb. pneumoniae*, *B. cereus*, *S. enteritidis*. Установлено, что штаммы МКБ в монокультуре проявляют умеренную антагонистическую активность, тогда как их объединение в составе консорциумов приводит к статистически значимому увеличению зон подавления роста тест-штаммов. Величина зон ингибирования варьировала от $15,3 \pm 0,15$ мм у КПБЗ к *Ps. aeruginosa* ($P \leq 0,01$) и *Sh. ximenensis* ($P \leq 0,05$) до $18,5 \pm 0,58$ мм у К4 к *A. punctata* ($P \leq 0,05$). Наиболее выраженный синергетический эффект показал консорциум К4 (таблица 4).

Изучение чувствительности к антибиотикам штаммов МКБ *in vitro* как в монокультурах, так и в составе биопрепаратов КПБЗ и К4 показало их устойчивость к канамицину, ванкомицину, цефазолину, гентамицину, ципрофлоксацину, неомицину и оксациллину при высокой чувствительности к β -лактамам и макролидным антибиотикам (зоны задержки роста

от 17,5 до 40,5 мм ($P \leq 0,05$) у разных штаммов.

Таблица 4 - Антагонистическая активность штаммов МКБ в монокультурах и в составе биопрепаратов

| Наименование тест-штаммов | Монокультуры МКБ | | | | Консорциумы | |
|---------------------------|-------------------------|-----------------------|---------------------|-----------------------|--------------------|--------------------|
| | <i>L. fermentum</i> 24с | <i>P. pent.</i> 10/9к | <i>L. parac.</i> 9с | <i>L. parac.</i> 12/2 | КПБЗ | К4 |
| <i>A. punctata</i> | 16,5±1,0 | 14,5±0,58 | 17,0±0,82 | 12,5±0,58 | 15,5±0,58* | 18,5±0,58* |
| <i>Ps. taiwanensis</i> | 15,5±0,58 | 13,5±1,0 | 16,5±1,29 | 13,0±0 | 12,3±0,5* | 14,3±0,96 |
| <i>Ps. aeruginosa</i> | 13,5±1,73 | 15,5±0,58 | 14,5±1,0 | 14,0±0,7 | 15,3±0,15** | 16,5±0,08** |
| <i>Sh.ximenensis</i> | 14,5±0,58 | 14,5±0,58 | 16,0±0,82 | 13,0±0,82 | 15,3±0,7* | 14,3±0,5* |
| <i>St. aureus</i> | 13,8±0,5 | 14,8±0,96 | 14,8±0,96 | 12,8±0,5 | 13,8±0,96 | 14,8±0,9 |
| <i>E. coli</i> | 15,5±0,58 | 14,0±0 | 17,3±0,96 | 14,0±0,82 | 12,3±1,26 | 14,5±0,58* |
| <i>S. enteritidis</i> | 11,0±0,82 | 12,0±0,82 | 15,5±1,73 | 12,5±0,58 | 10,8±0,07 | 15,0±0 |
| <i>Ent. faecalis</i> | н/о | 9,5±1,73 | 15,5±0,58 | 13,3±0,96 | 12,8±0,9 | 13,5±0,58* |
| <i>Kl. pneumoniae</i> | 17,5±1,0 | 10,8±1,71 | 15,3±0,5 | 13,8±0,5 | 11,0±0 | 15,8±0,7* |
| <i>Bac. cereus</i> | 11,0±0,82 | 15,0±1,15 | 11,5±0,58 | 13,8±0,9 | 12,3±0,5** | 14,8±0,2** |

Примечание: Антагонистическая активность исследованных культур считается нулевой при ширине зоны ингибирования роста до 5,0 мм, низкой – при 5,1 – 9,9 мм, средней – при 10,0 – 19,9 мм, высокой при 20,0 мм и более; н/о – не обнаружено; $M \pm SD$ ($n=3$); * - $P \leq 0,05$; ** - $P \leq 0,01$, различия достоверны при сравнении консорциумов с монокультурами

Автоагрегационный потенциал у 4-х пробиотических штаммов МКБ варьировал от 91,1% до 97,2%, что указывает на высокую адгезивную активность. Штаммы МКБ сохраняли стабильные показатели ЖСП при воздействии желчи 2000-3000 ppm (до 10^7 - 10^8 КОЕ/мл, штамм *P. pentosaceus* 10/9к - до 4000 ppm (10^2 КОЕ/мл). При концентрации 3% и 5% NaCl в среде показатели ЖСП сохранялись и были в пределах 10^7 - 10^8 КОЕ/мл.

