

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ БІЛІМ ЖӘНЕ ҒЫЛЫМ МИНИСТРЛІГІ
Қ.И. Сәтбаев атындағы Қазақ ұлттық технологиялық зерттеу университеті
Қ. Тұрысов атындағы Геология және мұнай-газ ісі институты
Химиялық және биохимиялық инженерия кафедрасы

Әділ Бауыржан Орынбайұлы және Кажиханова Амина Бауыржановна

Цианобактериялардың активті штамдарын бөліп алу және оны
агробиотехнологияда қолдану

ДИПЛОМДЫҚ ЖҰМЫС

5B070100–«Биотехнология» мамандығы

Алматы 2022

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ БІЛІМ ЖӘНЕ ҒЫЛЫМ МИНИСТРЛІГІ
Қ.И. Сәтбаев атындағы Қазақ ұлттық технологиялық зерттеу университеті
Қ. Тұрысов атындағы Геология және мұнай-газ ісі институты
Химиялық және биохимиялық инженерия кафедрасы



БЕКТЕМІН

ХЖБИ кафедра меңгерушісі

Ph.D. доктор

Амитова А.А

05 2022 ж.

**Дипломдық жұмыс орындауға
ТАПСЫРМА**

Білім алушы: Әділ Б.О. және Кажиханова А.Б.

Тақырыбы : «Цианобактериялардың активті штамдарын бөліп алу және оны агробиотехнологияда қолдану»

Университет Ректорының 2021 жылғы "24" 12 №489 П/Ө бұйрығымен бекітілген

Аяқталған жұмысты тапсыру мерзімі 2022 жылғы "31" мамыр

Дипломдық жұмыстың бастапқы берілістері: диплом алдындағы тақырып бойынша әдебиеттерге шолу нәтижелері, теориялық мәліметтер жиыны

Дипломдық жұмыста қарастырылатын мәселелер тізімі



- а) Цианобактериялардың дақылдарын күріш алқаптарынан бөліп алу;
- б) Бөлініп алынған цианобактериялардың таксономиясын анықтау;
- в) Цианобактериялардың өнімділігін және гетероциста түзуін азотсыз ортада зерттеу;

Ұсынылатын негізгі әдебиет: 45 атау

Дипломдық жұмысты дайындау
КЕСТЕСІ

Бөлімдер атауы, қарастырылатын мәселелер тізімі	Ғылыми жетекші мен кеңесшілерге көрсету мерзімдері	Ескерту
Тақырыптар бойынша әдебиетке шолу, мақалалар оқу, аудару	Қаңтар	-
Лабораторияға келу, дипломдық жұмыстың жазылу ретімен танысу, әдістермен танысу, жұмысқа кіріспе	Қараша-Ақпан	-
Тақырыптар бойынша қолданылған әдістерді дипломдық жұмысқа қосу	Наурыз	-
Алынған нәтижелерді талқылау, дипломдық тақырып бойынша студенттер мен жас ғалымдардың халықаралық ғылыми конференциясына тезис дайындау	Наурыз-Сәуір	-

Дипломдық жұмыс бөлімдерінің кеңесшілері мен норма бақылаушының аяқталған жұмысқа қойған қолтаңбалары

Бөлімдер атауы	Кеңесшілер, аты, әкесінің аты, тегі (ғылыми дәрежесі, атағы)	Қол қойылған күні	Қолы
Норма бақылау	Қосалбаев Бекжан Дүйсенұлы (Ph.D. доктор)	27.05.22	
Ғылыми кеңесшісі	Қосалбаев Бекжан Дүйсенұлы (Ph.D. доктор)	27.05.22.	

Ғылыми жетекші  Ph.D. доктор Қосалбаев Б.Д.

Тапсырманы орындауға алған білім алушы

 
Әділ Б.О. және Кажиханова А.Б.

Күні

" 27 " 05. 2022

Аңдатпа

Тақырыбы. Цианобактериялардың активті штаммдарын бөліп алу және оны агробиотехнологияда қолдану.

Зерттеу мақсаты. Цианобактериялардың штаммдарын іздеу және бөлу, олардың қасиеттерін зерттеу, ауыл шаруашылығында қолдану тәсілдерін зерттеу.

Міндеттері.

1. Цианобактериялардың дақылдарын күріш алқаптарынан бөліп алу.
2. Бөлініп алынған цианобактериялардың таксономиясын анықтау.
3. Цианобактериялардың өнімділігін және гетероциста түзуін азотсыз ортада зерттеу.

Зерттеу әдістері: Микробиологиялық, альгологиялық, биотехнологиялық, молекулалалық генетикалық, агротехникалық және физикалық, химиялық әдістер.

Алынған нәтижелер. Таңдалып алынған *Anabaena* sp. В1-4 және *Anabaena* К-31 штамдарының биомассасы негізінде алынған суспензияның ауылшаруашылық өсімдіктерінің өнімділігіне оң әсері анықталынды

Дипломдық жұмыс қысқартылған сөздерден, кіріспе, әдебиетке шолу, зерттеу материалдары мен әдістері, зерттеу нәтижелері және оларды талқылау, қорытынды және 45 пайдаланылған әдебиеттерден тұрады. Жұмыстың көлеміне 2 кесте, 12 сурет және 1 қосымша бет кіреді.

Аннотация

Тема. Выделение активных штаммов цианобактерий и их применение в агrobiотехнологии.

Цель исследования. Поиск и выделение штаммов цианобактерий, изучение их свойств, изучение способов применения в сельском хозяйстве.

Задачи.

1. Выделение культур цианобактерий из рисовых полей.
2. Определение таксономии выделенных цианобактерий.
3. Исследование продуктивности цианобактерий и образования гетероцисты в безазотной среде.

Методы исследования: микробиологические, альгологические, биотехнологические, молекулярно-генетические, агротехнические и физические, химические методы.

Полученные результаты. Отобранная *Anabaena* sp. Установлено положительное влияние суспензии, полученной на основе биомассы штаммов В1-4 и *Anabaena* К-31, на продуктивность сельскохозяйственных растений

Дипломная работа состоит из сокращенных слов, введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов исследования и их обсуждения, заключения и 45 использованной литературы. Объем работы включает 2 таблицы, 12 рисунков и 1 вкладыш.

Annotation

Theme. Separation of active strains of cyanobacteria and their use in agrobiotechnologies.

The purpose of the study. Search and distribution of cyanobacteria strains, study of their properties, study of methods of application in agriculture.

Responsibilities.

1. Separation of cyanobacteria crops from rice fields.

2. Determination of the taxonomy of isolated cyanobacteria.

3. Study of the productivity of cyanobacteria and the formation of heterocysts in a nitrogen-free environment.

Research methods: microbiological, algological, biotechnological, molecular genetic, agrotechnical and physico-chemical methods.

Results obtained. *Anabaena chodatii* sp. The positive effect of the suspension on the yield of agricultural plants obtained on the basis of biomass of BL-4 and *Anabaena* K-31 strains was revealed.

The dissertation consists of abbreviations, introductions, reviews of literature, materials and research methods, research results and their discussion, conclusions and 45 sources used. The scope of work includes 2 Tables, 12 figures and 1 additional page.

Мазмұны

	БЕЛГІЛЕУЛЕР МЕН ҚЫСҚАРТУЛАР.....
	КІРІСПЕ.....
I	ЦИАНОБАКТЕРИЯЛАРДЫҢ АКТИВТІ ШТАММДАРЫН БӨЛІП АЛУ ЖӘНЕ ОНЫ АГРОБИОТЕХНОЛОГИЯДА ҚОЛДАНУ ЖҰМЫСЫ БОЙЫНША ӘДЕБИЕТТЕРГЕ ШОЛУ..
1.1.	Цианобактериялардың биоалуантүрлілігі және систематикасы.....
1.2.	Цианобактерия – биотехнологиядағы маңызды зерттеу нысаны.....
1.2.1	Цианобактериялардың агробиотехнологиядағы маңызы.....
1.2.2	Цианобактерияның биотыңайтқыш ретіндегі маңызы.....
1.3.	Цианобактериялардың азот фиксациясы
1.3.1	Белсенді азот фиксациялаушы цианобактериялық штаммдар.....
1.3.2	Азот фиксациясының биохимиялық негіздері.....
1.3.3	Нитрогеназа ферменті.....
1.3.4	Ауыр металдардың азот фиксациясындағы маңызы (W,Fe,Cd т.б.)...
II	Зерттеу объектілері мен әдістері.....
2.1.	Зерттеу объектісі.....
2.2.	Цианобактериялар штаммдарын оқшаулау және дақылдау.....
2.3	Цианобактериялар штаммдарын түрлік құрамын анықтау.....
2.4	Микробалдырлар жасушаларын сандық есепке алу және биомасса өсуінің өнімділігін анықтау әдістері.....
2.5.	Гетероцист түзілу жиілігін анықтау
2.6.	Нитрогеназа белсенділігін ацетилен әдісімен анықтау.....
2.7.	Күріш көшеттерін өсіру тағы зерттеу.....
III	Зерттеу нәтижелері және талқылаулар.....
3.1.	Цианобактериялардың белсенді дақылдарын күріш алқаптарынан бөлу.....
3.2.	Таңдалған штаммдарды генетикалық сәйкестендіру және филогенетикалық ағаштың қалыптасу.....
3.3.	Цианобактериялардың бөлінген түрлердің азотсыз ортадағы өнімділігін зерттеу.....
3.3.1	Бөлініп алынған цианобактерия штамдарының биомассасының күрішке әсерін зерттеу.....
	Қорытынды.....
	Пайдаланылған әдебиеттер тізімі.....

БЕЛГІЛЕУЛЕР МЕН ҚЫСҚАРТУЛАР

C_2H_2 – ацетилен

H_2 – сутек

LHb– леггемоглобин

N_2 аза – нитрогеназа

N_2 –азот

NCBI– Ұлттық биотехнологиялық ақпарат орталығы

NH_3 –аммиак

NH_4 –аммоний

pH–сутектік көрсеткіш

АТФ – аденозинтрифосфат

ДНК – дезоксирибоза нуклеин қышқылы

РНҚ– рибонуклеин қышқылы

ЖҰМЫСТЫҢ ЖАЛПЫ СИПАТТАМАСЫ

Зерттеу тақырыбының өзектілігі: Биотехнологияны дамытудың басым бағыттарының бірі биологиялық белсенді заттардың жаңа дәстүрлі емес көздерін іздеу және зерттеу болып табылады. Цианобактериялар құнды биотехнологиялық өнімдер және олар оңай сіңетін ақуыздардан, липидтерден және полисахаридтерден басқа, А, С, Е, В дәрумендері, полиқаньқпаған май қышқылдары (гамма-линолен қышқылы көп), каротиноидтар, хлорофилл, фикоцианин, сонымен қатар макро және микроэлементтер сияқты биологиялық белсенді қосылыстардың ерекше үйлесімімен сипатталады. Цианобактериялар биотехнологиялық өнеркәсіптің биоотын, био тыңайтқыштар, құс шаруашылығы мен мал шаруашылығына арналған жемшөп, сондай-ақ фармацевтикалық және косметикалық өнеркәсіпке арналған шикізат өндірісі сияқты салаларында қолданылады. Аталмыш өнеркәсіптер ішінде цианобактерияларды агротехнология саласында қолдану перспективасы ерекше қызығушылық тудырады.

Агротехнология саласының өзекті мәселесі-оны экологияландыру, топырақ ресурстарын және оның әлеуетін сақтау және тиімді құнарлылығын арттыру үшін пайдалануды қамтиды. Мәселені шешудің ең тиімді жолы топырақтың микробтық компоненттерін пайдалану болып табылады. Осыған байланысты фототрофты микроорганизмдердің ажырамас және үлкен тобы - цианобактериялар аталмыш мәселені шешудің негізгі құралы болмақ. Ең алдымен, цианобактерияларға азотты бекітудің болуына және әртүрлі топырақ пен гидротермиялық жағдайларға бейімделудің кең спектріне байланысты назар аударылған болатын. Қолданбалы пайдалану тұрғысынан олар технологиялық болып табылады, оған арзан өсіру ортасы (органикалық қосылыстар мен минералды азот көздерінің болмауы) және қымбат жабдықты қажет етпейтін кең дақылдарда да биомассаның тез жиналуы кіреді. Сонымен бірге, цианобактерияларды зерттеудің жалпы фонында күріш алқаптарынан басқа агробиотехнологияда жеткілікті зерттелген жоқ. Сондықтан организмдердің осы тобына практикалық тұрғыдан назар аудару олардың өсімдіктерге әсерін және олардың негізінде белсенді препараттарды құру мүмкіндігін зерттеуге бағытталған. Осыған байланысты, бір жағынан, өнеркәсіптік агротехнологияда пайдалану үшін цианобактериялардың жаңа түрлері мен штаммдарын іздеу және сипаттау, екінші жағынан, қазірдің өзінде пайдаланылатын цианобактериялар дақылдарының коллекцияларын жасау және қолдау өзекті болып отыр.

Зерттеу жұмысының мақсаты: цианобактериялардың штаммдарын іздеу және бөлу, олардың қасиеттерін зерттеу, ауыл шаруашылығында қолдану тәсілдері.

Зерттеу жұмысының міндеттері:

1. Цианобактериялардың дақылдарын күріш алқаптарынан бөліп алу.
2. Бөлініп алынған цианобактериялардың таксономиясын анықтау.

3. Цианобактериялардың өнімділігін және гетероциста түзуін азотсыз ортада зерттеу.

Зерттеудің ғылыми жаңалығы

Алғаш рет Қызылорда облысы, Жаңақорған ауданның күріш алқабының альгофлора құрамы зерттелді. Зерттеу нәтижесінде цианобактериялардың 6 альгологиялық және 5 аксеникалық таза дақылдары бөлініп алынды.

Цианобактериялардың *Anabaena* sp. В1-4, *Nostoc* sp. J-14 және *Tolypothrix tenuis* J-1 штамдары идентификацияланып, филогенетикалық талдауы жасалынды.

Азотфиксациялау қабілеті жоғары *Anabaena variabilis* R-I-5 және *Anabaena* sp. В1-4 штамдарының биомассасын күріш (Ақмаржан) сорттарының өнімділігіне әсері;

Зерттеу объектілері

Зерттеу жұмысының объектісі ретінде коллекциялық және әр түрлі экожүйелерден бөлініп алынған цианобактериялардың штамдары қолданылды. Коллекциялық штамдар – *Anabaena* sp. В1-4, *Nostoc* sp. J-14, *Cylindrospermum* sp. J-8, *Anabaena* К-31 және *Tolypothrix* J-1, *Oscillatoria* Sh-11 дақылдары және Ақмаржан күрішінің сорттары қолданылды.

Зерттеу әдістері

Жұмыс барысында микробиологиялық, альгологиялық, биотехнологиялық, молекулалық генетикалық, агротехникалық және физикалық, химиялық әдістер қолданылды.

Жұмыстың ғылыми және практикалық маңызы

Зерттеу жұмыстарының нәтижесі бойынша таңдалып алынған *Anabaena variabilis* R-I-5 және *Anabaena* sp. В1-4 штамдарының биомассасы негізінде алынған суспензияның ауылшаруашылық өсімдіктерінің өнімділігіне оң әсері анықталынды.

Диссертациялық жұмыстың құрылымы мен көлемі

Диссертациялық жұмыс қысқартылған сөздерден, кіріспе, әдебиетке шолу, зерттеу материалдары мен әдістері, зерттеу нәтижелері және оларды талқылау, қорытынды және 45 пайдаланылған әдебиеттерден тұрады. Жұмыстың көлеміне 2 кесте, 12 сурет және 1 қосымша бет кіреді.

І ЦИАНОБАКТЕРИЯЛАРДЫҢ АКТИВТІ ШТАММДАРЫН БӨЛІП АЛУ ЖӘНЕ ОНЫ АГРОБИОТЕХНОЛОГИЯДА ҚОЛДАНУ ЖҰМЫСЫ БОЙЫНША ӘДЕБИЕТТЕРГЕ ШОЛУ

1.1 Цианобактериялардың биоалуантүрлілігі және систематикасы

Цианобактериялар немесе көк жасыл балдырлар — фотосинтезге қабілетті, оттегінің бөлінуімен бірге жүретін ірі грам-теріс бактериялардың бөлімі. Цианобактериялар ежелгі микроорганизмдерге жақын, олардың құрылысы (строматолиттер, жасы 3,5 миллиард жылдан асады) жер бетінде табылған. Бұл оксигендік фотосинтезге қабілетті жалғыз бактериялар. Цианобактериялар ең күрделі ұйымдастырылған және морфологиялық тұрғыдан сараланған прокариоттарға жатады.

Морфологиялық тұрғыдан цианопрокариоттар әртүрлі және полиморфты топ болып табылады. Олардың морфологиясының жалпы белгілері тек флагелланың болмауы және жасуша қабырғасының болуы (пептидогликаннан тұратын гликокаликс). Қалыңдығы 2-200 нм пептидогликан қабатының үстінде сыртқы мембрана болады. Жасушалардың ені немесе диаметрі 0,5 мкм-ден 100 мкм-ге дейін өзгереді. Цианобактериялар-бір жасушалы, жіп тәрізді және колониялық микроорганизмдер. Кейбір гетероцист және гормонгония сичқты азотты бекітетін цианобактериялар мамандандырылған жасушалардың дифференциациясына — қалыптасуына қабілетті. Гетероцисттер азотты бекіту функциясын орындайды, ал басқа жасушалар фотосинтез жүргізеді.

Теңіз және тұщы су, топырақ түрлері, симбиозға қатысушылар мұхиттық фитопланктонның едәуір бөлігін құрайды. Қалың бактериялық төсеніштерді қалыптастыруға қабілетті. Кейбір түрлер улы (аплизиатоксин, цилиндропермопсин, үй қышқылы, микроцистин, нодулярин, неосакситоксин, сакситоксин сияқты токсиндерді шығарады) және шартты қоздырғыштар (мысалы, анабаена). Балықтардың жаппай қырылуына және жануарлар мен адамдардың улануына әкелетін гүлденетін судың негізгі қатысушылары. Бірегей экологиялық жағдай оттегінің фотосинтетикалық өндірісі және атмосфералық азоттың бекітілуі секілді екі үйлесімсіз қабілеттердің болуымен байланысты.

Бір немесе бірнеше жазықтықтағы екілік бөліну, бірнеше бөліну. Оңтайлы өсу жағдайында бір клеткалы формалардағы өмірлік цикл 6-12 сағатты құрайды. Цианобактериялар алгологтардың (физиологиялық жағынан эукариоттық балдырларға ұқсас организмдер) және бактериологтардың (прокариоттар сияқты) зерттеу нысаны болып табылады. Жасушалардың салыстырмалы түрде үлкен мөлшері және балдырларға ұқсастық олардың өсімдіктер құрамында ("көк жасыл балдырлар") бұрын қарастырылуына себеп болды. Осы уақыт ішінде 175-ке жуық ұрпақта 1000-нан астам түр альгологиялық тұрғыда сипатталған. Бактериологиялық әдістермен қазіргі уақытта 400-ден аспайтын түрлердің бар екендігі расталды. Цианобактериялардың басқа бактериялармен биохимиялық, молекулалық-генетикалық және филогенетикалық ұқсастықтары қазіргі уақытта дәлелдемелердің қатты денесімен расталады.

Цианобактериялардың биоалуантүрлілігін бағалау үшін олардың маңызды цитологиялық, метаболикалық және физиологиялық қасиеттерін, сонымен қатар олардың табиғи жағдайларда таралуын сипаттау керек[1].

Цианобактериялардың цитологиясы.

Барлық цианобактерияларда грам-теріс қабық бар және үнемі ламеллар немесе тиракоидтар болады. Жасуша мөлшері 0,5-тен - 100 мкм-ге дейін жетеді. Бір жасушалы цианобактериялар сфералық, эллипсоидты, өзек тәрізді (сирек иілген) немесе шыбық тәрізді, жалғыз немесе капсуламен немесе қақпақпен тұрақтандырылған агрегатты формада кездеседі. Жіп тәрізді немесе трихомалық цианобактерияларда цилиндр тәрізді, жалпақ немесе лобты пішінді интеркалярлық жасушалар және дөңгелек немесе конустық (сирек иілген) ұшы бар терминал жасушалары болады. Трихомалар түзу немесе спиральды, бір қатарлы немесе көп қатарлы, қақпақпен қоршалған немесе қақпақсыз, жалған немесе шынайы бұтақтармен кездеседі. Кейбіреулері стресс жағдайында кисталардың (акинеталардың) физикалық-химиялық зақымдалуына төзімді миниатюралық трихомаларды (гормогонияларды), сондай-ақ N₂ ассимиляциялайтын diazoциттерді (гетероцисттер) құрайды[2].

Цианобактериялардың систематикасы.

Цианобактериялар 5 квазитахсономиялық топқа немесе субсекцияға бөлінген. Олардың анықтамалығы үшін дихотомиялық кілт қолданылады: морфотип бір жасушалы немесе квази-көп жасушалы (трихомалық); беоциттердің пайда болуы бойынша олардың бөлінуі екілік немесе көпше болып келеді[3]. Цианобактериялардың бес тобы бар:

I Хроококкалар-шар тәрізді жеке жасушалар. Олар бөлініп ажырамай, сілемеймен қапталады. Балшықты жерлерде, жерасты ыстық суларда, тастың бетінде тоқтау суда өседі;

Құрамында 14 форма-буыны бар. Бұл екілік эквивалентті немесе екілік емес эквивалентті бөлінетін бір жасушалы цианобактериялар.

