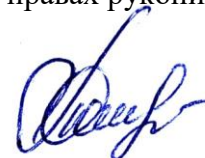


**МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«НИЖНЕВАРТОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»**

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)

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель:

доктор биологических наук,
профессор А.А. Кулагин

Нижевартовск - 2026

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	11
1.1 Загрязнение поверхностных вод и его влияние на устойчивость водных экосистем.....	11
1.2 Экологическая характеристика состояния водной среды.....	15
1.2.1 Гидрохимический анализ как критерий оценки состояния водоемов.....	20
1.2.2 Микробиологические показатели качества водной среды.....	22
1.2.3 Гидробиологические критерии оценки состояния водоемов.....	23
1.3 Развитие и современное состояние аквакультуры.....	29
1.4 Микробные препараты как инструменты экологического мониторинга и реабилитации водных экосистем и аквакультуры.....	37
1.4.1 Биотехнологический потенциал микроводорослей для использования в различных отраслях	37
1.4.2 Использование микробных технологий для биоремедиации водных экосистем.....	44
1.4.3 Применение пробиотиков для обеспечения устойчивости аквакультуры.....	48
2 ОБЪЕКТЫ, МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	54
2.1 Объекты исследований.....	54
2.1.1 Климатические особенности исследуемого региона.....	55
2.2 Материалы и методы исследований.....	60
2.2.1 Питательные среды.....	60
2.2.2 Методы исследований.....	62
3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	75
3.1 Биомониторинг экологического состояния водных экосистем Северного Казахстана на основе гидрохимических и биоиндикационных показателей.....	75
3.1.1 Оценка состояния и уровня загрязненности водных объектов по гидрохимическим параметрам.....	75
3.1.2 Гидробиологическая оценка водоемов на основе анализа фитопланктона.....	78

3.2	Разработка биопрепарата на основе микроводорослей для улучшения экологического состояния водных ресурсов.....	83
3.2.1	Выделение и селекция микроводорослей, изучение их фенотипических и молекулярно-генетических признаков.....	83
3.2.2	Оптимизация условий культивирования микроводорослей и получения их биомассы.....	86
3.2.3	Биологическая характеристика свойств и оценка эффективности применения биопрепарата на основе микроводорослей.....	89
3.2.3.1	Исследование токсичности микроводорослей и их устойчивости к воздействию тяжелых металлов.....	89
3.2.3.2	Оценка потенциала использования микроводорослей для биоремедиации загрязненных водных экосистем.....	92
3.3	Разработка биопрепаратов на основе автохтонных штаммов бактерий-деструкторов для улучшения качества водной среды.....	99
3.3.1	Выделение и скрининг автохтонных штаммов бактерий, изучение их фенотипических и молекулярно-генетических признаков.....	99
3.3.2	Разработка вариантов биопрепаратов и оптимизация параметров получения их биомассы.....	104
3.3.3	Оценка биологических свойств и эффективность применения биопрепаратов на основе автохтонных бактерий.....	108
3.4	Разработка и оценка эффективности биопрепаратов на основе пробиотических штаммов для профилактики бактериозов у рыб.....	113
3.4.1	Выделение и скрининг молочнокислых бактерий, изучение их фенотипических и молекулярно-генетических признаков.....	113
3.4.2	Разработка вариантов биопрепаратов и оптимизация условий культивирования для получения биомассы.....	119
3.4.3	Исследование пробиотического потенциала биопрепаратов.....	122
3.4.4	Оценка эффективности пробиотических препаратов при модельных бактериозах у карпа.....	128
4	ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	135
5	ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	137
6	ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ.....	138
7	СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ.....	139
8	ПРИЛОЖЕНИЯ.....	167

ВВЕДЕНИЕ

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 Юлдашов 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 дополняют 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 мероприятиях.

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, 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 KB-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 КПБЗ 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: 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. 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 «Ryboritomnik Maubalyk» (Астана, Республика Казахстан, 2021).

Структура и объём 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.

1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Загрязнение поверхностных вод и его влияние на устойчивость водных экосистем

Вода имеет важное значение для устойчивого развития, для социально-экономического развития, производства энергии и продовольствия, здоровых экосистем, а также жизни человека (Водные ресурсы, 2020).

Загрязнение воды является существенной экологической проблемой и характеризуется наличием загрязняющих веществ в водных ресурсах, которые представляют опасность для всех живых организмов (Дуктов А.П., 2022).

Загрязнение воды связано с ростом населения и индустриализацией (Schwarzenbach R.P. et al., 2010). Около 30% мировых ресурсов пресной воды используется промышленностью и городским населением, которые, в свою очередь, производят большое количество сточных вод, содержащих химические вещества в различных концентрациях (Burek P. et al., 2016).

Проблема загрязнения водных объектов на сегодняшний день является наиболее актуальной. Понимая всю важность роли воды в его жизни, человек всё равно продолжает жестко эксплуатировать водные объекты, бесповоротно изменяя их естественный режим сбросами и отходами. Загрязнение водных ресурсов – это ухудшение их качества в результате попадания в моря, реки, ручьи, озера, различных физических, химических или биологических веществ.

В связи с этим уровень загрязнения воды постоянно возрастает, способность воды к самоочищению иногда оказывается недостаточной, чтобы справиться с постоянно растущим количеством сбрасываемых отходов. Под воздействием течений загрязнение распространяется очень быстро и губительно влияет на территории с богатой флорой и фауной, нанося серьезный ущерб состоянию морских экосистем и экономике в целом (Балыкбаева А.С., 2017).

Во многих странах мира уже сейчас не хватает чистой питьевой воды. Напряженная экологическая обстановка только усугубляет проблему. Загрязнения опасны и могут привести к последствиям, непосредственно касающихся здоровья и жизни человека: уменьшению видового разнообразия морской и речной флоры и фауны; зарастанию и исчезновению водоемов; ухудшению вкуса, цвета и запаха воды; разрушению эмали зубов человека вследствие переизбытка фтора; перегрузке организма человека железом, вызывая нарушения формирования костной ткани; накоплению свинца, хрома, кадмия, бензапирена, а также хлора в воде, провоцирующие появление онкологии и нервных расстройств; вспышкам инфекционных и кишечных заболеваний; ухудшению состояния волос и кожи; заражению паразитами; радиоактивные изотопы и пестициды, накапливаясь в организме, циркулируют в пищевых цепочках, разрушая ткани и приводят к бесплодию и генетическим мутациям (Типы загрязнения, 2023).

Существенными причинами, оказывающими негативное влияние на качество воды рек и озер, являются: несоответствующая очистка бытовых сточных вод, слабый контроль за сбросом промышленных сточных вод, утрата и разрушение водосборных площадей, нерациональное размещение промышленных предприятий, обезлесение, бесконтрольная залежная система земледелия и нецелесообразные методы ведения сельского хозяйства. Поэтому исключительно важно выполнять профилактические меры для того, чтобы избежать последствий дорогостоящих мероприятий по воспроизведению, очистке и освоению новых водных ресурсов (Доклад Конференции ООН, 1992).

Анализ тенденций роста водопотребления в мире, доступных ресурсов пресной воды и динамики потерь таких ресурсов вследствие антропогенных причин приводит к весьма тревожным выводам (Никифоров А.П., 2007).

В настоящее время водные экосистемы изменяются и развиваются гораздо быстрее, чем раньше, что связано с деятельностью человек, а не с увеличением

процессов, происходящих на протяжении геологического времени. Одним из наиболее значимых последствий этого воздействия, скорость проявления которого значительно возросла в последние десятилетия, является антропогенное эвтрофирование (РД 52.24.620-2000). На самом деле это не единственная проблема водных экосистем, но именно она является доминирующей в современных условиях (Søndergaard M. et al., 2003).

Как морские, так и пресноводные водные экосистемы являются жизненно необходимыми для обеспечения, регулирования и поддержки широкого спектра услуг для человека (Millennium, 2005). Между тем, изменение климата представляет увеличивающуюся угрозу для осуществления таких услуг (Intergovernmental Panel, 2007). Известно, что в последнее время повышение уровня моря, закисление океана и изменения в солености воды, осадках подземных и речных стоках, нехватка воды и экстремальные погодные условия влияют на продуктивность, распределение видов рыб и сезонность биологических и биофизических процессов (Cochrane K. et al., 2009).

Культивируемые объекты аквакультуры восприимчивы к вредному воздействию со стороны других пользователей водоема, а также к качеству воды. Поэтому важное значение имеют такие проблемы как загрязнение воды мегаполисами, сельским хозяйством и промышленностью, браконьерство, губительное влияние со стороны плавающих рыболовных и других объектов, а также меры, включающие регулирование загрязнений и пространственное планирование. Немаловажными факторами являются рост и развитие населения, мировая торговля и изменения климата, которые оказывают влияние на взаимодействие аквакультуры и экосистемы водоема на всех уровнях.

Продуктивность аквакультуры зависит от состояния конкретного водоема, а также от структур и средств, которые обеспечивают искусственное разведение с надлежащим и достаточным внесением удобрений и кормлением. Соответственно, увеличение уровня загрязнения водных ресурсов негативно

сказывается на продуктивности аквакультуры, безопасности продуктов питания и рентабельности производства. Источниками загрязнений в основном являются продукты жизнедеятельности человека (коммунально-бытовые сточные воды, стоки и сбросы от сельскохозяйственной и животноводческой деятельности), которые приводят к эвтрофикации, и возможно, к «цветению воды» или «красным приливам» (Развитие аквакультуры, 2013).

Вода является универсальным растворителем, в ней растворяются многие вещества, которые присутствуют в толще земли и могут попасть в воду конкретного водоема и с ней проникать в растворенном виде вниз по течению. Рыбы живут в водоемах разного качества, которые отличаются по величине растворенных в воде газов, минералов и других веществ, в той или иной степени присутствующих в одном регионе и отсутствующих – в другом. Кроме того, рыбы и другие гидробионты – объекты аквакультуры являются холоднокровными, т.е. скорость обмена их веществ сильно зависит от условий внешней среды, прежде всего от качества воды (Камилов Б.Г. и Юлдашов М.А., 2020). Следовательно, качество воды – важнейший фактор в аквакультуре (Проскуренок И.В., 2003).

В любой системе культивирования рыб инженерное решение должно решать проблему поддержания качества воды. Качество воды должно отвечать требованиям биологической составляющей, а именно экологическим потребностям вида рыб к качеству воды.

Показателей качества воды много, все они важны и в разной степени характеризуют окружающую среду при разведении рыб. Следует отметить, что практически все показатели постоянно меняются в течение как короткого, так и длительного периода. Достаточно вести наблюдение за основными показателями, к которым относятся количество растворенного кислорода, температура воды, рН, количество углекислого газа, аммиака и нитритов (Камилов Б.Г., Юлдашов М.А., 2020).

В Докладе о состоянии окружающей среды в России на 2021 год, опираясь на данные системы СКФМ (сети комплексного фоновый мониторинга) приведены данные о загрязненности водоемов в стране. Причем, статистика загрязненности приводится не по конкретным водным бассейнам, а рассматривается применительно к каждому региону и федеральному округу. Обобщенные данные приводятся в информации, ежемесячно публикуемых на официальном сайте Росгидромета (Загрязнение воды в России, 2020).

В Послании народу Первого Президента Республики Казахстан «Стратегия «Казахстан – 2050» дефицит водных ресурсов рассматривается как глобальная угроза XXI века. Правительством поставлена задача к 2050 году решить все проблемы водообеспечения Казахстана. Вместе с тем, экологическая составляющая водных ресурсов - устойчивость экосистем, развитие рыбоводства, экотуризма и сохранение уникальных природных богатств - не должны ущемляться в пользу промышленного развития (Послание Президента РК, 2012).

В условиях отсутствия предупреждающих действий, предложенных в Концепции по переходу Республики к «зеленой экономике» № 577 от 30 мая 2013 года, дефицит воды может привести к снижению природоохранных поступлений воды с последующей деградацией озерной и речной экосистем и рыболовного промысла (Концепция по переходу РК, 2013; Стратегический план, 2018).

1.2 Экологическая характеристика состояния водной среды

В последние годы получила развитие концепция о необходимости перехода от сложных и информационно перегруженных исследований к более продуктивным разработкам, направленным на выявление приоритетных принципов и механизмов, регулирующих функционирование экосистем, а также

поиск интегральных методов оценки экологического состояния водных объектов (Wu N. et al., 2017).

В настоящее время особое значение приобретает экологический мониторинг водных объектов, обеспечивающий объективную оценку динамики их состояния.

В Российской Федерации в каждом географическом регионе наблюдения за качеством поверхностных вод выполняется подразделениями Росгидромета, согласно комплексным оценкам УКИВЗ - удельной величине комбинаторного индекса загрязненности воды (РД 52.24.643-2002).

Водное законодательство Республики Казахстан основано на принципах признания водных ресурсов объектом государственного значения. Ключевые положения включают обеспечение населения питьевой водой в необходимом количестве и гарантированного качества, справедливый и равный доступ к водным ресурсам, комплексное и рациональное использование и охрана вод (Целевые показатели, 2017).

Выбор приоритетных региональных показателей осуществляется с учетом их влияния на здоровье населения и специфики состава сточных вод, поступающих в водные объекты региона как по общим, так и дополнительным показателям. Определение приоритетных показателей осуществляют специализированные учреждения по контролю состояния водных объектов. В Казахстане к таким организациям относятся РГП «Казгидромет», Комитет экологического регулирования и контроля Министерства экологии, геологии и природных ресурсов РК. Территориальные органы и организации Комитета общественного здравоохранения Министерства здравоохранения Республики Казахстан осуществляют постоянный контроль и мониторинг хозяйственно-бытовых и питьевых вод (Национальный доклад, 2020).

В Казахстане в зависимости от вида водопользования существуют свои значения предельно-допустимых концентраций (ПДК) по различным

показателям. Но основным нормативным документом по оценке качества воды водных объектов Республики Казахстан выступает «Единая система классификации качества воды в водных объектах» (Единая система, 2016). Требования потребителей к качеству воды зависят от целей ее использования, при которых выделяют три вида водопользования: хозяйственно-питьевое, культурно-бытовое, рыбохозяйственное (РД 52.24.620-2000).

Существуют 5 классов воды от высокого уровня до низкого уровня качества воды, согласно Единой системе классификации качества воды в водных объектах РК, которая согласуется с классификацией водных объектов в РФ (таблица 1).

В настоящее время не существует единого, общепринятого метода комплексной оценки загрязнения поверхностных вод. В связи с чем, из всего имеющегося многообразия и множества методов комплексной оценки следует выбирать тот, который более соответствует заявленным целям и задачам исследования, который лучше всего обеспечен необходимой информацией и дает наиболее объективную оценку степени загрязнения вод в районе рассматриваемого водного объекта (Примак Е.А. и др., 2020).

Существует большое количество классификаций загрязняющих веществ, но наиболее важными с точки зрения идентификации загрязняющих веществ являются химический, физический и биологический состав (Новиков Ю.В. и др., 1990).

Физико-химические показатели определяют качество воды, но, главным образом, содержат информацию, без которой невозможно подобрать оптимальную схему очистки воды.

Биологические методы обуславливают присутствие или недостаток водных организмов-индикаторов, располагающихся на поверхности (планктон), в толще воды (нейстон) или на дне водоема, на берегах и на поверхности подводных объектов (бентос), которые восприимчивы к определенным

загрязняющим веществам.

Таблица 1 - Классификация водопользования по типам и категориям использования водных ресурсов (Единая система, 2016)

Категория (вид) водопользования	Назначение/ тип очистки	Классы водопользования				
		1 класс	2 класс	3 класс	4 класс	5 класс
Рыбохозяйственное водопользование	Лососевые	+	+	-	-	-
	Карповые	+	+	-	-	-
Хозяйственно-питьевое водопользование	Простая водоподготовка	+	+	-	-	-
	Обычная водоподготовка	+	+	+	-	-
	Интенсивная водопользование	+	+	+	+	-
Рекреационное водопользование (культурно-бытовое)		+	+	+	-	-
Орошение	Без подготовки	+	+	+	+	-
	Отстаивание в картах	+	+	+	+	+
Промышленность:						
технологические цели, процессы охлаждения		+	+	+	+	-
гидроэнергетика		+	+	+	+	+
добыча полезных ископаемых		+	+	+	+	+
транспорт		+	+	+	+	+

Бактериологический метод позволяет оценить общую бактериальную загрязненность воды, ее контаминацию кишечной палочкой, а также наличие радиоактивных и токсичных компонентов. Данный метод обладает высокой чувствительностью и применяется для выявления начальных признаков хозяйственно-фекального загрязнения воды (Сибгатуллина А.М. и Мазуркин П.М., 2009).

Оценка качества природных вод зависит от их целевого назначения и

может включать широкий спектр показателей. В перечень параметров качества воды могут быть добавлены специфические загрязняющие вещества, характерные для конкретных водных объектов, а также компоненты, необходимые для проведения научных исследований (Примак Е.А. и др., 2020).

Связи между параметрами состояния экосистемы или отдельными ее компонентами существуют, но не всегда их можно достоверно выявить из-за влияния многих других факторов. Поэтому выявляются те, для которых связи достаточно постоянны в пространственном временном отношении и достоверны. Такие связи выявлены между гидрохимическими и гидробиологическими показателями (Шитиков В.К. и др., 2003; Дмитриев В.В. и Фрумин Г.Т., 2004). Однако существует их связь и с гидрологическими характеристиками (Алимов А.Ф., 2003).

К числу наиболее широко применяемых показателей для оценки качества водных объектов относятся гидрохимический индекс загрязнения воды (ИЗВ) и гидробиологический индекс сапробности (S) (Гусева Т.В. и др., 2015). Оба индекса являются интегральными характеристиками состояния водных объектов. В некоторых случаях уровень загрязненности и класс качества определяются также по микробиологическим показателям.

Взаимосвязь параметров, характеризующих состояния водной экосистемы и классы качества воды представлены в таблице 2.

Каждый из этих методов имеет свои недостатки и свои преимущества. Наиболее достоверные результаты достигаются при их комплексном применении. Разные организмы отражают состояние водной среды в разные временные периоды с различной степенью чувствительностью, поэтому выбор конкретных групп организмов должен определяться целями исследования и особенностями объекта изучения (Деревенская О.Ю., 2015).

Таблица 2 - Связь между показателями состояния водной экосистемы и классом качества воды (Шитиков В.К. и др., 2003; Дмитриев В.В., 2004; Алимов А.Ф., 2003; Гусева Т.В. и др., 2015)

Оценочный показатель	Класс качества воды					
	1	2	3	4	5	6
Гидрохимические показатели						
ИЗВ	≤0,2	0,2-1	1-2	2-4	4-6	>6
NH ₄ , мг/л	<0,05	0,05-0,2	0,2-0,5	0,5-2,5	2,5-5	5
NO ₂ , мг/л	0	0-5	6-20	20-100	100-300	300
NO ₃ , мг/л	<0,05	0,05-0,5	0,5-1,5	1,5-2,5	2,5-4	4
O ₂ , мг/л	100-90	90-80	80-60	60-30	30-10	10
Фосфаты, мкгР/л	5-15	15-50	50-200	200-300	>300	-
Перманганатная окисляемость	<2	2-6	6-10	10-20	20-25	25
Бихроматная окисляемость	<7	8-18	19-30	31-60	61-80	80
БПК ₅ , мгО/л	0,5-1	1-2	2-3	3-4	4-10	>10
Микробиологические показатели						
Общее число бактерий, 10 ⁶ клеток/мл	< 0,5	0,5-1	1,1–1,3	3,1-5	5,1-10	> 10
Число сапрофитных бактерий, 1000 клеток/мл	< 0,5	0,5-5	5,1-10	10,1-50	50,1-100	> 1000
Общее число бактерий к сапрофитным бактериям	< 1000	> 1000	1000-100	< 100	< 100	< 100
Гидробиологические показатели						
Индекс сапробности	0,5	0,5-1,5	1,5-2,5	2,5-3,5	3,5-4	>4
Сапробность	ксено-	олиго-	β-мезо	α-мезо	поли-	-
Индекс Шеннона, H	3,1-2,3	2,3-1,9	1,9-1,52	1,52-1,25	1,25-1	-
Трофность	олиго-	мезотрофная		эвтрофная		-

Примечание: Классы качества: 1 – очень чистая, 2 – чистая, 3 – умеренно-загрязненная, 4 – загрязненная, 5 – грязная, 6 – очень грязная

1.2.1 Гидрохимический анализ как критерий оценки состояния водоемов

Органолептическая оценка является начальным этапом гидрохимического анализа природных вод и включает определение цветности, мутности и запаха. Далее проводится количественная оценка основных гидрохимических

параметров, используемых при расчете индекса загрязнения воды (ИЗВ): рН, общая минерализация, БПК, ХПК, растворенный кислород, нитраты, нитриты, аммонийный азот, тяжелые металлы (Cu, Mn, Cd и др.), фенолы, пестициды, нефтепродукты и СПАВ. Показатели расчета ИЗВ отбираются независимо от лимитирующего признака вредности, однако при равенстве приведенных концентраций приоритет отдается веществам с санитарно-токсикологическим признаком вредности (Сибгатуллина А.М. и Мазуркин П.М., 2009).

Нормы предельно-допустимых концентраций загрязняющих веществ в Казахстане для каждого вида водопользования отличаются. В существующих нормативах, действующих на территории республики, отсутствует информация по большинству критериев оценки загрязнения. Оценка по основным физико-химическим параметрам в республике проводится согласно Единой классификации качества воды в водных объектах и публикуется в ежемесячных и годовых информационных бюллетенях (Текебаева Ж.Б., 2022).

ИЗВ, как правило, рассчитывают по 6-7-ми гидрохимическим показателям, из которых такие показатели как концентрация растворенного кислорода, водородный показатель рН, биологическое потребление кислорода БПК₅ являются обязательными и рассчитывается по следующей формуле:

$$\text{ИЗВ} = \sum_{i=1}^N \frac{\frac{C_i}{\text{ПДК}_i}}{N} \quad (1),$$

где C_i – концентрация компонента (в ряде случаев – значение параметра);

N – число показателей, используемых для расчета индекса;

ПДК_i – установленная величина для соответствующего типа водного объекта.

1.2.2 Микробиологические показатели качества водной среды

Санитарно-микробиологические показатели характеризуют эпидемическую безопасность воды для населения (Тымчук С.Н. и др., 2013; Рахманин Ю.А. и др., 2016).

Важное значение в области комплексного экологического мониторинга водоемов играет анализ бактериального загрязнения, который является индикатором экологического состояния водоемов и главным фактором, характеризующим безопасность водоемов (Заболотских В.В. и др., 2011).

На пути поступления микроорганизмов в водные объекты в водном микробиоценозе выделяют два компонента: автохтонную и аллохтонную микрофлору. Аллохтонные бактерии, «принесенные извне», попадают в водоём с береговым размывом, грунтовыми и сточными водами, с помощью пыльных бурь и т. д. Обычно эти микроорганизмы не размножаются в воде, но могут довольно долго сохранять жизнеспособность при благоприятных условиях. Через воду могут передаваться ряд кишечных инфекций: брюшной тиф, паратиф, дизентерия и некишечные: инфекционная желтуха, бруцеллез, туляремия, туберкулез и другие (Верховцева Н.В. и Никифорова Е.П., 1984).

Автохтонные микроорганизмы формируют основную часть микробиоты водоемов. Регулярно распространяясь в значительных количествах или подвергаясь вспышкам сезонного развития, являются важным компонентом трофической цепи и определяют скорость циклов углерода, азота, серы и железа (Шеховцева Н.В., 2008).

Количественный учет микроорганизмов-индикаторов загрязнения делает возможным дать более точную оценку степени бактериального загрязнения воды (Кичигин В.И. и Палагин Е.Д., 2005; Куриленко В.В. и Зайцева О.В., 2005).

1.2.3 Гидробиологические критерии оценки состояния водоемов

Важнейшими задачами гидробиологии и гидроэкологии можно считать оценку состояния и прогнозирование возможных изменений водных экосистем под влиянием внешних, в особенности, антропогенных факторов, определение оптимальных условий и степени эксплуатации экосистемы (Rozenberg G.S. et al., 2021).

Попадание загрязняющих веществ в водную среду вызывает множество реакций, которые характеризуются на организменном, популяционном и биоценоотическом уровнях. Каждый из них может стать основой для разработки метода оценки антропогенного воздействия, в результате чего определяются показатели, которые отражают состояние биоты и ее реакцию на загрязнение окружающей среды.

Между тем, количество загрязняющих веществ, поступающих в водоемы, весьма разнообразно и их воздействие на организмы может иметь как токсическое (повышение смертности, угнетение физиологических процессов, замедление роста и т.д.), так и эвтрофицирующее (ускорение роста и размножения) действие. Последнее можно интерпретировать как положительное на начальном этапе воздействия.

Водные организмы реагируют на состояние окружающей среды, действуют как активные организмы детоксикации и самоочищения и являются решающим фактором качества воды. Таким образом, существует тесная связь между состоянием водных сообществ и качеством воды, что послужило основой для составления оценок качества воды на основе гидробиологических показателей (Примак Е.А., 2020).

Биологические методы мониторинга, являясь интегральными подходами к оценке состояния водной среды, играют ключевую в экотоксикологическом контроле. Они обеспечивают комплексную возможность определения уровня

токсичности водных экосистем, что позволяет выявлять и количественно оценивать негативное воздействие загрязняющих веществ.

Экотоксикологический подход к анализу антропогенного воздействия занимает важнейшее место в стратегии мониторинга природной среды, в особенности, водных объектов. Эти принципы лежат в основе как национальных систем и программ экологического мониторинга, так и международных исследовательских программ, реализуемых в рамках деятельности крупнейших международных организаций и проектов – программ Европейской экономической комиссии ООН, Международной академии экологической безопасности (IAES), Научного комитета НАТО и др. (Stancheva R., 2016).

В настоящее время оценка токсичности пресноводных экосистем биологическими методами является одной из обязательных характеристик экологического состояния водоемов во многих странах Европы и США (Battista Di T. et al., 2016). В России имеются множество работ, в которых в качестве тест-организмов использовали хирономид, водорослей, ракообразных (Richmond A., 2004; Чернова Н.И. и др., 2008; Hu Q. et al., 2008). В целом в биомониторинге применяются тест-организмы с различным уровнем организации от одноклеточных форм, таких как простейшие, водоросли, до многоклеточных организмов, включая грибы, ракообразных, рыб и водные растения (Mata T.M. et al., 2010; Chisti Y., 2007).

Критерии выбора биоиндикаторов обосновываются на надежности (погрешность менее 20%), быстром действии, простоте и постоянном нахождении в природном объекте.

Простейших в качестве биоиндикатора следует использовать при сильном бактериальном загрязнении и при контроле за эффективностью биологической очистки по составу населения активного ила. Водорослям принадлежит ведущая роль в индикации качества вод в результате эвтрофирования водоемов.

Беспозвоночных животных можно использовать для оценки степени загрязнения водоемов как бытовыми, так и промышленными сточными водами (Безматерных Д.М., 2007).

Общепринятая классификация индексов и критериев для гидробиологической оценки в настоящее время отсутствует. В.К. Шитиковым с соавторами (2003) было предложено следующее условное деление: 1) оценка качества экосистемы по соотношению показателей обилия; 2) оценка качества экосистемы по индексам видового разнообразия; 3) классификация водоемов по степени сапробности; 4) оценка качества экосистемы по соотношению количества видов, устойчивых и неустойчивых к загрязнению; 5) интегральные критерии (Примак Е.А., 2020).

Индексы, основанные на индикаторных свойствах организмов

Метод оценки качества воды, основанный на системе индикаторных организмов-сапробионтов, называется сапробиологическим анализом. Известно, что под влиянием загрязняющих веществ происходят изменения в качественном и количественном составе биоценозов. Оценку производят с использованием заранее разработанных систем индикаторных организмов, с помощью которых по присутствию или отсутствию индикаторных видов или групп и их относительному количеству относят участок водного объекта или объект в целом к определенному классу чистоты природных вод.

Из различных модификаций сапробиологического анализа в настоящее время широко используется метод Пантле и Букка в модификации Сладечека (1973), выделяя по степени загрязнения 5 классов вод: χ – ксеносапробную, o – олигосапробную, b – мезосапробную, α – мезосапробную и β -полисапробную (таблица 3).

Данный метод учитывает относительную частоту встречаемости (обилие) гидробионтов h и их индикаторную значимость s (сапробную валентность). Каждому виду исследуемых организмов присвоено некоторое условное

численное значение индивидуального индекса сапробности, отражающее совокупность его физиолого-биохимических свойств, обуславливающих способность обитать в воде с тем или иным содержанием органических веществ. Индекс сапробности указывают с точностью до 0,01 и рассчитывают по формуле:

$$S = \frac{\sum_{i=1}^N (S_i \times h_i)}{\sum_{i=1}^N h_i} \quad (2),$$

где: S_i – значение сапробности гидробионта, которое задается специальными таблицами;

h_i – относительная встречаемость индикаторных организмов;

N – число выбранных индикаторных организмов (Деревенская О.Ю., 2015).

Таблица 3 - Взаимосвязь между классами качества воды и индексами сапробности (Sladeček V., 1973)

Класс качества воды	Зона самоочищения	Индекс сапробности	Качество воды
I	Ксеносапробная	0-0,5	очень чистая
II	Олигосапробная	0,5-1,5	чистая
III	Бета-мезосапробная	1,5-2,5	удовлетворительной чистоты
IV	Альфа-мезосапробная	2,5-3,5	загрязненная
V	Полисапробная	3,5-4,0	грязная
VI	Эусапробная	>4,0	очень грязная

Характеристики зон сапробности (Дроздов В.В., 2020; Барина С.С., 2002):

- ксеносапробная зона (χ) – органическое загрязнение отсутствует;
- олигосапробная зона (o) - органическое загрязнение отсутствует или незначительная загрязненность. Вода насыщена кислородом, углекислого газа

мало, сероводорода нет;

- бета-мезосапробная зона (β) – средняя степень органического загрязнения, для которого характерны аэробные условия в результате фотосинтетической аэрации. Отмечается обилие автотрофных организмов с высоким биоразнообразием, но малой численностью и биомассой. Вода, обычно, прозрачная или слегка мутная, в основном не окрашенная, без запаха. Наблюдается цветение воды в связи со значительным развитием фитопланктона;

- альфа-мезосапробная зона (α) – высокая степень органического загрязнения. Протекают окислительно-восстановительные процессы, начинается аэробный распад органических веществ, образуется аммиак, углекислота. Кислорода мало, но сероводорода и метана нет. БПК₅ составляет десятки миллиграмм в литре. Преобладают растительные организмы с гетеротрофным и миксотрофным питанием. Вода, чаще всего, темно-серого оттенка с запахом гнили или неприятным запахом из-за наличия H₂S или остатков белков и углеводов, которые образовались в результате брожения;

- полисапробная зона (ρ) – органическое загрязнение очень сильное. Идут быстрые процессы деградации и обычно анаэробные условия. Наблюдается присутствие белковых продуктов разложения, пептонов и пептидов, сероводорода, аммиака и двуокиси углерода, дефицит кислорода и ингибирование процесса фотосинтеза. На дне водоема много детрита, идут восстановительные процессы, железо присутствует в форме FeS, ил черный с запахом H₂S. Присутствует большое обилие сапрофитной микрофлоры.

Многие виды-индикаторы встречаются в водах 2, 3 или 4-х зон сапробности, что является причиной неточности при установлении средней сапробности биоценоза (Деревенская О.Ю., 2015).

Методы оценки качества вод по фитопланктону

Одним из практических объектов, широко используемых в биологическом

мониторинге, являются фототрофные микроорганизмы (микроводоросли и цианобактерии), их применение в экотоксикологической практике определено их первоочередной ролью в экосистемах (Баринова С.С. и др., 2002; Никаноров А.М. и др., 2000). К тому же, они более чувствительны к загрязнениям, чем многоклеточные организмы, поскольку высокая удельная поверхность их клеток способствует быстрому накоплению токсичных веществ (Темралеева А.Д. и др., 2014; Guillard R.R.L., 2005; Заядан Б.К., 2015).

Водная экосистема формируется под влиянием и в результате процессов, происходящих в водоеме. Интенсивность загрязнения биогенными веществами отражается не только на обилии водорослей, но и на их видовом составе. Как правило, изменение численности и видового состава водорослей с переменной трофической базы применяются в методах биоиндикации.

Водоросли играют ключевую роль в индикативной оценке изменений качества воды, обусловленные процессами эвтрофикации водоема. Индикаторные свойства фитопланктона определяются не только фактом присутствия или отсутствия определенных видов, но и степенью их количественного развития. В связи с этим, изучение таких структурных показателей, как видовой состав, численность, биомасса и пространственное распределение водорослей в водоеме, имеют важное практическое значение (Ашихмина Т.Я., 2006).

Являясь автотрофными микроорганизмами, водоросли составляют фундамент трофической пирамиды и поэтому первыми участвуют в употреблении трофической базы экосистемы, используя биогенные соединения азота и фосфора для построения органического вещества.

Фитопланктон – это один первостепенных компонентов водных систем, который интенсивно участвует в формировании качества воды, являясь чувствительным индикатором состояния водных экосистем, и водоема в целом. Фитопланктон наиболее распространенная и хорошо изученная из всех

экологических групп водорослей. Состав фитопланктона имеет большую видовую насыщенность. Анализ видового состава, обилия и количественного развития видов фитопланктона входят во все программы экологического мониторинга водоемов.

Оценка экологического состояния водоемов Северного региона Казахстана, в котором расположено около 21 500 озер, на сегодня является актуальной проблемой в связи с возрастанием интереса к данному региону как перспективному в рекреационном отношении и укреплению статуса особо охраняемой территории (Абжалелов А.Б. и др., 2017).

Таким образом, анализ структуры сообщества водорослей с использованием различных индексов дает возможность провести оценку экологического состояния водоемов. Возрастает значимость исследований, направленных на поиск научно обоснованных мероприятий и разработку эффективных методов по снижению загрязнения и последующего восстановления водоемов для обеспечения получения значимой экологически чистой продукции объектов аквакультуры.

1.3 Развитие и современное состояние аквакультуры

В XX и XXI веках в сельскохозяйственном секторе произошли значительные изменения, вызванные такими инновациями как внедрение новых технологий и современных систем производства. Аквакультура, которая играет важную роль в текущем и будущем обеспечении продовольствием, теперь сталкивается с новыми проблемами: повышение эффективности использования ресурсов, устранение негативных и чрезмерных воздействий на климат и снижение экологической деградации ресурсной базы (Всемирный доклад, 2018).

Аквакультура - одно из самых важнейших направлений, обеспечивающее продовольственную безопасность. Нарращивание аквакультуры решает такие

важнейшие общегосударственные вопросы как обеспечение населения рыбой и другими гидробионтами, снижение импортозависимости, сохранение запасов водных биоресурсов и биоразнообразия (Багров А.М., 2004; Богерук А.К., 2006).

Развитие аквакультуры важно для достижения целей устойчивого развития всего человечества. Опережающие темпы развития аквакультуры имеют глобальный характер и превосходят темпы роста населения (Romanova E.M. et al., 2022; Pinnegar J.K. et al., 2020).

Аквакультура заняла приоритетное направление государственной политики большинства развитых стран мира. В современном мире более 50% рыбы, потребляемой населением, культивируется в аквакультуре. Фаворитами в этой области являются Китай, Вьетнам, Норвегия. На сегодняшний день рыба и рыбопродукты стали наиболее востребованным продуктом питания благодаря своей уникальной питательной ценности (Usyduz Z. et al., 2011). Известные и крупнейшие производители кормовой индустрии аквакультуры создают высококачественные инновационные корма нового поколения, оказывающие увеличение скорости роста и коэффициента конверсии корма, корректирующие важные показатели рыбы, снижающие риски развития заболеваний и улучшающие качество и питательную ценность рыбы (Hussain M., 2021; Garcia-Vaquero M., 2016; Mulumpwa M., 2018).

Культивирование рыб и других водных животных в искусственных условиях рассматривают как альтернативу для дальнейшего увеличения производства рыбы. В свою очередь, развитие аквакультуры доказало ее экономические преимущества настолько, что теперь можно говорить о рождении новой ветви мировой экономики – аквакультуры (Камилов Б.Г. и Юлдашов М.А., 2020). В нынешнее время пищевая продукция из водных биоресурсов представляет важную роль в обеспечении продовольственной и пищевой безопасности в мире, чем когда бы то ни было ранее.

В условиях промышленной аквакультуры, в которой создаются

искусственные условия при выращивании рыбы, нет зависимости от климатических и географических особенностей местности, это делает возможным разводить рыбу в достаточно благоприятных условиях (Badiola M. et al., 2012). Развитие аквакультуры в разных странах происходит по разным направлениям: в некоторых ориентация идет на массовые и недорогие объекты, в других - на деликатесы и дорогие виды. Это связано, в свою очередь, с традициями питания населения. Современная аквакультура практически всех стран связана с культивированием объектов, пользующихся огромным и стабильным спросом на рынке, например, лосось и карп, креветки и гребешки, которые обеспечивают быстрый рост объемов производства и высокую рентабельность (Состояние мирового рыбоводства, 2018). Кормозатраты на производство пищевого белка, полученной из аквакультуры в 5 раз меньше, чем на производство аналогичного количества из говядины (Отчет о воздействии, 2021).

В 2020 году для непосредственного потребления человеком использовалось свыше 157 млн. тонн, или 89% водных животных, и вопреки воздействию пандемии COVID-19, данный показатель увеличился по сравнению с 2018 годом.

В 2020 году около 70% от всего объема производства водных животных в рыболовстве и аквакультуре приходилось на страны Азии, затем на страны Северной и Южной Америки, Европы, Африки и Океании. Главенствующую роль по объему производства рыбной продукции занимал Китай, лидирующие позиции занимали Индонезия, Перу, Российская Федерация, США, Индия, Бангладеш, Египет и Вьетнам.

Повышение спроса на рыбу и другие виды пищевой продукции из водных биоресурсов обеспечивает предпосылки для стремительных изменений в секторе рыболовства и аквакультуры. Предполагается, что общий объем производства, который будет обеспечиваться в основном за счет аквакультуры,

в 2027 году впервые достигнет 100 млн. тонн, а в 2030 году составит 106 млн. тонн (Рекордный объем, 2022).

По данным Всемирного доклада ООН (2018), в 2016 году в мире насчитали более 590 объектов аквакультуры, из них костных рыб – 369, моллюсков - 109, ракообразных - 64, амфибий и рептилий - 7, водных беспозвоночных - 9, водных растений - 40 видов. Культивирование ракообразных, моллюсков и других животных в части разнообразия видов пока намного уступает по объемам выращивания рыб.

Самыми культивируемыми объектами в мире являются белый амур (в 2016 году - 11% от мировой аквакультуры), белый толстолобик (10%), карп (8%), нильская тилапия (8%), пестрый толстолобик (7%), караси (6%). В список самых культивируемых объектов также входят катля, атлантический лосось, роху, сомы-пангасиусы, ханос, тилапии, клариевые сомы, учанский лещ, радужная форель, на долю каждого из которых приходится 2– 6 % от всей продукции (Камилов Б.Г. и Юлдашов М.А., 2020).

В 2050 году население достигнет более десяти миллиардов человек, однако земля, вода и пищевые ингредиенты для поддержки этого роста ограничены. Ученые и мировые лидеры работают сообща, чтобы принимать стратегические решения, разрабатывать политику по использованию имеющихся ресурсов и максимизации производства для обеспечения продовольственного суверенитета (Villanueva M. et al., 2022; Niu S. et al., 2022).

В настоящее время аквакультура является приоритетной и стремительно развивающейся сельскохозяйственной отраслью не только в мире, России, но и в Казахстане.

В 2021 году объем производства продукции товарной аквакультуры в России вырос на 8,5% в сравнении с 2020 годом (356,6 тыс. тонн). Традиционно лидерами по объему производства аквакультуры являются Северо-Западный и Южный федеральные округа, где в 2021 году выращено 122 тыс. тонн товарной

аквакультуры. В тройку лидеров вошел Дальневосточный федеральный округ с показателями 57 тыс. тонн. В структуре производства в число основных сегментов вошли лососевые, карповые и растительноядные, осетровые виды рыб, а также ценные гидробионты - устрицы, мидии, гребешки и другие моллюски и иглокожие (Объем производства аквакультуры, 2022).

Рыбоводство и аквакультура являются важной пищевой составляющей экономики Казахстана как основа экономического роста и занятости населения. В результате определена долгосрочная Концепция развития рыбной отрасли страны, которая предусматривает сохранение, воспроизводство и рациональное использование рыбных ресурсов, рыбохозяйственных водоемов, развитие рыбодобывающей и рыбоперерабатывающей промышленности, коммерческого рыбоводства. Лидерами по искусственному выращиванию объектов аквакультуры в Казахстане являются южные регионы: Туркестанская, Алматинская и Восточно-Казахстанская области.

В Послании Первого Президента Республики Казахстан Н.А. Назарбаева народу Казахстана «Стратегия Казахстан – 2050» обозначена цель достижения значительного прогресса в развитии аграрного сектора (Послание Главы государства, 2020).

В современных экономических условиях нашей страны акцент в развитии сельскохозяйственного производства должен быть сделан на преимущественное использование отечественного сырья и внутренних природных ресурсов в целях снижения импортозависимости и обеспечения продовольственной безопасности (Бадрызлова Н.С. и др., 2017).

Основными направлениями деятельности в рыбном хозяйстве Казахстана являются рыболовство и рыбоводство. В настоящее время более 1600 водоемов закреплено за 1200 субъектами, в которых промыслом рыбной продукции занято свыше 12 тыс. человек.

Основными регионами развития рыболовства в Казахстане являются

Атырауская, Алматинская, Восточно-Казахстанская и Кызылординская области с прилегающих к ним крупным рыбохозяйственными водоемами – Каспийским море, Аральским морем, озерами Балхаш, Зайсан и др. Переработкой рыбной продукции заняты 72 предприятия, из которых 17 соответствуют высоким требованиям и имеют право экспорта рыбной продукции в страны Европейского Союза. Остальные предприятия нацелены на внутренний рынок сбыта и страны ближнего и дальнего зарубежья.

Наряду с сохранением и устойчивым использованием природных ресурсов естественных водоемов запланирована постепенная переориентация от рыболовства к рыбоводству. Так, к 2030 году планируется выращивать до 270 тыс. тонн рыбы в год, увеличив при этом внутреннем потреблении рыбной продукции до 134 тыс. тонн в год и снизив объем импорта с 45 до 25 тыс. тонн в год. В сравнении с 2020 годом количество рыбоводных хозяйств увеличилось почти вдвое и в 2022 году составило 380 тыс. тонн в год. Объем выращенной рыбы также за последние 5 лет увеличился с 3 до 15 тыс. тонн в год (Как развивается, 2022).

Глава государства К. Токаев в своем Послании обратил особое внимание на развитие рыбного хозяйства, отметив, что водные ресурсы Казахстана позволяют выращивать до 600 тыс. тонн рыбы, что делает возможным увеличить экспорт в 10 раз (Послание Главы государства, 2020). В соответствии с этим поручением Правительством инициирован ряд изменений в законодательстве, а также разработана Госпрограмма развития рыбного хозяйства РК на 2021–2030 годы, в которой предусмотрены механизмы стимулирования рыбоводства и расширения зоны производства аквакультуры.

Территория республики разделена на 6 рыбоводных зон прудового выращивания по продолжительности вегетационного периода. По пастбищному рыбоводству все озера разделены на зону выращивания сиговых, карповых и лососевых видов рыб (Аквакультурный концепт, 2021).

Ежегодно в рамках бюджетной программы 038 «Воспроизводство рыбных ресурсов» предприятиями Комитета рыбного хозяйства МСХ РК в целях сохранения рыбных ресурсов проводят зарыбление хозяйственных водоемов страны. Регулярно выращиваются и выпускаются до 158,4 млн. мальков, в том числе: Майбалыкским рыбопитомником - 41,0 млн. штук, Атырауским осетровым рыбоводным заводом - 7,0 млн. штук, Камышлыбашским рыбопитомником - 15,2 млн. штук, Петропавловским и Карагандинским рыбопитомниками - 86,0 млн. штук, Капчагайским НВХ - 8,4 млн. штук. Основными объектами разведения на данных предприятиях являются растительноядные виды рыб, карповые, осетровые и сиговые (Рыбный бизнес, 2017; Жаркенов Д.К., 2018).

Основными проблемами рыбоводства Казахстана можно назвать: недостаточная обеспеченность рыбоводных хозяйств спецкормами, устаревшее оборудование и отсутствие современных технологий выращивания рыбы, а также нехватка финансирования и несовершенство нормативно-правовой базы по аквакультуре. Эффективность процесса выращивания товарной рыбы в аквакультуре зависит от количества и качества потребляемых кормов и их переваримости. Также недостатком можно назвать преимущественное ориентирование казахстанского рыбоводства лишь на производство карпа, на его долю приходится до 90% от всей произведённой в стране рыбы (Жаркенов Д.К., 2018).

Для успешного системного развития аквакультуры необходимо внедрение инновационных методов, основанных на новейших научных достижениях. Одним из таких методов может служить разработка новых специализированных кормов для рыбоводства, включающих пробиотические микроорганизмы. ФАО определила, что для обеспечения безопасности рыбной продукции и окружающей среды, а именно здоровья выращиваемых объектов, безопасности продуктов питания, охраны окружающей среды, социальных и экономических

аспектов необходимо сосредоточить внимание на пробиотиках (Инновации в аквакультуре, 2019). В настоящее время в мире уже имеется достаточно значительная доказательная база их эффективности в прудовых хозяйствах. Пробиотики в кормах оказывают существенное влияние в поддержании здоровья животных. Они активизируют специфические и неспецифические системы защиты организма, стабилизируют пищеварительные процессы, укрепляют иммунитет и устойчивость к заболеваниям, способствуют лучшему усвоению кормов, а также способствуют увеличению скорости роста (Ильяшенко А.Н., 2022; Сизенцов А.Н. и др., 2023).

Таким образом, применение и использование пробиотиков в аквакультуре значительно оказывают влияние на водные организмы не только посредством прямого воздействия на микробиоту кишечника, но и опосредованно, через повышение качества воды. Здесь одновременно решаются две важные задачи – улучшение зоотехнических показателей и профилактика заболеваний различной бактериальной этиологии. Обусловленность развития органической аквакультуры с использованием пробиотических веществ становится актуальной альтернативой терапии антибиотиками (Романова Е.М. и др., 2017).

Производство пробиотиков является экологически чистой технологией, что нашло отражение в Концепции по переходу Республики Казахстан к «Зеленой экономике».

В этом контексте для развития отечественной аквакультуры необходимо проводить поиск местных ингредиентов для производства отечественных кормов, используемых в рыбоводстве, а также изучить возможность введения полноценных биологических добавок, в частности пробиотических препаратов, широко используемых в кормлении сельскохозяйственных животных, птиц и рыб, а также в пищевой промышленности (Бадрызлова Н.С. и др., 2017).

1.4 Микробные препараты как инструменты экологического мониторинга и реабилитации водных экосистем и аквакультуры

1.4.1 Биотехнологический потенциал микроводорослей для использования в различных отраслях

Микроводоросли - одни из самых уникальных микроскопических одноклеточных организмов с широким спектром физиолого-биохимических характеристик. В процессе фотосинтеза они преобразуют световую энергию и выполняют важную трофическую функцию. Высокая продуктивность биомассы и интенсивные темпы роста определяют их значительный биотехнологический потенциал, включая получение белков, липидов, углеводов, каротиноидов и витаминов. В настоящее время биотехнология микроводорослей активно развивается (Spolaore P. et al., 2006; Borowitzka M.A., 2013; Wijffels R.H. et al., 2013; Bogdanova A.A., 2018).

Применение микроводорослей в научно-исследовательских и промышленных целях непрерывно увеличивается. Интерес к фототрофным микроорганизмам обусловлен их высокой скоростью накопления биомассы (в 20-30 раз выше по сравнению с традиционными сельскохозяйственными культурами), а также возможностью их культивирования без использования пахотных земель – на рекультивируемых территориях и с применением сточных вод различных предприятий (Renewables, 2013).

Из всех видов микроводорослей, используемых в качестве объекта массового культивирования, доминирует зеленая микроводоросль *Chlorella vulgaris*, обладающая большой биологической ценностью и содержащая до 60% белка с набором всех незаменимых аминокислот, до 8% липидов, представленных преимущественно ненасыщенными жирными кислотами, являющаяся ценным источником многих биологически активных веществ,

витаминов, микроэлементов (Сальникова М.Я., 1977; Bishop W.M., 2012; Markou G., 2013; Oh S.T. et al., 2015). Всего в хлорелле обнаружено более 650 различных веществ.

К тому же зеленые водоросли составляют основную благоприятную кормовую базу для гидробионтов (Богданов Н.И. и Асанов А.Ю., 2011). Развитие хлореллы в загрязненных водоемах приводит к улучшению их санитарного состояния. Хлорелла подавляет рост болезнетворных бактерий, что даёт возможность использовать эти водоёмы для целей рекреации (Богданов Н.И., 2008).

В последние десятилетия в ряде стран усилились мероприятия по массовому культивированию хлореллы, несмотря на сравнительно небольшой масштаб этой отрасли, по сравнению с коммерческим производством макроводорослей, объем которого достигает 25 млн. тонн сырой массы (Макарова Е.И. и др., 2019; Шалыго Н.В., 2018).

В настоящее время более 60 стран занимаются промышленным получением микроводорослей, а в таких странах, как США, Мексика, Таиланд, Китай и Япония производство водорослей достигает более 30 000 тыс. тонн в год (Хвойников А.Н. и др., 2021). Сегодня микроводоросли стали объектом интенсивных исследований во многих странах мира, лидерами из которых являются страны Европейского союза и США. Интерес к таким разработкам подтверждается инвестициями со стороны крупных нефтяных компаний, таких как Exxon Mobil, BP, Chevron и др. в научные исследования применения микроводорослей для решения актуальных задач биоэнергетики (Рустамов Н.А. и др., 2005).

Коммерческим производством биомассы микроводорослей в мире занимаются крупные компании как Royal Dutch Shell (Гавайские острова), Algae Bio Fuels (США, Алабама), Aqua flow Bionomic Corporation (Новая Зеландия), Mitsubishi Corporation (Япония), Ingrepro (Нидерланды), Agro Hayat LLC

(Турция) и другие. В России производством хлореллы занимаются такие предприятия как ООО НПО «Альгобиотехнология», планктонный штамм хлореллы ИФР С-111 (Нововоронеж), ООО «Дело», планктонный штамм хлореллы ИФР С-111 (Пензенская область), Компания "NEWBIX" (Москва), «Живая хлорелла *Chlorella living*» (Перьм), Компания «Лаборатория Одной Клетки» (Москва), ООО «Легион Центр», ИГОО «Экологическая группа», *Clorella vulgaris* штамм «157» (Иркутск), компания «Альготек», планктонные штаммы *Chlorella vulgaris* GKO и *Chlorella sorokiniana* AGT (Тверь) для использования в различных отраслях. В Казахстане производством суспензии хлореллы *Chlorella vulgaris* SKO занимается ТОО «Научно-технологический центр воды (Петропавловск) для очистки водоемов, а также фермерства и садоводства.

Благодаря простой технологии производства, высокой скорости роста, возможности круглогодичного культивирования в контролируемых условиях и метаболической пластичности, хлорелла является классическим объектом промышленной биотехнологии. В настоящее время хлорелла широко используется в различных отраслях: агробиотехнологии, медицине, косметологии, производстве парфюмерии и красителей, в химической и пищевой промышленности, в качестве ферментов и других биологически активных веществ (Макарова Е.И. и др., 2009; Мельников С.С. и Мананкина Е.Е., 2010; Лукьянов В.А. и Стифеев А.И., 2014; Шалыго Н.В., 2018). Микроводоросли нашли широкое применение и в экологической биотехнологии – в альголизации природных водоемов, очистке сточных вод, биоремедиации почв, загрязненных нефтью и нефтепродуктами (Михеева Т.М., 2018; Фролова М.В. и др., 2018).

В животноводстве и птицеводстве хлорелла используется как источник высококачественного белка (до 60% сухой массы), витаминов, каротиноидов и незаменимых аминокислот (Becker E.W., 2004). Добавление хлореллы к корму

способствует укреплению иммунитета, улучшению обмена веществ и повышению продуктивности животных (Spolaore P. et al., 2006). Ферменты и полисахариды хлореллы улучшают микрофлору кишечника, повышают усвояемость питательных веществ и снижают затраты на корма (Kováčik J. et al., 2013).

