ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫНЫҢ ҒЫЛЫМ ЖӘНЕ ЖОҒАРЫ БІЛІМ МИНИСТРЛІГІ

“Қ.И.Сәтбаев атындағы Қазақ ұлттық зерттеу техникалық университеті”
коммерциялық емес акционерлік қоғамы

Қ.Тұрысов атындағы Геология және мұнай-газ ісі институты

Химиялық және биохимиялық инженерия кафедрасы

Есмурзаева Әсия Сұлтанқызы

Балқаш көлінен сутегін өндіретін цианобактерия штаммдарын іздеу, іріктеу және олардың өсіру жағдайларын оңтайландыру

МАГИСТІРЛІК ДИССЕРТАЦИЯ

7М05105 – «Биотехнология»

Алматы 2026

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫНЫҢ ҒЫЛЫМ ЖӘНЕ ЖОҒАРЫ БІЛІМ МИНИСТРЛІГІ

“Қ.И.Сәтбаев атындағы Қазақ ұлттық зерттеу техникалық университеті”
коммерциялық емес акционерлік қоғамы

Қ.Тұрысов атындағы Геология және мұнай-газ ісі институты

ӘОЖ 665.622.43.046.6-52 (043)

Қолжазба құқығында

Есмурзаева Әсия Сұлтанқызы

Академиялық магистір дәрежесін алу үшін

МАГИСТІРЛІК ДИССЕРТАЦИЯ

Диссертация атауы	Балқаш көлінен сутегін өндіретін цианобактерия штаммдарын іздеу, іріктеу және олардың өсіру жағдайларын оңтайландыру
Дайындау бағыты	7М05105–Биотехнология

Ғылыми жетекші
қауымд. проф., Доктор PhD
_____ Какимова А.Б.

«16» қаңтар 2026 ж.

Рецензент
б.ғ.к., қауымд. проф.,
әл-Фараби атындағы ҚазҰУ Биотехнология
кафедрасының проф. м.а.
_____ Н.Р. Акмуханова
«15» қаңтар 2026 ж.

Норма бақылаушы

ХжБИ кафедра аға оқытушысы,
Доктор PhD
_____ Н.С. Демеубаева
«22» қаңтар 2026 ж.

ҚОРҒАУҒА ЖІБЕРІЛДІ
Химиялық және биохимиялық инженерия
кафедра меңгерушісі т.ғ.к., қауымд. проф.
_____ Р.А Мангазбаева
«23» қаңтар 2026 ж.

Алматы 2026

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫНЫҢ ҒЫЛЫМ ЖӘНЕ ЖОҒАРЫ БІЛІМ МИНИСТРЛІГІ
"Қ.И.Сәтбаев атындағы Қазақ ұлттық зерттеу техникалық университеті"
коммерциялық емес акционерлік қоғамы

Қ.Тұрысов атындағы Геология және мұнай-газ ісі институты
Химиялық және биохимиялық инженерия кафедрасы

7М05105–Биотехнология

БЕКІТЕМІН
Кафедра меңгерушісі
Химиялық және биохимиялық инженерия
х.ғ.к., қауымд. проф.
Р.А. Мангазбаева
«23» қаңтар 2026 ж.

ТАПСЫРМА
магистрлік диссертацияны орындауға

Магистрант Есмурзаева Әсия Сұлтанқызы
Тақырыбы: Балқаш көлінен сутегін өндіретін цианобактерия штаммдарын іздеу, іріктеу және олардың өсіру жағдайларын оңтайландыру
Университет Ректорының 2024 жылғы «28» наурыз №133–П/Ө бұйрығымен бекітілген
Аяқталған диссертацияны тапсыру мерзімі: «23» қаңтар 2026 ж.
Магистрлік диссертацияның бастапқы мәліметтері: іріктеп алынған патологиялық материал сынамалары; микробиологиялық, биохимиялық және молекулалық зерттеу әдістері кезінде алынған мәліметтер.
Магистрлік диссертацияда өңделуге (зерттелуге) тиісті мәселелердің тізбесі:

1. Биосутегі өндірісі үшін перспективті цианобактериялар культураларын іздеу және таңдау;
2. Балқаш көлінен таза цианобактериялар культураларын бөліп алу;
3. Цианобактериялар штамдарының морфологиялық және физиологиялық қасиеттерін зерттеу;
4. Бөлініп алынған цианобактерия штаммдарының өсуіне жарық, температура, pH қарқындылығының әсерін зерттеу.
5. Қараңғы және жарықта сутегінің бөлінуін зерттеу.

Ұсынылатын әдебиеттер тізімі:

1. Усербаева А. А., Бейсембек А. Е., Косалбаев Б. Д., Рысбекулы К., Болатхан К., Какимова А. Б., Заядан Б. К. Влияние различных концентраций CO_2 на продуктивность штаммов цианобактерий // Вестник КазНУ. Серия экологическая. – 2019. – № 4(61). – С. 72–79.
2. Batyrova K., Hallenbeck P. Hydrogen production by a Chlamydomonas reinhardtii strain with inducible expression of photosystem II // International Journal of Molecular Sciences. – 2017. – Vol. 18. – Article No. 67
3. Sadvakasova A. K., Kossalbayev B. D., Zayadan B. K., Bolatkhan K., Alwasel S., Najafpour M. M., Tomo T., Allakhverdiev S. I. Bioprocesses of hydrogen production by cyanobacteria cells and possible ways to increase their productivity // Renewable and Sustainable Energy Reviews. – 2020. – Vol. 133. – Article 110054.

Магистрлік диссертацияны дайындау

КЕСТЕСІ

Бөлімдердің атауы, қарастырылатын мәселелер тізімі	**Ғылыми жетекшіге ұсыну мерзімдері**	**Ескерту**
Әдебиетке шолу	01.11.2024	орындалды
Зерттеу нысандары мен әдістері	13.04.2025	орындалды
Зерттеу нәтижелері. Қорытынды	02.11.2025	орындалды

Аяқталған магистрлік диссертация үшін, оған қатысты бөлімдердегі диссертациялар кеңесшілері мен норма бақылаушының қойған

Қолдары

Бөлімдердің атауы	**Кеңесшілер, Ф. А.Т. (ғылыми дәрежесі, атағы)**	**Қол қою күні**	**Қол**
Магистрлік диссертация	А.Б. Какимова, қауымд. проф., PhD	«16»қаңтар 2026 ж.	
Норма бақылау	Н.С. Демеубаева, ХжБИ аға оқытушысы, PhD	«22»қаңтар 2026 ж.	

Ғылыми жетекші, қауымд. проф., PhD _____ А.Б. Какимова

Білім алушы тапсырманы орындауға алды _____Ә.С. Есмурзаева

Күні «22» қаңтар 2026 ж.

1 Әдебиеттік шолу

1.1 Биосутегі өндіруде цианобактериялардың маңызы

Цианобактериялар — қоршаған орта үшін аса маңызды рөл атқаратын фотосинтетикалық прокариоттардың кең таралған тобы. Олар жаһандық CO_2 және N_2 фиксациясының маңызды бөлігін қамтамасыз етеді, бұл экожүйелердің тұрақтылығын сақтауға көмектеседі. Сонымен қатар, цианобактериялар көптеген эукариотты организмдермен, оның ішінде өсімдіктер, саңырауқұлақтар, губкалар және протистермен симбиоздық байланыс құрады. Цианобактериялық симбионттар, көбінесе жіп тәрізді құрылымға ие болып, азотты фиксациялайтын арнайы жасушалар — гетероцисталар арқылы атмосфералық N_2-ні фиксирлейді. Бұл процесс цианобактерияларға фиксирленген азот алуына мүмкіндік беріп, фотосинтез жасамайтын хосттар үшін фиксирленген көміртекті қамтамасыз етеді [1].

Цианобактериялар кішкентай және сулы орталарда өсуге бейімделген, сонымен қатар кең температура диапазонында өмір сүре алады. Алайда олардың көбісі эукариоттық фитопланктонмен бәсекелесу үшін 20°C-тан жоғары, ал диатомдармен тиімді бәсекелесу үшін 25°C-тан жоғары температураны қажет етеді [2]. Бұл қасиеттер цианобактерияларды әртүрлі экологиялық жағдайларда өмір сүретін және экожүйелердің биологиялық әртүрлілігін қолдайтын микроорганизмдер ретінде көрсетеді.

Биоэнергетикалық зерттеулерде цианобактериялар — сутегі газы, биодизель және биоэтанол сияқты биоотынды өндіруге әлеуетті үміткерлер ретінде танылды. Бұл микроорганизмдер күн сәулесі мен CO_2-ді пайдаланып, органикалық қосылыстарды өндіре алады, бұл олардың жаңартылатын энергия көздері ретінде ерекше перспективалы болуына мүмкіндік береді [3].

Цианобактерияларды биоэнергия өндіруде қолданудың бір артықшылығы — олардың жоғары өнімділігі. Кейбір штамдар дәстүрлі дақылдардан, мысалы, жүгері мен соядан, бірнеше есе тез өседі, бұл оларды биоэнергетикалық ресурстардың тиімді көзіне айналдырады. Сонымен қатар, цианобактерияларды әртүрлі ортада, оның ішінде тұщы су, тұзды су және ағынды суларда өсіруге болады. Бұл олардың азық-түлік дақылдарымен жер және тұщы су ресурстары үшін бәсекелестігін төмендетуге мүмкіндік береді.

Цианобактериялар өндіре алатын биоотын түрлерінің ішінде ең перспективалысы — сутегі газы. Олар фотобиологиялық су ыдырауы кезінде сутегі шығара алады, бұл процесс барысында су молекулалары күн энергиясын пайдаланып сутегі мен оттегіге бөлінеді. Бұл әдістің тиімділігі жоғары, сонымен қатар зиянды шығарындылар жоқ, бұл оны жаңартылатын энергия технологияларын дамытудың тартымды нұсқасына айналдырады.

Сутегі өндірісі тәжірибелерінде, мысалы, дақылдар BG-11 ортасында өсіріліп, $NaHCO_3$ қосу арқылы қоректік жағдайлар оңтайландырылды. Жарық қарқындылығы, pH, температура және қоректік заттардың концентрациясы секілді факторлар сутегі шығару тиімділігіне тікелей әсер ететіндігі

көрсетілген. Әрбір штамм үшін оптималды жағдайларды табу зертханалық зерттеулер арқылы анықталады, бұл уақыт пен қаржылық шығынды талап етеді [8].

Гендік инженерия мен синтетикалық биологияның жетістіктері жаңа штаммдарды жасауға мүмкіндік береді. Мұндай штамдар жоғары өнімді, жоғары тұздылыққа төзімді және pH пен температура өзгерістеріне төтеп беретін қасиеттерге ие болады. Генетикалық модификацияланған цианобактериялар сутегі өндірісін арттырып, экологиялық тұрақтылыққа оң әсер етуі мүмкін [9].

Осыған қосымша, цианобактерияларды индустриалды масштабта қолдану биоэнергетикалық өндірістің тиімділігін арттырады. Олардың фотосинтетикалық белсенділігі, жылдам өсу қарқыны және әртүрлі орталарда өмір сүру қабілеті оларды тұрақты энергия көздері ретінде ерекше етеді. Бұл әдіс парниктік газдар шығарындыларын азайтуға, экологиялық таза өндірісті дамытуға және жаңа экономикалық мүмкіндіктер туғызуға ықпал етеді [11].

1.2 Биосутегі өндірісі үшін перспективті цианобактериялар культуралары

Қазіргі уақытта қазба отындарының тапшылығы және климаттың өзгеруі адамзатты жаңа баламалы энергия көздерін іздеуге итермелеп отыр. Әсіресе, биологиялық отындардың арасында биосутегі ең таза және құнды отын болып саналады. Ол экологиялық таза, жаңартылатын энергия көзі ретінде болашағы зор және индустриялық қолдану перспективалары кең үміткер болып есептеледі.

Кесте1 – Биосутегі өндіреге қабілетті цианобактериялар. [21]

Штамм	Штамм характеристикасы	Максималды H_2 шығымы
Anabaena variabilis 1403/4B	Гетероциста жіп тәрізді	20 мкмоль H_2/мг хлор/с
Anabaena variabilis ATCC 29413	Гетероциста жіп тәрізді	45.16 ммоль H_2/мг хлор/с
Anabaena variabilis AVM13	Гетероциста жіп тәрізді	68 ммоль H_2/мг хлор/с
Anabaena variabilis PK17R	Гетероциста жіп тәрізді	59.18 ммоль H_2/мг хлор/с
Aphanothece	Азотты фиксацияламайтын	82.79нмоль H_2/мг масса

halophytica	біржасушалы цианобактериялар	бойынша құрғақ зат/с
Штамм	Штамм характеристикасы	Максималды H_2 шығымы
Calothrix membrnacea B-379	Гетероциста жіп тәрізді	0.108 ммоль H_2/мг хлор/с
Chroococcidiopsis thermalis CALU 758	Азотты фиксацияламайтын біржасушалы цианобактериялар	0.7 мкмоль H_2/мг хлор/с
Cyanothece 51142	Азотты фиксацияламайтын біржасушалы диазотрофты цианобактериялар	465 мкмоль H_2/мг хлор/с
Desertifilum sp. IPPAS B-1220	Азотты фиксациялайтын, жіп тәрізді	0.348 мкмоль H_2/мг хлор/с
Gloebacter PCC 7421	Азотты фиксацияламайтын біржасушалы цианобактериялар	1.38 ммоль H_2/мг хлор/с
Gloeocapsa alpicola CALU 743	Азотты фиксацияламайтын біржасушалы цианобактериялар	0.58 мкмоль H_2/мг хлор/с
Apha nocapsa montana	Азотты фиксацияламайтын біржасушалы цианобактериялар	0.40мкмоль H_2/мг хлор/с
Microcoleus chthonoplasts	Жіп тәрізді, азот фиксациялайтын	1.7 нмоль H_2/мг пайда/с
Mycrocystis PCC 7806	Азотты фиксацияламайтын біржасушалы цианобактериялар	11.3нмоль H_2/мг пайда/с

Штамм	Штамм характеристикасы	Максималды H_2 шығымы
Nostoc muscorum IAM M-14	Гетероциста жіп тәрізді	0.60 ммоль H_2/мг хлор/с
Oscillatoria limosa strain 23	Жіп тәрізді, азот фиксацияламайтын	19.83 мкл H_2/мг хлор/с

Биосутегін өндіру үшін ең перспективті цианобактериялар культураларының бірнеше түрі бар. Мысалы, *Gloeocapsa* alpicola — бір жасушалы азотты бекітпейтін цианобактерия, зерттеулер көрсеткендей, күкірт жетіспеушілігі жағдайында сутегін өндіру қабілеті айтарлықтай жоғарылайды [12]. Бұл олардың қоректік стресс жағдайында сутегі өндірісін белсенді түрде арттыра алатындығын көрсетеді.

Сонымен қатар, *Arthrospira* тұқымдасының өкілдері қараңғы анаэробты жағдайда сутегін шығара алатыны анықталған. Бұл қасиет биосутегін өндірісте жарық жағдайлары шектеулі ортада да тиімді қолдануға мүмкіндік береді [13].

Anabaena тұқымдасының өкілдері — сутегі өндірісі бойынша ең жақсы зерттелген цианобактериялар қатарында. Мысалы, *Anabaena* cylindrica шектеулі жарық жағдайында 30 күн бойы аргон атмосферасында бір уақытта сутегі мен оттегін өндіре алады [15]. Бұл штамдардың ерекшелігі — азот тапшылығы кезінде сутегін өндіру белсенділігінің артуы. Жалпы алғанда, Anabaena spp. едәуір мөлшерде сутегін шығара алады, ал Anabaena cylindrica азот тапшылығы жағдайында ең жоғары сутегі көлемін береді.

Сондай-ақ, *Cyanothece* 51142 — қазіргі уақытта азотты бекітетін цианобактериялардың бірі болып табылады және сутегі өндіру қабілеті жақсы зерттелген. Бұл организмнің метаболизмінің толық моделі бар, ол арқылы оның сутегін өндірудегі жалпы теориялық потенциалын бағалауға болады [16]. *Cyanothece* 51142-дің ерекшелігі — фотосинтезді және сутегі шығару процестерін кезең-кезеңімен үйлестіре алуы, бұл оны индустриалды биоэнергетикалық өндіріс үшін тартымды кандидатты етеді.

Жалпы, бұл цианобактериялар биоэнергетика саласында сутегі өндірісін арттыруға арналған негізгі модельдік организмдер болып табылады. Оларды зерттеу нәтижелері индустриалды масштабта энергия тиімділігі жоғары, экологиялық таза биосутегі өндірісін ұйымдастыруға мүмкіндік береді. Сонымен қатар, әрбір штаммның ерекшеліктерін білу — өсіру жағдайларын оңтайландыру, өнімділікті арттыру және жаңа генетикалық модификациялар арқылы өндірісті жетілдіру үшін маңызды ғылыми негіз болып табылады.

1.3 Сутегі пайда болуының механизмі. Фотосинтез және фотожүйе

Сутегі табиғатта ең көп таралған элементтердің бірі болып табылады. Жылдық сутегі өндірісі шамамен 55 миллион тоннаға бағаланады, ал оның өнеркәсіптік пайдалану көлемі жыл сайын 6%-ға артып, болашақта 10%-ға дейін өсуі мүмкін. Сутегі энергетикада, химиялық өндірісте, металлургияда және көлікте қолданылатын маңызды отын көзі болып табылады. Көптеген халықаралық өнеркәсіптік компаниялар сутегі өндіруге ерекше қызығушылық танытып, оны тұрақты және экологиялық таза энергия көзі ретінде дамытуды жоспарлап отыр [17].

Сутегі өндірісінің биологиялық көздерінің бірі — фотосинтез процесі. Фотосинтез — өсімдіктер, цианобактериялар және басқа фотосинтез жасайтын организмдер жарық энергиясын химиялық энергияға айналдыратын процесс. Осы процесс барысында күн сәулесі көмегімен көмірқышқыл газы (CO_2) мен су (H_2O) органикалық қосылыстарға, негізінен глюкозаға ($C_6H_{12}O_6$), айналады. Сонымен қатар, фотосинтез барысында оттегі (O_2) бөлініп шығады. Фотосинтез органикалық өмірдің негізін құрайды, өйткені ол атмосферадағы оттегіні қалпына келтіреді және жердегі барлық тіршілік иелері үшін энергия көзі болып табылады.

Фотосинтез процесінде негізгі рөл атқаратын екі кешен бар: Фотожүйе 1 (ФЖ-1) және Фотожүйе 2 (ФЖ-2). Олар хлоропласттарда орналасқан және фотосинтетикалық пигменттердің көмегімен жарық энергиясын химиялық энергияға айналдырады. Бұл кешендер өсімдіктер, балдырлар және кейбір бактерияларда жарық энергиясын сіңіріп, оны органикалық қосылыстарды синтездеу үшін пайдаланады.

Фотожүйе 2 (ФЖ-2) — фотосинтездің алғашқы фотохимиялық реакция кешені болып табылады. Ол жарық энергиясын сіңіріп, оны ФЖ-1-ге электрон тасымалы арқылы жеткізеді. ФЖ-2 судың молекулаларын ыдырату нәтижесінде оттегін бөлу процесінде маңызды рөл атқарады. Оның негізгі пигменті P680, ол 680 нм толқын ұзындығындағы жарықты жақсы сіңіреді.

ФЖ-2 жұмыс істеу механизмі келесідей:

1. ФЖ-2 өзінің пигментін (P680) жарық энергиясымен қоздырады.
2. Электрондар ФЖ-2-ден цитохром b6f кешеніне беріледі.
3. Электрон тасымалы барысында судың молекулалары ыдырап, оттегі (O_2) бөлінеді.
4. ФЖ-2-ден шыққан электрондар ФЖ-1-ге өтеді.