Префабрикалық босану үшін хроококкалар әр түрлі жасуша мөлшері мен әр түрлі молярлық жұптары бар штамдарды қамтитын кластерлік бөлім ұсынылады. Кәдімгі цианобактериялардан басқа, бұл бөлікке бір клеткалы прохлорофиттер прохлорон және прохлорогус ұрпақтары кіреді[4].

II қосалқы бөлім немесе "плеврокапсалар" тәртібі.

Бұл бөлім pleurocapsa тобы деп аталады. Ол 6 формадан-туыстан, сондай-ақ Pleurocapsa құрама тобынан тұрады, ол әртүрлі мөлшердегі жасушалар мен әр түрлі молярлық жұптары бар штамдардың 3 кластеріне бөлінеді. Бұл бір клеткалы цианобактериялар, олар бірнеше рет беоциттерге бөлінеді. Жетекші диагностикалық белгілер: қақпақтың болмауымен немесе пайда болуымен байланысты беоциттердегі қозғалғыштықтың болуы немесе болмауы; көптіктен басқа екілік бөліну мүмкіндігі; бөлу жазықтығын 90° - қа дәйекті түрде қайта бағыттау, бұл жасушалардың текше пакеттерінің пайда болуына әкеледі.

III қосалқы бөлім немесе "осцилляторлар" реті.

Тұқымдас бойынша негізгі атауы осцилляторлар. Құрамында 17 "форма-ұрпақ" бар. Бұл трихомалық цианобактериялар, олар акинеттер мен

гетероцисттерді құра алмайды. Бұл цианобактериялардың нақты тармақталуы жоқ, дегенмен кейбір жағдайларда қақпақ пайда болған кезде жалған тармақталу байқалады. Жетекші диагностикалық белгілер: жасушаның дискоидты формасы (осцилотория тұқымдасы); сопақша немесе лоб тәрізді (стариа тұқымдасы) жасушаның көлденең қимасы; газ везикулаларының агрегаттарының болуы (лимнотрикс тұқымдасы); көршілес трихомалық жасушалар арасында тарамдардың болуы (анабаевна тұқымдасы) немесе болмауы (гейтлерима тұқымдасы); "бревитрихомиа" немесе 2-10 жасушадан олигомерлік трихомалардың пайда болуы (борзиа тұқымдасы). Кәдімгі цианобактериялардан басқа, осы секцияға жіп тәрізді прохлорофит тұқымдасы кіреді[5].

IV бөлім немесе "ностоктар" тәртібі.

Ностоктар тәртібі нақты тармақталуға қабілетсіз трихомалық цианобактерияларды біріктіреді. Стресс жағдайында олар акинеттер мен гетероцисттерді, сондай-ақ онтогенезде қоныс аудару сатысының рөлін атқаратын сараланған кәметке толмаған трихомаларды (гормогонияларды) құрайды[6].

Бұл қосалқы бөлім екі бөлікке бөлінеді-IV.I (9 "форма-ұрпақ") және IV.II (3 "форма-тұқым"). Бірінші жағдайда трихомалар ешқашан базеоапикальды полярлықты көрсетпейді, ал гормогония, әдетте, пайда болмайды. Екінші жағдайда трихоманың полярлығы көрінеді және гормогония ата-аналық трихомадан әлдеқайда аз қалыптасады. Жетекші диагностикалық белгілер: жасушаның дискоидты формасы (нодулария тұқымдасы); трихоманың спирализациясы (цианоспира тұқымдасы); жалған тармақталу қабілеті (цитонема тұқымдасы); трихомаларды байламдарға біріктіру (афаниземон тұқымдасы); ірі гетероцисттердің (анабаевнопсис тұқымдасы) және ірі цилиндрлік акинеттердің пайда болуы; жылжымалы (носток тұқымдасы) немесе қозғалмайтын (калотрикс тұқымдасы) гормогония. Құрама ұрпақтардың өкілдері мысалы, анабаевна тұқымдасы әртүрлі мөлшердегі жасушалары, әр түрлі молярлық және геномның әртүрлі мөлшері бар штамдар кластерлеріне бөлінеді.

V қосалқы бөлімі немесе "стигонемалар" тәртібі[7].

Бұл бөлімдегілер цианобактерияларды нағыз тармақталған трихомалармен біріктіретін 6 "форма-ұрпақтан" тұрады. Олар гетероцисттер мен акинеттер, сондай-ақ арногормогониялар құра алады. Бұл морфологиялық жағынан ең күрделі цианобактериялар[8].

Сонымен, цианобактериялардың таксономиясының ерекше ерекшелігі - бұл түр категориясын қолданудан бас тарту және оның виолярлық эпителийдің штамм индексі алады.

Қазіргі уақытта кеңінен қолданылатын таксономиялардың біріне сәйкес цианобактериялардың 8 тәртібі бөлінеді, оның ішінде 300-ден астам ұрпақ бар. Жаңа жіктеу жүйесі аясында цианобактериялардың бірқатар "ескі" түрлерінің/ұрпақтарының таксономиялық жағдайы қайта қаралды, олар үшін морфологияда үлкен ұқсастық молекулалық филогения деректерімен сәйкес келмеді.

Ұлттық биотехнологиялық ақпарат орталығы мәліметтері бойынша, бүгінгі күні цианобактериялардың 1626 өкілінің толық геномдары ретке келтірілген.

1.2 Цианобактерия – биотехнологиядағы маңызды зерттеу нысаны

Цианобактериялар-морфологиялық және физиологиялық тұрғыдан өте әр түрлі, грам-теріс жасуша қабырғасы бар оксигендік фототрофты прокариоттар. Пептидогликан қабатының үстінде цианобактериялардың сыртқы мембранасы бар, оларды жасушадан тыс қақпақ, гликокаликс (капсула) немесе шырыш қоршауы мүмкін. Көптеген цианобактериялардың жарық жинайтын пигменттеріне фикобилипротеиндер жатады: фикоцианин, аллофикоцианин, фикоэритрин, фикоэритроцианин (кейбіреулерінде), хлорофилл *a* және каротиноидтар. Цианобактериялардың фотосинтез өнімдері гликоген түрінде сақталады; құрамында поли- β -гидроксibuтират болуы мүмкін[9].

Цианобактериялар әр түрлі экологиялық қуыстарда өмір сүреді, онда жарық жоғары және өте төмен болуы мүмкін, температурасы 2 °C-тан 74 °C-қа дейін, ал кейбіреулері эукариоттар мен азотты бекітетін экзосимбиондардың эндосимбиондары болып табылады. Цианобактериялардың кейбір топтарының өкілдері мамандандырылған жасушалар — гетероцист және акинет қалыптастыру үшін саралауға қабілетті. Флагелла жоқ, бірақ көптеген ұрпақтар мен түрлер үшін, әсіресе жіп тәрізді формалар жылжымалы қозғалыспен сипатталады.

Цианобактериялар жердің геохимиялық және биосфералық келбетін қалыптастыруға маңызды үлес қосты. Протерозойдағы цианобактериялардың дамуымен атмосферада қазіргі заманға жақын оттегі деңгейінің пайда болуы және аэробты организмдердің эволюциясын қамтамасыз ететін жағдайлардың пайда болуы байланысты деп саналады[10]. Сонымен қатар, цианобактериялардан эукариоттық балдырлар мен өсімдіктердің пластидтері пайда болды. Цианобактериялар сондай-ақ көміртегі, азот және басқа да көптеген элементтердің биогеохимиялық циклдерінің конъюгациясына қатысады, тығыз түзілуі мүмкін[11].

Цианобактериялар іргелі биологиялық проблемаларды және қолданбалы биотехнологиялық міндеттерді шешу үшін белсенді қолданылады.

Цианобактериялар биотехнологияның көптеген салаларында пайдаланылады. Цианобактериялар мен микробалдырлар адамдар үшін ақуыздың, дәрумендердің және полиқаньқаған май қышқылдарының құнды көзі ретінде, сондай-ақ құс және мал шаруашылығы үшін жем (ақуыз, дәрумендер мен минералдар) жасау немесе байыту мақсатында қолданылады[12].

Цианобактериялар мен микробалдырларды қолдану адам ауруларын емдеуде және алдын-алуда тиімді, өйткені олардың құрамында омега-3 май қышқылдары, соның ішінде медицинада жүрек-тамыр аурулары, астма, мигрен, артрит, псориаз және т.б. емдеу үшін қолданылатын эйкозапентан қышқылы бар

[13]. Осыған байланысты цианобактериялар мен микробалдырлар фармацевтика және косметика өнеркәсібі үшін шикізат ретінде де белсенді қолданылады [14]. Кейбір балдырлар мен цианобактерияларды биоотын алу үшін қолдануға болады. Цианобактериялардың таралу аймағына байланысты түрлері 1-суретте көрсетілген.



Сурет 1. Цианобактериялардың таралу аймағына байланысты түрлері [15].

Микробалдырлардың липидтерін биоотын ретінде пайдалануға көп көңіл бөлінеді [16]. Цианобактериялар сонымен қатар күн энергиясының биоконверсиясына негізделген молекулалық сутегі өндірушісі ретінде қарастырылады, өйткені сутегі өте перспективалы және сатылатын балама энергия көзі болып табылады [17].

Екінші метаболиттердің бағытталған биосинтезі үшін цианобактериялар мен микробалдырларды пайдалану мүмкіндігі, әсіресе бактерияға қарсы, ісікке қарсы, антиоксидантты биологиялық белсенді субстанцияларды алу және басқа да қасиеттері ерекше қызығушылық тудырады [14].

Кейбір носток, формициум сияқты балдырлар мен цианобактериялар альгоиндикацияда, яғни қоршаған ортаның ластану деңгейін бағалау үшін қолданылуы мүмкін. Сондай-ақ, балдырлар мен цианобактериялар негізінде өнеркәсіптік, ауыл шаруашылығы, тұрмыстық сарқынды суларды тазарту үшін жаңартылатын биомассаны одан әрі қайта өңдеу үшін препараттар белсенді әзірленуде [13]. Мұнай және мұнай өнімдерімен ластанған топырақты биоремедиациялау үшін цианобактериялық қауымдастықтардың биодеградациялық қабілеттерін қолдануға болады. Цианобактерияларға бай микробтық төсеніштер мұнаймен ластанған суларды тазартуды тездетеді. Жерлерді, мысалы, өнеркәсіптік үйінділерді, техногендік бұзылған аумақтарды қалпына келтіруге арналған препараттар әзірленуде.

Цианобактерияларды ластаушы заттармен тазарту үшін қолдануға болатындығымен қатар, олар сулы ортадағы тиімді биологиялық металл сорбенттері болып табылады. Цианобактериялардың көпшілігі азотты бекітуге, фитостимуляторлық белсенділікке қабілетті, сондықтан олар био тыңайтқыштар ретінде қолданылады[17].

1.2.1 Цианобактериялардың агробиотехнологиядағы маңызы

Цианобактериялардың топырақ өнімділігін сақтаудағы және арттырудағы рөлі жақсы белгілі. Олар топырақтағы атмосфералық азоттың едәуір мөлшерін тіркейді, органикалық құрамды қосады, топырақта өсімдіктердің өсуін ынталандыратын гормондарды шығарады және топырақтың агрегациялық қасиетін арттыратын жасушадан тыс полисахаридтерді шығару арқылы топырақтың су өткізгіштік қабілетін жақсартады.

Қазіргі таңда көптеген елдерде микро және уытсыз азотфиктерді сәтті қолдана бастады, олар цианобактерияларды өсірді, бұл топырақтың және дақылдардың құнарлылығын арттыруға мүмкіндік береді. Іс жүзінде бұл үшін екі тәсіл өзгереді. Біріншісі-топырақта еритін микробалдырлардың кесектерінің белсенділігін арттыру, оған минералды тыңайтқыштарды қолдану, судың тепе-теңдігін шектеу және реттеу арқылы қол жеткізіледі.

Бұл әсіресе биомасса микроөсімінің бастапқы кезеңдерінде қарқынды жүреді. Ол өлгеннен кейін топыраққа органикалық заттар ғана емес, макро және микроэлементтер де енеді.

Екінші бағыт-бағытталған альголизация, яғни топыраққа микробалдырлар мен азотты бекітетін цианобактериялардың тірі дақылдарын енгізу. Оны егу алдында, тұқымдармен себу кезінде, сондай-ақ вегетациялық өсімдіктердің әртүрлі кезеңдерінде жүргізуге болады. Топырақты альголизациялау үшін хлорелла, сценедесмус ұрпақтарынан алынған асыл микробалдырлар, сондай – ақ атмосфералық азотты бекітуге қабілетті улы емес цианобактериялар-носток, анабена және т.б. қолданылады [18].

Алғаш рет топырақты альголизациялау мәселелері өткен ғасырдың 30-шы жылдары Дэннің жұмыстарында көрініс тапты. Ол Үндістандағы егістіктегі күріштің тыңайтқыштарды қолданбай моно мәдениеті кезіндегі тұрақтылығына назар аударды және бұл әсерді егістіктерде өмір сүретін көк балдырлармен байланыстырды. Осыдан кейін күріш өсіретін елдердің азотфикалық цианобактериялар белсенді зерттеле бастады. Деректер қарама-қайшылыққа ие болды, өйткені микро балдырлардың енгізілуі әрдайым урның күтілетін өсуіне әкелмеді. Оң нәтиже топырақтың рН – на байланысты екендігі белгілі болды-цианобактерияның қышқыл ортасында нашар жұмыс істейді [19]. Болашақта топырақта азот жеткілікті мөлшерде болса, олар оны тұтынушылар болып табылады және ауылшаруашылық өсімдіктері бар заттарға жетекшілік етеді. Топырақта азоттың болмауымен цианобактериялар, керісінше, атмосфералық

азотты сіңіре бастады. Қазіргі уақытта бактериялардың бұл түрі күріш өсіруде кеңінен қолданылады және олардың оң әсері күмән тудырмайды.

Оңтүстік елдерде күріш өсіру үшін азолла сулы (өзгермелі) папоротник жиі қолданылады [20]. Оның ерекшелігі-атмосфералық азотты бекітетін анабенаның көк жасыл балдыры бар симбиоз. Алғаш рет вьетнамдық шаруа Бахен күріш өсіруде азоллды қолданды. Егін соншалықты үлкен болғандықтан, Азолла құдайының құрметіне пагода салынды. Балдырлар су басқан күріш алқаптарына жіберілетін шағын су қоймаларында таралады. Ыстық жылдардың басталуымен, күрішті тегістеу кезеңінде папоротниктің жасыл кілемі өліп, өсімдік массасы минералданады. Өсімдік вегетациялық кезеңде цианобактериялармен симбиоздың арқасында 1 га-ға шамамен 120 кг азот жиналады. Сонымен қатар, папоротник топырақты ұрықтандыратын көптеген органикалық заттарды шығарады.

Азот түзетін цианобактерияны енгізу тұзды топырақта өсірілген кезде мақта құнарлылығын жақсартады. Сонымен қатар, қоспасы монокультмен салыстырғанда тиімді. Агротехника саласында биотыңайтқыштарды қалай пайдалану керектігі 2-суретте көрсетілген.



Сурет 2. Биотыңайтқыштарды агротехникада пайдалану жолдары[15].

Топырақтың альголизациясы басқа ауылшаруашылық дақылдарына да пайдалы. Атап айтқанда, Молдавия ғалымдары мирабелла сортының жылыжайларына отырғызғаннан кейін 10-шы күні топыраққа *postoc + cylindrospermum + anabaena* балдырларын енгізу топырақтағы азот мөлшерін реттеуге, сондай-ақ оның қышқылдығын өзгертуге ықпал ететінін көрсетті. Альголизация қияр өсімдіктерінің (30,5–46,4%), соцветия санының (12,3–44,4%) және жемістердің (27,0%) өсуіне әкелді [21]. Жасыл микробалдырлардың

суспензиясының топырақ құнарлылығына және дақылдарға биоайтқыш ретінде пайдалы әсерінің мысалы ретінде орман қараңғы топырағында көктемгі арпаны өсіру туралы мәліметтерді келтіруге болады. Жаңбыр алдында әкелінген хлорелла штаммы қолданылған нұсқаларда белсенді өсу және жер үсті массасы мен арпа дәнінің шығымдылығы байқалды. Бұл жағдайда хлорелланы енгізу топырақтағы гумин қышқылдарының мөлшерін арттырды. Авторлар мұны топырақтағы микро биологиялық және биохимиялық процестердің қарқынды дамуымен түсіндіреді. Нәтижесінде оңай алынатын гу заттар пайда болады, олардың көпшілігі гидролизденетін форалар, неғұрлым қозғалмалы, микроорганизмдермен және жоғары өсімдіктермен оңай сіңетін болады.

Топыраққа енгізілген микро балдырлар мен азотты түзетін цианобактериялар бізге таныс органикалық тыңайтқыштарға қарағанда жебеде ыдырайды, топырақты арамшөптердің тұқымымен, зиянды жәндіктердің личинкаларымен және фитопатогенді саңырауқұлақтардың спораларымен сеппейді. Өкінішке орай, оларды Қазақстанда биотыңайтқыш ретінде пайдалану бойынша зерттеулер әлі жүргізілген жоқ. Бірақ олар үшін алдын – ала сілтемелер бар-институттың алгологиялық жинағында қажетті микробалдырлар мен азотты бекітетін цианобактериялар бар[22].

1.2.2 Цианобактерияның биотыңайтқыш ретіндегі маңызы

Топырақты азотпен байыту үшін цианобактерияларды немесе көк балдырларды пайдалану мүмкіндігі бірқатар елдерде зерттелуде. Аль-голизация, яғни осы микроорганизмдердің мәдениетін топыраққа енгізу субтропика аймағында, негізінен күріш алқаптарында кеңінен зерттелді. Балдырлар гигрофильді және жеткіліксіз ылғалды топырақта нашар көбейеді. Күріш алқаптарының суында цианобактериялар ұзақ уақыт бойы белсенді көбейе алады.

Азот фиксациялайтын көк-жасыл балдырлардың 130-ға жуық түрі белгілі. Олар әртүрлі, бірақ кейбір қасиеттері. Мысалы, цилиндропермум үшін жарық аз болса, аулосира қарқынды жарықта жақсы дамиды. Осыған байланысты жергілікті жағдайларға қолайлы мәдениетті таңдау қажет. Көбінесе толипотрикс тениус, анабаевна цилиндрика және носток альголизациясы үшін қолданылады[23].

Әдетте күріш алқаптарының топырағына немесе суына цианобактерияларды енгізу жақсы нәтиже береді. Бұл микроорганизмдер азоттың көп мөлшерін жинайды, азотты фиксациялайды, биологиялық белсенді заттар шығарады және топырақты органикалық заттармен байытады. Вегетациялық кезеңде цианобактериялар 1 га немесе одан да көпке 50 кг-ға дейін азотты байланыстырады. Азоттың осы мөлшерінің жартысы дақылдарға сіңеді. Бекітілген азот аминқышқылдары түрінде өмір сүрген кезде және өлгеннен кейін ішінара жасушалардан шығарылады.

Үндістанда, Қытайда және альголи тропикалық аймағының басқа елдерінде кеңінен қолданылады. Көбінесе ол азот тыңайтқыштарын алмастырады, оларды сатып алу шаруалар үшін қиын. Аталған елдердің ғылыми-зерттеу мекемелерінде дақылдары дайындалатын Өндірістік қондырғылар бар. Цианобактериялардың негізгі бөлігін ғылыми-зерттеу мекемесінен алынған мәдениет кіретін арнайы бассейндерде алады. Үш апта ішінде тез көбеюдің арқасында 1 га бассейнен цианобактериялардың 15 тоннаға дейін массасын алуға болады[24].

Оңтүстік климат жағдайлары үшін азолла тұқымының су папоротник үлкен қызығушылық тудырады. Бұл өсімдіктің түрлері кейбір қасиеттерімен ерекшеленеді. Әдетте азолла тұқымының өкілдері атмосфералық азотты бекітетін анабаева азолла цианобактериясымен симбиозда тұрады. Бұл бактериялар тез көбейіп, күріш алқаптарын азотпен байытады[25].

Сонымен қатар, өсімдік топырақты ұрықтандыратын Органикалық заттардың көп мөлшерін құрайды. Кейде азолла күрішті үш апта бойы 3-5 см су құйылған чектерде себер алдында өсіріледі. Осы кезеңде балдырлардың массасы 10 т / га жетеді және құрамында шамамен 20-25 кг азот бар.

Цианобактериялар (көк-жасыл балдырлар) су қоймаларында да, топырақта да кең таралған. Сонымен қатар, олардың таралу аймағы тропикалық және субтропикалық аймақтармен шектелмей, қоңыржай климаты бар аймақтарға дейін созылады. Цианобактериялардың ішінде азотты бекітуге қабілетті 40-қа жуық түрі бар. Топырақта көк-жасыл балдырлар жоғарғы 5 сантиметр қабатта локализацияланған.

Ағылшын зерттеушілерінің айтуынша, бидай алқабындағы балдырлардың шикі массасы 80 г / м жетуі мүмкін. Мұндай биомассамен олар бір жылда орта есемен гектарына 25-30 кг азот жинай алады. Кейде қатты жаңбырдан кейін, әсіресе жаздың соңында цианобактериялар 1 - 2 кг/га дейін жетеді.