Включение хлореллы в рацион стимулирует увеличение привесов: у поросят на 9-15%, у телят на 10-12%, у бройлеров на 7-12%, а также улучшается конверсия корма на 4-8%. У кур-несушек повышается яйценоскость на 9-13%, масса яиц увеличивается на 3-5%, содержание в них β -каротина на 25-30%. У коров увеличивается надой молока на 15-20%. Вскармливание хлореллой снижает уровень респираторных инфекций у телят на 18-22%, смертность птенцов бройлеров от кишечных инфекций на 15-20%, уровень диареи у поросят на 30% (Becker E.W., 2004; Sugiharto S. et al., 2019). В пчеловодстве скармливание суспензией хлореллы перед первым сбором меда существенно увеличивает силу пчелиных семей, повышая сбор меда до 40% (Мельников С.С. и Мананкина Е.Е., 2010).

Регулярное внесение суспензии хлореллы в рыбоводные пруды повышает численность кормовых гидробионтов, улучшает гидрохимический и кислородный баланс, что в свою очередь, приводит к увеличению продуктивности поликультуры (толстолобик, белый амур, карп) до 40% (Богданов Н.И., 2002). Хлорелла является ценным компонентом пищевой цепи в аквакультуре, служа кормом для зоопланктона (дафнии, артемии), который употребляют молодь рыбы, улучшая при этом рост на 10-15% (Xu N. et al., 2014), конверсию корма на 8-12% и снижая смертность на 10-20% за счет усиления иммунного ответа (Jahangiri L., Esteban M.Á., 2018). Хлорелла подавляет развитие патогенных бактерий благодаря антимикробным свойствам. Введение хлореллы в систему рециркуляции аквакультуры снижает содержание болезнетворных бактерий (*Vibrio spp.*) на 40-60%, уменьшая при этом

заболеваемость рыб (Tlusty M.F. et al., 2017).

Суспензия хлореллы обогащает почву органическими веществами, стимулирует рост полезных почвенных микроорганизмов, улучшает структуру почвы, способствует накоплению гуминовых веществ и усвоению микроэлементов. Экстракты хлореллы содержат фитогормоны, аминокислоты и витамины, стимулирующие рост и развитие растений (Вайшла О.Б., 2011). Обработка семян и корневых систем растений улучшает всхожесть (до 99%) и ускоряет рост проростков на 20–50%. Хлорелла повышает иммунитет и устойчивость к таким стрессовым факторам как засуха, акклиматизация, пересадка (Долина Л.Ф., 2011). Благодаря антимикробным свойствам, хлорелла способствует снижению заболеваний растений, подавляя развитие патогенной микрофлоры. Некоторые соединения, выделяемые хлореллой, действуют как природные фунгициды и бактериостатики (Becker E.W., 2004).

Биомассу хлореллы довольно широко используют и в фармакологии. Например, волокнистое вещество, из которого состоят стенки клеток хлореллы, оказывает особый эффект на кишечник, стимулирует выработку интерферона, который обладает противораковым потенциалом (Грибовская И.В. и др., 2011). Сверхпрочные стенки клетки позволяют ей быть стойкими к действию различных токсических факторов, обладая при этом бактерицидными свойствами и способной нейтрализовать действие различных ядовитых веществ (Adams M., 2004). Пигменты хлореллы обладают множеством таких терапевтических свойств как антиоксидантная активность, защитный эффект при дистрофии сетчатки глаза, снижении уровня холестерина в крови, предупреждение сердечно-сосудистых заболеваний, иммуномодуляция (Safi C. et al., 2014).

Хлореллу применяют в качестве биологически активной добавки (БАД) для укрепления иммунитета, против раковых заболеваний, как общеукрепляющее средство, особенно, для ослабленных больных. Препараты

из водоросли увеличивают скорость заживления ран, экзем, ожогов, препятствуют облысению, стабилизируют работу желудочно-кишечного тракта, восстанавливают потенцию и прочее. Хлореллу используют в виде порошков, мазей, спиртовых и масляных экстрактов, свечей и таблеток.

В некоторых странах хлореллу применяют в целях обогащения продуктов питания биологически ценными питательными веществами (Görs M. et al., 2010). Хлореллу применяют в качестве полезной пищевой добавки в Японии и ряде других стран в кондитерские изделия, мороженое. Так использование хлореллы в хлебопекарном производстве способствует улучшению работы дрожжей (Стребков Д.С. и др., 2008).

Микроводоросли представляют собой перспективную альтернативу биотопливу из растительного сырья (Safi C. et al., 2014). *Clorella vulgaris* способна накапливать значительное количество липидов, особенно при культивировании в миксотрофных условиях. Профиль ее жирных кислот соответствует требованиям производства биодизеля в различных странах (Wang K. et al., 2013). Кроме того, высокое содержание крахмала в клетках хлореллы делает ее перспективным источником для получения этанола (Chaudhary L. et al., 2014). Преимущество использования хлореллы для получения биодизеля – высокий круглогодичный выход биомассы (Микроводоросли, 2015).

Хлорелла способна активно поглощать соединения азота и фосфора, тяжелые металлы, снижая уровень загрязнения воды, что помогает минимизировать негативное воздействие на окружающую среду в замкнутых системах водопользования (Chisti Y., 2007). Различные вещества, продуцируемые хлореллой физиологически активны и способны окислять разного происхождения поллютанты до простых веществ. При этом происходит снижение концентрации загрязняющих элементов более чем на 90%, а обеззараживание – примерно на 100% (Торопов А.Ю. и др., 2020).

Доказано, что альголизация водоемов планктонным штаммом хлореллы

нормализует гидробиологический режим, предохраняет их от «цветения» сине-зелеными водорослями, которые в процессе массового развития выделяют цианотоксины, губительно действующие на всех гидробионтов (Богданов Н.И., 2002; Багданов И.И., 2007; Мелихов и др., 2008; Кульнев В.В. и Почечун В.А., 2016; Калайда М.Л. и др., 2016). Использование микроводорослей для доочистки сточных вод позволяет решить проблему увеличивающейся эвтрофикации поверхностных водоемов (Тренкеншу Р.П. и др., 2009).

Главная задача, которая стоит перед специалистами в области альгологии – это поиск высокопродуктивных и перспективных штаммов микроводорослей и оптимизация условий их культивирования. Это играет очень важную роль для обеспечения возможности широкомасштабного промышленного производства биомассы микроводорослей для расширения спектра их использования (Микроводоросли, 2015; Попков Н.А., 2007).

Микроводоросли играют важную роль в решении глобальных проблем человечества. Их эффективное использование и минимизация негативных экологических последствий возможны при детальном изучении альгофлоры, закономерностей распределения и развития видов в водных экосистемах с учетом их биологических особенностей (Макарова Е.И., 2009).

Таким образом, хлорелла обладает высокой перспективностью в различных отраслях благодаря своему богатому биохимическому составу и полезным свойствам. Применение хлореллы в биотехнологиях открывает возможность для производства биотоплива, фармацевтических и косметических препаратов, безопасных препаратов для растениеводства, животноводства, аквакультуры, а также способствует устойчивому развитию и повышению эффективности природопользования, снижая при этом экологическую нагрузку.

1.4.2 Использование микробных технологий для биоремедиации водных экосистем

По прогнозам, в ближайшие десятилетия предполагается дальнейшее ухудшение качества воды, что может привести к угрозе для здоровья человека, окружающей среды и устойчивого развития экосистемы. Во всем мире преобладающей опасностью для качества воды является проблема биогенной нагрузки, которая, в зависимости от региона, часто бывает связана с патогенной нагрузкой. На качество воды оказывают влияние также сотни химических веществ (Всемирный Доклад ООН, 2018).

Ухудшение качества воды в поверхностных источниках обусловлено в основном их постоянным загрязнением веществами антропогенного происхождения: нефтепродуктами, поверхностно-активными веществами, органическими и биогенными элементами и т.д., что связано с недостаточной глубиной очистки сточных вод. Это свидетельствует о том, что технологии и сооружения, спроектированные в 60-70-х годах прошлого века, не справляются с современной антропогенной нагрузкой. В связи с применением новых синтетических моющих средств содержание биогенных элементов с каждым днем увеличивается, что приводит к изменению состава хозяйственно-бытовых сточных вод (Долина Л.Ф., 2011).

В последние годы процесс очистки водоемов имеет большое экологическое значение. Функционирование предприятий, особенно расположенные в городах наносит непоправимый ущерб экологии. Повышение требований к качеству поверхностных водоемов заставляет искать более эффективные и экологически безопасные способы удаления загрязнений (Саинова В.Н. и др., 2018).

Увеличение концентрации биогенных веществ приводит к процессу эвтрофикации водоемов, что приводит к повышению первичной продукции

водоемов, что создает основу для развития более богатой кормовой базы рыб и других гидробионтов, увеличению их количества и вместе с этим к ухудшению качества воды из-за их «цветения», снижению прозрачности и содержания в ней кислорода. Антропогенная эвтрофикация обусловлена поступлением биогенных веществ со сточными водами, в том числе поверхностными, и отличается от естественной эвтрофикации высокой скоростью процесса (Новикова О.К., 2019).

В процессе очистки сточных вод от биогенных элементов приоритетное внимание уделяется удалению азота и фосфора. Среди различных методов их устранения наиболее экономически эффективными являются биологические (Долина Л.Ф., 2011). Биологическая очистка основана на способности микроорганизмов усваивать в качестве источников питательных веществ различные органические и неорганические соединения, присутствующие в загрязненных водах (Ручай Н.С. и Маркевич Р.М., 2006).

Для биоремедиации загрязненных экосистем обычно используют биопрепараты на основе бактерий, мицелиальных грибов и дрожжей, а также высших растений (Сафонова Е.Ф., 2004). Однако до сих пор не разработано ни одного механизма, способного защитить водные объекты как от экзогенного, так и от эндогенного загрязнения. В связи с чем, современные технологии очистки воды нуждаются в поиске организмов, максимально продуктивно использующих загрязняющие вещества, и создания устойчивых ремедиационных ценозов, обеспечивающих устойчивый процесс биodeградации всех синтезируемых человеком загрязняющих веществ.

Применение бактериальных консорциумов для очистки сточных вод и природных водоемов является перспективным и активно развивающимся направлением экологической биотехнологии. В основе метода биоочистки водных ресурсов лежит способность гетеротрофных и автотрофных микроорганизмов использовать в качестве источников питания разнообразные

органические соединения, подвергая последние биохимическим превращениям. Микроорганизмы являются хорошим индикатором для мониторинга экологического состояния водных экосистем (Usharani K. et al., 2017).

Микроорганизмы, прежде всего бактерии, играют важную роль в природе. Они являются основной частью биомассы экосистемы планеты, осуществляя биологическую минерализацию органических веществ и являются основой круговоротов различных биогенных элементов (Огородникова Н.П. и др., 2009).

Наиболее изученными бактерии являются представители родов *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Micrococcus*, *Acinetobacter*, *Rhodococcus*, *Serratia*, дрожжи *Yarrowia*, *Saccharomyces*, которые обладают различными видами биологической активности, которые являются важными при скрининге и разработке перспективных биопрепаратов для биоремедиационных работ от загрязнений различного происхождения.

Микроводоросли и микроорганизмы играют важную роль в реабилитации техногенных водных экосистем, обеспечивая фотосинтетическую аэрацию, синтез биологически активных соединений, а также участвуя в удалении некоторых поллютантов посредством аккумуляции, трансформации и минерализации (Вайшля О.Б., 2011). В отличие от других представителей микрофлоры, водоросли способны к полной утилизации фосфора, что позволяет эффективно извлекать биогенные элементы из водной среды (Кузнецов А.Е. и Градова Н.Б., 2006).

Внесение автохтонных микроорганизмов в водоемы способствуют активному их размножению в воде, при этом происходит процесс переработки органических остатков, являющихся их питательной средой: отмерших водорослей, продуктов жизнедеятельности рыб, листьев, мелкой взвеси, которые снижают прозрачность воды. Конечным результатом переработки становится их расщепление на углекислый газ, выветривающийся из водоема, и на чистую воду. В процессе жизнедеятельности микроорганизмов

перерабатываются осадки без отрицательного воздействия на экосистему водоема. Следует отметить, что с помощью биопрепаратов представляется возможным проводить эффективную очистку как в небольших, так и больших объемах.

На сегодняшний день производством биопрепаратов на основе активных микроорганизмов занимаются крупные производители как Ecological Labs (США), OASE (Германия), Biotifx (США), BluKlar (Польша), BIOZIM (США), A&V Envirotech (США), Organica Technologies (Венгрия). Наибольшее применение находят препараты российского производства ООО «Биотехагро» (Тимашевск), «Микрозим Понд Трит» компании «ProVodoem» (Москва), «BioBooster» компании ООО «Прудовой» (Балашиха), ООО «БиоБак» (Дедовск), «Micropan Aqua Clear» компании «Аква Композит» (Санкт-Петербург), «Байдос» компании «Биомедхим» (Уфа), «Multibac Stimul» Уральского промышленного холдинга АМК-Групп и др.

Природные автохтонные микроорганизмы выполняют ключевые функции, включая разложение органических соединений, утилизацию различных веществ и защиту рыбы от инфекций. Применение эффективных и экологически безопасных микробных препаратов, биофильтров и пробиотиков обеспечивает повышение производственных показателей, регуляцию и улучшение состояния водных экосистем (Towards gender-equitable, 2017).

В связи с чем, использование биологических методов биоремедиации водоемов, а именно микроорганизмов-деструкторов биогенных и органоминеральных элементов в настоящее время необходимо ввиду ухудшения экологической ситуации не только в стране, но и в мире. Вышеизложенные данные указывают на возможность использования бактериальных консорциумов для понижения нагрузки органических веществ в водоемах с высокой эвтрофикацией.

1.4.3 Применение пробиотиков для обеспечения устойчивости аквакультуры

Одним из ключевых факторов, ограничивающих развитие аквакультуры, являются заболевания рыб, обусловленные высокой плотностью посадки. Интенсивное рыбоводство сопровождается чрезмерной органической нагрузкой на среду, что создает условия для развития условно-патогенной и патогенной микробиоты, снижающей продуктивность отрасли, нанося непоправимый ущерб (Романова Е.М., 2017). При этом инфекционные процессы не всегда проявляются клиническими симптомами (Коротова Д.М., 2015).

Антибиотики традиционно используются для борьбы с бактериальными инфекциями и предотвращения гибели рыб, однако их эффективность снижается из-за устойчивости патогенных микроорганизмов (Serrano E.P., 2005).

Неконтролируемое применение, неправильный подбор препарата, дозировки и продолжительности лечения способствуют распространению антибиотикорезистентных штаммов, что представляет глобальную проблему (Laxminarayan R. et al., 2013; Sumpradit N. et al., 2012). В связи с этим, в ряде стран введены запреты на использование некоторых антибиотиков вследствие их экологической опасности и потенциального канцерогенного действия (Serrano E.P., 2005).

Остаточные количества антибиотиков в продукции аквакультуры накапливаются в организме человека, что способствует дисбактериозу и развитию резистентности к антибиотикам (BurrIDGE L. et al., 2010), распространению аллергических реакций даже в минимальных дозах (Шульгина Л.В. и др., 2015).

В этой связи, в настоящее время в аквакультуре широко используются различные пробиотические препараты для профилактики заболеваний и

поддержания нормального физиологического состояния гидробионтов (Артюхова С.И., 2004). Применение пробиотических препаратов способствует профилактике дисбактериозов у молоди рыб (Кошак Ж.В., 2016) и является перспективным направлением современной аквакультуры (Ларионов С.В., 2018). Пробиотические добавки на основе живых бактерий рассматриваются как эффективная альтернатива антибиотикам (Горковенко Л.Г., 2011; Максим Е.А., 2014).

ВОЗ и ФАО описывают пробиотики как живые микроорганизмы, которые в адекватных количествах приносят пользу для здоровья хозяина (Probiotics in Food, 2006).

Пробиотики стимулируют рост полезной микрофлоры и укрепляют естественные защитные механизмы организма (El-Ezabi M.M., 2011). В отличие от антибиотиков, механизм их действия направлен не на уничтожение кишечных микроорганизмов, а на заселение кишечника конкурентоспособными штаммами бактерий-пробионтов, которые подавляют условно-патогенную флору, вытесняя из кишечного микробиоценоза (Смоленцев С.Ю., 2015). Рыба, выращенная с применением пробиотиков, вместо кормовых антибиотиков и химиопрепаратов, является экологически безопасным продуктом (Максимов Е.А., 2014). В критический период перехода молоди к самостоятельному активному питанию заселение кишечника пробиотическими культурами играет ключевую роль в формировании иммунитета (Юхименко Л.Н. и Бычкова Л.И., 2005).

Современные исследования подтверждают, что пробиотические микроорганизмы воздействуют не только на кишечную микрофлору, но и на эпителий и иммунную систему организма (Усенко Д.В. и Горелов А.В., 2004). Автохтонная, т.е., коренная кишечная микробиота участвует в развитии и модуляции врожденного и адаптивного иммунитета, защищает от патогенов, поддерживает целостность кишечного эпителия и регулирует проницаемость

кишечного барьера.

Пробиотики защищают организм хозяина от патогенных бактерий, высвобождая метаболиты, такие как бактериоцины, реутерин, противогрибковые пептиды и другие, эффективные как против грамположительных, так и против грамотрицательных бактерий (Kaktcham P.M. et al., 2018; Похиленко В.Д. и Перельгин В.В., 2011). Эти метаболиты предотвращают адгезии различных болезнетворных микроорганизмов и подавляют их, тем самым ограничивая доступ к питательным веществам (Servin A.L., 2003; Vine N.G. et al., 2004).

К пробиотическим культурам относится целый ряд групп бактерий, главной ценностью которых считается способность жить и активно действовать в кишечнике (Сальникова А.Г. и Панова Н.В., 2007). Представителями пробиотической микрофлоры являются: непатогенные разновидности *Escherichia coli*; некоторые штаммы бацилл (*Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*); энтерококки (*Enterococcus faecium*, *Enterococcus salivarius*); молочнокислый стрептококк *Streptococcus thermophilus*; лактобактерии (*Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus lactis*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus gassed*); бифидобактерии (*Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium adolescentis*); дрожжевые грибы *Saccharomyces boulardii* и *Saccharomyces cerevisiae*.

Молочнокислые бактерии обладают ценными свойствами, присущими кандидатам в пробиотики, и оказываются очень перспективными для использования в аквакультуре (Doan H.V. et al., 2021). МКБ являются собой представителями нормальной флоры человека и рыб, и в то же время оказывают антагонистическое действие в отношении условно-патогенных бактерий, вирусов и грибов, вызывающих различные заболевания (Ringø E. et al., 2018;

Ringø E., 2020; Сергалиев Н.Х. и др., 2019).

Имея статус GRAS «общепринятым как безопасным», объявленным Управлением по санитарному за качеством пищевых продуктов FDA и медикаментов, а также квалифицированную презумпцию безопасности QPS от Европейского агентства по безопасности пищевых продуктов EFSA, молочнокислые бактерии могут неограниченно использоваться в пищевой и фармацевтической промышленности (Яруллина Д.Р. и Фахруллин Р.Ф., 2014).

В рыбоводстве, как и в животноводстве стараются подобрать недорогие, но эффективные препараты, к которым как раз относятся пробиотики. Ассортимент пробиотиков в настоящее время достаточно обширен.

Современная промышленность выпускает значительное количество пробиотиков, представляющих собой культуры живых микроорганизмов. На мировом рынке представлено более двух десятков пробиотиков.

Из иностранных компаний, наиболее успешно представляющих свои пробиотические препараты на мировом рынке, являются Biochem (Германия), Kemin (Бельгия), компании Biotal (Великобритания), Lesaffre (Франция), Alltech (США), Angel Yeast (Китай) и Biomin (Австрия). На рынке присутствуют и другие пробиотические препараты зарубежного производства, ассортимент которых постоянно расширяется. Россия является одним из ведущих производителей пробиотических препаратов. К наиболее крупным производителям и широко применяемым пробиотикам в РФ можно отнести ООО «Вектор Евро» (*Суб про*), ООО НПФ «Исследовательский Центр» (*Ветом 1.1*), ООО «Пробиотик-Плюс» (*Олин*), ООО «НИИ пробиотиков» (*Субтилис*), ООО «Вет Юг Агро» (*Споротермин*) на основе споровых бактерий, ООО «Биотехагро» (*Бацел М, Моноспорин, Пролам*), БФ «Компонент» (*Простор*), ООО «Биотроф» (*Ферм-КМ*) на основе смешанных бактерий и др.

В Казахстане научные исследования по разработке препаратов на основе пробиотиков проводятся в ведущих ВУЗах и НИИ. Так, ТОО «Промышленная

микробиология» выпускает отечественный биопрепарат «Полилактовит» на основе ассоциации молочнокислых и пропионовокислых бактерий, предназначенный для профилактики и лечения различной смешанной кишечной инфекции молодняка сельскохозяйственных животных и птиц. В «Казахском научно-исследовательском институте перерабатывающей и пищевой промышленности» разработан пробиотический препарат «Лактобардин» на основе активных штаммов МКБ для применения в животноводстве. Создан пробиотический препарат «Биоконс» на основе консорциума МКБ, предназначенный для сельскохозяйственных животных, птиц и рыб (Дудикова Г.Н. и Чижаева А.В., 2016). Однако на данный момент эти два препарата находятся на стадии разработки и пока еще не внедрены в производство.

Казахстанские ученые активно ведут исследования по практическому применению различных коммерческих пробиотиков и их эффективности в аквакультуре рыб. Изучено, что добавление в качестве дополнительного компонента к основному комбикорму таких пробиотиков как «Бацел-М», «Суб-Про», «Моноспорин» и «Пролам» оказывает положительное влияние на организм рыб (Гуцулюк О.Н., 2014). Данные пробиотики содержат различные виды бактерий, способствующие улучшению перистальтики кишечника и общему физиологическому состоянию рыб.

Эффективность пробиотиков в значительной степени определяется технологией получения этих препаратов. Современные разработки пробиотических препаратов предполагают: использование различных видов микроорганизмов в определенных сочетаниях, форму выпуска, допускающую длительное хранение при обычной температуре, сохранение характерных свойств при добавлении в корма для животных и кормовые добавки (Ушакова Н.А. и др., 2009).

Пробиотики для аквакультуры на основе молочнокислых бактерий, пробиотические свойства и безопасность которых тщательно изучены *in vitro* и

in vivo, высокоэффективны и экологически безопасны, способны защитить рыб быстрее, чем пероральные вакцины, безопаснее, чем антибиотики, оказывая при этом благотворное влияние на здоровье рыб, питание, иммунитет, размножение и качество воды. Самое главное, их следует рассматривать как один из факторов, обеспечивающих безопасность рыбной продукции для конечного потребителя – человека. В связи с чем важной задачей является выявление устойчивых к антибиотикам пробиотических бактерий и их использование в аквакультуре (Özcan D., 2017).

Следует отметить, что проблема защиты рыб от бактериальных инфекций остается одной из приоритетных задач ихтиопатологии как в России и Казахстане, так и в ряде странах, занимающихся аквакультурой.

Поэтому возникает необходимость разработки конкурентноспособных добавок на основе пробиотических МКБ и расширения отечественного производства аквакультуры рыб.

Резюмируя вышеизложенное, прогнозируется, что использование пробиотиков в аквакультуре станет отличной стратегией профилактики инфекционных микробных заболеваний и заменит антибиотики и химиотерапевтические препараты.

2 ОБЪЕКТЫ, МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.1 Объекты исследований

В качестве объектов исследования использованы водоемы Северного Казахстана (Акмолинская и Павлодарская области), а также изолированные из них автохтонные штаммы бактерий, молочнокислые бактерии (МКБ), культуры зеленых микроводорослей, тест-штаммы, молодь карповых рыб (таблица 4).

Таблица 4 - Перечень объектов исследования

№ п/п	Наименование объекта	Водохозяйственный бассейн / Регион	Объект исследования
1	Водоемы		
1.1	озеро Большой Талдыколь	Ишимский бассейн (г. Астана)	Вода, фитопланктон, бактерии
1.2	озеро Майбалык	Ишимский бассейн (г. Астана)	Вода, фитопланктон, микроводоросли, бактерии
1.3	река Есиль (Ишим)	Ишимский бассейн (г. Астана)	Вода, фитопланктон, микроводоросли, бактерии
1.4	река Акбулак	Ишимский бассейн (г. Астана)	Вода, фитопланктон, микроводоросли, бактерии
1.5	Астанинское (Вячеславское) водохранилище	Ишимский бассейн (Акмолинская область)	Вода, фитопланктон, бактерии
1.6	канал Нура-Есиль	Нура-Сарысуский бассейн (г. Астана)	Вода, фитопланктон
1.7	река Иртыш (Ертыс)	Иртышский бассейн (г. Павлодар)	Вода, фитопланктон, микроводоросли
1.8	река Усолка	Иртышский бассейн (г. Павлодар)	Вода, фитопланктон, микроводоросли
2	Автохтонные штаммы бактерий	Акмолинская область	27 штаммов бактерий
3	Автохтонные штаммы микроводорослей	Акмолинская и Павлодарская области	11 штаммов микроводорослей
4	Автохтонные штаммы МКБ	г. Астана	37 штаммов пробиотических бактерий
5	Условно-патогенные бактерии	г. Астана	11 тест-штаммов
6	Молодь карпа зеркального (<i>Cyprinus carpio</i>)	г. Астана	158 особей

Выбор данных водоемов обусловлен их природоохранной и хозяйственной значимостью, а также наличия устойчивого антропогенного влияния, требующего регулярной экологической оценки.

2.1.1 Климатические особенности исследуемого региона

Казахстан расположен в центре Евразийского континента и занимает девятое место в мире по площади, которая составляет 2 724,9 тыс. км², при общей протяженности границ 13 394 км. Республика граничит с Россией, Узбекистаном, Кыргызстаном и Туркменистаном и с Китаем. Рельеф территории отличается значительным разнообразием: пустыни и полупустыни занимают 58% площади, горные районы - 10%. В северных регионах преобладают степи и лесостепи (Смаилова А.А., 2011).

Территория Казахстана расположена очень далеко от моря и подвержена ветрам запада и севера. По этой причине основными характеристиками климата Казахстана являются его выраженная континентальность и неравномерное распределение естественных осадков. За исключением горных районов, атмосферные осадки незначительны. Практически для всей территории Казахстана характерны сильные ветры, в некоторых регионах более 40 м/с. Зима в Казахстане холодная и продолжительная на севере и умеренно мягкая на юге. Средняя температура января колеблется от минус 20°С на севере до минус 3°С на юге, июля - плюс 20,5°С на севере и плюс 30°С на юге. Лето сухое, теплое на севере, очень теплое в центре, жаркое на юге (Смаилова А.А., 2011).

Акмолинская область расположена в Северной части Казахстана и занимает около 12,5 млн. га.

Город Астана (Нур-Султан) является столицей Республики Казахстан и занимает площадь 0,797 тыс. км². Население на 1 января 2024 года составило 1 444 700 человек.

Климат города резко континентальный, лето жаркое и сухое, зима морозная и продолжительная. Количество осадков составляет 300 мм в год. При средней летней температуре около плюс 20°C и средней зимней температуре около минус 15°C часто бывает, что жара летом может превышать плюс 40°C, а зимой возможны морозы до минус 50°C.

Гидрографическая сеть представлена единственной главной водной артерией - рекой Есиль, разделяющей столицу на две части, и ее более мелкими правыми притоками – Сарыбулак и Акбулак. В радиусе 25-30 км расположены многочисленные пресные и соленые озера (Национальный доклад, 2020).

Описание исследуемых водных объектов:

Река Есиль (Ишим) (рисунок 1) - река в Казахстане и России, левый и самый длинный приток Иртыша. Протяженность - 2450 км, из них 1717 км проходит по территории Казахстана в Акмолинской и Северо-Казахстанской областях, площадь бассейна - 177 тыс. км². Наиболее значимыми по водности и длине притоками являются реки Колутон, Жабай, Терсаккан, Акан-Бурлук и Иман-Бурлук. Вячеславское и Сергеевское водохранилища, расположенные на реке Есиль, используют для водоснабжения и орошения, в связи с близким расположением города и населенных пунктов, бытовым и рыбохозяйственным значением (Река Ишим, 2021).

Река Акбулак (рисунок 1) - небольшой правый приток Ишима, временный водоток, который протекает по юго-восточной части города, исток которого находится в районе ТЭЦ-2. Участок ручья, протекающий по территории города (от проспекта Абылай-хана до впадения в Есиль), в настоящее время реконструирован. По самой широкой части летом плавают гребцы на байдарках и каноэ, а зимой он превращается в самый большой каток под открытым небом в Астане.

Канал Нура-Есиль (рисунок 1) имеет длину 25 км и используется для подачи воды из реки Нуры в Астану. Канал рассчитан на подачу 255 млн.

м³/год, из них 78 млн. м³/год - на городские нужды, 11 млн. м³/год - на орошение, 120 млн. м³/год - на отведение сточных вод, 46,6 млн. м³/год – на потери за счет фильтрации и испарения.

Астанинское (Вячеславское) водохранилище (рисунок 1) - единственный источник для удовлетворения хозяйственно-питьевых и промышленных нужд города с водообеспечением 67,2 млн. м³ в год. Проектная мощность 410 млн. м³, используется также для орошаемого земледелия и санитарного оздоровления русла реки Есиль. Длина - 11 км, ширина -10 км, объем - 61 км², наибольшая глубина - 25 м.

Озеро Большой Талдыколь (рисунок 1) - природное озеро, воссозданное в результате рекультивации накопителя-испарителя сточных вод Большой Талдыколь, расположенное в юго-западной части г. Астана. Акватория озера 292 га, максимальная глубина 2,6 м.

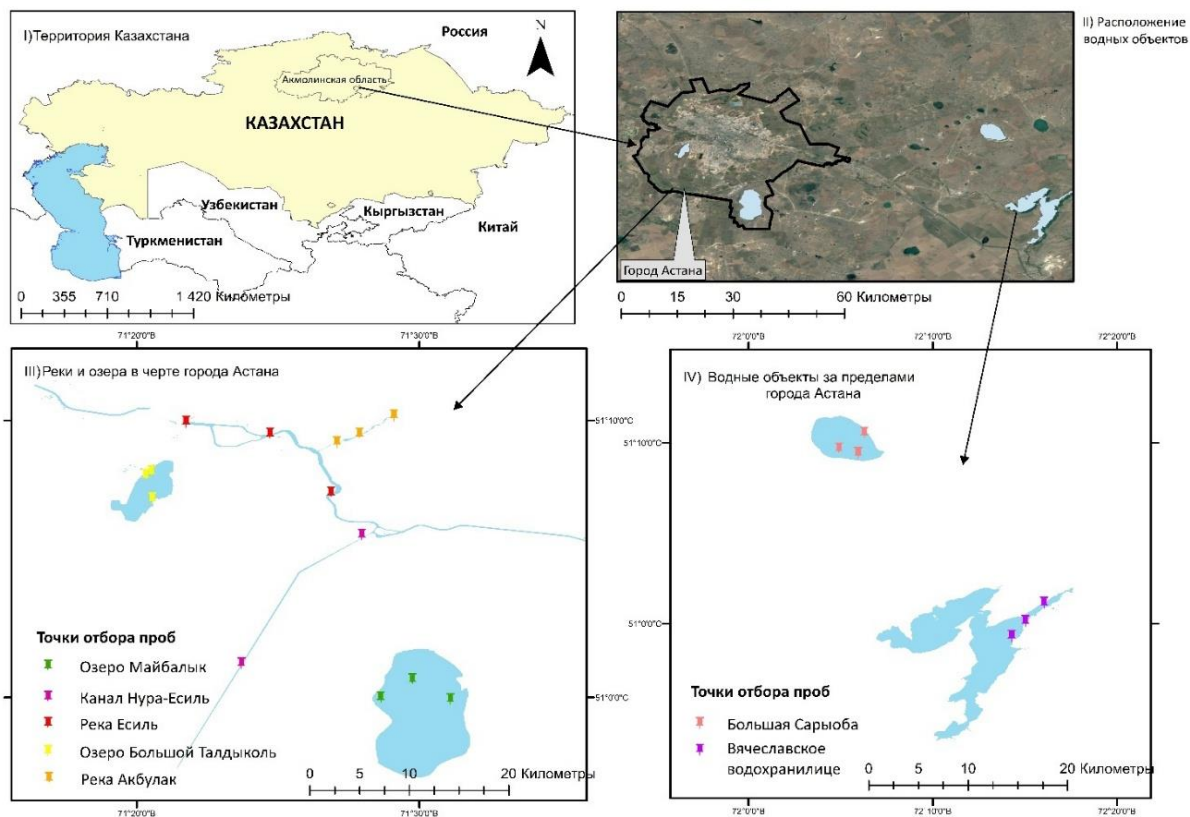


Рисунок 1 - Схема расположения исследуемых водоемов Акмолинской области

Озеро Майбалык (каз. «май балық» - жирная рыба) (рисунок 1) – находится на высоте 350 метров над уровнем моря к юго-востоку от аэропорта г. Астана, является единственным крупным озером города, имея рыбохозяйственное значение. Питание водоема в основном осуществляется за счет атмосферных осадков и весенних талых вод. Вблизи озера находятся с.-х. угодья. Ранее в озере воспроизводили рыбопосадочный материал рыб семейства карповых. На сегодняшний день озеро находится на грани исчезновения, т.к. уровень воды в нем ежегодно падает с катастрофической скоростью (Майбалык, 2021).

Павлодарская область расположена на северо-востоке страны на берегу одной из крупных рек Казахстана – Ертис (рисунок 2). На севере граничит с Омской областью, на северо-востоке с Новосибирской областью, на востоке с Алтайским краем Российской Федерации, на юге с Восточно-Казахстанской и Карагандинской областями, на западе с Акмолинской и Северо-Казахстанской областями Республики Казахстан.

Общая площадь Павлодарской области составляет 124,8 тыс. км². Климат резко континентальный, характеризуется жарким летом и холодной продолжительной зимой.

Основным водоемом Павлодарской области, используемым для питьевого водоснабжения, является трансграничная река Ертис. Вместе с тем, на территории области имеется 7 водохранилищ, 398 озер, 130 временных водотоков и малых рек, наиболее значимыми из которых являются реки Шидерты, Оленты, Силеты, Ащису, Тундык, Карасу, канал Ертис-Караганда, который обеспечивает снабжение водой многочисленные населенные пункты, являясь их единственным источником водоснабжения.

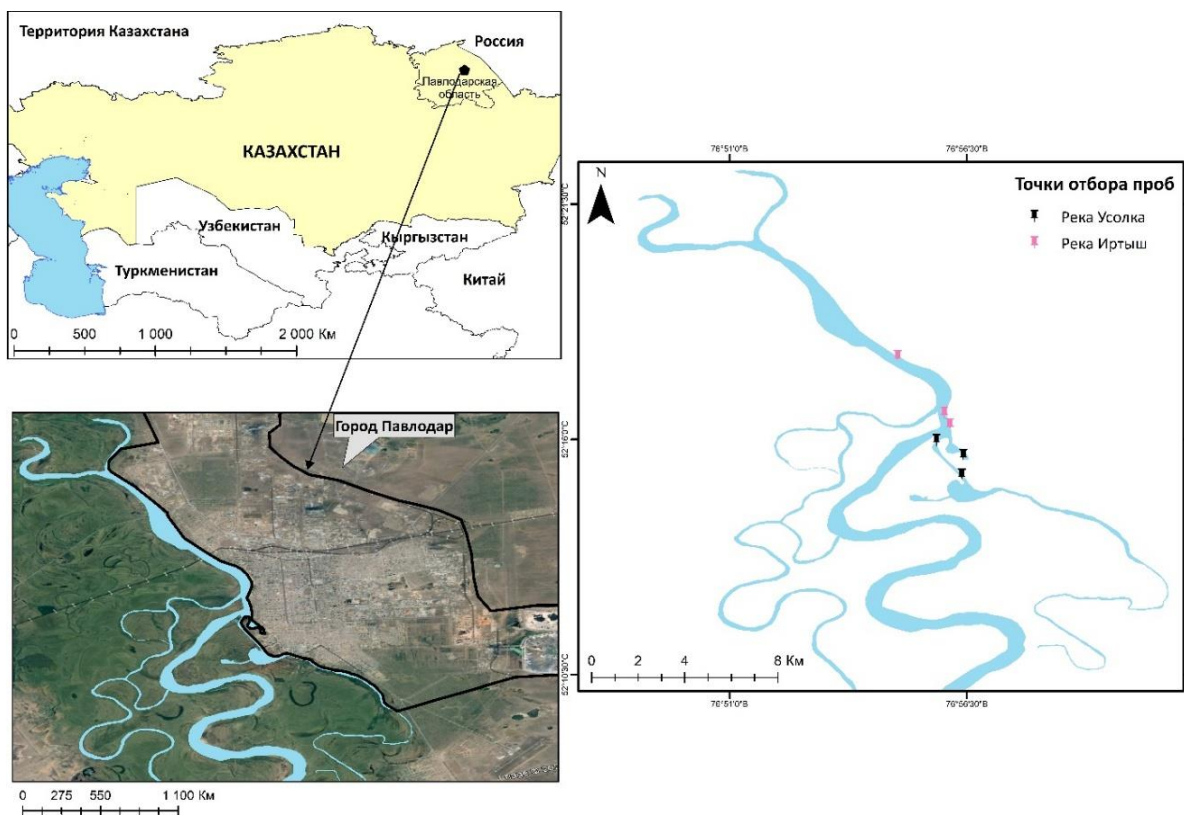


Рисунок 2 - Схема расположения исследуемых рек г. Павлодар

Река Иртыш (Ертыс) является самым длинным (4248 км) притоком в мире, протекая по территории Китая, Казахстана и России. Площадь бассейна составляет 1643 тыс. км². Верховье Ертыса находятся на границе Монголии и Китая, откуда под названием Черный Иртыш он попадает в Казахстан, проходит через Зайсанскую долину, впадает в проточное озеро Зайсан, в которое впадает множество рек с Рудного Алтая, хребтов Тарбагатай и Саур. Относится к водоемам 1 категории качества вод, используемой для питьевого водоснабжения. Протяженность реки на границах Павлодарской области составляет около 720 км.

Река Усолка является правой старицей Иртыша длиной 24,7 км. Русло реки в настоящее время сильно заилено и местами заросло деревьями и кустарниками, а также камышом. Именно по этой причине проводятся работы по расчистке русла реки, воды которой используются садоводческими

кооперативами для орошения посевов, горожане часто отдыхают на берегу реки.

2.2 Материалы и методы исследований

2.2.1 Питательные среды:

Питательные среды для выделения и культивирования микроводорослей:

- среда Тамия, г/л: KNO_3 - 5; $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ - 2,5; KH_2PO_4 - 1,25; $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,009; ЭДТА - 0,037; раствор микроэлементов - 1 мл; агар-агар - 20. Раствор микроэлементов (г/л): H_3BO_3 - 2,86; $\text{MnCl}_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$ - 1,81; $\text{ZnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,222; MoO_3 - 176,4 мг/л; NH_4VO_3 - 229,6 мг/л; pH=6,5-7,0;

- среда 04, г/л: K_2HPO_4 - 0,1; KH_2PO_4 - 0,1; CaCl_2 - 0,04; NH_4NO_3 - 0,3; агар-агар - 13; pH=6,5;

- среда Громова, г/л: KNO_3 - 1; $\text{K}_2\text{HPO}_4 \times 3\text{H}_2\text{O}$ - 0,2; $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,2; $\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$ - 0,15; NaHCO_3 - 0,2; раствор микроэлементов - 1 мл; агар-агар - 13; pH=7,0;

- среда Lmin, г/л: I раствор - NH_4NO_3 - 3; K_2HPO_4 - 0,2; $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,2; $\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$ - 0,1; II раствор - K_2HPO_4 - 7,14; KH_2PO_4 - 3,63. На 800 мл дистиллированной воды берут по 100 мл растворов I и II, добавляют $\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2$ - 2 г и раствор микроэлементов - 1 мл; агар-агар - 20 г; pH=6,5-7,0;

- среда Бенеке, г/л: $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,1; $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ - 0,5; K_2HPO_4 - 0,2; железо лимоннокислое - 0,0033; лимонная кислота - 0,0033; агар-агар - 13; pH=6,5-7,0;

- среда LCH (*Lactobacillus* & *Chlorella*) собственной модификации для зеленых микроводорослей и молочнокислых бактерий (МКБ), г/л: KH_2PO_4 - 1; K_2HPO_4 - 0,5; CaCl_2 - 0,04; NH_4NO_3 - 0,6; дрожжевой экстракт - 5; пептон - 10; глюкоза - 15; $(\text{NH}_4)_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ - 1,5; CH_3COONa - 2,5; агар-агар 900 - 18; pH=6,2-

6,5.

Питательные среды для выделения и культивирования автохтонных бактерий:

- среда Чапека (HiMedia, Индия), г/л: 49 г готовой коммерческой среды; рН=7,3±0,2;

- среда Эндо (HiMedia, Индия), г/л: 41,5 г готовой коммерческой среды; рН=7,5±0,2;

- среда Сабуро (Condalab, Испания), г/л: 30 г готовой коммерческой среды; рН=5,7±0,2;

- среда МПА (мясной питательный агар, HiMedia, Индия), г/л: питательный агар – 28; мясной экстракт - 5; рН=7,4±0,2;

- среда МПБ (мясной питательный бульон, HiMedia, Индия), г/л: питательный бульон - 13; мясной экстракт - 5; рН=7,4±0,2;

- среда МХ (Мюллера-Хилтона, TM Media, Индия), г/л: мясной экстракт - 2; кислотный гидролизат казеина - 17,5; растворимый крахмал - 1,5; рН=7,3±0,1;

- среда ВНИ, г/л: пептон -10; печеночный экстракт - 10; D (+) глюкоза - 2; NaCl – 5; Na₂HPO₄ безводный - 2,5; рН=7,4±0,2.

Питательные среды для выделения и культивирования МКБ:

- среда MRS-1 (HiMedia, Индия), г/л: *Lactobacillus* MRS agar - 67,15 г; рН=6,5;

- среда MRSm (собственной модификации), г/л: дрожжевой экстракт - 5; пептон -10; глюкоза - 20; (NH₄)₃C₆H₅O₇ - 2; CH₃COONa - 5; K₂HPO₄ - 2; MnSO₄ - 0,05; MgSO₄×7H₂O - 0,2; твин 80 - 1 мл/л; лактоза - 1; агар бактериологический - 10. рН=6,2; рН=6,5-6,8;

- среда MPC-5, г/л: гидролизованное молоко - 500 мл, печеночный экстракт - 3,5, дрожжевой экстракт - 5, твин-80 - 1 мл, глюкоза - 20, пептон - 10, калий фосфорнокислый 3-вод, L-цистин - 0,2, марганец сернокислый 4-водн - 0,05, магний сернокислый 7-водн - 0,2, агар бактериологический - 10; рН=6,2-

6,5;

- среда МСЛ (на основе молочной сыворотки с лактозой), г/л: лактоза-15, L-цистеин 0,03, агар бактериологический – 10 г; рН=5,5-6,5;

- среда МСГ (на основе молочной сыворотки с глюкозой), г/л: глюкоза-15, L-цистеин 0,03, агар бактериологический – 10 г; рН=5,5-6,5;

- среда МСЛГ (на основе молочной сыворотки с лактозой и глюкозой), г/л: лактоза - 15, глюкоза - 15, L-цистеин - 0,03. рН=5,5-6,5;

- среда LCH (*Lactobacillus* & *Chlorella*) собственной модификации для МКБ и зеленых микроводорослей (*состав указан выше*).

Питательные среды для изучения биохимической активности бактерий:

- среда Муромцева, г/л: глюкоза - 10; аспарагин - 1; K_2SO_4 - 0,2; $MgSO_4 \times 7H_2O$ - 0,2; кукурузный экстракт - 0,02; агар бактериологический - 20; рН=6,8;

- среда для определения липолитической активности, г/л: твин-80 - 10; пептон - 10; NaCl - 5; $CaCl_2 \times H_2O$ - 0,1; агар – 20; рН=7,4. Водный раствор твина стерилизуют отдельно и добавляют к стерильной основной среде;

- среда для определения амилалитической активности, г/л: пептон - 10; KH_2PO_4 - 5; растворимый крахмал - 2; агар - 15; рН=6,8-7,0;

- среда Андраде (Accumix), г/л: Andrade peptone water - 15,1.

2.2.2 Методы исследований

2.2.2.1 *Отбор проб воды* для изучения видового состава и выделения культур микроводорослей проводили согласно известным методам (Сиренко Л.А. и др., 1975; Вассер С.П. и др., 1989; Анисимова О.В. и Гололобова М.А., 2006; Барсукова Т.Н. и др., 2005; Мелькумов Г.М., 2015).

При *определении видового состава альгофлоры* водоемов использовали микроскоп (Micros MC 300X, Австрия) с увеличением $\times 100$, оснащенного

окулярным микрометром и выводом изображения на монитор (Сиренко Л.А. и др., 1975; Вассер С.П. и др., 1989). Таксономическая характеристика водорослей и цианопрокариот осуществлялась по системе, принятой в электронном ресурсе www.algaebase.org, а также согласно атласу водорослей-индикаторов сапробности (Баринава С.С., 1996).

2.2.2.2 *Оценку экологического состояния водоемов по состоянию фитопланктона* проводили с применением индекса сапробности, рассчитанному по методу Пантле-Бука в модификации Сладечека (Sládeček V., 1973) и списка видов-индикаторов сапробности воды (Баринава С.С., 1996; Деревенская О.Ю., 2015). Мониторинг качества воды по гидрохимическим показателям осуществляли на основании информационных бюллетеней и национальных докладов РГП «Казгидромет» за 2015-2024 гг.

2.2.2.3 *Выделение, получение альгологически и бактериально чистых культур, а также хранение микроводорослей* проводили согласно известным методам (Вассер С.П. и др., 1989; Темралеева А.Д. и др., 2014; Гайсина Л.А. и др., 2008; Заядан Б.К., 2008).

2.2.2.4 *Изучение культурально-морфологических и физиолого-биохимических свойств микроводорослей* проводили с исследованием роста культур на плотных питательных средах по признакам, общепринятым в микробиологической и альгологической практике методами (Нетрусов А.И. и Котова И.Б., 2009; Темралеева А.Д. и др., 2014; Мелькумов Г.М., 2015).

2.2.2.5 *Идентификация микроводорослей и бактерий молекулярно-генетическим методом.* Для выделения ДНК микроводорослей использовали набор GeneJet Genomic DNA Purification Kit K0721 (Thermo Fisher, США). Выделение ДНК автохтонных бактериальных изолятов проводили с применением набора Qiagen QIA amp DNA Mini Kit (Qiagen, Германия) согласно инструкции производителя (Tolosa J.M. et al., 2007). Концентрацию ДНК определяли с помощью спектрофотометра Nano Drop (Thermo Fisher,

США) при длине волны 280 нм для микроводорослей и 260 нм для бактерий.

Для определения нуклеотидной последовательности микроводорослей гена 18 SrRNA использовали праймеры: прямой 18S Univ (5'-CCTGGT TGA TCC TGC CAG-3') и обратный 18S Univ (5'-ATTG ATC CTT CT/CG CAG GTT CA-3') [El-Sheekh M. et al., 2020]. Для определения нуклеотидной последовательности бактерий гена 16S рРНК использовали универсальные праймеры: прямой 8F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') и обратный 806R (5'GGACTACCAGGGTATCTAAT3'). Реакцию ПЦР проводили с использованием набора DreamTaq Master Mix 2x K1071 (Thermo Fisher, США) и амплификатора DNA Engine Tetrad 2 Cycler PTC-0240 (Bio-Rad, США). Продукты амплификации очищали с помощью набора GeneJet PCR Purification Kit (Thermo Fisher, США).

Реакцию секвенирования осуществляли с помощью набора BigDye® v3.1 (Thermo Fisher, США) и генетического анализатора Applied Biosystems 3500 (Thermo Fisher, США). Полученные нуклеотидные последовательности сравнивали с данными, содержащимися в базе GenBank с использованием алгоритма BLAST (McGinnis S., Madden T.L., 2004). Филогенетический анализ проводили, используя программу MEGA5. Для множественного выравнивания нуклеотидных последовательностей применяли алгоритм ClustalW, далее на основе метода максимального правдоподобия строилось филогенетическое дерево (Tamura K. et al., 2011).

2.2.2.6 Оптимизацию условий поверхностного культивирования микроводорослей и бактерий проводили по показателям роста на стандартных и модифицированных нами питательных средах: для зеленых микроводорослей исследовали диапазон температур от 5 до 30°C, режим освещенности от 1000 до 4000 лк, рН среды в пределах от 5 до 8 с использованием жидких питательных сред Тамия, 04, Громова, Lmin и LCH. Для автохтонных бактерий и их консорциумов - среды МПА, МПБ, Мюллера-Хилтона и ВНІ при значениях

температуры от 20 до 37°C и pH среды в пределах от 3 до 9. Для МКБ и их консорциумов использовали питательные среды: MRS, MRS_M, MPC-5, МСЛ, МСГ, МСЛГ, LCH при pH среды от 3 до 9, содержании NaCl от 3 до 7% и температуре от 15 до 45°C.

Для подсчета прироста биомассы клеток использовали спектрофотометр Agilent (Cary 60, Малайзия) при 440 нм для микроводорослей и 600 нм для бактерий, а также камеру Горяева для подсчета числа клеток микроводорослей (Сиренко Л.А. и др., 1975).

2.2.2.7 *Определение токсичности микроводорослей* проводили с использованием дафнии (*Daphnia magna* Straus) по показателю гибели особей (РД 52.24.868, 2017) и активных штаммов микроводорослей *Chlorella vulgaris* И2 и *Parachlorella kessleri* У1. В качестве основы использовали отстоявшуюся водопроводную воду с добавлением микроводорослей в концентрациях 50, 150 и 250 мг/л биомассы. В каждую пробу объемом 100 мл помещали по 10 дафний. Биотестирование проводили в трех повторности в течение 48 ч.

2.2.2.8 *Оценку устойчивости микроводорослей к ионам тяжелых металлов* определяли по интенсивности роста в жидких средах Тамия и 04, с добавлением солей $MnCl_2 \times 4H_2O$, $ZnSO_4 \times 7H_2O$, $CuSO_4 \times 5H_2O$ и $FeSO_4 \times 7H_2O$ в концентрациях от 0,1 до 100 мг/л (по иону металла). Контрольные образцы выращивали без солей металлов. Культивирование проводили в колбах 250 мл при 28°C, освещенности 4 000 лк в течение 7 суток с ежедневным подсчетом клеток в камере Горяева.

Аккумулирующую способность микроводорослей к тяжелым металлам, биогенным элементам и главным ионам оценивали в модельных условиях в природной воде (реки Иртыш, Усолка, Есиль, Акбулак, канал Нура-Есиль). инокулированной суспензией микроводорослей (10^6 кл/мл) при 25-28°C и освещенности 4000 лк в течение 7 суток. Концентрацию элементов до и после определяли в аналитической лаборатории ГКП «Астана Су Арнасы» (Астана).

2.2.2.9 *Отработку технологических параметров глубинного культивирования автохтонных штаммов* проводили на питательной среде, соответствующей каждой группе микроорганизмов при следующих параметрах: для микроводорослей на фотобиореакторе ИКА 10 Control (Германия) объемом 10 л рН=6,5-7,5, температура 28-30°C, скорость перемешивания 100 об/мин., освещенность 16:8 ч (люминесцентное : дневное), периодическая подача CO₂ (0,03-5%), аэрация 20%; для автохтонных бактерий и МКБ на лабораторном ферментере «Bio Flo-110» (США) объемом 7,5 л режим аэрации 20%, поток O₂ - 5%, скорость перемешивания 60-100 об/мин, рН=5,5-7,0, температура 30-37°C. Объем вносимого инокулята не менее 10% от общего объема с концентрацией клеток не менее $\times 10^6$ кл/мл для микроводорослей и $\times 10^7$ КОЕ/мл для бактерий. Прирост биомассы клеток контролировали периодическим измерением оптической плотности на спектрофотометре Agilent Cary 60 (США) при 440 нм для микроводорослей и 600 нм для бактерий. Жидкую биомассу хранили в холодильнике Бирюса (290-1, Россия) при температуре плюс 6-8°C в течение 30 суток.