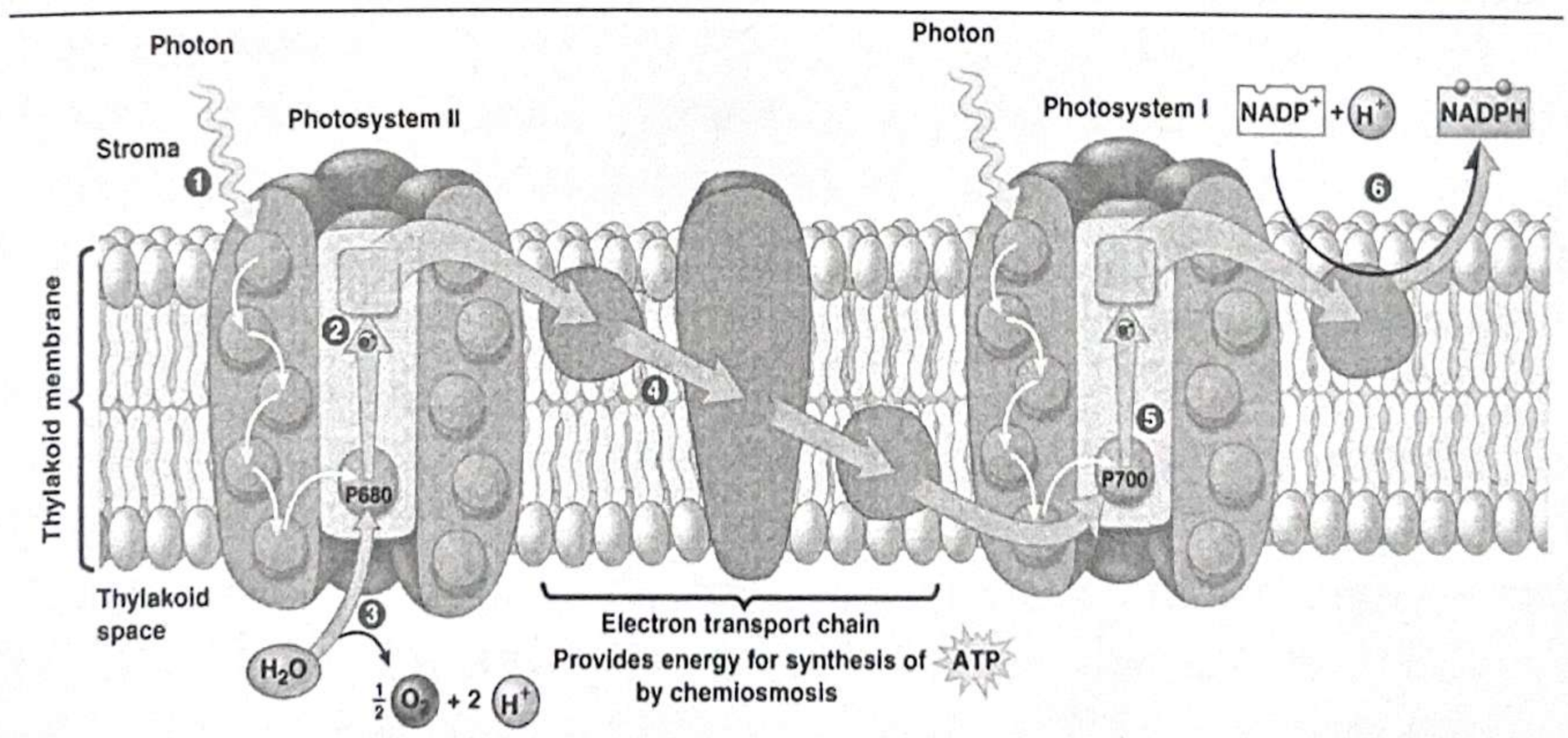
Фотожүйе 1 (ФЖ-1) құрамында P700 деп аталатын пигмент бар, ол максималды 700 нм толқын ұзындығындағы жарықты сіңіреді. P700 — хлорофилл a молекулаларының бөлігі. ФЖ-1-де энергия электрондарға беріледі, олар қозған күйге өтеді. Содан кейін электрондар ферредоксинге беріледі, әрі қарай $NADP^+$ молекулалары NADPH-қа айналады. NADPH фотосинтездің келесі кезеңдерінде көмірсуларды синтездеу үшін қолданылады, бұл органикалық қосылыстардың түзілуіне және сутегі

байланыстарында энергияның сақталуына мүмкіндік береді.

Сонымен қатар, фотосинтез процесі тек энергия өндіру ғана емес, экологиялық тепе-теңдікті сақтау үшін де маңызды. Цианобактериялар сияқты микроорганизмдер суды ыдыратып, сутегі шығара отырып, экожүйеге таза оттегін береді. Бұл қасиеттер оларды биоэнергетикада — сутегі өндіруде, биогаз және басқа да жаңартылатын энергия көздерінде тиімді пайдалануға мүмкіндік береді.

Фотосинтетикалық процесстің тиімділігі тек пигменттердің жарықты сіңіруіне ғана емес, сонымен қатар қоректік ортаның жағдайына, температураға, pH деңгейіне және жарық қарқындылығына байланысты. Мысалы, ФЖ-2 және ФЖ-1 арасындағы электрон тасымалының жылдамдығы және судың фотолитикалық ыдырауы сутегі шығару қарқынын анықтайды. Бұл микроорганизмдердің биоэнергетикалық потенциалын арттыру үшін олардың өсіру жағдайларын оңтайландыру қажеттілігін көрсетеді.

Қазіргі уақытта цианобактериялардың фотосинтетикалық сутегі өндіру қасиеттерін зерттеу, сондай-ақ гендік инженерия арқылы олардың өнімділігін арттыру бағытында көптеген ғылыми жұмыстар жүргізілуде. Бұл зерттеулер сутегі өндірісінің тиімділігін арттыруға, экологиялық таза энергия көздерін дамытуға және индустриялық масштабта қолдануға мүмкіндік береді.



1-сурет – 1-фотожүйе мен 2-фотожүйенің биосутегінің фотоөндірісіндегі рөлі

1.4 Сутегінің түзілуіне қатысатын ферменттер

Сутегінің биологиялық түзілу процесіне қатысатын негізгі ферменттердің бірі — нитрогеназа. Нитрогеназа — молекулалық фермент, ол атмосфералық азотты (N_2) аммиакқа (NH_3) айналдырады, бұл процесс азотфиксация деп аталады. Азот атмосферадағы ең көп таралған элементтердің бірі болса да, өсімдіктер мен жануарлар оны тікелей қолдана алмайды. Нитрогеназа осы молекулалық азотты байланыстырып, оны тірі организмдер үшін қолжетімді органикалық қосылыстарға — аммиакқа, амин

қышқылдарына және нуклеотидтерге айналдырады.

Нитрогеназа тек кейбір микроорганизмдерде кездеседі, әсіресе азот фиксациялайтын бактериялар мен цианобактерияларда. Цианобактерияларда бұл фермент көбіне гетероцисталарда шоғырланған, себебі бұл арнайы жасушалар фотосинтез барысында оттегінің түзілуінен қорғануды қамтамасыз етеді. Оттегі нитрогеназа үшін уытты болғандықтан, гетероцисталар ферменттің белсенділігін сақтайтын арнайы микроортаны қамтамасыз етеді.

Нитрогеназаның құрамында металдар маңызды рөл атқарады, және оның металл құрамына байланысты үш негізгі типі бар:

1. Молибденді (Mo) нитрогеназа — ең кең таралған және жоғары тиімділігі бар типі. Бұл фермент 16 протон және 16 электрон арқылы N_2 молекулаларын 2 NH_3 молекуласына дейін редукциялайды, сонымен қатар қосымша сутегі (H_2) түзіледі.

2. Ванадийлі (V) нитрогеназа — молибденді ферментке қарағанда аздап төмен тиімділікке ие, бірақ кейбір организмдер үшін стресс жағдайында негізгі азотфиксациялық функцияны орындай алады.

3. Темірлі (Fe) нитрогеназа — ең сирек кездесетін түрі, көбінесе металдардың жетіспеушілігі кезінде қызмет етеді. Бұл ферменттің редокс потенциалы мен құрылымдық тұрақтылығы Mo және V типтерімен салыстырғанда төмен.

Нитрогеназаның жұмыс механизмі күрделі және жоғары энергияны қажет етеді. Азот молекуласының (N_2) екі атомын аммиакқа айналдыру процесі 16 ATP молекуласын тұтынады. Сонымен қатар, нитрогеназа H_2 түзілуін қамтамасыз етеді, бұл сутегі биотехнологиялық өндірісте қосымша энергетикалық ресурс ретінде қарастырылады.

Цианобактериялардағы нитрогеназа тек азот фиксация үшін ғана емес, биосутегін өндіру үшін де маңызды. Зерттеулер көрсеткендей, азот тапшылығы кезінде фермент белсенділігі артып, сутегі шығару қарқыны жоғарылайды. Мысалы, *Anabaena* cylindrica және *Cyanothece* 51142 сияқты штамдарда азот тапшылығы жағдайында сутегі түзілуі 2–3 есе артады [16].

Сонымен қатар, нитрогеназаның қызметі фотосинтез және басқа метаболикалық процестермен тығыз байланыста. Электрондардың жеткізілуі, ATP синтезі және NADPH түзілуі ферменттің белсенділігін тікелей әсер етеді. Бұл аспектілер биотехнологиялық тұрғыдан маңызды, себебі ферменттің тиімділігін арттыру арқылы индустриалды масштабта биосутегін өндіру мүмкіндігі артады.

Қазіргі уақытта ғылыми зерттеулерде нитрогеназаның гендік модификациясы, ферменттің оттегіге төзімділігін арттыру және электрон тасымалдау жолдарын оңтайландыру мәселелері қарастырылуда. Бұл бағыттар биотехнологиялық сутегі өндірісін жетілдіруге және жаңа, өнімді цианобактериялық штаммдарды жасауға мүмкіндік береді.

Гидрогеназа — сутек молекулаларын (H_2) қалпына келтіру немесе ыдырату арқылы химиялық реакцияларды жүргізетін фермент. Бұл

ферменттер кейбір бактериялар мен архейлерде кездеседі және сутек молекулаларының өндірісі мен тұтынуына қатысады. Олар клеткалық энергетикада маңызды рөл атқарады, себебі сутегі түзілуі немесе ыдырауы арқылы энергияны сақтау және тасымалдау процесі жүреді [18,19].

Гидрогеназаның басты қызметі — сутек молекулаларын бөлшектеу ($H_2 \rightarrow 2H^+ + 2e^-$) немесе керісінше, сутек иондарын ($2H^+ + 2e^-$) қайтадан біріктіріп молекулалық H_2 түзуді қамтамасыз ету. Бұл реакциялар клеткадағы АТР синтезі мен NAD(P)H түзілу сияқты энергетикалық процестермен тығыз байланысты. Сондықтан гидрогеназа тек сутек өндірісі үшін ғана емес, микроорганизмнің жалпы энергетикалық балансына да тікелей әсер етеді.

Қазіргі уақытта белгілі гидрогеназалар белсенді ортаның металдық құрамына байланысты үш негізгі топқа бөлінеді [20]:

1. NiFe-гидрогеназа (никель-темір гидрогеназалары) — ең кең таралған және тұрақты ферменттер қатарына жатады. Олар сутегі түзілуі мен оны ыдырату реакцияларында жоғары тиімділікке ие. NiFe-гидрогеназалар көбінесе аэробты және микробтық жүйелерде белсенді.

2. FeFe-гидрогеназа (темірден тұратын гидрогеназалар) — сутегін жылдам шығару қабілеті жоғары ферменттер. Бұл топ анаэробты микроорганизмдерде кездеседі және биоэнергетикалық өндіріс үшін перспективалы болып есептеледі, себебі олар сутегін фотобиологиялық немесе ферментативті жолмен мол мөлшерде өндіре алады.

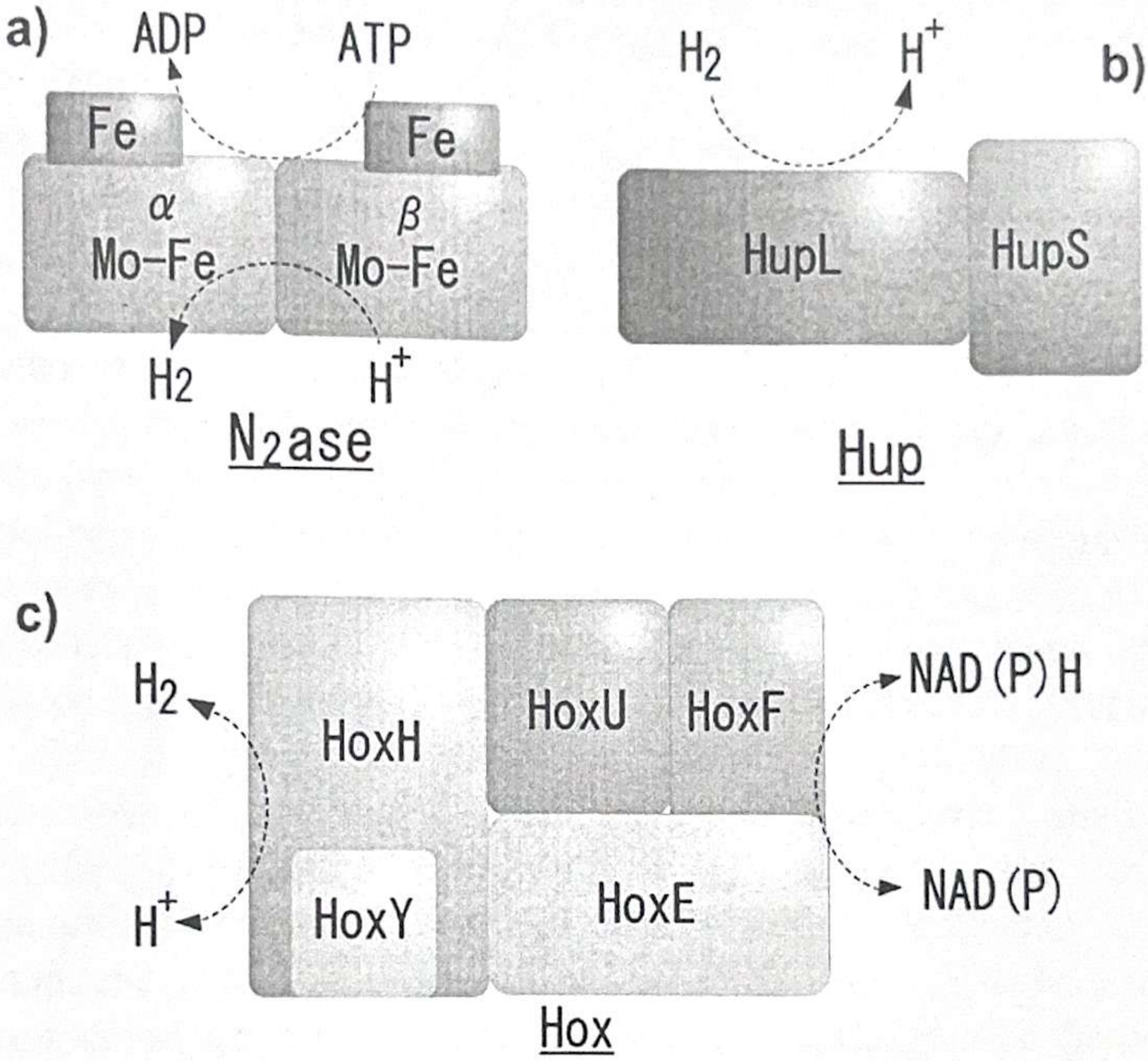
3. Fe-гидрогеназа (тек темірден тұратын гидрогеназалар) — сирек кездесетін ферменттер, көбінесе стресстік немесе арнайы экологиялық жағдайларда белсенді болады. Бұл ферменттер төмен pH, жоғары температура немесе металдардың жетіспеушілігі сияқты экстремалды орталарға бейімделген.

Гидрогеназалардың құрылымы мен механизмі олардың индустриалды қолданылуына үлкен мән береді. Мысалы, цианобактериялардағы гидрогеназа сутегін фотобиологиялық жолмен өндіруде негізгі рөл атқарады. Бұл фермент оттегіне сезімтал болғандықтан, оны анаэробты немесе төмен оттегілі орталарда қолдану тиімдірек. Кейбір зерттеулер NiFe-гидрогеназалардың ферменттік белсенділігін арттыру арқылы биосутегі өндірісін 2–3 есе көбейтуге болатынын көрсетті [18].

Сонымен қатар, гидрогеназа ферментінің гендік инженериясы қазіргі биотехнологияда маңызды бағыт болып табылады. Генетикалық модификациялар арқылы ферменттің оттегіне төзімділігін арттыру, субстратқа байланысты тиімділігін жоғарылату және индустриалды масштабтағы сутегі өндірісін жетілдіру мүмкіндігі бар. Бұл тәсілдер жаңартылатын энергия көздерін өндіруде, әсіресе сутегі өндірісінде, биотехнологиялық перспективаларды айтарлықтай кеңейтеді.

Жалпы алғанда, гидрогеназалар — биосутегін өндірудің негізгі биологиялық құралдары және цианобактериялардың энергетикалық метаболизміндегі маңызды ферменттер болып табылады. Оларды зерттеу әрі оңтайландыру индустриалды масштабта экологиялық таза және жоғары

өнімді сутегі өндірісін ұйымдастыруға мүмкіндік береді.



2-сурет – Сутегінің алмасуына қатысатын цианобактериялық ферменттер

1.5 Нитрогеназа және гидрогеназа кешендерінің құрылымы мен қызметі

Нитрогеназа екі спецификалық ақуыз компонентінен тұрады:

1. Mo-Fe протеині — $\alpha_2\beta_2$ кешені, субстратты тотықсыздандыратын екі P және Fe-Mo кластерлерін қамтиды. Бұл кешен азот молекулаларын (N_2) аммиакқа (NH_3) айналдыру процесін тікелей катализдейді.

2. Fe протеині — Mo-Fe протеині үшін арнайы редуктаза қызметін атқарады, яғни электрондарды тасымалдап, ферменттің катализдік циклін қамтамасыз етеді.

Сутегін алу үшін азоттың жоқтығында ғана нитрогеназа арқылы синтезделетін АТР гидролизі қажет, бұл процесс энергияны көп қажет ететін, бірақ микроорганизмнің тіршілік циклі үшін маңызды реакция болып табылады.

Гидрогеназа ферменттері фотосинтетикалық микроорганизмдерде, оның ішінде цианобактерияларда, екі негізгі топқа бөлінеді:

1. Сутегі тұтынатын гидрогеназа (Hup) — нитрогеназа арқылы өндірілген сутегін тұтынуды катализдейді. Бұл фермент азотфиксация процесінде түзілен сутегінің қайта пайдаланылуын қамтамасыз етеді.

2. Кері гидрогеназа (Hox) — сутегін өндіруге де, тұтынуға да қабілетті, яғни клеткалық метаболизмге байланысты сутегінің динамикалық айналымын реттейді.

Бұл гидрогеназалар NiFe-гидрогеназалар тобына жатады және белсенді ортасының құрылымына негізделген. Hox гидрогеназа HoxY және HoxH ақуыздарынан тұратын кешен арқылы жұмыс істейді:

1. HoxH — катализдік орталықты қамтиды, ол сутегін тотығуын немесе қалпына келтіруді катализдейді.
2. HoxY — ферромолибден кешенін қамтиды, электрондарды катализдік орталыққа жеткізеді және керісінше қайтарады.

Электрондар HoxH белсенді ортасынан HoxY кіші суббірлігі және HoxEFU темір-сульфид кешендері арқылы бөлініп шығады. Бұл кешен NAD(P)H-пен тікелей әрекеттеседі, сутегі бар кезде оны қайта қалпына келтіреді немесе төмендетілген пиридин нуклеотидтері арқылы сутегін бөліп шығарады. Hox гидрогеназа көптеген цианобактерияларда, олардың морфологиясы мен нитрогеназаның қабілеттеріне қарамастан, анықталған. Әдебиеттерде бұл ферменттің біржасушалы *Synechocystis* және талшықты *Anabaena* цианобактерияларында табылғаны айтылған. Мысалы, *Anabaena* variabilis, *Anabaena* PCC 7120, *Synechococcus* PCC 6301, *Synechocystis* PCC 6803 үшін гидрогеназалар толық сипатталған [23]. Алайда, бұл ферменттер оттегіне сезімтал және жұмыс істеу үшін микроаэробты немесе анаэробты жағдайларды қажет етеді. Сондықтан теңіз цианобактерияларының кейбір штамдарында Hox гидрогеназасы табылмаған.

Сіңіру гидрогеназасы (HupSL) екі суббірліктен тұрады:

1. Үлкен HupL суббірлігі (~60 кДа) — белсенді ортаны қамтиды, NiFe биметалдық орталығы арқылы электрондарды өңдейді.
2. Кіші HupS суббірлігі (~30 кДа) — темір-сульфид кешендерін қамтиды және электрондарды белсенді орталықтан қабылдаушыға тасымалдайды.