Штаммы МКБ, включенные в состав биопрепаратов КПБЗ и К4, характеризуются высокой толерантностью к неблагоприятным и стрессовым факторам среды, что определяет их потенциал как биотехнологически значимых пробиотических культур, способствующих поддержанию здоровья и устойчивости в аквакультуре рыб.

Отработаны параметры глубинного культивирования биопрепаратов К4 и КПБЗ в лабораторном ферментере объемом 5,5 л и разработаны технологические основы получения биопрепарата на основе автохтонных штаммов МКБ (рисунок 8).



Рисунок 8 - Технологические этапы получения биомассы биопрепарата на основе МКБ в лабораторных условиях

С целью определения эффективности профилактического действия разработанных пробиотических биопрепаратов КПБЗ и К4 в 2019-2020 гг. в модельных условиях *in vivo* в качестве инфекционного агента использовали штаммы *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Lactococcus garvieae*, известные как основные возбудители бактериальных заболеваний у зеркального карпа (таблица 5). По результатам исследования антибиотикорезистентности для каждой модели бактериоза подобран соответствующий антибиотик в качестве лечебной терапии. Молодь карпа (*Cyprinus carpio*) безвозмездно предоставлена ТОО «Ryboritomnik Maubalyk» (Астана). Кормление производили согласно разработанной схеме (1,0-1,5% от массы тела) с добавлением пробиотика в опытные группы в качестве добавки к основному корму в концентрации $1,0 \times 10^7$ КОЕ/мл. В экспериментах сформировано по четыре группы рыб, где 4-я группа использовалась в качестве референсной для сравнительной оценки результативности разработанных пробиотиков.

Таблица 5 - Сравнительные данные по биометрическим показателям при бактериозах у молоди карпа зеркального

| Модели бактериоза | Группы | Биометрические показатели | | | |
|-------------------|--------|---------------------------|--------------------------|---------------------------|-----------------|
| | | Абсолютный прирост, г. | Относительный прирост, % | Среднесуточный прирост, г | Выживаемость, % |
| Псевдомоноз, n=30 | 1 | 3,6±0,04* | 120 | 0,06±0,003* | 80 |
| | 2 | 3,1±0,09* | 105 | 0,05±0,004 | 50 |
| | 3 | 2,2±0,06 | 92 | 0,03±0,003 | 20 |
| | 4 | 3,4±0,05* | 106 | 0,06±0,003* | 96,7 |
| Аэромоназ, n=15 | 1 | 1,4±0,06* | 34 | 0,07±0,003* | 80 |
| | 2 | 1,0±0,08 | 24 | 0,05±0,003 | 80 |
| | 3 | 0 | 16 | 0,03±0,002 | 33,3 |
| | 4 | 1,1±0,05* | 27 | 0,06±0,002 | 100 |
| Лактококкоз, n=15 | 1 | 2,0±0,06* | 12 | 0,08±0,004* | 86,7 |
| | 2 | 0,7±0,03* | 4 | 0,03±0,002 | 46,7 |
| | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 4 | 2,0±0,07* | 12 | 0,08±0,004* | 93,3 |

Примечание: 1 группа – заражение патогеном и терапия пробиотиком; 2 группа - заражение патогеном и лечение антибиотиком; 3 группа - заражение патогеном без терапии; 4 группа – референсная (при лактококкозе - коммерческий пробиотик «Ветом 1», при псевдомонозе и аэромоназе - коммерческий корм); М±SD (n=3); * - P≤0,05; различия достоверны по сравнению с 3 группой (заражение без терапии)

Апробация пробиотического биопрепарата КПБЗ в условиях модельного псевдомоноза молоди карпа в 2019 г. показала эффективность в выживаемости опытной группы с пробиотиком (80%), что значительно превысило показатели в группе с антибиотикотерапией гентамицином (50%) и в группе без лечения (20%), при этом прирост в варианте с пробиотиком сопоставим с контролем.

При модельном аэромоназе молоди карпа (2020 г.) применение биопрепарата КПБЗ обеспечило выживаемость в опытных группах (80%), что связано, по всей видимости, с профилактическим действием пробиотика и антибиотика канамицина, в варианте без лечения смертность составила 66,7%, в контроле 100%. Введение пробиотика уже на 3-и сутки предотвратило смертность рыбок и не вызвало физиологических отклонений. Отрицательные показатели наблюдались лишь в 3-ей группе, где выживаемость составила 33,3% и зафиксирован нулевой прирост.