Для отделения клеток биопрепарата от питательной среды с предварительной промывкой трижды от солей в 0,9% растворе NaCl проводили центрифугирование с помощью центрифуги Thermo Scientific (Sorvall 6+, Япония) при -4°C, 4 тыс. об/мин. в течение 8 мин. для микроводорослей и -4°C, 8 тыс. об/мин. в течение 10 мин. для бактерий. Взвешивание полученной биомассы проводили с помощью электронных весов (Adventurer AR2140, Китай). Хранение полученных концентратов штаммов микроводорослей, автохтонных бактерий и их консорциумов осуществляли в холодильнике при плюс 6-8°C в течение 30 суток.

Для получения сухой формы биопрепарата, а также длительного хранения проводили процедуру лиофилизации с помощью лиофильной сушки Labconco (Free Zone 6 plus, США). Лиофильно высушенные образцы хранили при

температуре плюс 6-8°C с периодической проверкой жизнеспособности (ЖСП) штаммов каждые 6-12 месяцев.

2.2.2.10 *Изучение роста штаммов микроводорослей и МКБ на среде собственной модификации LCH (Lactobacillus&Chlorella)* проводили посредством изучения прироста биомассы как по показателям ЖСП, так и спектрофотометрически при 440 нм для микроводорослей и 600 нм для МКБ. Для сравнения использовали известные плотные и жидкие среды Тамия (для микроводорослей) и МРС (для МКБ). Инкубацию проводили при температуре 28°C в течение 3-5 суток (для микроводорослей) и 37°C в течение 24-48 часов (для МКБ). При культивировании в лабораторном ферментере лабораторном фотобиореакторе ИКА 10 Control (Германия) и «Bio Flo-110» (США) для исследуемых микроорганизмов создавали оптимальные условия.

2.2.2.11 *Оценка эффективности применения биопрепарата на основе микроводорослей* проводилась посредством альголизации озера Майбалык (Астана) ассоциацией штаммов микроводорослей *Ch. vulgaris* И2 и *P. kessleri* У1 (И2+У1) объемом 30 л и плотностью суспензии 20×10^6 кл/мл. Внесение проводили вручную в 3-х точках однократно в июне 2021 г. при температуре воды 22°C. Суспензию разливали на расстоянии 5-10 м и 15-20 м от берега с расчетом 2 л/га. Микробиологический и химический анализ проводили до и спустя 30 суток. Гидрохимические показатели исследовали с помощью портативного колориметра DR900 (НАСН, Китай) в лаборатории микробиологии РКМ. БПК₅, ХПК, растворенный кислород, перманганатная окисляемость, минерализацию определяли на базе ГКП «Астана Су Арнасы». Данные по ихтиофауне, зоопланктону, зообентосу, водной растительности и морфометрии озера предоставлены ТОО «Ryboritomnik Maybalyk».

2.2.2.12 *Выделение изолятов автохтонных бактерий*

Для выделения бактерий использовали метод предельных 10-кратных разведений по Коху на предварительно подготовленные чашки Петри с

элективными средами МПА, Чапека, Сабуро и Эндо для автохтонных бактерий из проб воды, а также селективные среды МРС-агар (HiMedia, Индия) и MRS собственной модификации для МКБ из микробиома кишечника карпа и сазана разной возрастной категории. Чистые культуры получали после повторного нанесения штрихов по Гоулду на чашки с соответствующей средой для каждого вида микроорганизма (Лавренчук Л.С. и Ермошин А.А., 2019) и инкубации при 30°C и 37°C в течение 24-48 часов в термостате Exella (ECO-170-230, Шотландия).

2.2.2.13 *Изучение культурально-морфологических признаков* изолятов бактерий проводили общепринятыми в микробиологической практике методами (Нетрусов А.И. и Котова И.Б., 2009). Морфологические признаки и чистоту проверяли окраской по Граму и микроскопированием с помощью лабораторного микроскопа (Micros MC 300X, Австрия) при увеличении $\times 100$ (Лысак В.В. и др., 2015).

2.2.2.14 *Изучение физиолого-биохимических свойств* изолятов бактерий проводили по общепринятым в микробиологии методам (Нетрусов А.И. и Котова И.Б., 2009; Лысак В.В. и др., 2015).

Определение антагонистической активности бактериальных изолятов автохтонных бактерий из водных проб и кишечника карпов оценивали с помощью метода диффузии в агаре, определяя зоны ингибирования роста условно-патогенных микроорганизмов (Нетрусов А.И. и Котова И.Б., 2009): *Shewanella ximenensis* AU 2R-1 B-RKM 0724, *Pseudomonas taiwanensis* CB 2R-1 B-RKM 0726, *Pseudomonas aeruginosa* G13 B-RKM 0427, *Aeromonas punctata (caviae)* G30 B-RKM 0287, *Staphylococcus aureus* B-RKM 0470, *Escherichia coli* B-RKM 0447, *Bacillus cereus* B-RKM 0664, *Klebsiella pneumonia* B-RKM 0444, *Salmonella enteritidis* B-RKM 0680, *Enterococcus faecium*, *Lactococcus garvieae* 10A B-RKM 0639, имеющиеся в коллекции Биобанка промышленных микроорганизмов ТОО «Республиканская коллекция микроорганизмов» (РКМ).

Определение чувствительности к антибиотикам осуществляли по стандартному диско-диффузионному методу с применением питательных сред МПА (для автохтонных бактерий), MRS собственной модификации (для МКБ) и имеющихся антибиотиков в дисках: гентамицин (GEN 10), тетрациклин (TE 30), бензилпенициллин (P 10), рокситромицин (RO 30), канамицин (K 30), ампициллин (AMP 25), клиндамицин (CD 10), амоксициллин (AMC 30), цефазолин (CZ 30), ципрофлоксацин (CIP 5), эритромицин (E 15), левомицитин (LEV 30), карбенициллин (CB 25), ванкомицин (VA 5), фузидин (FUZ 10), олеандомицин (OL 15), рифампицин (RIF 5), стрептомицин (S 10), неомицин (N 30), оксациллин (OX 10) (МУК 4.2.1890-04, 2004; Лысак В.В. и др., 2015).

Определение ферментативной активности в отношении сбраживания углеводов проводили методом «пестрого ряда» с использованием имеющихся дисков с сахарами: арабиноза (Ar), целлобиоза (Ce), глюкоза (De), галактоза (Ga), фруктоза (Fc), лактоза (La), мальтоза (Ma), маннит (Mn), манноза (Mo), сахароза (Su) и среду Андраде (Нетрусов А.И. и Котова И.Б., 2009).

Определение фосфатмобилизующей активности проводили методом осаждения, предложенным Герретсеном, в модификации Муромцева по способности растворять фосфаты кальция (Gerretsen F.C., 1948).

Определение протеолитической активности бактерий проводили с целью поиска микроорганизмов, гидролизующих белковые соединения по зоне просветления среды вокруг колонии на молочном агаре Эйкмана (Нетрусов А.И. и Котова И.Б., 2009).

Определение липолитической активности проводили по способности образовывать вокруг колоний непрозрачные зоны кальциевых солей жирных кислот, освобожденных из твина (Нетрусов А.И. и Котова И.Б., 2009).

Определение амилолитической активности определяли по способности к гидролизу крахмала (Нетрусов А.И. и Котова И.Б., 2009).

Определение нитрифицирующей активности проводили согласно

методу, предложенному Самсоновой А.С. (Самсонова А.С., 2013).

2.2.2.15 *Идентификацию бактерий методом MALDI-TOF MS* проводили с использованием системы Bruker MALDI-TOF Biotyper (Bruker Daltonics, Германия) согласно методу, описанным Schulthess B. (Schulthess B. et al., 2014).

2.2.2.16 *Оценку биосовместимости культур микроорганизмов* определяли методом совместного культивирования Н.А. Глушановой (Глушанова Н.А., 2005).

2.2.2.17 *Определение показателя жизнеспособности (ЖСП) культур микроорганизмов* проводили методом Miles&Misra (Miles A.A. et al, 1938).

2.2.2.18 *Микробиологический анализ проб воды и микрофлоры кишечника карповых рыб* проводили с использованием селективных и хромогенных пластин Comract Dry (Япония) для определения и подсчета основных групп микроорганизмов: ТС (общее число бактерий, ОМЧ); ЕС (кишечная палочки и колиформные бактерии); УМ (дрожжи и грибы); Х-СА (золотистый стафилококк); Х-ВС (восковая бацилла); ЕТС (энтерококк); ЕТВ (энтеробактерии); СФ (колиформные бактерии); SL (сальмонеллы); АQ (гетеротрофные микроорганизмы). Из соответствующего разведения образец объемом 1 мл наносили на поверхность готовых пластин и инкубировали согласно инструкции изготовителя.

2.2.2.19 *Оценку эффективности действия консорциумов KB-4 и KK-4* проводили в условиях лабораторного модельного эксперимента с использованием природной воды из озера Большой Талдыколь, размещенной в аквариумах объемом 19 л. В исследовании использовались следующие варианты: 1) опытная проба воды с добавлением 30 мл биопрепарата KB-4 с концентрацией клеток $12,0 \pm 1,0 \times 10^9$ КОЕ/мл; 2) опытная проба воды с добавлением 30 мл биопрепарата KK-4 с концентрацией клеток $10,7 \pm 0,88 \times 10^8$ КОЕ/мл; 3) контрольная проба воды без внесения биопрепарата.

Для оценки эффективности действия разработанных препаратов

проводили химический и микробиологический анализы проб воды на начальном этапе и через 10 суток после внесения биопрепаратов. Химический анализ выполняли с использованием портативного колориметра DR 900 (Hach, Германия) и набором порошковых реагентов в соответствии с методикой производителя. Микробиологический анализ осуществляли, применяя хромогенные пластины Compact Dry с соответствующими питательными средами согласно инструкции производителя.

2.2.2.20 *Изучение пробиотических свойств МКБ*

Для *определения автоагрегации* штаммов МКБ использовали методику, описанной В. Kos (Kos V. et al., 2003).

Для изучения *устойчивости изолятов МКБ к желчи* применяли метод «газона» (Arihara K. et al., 1998; Buntin N. et al., 2008).

Устойчивость к кислотам изучали методом, описанным S.M. Lim (Lim S.M., 2009).

Влияние различных температур на рост штаммов МКБ проводили при 15, 30 и 45°C с последующим определением жизнеспособности клеток.

Влияние различных концентраций NaCl на рост штаммов МКБ проводили при содержании хлорида натрия от 3 до 7% с последующим определением ЖСП клеток.

2.2.2.21 *Оценка терапевтического действия биопрепаратов КПБЗ и К4 при модельных бактериозах молоди карпа*

Здоровые особи молоди карпа зеркального (*Cyprinus carpio*) безвозмездно предоставлены ТОО «Рыбопитомник Маубалук» (Астана). Основной рацион кормления составил стартовый корм Color Scale (Китай). Средняя температура воды в аквариумах поддерживалась в пределах 18-20°C, pH в диапазоне 6,5-7,0 с заменой по мере загрязнения (раз в 5-7 дней). Пробиотик готовили каждые 3-4 дня в концентрации (10^7 - 10^8 КОЕ/мл).

Заражение молоди карпа осуществляли суточными культурами *Aeromonas*

punctata, *Pseudomonas aeruginosa* и *Pseudomonas taiwanensis*, *Lactococcus garvieae* в концентрации 10^7 - 10^8 КОЕ/мл в объеме 100-200 мкл на особь методом *peros* (Dahia T. et al., 2012). В качестве лечебной терапии использовали антибиотики, разрешенные в аквакультуре ряда стран, концентрации доз их внесения рассчитаны, согласно нормам их использования в рыбоводстве (Report of the regional, 2003; Использование антибиотиков, 2013).

В течение всего срока экспериментов регистрировали отклонения в поведении, появление клинических признаков заболеваний, а также фиксировали гибель рыб (Скачков Д.П., 2000; Скурат Э.К. и др., 2000). Биометрические показатели вычисляли согласно известным в ихтиопатологии методам в начале и в конце экспериментов (Гаврилин К.В., 2006; Методы изучения, 2019).

В модельном эксперименте псевдомоноза молодь карпа средней массой 1,4 г были помещены в аквариумы объемом 150 литров по 30 экземпляров в каждый. Кормление производили стартовым кормом с начальной навеской 0,084 г на группу (1,0-1,5% от массы тела) 5 раз в сутки, увеличивая норму кормления каждые 15 дней по мере прибавления веса. Заражение ассоциацией бактерий рода *Pseudomonas* проводили на 11-е сутки от начала эксперимента в трех опытных группах. В течение 7 суток после заражения опытные группы кормили только кормом до проявления признаков заболевания. Продолжительность эксперимента составила 60 дней.

Схема эксперимента: 1 группа – опытная, биопрепарат КПБЗ в концентрации $1,0 \times 10^7$ КОЕ/мл добавляли к корму первые 10 суток по 8,4 мкл и с 18 по 31 сутки по 11 мкл каждое кормление (через 7 дней с момента заражения и проявления признаков заболевания); 2 группа – опытная, в качестве лечебной терапии после проявления признаков псевдомоноза к корму добавляли гентамицина сульфат в дозировке 0,001 г в сутки в течение 5 дней; 3 группа – опытная, после заражения лечение не проводили в целях получения

сравнительных данных по терапевтическому эффекту; 4 группа – контрольная, интактные особи, кормление стартовым кормом в течение всего эксперимента.

В модельном эксперименте аэромоноза карпа молодь карпа средней массой 5,9 г были помещены в аквариумы объемом 20 л по 15 экземпляров в каждый. Кормление производили коммерческим кормом с начальной навеской 0,264 г на группу (1,5-2,0% от массы тела) 5 раз в сутки, увеличивая норму кормления каждые 10 дней по мере прибавления веса. Заражение бактерией *Aeromonas punctata* проводили на 8-е сутки от начала эксперимента в опытных вариантах. В течение 5 суток после заражения опытные группы кормили только кормом до проявления признаков заболевания. Продолжительность эксперимента составила 34 дня.

Схема эксперимента: 1 группа – опытная, биопрепарат КПБЗ в концентрации $1,0 \times 10^8$ КОЕ/мл добавляли к корму первые 7 суток по 2,64 мкл и с 13 по 22 сутки по 2,98 мкл каждое кормление (через 5 дней с момента заражения и проявления признаков заболевания); 2 группа - опытная, в качестве лечебной терапии после проявления признаков аэромоноза к корму добавляли канамицина сульфат в дозировке 0,013 г в сутки в течение 7 дней; 3 группа – опытная, после заражения лечение не проводили в целях получения сравнительных данных; 4 группа - контрольная, интактные сеголетки без заражения и лечения, кормление стартовым кормом в течение всего эксперимента.

В модельном эксперименте лактококкоза сеголеток карпа молоди карпа средней массой 15,7 г были помещены в аквариумы объемом 150 литров по 15 экземпляров в каждый. Кормление производили стартовым кормом с начальной навеской 1,57 г на группу (из расчета 2,0% от массы тела) 3 раза в сутки, увеличивая норму кормления по мере прибавления веса. Заражение *Lactococcus garveae* проводили на 8-е сутки от начала эксперимента во всех группах. В течение 4-х суток после заражения опытные группы кормили только кормом до

проявления признаков заболевания и первой гибели рыб. В качестве сравнения использовали коммерческий пробиотик «Ветом 1.1» согласно инструкции производителя. Продолжительность эксперимента составила 25 дней.

Схема эксперимента: 1 группа – опытная, биопрепарат К4 в концентрации $1,0 \times 10^8$ КОЕ/мл добавляли к корму первые 7 суток и с 11-е по 20-е сутки по 15,7 мкл каждое кормление (через 4 дня с момента заражения и проявления признаков заболевания); 2 группа - опытная, в качестве лечебной терапии к корму добавляли ципрофлоксацина гидрохлорид (антибак 100) в дозировке 0,117 г в сутки в течение 10 дней; 3 группа – опытная, после заражения лечение не проводили в целях получения сравнительных данных; 4 группа – контрольная, пробиотик «Ветом 1.1» в концентрации $1,0 \times 10^6$ КОЕ/мл добавляли к корму первые 7 суток и с 11-е по 20-е сутки по 0,018 г в сутки в течение 10 дней.

2.2.2.22 Методы статистической обработки

Статистическая обработка данных выполнялась с использованием программных пакетов «Statistica 6,0», Microsoft Excel-2003, Graph PadPrism 10.4.1 (2023). Результаты представлены в виде среднего значения и стандартного отклонения ($M \pm SD$) при трехкратной повторности опытов. Достоверность различий оценивали с использованием t-критерия Стьюдента (Штернис Т.А., 2020) при достоверности $p < 0,05$ и $p < 0,01$ (в таблицах уровни значимости обозначены как * $p < 0,05$ и ** $p < 0,01$). Филогенетический анализ проведен с помощью программы MEGA5 (Tamura K. et al., 2011).

3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

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

3.1.1 Оценка состояния и уровня загрязненности водных объектов по гидрохимическим параметрам

В Республике Казахстан насчитывается около 39 тыс. рек и временных водотоков, большинство из которых относятся к внутренним замкнутым бассейнам Каспийского и Аральского морей, а также озер Балкаш, Алаколь и Тенгиз. Большинство озер расположены на севере страны, однако высокая минерализация их вод во многих случаях хозяйственное использование.

Интегрированное управление водопользования в Казахстане связано с образованием бассейновых органов, наделенных полномочиями по согласованию хозяйственных и др. решений в пределах бассейна и обеспечению баланса интересов всех водопользователей (Водный кодекс РК, 2014). Данные структуры обеспечивают контроль за водохозяйственной деятельностью и природопользованием, включая меры правовой ответственности за нарушения.

На территории республики определены 8 водохозяйственных бассейнов, ресурсы всех рек которых оцениваются величиной примерно в 100 км^3 в год, из них 54 км^3 формируется на территории страны (Есильский, Нура-Сарысуский, Тобол-Торгайский бассейны) и 46 км^3 в соседних странах: в Китае - $21,2 \text{ км}^3$, Узбекистане - $14,6 \text{ км}^3$, Кыргызской Республике - $3,1 \text{ км}^3$, России - $7,5 \text{ км}^3$ (Ертисский, Арало-Сырдарьинский, Балкаш-Алакольский, Жайык-Каспийский, Шу-Таласский бассейны) (Комплексное управление, 2015).

Оценка качества воды в водных объектах Республики Казахстан

осуществляется в соответствии с «Единой системой классификации качества воды в водных объектах» (2016 г). РГП «Казгидромет» ежемесячно проводит наблюдения за качеством поверхностных вод по гидрохимическим показателям на более чем 130 водных объектах. Однако, согласно, письма Министерства экологии, геологии и природных ресурсов РК от 16 января 2020 г. оценка качества озер и морей по данной классификации невозможна. При анализе проб воды определяют до 60 физико-химических показателей, включая взвешенные вещества, цветность, прозрачность, рН, растворенный кислород, БПК₅, ХПК, основные ионы, биогенные и органические вещества (нефтепродукты, фенолы), тяжелые металлы, пестициды и др. (Инф. бюллетень, 2020).

Оценка данных многолетних мониторинговых наблюдений, выполненный на основе данных годовых информационных бюллетеней РГП «Казгидромет» за 2015-2024 гг. позволил выявить случаи высокого загрязнения (ВЗ) и экстремально высокого загрязнения (ЭЗВ) по ряду гидрохимических показателей в 6 исследуемых водоемах: в реках Есиль, Акбулак, Иртыш, Усолка, Астанинском водохранилище, канале Нура-Есиль (рисунок 3).



Рисунок 3 - Динамика случаев ВЗ и ЭЗВ в исследуемых водоемах за 2015-2024 гг.

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 рек Есиль, Акбулак, канала Нура-Есиль (Акмолинская область) и указывают на необходимость усиления биомониторинга и внедрения биотехнологических мер по улучшению качества водных экосистем.

Основными загрязняющими веществами являлись главные 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. Превышения нормативов по данным показателям связаны с природно-климатическими и антропогенными факторами, сбросами сточных вод различных хозяйственных и коммунальных предприятий, а также летними пастбищами вблизи исследуемых водоемов.

Проведенные мониторинговые исследования качества вод и основных загрязняющих веществ исследуемых водоемов в период с 2015 по 2024 гг. были составлены согласно Единой классификации качества вод (Инф. бюллетень РК, 2016; Инф. бюллетень РК, 2017; Инф. бюллетень РК, 2018; Инф. бюллетень РК, 2019; Инф. бюллетень РК, 2020; Инф. бюллетень РК, 2021; Инф. бюллетень РК, 2022; Инф. бюллетень РК, 2023; Инф. бюллетень РК, 2024). Исследуемые водные объекты по гидрохимическим показателям 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. Следует отметить, что озера Майбалык, Большой Талдыколь и Большая Сарыоба на момент сбора информации не входили в перечень водных объектов РГП «Казгидромет».

Результаты мониторинга состояния водоемов Северного региона представлены в таблице 1 (приложение А - Качество воды водоемов Северного Казахстана).

Таким образом, проведены мониторинговые наблюдения качества поверхностных вод исследуемых водоемов Северного региона по гидрохимическим показателям для определения уровня их загрязненности.

3.1.2 Гидробиологическая оценка водоемов на основе анализа фитопланктона

Более информативными критериями оценки экологического состояния водоемов зачастую являются не свойства гидрохимического режима (Козлов А.В. и др. 2019), а гидробиологические показатели (Батурина М.А. и др., 2018, Иммант Е.Н. и Новоселов А.П. и др., 2018). Видовой состав альгофлоры можно рассматривать как индикатор экологического состояния водоемов, поскольку поступление в водоем загрязняющих веществ, в том числе ТМ, приводит к диспропорции в развитии отдельных видов, что приводит в свою очередь, к нарушению взаимоотношений в экосистеме, в результате чего одни виды заменяются другими, наиболее приспособленными к сложившимся условиям (Деревенская О.Ю., 2015).

Изучен систематический и таксономический состав фитопланктона 8 исследуемых водоемов Северного региона Казахстана (рисунок 4).

Так, выявлено 291 видов и внутривидовых таксонов микроводорослей и цианопрокариот из 128 родов, 85 семейств, 51 порядка, 21 класса и 8 отделов. Значительную роль в формировании автотрофного фитопланктона составили диатомовые водоросли (*Bacillariophyta*), представленные 152 видами и внутривидовыми таксонами. Менее обильным видовым разнообразием представлены зеленые водоросли (*Chlorophyta*) – 74 видов и внутривидовых таксонов и цианобактерии (*Cyanobacteria*) – 39 видов и внутривидовых

ТАКСОНОВ.

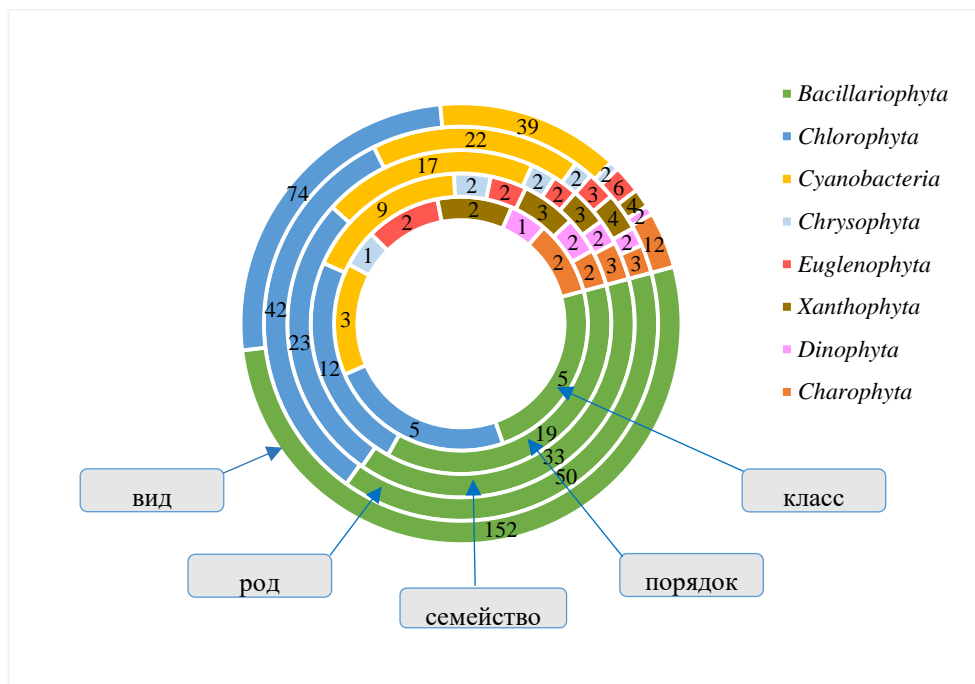


Рисунок 4 - Таксономический анализ фитопланктонных сообществ водоемов Акмолинской и Павлодарской областей

Остальные отделы представлены небольшим количеством видов и внутривидовых таксонов: харофитовые (*Charophyta*) – 12 видов, эвгленовые (*Euglenophyta*) – 6 видов, желто-зеленые (*Xanthophyta*) – 4 вида, динофитовые (*Dinophyta*) – 2 вида, золотистые (*Chrysochyta*) – 2 вида (рисунок 5).

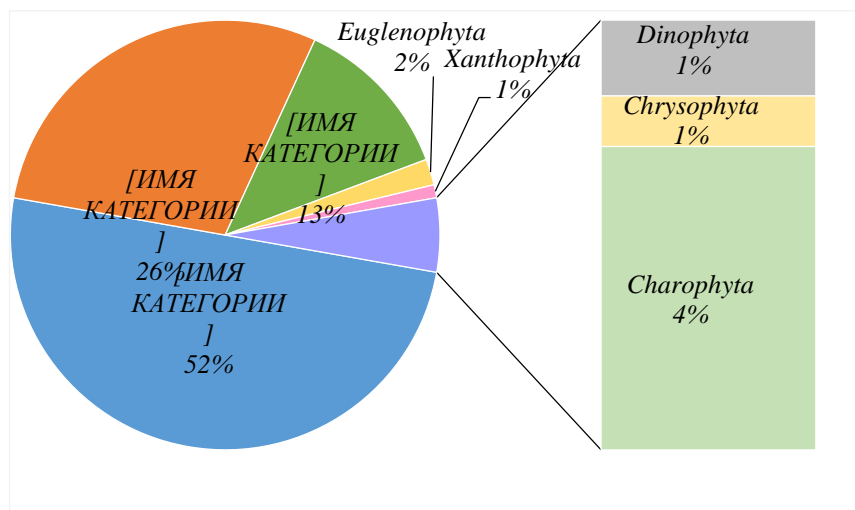


Рисунок 5 – Таксономическая структура фитопланктона по отделам (%)

Изучение видового разнообразия альгофлоры показало, что наибольшее количество водорослей наблюдалось в реках Есиль (179 видов), Акбулак (140 видов), канале Нура-Есиль (105 видов), реке Иртыш (100 видов). Менее разнообразным фитопланктонным сообществом обладали озеро Майбалык (97 видов), река Усолка (81 вид), озеро Большой Талдыколь (80 вид) и Астанинское водохранилище (63 вида) водорослей.

Большинство доминирующих видов из отдела *Bacillariophyta* относятся к семействам: *Naviculaceae* (21 вид), *Nitzschiaceae* (21 вид), *Gomphonemataceae* (13 видов), из отдела *Chlorophyta* - к семействам *Scenedesmaceae* (16 видов), *Chlorellaceae* (9 видов), *Hydrodictyaceae* (8 видов) и из отдела *Cyanobacteria* - к семейству *Oscillatoriaceae* (6 видов).

Наибольшим видовым разнообразием характеризовались следующие роды микроводорослей: *Nitzschia* (21 вид), *Navicula* (16 видов), *Pinnularia* (7 видов).

Наиболее часто встречаемыми во всех водоемах являются следующие виды - *Scenedesmus quadricauda*, *Pediastrum boryanum*, *Ulnaria ulna* (Nitzsch.), *Stephanocyclus meneghinianus* Kütz., *Neglectella solitaria* Witt., *Tetradesmus lagerheimii*, *Chlorella kessleri*, *Ulnaria acus* Kutz., *Amphora ovalis* Kutz., *Cymbella ventricosa* Kutz., *Diatoma hyemalis* (Lingb) Heib., *Nitzschia acicularis* W.Sm., *Pinnularia major* Kutz.

Таким образом, основу систематического списка альгофлоры водоемов Акмолинской и Павлодарской областей составили диатомовые водоросли (52,2%), зеленые водоросли (25,4%) и цианобактерии (13,4%), что отражает значение этих отделов в формировании фитопланктона водоемов исследуемого региона.

Составлен список водорослей-индикаторов с эколого-географическими характеристиками, проведен сапробиологический анализ, включающий определение сапробности и качества воды по показателям обилия вида в пробах с

указанием встречаемости видов по водоемам (приложение Б, таблица 2 - Список водорослей-индикаторов сапробности воды; приложение В, рисунок 1 - Микрофотографии водорослей-индикаторов).

По результатам исследования выявлены 194 вида водорослей индикаторов сапробности, что составляет более половины (66,7%) всей альгофлоры исследуемых водоемов.

Весь диапазон сапробности условно разделен нами на зоны: «загрязненности» и «чистоты». Зона «загрязненности»: α -р, α , α - β , β - α , β , о- α , β -о, зона «чистоты»: о- β , о, χ - β , о- χ , χ -о, χ . Процентные соотношения этих зон позволило определить степень загрязненности по водоемам (таблица 5).

Таблица 5 - Процентное соотношение индикаторно-сапробных видов микроводорослей в различных водных экосистемах

Водные экосистемы	Число сапробных видов	α -р	α	α - β	β - α	β	о- α	β -о	о- β	о	χ - β	о- χ	χ -о	χ
		Зона «загрязненности» (%)								Зона «чистоты»				
Река Есиль	134	6	8	6	12	54	18	11	7	7	4	1	0	0
		(85,8%)								(14,2%)				
Продолжение Река Акбулак	105	6	8	5	13	46	13	5	6	2	1	0	0	0
		(91,4%)								(8,6%)				
Канал Нура-Есиль	89	3	5	3	9	35	12	7	5	5	1	2	2	0
		(83,1%)								(16,9%)				
Река Иртыш	79	0	2	2	6	20	11	13	6	9	4	4	1	1
		(68,4%)								(31,6%)				
Река Усолка	65	0	0	3	3	16	8	12	7	7	5	2	1	1
		(64,6%)								(35,4%)				
Астанинское водохранилище	53	0	0	3	0	14	7	9	6	8	2	4	0	0
		(62,3%)								(37,7%)				
Озеро Майбалык	71	1	4	4	8	32	10	4	4	2	1	1	0	0
		(88,3%)								(11,3%)				
Озеро Большой Талдыколь	33	1	6	2	4	14	2	2	2	0	0	0	0	0
		(93,9%)								(6,1%)				

Анализ фитопланктона исследуемых водоемов выявил присутствие индикаторов всех зон сапробности. Основную часть составляют β -мезасапробы (63,0% от общего числа видов-индикаторов) и α -мезасапробы (10,8%).

Олигосапробы, а также виды, обитающие в переходной зоне между указанными категориями вод, составляют 26,2%, что указывает на потенциал водоемов к самоочищению.

Виды-индикаторы, обладающие высокой степенью толерантности к содержанию легкоокисляемыми органических веществ и благополучно существующие как в чистых, так и в загрязненных водах (виды-индикаторы α - β , β - α и α -а-мезосапробных зон) составляют 28,8% от общего числа видов. Следует отметить, что в зависимости от времени года, температуры воды и степени антропогенных воздействий различные участки водоемов могут менять видовой состав микроводорослей, а также иметь тенденцию перехода из одного класса качества воды в другой.

Анализ распределения видов-индикаторов по местообитанию и приуроченности к различным экотопам позволил выявить 58 таксонов (29,9%) планктонных форм, 43 таксонов (22,2%) бентосных форм, 35 таксонов (18,0%) планктонно-бентосных и 22 таксона (11,3%) литоральных форм, остальные формы представлены незначительным количеством видов.

Анализ распределения по географической приуроченности показал преимущественное преобладание космополитных видов (68,0%).

По отношению к солености подавляющее большинство видов-индикаторов относятся к индифферентам 98 таксонов (50,5%), олигогалобы составляют 12,9% (25 таксонов), галофилы составляют 11,3% (22 таксона), мезогалобы представлены 12 таксонами и галофобы представлены 5 таксонами.

По отношению к кислотности преобладают алкалофилы и алкабионты – 59 видов (30,4%) и индифференты – 56 видов (28,9%), к ацидофилам относятся лишь 4 вида-индикатора.

Расчет средней сапробности биоценоза по индексу Пантле-Букка в модификации Сладечека показал, что для рек Иртыш, Усолка значения индекса составили 1,51-1,58 при доле α -сапробионтов 24,7% (87 видов-индикаторов),

что соответствует II классу качества - «достаточно-чистые» воды. Для рек Есиль, канала Нура-Есиль, Астанинского водохранилища и озера Майбалык индекс сапробности составил 2,14-2,52 при доле β -сапробионтов 56,2% (171 видов-индикаторов), что позволяет отнести их к III классу - «умеренно загрязненные» воды. В реке Акбулак и озере Большой Талдыколь индекс сапробности составил 2,60-2,65 при доле α -мезасапробионтов 20,1% (105 вид-индикатора), что соответствует IV классу - «загрязненные» воды и указывает на эвтрофный характер данных экосистем.

Изучение состояния альгофлоры водоемов, проведенное в разные годы в летний период, позволило охарактеризовать их таксономическое и систематическое разнообразие, выявить приоритетные загрязнители исследуемых экосистем. 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 «достаточно чистых» до «загрязненных».

3.2 Разработка биопрепарата на основе микроводорослей для улучшения экологического состояния водных ресурсов

3.2.1 Выделение и селекция микроводорослей, изучение их фенотипических и молекулярно-генетических признаков

Выделение чистых культур проводили с целью поиска новых перспективных штаммов микроводорослей. Из 11 накопительных культур методом многократных пересевов получены 5 бактериально чистых изолятов зеленых микроводорослей рода *Chlorella* – У1, И2, Е2, А3 и СВ-5. Фотографии этапов выделения и получения альгологически и бактериально чистых культур

микроводорослей представлены на рисунке 6.

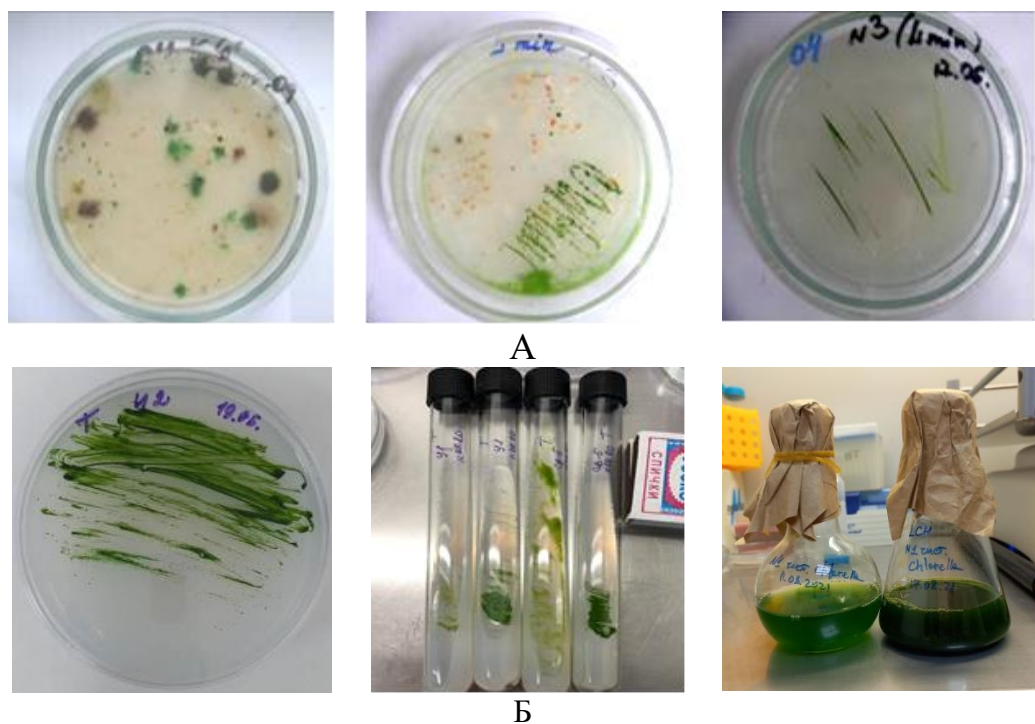


Рисунок 6 - Получение чистых культур микроводорослей: А) этапы выделения; Б) чистые культуры

Изучены культурально-морфологические и физиолого-биохимические характеристики изолятов зеленых микроводорослей: размеры клеток от 2,5 до 6 мкм, делятся на 2-8, очень редко на 16 автоспор. Культуры относятся к фототрофам (автотрофам), аэробам, индифферентам, пресноводным видам. При росте на жидких питательных средах Тамия и 04 образуют стойкую окраску ярко-зеленого цвета. На твердых питательных средах образуют круглые, гладкие, матовые и выпуклые колонии с ровными краями, однородной и мягкой консистенции диаметром 0,5-1,5 мм от зеленого до темно-зеленого цвета.

Культуры микроводорослей устойчивы к антибиотикам из групп β -лактамов, тетрациклинов, макролидов, аминогликозидов, фторхинолов, гликопептидов, хлорамфениколов. Усваивают углеводы, азот и фосфор,

крахмал не гидролизуют, разжижают желатину, обладают каталазной активностью. Обладают антимикробной активностью к бактериям группы кишечной палочки. Растут при температуре 25-28°C, pH среды 6,5-7,0, освещенности 2000-4000 лк.

Изолят У1 выделен на среде Тамия из реки Усолка, изолят И2 - на среде Тамия из реки Иртыш, изолят Е2 - на среде 04 из реки Есиль, изолят А3 - на среде Тамия из реки Акбулак, изолят СВ-5 – на среде Тамия из озера Майбалык. На рисунке 7 представлены микрофотографии чистых культур выделенных микроводорослей при увеличении $\times 100$.

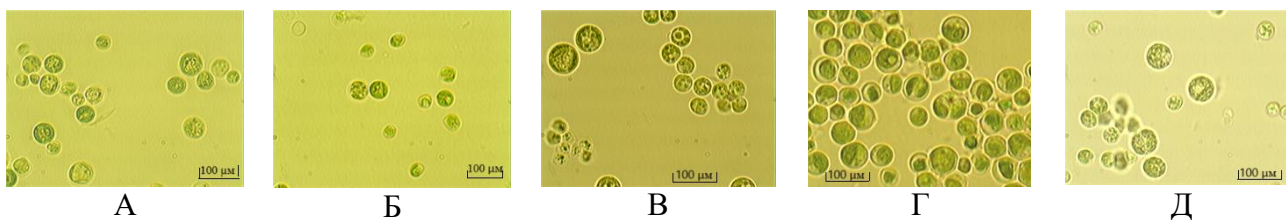


Рисунок 7 - Морфология клеток микроводорослей: А – изолят *Chlorella sp.* У1; Б – изолят *Chlorella sp.* И2; В – изолят *Chlorella sp.* Е2; Г – изолят *Chlorella sp.* А3; Д – изолят *Chlorella sp.* СВ-5

За последние годы молекулярно-генетические методы не только стали незаменимым инструментом изучения, но также являются единственным возможным инструментом в установлении видовой принадлежности большинства микроводорослей.

Результаты идентификации методом анализа нуклеотидной последовательности представлены в таблице 3 (приложение Г - Идентификация микроводорослей с помощью гена 18S рДНК).

Проведенные исследования позволили идентифицировать культуры зеленых микроводорослей со 100% идентичностью как: *Chlorella sp.* У1 - *Parachlorella kessleri*, *Chlorella sp.* И2 - *Chlorella vulgaris*, *Chlorella sp.* Е2 -

Parachlorella kessleri, *Chlorella sp. A3* - *Chlorella sorokiniana*, *Chlorella sp. CB-5* - *Parachlorella kessleri*.

Таким образом, были выделены и получены 5 чистых культур зеленых микроводорослей рода *Chlorella*, проведено исследование их культурально-морфологических и физиолого-биохимических характеристик, а также выполнена генетическая идентификация с применением ПЦР-анализа.

3.2.2 Оптимизация условий культивирования микроводорослей и получения их биомассы

Рост и развитие водорослей в культуре, прежде всего, зависит от состава и концентраций компонентов питательных сред. Урожайность водорослей может быть высокой только при создании оптимальных условий по температуре, освещению, газового обмена и питания.

Исследование условий питательной среды для максимального выхода биомассы подбирали на базе различных стандартных селективных сред для зеленых микроводорослей (Тамия, 04, Громовой, Lmin) с использованием выделенных штаммов, а также разработанную среду LCH собственной модификации согласно методике (см. разд. 2.2.2.6). Проводили оптимизирование таких условий культивирования как температура, освещенность, рН и питательная среда с ежедневным подсчетом числа клеток (рисунок 8).

Установлено, что наибольший прирост численности клеток микроводорослей наблюдается при культивировании на средах LCH, Тамия для всех исследуемых штаммов. В процессе культивирования 3 штамма микроводоросли *Parachlorella kessleri* У1, *Chlorella vulgaris* И2 и *Parachlorella kessleri* CB-5 продемонстрировали максимальное увеличение численности клеток в 5,2, 5,6 и 4,5 раза соответственно на среде LCH; в 5,7, 4,3 и 3,8 раза

соответственно на среде Тамия по сравнению с исходными значениями.

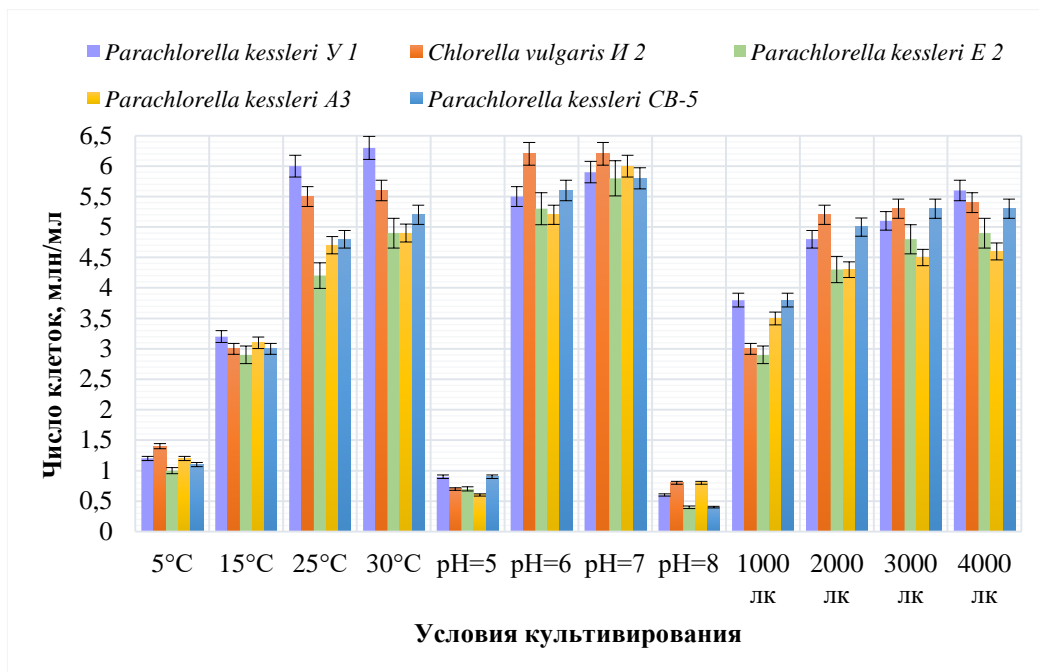


Рисунок 8 - Сравнительная динамика роста клеток культур микроводорослей при оптимизации условий культивирования

Оптимальные условия для поверхностного культивирования включают pH в диапазоне от 6,5 до 7,0, температуру 25-30°C и уровень освещенности 2000-4000 лк.

Проведена сравнительная оценка роста и накопления биомассы наиболее активных штаммов *Chlorella vulgaris* И2 и *Parachlorella kessleri* У1 при культивировании на средах LCH и Тамия в лабораторном фотобиореакторе Algaemaster 10 объемом 10 л. Результаты представлены на рисунке 9.

Установлено, что максимальные значения оптической плотности наблюдались на 5-е сутки (в фазу логарифмического роста). Для штамма И2 численность клеток на среде LCH увеличилась в 12,9 раза и на среде Тамия – в 12,8 раза, тогда как для штамма У1 показатели возросли в 5,5 и 4,8 раз соответственно. На 6-е сутки, с переходом культуры в стационарную фазу, отмечено незначительное снижение оптической плотности.

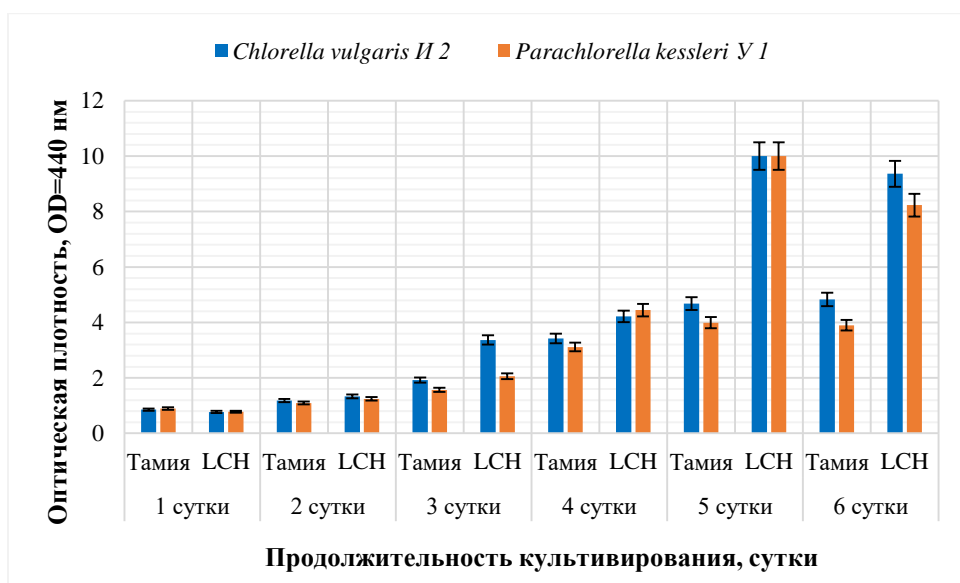


Рисунок 9 - Сравнительные параметры роста штаммов микроводорослей на средах LCH и Тамия при культивировании в фотобиореакторе

Культивирование на собственно модифицированной питательной среде LCH зеленых микроводорослей в сравнении с дифференцированными средами делает возможным и целесообразным использовать ее для получения продуктивной и стабильной биомассы как в малых, так и в больших объемах. Получен патент РК и Евразийский патент (приложение Д – Свидетельства о депонировании штаммов микроводорослей). Получены свидетельства о депонировании штаммов микроводорослей (приложение Е - Патент РК и Евразийский патент на модифицированную среду LCH).

Разработан лабораторный регламент, определяющий технологические основы получения биопрепарата на основе штаммов зеленых микроводорослей рода *Chlorella*, включая последовательность этапов его получения в лабораторных условиях (приложение Ж, рисунок 2 - Технологические этапы получения биомассы зеленых микроводорослей в лабораторных условиях).

Создана рабочая коллекция зеленых микроводорослей рода *Chlorella*, включающая 5 штаммов, регулярно пересеваемых на питательные среды (Тамия, 04, LCH) в чашках Петри и на скошенном агаре. Для контроля чистоты

культур проводится высеив на мясopептонный бульон и микроскопия культур.

Таким образом, определены оптимальные условия культивирования микроводорослей как поверхностным, так и глубинным способом: температура 25-30°C, pH=6,5-7,0, освещенность 16 ч:8 ч (люминесцентное : дневное), скорость перемешивания 100 об/мин с периодической подачей CO₂ - 0,03-5%, аэрация – 20%. Подобраны оптимальные питательные среды для каждого штамма, что обеспечило максимальный прирост биомассы. Разработаны и оптимизированы технологические параметры культивирования и получения биомассы микроводорослей рода *Chlorella*, а также методы их хранения.

3.2.3 Биологическая характеристика свойств и оценка эффективности применения биопрепарата на основе микроводорослей

3.2.3.1 Исследование токсичности микроводорослей и их устойчивости к воздействию тяжелых металлов

В качестве объектов биотестирования и биоиндикации в водной среде используются различные гидробионты – водоросли, микроорганизмы, а также беспозвоночные (Булгаков Н.Г., 2002). Ю.С. Григорьевым (2008) исследовано воздействие токсикантов на рост численности клеток микроводорослей рода *Chlorella* методом биотестирования.

Проведен анализ на токсичность воды с использованием дафний (*Daphnia magna* Straus) и культур микроводорослей *Chlorella vulgaris* И2 и *Parachlorella kessleri* У1 по методике (см. разд. 2.2.2.7). Результаты исследований представлены в таблице 6.

Таблица 6 - Влияние различных концентраций микроводорослей на выживаемость дафний

Наименование микроводорослей	Время (час)	Концентрация (биомасса)			
		50 мг/л	150 мг/л	250 мг/л	контроль
<i>Chlorella vulgaris</i> И2	12	10	10	10	10
	24	10	10	10	10
	36	10	10	10	10
	48	10	10	10	10
<i>Parachlorella kessleri</i> У1	12	10	10	10	10
	24	10	10	10	10
	36	10	10	10	10
	48	10	10	10	10

Установлено, что для дафний все исследуемые концентрации штаммов микроводорослей оказались не токсичными. Выживаемость после 48 ч биотестирования во всех вариантах составила 100%. Это означает отсутствие токсического и ингибирующего влияния на гидробионты, что подтверждает экологическую безопасность для применения в аквакультуре и биоремедиации водоемов.

Поскольку процесс поступления металлов в окружающую среду неизбежен при интенсификации промышленности и сельского хозяйства, вопрос прогнозирования развития водных биоценозов в условиях загрязнения вод следует признать актуальным. В связи с чем, возникает необходимость изучения устойчивости множества микроводорослей к различным химическим элементам.

На основании этого, изучена устойчивость микроводорослей *Chlorella vulgaris* И2 (далее И2) и *Parachlorella kessleri* У1 (далее У1) к различным концентрациям солей тяжелых металлов в 2018 г. - Fe, Mn, Cu и Zn, превышения по которым были выявлены в результате мониторинговых наблюдений в исследуемых водных объектах (рисунок 10) по методике (см. разд. 2.2.2.8).

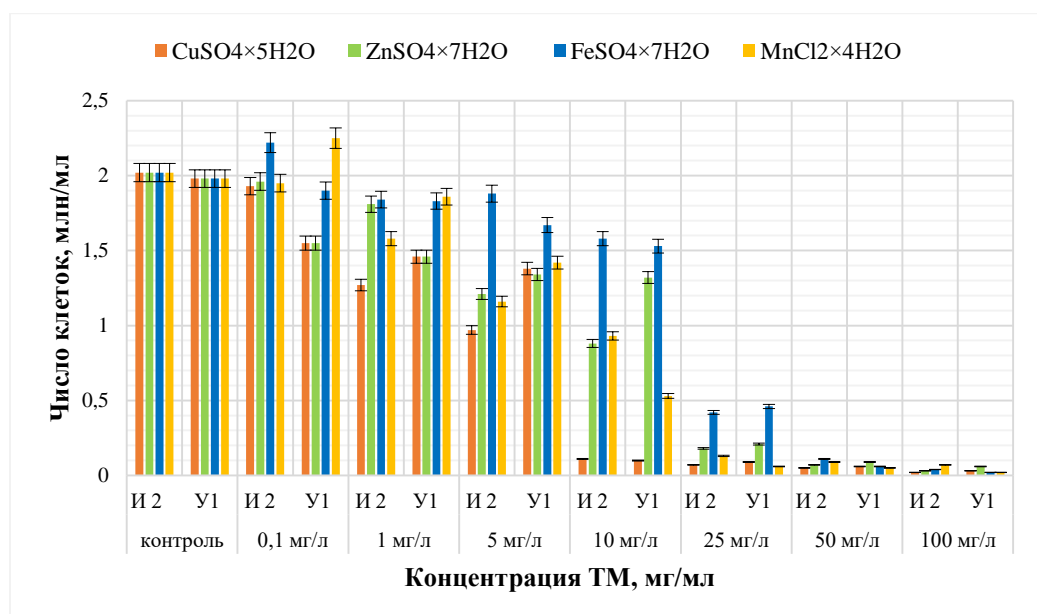


Рисунок 10 - Влияние различных концентрации ионов ТМ на рост микроводорослей *Chlorella vulgaris* И2 и *Parachlorella kessleri* У1

Выявлено, что обе культуры устойчивы к концентрации меди в среде 5 мг/л, тогда как уже при концентрации 10 мг/л наблюдается резкое снижение численности клеток, по сравнению с контролем, т.е. данная концентрация является токсичной. При содержании 50-100 мг/л наблюдалось полное прекращение роста и отмирание клеток микроводорослей.