HupSL ферменті нитрогеназа әрекетімен тығыз байланысты, азот тапшылығы жағдайында экспрессияланады және азотфиксациялайтын цианобактериялардың жасушаларында кездеседі [24]. Ол азот фиксациясы кезінде түзілен сутегінің тиімді түрде қайта пайдаланылуын қамтамасыз етеді.

1. Hup және Hox гидрогеназаларының белсенділігі клетканың метаболикалық күйіне және қоректік ортаның құрамына тікелей байланысты. Мысалы, Fe, Mo, Ni сияқты металдардың жетіспеушілігі ферменттің белсенділігін төмендетуі мүмкін.
2. Hox гидрогеназасы сутегі айналымының динамикалық реттеушісі болып табылады, ол NAD(P)H деңгейіне, протон градиентіне және ATP синтезіне байланысты H_2 түзілуін немесе тұтынуды оңтайландырады.

3. Гидрогеназалар индустриалды биосутегі өндірісінде маңызды рөл атқарады, себебі олар сутегін фотобиологиялық немесе ферментативті жолмен өндіріп, энергия тиімділігін арттыруға мүмкіндік береді.

Жалпы алғанда, нитрогеназа және гидрогеназа кешендері сутегін биологиялық жолмен өндіруде бір-бірімен үйлесіп жұмыс істейді. Оларды зерттеу биотехнологиялық сутегі өндірісін оптимизациялауға, жаңа штаммдар жасауға және индустриалды масштабта жоғары өнімді сутегі өндіруге мүмкіндік береді.

2 Зерттеу нысаны мен әдістері

2.1 Зерттеу нысандары

Зерттеу нысандары ретінде Балқаш көлінен алынған су және топырақ үлгілері, сондай-ақ жаңа бөлініп алынған коллекциялық микробалдыр штамдары таңдалды.

2.2 Цианобактериялардың түрлік құрамын анықтау

Әртүрлі су экожүйелерінен алынған сынамалардағы цианобактериялардың түрлік құрамын анықтау Сиренко әдістемесі бойынша келесі анықтамалықтарды қолдану арқылы жүргізілді: Орта Азияның көк-жасыл балдырларының анықтамалығы, 1-2 том; КСРО-ның тұщы су балдырларының анықтамалығы, 1-14 том, 1951; Орта Азияның көк-жасыл балдырларының анықтамалығы, 1-3 том, 1987; Орта Азияның протококкты балдырларының анықтамалығы, 1-2 том, 1988; Орта Азияның көк-жасыл балдырларының анықтамалығы, 1987; КСРО-ның тұщы су балдырларының анықтамалығы, 1951; Орта Азияның протококкты балдырларының анықтамалығы, 1976; Украин КСР-нің хлорококкты балдырларының қысқаша анықтамалығы, Киев, 1990.

2.3 Табиғи көздерден фототрофты микроорганизмдерді іріктеу және олардың альгологиялық таза дақылдарын алу

Жинақтаушы дақылды дайындау үшін жиналған материалды (бірнеше текше сантиметр су, жасыл қақ, шырыш және т.б.) стерильді сұйық қоректік ортасы бар колбалар мен пробиркаларға егіп отырғызылды.

Егілген материал бар ыдыстарды жарықтандыру үшін шыны үстіне қойылған люминесцентті шамдары бар раманың үстіне немесе терезе жақтауына (табиғи жарық, бірақ тікелей күн сәулесі түспейтін) орналастырылды. Колбалардағы жарықтану деңгейі шамамен 6–10 мың люксқа сәйкес келуі керек.

Біржасушалы цианобактериялардың жинақтаушы дақылдарын алу үшін BG-11 және Заррук орталары қолданылды. Сонымен қатар, іріктеу азотсыз BG-11 қоректік ортасында да жүргізілді.

Балдырлардың белсенділігін бағалау үшін альгологиялық және бактериологиялық таза түрлер қолданылды. Содан кейін цианобактериялар суспензиясын бірден немесе бірнеше қайта егуден кейін кәдімгі микробиологиялық әдістер арқылы Петри табақшаларына құйылған қатты қоректік агардың бетіне ауыстырып, стерильді шпательмен біркелкі таратылды.

Петри табақшалары колониялар түзілгенге дейін жарыққа қойылды. Өскен колониядан культураның бір бөлігі инемен қайтадан сұйық ортаға немесе тығыз ортаға ауыстырылды. Материалды бірнеше рет жеке колония арқылы өткізіп, егілген суспензия жеткілікті түрде сұйылтылған болса, әр колонияның жеке жасушадан өсуі мүмкін деп есептеуге болады.

2.4 Цианобактериялардың бактериологиялық таза түрлерін бөліп алу тәсілі

Цианобактериялардың бөлініп алынған дақылдарын тазарту үшін әртүрлі концентрацияларда (1500 бірл./мл-ден 25000 бірл./мл-ге дейін) антибиотиктер (пенициллин, гентамицин, тетрациклин, неомицин, ампициллин, хлорамфеникол, канамицин), сондай-ақ олардың қосындысы (жалпы концентрациясы 20000 бірл./мл) қолданылды. Есептелген антибиотик концентрациялары қоректік ортаға стерилизациядан кейін қосылады. Барлық нұсқаларда зеңге қарсы антибиотик ретінде кең ауқымды фунгицидтік антибиотигі — нистатин таңдалынып алынды.

Культуралардың тазалығын тексеру үшін үлгілер стерильді 0,25%-дық ет сорпасына қайта себілді. Сорпаның лайлану деңгейіне қарай культураның тазалығы анықталды. Сондай-ақ, бірге жүретін микроорганизмдерді анықтау мақсатында микроскопиялық бақылау жүргізілді.

Цианобактериялардың жеке колониялары пайда болғаннан кейін олар стерильді ілмекпен (қалыпты микробиологиялық егу әдісіне ұқсас) Петри табақшаларынан стерильді сұйық орта құйылған колбаға немесе қиғаш агар салынған пробиркаға көшірілді. Себілген колба мен пробиркаларды 1 – 1,5 апта бойы жарықта ұстап, жасушалар санының артуына қолайлы жағдай жасалды. Колбадағы культура ара-тұра шайқалып отырды.

Цианобактериялар жақсы дамыған соң (сұйық ортаның жасыл түске енуі немесе агардағы жасыл жолақ арқылы анықталады), колбалар мен пробиркалар 6–10°С температурадағы тоңазытқышқа әлсіз тұрақты жарық (люминесцентті шамнан) астына орналастырылды. Мұндай жағдайда культура ұзақ уақыт сақтала алады және тек агар-агар кебе бастағанда (шамамен әр 1,5–2 ай сайын) қайта егуді қажет етеді [28].

2.5 Цианобактерияларды зертханалық жағдайда өсіру әдістемесі

Цианобактериялардың түрге жататындығын анықтау үшін тұщы су цианобактерияларына арналған арнайы анықтамалықтар қолданылды. Жиналған үлгілерден цианобактериялық дақылдарды алу үшін әрбір сынамадан 5 мл аликвота алынып, оны екі есе сұйылтылған BG-11 сұйық қоректік ортасына қосылған 100 мл көлемдегі стерильді колбаға орналастырды. Сонымен қатар, тығыз агармен қатырылған BG-11 ортасының

бетіне Петри табақшаларында да сынамаларды себу жүргізілді, бұл әдіс арқылы колонияларды жеке дара бөліп алу мүмкіндігі артты.

Цианобактерияларды культивирлеу процесі 18–22°C температурада және 40 мкмоль фотон/м²/сек тұрақты жарықта қатар жүргізілді. Зертханалық тәжірибе басталар алдында дақылдар Кох әдісімен қайта көшірілді, яғни бастапқы сұйық ортадағы дақылдар жаңа дайындалған сол құрамдағы қоректік ортаға ауыстырылып, колониялардың дамуы бақыланды. Культивирлеудің алтыншы күнінде бір бөлінген колония жаңа дайындалған қоректік ортаға ауыстырылып, жарықта 5 тәулік бойы өсірілді, ал кейін бұл дақыл әрі қарай зерттеу жұмыстарына қолданылды [28].

Зерттеулер барысында цианобактерия штаммдары стандартты құрамдағы сұйық және агарлы BG-11 және Заррука қоректік орталарында өсірілді. Қолданылған орталардың құрамдық ерекшеліктері келесідей:

BG-11 қоректік ортасы құрамына мыналар кіреді:

1. $NaNO_3$ – 1,50 г/л;
2. $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ – 0,04–0,051 г/л;
3. $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,075 г/л;
4. $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ – 0,05 г/л;
5. Na_2CO_3 – 0,02 г/л;
6. Лимон қышқылы – 0,006 г/л;
7. ЭДТА•Na_2 – 0,001 г/л;
8. Fe^{3+}/NH_4^+ цитрат (қоңыр, 16–19% Fe) – 0,006 г/л;
9. Микроэлементтер ерітіндісі – 1,0 мл/л;
10. 0,5 М HEPES ерітіндісі, pH 7,5 – 40 мл/л;
11. Дистильденген су – 1 литрге дейін.

Заррук қоректік ортасы құрамына мыналар кіреді:

1. $NaHCO_3$ – 16,8 г/л;
2. $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ – 1,0 г/л;
3. $NaNO_3$ – 2,5 г/л;
4. K_2SO_4 – 1,0 г/л;
5. NaCl – 1,0 г/л;
6. $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,2 г/л;
7. $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ – 0,04 г/л;
8. Fe+EDTA – 1,0 мл/л;
9. Микроэлементтер ерітіндісі 1 – 1,0 мл/л;
10. Микроэлементтер ерітіндісі 2 – 1,0 мл/л;
11. Агар-агар – 12,0 г/л;
12. Дистильденген су – 1 литрге дейін.

Цианобактериялар 250–1000 мл көлемдегі конус тәрізді колбаларда өсірілді. Жарық көзі ретінде күндізгі жарық шамдары 2000, 4000 және 6000 люкс қарқындылығында қолданылды. Сонымен қатар, өсіру температурасы 18–36°C аралығында реттелді, бұл диапазон цианобактериялардың әртүрлі экологиялық бейімделу қабілетін зерттеуге мүмкіндік берді.

Бұл тәсілдер цианобактерия штаммдарының таза дақылдарын бөліп алу, өсу қарқынын бақылау және олардың физиологиялық қасиеттерін зерттеу үшін сенімді базалық әдіс ретінде қолданылды. Сонымен қатар, түрлі коректік орта мен жарық жағдайларының әсерін зерттеу дақылдардың оптималды өсу параметрлерін анықтауға және биотехнологиялық мақсаттағы потенциалын бағалауға мүмкіндік берді.

2.6 Дақылдардың өсу жылдамдығы

Эксперименттік зерттеу үшін талданатын цианобактерия штаммдары зертханалық люминостатта тұрақты жағдайларда культивирленді. Әрбір тәжірибелік дақыл 250 мл көлеміндегі шыны көпіршікті ыдыстарда үзіліссіз өсірілді, бұл өсімдік жасушаларына тұрақты жарық пен газ алмасуды қамтамасыз етуге мүмкіндік берді. Өсіру температурасы 27°C деңгейінде тұрақтандырылды, ал жасанды жарықтандыру 300 мкмоль фотон/м²/сек қарқындылығында жүргізілді, бұл фотосинтетикалық микроорганизмдердің активті өсуі үшін оңтайлы жарық энергиясын берді.

Сонымен қатар, өсіру ортасы 1% CO_2 концентрациясымен байытылған стерильді газ-ауа қоспасымен қамтамасыз етілді, бұл фотосинтез процесінде көмірқышқыл газын жеткілікті мөлшерде қамтамасыз етуге мүмкіндік берді (Владимирова, 1962: 21). Аэрация BOYU air-pump S-4000B (Қытай) ауа компрессоры арқылы жүзеге асырылды, ал CO_2 концентрациясын дәл бақылау үшін RMA-0,063 Г ротамер (Ресей) қолданылды. Барлық тәжірибелік штаммдар BG-11 коректік ортасында өсірілді, бұл орта цианобактериялардың физиологиялық белсенділігіне сәйкес келетін негізгі макро- және микроэлементтермен байытылған.

Цианобактерия жасушаларындағы фотосинтетикалық пигмент — хлорофилл a-ның тұрақты флуоресценциясы (F_0) AquaPen AP 100 (Чехия) флуориметрі арқылы өлшенді. Бұл әдіс арқылы жасушалардың фотосинтетикалық белсенділігі және жарық энергиясын сіңіру қабілеті бағаланды. Сонымен қатар, цианобактерия дақылдарының өсу динамикасы PD-303UV (Жапония) спектрофотометрі арқылы бақыланды. Өсу көлемін анықтау үшін жасуша суспензиясының оптикалық тығыздығы $\lambda = 750$ нм (OD_{750}) толқын ұзындығында өлшенді, бұл әдіс арқылы суспензиядағы жасушалар саны мен биомассаның өзгерістері дәл көрсетілді.

Осы тәжірибелік тәсілдер арқылы алынған деректер цианобактериялардың өсу қарқыны, фотосинтетикалық белсенділігі және биомасса жинау қабілетін салыстырмалы түрде бағалауға мүмкіндік берді. Мұндай тәсіл зертханалық жағдайда олардың оптималды өсім параметрлерін анықтау, сондай-ақ биоэнергетикалық мақсаттағы потенциалын бағалау үшін стандартты әрі сенімді әдіс болып табылады.

Цианобактерия дақылдарының өсу жылдамдығы эксперименттік ыдыстардағы жасушалар санының артуы бойынша келесі формула арқылы есептелді:

$$k=\frac{1}{t}\ln\frac{Nt}{N0} \quad (1)$$

N_0 – бастапқы жасуша саны;
N_t – белгілі бір t уақыт өткеннен кейінгі жасуша саны.

2.7 Цианобактерия дақылдарының морфологиялық қасиеттерін зерттеу

Бөлініп алынған цианобактерия дақылдарының морфологиялық сипаттамалары ICO Infinitivie - MicroOptix MX 300 T (Австрия) оптикасы бар микроскоп камерасы арқылы зерттелді. Зерттеу барысында 10х, 40х, 100х үлкейткіш объективтер және 10х үлкейтетін окулярлар қолданылды.

2.8 Цианобактериялардан сутегін алу тәсілдері

Цианобактерияларды сутегі өндіру мақсатында өсіру кезінде жарық (интенсивтілігі: 40 мкмоль фотон/м²/с) пробирканың үш жағынан түсірілді. Биомассаны жинақтау үшін дақылдар 70 мл көлемдегі BG-11 сұйық қоректік ортасында өсіріліп, ауа сорғысының көмегімен аэрация жүргізілді. Одан кейін сутегі экстракцияға дайындау үшін 100 мл көлемдегі колбаларға ауыстырылды.

2.9 Сутегі өндіру кезіндегі цианобактерия биомассасын дайындау әдісі

Цианобактерия дақылдары көлемі 40 мл пробиркаларда өсіріліп, кейін 5000 айн/мин жылдамдықта 5 минут бойы центрифугаланды. Супернатант төгілгеннен кейін жасуша дақылдарына 100 мл BG0-11 культуральды ортасы қосылып, 3 минут бойы араластырылды. Осыдан соң дақылдар жарықта 24 сағат бойы өсірілді (интенсивтілігі: 45 мкмоль фотон/м²/с) және қайтадан 5000 айн/мин жылдамдықта 5 минут бойы центрифугаланды (5810R, Eppendorf, АҚШ). Культуральды супернатант төгілгеннен кейін ортаға 30 мл BG0-11 қосылды. Жасуша биомассасы HS-10VA микрошайқағышында 150 айн/мин жылдамдықта шайқалды (AS ONE International, Inc., АҚШ). Газдық хроматографияға арналған виалалар қараңғыда фольгамен жабылып, 25 °C температурада Biosan OS-20 (Латвия) құрылғысында культивирленді [40].

2.10 Молекулалық сутегіні өлшеу әдісі

Жиналған молекулалық H_2 газы өндіруші нұсқаулығына сәйкес газдық хроматографта (GH 2000, Chromatec, Ресей) өлшенді. Инжектор мен колонка 80 °C температурада, ал детектор 120 °C температурада жұмыс істеді. GH шприці (Hamilton Company, Рино, АҚШ) көмегімен GH флаконынан 0,15 мл газ алынып, газдық хроматографқа енгізілді.Тәжірибелер барысында температура 25,0 ± 0,5 °C, ал бастапқы pH мәні 7,4 болды. Бөлінетін сутегінің мөлшерін мольмен есептеу үшін стандартты калибрленген сутегі қисығы қолданылды. Бірнеше тәжірибеден кейін мВ пен мл арасындағы сызықтық тәуелділік есептеліп, орташа ауытқу коэффициенті 0,9824 болды. Алынған сутегі мөлшері мкмольға айналдырылып, хлорофилл концентрациясына (мг) бөлінді. Одан кейін бұл мән флакон ішіндегі бос кеңістік көлеміне (15 мл) көбейтіліп, сутегінің бөліну уақытына (сағат) бөлінді. Соңғы сутегі өндіру көрсеткіші ммоль H_2/мг хл/сағ түрінде көрсетілді. Газ-тасымалдаушы ретінде аргон пайдаланылды.

2.11 H_2 өндіруді оңтайландыру

$NaHCO_3$-тың әртүрлі концентрацияларында (10–200 мМ аралығы) ферментативті H_2 өндіру BG-11 ортасын қолдану арқылы жүзеге асырылды. $NaHCO_3$-тың 10; 25; 50; 100 және 200 мМ концентрациялары ерітіндіге $NaHCO_3$ тұзын қосу арқылы дайындалды. Ферментативті H_2 ерітіндісінің pH мәні (5, 7, 9) қышқыл мен негізді (HCl және NaOH) қосу арқылы реттелді.

HEPES-тің H_2 өндіруге әсері тұз концентрациясы 10 мМ-нан 200 мМ-ға дейінгі аралықта (10, 25, 50, 100, 200 мМ) зерттелді.

2.12 Статистикалық талдау

Барлық зерттеулер 3–5 қайталауда жүргізілді. Нәтижелер «ANOVA» статистикалық жүйесіне сәйкес өңделді. Суреттерде зерттеу нәтижелерінің арифметикалық орташа мәндері мен олардың стандартты ауытқулары көрсетілген [Montgomery, 203]. Зерттеу барысында айырмашылықтар $P < 0,05$ деңгейінде сенімді деп қабылданды.

3 Нәтижелер мен оларды талқылау

3.1 Түрлі экожүйелерден перспективті цианобактерия дақылдарын іздеу және анықтау

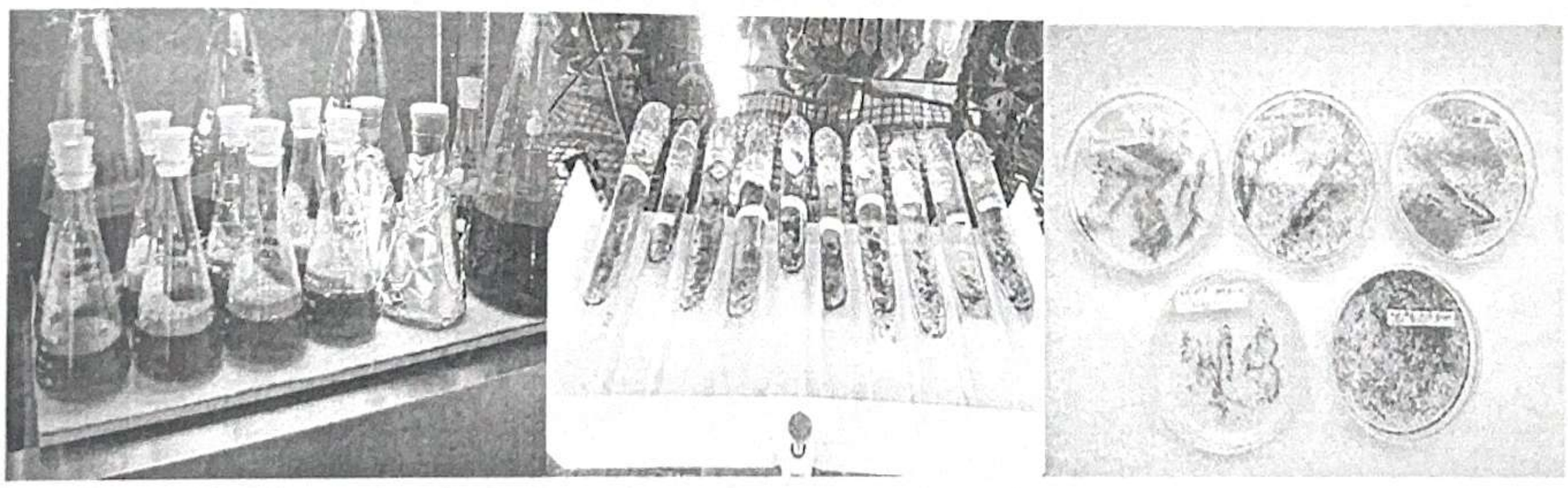
Зерттеу жұмысының негізгі мақсаты — қоршаған ортаның стресс жағдайларында белсенді өсетін және сутегі өндіру қабілеті бар жаңа цианобактерия штаммдарын бөліп алу болғандықтан, сынама алу көздері осы мақсатқа сәйкес таңдалды. Фототрофты микроорганизмдердің түрлік әртүрлілігін зерттеу және цианобактерия дақылдарын бөліп алу үшін Балқаш көлінен су, топырақ, альгобактериялық маттар және өсімдік үлгілері жиналды.