Насток қоңыр климаты бар жерлерде ең көп таралған көк-жасыл балдырлар. Зерттеулер әртүрлі ұрпақтардың өкілдерімен, бірақ негізінен анабаева, носток, цилиндропорум, толипотрикс және аулоспура цианобактерияларымен жүргізіледі. Цианобактериялардың азотты бекіту қарқындылығына басқа азот түзеткіштер сияқты факторлар әсер етеді: температура, ылғалдылық, рН және т.б. сонымен қатар жарық деңгейі. Балдырлар ПВ-дан 100% ылғалдылықта және ортаның сәл сілтілі реакциясында жақсы дамиды (рН кемінде 7,0). Температураға қатысты суыққа төзімді және термофильді түрлер ерекшеленеді. Бірақ тіпті суыққа төзімді түрлер үшін оңтайлы температура мәндері +20 тоннадан төмендемейді. Көптеген цианобактериялар үшін температура оңтайлы +25, +30 °С. аралығында болады.

Цианобактериялар, азотты бекітетін микроорганизмдердің көпшілігі сияқты, минералды азоттың енгізілуіне теріс әсер етеді[26].

Органикалық азот тыңайтқыштарын қолдану кейде цианобактериялардың өсуін ынталандырады. Сабан мен басқа целлюлоза бар субстраттарды енгізу цианобактериялардың өсуін және олардың азотты бекіту қабілетін 3 еседен астам

арттырады. Көк-жасыл балдырлар фосфат тыңайтқыштарын қолдануға оң әсер етеді.

Цианобактериялардың әртүрлі түрлеріндегі пестицидтерге және химияландырудың басқа құралдарына қатынасы бірдей емес. Мысалы, анабаевна пестицидтердің көпшілігіне өте сезімтал, бірақ толипотрикс және аулосура пестицидтердің кең спектріне өте төзімді.

Қазіргі уақытта көптеген елдерде (АҚШ, Канада, Қытай, Үндістан) цианобактерияларды жасанды өсіру және олардың азотпен байытылған биомассасын биоотын ретінде пайдалану бойынша жұмыстар жүргізілуде. Мысалы, АҚШ - та әзірленген "макроп" биологиялық өнімі топыраққа жүзімдегі суармалы сумен бірге 0,3 кг/га енгізіледі, бұл ретте жүгері түсімі 62 т/га, соя - 0,6 т/га, мақта-0,1 т/га артады.

1.3 Цианобактериялардың азот фиксациясы

Цианобактериялар тобы бір жасушалы, отарлық және жіп тәрізді формалармен ұсынылған. Цианобактериялардың ерекшелігі-олардың жасушаларында жасыл, көк, қызыл және сары төрт фотосезгіш пигменттердің болуына байланысты көк-жасыл түстің бір түрі. Пигменттердің сандық қатынасына байланысты жасушалардың түсі де өзгереді. Цианобактериялардың отарлық формалары жеке жасушалардың шырышының бірігуі нәтижесінде пайда болады. Әдетте, колониялардың белгілі бір формасы жоқ. Жіп тәріздіде бір жіптегі жасушалар бірдей немесе мөлшері мен формасы бойынша әртүрлі болуы мүмкін. Жоғарғы жағында жіп жасушалары жалпы шырышты қабықпен жабылған. Кейбір түрлерде жіптер тармақталуы мүмкін. Көбінесе жасушалардың белгілі бір саны арқылы жіпке орналастырылған гетероцисттердің пайда болуы байқалады. Гетероцисттер вегетативті жасушалардан түзіледі, бірақ мөлшері жағынан олардан едәуір үлкен. Олар тығыз қабыққа ие, бірақ тері тесігі арқылы көрші жасушалармен байланысады. Гетероцисттер азотты бекітуді жүзеге асыратын мамандандырылған жасушалар деп саналады[27].

Олардың ішінде жасушаларда леоглобин түйіндерінің болуы-бактероид мембранасына енетін гем ақуызы (азотты бекітудің ең жоғары қабілетімен сипатталатын бактериалды жасуша) және оттегінің ағынын реттейді. Леоглобин өсімдік жасушасының геномында кодталады, бірақ оның синтезі бактериялар осы жасушаға енгеннен кейін ғана басталады. Цианобактерияларда нитрогеназаны оттектен қорғау механизмі әртүрлі. Азотты бекіту гетероцисттерде, ал фотосинтез қарапайым жасушаларда жүреді. Сондықтан фотосинтез кезінде оттегі азоттың бекітілуін тежемейді. Егер нитрогеназа осы жасушада, атап айтқанда жарма жасушаларында синтезделсе, онда ол жасушадағы оттегінің әсерінен ыдырайды. Сонымен қатар, азотты бекіту гендері өтетін жасушаның өзі азотты бекіту үшін қажет энергияның көп мөлшерін синтездеуге және жұмсауға бейімделмеуі мүмкін[28].

Азотты еркін өмір сүретін цианобактериялармен фиксациялау, кез-келген жағдайда күріш алқаптарында өте маңызды (мұнда олар жылына 1 га үшін 30-50 кг азотты байланыстырады). Таза дақылдарда азотты байланыстыру қабілеті цианобактериялардың шамамен 40 түрінде анықталады [29]. Азот фиксациялайтын цианобактериялардың таксономиялық ерекшеліктері төмендегі 3-суретте көрсетілген.



Цианобактерияштамдары	Цианобактериялардың сипаттамалары
<i>Анабаевна</i> тобы	Жіңішке қабығы бар гетероцистикалық түрлер, белгілі бірпінді мукилагинді колонияларды құрмайды
<i>Носток</i> тобы	Қалың қабығы бар гетероцистикалық түрлер, тармақталмай, белгілі бір пішінді мукилагинді колонияларды құрайды
<i>Аулосира</i> тобы	Қалың қабығы бар гетероцистикалық түрлер, әдетте тармақталмай өседі, агар ортасында диффузды колонияларды құрмайды
<i>Цистейн</i> тобы	Жалпақ тармақталған гетероцистикалық түрлер, полярсыз, агар ортасында барқыт тәрізді сызықтар жасайды
<i>Calothrix</i> тобы	Жалпақ тармақталған, полярлығы бар, агар ортасында барқыт тәрізді форма түзетін гетероцисттік түрлер
<i>Глеотрихия</i> тобы	Белгілі бір пішінді мукилагинді колонияларды құрайтын, полярлығы бар гетероцистикалық түрлер
<i>Фишерелла</i> тобы	Нақты тармақталуы бар гетероцистикалық түрлер
<i>Осцилотория</i> тобы	Вегетативті, жіпшелі, азотфиксациялаушы цианобактериялар тобы

Сурет 3. Азот фиксациялайтын цианобактериялардың таксономиялық ерекшеліктері [30].

Жасуша дифференциациясының ұйымдастырылған формалары тіпті кейбір прокариоттарда да кездеседі, мысалы, көптеген цианобактериялар бөлінгеннен кейін бөлінбейді, ұзындығы бір метрге дейін жіп тәрізді тізбектер түзеді. Тұрақты аралықта мұндай тізбекте атмосфералық азотты органикалық молекулаларға қосуға қабілетті өзгерген жасушалар болады. Бұл бірнеше мамандандырылған жасушалар азотты өздері үшін ғана емес, сонымен бірге метаболизм өнімдерімен алмасатын көрші жасушалар үшін де бекітеді. Алайда, эукариоттық жасушалар осындай еңбек бөлінісінде айтарлықтай үлкен жетістіктерге жетті.

Негізгі механизм күрделі ферментативті жүйе — нитрогеназа көмегімен молекулалық азотты аммиакқа айналдыруға бағытталған. Нитрогеназа жоғары

өсімдіктермен симбиозда өмір сүретін түйін бактерияларында кездеседі және азотты симбиотикалық бекіту процесіне қатысады. Сонымен қатар, еркін өмір сүретін азотты бекітетін бактериялардың организмдерінде (микобактериялар, цианобактериялар, азотобактериялар, спириллалар және т.б.) нитрогеназа симбиотикалық емес бекіту процестерін реттейді. Бұршақ тұқымдас өсімдіктердің 13-нің едәуір бөлігі азоттың симбиотикалық бекітілуіне және айтарлықтай мөлшерде қабілетті. Бұл процесс әсіресе бұршақ, соя және т.б. сияқты мәдени өсімдіктерде тиімді, сонымен қатар азотты симбиотикалық түрде түзете алатын басқа отбасылардың 250-ге жуық өсімдік түрлері белгілі. Азоттың симбиотикалық бекітілуі жыл сайын 1 га топырақты 200 — 300 кг азотқа байыта алады, ал симбиотикалық емес — бар-жоғы 15-30 кг дейін жетеді.

Ең кең стратиграфиялық таралуы көк-жасыл балдырларға тән. Олар прокариоттарға жатады, бұл оларды бактерияларға жақындатады. Бактерияларға тән басқа да белгілер бар жасуша қабырғасының құрылымы, газ вакуолаларының болуы, азотты бекіту мүмкіндігі және т.б. қазіргі уақытта олар цианобактериялар деп аталады. Олар жер бетінде 3 миллиард жылдан астам уақыт болды. Фотосинтез кезінде автотрофты формалар CO_2 қолданады және оттегін шығарады олардың өмірінің арқасында жердің оттегі атмосферасы құрылды. Олардың даму тарихында олар өзгерген жоқ. Көптеген зерттеушілер цианобактериялардың консерватизмін, олардың экологиялық төзімділігін атап өтті. Көк-жасыл түс хлорофилмен бірге көк және қоңыр пигменттердің болуымен анықталады. Кейбір формаларда басқа пигменттер бар — қызылдан қараға дейін. Бұл балдырлар улы, жыртқыш, басқа балдырлар мен зоопланктонның дамуын тежейді, радиорезистентті, қараңғыда, ыстық және суық суларда өмір сүруге бейімделген. Бұл балдырлардың өте маңызды қасиеті-олардың липидтерінің бактерияға қарсы әсері (цианофитин және хлорофиллин). Бұл көк-жасыл (кейбір жасыл балдырлар сияқты) микробтардың жойылуына қарсы тұрақтылықты алдын-ала анықтады [31, 32].

Қазіргі уақытта таза дақылдарды зерттеу нәтижесінде азотты бекіту қабілеті цианобактериялар арасында кең таралғаны белгілі болды. Көптеген зерттелген дақылдардың вегетативті жасушалары анаэробты және микроаэробты жағдайларда нитрогеназа белсенділігін анықтайды. Тек бір дақыл үшін, мысалы, *gloeothoe e* тұқымының өкілдері, вегетативті жасушалардың аэробты жағдайда азотты фиксациялау қабілетін көрсетеді. Жалпы, аэробты жағдайда азотты фиксациялау мәселесі цианобактериялардың едәуір бөлігі белгілі бір типтегі сараланған жасушаларды — гетероцист қалыптастыру арқылы шешіледі, онда молекулалық оттегіге сезімтал молекулалық азотты фиксациялау аппараты белгілі бір ультра құрылымды және биохимиялық қайта құру арқылы шығаратын фотосинтетикалық аппараттан бөлінеді. Осылайша, цианобактериялардың басым көпшілігінің аэробты жағдайда азотты бекіту қабілеті гетероцисттермен байланысты [33].

Әдетте өсу үшін цианобактериялар дәрумендерді қажет етпейді, азот аммоний немесе нитрат түрінде тұтынылады, кейбіреулері молекулалық азотты фиксациялауға қабілетті. Әдетте, олар ассимиляция сульфатын азайтуға

кабілетті. CO₂ автотрофты бекіту Кальвин циклінде жүреді. Кейбір өкілдер жарықта глюкозаны немесе басқа қарапайым органикалық субстраттарды игере алады. Көбінесе жіп тәрізді формалар органикалық қосылыстарды тотықтыру арқылы қараңғыда өсе алады [34].

Кейбір цианобактериялардың жасушаларында нитрогеназаны қорғау N₂ бекіту жүйелері мен оттегімен Фотосинтездің әртүрлі локализациясымен қамтамасыз етіледі. Азотты фиксациялау процесі гетероцистте локализацияланған-физиологиялық және биохимиялық ерекшеліктері айқын анықталған қалың қабырғалы сараланған вегетативті жасуша. Гетероцисттерде молекулалық азотты фиксациялауға жауап беретін ферменттер қалың жасуша қабырғасымен атмосфералық оттегі мен оттегі фотосинтезі кезінде бөлінетін оттектен қорғалған [35].

Гетероцисттер жарық микроскопында зерттеу кезінде қалың жасуша қабырғаларына, әлсіз пигментацияға және жарықты қатты сындыратын полярлы түйіршіктерге назар аударды. Электронды микроскопия олардың жұқа құрылымын зерттеуге мүмкіндік береді. Полярлық түйіршіктерге келетін болсақ, олар цианофициалды-жаңа түйіршіктер болды, грам-теріс жасуша қабырғасының үстінде орналасқан тығыз қабаттар глюкоза, галактоза, манноза және ксилоза р-1,3-гликозидті байланыс арқылы байланысқан полисахаридтерден тұрады. Гетероцисттер лизоцимге төзімді. Көршілес жасушалармен гетероцист трихомалары кеуектермен, плазмодесмалармен байланысты. Гетероцист өз қызметі бойынша аэробты жағдайда азотты (N₂) фиксациялау орны болып табылады. Олар байланысқан азоттың жетіспеушілігімен жіп тәрізді цианобактерияларда пайда болады. Морфологиялық дифференциациямен қатар биохимиялық өзгерістер орын алады [36].

Осылайша, мұнда баяндалған эксперименттерде цианобактериялары бар мәдени тіндер мен регенерант өсімдіктерінің жасанды ассоциацияларының алынуы көрсетілді. Оқшауланған протопласттардан шыққан каллус пен қалпына келтіргіштермен цианобактериялар қауымдастығын алуға мүмкіндік туды. Азотты фиксациялайтын цианобактериялармен байланысты мәдени тіндер мен өсімдіктер азоттың цианобионмен бекітілуіне байланысты азоттың бөлінбеген дақылдары мен өсімдіктерімен салыстырғанда азоттың жетіспеуі немесе болмауы жағдайында өсудің артықшылықтарына ие. Алынған жасушалық жүйелердің олардың субкультивациясы кезінде жоғары тұрақтылығы және каллус — қашу ауысуларында ассоциативті өзара әрекеттесудің сақталуы көрсетілген.

1.3.1 Белсенді азот фиксациялаушы цианобактериялық штаммдар

Азотты фиксациялау белсенділігі фототрофты бактериялардың әртүрлі топтарына жататын 250-ден астам штаммдарда анықталды. Олардың жартысына жуығы цианобактериялар. Цианобактериялардың көптеген түрлері оттегімен

фотосинтезбен бірге молекулалық азотты фиксациялауға қабілетті. Олар әр түрлі су қоймаларында, топырақтарда, тау жыныстарында және осы мекендейтін жерлерде кең таралған, азот айналымында маңызды рөл атқарады [37].

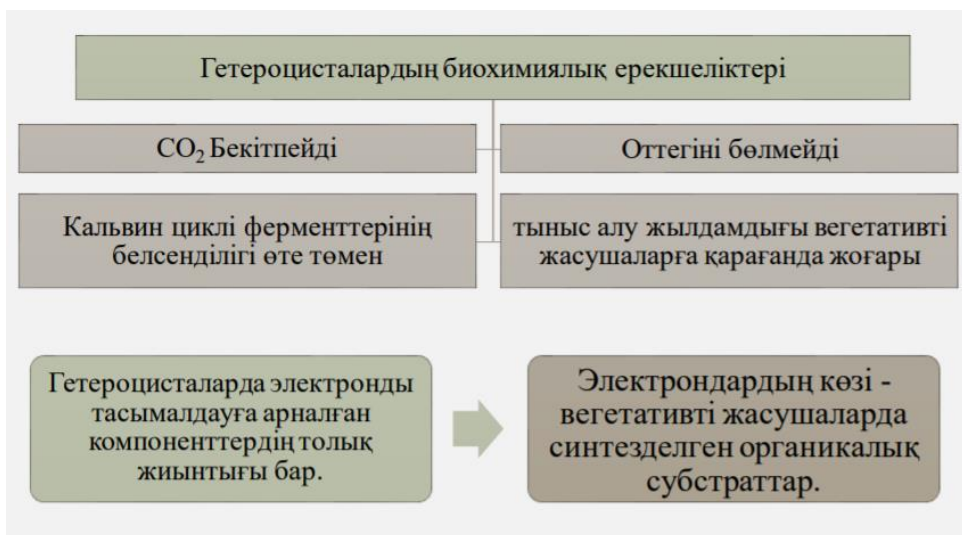
Қазіргі уақытта гетероцисттерді құрайтын цианобактериялардың көптеген түрлері атмосфералық азотты түзе алатындығына дәлел жоқ.

Азотты фиксациялайтын цианобактериялар түрлерінің саны барлық белгілі симбиотикалық емес гетеротрофты азот түзеткіштер түрлерінің санынан асып түседі [38]. Потенциалды азотты түзеткіштер гетероцисттері бар барлық цианобактериялар болып саналады. Олардың ішінде носток, анабаевна, калотрикс, цилилиндропермум ұрпақтарының өкілдері басым, олар үшін азотты фиксациялау белсенділігі дәлелденген [39].

Көптеген зерттеушілер цианобактериялардың азотты фиксациялау қабілеті мен гетероцисттердің болуы арасындағы тығыз байланысты атап өткендей, бұл процесті жүзеге асырудағы гетероцисттің рөлі туралы болжам пайда болды [40].

Гетероцисттер-бұл белсенді өсіп келе жатқан мәдениеттерде ғана пайда болатын арнайы жасушалар. Олар вегетативті жасушаларға қарағанда үлкен, бір немесе екі немесе одан да аз үш тері тесігі бар қалың қабығы бар, олардың көмегімен гетероцисттер көрші вегетативті жасушамен байланысады. Гетероцисттер сары түсті, өйткені оларда фикоцианин жоқ немесе аз мөлшерде (вегетативті жасушаларда 20% - дан аз), хлорофилл де вегетативті жасушаларға қарағанда аз. Қартаю гетероцисттері жасушалық құрамы жоқ, жіптердің бөлінуіне және біртіндеп ыдырауына әкелуі мүмкін. Қалыптасқан гетероцисттер өсіп, бөлісе алмайды. Бірқатар түрлер үшін байланысқан азот, әсіресе аммоний болған кезде гетероцист түзілуінің тежелуі байқалды. Азотсыз ортада өсірілген Анабаена цилиндрикасында гетероцисттің максималды жиілігі 6 күндік мәдениетте байқалды, ол 6,0% құрады, жасына қарай гетероцисттердің саны 1,83% - ға дейін төмендеді. Азот көзі ретінде аммоний тұздарының болуы культурадағы гетероцист санының тез төмендеуіне әкелді [41].

Вегетативті жасушалардан гетероцисттердің пайда болуы терең ультра құрылымды және функционалды қайта құрулармен бірге жүреді. Жетілген гетероцисттер жасуша қабырғасынан тыс үш қосымша қабатпен қоршалған, бұл олардағы судың, иондардың, гидрофильді табиғаттың бейтарап заттарының және еріген газдардың өткізгіштігін қиындатады. Гетероцистаны қоршаған қосымша қабаттар вегетативті жасушамен байланысқан жерлерде үзіледі. Гетероцистаны вегетативті жасушадан бөлетін септум екі жасушаның цитоплазмаларын байланыстыратын және жасушалық метаболиттердің алмасуын қамтамасыз ететін көптеген ұсақ арналармен (микроплазмодесма) енеді. Гетероцист цитоплазмасында вегетативті жасушалармен байланыс аймақтарында жарық түсіретін поляр түйіршіктері цианофицинді болады. Осыған байланысты гетероцисталардың негізгі ерекшеліктері 4-суретте көрсетілген.



Сурет 4. Гетероцисталардың негізгі ерекшеліктері[15].

Фотосинтетикалық мембраналар жүйесі гетероцисттерде айтарлықтай қайта құрудан өтеді: олар қысқарады, вегетативті жасушаларға тән орналасуын жоғалтады; әдетте, гетероцист полюстерінің жанында тиракоидтардың жиналуы байқалады. Тиракоидтардың морфологиялық өзгерістері фотосинтетикалық аппараттың функционалды деңгейде маңызды қайта құрылуымен үйлеседі. Гетероцисттерде II фотосистема жұмыс істемейді. Сондықтан оларда жасушаішілік оттегі пайда болмайды. II фотосистема белсенділігінің жоғалуы гетероцисттің келесі биохимиялық ерекшеліктерімен байланысты: II фотосистеманың негізгі жарық жинайтын пигменттерінің болмауы - фикобилипротеиндер және олардың құрамында құрылымдар - фикобилис; марганец иондарының күрт төмендеуі - судың ыдырау жүйесінің қажетті құрамдас бөлігі; гетероцисттердің еритін түрінде немесе карбоксис түрінде рибулозодифосфат карбоксилазаның болмауымен байланысты көмірқышқыл газын бекіту қабілетінің жоғалуы. Фотосистеманың II деградациясы I фотосистеманың белсенділігінің сақталуымен қатар жүреді, бұл *a* хлорофиллінің едәуір деңгейінің сақталуында және осы фотосистеманың реакциялық орталықтарының санының артуында көрінеді [42].