В модельных условиях лактококкоза молоди карпа (2020 г.) биопрепарат К4 обеспечил выживаемость 86,7%, сопоставимую с коммерческим биопрепаратом Ветом (93,3%). Прирост биомассы достигал до 12%, что свидетельствует о выраженном защитном эффекте пробиотиков. Антибиотикотерапия препаратом «Антибак 100» оказалась менее эффективной (20% выживаемости), при этом в группе без лечения заболевание привело к 100% летальности, в связи с чем не удалось получить статистические данные, что говорит о высокой патогенности инфекции.

Установлено, что разработанные пробиотические биопрепараты на основе автохтонных

штаммов МКБ обеспечивают более высокую выживаемость при различных бактериозах молоди карпа на 30-67% в сравнении с антибиотикотерапией и на 47-60% относительно групп, не получавших лечения. Применение пробиотиков сопровождается увеличением прироста массы и улучшением общего физиологического состояния рыб, что указывает на профилактический эффект, связанный с активацией иммунной системы рыб. Биопрепарат К4 по эффективности сопоставим с коммерческим препаратом Ветом 1 и значительно превосходит антибиотикотерапию. В группах без лечения отмечались клинические признаки заболеваний (ерошение чешуи, пучеглазие, искривление позвоночника), тогда как применение пробиотика предотвращало развитие патологических изменений у рыб и обеспечивало более высокую устойчивость к инфекциям.

4 ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По итогам диссертационной работы сформулированы выводы, согласно задачам исследования:

1. Проведена биоиндикационная оценка экологического состояния водоемов Северного Казахстана на основе видового состава микроводорослей, включая экологическую приуроченность видов. Качество воды классифицировано как «достаточно чистые» (реки Иртыш, Усолка), «умеренно загрязненные» (река Есиль, канал Нура-Есиль, Астанинское водохранилище, озеро Майбалык) и «загрязненные» (река Акбулак, озеро Большой Талдыколь) при доле β -сапробионтов от 60,3% до 88,1%. Таксономический анализ альгофлоры выявил 291 вид микроводорослей с доминированием диатомовых водорослей (52,2%), а также 194 вида-индикатора сапробности. Установлена положительная корреляция между долей β -сапробионтов и гидрохимическими параметрами ($r=0,72-0,84$), что свидетельствует о повышенной трофности ряда водоемов и тенденции к эвтрофированию. Полученные результаты отражают влияние органического загрязнения на структуру фитопланктона и подтверждают значимость альгобиоценоза в комплексной оценке экологического состояния водных экосистем.

2. Отобраны экологически перспективные автохтонные штаммы микроводорослей для применения биотехнологии очистки загрязненных вод. Микроводоросли *Chlorella vulgaris* И2 и *Parachlorella kessleri* У1 проявили устойчивость к воздействию тяжелых металлов (до 25 мг/л железа в среде) и стрессовым факторам среды. Оптимизация условий культивирования позволила получить стабильную биомассу и разработать биопрепарат И2+У1 на основе микроводорослей, применение которого в модельных и полевых условиях (озеро Майбалык) показал выраженный эффект в снижении концентрации биогенных элементов и токсикантов, а также нормализации санитарных показателей воды. Установлено, что микроводоросли способствуют биодеструкции и минерализации органических поллютантов (до 67,7%) по нитратам, обеспечивая восстановление трофических связей и улучшение качества водной среды.

3. Получены новые аборигенные автохтонные штаммы микроорганизмов *Arthrobacter nicotinovorans* БТ-2, *Serratia marcescens* БТ-4, *Pseudomonas extremorientalis* БС-4, *Chryseobacterium gleum* У1-2ж), обладающие выраженными ферментативными и антагонистическими свойствами, на основе которых разработан консорциум КВ-4, а также разработан консорциум КК-4 (на основе коллекционных штаммов РКМ). Консорциум КВ-4 проявил более широкий спектр антимикробной активности (11-20 мм зон ингибирования) и высокую эффективность очистки воды озера Большой Талдыколь в модельных условиях. Внесение биопрепарата КВ-4 способствовало улучшению гидрохимических (до 78,9% по железу) и микробиологических (до 85,3% снижение псевдомонад, 100% подавление сальмонелл) показателей. Подтверждена эффективность применения биопрепарата КВ-4 и перспективность его применения для биоремедиации и повышения качества поверхностных вод.