3.2 Цианобактериялардың аксендік (таза) дақылдарын бөліп алу

Келесі кезең — Балқаш көлінен алынған су сынамаларынан цианобактериялардың таза дақылдарын бөліп алу болды.

Бұл кезеңнің мақсаты — жоғары өсу жылдамдығымен сипатталатын, әрі биосутегін өндіруге арналған фотобиореакторларда өсіруге жарамды жаңа цианобактерия штаммдарын табу.

Цианобактериялардың бактериологиялық жағынан таза дақылдарын алу — бұл күрделі және көпсатылы үдеріс, әрі зерттелетін ағзалардың спецификалық ерекшеліктерін анық көрсететін көп еңбекті талап ететін жұмыстардың бірі болып табылады.



A B C

3-сурет – Цианобактериялардың таза дақылын бөліп алу кезеңдері (А - сынамаларды жарыққа бейімдеу; В - агарлы ортада таза дақылдарды бөліп алу; С - бөлініп алынған дақылдарды сақтау.)

Жүргізілген бактериологиялық талдау нәтижелері барлық бастапқы жинақтаушы дақылдарда қоса жүретін микрофлораның бар екенін көрсетті. Бұл жағдай табиғи ортадан алынған цианобактерия культураларына тән құбылыс болып табылады, себебі табиғи су экожүйелерінде цианобактериялар әртүрлі гетеротрофты бактериялармен,

микробалдырлармен және басқа микроорганизмдермен тығыз қауымдастықта тіршілік етеді. Қоса жүретін микрофлораның болуы зерттеу нәтижелерінің дәлдігіне әсер етуі мүмкін болғандықтан, альгологиялық тұрғыдан таза цианобактерия дақылдарын алу негізгі міндеттердің бірі болды.

Осы мақсатта жинақталған дақылдардан цианобактерияларды бөліп алу үшін микробиологиялық және альгологиялық әдістер кешені қолданылды. Цианобактерияларды өсіру және тазалау мақсатында кеңінен қолданылатын BG-11 және Заррук қоректік орталарында егу жұмыстары жүргізілді. Бұл орталар цианобактериялардың минералдық қоректік заттарға бейімделген физиологиялық ерекшеліктерін ескере отырып таңдалды. Егулер сұйық және агарланған түрдегі орталарда, сондай-ақ колбалар мен Петри табақшаларында жүргізілді.

Егілген табақшалар мен колбалар жарық жағдайында инкубацияланды, себебі фотосинтезге қабілетті организмдер ретінде цианобактериялар жарық энергиясын пайдалана отырып ғана белсенді өсуін жалғастыра алады. Минералдық, яғни органикалық емес қоректік орталарда және жарықтың болуы жағдайында негізінен цианобактериялар мен микробалдырлар тіршілік етуін жалғастырады, ал гетеротрофты бактериялардың өсуі шектеледі. Бұл жағдай қолданылған орталардың селективті қасиетін арттырып, цианобактерияларды ілеспе микрофлорадан ажыратуға мүмкіндік берді.

Инкубация нәтижесінде өскен цианобактерия колонияларынан бірнеше мәрте қайта себу жұмыстары жүргізілді. Колониялар сұйық ортаға немесе қиғаш агар бетіне көшіріліп, олардың тұрақты өсу қабілеті бақылауға алынды. Қолданылған қоректік орталардың цианобактерияларға селективтілігі жоғары болғандықтан, оларды микробалдырлардан бөлу барысында айтарлықтай қиындықтар туындаған жоқ.

Жеке таза дақылдарды алу үшін классикалық микробиологияда кеңінен қолданылатын «штрих әдісі» пайдаланылды. Бұл әдіс барысында микробиологиялық ілмек көмегімен үлгінің аз мөлшері алынып, қоректік ортаның бетіне біртіндеп жағылды. Алғашқы штрихтарда клеткалар саны көп болса, ілмектің әрбір келесі қозғалысында клеткалар сирей түсіп, нәтижесінде жеке дара колониялар түзілуіне жағдай жасалды. Себуден кейін Петри табақшалары белгілі бір уақыт аралығында инкубацияланып, жеке колониялардың қалыптасуы бақыланды.

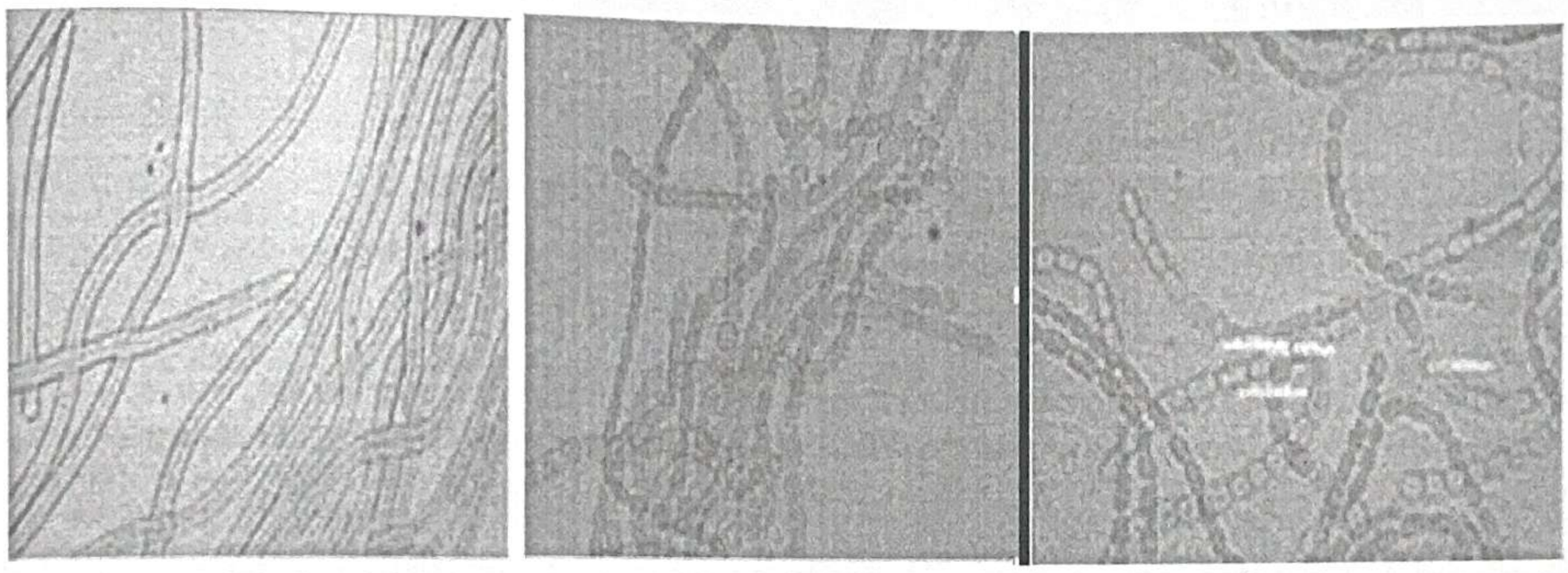
Кейбір изоляттарда қоса жүретін бактериялық микрофлораны толық жою мақсатында антибиотиктер қолданылды. Атап айтқанда, ампициллин және хлорамфеникол антибиотиктері 2000 бірл/мл концентрацияда пайдаланылды. Бұл антибиотиктер гетеротрофты бактериялардың өсуін тежеп, фотосинтетикалық цианобактериялардың сақталуына мүмкіндік берді. Антибиотиктерді қолдану нәтижесінде бактериясыз, яғни аксеникалық цианобактерия штаммдарын алу мүмкін болды.

Осы жүргізілген кешенді тазалау шараларының нәтижесінде бастапқы 9 жинақтаушы культураның ішінен бірнеше мәрте қайта себу және

антибиотиктік өңдеу арқылы зертханалық жағдайда тұрақты өсіп-өніп, ұзақ уақыт сақталуға қабілетті 3 аксеникалық цианобактерия культурасы алынды. олардың морфологиялық ерекшеліктері анықталды. Сонымен қатар, стандартты микробиологиялық әдістер қолданылып, дақылдардың тазалығы мен біртектілігі тексерілді. Нәтижесінде алынған аксеникалық цианобактерия культуралары кейінгі физиологиялық, биохимиялық және биотехнологиялық зерттеулер жүргізуге жарамды екені дәлелденді.

3.3 Бөлініп алынған цианобактериялар дақылдарының культуралық-морфологиялық және физиологиялық қасиеттері

Дақылдарды кодтау олардың бөлініп алынған жеріне және іріктелген сынаманың нөміріне сәйкес жүргізілді. Осылайша, Балқаш көлінің су сынамаларынан 3 альгологиялық және бактериологиялық таза *Phormidium* sp. BPS-27, *Nostoc* sp. BNS-32 және *Anabaena* variabilis BBS-44 дақылдары бөлініп алынды.



Phormidium sp. BPS-27 *Nostoc* sp. BNS-32 *Anabaena* variabilis BBS-44

4-сурет – Балқаш көлінің су сынамаларынан бөлініп алынған цианобактериялар дақылдарының жасушаларының морфологиясы.

Phormidium sp. BPS-27 — жіп тәрізді цианобактериялар тобына жататын фотосинтетикалық прокариотты микроорганизм. Бұл цианобактериялар табиғи ортада жиі кездеседі және экожүйелерде маңызды экологиялық рөл атқарады. *Phormidium* туысының өкілдері азотты тікелей фиксацияламайтын болғанымен, азотты фиксациялайтын бактериялармен симбиотикалық немесе ассоциативті байланыс түзе алады. Мұндай өзара әрекеттесу олардың азотқа кедей ортада да тіршілік етуіне мүмкіндік береді.

Phormidium sp. BPS-27 вегетативті құрылымы морфологиялық тұрғыдан бір қатарда орналасқан жасушалардан тұрады. Бұл жасушалар өзара тығыз байланысып, трихома деп аталатын жіп тәрізді құрылым түзеді. Трихомалар тармақталмаған болып келеді, бұл қасиет *Phormidium* туысына

тән диагностикалық белгі болып саналады. Трихомалар өте жұқа, мөлдір шырышты қабықпен қапталған, ол жасушаларды механикалық зақымданудан қорғап қана қоймай, қоршаған орта факторларына төзімділігін арттырады.

Трихоманы құрайтын жасушалардың көпшілігі морфологиялық жағынан бір-біріне ұқсас келеді. Олар көбіне цилиндр тәрізді немесе аздап доға тәрізді пішінге ие. Жасушалар біркелкі орналасып, трихоманың үздіксіз құрылымын қамтамасыз етеді. Апикальды жасушалар басқа жасушалардан пішінімен ерекшеленеді: олардың ұш жағы дөңес, сәл домалақ болып келеді. Бұл апикальды жасушалар трихоманың өсу бағытын анықтап, жіптің ұзарып өсуінде маңызды рөл атқарады.

Зерттелген *Phormidium* sp. BPS-27 штаммы Заррук қоректік ортасында жақсы өсетінін көрсетті. Бұл орта фотосинтетикалық цианобактериялар үшін қажетті минералдық элементтермен қамтамасыз етілген және олардың физиологиялық белсенді өсуіне қолайлы жағдай жасайды. Заррук ортасында өсірілген кезде культура тұрақты өсім көрсетіп, жіп тәрізді құрылымдарын сақтады, бұл оның зертханалық жағдайда өсіруге және одан әрі биотехнологиялық зерттеулер жүргізуге жарамды екенін дәлелдейді.

Жалпы алғанда, *Phormidium* sp. BPS-27 морфологиялық тұрақтылығымен, қоректік ортаға бейімділігімен және экологиялық икемділігімен сипатталады. Бұл қасиеттер оны цианобактериялардың биотехнологиялық әлеуетін, соның ішінде биоэнергия өндіру немесе экологиялық зерттеулер бағытында қолдануға перспективті объект ретінде қарастыруға мүмкіндік береді.

Nostoc sp. BNS-32 — жіп тәрізді цианобактериялар тобына жататын, морфологиялық құрылымы жақсы дамыған фотосинтетикалық прокариот. Бұл культура түзу, еркін тармақталған және әлсіз қозғалмалы трихомалардан тұрады. Трихомалардың ұзындығы 72 мкм-ге дейін жетеді, ал олардың көпшілігі өзара байланысқан шамамен 30 жасушадан құралған. Мұндай құрылым *Nostoc* туысына тән колония түзу қабілетін және морфологиялық тұрақтылығын көрсетеді.

Трихомаларды құрайтын вегетативті жасушалар цилиндрлік немесе бөшке тәрізді изодиаметриялық пішінге ие. Жасушалардың өлшемі 1,8–6,8 • 2,3–4,3 мкм аралығында өзгереді. Жасушалар біркелкі ашық көк-жасыл түсті, айқын түйіршіктелмеген, бұл олардың физиологиялық белсенді күйде екенін көрсетеді. Трихома жасушалары тығыз орналасып, үздіксіз жіп тәрізді құрылым түзеді.

Зерттелген культурада гетероцисталардың болуы анық байқалды. Гетероцисталар біртекті, бір полярлы, сфералық немесе аздап ұзартылған пішінді, сары-жасыл түсті болып келеді. Олардың мөлшері 3,0–5,9 •2,3–3,2 мкм аралығында. Гетероцисталардың болуы *Nostoc* sp. BNS-32 культурасының атмосфералық азотты фиксациялау қабілетіне ие екенін көрсетеді, бұл оны азот тапшылығы жағдайында тіршілік етуге бейім микроорганизм ретінде сипаттайды.

Сонымен қатар, культурада акинеттердің түзілуі байқалды. Акинеттер әдетте цилиндр тәрізді немесе сопақша, салыстырмалы түрде ірі жасушалар болып табылады. Олардың өлшемі 5,1–7,7 •2,6–3,4 мкм, түсі ашық қоңыр немесе сары, құрылымы түйіршікті. Акинеттер көбінесе гетероцисталарға іргелес орналасады, бұл *Nostoc* туысына тән морфологиялық белгі болып саналады. Кейбір жағдайларда трихоманың бір ұшында екі акинеттің қатар орналасуы байқалды. Акинеттердің түзілуі культураның қолайсыз экологиялық жағдайларға төзімділік стратегиясын көрсетеді және ұзақ уақыт сақталуына мүмкіндік береді.

Nostoc sp. BNS-32 жасушалары бір жазықтықта екіге бөліну арқылы көбейеді, бұл жіп тәрізді құрылымның үздіксіз сақталуын қамтамасыз етеді. Қатты қоректік ортада өсірген кезде культура алдымен жасыл түсті колониялар түзеді, ал уақыт өте келе олардың түсі қоңыр түске өзгереді. Бұл өзгеріс жасушалардың физиологиялық күйіне және пигменттік құрамының өзгеруіне байланысты болуы мүмкін.

Культура 23–28°C температура диапазонында, жарық жағдайында жақсы өседі. *Nostoc* sp. BNS-32 Заррук қоректік ортасында, сондай-ақ BG-11 минералдық ортасында бастапқы pH 7,1 болған жағдайда тұрақты өсу қабілетін көрсетті. Ескі дақылдарда (2–3 айлық өсіру кезеңінде) гетероцисталар мен акинеттердің санының артуы байқалды, бұл культураның дамуының кеш кезеңінде дифференциация процесстерінің күшейетінін дәлелдейді.

Жүйелік тұрғыдан алғанда, зерттелген культура цианобактериялар бөліміне, Hormogeneae класына, *Nostocales* отрядына, *Nostocaceae* тұқымдасына және *Nostoc* туысына жатады. Морфологиялық, физиологиялық және өсіру ерекшеліктерінің жиынтығы *Nostoc* sp. BNS-32 культурасының таксономиялық жіктелуін толықтай растайды.

Anabaena variabilis BBS-44 — жіп тәрізді цианобактерияларға жататын, морфологиялық құрылымы күрделі фотосинтетикалық микроорганизм. Зерттелген культурада трихомалар көбіне ретсіз орналасқан күйде байқалады, ал кейбір жағдайларда жеке дара трихомалар кездеседі. Бұл трихомалар бір-бірімен байланысқан жасушалар тізбегінен тұрады және Nostocales отряды өкілдеріне тән құрылымдық ерекшеліктерді көрсетеді.

Трихомалардың ұштары тарылмаған, ал жасуша қабырғалары бойында шырышты қабатпен қапталған ұсақ, терең тарылулардың болуы анықталды. Бұл шырышты құрылым жасушаларды қоршаған ортаның қолайсыз факторларынан қорғауға және трихомалардың механикалық тұрақтылығын арттыруға ықпал етуі мүмкін. Трихомаларды құрайтын вегетативті жасушалар пішіні жағынан әртүрлі болып келеді: цилиндр тәрізді, бөшке тәрізді немесе сфералық. Жасушалардың түсі көбіне ақшыл немесе ашық көк-жасыл, бұл олардың фотосинтетикалық пигменттерге бай екенін көрсетеді.

Жасушалардың цитоплазмасында газ көпіршіктері (вакуольдер) аз мөлшерде кездеседі, алайда кейбір жағдайларда жасушалардың

түйіршіктелген күйі байқалды. Бұл ерекшелік культураның физиологиялық күйіне немесе қоректік орта жағдайларына байланысты болуы мүмкін. Газ вакуольдерінің болуы *Anabaena* variabilis түріне суда қалқып тұруға және жарыққа қолжетімді аймақтарды тиімді пайдалануға мүмкіндік береді.

Гетероцисталар зерттелген культурада сирек кездескенімен, олардың морфологиясы айқын байқалады. Гетероцисталар — аралықта орналасқан, жалғыз, бір-бірінен белгілі бір қашықтықта бөлінген, сопақша немесе кейде шар тәрізді жасушалар. Олар көлемі жағынан вегетативті жасушалардан ірі болып келеді және азот фиксациясына маманданған құрылымдар болып саналады. Гетероцисталардың дамуы қоректік ортадағы кейбір химиялық элементтердің, әсіресе байланысқан азоттың азаюымен байланысты және өсірудің 8–15-ші күндері аралығында байқалды. Бұл жағдай культураның физиологиялық бейімделу механизмдерінің іске қосылғанын көрсетеді.

Акинеттер көбіне гетероцисталарға жақын орналасқан, сфералық пішінді жалғыз жасушалар ретінде анықталды. Олар вегетативті жасушалармен белгілі бір реттілікпен кезектесіп орналасады және олардың саны трихома бойында арта түседі. Акинеттердің түзілуі культураның қолайсыз жағдайларға, соның ішінде қоректік заттардың жетіспеушілігіне немесе ұзақ өсіру кезеңіне бейімделу стратегиясын көрсетеді. Бұл құрылымдар *Anabaena* variabilis BBS-44 культурасының ұзақ уақыт сақталуына және қайтадан қолайлы жағдай туындағанда белсенді өсуін жалғастыруына мүмкіндік береді.

Жалпы алғанда, *Anabaena* variabilis BBS-44 морфологиялық әртүрлілігімен, гетероцисталар мен акинеттер түзу қабілетімен ерекшеленеді. Бұл қасиеттер оны азотфиксациялаушы цианобактериялар тобына жатқызуға және әрі қарай физиологиялық, экологиялық және биотехнологиялық зерттеулер жүргізуге перспективті объект ретінде қарастыруға негіз береді.

