

Какимова Ардақ Болатовнаның
8D05105 – «Биотехнология» мамандығы бойынша
фиолософия докторы дәрежесін (PhD) алуы диссертациясына
АҢДАТПА

«Сутегін өндіргіш цианобактерия штаммдарын сұрыптау және олардың өсіру жағдайын оптимизациялау»

Жұмыстың жалпы сипаттамасы: Зерттеу жұмысы әртүрлі су экожүйелерінен биоэнергетика үшін перспективті цианобактериялардың белсенді штамдарын бөліп алуға және зерттеуге арналған.

Зерттеу тақырыбының өзектілігі: Қазіргі уақытта қазба отындарының жетіспеушілігі және климаттың өзгеруінің салдары адамзатты баламалы энергия көздерін іздеуге итермелеуде. Көптеген артықшылықтарының арқасында биоотын дәстүрлі отынды алмастыра алатын негізгі энергия көзіне айнала алады. Биологиялық шикізатты биоотынға айналдыруды кеңінен жүзеге асыру арқылы адамзат табиғатқа экологиялық жүктемені азайтып, аумақтық және су объектілерінің ластануын, соның ішінде атмосфераға көмірқышқыл газының шығарылуын азайтады. Болашақта экологиялық таза және жаңартылатын энергия көзіне ең перспективті үміткер – сутегі. Сутегі жақын болашақта энергияның ең маңызды көзі бола алады және әлемдік проблема болып табылатын ауаның ластануын шешуге ықпал етуі мүмкін.

Биоэнергетиканың қазіргі заманғы бағыттарының бірі - қоршаған ортаны ластамай, сутегін өндіруге қабілетті объектілерді іздеу, сондай-ақ сутегінің жоғары шығымдылығын қамтамасыз ететін технологияларды әзірлеу. Фотосинтетикалық микроорганизмдер, соның ішінде метаболизмі жоғары цианобактериялар сутегін алудың биологиялық әдістерін қолдануда ерекше қызығушылық тудырып отыр. Цианобактерияларды потенциалды сутегі өндірушілері ретінде пайдалану маңызды және тиімді, өйткені олар күн энергиясын пайдаланып оттегі фотосинтезін жүргізе алатын және фотосинтез өнімдерін химиялық энергияға, атап айтқанда көмірсуларға айналдыра алатын жалғыз бактериялар.

Алайда, цианобактериялардың барлық штамдары сутегін өндіруде бірдей тиімді емес. Өсіру жағдайлары олардың өнімділігіне айтарлықтай әсер етеді. Сондықтан тиімді сутегі өндірушілері болып табылатын цианобактериялардың ықтимал штамдарын анықтау және сұрыптау, сондай-ақ олардың өсу жағдайларын оңтайландыру қажет.

Берілген зерттеу жұмысы биоэнергетикада жоғары әлеуетке ие микроорганизмдер штамдарының арсеналын кеңейтуге бағытталған. Микроорганизмдерге негізделген әр түрлі жаңартылатын таза энергия көздеріне көшу климаттың өзгеруінің жағымсыз әсерін азайтуға және тұрақты энергетикалық жүйеге көшуге ықпал етуі мүмкін. Зерттеу тақырыбы өзекті, өйткені ол маңызды ғылыми және әлеуметтік мәселені шешеді және кейіннен іс жүзінде қолдана отырып, жаңа іргелі білім алуға ықпал етеді.

Зерттеу жұмысының мақсаты: Әр түрлі экологиялық жүйелерден

сутегі өндіргіш цианобактериялардың жаңа штамдарын бөліп алу, сұрыптау және олардың өсіру жағдайларын оңтайландыру негізінде биосутегін алудың зертханалық регламентін әзірлеу.

Қойылған мақсатқа жету үшін зерттеудің негізгі міндеттері:

1. Әр түрлі экожүйелерден цианобактериялардың аксеникалық дақылдарын бөліп алу және идентификациялау;
2. Цианобактериялардың жаңа және коллекциялық штамдарының нитрогеназа белсенділігін анықтау;
3. Цианобактериялардың жаңадан бөлініп алынған және коллекциялық штамдарының биосутегін өндірісіндегі потенциалын анықтау;
4. Сутегі шығымдылығын арттыру үшін цианобактериялардың белсенді штамдарының өсу жағдайларын оңтайландыру;
5. Цианобактериялардың белсенді штамдары негізінде биосутегін алудың зертханалық регламентін әзірлеу.