Сонымен қатар, генетикалық ақпарат гетероцисттерде толық көлемде сақталады және олардың өмірінде РНҚ мен ақуыз синтезінің белсенді процестері байқалады. Гетероцисттердің генетикалық пайдалылығы олардың өнуі мен бөлінуінің бірнеше рет байқалған фактілерімен көрсетілген.

1.3.3 Нитрогеназа ферменті

Атмосфералық азотты фиксациялау -бұл қалпына келтіру процесі және оның алғашқы өнімі-аммиак. Азотты қалпына келтіру процесі-бұл нитрогеназа ферменттік кешені жүзеге асыратын бірқатар ферментативті реакциялар.

Нитрогеназының белсенді орталығы екі компоненттен тұрады: біріншісі молибден, темір және күкірт немесе Mo-Fe ақуызынан, екіншісі Темір мен күкірт бар ақуыздан немесе Fe-S ақуызынан тұрады. Құрамында ванадий бар нитрогеназа да анықталды, бірақ оның белсенділік деңгейі молибден бар нитрогеназаға қарағанда 30% төмен. Табиғи субстраттарда Молибден жетіспеген кезде оны ванадиймен алмастыруға болады. Нитрогеназа алғаш рет *Clostridium pasteurianum* анаэробты азот түзеткішінің жасушаларында, содан кейін аэробты еркін тіршілік ететін бактерияларда, түйнекті бактерияларда және азотты байланыстыратын басқа микроорганизмдерде табылды. Нитрогеназа және ол катализдейтін азотты бекіту процесі молекулалық оттегіне өте жоғары сезімталдықпен сипатталады. Соңғысы сутектің күшті акцепторы ретінде қызмет етеді және азот өнімдерінің түзілуін тежейді[42].

Еркін өмір сүретін азот түзеткіштерде нитрогеназды оттектен қорғайтын арнайы механизмдер бар. Жоғарыда айтылғандай, түйнек бактерияларында нитрогеназаны оттегінің жоғары парциалды қысымынан қорғау функциясы оттегіге жоғары жақындығы бар леггемоглобинмен орындалады. Бактероидтар локализацияланған түйнек жасушаларының цитоплазмасының леггемоглобині оттегінің еркін кіруіне жол бермейді, оның мөлшерін қамтамасыз етеді, бұл бактериоидтардың өсуіне және энергия алуына қажет, сонымен бірге азоттың бекітілуіне теріс әсер етпейді. Молекулалық азотты байланыстыру процесі суда еріген азоттың азотты бекіту орталығына түсуінен басталады, онда азот молекуласының активтенуіне екі Молибден атомы қатысады. Азотпен әрекеттесу нәтижесінде молибден белсенді орталыққа Fe-S-ақуыз және Mo-Fe-ақуыз арқылы енетін электрондарды қабылдау арқылы азаяды. Мұндай электронды тасымалдау АТФ гидролизімен байланысты, яғни энергия шығындарымен бірге жүреді. Құрамында темір бар суда еритін ақуыз-ферредоксин ферменті, ал гидрогеназа ферменті су сутегін белсендіруге және протондарды тасымалдауға қатысады.

Электрондар доноры ретінде қызмет ететін қалпына келтірілген ферредоксин кластридиум тұқымының еркін өмір сүретін азот түзгіштерінде ацетил фосфатын қалыптастыру үшін пируваттың фосфорокластикалық бөлінуі кезінде, ал күлгін жасыл серобактериялар мен цианобактерияларда фотосинтез процесінде түзіледі. Аэробты азот түзеткіштеріндегі АТФ негізгі көзі-тотығу фосфорлануы, анаэробты — фосфорокластикалық реакция, фототрофты азот түзеткіштерінде - фотофосфорлану. Түйнекті бактериялар үшін азотты бекіту процесінің энергия көзі өсімдіктердің жапырақтарынан келетін фотосинтез өнімдері болып табылады.

Бір азот молекуласын екі NH_3 молекуласына дейін төмендету үшін 12 АТФ молекуласы түрінде энергия шығыны қажет.

Нитрогеназа тек молекулалық азотты ($\text{N}=\text{N}$) ғана емес, сонымен қатар ацетилен ($\text{NS}=\text{CH}$), азид, азот оксиді, цианид, нитриттер, изонитрилдер мен Протондарды да қалпына келтіре алатындығы анықталды. Нитрогеназаны анықтау үшін қолданылатын әдіс ацетиленді қалпына келтіруге негізделген. Ацетилен тек этиленге дейін азаяды, оны газ хроматографиясы арқылы оңай

анықтауға болады. Осы уақытқа дейін зерттелген азотты бекітетін бактериялар мен симбиотикалық бірлестіктер ацетиленді этиленге қалпына келтіру қабілетіне ие. АТФ қатысуымен нитрогеназа жүйесі азотты бекіту процесінде түзілген протондардың молекулалық сутекке дейін азаюын катализдейді.

N₂ бекіту процесінде пайда болған Аммиак кето қышқылдарымен байланысады, бұл аминқышқылдарының синтезіне әкеледі. Мәселен, 2-оксоглутарат және аммиак глутамин қышқылы алынады. Энергия шығыны бар глутамин қышқылы АТФ түрінде глутаминге айналады, одан ең маңызды метаболит — аспарагин синтезделеді. Қымыздық қышқылы мен аммиактан аспарт қышқылы, пируваттан және NH₃ — а-аланиннен және т.б. түзіледі.

Молекулалық азот бактериялармен байланыстыру процесі реттелуге бейім. Сонымен, көптеген микроорганизмдерде нитрогеназа синтезі қажет болған кезде ғана жүреді, яғни ортада байланысқан азот көзі болмаған кезде. Аммоний иондарының қатысуымен фермент синтезі басылады. Нитрогеназа түзілуін реттеуде глутаминсинтетаз ферменті маңызды рөл атқарады. Глутаминсинтетаза және глутаматсинтаза микроорганизмдерге олардың NH₄ концентрациясы төмен болған жағдайда аммоний иондарын органикалық қосылыстарға қосу үшін қажет. Аммоний иондарына өте жақын болғандықтан, бұл ферменттер бактериялық жасушадағы pH_i концентрациясын төмен деңгейде ұстайды. Ортада, демек, бактерия жасушасында аммоний иондарының концентрациясының жоғарылауы глутаминсинтетазаны, сайып келгенде нитрогеназа синтезін тежейді [43].

Азоттың биологиялық байланысы белгілі бір организмдер (прокариоттар) — бактериялар мен көк-жасыл балдырлар арқылы жүзеге асырылады. Азотты байланыстыратын бактериялар еркін өмір сүре алады немесе өсімдіктермен симбиотикалық байланыста бола алады. Соңғы категориядан Ризобиум тұқымы ерекше маңызды, ол маңызды ауылшаруашылық бұршақтарының (соя, беде және жоңышқа) тамырларында азотты байланыстыруға қабілетті түйіндерді құрайды. Бұл симбиозда өсімдіктер де, бактериялар да өзіндік ерекшелікке ие, дегенмен олардың симбиотикалық өзара әрекеттесуінің биохимиялық негізі айқын емес. Бактерияда азотты байланыстыру процесін катализдейтін нитрогеназа ферментін синтездеуге қажетті барлық генетикалық ақпарат бар деп саналады. Ризобиум тұқымының бактериялары негізгі өсімдіктің тамырына қонғаннан кейін, олар көп ұзамай мембранаға еніп, көбейе алмайтын үлкейтілген жасушаларға айналады (бактериоидтар), олар негізгі өсімдік жасушасының цитоплазмасында өмір сүреді. [44]

Молибден-барлық организмдер үшін маңызды микроэлементтер. Ол азотты фиксациялауға және нитрат иондарын азайтуға қатысатын, сондай-ақ оксидазаларда болатын нитрогеназа және нитрат редуктаза ферменттерінің құрамына кіреді. Ферменттерде молибден электронды тасымалдаушы рөлін атқарады.

Барлық азотты бекітетін жүйелер оттегінің ізімен де улануы мүмкін. Бұл дегеніміз, аэробты жасушаларда да нитрогеназа ферменті негізінен

анаэробты жағдайда болуы керек. Бұршақ дақылдарының тамыр түйіндерінде бұған леггемоглобин (LNb) — қызғылт арқылы қол жеткізіледі.

Қарастырылып отырған процестердің практикалық маңызы зор, бірақ олар әлі толық зерттелген жоқ және қазіргі уақытта қарқынды зерттеу жүргізілуде. Бір қызығы, азотты бекіту үшін қажетті нитрогеназа ферменті біртіндеп анықталғандай, өте жұқа.

Азотты фиксациялайтын нитрогеназа ферменті АТФ гидролиз энергиясын пайдалана отырып, сутегі газының (H_2) түзілуін катализдейді. Кейбір ризобия штамдары ферментті гидрогеназды синтездейді. Ол H_2 -нің h-ге айналуын катализдейді, бұл тиімділікті арттырады.

Ферменттердің өте жоғары ерекшелігі—биохимиялық процестердің катализаторы болып табылатын ақуыздық заттар. Ферменттер біртекті және гетерогенді катализаторлар арасында аралық орын алады, өйткені олар макромолекулалар. Сонымен, атмосфералық азотты түйін бактерияларымен фиксациялауға жауапты нитрогеназа ферментінің молекулалық массасы шамамен 350 а.е.м. (гемоглобинге қарағанда шамамен бес есе көп). Адам ағзасында белгілі бір реакцияларды катализдейтін бірнеше ондаған мың ферменттер бар.

Кейбір еркін тіршілік ететін бактериялар мен көк-жасыл балдырлар жүзеге асыратын азотты фиксациялау *Rhizobium* тектес бактериялармен жұқтырған бұршақ тұқымдас және басқа өсімдіктердің тамырларының түйіндерінде де жүреді. Бекіту N_2 молекуласының молибден бар нитрогеназа ферментіне қосылуына дейін азаяды, содан кейін тотықтырылатын субстрат молекулаларының электрондары мен протондарын қолданған кезде азоттың аммиакқа АТФ-тәуелді төмендеуі байқалады. Азотты фиксациялау жүйесі ацетиленді этиленге де азайтуы мүмкін. Бұл принцип өрістегі өсімдіктердің азотты бекітуін анықтауға негізделген. Бактериялармен симбиозда өмір сүретін азотты бекітетін өсімдіктердің астына азайтылған азотты енгізу соңғысының азотты бекіту мүмкіндігін төмендетеді.

Молибден нитрогеназа ферментінің қажетті құрамдас бөлігі болып табылады, ол арнайы азотты бекітетін бактерияларда атмосфералық азотты аммиакқа дейін қалпына келтіруді катализдейді. Бұл азоттың биосфераға енуінің ең маңызды жолы, өйткені барлық табиғи азотты органикалық қосылыстардың түзілуі аммиактан немесе дәлірек айтқанда аммоний иондарынан келеді.

Азотты түзетін микроорганизмдердің жасушаларынан шығарылуы мүмкін қалыпты қысым кезінде молекулалық азоттан аммиактың түзілуін катализдейтін нитрогеназа ферменті екі ақуыз қосылыстарының жиынтығы болып табылады және олардың біреуінде темір мен молибден, ал екіншісінде тек темір бар.

Жоғарыда аталған молекулалық азоттың барлық реакциялары құрамында треш-фосфаттар, т-циклопентадиенил топтары немесе қарапайым бейорганикалық лигандтар бар өтпелі металл кешендерінің қатысуымен байланысты. Екінші жағынан, нитрогеназа ферментінің белсенді орталықтарын зерттеу ферредоксин типіндегі темір-простетикалық топқа жақын жерде бір

немесе екі Молибден ионы (III-V) орналасқанын көрсетті. Молибден атомдары күкірт лигандтарымен байланысты деп болжалды. Азотты биохимиялық бекітудің ұсынылған механизмдерінің бірі азот молекуласын азайтылған молибден атомына "бүйірлік" (немесе T1 -) үйлестіруді қамтиды.

Сутекті алудың тағы бір тәсілі-бұл нитрогеназа ферментімен катализденетін бактериялар мен цианобактериялардың кейбір түрлерімен жүзеге асырылатын фотоферментативті процесс. Бұл жағдайда сутегі көзі ретінде органикалық қышқылдарды қолдануға болады (мысалы, сірке суы⁵¹ қышқылы)

Көптеген түйнек бактерияларында гидрогеназа бар, ол NH тотығуын катализдейді, нәтижесінде оның қайталануы пайда болады. Молекулалық азоттан аммиактың, сондай-ақ молекулалық сутектің түзілуіне екі компоненттен тұратын нитрогеназа ферменті қатысады. I Компонент-құрамында темір және молибден бар ақуыз, II компонент-құрамында темір бар ақуыз. Нитрогеназа анаэробты жағдайда ғана қалыптасады және белсенді болады. Осыған байланысты аэробты азот түзеткіштері қандай-да бір жолмен оның жұмыс істеуі үшін осындай жағдайларды қамтамасыз етуі керек. Түйіндердегі түйнек бактерияларында бұл құрамында темір бар арнайы пигмент — леггемоглобин бар, ол гемогло сияқты[45].

1.3.4 Ауыр металдардың азот фиксациясындағы маңызы (W,Fe,Cd т.б)

Ауыр металдарға Д.И.Менделеевтің периодтық жүйесінің 40-тан астам химиялық элементтері кіреді, олардың атомдарының массасы 50-ден астам атомдық масса бірліктерін құрайды (а. е.м.). Бұл Pb, Zn, Cd, Hg, Cu, Mo, Mn, Ni, Sn, Co және т. б.

«Ауыр металдар» ұғымы қатаң емес, өйткені ауыр металдар көбінесе металл емес элементтерді, мысалы, As, Se, кейде тіпті F, Be және атомдық массасы 50 а.е.м-ден аз басқа элементтерді қамтиды.

Ауыр металдардың арасында тірі организмдер үшін биологиялық маңызды микроэлементтер көп. Олар маңызды физиологиялық процестердің биокатализаторлары мен биорегуляторларының қажетті және алмастырылмайтын компоненттері болып табылады. Алайда, биосфераның әртүрлі нысандарындағы ауыр металдардың артық мөлшері тірі организмдерге ингибиторлық және тіпті улы әсер етеді.

Ауыр металдардың топыраққа түсу көздері табиғи (тау жыныстары мен минералдардың жарылуы, эрозиялық процестер, вулкандық белсенділік) және техногендік (тау-кен және қайта өңдеу, Отын жағу, көлік құралдарының, ауыл шаруашылығының әсері және т.б.) болып бөлінеді. ауылшаруашылық жерлер, атмосфера арқылы ластанудан басқа, ауыр металдар пестицидтер, минералды және органикалық тыңайтқыштарды қолдану, әктеу, Ағынды суларды пайдалану кезінде ерекше түрде ластанады. Жақында ғалымдар қалалық топырақтарға ерекше назар аударды. Соңғылары ауыр металдармен ластану болып табылатын айтарлықтай техногендік баспасөзді бастан кешіреді.

Ауыр металдар ортадағы концентрация көрсеткіші негізінде төрт класқа бөлінеді:

* 100 нМ және 1 мкМ — Fe, Zn және Mo арасындағы концентрациясы бар жиі кездесетін микроэлементтер;

* 10 және 100 нМ — Ni, Si, As, N, Mn, Sn және U арасындағы концентрациясы бар орташа кездесетін микроэлементтер;

* сирек кездесетін микроэлементтер — Co, Se, Ag және Sb; • Cd, Cr, W, Ga, Zr, Th, Hg және Pb — 1 нМ деңгейінен төмен.

Басқа элементтер, мысалы, теңіз суында 55,8 нМ концентрациясы бар Au микроэлементтерге айналуы екіталай.

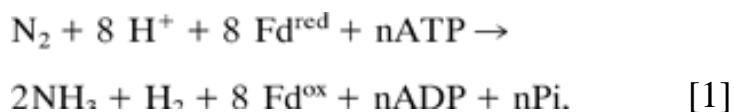
Ауыр металдар микроорганизмдерге улы әсер етеді. Ауыр металл катиондары гидроксил, карбоксил, фосфат және амин топтары бар кешендерді, сондай-ақ ақуыздардың сульфгидрил топтарымен коваленттік байланыстарды құрайтын көптеген органикалық қосылыстардың құрамындағы әртүрлі Электрон-монор топтарымен оңай әрекеттеседі. Осылайша, ауыр металдардың уытты әсері табиғатта ерекше емес, сондықтан олар ақуыздармен, нуклеотидтермен, коферменттермен, фосфолипидтермен, порфириндермен, яғни жасуша алмасуына қатысатын заттардың барлық түрлерімен қосыла алады. Сонымен қатар, микроорганизмдер ферменттерінің белсенді орталығының топтарымен әрекеттесу немесе олардағы жеке иондарды алмастыру арқылы ауыр металдар олардың белсенділігін тежейді.

Биотаға антропогендік әсер туралы айта отырып, микроконцентрациялардағы көптеген металдар топырақ биотасының (Zn, Si, MP, Co, SG және т.б.) өмірлік белсенділігі үшін қажет екенін атап өткен жөн, алайда жоғары концентрацияда олар улы болады, ал бірқатар металдар төмен концентрацияда өте улы болады (Ag, Pb, Hg, Cd және т. б.) және қандай да бір жолмен биоценоздарға әсер етуі мүмкін.

Азотты биологиялық бекіту процесінде нитрогеназа ферменті АТФ-ға тәуелді динитрогенді аммиакқа дейін төмендетуді катализдейді. Нитрогеназа металлопротеиндердің екі компонентінен, темір ақуызынан (Fe) және молибден темір ақуызынан (MoFe) тұрады; Fe ақуызы АТФ гидролизінің электрондардың протеин аралық тасымалымен байланысын қамтамасыз етеді, ал MoFe ақуызының белсенді сайтында жеті темір атомынан, бір Молибден атомынан, тоғыз күкірт атомынан, интерстициалды Жарық атомынан және бір гомоцитративті молекуладан тұратын полинуклеарлы FeMo кофакторы бар. Бұл перспектива азоттың биологиялық бекітілуіне шолу жасайды және нитрогеназа механизмі мен құрастыруының орталық аспектілеріне қатысты осы ерекшелікке үш үлес қосады.

Физиологиялық жағдайларда динитрогенді аммиакқа дейін төмендету арқылы анықталған азоттың биологиялық бекітілуі термодинамикалық қолайлы болып табылады. Ерітілген газдың жасушаішілік қысымы төмен болса да, ферредоксин төмендеген кезде реакция үлкен теріс бос энергияға ие болады. Алайда, құрамында металлокластары бар нитрогеназаның күрделі жүйесімен катализденетін ферментативті реакция АТФ гидролизінің белгілі бір түрінде

энергияның едәуір мөлшерін қосымша енгізусіз жүрмейді. Бұл талаптарды келесі теңдеумен қорытындылауға болады:



мұндағы n -берілген бір электронға гидролизденген АТФ қатынасы. Бұл өрнек нитрогеназа механизмiне қатысты үш орталық мәселенi қамтиды:

Нуклеотид гидролизiнiң электронды тасымалдауда және субстратты қалпына келтiруде рөлi қандай?

Субстраттар белсендi жерде қалай байланысады және қалпына келедi?

Нитрогеназа металлaстерлерi қалай жиналады және енгiзiледi?

Азоттың биологиялық фиксациялау реакциясының жалпы механизмiн (1 теңдеу) екiге бөлуге болады: субстраттың қалпына келу аймағына электрондардың берiлуiн бақылау немесе реттеу және субстраттың қалпына келу процесiнiң өзi. Нитрогеназды ферменттермен катализденетiн барлық дерлiк тотығу процесерiнен ерекшелетiн нәрсе-бұл әр айналым циклiнде субстраттарға жеткiзiлуi керек электрондардың саны (сегiз), содан кейiн Негiзгi электронды тасымалдау оқиғаларының нақты уақытын талап етедi. Бұл механизмнiң бiрiншi бөлiгi Fe ақуызы мен Мо ақуызы деп аталатын нитрогеназаның екi ақуыз компоненттерi арасындағы АТФ-тәуелдi электронды тасымалдауды қамтитын циклден тұрады. Кейiнiрек талқыланатын процесiн екiншi бөлiгi молекулааралық электронды тасымалдау циклдерiнiң жеткiлiктi саны болған кезде ақуызындағы субстратты қалпына келтiрудi қамтиды.

Осы бiрiншi циклде электрондарды Fe ақуызынан Мо ақуызына беру Fe ақуызымен АТФ гидролизi үшiн мiндеттi талап болып табылады, ол тек кешенде жүредi. Электронды тасымалдау және АТФ гидролизi процесерiнiң маңызды ерекшелiктерi ең алдымен, құраушы металлокластардың құрылымдары және нуклеотидтердiң байланыс аймағы жоғары ажыратымдылықтағы ақуыз компоненттерiнiң рентгенкристалды құрылымдары арқылы анықталды. Жеке ақуыздардан басқа, Fe ақуызы мен Мо ақуызы арасындағы комплекстердiң құрылымдары бiрнеше аралық қосылыстарға сәйкес келетiн орташа шешiмдерде (16-19) алынды.

2. Зерттеу объектілері мен әдістері

2.1. Зерттеу объектісі.