3.4 Бөлініп алынған цианобактериялар дақылдарын культивирлеу жағдайларын анықтау

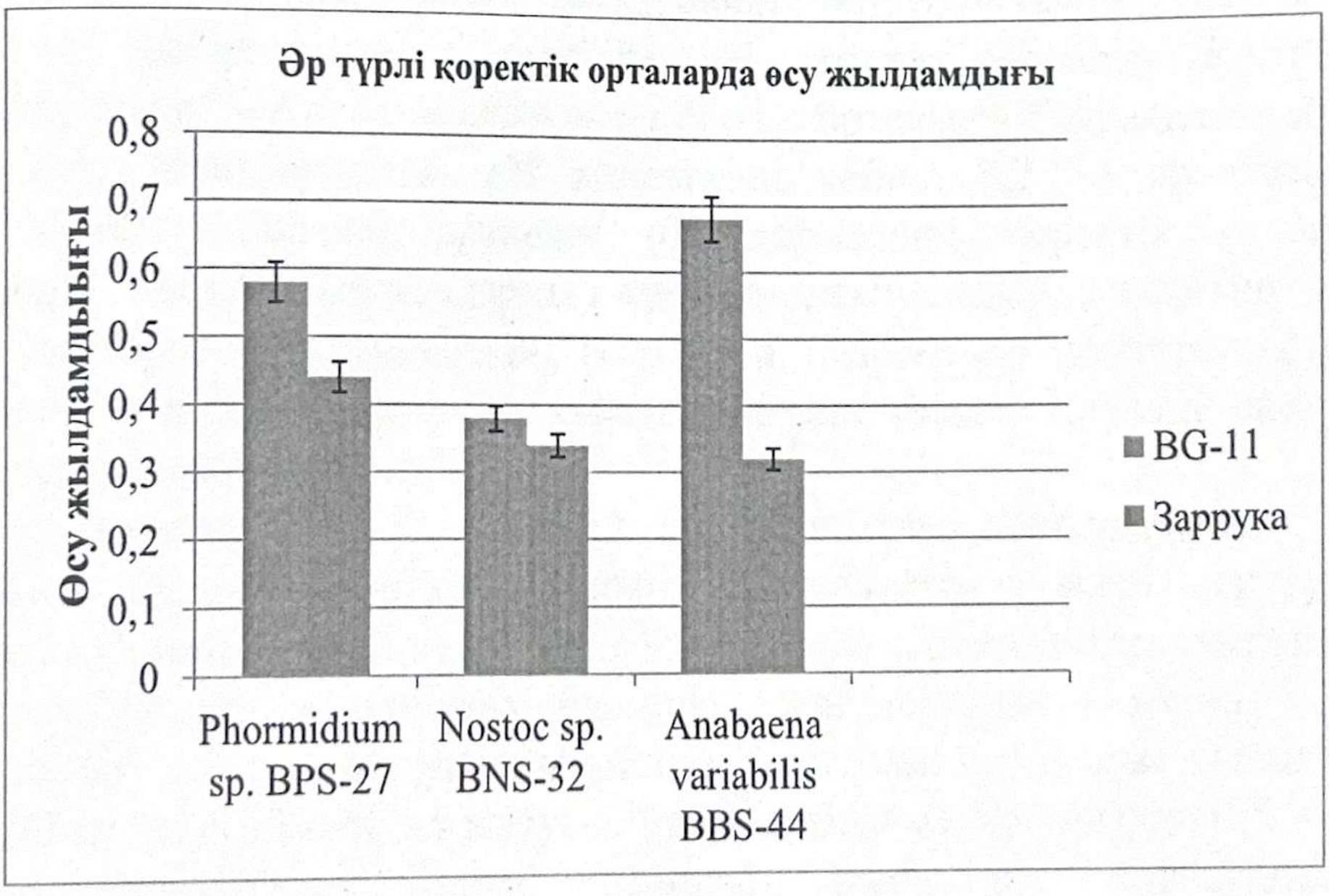
Зертханалық жағдайда барлық зерттелген цианобактерия дақылдары сегіз тәулік бойы екі түрлі қоректік ортада — BG-11 және Заррук орталарында культивирленді. Тәжірибелер стандартталған жағдайларда жүргізіліп, өсіру барысында қоректік ортаның құрамы, температура, жарық режимі және инкубация уақыты қатаң бақыланды. Бұл зерттеу әртүрлі қоректік орталардың цианобактериялардың өсуіне әсерін салыстырмалы түрде бағалауға мүмкіндік берді.

Жүргізілген тәжірибе нәтижелері бойынша *Phormidium* sp. BPS-27, Nostoc sp. BNS-32 және *Anabaena* variabilis BBS-44 тәжірибелік дақылдарының белсенді өсуі BG-11 қоректік ортасында байқалды. Аталған ортада дақылдардың өсу динамикасы айқын көрініп, биомассаның біртіндеп артуы тіркелді. Ал Заррук қоректік ортасында бұл дақылдардың өсуі өте

әлсіз болды немесе елеусіз деңгейде ғана байқалды. Мұндай айырмашылықтар қоректік орталардың минералдық құрамындағы ерекшеліктермен, әсіресе азот көзі мен микроэлементтердің арақатынасына байланысты болуы мүмкін.

Қоректік ортаның құрамынан бөлек, цианобактериялардың өсу тұрақтылығына, метаболикалық процестердің қарқындылығына және биохимиялық реакциялардың жылдамдығына бірқатар абиотикалық факторлар әсер етеді. Олардың қатарына ортаның pH көрсеткіші, температуралық режим, жарық қарқындылығы, сондай-ақ оттегі мен көмірқышқыл газының концентрациясы жатады. Аталған факторлар фотосинтез, тыныс алу және клеткалық бөліну процестерінің тиімді жүруін анықтайды, сондықтан оларды зертханалық жағдайда қатаң бақылау қажет.

Цианобактериялар үшін оңтайлы өсіру жағдайлары ең қысқа генерация уақыты қамтамасыз етілетін параметрлермен сипатталады. Әрбір тірі организм сияқты, зерттелген цианобактерия штаммдарының да температура, ортаның pH көрсеткіші және жарықтану деңгейі бойынша өзіне тән оңтайлы мәндері бар. Осы көрсеткіштерден ауытқу өсу қарқынының төмендеуіне немесе метаболизмнің тежелуіне әкелуі мүмкін.



5-сурет – Әр түрлі қоректік орталарда өсу жылдамдығы

Осыған байланысты, зерттеу жұмысының келесі кезеңінде жоғарыда аталған факторлардың — температураның, pH көрсеткішінің және жарық қарқындылығының — *Phormidium* sp. BPS-27, *Nostoc* sp. BNS-32 және *Anabaena* variabilis BBS-44 дақылдарының өсу динамикасына әсері кешенді түрде зерттелді. Бұл тәсіл зерттелетін цианобактериялар үшін оңтайлы культивирлеу жағдайларын анықтауға және олардың биотехнологиялық әлеуетін бағалауға мүмкіндік берді.

3.4.1 Ортаның pH көрсеткішінің бөлініп алынған цианобактерия жасушаларының өсуіне әсері

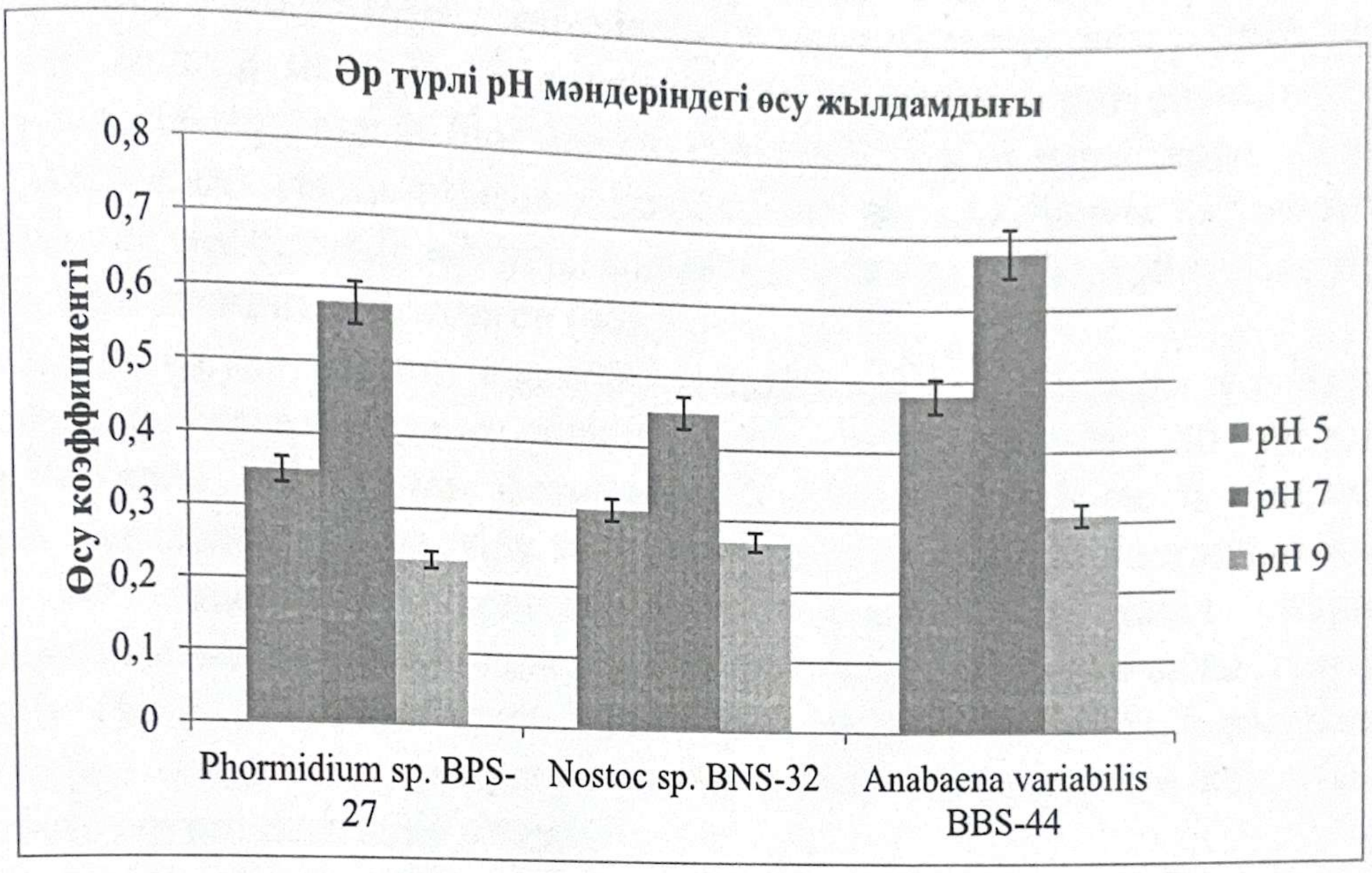
Белсенді орта реакциясы, яғни сутек иондарының (H^+) концентрациясына тәуелді және pH бірліктерімен өлшенетін көрсеткіш, тірі организмдердің тіршілік әрекетінің барлық негізгі үдерістеріне тікелей әсер ететін маңызды физика-химиялық факторлардың бірі болып табылады. Ортаның pH көрсеткіші ферментативтік реакциялардың жүру жылдамдығын, мембраналық тасымал процестерін, сондай-ақ жасуша ішіндегі метаболизмнің тұрақтылығын анықтайды. Осыған байланысты цианобактериялардың өсуі мен дамуы үдерістерінде ортаның қышқылдығы шешуші рөл атқарады.

Цианобактерияларды зертханалық жағдайда культивирлеу кезінде жоғары биомасса алу және тұрақты өсу динамикасын қамтамасыз ету үшін қоректік ортаның pH көрсеткіші олардың физиологиялық талаптарына сәйкес келуі қажет. Қышқылдық деңгейінің өзгеруіне цианобактериялардың әртүрлі таксондарының төзімділігі бірдей емес. Әрбір түр үшін өсуге қолайлы ең төменгі, ең жоғарғы және оңтайлы pH мәндері болады. Көптеген цианобактериялар бейтарап немесе әлсіз сілтілі орталарға бейімделген және олардың өсуі үшін оңтайлы pH көрсеткіші көбіне 7,2–7,5 аралығында болады. Сонымен қатар, ортаның pH көрсеткіші қоректік ортаның құрамындағы минералдық тұздардың тұрақтылығына, олардың ерігіштігіне және жасушаларға қолжетімділігіне әсер етеді. Әсіресе өсу факторлары мен витаминдердің сіңірілуі ортаның қышқылдығына тікелей тәуелді екендігі әдеби деректерде көрсетілген [45].

Осы жұмыста бөлініп алынған цианобактерия дақылдарының өсу жылдамдығы коэффициентіне ортаның pH мәндерінің әсері зерттелді. Тәжірибеде pH көрсеткіші 5,0; 7,0 және 9,0 болатын үш нұсқа қарастырылды. Барлық тәжірибелік нұсқаларда бастапқы жағдайларды біркелкі ұстау мақсатында 680 нм толқын ұзындығындағы бастапқы оптикалық тығыздық ($ОТ_{680}$) 0,02-ге теңестірілді, ал жасушалар саны барлық нұсқаларда $0,5 \times 10^6$ жасуша/мл деңгейінде болды. Мұндай тәсіл pH көрсеткішінің цианобактериялардың өсуіне тікелей әсерін объективті түрде бағалауға мүмкіндік берді.

Тәжірибе үшін қажетті pH мәндері натрий карбонаты мен натрий бикарбонатының 10%-дық ерітінділерінің есептелген арақатынасын пайдалану арқылы орнатылды. Ортаның pH көрсеткіші тәжірибе барысында pH-метр көмегімен тұрақты түрде бақыланып отырды, бұл алынған нәтижелердің сенімділігін қамтамасыз етті. Цианобактерия дақылдарының өсу динамикасы инкубация уақыты бойы жүйелі түрде тіркеліп, алынған деректер салыстырмалы түрде талданды.

Жүргізілген зерттеулердің нәтижелері 5-суретте көрсетілген. Алынған мәліметтер ортаның pH көрсеткішінің цианобактерия жасушаларының өсу қарқынына елеулі әсер ететінін және әртүрлі pH мәндерінде өсу динамикасының айырмашылығы байқалатынын көрсетті. Бұл нәтижелер зерттелген цианобактерия дақылдары үшін оңтайлы pH жағдайларын анықтаудың маңыздылығын дәлелдейді және оларды әрі қарай культивирлеу мен биотехнологиялық мақсатта қолдану үшін негіз бола алады.



6-сурет – Ортаның әртүрлі pH мәндерінде өсірілген цианобактерия дақылдарының өсу жылдамдығының коэффициенттері

Қоректік ортада pH-тың әртүрлі мәндерінде өсірілген тәжірибелік цианобактерия дақылдарының өсуін тіркеу нәтижелері барлық зерттелген дақылдар үшін ортаның оңтайлы pH мәні 7,0 екенін көрсетті. Аталған pH мәнінде барлық зерттелген цианобактерия жасушалары pH 5,0 және 9,0 жағдайларымен салыстырғанда ең жоғары өсу белсенділігін көрсетті.

3.4.2 Бөлініп алынған цианобактерия дақылдарының өсу жылдамдығы коэффициентіне жарық қарқындылығының әсері

Жарық фототрофты микроорганизмдердің өсуі мен дамуын реттейтін негізгі факторлардың бірі болып табылады, себебі ол фотосинтез процесінің бастапқы энергия көзі қызметін атқарады. Цианобактериялар үшін жарық тек қана жасушалардың өсу жылдамдығына емес, сонымен қатар фотосинтетикалық белсенділікке, биомассаның жиналуына және жасушаішілік метаболизм бағыттарына да тікелей әсер етеді. Айта кету

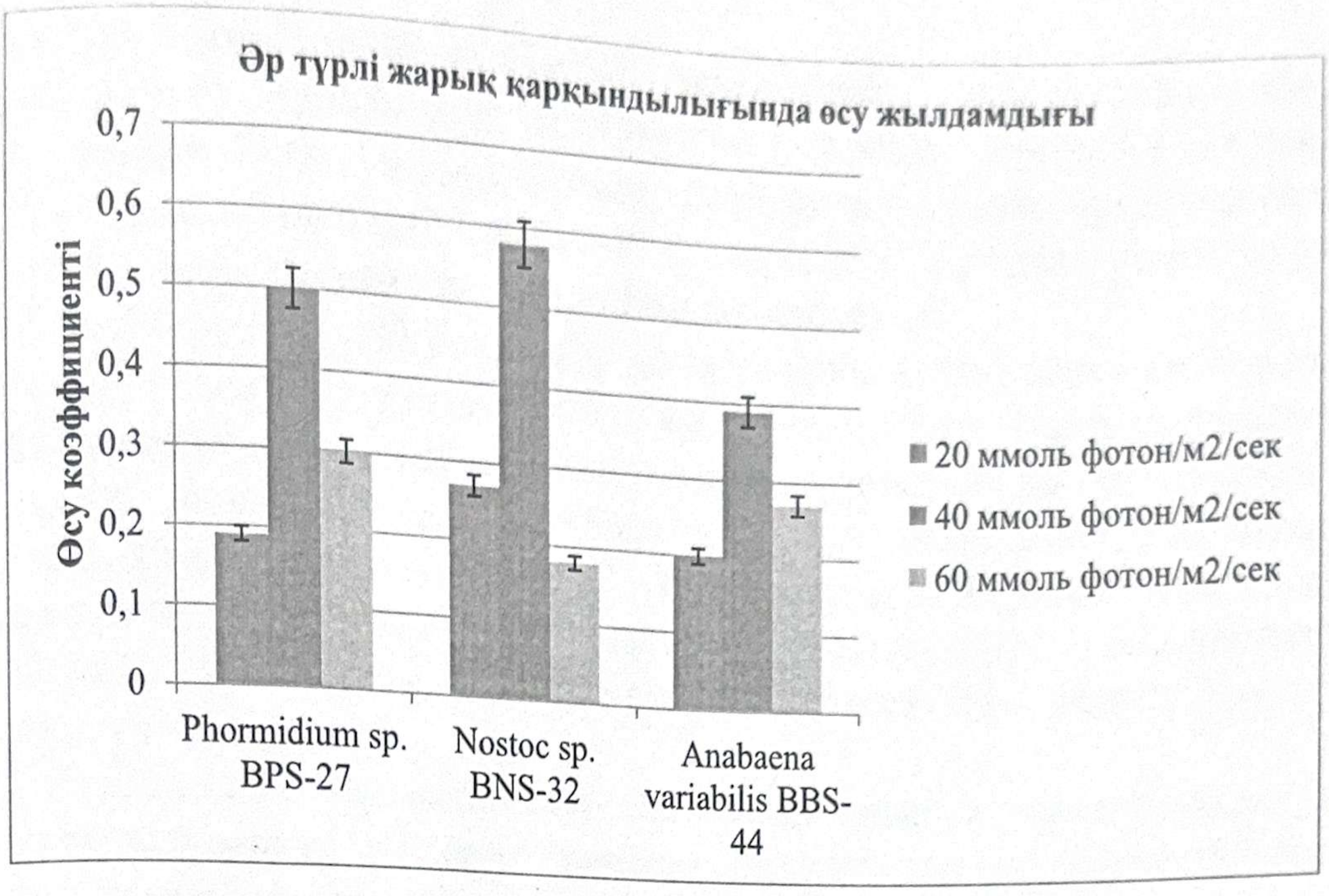
керек, цианобактерияларда сутегінің бөлінуі белгілі бір дәрежеде жарық режимімен және культивирлеу ортасындағы азоттың мөлшерімен тығыз байланысты, өйткені бұл факторлар нитрогеназа мен гидрогеназа жүйелерінің белсенділігіне ықпал етеді.

Цианобактерияларды культивирлеудің қазіргі заманғы әдістері әртүрлі болғанымен, олардың барлығы жасушаларды жеткілікті мөлшерде жарықпен, көмірқышқыл газымен және минералдық қоректік заттармен қамтамасыз етуге негізделген. Жарық қарқындылығы цианобактериялардың өсу жылдамдығын, фотосинтездің тиімділігін және ақуыздар, көмірсулар мен пигменттер сияқты маңызды биополимерлердің синтезін реттейтін негізгі экологиялық факторлардың бірі болып саналады. Әдеби деректерде жарық қарқындылығының төмен немесе шамадан тыс жоғары болуы фотосинтез процесінің тежелуіне және жасушалардың физиологиялық күйінің өзгеруіне әкелуі мүмкін екендігі көрсетілген [46].