Зерттеу объектілері мен материалдары: Зерттеу жұмысының объектісі ретінде *Desertifilum* sp. IPPAS B-1220 коллекциялық штаммы (ССМКазНУ) және Қазақстан Республикасының Қызылорда, Түркістан және Алматы облыстарының әртүрлі экожүйелерінен оқшауланған *Anabaena variabilis* A-1, *Anabaena variabilis* A-2, *Synechocystis* sp S-1, *Oscillatoria* sp O-1, *Phormidium tenue* P-1, *Nostoc commune* N-1, *Nostoc calcicola* N-2, *Oscillatoria* sp O-2 сияқты цианобактериялар дақылдары пайдаланылды.

Зерттеу әдістері: Жұмыста микробиологиялық, альгологиялық, биотехнологиялық, молекулалық-генетикалық, физикалық, химиялық және статистикалық әдістер қолданылды.

Зерттеудің ғылыми жаңалығы:

Алғаш рет Қазақстан Республикасы Түркістан облысында орналасқан Қызылкөл көлінің, Арыс және Оқ өзендерінің альгологиялық құрамы зерттелінді.

Алғаш рет Қызылорда, Түркістан, Алматы облыстарының әртүрлі экожүйелерінен цианобактериялардың 8 аксеникалық штамы бөлініп алынып, идентификацияланды және олардың морфологиялық-дақылдық қасиеттері зерттелді.

Гетероцисталы *Anabaena variabilis* A-1 цианобактерия штамында нитрогеназа ферментінің жоғары белсенділігі көрсетілді.

Алғаш рет гетероцисталы емес *Synechocystis* sp. S-1 цианобактерия штаммы жарықта сутегінің белсенді өндірушісі екені анықталды.

Алғаш рет қараңғыда гетероцисталы *Anabaena variabilis* A-1 цианобактерия штамының сутегін бөлу қабілеті жоғары болды және зерттелінген цианобактериялардың басқа штамдарымен салыстырғанда ең жоғары көрсеткішке ие болғандығы анықталды.

BG-11 қоректік ортасына 25 ммоль НЕРЕС және 50 ммоль натрий бикарбонатын қосу гетероцисталы *Anabaena variabilis* A-1 штамында биосутегінің (H₂) бөлінуін арттыратыны байқалды.

Гетероцисталы цианобактерия *Anabaena variabilis* A-1 штаммының сутегін фотоөндірісі N және S тапшылығының комбинациясын (BG₀-11-S)

пайдаланған кезде 9,82 мкмоль H_2 /мг хл а/сағ тең болып, сутегінің максималды өнімділігін оңтайландыру барысында басқа өзгертілген орталармен салыстырғанда ең қолайлы болып BG₀-11-S ортасы таңдалынып алынды.

Сұрыпталып алынған гетероцисталы *Anabaena variabilis* A-1 цианобактерия штаммы негізінде сутегін алудың зертханалық регламенті әзірленді.

Зерттеудің теориялық және практикалық маңыздылығы:

Әр түрлі экожүйелерден бөлініп алынған және фотобиотехнология зертханасының "ССМКазНУ" коллекциясынан іріктелген цианобактериялардың бірнеше штамдарының нитрогеназа және гидрогеназа ферменттерінің белсенділігіне баға берілді, олардың биосутегін өндіру қабілеті анықталды.

Биомассасын биоэнергетикада қолдануға болатын биосутегін өндірушісі - гетероцисталы *Anabaena variabilis* A-1 цианобактериясының штаммы алынды.

Anabaena variabilis A-2, *Oscillatoria* sp. O-1, *Synechocystis* sp. S-1 және *Phormidium tenue* P-1 сынды цианобактериялардың бөлініп алынған штамдары биотехнологияда одан әрі пайдалану үшін фототрофты микроорганизмдер коллекциясына енгізілді.

Гетероцисталы цианобактерия *Anabaena variabilis* A-1 штаммы РМҚК "Республикалық микроорганизмдер коллекциясына" (Астана қ.) 20.10.2021 ж. РКМ0960 нөмірімен депонирленді.