4. Изолированы новые автохтонные штаммы молочнокислых бактерий *Lactobacillus paracasei* 9С, *Pediococcus pentosaceus* 10/9К, *Lactobacillus fermentum* 24С, *Lactobacillus paracasei* 12/2С, обладающие выраженными пробиотическими свойствами, легли в основу препаратов КПБЗ и К4. Оптимизация условий культивирования (включая собственно разработанные среды) обеспечила получение стабильной биомассы. Подтверждена профилактическая эффективность

биопрепаратов КПБЗ и К4, применение которых способствовало снижению смертности молоди карпа (*Cyprinus carpio*) от перенесенных заболеваний в модельных бактериозах, наряду с действием антибиотиков от 30 до 40% и на 60-86,7% относительно группы без терапии, а также положительной динамикой биометрических показателей (до 75%).

5 ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Для оценки экологического состояния поверхностных вод Северного Казахстана рекомендуется комплексное применение гидрохимических и биоиндикационных методов мониторинга, использование биопрепаратов на основе автохтонных штаммов микроводорослей и бактерий для биоремедиации водоемов, а также в качестве пробиотических добавок в корм для профилактики бактериозов в аквакультуре, снижения антропогенной нагрузки и обеспечения экологически безопасной продукции аквакультуры.

6 ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Направление диссертационной работы открывает возможности для дальнейших исследований:

1. Формирование новых интегрированных подходов в комплексном экологическом мониторинге состояния водных экосистем по регионам республики Казахстан;
2. Дальнейшие исследования эффективности использования биопрепаратов на основе микроорганизмов различных таксономических групп для улучшения состояния качества поверхностных вод и обогащения кормовой базы позволят повысить качество аквакультуры, в соответствии с категорией водных объектов;
3. Применение методов генной инженерии и нанотехнологий для усовершенствования биопрепаратов на основе микроводорослей, бактерий-деструкторов и пробиотических культур, предназначенных для биоремедиации водных экосистем и профилактики бактериальных заболеваний в аквакультуре карпа.

7 СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи, опубликованные в изданиях, рекомендованных перечнем ВАК при Минобрнауки РФ:

1. M. Urazova, K. Zakarya, Z. Sarmurzina, G. Bissenova, G. Abitayeva, A. Shevtsov, **Zh. Tekebayeva**, A. Abzhalelov. Diversity and Characterization of Lactic Acid Bacteria from Common Carp (*Cyprinus carpio* L.) Intestine in Winter (Northern Kazakhstan) // Tomsk State University Journal of Biology. – 2020. - Vol. 52. - P. 34–47. DOI: 10.17223/19988591/52/2.
2. **Текебаева Ж.Б.**, Кулагин А.А., Бисенова Г.Н., Бейсенова Р.Р., Сармурзина З.С. Изучение роли пробиотиков в отношении патогенных бактерий рода *Aeromonas* и *Pseudomonas* в аквакультуре карпа *in vitro* // Проблемы региональной экологии. - 2021. - № 1. - С. 16-23. DOI: 10.24412/1728-323X-2022-1-16-23.
3. **Текебаева Ж.Б.**, Рахымжан Ж., Базарханқызы А., Темирбекова А.Ж., Бейсенова Р.Р., Кулагин А.А. Опыт альголизации озера Майбалык (Астана, Казахстан) // Вестник Нижневартковского государственного университета. - 2025. - № 1. – С. 29-42. DOI: [10.36906/2311-4444/25-1/03](https://doi.org/10.36906/2311-4444/25-1/03).

Статьи, опубликованные в БД Scopus / Web of Science

4. **Zh. Tekebayeva**, K.D. Zakarya, A.B. Abzhalelov, R.R. Beisenova, R.M. Tazitdinova Efficiency of a probiotic in carp lactococcosis in an *in vitro* experiment // Microbial pathogenesis. – 2021. - Vol. 161. DOI: [10.1016/j.micpath.2021.105289/](https://doi.org/10.1016/j.micpath.2021.105289/).
5. **Tekebayeva Zh.**, Temirbekova A., Bazarkhankyzy A., Bissenova G., Abzhalelov A., Tynybayeva I., Temirkhanov A., Askarova N., Mkilima T. and Sarmurzina Z. Selection of Active Microorganism Strains Isolated from a Naturally Salty Lake for the Investigation of Different Microbial Potentials // Sustainability. – 2023. - Vol. 15, Iss. 51. DOI: 10.3390/su15010051.
6. **Tekebayeva Zh.**, Bazarkhankyzy A., Bissenova G., Temirkhanov A., Sarmurzina Z. Isolation of new strains of microorganisms for biopurification of polluted reservoirs of Northern Kazakhstan // International Journal of Design & Nature and Ecodynamics. – 2023. - Vol. 18, №3. - P.