Осы зерттеуде бөлініп алынған цианобактерия дақылдары үш түрлі жарықтандыру жағдайында өсірілді: 20 мкмоль фотон/м²/с, 40 мкмоль фотон/м²/с және 60 мкмоль фотон/м²/с. Барлық тәжірибелік нұсқаларда бастапқы жағдайларды теңестіру мақсатында жасушалардың бастапқы саны $0,5 \cdot 10^6$ жасуша/мл деңгейінде белгіленді. Бұл тәсіл жарық қарқындылығының өсу динамикасына әсерін объективті түрде салыстыруға мүмкіндік берді. Цианобактерия дақылдарының өсуі тәжірибе барысында жүйелі түрде бақыланып, жасушалар саны Горяев камерасының көмегімен екі тәулікте бір рет есептеліп отырды.

Алынған деректерге сәйкес, жарық қарқындылығы 20 мкмоль фотон/м²/с-тен 60 мкмоль фотон/м²/с-ке дейін артқан кезде цианобактерия дақылдары суспензиясының оптикалық тығыздығында және жасушалар санының өсу қарқынында айырмашылықтар байқалды. Бұл өзгерістер жарық қарқындылығының фотосинтетикалық аппараттың белсенділігіне және жасушалардың бөліну жылдамдығына әсер ететінін көрсетеді. Төмен жарық қарқындылығында фотосинтез процесі шектелуі мүмкін, ал жоғарырақ жарық жағдайында фотосинтетикалық реакциялардың қарқындылығы артып, биомасса жиналуы күшейеді.

Бөлініп алынған цианобактерия дақылдарының 20 мкмоль фотон/м²/с, 40 мкмоль фотон/м²/с және 60 мкмоль фотон/м²/с жарықтандыру жағдайларында өсірілу кезіндегі өсу жылдамдығының коэффициенттері 6-суретте көрсетілген. Алынған нәтижелер жарық қарқындылығының цианобактериялардың өсуіне айтарлықтай әсер ететінін және зерттелген дақылдар үшін белгілі бір оңтайлы жарық диапазоны бар екенін дәлелдейді. Бұл деректер цианобактерияларды әрі қарай культивирлеу жағдайларын оңтайландыруға және оларды биотехнологиялық, соның ішінде биоэнергетикалық мақсатта тиімді пайдалануға негіз бола алады.



7-сурет – Жарықтың әртүрлі қарқындылығында өсірілген бөлініп алынған цианобактерия дақылдарының өсу жылдамдығының коэффициенті

Жүргізілген тәжірибелердің нәтижесінде бөлініп алынған барлық цианобактерия дақылдары үшін өсу жылдамдығы коэффициентінің ең жоғары мәндері 40 мкмоль фотон/м²/с жарықтандыру жағдайында байқалғаны анықталды, бұл кезде өсу жылдамдығы коэффициенті 0,18–0,58 аралығында болды.

3.4.3 Бөлініп алынған цианобактерия дақылдарының өсу жылдамдығына культивирлеу температурасының әсері

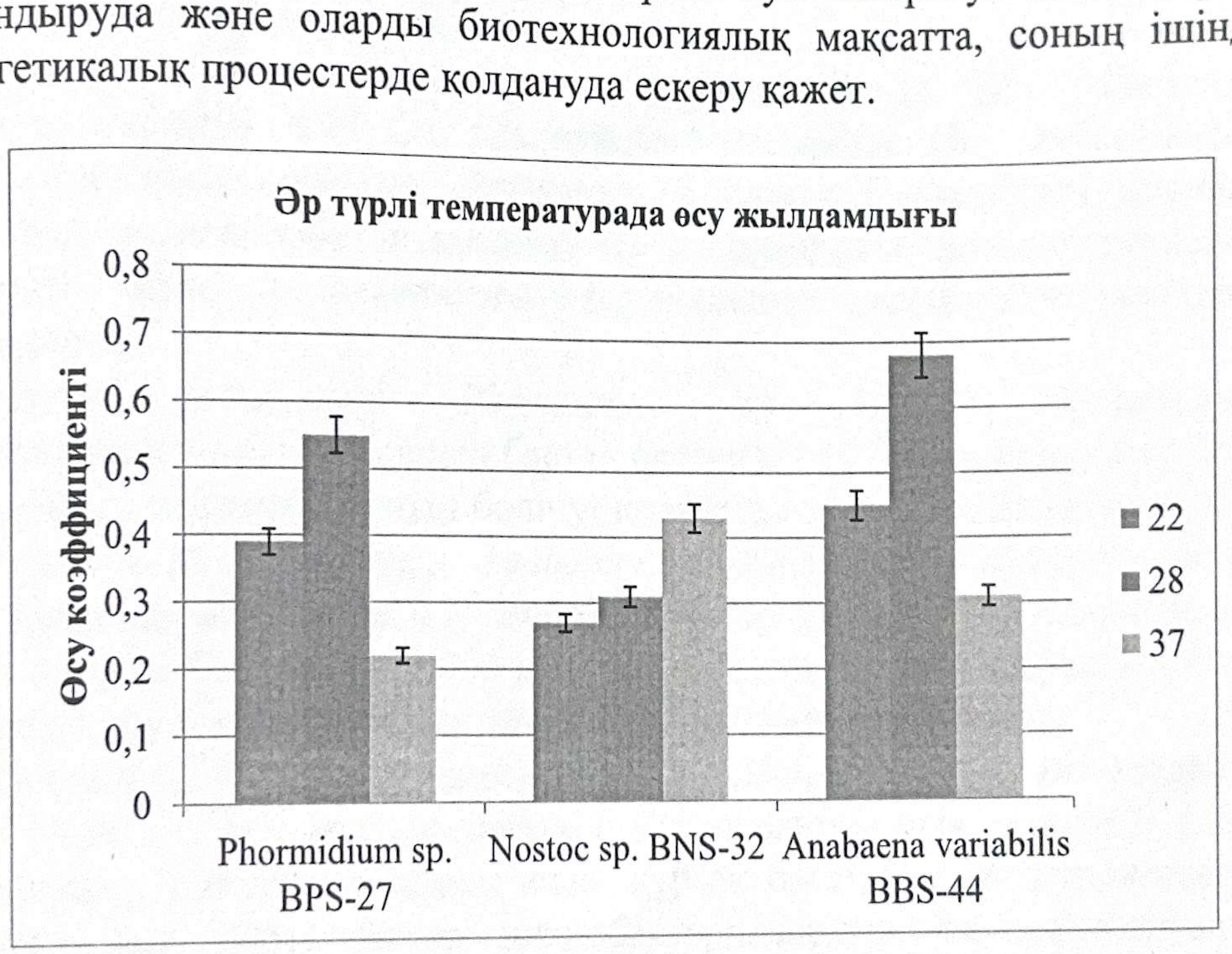
Бөлініп алынған *Phormidium* sp. BPS-27, *Nostoc* sp. BNS-32 және *Anabaena* variabilis BBS-44 цианобактерия дақылдары зертханалық жағдайда екі түрлі қоректік ортада — BG-11 және Заррука орталарында культивирленді. Тәжірибе барысында ортаның pH көрсеткіші 7,0 деңгейінде тұрақты сақталды, жарықтандыру қарқындылығы 4000 люкс, ал культивирлеу температурасы 22°C, 28°C және 37°C болды. Дақылдар көрсетілген жағдайларда 10 тәулік бойы өсірілді. Барлық тәжірибелік нұсқаларда бастапқы оптикалық тығыздықты теңестіру мақсатында суспензияның бастапқы мәні 0,02 ОТ бірлікке жеткізілді, бұл әртүрлі температура жағдайларында дақылдардың өсу динамикасын салыстыруға мүмкіндік берді.

Зерттеу нәтижелері температураның цианобактерия дақылдарының өсу қарқындылығына айтарлықтай әсер ететінін көрсетті. *Anabaena* variabilis BBS-44 және *Phormidium* sp. BPS-27 дақылдары культивирлеудің алғашқы тәулігінен бастап 28°C температурада және pH-7 жағдайында белсенді өсуін

көрсетті. Бұл температурада аталған дақылдардың жасушалық бөлінуі қарқынды жүріп, биомассаның жиналуының жоғары деңгейі байқалды. Мұндай нәтиже осы штаммдардың мезофильді микроорганизмдерге жататынын және олардың ферменттік жүйелері орташа температура жағдайында жоғары белсенділік танытатынын көрсетеді.

Ал *Nostoc* sp. BNS-32 дақылы үшін өсу қарқындылығының ең жоғары көрсеткіші 37°C температурада тіркелді. Бұл жағдай *Nostoc* туысына жататын кейбір цианобактерия түрлерінің салыстырмалы түрде жоғары температураға төзімді екенін және олардың метаболизмдік процестері жылырақ ортада тиімді жүретінін дәлелдейді. 22°C температурада барлық зерттелген дақылдардың өсуі баяулап, оптикалық тығыздықтың артуы айтарлықтай төмен болды, бұл төмен температурада биохимиялық реакциялардың баяулауымен түсіндіріледі.

Осылайша, алынған нәтижелер зерттелген цианобактерия дақылдары үшін температураның оңтайлы мәндері әртүрлі екенін көрсетті. Бұл факторды цианобактерияларды ары қарай культивирлеу жағдайларын оңтайландыруда және оларды биотехнологиялық мақсатта, соның ішінде биоэнергетикалық процестерде қолдануда ескеру қажет.



8-сурет – Бөлініп алынған цианобактерия дақылдарын әртүрлі температураларда өсіру кезіндегі өсу жылдамдығы коэффициенттері

3.5 Бөлініп алынған аксениялық цианобактерия дақылдарын өнімділігі бойынша скрининг жасау

Жоғары өсу жылдамдығы, генетикалық манипуляциялардың салыстырмалы жеңілдігі және геномдардың кіші көлемі цианобактерияларды фотосинтетикалық жасушалардағы әртүрлі физиологиялық процестер мен

метаболикалық жолдарды зерттеу үшін қолайлы модель объектілеріне айналдырады. Осыған байланысты цианобактериялар негізгі және практикалық зерттеулер үшін ерекше қызығушылық тудырады, өйткені олар фотосинтетикалық белсенділік, энергия алмасу және биомассаның жиналу процестерін зерттеуге мүмкіндік береді.

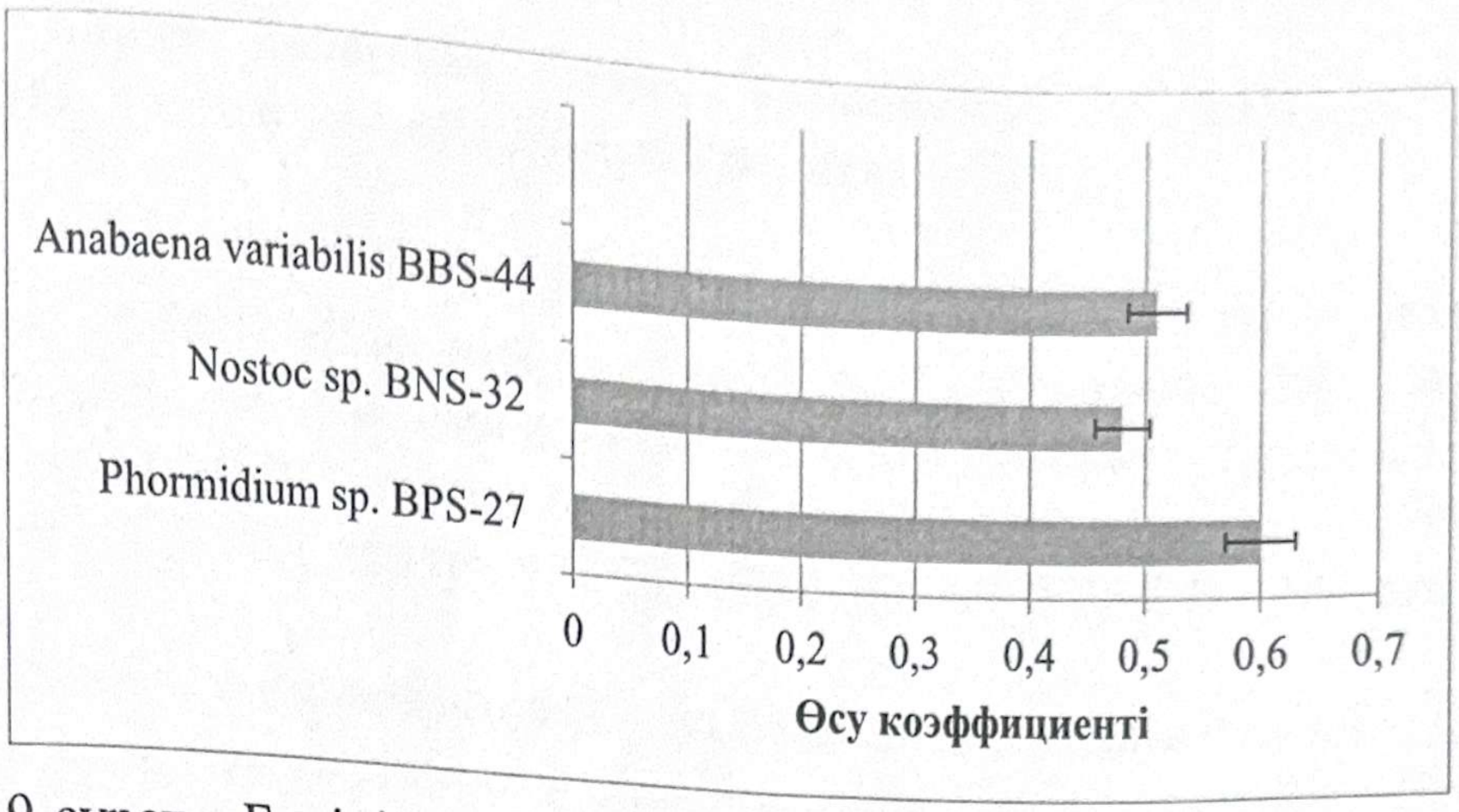
Қазіргі уақытта цианобактериялар көптеген зерттеушілер мен биотехнологиялық кәсіпкерлердің назарын тартады, олардың кейбір метаболиттері, соның ішінде сутегі, биоэтанол және басқа да биоотын түрлері, отын өнеркәсібінде қолданылуы мүмкін. Сондықтан цианобактерияларды биоэнергетикалық мақсатта қолдану үшін өнімділігі жоғары штаммдарды таңдау және скринингтен өткізу аса маңызды.

Биотехнологияда перспективалық штаммдардың ең маңызды көрсеткіштері олардың өсу жылдамдығы, фотосинтетикалық белсенділік және құрғақ биомасса шығымы болып табылады. Осыған байланысты, зерттеуде бөлініп алынған цианобактерия штаммдары — *Anabaena* variabilis BBS-44, *Phormidium* sp. BPS-27 және *Nostoc* sp. BNS-32 — өнімділік бойынша скринингтен өткізілді.

Скрининг барысында әрбір тәжірибелік дақыл үшін бастапқы оптикалық тығыздық 0,03 ОТ деңгейінде теңестірілді. Өсу динамикасын бағалау үшін жасушалардың оптикалық тығыздығы күнделікті өлшеніп отырды, бұл арқылы әрбір штаммның өсу жылдамдығы, фотосинтетикалық белсенділігі және суспензиядағы биомассаның жинақталу қарқыны салыстырылды.

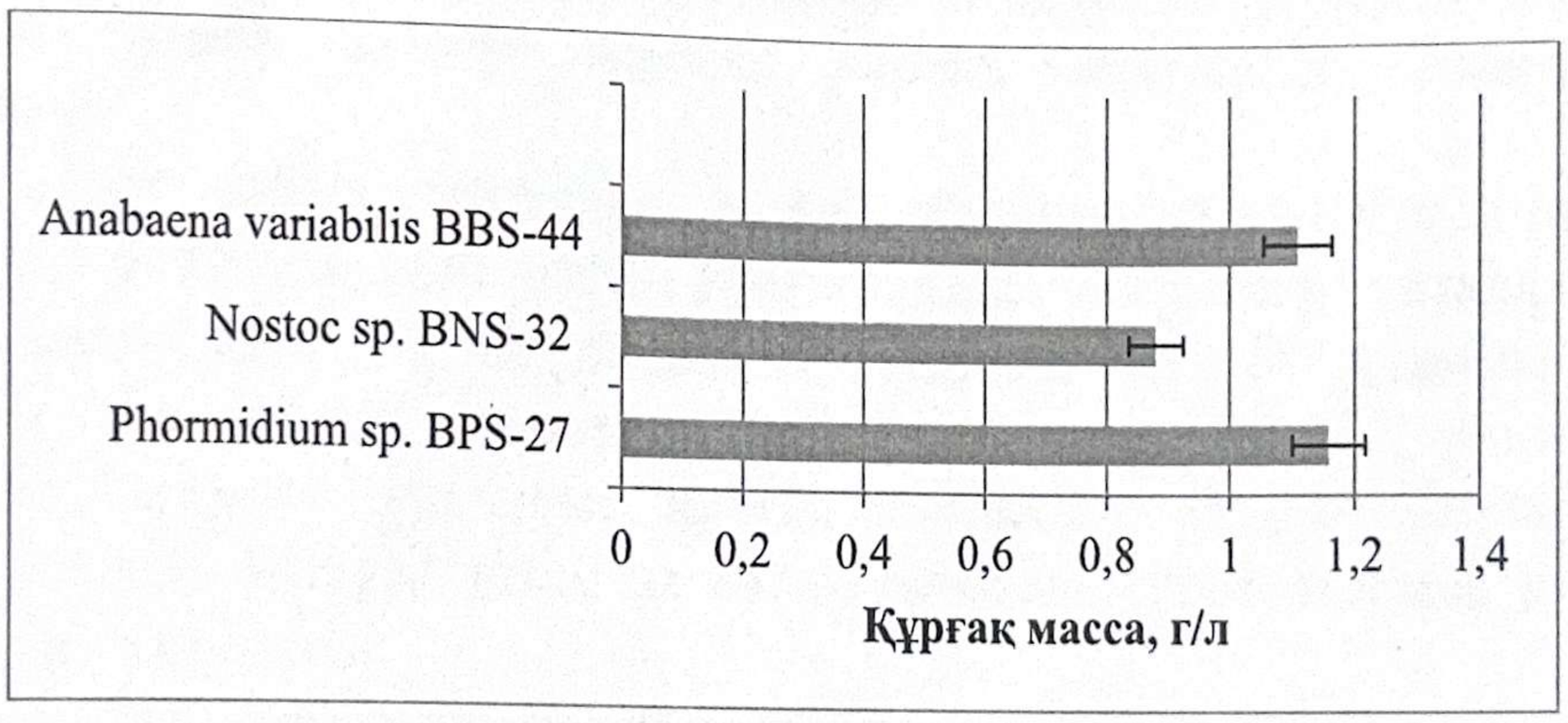
Зерттеу нәтижелері *Phormidium* sp. BPS-27 штаммында культивирлеудің алғашқы күнінен бастап белсенді өсу байқалғанын көрсетті. Бұл штаммның жасушаларының бөлінуі қарқынды жүріп, суспензияның түсі мен тығыздығы да тез өзгереді. *Anabaena* variabilis BBS-44 және *Nostoc* sp. BNS-32 дақылдары үшін де өсу динамикасы тіркелді, алайда олардың өсу қарқыны әртүрлі болды, бұл әрбір штаммның физиологиялық ерекшеліктері мен оңтайлы өсу жағдайларының айырмашылығымен байланысты.

Скринингтің нәтижелері көрсеткендей, өнімділігі жоғары штаммдарды анықтау үшін тек өсу жылдамдығын бақылау жеткіліксіз, сонымен қатар флуоресценция, пигменттік құрам және құрғақ биомасса шығымын есепке алу қажет. Бұл көрсеткіштер цианобактериялардың фотосинтетикалық белсенділігін және энергия алмасу қабілетін толық сипаттайды, ал алынған ақпарат биотехнологиялық тәжірибелерде, соның ішінде сутегі және басқа да биоэнергия түрлерін өндіруде тиімді пайдаланылады.



9-сурет – Бөлініп алынған цианобактерия штаммдарының өсу коэффициенті

Культивирлеудің 8-ші күні барлық сынақталған штаммдардың жасушаларында құрғақ заттың жиналуы анықталды. Ол үшін дақылдардың тығыз суспензиясы центрифугамен шоғырландырылып, 60°С температурада 3 күн бойы құрғатылды.