Биотын өндіру үшін шикізат ретінде пайдаланылатын микроорганизмдер штамдарының арсеналын кеңейту мақсатында «Шикізат ретінде биотын алуға арналған гетероцисталы цианобактерия штаммы *Anabaena variabilis* A-1» пайдалы моделіне №8167, 28.02.2023 патент алынды.

Қорғауға шығарылған негізгі қағидалар:

Қызылорда, Түркістан, Алматы облыстарының әртүрлі экожүйелерінен бөлініп алынған 5 аксеникалық цианобактерия дақылдары *Anabaena variabilis* A-1, *Anabaena variabilis* A-2, *Oscillatoria* sp. O-1, *Synechocystis* sp. S-1 және *Phormidium tenue* P-1 штамдары ретінде идентификацияланды.

Гетероцисталы *Anabaena variabilis* A-1 штаммында этилен өндірісінің жоғары деңгейі 15,2 мкмоль этилен/мг құрғақ салмақ/сағ құрады, бұл өз кезегінде осы штаммдағы нитрогеназа ферментінің жоғары белсенділігін көрсетті.

Гетероцисталы *Anabaena variabilis* A-1 штаммы қараңғыда жарыққа қарағанда 3,7 есе және *Phormidium tenue* P-1 штаммына қарағанда 43 есе көп сутегі шығаруға қабілетті екендігі анықталды.

Гетероцисталы емес *Synechocystis* sp S-1 штаммы жарықтағы белсенді сутегі өндірушісі болып табылады.

Бейтарап ортаға (рН 7) 50 ммоль $NaHCO_3$ + 25 ммоль HEPES қосу гетероцисталы *Anabaena variabilis* A-1 штаммымен сутегін бөлінуінің артуына әкеледі.

Азот (N) және күкірт (S) тапшылығының комбинациясын қолдану

гетероцисталы *Anabaena variabilis* A-1 штаммының сутегі фотоөндірісін арттырды. BG₀-11-S ортасындағы сутегінің өнімділігі BG-11- S ортасымен салыстырғанда 3 есе жоғары болды.

Зерттеудің негізгі қорытындылары:

1. Түркістан және Алматы облыстарының су көздерінің альгофлора құрамы зерттелініп, Ұйғыр ауданының ыстық су көздерінен цианобактериялардың 15 түрі, Қызылкөл көл, Арыс және Оқ өзендерінен цианобактериялардың 31 түрі, Алматы мен Қызылорда облыстарының күріш алқаптарынан цианобактериялардың 19 түрі анықталды.

2. Жинақталған дақылдардың 17 изолятынан 8 аксеникалық цианобактерия дақылдары бөлініп алынды және дақылдық-морфологиялық әрі физиологиялық белгілері бойынша *Nostoc* N-1, *Oscillatoria* O-2, *Synechococcus* S-1, *Phormidium* P-1, *Nostoc* N-2, *Anabaena* A-1, *Oscillatoria* O-1 және *Anabaena* A-2 ретінде анықталды. Жаңадан бөлініп алынған цианобактериялардың штамдары 16s рРНҚ гендерінің молекулалық-генетикалық талдауы арқылы идентификациланып, келесідей атау берілді: *Anabaena variabilis* A-2, *Anabaena variabilis* A-1, *Oscillatoria* sp. O-1, *Synechococcus* sp. S-1 және *Phormidium tenue* P-1.

3. Гетероцисталы цианобактерия *Anabaena variabilis* A-1 штаммының этилен тотығуының жоғары деңгейі 15,2 мкмоль этилен/мг құрғақ салмақ/сағ құрайтындығы байқалынды, бұл осы дақылдағы нитрогеназа ферментінің жоғары белсенділігінің көрсеткіші болып табылады.