7. **Текебаева Zh.**, Bazarkhankyzy A., Temirbekova A., Rakhymzhan Z., Kulzhanova K., Beisenova R., Kulagin A., Askarova N., Yevneyeva D., Temirkhanov A., Abzhalelov A. Ecological Assessment of Phytoplankton Diversity and Water Quality to Ensure the Sustainability of the Ecosystem in Lake Maybalyk, Astana, Kazakhstan // Sustainability. - 2024. - Vol. 16 (22). - P. 9628. DOI: [/10.3390/su16229628](https://doi.org/10.3390/su16229628).

Монография и методические пособия

8. Абжалелов А.Б., **Текебаева Ж.Б.**, Айтуганов К.А. Роль альгофлоры в очистке водоемов, загрязненных различными поллютантами. Монография. – Астана: типография «Мастер По», 2017. – 85 с.

9. **Текебаева Ж.Б.** Комплексные подходы в мониторинге и биоочистке поверхностных водоемов северного региона для улучшения качества окружающей среды: методическое пособие. - Астана: ИП «Булатов А.Ж.», 2022. – 105 с.

Прочие публикации

10. **Текебаева Ж.Б.**, Абжалелов А.Б. Изучение влияния различных концентраций тяжелых металлов на рост клеток зеленых микроводорослей // Материалы X Международной научной конференции «Микробные биотехнологии: фундаментальные и прикладные аспекты». - Минск, 2017 г. - С. 305 - 307.

11. **Текебаева Ж.Б.**, Абжалелов А.Б. Роль водорослей-индикаторов в оценке загрязнения водоемов // Вестник КазНУ. Серия экологическая. - 2018. - №1 (54) - С. 49-60.

12. **Текебаева Ж.Б.**, Абжалелов А.Б. Аккумулирующие свойства микроводорослей *Chlorella vulgaris* И2 и *Parachlorella kessleri* У1 по отношению к поллютантам различного происхождения // Вестник КазНУ. Серия биологическая. - 2018. - № 4 (77). - С. 107-115.

13. Бисенова Г.Н., **Текебаева Ж.Б.**, Уразова М.С., Абитаева Г.К., Закарья К.Д., Абилхадиров А.С., Абишева Г.Ж., Абжалелов А.Б., Сармурзина З.С. Изучение эффективности пробиотика на модели бактериальной болезни мальков в лабораторных условиях // Вестник Астраханского государственного технического университета. Серия Рыбное хозяйство. - 2019. - №2. - С. 14-20. DOI: 10.24143/2073-5529-2019-2-14-21.

14. **Текебаева Ж.Б.**, Абишева Г.Ж., Абилхадиров А.С., Бисенова Г.Н., Сармурзина З.С., Абитаева Г.К., Абжалелов А.Б. Антибиотикорезистентность бактерий, вызывающих бактериоз у рыб // Международный научный форум «Биология и биотехнология XXI века». - Нур-Султан, 2019 г. - С. 85-89.

15. **Текебаева Ж.Б.**, Сармурзина З.С. Альголизация как перспективный метод при биологической реабилитации водоемов // Международная научно-практическая конференция «Актуальные проблемы биоразнообразия и биотехнологии». - Нур-Султан, 2019. - С. 59-69.

16. **Текебаева Zh.B.**, Bissenova G.N., Dossova A.D., Urazova M.S., Shevtsov A.B., Temirkhanov A.Zh., Rakisheva A.K., Abzhalelov A.B., Sarmurzina Z.S. Isolation and identification of new strains of lactic acid bacteria isolated from the microbiome of young carp fish // Журнал «Eurasian Journal of Applied Biotechnology». - 2020. - № 2. - С. 66-72.

17. **Текебаева Ж.Б.**, Шахабаева Г.С., Сармурзина З.С., Бисенова Г.Н., Уразова М.С., Досова А.Д., Абжалелов А.Б. Пробиотики и их применение в аквакультуре // Журнал Новости Науки Казахстана. - 2020. - №4 (147). - С. 175-194.