Зерттеу нысаны ретінде цианобактерияларының 5 түрлі штаммын қолдандық. Олар *Nostoc* sp. (J-14), *Cylindrospermum* sp. (J-8), *Anabaena variabilis* (K-31), *Oscillatoria tenuis* (Sh-11) және *Tolypothrix tenuis* (J-1). Қызылорда облысының Жаңақорған және Шиелі аудандарының күріш алқаптары мен су экожүйелерінен алынды (Авангард, Ақжол, Жайылма ауылдарының күріш чектері және күріш алқаптарына іргелес су айдындары - Сырдария өзенінің салалары: Құдай құл, Жайылма).

2.2. Цианобактериялар штаммдарын оқшаулау және дақылдау.

Зерттеу материалы өсімдіктердің бетінен классикалық алгологиялық әдістермен таңдалған 26 аралас топырақ үлгілері мен цианобактериялық төсеніштер және 18 су үлгілері болды. Түрлердің тиістілігін анықтау үшін тұщы су микробалдырлары мен цианобактериялардың детерминанттары қолданылды (Костиков, 2001, 2, 3, 4 және сайт <http://algaebase.org>). Цианобактериялардың жинақтаушы дақылдарын алу үшін сынамалар аликвоттары (5 мл) эукариоттардың өсуін тежеу үшін 50 мкг/мл концентрациясында циклогексимид қосып, BG-11, Аллен, Громов, Болд 2 есе сұйылтылған сұйық қоректік орталармен 100 мл-ге орналастырылды. Бір уақытта Петри ыдысына сынамаларды тығыз (1%) агарлы ортаның бетіне BG-11 себу жүргізілді. Өсіру 18-22-24°C температурада және тұрақты жарықтандыру 450 мкмоль фотон · м² / сек кезінде параллель жүргізілді. BG-11, Аллен, Громов және Болд қатты қоректік ортада цианобактериялар жіптерін аралас микробты суспензиядан бөлу үшін капиллярлық тамшуырларды қолдану арқылы байыту культурасының мерзімді субкультуралары нәтижесінде цианобактериялардың алгологиялық таза дақылдары алынады. Цианобактериялардың бөлінген өсірінділерінің жер серіктерін бактериялардан тазарту үшін 1500 бірлік/мл-ден 25000 бірлік/мл-ге дейінгі әртүрлі концентрацияларда антибиотиктер (пенициллин, гентамицин, тетрациклин, неомицин, ампициллин, хлорамфеникол, канамицин), сондай-ақ олардың 20000 бірлік/мл сомасында концентрациясымен біріктірілімдері қолданылды. Антибиотиктердің есептелген концентрациясы стерилизациядан кейін қоректік ортаға қосылды. Бөлінген цианобактериялардың штамдары BG-11 стандартты құрамының сұйық және агар қоректік орталарында және люминостаптағы колбалардағы Алленде өсірілді. Алдын ала морфологиялық сәйкестендіру жарық микроскопымен жүргізілді (MicroOptix OPTIX C600, Австрия). Морфологиялық сәйкестендіру жасуша мөлшері, пішіні, жасушалардың орналасуы, шырыштың болуы немесе болмауы және т. б. сияқты белгілі бір морфологиялық белгілерге негізделген, таксономиялық әдебиеттерді және әртүрлі фотогалереяларды қолдана отырып [1. 2. сайт <http://algaebase.org>.]

Кез-келген тәжірибені жасамас бұрын, цианобактериялар мәдениеті сақталған сұйық ортадан сол құрамдағы жаңадан дайындалған қоректік ортасы бар Петри ыдысына ауыстырылды.

2.3. Цианобактериялар штаммдарын түрлік құрамын анықтау.

Микроорганизмдерді анықтау ДНҚ-ның консервативті локусын ретке келтіру арқылы молекулалық-генетикалық зерттеу әдістерін қолдану арқылы жүргізілді. 5 мл көлемінде мәдениеттің 5 үлгісі зерттелді. Мәселені шешу үшін келесі жұмыс түрлері жүргізілді: микроорганизмдердің геномдық ДНҚ-ны оқшаулау; сынама дайындау және полимеразды тізбекті реакция жүргізу; консервативті локустың фрагменті бойынша ДНҚ-ны жүйелеу; рРНҚ консервативті локусының нуклеотидтік тізбегін талдау.

Микроорганизмдердің геномдық ДНҚ-ны оқшаулау.

Геномдық ДНҚ Dale ұсынған хаттама бойынша бөлінді [1]. Цианобактериялардың жасушалары 5 минут ішінде 4000xg-де центрифугалау арқылы тұндырылды, тұнба үстіндегі сұйықтық алынып тасталды және жасушалар келесі құрамдағы 1 мл экстракциялық буферде тоқтатылды: 200 mM Tris-HCl (pH 8,0), 400 mM LiCl, 25 mM EDTA, 1% SDS. Суспензияға диаметрі 425-600 мкм (Sigma) қышқылмен өңделген шыны шарлар қосылды. Алынған суспензия 30 секундқа қарқынды шайқалды, содан кейін 30 секундқа мұзда инкубацияланды. Бұл процедура 5 рет қайталанды. Алынған қоспасы 3000xg, 15 минут, 4°C температурада центрифугаланды. 16000xg кезінде, 20 минут ішінде, 4°C температурада центрифугаланды. Содан кейін 10 мкл 3M натрий ацетаты (pH 5.2), 300 мкл 96% этил спирті қосылып, 2 сағат ішінде -20°C температурада инкубацияланды. 16000xg кезінде центрифугаланған, 30 минут, 4°C. тұнба 70% этанолмен жуылады, кептіріледі және 50 мкл буферде ерітіледі. ДНҚ концентрациясы паповие plus спектрофотометрінің көмегімен анықталды. Бөлінген геномдық ДНҚ концентрациясы 100 нг / мкл дейін жеткізілді.

Сынама дайындау және полимеразды тізбекті реакция жүргізу.

Микроорганизмді анықтау үшін рибосомалық ДНҚ гені ДНҚ-ның консервативті локусы ретінде таңдалды. Бактериялардың геномдық ДНҚ-мен 16s рРНҚ генінің фрагментін күшейту 8F, 806r, 27F, M23f, M23'f, 1492r, 1525R праймерлерін қолдану арқылы жүргізілді

Күшейту өнімдерін бөлу этидиум бромидімен (15 мкг/мл) буферде 1% агарозды геледегі электрофорездің ДНҚ көмегімен жүзеге асырылды. Нәтижелер суретте көрсетілген.

Алынған ПТР өнімдері Exol экзонуклеаза және fastap сілтілі фосфатаза қоспасымен өңделіп, қалған праймерлер мен dNTP-ді алып тастады. Әрбір амплификаттың 10 мкл-ға 1 мкл Exol және FastAP қосылып, 30 минут бойы 37°C температурада инкубацияланды, ферменттердің инактивациясы 85°C, 15 минут бойы жүргізілді.

2.4. Микробалдырлар жасушаларын сандық есепке алу және биомасса өсуінің өнімділігін анықтау әдістері.

Цианобактериялар жасушаларының биомасса концентрациясының өзгеруі толқын ұзындығы 540 - 590 нм болатын PD - 303uv спектрофотометріндегі оптикалық тығыздықты өлшеу арқылы анықталды. Мәдени биомассаның өнімділігі Сиренко әдісімен анықталды, жасушалар 5810 г-да 5000г центрифугасымен, 14 күн ішінде 25°C температурада (Erpendorf, Германия) тұндырылды. Цианобактериялар культураларының өсу жылдамдығының коэффициенті белгілі бір уақыттан кейін жасушалардың бастапқы саны мен жасушалар санын ескере отырып, эксперименттік тамырлардағы жасушалар санының өсуімен есептелді.

2.5. Гетероцист түзілу жиілігін анықтау .

Гетероцисттердің түзілу жиілігі BG-110 азотсыз ортада талданды, стандартты құрамдағы BG-11 қоректік ортасы бақылау болды. Экспериментке дейін мәдениеттер стационарлық фазада сақталды, алдыңғы BG-11 бастапқы ортасының зерттелетін цианобактериялардың өсуіне әсерін азайту үшін 3 күн бойы қоректік заттардың жетіспеушілігі болды.

Содан кейін цианобактериялардың жасушалары 10 минут ішінде 1000 айн / мин центрифугаланды (центрифуга) және тұнба жасуша бетіндегі N және P қалдықтарын кетіру үшін тұзды ерітіндіде екі рет ыдырады. Содан кейін жасушалар жаңа ортаның екі нұсқасы бар колбаларға орналастырылды: BG-11 және BG-110, N жоқ және жоғарыда айтылғандай бірдей температурада және бірдей жарық қарқындылығында инкубацияланды.

Гетероцисттің пайда болу жиілігі күн сайын 9 күн бойы жарық микроскопымен (MicroOptix OPTIX C600, Австрия) 200 және 400-ге артқан кезде тіркелді. Ол үшін микропипетканың көмегімен 4 мл көлемінде үлгілер алынды, ұсақталған тамшы дайындалып, микроскоп жасалды. Гетероцисттер өздерінің қалыңдатылған жасуша қабырғасымен, бозғылт түсімен және көрші жасушалармен салыстырғанда полюстің қалыптасуымен анықталды [20,31,39]. Гетероцист жиілігі 1 үлгіге кемінде 10 көру өрісін есептеу кезінде гетероцист тығыздығының вегетативті жасушалардың жалпы тығыздығына пайыздық қатынасы ретінде есептелді. Осылайша, 10 гетероцист үшін гетероцист үшін вегетативті жасушалардың саны анықталды және деректер орташа ± стандартты ауытқу ретінде ұсынылды. Егер цианобактериялық жасушалар 10 гетероцистті санау үшін жеткіліксіз болса, онда деректер санау үшін тым аз (TFTC) деп аннотацияланған.

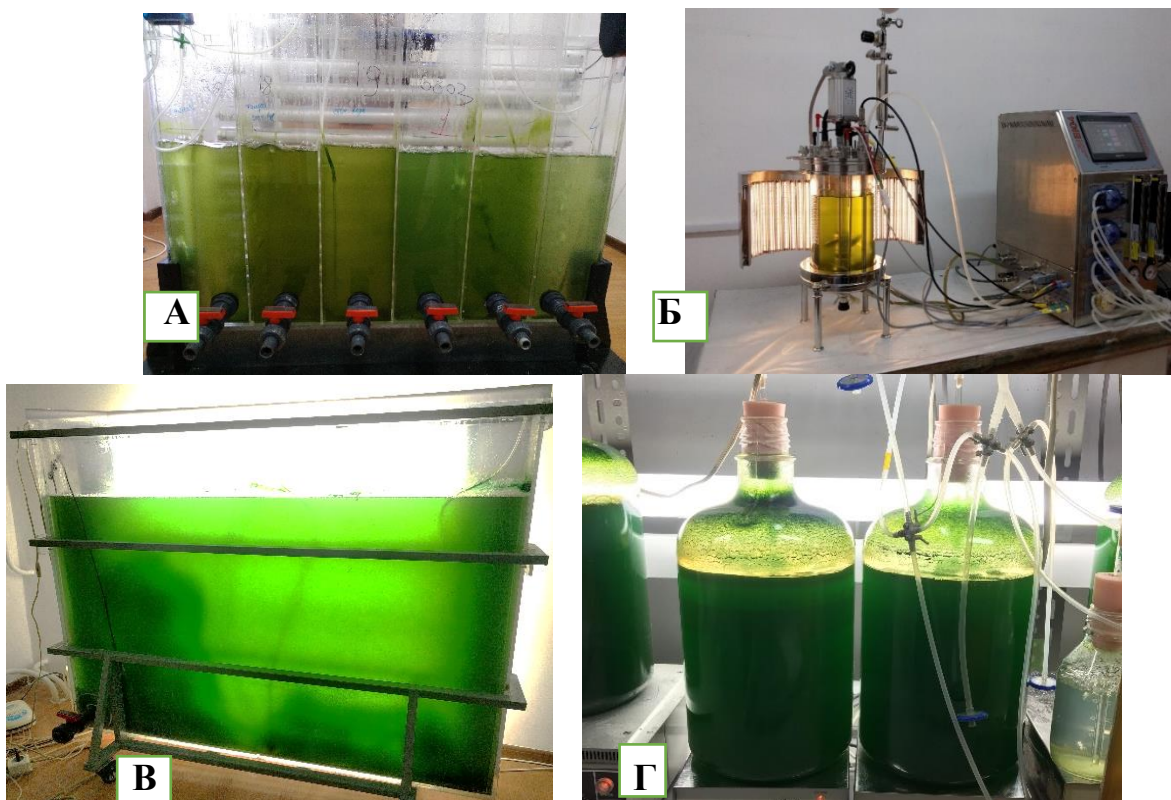
2.6. Нитрогеназа белсенділігін ацетилен әдісімен анықтау.

Нитрогеназаның белсенділігін 10% ацетилен және 90% аргон газ қоспасын құтыға 30 мин енгізу арқылы анықтады [Ryu, M; Auman, A; MURTY, M. G]. Жасушалар 250 мкмоль фотон/м²/сек кезінде 24 сағат бойы өсірілді. Инкубациядан кейін 500 мкл газ сынамасы алынып, газ қоспасындағы этиленнің концентрациясы анықталды. Ацетиленнің Редокс белсенділігі GC-15А газ хроматографында (Shimadzu, АҚШ) моль этилен/мг құрғақ биомасса (мг)/сағ түрінде анықталды.

2.7. Күріш көшеттерін өсіру тағы зерттеу

Күріштің көшеттері эксперимент ақырда топырақтан алынып, үш қайыра жуылды. 70°C температурадағы жарық жоқ ортаға «SNOL 67/350» (AB Utenos Electrotechnika) термостатында Петри табақшасында 3 күн құрғатылды. Сонан кейін, кепкен биомасса лабораториялық таразы (Clever, ҚХР) көмегімен өлшенді.

Күрішке цианобактерияның биомассалық сығындысын әзірлеу жолы. Массалық биомасса кеміту мақсатында гетероцисталы цианобактерия *Anabaena variabilis* R-I-5 штаммы ағынды түрде 200 литрлік фотобиореакторда 50 мкмоль фотон м²/сек аспап астында, 25°C температурада «Air pump 350» (Қытай) аппаратымен аэрациялау арқасында өсірілді. Гетероцисталардың жинақталуын көтеру үшін BG0-11 азықтық ортасы қолданылды. Оптикалық тығыздығы 0,6 пара-пар болғанда клеткалардың биомассасы «Centrifuge 5810» центрифугасы (Eppendorf, АҚШ) арқасында 5000 rpm жылдамдықта 15 мин центрифугалау арқасында жинақталып алынды. Клеткалардың даму шапшаңдығын оптикалық тығыздығы КФК-3-01 спектрофотометрімен 720 нм толқын ұзындығында өлшенді. 6 түрлі концентрациядағы суспензияның оптикалық тығыздығы дайындалды (5 сурет.)



Сурет 5 – Цианобактерияларды дайындау.
 Белгілеулер: А – 200 литрлік фотобиореактор; Б – 5 литрлік фотобиореактор; В – 12 литр x 6 фотобиореактор; Г – 20 литрлік фотобиореактор.

Күрішке неше түрлі цианобактериялық суспензияларды даярлау жолы. Sunrise T-4 күріш сортының көшеттері 250 мл намды сақтағыш ыдыстағы 200 мл-лік гидропоникада өсірілді. Зерттеу уақыты 30 тәулікті құрады. 50 мл көлемдегі Мурасиге-Скуга қоректі ортаға 50 мл *Anabaena variabilis* R-I-5 биомассасы қосылды, 100 мл сұйықтық 6 түрлі клетка концентрациясындағы нұсқаларда дайындалды:

Қадағалау 1 – азотты 100 мл Мурасиге-Скуга азықтық ортасы (+KNO₃);

Қадағалау 2 – азотсыз 100 мл Мурасиге-Скуга азықтық ортасы (- KNO₃);

1-нұсқа (0,1 оптикалық тығыздық) – 50 мл азотсыз Мурасиге-Скуга қоректік ортасына 50 мл *Anabaena variabilis* R-I-5 штаммы суспензиясы қосылды – 100 мл-дегі клетка саны 4×10^6 кл/мл құрады;

2-нұсқа (0,3 оптикалық тығыздық) – 50 мл азотсыз Мурасиге-Скуга қоректік ортасына 50 мл *Anabaena variabilis* R-I-5 штаммы суспензиясы қосылды – 100 мл-дегі клетка саны 12×10^6 кл/мл құрады;

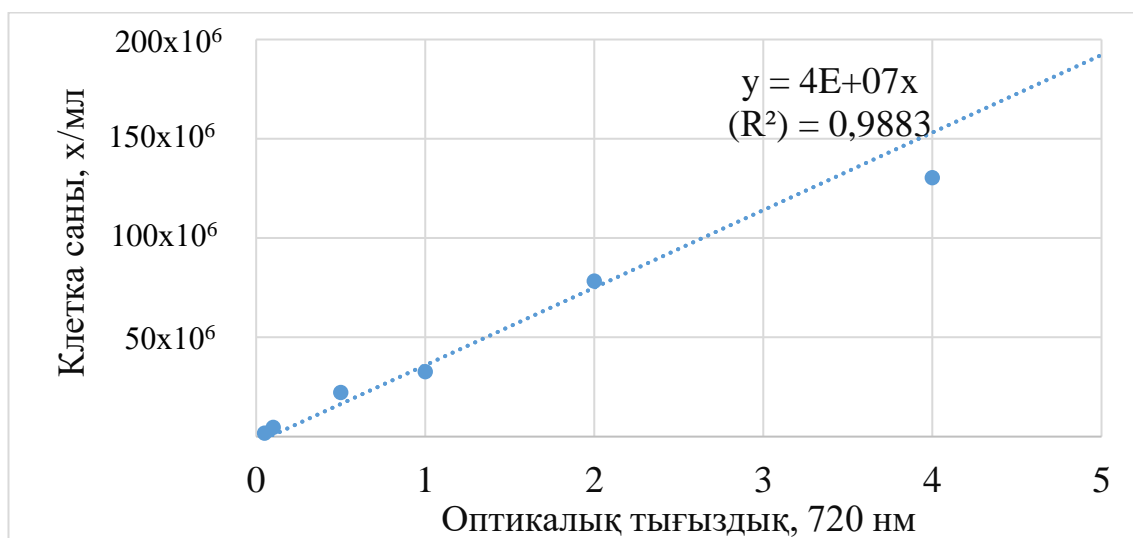
3-нұсқа (0,6 оптикалық тығыздық) – 50 мл азотсыз Мурасиге-Скуга қоректік ортасына 50 мл *Anabaena variabilis* R-I-5 штаммы суспензиясы қосылды – 100 мл-дегі клетка саны 24×10^6 кл/мл құрады;

4-нұсқа (1,2 оптикалық тығыздық) – 50 мл азотсыз Мурасиге-Скуга қоректік ортасына 50 мл *Anabaena variabilis* R-I-5 штамы суспензиясы қосылды – 100 мл-дегі клетка саны 48×10^6 кл/мл құрады;

5-нұсқа (2,4 оптикалық тығыздық) – 50 мл азотсыз Мурасиге-Скуга қоректік ортасына 50 мл 2,4 оптикалық тығыздықтағы *Anabaena variabilis* R-I-5 штамы суспензиясы қосылды – 100 мл-дегі клетка саны 96×10^6 кл/мл құрады;

6-нұсқа (4,8 оптикалық тығыздық) – 50 мл азотсыз Мурасиге-Скуга қоректік ортасына 50 мл *Anabaena variabilis* R-I-5 штамы суспензиясы қосылды – 100 мл-дегі жалпы клетка саны 192×10^6 кл/мл құрады.

Клетка мөлшері әр түрлі оптикалық тығыздықтарда өлшенді(0,05; 0,5; 1; 1,5; 2; 3; 4; 5;), *Excel* де тердік сызығын пайдаланып, сызғыштық өлшемен 6 түрлі концентрацияның клетка санын $y=4E+07x$ формуласымен есептедік. Есептелген оптикалық тығыздықтардың орташа ауытқу мәні (R^2)=0,9883 болды.



Сурет 6 -1 мл-дегі *Anabaena variabilis* R-I-5 штамының оптикалық тығыздығының клетка санына қатынасының трендік сызығы

3. Зерттеу нәтижелері және талқылаулар

3.1 Цианобактериялардың белсенді дақылдарын күріш алқаптарынан бөлу

Фототрофты микроорганизмдердің түрлерінің әртүрлілігін және азотты түзетін цианобактериялардың бөлінуін зерттеу үшін күріш өсіру кезеңінің соңында және тегістеу кезеңінің соңында күріш алқаптарынан екі рет су, топырақ, альгобактериялық төсеніштер мен өсімдіктердің үлгілері алынды. Қызылорда облысының күріш алқаптарының микробалдырлары мен цианобактерияларының түрлік әртүрлілігін зерттеу альгофлораның бай биоалуантүрлілігін көрсетті. 5 бөлімге, 10 сыныпқа, 19 тапсырысқа, 26 отбасына, 29 ұрпаққа жататын микробалдырлардың 58 түрі, формалары мен сорттары табылды. Зерттелетін альгофлораның таксономиялық түрлері келесідей: *Cyanobacteria*– 25 (45%), *Bacillariophyta*– 5 (10%), *Euglenophyta* — 5 (3 %), *Chlorophyta* – 18 (33%), *Charophyta* - 5(8%).

Төменде әр түрдің егжей-тегжейлі сипаттамасы берілген.