Исследуемые штаммы устойчивы к концентрации в среде 10 мг/л цинка, железа и марганца, тогда как содержание в среде 25 мг/л данных металлов оказало влияние на рост клеток и являлось токсичным. Прекращение роста и отмирание клеток микроводорослей происходило при концентрации 50 и 100 мг/л металлов в среде.

Установлена достоверная зависимость между концентрацией ТМ в среде и интенсивностью роста микроводорослей: с повышением концентрации солей металлов наблюдается выраженное ингибирующее действие на рост их клеток.

Вместе с тем, выделенные культуры микроводорослей обладают устойчивостью к высоким концентрациям в среде меди, цинка, железа и

марганца, что свидетельствует об их адаптивном потенциале и их способности функционировать в условиях антропогенного загрязнения среды. Полученные результаты указывают на перспективность использования данных штаммов для биомониторинга, оценки качества водной среды и потенциально в системах биоремедиации, т.к. они не оказывают токсического действия на другие водные гидробионты. Получены патенты на полезную модель РК на штаммы *Parachlorella kessleri* У1 и *Chlorella vulgaris* И2 (приложение 3 - Патенты РК на штаммы микроводорослей У1 и И2).

3.2.3.2 Оценка потенциала использования микроводорослей для биоремедиации загрязненных водных экосистем

В ряде научных исследований доказано, что при использовании микроводорослей для очистки загрязненных вод, в воду выделяются вещества, обладающие бактерицидными свойствами (Горбунова С.Ю. и Жондарева Я.Д., 2012), что способствует снижению численности патогенной микрофлоры.

Микроводоросли способны удалять такие загрязнители как ТМ, стойкие органические загрязнители (хлорированные углеводороды, красители текстильной промышленности и гербициды), которые недостаточно удаляются в результате обычного процесса очистки (Kube M. et al., 2018; HariPriya U. et al., 2022; Touliabah H.E-S. et al., 2022).

В период с 2019 по 2021 гг. проведены лабораторные модельные эксперименты по оценке способности микроводорослей *Parachlorella kessleri* У1 и *Chlorella vulgaris* И2 к снижению содержания различных классов поллютантов (ТМ, биогенные элементы и главные ионы) на образцах природных вод из рек Иртыш, Усолка, Есиль, Акбулак и канала Нура-Есиль согласно методике (см. разд. 2.2.2.8). Результаты представлены в таблице 7.

Таблица 7 - Эффективность применения микроводорослей при доочистке природных вод в модельных условиях

Показатели	ПДК, мг/л	Эффективность доочистки после внесения штамма <i>Chlorella vulgaris</i> И2 (%)					Эффективность доочистки после внесения штамма <i>Parachlorella kessleri</i> У1 (%)				
		Иртыш	Усолка	Есиль	Акбулак	Нура-Есиль	Иртыш	Усолка	Есиль	Акбулак	Нура-Есиль
Сульфаты, мг/л	100	19,1	21,9	21,2	25,6	15,9	9,6	20,1	16,2	18,4	8,6
Хлориды, мг/л	300	4,5	2,3	0,8	5,6	1,8	2,6	0,7	1,2	1,7	0,2
Магний, мг/л	40	16,7	16,7	18,8	17,8	17,1	10,0	3,3	9,4	8,2	12,3
Нитриты, мг/л	0,08	50,0	62,5	30,0	50,0	64,3	50,0	50,0	40,0	61,1	50,0
Нитраты, мг/л	40	40,5	37,1	27,6	34,0	35,6	29,7	29,0	34,5	38,0	31,1
Аммоний, мг/л	0,5	54,3	56,4	52,9	48,0	65,7	37,1	43,7	57,6	34,4	31,4
Медь, мг/л	0,001	30,8	60,7	33,3	44,8	28,6	34,6	42,9	33,3	24,1	28,6
Цинк, мг/л	0,01	20,0	0	16,7	18,2	13,3	40,0	0	38,9	36,4	33,3
Железо, мг/л	0,1	23,4	38,2	33,5	38,7	29,5	26,4	51,9	33,2	47,2	47,3
Марганец, мг/л	0,01	0	3,8	12,2	22,7	20,0	0	20,0	31,7	36,4	34,3

При внесении штамма *Chlorella vulgaris* И2 наибольшему снижению концентрации подверглись нитриты (от 30 до 62,5%), аммоний (от 48 до 65,7%), медь (от 28,6 до 60,7%), железо (от 23,4 до 38,7%) и нитраты (от 27,6 до 40,5%) во всех исследуемых образцах.

Инокуляция штаммом *Parachlorella kessleri* У1 обеспечила эффективное удаление нитритов (от 40 до 61,1%), аммония (от 31,4 до 57,6%), железа (от 26,4 до 51,9%), цинка (от 33,3 до 40%) и нитратов (от 29 до 38%) во всех водоемах.

Полученные результаты подтверждают, что штамм *Chlorella vulgaris* И2 обладает более выраженной способностью к ассимиляции биогенных элементов (аммоний, нитраты, нитриты) и главных ионов (сульфаты, магний), тогда как штамм *Parachlorella kessleri* У1 характеризуется сорбционной способностью к ТМ (железу, цинку и марганцу).

Таким образом, штаммы микроводорослей характеризуются устойчивостью к повышенным концентрациям меди, цинка, железа и марганца в среде, обладая адаптивным потенциалом и экологической устойчивостью.

Для своевременного выявления повышенных уровней загрязнения, а также оценки и прогнозирования дальнейшего развития ситуации необходимо комплексное исследование состояния водных экосистем. В этом контексте особую роль играют микроводоросли, способные к биоочистке водоемов за счет поглощения загрязняющих веществ (биогенных элементов, тяжелых металлов др.). Их применение способствует восстановлению водных экосистем, улучшению кислородного режима и кормовой базы, а также поддержанию экологического баланса.

Следующим этапом исследования стало оценка эффективности применения консорциума микроводорослей *Chlorella vulgaris* И2 и *Parachlorella kessleri* У1 (далее И2+У1) в полевых условиях на воде озера Майбалык, имеющее важное экологическое и социально-экономическое значение для города Астана. Проведен анализ состояния водоема на основе усредненной пробы, включающей оценку ключевых морфометрических, гидрохимических и гидробиологических показателей за 2020-2021 гг., предоставленных ТОО «Ryboritomnik Maybalyk» (см. разд. 2.2.2.11). Результаты представлены в таблице 8.

Установлено, что по морфометрическим показателям озеро относится к малым озерам с общей минерализацией 1364,3 мг/дм³ с сульфатно-хлоридным составом воды, вода слабо солоноватая, соответствует слабощелочным водам. Органолептические показатели: вода зеленовато-серого цвета, с немного гнилостным запахом, прозрачностью 30-40 см (50 м от берега) и 25-35 см (на берегу).

Гидрохимический режим водоема в целом был благоприятным для жизнедеятельности гидробионтов, что свидетельствует об умеренном обогащении органическими веществами и достаточном уровне кислорода, что создает оптимальные условия для интродукции консорциума микроводорослей.

Ихтиофауна представлена в основном промысловыми видами рыб – щука

(*Esox lucius* L.), плотва (*Rutilus rutilus*), лещ (*Abramis brama*), карась (*Carassius auratus* L.), сазан (*Cyprinus carpio* L.), окунь (*Perca fluviatilis* L.), линь (*Tinca tinca* Linnaeus). Зоопланктон включал широко распространенные виды: коловратки (*Keratella quadrata*), ветвистоусые (*Daphnia magna* Straus), веслоногие (*Cyclops vicinus* Uljanin и *Thermocyclops vermifer* Lindberg) ракообразные. Зообентос представлен олигохетами (*Oligohchaeta*), личинками хирономид (*Chironomidae*), стрекоз (*Odonata*), ракообразными (*Crustacea*), моллюсками (*Mollusca*) и пиявками (*Hirudinea*). Высшая водная флора была представлена камышом, тростником и некоторыми видами рдеста.

Фитопланктон представлен 97 видами микроводорослей, из которых 71 вид являются индикаторами сапробности. Альгофлора представлена диатомовыми (*Bacillariophyta*) – 46,0%, зелеными (*Chlorophyta*) – 34,0%, сине-зелеными (*Cyanobacteria*) – 18,0% и эвгленовыми водорослями (*Euglenophyta*) – 2% от общего числа выявленных видов.

Таблица 8 - Основные параметры воды озера Майбалык

Морфометрические параметры					
Площадь, га	Изрезанность береговой линии	Зарастаемость, %	Площадь водного зеркала, га	Максимальная глубина, м	Средняя глубина, м.
2000	1,65	35	1540	3,5	1,2
Гидрохимические показатели					
pH	БПК, мг/дм ³	Перманганатная окисляемость, мг/дм ³	Минерализация, мг/дм ³	Растворимый кислород, мг/дм ³	СО ₂ , мг/дм ³
8,10	2,8	9,54	1364,3	9,68	0,15
Гидробиологические показатели					
Ихтиофауна	Зоопланктон	Зообентос	Фитопланктон	Водная растительность	
щука, плотва, лещ, карась, карп, окунь, линь	коловратки, ветвистоусые, веслоногие ракообразные	олигохеты, личинки хирономид, стрекоз, ракообразные, моллюски, пиявки	диатомовые, зеленые, сине-зеленые и эвгленовые микроводоросли	камыш, тростник, виды рдеста	

Расчет индекса сапробности по Пантле-Букку в модификации Сладечека показал, что его значения варьируют в пределах 2,14 - 2,5, что соответствует β - мезосапробным водоемам и классифицируется как воды «удовлетворительной чистоты». На основании гидрохимических и гидробиологических показателей вода исследуемого озера относится к 3-му классу качества, характеризующемуся как «умеренно загрязненная».

В 2021 г. проведено внесение в озеро Майбалык консорциума, сформированным из двух аборигенных штаммов микроводорослей И2+У1. Микробиологические и химические показатели определяли на исходном этапе и через 30 суток после применения микроводорослей (рисунки 11-12, таблица 9).

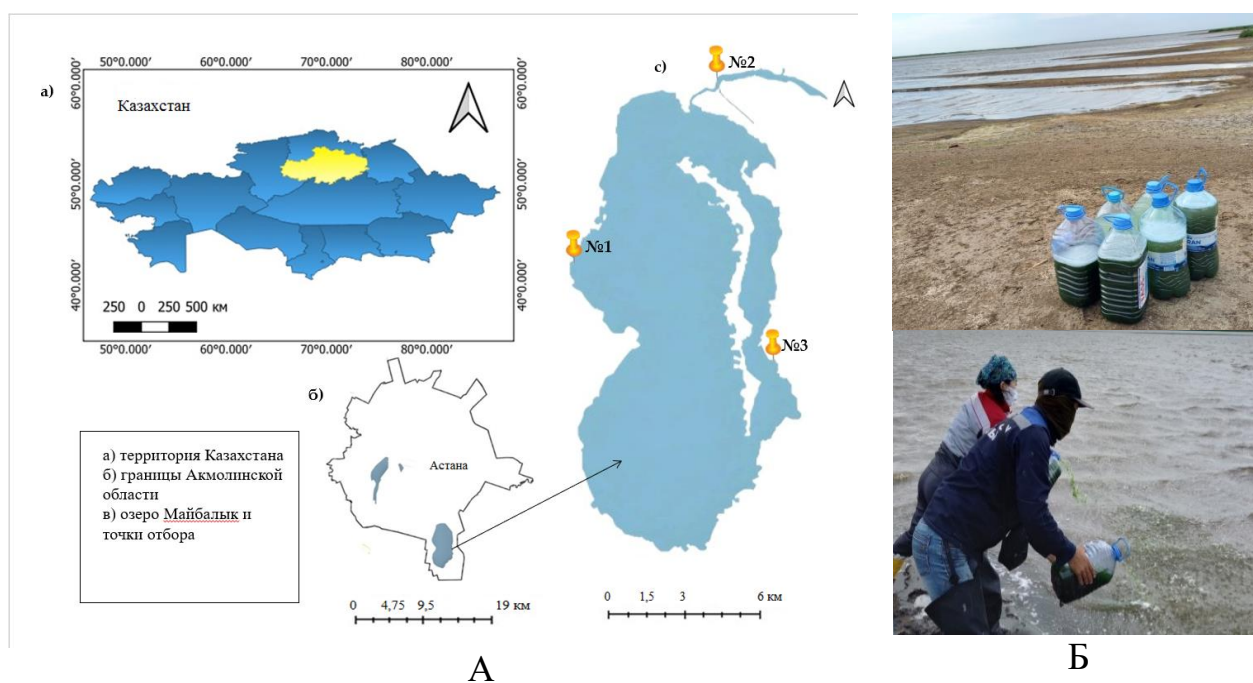


Рисунок 11 - Альголизация озера Майбалык: А) карта расположения озера; Б) внесение биомассы микроводорослей

Для этого предварительно была наработана биомасса микроводорослей в лабораторном фотобиореакторе общим объемом 30 л с плотностью суспензии $20 \cdot 10^6$ кл/мл. Внесение консорциума осуществлялось вручную в 3-х точек озера

Майбалык однократно в июне месяце при температуре воды 22°C. Суспензию микроводорослей разливали на расстоянии 5-10 м и 15-20 м от берега с расчетом 2 л/га.

Микробиологический анализ, проведенный через месяц после внесения микроводорослей, 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% ($P \leq 0,01$). Полученные результаты свидетельствуют о значительном улучшении санитарного состояния озера после применения микроводорослей.

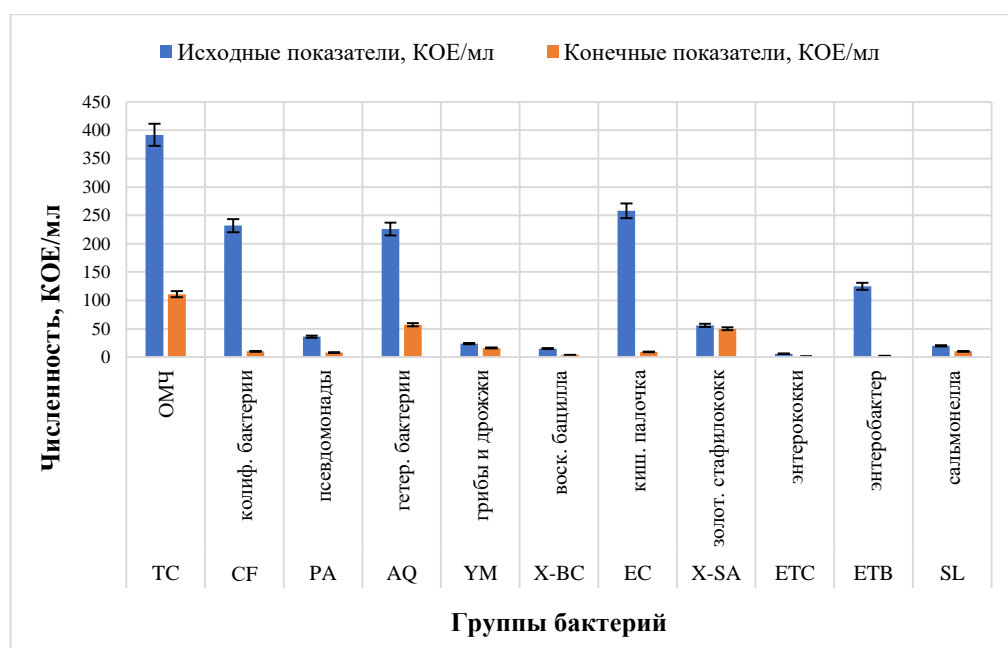


Рисунок 12 - Микробиологический анализ проб воды озера Майбалык

Основные гидрохимические показатели проб воды озера Майбалык до и после внесения микроводорослей представлены в таблице 9.

Таблица 9 - Гидрохимический анализ проб воды

Наименование показателя	ПДК, мг/дм ³	Значения показателей, мг/л		Эффективность очистки, %
		исходные	конечные	
рН	6,5-8,5	8,1±0,08	7,96±0,09	1,7
БПК ₅	3,0	2,8±0,12	1,5±0,06*	46,4
ХПК	30,0	50,0±0,14	35,0±0,22**	30
Взвешенные вещества	0,25	30,6±0,18	18,0±0,11**	41,2
Хлориды	300	1030,0±0,25	1018,0±0,18**	1,2
Фосфат-ионы	0,15	0,16±0,008	0,14±0,006*	12,5
Азот аммонийный	0,5	0,9±0,03	1,44±0,07*	0
Нитриты	0,08	0,013±0,001	0,018±0,002	0
Нитраты	40,0	24,8±0,19	8,0±0,25*	67,7
Железо общее	0,1	0,40±0,05	0,15±0,007*	62,5
СПАВ	0,1	0,22±0,01	0,15±0,006*	31,8
Сульфаты	100	130,0±0,20	45,0±0,35**	65,4
Фториды	0,05	0,38±0,01	0,28±0,009*	26,3

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

Исследование образцов воды, отобранных до внесения консорциума, показало несоответствие ПДК для водоемов рыбохозяйственного значения по следующим показателям: ХПК – 1,7 ПДК, взвешенных веществ – 122,4 ПДК, хлоридов – 3,4 ПДК, азота аммонийного – 1,8 ПДК, железа – 4 ПДК, СПАВ – 2,2 ПДК, сульфатов – 1,3 ПДК, фторидов – 7,6 ПДК. По показателям концентрации БПК₅, рН, фосфатов, нитритов и нитратов в пробе воды не превышали ПДК.

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.

Проведенные исследования подтвердили эффективность применения

штаммов микроводорослей при интродукции в природный водоем, которая способствует значительному снижению численности условно-патогенной микрофлоры, тем самым улучшая санитарное состояние водоема за счет выраженных антимикробных свойств микроводорослей. Отмечено также положительное влияние на гидрохимические параметры воды, обусловленное деструкцией ключевых загрязняющих веществ (до 67,7% по нитратам, $P \leq 0,05$).

Полученные результаты свидетельствуют о перспективности использования биопрепарата на основе автохтонных штаммов микроводорослей в комплексных мероприятиях, направленных на улучшение качества воды в поверхностных водоемах. Разработанный подход демонстрирует высокую эффективность в удалении органоминеральных поллютантов, что свидетельствует о его потенциале для дальнейшего практического применения в биоремедиации водных экосистем Северного Казахстана.

3.3 Разработка биопрепаратов на основе автохтонных штаммов бактерий для улучшения качества водной среды

3.3.1 Выделение и скрининг автохтонных штаммов бактерий, изучение их фенотипических и молекулярно-генетических признаков

Автохтонные микроорганизмы, в особенности бактериопланктон, формируют большую часть микробиоты водоемов. Постоянно развиваясь в значительных количествах или претерпевая сезонные вспышки развития, являясь при этом неотъемлемой частью трофической цепи, они определяют скорость круговорота углерода, азота, серы и железа (Шеховцева Н.В., 2008).

Из различных водоемов Акмолинской области выделены 27 чистых изолятов автохтонных бактерий: из реки Акбулак - 5 изолятов, реки Есиль – 6 изолятов, озера Большой Талдыколь – 8 изолятов, озера Майбалык – 8 изолятов

бактерий. Фотографии некоторых чистых культур представлены на рисунке 13.



Рисунок 13 - Изоляты чистых культур бактерий на агаризованной среде МПА

Характеристика бактерий по культуральным, морфологическим и биохимическим признакам является одними из ключевых традиционных таксономических методов.

При изучении *культурально-морфологических свойств* выявлено, что выделенные автохтонные изоляты бактерий представлены как грамтрицательными (14 культур), так и грамположительными палочками (13 культур). Большинство выделенных бактерий представлено светло-бежевыми и бежевыми колониями (77,8%), а также светло-желтыми и желтыми колониями (7,4%), светло-розовыми (3,7%) и красными колониями (11,1%). Профиль колоний в основном представлен круглыми, выпуклыми, блестящими, непрозрачными колониями (81,5%) и расплывчатыми, непрозрачными, матовыми колониями с неровными краями (18,5%).

Физиолого-биохимические свойства выделенных изолятов изучали по различным свойствам биологической активности, характерным для бактерий-деструкторов (приложение И, таблица 4 - Биологическая активность изолятов автохтонных бактерий; приложение К, рисунок 3 - Фотографии результатов биологической активности автохтонных бактерий).

При изучении антагонистической активности установлено, что 12 (44,4%) изолятов проявили антимикробную активность против исследуемых тест-штаммов, тогда как 15 изолятов (55,6%) не обладали антимикробными свойствами. Наибольшими показателями антагонизма характеризовались изоляты: М1с, М1м, БС-4, БС-5, М3, У1-1, У1-2ж, БТ2, БТ4.

Фосфатмобилизующая активность выявлена у 17 изолятов (63%), обладающие способностью мобилизовать неорганические фосфаты, формировали просветления вокруг колоний в диапазоне от $12,5 \pm 0,50$ мм до $24,5 \pm 0,71$ мм ($P \leq 0,05$). Наиболее выраженную активность продемонстрировали изоляты: БС-3, БС-4, М4/1, М4/4, БТ5/2, У2, У1-2ж, У3, У4, У3, У4.

Протеолитической активностью обладали 13 изолятов (48,1%), способных гидролизовать белковые соединения с зоной лизиса от $6,8 \pm 0,63$ до $22,0 \pm 0$ мм ($P \leq 0,05$). К наиболее активным относятся изоляты: БС-2, БС-3, БС-4, М4/2, БТ1, БТ2, БТ4, БТ5/1, БТ/2, У1-1, У1-2ж, У1-2б, У3.

Липолитическая активность отмечена у 11 изолятов (40,7%), при этом степень интенсивности варьировала. К числу активных изолятов относятся: БС-2, БС-3, М4/2, БТ1, БТ2, БТ—4, БТ5/1, БТ5/2, У1-2ж, У1-2б, У3.

Амилолитическая активность выявлена у 9 изолятов (33,3%), которые демонстрировали способность к гидролитическому расщеплению крахмала под действием амилаз. Наиболее активными были изоляты: М1с, М1м, БТ1, БТ4, БТ5/2, БС-4, У1-2ж, У2, У3).

Способностью ферментировать разложение различных углеводов обладали 8 изолятов: У1-1, У1-2ж, У1-2б, БС-1, БС-2, БС-3, М4/1, БТ4 (29,6% от общего числа).

Изучение нитрифицирующей активности показало, что все изоляты способны усваивать органическую форму азота в виде пептона. Большинство изолятов (88,9%) усваивают аммонийную и нитратную формы азота.

Каталазная активность выявлена у 66,6% изолятов, при этом наибольшую

активность продемонстрировали изоляты БТ4, БТ3, У1-2ж и У2.

Анализ профиля антибиотикоустойчивости показал, что 6 изолятов (22,2%): У1-1, БС-3, БС-5, У1-2б, М1с, М4/5 были чувствительны ко всем 15 исследуемым антимикробным препаратам. У 55,5% изолятов наблюдался разный профиль устойчивости (от 6 до 13 антибиотиков), только один изолят М4/3 проявил резистентность ко всем антибиоткам.

Изучение физиолого-биохимических свойств на основе фенотипических признаков позволило выявить в результате скрининга 9 наиболее активных изолятов - БС-4, БТ2, БТ4, У1-2ж, У1-1, БС-3, М1с, БТ1, БТ5/2.

Проведение идентификации с помощью MALDI-TOF Biotyper анализа позволило определить выделенные изоляты до вида. Установлено, что к роду *Pseudomonas* относятся 3 изолята, к роду *Arthrobacter* - 7 изолятов, к роду *Serratia* - 3 изолята, к роду *Bacillus* - 5 изолятов, к роду *Shewanella* - 3 изолята, к роду *Chryseobacterium* - 1 изолят, к роду *Stenotrophomonas* - 1 изолят, к роду *Enterobacter* - 2 изолята, к роду *Halomonas* - 1 изолят, к роду *Rhodococcus* - 1. Процент распределения по родам представлен в виде диаграммы на рисунке 14.

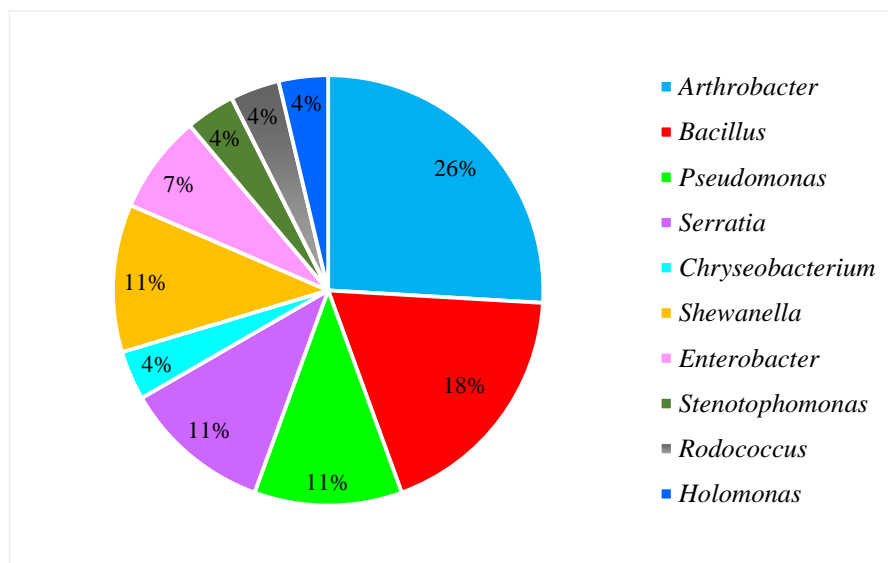


Рисунок 14 - Процентное соотношение автохтонных бактерий по родам

В результате скрининга для включения в состав консорциума биопрепарата отобраны четыре наиболее перспективных изолята бактерий - У1-2ж, БТ2, БТ4, БС-4, обладающие разной степенью биологической активности.

Изолят У1-2ж – аэроб, представлен грамтрицательными палочками. На МПА образует желтые, круглые, матовые, однородные, непрозрачные колонии диаметром 0,5-1,5 мм, с ровными краями, мягкой консистенции, невыпуклым профилем. Оптимальный рост при $37\pm 2^{\circ}\text{C}$ в течение 24-48 ч. Подавляет рост *E. coli*, *S. aureus*, *Kl. pneumonia*, *E. faecium*, *Ps. aeruginosa* и *A. punctata*. Выделен из р. Есиль.

Изолят БС-4 – аэроб, представлен грамтрицательными палочками. На МПА образует бежевые, круглые, блестящие, однородные, непрозрачные колонии диаметром 0,5-1 мм, с ровными краями, мягкой консистенции, слегка выпуклым профилем. Оптимальный рост при $28-30^{\circ}\text{C}$ в течение 24-48 ч. Подавляет рост *E. coli*, *S. aureus*, *A. punctata*, *E. faecium*, *Ps. taiwanensis* и *Ps. aeruginosa*. Выделен из р. Акбулак.

Изолят БТ2 – аэроб, представлен грамположительными палочками. На МПА образует бежевые, круглые, блестящие, однородные, непрозрачные колонии диаметром 0,5-1,5 мм, с ровными краями, мягкой консистенции, с выпуклым профилем. Оптимальный рост при $28-30^{\circ}\text{C}$ в течение 24-48 ч. Подавляет рост *S. enteriditis*, *E. faecium*, *Ps. taiwanensis*, *Ps. aeruginosa*, *E. coli* и *Kl. pneumonia*. Выделен из оз. Большой Талдыколь.

Изолят БТ4 - факультативный анаэроб, представлен грамтрицательными палочками. На МПА образует красные, круглые, блестящие, однородные, непрозрачные колонии диаметром 0,5-1,0 мм, с ровными краями, мягкой консистенции, с выпуклым профилем. Оптимальный рост при $28-30^{\circ}\text{C}$ в течение 24-48 ч. Подавляет рост *S. aureus*, *S. enteriditis*, *Kl. pneumoniae*, *Ps. taiwanensis* и *A. punctata*. Выделен из оз. Большой Талдыколь.

Для уточнения видовой принадлежности наиболее активных бактерий

проведена молекулярно-генетическая идентификация с помощью гена 16S rRNA со 100% идентичностью как: БТ-2 - *Arthrobacter nicotinovorans*, БТ-4 - *Serratia marcescens*, БС-4 - *Pseudomonas extremorientalis*, У1-2ж - *Chryseobacterium gleum* (приложение Л, таблица 5 – Идентификация автохтонных бактерий с помощью гена 16S rRNA).

Проверка на патогенность (ТОО «Нутритест», Алматы) позволила отнести данные штаммы к 3-му (*P. extremorientalis* БС-4) и 4-му классу опасности (*A. nicotinovorans* БТ-2, *S. marcescens* БТ-4 и *Ch. gleum* У1-2ж).

Осуществлено депонирование отобранных штаммов в Биобанк промышленных микроорганизмов РКМ с присвоением коллекционных номеров: В-РКМ 0956 - *Arthrobacter nicotinovorans* БТ-2, В-РКМ 0955 - *Serratia marcescens* БТ-4, В-РКМ 0957 - *Pseudomonas extremorientalis* БС-4, В-РКМ 0958 - *Chryseobacterium gleum* У1-2ж.

3.3.2 Разработка вариантов биопрепаратов и оптимизация параметров получения их биомассы

Для создания биопрепарата необходима предварительная разработка различных вариантов консорциумов микроорганизмов, способные к деструкции ряда органических и неорганических загрязнителей в водной среде.

Разработан консорциум КВ-4 на основе выделенных активных автохтонных бактерий *Arthrobacter nicotinovorans* БТ-2, *Serratia marcescens* БТ-4, *Pseudomonas extremorientalis* БС-4, *Chryseobacterium gleum* У1-2ж. Для сравнительного анализа дополнительно разработан консорциум КК-4 на основе штаммов бактерий-деструкторов различных поллютантов из коллекции Биобанка промышленных микроорганизмов РКМ - *Pseudomonas putida* 3Г-2В-РКМ 0652, *Bacillus subtilis* 6В-РКМ 0031, *Arthrobacter citreus* В-РКМ 0499 и *Saccharomyces cerevisiae* РКМ 0099.

При создании микробного консорциума учитывают стабильность технологических и функциональных свойств, способность к накоплению биомассы, высокие показатели жизнеспособности и биологической активности (Глушанова Н.А. и Блинов А.И., 2005).

Изучение биосовместимости разработанных консорциумов КК-4 и КВ-4 показало, что штаммы в их составе консорциумов не подавляют рост друг друга, что позволяет проводить процесс одновременного совместного культивирования. Изучение жизнеспособности консорциумов КК-4 и КВ-4 позволило выявить быстрые темпы роста и высокий титр клеток консорциумов ($10,7 \pm 0,88 \times 10^8$ и $12,0 \pm 1,0 \times 10^9$ КОЕ/мл соответственно, $P \leq 0,05$).

Далее проведены работы по подбору наиболее оптимальной питательной среды для культивирования консорциумов КК-4 и КВ-4 в колбах Эрленмейера объемом 2000 л с использованием жидких сред МПБ, МХ и ВНИ и изучением показателей ЖСП через 8, 16, 24, 36, 48 ч культивирования.

Оба консорциума показали достаточно высокие показатели ЖСП (10^8 - 10^9 КОЕ/мл) на всех исследуемых средах. Консорциум КК-4 проявляет максимальные суммарные показатели ЖСП через 36 и 48 ч на всех средах. Наилучшие показатели ЖСП выявлены при культивировании на среде МХ ($17,0 \pm 2,5 \times 10^9$ КОЕ/мл, $P \leq 0,05$). Консорциум КВ-4 достигал максимальные показатели ЖСП через 48 ч на среде ВНИ и МПБ ($13,0 \pm 1,1 \times 10^9$ и $12,0 \pm 1,7 \times 10^9$ КОЕ/мл соответственно, $P \leq 0,05$).

Параллельно проводили измерение значений рН среды и температуры с последующим изучением ЖСП и определением оптической плотности (OD=600 нм) на жидких средах МПБ, МХ и ВНИ через 8, 16, 24, 36, 48 ч культивирования. Результаты представлены на рисунке 15.

В процессе культивирования консорциума КК-4 наблюдается изменение рН среды с кислых значений до нейтральных (6,5-7) на всех исследуемых средах к 48 часам инкубации. В случае с консорциумом КВ-4 на среде МПБ

значения рН не изменились, тогда как на средах МХ и ВНИ значения рН в середине цикла достигали нейтральных значений (6,5-7), а к концу культивирования снизились в сторону кислой среды и составили 5.

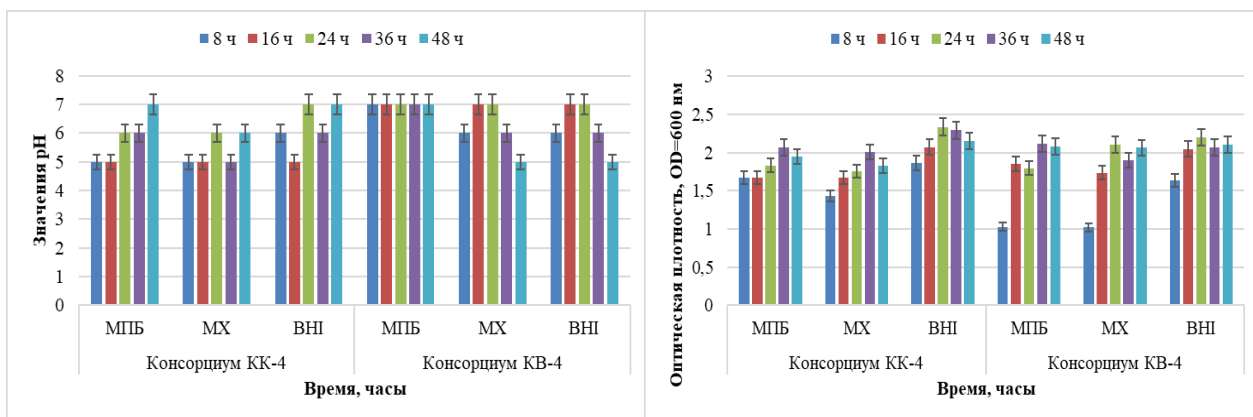


Рисунок 15 - Значения рН и динамика оптической плотности при культивировании консорциумов КК-4 и КВ-4 на разных питательных средах в зависимости от времени инкубации

Наибольший рост клеток консорциума КК-4 наблюдается на среде ВНИ, на которой уже через 24 часа происходит максимальный рост бактерий (OD=2,334 ед.). На средах МПБ и МХ показатели оптической плотности были несколько ниже, достигая максимума к 36 часам культивирования (OD=2,067 ед. и OD=2,006 ед. соответственно).

По температурным параметрам наиболее оптимальной для роста обоих консорциумов составляет температура $35 \pm 2^\circ\text{C}$, что подтверждает их адаптацию к мезофильным условиям.

Для получения биомассы при поверхностном культивировании консорциумов КК-4 и КВ-4 возможно использование всех исследуемых сред, но для выхода максимальной биомассы рекомендуется использование среды ВНИ.

Для реализации глубинного культивирования в ферментере при масштабировании процесса получения биомассы биопрепарата в условиях

лаборатории рекомендуется использование питательной среды МПБ. Это обусловлено ее доступностью и экономической целесообразностью, что делает процесс производства более эффективным и рентабельным при сохранении высокого уровня выхода биомассы.

Технологические параметры наработки и получения консорциума биопрепарата в лабораторном ферментере

Предварительно для получения биомассы препаратов КВ-4 и КК-4 в ферментере проводили наработку инокулята штаммов консорциумов методом поверхностного культивирования в термошейкере Innova 44 (США) при ранее оптимизированных условиях. Далее были отработаны оптимальные параметры получения микробной массы методом глубинного культивирования в лабораторном ферментере биопрепаратов КК-4 и КВ-4 (см. разд. 2.2.2.19). Динамику роста клеток на среде МПБ определяли спектрофотметрически при 600 нм в течение 12 часов (рисунок 16).

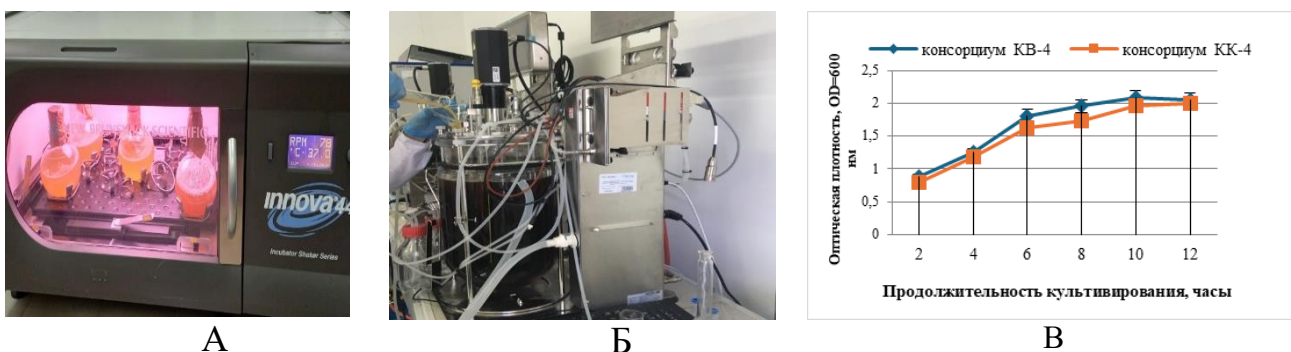


Рисунок 16 - Нарботка биомассы препарата: А) методом поверхностного культивирования; Б) методом глубинного культивирования; В) динамика роста консорциумов

Готовую суспензию биопрепаратов хранили в течение 30 суток. Для получения биопрепарата в виде пасты проводили центрифугирование суспензии биопрепарата (см. разд. 2.2.2.9). Для получения препарата в сухом виде

проводили процедуру лиофилизации (см. разд. 2.2.2.9).

Разработаны лабораторный регламент и технологическая инструкция, определяющие технологические основы получения биопрепарата на основе автохтонных штаммов бактерий, включая последовательность этапов его получения (приложение М, рисунок 4 – Технологические этапы получения биомассы биопрепаратов на основе консорциумов КВ-4 и КК-4 в лабораторных условиях).

Результаты исследований позволили разработать два варианта биопрепарата на основе консорциумов КК-4 и КВ-4. Штаммы, входящие в состав консорциумов, продемонстрировали высокую жизнеспособность (10^8 - 10^9 КОЕ/мл, $P \leq 0,05$), а также выраженные антимикробные свойства. Определены и оптимизированы технологические параметры получения биомассы как при поверхностном, так и глубинном методах культивирования. Разработаны регламент и инструкция по получению биомассы препаратов на основе автохтонных штаммов бактерий.

3.3.3 Оценка биологических свойств и эффективность применения биопрепаратов на основе автохтонных бактерий

В последние годы очистка водоемов является актуальной экологической задачей как для Казахстана, так и для всего мира. Повышение требований к качеству поверхностных водоемов вызывают необходимость поиска более эффективных и экологически безопасных способов удаления загрязнений. С экономической точки зрения наиболее предпочтительными являются биологические методы, основанные на способности микроорганизмов утилизировать органические и неорганические соединения, содержащиеся в загрязненных водах.

Одним из ключевых критериев отбора промышленно-ценных штаммов

для создания бактериальных препаратов является их антагонистическая активность, определяемая *in vitro* (Прокопенко К.М., 2015).

В связи с этим, проведено исследование антагонистической активности консорциумов КВ-4 и КК-4 методом диффузии в агар с использованием тест-штаммов из коллекции Биобанка промышленных микроорганизмов РКМ, а также анализ антибиотикочувствительности диско-диффузионным методом (рисунок 17).

Консорциум КК-4 проявил наибольшую антагонистическую активность в отношении санитарно-показательных микроорганизмов - *E. coli* ($15,3 \pm 0,75$ мм; $P \leq 0,05$) и наименьшую – к *S. enteritidis* ($11,0 \pm 0,41$ мм; $P \leq 0,05$), тогда как к *P. taiwanensis*, *P. aeruginosa*, *A. punctata* зафиксированы нулевые показатели.

Консорциум КВ-4 достоверно показал среднюю и высокую антимикробную активность ко всем тестируемым микроорганизмам с наибольшими показателями против *P. taiwanensis* ($20,0 \pm 0$ мм) и наименьшими – против *A. punctata* ($11,0 \pm 0$ мм; $P \leq 0,05$).

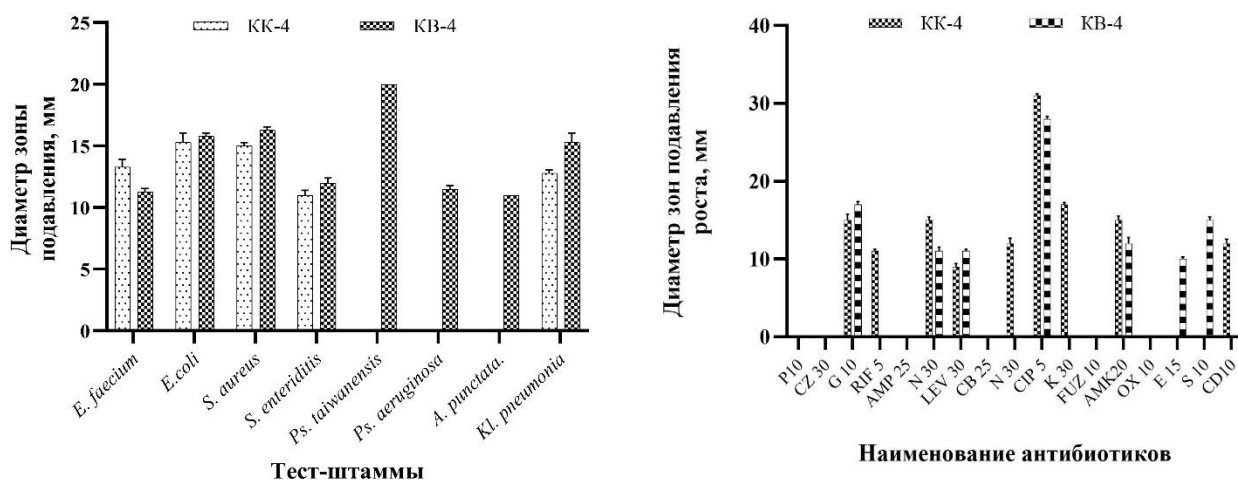


Рисунок 17 - Антагонистическая активность и чувствительность к антибиотикам консорциумов КВ-4 и КК-4

Анализ резистентности к антимикробным препаратам показал, что консорциум КК-4 устойчив к Р 10, CZ 30, AMP 25, СВ 25, FUZ 10, ОХ 10, Е 15, S 10, с промежуточной устойчивостью к остальным антибиотикам. Консорциум КВ-4 проявил устойчивость к Р 10, CZ 30, RIF 5, AMP 25, СВ 25, ТЕ 30, К 30, FUZ 10, ОХ 10, CD 10, с промежуточной чувствительностью к остальным антибиотикам. Оба консорциума сохраняли высокую чувствительность только к антибиотику фторхинолового ряда - СІР 5 ($31 \pm 0,25$ мм; $P \leq 0,05$).

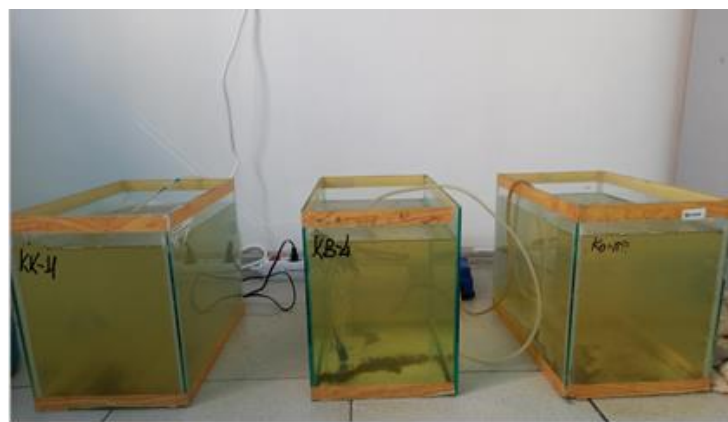
Результаты исследования показали, что биопрепарат на основе консорциума КВ-4 обладает высокой антимикробной активностью и широким спектром действия по сравнению с КК-4, что свидетельствует о его большей эффективности и перспективности.

Для изучения действия и определения эффективности разработанных биопрепаратов проведены исследования их способности к деструкции органических и биогенных элементов в лабораторных условиях на модельных образцах воды озера Большой Талдыколь в аквариумах объемом 19 л в летний период 2022 г. (см. разд. 2.2.2.19). Вода представляла собой жидкость темно-желтого цвета с хлопьевидным осадком и резким специфическим (гнилостным) запахом, нейтральным рН. Процесс проведения модельного эксперимента представлен на рисунке 18.

Проведены гидрохимические и микробиологические анализы проб природной воды озера Большой Талдыколь до внесения биопрепаратов (исходные показатели) и после их применения (конечные показатели) в каждом из вариантов (см. разд. 2.2.2.19). Результаты представлены в таблице 10.



А



Б

Рисунок 18 - Модельный эксперимент по изучению эффективности биопрепаратов: А) отбор проб воды; Б) фото эксперимента

Таблица 10 - Гидрохимический и микробиологический анализы проб воды

Гидрохимический анализ					
Наименование показателя	ПДК сточных вод, мг/л	Исходные показатели, мг/л	Конечные показатели, мг/л		
			Контроль	КВ-4	КК-4
рН	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*
Продолжение 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*
<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≤0,05; ** - P≤0,01, по отношению к исходным значениям

Внесение биопрепаратов КВ-4 и КК-4 способствовало выраженному

улучшению качества воды как по микробиологическим, так и по гидрохимическим показателям в сравнении с исходными и контрольными образцами. Общее микробное число (ОМЧ) уменьшилось на 25% после обработки КВ-4 ($P \leq 0,05$) и на 11% после КК-4, колиформных бактерий на 70% ($P \leq 0,01$) и 51% ($P \leq 0,05$) соответственно.

Количество бактерии группы кишечной палочки снизилось на 79% при применении КВ-4 ($P \leq 0,05$) и на 70% при КК-4 ($P \leq 0,05$), энтеробактерий на 51,3% ($P \leq 0,05$) и 64,1% ($P \leq 0,05$) соответственно. Для *S. aureus* показатели составили 65% для КВ-4 ($P \leq 0,05$) и 48% для КК-4 ($P \leq 0,05$). В обоих опытных вариантах к окончанию эксперимента сальмонелла отсутствовала. Полученные данные отражают различные спектры антимикробной активности биопрепаратов, тем самым улучшая санитарные показатели воды.

Введение обоих биопрепаратов благоприятно отразилось на органолептических показателях воды: снизилась мутность, улучшилась цветность и запах. Показатели, по которым наблюдалось превышение ПДК снизились следующим образом: концентрации ХПК после использования КВ-4 и КК-4 уменьшились на 25,6% ($P \leq 0,05$) и 24,5% соответственно, железо на 78,9% и 78,4% соответственно ($P \leq 0,05$), хлориды на 12,2% и 10,4% соответственно, фториды на 73% ($P \leq 0,05$) и 3,5% соответственно.

Результаты, полученные при применении биопрепаратов, согласуются с данными других исследований, демонстрируя эффективность биоочистки воды от различных загрязнителей (Стрелков А.К. и др., 2022; Раимбеков К.Т. и Моомбеков С.Т., 2020).

Анализ воды озера Большой Талдыколь подтвердил эффективность биопрепаратов (до 78,9% деструкции по железу). Биопрепарат КВ-4 показал лучшие результаты по сравнению с КК-4, особенно в уменьшении патогенных бактерий, снижении концентрации веществ как превышающих, так и не

превалирующих ПДК, что подтверждает целесообразность его использования для биоремедиации и улучшения экологического состояния водных экосистем. Различия в эффективности биопрепаратов может быть связана с составом микроорганизмов в их консорциуме.

Консорциум биопрепарата KB-4 депонирован в Биобанк промышленных микроорганизмов РКМ под названием «Консорциум микроорганизмов KB-4» с присвоением коллекционного номера К-РКМ 1010 (приложение Н – Свидетельство о депонировании консорциума KB-4).

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

3.4.1 Выделение и скрининг молочнокислых бактерий, изучение их фенотипических и молекулярно-генетических признаков

Главную роль в снижении гибели ценных и промысловых видов рыб от бактериальных заболеваний играет разработка наиболее эффективных мер профилактики и лечения рыб. Для коррекции дисбиозов, лечения и профилактики инфекционных заболеваний используют препараты на основе живых бактерий - пробиотики (Семенов А.В., 2011). Picchietti (2009) считает, что эффективность пробиотиков в аквакультуре рыб значительно увеличивается, если штаммы выделены из организма, т.е. являются автохтонными.

В связи с этим, проведена работа по выделению и подбору наиболее перспективных штаммов молочнокислых бактерий (МКБ) с целью создания отечественного пробиотического биопрепарата.

Из микробиома кишечника сеголеток и взрослых особей карпа зеркального (*Cyprinus carpio*), предоставленных ТОО «Рыбопитомник

Маубалук», в 2019 году были выделены и получены 37 чистых изолятов автохтонных МКБ (рисунок 19).



Рисунок 19 - Выделение автохтонных изолятов МКБ из кишечника карпа

Изучение культурально-морфологических свойств показало, что все изоляты обладают типичными морфологическими характеристиками, свойственным МКБ. При культивировании на агаризованной среде они формируют круглые, однородные, непрозрачные колонии белого или кремового цвета, с ровными краями, выпуклой поверхностью и мягкой консистенции. В жидкой среде наблюдается равномерное помутнение бульона с образованием осадка белого или кремового оттенка и характерным кисломолочным запахом. Окрашивание по Граму подтвердило наличие 22 изолятов в форме грамположительных палочек и 15 изолятов кокковидной формы. На рисунке 20 представлены фотографии роста некоторых культур МКБ на питательной среде и микрофотографии мазков.

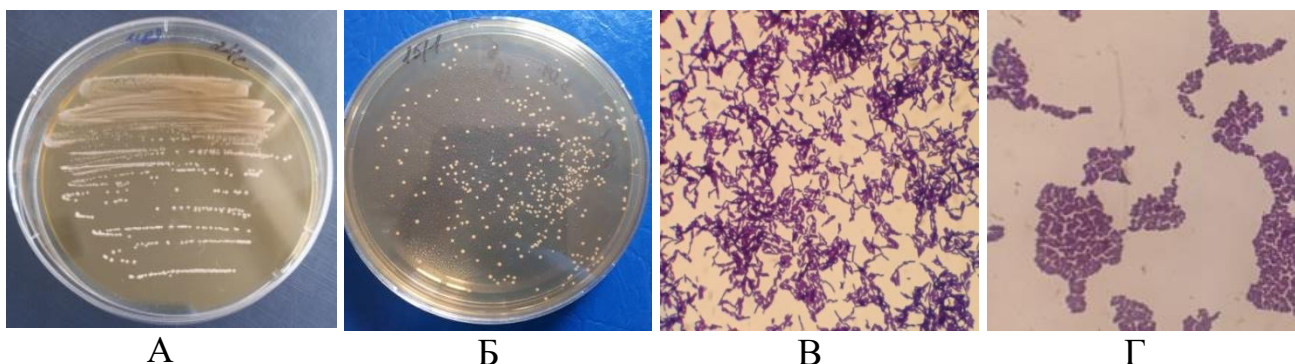


Рисунок 20 - Изоляты молочнокислых бактерий: А, Б – чистые культуры МКБ на поверхности агаризованной среды; В, Г – окрашенные мазки по Граму

В последнее время в аквакультуре все больше внимание уделяется поиску штаммов бактерий, которые обладают высоким антимикробным потенциалом.