10-сурет – Бөлініп алынған цианобактерия штаммдарының жасушаларында культивирлеудің 8-ші күніндегі биомасса жиналуы

Құрғақ биомасса жинақталуының орташа мәндері келесідей болды: *Anabaena* variabilis BBS-44 дақылы үшін – 1,11 г/л, *Phormidium* sp. BPS-27 үшін – 1,16 г/л, *Nostoc* sp. BNS-32 үшін – 0,88 г/л.

Анықталғандай, *Anabaena* variabilis BBS-44 және *Phormidium* sp. BPS-27 цианобактериялары ең жоғары өсу жылдамдығы мен биомасса шығымы көрсеткіштеріне ие болып, олардың өнімділігінің жоғары екенін дәлелдеді. Осылайша, скрининг нәтижесінде бұл дақылдар биосутегі өндірушілер ретінде потенциалын анықтау мақсатында олардың физиологиялық және биохимиялық қасиеттерін әрі қарай зерттеу үшін таңдалды.

3.6 Бөлініп алынған және коллекциялық цианобактерия дақылдарының сутек бөліну қабілетін скринингтеу

Қазіргі уақытта әл-Фараби атындағы ҚазҰУ Биотехнология кафедрасында фототрофты микроорганизмдер коллекциясы бар, онда 3 жүйелік бөліктен 49 түр жинақталған. Осы коллекцияда цианобактерия штаммдары бар, олардың сутек өндіру қабілетін зерттеу мақсатқа сай болды. Сутек өндіріс қабілетін зерттеу үшін *Desertifilum* sp. IPPAS B-1220 штаммы таңдалды.

Коллекциялық цианобактерия дақылдарының биомассасы колбаларда сәйкес орталарда, температурасы 28°C, жасанды жарықтандыру 4000 лк жағдайында өсірілді. Сутекті өлшеу үшін биомассаны культуралардың тұрақты өсу фазасында, культивирлеудің 3-ші күнінде алды. Таңдалған штаммның бөлген жалпы сутек мөлшерін анықтау үшін газ хроматографиясы (ГХ) қолданылды.

Алынған нәтижелер зерттелген штаммдардың нитрогеназа белсенділігін ацетилен әдісімен анықтау нәтижелерімен расталды. Үш штаммда үш түрлі нитрогеназа белсенділігі ГХ арқылы анаэробты жағдайда, 24 сағат жарықта культивирлегеннен кейін анықталды. Нитрогеназаның белсенділігін этилен түзілуі арқылы өлшеп, нақты H_2 бөлінуімен салыстырылды.

Нәтижелерге сәйкес, зерттелген бөлініп алынған штаммдардың ішінде *Desertifilum* sp. IPPAS B-1220 этилен (нитрогеназа) өндірісінде айтарлықтай төмен нәтижелер көрсетті, ал *Anabaena* variabilis BBS-44 штаммы 15,2 мкмоль этилен/мг құрғақ салмақ/сағ, *Phormidium* sp. BPS-27 үшін бұл көрсеткіш 8,6 мкмоль этилен/мг құрғақ салмақ/сағ болды. Осылайша, *Anabaena* variabilis BBS-44 штаммы салыстырмалы түрде жоғары этилен өндіру деңгейін көрсетті.

Қалған түрлермен жүргізілген зерттеулерде ацетиленмен тотығатын этиленнің түзілуі байқалмады, бұл сол дақылдарда нитрогеназа ферментінің болмауына сәйкес келеді.

Келесі кезеңде жоғары сутек өндіру белсенділігіне ие цианобактерия штаммдарын таңдау үшін, бөлініп алынған алты өнімді штаммда сутек бөлінуі қараңғыда және жарық жағдайында зерттелді.

Белгілі болғандай, гетероцисталары бар цианобактерияларды пайдалану, оларды нитрогеназа және гидрогеназа ферменттері арқылы сутек бөлуде қолдану, азот фиксирлейтін дақылдарға ұқсас, ең перспективалы тәсіл болып табылады. Мұндай дақылдарда нитрогеназа ферменті негізінен арнайы жасушаларда — гетероцисталарда орналасқан, олар байланысты азоттың жетіспеушілігі кезінде түзіледі. Бұл жағдайда оттегі тек вегетативті жасушаларда түзіледі.

Сонымен қатар, қалың мембранасы бар гетероцисталар оттегін аз өткізеді, бұл нитрогеназаны оның ингибирлеуші әсерінен кеңістіктік қорғанысқа алады. Сонымен бірге, олар жоғары белсенді тыныс алумен

сипатталады (оттегін сіңіру арқылы), бұл гетероцисталы цианобактерияларды ауадағы молекулярлық оттегінің бар болуына қарамастан сутек бөлетін жалғыз организмдерге айналдырады.

Алынған нәтижелерге сәйкес, қараңғыда сутек бөлінуі зерттелген барлық дақылдарда байқалды. Ең жоғары сутек өнімділігі *Anabaena* variabilis BBS-44 штаммында анықталды: оның жасушалары қараңғыда дегазациядан 24 сағат өткеннен кейін сутек өндіре бастады. Сол кезде сутек шығымы 0,049 мкмоль H_2/мг хлорофилл/сағ болды.

Осы дақылдағы сутектің максималды жинақталуы 72 сағат инкубациядан кейін байқалды, бұл кезде көрсеткіш 8,67 мкмоль H_2/мг хлорофилл/сағ құрады. Алайда, келесі сағаттарда сутек бөлінуі біртіндеп азайғаны байқалды

Қалған штаммдар қараңғыда *Anabaena* variabilis BBS-44 сияқты жоғары сутек өндіру белсенділігіне ие болмады. Сондай-ақ, басқа штаммдар арасында салыстырмалы түрде *Phormidium* sp. BPS-27 штаммында H_2 өндіру деңгейі жоғарырақ болды. Бұл екі штамм сутек шығымының әртүрлі мәндерімен сипатталып, максималды жинақталу уақыты бойынша бір-бірінен ерекшеленді. *Desertifilum* sp. IPPAS B-1220 штаммы қараңғыда сутек өндіру қабілеті айтарлықтай төмен болды: 120 сағат инкубациядан кейін бұл көрсеткіш 0,01 мкмоль H_2/мг хл/сағ, әрі қарай азайып, 144 сағаттан кейін сутек өндірісі мүлде байқалмады.

Келесі кезеңде зерттелген цианобактерия штаммдарының жарық жағдайында сутек жинақтау қабілеті қаралды. Белгілі болғандай, жарық энергиясы сутек бөлінуі үшін маңызды және тікелей биофотолиз үшін электрон доноры ретінде қызмет етеді. Тилакоид мембраналарында фотохимиялық реакциялар кезінде күн энергиясының әсерінен белгілі шарттарда молекулалық сутек бөлінеді. Кәдімгі жағдайларда микроцианобактериялар сутек түзбейді. PSI белсенділігі сутекті фототану үшін шарт емес, бірақ су фотодеградациясы кезінде тилакоид электрон тасымалдау тізбесіне (ЕТС) түсетін электрондар гидрогеназа арқылы қабылдануы мүмкін. Бұл цианобактерия жасушаларында қысқа уақыт ішінде оттек пен сутек түзілуіне әкеледі [47].

Осы тәжірибеде зерттелген цианобактерия дақылдары алдыңғы тәжірибеге ұқсас жағдайда культивирленді, тек айырмашылық жарықтың болуы болды. Әр дақыл үшін суспензияның бастапқы оптикалық тығыздығы 720 нм-де 1,5 құрады. Штаммдар сутек өндіруді 120 сағат бойы аргон атмосферасында, жарық қарқындылығы 30 мкмоль/м^2/с кезінде көрсеткен.

ҚОРЫТЫНДЫ

Диссертациялық жұмыс бойынша келесі ғылыми зерттеулер жүргізілді: Балқаш көлінен су және топырақ үлгілерінен сутек өндіруші цианобактерия дақылдарын іздеу және бөліну, олардың аксеникалық дақылдарын алу, сондай-ақ олардың культуралық-морфологиялық, кейбір биохимиялық және физиологиялық қасиеттерін зерттеу жүзеге асырылды; бөлініп алынған және коллекциялық цианобактерия дақылдарының биомасса өнімділігі және сутек бөліну қабілеті бойынша скринингі өткізілді.

1. Балқаш көлінен су және топырақ үлгілерінен сутек өндіруші цианобактерия дақылдарын іздеу және іріктеу жүзеге асырылды және 9 жинақтық штаммнан 3 аксеникалық цианобактерия дақылы бөлініп алынды. Оларды культуралық-морфологиялық және физиологиялық белгілер бойынша *Phormidium* sp. BPS-27, *Nostoc* sp. BNS-32 және *Anabaena* variabilis BBS-44 деп анықталды;
2. Цианобактерия штаммдарының культуралық-морфологиялық, кейбір биохимиялық және физиологиялық қасиеттерін зерттеу жүзеге асырылды;
3. Жұмыста Балқаш көлінен су және топырақ үлгілерінен цианобактерия дақылдарын іздеу, бөлу және зерттеу, сондай-ақ бөлініп алынған дақылдар мен коллекциялық штаммдарды биомасса өнімділігі және сутек бөліну қабілеті бойынша скринингтен өткізу жүргізілді;
4. *Anabaena* variabilis BBS-44 және *Phormidium* sp. BPS-27 дақылдары ең жоғары өсу жылдамдығы мен биомасса шығымына ие, бұл олардың өнімділігінің жоғары екенін көрсетеді;
5. Сутек бөліну қабілеті бойынша скрининг нәтижесінде гетероцисталы *Anabaena* variabilis BBS-44 штаммы таңдалды. Қараңғыда сутек шығымы 8,67 мкмоль H_2/мг хл/сағ болды, бұл көрсеткіш жарықта сол штамм үшін шамамен 17,2 есе төмен.

ҚЫСҚАРТУЛАР

NADPH — никотинамид-адениндинуклеотидфосфаттың қалпына келген түрі

ФЖ — фотожүйе

ATP — аденозинтрифосфат

NiFe-гидрогеназа — құрамында никель мен темір бар гидрогеназа ферменті

FeFe-гидрогеназа — құрамында екі темір атомы бар гидрогеназа ферменті

Fe-гидрогеназа — тек темір иондарына негізделген гидрогеназа ферменті

Mo–Fe протеині — молибден-темірлі ақуыз (нитрогеназаның каталитикалық компоненті)

Fe протеині — темірлі ақуыз (нитрогеназаның электрон тасымалдаушы компоненті)

Hup — сутегіні сіңіретін (қалпына келтіретін) гидрогеназа

Hox — бифункционалды (қайтымды) гидрогеназа кешені

HoxH — Hox гидрогеназа кешенінің үлкен субъбірлігі

HoxY — Hox гидрогеназа кешенінің кіші субъбірлігі

ОТ – Оптикалық тығыздық

АНЫҚТАМАЛАР

Биотехнология — тірі организмдерді, жасушаларды немесе олардың биологиялық процестерін практикалық мақсатта (энергия, медицина, ауыл шаруашылығы, экология) пайдалану саласы.

Цианобактериялар — фотосинтезге қабілетті, прокариотты құрылымды микроорганизмдер, оттекті фотосинтез жүргізеді және кейбір түрлері азотты фиксациялайды.

Биосутегі — тірі организмдердің (цианобактериялар, балдырлар, бактериялар) метаболизмі нәтижесінде түзілетін молекулалық сутегі (H_2).

Жаңартылатын энергия — табиғи жолмен үнемі жаңарып отыратын көздерден (күн, жел, су, биомасса) алынатын энергия.

Фототрофты микроорганизмдер — энергия көзі ретінде жарықты пайдаланатын микроорганизмдер.

Аксеникалық дақыл — құрамында басқа микроорганизмдер болмайтын, бір ғана түрден тұратын таза дақыл.

Альгологиялық таза дақыл — балдырлар немесе цианобактериялар басқа балдырлардан таза, бірақ бактериялар болуы мүмкін дақыл.

Фотосинтез — жарық энергиясының көмегімен көмірқышқыл газы мен судан органикалық заттардың түзілу процесі.

Фотожүйе (ФЖ) — фотосинтез кезінде жарық энергиясын сіңіріп, электрондарды тасымалдауға қатысатын пигмент-ақуыз кешені.

Хлорофилл — фотосинтез кезінде жарық энергиясын сіңіретін негізгі жасыл пигмент.

Фотосинтетикалық сутегі — фотосинтез процесімен байланысқан биологиялық жолмен түзілетін сутегі газы.

Гендік инженерия — организмдердің генетикалық материалын мақсатты түрде өзгерту әдістерін зерттейтін ғылым саласы.

Нитрогеназа — атмосфералық азотты (N_2) аммиакқа дейін тотықсыздандыратын фермент.

Гидрогеназа — сутегінің түзілуін немесе тотығуын катализдейтін фермент.

Азот (N) — тірі организмдер үшін маңызды химиялық элемент, ақуыздар мен нуклеин қышқылдарының құрамына кіреді.

АТР синтезі — жасушада энергия жинақтаушы аденозинтрифосфаттың түзілу процесі.

Нистатин — саңырауқұлақтарға қарсы қолданылатын антибиотик.

Ротаметр — газ немесе сұйық ағынның жылдамдығын өлшейтін құрал.

Микроэлементтер — организмге аз мөлшерде қажет болатын химиялық элементтер (Fe, Zn, Cu және т.б.).

Макроэлементтер — организмге көп мөлшерде қажет болатын элементтер (C, N, P, K, Mg және т.б.).

Биомасса — тірі организмдердің жалпы органикалық массасы.

Газдық хроматография — газ қоспаларының құрамын анықтауға арналған аналитикалық әдіс.

Аргон — инертті газ, зертханалық тәжірибелерде газ-тасымалдаушы ретінде қолданылады.

Фотобиореактор — фототрофты микроорганизмдерді бақыланатын жағдайда өсіруге арналған құрылғы.

Гетеротрофты бактериялар — дайын органикалық заттармен қоректенетін бактериялар.

Микробалдырлар — микроскопиялық өлшемдегі фотосинтез жүргізетін балдырлар.

Штрих әдісі — микроорганизмдерді таза дақыл ретінде бөліп алу әдісі.

Ампициллин — кең спектрлі бактерияға қарсы антибиотик.

Хлорамфеникол — ақуыз синтезін тежейтін антибиотик.

Прокариоттар — ядросы жоқ, қарапайым құрылымды организмдер.

Апикальды жасушалар — трихоманың ұшында орналасқан, өсуге қатысатын жасушалар.

Трихома жасушалары — жіп тәрізді цианобактериялардың бір қатар болып орналасқан жасушалары.

Гетероциста — азот фиксациясына маманданған арнайы жасуша.

Акинеттер — қолайсыз жағдайларда тіршілігін сақтайтын тыныштық күйдегі жасушалар.

pH көрсеткіші — ортаның қышқылдық немесе сілтілік дәрежесін сипаттайтын көрсеткіш.

Культивирлеу — микроорганизмдерді арнайы ортада өсіру процесі.

Биоэтанол — биологиялық жолмен алынатын этил спирті, биоотын түрі.

Скрининг — көптеген үлгілер арасынан қажетті қасиеті барларын іріктеу процесі.

Фотохимиялық реакциялар — жарық энергиясының әсерінен жүретін химиялық реакциялар.

Тилакоид мембраналар — фотосинтездің жарық фазасы жүретін мембраналық құрылымдар.

Биофотолиз — жарық энергиясының көмегімен судың сутегі мен оттегіне ыдырау процесі.

Пенициллин — бактериялардың жасуша қабырғасының синтезін тежейтін β-лактамды антибиотик.

Гентамицин — аминогликозидтер тобына жататын, бактерияларда ақуыз синтезін тежейтін кең спектрлі антибиотик.

Тетрациклин — рибосомалардың қызметін тежеу арқылы бактериялардың өсуін тоқтататын антибиотик.

Неомицин — аминогликозидтер тобына жататын, бактерияларға қарсы әсері бар антибиотик.

Канамицин — бактериялардың ақуыз синтезін тежейтін аминогликозидті антибиотик.

Фунгицидтік антибиотик — саңырауқұлақтардың өсуін тежейтін немесе жоятын антибиотиктік зат.

Культура (дақыл) — белгілі бір жағдайда өсірілген микроорганизмдер жиынтығы.

Стерилизация — микроорганизмдердің барлық түрлерін (бактериялар, саңырауқұлақтар, споралар) толық жою процесі.

Антибиотик — микроорганизмдердің өсуін тежейтін немесе жоятын биологиялық немесе синтетикалық зат.

Микробиологиялық егу — микроорганизмдерді қоректік ортаға көшіру арқылы өсіру әдісі.

Агар-агар — микроорганизмдерді өсіруде қоректік орталарды қатайту үшін қолданылатын полисахарид.

Колбалар — микроорганизмдерді сұйық ортада өсіруге арналған зертханалық шыны ыдыстар.

Пробиркалар — аз көлемдегі сұйық немесе қатты орталарда микроорганизмдерді өсіруге арналған шыны ыдыстар.

Аликвота — зерттелетін сұйықтықтың белгілі бір дәл өлшенген бөлігі.

BG-11 ортасы — цианобактерияларды өсіруге арналған стандартты минералды қоректік орта.

Заррук ортасы — фототрофты микроорганизмдерді, соның ішінде цианобактерияларды культивирлеуге арналған қоректік орта.

Жарық қарқындылығы — бірлік ауданға түсетін жарық энергиясының мөлшері.

Кох әдісі — микроорганизмдердің таза дақылын алу үшін қолданылатын классикалық микробиологиялық әдіс.

Қоректік орта — микроорганизмдердің өсуі мен дамуына қажетті заттарды қамтитын орта.

Люминостат — жарық қарқындылығы мен фотопериодын тұрақты ұстап тұратын культивирлеу құрылғысы.

Микроскоп — микроорганизмдер мен жасушаларды үлкейтіп бақылауға арналған оптикалық құрал.

ПАЙДАЛАНЫЛҒАН ӘДЕБИЕТТЕР ТІЗІМІ

1 Journal of Experimental Botany. Cyanobacteria–bryophyte symbioses // Journal of Experimental Botany. – 2008. – Vol. 59, Issue 5. – P. 1047–1058.

2 Moore K. R., Magnabosco C., Momper L., Gold D. A., Bosak T., Fournier G. P. An expanded ribosomal phylogeny of cyanobacteria supports a deep placement of plastids // Frontiers in Microbiology. – 2019. – Vol. 10. – P. 1–14.

3 Whitton B. A. Soil and rice-fields. Their diversity in time and space // The Ecology of Cyanobacteria. – 2000. – Vol. 66. – P. 233–255.

4 Irisarri P., Gonnet S., Monza J. Cyanobacteria in Uruguayan rice fields: Diversity, nitrogen fixing ability and tolerance to herbicides and combined nitrogen // Journal of Biotechnology. – 2001. – Vol. 91. – P. 95–103.

5 Усербаева А. А., Бейсембек А. Е., Косалбаев Б. Д., Рысбекулы К., Болатхан К., Какимова А. Б., Заядан Б. К. Влияние различных концентраций CO_2 на продуктивность штаммов цианобактерий // Вестник КазНУ. Серия экологическая. – 2019. – № 4(61). – С. 72–79.

6 Greenbaum E. Biophotolysis of water: the light saturation curves // Photobiochemistry and Photobiophysics. – 1984. – Vol. 8. – P. 323–332.

7 Hug L. A., Baker B. J., Anantharaman K., Brown C. T., Probst A. J., Castelle C. J., Butterfield C. N., Hernsdorf A. W., Amano Y., Ise K. et al. A new view of the tree of life // Nature Microbiology. – 2016. – Vol. 1. – Article No. 16048.

8 Bolatkhan K., Kossalbayev B. D., Zayadan B. K., Tomo T., Veziroglu T. N., Allakhverdiev S. I. Hydrogen production from phototrophic microorganisms: Reality and perspectives // International Journal of Hydrogen Energy. – 2019. – Vol. 44, No. 12. – P. 5799–5811.

9 Sinetova M., Bolatkhan K., Sidorov R., Mironov K. S., Skrypnik A. N., Kupriyanova E., Zayadan B., Shumskaya M., Los D. Polyphasic characterization of the thermotolerant cyanobacterium Desertifilum sp. IPPAS B-1220 // FEMS Microbiology Letters. – 2017. – Vol. 364. – P. 1–8.

10 Orme-Johnson W. H. Nitrogenase structure: where to now // Science. – 1992. – Vol. 257. – P. 1639–1640.

11 Schmitz O., Boison G., Bothe H. Quantitative analysis of expression of two circadian clock-controlled gene clusters coding for the bidirectional hydrogenase in the cyanobacterium Synechococcus sp. PCC 7942 // Molecular Microbiology. – 2001. – Vol. 41. – P. 1409–1417.