1. J-14 дақылы. Жіп тәрізді цианобактерия. Трихомалар бір, түзу, көк-жасыл сфералық вегетативті жасушалардан тұрады (ұзындығы 6-8 мкм, ені 3-5 мкм), ұштарында тарылмаған және септумдарда айқын тарылулар бар. Гетероцист көп жағдайда интеркаляр, жалғыз, ашық қоңыр болады. Акинеттер сирек кездеседі, әрең байқалады сопақ, олардың мөлшері жасушалардың мөлшерінен ерекшеленбеді, олар түйіршікті мазмұнмен сипатталады. Гормогония арқылы насихаттаңыз. Мәдени белгілер: Аллен, Громов, болд және BG-11 ортасында 23-280С температурада, ортаның бастапқы рН-7-де жақсы өседі. Сонымен қатар, ашық өсу қатты ортаға, сұйық қоректік ортаға, шамның бетінде де, түбінде де пленкалар түрінде өсуге тән. Ескі мәдениетте немесе азотпен қоректенетін ортада гетероцисттер мен акинеттердің дамуы байқалады. Жүйелі орналасуы бойынша цианобактериялар тобына жатады, *Hormogoneae* класс, *Nostocales* реті, *Nostoc* тұқымдасы, *Nostoc sp.* түрі.

2. J-8 дақылы. Жіп тәрізді цианобактерия. Жасушалар ұзындығы 72 мкм-ге дейін, оның ішінде 30 жасушадан тұратын түзу, борпылдақ, қозғалмайтын (аздап қозғалатын) трихомаларды құрады. Жасушалар цилиндр тәрізді, изодиаметрлік, кейде бөшке тәрізді, өлшемдері 1,8-6,8x2,3-4, 3 мкм. Трихомадағы жасушалар ашық, көк-жасыл, біртекті, гранулярлы емес. Гетероцист терминалды, униполярлы, сфералық немесе ұзартылған, сары-жасыл, өлшемі 3-5,9x2,3-3,2 мкм. Акинеттер негізінен цилиндр тәрізді, сопақша пішінді, үлкен өлшемдері 5,1-7,7x2, 6-3, 4 мкм, ашық қоңыр, сары түсті, түйіршікті және гетероцисттерге жақын. Кейде трихоманың бір ұшында екі акинет бар. Жасушаның екілік бөлінуімен көбейту, тек бір жазықтықта. Культуралық белгілер: қатты ортада алдымен Жасыл, содан кейін қоңыр-қоңыр түсті шырышты колониялар пайда болады. Олар 25-300С температурада, Аллен, Больда ортада жақсы өседі, ортаның бастапқы рН -7. Ескі мәдениеттерде (10-15 күндік өсіру) гетероцисттер мен акинеттер бар. Алдын ала морфологиялық

сәйкестендіруге сәйкес, изолят *Hormogeneae* класының цианобактерияларына, *Nostocales* ретіне, *Cylindrospermum* тұқымына, *Cylindrospermum sp.* түріне жатады.

3. SH-11 дақылы. Шырышты қабаты бар жіп тәрізді цианобактерия. Трихомалар гомоцитті жалғыз, түзу, бір қатарлы, қою көк-жасыл салыстырмалы түрде параллель орналасқан сымдарды құрайды. Трихомалардың белсенді қозғалысы байқалмады, бірақ трихомалардың ұштары шайқалды. Жасушалардың ені 2,6-5 мкм, яғни ұзындығынан 2-3 есе қысқа. Жасушалардың екілік бөлінуімен және тек бір жазықтықта таралады. Культуралық белгілер: сұйық ортада суспензия массасы көк-жасыл, сәл шырышты, аморфты тұнбаға түседі, ол оңай шайылады. Штамм жыл мезгіліне қарамастан дамиды және сақтау кезінде аксенизмді сақтайды. Громовтың қоректік ортасында ерекшеленеді, Аллен мен BG-11 ортасында жақсы өседі. Громовтың агаризацияланған ортасының бетінде трихомалардың көк-жасыл плексусы пайда болады. Инкубация температурасында Громов ортасында оңтайлы өсіру шарттары 28-25°C, қоршаған ортаның рН-7,5-8. Жүйелі орналасуы бойынша цианобактерияларға жатады, *Hormogeneae* класы, *Oscillatoriales* тәртібі, *Oscillatoria* тұқымдасы, *Oscillatoria tenuis* түрлері.

4. K-31 дақылы. Жіп тәрізді цианобактерия. Трихомалар көбінесе Шар тәрізді жасушалардан тұрады, олардың арасында гетероцисттер және сирек кездесетін, әрең байқалатын акинеттер бар. Ұштарында тарылмаған трихомалар, қабырғаларында көп немесе аз терең шөгінділер шырышты қабықтармен жабылған. Жасушалар цилиндр тәрізді, бөшке тәрізді немесе сфералық, бозғылт немесе ашық көк - жасыл немесе зәйтүн, құрамында газ көпіршіктері (вакуольдер) бар немесе газ көпіршіктері жоқ, бірақ кейде түйіршікті болады. Терминал жасушалары сәл ұзартылған, вакцинацияланбаған. Гетероцисттер интеркалярлық, жалғыз, бір-бірінен белгілі бір қашықтықта орналасқан, сопақша, кейде сфералық, әдетте вегетативті жасушалардан сәл үлкен. Гетероцисттердің дамуы 8-15 күндік өсіру кезінде қоршаған ортаның сарқылуымен байқалды. Акинеттер сфералық, жалғыз гетероцисттерге жақын орналасқан. Гормогония арқылы насихаттаңыз. Культуралық белгілер: қатты ортада олар шырышты колонияларды құрайды, сұйық ортада олар шырышты, аморфты плексустарды құрайды, колбалар қабырғаларының культурамен ластануы байқалады. Алленнің қоректік ортасында оқшауланған, болда, Чу-10, BG-11 орталарында жақсы өседі. Гетероцисттердің дамуы 8-15 күндік өсіру кезінде қоршаған ортаның сарқылуымен байқалды. Бұл ортадағы оңтайлы өсу 25-28°C температурада байқалды. Түрінің морфологиялық идентификациясы түрінің цианобактериялар тобына жататындығын көрсетеді, *Hormogeneae* класс, порядок *Nostocales* тәртібі, семейство *Nostocaceae* тұқымдасы *Anabaena* тұқымдасы, *Anabaena variabilis* түрлері.

5. J-1 дақылы. Жіп тәрізді цианобактерия. Жасушалар түзу, кейде сәл қисық, қозғалмалы емес трихомаларды құрады, ұзындығы 68-74 мкм дейін. Бұл жағдайда гетероцисттердің пайда болу орындарында жиі пайда болатын трихомалардың жалған бұтақтарына байланысты бұталар (бұталар түрінде өсу)

байқалады. Трихомалардағы жасушалар көбінесе цилиндр тәрізді, изодиаметрлік, өлшемдері 1,3-3,2 мкм. Трихомадағы жасушалар ашық, жасыл, біртекті, гранулярлы емес. Гетероцисттер интеркалярлық, сфералық немесе ұзартылған, сары-жасыл, өлшемі 3-5,9x2,3-3,2 мкм. Акинеттің болуы байқалмады. Жасушаның екілік бөлінуімен көбейту, тек бір жазықтықта. Мәдени белгілер: қатты ортада олар сары-жасыл колонияларды құрайды. Олар 25-300С температурада, BG-11, Аллен, Больда жарықта, ортаның бастапқы рН - 7 кезінде жақсы өседі. Таксономиялық тиістілігі бойынша *hormogeneae* класының цианобактерияларына жатқызылды, *Nostocales*, *Scytonemataceae*, *Tolypothrix* тұқымдасы, *Hormogeneae* класқа, *Nostocales* реті бойынша, семейство *Scytonemataceae* тұқымдасы, *Tolypothrix* туыстары, *Tolypothrix sp* түріне жатқызылды.

Қорытындылай келе цианобактериялардың аксеникалық дақылдарын күріш алқаптарынан бөлу үшін альгофлораның таксономиялық түрлерін анықтадық яғни әр изоляттың: J-14дақылы; J-8 дақыды; SH-11 дақылы; K-31 дақылы; J-1 мәдениеттеріне егжей-тегжейлі қарастырып сипаттама бердік.



Nostoc J-14



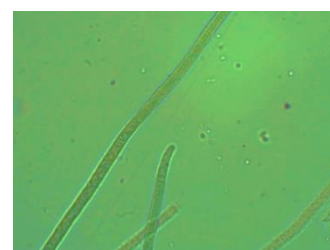
Cylandrospermum J-8



Anabaena K-31



Tolypothrix J-1



Oscillatoria Sh-11

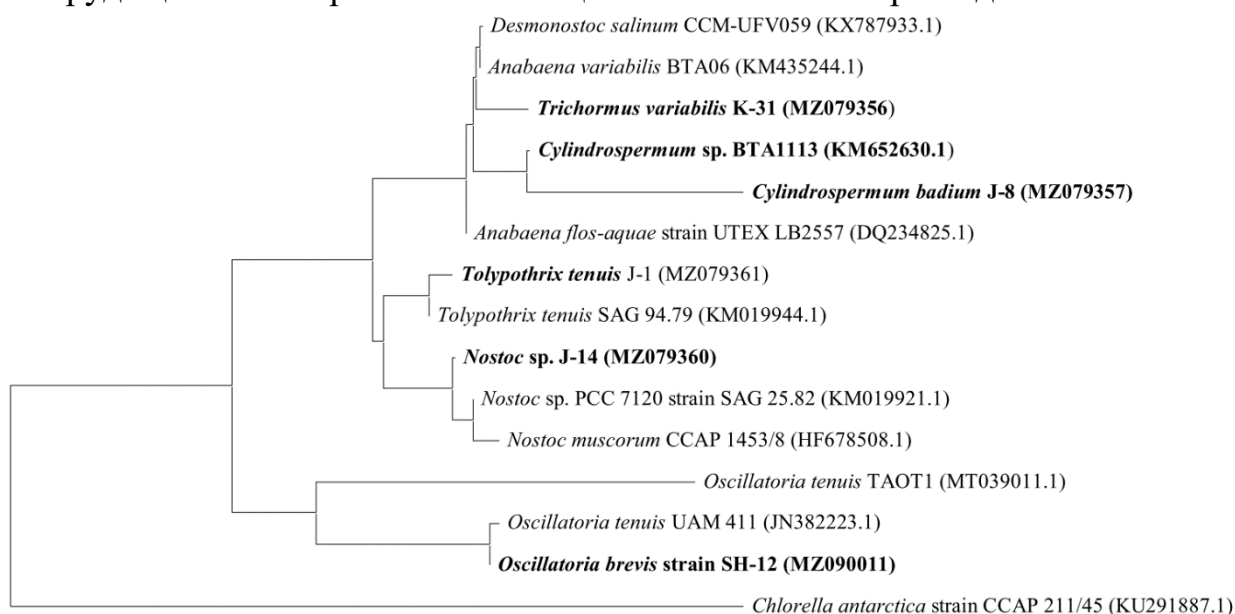
Сурет 7. Цианобактериялардың бөлінген түрлерінің микрофотографиялары

3.2. Таңдалған штаммдарды генетикалық сәйкестендіру және филогенетикалық ағаштың қалыптасуы

Таңдалған штаммдарды молекулалық сәйкестендіру үшін әртүрлі ұзындықтағы ДНҚ фрагменттері алынды. Бұл ДНҚ фрагменттері 16 rRNA әмбебап праймерлермен күшейтілді және ұқсас тізбектер *ncbi* BLAST онлайн деректер базасында анықталды.

Алынған мәліметтерге сәйкес, үлкен ұқсастықтары бар 8 тізбек кірісі алынды және MUSCLE бағдарламасы арқылы бірнеше теңестіру жүргізілді. Филогенетикалық ағаш Kimura-2-Parameter алгоритміне негізделген іргелес-біріктіру әдісін қолдана отырып есептелген эволюциялық қашықтыққа негізделген MEGA 6 бағдарламалық жасақтамасының көмегімен салынды. Ағаш топологиясын статистикалық бағалау 1000 қайталанатын үлгіні жүктемелік талдау арқылы жүргізілді [Тамура, 2011].

Филогенетикалық ағаш төрт негізгі кластерден және бір топтан тұрды, олардың әрқайсысында негізінен *Cylindrospermum*, *Anabaena*, *Tolypothrix*, *Oscillatoria* түрлерінің әртүрлі өкілдері болды. Сыртқы топ ретінде *Chlorella antarctica* strain CCAP 211/45 (KU291887.1) штаммы пайдаланылды. - Сур. 8 тұқымдас штамдардың филогенетикалық байланысын және таксондарды дәйекті салыстырудың негізін көрсететін алғашқы топологиясын көрсетеді.



Сурет 8. Цианобактериялардың оқшауланған штаммдары және тұқымдас түрлердің филогенетикасы

Нуклеотидті тізбектер SH-12 түрінде филогенетикалық талдау үшін қолданылды. Әмбебап праймерлермен алынған секвенирлеу нәтижелері негізінде 18-20 нуклеотидтер тізбегінен тұратын бүкіл тізбекті құру үшін екі қосымша праймер қолданылды. Tm мәндері 56-66°C диапазонында болды. SH-12 strain (MH341423) *Oscillatoria tenuis* (JN382222.1) штаммына 99,76% жақын болды. Сонымен қатар, штамдар (JN382223.1) uncultured *Oscillatoria* sp. clone GU3-6 (бағалау = 2254, eden. = 99,76%) және *Oscillatoria* sp. PCC 9631 (GQ351578.1) (бағалау = 2198, eden. = 98,94%) сонымен қатар зерттелген штаммға генетикалық ұқсастықты көрсетті. Филограмма көрсеткендей, J-14 штаммы Hf678508.1 түгендеу нөмірі бар *Nostoc muscorum* түріне ұқсас болды (бағалау = 2326; ident. = 99,38%), *Nostoc* sp. түгендеу нөмірі KM019921. 1 (бағалау = 2298, Иден. = 99,45%), *Anabaena* sp. (HE975015.1). J-14 штаммының бірнеше штамммен филогенетикалық ұқсастығын ескере отырып, ол негізінен

морфологиялық тұрғыдан *Nostoc* тұқымына жататындығы анықталды. J-1 штаммы *Calothrix brevissima* (AP018207.1) түрлеріне 99,33% жақындығын көрсетті (бағалау = 2451), ал *Tolypothrix tenuis* (KM019944.1) және *Scytonema mirabile* (KM019943.1) сәйкесінше 99,48% және 99,41% ұқсастығын көрсетті. Морфологиялық зерттеулер көрсеткендей, бұл штамм *Tolypothrix* түріне жақын. Секвенирлеу арқылы алынған 1354 нуклеотидтер тізбегі екі қосымша праймердің көмегімен алынды. J-8 тізбектері 27f және 1492r әмбебап праймерлермен анықталды және *Cylindrospermum* sp штаммымен өте тығыз байланысты көрсетті. Bta1113 филогенетикалық ағаштардың қалыптасуында (бағалау = 785, сәйкестендіру = 94,36%). Басқа көрші түрлердің жақындығы 90,47% құрады, мысалы *Desmonostoc salinum*, *Desmonostoc* sp. (90,36%). Нәтижелер k-31 штаммының *Nostoc* sp-ге жақын екенін көрсетті. SAG 34.92 және *anabaena variabilis* BTA0 96,62% сәйкестендірумен. Морфологиялық белгілері бойынша (гетероцист формасы) *anabaena* (Fig. 1).

Зерттеу нәтижелері бойынша филогенетикалық талдау негізінде 5 цианобактериалды дақылға генетикалық талдау жүргізілді, олардың жақын топтары анықталды және филогенетикалық ағаштар құрылды. Алынған нуклеотидті тізбектер GenBank (NCBI) мәліметтер базасына жүктеліп, түгендеу нөмірлері алынды. Осылайша, филогенетикалық ұқсас түрлерді талдау арқылы цианобактериялардың оқшауланған жаңа түрлер анықталды: *Trichormus variabilis* K-31, *Cylindrospermum badium* J-8, *Nostoc* sp. J-14, *Oscillatoria brevis* SH-12, *Tolypothrix tenuis* J-1.

3.3. Цианобактериялардың бөлінген түрлердің азотсыз ортадағы өнімділігін зерттеу

Келесі кезеңде бөлінген цианобактериялардың азотсыз қоректік ортада (Аллена0) өсу қабілеті зерттелді, ал филаментте гетероцисттердің пайда болуы және осы жағдайларда штамдардың нитрогеназа белсенділігі анықталды. Бұл культура үшін цианобактериялардың төрт гетероцистік штамдары Аллен мәдени ортасында және күн сайын гетероцистикалық (ГС) және вегетативті жасушалардың (ВЖ) саны бір филаментте өсірілді, сондай-ақ өсірілетін цианобактериялардың өсу коэффициентінде тіркелді. 14 күннен кейін цианобактериялардың биомассасы культуралық сұйықтықтан бөлініп, кептіріліп, құрғақ биомассаның шығымдылығы анықталды. Алынған нәтижелер 1-кестеде келтірілген.

Келесі кезеңде бөлінген цианобактериялардың азотсыз қоректік ортада (Аллена0) өсу қабілеті зерттелді, ал филаментте гетероцисттердің пайда болуы және осы жағдайларда штамдардың нитрогеназа белсенділігі анықталды. Бұл культура үшін цианобактериялардың төрт гетероцистік штамдары Аллен мәдени ортасында және күн сайын гетероцистикалық (ГС) және вегетативті жасушалардың (ВЖ) саны бір филаментте өсірілді, сондай-ақ өсірілетін цианобактериялардың өсу коэффициентінде тіркелді. 14 күннен кейін цианобактериялардың биомассасы культуралық сұйықтықтан бөлініп,

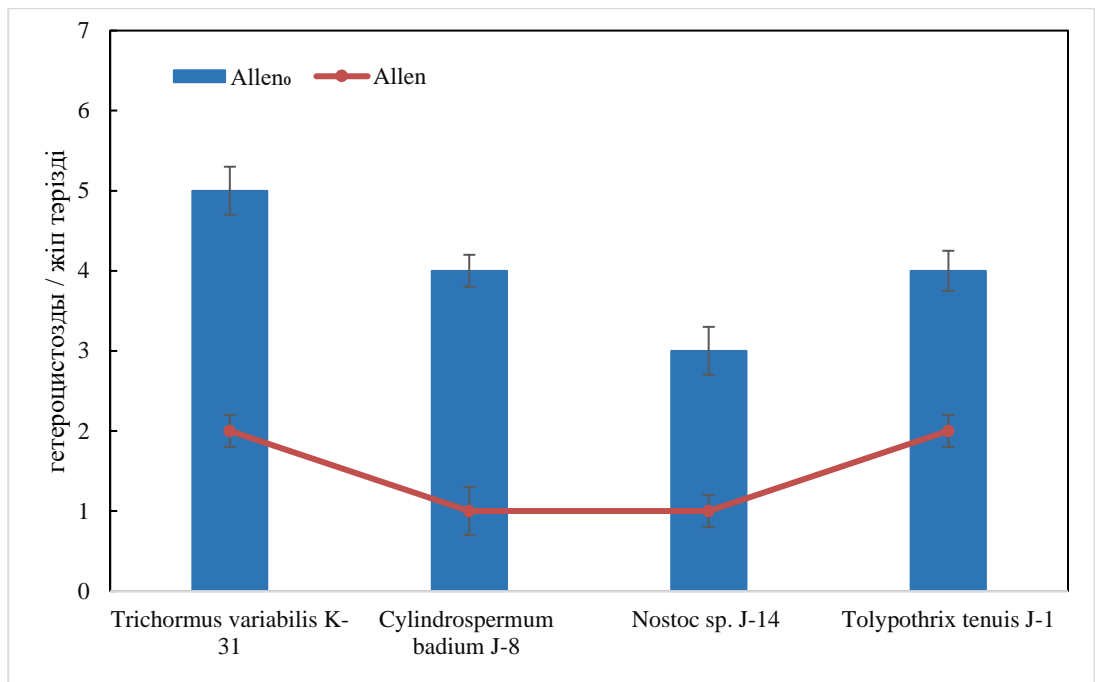
кептіріліп, құрғақ биомассаның шығымдылығы анықталды. Алынған нәтижелер 1-кестеде келтірілген.

Жалпы алғанда, зерттелген барлық штамдардың азотсыз ортада өсу мүмкіндігі болғанын атап өткен жөн. Алайда, бақылаумен салыстырғанда, азотсыз ортада дақылдардың лаг-фаза өсуінің едәуір ұзаруы байқалды. Өсіру кезінде зерттелген штамдардың өсу қарқыны әртүрлі мәндерге жетті, ең белсенді өсу *Nostocales* штамының өкілдері – *Trichormus variabilis k-31* және *Nostoc sp* штамдары болды. J-14. эксперименттің соңына қарай құрғақ биомассаның шығуы-1,06; тиісінше 1,01 г/л құрады.

Кесте 1. азотсыз ортадағы (Аллен₀) микробалдырлардың бөлінген штамдарының өнімділігін анықтау нәтижелері. Деректер орташа +/- SE (n = 3), P <0.05.