В связи с этим, изучена антагонистическая активность выделенных изолятов МКБ по отношению к различным условно-патогенным штаммам, являющимися основными возбудителями бактериозов в аквакультуре карповых рыб.

Выраженной антагонистической активностью по отношению к *Shewanella ximenensis* обладали 83,3% изолятов с зоной ингибирования от $11,8 \pm 0,48$ до $20,8 \pm 0,85$ мм ($P \leq 0,05$). По отношению к *Pseudomonas taiwanensis* все изоляты обладали 100% антимикробной активностью с зоной подавления роста патогена от $10,0 \pm 3,39$ до $25,5 \pm 0,65$ мм ($P \leq 0,05$). Активными антагонистами по отношению к *Pseudomonas aeruginosa* являлись 83,3% изолятов с зоной ингибирования от $11,3 \pm 0,48$ до $20,8 \pm 0,48$ мм ($P \leq 0,05$). По отношению к *Aeromonas punctata* 60% выделенных изолятов обладали антагонизмом с зоной ингибирования от $10,3 \pm 0,25$ до $18,5 \pm 0,25$ мм ($P \leq 0,05$).

Наиболее высокие результаты антагонизма ко всем исследуемым патогенным бактериям показали 13 изолятов МКБ: 10К, 23С, 12/2С, 24С, 16С, 10/9К, 9С, 2С, 15/1С, 22/2С, 13/1С, 7С и К4 (рисунок 21).

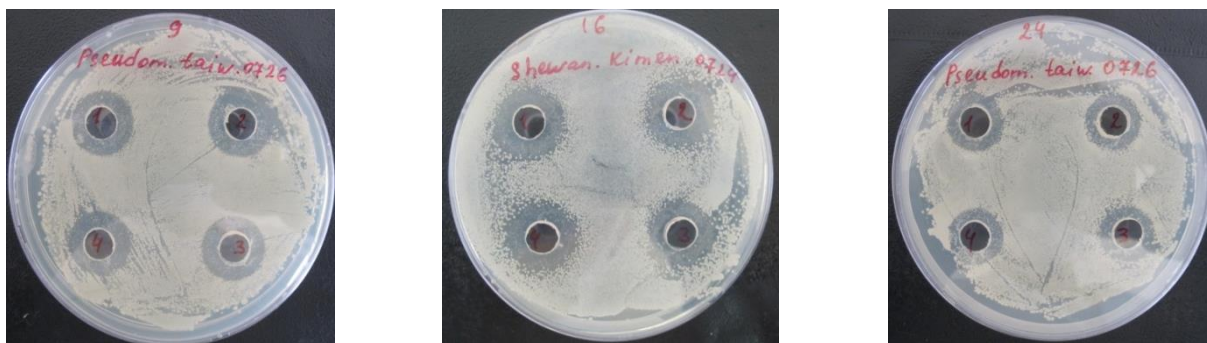


Рисунок 21 - Антимикробная активность изолятов МКБ

Проведена молекулярно-генетическая идентификация 13 активных

изолятов МКБ для определения родовой и видовой принадлежности. Результаты представлены в таблице 6 (приложение О – Идентификация автохтонных МКБ с помощью гена 16S rRNA).

Анализируя последовательность согласно алгоритма BLAST установлена следующая видовая принадлежность: 6 штаммов идентифицированы как *Lactobacillus fermentum*, 2 штамма как *Lactobacillus paracasei* и 2 штамма как *Pediococcus pentosaceus*. К сожалению, 3 изолята не удалось идентифицировать ввиду короткой цепочки нуклеотидных последовательностей. Все 10 штаммов МКБ депонированы в коллекцию Биобанка промышленных микроорганизмов РКМ с присвоением коллекционных номеров.

Изучены физиолого-биохимические свойства: штаммы являются каталазо- и оксидазоотрицательными, не образуют спор, капсул и пигментов, не разжижают желатин, не растут на МПА, представляют собой факультативные анаэробы.

Для оценки возможности объединения отобранных штаммов в микробный консорциум проведено исследование биосовместимости методом прямого совместного культивирования по Глушановой, поскольку микроорганизмы одного вида могут угнетать рост друг друга (рисунок 22).

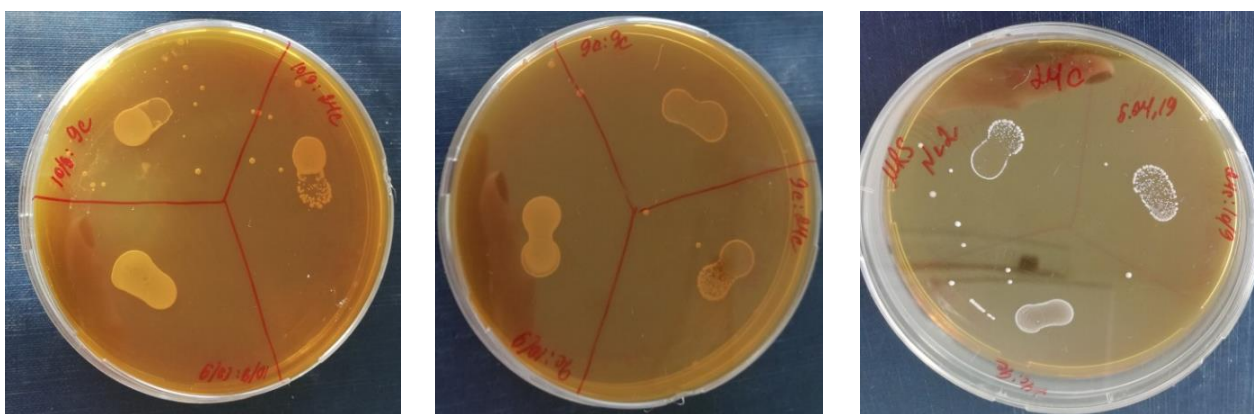


Рисунок 22 - Биосовместимость штаммов МКБ

Выявлено, что штаммы в процессе роста не подавляют друг друга, что делает возможным проводить их совместное культивирование для включения в биопрепарат.

Проведена оценка показателей ЖСП исследуемых штаммов МКБ – антагонистов патогенной флоры с использованием питательных сред MRS собственной модификации и коммерческую среду MRS (Hi-Media). Результаты представлены в таблице 11.

Штаммы МКБ имели разный титр клеток, но наиболее высокие значения наблюдались на модифицированной среде MRS. Наилучшими показателями ЖСП на среде MRS обладали штаммы: *L. paracasei* 9С (10^7 КОЕ/мл), *P. pentosaceus* 10/9К (10^8 КОЕ/мл), *L. paracasei* 12/2С (10^8 КОЕ/мл), *L. fermentum* 24С (10^7 КОЕ/мл). На среде MPC наибольшие показатели ЖСП проявили штаммы: *L. paracasei* 9С (10^7 КОЕ/мл) и *L. paracasei* 12/2С (10^7 КОЕ/мл).

Таблица 11 - Жизнеспособность штаммов МКБ на разных средах

№ п/п	Штаммы	Показатели ЖСП, КОЕ/мл	
		MRS собственной модификации	MRS (Hi-Media)
1	<i>Lactobacillus fermentum</i> 2С	$7,0 \times 10^6$	$5,0 \times 10^6$
2	<i>Lactobacillus paracasei</i> 9С	$19,0 \times 10^8$	$12,0 \times 10^7$
3	<i>Pediococcus pentosaceus</i> 10/9К	$4,0 \times 10^8$	$8,0 \times 10^6$
4	<i>Lactobacillus paracasei</i> 12/2С	$2,0 \times 10^9$	$3,0 \times 10^8$
5	<i>Lactobacillus fermentum</i> 13/1С	$6,0 \times 10^6$	$8,0 \times 10^5$
6	<i>Lactobacillus fermentum</i> 15/1С	$5,0 \times 10^7$	$2,0 \times 10^5$
7	<i>Lactobacillus fermentum</i> 22/1С	$1,5 \times 10^6$	$3,0 \times 10^5$
8	<i>Lactobacillus fermentum</i> 23С	$1,0 \times 10^7$	$3,0 \times 10^4$
9	<i>Lactobacillus fermentum</i> 24С	$5,0 \times 10^8$	$5,0 \times 10^6$
10	<i>Pediococcus pentosaceus</i> К4	$4,0 \times 10^6$	$1,0 \times 10^6$

Проведенный скрининг по антимикробным свойствам, показателям ЖСП позволил определить четыре наиболее перспективных штамма МКБ для включения в состав консорциумов пробиотического препарата. Культурально-

морфологические и физиолого-биохимические свойства активных штаммов МКБ:

Штамм *Pediococcus pentosaceus* 10/9К - грамположительные коки, не образующие спор. На агаризованных средах образует однородные колонии светло-бежевого цвета диаметром 0,5-1,5 мм, круглые, гладкие, выпуклые, непрозрачные, с ровными краями. Факультативный аэроб, каталазо- и оксидазонегативен, не разжижает желатин, пигмент не образует, продуцент молочной кислоты. Оптимальная температура роста 37°C в течение 24-48 ч.

Штамм *Lactobacillus paracasei* 9С - грамположительные длинные палочки, не образующие спор. На агаризованных средах образует однородные колонии молочного цвета диаметром 0,5-1,0 мм, круглые, гладкие, выпуклые, непрозрачные, с ровными краями. Факультативный аэроб, каталазо- и оксидазонегативен, не разжижают желатин, пигмент не образует, продуцент молочной кислоты. Оптимальная температура роста 37°C в течение 24-48 ч.

Штамм *Lactobacillus fermentum* 24С - грамположительные палочки, не образующие спор. На плотных средах образует однородные колонии молочного цвета диаметром 0,5-1,5 мм, круглые, гладкие, выпуклые, непрозрачные, с ровными краями. Факультативный аэроб, каталазо- и оксидазонегативен, не разжижают желатин, пигмент не образует, продуцент молочной кислоты. Оптимальная температура роста 37°C в течение 24-48 ч.

Штамм *Lactobacillus paracasei* 12/2С - грамположительные палочки, не образующие спор. На агаризованных средах образует однородные колонии белого цвета диаметром 1,0-2,0 мм, круглые, гладкие, выпуклые, непрозрачные, с ровными краями. Факультативный аэроб, каталазо- и оксидазонегативен, не разжижают желатин, пигмент не образует, продуцент молочной кислоты. Оптимальная температура роста 37°C в течение 24-48 ч.

Методом селекции отобраны активные пробиотические штаммы МКБ для включения в состав биопрепаратов: *Lactobacillus paracasei* 9С, *Pediococcus*

pentosaceus 10/9К, *Lactobacillus fermentum* 24С, *Lactobacillus paracasei* 12/2С. Штаммы депонированы в Биобанк промышленных микроорганизмов РКМ с присвоением коллекционных номеров.

3.4.2 Разработка вариантов биопрепаратов и оптимизация условий культивирования для получения биомассы

На основании предыдущих исследований выявлены активные штаммы МКБ, на основе которых создан первый вариант консорциума КПБЗ (*L. paracasei* 9С, *P. pentosaceus* 10/9К, *L. fermentum* 24С). Данный консорциум прошел апробацию в 2019 году в условиях *in vivo* на модели псевдомоноза молоди карпа. В 2020 году консорциум был модифицирован путем включения дополнительного штамма *L. paracasei* 12/2С и получил новое название К4 (*L. paracasei* 9С, *P. pentosaceus* 10/9К, *L. fermentum* 24С, *L. paracasei* 12/2С), апробированный на модели аэромоноза и лактококкоза в условиях *in vivo*. Консорциумы пробиотических препаратов депонированы в Биобанк промышленных микроорганизмов РКМ (приложение П - Свидетельства о депонировании консорциумов биопрепаратов КПБЗ и К4).

Оптимизация состава питательных сред при поверхностном культивировании МКБ

Совершенствование и модификация технологии культивирования микроорганизмов путем частичной замены дорогостоящих ингредиентов более дешевыми, может являться важным фактором с целью повышения урожая биомассы и максимального накопления целевого продукта.

В связи с этим, проведен подбор оптимального состава питательной среды для наработки пробиотических штаммов МКБ. Для этого изучали визуальную оценку роста на различных стандартных и модифицированных нами питательных средах (см. разд. 2.2.2.6). Результаты представлены в таблице 12.

Таблица 12 - Сравнительная оценка роста штаммов МКБ на жидких и плотных средах

Наименование штамма	Варианты сред						
	I	II	III	IV	V	VI	VII
<i>Pediococcus pentosaceus</i> 10/9К	+	+++	++++	++++	++	++	++++
<i>Lactobacillus paracasei</i> 9С	+	++++	++++	++++	++	++	++++
<i>Lactobacillus fermentum</i> 24С	+	+++	+++	+++	++	++	+++
<i>Lactobacillus paracasei</i> 12/2С	+	++++	++++	++++	+++	++	+++

Примечание: I вариант - коммерческая среда MRS, II - модифицированная среда MRS_m; III - среда MPC-5; IV – среда МСЛ; V – среда МСГ; VI – среда МСЛГ; VII – среда LCH; ++++ - очень хороший рост, +++ - хороший рост, ++ слабый рост, + очень слабый рост

Выявлено, что все 4 штамма МКБ демонстрируют сходный рост на следующих средах: модифицированная среда MRS, MPC-5, молочная сыворотка с лактозой и LCH. В связи с длительностью приготовления и значительными финансовыми затратами, среда MPC-5 была исключена из дальнейших исследований.

Отработка и оптимизация параметров глубинного культивирования биопрепаратов в лабораторном ферментере.

В результате предшествующих экспериментов были отобраны 3 варианта питательных сред (см. разд. 2.2.1) - MRS_m, LCH и МСЛ для изучения накопления биомассы двух вариантов биопрепаратов КПБЗ и К4 методом глубинного культивирования в лабораторном ферментере (см. разд. 2.2.2.9) с периодическим определением оптической плотности и показателей ЖСП (таблица 13).

Наиболее интенсивный рост наблюдался на среде MRS_m, показатели оптической плотности через 10 ч культивирования у штаммов биопрепарата КПБЗ составили 2,386 ед., у штаммов биопрепарата К4 - 2,776 ед.

Таблица 13 - Значения оптической плотности штаммов биопрепаратов при оптимизации культивирования в ферментере

Варианты сред	Оптическая плотность по времени, нм					Значение pH		Выход биомассы, гр	ЖСП, КОЕ/мл
	120 мин	240 мин	360 мин	480 мин	600 мин	исх.	конеч.		
Штаммы биопрепарата КПБЗ									
MRS _М	0,864	0,973	1,457	2,201	2,386	6,8	3,8	49,5	3,0×10 ⁸
МСЛ	0,892	1,124	1,516	1,979	2,045	6,8	4,0	43,7	4,0×10 ⁸
LCH	0,721	0,898	1,027	1,426	2,167	6,7	3,6	47,1	6,0×10 ⁸
Штаммы биопрепарата К4									
MRS _М	0,765	0,985	1,617	2,448	2,776	6,8	3,9	54,1	6,5×10 ⁹
МСЛ	0,827	0,992	1,555	2,123	2,363	6,8	3,9	45,0	4,5×10 ⁸
LCH	0,935	1,082	1,720	2,544	2,740	6,7	3,5	53,8	9,0×10 ⁹

ЖСП штаммов биопрепарата КПБЗ к концу культивирования составила от 3,0 до 6,0×10⁸ КОЕ/мл на всех средах, тогда как у штаммов биопрепарата К4 на средах MRS_М и LCH показатели ЖСП были на порядок выше и составили от 6,5 до 9,0×10⁹ КОЕ/мл.

В процессе роста происходит изменение значений pH среды с нейтральной (6,7-6,8) в кислую сторону (3,5-4,0), что говорит о накоплении молочной кислоты штаммами, входящими в состав обоих биопрепаратов.

Для лабораторного культивирования биопрепаратов на основе МКБ наиболее оптимальными являются среды MRS_М и LCH. Получены патенты на полезную модель РК: на питательные среды LCH (приложение Е) и MRS (приложение Р – Патент на модифицированную среду MRS).

В результате отработаны и оптимизированы параметры глубинного культивирования биопрепаратов К4 и КПБЗ в лабораторном ферментере объемом 6,5 л: режим аэрации 0,2 мл/мин, скорость перемешивания 80-100 об/мин., оптимальный поток растворенного кислорода 5%, pH=6,8, температура культивирования 37°C. Через 10 часов культивирования выход сырой биомассы биопрепарата КПБЗ составил 49,5 г, тогда как у К4 – 54,1 г.

Одним из важных этапов работ по созданию препарата пробиотического действия, наряду с отработкой параметров глубинного культивирования

бактерий-антагонистов, является подбор рациональной препаративной формы. Пробиотические препараты выпускают в виде сухих или жидких форм, лиофильно высушенных микроорганизмов (Сверчкова Н.В. и др., 2016).

Хранение штаммов МКБ осуществляли методом лиофилизации на обезжиренном молоке (хранение при температуре плюс 4-6°C в течение 5 лет), а также в криозащитной среде (глицерин - 20%, сахароза - 10%, поливинилпирилодон – 10%), хранение при температуре минус 80°C в течение 10 лет.

Разработаны лабораторный регламент и технологическая инструкция, определяющие технологические основы получения биопрепарата на основе автохтонных МКБ, включая последовательность этапов его наработки в лабораторном ферментере (приложение С, рисунок 5 - Технологические этапы получения биопрепаратов на основе МКБ в лабораторных условиях).

3.4.3 Исследование пробиотического потенциала биопрепаратов

Штаммы пробиотических микроорганизмов, входящие в состав биопрепаратов, должны сохранять высокие показатели жизнеспособности. В 2019 году биопрепараты КПБЗ и К4 были заложены на хранение (криохранение при -20°C и лиофилизация). В течение четырех лет проведена сравнительная оценка сохранности титра клеток при разных условиях хранения. Результаты представлены в таблице 14.

При оценке ЖСП в течение 4-х лет установлено постепенное снижение титра биопрепаратов при разных условиях хранения. Криохранение обеспечивает лучшую сохранность: титр клеток у биопрепарата К4 уменьшился на 2 порядка ($4,3-6,0 \times 10^8$ КОЕ/мл), тогда как после лиофилизации к 4-му году - на 3 порядка ($2,6 \times 10^6$ КОЕ/мл). У биопрепарата КПБЗ снижение составило на 3 ($11,3 \times 10^7$ КОЕ/мл) и 4 порядка ($6,0 \times 10^5$ КОЕ/мл) соответственно.

Таблица 14 - Жизнеспособность биопрепаратов по годам

Варианты биопрепарата	ЖСП, КОЕ/мл				
	2019 г.	2020 г.	2021 г.	2022 г.	2023 г.
после криохранения					
КПБЗ	$4,3 \times 10^{10}$	$7,3 \times 10^9$	$8,6 \times 10^8$	$6,0 \times 10^8$	$11,3 \times 10^7$
К4	$10,0 \times 10^{10}$	$6,7 \times 10^{10}$	$12,0 \times 10^9$	$5,6 \times 10^9$	$4,3 \times 10^8$
после лиофилизации					
КПБЗ	$8,6 \times 10^9$	$2,3 \times 10^8$	$5,3 \times 10^7$	$7,6 \times 10^5$	$6,0 \times 10^5$
К4	$6,0 \times 10^9$	$10,0 \times 10^8$	$6,3 \times 10^7$	$7,3 \times 10^6$	$2,6 \times 10^6$

Биопрепарат К4 продемонстрировал более высокую устойчивость к длительному хранению и перспективен для дальнейшего биотехнологического применения.

Проведено изучение антагонистической активности двух вариантов биопрепаратов КПБЗ и К4 как в монокультурах, так и в составе консорциума. Для этого расширен спектр исследования условно-патогенных микроорганизмов из коллекции Биобанка промышленных микроорганизмов РКМ (таблица 15).

Таблица 15 - Антагонистическая активность штаммов МКБ в монокультуре и в составе биопрепаратов

Наименование тест-штаммов	Монокультуры МКБ				Консорциумы	
	<i>L. fermentum</i> 24с	<i>P. pentosaceus</i> 10/9к	<i>L. paracasei</i> 9с	<i>L. paracasei</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>S. 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>E. faecium</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. pneumonia</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>B. 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 культур считается нулевой при зоне 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; М±SD (n=3); * - P≤0,05; ** - P≤0,01, различия достоверны при сравнении консорциумов с монокультурами

Установлено, что штаммы МКБ монокультуре проявляют средний уровень антагонистической активности, тогда как их объединение в составе консорциумов приводит к усилению антимикробного эффекта. В составе биопрепаратов отмечено статистически значимое увеличение зон подавления роста всех тест-штаммов - от 15,3 мм у КПБЗ в отношении *Ps. aeruginosa* ($P \leq 0,01$) и *Sh. ximenensis* ($P \leq 0,05$) до $18,5 \pm 0,58$ мм у К4 в отношении *A. punctata* ($P \leq 0,05$). Биопрепарат К4 продемонстрировал более выраженный синергетический эффект, обеспечивая статистически значимое усиление ингибирующего действия по сравнению с монокультурами, что подтверждает взаимодействие штаммов в составе консорциума.

Проведена оценка чувствительности к антибиотикам штаммов МКБ как монокультуре, так и в составе консорциумов биопрепаратов, а также условно-патогенных бактерий стандартным диско-диффузионным методом в условиях *in vitro* (рисунок 23). Полученные данные приведены в таблице 7 (приложение Г - Определение чувствительности к антибиотикам штаммов МКБ, биопрепаратов и тест-штаммов).

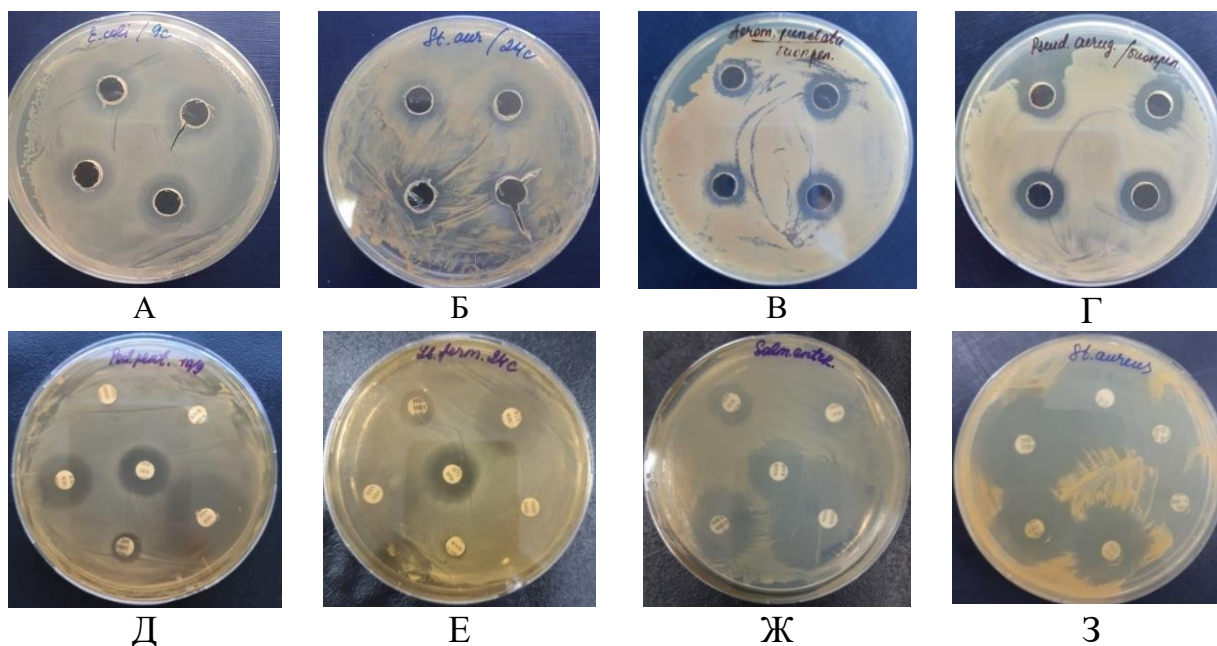


Рисунок 23 - Антагонизм и антибиотикочувствительность МКБ в монокультурах (А, Б, Д, Е) и в составе биопрепаратов (В, Г, Ж, З)

Установлено, что все исследуемые штаммы как в монокультуре, так и в составе консорциума биопрепаратов КПБЗ и К4, демонстрируют резистентность к канамицину, ванкомицину, цефазолину, гентамицину, ципрофлоксацину, неомицину и оксациллину. Высокая чувствительность штаммов обоих биопрепаратов выявлена к антимикробным препаратам из групп β -лактамов (бензилпенициллин, амоксиклав, ампициллин), макролидов (рокситромицин, эритромицин), линкозамидов (клиндамицин) и рифамицинов (рифампицин), при этом зона задержки роста варьировала от 17,5 до 40,5 мм ($P \leq 0,05$) у разных штаммов.

У тест-штаммов наибольшая чувствительность отмечена к амоксиклаву, ципрофлоксацину, неомицину, стрептомицину, гентамицину, левомицитину, с зонами ингибирования роста в диапазоне 12,0-38,0 мм ($P \leq 0,05$) у разных штаммов. Выявленная резистентность к антибиотикам требует дополнительного изучения для оценки риска передачи генов устойчивости. Данное исследование проведено с целью подбора лечебной терапии при дальнейшей оценке эффективности разработанных пробиотических препаратов.

Автоагрегация бактерий относится к адаптационным механизмам, поскольку бактерии с высокими значениями, кооперируясь, способны создавать барьер, препятствующий колонизации патогенов, что является важным для отбора новых пробиотических штаммов. В связи с чем, изучен автоагрегационный потенциал 4-х потенциальных пробиотических штаммов (рисунок 24).

Установлено, что уровень автоагрегации у штаммов МКБ варьировал от 91,1% до 97,2%, что подтверждает о высокой способности к адгезии и колонизации стенок кишечника животных.

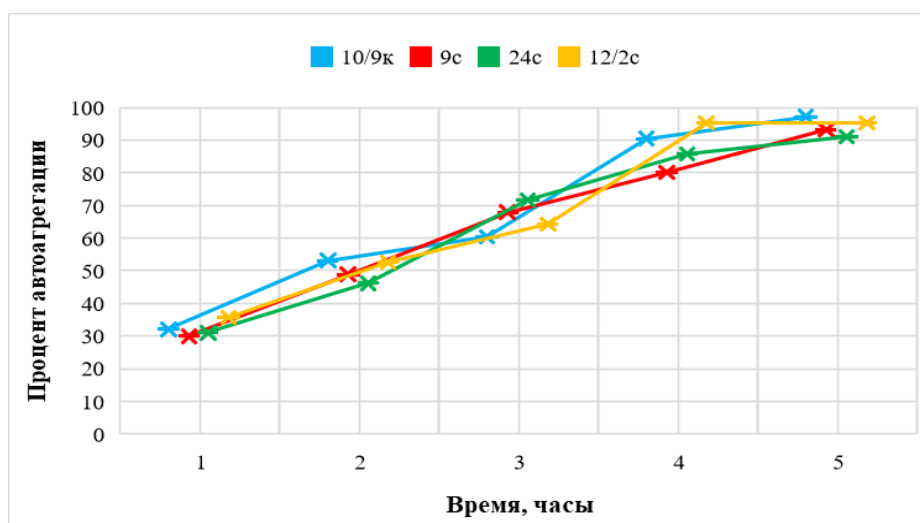


Рисунок 24 – Автоагрегация штаммов МКБ

Далее изучены основные важные свойства штаммов МКБ, характерных для биотехнологически ценных пробиотических бактерий: толерантность к желчи, рост при различных температурах, концентрации NaCl и значениях pH с определением титра клеток (таблица 16).

Таблица 16 - Жизнеспособность штаммов МКБ при разных условиях

Параметры	Штамм 24с, КОЕ/мл	Штамм 9с, КОЕ/мл	Штамм 12/2с, КОЕ/мл	Штамм 10/9к, КОЕ/мл
Концентрация желчи				
2000 ppm	$2,7 \pm 0,51 \times 10^7$	$2,3 \pm 0,67 \times 10^7$	$3,0 \pm 0,28 \times 10^8$	$3,3 \pm 0,38 \times 10^8$
3000 ppm	$1,7 \pm 0,15 \times 10^6$	$1,8 \pm 0,33 \times 10^6$	$2,5 \pm 0,48 \times 10^6$	$2,0 \pm 0,47 \times 10^7$
4000 ppm	0	0	0	$6,7 \pm 0,26 \times 10^2$
Температура				
15°C	$2,0 \pm 0,35 \times 10^5$	$2,0 \pm 0 \times 10^4$	$1,0 \pm 0 \times 10^5$	$2,3 \pm 0,09 \times 10^5$
30°C	$4,3 \pm 0,27 \times 10^7$	$5,3 \pm 0,35 \times 10^7$	$4,7 \pm 0,20 \times 10^7$	$4,3 \pm 0,27 \times 10^7$
45°C	0	0	$0,7 \pm 0,51 \times 10^1$	$0,3 \pm 0,33 \times 10^1$
Содержание NaCl				
3%	$4,7 \pm 0,32 \times 10^7$	$3,7 \pm 0,17 \times 10^7$	$2,4 \pm 0,08 \times 10^8$	$1,0 \pm 0 \times 10^8$
5%	$3,3 \pm 0,15 \times 10^6$	$3,0 \pm 0,28 \times 10^7$	$5,2 \pm 0,21 \times 10^7$	$8,0 \pm 0,15 \times 10^7$
7%	$1,6 \pm 0,09 \times 10^6$	$7,3 \pm 0,17 \times 10^6$	$3,7 \pm 0,26 \times 10^7$	$4,2 \pm 0,12 \times 10^7$
Значения pH				
3	$1,3 \pm 0,23 \times 10^5$	$2,7 \pm 0,18 \times 10^5$	$2,0 \pm 0,32 \times 10^6$	$1,6 \pm 0,21 \times 10^5$
5	$3,7 \pm 0,33 \times 10^7$	$3,4 \pm 0,12 \times 10^6$	$4,3 \pm 0,12 \times 10^7$	$4,5 \pm 0,15 \times 10^7$
7	$4,0 \pm 0,20 \times 10^7$	$2,7 \pm 0,48 \times 10^7$	$1,8 \pm 0,09 \times 10^8$	$5,3 \pm 0,43 \times 10^7$
9	$1,2 \pm 0,21 \times 10^1$	$0,7 \pm 0,17 \times 10^2$	$1,4 \pm 0,20 \times 10^2$	$1,0 \pm 0 \times 10^2$

Изучение толерантности МКБ к желчи показало, что наибольшие показатели ЖСП у исследуемых штаммов обнаружена при концентрации желчи 2000 ppm (10^7 - 10^8 КОЕ/мл, $P \leq 0,05$).

Наиболее высокие показатели титра клеток (10^7 КОЕ/мл) наблюдаются при температуре 30°C с продолжительностью культивирования 48 ч у всех штаммов.

Определение влияния хлорида натрия показало, что штаммы выдерживают концентрацию 3 и 5% с показателями ЖСП были в пределах 10^7 - 10^8 КОЕ/мл.

Изучении действия кислотности среды показало, что наиболее оптимальным значением является pH среды равной 7, при которой титр клеток был в пределах 10^7 – 10^8 КОЕ/мл.

Селекционированные штаммы автохтонных МКБ обладают перспективными свойствами, характерных для пробиотических бактерий: антагонистической активностью к широкому спектру условно-патогенных бактерий, резистентностью к аминогликозидам (канамицину, неомицину, гентамицину) фторхинолонам (ципрофлоксацину) и β -лактамам (оксациллину, амоксициллину), высоким автоагрегационным потенциалом (91,1-97,2%). Штаммы сохраняют рост при концентрации солей желчных кислот 2000-3000 ppm, температуре 30°C, содержании NaCl 3-7% и pH 5-7.

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

3.4.4 Оценка эффективности пробиотических биопрепаратов при модельных бактериозах у карпа

В северном регионе Казахстана действуют несколько прудовых хозяйств, ориентированных на выращивание, содержание маточного поголовья карпа и выпуск рыбопосадочного материала. Для проведения исследований ТОО «Ryboritomnik Maubalyk» предоставлял молодь карпа (*Cyprinus carpio*).

С целью определения профилактического действия разработанных вариантов пробиотических биопрепаратов КПБЗ и К4 были созданы модели бактериозов у карпа, где в качестве инфекционного агента использовали бактерии рода *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Lactococcus garviae*, которые являются основными возбудителями бактериальных заболеваний рыб (рисунок 28). Для получения наиболее эффективного лечения и профилактики бактериальных болезней в идеале необходимо установить фактическую чувствительность возбудителя (Шульгина Л.В. и др., 2015). В связи с чем, по результатам исследования антибиотикорезистентности, для каждой модели бактериоза подобран соответствующий антибиотик в качестве лечебной терапии (приложение У, таблица 7). В эксперименте сформировано по четыре группы рыб, где 4-я группа использовалась в качестве референсной для сравнительной оценки результативности разработанных пробиотиков.

Оценка терапевтического действия биопрепарата КПБЗ при модельном псевдомонозе мальков карпа

Псевдомоноз карпов (плавниковая гниль, краснуха) – инфекционное заболевание, которое характеризуется развитием общего септического процесса, поражением кожи и развитием асцита. Возбудителем болезни являются патогенные флюоресцирующие штаммы бактерий рода *Pseudomonas*. Распространение повсеместно, болеют в основном сеголетки карповых видов рыб. Проявляется болезнь в виде очаговых кровоизлияний, пучеглазия и

ерошения чешуи (Нижельская Е.И. и др., 2019).

В 2019 году проведен эксперимент по оценке эффективности разработанного биопрепарата КПБЗ на молоди карпа при модельном псевдомонозе, вызванным ассоциацией бактерий *Ps. taiwanensis* и *Ps. aeruginosa in vivo* (см. разд. 2.2.2.21) с определением основных биометрических данных (рисунок 25). В качестве терапевтического средства использовали антибиотик гентамицин. Признаки развития заболевания наблюдались уже на 4-е сутки после заражения, первые случаи гибели рыб были зафиксированы уже на 7-й день.

Выявлено, что пробиотик КПБЗ показал высокую выживаемость (80%) и прирост массы, сопоставимый с контрольной группой. Антибиотик оказался менее эффективным, выживаемость составила 50%, а прирост в 2 раза ниже, что подтверждает высокую патогенность инфекцией.

Антибиотик показал меньшую эффективность, вероятно, вследствие негативного влияния на обмен веществ и микрофлору кишечника. Без лечения инфекция оказалась смертельной, выживаемость составила всего 20%. У больных рыбок обнаружены признаки псевдомоноза - ерошение чешуи, пучеглазие, очаги кровоизлияния на коже и плавниках.

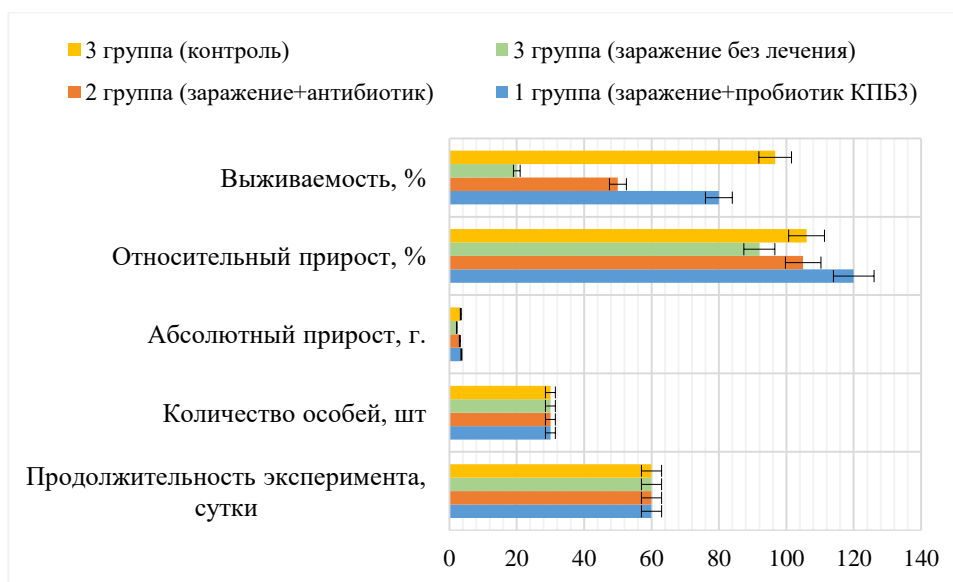


Рисунок 25 - Биометрические показатели при модельном псевдомонозе

Опытным путем подтвержден профилактический эффект разработанного пробиотического препарата КПБЗ на модели псевдомоноза *in vivo* при введении его в корм молоди карпа, который выражался в снижении общей гибели рыб в сравнении антибиотикотерапией, увеличении привеса рыб и улучшении общего состояния рыб.

Оценка эффективности терапевтического действия биопрепарата КПБЗ при модельном аэромонозе сеголеток карпа

Аэромоноз карпа (бактериальная геморрагическая септицемия, краснуха) – инфекционная болезнь, характеризующаяся воспалением кожного покрова с образованием язв и рубцов, ерошением чешуи, пучеглазием, искривлением позвоночника. Возбудителем болезни являются вирулентные микроорганизмы рода *Aeromonas* (Нижельская Е.И. и др., 2019).

В 2020 году аналогично предыдущему проведен эксперимент по оценке эффективности разработанного биопрепарата КПБЗ при модельном аэромонозе карпа (см. разд. 2.2.2.21) молоди карпа с изучением основных биометрических данных (рисунок 26). В качестве терапевтического средства использовали антибиотик канамицин. Признаки развития заболевания наблюдались уже на 3-и сутки с момента заражения, первые случаи гибели сеголеток карпа наблюдались уже на 5-е сутки.

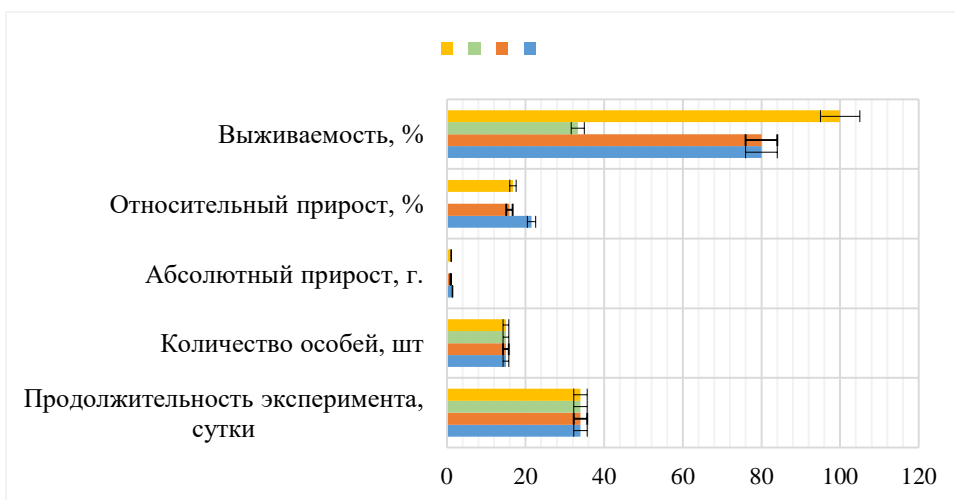


Рисунок 26 - Биометрические показатели при модельном аэромонозе

Установлено, что выживаемость в 1 и 2 группах была одинакова (80%), что связано, по-видимому, с лечебным действием пробиотика и антибиотика, тогда как в варианте без лечения смертность составила 66,7%, в контроле 100%. В группе с пробиотиком показатели абсолютного и относительного прироста были выше, чем в контроле, что говорит о его положительном влиянии на организм сеголеток карпа. Введение пробиотика и канамицина уже на 3-и сутки предотвратило смертность рыбок. Отрицательные показатели наблюдаются лишь в третьей группе, где выживаемость составила около 30% и зафиксирован нулевой прирост. У больных рыбок зафиксированы явные признаки заболевания - ерошение чешуи, пучеглазие, искривление позвоночника, что подтверждает губительное действие инфекции. Следует отметить, что существенных физиологических отклонений у рыб, получавших пробиотик не было обнаружено.

Полученные данные свидетельствовали о терапевтическом действии биопрепарата КПБЗ в лабораторных условиях *in vivo*, выразившиеся в снижении смертности рыб от заболевания аэромонозом, наряду с действием антибиотика канамицина на 50% по сравнению с группой, не получавшей лечение.

Оценка эффективности терапевтического действия биопрепарата К4 при модельном лактококкозе сеголеток карпа

Lactococcus garvieae - относительно новый этиологический агент лактококкоза, поражающий различные виды рыб во всем мире, является разновидностью стрептококкоза. *Lactococcus garvieae* – грамположительный яйцевидный кокк, факультативный анаэроб, неподвижный, спор не образует. Заболевание развивается в основном при низком качестве воды и температуре выше 18°C, что приводит к кровоизлияниям и петехиям на поверхности внутренних органов (Vendrell D. et al., 2006).

В 2021 г. проведен эксперимент по оценке эффективности разработанного

биопрепарата К4 на лабораторной модели лактококкоза (см. разд. 2.2.2.21) молоди карпа с изучением основных биометрических данных (рисунок 27). В качестве терапевтического средства использовали антибиотик Антибак 100 (ципрофлоксацина гидрохлорид), показавший наиболее подавляющий эффект на возбудителя *Lactococcus garvieae*. Для получения сравнительных данных использовали также коммерческий пробиотик «Ветом 1.1». Признаки развития заболевания молоди карпа и первые случаи гибели наблюдались уже на 3-и сутки с момента заражения, что свидетельствовало о быстром развитии инфекционного процесса. У больных рыбок регистрированы характерные признаки заболевания – выпячивание глазных яблок, деформация позвоночника по типу скручивания, вздутие брюшка и некроз внутренних органов (рисунок 28).

Таким образом, использование разработанного пробиотика К4 демонстрирует эффективность, сопоставимую с коммерческим препаратом Ветом, и значительно превосходит лечение антибиотиком, способствуя не только снижению смертности, но и улучшению темпов роста рыб, что связано, по всей видимости, с активацией иммунной системы рыб.

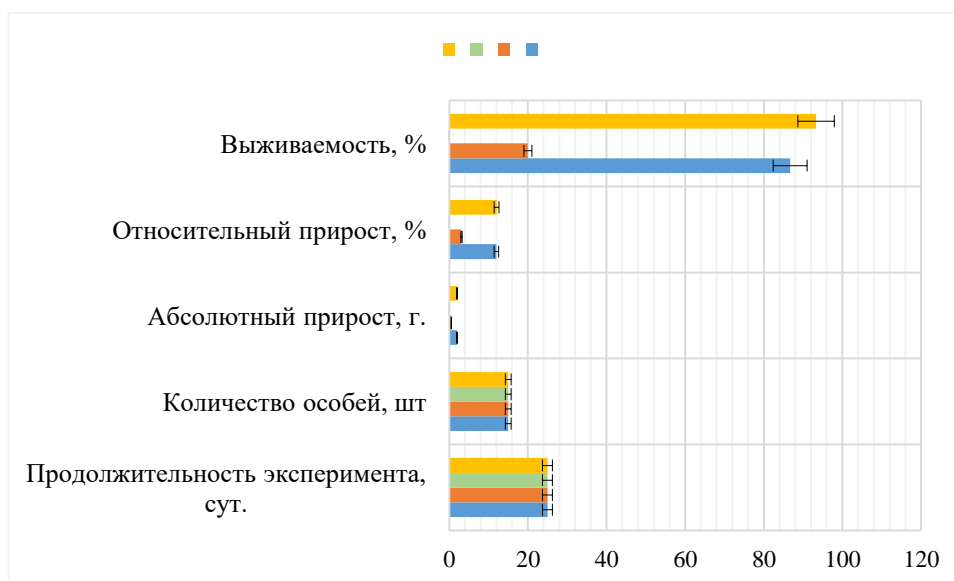


Рисунок 27 - Биометрические показатели при модельном лактококкозе



А



Б



В



Г



Д



Е

Рисунок 28 - Модельный эксперимент бактериозов: А, Б - общий вид эксперимента; В - приготовление смеси корма и пробиотика; Г - заражение рыбы возбудителем; Д - деформация позвоночника; Е - некроз внутренних органов

Экспериментальные исследования на лабораторных моделях аэромоноза, псевдомоноза и лактококкоза молоди карпа подтвердили профилактическую эффективность разработанных пробиотических биопрепаратов КПБЗ и К4 на основе автохтонных штаммов МКБ. Их применение способствовало снижению

смертности рыб от перенесенных заболеваний, наряду с действием антибиотиков от 30 до 67% ($P \leq 0,05$) и на 47-60% ($P \leq 0,05$) по сравнению с группы без терапии. В вариантах с пробиотиками отмечено отсутствие патологий и улучшение биометрических показателей: прирост был выше на 14% при псевдомонозе, на 33% при аэромнозе и на 75% при лактококкозе в сравнении с антибиотикотерапией.

Исследования *in vitro* и *in vivo* подтверждают, что пробиотики на основе МКБ являются эффективной и экологически безопасной альтернативой антибиотикам, при этом препарат К4 демонстрирует действие, сопоставимое с коммерческим препаратом Ветом, и превосходит эффект антибиотика в моделях инфекции молоди карпа. Применение пробиотиков отдельно или в сочетании с антибиотиками, наряду с регулярным мониторингом антибиотикорезистентности патогенной микрофлоры, обеспечивает повышение биобезопасности и получение продукции аквакультуры, соответствующей экологическим и санитарным нормативам.

На разработанные биопрепараты получены охранные документы (приложение У - Патент РК и Евразийский патент на пробиотические препараты).

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, а также 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.

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абдельхаким, М.М. Изучение видового состава водорослей в сточных водах алматинской станции аэрации / М.М. Абдельхаким, А.К. Саданов, С.Б. Нурашов, Л.Х. Акбаева // Известия НАН РК. Серия биологическая и медицинская. - 2005. - № 5. - С. 3-7.
2. Абжалелов, А.Б. Роль альгофлоры в очистке водоемов, загрязненных различными поллютантами: монография / А.Б. Абжалелов, Ж.Б. Текебаева, К.А. Айтуганов. - Астана: «Мастер По», 2017. - 84 с.
3. Аквакультурный концепт [Электронный ресурс]. - 2021 г. Режим доступа: <https://kazpravda.kz/n/akvakulturnyy-kontsept/>.
4. Аламдари, Х. Использование пробиотических препаратов при кормлении осетровых рыб: результаты испытания при температуре воды ниже оптимальной / Х. Аламдари, С.В. Пономарёв // Вестник АГТУ. Серия Рыбное хозяйство. - 2013. - № 3. - С. 133-140.
5. Александрова, В.В. Биотестирование как современный метод оценки токсичности природных и сточных вод: монография / В.В. Александрова // Нижневартовск: Изд-во НГУ, 2013. - 119 с.
6. Алимов, А.Ф. Территориальность у водных животных и их размеры / А.Ф. Алимов // Известия АН. Серия Биологическая. - 2003. - №1. - С. 93-100.
7. Анисимова, О.В. Краткий определитель родов водорослей. Флора западного Подмосковья: учеб. пособие / О.В. Анисимова, М.А. Гололобова, под ред. В.М. Гаврилова. - М., 2006. - 159с.
8. Артюхова, С.И. Использование пробиотиков в кормлении птицы / С.И. Артюхова // Материалы межд. конф. «Пробиотики, пребиотики, синбиотики и функциональные продукты питания. Современное состояние и перспективы». - М., 2004. - С. 130-131.
9. Астафьева, С.С. Состояние искусственного воспроизводства

осетровых рыб в Западно-Каспийском районе и предложения по его развитию / Астафьева С., Васильева Т., Федосеева Е., Абдусаматов А. // Актуальные проблемы современной науки. - 2010. - №6. - С. 48-54.

10. Ашихмина, Т.Я. Экологический мониторинг. Учебно-методическое пособие. - М.: Академический проект, 2006. - 416 с.

11. Багданов, И.И. Суспензия хлореллы в рационе сельскохозяйственных животных. - Волгоград, 2007. - 55 с.

12. Багров, А.М. Ключевые составляющие развития аквакультуры России / А.М. Багров // Материалы Межд. научно-практ. конф. «Стратегия развития аквакультуры в условиях XXI века». - Минск, 2004. - С. 20-24.

13. Бадрызлова, Н.С. Опыт использования искусственных кормов отечественного происхождения при выращивании радужной форели в Алматинской области / Н.С. Бадрызлова, Е.В. Федоров, С.К. Койшыбаева // Новости науки Казахстана. - 2017. - №4 (134). - С. 143-163.

14. Баженов, В.И. Стабилизация илового индекса путем видовой селекции активного ила / В.И. Баженов, А.Н. Эпов, С.Е. Кичигина // Водные ресурсы и водопользование. - 2009. - №4 (63). - С. 22-26.

15. Балыкбаева, А.С. Загрязнение водных ресурсов Казахстана и методы очистки воды [Электронный ресурс] / А.С. Балыкбаева // Журнал «OQU-ZAMAN». - 2017 г. Режим доступа: <https://oqu-zaman.kz/?p=20455>.

16. Баринаова, С.С. Атлас водорослей - индикаторов сапробности (российский Дальний восток) / С.С. Баринаова, Л.А. Медведева. - Владивосток: Дальнаука, 1996. - 364 с.

17. Баринаова С.С., Медведева Л.А., Анисимова О.В. Водоросли-индикаторы в оценке качества вод окружающей среды / С.С. Баринаова, Л.А. Медведева, О.В. Анисимова. - М.: ВНИИ природы, 2002. - 150 с.

18. Барсукова, Т.Н. Малый практикум по ботанике. Водоросли и грибы: Учеб. пособие для студ. высш. учеб. заведений / Т.Н. Барсукова, Г.А. Белякова,

В.П. Прохоров, К.Л. Тарасов. - М.: Академия, 2005. - 240с.

19. Батурина, М.А. Роль аннелид (*Annelida*) в озерах Нарочанской системы (Беларусь) / М.А. Батурина, О.А. Макаревич, И.А. Кайгородова, Т.В. Жукова, Б.В. Адамович // Межд. журнал прикладных и фундаментальных исследований. - 2018. - № 12(1). - С. 56-59.

20. Безматерных, Д.М. Зообентос как индикатор экологического состояния водных экосистем Западной Сибири. Аналитический обзор / Д.М. Безматерных // Ин-т вод. и экол. проблем. Серия Экология, выпуск 85. - Новосибирск, 2007. - 87 с.

21. Безрукова, Н.В. Взаимосвязь химического состава промышленных возвратных вод и их токсичность для гидробионтов (на примере г. Нижнего Новгорода): дис. ... канд. биол. наук: 03.00.16 / Н.В. Безрукова. - Н. Новгород, 2000. - 182 с.

22. Богданов, Н.И. Хлорелла – резерв повышения продуктивности животноводства / Н.И. Богданов // Ценовик, 2002. - №4. - С. 26.

23. Богданов, Н.И. Биологическая реабилитация водоемов. 3-е изд., перераб. и доп. / Н.И. Богданов. - Пенза: РИО ПГСХА, 2008. - 126 с.

24. Богданов, Н.И. Прудовое рыбоводство. 3-е изд., доп. / Н.И. Богданов, А.Ю. Асанов. - Пенза, 2011. - 89 с.

25. Богерук, А.К. Аквакультура - важнейшее направление в обеспечении населения страны высококачественными продуктами питания / А.К. Богерук // Финансовый эксперт. - 2006. - № 1. - С. 65-71.

26. Булгаков, Н.Г. Индикация состояния природных экосистем и нормирование факторов окружающей среды: обзор существующих подходов / Н.Г. Булгаков // Успехи современной биологии. - 2002. - №2. - С. 115-135.

27. Вайшля, О.Б. Перспективные виды микроводорослей для биодegradации поллютантов водных экосистем юга западной Сибири / О.Б. Вайшля, Д.В. Кулятов // Известия Самарского научного центра Российской

академии наук. - 2011. - Т. 13, №1(4). - С. 787-789.

28. Вассер, С.П. Водоросли. Справочник / С.П. Вассер, Н.В. Кондратьева, Н.П. Масюк и др. - Киев: Наукова думка, 1989. - 605 с.

29. Верховцева, Н.В. Водная микробиология: учебное пособие / Н.В. Верховцева, Е.П. Никифорова. - Ярославль, 1984. - 68 с.

30. Водный кодекс Республики Казахстан. - Астана, 2014. - 146 с.