12 Böhme H. Regulation of nitrogen fixation in heterocyst-forming cyanobacteria // Trends in Plant Science. – 1998. – Vol. 3. – P. 346–351.

13 Cournac L., Guedeney G., Peltier G., Vignais P. M. Sustained photoevolution of molecular hydrogen in a mutant of Synechocystis sp. strain PCC 6803 deficient in the type I NADPH-dehydrogenase complex // Journal of Bacteriology. – 2004. – Vol. 186. – P. 1737–1746.

14 Музафаров А. М., Эргашев А. Э., Халилова С. Х. Определитель синезеленых водорослей Средней Азии. – Ташкент: Фан, 1987. – Т. 1. – 405 с.

15 Кузяхметов Г. Г., Дубовик И. Е. Методы изучения почвенных водорослей: учебное пособие. – Уфа: Башкирский государственный университет, 2001. – 60 с.

16 Hallenbeck P. C., Sagir E., Zampol Lazaro C. Photosynthesis and hydrogen from photosynthetic microorganisms // International Journal of Hydrogen Energy. – 2012. – Vol. 37. – P. 17638–17648.

17 Кузяхметов Г. Г., Дубовик И. Е. Методы изучения почвенных водорослей: учебное пособие. – Уфа: Башкирский государственный университет, 2001. – 60 с.

18 Эргашев А. Э. Определитель протококковых водорослей Средней Азии. – Ташкент, 1979. – Кн. 1. – 344 с.

19 Голлербах М. М., Косинская Е. К., Полянский В. И. Определитель пресноводных водорослей СССР. Диатомовые водоросли. – Москва, 1951. – Вып. 4. – 644 с.

20 Bozieva A. M., Khasimov M. Kh. New cyanobacterial strains for biohydrogen production // Applied Biochemistry and Microbiology. – 2016. – Vol. 52. – P. 1–7.

21 Sadvakasova A. K., Kossalbayev B. D., Zayadan B. K., Bolatkhan K., Alwasel S., Najafpour M. M., Tomo T., Allakhverdiev S. I. Bioprocesses of hydrogen production by cyanobacteria cells and possible ways to increase their productivity // Renewable and Sustainable Energy Reviews. – 2020. – Vol. 133. – Article 110054.

22 Kajiyama S., Kanazaki H., Kawazu K., Kobayashi A. Nostifungicidine, an antifungal lipopeptide from the field-grown terrestrial blue-green algae Nostoc commune // Tetrahedron Letters. – 1998. – Vol. 39. – P. 3737–3740.

23 Abdel-Basset R., Bader K. P. Characterization of hydrogen photoevolution in Oscillatoria chalybea detected by means of mass spectrometry // Zeitschrift für Naturforschung C. – 1997. – Vol. 52. – P. 775–781.

24 Zayadan B. K., Bolatkhan K., Akmukhanova N. R., Sadvakasova A. K., Sinetova M. A., Los D. A. Isolation and characterization of toxic cyanobacteria from different natural sources // Applied Biochemistry and Microbiology. – 2019. – Vol. 53. – P. 754–760.

25 Orme-Johnson W. H. Nitrogenase structure: where to now // Science. – 1992. – Vol. 257. – P. 1639–1640.

26 Böhme H. Regulation of nitrogen fixation in heterocyst-forming cyanobacteria // Trends in Plant Science. – 1998. – Vol. 3. – P. 346–351.

27 Thiel T., Pratte B. Effect on heterocyst differentiation of nitrogen fixation in vegetative cells of the cyanobacterium Anabaena variabilis ATCC 29413 // Journal of Bacteriology. – 2001. – Vol. 183. – P. 280–286.

28 Kentemich T., Danneberg G., Hundeshagen B., Bothe H. Evidence for the occurrence of the alternative, vanadium-containing nitrogenase in the cyanobacterium Anabaena variabilis // FEMS Microbiology Letters. – 1988. – Vol. 51. – P. 19–24.

29 Thiel T. Characterization of genes for an alternative nitrogenase in the cyanobacterium Anabaena variabilis // Journal of Bacteriology. – 1993. – Vol. 175. – P. 6276–6286.

30 Bishop P. E., Premakumar R. Alternative nitrogen fixation systems // Biological nitrogen fixation / Eds. G. Stacey, R. H. Burris, H. J. Evans. – New York: Chapman & Hall, 1992. – P. 736–762.

31 Paschos A., Glass R. S., Böck A. Carbamoylphosphate requirement for synthesis of the active center of [NiFe]-hydrogenases // FEBS Letters. – 2001. – Vol. 488. – P. 9–12.

32 Garg R. P., Menon A. L., Jacobs K., Robson R. M., Robson R. L. The hypE gene completes the gene cluster for H_2-oxidation in Azotobacter vinelandii // Journal of Molecular Biology. – 1994. – Vol. 236. – P. 390–396.

33 Vignais P. M., Billoud B., Meyer J. Classification and phylogeny of hydrogenases // FEMS Microbiology Reviews. – 2001. – Vol. 25. – P. 455–501.

34 Albracht S. P. J. Nickel hydrogenases: in search of the active site // Biochimica et Biophysica Acta. – 1994. – Vol. 1188. – P. 167–204.

35 Schmitz O., Boison G., Hilscher R., Hundeshagen B., Zimmer W., Lottspeich F., Bothe H. Molecular biological analysis of a bidirectional hydrogenase from cyanobacteria // European Journal of Biochemistry. – 1995. – Vol. 233. – P. 266–276.

36 Cournac L., Guedeney G., Peltier G., Vignais P. M. Sustained photoevolution of molecular hydrogen in a mutant of Synechocystis sp. strain PCC 6803 deficient in the type I NADPH-dehydrogenase complex // Journal of Bacteriology. – 2004. – Vol. 186. – P. 1737–1746.

37 Музафаров А. М., Эргашев А. Э., Халилова С. Х. Определитель синезелёных водорослей Средней Азии. – Ташкент: Фан, 1987. – Т. 1. – 405 с.

38 Эргашев А. Э. Определитель протококковых водорослей Средней Азии. – Ташкент, 1979. – Кн. 1. – 344 с.

39 Голлербах М. М., Косинская Е. К., Полянский В. И. Определитель пресноводных водорослей СССР. Диатомовые водоросли. – Москва, 1951. – Вып. 4. – 644 с.

40 Кузяхметов Г. Г., Дубовик И. Е. Методы изучения почвенных водорослей: учебное пособие. – Уфа: Башкирский государственный университет, 2001. – 60 с.

41 — Кузяхметов Г. Г., Дубовик И. Е. Методы изучения почвенных водорослей: учебное пособие. – Уфа: Башкирский государственный университет, 2001. – 608 с.

42 Gutthann F., Egert M., Marques A., Appel J. Inhibition of respiration and nitrate assimilation enhances photohydrogen evolution under low oxygen concentrations in Synechocystis sp. PCC 6803 // Biochimica et Biophysica Acta – Bioenergetics. – 2007. – Vol. 1767. – P. 161–169.

43 Batyrova K., Hallenbeck P. Hydrogen production by a Chlamydomonas reinhardtii strain with inducible expression of photosystem II // International Journal of Molecular Sciences. – 2017. – Vol. 18. – Article No. 67.

44 Capone D. G., Burns J. A., Montoya J. P., Subramaniam A., Mahaffey A. C., Gunderson T., Michaels A. F., Carpenter E. J. Nitrogen fixation by Trichodesmium spp.: an important source of new nitrogen to the tropical and subtropical North Atlantic Ocean // Global Biogeochemical Cycles. – 2005. – Vol. 19. – GB2024.

45 Hihara Y., Sonoike K., Kanehisa M., Ikeuchi M. DNA microarray analysis of redox-responsive genes in the genome of the cyanobacterium Synechocystis sp. PCC 6803 // Journal of Bacteriology. – 2003. – Vol. 185. – P. 1719–1725.

46 Tian X., Liao Q., Zhu X., Wang Y., Zhang P., Li J. Characteristics of a biofilm photobioreactor as applied to photo-hydrogen production // Bioresource Technology. – 2010. – Vol. 101. – P. 977–983.

47 Sun Y., He J., Yang G., Sun G., Sage V. A review of the enhancement of bio-hydrogen generation by chemical addition // Catalysts. – 2019. – Vol. 9. – Article No. 353.

48 Rozendal R. A., Hamelers H. V. M., Euverink G. J. W., Metz S. J., Buisman C. J. N. Principle and perspectives of hydrogen production through biocatalyzed electrolysis // International Journal of Hydrogen Energy. – 2006. – Vol. 31. – P. 1632–1640.

"Қ.И.СӘТБАЕВ атындағы ҚАЗАҚ ҰЛТТЫҚ ЗЕРТТЕУ ТЕХНИКАЛЫҚ УНИВЕРСИТЕТІ" КОММЕРЦИЯЛЫҚ ЕМЕС АКЦИОНЕРЛІК ҚОҒАМЫ

ҒЫЛЫМИ ЖЕТЕКШІНІҢ ПІКІРІ

ДИССЕРТАЦИЯЛЫҚ ЖҰМЫС

Есмурзаева Әсия Сұлтанқызы

7М05105 – «Биотехнология»

Тақырыбы: «Балқаш көлінен сутегін өндіретін цианобактерия штаммдарын іздеу, іріктеу және олардың өсіру жағдайларын оңтайландыру»

Ұсынылып отырған магистрлік жұмыс қазіргі заманғы биотехнологияның өзекті бағыты — фотосинтездеуші микроорганизмдердің көмегімен жаңартылатын энергия көздерін алу мәселесіне арналған. Автор Балқаш көлінің өзіндік су экожүйесін зерттей отырып, сутегі өндіруге бейім табиғи штамдарды анықтау және олардың биотехнологиялық әлеуетін арттыру бойынша ауқымды ізденіс жұмыстарын жүргізген.

Диссертацияның ғылыми құндылығы Балқаш көлінен оқшауланған цианобактериялардың физиологиялық ерекшеліктерін терең талдауында жатыр. Магистрант зерттеу барысында микробиологиялық және биотехнологиялық әдістерді ұштастыра отырып, сутегінің түзілуіне әсер ететін негізгі факторларды (интенсивті жарық, температуралық режим, қоректік ортаның құрамы) эксперименттік жолмен негіздеді. Нәтижесінде сутегін ең жоғары деңгейде бөлетін тиімді штамдар іріктеліп алынды.

Зерттеу жұмысының нәтижелері теориялық тұрғыдан ғана емес, практикалық маңыздылығымен де ерекшеленеді. Алынған деректерді жаңартылатын энергия көздерін дамытуға бағытталған биотехнологиялық жобаларда, сондай-ақ жоғары оқу орындарының биотехнология және экология бағытындағы оқу үдерісінде пайдалануға болады. Жұмыс құрылымдық жағынан жүйелі, ғылыми тілде сауатты жазылған және қойылған мақсат пен міндеттер толық көлемде орындалған.

Магистрант Есмурзаева Әсия Сұлтанқызы жұмысты орындау барысында өзін кәсіби деңгейдегі зерттеуші ретінде көрсетті. Диссертациялық жұмыс барлық талаптарға сай келеді және оны «98% - өте жоғары» деп бағалай отырып, 7М05101 – Биотехнология мамандығы бойынша техникалық ғылымдар магистрі дәрежесін беруге ұсынамын.

Ғылыми жетекші
қауымд. проф., Доктор PhD
Какимова А.Б.

«15» қаңтар 2026 ж.

"Қ.И.СӘТБАЕВ атындағы ҚАЗАҚ ҰЛТТЫҚ ЗЕРТТЕУ ТЕХНИКАЛЫҚ УНИВЕРСИТЕТІ" КОММЕРЦИЯЛЫҚ ЕМЕС АКЦИОНЕРЛІК ҚОҒАМЫ

СЫН-ПІКІР

ДИССЕРТАЦИЯЛЫҚ ЖҰМЫС

Есмурзаева Әсия Сұлтанқызы

7М05105 – «Биотехнология»

Тақырыбы: «Балқаш көлінен сутегін өндіретін цианобактерия штаммдарын іздеу, іріктеу және олардың өсіру жағдайларын оңтайландыру»

Орындалды:
а) графикалық бөлім 1 кесте, 10 суреттен тұрады
б) түсініктеме қағаз 52 беттен тұрады.

ДИССЕРТАЦИЯЛЫҚ ЖҰМЫС БОЙЫНША ЕСКЕРТУЛЕР

Ұсынылып отырған магистрлік диссертациялық жұмыс Балқаш көлінің су экожүйесінен сутегін өндіру қабілетіне ие цианобактерия штаммдарын іздеу, іріктеу және олардың өсіру жағдайларын оңтайландыру мәселелеріне арналған. Зерттеу тақырыбы жаңартылатын энергия көздерін дамыту және экологиялық таза биосутегі өндіру технологияларын жетілдіру тұрғысынан өзекті болып табылады.

Диссертациялық жұмыстың мақсаты – Балқаш көлінен бөлініп алынған цианобактерия штаммдарының сутегі өндіру әлеуетін анықтау, перспективалы штаммдарды іріктеу және олардың өсіру жағдайларының оңтайлы параметрлерін белгілеу.

Жұмыс кіріспеден, негізгі бөлімдерден, қорытындыдан және пайдаланылған әдебиеттер тізімінен тұрады. Кіріспеде зерттеу тақырыбының өзектілігі, мақсаты мен міндеттері нақты тұжырымдалған. Негізгі бөлімде цианобактерияларды зерттеуге қатысты отандық және шетелдік ғылыми еңбектерге шолу жасалып, эксперименттік зерттеу нәтижелері ұсынылған. Алынған нәтижелер сутегі өндіру қабілеті жоғары цианобактерия штаммдарын іріктеуге және олардың өсіру жағдайларын оңтайландыруға мүмкіндік береді. Жұмыстың практикалық маңыздылығы биосутегі өндіру технологияларын дамытуда және баламалы энергетика саласында қолдану мүмкіндігімен сипатталады.

Жұмысты бағалау

Жалпы алғанда, магистрлік диссертациялық жұмыс қойылған талаптарға толық сәйкес келеді, ғылыми стильде сауатты жазылған аяқталған ғылыми-зерттеу еңбегі болып табылады. Жұмысты қорғауға ұсынуға лайық. Авторға биотехнология мамандығы бойынша магистр академиялық дәрежесін беруге болады деп есептеймін.

Рецензент

б.ғ.к., қауымд. проф.,
әл-Фараби атындағы ҚазҰУ Биотехнология
кафедрасының проф. м.а.
_____ Н.Р. Акмуханова
«15» қаңтар 2026 ж.

StrikePlagiarism.com

SATBAYEV UNIVERSITY

Отчет не был оценен

Отчет подобия

Метаданные

Название организации	Подразделение
Satbayev University	**ИГиНГД**

Название

Балқаш көлінен сутегін өндіретін цианобактерия штаммдарын іздеу, іріктеу және олардың өсіру жағдайларын оңтайландыру

Автор	Научный руководитель / Эксперт
Есмурзаева А	**Гульзат Айткалиева**

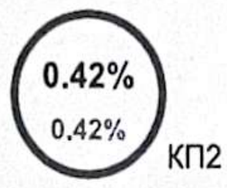
Количество слов	Количество символов	Дата отчета	Дата редактирования	Идентификатор документа
5924	**47608**	**1/19/2026**	**---**	**333135324**

Объем найденных подобий

КП-ия определяют, какой процент текста по отношению к общему объему текста был найден в различных источниках.. Обратите внимание!Высокие значения коэффициентов не означают плагиат. Отчет должен быть проанализирован экспертом.



КП1



КП2



КЦ

25

Длина фразы для коэффициента подобия 2

5924

Количество слов

47608

Количество символов

Тревога

В этом разделе вы найдете информацию, касающуюся текстовых искажений. Эти искажения в тексте могут говорить о ВОЗМОЖНЫХ манипуляциях в тексте. Искажения в тексте могут носить преднамеренный характер, но чаще, характер технических ошибок при конвертации документа и его сохранении, поэтому мы рекомендуем вам подходить к анализу этого модуля со всей долей ответственности. В случае возникновения вопросов, просим обращаться в нашу службу поддержки.

Замена букв		1
Интервалы	A→	0
Микропробелы	·	0
Белые знаки		0
Парафразы (SmartMarks)	a	9

Источники

Ниже представлен список источников. В этом списке представлены источники из различных баз данных. Цвет текста означает в каком источнике он был найден. Эти источники и значения Коэффициента Подобия не отражают прямого плагиата. Необходимо открыть каждый источник и проанализировать сожержание и правильность оформления источника.

new

10 самых длинных фраз — Цвет текста

#	НАЗВАНИЕ И АДРЕС ИСТОЧНИКА URL (НАЗВАНИЕ БАЗЫ)	КОЛИЧЕСТВО ИДЕНТИЧНЫХ СЛОВ (ФРАГМЕНТОВ)
1	Күріш алқаптарының топырақ үлгілерінен цианобактерия штамдарын бөліп алу және олардың морфолого-дақылдық қасиеттерін зерттеу [redacted] 5/4/2022 Kazakh National Agrarian University (КазНАИУ)	25 0.42 %

2	Күріш алқаптарының топырақ үлгілерінен цианобактерия штамдарын бөліп алу және олардың морфолого-дақылдық қасиеттерін зерттеу [redacted] 5/4/2022 Kazakh National Agrarian University (КазНАИУ)	18	0.30 %
3	Күріш алқаптарының топырақ үлгілерінен цианобактерия штамдарын бөліп алу және олардың морфолого-дақылдық қасиеттерін зерттеу [redacted] 5/4/2022 Kazakh National Agrarian University (КазНАИУ)	18	0.30 %
4	https://ouci.dntb.gov.ua/en/works/9GwEwaK9/	10	0.17 %
5	Күріш алқаптарының топырақ үлгілерінен цианобактерия штамдарын бөліп алу және олардың морфолого-дақылдық қасиеттерін зерттеу [redacted] 5/4/2022 Kazakh National Agrarian University (КазНАИУ)	10	0.17 %
6	Күріш алқаптарының топырақ үлгілерінен цианобактерия штамдарын бөліп алу және олардың морфолого-дақылдық қасиеттерін зерттеу [redacted] 5/4/2022 Kazakh National Agrarian University (КазНАИУ)	7	0.12 %
7	Күріш алқаптарының топырақ үлгілерінен цианобактерия штамдарын бөліп алу және олардың морфолого-дақылдық қасиеттерін зерттеу [redacted] 5/4/2022 Kazakh National Agrarian University (КазНАИУ)	7	0.12 %
8	Күріш алқаптарының топырақ үлгілерінен цианобактерия штамдарын бөліп алу және олардың морфолого-дақылдық қасиеттерін зерттеу [redacted] 5/4/2022 Kazakh National Agrarian University (КазНАИУ)	7	0.12 %
9	Күріш алқаптарының топырақ үлгілерінен цианобактерия штамдарын бөліп алу және олардың морфолого-дақылдық қасиеттерін зерттеу [redacted] 5/4/2022 Kazakh National Agrarian University (КазНАИУ)	5	0.08 %

База данных RefBooks (0.00 %)

#	НАЗВАНИЕ	КОЛИЧЕСТВО ИДЕНТИЧНЫХ СЛОВ (ФРАГМЕНТОВ)

Домашняя база данных (0.00 %)

#	НАЗВАНИЕ	КОЛИЧЕСТВО ИДЕНТИЧНЫХ СЛОВ (ФРАГМЕНТОВ)

Программа обмена базами данных (1.64 %)

#	НАЗВАНИЕ	КОЛИЧЕСТВО ИДЕНТИЧНЫХ СЛОВ (ФРАГМЕНТОВ)
1	Күріш алқаптарының топырақ үлгілерінен цианобактерия штамдарын бөліп алу және олардың морфолого-дақылдық қасиеттерін зерттеу [redacted] 5/4/2022 **Kazakh National Agrarian University (КазНАИУ)**	**97 (8) 1.64 %**

Интернет (0.17 %)

#	ИСТОЧНИК URL	КОЛИЧЕСТВО ИДЕНТИЧНЫХ СЛОВ (ФРАГМЕНТОВ)
2	https://ouci.dntb.gov.ua/en/works/9GwEwaK9/	10 (1) 0.17 %

Исключенные фрагменты

#	СОДЕРЖАНИЕ	КОЛИЧЕСТВО ИДЕНТИЧНЫХ СЛОВ (ФРАГМЕНТОВ)