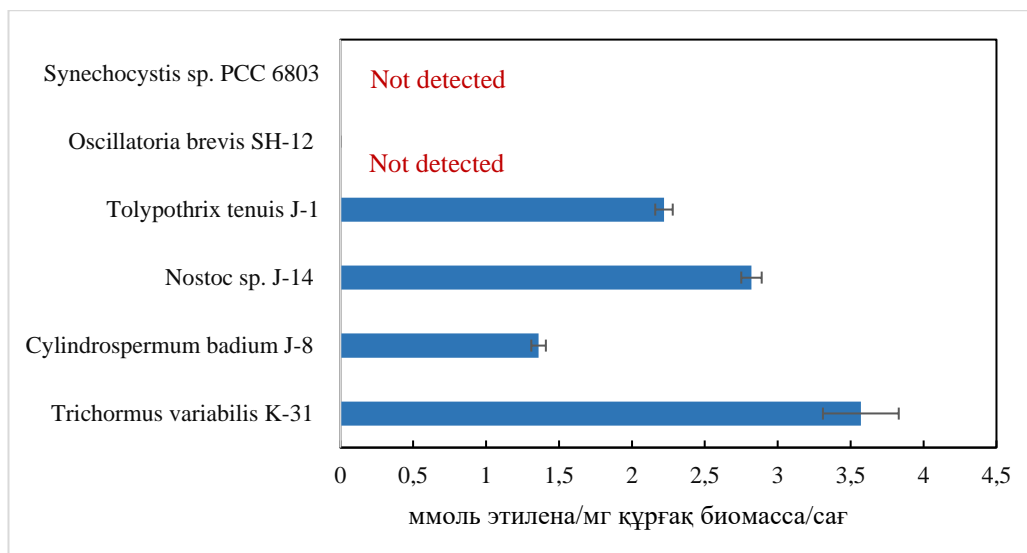
Штамм	Өсу жылдамдығының коэф.	Құрғақ биомасса, г/л
<i>Trichormus variabilis</i> K-31	0,28±0,02	1,06
<i>Nostoc sp.</i> J-14	0,27±0,02	1,01
<i>Cylindrospermum badium</i> J-8	0,19±0,02	0,87
<i>Tolypothrix tenuis</i> J-1	0,24±0,02	0,91

Алынған нәтижелер *Nostocales* тапсырыс берушілердің азотсыз ортасында өнімділіктің айтарлықтай айырмашылығын көрсетеді, зерттелген штамдардың ішіндегі ең жоғары өнімділік *Trichormus variabilis K-31* және *Nostoc sp* штамдарында байқалды. J-14. Азот көзін болдырмайтын ортада зерттелген барлық дақылдардың өсу қабілеті цианобактериялардың таңдалған дақылдарында азотты бекітетін белсенділіктің болуын көрсетеді. Гетероцист санының тіркелуі барлық мәдениеттерде азотсыз ортада өсу қарқынының аздап төмендеуіне қарамастан гетероцист санының өскенін көрсетті. Құрамында азот жоқ ортада штамдарды өсірудің 9 күнінен кейін Аллен қоректік ортасында да, Аллен 0 азотсыз ортада да өсірілетін дақылдар арасында сенімді айырмашылықтар анықталмағаны байқалды. Аллен мәдени ортасындағы тәжірибеде үш штамм гетероцисттердің белсенді қалыптасуымен сипатталды. *Trichormus variabilis k-31* штаммының жасушалары 5 гетероцист/филамент, *Nostoc sp* түзгені тіркелген. J-14 - 3 гетероцист/филамент, ал *Cylindrospermum badium* J-8 және *Tolypothrix tenuis* J-1 штамдары ең көбі 4 гетероцист/филаментті бөліп алды. Бұл сандар бақылауға қарағанда шамамен 2-3 есе жоғары, онда гетероцисттердің саны жасуша тығыздығына немесе биомассаға оң әсер етеді (сурет. 9).



Сурет 9. Ортадағы азоттың гетероцисттердің түзілу жиілігіне әсері.

Әрі қарай цианобактериялардың бөлінген 5 штаммы нитрогеназа белсенділігіне зерттелді, оның ішінде *Oscillatoria brevis SH-12*. Бақылау ретінде гетероцист емес *synecocystis sp* цианобактериясының штаммы қолданылды. РСС 6803. Газ хроматографиясының нәтижелері азотты бекітетін цианобактериялардың барлық штамдары ацетилен ортасында азотты белсенділік көрсеткені байқалды. Алайда олардың ацетиленді этиленге қалпына келтіру қабілеті әр түрлі болатындығы көрсетілді. Алынған нәтижелерге сәйкес, зерттелген түрлер арасында *oscillatoria brevis SH-12* штаммы нитрогеназа белсенділігін көрсеткен жоқ, *Trichormus variabilis K-31* штаммында этиленнің ең көп мөлшері болды ($3,57 \pm 0,26$ нмоль этилен / мг құрғақ биомасса (мг) / сағ). Сонымен қатар, *Nostoc sp* штамдары жақсы нәтиже көрсетті. J-14 ($2,82 \pm 0,07$ нмоль этилен / мг құрғақ биомасса / сағ) және *Tolypothrix tenuis J-1* ($2,22 \pm 0,06$ нмоль этилен / мг құрғақ биомасса / сағ). *Cyndrospermum badium J-8* штаммы үшін бұл көрсеткіш $1,36 \pm 0,05$ нмоль этилен / мг құрғақ биомасса / сағ тең болды (10-сурет).



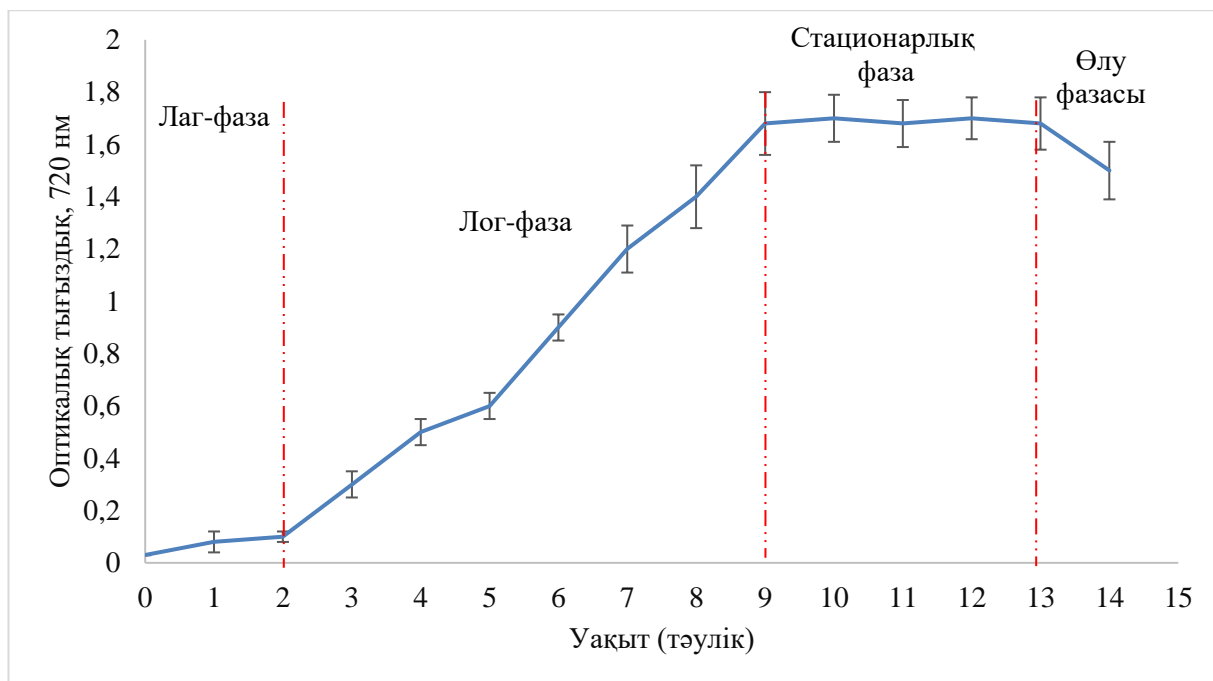
Сурет 10. Алленнің азотсыз ортасында цианобактериялардың бөлінген штамдарының нитрогеназалық белсенділігін зерттеу нәтижелері

Осылайша, жүргізілген эксперименттер негізінде 5 оқшауланған изоляттарының 4 цианобактериялардың штаммының белгілі бір дәрежеде азотты бекітетін қабілеті бар екендігі анықталды. Сонымен қатар, *Nostocales* бұйрығының өкілдері үшін жақсы нәтижелер алынды. Азотты бекітудің ең жоғары белсенділігі *Trichormus variabilis k-31* және *Nostoc sp J-14*.

3.3.1 Бөлініп алынған цианобактерия штамдарының биомассасының күрішке әсерін зерттеу

Келесі кезекте *Anabaena sp. B1-4* штам биомассасының күріштің өсуіне әсерін зерттеу жұмыстары жүргізілді. Азотфиксациялау белсенділігін арттыру үшін 1 мкмоль Mo қосылған, модификацияланған Аллен қоректік ортасы қолданылды.

Сонымен қатар, *Anabaena sp. B1-4* штамның биомассасының өсу динамикасы анықталды (сурет 31). Клеткалардың бастапқы оптикалық тығыздығы 0,03 бірлікті құрады және белсенді өсу 10-шы тәулікке дейін жалғасты. 9-ші тәулікте дақылдың лог-фазасы аяқталып, стационарлық фазада клеткалардың биомассасы алынды және жоғары оптикалық тығыздығы 1,7 бірлікті құрады. 11-ші тәулікте өлу фазасының басталғаны анықталды. Арнайы қолдан жасалған фотобиореакторда өскен клеткалардың биомассасы 10-шы тәулікте центрифуга көмегімен суспензиядан бөлініп алынды.



Сурет 11 – *Anabaena* sp. B1-4 цианобактерия штаммының өсу динамикасы

Келесі кезекте гетероцисталы цианобактерия штаммының биомассасының әсерін күріштің өсу көрсеткіштеріне тигізетін әсері зерттелді. Зерттелген штамдар арасында нитрогеназа белсенділігі бойынша ерекшелеген *Anabaena* sp. B1-4 штаммының әр түрлі концентрациядағы суспензиясының *Ақмаржан* сортының өсу көрсеткіштеріне әсері зерттелінді.

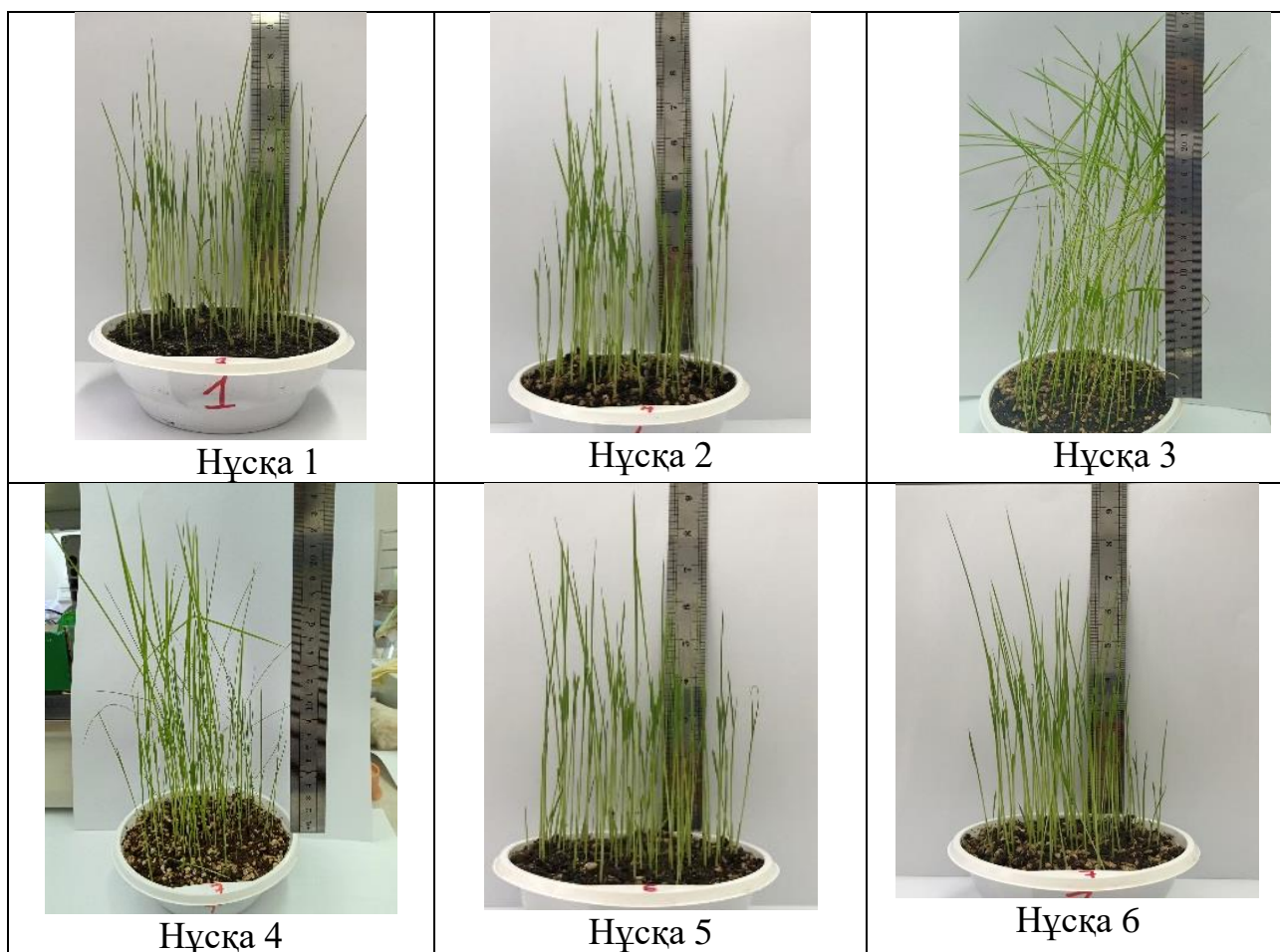
Anabaena sp. B1-4 суспензиясының әр түрлі концентрациясының *Ақмаржан* сортына әсерін зерттеуде 1 мл-дегі клетка саны есептелінді.

6-кестеде көрсетілгендей, күріштің өсу көрсеткіштері әртүрлі болды. Бұл зерттеу жұмысында өсіп шыққан күріштердің бойының ұзындығы есепке алынды. Себебі, топырақтағы азоттың қалыпты концентрациясы өсімдіктердің өсуінде маңызды қызмет атқарады және тамырдың өсуіне оң әсерін тигізеді. Зерттеу жұмысында бақылау 1 нұсқасында өсіп шыққан күріштердің орташа ұзындығы $34 \pm 1,9$ см құрады, ал азотсыз ортадағы бақылау 2 нұсқасында бұл көрсеткіш $20 \pm 1,3$ см құрады, яғни, бақылау 1-мен салыстырғанда 15 см-ге төмен көрсеткіш тіркелді. 6×10^6 кл/мл концентрациядағы күріштердің максималды өсу көрсеткіші $24 \pm 1,3$ болса, 12×10^6 кл/мл нұсқасы 4 см-ге жоғары болды ($28 \pm 1,2$ см). Тәжірибе барысында ең оптималды клетка концентрациясы 24×10^6 кл/мл ($34 \pm 1,9$ см) және 48×10^6 кл/мл ($32 \pm 1,1$ см) нұсқаларында болды. Клеткалардың суспензияларының шамадан тыс болуы өсімдіктің өсуіне теріс әсер етіп, келесі екі нұсқада (96 және 192×10^6 кл/мл) салыстырмалы түрде төмен көрсеткіштер тіркелді (кесте 6).

Кесте 2. Азотфиксациялаушы *Anabaena* sp. B1-4 штаммының әртүрлі суспензиясының күріштің бойының өсуіне әсері

№	Тәжірибенің нұсқалары	Күріш бойының ұзындығы, см
1	1-нұсқа – 6×10^6 кл/мл	$24 \pm 1,3$
2	2-нұсқа – 12×10^6 кл/мл	$28 \pm 1,2$
3	3-нұсқа – 24×10^6 кл/мл	$34 \pm 1,9$
4	4-нұсқа – 48×10^6 кл/мл	$32 \pm 1,1$
5	5-нұсқа – 96×10^6 кл/мл	$29 \pm 1,1$
6	6-нұсқа – 192×10^6 кл/мл	$25 \pm 1,9$

Anabaena sp. VI-4 цианобактерия штамы Ақмаржан сортының өсуіне әсер ететіні байқалды. Күріш алқабынан бөлініп алынған штамм нитрогеназа ферменттерінің белсенділігімен ауадағы азотты фиксациялау процесін жүргізіп, топырақтың құрамын молекулалық азотпен байытады. Тәжірибедегі гетероцисталы цианобактерия дақылды биомассасының әртүрлі концентрациясы күріштің бойының өсуіне әсерін әрқалай тигізетіні тіркелді. Қорытындылай келе, 24×10^6 кл/мл және 48×10^6 кл/мл концентрациядағы клетка биомассасы күріштің өсуіне оң әсерін тигізетіні анықталды және осы штамм агробиотехнологиядағы болашағы мол объекті ретінде ауылшаруашылық-егістік жұмыстарына ұсынылады.



Сурет 12. Цианобактериялардың әсерін күріш дақылдарына зерттеу

Қорытынды

Күріш алқаптарының микробалдырлары мен цианобактерияларының түрлік әртүрлілігін зерттеу альгофлораның бай биоалуантүрлілігін көрсетті. 5 бөлімге, 10 сыныпқа, 19 тапсырысқа, 26 отбасына, 29 ұрпаққа жататын микробалдырлардың 58 түрі, формалары мен сорттары табылды. Зерттелетін альгофлораның таксономиялық түрлері келесідей: *Cyanobacteria*– 25 (45%), *Bacillariophyta*– 5 (10%), *Euglenophyta* — 5 (3 %), *Chlorophyta* – 18 (33%), *Charophyta* - 5(8%).

Зерттеу нәтижелері бойынша филогенетикалық талдау негізінде 5 цианобактериалды дақылға генетикалық талдау жасалды, олардың жақын топтары анықталды және филогенетикалық тізбегі құрылды. Алынған нуклеотидтік тізбектер Генбанктің мәліметтер базасына (NCBI) жүктеліп, түгендеу (Accession number) нөмірлері алынды. Осылайша, филогенетикалық ұқсас түрлерді талдау арқылы цианобактериялардың оқшауланған жаңа изоляттары анықталды.

Осылайша, жүргізілген эксперименттер негізінде цианобактериялардың 5 түрінің 4-інің азотты бекітетін қабілеті бар екендігі анықталды. Сонымен қатар, *Nostocales* өкілдері үшін жақсы нәтижелер алынды. Азотты бекітудің ең жоғары белсенділігі *Trichormus variabilis* K-31 және *Nostoc* sp. J-14 штамдарында анықталды.

Anabaena sp. VI-4 цианобактерия штамы Ақмаржан күрішінің сортының өсуіне оң әсер ететіні байқалды. Күріш алқабынан бөлініп алынған штамм нитрогеназа ферменттерінің белсенділігімен ауадағы азотты фиксациялау процесін жүргізіп, топырақтың құрамын молекулалық азотпен байытады. Тәжірибедегі гетероцисталы цианобактерия дақылы биомассасының әртүрлі концентрациясы күріштің бойының өсуіне әсерін әрқалай тигізетіні тіркелді. Қорытындылай келе, 24×10^6 кл/мл және 48×10^6 кл/мл концентрациядағы клетка биомассасы күріштің өсуіне оң әсерін тигізетіні анықталды және осы штамм агробиотехнологиядағы болашағы мол объекті ретінде ауылшаруашылық-егістік жұмыстарына ұсынылады.

Пайдаланылган әдебиеттер

1. Блохина И.Н., Леванова Г.Ф. 1990. Геносистематика бактерий и ее прикладное значение // Усп. микробиол. 24. 3-25. Пиневи́ч А. В. 2006. Микробиология. СПб. 351 с.
2. Пиневи́ч А.В., Аверина С.Г. 2002. Оксигенная фототрофия. СПб. 234 с. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 2nd ed. 2001 / Eds. D.R. Boone, R. W. Castenholz. New York. 721 p. https://www.bergeys.org/instructions-for-authors/BMSAB_contributor_guidelines_1.12.pdf
3. Boyer S. L., Flechtner V.R., Johansen J. R. 2001. Is the 16S-23S rRNA internal transcribed spacer region a good tool for use in molecular systematics and population genetics? A case study in Cyanobacteria // Mol. Biol. Evol. 18. 1057-1069. Cohan F.M. 2002. What are bacterial species? // Ann. Rev. Microbiol. 56. 457-487
4. Pinevich A.V., Averina S.G., Velichko N.V. 1997. Another view on the role of photosynthetic pigments in taxonomy of oxygenic-phototrophic bacteria // Int. J. Syst. Bacteriol. 47. 1264-1267.
5. Pinevich A.V., Skulberg O.M., Matthijs H. C.P., Schubert H., Willen E., Gavrilova O.V, Velichko N.V. 1999. Characterization of a novel chlorophyll b-containing Prochlorothrix species (Prochlorophyta) and its photosynthetic apparatus // Microbios. 100. 159-174 . https://www.researchgate.net/publication/254784345_Characterization_of_a_new_chlorophyll_b-containing_Prochlorothrix_species_Prochlorophyta_and_its_photosynthetic_apparatus
6. Robinson N.J. 1995. Singular over-representation of an octameric palindrome, HIP1, in DNA from many cyanobacteria // Nucl. Acids Res. 23. 729-735 . Rosselló-Mora R., Amann R. 2001. The species concept for prokaryotes // FEMS Microbiol. Rev. 25. 39-67.
7. Timofeyeva A., Verbitskaya A., Pinevich A. 2003. Genetic diversity of filamentous chlorophyll b-bearing cyanobacteria // Abstr. 11th Int. Symp. on Phototrophic Prokaryotes. Tokyo. P. 2-3. Wayne L.G., Brenner D.J., Colwell R.R. 1987. Report of the ad hoc committee on reconciliation of approaches to bacterial systematics // Int. J. Syst. Bacteriol. 37. 463-464 .
8. Громов, Б. В. Биоразнообразие цианобактерий: основы, дальнейшее выявление и перспективы сохранения в свете проблем экологии России / Б.В. Громов, А.В. Пиневи́ч, А.А. Веприцкий // Микробиология. — 1993. — Т. 62. — № 3. — С. 406-420.
9. Громов, Б. В. CALU – Коллекция культур водорослей лаборатории микробиологии Биологического института Санкт-Петербургского университета / Б.В. Громов, Н.Н. Титова // Каталог культур микроводорослей в коллекциях СССР. — М. Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН. — 1991. — С. 62-76.