31. Водные ресурсы [Электронный ресурс]. - 2020 г. Режим доступа: <https://www.un.org/ru/global-issues/water> .

32. Всемирный доклад Организации Объединенных Наций о состоянии водных ресурсов. - Италия, 2018 г. - 12 с.

33. Гайсина, Л.А. Современные методы выделения и культивирования водорослей: учебное пособие / Л.А. Гайсина, А.И. Фазлутдинова, Р.Р. Кабиров. - Уфа: Изд-во БГПУ, 2008. - 152 с.

34. Гаврилин, К.В. Опыт использования препаратов «Антибак» в борьбе с бактериозами / К.В. Гаврилин // Рыбоводство. - 2006. - № 3. - С. 50-51.

35. Глушанова, Н.А. Биосовместимость пробиотических и резидентных лактобацилл / Н.А. Глушанова, А.И. Блинов // Гастроэнтерология. - 2005. - №1. - 22 с.

36. Горбунова. С.Ю. Об эффективности использования микроводорослей в промышленной биотехнологии с целью мелиорации водной среды и получения кормов для различных отраслей сельского хозяйства / С.Ю. Горбунова, Я.Д. Жондарева // Соврем. рыбохозяйственные и экол. проблемы Азовско-Черноморского региона. - 2012. - Т.2. - С. 114-119.

37. Горковенко, Л.Г. Наставления по применению пробиотических препаратов «Бацелл», «Моноспорин» и «Пролам» в прудовом рыбоводстве / Л.Г.Горковенко, А.Е.Чиков, С.И.Кононенко, Д.В.Осепчук, Н.А.Омельченко, Н.А.Пышманцева, Н.А.Оноприенко. - Краснодар, 2011. - 15 с.

38. Грибовская, И.В. Использование урины в питании *Chlorella*

vulgaris / И.В. Грибовская, Г.С. Калачёва, Л.С. Тирранен, А.А. Колмакова, Ю.И. Баянова // J. of Siberian Federal University Biology. - 2011. - V. 3. - P. 243-256.

39. Григорьев, Ю.С. Биологический контроль состояния окружающей среды: учебное пособие / Ю.С. Григорьев, Н.В. Пахарькова, С.В. Прудникова, О.Е. Крючкова. - Красноярск: ФГАОУ ВО Сибирский федеральный университет, 2008. - 117 с.

40. Гусева, Т.В. Выбор маркерных показателей для анализа экологической результативности предприятий и оценки состояния природных водных объектов на примере бассейна р. Пры / Т.В. Гусева, Я.П. Молчанова, А.В. Миронов // Региональная экология. - 2015. - № 7(42). - С. 63-70.

41. Гуцулюк. О.Н. Влияние пробиотических добавок на гематологические и некоторые рыбоводные показатели молоди радужной форели / О.Н. Гуцулюк // Матер. Всерос. научн. -практич. конф. студентов, аспирантов и молодых ученых «Технологический форсайт». - Краснодар: КубГУ, 2014. - С. 161.

42. Деревенская, О.Ю. Методы оценки качества вод по гидробиологическим показателям: учеб.-метод. разработка по курсу «Гидробиология» / О.Ю. Деревенская. - Казань: КФУ, 2015. - 44 с.

43. Дмитриев, В.В. Экологическое нормирование и устойчивость природных систем: учебное пособие СПбГУ / В.В. Дмитриев, Г.Т. Фрумин. - СПб.: Наука, 2004. - 294 с.

44. Доклад Конференции Организации Объединенных Наций по окружающей среде и развитию. - Рио-де-Жанейро, 1992. - Т. 1. - 79 с.

45. Долина, Л.Ф. Очистка сточных вод от биогенных элементов: монография / Л.Ф. Долина. - Днепропетровск: Континент, 2011. - 198 с.

46. Дроздов, В.В. Практикум по экологии: учебно-метод. пособие для студ. экол. специальностей вузов / В.В. Дроздов. - СПб.: РГГМУ, 2020. - 256 с.

47. Дудикова, Г.Н. Роль пробиотических препаратов в получении

экологически безопасной животноводческой продукции в Казахстане / Г.Н. Дудикова, А.В. Чижаева // Международный журнал экспериментального образования. - 2016. - №10 (ч.1). - С.9-11.

48. Дуктов, А.П. Экология аквакультуры. Курс лекций: учеб. -метод. пособие / А.П. Дуктов, В.И. Лавушев. - Горки: БГСХА, 2022. - 103 с.

49. Единая система классификации качества воды в водных объектах. - Астана, 2016. - №151. - 13 с.

50. Жаркенов, Д.К. Особенности выращивания новых объектов аквакультуры в условиях рыбоводных хозяйств Казахстана: дис. ... д-ра философии PhD: 6D080200 / Д.К. Жаркенов. - Алматы, 2018. - 180 с.

51. Заболотских, В.В. Биоиндикация и биотестирование: лабор. практикум / В.В. Заболотских, Л.В. Нюхтина, О.В. Бынина. - Тольятти: ТГУ, 2011. - 135 с.

52. Загрязнение воды в России: актуальность проблемы и статистика [Электронный ресурс]. - 2020 г. – Режим доступа: <https://www.rcycle.net/ekologia/gidrosfera>.

53. Заядан, Б.К. Микробалдырлардың таза дақылдарынын бөліп алу және оларды белсенді өсіру тәсілдері: оқу-әдістемелік құрал / Б.К. Заядан, Г. Өнерхан. - Көкшетау: Келешек-2030, 2008. - 95 б.

54. Заядан, Б.К. Биомониторинг водных экосистем на основе микроводорослей / Б.К. Заядан, Д.Н. Маторин. - М.: Изд-во «Алтекс», 2015. - 252 с.

55. Ильяшенко, А.Н. Бациллярные пробиотики в кормлении и содержании гидробионтов (обзор) / А.Н. Ильяшенко // Животноводство и кормопроизводство. - 2022. - Т.105, №4. - С. 165-180.

56. Имант, Е.Н. Качественные и количественные показатели зоопланктона озер Лача (Архангельская область) и Голодная Губа (Ненецкий автономный округ) / Е.Н. Имант, А.П. Новоселов // Международный журнал

прикладных и фундаментальных исследований. - 2018. - № 12(2). - С. 266-271.

57. Инновации в аквакультуре, их масштабирование и передача технологий в целях повышения эффективности, борьбы с ухудшением состояния окружающей среды и адаптация к изменению климата: материалы 10-й сессии Комитета по рыбному хозяйству / ФАО. - Тронхейм, 2019. - 16 с.

58. Информационный бюллетень о состоянии окружающей среды Республики Казахстан. – Астана: Министерство энергетики РК, 2016. - 413 с.

59. Информационный бюллетень о состоянии окружающей среды Республики Казахстан. – Астана: Министерство энергетики РК, 2017 год. - 288 с.

60. Информационный бюллетень о состоянии окружающей среды Республики Казахстан. - Астана: Министерство энергетики РК 2018 год. - 409 с.

61. Информационный бюллетень о состоянии окружающей среды Республики Казахстан. – Нур-Султан: Министерство экологии и природных ресурсов РК, 2019 год. - 372 с.

62. Информационный бюллетень о состоянии окружающей среды Республики Казахстан. – Нур-Султан: Министерство экологии и природных ресурсов РК, 2020 год. - №3(29). - 316 с.

63. Информационный бюллетень о состоянии окружающей среды Республики Казахстан. - Нур-Султан: Министерство экологии и природных ресурсов РК, 2021 год. - 49 с.

64. Информационный бюллетень о состоянии окружающей среды Республики Казахстан. - Астана: Министерство экологии и природных ресурсов РК, 2022 год. - 59 с.

65. Информационный бюллетень о состоянии окружающей среды Республики Казахстан. - Астана: Министерство экологии и природных ресурсов РК, 2023 год. - 58 с.

66. Информационный бюллетень о состоянии окружающей среды

Республики Казахстан. - Астана: Министерство экологии и природных ресурсов РК, 2024 год. - 52 с.

67. Использование антибиотиков в рыбоводстве [Электронный ресурс]. - 2013 г. Режим доступа: <https://aquavitro.org/2013/03/05/ispolzovanie-antibiotikov-v-rybovodstve/>.

68. Как развивается рыбное хозяйство в Казахстане [Электронный ресурс]. - 2022 г. Режим доступа: <https://ru.egemen.kz/article/331030-kak-razvivaetsya-rybnoe-khozyaystvo-v-kazakhstane>.

69. Калайда, М.Л. Результаты альголизации сточных вод, загрязненных органическими веществами, одноклеточной водорослью *Chlorella vulgaris*. Ч. 1. Изменение химического показателя кислорода при альголизации вод хлореллой / М.Л. Калайда, М.Ф. Хамитова, С.И. Новоточинов // Бутлеровские сообщения. - 2016. - Т. 48, №10. - С. 143-149.

70. Карпенюк, Т.А. Идентификация организмов биоценоза активного ила очистных сооружений г. Алматы / Т.А. Карпенюк, А.В. Гончарова, А.Ж. Бектурова // Вестник КазНУ. Серия биологическая. - 2006. - № 4(30). - С. 86-90.

71. Камиллов, Б.Г. Аквакультура. Учебник / Б.Г. Камиллов, М.А. Юлдашов. - Ташкент: LESSON PRESS, 2020. - 412 с.

72. Кичигин, В.И. Комплексная оценка качества природных вод / В.И. Кичигин., Е.Д. Палагин // ВСТ. - 2005. - №7. - С. 11.

73. Козлов, А.В. Экспертиза эколого-гидрохимического состояния памятника природы – озера Светлояр Нижегородской области / А.В. Козлов, Д.С. Маркова, С.А. Соколюк, В.И. Тогузов // Успехи современного естествознания. - 2019. - № 6. - С. 74-81.

74. Коротова, Д.М. Болезни рыб: краткий курс лекций для студентов IV курса направления подготовки 35.03.08 Водные биоресурсы и аквакультура / Д.М. Коротова // ФГБОУ ВО Саратовский ГАУ. - Саратов, 2015. - 46 с.

75. Концепция по переходу Республики Казахстан к «зеленой

экономике». - Астана, 2013. - № 577. - 52 с.

76. Кошак, Ж.В. Бактерийные биопрепараты в профилактике заболеваний рыб / Ж.В. Кошак // Белорусское сельское хозяйство. - 2016. - №12. - 8 с.

77. Кузнецов, А.Е. Научные основы экобиотехнологии / А.Е. Кузнецов, Н.Б. Градова - Москва: Мир, 2006. - 176 с.

78. Кульнев, В.В. Опыт альголизации питьевых водоемов Нижнетагильского промышленного узла / В.В. Кульнев, В.А. Почечун // Биосфера. - 2016. - Т. 8, №3. - С. 287-290.

79. Куриленко, В.В. Экспресс-оценка токсичности вод на основе биотестирования на примере поверхностных водоемов Санкт-Петербурга / В.В. Куриленко, О.В. Зайцева // Водные ресурсы. - 2005. - Т.32, № 4. - С. 425-434.

80. Лавренчук, Л.С. Микробиология: практикум / Л.С. Лавренчук, А.А. Ермошин. - Екатеринбург: Изд-во Урал. ун-та, 2019. - 107 с.

81. Ларионов, С.В. Внутренние незаразные болезни животных – одна из основных дисциплин в подготовке ветеринарного врача / С.В. Ларионов // Аграрный научный журнал. - 2018. - № 6. - С. 99.

82. Лукьянов, В.А. Прикладные аспекты применения микроводорослей в агроценозе / В.А. Лукьянов, А.И. Стифеев. Курск: Изд-во Курской государственной сельскохозяйственной академии, 2014. - 182 с.

83. Лысак, В.В. Микробиология. Практикум: пособие / В.В. Лысак, Р.А. Желдакова, О.В. Фомина. - Минск: БГУ, 2015. – 115 с.

84. Майбалык (озеро, Астана) [Электронный ресурс]. - 2021 г. – Режим доступа:[https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9C%D0%B0%D0%B9%D0%B1%D0%B0%D0%BB%D1%8B%D0%BA_\(%D0%BE%D0%B7%D0%B5%D1%80%D0%BE,%D0%90%D1%81%D1%82%D0%B0%D0%BD%D0%B0\)](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9C%D0%B0%D0%B9%D0%B1%D0%B0%D0%BB%D1%8B%D0%BA_(%D0%BE%D0%B7%D0%B5%D1%80%D0%BE,%D0%90%D1%81%D1%82%D0%B0%D0%BD%D0%B0)).

85. Макарова, Е.И. Прикладные аспекты применения микроводорослей - обитателей водных экосистем / Е.И. Макарова, И.П. Отурина, А.И. Сидякин //

Экосистемы, их оптимизация и охрана. - 2009. №20 (115). - С. 120-133.

86. Максим, Е.А. Применение комплекса пробиотиков в рыбоводстве / Е.А. Максим // Сб. науч. тр. СКНИИЖ. - 2014. - Т.2, Вып. 3. - С. 197-201.

87. Максимов, Е.А. Применение комплекса пробиотиков в рыбоводстве / Е.А. Максимов // Сб. научных трудов СКНИИЖ. Краснодар, 2014. - №3(2). - С. 197–201.

88. Мелихов, В.В. Биологическая мелиорация пресноводных водоемов / В.В. Мелихов, И.П. Кружилин, П.И. Кузнецов, М.В. Московец // Деловая слава России. - 2008. - С. 28-31.

89. Мелькумов, Г.М. Спецпрактикум Альгология. Учебно-методические пособие для вузов / Г.М. Мелькумов. - Воронеж: ФГБОУ ВПО, 2015. - 132 с.

90. Мельников, С.С. Использование хлореллы в кормлении сельскохозяйственных животных / С.С. Мельников, Е.Е. Мананкина // Наука и инновации. - 2010. - №8(90). - С. 40-43.

91. Методы изучения роста рыбы [Электронный ресурс]. - 2019 г. Режим доступа: <https://fish-industry.ru/prudovoe-rybovodstvo/1450-metody-izucheniya-rosta-ryby-chast-2.html>.

92. Микроводоросли - перспективная «сельскохозяйственная культура» [Электронный ресурс]. - 2015 г. Режим доступа: https://infoindustria.com.ua/mikrovodorosli-perspektivnaya_selskohozyaystvennaya-kultura.

93. Мирошникова, Е.П. Оценка элементного статуса карпа, выращиваемого на рационе с включением пробиотических препаратов / Е.П. Мирошникова, А.Е. Аринжанов, Ю.В. Килякова, М.С. Зуева // Технологии пищевой и перерабатывающей промышленности АПК – продукты здорового питания. – 2022. – № 1. – С. 83–88. DOI 10.24412/2311-6447-2022-1-83-88.

94. Михеева, Т.М. Перспективы использования культивируемых и

планктонных микроскопических водорослей / Т.М. Михеева // Наука и инновации. - 2018. - № 2 (180). - С. 15-19.

95. МУК 4.2.1890-04. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам: методические указания. - М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004. – 91 с.

96. Национальный доклад о состоянии окружающей среды и об использовании природных ресурсов Республики Казахстан. – Нур-Султан: Министерство экологии, геологии и природных ресурсов РК, 2020. - 545 с.

97. Нетрусов, А.И. Микробиология: учебник для студ. высш. учеб. заведений / А.И. Нетрусов, И.Б. Котова. - М.: Изд. центр «Академия», 2009. - 352 с.

98. Никифоров, А.Ф. Природопользование и охрана окружающей среды: учеб. пособие / А.Ф. Никифоров, И.Н. Липунов, Л.В. Василенко. - Екатеринбург: УГЛТУ, 2007. - 223 с.

99. Нижельская, Е.И. Диагностика и лечебно-профилактические мероприятия при болезнях рыб: учебное пособие для студентов факультета ветеринарной медицины / Е.И. Нижельская, О.Н. Полозюк, Л.Г. Войтенко. - Донской ГАУ, 2019. - 162 с.

100. Никаноров, А.М. Мониторинг качества вод: оценка токсичности / А.М. Никаноров, Т.А. Хоружая, Л.В. Бражникова, А.В. Жулидов. - С-Пб: Гидрометеоиздат, 2000. - 156 с.

101. Новиков, Ю.В. Методы исследования качества воды водоемов / Ю.В. Новиков, К.О. Ласточкина, З.Н. Болдина. - М.: Медицина, 1990. - 400 с.

102. Новикова, О.К. Очистка сточных вод от биогенных элементов: учеб.-метод. пособие / О.К. Новикова. - Гомель: БелГУТ, 2019. - 55 с.

103. Объем производства аквакультуры в России вырос на 8,5% - до 357 тыс. тонн [Электронный ресурс] - 2022 г. - Режим доступа: <http://www.fish.gov.ru/news/2022/02/09>.

104. Огородникова, Н.П. Участие микроорганизмов в процессах окисления и восстановления металлов (обзор) / Н.П. Огородникова, В.И. Миталев, Ю.И. Рябухин // Известия вузов Северо-Кавказский регион. Естественные науки. - 2009. - № 6. - С. 54-57.

105. Отчет о воздействии Aqua Spark [Электронный ресурс]. - 2021. - Режим доступа: <https://aqua-spark.nl/>.

106. Паршуков, А. Характеристика бактериальной микрофлоры рыб и водоемов рыбохозяйственного назначения / А. Паршуков // Материалы науч. конф. «Садковое рыбоводство: технология выращивания, кормление рыб и сохранение их здоровья». - Петрозаводск: Изд-во ПГУ, 2008. - С. 79-82.

107. Пономарев, С.В. Корма и кормление рыб в аквакультуре: учебник / С.В. Пономарев, Ю.Н. Грозеску, А.А. Бахарева. - М.: МОРКНИГА, 2013. - 417 с.

108. Попков, Н.А. Об инвестиционном развитии животноводства / Н.А. Попков // Доклады Национальной академии наук Беларуси. - 2007. - Т.51. - С. 124-126.

109. Послание Президента Республики Казахстан - Лидера Нации Н.А. Назарбаева народу Казахстана «Стратегия «Казахстан-2050»: Новый политический курс состоявшегося государства». - Астана, 2012.

110. Послание Главы государства К.К. Токаева народу Казахстана «Казахстан в новой реальности: время действий». - Нур-Султан, 2020.

111. Постановление Правительства Республики Казахстан «О вопросах развития рыбного хозяйства» от 11 апреля 2021 г., №208. - Нур-Султан, 2021.

112. Похиленко, В.Д. Бактериоцины: их биологическая роль и тенденции применения / В.Д. Похиленко, В.В. Перельгин // Электронный журнал «Исследовано в России». - 2011. - С. 164-198. Режим доступа: <http://zhurnal.ape.relarn.ru/articles/2011/016.pdf>.

113. Примак, Е.А. Нормирование и снижение негативного воздействия на водные экосистемы: учебное пособие для высших учебных заведений / Е.А.

Примак, Н.В. Зуева, Д.К. Алексеев, Е.Ю. Воякина. - СПб.: РГГМУ, 2020. - 116 с.

114. Прокопенко, К.М. Антагонистическая активность пробиотических штаммов по отношению к условно-патогенным микроорганизмам и лакто- бифидобактериям / К.М. Прокопенко, Л.П. Кнышова // Актуальные проблемы гуманитарных и естественных наук. - 2015. - №6/2. - С. 148-152.

115. Проскуренко, И.В. Замкнутые рыбоводные установки / И.В. Проскуренко. - Москва, Издательство ВНИ речн. и озерн. рыбн. хоз-ва, 2003. - 152 с.

116. Пчелкин, А.В. Использование водорослей и лишайников в экологическом мониторинге и биоиндикационных исследованиях / А.В. Пчелкин, В.Б. Слепов. - Москва, 2004. - С. 2-19.

117. Развитие аквакультуры. Вып. 4: Экосистемный подход к аквакультуре. Техническое руководство по ответственному рыбному хозяйству. - ФАО, Рим, 2013. - 76 с.

118. Раимбеков, К.Т. Анализ основных методов биологической очистки как основа интенсификации работы сооружений / Раимбеков, К.Т., Моомбеков С.Т. // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. - 2020. - № 2. - С. 45-49.

119. Рахманин, Ю.А. Значение санитарно-микробиологических показателей при оценке эпидемической безопасности водопользования в условиях химического загрязнения водоемов / Ю.А. Рахманин, Л.В. Иванова, Т.З. Артемова, Е.К. Гипп и др. // Гигиена и санитария. - 2016. - №95(10). - С. 934-938.

120. РД 52.24.620-2000. Организация и функционирование подсистемы мониторинга антропогенного эвтрофирования пресноводных экосистем: руководящий документ. - СПб., 2000. - 49 с.

121. РД 52.24.643-2002. Метод комплексной оценки степени

загрязненности поверхностных вод по гидрохимическим показателям: руководящий документ. - Ростов-на-Дону, 2002. - 55 с.

122. Река Ишим [Электронный ресурс]. - 2021. – Режим доступа: [https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%98%D1%88%D0%B8%D0%BC_\(%D1%80%D0%B5%D0%BA%D0%B0\)](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%98%D1%88%D0%B8%D0%BC_(%D1%80%D0%B5%D0%BA%D0%B0)).

123. Рекордный объем производства в секторе рыболовства и аквакультуры играет важнейшую роль в обеспечении глобальной продовольственной безопасности [Электронный ресурс]. - 2022 г. - Режим доступа: <https://www.fao.org/newsroom/detail/record-fisheries-aquaculture-production-contributes-food-security-290622/ru>.

124. Романова, Е.М. Пробиотики и адаптогены в лечении аэромоноза африканского клариевого сома / Е.М. Романова, В.Н. Любомирова, Л.А. Шадыева, Т.М. Шленкина // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. - 2017. - № 4(40). - С. 86-93.

125. РД 52.24.868-2017. Использование методов биотестирования воды и донных отложений водотоков и водоемов: руководящий документ. - Ростов-на-Дону, 2017. - 57 с.

126. Рустамов, Н.А. Биомасса - источник энергии / Н.А. Рустамов, С.И. Зайцев, Н.И. Чернова // Энергия, 2005. - № 6. - С. 20-28.

127. Ручай, Н.С. Экологическая биотехнология: учеб. пособие / Н.С. Ручай, Р.М. Маркевич. - Минск: БГТУ, 2006. - 312 с.

128. Рыбный бизнес просит корм от государства [Электронный ресурс]. - 2017 г. - Режим доступа: <https://inbusiness.kz/ru/news/rybnyj-biznes-prosit-korm-ot-gosudarstva>.

129. Саинова, В.Н. Некоторые аспекты технологии очистки сточных вод от биогенных элементов / В.Н. Саинова, И.С. Катков Д.И. Саинов // Булатовские чтения. - 2018. - С. 270-272.

130. Сальникова, М.Я. Хлорелла - новый вид корма / М.Я. Сальникова.

М., 1977. - 96 с.

131. Сальникова, А.Г. Анализ потребителей фармацевтического рынка энтеросорбентов / А.Г. Сальникова, Н.В. Панова // Вестник ПГФА. - 2007. - №3. - С. 114-117.

132. Самсонова, А.С. Итоги и перспективы использования препарата Клинка / А.С. Самсонова // Сборник научных трудов «Микробные биотехнологии: Фундаментальные и Прикладные аспекты». - 2013. - Том 5. - С. 599-619.

133. Сафонова, Е.Ф. Биодegradация компонентов нефтяного загрязнения с участием микроводорослей и цианобактерий: дис. ... канд. биол. наук: 03.07.00 / Е.Ф. Сафонова. - СПб., 2004. - 143 с.

134. Сверчкова, Н.В. Основы создания экологически безопасного препарата для рыбоводства / Н.В. Сверчкова, Т.В. Романовская, Н.В. Евсегнеева, Г.В. Жук и др. - 2016. - №32. - С. 275-286.

135. Семенов, А.В. Характеристика отношений между пробиотическими и автохтонными микроорганизмами и алгоритм индивидуального подбора пробиотиков / А.В. Семенов // Казанский медицинский журнал. - 2011. - Т. 92, № 6. - С. 792-795.

136. Сергалиев, Н.Х. Изучение микрофлоры осетровых видов рыб, разводимых в УЗВ с применением методов метагеномики / Н.Х. Сергалиев, Е.Е. Андронов, А.Г. Пинаев // Сборник научных трудов КНЦЗВ. - 2019. - Т.8, №1. - С. 63-68.

137. Сибагатуллина, А.М. Измерение загрязнённости речной воды (на примере малой реки Малая Кокшага) / А.М. Сибагатуллина, П.М. Мазуркин. - М.: Академия Естествознания, 2009. - 71 с.

138. Сизенцов, А.Н. Повышение пищевых характеристик рыбы с использованием фитобиотиков и пробиотиков в кормлении (обзор) / А.Н. Сизенцов, Е.П. Мирошникова, А.Е. Аринжанов, Ю.В. Килякова // Аграрный

вестник Урала. 2023. № 03 (232). С. 52–63. DOI: 10.32417/1997-4868-2023-232-03-52-63.

139. Сиренко, Л.А. Методы физиолого-биохимического исследования водорослей в гидробиологической практике / Л.А. Сиренко, А.И. Сакевич, Л.Ф. Осипов, Л.Ф. Лукина и др. - Киев: Наукова думка, 1975. - 247 с.

140. Скачков, Д.П. Современные методы терапии некоторых гельминтозов карпа / Д.П. Скачков // Тезисы докладов межд. конф. «Проблемы охраны здоровья рыб в аквакультуре». - М., 2000. - С. 117-118.

141. Скурат, Э.К. Пробиотик - препарат для профилактики бактериальных заболеваний рыб / Э.К. Скурат, В.А. Сиволоцкая, С.М. Дегтярик // Тезисы докладов межд. конф. «Проблемы охраны здоровья рыб в аквакультуре». - М., 2000. - С. 114-115.

142. Смаилова, А.А. Казахстан в 2010 году. Статистический ежегодник по статистике. Агентство Республики Казахстан / А.А. Смаилова. - Астана, 2011. - 480 с.

143. Смоленцев С.Ю., Роженцев А.Л. Нормализация рубцового пищеварения крупного рогатого скота с применением пробиотика / С.Ю. Смоленцев, А.Л. Роженцев // Вестник Марийского государственного университета. - 2015. - С.46-48.

144. Состояние мирового рыболовства и аквакультуры. Достижение целей устойчивого развития. Всемирный доклад ООН, ФАО. - Рим, 2018. - 39 с.

145. Стратегический план развития Республики Казахстан до 2025 года: утвержден постановлением Президента РК от 15 февраля 2018 г., №636. - Астана, 2018. - 111 с.

146. Стребков, Д.С. Энергетическое использование биомассы водорослей для производства биотоплива / Д.С. Стребков, М.Ю. Росс, Ю.М. Щекочихин // Труды 6-й межд. науч.-техн. конф. «Энергообеспечение и энергосбережение в сельском хозяйстве». - М.: ВИЭСХ, 2008. - Ч. 4. - С.408-

415.

147. Стрелков А.К. Исследование биохимической очистки с применением биопрепарата на реальных сточных водах предприятия маслоэкстракции / А.К. Стрелков, А.О. Базарова, С.Ю. Теплых // Строительство и техногенная безопасность. - 2022. - №25 (77). - С. 117-125.

148. 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.

149. Темралеева, А.Д. Современные методы выделения, культивирования и идентификации зеленых водорослей (*Chlorophyta*) / А.Д.Темралеева, Е.В.Минчева, Ю.С.Букин, А.М. Андреева. - Кострома: Костромской печатный дом, 2014. - 215 с.

150. Типы загрязнения и их последствия [Электронный ресурс]. - 2023 г. Режим доступа: <https://www.akvantis.com.ua/stati-i-obzory/tipy-zagryazneniya-vody-i-ih-posledstviya>.

151. Торопов, А.Ю. Суспензия хлореллы – направленное воздействие на экосистему водоема / А.Ю. Торопов, М.В. Фролова, М.В. Московец // Орошаемое земледелие. Техника и технологии. - №1. - 2020. - С. 46-49.

152. Тренкеншу, Р.П. Унифицированная лабораторная установка для исследования низших фототрофов / Р.П. Тренкеншу, А.Б. Боровков, А.С. Лелеков. - Севастополь, 2009. - 14 с.

153. Тымчук, С.Н. Наиболее значимые санитарно-микробиологические показатели оценки качества питьевой воды / С.Н. Тымчук, В.Е. Ларин, Д.М. Соколов // Водоснабжение и санитарная техника. - 2013. - №11. - С. 8-15.

154. Усенко, Д.В. Пробиотики и пробиотические продукты: возможности и перспективы применения / Д.В. Усенко, А.В. Горелов // Вопросы современной педиатрии. - 2004. - №2. - С. 50-54.

155. Ушакова, Н.А. Анаэробная твердофазная ферментация растительных субстратов с использованием *Bacillus subtilis* / Н.А. Ушакова, Е.С. Бродский, А.А. Козлова, А.В. Нифатов // Прикладная биохимия и микробиология. - 2009. - Т.45, №1. - С. 70-77.

156. Фролова, М.В. Современная биотехнология в улучшении качества воды открытых водоемов многоцелевого назначения / М.В. Фролова, О.П. Комарова, М.В. Московец // Известия. – 2018. - № 4 (52). - С. 213-218.

157. Хвойников, А.Н. Тенденции и статистика развития рынка микроводорослей / А.Н. Хвойников, Е.Д. Сангалова, О.Ю. Орлова // Вестник Алтайской Академии экономики и права. - 2021. - №4. - С. 278-282.

158. Целевые показатели к Протоколу по проблемам воды и здоровья Конвенции по охране и использованию трансграничных водотоков и международных озер в Республике Казахстан. - Астана, 2017. - 52 с.

159. Чернова, Н.И. Микроводоросли в качестве сырья для получения биотоплива / Н.И. Чернова, С.В. Киселева, Т.П. Коробкова, С.И. Зайцев // Альтернативная энергетика и экология. - 2008. - № 9. - С. 68-74.

160. Шалыго, Н.В. Медицинские аспекты альгологии / Н.В. Шалыго // Наука и инновации. - 2018. - №2 (180). - С. 20-23.

161. Шеховцева, Н.В. Экология водных микроорганизмов: учебное пособие / Н.В. Шеховцева. - Ярославль: ЯрГУ, 2008. - 132 с.

162. Шитиков, В.К. Количественная гидроэкология: методы, критерии, решения / В.К. Шитиков, Г.С. Розенберг, Т.Д. Зинченко. - Тольятти: ИЭВБ РАН, 2003. - 463 с.

163. Штернис, Т.А. Биостатистика: учебно-методическое пособие / Т.А. Штернис. – Кемерово, 2020. – 183 с.

164. Шульгина, Л.В. Антибиотики в объектах аквакультуры и их экологическая значимость. Обзор / Л.В. Шульгина, Е.В. Якуш, Ю.П. Шульгин, В.В. Шендерюк, Н.В. Чукалова, Л.П. Бахолдина // Известия ТИНРО. - 2015. - Т.

181. - С. 216-230.

165. Юхименко, Л.Н. Перспективы использования Суболина для коррекции микрофлоры кишечника рыб и профилактики БГС / Л.Н. Юхименко, Л.И. Бычкова // Тезисы науч.-техн. конф. «Проблемы охраны здоровья рыб в аквакультуре». - Москва, 2005. - С.133-136.

166. Яруллина, Д.Р. Бактерии рода *Lactobacillus*: общая характеристика и методы работы с ними: Учебно-методическое пособие / Д.Р. Яруллина, Р.Ф. Фахруллин. - Казань: Казанский университет, 2014. - 51 с.

167. Adams, M. Supper Food for Optimum Health: *Chlorella* and *Spirulina* / M. Adams // Consumer Willness Res. Center. - 2004. - P. 1-39.

168. Algae Base [Электронный ресурс]. - 2020. Режим доступа: https://www.algaebase.org/search/species/detail/?species_id=32024.

169. Arihara, K. *Lactobacillus acidophilus* group lactic acid bacteria applied to meat fermentation / K. Arihara, H. Ota, M. Itoh, Y. Kondo, T. Sameshima et al. // J. Food Sci. – 1998. - V. 63(3). – P. 544-547.

170. Badiola, M. Recirculating Aquaculture Systems (RAS) analysis: Main issues on management and future challenges / M. Badiola, D. Mendiola, J. Bostock // Aquacultural Engineering. – 2012. - V. 51. -P. 26-35.

171. Battista, Di T. Environmental monitoring through functional biodiversity tools / Di T. Battista, F. Fortuna, F. Maturo // Ecol. Indic. – 2016. - V.60. – P. 237-247.

172. Becker, E.W. Microalgae in human and animal nutrition. Handbook of Microalgal Culture. Biotechnology and Applied Phycology, Blackwell Science, Oxford / E.W. Becker. - 2004. - P. 312-351.

173. Belicova, A. Probiotic potential and safety properties of *Lactobacillus plantarum* from Slovak bryndza cheese / A. Belicova, M. Mikulasova, R. Dusinsky // Bio Med. – 2013. - 8 p.

174. Bishop, W.M. Evaluation of microalgae for use as nutraceuticals and

nutritional supplements / W.M. Bishop, H.M. Zubeck // J. Nutr. Food. Sci. – 2012. - V. 2, Is. 5. - P. 1-6.

175. Bogdanova, A.A. Biochemical and hematological composition of blood of cattle fed with *Chlorella* / A.A. Bogdanova, E.A. Flerova // Regulatory Mechanisms in Biosystems. – 2018. - V. 9, Is. 2. – P. 244-249.

176. Borowitzka, M.A. High-value products from microalgae - their development and commercialization / M.A. Borowitzka // Journal of Applied Phycology. – 2013. - V. 25, Is. 3. -P. 743-756.

177. Buntin, N. Screening of lactic acid bacteria from gastrointestinal tracts of marine fish for their potential use as probiotics / N. Buntin, S. Chanthachum, T. Hongpattarakere // Songklanakarin J. Sci. Technol. – 2008. - V. 30(1). -P. 141-148.

178. Burek P., Satoh Y., Fischer G., Kahil T., Nava L. Jimenez et al. Water Futures and Solution // Fast Track and Initiative. Final Report ADA Project Number 2725-00/2014, Laxenburg, 2016, 113 p.

179. BurrIDGE, L. Chemical use in salmon aquaculture: A review of current practices and possible environmental effects / L. BurrIDGE, J.S. Weis, F. Cabello et al. // Aquaculture. – 2010. - V. 306. -P. 7-23.

180. Chaudhary, L. Algae as a Feedstock for Bioethanol Production: New Entrance in Biofuel World / L. Chaudhary, P. Pradhan, N. Soni, P. Singh, A. Tiwari // International Journal of ChemTech Research. – 2014. - №6(2). -P. 1381-1389.

181. Chisti, Y. Biodiesel from microalgae / Y. Chisti // Biotechnology Advances. – 2007. - V. 25. -P. 294-306.

182. Cochrane, K. Climate change implications for fisheries and aquaculture: overview of current scientific knowledge / K. Cochrane, C. De Young, D. Soto, T. Bahri // FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper. Rome, FAO. – 2009. - № 530. - 212 p.

183. Dahia, T. Elimination of pathogenic bacterium (*Micrococcus sp.*) by the use of probiotics / T. Dahia, S. Gahlawat, R. Sihag // Turk. J. Fish Aquat. Sc. – 2012.

- V. 12. -P. 185-187.

184. Doan, H.V. *In vitro* antagonistic effect and in vivo protective efficacy of Gram-positive probiotics versus Gram-negative bacterial pathogens in finfish and shellfish / H.V. Doan, M. Soltani, E. Ring // *Aquaculture*. – 2021. - V. 540. -P. 736581.

185. El-Ezabi, M.M. The viability of probiotics as a factor influencing the immune response in the *Nile tilapia, Oreochromis niloticus* / M.M. El-Ezabi, S.S. El-Serafy, M.A. Essa, S. Lall, S.M. Daboor, N.A. Esmael // *Egypt J. Aquat. Biol. & Fish.* – 2011. - V. 15, № 1. -P. 105-124.

186. El-Sheekh, M. Molecular identification, biomass, and biochemical composition of the marine chlorophyte *Chlorella sp.* MF1 isolated from Suez Bay / M. El-Sheekh, M. Abu-Faddan, A. Abo-Shady, MZA. Nassar, W. Labib // *J. Genet. Eng. Biotechnol.* – 2020. - V.18(1). -P.27. doi: 10.1186/s43141-020-00044-8.

187. Garcia-Vaquero, M. Red and Green Macroalgae for fish, animal feed and human functional food development / M. Garcia-Vaquero, M. Hayes // *Food Rev. Int.* – 2016. - V. 32(1). - P. 15-45.

188. Gerretsen, F.C. The influence of microorganisms on the phosphate intake by the plant / F.C. Gerretsen // *Plant and Soil*. – 1948. - № 1. - 51 p.

189. Guillard, R.R.L. Purification methods for microalgae. In: *Algal culturing techniques* / R.R.L. Guillard, Eds: Andersen R.A. // New-York: Elsevier Academic Press. - 2005. - P. 117-132.

190. Görs, M. Quality analysis of commercial *Chlorella* products used as dietary supplement in human nutrition / M. Görs, R. Schumann, D. Hepperle et al. // *J. Appl. Phycol.* - 2010. - P. 265–276. doi.org/10.1007/s10811-009-9455-4.

191. Haripriya, U. Bioremediation of organic pollutants: A mini review on current and critical strategies for wastewater treatment / U. Haripriya, K.P. Gopinath, J. Arun, M. Govarathanan // *Arch. Microbiol.* – 2022. - V. 204. -P. 286.

192. Hossain, S. Microplastics biodegradation by biofloc-producing bacteria:

An inventive biofloc technology approach / S. Hossain, H. Manan, Z.N.A. Shukri, R. Othman, A.S. Kamaruzzan et al. // *Microbiol. Research.* – 2022. - V. 266. – P. 127239.

193. Hu, Q. Microalgal Triacylglycerols as Feedstocks for Biofuel Production: Perspectives and Advances / Q. Hu, M. Sommerfeld, E. Jarvis, M. Ghirardi, M. Posewitz et al. // *Plant J.* – 2008. - V. 54. - P. 621-639.

194. Hussain, M. Effect of varying dietary protein levels on growth performance and survival of milkfish *Chanos chanos* fingerlings reared in brackish water pond ecosystem / M. Hussain, U.H. Hassan, M.A.M. Siddique, K. Mahmood, V. Abdel-Aziz et. al. // *Egyptian J. of Aquatic Res.* – 2021. - V. 47(3). -P. 329-334.

195. Ibrahim, M.D. Evolution of probiotics in aquatic world: Potential effects, the current status in Egypt and recent prospectives / M.D. Ibrahim // *Journal of Advanced Research.* – 2015. - V. 6. - P. 765-791.

196. Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC). Climate change 2007: synthesis report, Geneva. – 2007. - 104 p.

197. Jahangiri, L. Administration of Probiotics in the Water in Finfish Aquaculture Systems: a Review / L. Jahangiri, M.Á. Esteban // *Fishes.* – 2018. - V. 3(33). – P. 13.

198. Kaktcham, P.M. *In vitro* evaluation of the probiotic and safety properties of bacteriocinogenic and non-bacteriocinogenic lactic acid bacteria from the intestines of *Nile Tilapia* and common carp for their use as probiotics in aquaculture / P.M. Kaktcham, B. Temgoua, M.N. Zambou, G. Diaz Ruiz, C. Wache, M.L. P'erez-Chabela // *J. Prob. Antimicrob. Prot.* – 2018. - V. 10, № 1. -P. 98-109.

199. Kos, B. Adhesion and aggregation ability of probiotic strain *Lactobacillus acidophilus* M92 / B. Kos, J.Susković, S. Vuković, M. Simpraga, J. Frece, S. Matosić // *J. Appl. Microbiol.* – 2003. - V. 94(6). -P. 981-987.

200. Kováčik, J. Effect of microalgal suspensions on growth and metabolism of crops / J. Kováčik, B. Klejdus, J. Hedbavny // *Plant Physiology and Biochemistry.*

– 2013. - №67. -P. 66-71.

201. Kube, M. The impact of wastewater characteristics, algal species selection and immobilisation on simultaneous nitrogen and phosphorus removal / M. Kube, B. Jefferson, L. Fan, F. Roddick // *Algal Res.* – 2018. - V. 31. - P. 478-488.

202. Laxminarayan, R. Antibiotic resistance-the need for global solutions / R. Laxminarayan, A. Duse, C. Wattal, A.K. Zaidi, H.F. Wertheim et al. // *Lancet Infect. Dis.* – 2013. - V.13, №12. - P. 1057-1098.

203. Lim, S.M. Screening and characterization of probiotic lactic acid bacteria isolated from Korean fermented foods / S.M. Lim, D.S. Im // *J. Microbiol. Biotechnol.* – 2009. - V.19. - P. 178-186.

204. Mata, T.M. Microalgae for biodiesel production and other applications: A review / T.M. Mata, A.A. Martins, N.S. Caetano // *Renew. Sustain. Energy Rev.* - 2010. - V.14. - P. 217-232.

205. Markou, G. Microalgae for high-value compounds and biofuels production: a review with focus on cultivation under stress conditions / G. Markou, E. Nerantzis // *Biotechnology advances.* - 2013. - V. 31, Is. 8. - P. 1532-1542.

206. McGinnis, S., Madden, T.L. BLAST: at the core of a powerful and diverse set of sequence analysis tools / S. McGinnis, T.L. Madden // *Nucleic Acids Res.* – 2004. – V. 32, Is. 2. – P. W20–W25. <https://doi.org/10.1093/nar/gkh435>.

207. Miles, A.A. The estimation of the bactericidal power of the blood / A.A. Miles, S.S. Misra, J.O. Irwin // *The Journal of hygiene.* – 1938. - P. 732-749.

208. Millennium Ecosystem Assessment (MEA). Ecosystems and human well-being. V. 1. Current state and trends, Washington. - 2005. - 155 p.

209. Mulumpwa, M. The potential of insect meal in improving food security in Malawi: an alternative of soybean and fishmeal in livestock feed / M. Mulumpwa // *J. of Insects as Food and Feed.* - 2018. - V.4(4). - P. 301-312.

210. Niu, S. Understanding impacts of organic contaminants from aquaculture on the marine environment using a chemical fate model / S. Niu, R. Chen, K.J.

Hageman, R.M. McMullin et al. // J. of Hazardous Materials. - 2022. -V.443. - P. 130090.

211. Oh, S.T. Effects of dietary fermented *Chlorella vulgaris* (CBT®) on growth performance, relative organ weights, cecal microflora, tibia bone characteristics, and meat qualities in Pekin ducks / S.T. Oh, L. Zheng, H.J. Kwon, Y.K. Choo et al. // Asian-Australasian J. of animal sciences. – 2015. - V.28(1). - P. 95-101.

212. Özcan, D. Antibiotic Resistance of Some Probiotic Strains in Aquaculture / D. Özcan // Eastern Anatolian J. of Science. - 2017. - V.3, Is. 1. - P. 22-26.

213. Picchiatti, S. Early treatment with *Lactobacillus delbrueckii* strain induces an increase in intestinal T-cells and granulocytes and modulates immune-related genes of larval *Dicentrarchus labrax* (L.). / S. Picchiatti, A. Fausto, E. Randelli, O. Carnevali, A. Taddei et al. // Fish Shellish Immunol. – 2009. - V.26. -P. 368-376.

214. Pinnegar, J.K. Future Socio-Political Scenarios for Aquatic Resources in Europe: A Common Framework Based on Shared-Socioeconomic-Pathways (SSPs) / J.K. Pinnegar, K.G. Hamon, C.M. Kreiss, A. Tabeau, S. Rybicki et al. // Frontiers in Marine Sci. – 2020. - V.7. -P. 568219.

215. Renewables 2013. Global Status Report, Paris: REN21. - 2013.- 20 p.

216. Report of the regional donor consultation on the role of aquaculture and living aquatic resources: priorities for support and networking: FAO Regional Office Asia and the Pacific. Bangkok Thailand: RAP Publication. – 2003. - №4. - 222 p.

217. Probiotics in Food Health and Nutritional Properties and Guidelines for Evaluation. - FAO Food and Nutrition Paper 85, Rome. – 2006. - 56 p.

218. Richmond, A. Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology. Iowa: Blackwell Science Ltd. / A. Richmond. - 2004. - 59 p.

219. Ringø, E. Lactic acid bacteria in finfish - An update / E. Ringø, S.H.

- Hoseinifar, K. Ghosh, H.V. Doan et al. // *Front. Microbiol.* – 2018. - №9. -P. 1818.
220. Ringø, E. Probiotics in shellfish aquaculture / E. Ringø // *Aquac. Fish.* - 2020. - V.5, №2. -P. 1-27.
221. Rozenberg, G.S. Forecast of the State and Management of Bioresources of the Volga Basin / G.S Rozenberg, A.V. Vasiliev, A.G. Zibarev, G.E. Kudinova, G.R. Khasaev // *Iop Conference Series Earth and Environmental Science.* – 2021. - Vol. 818 (Is.1), 012001. DOI 10.1088/1755-1315/818/1/012001.
222. Romanova, E.M. Corrective effect of probiotics on the work of the fish body in industrial aquaculture // *E3S Web Conferences «Interagromash 2022»* / E.M. Romanova, V.V. Romanov, V.N. Lyubomirova, L.A. Shadyeva, T.M. Shlenkina et al. - 2022. - V.363. - 11 p.
223. Safi, C. Morphology, composition, production, processing and applications of *Chlorella vulgaris*: A review / C. Safi, B. Zebib, O. Merah, P.Y. Pontalier, C. Vaca Garcia // *Renewable and Sustainable Energy Reviews.* – 2014. - V.35. - P. 265-278.
224. Schulthess, B. Use of the Bruker MALDI Biotyper for Identification of Molds in the Clinical Mycology Laboratory / B. Schulthess, R. Ledermann, F. Mouttet, A. Zbinden et al. // *J. Clin. Microbiol.* - 2014. - V.52(8). - P. 2797-2803.
225. Schwarzenbach, R.P. Global Water Pollution and Human Health / R.P. Schwarzenbach, T. Egli, T.B. Hofstetter, U. Gunten von, B. Wehrli // *Ann. Rev. Environ. Resour.* – 2010. - V.35. - P. 109-136.
226. Serrano, E.P. Responsible Use of Antibiotics in Aquaculture. FAO Fisheries Technical Paper, Rome / E.P. Serrano. - 2005. - № 469. - 98 p.
227. Servin, A.L. Adhesion of probiotic strains to the intestinal mucosa and in-teraction with pathogens / A.L. Servin, M.H. Coconnier // *Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.* - 2003. - V.17(5). - P.741-754.
228. Sladeček, V. System of water quality from biological point of view / V. Sladeček // *Egetnisse der Limnologie.* - 1973. - V.7. - 218 p.

229. Søndergaard, M. Role of sediment and internal loading of phosphorus in shallow lakes / M. Søndergaard, J.P. Jensen, E. Jeppesen // *Hydrobiologia*. - 2003. - V.506-509, №1-3. - P. 135-145.
230. Spolaore, P. Commercial applications of microalgae / P. Spolaore, C. Joannis-Cassan, E. Duran, A. Isambert // *J. of bioscience and bioengineering*. - 2006. - V.101, Is.2. - P. 87-96.
231. Stancheva, R. Benthic soft-bodied algae as bioindicators of stream water quality / R. Stancheva, R.G. Sheath // *J. fully supported by Onema*. - 2016. - V.15. - P. 1-16.
232. Sugiharto, S. A Review on Fungal Fermented Cassava Pulp as a Cheap Alternative Feedstuff in Poultry Ration / S. Sugiharto // *J. World Poult. Res.* – 2019. - № 9(1). - P. 01-06.
233. Sumpradit, N. Antibiotics Smart Use: a workable model for promoting the rational use of medicines in Thailand / N. Sumpradit, P. Chongtrakul, K. Anuwong, S. Pumtong, K. Kongsomboon et al. // *Bull. World Health Organ.* - 2012. - V.90, №12. - P. 905-913.
234. Tamura, K. MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods / K. Tamura, D. Peterson, N. Peterson, G. Stecher, M. Nei, S. Kumar // *Molecular Biology and Evolution*. - 2011. - V.28, №10. - P. 2731-2739.
235. The State of World Fisheries and Aquaculture 2020. Sustainability in action. FAO, Rome. - 2020. - 224 p.
236. Tlusty, M.F. Microalgae as a biofilter in recirculating aquaculture systems / M.F. Tlusty, A.L. Rhyne, J.T. Szczebak, B.W. Bourque // *Aquaculture*. - 2017. - №482. - P. 1-8.
237. Tolosa, J.M. Column-based method to simultaneously extract DNA, RNA, and proteins from the same sample / J.M. Tolosa, J.E. Schjenken, T.D. Civiti, V.L. Clifton, R. Smith // *Biotechniques*. - 2007. - V.43(6). - P. 799-804.

238. Towards gender-equitable small-scale fisheries governance and development. A handbook. FAO, Rome. - 2017. - 169 p.

239. Touliabah, H.E-S. A review of microalgae- and cyanobacteria-based biodegradation of organic pollutants / H.E-S. Touliabah, M. El-Sheekh, M.M. Ismail, H. El-Kassas // *Molecules*. - 2022. - V.27. - P. 1141.

240. Usharani, K. Determination of nitrate utilization efficiency of selective strain of *Bacillus sp.* isolated from Eutrophic Lake, Theerthamkara, Kasaragod, Kerala / K. Usharani, K. Sruthilaya, K. Divya // *Pollution*. - 2017. - V.3(1). - P. 55-67.

241. Usydus, Z. Marine and farmed fish in the Polish market: Comparison of the nutritional value / Z. Usydus, J. Szlinder-Richert, M. Adamczyk, U. Szatkowska // *Food Chemistry*. - 2011. - V.126(1). - P. 78-84.

242. Vendrell, D. *Lactococcus garvieae* in fish: a review / D. Vendrell, J.L. Balcázar, I. Ruiz-Zarzuela, I. de Blas, O. Gironés, J.L. Múzquiz // *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* - 2006. - V. 29(4). - P. 177-98. doi:10.1016/j.cimid.2006.06.003.

243. Villanueva M., Espinosa-Reyes G., Flores-Ramirez R., Rojas-Velazquez A.N., López J.C.G. Herbal Vitamin C Prevents DNA Oxidation and Modifies the Metabolomic Water Profile of Tilapia (*Oreochromis spp.*) / M. Villanueva, G. Espinosa-Reyes, R. Flores-Ramirez, A.N. Rojas-Velazquez, J.C.G. López // *Life*. - 2022. - V.12(8). - P. 1243.

244. Vine, N.G. Invitro growth characteristics of five candidate aquaculture probiotics and two fish pathogens grown in fish intestinal mucus / N.G. Vine, W.D. Leukes, H. Kaiser // *FEMS Microbiol. Lett.* - 2004. - V.231(1). - P.145-152.

245. Wang, K. Fast pyrolysis of microalgae remnants in a fluidized bed reactor for bio-oil and biocharproduction / K. Wang, R.C. Brown, S. Homsy, L. Martinez, S.S. Sidhu // *Bioresour. Technol.* - 2013. - V.127. - P. 494-499.

246. Wijffels, R.H. Potential of industrial biotechnology with cyanobacteria and eukaryotic microalgae / R.H. Wijffels, O. Kruse, K.J. Hellingwerf // *Current*

opinion in biotechn. - 2013. - V.24, Is.3. - P. 405-413.

247. Wu, N. Using river microalgae as indicators for freshwater biomonitoring: Review of published research and future directions / N. Wu, X. Dong, Y. Liu, C. Wang, A. Baattrup-Pedersen, T. Riis // Ecological Indicators. - 2017. - V.81. - P. 124-131.

248. Xu, N. Microalgae as live feed in aquaculture: A review / N. Xu, X. Zhang, X. Fan, L. Han // Aquaculture Research. - 2014. - №45(3). - P. 473-483.

ПРИЛОЖЕНИЯ

ПРИЛОЖЕНИЕ А

Таблица 1 - Качество воды водоемов Северного Казахстана за 2015-2024 гг.