18. **Текебаева Ж.Б.**, Кулагин А.А. Фитопланктон реки Акбулак (Казахстан) как показатель качества воды // X Международная научно-практическая конференция «Экология и природопользование: прикладные аспекты». - Уфа, 2020. - С. 274-279.

19. Шайхин С.М., Уразова М.С., **Текебаева Ж.Б.**, Абиляхадиров А.С., Сармурзина З.С. Влияние функциональных добавок к корму на иммунный ответ и здоровье рыб // Вестник ЕНУ. Серия биологическая. - 2021. - №4(137). - С. 39-63.

20. **Текебаева Ж.Б.**, Бейсенова Р.Р., Кулагин А.А. Действие биопрепарата на качество воды озера Майбалык (Нур-Султан) // XI Международная научно-практическая конференция «Экология и природопользование: прикладные аспекты». - Уфа, 2021. - С. 150-154.

21. **Текебаева Ж.Б.**, Уразова М.С., Абилхадиров А.С., Шайхин С.М. Скрининг

пробиотических штаммов бактерий для борьбы с бактериозами в аквакультуре // XII Международная научно-практическая конференция «Микробные биотехнологии: фундаментальные и прикладные аспекты». - Минск, 2021. - С. 65-66.

22. **Текебаева Ж.В.**, Bazarkhankyzy A., Temirbekova A.Zh., Bissenova G.N., Kulagin A.A., Tynybayeva I.K., Temirkhanov A.Zh., Askarova N.B., Sarmurzina Z.S. Prospects for the use of microorganisms for the biological treatment of surface water bodies from biogenic elements // «Eurasian Journal of Applied Biotechnology». - 2022. - № 2. - С. 54-61.

23. **Текебаева Ж.Б.**, Кулагин А.А., Абжалелов А.Б., Бисенова Г.Н., Бейсенова Р.Р., Сармурзина З.С. Применение пробиотиков в аквакультуре карпа в Казахстане // Материалы Международной научно-практической конференции «Каспий и глобальные вызовы». – Астрахань, 2022. - С. 580–585.

Патенты

24. **Текебаева Ж.Б.**, Абжалелов А.Б., Айтуганов К.А., Абжалелова Л.А. Штамм микроводоросли *Chlorella vulgaris* И2, используемый для очистки загрязненных природных вод от различных поллютантов. Патент РК на полезную модель № 2985 от 25.06.2018 г.

25. **Текебаева Ж.Б.**, Абжалелов А.Б., Айтуганов К.А., Абжалелова Л.А. Штамм микроводоросли *Parachlorella kessleri* У1, используемый для очистки загрязненных природных вод от различных поллютантов. Патент РК на полезную модель № 2984 от 25.06.2018 г.

26. **Текебаева Ж.Б.**, Базарханқызы А., Бисенова Г.Н., Темирханов А.Ж., Сармурзина З.С. Модифицированная питательная среда LCH для культивирования зеленых микроводорослей и молочнокислых бактерий. Патент РК на полезную модель № 6907 от 09.09.2022 г.

27. **Текебаева Ж.Б.**, Шайхин С.М., Абилхадиров А.С., Уразова М.С., Сармурзина З.С. Консорциум пробиотических бактерий К4, обладающий антибактериальной активностью, предназначенный для включения в кормовые добавки при дисбактериозах и для повышения иммунного статуса у карповых рыб. Патент РК на полезную модель № 7395 от 26.08.2022 г.

28. Бисенова Г.Н., **Текебаева Ж.Б.**, Уразова М.С., Сармурзина З.С., Абжалелов А.Б., Закарья К.Д. Пробиотический препарат для профилактики и лечения дисбактериозов у рыб. Евразийский патент на изобретение № 041313 от 07.10.2022 г.

29. **Текебаева Ж.Б.**, Базарханқызы А., Бисенова Г.Н., Темирханов А.Ж., Сармурзина З.С. Модифицированная питательная среда LCH для культивирования зеленых микроводорослей и молочнокислых бактерий. Евразийский патент на изобретение №043745 от 19.06.2023 г.

30. Абилхадиров А.С., **Текебаева Ж.Б.**, Темирханов А.Ж., Абжалелов А.Б., Закарья К.Д. Питательная среда MRS модифицированная для культивирования и получения биомассы молочнокислых бактерий. Патент РК на полезную модель №10297 от 14.03.2025 г.

Подписано в печать «06» апреля 2026 г.

Формат 60x90/16. Усл. печ. л 1,0

Тираж 100 экз. Заказ № ___