10. Домрачева, Л. И. Биоремедиационные возможности почвенных цианобактерий /Л.И. Домрачева, Л.В. Кондакова, Л.Б. Попов, Ю.Н. Зыкова // Теоретическая и прикладная экология. — 2009. — № 1. — С. 8-17.
11. Дубовик, И. Е. Изменение цианобактериально-водорослевых ценозов нефтезагрязненных почв при биоремедиации / И.Е. Дубовик, М.Ю. Шарипова, Т.Р. Кабиров // Вестник Башкирск. ун-та. — 2015. — № 1. — С. 111-114. <https://cyberleninka.ru/article/n/izmenenie-tsianobakterialno-vodoroslevyh-tsenozov-neftezagryaznennyh-pochv-pri-bioremediatsii-1>
12. Заварзин, Г. А. Планета бактерий / Г.А. Заварзин // Вестник Российской академии наук. — 2008. — Т. 78. — № 4. — С. 328-336.
13. Заварзин, Г. А. Становление биосферы / Г.А. Заварзин // Вестник РАН. — 2001. —Т. 71. —№ 11. — С. 988-1001.
14. Кокшарова, О. А. Применение методов молекулярной генетики и микробиологии в экологии и биотехнологии цианобактерий / О.А. Кокшарова // Микробиология.— 2010. — Т. 79. — № 6. — С. 734-747.
15. <https://www.kaznu.kz/content/files/pages/folder1177/Сарсекеева%20Ф.К.-%20%209.pdf>
16. Кондакова, Л. В. Альгологический мониторинг пахотных дерново-подзолистых оглеенных почв в оценке эффективности агромелиоративных мероприятий / Л.В. Кондакова // Теоретическая и прикладная экология. — 2010. — № 2. — С. 50-57.
17. Кузякина, Т. И. Термофильные синезеленые водоросли (цианобактерии) паратунского геотермального месторождения. Способы культивирования и использование в биотехнологии / Т.И. Кузякина, А.С. Латкина, А.А. Ефимов, М.В. Ефимова // Современные проблемы науки и образования. — 2007. — № 6 (часть — С. 121-126.
18. Лукьянов В. А., Стифеев А. И. Прикладные аспекты применения микроводорослей в агроценозе // Монография. Курск, 2014.
19. Доброжан С. Н., Шалару В. В., Шалару В. М., Стратулат И. И., Семенюк Е. Н. Использование некоторых видов синезеленых азотфиксирующих водорослей в качестве биологического удобрения // Альгология. 2014. Т. 24. №3. С. 426–429.
20. Paudel Y. P., Pradhan S., Pant B., Prasad B. N. Role of blue green algae in rice productivity // Agriculture and Biology Journal of North America. 2012. V.3. N8. P. 332–335. <https://scihub.org/>
21. Reddy P. M., Roger P. A., Ventura W., Watanabe I. Blue-green algal treatment and inoculation had no significant effect on rice yield in an acidic wetland soil // Phil. Agri. Special BGA ISSUE. 1986. V.69. P. 629–632.
22. Gurung S. Effect of azolla and cyanobacteria (BGA) in rice productivity // M. Sc. Dissertation.
23. Водоросли и биотехнологии – Очерки по микробиологии <http://mikrobio.balakliets.kharkov.ua/contents-15-9.html/>

24. Aziz M. A., Hashem M. A. Role of cyanobacteria in improving fertility of saline soil // *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 2003. V.6. N20. P. 1751–1752.
25. Панкратова Е.М, Зяблых Р. Ю., Калинин А. А., Ковина А. Л. и др. Конструирование микробных культур на основе синезеленой водоросли
26. *Nostoc paludosum* // *Альгология*. 2014. Т. 14. №4. С. 445–458.
27. Мельников С. С., Мананкина Е. Е. Хлорелла: физиологически активные вещества и их использование. – Минск, 1991.
28. Шалыго Н. В., Мельников С. С. Хозяйственно полезные виды водорослей // *Наука и инновации*. 2009. №3 (73). С. 34–38.
29. Мельников С. С., Мананкина Е. Е., Будакова Е. А., Шалыго Н. В. Каталог генетического фонда хозяйственно полезных видов водорослей. – Минск, 2011.
30. Қосалбаев Б.Д. Биотехнологияда қолданылатын цианобактериялардың активті штаммдарын бөліп алу және зерттеу : философия д-ры (PhD) 6D070100 – Биотехнология маман... дис.: [қорғалған 12.03.2021] / Б. Д. Қосалбаев ; ғыл. кеңесші Б. К. Заядан ; шетелдік ғыл. кеңесші Т. Татцуйа ; Әл-Фараби атын. ҚазҰУ. - Алматы, 2021. - 117 б. [https://www.kaznu.kz/content/files/pages/folder17928/Қосалбаев%20Б.Д.%20-%20Диссертация%20\(2\).pdf](https://www.kaznu.kz/content/files/pages/folder17928/Қосалбаев%20Б.Д.%20-%20Диссертация%20(2).pdf)
31. Благова, З. Р. Искусственные ассоциативные симбиозы между томатом и ризобиями, обладающими фунгистатической активностью / З. Р. Благова // *Сельскохозяйственная биология*. – 2015. – Т. 50. – № 1. – С. 107 – 114.
32. Вершинина, З. Р. Искусственная ассоциативная симбиотическая система рапса с ризобиями для защиты от фитопатогенов / З. Р. Вершинина // *Известия Самарского научного центра Российской академии наук*. – 2013. – Т.15. – № 3. – С. 1579 – 1582.
33. Волова, Т. Г. Биологические удобрения. Биотехнология / Т. Г. Валов . – 2016. – Новосибирск, Прессорд. – 159 с.
34. Глаголева, О. Б. Паранодуляция рапса при инокуляции азотфиксирующими ризосферными бактериями / О. Б. Глаголева // *Микробиология*. – №6. – 2015. – С. 545 – 552.
35. Голованов, М. Т. Роль техногенных факторов в стабилизации урожая зерна гороха сортов нового поколения / М. Т. Голованов // *Зернобобовые и крупяные культуры*. – 2014. – №1(9). – С. 3 – 7.
36. Гурьев, Г. П. Влияние препаратов клубеньковых бактерий и комплексного микробного удобрения (КМУ) на симбиотическую азотфиксацию и урожай гороха / Г. П. Гурьев // *Научно–производственный журнал «Зернобобовые и крупяные культуры»*. – №1(21). – 2017. – С. 15 – 18.
37. Гурьев, Г. П. Влияние внешних факторов среды на функционирование бобово-ризобиального симбиоза у гороха / Г. П. Гурьев //
38. *Научно-производственный журнал «Зернобобовые и крупяные культуры»*. – №4(16). – 2015. – С. 116 – 20.

39. Гурьев, Г. П. К вопросу о симбиотической азотфиксации в условиях Орловской области / Г. П. Гурьев // Зернобобовые и крупяные культуры. – 2012. № 2. – С. 66 – 71.
40. Есаулко, А. Н. Эффективность ранневесенних азотных подкормок пшеницы культур в различных почвенно–климатических условиях / А. Н. Есаулко, В. В. Агеев, Ю. И. Гречишкина // Аграрная наука — Северо - Кавказскому Федеральному Округу: 75–я научно–практическая конференция. – 2014. – С. 49 – 52.
41. Есаулко, А. Н. Влияние азотных подкормок различными формами удобрений на урожайность озимой пшеницы на черноземе выщелоченном / А. Н. Есаулко, Е. В. Голосной, А. Ю. Фурсова // Применение современных ресурсосберегающих инновационных технологий в АПК. –2013. – С. 5 – 8.
42. Игнатов, В. В. Биологическая фиксация азота и азотфиксаторы /В.В. Игнатов // Сорос.образоват. журн. – 2014. – № 9. – С. 28 – 33.
43. Ковальская, Н. Ю. Формирование искусственного азотфиксирующего симбиоза у растений рапса (*Brassica Napus* var *Napus*) в нестерильной почве / Н. Ю. Ковальская // Микробиология. – 2014. – №7. – С. 701 – 708.
44. Кожемяков, А. П. Продуктивность азотфиксации в агроценозах А. П. Кожемяков // Микробиол. журн. – 2017. – № 4. – С. 22 – 28.
45. Коць, С. Я. Биологическая фиксация азота: бобово–ризобиальный симбиоз / С. Я. Коць, В. В. Моргун, В. Ф. Патыка. – М.: Логос, 2017. – 523 с.

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ БІЛІМ ЖӘНЕ ҒЫЛЫМ МИНИСТРЛІГІ
Қ.И. Сәтбаев атындағы Қазақ ұлттық технологиялық зерттеу университеті
Қ. Тұрысов атындағы Геология және мұнай-газ ісі институты
Химиялық және биохимиялық инженерия кафедрасы



ҚОРҒАУҒА ЖІБЕРІЛДІ
ХЖБИ кафедра меңгерушісі
Ph.D. доктор
Амитова А.А
2022ж.

ДИПЛОМДЫҚ ЖҰМЫС

Тақырыбы: Цианобактериялардың активті штамдарын бөліп алу және
оны агробиотехнологияда қолдану
5B070100–«Биотехнология» мамандығы

Орындаған: Әділ Б.О. және Кажиханова А.Б.

Пікір беруші
әл-Фараби атындағы ҚазҰУ
биология және биотехнология
кафедрасының б.ғ.к., доценті

Садвакасова А.К. *Асағ*

“ 27 ” “ 05 ” 2022 ж

Ғылыми жетекші
Ph.D. доктор

Қосалбаев
Б.Д.

“ 27 ” “ 05 ” 2022 ж

Алматы 2022

Қ.И. Сәтбаев атындағы Қазақ ұлттық техникалық зерттеу университеті,
Химиялық және биохимиялық инженерия кафедрасының 4-курс
студенттері Кажиханова А.Б. мен Әділ Б.О.
«Цианобактериялардың активті штамдарын бөліп алу және оны
агробиотехнологияда қолдану» тақырыбындағы бітіру жұмысына

РЕЦЕНЗИЯ

Кажиханова А.Б. мен Әділ Б.О. «Цианобактериялардың активті штамдарын бөліп алу және оны агробиотехнологияда қолдану» қазіргі таңда өзекті мәселелердің бірі. Себебі, қазіргі таңда бактериялармен топырақтың құнарлылығын арттыру, түрлі витаминдермен байыту және топырақтың химиялық ластанудан сақтау мәселелері қарастырылған және тиімді шешімдер ұсынылған.

Зерттеу әдістерінде цианобактериялардың дақылдарын күріш алқабтарынан бөліп алуда және бөлініп алынған цианобактериялардың таксономиясын анықтауда заманауи GeneBank мәліметтер базасын қолданған.

Зерттеу жұмыстарының мақсаты жүргізілген эксперименттер негізінде цианобактериялардың 5 түрінің 4-інің азотты бекітетін қабілеті бар екендігі анықтаған. Сонымен қатар, Nostocales өкілдері үшін жақсы нәтижелер алынды. Азотты бекітудің ең жоғары белсенділігі *Anabaena* sp. В1-4 және *Anabaena* К-31 штамдарында анықталды.

Anabaena sp. В1-4 цианобактерия штамы Акмаржан күріші сортының өсуіне оң әсер ететіні байқалды. Күріш алқабынан бөлініп алынған штамм нитрогеназа ферменттерінің белсенділігімен ауадағы азотты фиксациялау процесін жүргізіп, топырақтың құрамын молекулалық азотпен байытады. Таңдалып алынған *Anabaena* sp. В1-4 және *Anabaena* К-31 штамдарының биомассасы негізінде алынған суспензияның ауылшаруашылық өсімдіктерінің өнімділігіне оң әсері анықталған.

Дипломдық жұмыстың академиялық жазу сапасы өте жоғары, ұқыпты жауапкершілікпен жасалған. Жұмыста кестелер, схемалар және суреттер толығымен қамтылған. Студенттің дипломдық жұмысын жақсы деп бағалап, дипломдық жұмыс толық орындалғанын растаймын.

Рецензент:

әл-Фараби атындағы ҚазҰУ-дың
Биология және биотехнология факультеті,
Биотехнология кафедрасының б.ғ.к., доценті: Садвақасова А.К.



Қ.И. Сәтбаев атындағы Қазақ ұлттық техникалық зерттеу университеті
Химиялық және биохимиялық инженерия кафедрасы
5B070100 «Биотехнология» мамандығы бойынша 4-курс студенттері
Кажиханова А.Б мен Әділ Б.О «Цианобактериялардың активті
штамдарын бөліп алу және оны агробиотехнологияда қолдану»
тақырыбындағы бітіру жұмысына

ШІКІР

Кажиханова А.Б мен Әділ Б.О зерттеу барысында филогенетикалық талдау негізінде 5 цианобактериалды дақылға генетикалық талдау жасады, олардың жақын топтары анықталды және филогенетикалық тізбегі құрылды. Алынған нуклеотидтік тізбектер GeneBank мәліметтер базасына (NCBI) жүктеліп, түгендеу (Accession number) нөмірлері алынды. Осылайша, филогенетикалық ұқсас түрлерді талдау арқылы цианобактериялардың оқшауланған жаңа изоляттары анықталды.

Кажиханова А.Б мен Әділ Б.О осылайша, жүргізілген эксперименттер негізінде цианобактериялардың 5 түрінің 4-інің азотты бекітетін қабілеті бар екендігі анықталды. Сонымен қатар, Nostocales өкілдері үшін жақсы нәтижелер алынды. Азотты бекітудің ең жоғары белсенділігі *Trichormus variabilis* K-31 және *Nostoc* sp. J-14 штамдарында анықтады.

Кажиханова А.Б мен Әділ Б.О *Anabaena* sp. V1-4 цианобактерия штамы Ақмаржан күрішінің сортының өсуіне оң әсер ететіні байқады. Күріш алқабынан бөлініп алынған штамм нитрогеназа ферменттерінің белсенділігімен ауадағы азотты фиксациялау процесін жүргізіп, топырақтың құрамын молекулалық азотпен байытатынын анықтады. Тәжірибедегі гетероцисталы цианобактерия дақылы биомассасының әртүрлі концентрациясы күріштің бойының өсуіне әсерін әрқалай тигізетіні тіркеді. Қорытындылай келе, 24×10^6 кл/мл және 48×10^6 кл/мл концентрациядағы клетка биомассасы күріштің өсуіне оң әсерін тигізетіні анықталды және осы штамм агробиотехнологиядағы болашағы мол объекті ретінде ауылшаруашылық-егістік жұмыстарына ұсынылады.

Ғылыми жетекші:
Satbayev University-нің Химиялық
және Биохимиялық инженерия
кафедрасының қауымдастырылған профессор



Қосалбаев Б.Д.



Метаданные

Название

2022_БАК_Әділ Б, Кажиханова А.docx

Автор

Әділ Б, Кажиханова А.

Научный руководитель

Беюкан Қосалбаев

Подразделение

ИГИНГД

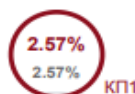
Список возможных попыток манипуляций с текстом

В этом разделе вы найдете информацию, касающуюся манипуляций в тексте, с целью изменить результаты проверки. Для того, кто оценивает работу на бумажном носителе или в электронном формате, манипуляции могут быть невидимы (может быть также целенаправленное вписывание ошибок). Следует оценить, являются ли изменения преднамеренными или нет.

Замена букв		35
Интервалы		0
Микропробелы		0
Белые знаки		0
Парафразы (SmartMarks)		16

Объем найденных подобиий

Обратите внимание! Высокие значения коэффициентов не означают плагиат. Отчет должен быть проанализирован экспертом.



25

Длина фразы для коэффициента подобия 2



9695

Количество слов



82494

Количество символов

Подобия по списку источников

Просмотрите список и проанализируйте, в особенности, те фрагменты, которые превышают КП №2 (выделенные жирным шрифтом). Используйте ссылку «Обозначить фрагмент» и обратите внимание на то, являются ли выделенные фрагменты повторяющимися короткими фразами, разбросанными в документе (совпадающие сходства), многочисленными короткими фразами расположенные рядом друг с другом (парафразирование) или обширными фрагментами без указания источника ("криптоцитаты").

10 самых длинных фраз

Цвет текста

ПОРЯДКОВЫЙ НОМЕР	НАЗВАНИЕ И АДРЕС ИСТОЧНИКА URL (НАЗВАНИЕ БАЗЫ)	КОЛИЧЕСТВО ИДЕНТИЧНЫХ СЛОВ (ФРАГМЕНТОВ)	
1	оқу куралы.Масалимова.Калмаханова.docx 2/4/2021 Taraz Regional University named after M. Kh. Dulati (Академиялық саясаты бойынша департаменті)	60	0.62 %
2	http://www.myshared.ru/slide/1433855/	57	0.59 %
3	оқу куралы.Масалимова.Калмаханова.docx 2/4/2021 Taraz Regional University named after M. Kh. Dulati (Академиялық саясаты бойынша департаменті)	36	0.37 %

4	https://www.mdpi.com/2073-4409/11/5/904/htm	17	0.18 %
5	оқу куралы.Масалимова.Калмаханова.docx 2/4/2021 Taraz Regional University named after M. Kh. Dulati (Академиялық саясаты бойынша департаменті)	15	0.15 %
6	https://www.mdpi.com/2073-4409/11/5/904/htm	14	0.14 %
7	https://kpfu.ru/staff_files/F185169706/Microbiologicheskaya_remediaciya_prirodnih_sistem_ot_t_yazhelih_metallov.pdf	13	0.13 %
8	https://www.mdpi.com/2073-4409/11/5/904/htm	12	0.12 %
9	ТОПЫРАҚТА АУЫР МЕТАЛДАРДЫ АНЫҚТАУ ҒЫЛЫМИ ЖОБАСЫНЫҢ ӨДІСТЕМЕЛІК НЕГІЗДЕРІ 4/18/2022 Shymkent university (Deanery)	11	0.11 %
10	https://www.mdpi.com/2073-4409/11/5/904/htm	9	0.09 %

из базы данных RefBooks (0.00 %)

ПОРЯДКОВЫЙ НОМЕР	НАЗВАНИЕ	КОЛИЧЕСТВО ИДЕНТИЧНЫХ СЛОВ (ФРАГМЕНТОВ)
------------------	----------	-----------------------------------------

из домашней базы данных (0.00 %)

ПОРЯДКОВЫЙ НОМЕР	НАЗВАНИЕ	КОЛИЧЕСТВО ИДЕНТИЧНЫХ СЛОВ (ФРАГМЕНТОВ)
------------------	----------	-----------------------------------------

из программы обмена базами данных (1.31 %)

ПОРЯДКОВЫЙ НОМЕР	НАЗВАНИЕ	КОЛИЧЕСТВО ИДЕНТИЧНЫХ СЛОВ (ФРАГМЕНТОВ)	
1	оқу куралы.Масалимова.Калмаханова.docx 2/4/2021 Taraz Regional University named after M. Kh. Dulati (Академиялық саясаты бойынша департаменті)	111 (3)	1.14 %
2	ТОПЫРАҚТА АУЫР МЕТАЛДАРДЫ АНЫҚТАУ ҒЫЛЫМИ ЖОБАСЫНЫҢ ӨДІСТЕМЕЛІК НЕГІЗДЕРІ 4/18/2022 Shymkent university (Deanery)	16 (2)	0.17 %

из интернета (1.26 %)

ПОРЯДКОВЫЙ НОМЕР	ИСТОЧНИК URL	КОЛИЧЕСТВО ИДЕНТИЧНЫХ СЛОВ (ФРАГМЕНТОВ)	
1	http://www.myshared.ru/slide/1433855/	57 (1)	0.59 %
2	https://www.mdpi.com/2073-4409/11/5/904/htm	52 (4)	0.54 %
3	https://kpfu.ru/staff_files/F185169706/Microbiologicheskaya_remediaciya_prirodnih_sistem_ot_t_yazhelih_metallov.pdf	13 (1)	0.13 %

Список принятых фрагментов (нет принятых фрагментов)

ПОРЯДКОВЫЙ НОМЕР	СОДЕРЖАНИЕ	КОЛИЧЕСТВО ИДЕНТИЧНЫХ СЛОВ (ФРАГМЕНТОВ)
------------------	------------	-----------------------------------------