№ п / п	Водоем	Класс качества воды по КИВЗ									
		2015 г	2016 г	2017 г	2018 г	2019 г	2020 г	2021 г	2022 г	2023 г	2024 г
1	Река Есиль	ууз	ууз	ууз	ууз	4 кл	4 кл	5 кл	4 кл	4 кл	4 кл
	загрязняющие вещества	р.О ₂ , БПК ₅ , SO ₄ ²⁻ , NO ₃ ⁻	р. О ₂ , БПК ₅ , SO ₄ ²⁻ , Cu ²⁺ , Zn ²⁺ , Mn ²⁺	р.О ₂ , БПК ₅ , SO ₄ ²⁻ , Cu ²⁺ , Zn ²⁺ , Mn ²⁺	Mn ²⁺ , р. О ₂ , БПК ₅ , SO ₄ ²⁻ , Cu ²⁺ , Zn ²⁺	Mg ⁺	Cl ⁻ , Ca ⁺ , ХПК, F ⁻	P ⁻ , Cl ⁻ , Ca ⁺ , ХПК	P, Mg ⁺ , NH ₄ ⁺ , фенолы	P ⁻ , Mg ⁺	Mg ⁺
2	Река Акбулак	ууз	вуз	вуз	вуз	>5 кл (н/н)	>5 кл (н/н)	>5 кл (н/н)	>5 кл (н/н)	>5 кл (н/н)	>5 кл (н/н)
	загрязняющие вещества	р.О ₂ , БПК ₅ , SO ₄ ²⁻ , NO ₃ ⁻ , Mg ⁺ , Cl ⁻ , F ⁻	р.О ₂ , БПК ₅ , SO ₄ ²⁻ , NO ₃ ⁻ , Mg ⁺ , Cl ⁻	NH ₄ ⁺ , р.О ₂ , БПК ₅ , SO ₄ ²⁻ , Cl ⁻ , Mg ⁺ , Ca ⁺ , NO ₂ ⁻	р.О ₂ , NH ₄ ⁺ , F ⁻ , БПК ₅ , SO ₄ ²⁻ , Ca ⁺ , Cl ⁻ , Mg ⁺ , Cu ²⁺	Ca ⁺ , H ₂ S, F ⁻ , Cl ⁻	Cl ⁻ , F ⁻	Cl ⁻ , Ca ⁺ , Mg ⁺	Cl ⁻ , Ca ⁺	ХПК, Cl ⁻	Cl ⁻
3	Канал Нура-Есиль	ууз	ууз	ууз	ууз	4 кл	4 кл	4 кл	4 кл	4 кл	4 кл
	загрязняющие вещества	р.О ₂ , БПК ₅ , SO ₄ ²⁻ , NO ₃ ⁻ , Mg ⁺	р.О ₂ , БПК ₅ , SO ₄ ²⁻ , Mg ⁺	р.О ₂ , БПК ₅ , SO ₄ ²⁻ , Cl ⁻ , Mg ⁺ , NH ₄ ⁺ , NO ₂ ⁻	NH ₄ ⁺ , р.О ₂ , БПК ₅ , SO ₄ ²⁻ , Mg ⁺ , NH ₄ ⁺ , Cu ²⁺	Mg ⁺ , SO ₄ ²⁻	ХПК, Mg ⁺	Mg ⁺	SO ₄ ²⁻ , Mg ⁺	Mg ⁺	P ⁻ , Mg ⁺
4	Астанинское (Вячеславское) водохранилище	ууз	ууз	ууз	ууз	2 кл	3 кл	3 кл	3 кл	3 кл	4 кл
	загрязняющие вещества	р.О ₂ , БПК ₅ , Mn ²⁺ , Cu ²⁺	р.О ₂ , БПК ₅ , Cu ²⁺ , Zn ²⁺	р.О ₂ , БПК ₅ , Cu ²⁺ , Zn ²⁺	р.О ₂ , БПК ₅ , Cu ²⁺ , Zn ²⁺	Mo, P ⁻ , ХПК	Mg ⁺ , P ⁻	Mg ⁺	Mg ⁺	Mg ⁺	вв
5	Река Ертис (Иртыш)	ууз	ууз	ууз	ууз	1 кл	1 кл	1 кл	1 кл	1 кл	1 кл
	загрязняющие вещества	р.О ₂ , БПК ₅	р.О ₂ , БПК ₅	р.О ₂ , БПК ₅	н/о	н/о	н/о	н/о	н/о	н/о	н/о
6	Река Усолка	ууз	ууз	ууз	ууз	1 кл	1 кл	1 кл	1 кл	1 кл	1 кл
	загрязняющие вещества	н/д	н/д	р.О ₂ , БПК ₅	н/о	н/о	н/о	н/о	н/о	н/о	н/о

Примечание: нч – нормативно-чистая; ууз – умеренный уровень загрязнения; вуз – высокий уровень загрязнения; чвуз – чрезвычайно высокий уровень загрязнения; р.О₂ – растворенный кислород; БПК₅ – биологическое потребление кислорода; ХПК – химическое потребление кислорода; SO₄²⁻ – сульфаты, NO₃⁻ – нитраты; NO₂⁻ – нитриты; Cu²⁺ – медь; Zn²⁺ – цинк; Mg⁺ – магний; Cl⁻ – хлориды; NH₄⁺ – соли аммония; Ca⁺ – кальций; Fe⁺ – железо общее; P – фосфор общий; Mn²⁺ – марганец; F – фториды; H₂S – сероводород; Mo – молибден; вв – взвешенные вещества; н/н – не нормируется; н/о – нет данных; н/о – не обнаружено

ПРИЛОЖЕНИЕ Б

Таблица 2 - Список водорослей-индикаторов сапробности воды

№ п/п	Наименование водоемов	Сапробность	S	Эколого-географическая характеристика	Встречаемость по водоемам
	Bacillariophyta				
1	<i>Achnanthes hungarica</i> Grun.	о-α	1,8	О-Б, к, Гл, Ал	Е, А
2	<i>Amphora ovalis</i> (Kutz.)	β-о	1,7	Б, к, Ог, Ал	Е, НЕ, И, У, Ав
3	<i>Aulacoseira granulata</i> Ehr.	β-α	2,5	П, к, И, Ал	Е, А, М
4	<i>Aulacoseira islandica</i> var. <i>helvetica</i> Sim.	о-β	1,5	П, с-а, И, Ин	Е, А, НЕ
5	<i>Asterionella formosa</i> Hass.	β-о	1,6	П, к, И, Ал	И, У
6	<i>Bacillaria paxillifera</i> (Müll)	β	2,8	П-Б, к, Ог	Е, НЕ, И, У, Ав, М
7	<i>Brebissonia lanceolata</i> (Ehr.)	о-α	1,9	О-Б, к, Ог, Ал	Е, А, НЕ, У
8	<i>Caloneis amphisbaena</i> Bory	β-α	2,3	Б, к, И, Ал	Е, А, НЕ, И, М
9	<i>Caloneis schumanniana</i> (Grun)	о-χ	0,6	П-Б, И, Ин	НЕ, И, У, Ав
10	<i>Cocconeis neodiminuta</i> Krammer	χ-β	0,9	П-Б, И, Ал	Е, И, У
11	<i>Cocconeis placentula</i> Ehr.	β-о	1,6	О, б, И, Ин	И, У
12	<i>Cocconeis pediculus</i> Ehr	о-α	1,8	О, к, Гл, Ал	Е, А, И, У, Ав, М
13	<i>Cymatopleura elliptica</i> (Breb.) Cl.	β	2,2	Б, б, И, Ал	Е, А, НЕ, Ав
14	<i>Cymbella affinis</i> Kutz.	о	1,1	О, к, И, Ин	Е, НЕ, И, Ав
15	<i>Cymbella aspera</i> Ehr.	о-α	1,8	О-Б, к, И, Ал	Е, А, НЕ, И, Ав, М, БТ
16	<i>Cymbella caespitosa</i> Kutz.	β	2,0	П, к, Ог	Е
17	<i>Cymbella cistula</i> Ehr.	о	1,2	П, к, И	Е, И, У, Ав
18	<i>Cymbella helvetica</i> Kutz.	о-χ	0,6	Б, И, Ин	И, Ав
19	<i>Cymbella ventricosa</i> Kutz.	о	1,35	Л, к, Ог	Е, А, НЕ, И, У
20	<i>Diatoma elongatum</i> (Lingb) Ag.	β-о	1,5	П, к, Гл, И	НЕ, И, У, Ав
21	<i>Diatoma vulgare</i> Bory	β	2,2	Л, к, И, Ал	Е, А, НЕ, И, У, Ав, М
22	<i>Diploneis elliptica</i> (Kutz.) Cl.	о-χ	0,6	Б, И, Ал	Е, НЕ, Ав, М
23	<i>Diploneis ovalis</i> (Hilse) Ch.	χ-β	0,9	Б, к, Гл	НЕ, И, У, Ав
24	<i>Ellerbeckia arenaria</i> (D.Moore)	о-α	1,9	П-Б	У
25	<i>Epithemia sores</i> Kutz.	β-о	1,6	Л, к, Гл, Ал	Е, НЕ, Ав
26	<i>Epithemia turgida</i> (Ehr)	β-о	1,6	Л, к, Гл, Ал	Е, Ав
27	<i>Epithemia adnate</i> (Kützing) Bréb	о-β	1,5	Б, Ал, Ин	А, НЕ, И, У, Ав
28	<i>Eunotia arcus</i> Ehr	χ-о	0,5	Л, к, И, Ин	НЕ
29	<i>Eunotia bilunaris</i> (Ehr)	о	1,0	Л, к, И, Ин	И
30	<i>Fallacia pygmaea</i> (Kütz)	α-β	2,7	П-Б, Мг, Ал	Е
31	<i>Fragilaria crotonensis</i> Kitt.	β-о	1,7	П, к, Гл, Ал	И, У
32	<i>Fragilaria vaucheriae</i> (Kutz.)	β-α	2,2	О-П, к, И, Ал	Е, И, НЕ, У, М
33	<i>Gomphonema acuminatum</i> Ehr.	о-β	1,4	Б, к, И, Ал	Е, А, НЕ, И, Ав, М
34	<i>Gomphonema capitatum</i> Ehr.	β	2,0	П, Ог	Е, А, НЕ
35	<i>Gomphonema constrictum</i> Ehr.	β	2,2	П, Ог	Е, А, М, БТ
36	<i>Gomphonema clavatum</i> Ehr.	о-β	1,4	П-Б, Мг	Е
37	<i>Gomphonema grunowii</i> R.M.Patr.	χ-о	0,4	П-Б, к, Ог	НЕ, И, У
38	<i>Gomphonema olivaceum</i> Ehr.	β	2,0	Б, к, И, Ал	Е, А, НЕ, И, У, Ав
39	<i>Gyrosigma acuminatum</i> (Kutz.) Raben.	о-α	1,95	Б, б, И, Ал	Е, А, Ав, М
40	<i>Gyrosigma attenuatum</i> (Kutz.) Raben.	о-α	1,8	П-Б, И, Ал	Е, А, НЕ, М
41	<i>Gyrosigma spenserii</i> Grun.	β-о	1,7	П, Мг	Е, И, У
42	<i>Hippodonta capitata</i> Ehr.	β-α	2,4	Л, к, И, Ал	Е, А, НЕ, М, БТ
43	<i>Hippodonta hungarica</i> Ehr.	β-α	2,5	О-П, к, И, Ал	Е, А, НЕ, И
44	<i>Iconella capronii</i> Breb.	β	2,0	П-Б, И, Ин	Е, А, НЕ
45	<i>Iconella linearis</i> W.Sm.	β	2,2	Л, к, И, Ин	Е, А, НЕ, И
46	<i>Iconella turgida</i> W.Sm.	о	1,3	П-Б, И, Ин	Е, И, И
47	<i>Lindavia comta</i> (Kütz)	β-о	1,7	П, к, И, Ин	И, У, Ав
48	<i>Mastogloia smithii</i> W.Sm.	о	1,3	Б, Мг, Ал	И, У
49	<i>Melosira varians</i> Ag.	о-α	1,85	П, к, Гл, Ал	Е, А, НЕ, И, У, М
50	<i>Navicula cincta</i> (Ehr.) Kutz. var. <i>cincta</i>	α-β	2,6	Б, к, Гл, Ал	Е, А, И, У, Ав, М
51	<i>Navicula cryptocephala</i> Kutz.	β-α	2,5	Б, к, и, Ал	Е, А, НЕ, М
52	<i>Navicula cuspidata</i> Kutz. var. <i>cuspidata</i>	α-β	2,7	Л, к, и, Ал	Е, А, М
53	<i>Navicula menisculus</i> Schum.	β	2,1	Б, к, Гл, Ал	Е
54	<i>Navicula radiosa</i> Kutz. var. <i>radiosa</i>	о	1,3	Б, к, И, И	И, У, Ав
55	<i>Navicula rhynchocephala</i> Kutz.	α	2,9	Б, к, И, Ал	Е, А
56	<i>Navicula rostellata</i> Kutz.	β	2,2	П	Е, А, НЕ, И
57	<i>Navicula salinarum</i> Kolbe	β	2,1	Б, Мг, И	Е, М
58	<i>Navicula tripunctata</i> Mull.	β-о	1,7	Б, к, И, Ал	Е, И, У, Ав
59	<i>Navicula viridula</i> (Kutz.)	β	2,2	П-Б, Гл, Ал	Е, А, НЕ, М, БТ
60	<i>Nitzschia acicularis</i> W.Sm.	β-α	2,4	П, к, И, Ал	Е, А, НЕ, И, У, М, БТ

Продолжение таблицы 2

№ п/п	Наименование водоемов	Сапробность	S	Эколого-географическая характеристика	Встречаемость по водоемам
61	<i>Nitzschia dissipata</i> (Kutz.)	β-о	1,7	Б, И, Ал	И
62	<i>Nitzschia fonticola</i> Grun.	о-β	1,5	П, к, и, Ал	Е, А, И, У, Ав
63	<i>Nitzschia hungarica</i> Grun.	α-р	2,9	Л, к, Мг, Ал	Е, А
64	<i>Nitzschia linearis</i> W.Sm.	о-β	1,4	Б, к, И, Ал	У
65	<i>Nitzschia reversa f. parva</i> (Grun)	β	2,0	Б-П, к, Гл	М
66	<i>Nitzschia microcephala</i> Grun.	β	2,3	К, Мг, Ал	Е, А
67	<i>Nitzschia obtusa</i> W.Sm.	β-α	2,4	Б, Гл	Е, А, М, БТ
68	<i>Nitzschia palea</i> (Kutz.) W.Sm.	α-о	2,8	Л, к, И, Ал	Е, А, НЕ, И, М, БТ
69	<i>Nitzschia brevissima</i> Grun.	β	2,0	Гл, Ал	Е, А
70	<i>Nitzschia scapelliformis</i>	β	2,0	Б, Гл, Ал	И
71	<i>Nitzschia sigma</i> (Kutz.) W.Sm.	α	3,0	Б, Мг, Ал	Е, А, И
72	<i>Nitzschia sigmoidea</i> (Nitz.) W. Sm.	β-α	2,5	П-Б, И, Ал	Е, А, НЕ, И
73	<i>Nitzschia umbonate</i> Ehr.	β	2,2	Б, к, И, Ин	Е, А
74	<i>Nitzschia tryblionella</i> Grun.	о	1,3	П-Б	У, М
75	<i>Pantocsekiella kuetzingiana</i> (Thw)	β	2,0	П, к, Гл	Е, А, НЕ, М
76	<i>Pinnularia gibba</i> Ehr.	о-β	1,4	Б, к, И, Ин	У
77	<i>Pinnularia major</i> Kutz.	β	2,1	Б, к, Ог	Е, А, НЕ, И, У, М
78	<i>Pinnularia microstauron</i> (Ehr.)	о-χ	0,7	Б, к, И, Ин	И, У, Ав
79	<i>Pinnularia tabellaria</i> Ehr.	о	1,0	Б, Гб,	Е
80	<i>Pinnularia viridis</i> (Ehr.)	β	2,1	Б, к, Ог, Ин	Е, А, НЕ, И, У, М
81	<i>Placoneis dicephala</i> (Ehr.)	о-α	1,8	Б, к, И, Ин	Е, НЕ, И, У, Ав
82	<i>Placoneis exiqua</i> (Greg.)	о-β	1,4	Б, к, И, Ал	Е, А, НЕ, И, У, БТ
83	<i>Placoneis gastrum</i> Ehr.	β	2,0	П, к, И, Ал	Е, А, НЕ, М
84	<i>Planothidium lanceolatum</i>	β	2,0	О, к, И, Ал	И, У
85	<i>Pleurosigma elongatum</i> W.Sm.	β	2,0	Б, к, Ог	М
86	<i>Rhoicosphaenia curvata</i> (Kutz) Grun.	о-α	1,85	П, к, И	Е, А, НЕ, И
87	<i>Rhopalodia gibberula</i> (Ehr.) O.Mul.	β	2,0	О-Б, к, Гл, Ал	НЕ, И, У
88	<i>Sellaphora pupula</i> (Kütz)	β	2,2	Б, к, Гл, Ин	Е, А, И, У
89	<i>Staurosira construens</i> (Ehr)	β-о	1,6	Л, к, Гл	Е, А, НЕ, М
90	<i>Stauroneis legumen</i> Ehr.	о	1,0	Б, И, Ин	М
91	<i>Stephanocyclus meneghinianus</i> Kütz	α-β	2,8	П, к, Гл, Ал	Е, А, НЕ, И, У, Ав, М, БТ
92	<i>Stephanodiscus rotula</i> (Kutz.) Hendey	β-о	1,5	П, к, Ал	И, У
93	<i>Synedra amphicephala</i> Grun.	о	1,0	О, к, И	У, Ав
94	<i>Synedra parasitica</i> (W.Sm.) Hust.	α-β	2,5	О, к, И, Ал	Е, А, НЕ
95	<i>Synedra pulchella</i> (Ralfs)	β	2,2	О, к, И, Мг	Е, А, НЕ, М
96	<i>Surirella librile</i> Ehr.	β	2,2	Л, к, и, Ал	Е, А, НЕ, М
97	<i>Surirella minuta</i> Bréb.	о-α	1,85	П-О-Б, к, Гл, Ал	Е, А, НЕ, И, У
98	<i>Surirella striatula</i> Turpin	β	2,0	П-Б, Гл, Ал	Е
99	<i>Tabellaria fenestrata</i> (Lyngb.) Kutz.	χ	0,3	П-Б, И, Ин	И, У
100	<i>Tabularia tabulate</i> (Ag.)	β-α	2,5	Л, к, Мг, Ал	Е, А, НЕ, М, БТ
101	<i>Tryblionella angustata</i> W.Sm.	α-р	2,9	Б, к, Мг, Ал	Е, А, НЕ
102	<i>Ulnaria acus</i> (Kütz)	о-β	1,5	П, к, И, Ал	Е, А, НЕ, И, У, Ав, М
103	<i>Ulnaria capitata</i> Ehr	β	2,0	Л, к	Е, А, НЕ, И, У
104	<i>Ulnaria ulna</i> (Nitzsch)	β	2,0	П-О-Б, к, И, Ин	Е, А, НЕ, И, У, Ав, М, БТ
Chlorophyta					
105	<i>Actinastrum hantzchii</i> Lagerh.	β	2,3	П, к, И	Е
106	<i>Acutodesmus acutiformis</i> Schrod	о-α	1,8	П, к, И, Ин	М
107	<i>Ankistrodesmus acicularis</i> (A.Br.)	β	2,2	П-Б, к, И	Е, А, НЕ, Ав, М
108	<i>Ankistrodesmus falcatus</i> (Corda) Ralfs.	β	2,3	Л, к, И	Е, А, НЕ, М
109	<i>Chlorella sorokiniana</i> Shih.	α	3,1	П, к, Ог, И	Е, А, НЕ, БТ
110	<i>Chlamydomonas proboscigera</i> Korsch.	β	2,0	П, к	Е, А, М
111	<i>Chlamydomonas reinhardtii</i> Dang.	α	3,1	П, к, Ог, Ин	Е, А, НЕ, М, БТ
112	<i>Chlorella vulgaris</i> (Beijer)	α	3,1	П, к, Ин	Е, А, НЕ, И, М, БТ
113	<i>Coelastrum microporum</i> Nag.	β	2,1	П, к, И, Ин	Е, А, НЕ, И, Ав
114	<i>Comasiella arcuate</i> Lemm.	о-α	1,9	П-Б, И	Е, И, У
115	<i>Crucigenia tetrapedia</i> (Kirchn.)	β	2,1	П, к, И, Ин	Е, Ав
116	<i>Crucigenia quadrata</i> Morren.	о-α	1,9	П, к, И	М
117	<i>Desmodesmus denticulatus</i>	β	2,1	П-О, к, И, Ин	А, НЕ, Ав
118	<i>Desmococcus olivaceus</i> Laun.	о	1,1	И	У
119	<i>Desmodesmus opoliensis</i> Richt.	β	2,2	П, к, Ог, Ин	Е, А
120	<i>Desmodesmus subspicatus</i> Chodat.	о	1,3	П-Б	И
121	<i>Dictyosphaerium pulchellum</i> Wood.	β	2,3	П, к, Ог, Ин	М
122	<i>Gonatozygon monotaenium</i> de Bary	χ-β	0,8	П-Б, к, Ог, Ин	Е, А, И, У, Ав, М
123	<i>Hindakia tetrachotoma</i> Printz.	β	2,0	П, к	М

Продолжение таблицы 2

№ п/п	Наименование водоемов	Сапробность	S	Эколого-географическая характеристика	Встречаемость по водоемам
124	<i>Hyalotheca dissiliens</i> Bréb	χ-β	0,9	П-Б, Гб, Ин	Е
125	<i>Klebsormidium subtile</i> Kütz.	β	2,0	Б	Е, А
126	<i>Lagerheimia marssonii</i> Lemm.	β	2,1	П, к, И, Ин	М
127	<i>Lagerheimia subsalsa</i> Lemm.	β	2,0	П-Б	Е, А, БТ
128	<i>Micractinium pusillum</i> Fresen.	β	2,1	П, к, Ог	Е, А, И, У
129	<i>Microspora amoena</i> (Kutz.) Rabenh.	χ-β	0,8	Б	У
130	<i>Microspora willeana</i> Lagerh.	о	1,2	Б	И, Ав
131	<i>Monoraphidium griffithii</i> (Berk)	β	2,2	П-Б, к, И	Е, А
132	<i>Neglectella solitaria</i> Witt.	β-о	1,7	П, к, И, Ац	Е, А, НЕ, И, У, Ав, М, БТ
133	<i>Oocystis lacustris</i> Chodat.	β-о	1,7	П-Б, к, Ог	Е, А, И, У, Ав
134	<i>Pediastrum boryanum</i> (Turp.) Menegh.	о-α	1,9	П, к, Ог, Ин	Е, А, НЕ, И, У, Ав, М, БТ
135	<i>Pediastrum duplex</i> Meyen.	β	2,1	П, к, И, Ин	Е, А, НЕ
136	<i>Scenedesmus bijugatus</i> (Turp.) Kutz.	β	2,0	П, к, И	Е, А, НЕ, М
137	<i>Scenedesmus quadricauda</i> (Turp.)	β	2,0	П, к, Ог, Ин	Е, А, НЕ, И, У, Ав, М, БТ
138	<i>Scenedesmus obtusus</i> Meyen.	о-α	1,8	П-О, к, И, Ин	Е, А, НЕ, Ав, М
139	<i>Schroederia setigera</i> Lemm.	о-α	1,9	П, к, И, Ин	Е, И
140	<i>Selenastrum bibraianum</i> Reinsch.	β-о	1,7	П-О, к	Е, А, М, БТ
141	<i>Spirogyra crassa</i> Kutz.	β	2,0	П-О, к, Ог, Ин	Е, А
142	<i>Spirogyra varians</i> Kutz.	β-α	2,5	П-Б, Ол	Е, А
143	<i>Stauridium tetras</i> (Ehr.)	о-α	1,9	П, к, И	Е, НЕ, Ав
144	<i>Stigeoclonium tenue</i> (Ag.) Kutz.	α-р	2,8	Б	Е, А, НЕ
145	<i>Stichococcus bacillaris</i> Näg.	о	1,3	П-Б	Ав
146	<i>Tetradesmus dimorphus</i> Turp.	β	2,0	П	Е, А, НЕ
147	<i>Tetradesmus lagerheimii</i>	β	2,2	П, к, И, Ин	Е, А, НЕ, И, У, Ав, М, БТ
148	<i>Tetradesmus obliquus</i> Turp.	α-β	2,8	П-О, к, И, Ин	Е, А, НЕ, Ав, М, БТ, У
149	<i>Tetraedron caudatum</i> (Corda) Hansg.	β	2,0	П-О, к, И, Ин	Е, А, НЕ, М, БТ
150	<i>Tetraedron minimum</i> A. Br. Hansg.	β	2,1	П-О, к, И, Ин	Е, А, НЕ, Ав, М
151	<i>Tetraedron triangulare</i> Korsch.	β	2,0	П-О, к, И, Ин	Е, И, У
152	<i>Tetrastrum triacanthum</i> Korsch.	β	2,2	П, к, И	Е, А, М, БТ
153	<i>Ulotrix subtilis</i> Kütz.	β	2,0	П-О, к, Мг, Ин	М, БТ
	Cyanobacteria				
154	<i>Anabaenopsis arnoldii</i> Apt.	β-о	1,7	П-Б	НЕ, Ав
155	<i>Aphanizomenon flos-aquae</i>	β	2,2	П, к, И, Ин	Е, А, НЕ, М, БТ
156	<i>Aphanothece chlathrata</i> West.	β	2,2	П, к, И	М
157	<i>Cyanothece aeruginosa</i> (Nageli)	χ-β	0,9	О-П, к, И, Ал	Е
158	<i>Chroococcus turgidus</i> Kutz.	о	1,3	Л, к, Гл, Ал	НЕ, И, У
159	<i>Dolichospermum flosaquae</i> (Born.)	β	2,0	П, к, И	Е, А, НЕ, М, БТ
160	<i>Lyngbya aestuarii</i> Liebm.	о	1,3	П-Б, Мг	Е, А
161	<i>Merismopedia tenuissima</i> Lemm.	β-α	2,4	П, к, И, Ог	Е, А, НЕ
162	<i>Microcoleus autumnalis</i> (Gom.)	β	1,95	Б	Е, А, БТ
163	<i>Microcystis aeruginosa</i> Kutz.	β	2,0	П, к, И, Ал	Е, А, НЕ, У, М, БТ
164	<i>Nostoc carneum</i> Ag.	β	2,0	П, к, Ог	Е, А, НЕ, М
165	<i>Nostoc pruniforme</i> Ag.	о-β	1,5	П-Б	Ав
166	<i>Oscillatoria tenuis</i> Ag.	α	2,9	Л, к, Ог, Ин	Е, А, БТ
167	<i>Phormidium chalybeum</i> Mert.	α	3,0	Л, к, Гл	Е, А, НЕ, М, БТ
168	<i>Phormidesmis mollis</i> (Gom.)	β	2,0	Л, к, И	Е, А, НЕ, Ав, М, БТ
169	<i>Phormidium terebriforme</i> (Ag.)	α-р	2,9	Б	Е, А, НЕ
170	<i>Pseudanabaena limnetica</i> Lemm.	о-β	1,4	П, к, И	Е, И, У
171	<i>Spirulina jenneri</i> Elenk.	α	3,0	П-Б, к	Е, А, НЕ, М, БТ
172	<i>Spirulina major</i> Kutz.	α-р	3,4	П-Б, Гл	Е, А
173	<i>Spirulina subsalsa</i> Oerst.	о-β	1,4	Б	М, БТ
174	<i>Tolypotrix distorta</i>	χ-β	0,95	Б	У
	Euglenophyta				
175	<i>Euglena gracilis</i> Klebs.	β	2,25	П-Б, к, Ог, Ин	НЕ, И
176	<i>Euglena pisciformis</i> Klebs.	α-р	2,8	П-Б, к, И, Ин	Е, БТ
177	<i>Euglena sanguinea</i> Ehr.	о	1,25	П-Б, к, И	НЕ
178	<i>Euglena viridis</i> Ehr. var. <i>viridis</i>	α-р	3,5	Л, к, И, Ин	А, М
179	<i>Petalomonas praegnans</i> Skuja	о-β	1,4	Б, Ац	Ав
	Xanthophyta				
180	<i>Goniochloris mutica</i> (A. Braun.)	о-α	1,9	Л, к, Ог, Ин	Е
181	<i>Pseudostaurastrum hastatum</i> (Reinsch) Chod.	β-о	1,7	П, Гл	Е, НЕ
182	<i>Tribonema viride</i> Pasch.	β-о	1,5	П, к, И	М

Продолжение таблицы 2

№ п/п	Наименование водоемов	Сапробность	S	Эколого-географическая характеристика	Встречаемость по водоемам
183	<i>Vaucheria bursata</i> (O.F. Müll.)	χ-β	1,25	Б	И
	Chrysophyta				
184	<i>Chromophyton rosanoffii</i> Woron.	о	1,2	П	Ав
185	<i>Dinobryon cylindricum</i> var. <i>divergens</i> (Imh)	о	1,2	П, И, Ин	Ав
	Dinophyta				
186	<i>Ceratium hirundinella</i> (O. Mull)	о	1,15	П, к, И, Ин	Ав
187	<i>Peridinium cinctum</i> (O.F. Müll.) Ehr.	β-о	1,6	П-Б, к, И	И, У
	Charophyta				
188	<i>Closterium gracile</i> Breb.	о-β	1,5	П-Б, Гб, Ин	М
189	<i>Closterium kuetingii</i> Breb.	о-χ	0,7	П, к, И	И
190	<i>Closterium moniliferum</i> (Bory) Ehr.	β	2,1	П, к, И, Ал	Е
191	<i>Closterium parvulum</i> Nag.	β-α	2,4	П, к, И, Ин	И, У
192	<i>Cosmarium impressulum</i> Elfv.	β-о	1,6	П-Б, к, Гб, Ац	Е, А
193	<i>Cosmarium formosulum</i> Hoff.	о-α	1,8	П-Б, Ин	Е, А, НЕ, И
194	<i>Cosmarium punctulatum</i> Breb.	о	1,3	П-Б, Гб, Ин	Е

Примечание: s – сапробность: χ – ксеносапробный, о – олигосапробный, β – β-мезосапробный, α – α-мезосапробный, р - полисапробный; S - сапробный индекс; местообитание: П – планктонный, О – обитатель обрастаний, Б – бентосный, Л – литоральный, Э – эпибионтный; распространение: к – космополитный, а – альпийский, с-а – северо-альпийский, б – бореальный, ст – субтропический; галобность – Мг – мезогалоб, Ог – олигогалоб, Гб – галофоб, И – индифферент, Гл – галофил; отношение к рН: Ал – алкафил=алкабионт, Ин – Индифферент, Ац – ацидофил+ацидобионт; Е – река Есиль, А – река Акбулак, НЕ – канал Нура-Есиль, Ав – Астанинское водохранилище, М – озеро Майбалык, БТ – озеро Большой Талдыколь, И – река Иртыш, У – река Усолка.

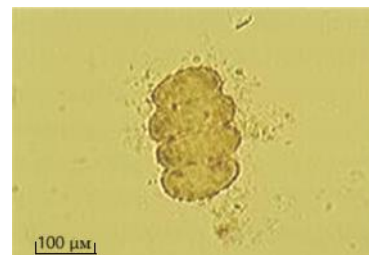
ПРИЛОЖЕНИЕ В



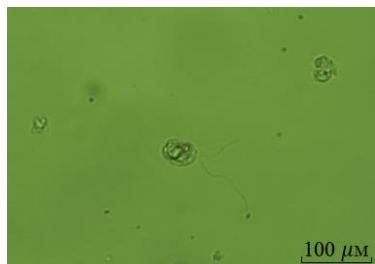
Pinnularia microstauron (Ehr.)
сапробность: α - χ



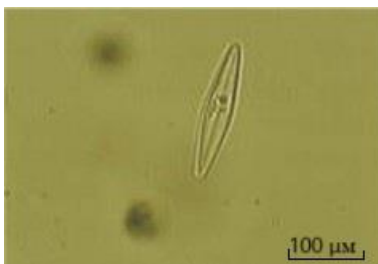
Gomphonema acuminatum Ehr.
сапробность: α - β



Scenedesmus bijugatus (Turp)
сапробность: β



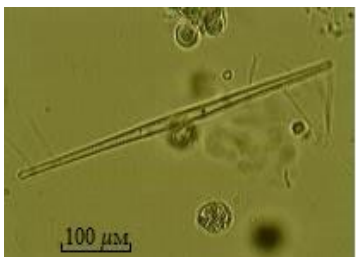
Chlamydomonas reinhardtii Dang.
сапробность: α



Navicula radiosa Kutz.
сапробность: α



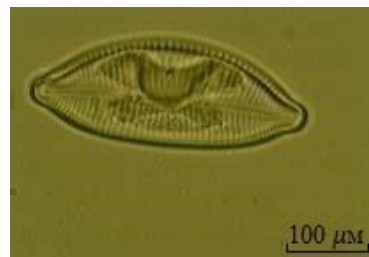
Scenedesmus quadricauda (Turp)
сапробность: β



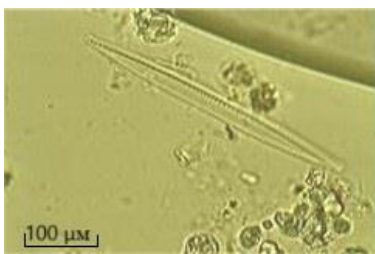
Ulnaria ulna (Nitzsch)
сапробность: β



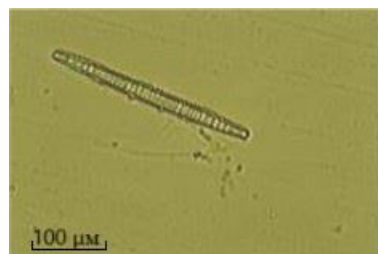
Navicula cryptocephala (Kutz.)
сапробность: β - α



Navicula viridula (Kutz.)
сапробность: β



Nitzschia palea (Kutz.) W.Sm.
сапробность: α - α



Bacillaria paxillifera (Müll)
сапробность: β



Stephanocyclus meneghinianus
Kütz
сапробность: α - β

Рисунок 1 - Микрофотографии водорослей-индикаторов

ПРИЛОЖЕНИЕ Г

Таблица 3 - Идентификация микроводорослей с помощью гена 18sRNA

Наименование изолята	Нуклеотидная последовательность	Инвентарный номер Gene Bank	Наименование штамма	% совпадения
Последовательность фрагмента 18sRNA гена с использованием праймеров Forward: 5'-CCTGGT TGA TCC TGC CAG-3' и Reverse: 5'-A/TTG ATC CTT CT/CG CAG GTT CA-3'				
У1	TCAAGAACGAAAGTTGGGGGCTCGAAGACGA TTAGATACCGTCCTAGTCTCAACCATAAACGAT GCCGACTAGGGATCGGCGGATGTTCTTCGAT GACTCCGCCGGCACCTTATGAGAAATCAAAGT TTTTGGGTTCCGGGGGAGTATGGTCGCAAGG CTGAAACTTAAAGGAATTGACGGAAGGGCAC CACCAGGCTGGAGCCTGCGGCTTAATTGAC TCAACACGGGAAAACCTACCAGGTCCAGACAT AGTGAGGATTGACAGATTGAGAAGCTCTTCT	JQ797561.1	<i>Parachlorella kessleri</i>	100%
		HQ322126.1	<i>Compactochlorella kochii</i>	100%
		AB517729.1	<i>Parachlorella beijerinckii</i>	100%
И2	AGATGTTCTGGGCCGACGCGCTACACTGA TGCATTCAACGAGCCTAGCCTTGCCCGAGAGG CCCGGGTAATCTTCGAAACTGCATCGTGATGG GGATAGATTATTGCAATTATTAATCTTCAACGA GGAATGCC TAGTAAGCGCAAGTCATCAGCTTG CGTTGATTACGTCCCTGCCCTTGTACACACCG CCCGTCGCTCCTACCGATTGGGTGTGCTGGTG AAGTGTTCCGATTGGCGACCTGGGGCGGTCTC CGCTCTCGGCCCGGAGAAGTTCATTA AACCC TCCCACCTAGAGGAAGGAGAAGTCGTAACAA GGTTTCCGTAGGTGAACCTGCAGAAGGATCA	KU900220.1	<i>Chlorella vulgaris</i>	100%
		KJ676106.1	<i>Chlorella parva</i>	99%
		KF864472.1	<i>Chlorella sorokiniana</i>	99%
E2	GTTTTATTAATCAAGAACGAAAGTTGGGGGC TCGAAGACGATTAGAACCGTCCTAGTCTCAAC CATAACGATGCCGACTAGGGATCGGCGGATG TTCTTCGATGACTCCGCCGGCACCTTATGAG AAATCAAAGTTTTTGGGTTCCGGGGGAGTAT GGTCGCAAGGCTGAAACTTAAAGGAATTGAC GGAAGGGCACCACCAGGCGTGGCCTGCGGCT TAATTTGACTCAAACGGG	JQ797561.1	<i>Parachlorella kessleri</i>	100%
		HQ322126.1	<i>Compactochlorella kochii</i>	100%
A3	ACTGCGAAAGCATTGCCAAGGATGTTTTCAT TAATCAAGAACGAAAGTTGGGGGCTCGAAGA CGATTAGATACCGTCCTAGTCTCAACCATAAAC GATGCCGACTAGGGATCGGCGGATGTTTCTTC GATGACTCCGCCGGCACCTTATGAGAAATCAA AGTTTTTGGGTTCCGGGGGAGTATGGTCGCA AGGCTGAAACTTAAAGGAATTGACGGAAGGG CACCACCAGCGTGGAGCCTGCGGCTA	KP016711.1	<i>Chlorella sorokiniana</i>	100%
		HQ322126.1	<i>Compactochlorella kochii</i>	100%
		AB517729.1	<i>Parachlorella beijerinckii</i>	100%
CB-5	GGTTTACACCCCTCGCCCCACCCCTTGTGGGT AGTGGGAGCGGACCTGGCACCCCTCGGGCTGC CGTCGGA AACCTCCGACTGCCGGCCCGGGT CTGCTGAAGTTCAGAGGCTTGAGCATGGACC CCGTTTGCAGGGCACCGGCTTGGTAGGTAGG CGTCAGCCTGCACCCCGCCTGCCGGTACCCGA GGGACTTTGCTGGGAGCCCGACCGGGAGCC GATTCGTGACCTCCCACCCCTCAAACCTTCG ACCTGAGCTCAGGCAAGACTA	NC_012978.1	<i>Parachlorella kessleri</i>	100%

ПРИЛОЖЕНИЕ Д

Свидетельства о депонировании штаммов микроводорослей

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ
БІЛІМ ЖӘНЕ ҒЫЛЫМ МИНИСТРЛІГІ
ҒЫЛЫМ КОМИТЕТІНІҢ
«МИКРООРГАНИЗМДЕРДІҢ РЕСПУБЛИКАЛЫҚ
КОЛЛЕКЦИЯСЫ» ШАРУАШЫЛЫҚ ЖҮРГІЗУ
ҚҰҚЫҒЫНДАҒЫ РЕСПУБЛИКАЛЫҚ
МЕМЛЕКЕТТІК КӘСІПОРНЫ



РЕСПУБЛИКАНСКОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ
ПРЕДПРИЯТИЕ НА ПРАВЕ ХОЗЯЙСТВЕННОГО
ВЕДЕНИЯ «РЕСПУБЛИКАНСКАЯ
КОЛЛЕКЦИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ»
КОМИТЕТА НАУКИ МИНИСТЕРСТВА
ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ
РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

010000, Астана қ., Уәлиханов көшесі, 13/1
тел./факс: + 7 (7172) 64 27 19
E-mail: rcm-info@mail.ru; www.rcm.kz
БСН 061140003586

18.10.2017г. № 09/12-395

№ _____ re

010000, г. Астана, ул. Валиханова, 13/1
тел./факс: + 7 (7172) 64 27 19
E-mail: rcm-info@mail.ru; www.rcm.kz
БИН 061140003586

СВИДЕТЕЛЬСТВО О ДЕПОНировании ШТАММА МИКРООРГАНИЗМА

Кому: Текебаевой Ж.Б., Абжаделову А.Б.

(имя и/или наименование организации и адрес депозитора, которым выдается свидетельство о депонировании)

АО «Казакский университет технологии и бизнеса» лаборатория биотехнологии

1. НАЗВАНИЕ ШТАММА

Parachlorella kessleri У 1

Опознавательная ссылка (номер, ссылка и т.п., присвоенный штамму депозитором)

У 1

Коллекционный номер, присвоенный коллекцией

RKM 0789

2. НАУЧНОЕ ОПИСАНИЕ И/ИЛИ ТАКСОНОМИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ШТАММА

Род *Parachlorella*

Вид *kessleri*

Микроорганизм, поименованный в графе 1, сопровождался ходатайством о депонировании, включающем



¹ Паспорт



¹ Справку о патогенности

000731

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ
БІЛІМ ЖӘНЕ ҒЫЛЫМ МИНИСТРЛІГІ
ҒЫЛЫМ КОМИТЕТІНІҢ
«МИКРООРГАНИЗМДЕРДІҢ РЕСПУБЛИКАЛЫҚ
КОЛЛЕКЦИЯСЫ» ШАРУАШЫЛЫҚ ЖҮРГІЗУ
ҚҰҚЫҒЫНДАҒЫ РЕСПУБЛИКАЛЫҚ
МЕМЛЕКЕТТІК КӨСІПОРНЫ



РЕСПУБЛИКАНСКОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ
ПРЕДПРИЯТИЕ НА ПРАВЕ ХОЗЯЙСТВЕННОГО
ВЕДЕНИЯ «РЕСПУБЛИКАНСКАЯ
КОЛЛЕКЦИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ»
КОМИТЕТА НАУКИ МИНИСТЕРСТВА
ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ
РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

010000, Астана қ., Уәлиханов көшесі, 13/1
тел./факс: + 7 (7172) 64 27 19
E-mail: rcm-info@mail.ru; www.rcm.kz
БСН 061140003586

18.10.2017г. № 09/12-396
№ _____ гс

010000, г. Астана, ул. Валиханова, 13/1
тел./факс: + 7 (7172) 64 27 19
E-mail: rcm-info@mail.ru; www.rcm.kz
БИН 061140003586

СВИДЕТЕЛЬСТВО О ДЕПОНИРОВАНИИ ШТАММА МИКРООРГАНИЗМА

Кому: Текебаевой Ж.Б., Абжалелову А.Б.

(имя и/или наименование организации и адрес депозитора, которым выдается свидетельство о депонировании)

АО «Казахский университет технологии и бизнеса» лаборатория биотехнологии

1. НАЗВАНИЕ ШТАММА

Chlorella vulgaris И 2

Опознавательная ссылка (номер, ссылка и т.п., присвоенный штамму депозитором)

И 2

Коллекционный номер, присвоенный коллекцией

RKM 0790

2. НАУЧНОЕ ОПИСАНИЕ И/ИЛИ ТАКСОНОМИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ШТАММА

Род *Chlorella*

Вид *vulgaris*

Микроорганизм, поименованный в графе 1, сопровождался ходатайством о депонировании, включающем



¹ Паспорт



¹ Справку о Патогенности

000732

ПРИЛОЖЕНИЕ Е

Патент РК и Евразийский патент на модифицированную среду LCH

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ **РЕСПУБЛИКА КАЗАХСТАН**

REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

ПАТЕНТ
PATENT

№ 6907

ПАЙДАЛЫ МОДЕЛЬГЕ / НА ПОЛЕЗНУЮ МОДЕЛЬ / FOR UTILITY MODEL



(21) 2021/0848.2



(22) 03.09.2021



(45) 09.09.2022

(54) Жасыл микробалдырларды және сүтқышкылды бактерияларды өсіруге арналған түрлендірілген LCH коректік ортасы
Модифицированная питательная среда LCH для культивирования зеленых микроводорослей и молочнокислых бактерий
Modified nutrient medium LCH for the cultivation of green microalgae and lactic acid bacteria

(73) Қазақстан Республикасы Білім және ғылым министрлігі Ғылым комитетінің «Микроорганизмдердің республикалық коллекциясы» шаруашылық жүргізу құқығындағы республикалық мемлекеттік кәсіпорны (KZ)
Республиканское государственное предприятие на праве хозяйственного ведения «Республиканская коллекция микроорганизмов» Комитета науки Министерства образования и науки Республики Казахстан (KZ)
Republican state enterprise on the right of economic management «Republican collection of microorganisms» of Science Committee of the Ministry of Education and Science of the Republic of Kazakhstan (KZ)

(72) Текебаева Жанар Борамбаевна (KZ) Tekebayeva Zhanar Borambayevna (KZ)
Бисенова Гульмира Нургалиевна (KZ) Bissenova Gulmira Nurgaliyena (KZ)
Базарханқызы Айдана (KZ) Bazarkhanqyzy Aidana (KZ)
Темирханов Аслан Жанаевич (KZ) Temirkhanov Aslan Zhanayevich (KZ)
Сармурзина Зинигуль Сериковна (KZ) Sarmurzina Zinigul Serikovna (KZ)



ЭЦҚ қол қойылды
Подписано ЭЦП
Signed with EDS

Е. Қуантыров
Е. Қуантыров
Y. Kuantyrov

«Ұлттық зияткерлік меншік институты» РМК директоры
Директор РГП «Национальный институт интеллектуальной собственности»
Director of the «National Institute of Intellectual Property» RSE



**ЕВРАЗИЙСКАЯ ПАТЕНТНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ
ЕВРАЗИЙСКОЕ ПАТЕНТНОЕ ВЕДОМСТВО**

ЕВРАЗИЙСКИЙ ПАТЕНТ



**ЕВРАЗИЙСКИЙ ПАТЕНТ
НА ИЗОБРЕТЕНИЕ**

№ 043745

Название изобретения:

**«МОДИФИЦИРОВАННАЯ ПИТАТЕЛЬНАЯ СРЕДА LCH
ДЛЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ЗЕЛЕННЫХ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ
И МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ»**

Патентовладельцы:

**ТОВАРИЩЕСТВО С ОГРАНИЧЕННОЙ ОТВЕТСТВЕННОСТЬЮ
«РЕСПУБЛИКАНСКАЯ КОЛЛЕКЦИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ» (KZ)**

Изобретатели:

**Текебаева Жанар Борамбаевна, Бисенова Гульмира Нургалиевна,
Базарханкызы Айдана, Темірханов Аслан Жанаевич,
Сармурзина Зинигуль Сериковна (KZ)**

Заявка №: 202291878
Дата подачи заявки: 01 июня 2022 г.
Дата выдачи патента: 19 июня 2023 г.

Настоящим удостоверяется, что евразийский патент выдан на изобретение с формулой, опубликованной в Бюллетене Евразийского патентного ведомства «Изобретения (евразийские заявки и патенты)» № 6 / 2023 год.

При уплате установленных годовых пошлин патент действует на территории государств-участников Евразийской патентной конвенции – Азербайджанской Республики, Кыргызской Республики, Республики Армения, Республики Беларусь, Республики Казахстан, Республики Таджикистан, Российской Федерации, Туркменистана.

ДОКУМЕНТ ПОДПИСАН ЭЛЕКТРОННОЙ ПОДПИСЬЮ

Сертификат: 1650024017000

Владелец: Ивлиев Григорий Петрович

Действителен с 15.04.2022 по 14.04.2027

ИВЛИЕВ Григорий Петрович
Президент Евразийского патентного ведомства



ПРИЛОЖЕНИЕ Ж

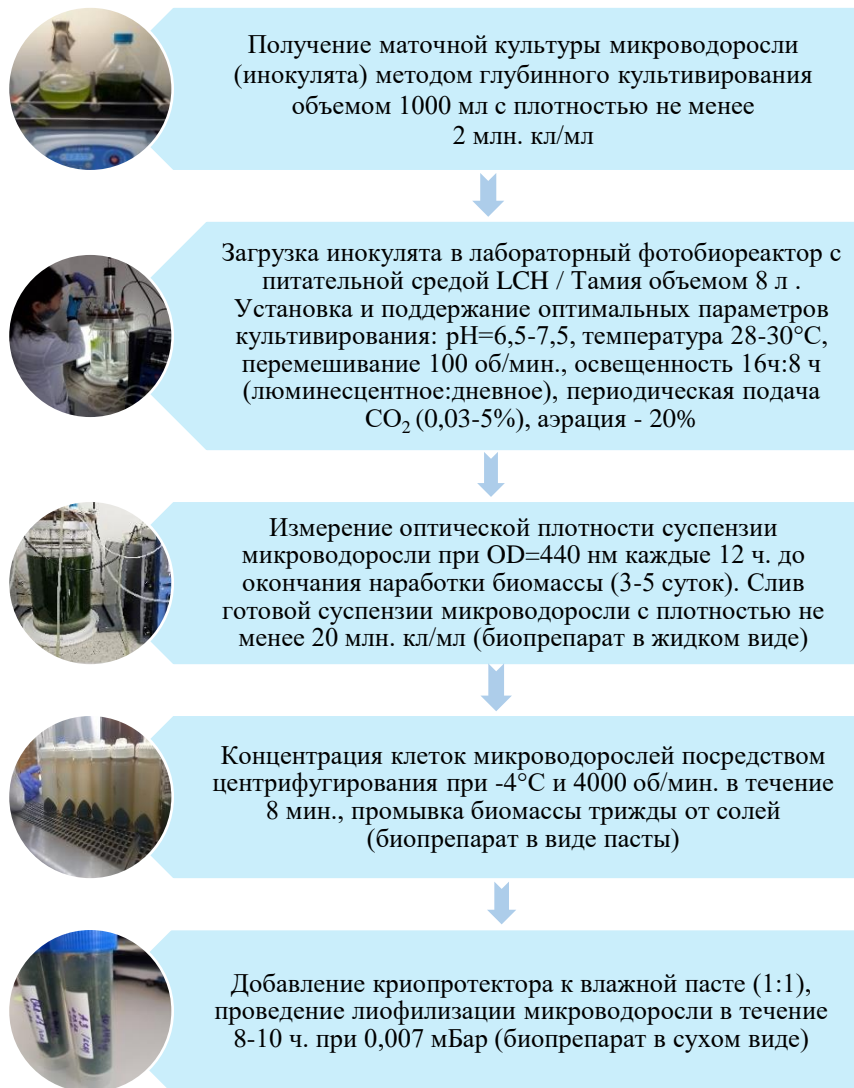


Рисунок 2 - Технологические этапы получения биомассы биопрепарата на основе зеленых микроводорослей в лабораторных условиях

ПРИЛОЖЕНИЕ 3

Патенты на полезную модель РК на штаммы микроводорослей У1 и И2



(19) **МИНИСТЕРСТВО ЮСТИЦИИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН**

ПАТЕНТ

(11) **№ 2984**

(12) **НА ПОЛЕЗНУЮ МОДЕЛЬ**

(54) **НАЗВАНИЕ:** Штамм микроводоросли *Parachlorella kessleri* У 1, используемый для очистки загрязненных природных вод от различных поллутантов

(73) **ПАТЕНТООБЛАДАТЕЛЬ:** Акционерное общество «Казахский университет технологии и бизнеса» (KZ)

(72) **АВТОР (АВТОРЫ):** Абжалелов Ахан Бегманович (KZ); Текебаева Жанар Борамбаевна (KZ); Абжалелова Лаура Ахановна (KZ); Айтуганов Канат Абшикенович (KZ)

(21) Заявка № 2017/0692.2 (22) Дата подачи заявки: 20.10.2017

Зарегистрирован в Государственном реестре полезных моделей Республики Казахстан 25.06.2018.

Действие патента распространяется на всю территорию Республики Казахстан при условии своевременной оплаты поддержания патента в силе.

Вице-министр юстиции
Республики Казахстан

 Н. Пан

Сведения о внесении изменений приводятся на отдельном листе в виде приложения к настоящему патенту



(19) **МИНИСТЕРСТВО ЮСТИЦИИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН**

ПАТЕНТ

(11) **№ 2985**

(12) **НА ПОЛЕЗНУЮ МОДЕЛЬ**

(54) **НАЗВАНИЕ:** Штамм микроводоросли *Chlorella vulgaris* И 2, используемый для очистки загрязненных природных вод от различных поллютантов

(73) **ПАТЕНТООБЛАДАТЕЛЬ:** Акционерное общество «Казахский университет технологии и бизнеса» (KZ)

(72) **АВТОР (АВТОРЫ):** Абжалелов Ахан Бегманович (KZ); Текебаева Жанар Борамбаевна (KZ); Абжалелова Лаура Ахановна (KZ); Айтуганов Канат Абшикенович (KZ)

(21) Заявка № 2017/0693.2

(22) Дата подачи заявки: 20.10.2017

Зарегистрирован в Государственном реестре полезных моделей Республики Казахстан 25.06.2018.

Действие патента распространяется на всю территорию Республики Казахстан при условии своевременной оплаты поддержания патента в силе.

**Вице-министр юстиции
Республики Казахстан**

Н. Пан

Сведения о внесении изменений приводятся на отдельном листе в виде приложения к настоящему патенту

ПРИЛОЖЕНИЕ И

Таблица 4 - Биологическая активность изолятов автохтонных бактерий

Изоляты	Ана	ФМА	ПА	ЛА	Ама	НА	СУ	КА	ЧА
БС-1	-	++	-	++	-	+	++++	-	I
БС-2	-	-	+	-	-	++++	+++	+	S
БС-3	+	+++	+	-	-	++++	+++	+	S
БС-4	+++	++++	+	+	+	++	+	-	I
БС-5	+++	-	-	-	-	+	-	-	S
М1с	++++	-	-	-	++++	+++	++	+	S
М1м	++++	-	-	-	++++	++	+	+	S
М3	++	-	-	-	-	+++	++	+	S
М4/1	-	++++	-	-	-	++	++++	+	I
М4/2	-	-	++++	+++	-	+	+	+	I
М4/3	+	-	-	-	-	+	+	-	R
М4/4	-	+++	-	-	-	+	+	+	I
М4/5	-	-	-	-	-	+	++	-	S
БТ1	+	-	++++	+	++++	+++	++	+	I
БТ2	++	++	+++	+	-	++++	+	+	I
БТ3	-	++	-	-	-	++	+	+++	I
БТ4	+	+++	++++	+++	+	++++	+++	+++	I
БТ5/1	-	+	++++	-	-	++	+	+	I
БТ5-2	+	+++	++++	-	++	++	+	-	I
БТ6	-	-	-	+	-	+++	+	-	I
БТ7	+	++	-	-	-	+++	+	-	I
У1-1	+++	++	+	-	-	++++	++++	+	S
У1-2ж	++	+++	++	++	++	++	++++	++	I
У1-2б	-	++	+	-	-	++	++++	+	S
У2	-	+++	-	++	++++	++	+	++	I
У3	-	+++	+	-	++	++++	-	+	I
У4	-	+++	-	++	-	+	+	-	I

Примечание: Ана – антагонистическая активность, ФМА – фосфатмобилизующая активность, ПА – протеолитическая активность, ЛА – липолитическая активность, Ама – амилолитическая активность, НА – нитрифицирующая активность, СУ – сбраживание углеводов, КА – каталазная активность, ЧА – чувствительность к антибиотикам (S – чувствительность, I – средняя чувствительность, R – резистентность), ++++ очень высокая активность, +++ высокая активность, ++ средняя активность, + слабая активность, - отрицательный результат

ПРИЛОЖЕНИЕ К

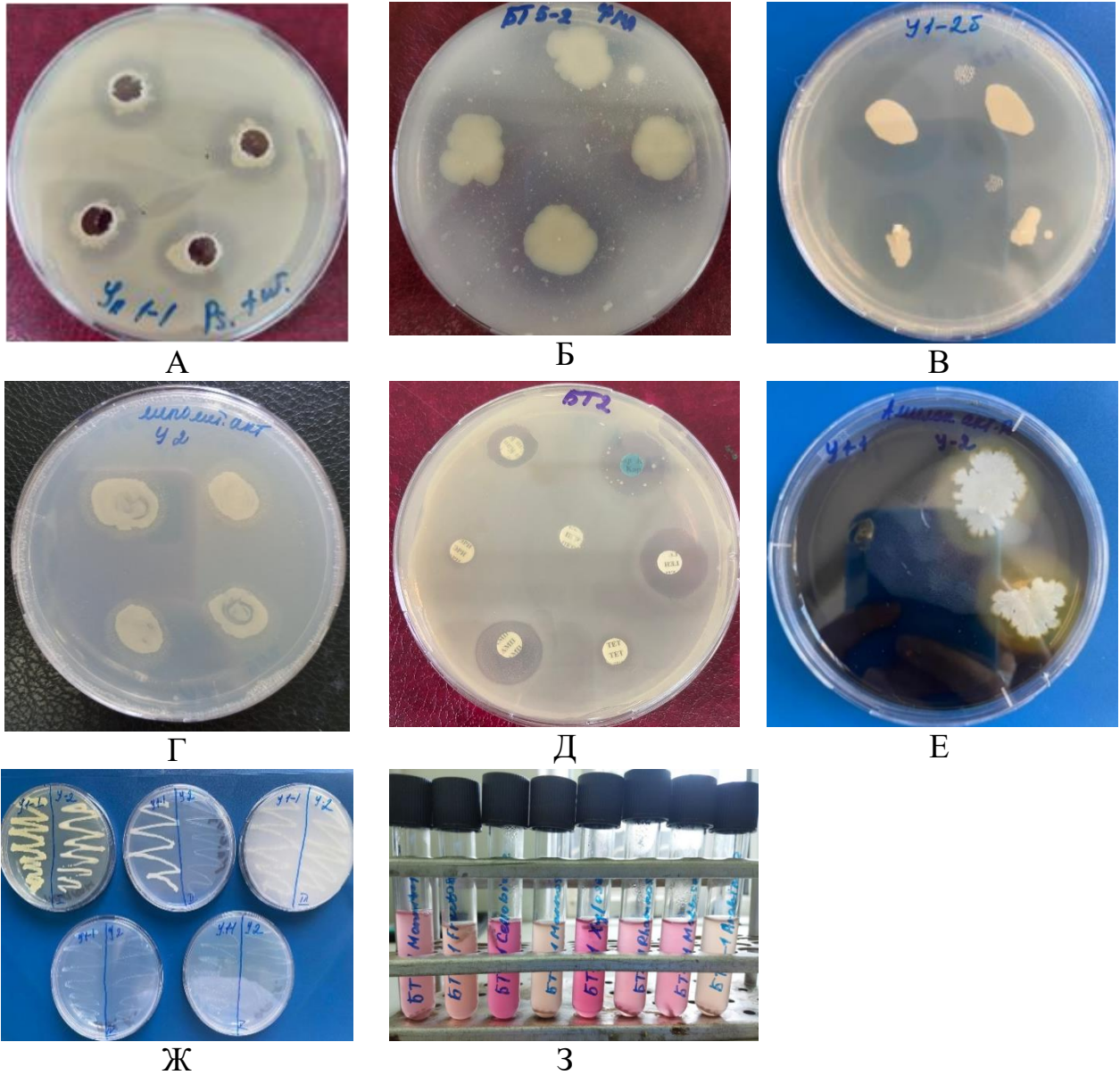


Рисунок 3 - Фотографии результатов биологической активности автохтонных бактерий: А - антагонистическая активность; Б - фосфатрасворяющая активность; В - протеолитическая активность; Г - липолитическая активность; Д - чувствительность к антибиотикам; Е - амилолитическая активность; Ж - нитрифицирующая активность; З - сбраживание углеводов

ПРИЛОЖЕНИЕ Л

Таблица 5 - Идентификация автохтонных бактерий с помощью гена 16S rRNA

Наименование изолята	Последовательность фрагмента 16S rRNA гена	Идентификация нуклеотидных последовательностей в международной базе данных (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/) алгоритм BLAST		
		Инвентарный номер GeneBank	Наименование штамма	% совпадения
БТ-2	GCAGTCGAACGATGATCCCAGCTTGCT GGGGGATTAGTGGCGAACGGGTGAGTA ACACGTGAGTAACCTGCCCTTGACTCT GGGATAAGCCTGGGAAACTGGGTCTAA TACCGGATATGACTCCTCATCGCATGG TGGGGGGTGGAAAAGCTTTTGTGGTTTT GGATGGACTCGCGGCCTATCAGCTTGT TGGTGGGGTAATGGCCTACCAAGGCGA CGACGGGTAGCCGGCCTGAGAGGGTGA CCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGC CCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGG GGAATATTGCACAATGGGCGCAAGCCT GATGCAGCGACGCCGCTGAGGGATGA CGGCCTTCGGGTGTAAACCTCTTTCAG TAGGGAAGAAGCGTAAAGTGACGGTACC TGCAGAAGAAGCGCCGGCTAACTACGT GCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGC GCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCG TAAAGAGCTCGTAGGCGGTTTGTCCGG TCTGCTGTGAAAGACCGGGGCTCAACT CCGGTTCTGCAGTGGGTACGGGCAGAC TAGAGTGCAGTAGGGGAGACTGGAATT CCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGAT ATCAGGAGGAACACCGATGGCGAAGG CAGGTCTCTGGCTGT	MN710483.1	<i>Arthrobacter nicotinovorans</i>	100
БТ-4	TCGAGCGGTAGCACAGGGGAGCTTGCT CCCCTGGGTGACGAGCGGCGGACGGGT GAGTAATGTCTGGGAACTGCCTGATG GAGGGGGATAACTACTGGAACGGTA GCTAATACCGCATAACGTGCAAGACC AAAGAGGGGGACCTTCGGGCCTTTGC CATCAGATGTGCCAGATGGGATTAGC TAGTAGGTGGGGTAATGGCTCACCTAG GCGACGATCCCTAGCTGGTCTGAGAGG ATGACCAGCCACACTGGAAGTGAAGACA CGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCA GTGGGGAATATTGCACAATGGGCGCAA GCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTGTG AAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAGCACT TTCAGCGAGGAGGAAGGTGGTGAAGCTT AATACGTTTATCAATTGACGTTACTCGC AGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCC AGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCA AGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAA AGCGCACGACGGCGGTTTGTAAAGTCA GATGTGAAATCCCCGGGCTCAACCTGG GAACTGCATTTGAAACTGGCAAGCTAG AGTCTCGTAGAGGGGGGTAGAATTCCA GGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATC TGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGG CCCCCTGG	MH361387.1	<i>Serratia marcescens</i>	100

Продолжение таблицы 5

Наименование изолята	Последовательность фрагмента <i>16S rRNA</i> гена	Идентификация нуклеотидных последовательностей в международной базе данных (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/) алгоритм BLAST		
		Инвентарный номер GeneBank	Наименование штамма	% совпадения
БС-4	CCGATGTCGAGGCGGGTGATTTCCCGG TAGGCACGTAATGCGCCGACCAGACG ATTTCGCCATCCGGGCGGGTGAGTTCTT GCGGGGTGCCAAGTGGTCGAGCTGGT AGTGGTAGGCC TTGGTTTCCTTTGGACCGAAGCCTTCCA GCAGCCGCCAGCGGGCGAAAAGCTGTCT GGTTCATAGAGATAGCTGCGATGCCGA TCCGAGTGGTGTTTCGGCGATGAGTTTG TCGCCTTGCCAGAAAACTCAGTGGTT ACATCGTCGACGGTTTTGCTGATACGC CGCCAAAACGGGTCGTAGCGGTAGCTG GCGGTCTGGCCGTTGGGTTTTTTATAAT ACCGATCAGGCGGTGCTGGCAGTCGTA GCGGTATTCGGTGACGAGTGCCTGGCC CTTGCCGCGGGCTTCGCGGATGAGGTT GCCGAAGCGTCGTAGTCGTAATGATG GTCGCCCTGAATCATCAGGCGGTTGCC GGCGACGATGTCGGGGCCGGGGCGGTT GTGCATGAGCAGGTTGCCGGCGGGGTC GTGGCCGAAGCGTTCCTGATCGGCTTG GGTGTGGTTCGGCGGGGTGAGGCGGTT GAGTGGGTGCTAGTGGTAGCGGTGTTT GCCCTTGCGGGTGTGAGCAGGCGGGT GAGGTTGCCGGTTTTGTCGTAGTCGTA ATGACGGCGATAGACCGGGCCTTCGGC ATCGTTGATGCTCTGGTTGAACAAGCG GCCTTGGTGGTCATGTTGGTAGTGGCT GAACAGTTGGCCTTGTGGCGTTGCTGT TCGCGACCGGCCTTGAACAGGTGTGAG GTGAGTACTG	LT629708.1	<i>Pseudomonasextremorientalis</i>	100
У1-2ж	TTGGCTCAGACCTCTTTATTGGAACAA AAAAATTAATTCAATCCTTAAGAACAAA AAAGTACGGTCCGGTGTCTGTCTTTG GGTTTGAAAATGGCTTTAAGTACGATA AAAACGGAGATAAAAACTCCCGATGC AAAGTGTGTTTAAATTCACATTGCAG CAGCAGTCTGAATGCTGTAGATCAGG GAAAACTTCTCTGCATCAGAAAAATTA TGCTGAACCCATCGAATTTACTGGAAA ATACATGGTTCGCCGCTTCGTGATAAGT ATCCGGCAGGGAATGTTGAAATTCCTG TAAGCGAAGTGATTGAATATACAGTTG CCAAAAGTGATAATAATGGCTGTGATA TTCTTCTGAGGCTGTTGGGAGGAACCC AGGTTGTCCAGAAGTTTATGGATTCCA AAGGAGTAAAAGGTTTTTCAGATCAAAT ACAATGAAGAGGATATGCATAAAGACT GGAATGTTTCAGTATGAAAATTATAGTA CTACAAAATCCGCTGCTGATGCTCTGA AAAAGTTGTATGACGGAAAAATTATTAT CCAAAAAATCCACAGACTATCTGATGA AAGTAATGCTTTCTACTTCAACCGGATT GAATAAAAATGGTGGAACAGCTTCCCAA AAACACACCTGTGCGAAGAAAAACGG GAGCTTCCGGGAAGAATAATGCTGGTT TAACAGGCGCAGAAAAATGAAATCGGA ATTGTTACTTTACCCAACGGGAAACAT TATGCA	LT009413.1	<i>Chryseobacterium gleum</i>	100

ПРИЛОЖЕНИЕ М



Рисунок 4 - Технологические этапы получения биомассы биопрепаратов на основе бактерий-деструкторов в лабораторных условиях

ПРИЛОЖЕНИЕ Н

Свидетельство о депонировании консорциума КВ-4

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ
БІЛІМ ЖӘНЕ ҒЫЛЫМ МИНИСТРЛІГІ
ҒЫЛЫМ КОМИТЕТІНІҢ
«МИКРООРГАНИЗМДЕРДІҢ РЕСПУБЛИКАЛЫҚ
КОЛЛЕКЦИЯСЫ» ШАРУАШЫЛЫҚ ЖҮРГІЗУ
ҚҰҚЫҒЫНДАҒЫ РЕСПУБЛИКАЛЫҚ
МЕМЛЕКЕТТІК КӘСІПОРНЫ



РЕСПУБЛИКАНСКОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ
ПРЕДПРИЯТИЕ НА ПРАВЕ ХОЗЯЙСТВЕННОГО
ВЕДЕНИЯ «РЕСПУБЛИКАНСКАЯ
КОЛЛЕКЦИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ»
КОМИТЕТА НАУКИ МИНИСТЕРСТВА
ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ
РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

010000, Нур-Султан қ., Ш. Уалиханов, 13/1
тел./факс: + 7 (7172) 20 10 32
E-mail: rcm-info@mail.ru; www.rcm.kz
БСН 061140003586

010000, г. Нур-Султан, ул. Ш. Уалиханова, 13/1
тел./факс: + 7 (7172) 20 10 32
E-mail: rcm-info@mail.ru; www.rcm.kz
БИН 061140003586

03.08.2022 № 09/12-142
№ _____ г.е

СВИДЕТЕЛЬСТВО О ДЕПОНИРОВАНИИ КОНСОРЦИУМА МИКРООРГАНИЗМОВ

Кому: Текебаевой Ж.Б., Темирбековой А.Ж., Базарханқызы А.
(имя и/или наименование организации и адрес депозитора, которым выдается свидетельство о депонировании)

РГП на ПХВ «Республиканская коллекция микроорганизмов» МЗ РК

1. НАЗВАНИЕ КОНСОРЦИУМА

Консорциум микроорганизмов (Chryseobacterium gleum У1-2ж, Serratia marcescens БТ-4, Arthrobacter nicotinovorans БТ-2, Pseudomonas extremorientalis БС-4)

Опознавательная ссылка (номер, ссылка и т.п.,
присвоенный штамму депозитором)

Коллекционный номер,
присвоенный коллекцией

КВ 4

К-РКМ 1010

2. НАУЧНОЕ ОПИСАНИЕ И/ИЛИ ТАКСОНОМИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ

Род: *Chryseobacterium, Serratia, Arthrobacter, Pseudomonas*

Вид: *gleum, marcescens, nicotinovorans, extremorientalis*

Микроорганизмы, поименованные в пункте 1, сопровождаются ходатайством о депонировании, включающем



¹ Паспорт



¹ Заключение об исследовании
класса опасности

3. ПОЛУЧЕНИЕ И ПРИНЯТИЕ

Настоящим утверждается, что консорциум микроорганизмов, поименованный в пункте 1, депонирован в Республиканской коллекции микроорганизмов с целью национального патентного депонирования.

Дата депонирования
12.07.2022 г.

002154

4. КОЛЛЕКЦИЯ

РГП «Республиканская коллекция микроорганизмов»

Название коллекции:

РГП «Республиканская коллекция микроорганизмов» МЗ РК

Заведующий Биобанком
промышленных микроорганизмов

Генеральный директор

Подпись лица, уполномоченного,
представлять коллекцию, или
полномочного должностного лица:

 Алмагамбетов К.Х.



 Сармурзина З.С.

« 12 » июля 2022 г.

Адрес коллекции:

010000, г.Нур-Султан,
ул. Ш. Уәлиханова, 13/1
факс 8 (7172) 20-10-32
e-mail: rcm-info@mail.ru

Печать организации (гербовая)

ПРИЛОЖЕНИЕ О

Таблица 6 - Идентификация автохтонных МКБ с помощью гена 16S rRNA

Наименование изолятов	Нуклеотидная последовательность фрагмента 16S rRNA гена	Идентификация нуклеотидных последовательностей в международной базе данных (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/) алгоритм BLAST		
		Инвентарный номер Gene Bank	Наименование штамма	% совпадения
2С	TCCACCGCTACACATGGAGTTCCAACCTCTTCTGCACTCAAGTTATCCAGTTTCCGATGCACTTCTCCGGTTAAGCCGAAGGCTTTCACATCAGACTTAGAAAACCGCCTGCACTCTCTTTACGCCCAATAAATCCGGATAACGCTTGCCACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCAGTAGTTAGCCGTGACTTCTGGTTAAATACCGTCAACGTATGAACAGTTACTCTCATAACGTGTTCTTCTTTAACAACAGAGCTTACGAGCCGAAACCCTTCTCACTCACGCGGTGTGCTCCATCAGGCTTGCGCCATTGTGGAAGATTCCCTACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTATGGGCCGTGTCTCAGTCCATTGTGGCCGATCAGTCTCTCAACTCGGCTATGCATCATCGCCTTGGTAGGCCGTTACCCCAACAAGCTAATGCACCGCAGGTCCATCCAGAAGTGATAGCGAGAAGCCATCTTTAAGCGTTGTTTCATGCGAACACGCTGTTATGCGGTATTAGCATCTGTTTCCAAATGTTGTCCCCGCTTCTGGGCAGGTTACCTACGTGTTACTCACCCGTCCGCACCTCGTTGGCGACCAAAATCAATCAGGTGCAAGCACCATCAATCAATTGGGCCAACCGGTTTCGACTTGCATGTATTAGGCACACGCGCGCTTCATCCTGAGC	<u>МК736280.1</u>	<i>Lactobacillus fermentum</i>	100
10/9К	CACTCAAGTCTCCAGTTTCCAATGCACTTCTTCGGTTGAGCCGAAGGCTTTCACATTAGACTTAAAAGACCGCCTGCGCTCGCTTACGCCCAATAAATCCGGATAACGCTTGCCACCTACGTATTACCGGGCTGCTGGCAGTAGTTAGCCGTGGCTTCTGGTTAAATACCGTCACTGGGTAAACAGTTACTCTTACCCACGTTCTTCTTTAACAACAGAGCTTACGAGCCGAAACCCTTCTCACTCACGCGCGCTTGTGCTCCATCAGACTTGCGTCCATTGTGGAAGATTCCCTACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGGCCGTGTCTCAGTCCCAATGTGGCGATTACCCTCTCAGGTCCGCTACGTATCACTGCCTTGTGAGCCTTACCTCACCAACTAGCTAATACGCCGCGGGTCCATCCAGAAGTGATAGCAGAGCCATCTTTAAAAGAAAACCATGCGGTTTCTCTGTTATACGGTATTAGCATCTGTTTCCAGGTGTTATCCCTACTTCTGGGCAGGTTACCCACGTGTTACTCACCCGTTGCCACTCACTTCGTGTTAAAATCTCAATCAGTACAAGTACGTCATAATCAATTAACGGAAGTTCGTTTCGACTTGCATGTATTAGGCACGCCGCCAGCGTTCATCCT	MH780139.1	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	100
12/2С	TTTACCCTACACATGGAGTTCCAACCTCTTCTGCACTCAAGTTTCCAGTTTCCGATGCGCTTCTCCGGTTAAGCCGAGGGCTTTCACATCAGACTTAAAAAACCGCCTGCGCTCGCTTTACGCCCAATAAATCCGGATAACGCTTGCCACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCAGTAGTTAGCCGTGGCTTCTGGTTGGATACCGTCAACGCGACAACAGTTACTCTGCCGACCAATCTTCTCCAACAACAGAGTTTACGACCCGAAAGCCTTCTCACTCACGCGGGTGTCTCCATCAGACTTGCGTCCATTGTGGAAGATTCCCTACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTTTGGGCCGTGTCTCAGTCCCAATGTGGCCGATCAACCTCTCAGTTCGGCTACGTATCATCGCCTTGGTAGCCATTACCTCACCAACTAGCTAATACGCCGCGGGTCCATCAAGATAGCTTACGCCATCTTTCAGCCAAGAACCATGCGGTTCTGGATCTATGCGGTATTAGCATCTGTTTCCAAATGTTATCCCCACTTAAGGGCAGGTTACCCACGTGTTACTCACCCGTCCGCCATCGTTCCATGTTGAATCTCGGTGCAAGCACCGATCATCAACGAGAACTCGTTTCGACTTGCATGTATTAGGCACGCCGCCAGCGTTCATCCTGAGCAGTTCAA	<u>MZ323942.1</u>	<i>Lactobacillus paracasei</i>	100
		<u>MT045724.1</u>	<i>Lactobacillus casei</i>	100

Продолжение таблицы 6

Наименование изолятов	Нуклеотидная последовательность фрагмента 16S rRNA гена	Идентификация нуклеотидных последовательностей в международной базе данных (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/) алгоритм BLAST		
		Инвентарный номер Gene Bank	Наименование штамма	% совпадения
13/1С	TCTAATCCTGTTTCGCTACCCATGCTTTTCGAGTCTCAGCGTCAGT TGCAGACCCAGGTAGCCGCTTCGCCCTGGTGTCTTCCATATA TCTACGCATTCCACCGCTACACATGGAGTTCCTACTACCCTCTT CTGCACTCAAGTTATCCAGTTTCCGATGCACTTCTCCGGTTAA GCCGAAGGCTTTCACATCAGACTTAGAAAACCGCCTGCACTCT CTTTACGCCCAATAAATCCGGATAACGCTTGCCACCTACGTAT TACCGCGGCTGCTGGCACGTAGTTAGCCGTGACTTTCTGGTTA AATACCGTCAACGTATGAACAGTTACTCTCATACGTGTTCTTC TTTAAACAACAGAGCTTTACGAGCCGAAACCCTTCTTCACTCAC GCGGTGTTGCTCCATCAGGCTTGCGCCATTGTGGAAGATTCC CTACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTATGGGCCGTGTCTCAGTCCC ATTGTGGCCGATCAGTCTCTCAACTCGGCTATGCATCATCGCC TTGGTAGGCCRTTACCCACCAACAAGCTAATGCACCGCAGGT CCATCCAGAAGTGATAGCGAGAAGCCATCTTTAAGCGTTGTT CATGCGAACAACGYTGTTATGCGGTATTAGCATCTGTTTCCAA ATGTTGTCCTCCCGCTTCTGGGCAGGTTACCTACGTGTTACTCA CCCCTCCGCACTCGTTGGCGACCAAAATCAATCAGGTGCAA GCACCATCAATCAATTGGGCCAAC	MT482589.1	<i>Lactobacillus fermentum</i>	99,6
15/1С	GTGTGCCTAATACATGCAAGTCGAACGCGTTGGCCCAATTGAT TGATGGTGCTTGACCTGATTGATTTTGGTCGCCAACGAGTGG CGGACGGGTGAGTAACACGTAGGTAACCTGCCAGAAGCGGG GGACAACATTTGGAAAACAGATGCTAATACCGCATAACAGCGT TGTTGCGATGAACAACGCTTAAAAGATGGCTTCTCGCTATCAC TTCTGGATGGACCTGCGGTGCATTAGCTTGTGGTGGGGTAA GGCCTACCAAGGCGATGATGCATAGCCGAGTTGAGAGACTGA TCGGCCACAATGGGACTGAGACACGGCCATACTCCTACGGG AGGCAGCAGTAGGGAATCTCCACAATGGGCGCAAGCCTGAT GGAGCAACACCGCGTGAGTGAAGAAGGGTTTCGGCTCGTAAA GCTCTGTTGTTAAAGAAGAACACGTATGAGAGTAACTGTTTCA ACGTTGACGGTATTTAACCAGAAAAGTCACGGCTAACTACGTGC CAGCAGCCCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAT TTATTGGGCGTAAAGAGAGTGCAGGCGGTTTCTAAGTCTGAT GTGAAAGCCTTCGGCTTAACCGGAGAAGTGCATCGGAAACTG GATAACTTGAGTGCAGAAGAGGGTAGTGGAACTCCATGTGTA GCGGTGGAATGCGTAGATATATGGAAGAACACCAAGTGGCGAA GGCGGCTACCTGGTCTGCAACTGACGCTGAGACTCG	HM058366.1	<i>Lactobacillus fermentum</i>	99,9
22/1С	TTATCCAGTTTCCGATGCACTTCTCCGGTTAAGCCGAAGGCTT TCACATCAGACTTAGAAAACCGCCTGCACTCTTTACGCCCA ATAAATCCGGATAACGCTTGCCACCTACGTATTACCGCGGCTG CTGGCAGTAGTTAGCCGTGACTTTCTGGTTAAATACCGTCAA CGTATGAACAGTTACTCTCATACGTGTTCTTCTTTAACAACAG AGCTTTACGAGCCGAAACCCTTCTTCACTCACGCGGTGTTGCT CCATCAGGCTTGCGCCATTGTGGAAGATTCCCTACTGCTGCC TCCCGTAGGAGTATGGGCCGTGTCTCAGTCCCATTGTGGCCGA TCAGTCTCTCAACTCGGCTATGCATCATCGCCTTGGTAGGCCG TTACCCCAACAAGCTAATGCACCGCAGGTCCATCCAGAA GTGATAGCGAGAAGCCATCTTTAAGCGTTGTTTATGCGAACA ACGCTGTTATGCGGTATTAGCATCTGTTTCCAAATGTTGTCCC CGCTTCTGGGCAGGTTACCTACGTGTTACTACCCGTCGGCCA CTCGTTGGCGACCAAAATCAATCAGGTGCAAGCACCATCAAT CAATTGCGCCAACGCGTTCGACTTGCATGTATTAGGCACACCG CCGGCGTTCATCCT	AY244629.1	<i>Lactobacillus fermentum</i>	99,9

Продолжение таблицы 6

Наименование изолято в	Нуклеотидная последовательность фрагмента 16S rRNA гена	Идентификация нуклеотидных последовательностей в междунар. базе данных (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/) алгоритм BLAST		
		Инвентарны й номер Gene Bank	Наименование штамма	% совпад ения
9С	TGGAACGAGTGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACCTG CCCTTAAGTGGGGGATAACATTTGGAACACAGATGCTAATACC GCATAGATCCAAGAACCGCATGGTTCCTGGCTGAAAGATGGC GTAAGCTATCGCTTTTGGATGGACCCGCGGCGTATTAGCTAGT TGGTGAGGTAATGGCTCACCAAGGCGATGATACGTAGCCGAA CTGAGAGGTTGATCGGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCCA AACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGA CGCAAGTCTGATGGAGCAACGCCGCGTGAAGTGAAGAAGGCTT TCGGGTCGTA AAACTCTGTTGTTGGAGAAGAATGGTCGGCAG AGTAACTGTTGTCGGCGTGACGGTATCCAACCAGAAAAGCCAC GGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCA AGCGTTATCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCG	<u>KY694990.1</u>	<i>Lactobacillus paracasei</i>	100
23С	AACACGTAGGTAACCTGCCAGAAGCGGGGACAACATTT GGAACACAGATGCTAATACCGCATAACAGCGTTGTTTCGCAT GAACAACGCTTAAAAGATGGCTTCTCGCTATCACTTCTGG ATGGACCTGCGGTGCATTAGCTTGTGGTGGGGTAAAYGGC CTACCAAGGCGATGATGCATAGCCGAGTTGAGAGACTGAT CGGCCACAATGGGACTGAGACACGGCCATACTCCTACGG GAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGGCGCAAGCCT GATGGAGCAACACCGCGTGAGTGAAGAAGGGTTTCGGCTC GTA AAGCTCTGTTGTTAAAGAAGAACACGTATGAGAGTAA CTGTTACATACGTTGACGGTATTTAACCAGAAAGTCACGGCT AACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAG CGTTATCCGGATTTATTGGGCGTAAAGAGAGTGCAGGCGG TTTTCTAAGTCTGATGTGAAAGCCTTCGGCTTAACCGGAGA AGTGCATCGGAAACTGGATAACTTGAGTGCAGAAGAGGGT AGTGGAACTCCATGTGTAGCGGT	<u>MT604784.1</u>	<i>Lactobacillus fermentum</i>	99
24С	GCGTTGGCCCAATTGATTGATGGTGCTTGCACCTGATTGAT TTGGTCGCCAACGAGTGGCGGACGGGTGAGTAACACGTA GGTAACCTGCCAGAAGCGGGGACAACATTTGGAACA GATGCTAATACCGCATAACAGCGTTGTTTCGCATGAACAAC GCTTAAAAGATGGCTTCTCGCTATCACTTCTGGATGGACCT GCGGTGCATTAGCTTGTGGTGGGGTAAAYGGCCTACCAAG GCGATGATGCATAGCCGAGTTGAGAGACTGATCGGCCACA ATGGGACTGAGACACGGCCATACTCCTACGGGAGGCAGC AGTAGGGAATCTTCCACAATGGGCGCAAGCCTGATGGAGC AACACCGCGTGAGTGAAGAAGGGTTTCGGCTCGTAAAGCT CTGTTGTTAAAGAAGAACACGTATGAGAGTAACTGTTTCAT ACGTTGACGGTATTTAACCAGAAAGTCACGGCTAACTACG TGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATC CGGATTTATTGGGCGTAAAGAGAGTGC	MT463623.1	<i>Lactobacillus fermentum</i>	99
K4	TGCTCAGGATGAACGCTGGCGGCGTGCCTAATACATGCAA GTCGAACGAACCTCCGTTAATTGATTATGACGTA CTTGTAC TGATTGAGATTTTAAACACGAAGTGAAGTGGCGAACGGGTGA GTAACACGTGGGTAACCTGCCAGAAGTAGGGGATAACAC CTGGAAACAGATGCTAATACCGTATAACAGAGAAAACCGC ATGGTTTTCTTTAAAAGATGGCTCTGCTATCACTTCTGGA TGGACCCGCGGCGTATTAGCTAGTTGGTGAGGTA AAGGCT CACCAAGGCAGTGATACGTAGCCGACCTGAGAGGGTAATC GGCCACATTTGGGACTGAGACACGGCCARACTCCTACGGG AGGCAGAGTAGGGAATCTTCCACAATGGACGCAAGTCTG ATGGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGGTTTCGGCTCG TAAAGCTCTGTTGTTAAAGAAGAACGTGGGTAAGAGTAAC TGTTTACCAGTGACGGTATTTAACCAGAAAGCCACGGCT AACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAG CGTTATCCGGATTTATTGGGCG	<u>PP475798.1</u>	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	99,21

ПРИЛОЖЕНИЕ П

Свидетельства о депонировании консорциумов биопрепаратов КПБЗ и К4

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ
БІЛІМ ЖӘНЕ ҒЫЛЫМ МИНИСТРЛІГІ
ҒЫЛЫМ КОМИТЕТІНІҢ
«МИКРООРГАНИЗМДЕРДІҢ РЕСПУБЛИКАЛЫҚ
КОЛЛЕКЦИЯСЫ» ШАРУАШЫЛЫҚ ЖҮРГІЗУ
ҚҰҚЫҒЫНДАҒЫ РЕСПУБЛИКАЛЫҚ
МЕМЛЕКЕТТІК КӘСІПОРНЫ



РЕСПУБЛИКАНСКОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ
ПРЕДПРИЯТИЕ НА ПРАВЕ ХОЗЯЙСТВЕННОГО
ВЕДЕНИЯ «РЕСПУБЛИКАНСКАЯ
КОЛЛЕКЦИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ»
КОМИТЕТА НАУКИ МИНИСТЕРСТВА
ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ
РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

010000, Астана қ., Уалханов көшесі, 13/1
тел./факс: +7 (7172) 20 10 32
E-mail: rem-info@mail.ru; www.rem.kz
БСН 061140003586

010000, г. Астана, ул. Валханова, 13/1
тел./факс: +7 (7172) 20 10 32
E-mail: rem-info@mail.ru; www.rem.kz
БИН 061140003586

19.03.2020 № 09/12-115
№ _____ г.г.

СВИДЕТЕЛЬСТВО О ДЕПОНИРОВАНИИ КОНСОРЦИУМА

Кому: Бисеновой Г.Н., Текебаевой Ж.Б., Сармурзиной З.С., Уразовой М.С.,
Абжалелову А.Б.

(Имя и/или наименование организации и адрес депозитора, которым выдается свидетельство о депонировании)

РГП на ПХВ «Республиканская коллекция микроорганизмов» КН МОН РК

1. НАЗВАНИЕ КОНСОРЦИУМА

Lactobacillus fermentum 24 С, *Pediococcus pentosaceus* 10/9К,
Lactobacillus paracasei 9С

Опознавательная ссылка (номер, ссылка
и т.п., присвоенный штамму
депозитором)

КПБ-3

Коллекционный номер,
присвоенный коллекцией

В - РКМ 0876

2. НАУЧНОЕ ОПИСАНИЕ И/ЛИ ТАКСОНОМИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ШТАММА

Род: *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Lactobacillus*

Вид: *fermentum*, *pentosaceus*, *paracasei*

Микроорганизм, поименованный в графе 1, сопровождался ходатайством о депонировании, включающем



¹ Паспорт



¹ Справку о
патогенности

001481

3. ПОЛУЧЕНИЕ И ПРИНЯТИЕ

Настоящим утверждается, что консорциум, поименованный в графе 1, депонирован в Республиканской коллекции микроорганизмов с целью патентного депонирования.

Дата депонирования
19.03.2020 г.

4. КОЛЛЕКЦИЯ

РГП «Республиканская коллекция микроорганизмов»

Название коллекции: РГП «Республиканская коллекция микроорганизмов»	Подпись лица, уполномоченного, представлять коллекцию, или полномочного должностного лица:
Центральный музей микроорганизмов	 Ескараева А.А.
Генеральный директор РГП «Республиканская коллекция микроорганизмов»	 Сармурзина З.С.
	19 » 03 2020 г.

Адрес коллекции

010000, г.Нур-Султан,
ул. Ш. Уәлиханова, 13/1
факс 8 (7172) 20-10-32
e-mail: rcm-info@mail.ru

Печать организации (гербовая)

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ
БІЛІМ ЖӘНЕ ҒЫЛЫМ МИНИСТРЛІГІ
ҒЫЛЫМ КОМИТЕТІНІҢ
«МИКРООРГАНИЗМДЕРДІҢ РЕСПУБЛИКАЛЫҚ
КОЛЛЕКЦИЯСЫ» ШАРУАШЫЛЫҚ ЖҮРГІЗУ
ҚҰҚЫҒЫНДАҒЫ РЕСПУБЛИКАЛЫҚ
МЕМЛЕКЕТТІК КӘСІПОРНЫ



РЕСПУБЛИКАНСКОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ
ПРЕДПРИЯТИЕ НА ПРАВЕ ХОЗЯЙСТВЕННОГО
ВЕДЕНИЯ «РЕСПУБЛИКАНСКАЯ
КОЛЛЕКЦИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ»
КОМИТЕТА НАУКИ МИНИСТЕРСТВА
ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ
РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

010000, Нур-Султан қ., Ш. Уәлиханов, 13/1
тел./факс: +7 (7172) 20 10 32
E-mail: rcm-info@mail.ru; www.rcm.kz
БСН 061140003586

010000, г. Нур-Султан, ул. Ш. Уәлиханова, 13/1
тел./факс: +7 (7172) 20 10 32
E-mail: rcm-info@mail.ru; www.rcm.kz
БИН 061140003586

24.01.2022 № 09/12-45
№ _____ г.

СВИДЕТЕЛЬСТВО О ДЕПОНИРОВАНИИ КОНСОРЦИУМА МИКРООРГАНИЗМОВ

Кому: Текебаевой Ж.Б., Уразовой М.С., Абилхадирову А.С., Абжалелову А.Б.,
Бейсеновой Р.Р., Шайхину С.М.

(имя и/или наименование организации и адрес депозитора, которым выдается свидетельство о депонировании)

РГП на ПХВ «Республиканская коллекция микроорганизмов» КН МОН РК

1. НАЗВАНИЕ КОНСОРЦИУМА

Консорциум пробиотических бактерий (Lactobacillus fermentum 24c, Pediococcus pentosaceus 10/9к, Lactobacillus paracasei 9c, Lactobacillus paracasei 12/2c)

Опознавательная ссылка (номер, ссылка и т.п.,
присвоенный штамму депозитором)

K4

Коллекционный номер,
присвоенный коллекцией

K- RKM 1003

2. НАУЧНОЕ ОПИСАНИЕ И/ИЛИ ТАКСОНОМИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ

Род: *Lactobacillus, Pediococcus*

Вид: *fermentum, paracasei, pentosaceus*

Консорциум, поименованный в пункте 1, сопровождается ходатайством о депонировании, включающем



¹ Паспорт



¹ Заключение об исследовании
класса опасности

3. ПОЛУЧЕНИЕ И ПРИНЯТИЕ

Настоящим утверждается, что консорциум пробиотических бактерий, поименованный в пункте 1, депонирован в Республиканской коллекции микроорганизмов с целью гарантийного хранения и патентного депонирования.

Дата депонирования
24.01.2022 г.

002071

4. КОЛЛЕКЦИЯ

РГП «Республиканская коллекция микроорганизмов»

Название коллекции:
РГП «Республиканская коллекция
микроорганизмов» КН МОН РК

Заведующий Биобанком
промышленных микроорганизмов

Генеральный директор

Подпись лица, уполномоченного,
представлять коллекцию, или
полномочного должностного лица:

 Исакова А.Н.


 Сармурзина З.С.

«24» 01 2022 г.

Адрес коллекции:

010000, г.Нур-Султан,
ул. Ш. Уәлиханова, 13/1
факс 8 (7172) 20-10-32
e-mail: rcm-info@mail.ru

Печать организации (гербовая)

ПРИЛОЖЕНИЕ С



Рисунок 5 - Технологические этапы получения биомассы биопрепарата на основе МКБ в лабораторных условиях

ПРИЛОЖЕНИЕ Т

Таблица 7 - Определение чувствительности к антибиотикам штаммов МКБ, биопрепаратов и тест-штаммов

Антибиотик	Штаммы МКБ				КПБЗ	К4	Тест-штаммы										
	24с	10/9к	9с	12/2с			0726	0427	0287	0724	0470	0447	EF	0664	0680	0444	0639
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
P 10	Ч (27,5)	П (21,0)	Ч (30,0)	Ч (40,5)	Ч (29,0)	Ч (31,5)	Ч (29,5)	У	У	Ч (31,5)	Ч (31,5)	У	У	У	У	У	У
TE 30	П (20,5)	П (16,5)	П (19,5)	Ч (23,5)	П (18,5)	П (20,0)	Ч (32,5)	П (13,5)	У (11,5)	Ч (32,0)	Ч (24,0)	П (21,0)	С (7,0)	У	У	У	У
RO 30	Ч (29,0)	Ч (23,5)	Ч (31,5)	Ч (35,0)	Ч (32,0)	Ч (32,0)	П (27,0)	У	У	Ч (27,0)	П (26,0)	П (15,0)	У	У	У	У	Ч (31,0)
K 30	У	У	У	У	У	У	П (26,5)	П (22,5)	П (23,0)	П (26,5)	П (20,0)	П (17,5)	П (20,0)	П (18,0)	П (20,0)	П (21,0)	У
AMP 25	П (11,5)	П (15,5)	П (12,0)	Ч (31,5)	Ч (25,5)	Ч (22,0)	П (22)	У	У	П (23,0)	П (26,5)	У	У	У	У	У	У
AMC 30	Ч (33,5)	Ч (26,5)	Ч (33,0)	Ч (26,0)	Ч (30,5)	Ч (27,5)	Ч (32,5)	П (27,0)	П (23,5)	Ч (37,5)	Ч (37,0)	П (14,5)	У	П (27,5)	Ч (32,5)	П (29,5)	У
CD 10	Ч (30,5)	Ч (22,0)	Ч (33,0)	Ч (25,0)	Ч (29,0)	Ч (29,5)	П (16,5)	У	У	П (13,5)	П (17,5)	У	У	У	У	У	Ч (30,5)
CZ 30	У	У (7,0)	У	П (13,5)	У	У	У (12,0)	У	У	П (19,0)	П (20,5)	П (11,0)	У	У	У	У	У
VA 5	У	У	У	У	У	У	П (19,0)	У	У	П (20,0)	П (14,5)	У	У	У	У	У	У
GEN 10	У	У (7,0)	У	У (11,0)	У	У	П (22,5)	П (20,0)	П (21,5)	П (24,0)	П (13,5)	П (16,5)	П (22,0)	П (28,0)	П (19,5)	П (28,0)	С (8,0)
CB 25	П (19,5)	П (14,0)	П (20,0)	П (17,5)	П (20,5)	П (18,0)	У	У	У	Ч (34,0)	Ч (31,5)	У	У	У	У	У	Р
FUZ 10	У	П (15,0)	У	П (12,5)	У	У	У	У	У	Ч (30,5)	П (22,5)	У	У	У	У	У	П (15,0)
OL 15	У	П (13,5)	У	П (12,5)	П (12,5)	У	У	У	У	П (23,0)	П (21,0)	У	П (18,0)	П (15,0)	П (14,0)	П (15,0)	У
RIF 5	П (13,0)	П (19,5)	Ч (26,0)	Ч (27,0)	Ч (25,0)	Ч (24,0)	У	У	У	П (21,5)	Ч (25,0)	У (10,5)	У	У	У	У	П (22,0)
N 30	У	У	У	У	У	У	П (19,5)	И (19,5)	П (20,0)	П (25,0)	П (12,5)	П (18,5)	П (18,5)	П (18,0)	П (24,0)	П (22,0)	П (13,0)
OX 10	У	У	У	У	У	У	У	У	У	У	С (8,5)	У	У	У	У	У	У
CIP 5	У	У	У	У	У	У	П (21,0)	П (19,0)	П (22,0)	П (21,0)	П (22,0)	П (25,0)	Ч (30,5)	Ч (38,0)	Ч (36,0)	Ч (32,5)	П (16,0)
E 15	Ч (34,5)	П (17,5)	Ч (21,5)	П (19,0)	Ч (23,5)	Ч (25,0)	У	У	П (23,5)	У	П (22,0)	У	У	У	У	У	У
LEV 30	Ч (21,5)	П (18,5)	Ч (24)	П (20,5)	П (21,5)	П (19,5)	П (17,0)	П (14,0)	П (20,0)	У (8,0)	П (23,0)	П (22,0)	П (18,5)	П (14,5)	П (14,0)	П (21,0)	С (8,0)
S 10	П (12,0)	П (16,0)	П (16,0)	П (15,0)	П (19,0)	П (22,0)	П (15,0)	П (16,0)	П (17,0)	П (20,0)	Ч (30,0)	П (21,0)	П (18,0)	П (12,0)	П (12,0)	У (10,0)	У

Примечание: 24с – *Lb. fermentum*; 10/9к – *P. pentosaceus*; 9с – *Lb. paracasei*; 12/2с – *Lb. paracasei*; КПБЗ – консорциум МКБ (*Lb. fermentum* 24с, *P. pentosaceus* 10/9к, *Lb. paracasei* 9с); К4 – консорциум МКБ (*Lb. fermentum* 24с, *P. pentosaceus* 10/9к, *Lb. paracasei* 9с, *Lb. paracasei* 12/2с); 0726 – *Ps. taiwanensis*; 0427 – *Ps. aeruginosa*; 0287 – *A. punctata*; 0724 – *Sh. ximenensis*; 0470 – *St. aureus*; 0447 – *E. coli*; EF – *E. faecalis*; 0664 – *B. cereus*; 0444 – *Kl. pneumonia*; 0680 – *S. enteritidis*; 0639 – *Lc. garvieae*; Ч – чувствительный, П – промежуточно-чувствительный; У – устойчивый (резистентный); С – слабая чувствительность

ПРИЛОЖЕНИЕ У

Патент на полезную модель РК и Евразийский патент на пробиотический биопрепарат

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ **РЕСПУБЛИКА КАЗАХСТАН**

REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

ПАТЕНТ
PATENT

№ 7395

ПАЙДАЛЫ МОДЕЛЬГЕ / НА ПОЛЕЗНУЮ МОДЕЛЬ / FOR UTILITY MODEL



(21) 2022/0461.2

(22) 24.05.2022

(45) 26.08.2022

(54) Дисбактериоз кезінде қолдануға және тұқы балығының иммундық ахуалын арттыруға арналған антибактериальдық белсенділігі бар K4 пробиотик бактерияларының консорциумы
Консорциум пробиотических бактерий K4, обладающий антибактериальной активностью, предназначенный для включения в кормовые добавки при дисбактериозах и для повышения иммунного статуса у карповых рыб
Consortium of K4 probiotic bacteria that possess antibacterial activity dedicated for inclusion in feed supplements during dysbacteriosis and for improving immune status of cyprinidae fish

(73) Қазақстан Республикасы Денсаулық сақтау министрлігінің «Микроорганизмдердің республикалық коллекциясы» шаруашылық жүргізу құқығындағы республикалық мемлекеттік кәсіпорны (KZ)
Республиканское государственное предприятие на праве хозяйственного ведения «Республиканская коллекция микроорганизмов» Министерства здравоохранения Республики Казахстан (KZ)
Republican state enterprise on a right of economic management «Republican Collection of Microorganisms» of the Ministry of Healthcare of the Republic of Kazakhstan (KZ)

(72) Текебаева Жанар Борамбаевна (KZ) Текебаева Жанар Борамбаевна (KZ)
Шаихин Серик Мурзахметович (KZ) Shaikhin Serik Murzakhmetovich (KZ)
Абилхадиров Арман Сабирович (KZ) Abilkhadirov Arman Sabyrovich (KZ)
Уразова Майра Салаватовна (KZ) Urazova Mayra Salavatovna (KZ)
Сармурзина Зинигуль Сериковна (KZ) Sarmurzina Zinigul Serikovna (KZ)



ЭЦҚ кол койылды
Подписано ЭЦП
Signed with EDS

Е. Оспанов
Е. Оспанов
Y. Ospanov

«Ұлттық зияткерлік меншік институты» РМК директоры
Директор РГП «Национальный институт интеллектуальной собственности»
Director of the «National Institute of Intellectual Property» RSE



**ЕВРАЗИЙСКАЯ ПАТЕНТНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ
ЕВРАЗИЙСКОЕ ПАТЕНТНОЕ ВЕДОМСТВО**

ЕВРАЗИЙСКИЙ ПАТЕНТ



**ЕВРАЗИЙСКИЙ ПАТЕНТ
НА ИЗОБРЕТЕНИЕ**

№ 041313

Название изобретения:

**«ПРОБИОТИЧЕСКИЙ ПРЕПАРАТ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ И
ЛЕЧЕНИЯ ДИСБАКТЕРИОЗОВ У РЫБ»**

Патентовладельцы:

БИСЕНОВА ГУЛЬМИРА НУРГАЛИЕВНА (KZ)

Изобретатели:

**Бисенова Гульмира Нургаалиевна, Текебаева Жанар Борамбаевна,
Уразова Майра Салаватовна, Сармурзина Зинигуль Сериковна,
Абжалелов Ахан Бегманович, Закарья Кунесулу (KZ)**

Заявка №: 202091081
Дата подачи заявки: 15 апреля 2020 г.
Дата выдачи патента: 07 октября 2022 г.

Настоящим удостоверяется, что евразийский патент выдан на изобретение с формулой, опубликованной в Бюллетене Евразийского патентного ведомства «Изобретения (евразийские заявки и патенты)» № 10 / 2022 год.

При уплате установленных годовых пошлин патент действует на территории государств - участников Евразийской патентной конвенции - Азербайджанской Республики, Кыргызской Республики, Республики Армения, Республики Беларусь, Республики Казахстан, Республики Таджикистан, Российской Федерации, Туркменистана.



ИВЛИЕВ Григорий Петрович
Президент Евразийского патентного ведомства

ПРИЛОЖЕНИЕ Ф

Акты внедрения

АКТ ВНЕДРЕНИЯ

г. Астана

«09» 09 2021

Мы, нижеподписавшиеся, руководитель ТОО «Рyборитомник Маyбалык Сад» Д.М. и исполнитель Текебаева Ж.Б. составили настоящий акт о том, что результаты научно-исследовательской работы по теме «Экспериментальное обоснование и проведение мероприятий по альголизации озера Майбалык для повышения биологической продуктивности», проведённой в рамках диссертационного исследования Текебаевой Ж.Б. были внедрены на территории озера Майбалык (Акмолинская область, Республика Казахстан) в июне-июле 2021 года.

В рамках внедрения были осуществлены следующие работы:

- отбор проб воды и определение гидрохимических и микробиологических показателей до начала и после окончания эксперимента;
- проведение альголизации и внесение биомассы ассоциацией штаммов микроводорослей *Parachlorella kessleri* У1 и *Chlorella vulgaris* И2;
- мониторинг качественного и количественного состава фитопланктона;
- анализ изменения биоиндикаторных характеристик воды, включая уровень сапробности и степень эвтрофности.

В результате проведённых мероприятий отмечены следующие изменения:

- уменьшение уровня органической загрязнённости воды, обусловленное деструкцией ключевых загрязняющих веществ (до 67,7%);
- снижение численности условно-патогенной микрофлоры (до 62,5 раз) в сравнении с исходными показателями.

Полученные результаты подтвердили эффективность метода альголизации как экологически безопасного способа повышения биопродуктивности, улучшения санитарного состояния и стабилизации экосистемы водоёма.

Метод альголизации рекомендован к использованию в практике экобиотехнологической реабилитации водоёмов на территории Северного Казахстана.

Настоящий акт составлен в двух экземплярах, имеющих одинаковую юридическую силу.

ТОО «Рyборитомник Маyбалык»:
Садыков Дюсембай Магзумович, руководитель



Исполнитель:
Текебаева Жанар Борамбаевна


(подпись, дата) 09.09.2021

УТВЕРЖДАЮ
Заведующая кафедрой
Управления и инжиниринга в
сфере охраны окружающей среды
НАО «Евразийский
национальный университет им.
Л.Н. Гумилева»
Р. Тазитдинова
«15» 2024 г.



АКТ ВНЕДРЕНИЯ

Настоящий акт составлен о том, что методическое пособие автора Текебаевой Ж.Б. на тему «Комплексные подходы в мониторинге и биоочистке поверхностных водоемов северного региона для улучшения качества окружающей среды» (Астана, 2022 г.) используется в образовательной программе по спецкурсам «Водная безопасность», «Теория биологической водоочистки» при подготовке докторантов по специальности 8D05208 - Экология и природопользование НАО «Евразийский национальный университет им. Л.Н. Гумилева».

Данное методическое пособие предназначено для специалистов – экологов, биотехнологов, гидробиологов, микробиологов, альгологов, а также преподавателей и студентов естественных специальностей высших учебных заведений.

Д.б.н., профессор

А.Б. Абжалелов

Ученый секретарь

Г.Ә. Әділбектегі