4. Скрининг кезінде таңдалып алынған гетероцисталы *Anabaena variabilis* A-1 цианобактерия штаммының өнімділігі қараңғыда 8,67 мкмоль H₂/мг хл а/сағ-қа тең болып, осы штаммның жарық жағдайында сутегін шығару қабілетінен 17,2 есе жоғары екендігі анықталды. Гетероцисталы *Anabaena variabilis* A-1 штамы сутегін белсенді түрде бөліп шығаратыны және биоэнергетикада биоотын алу көзі ретінде пайдаланылуы мүмкін екендігі анықталды. Гетероцисталы *Anabaena variabilis* A-1 штамы "Республикалық микроорганизмдер коллекциясы" РМК (Астана қ.) 20.10.2021 ж. РКМ0960 нөмірімен депонирленді.

5. Гетероцистасыз цианобактерия *Synechococcus* sp. S-1 штаммы 2,35 мкмоль H₂/мг хл а/сағ көрсеткішімен жарықтағы ең белсенді сутегін өндірушісі екендігі анықталды, бірақ бұл қараңғыдағы гетероцисталы *Anabaena variabilis* A-1 нәтижесінен 3 есе төмен екендігі байқалды.

6. Гетероцисталы цианобактерия *Anabaena variabilis* A-1 штаммының сутегін фотоөндірісі N және S тапшылығының комбинациясын (BG₀-11-S) пайдаланған кезде 9,82 мкмоль H₂/мг хл а/сағ тең болып, BG-11-S ортасына қарағанда 3 есе жоғары нәтиже көрсетті. Сутегінің максималды өнімділігін оңтайландыру барысында басқа өзгертілген орталармен салыстырғанда ең қолайлы болып BG₀-11-S ортасы таңдалынып алынды.

7. Цианобактериялардың таңдалып алынған *Anabaena variabilis* A-1 штаммы негізінде биосутегін алудың зертханалық регламенті әзірленді. Алынған нәтижелер негізінде биоотын өндіру үшін шикізат ретінде пайдаланылатын микроорганизмдер штамдарының арсеналын кеңейту

мақсатында «Шикізат ретінде биоотын алуға арналған гетероцисталы цианобактерия штаммы *Anabaena variabilis* A-1» № 8167, 28.02.2023 пайдалы моделіне патент алынды.

Диссертацияда сипатталған нәтижелерге автордың қосқан үлесі: Зерттелетін мәселеге арналған әдеби деректерді талдау, Зерттеудің мақсаты мен міндеттерін қою, эксперименттік зерттеулер жүргізу, алынған нәтижелерді талдау және статистикалық өңдеу, диссертациялық жұмысты баяндауды автор өз бетінше орындады.

Жұмыстың мемлекеттік бағдарламалар жоспарымен байланыстылығы: Диссертациялық жұмыс АР08052481 «Микробалдырлардың белсенді штамдары негізінде биодизель өндірісінің технологиясын жасау» (2020-2022 жж.) және АР09260785 «Биоотын өндіру үшін цианобактериялардың перспективалы штамдары негізінде биосутегін алу технологиясын әзірлеу» (2021-2023 жж.) жобаларының шеңберінде орындалды.

Зерттеулерді апробациялау: Зерттеу нәтижелері және диссертациялық жұмыстың негізгі қағидалары төмендегідей халықаралық ғылыми конференциялар мен симпозиумдарда баяндалды және талқыланды:

1. Студенттер мен жас ғалымдардың «Фараби әлемі» атты халықаралық ғылыми конференциясы, 6-9 сәуір 2020 жыл, Алматы, Қазақстан;

2. Цианобактериялар биологиясы бойынша 11-ші Еуропалық семинар (11th European Workshop on the Biology of Cyanobacteria) 7-9 қыркүйек 2020 жыл, Порту, Португалия;

3. «Aspects and innovations of environmental biotechnology and bioenergy» атты Халықаралық ғылыми-практикалық конференциясы, 12-13 ақпан 2021 жыл, Алматы, Қазақстан

4. "Еуразияның биоалуантүрлілігі бойынша 5-ші симпозиум (Symposium on EuroAsian Biodiversity (SEAB-2021))" 1-3 шілде 2021 жыл, Алматы, Қазақстан, Мугла, Түркия.

5. «Фотосинтез және тұрақты даму үшін сутегі энергетикасын зерттеу» атты 11-ші халықаралық конференция (ICPRS 2023) 3-9 шілде 2023, Стамбул Түркия.

Жарияланымдар: Диссертацияның негізгі құрамы 13 басылып шығарылған жұмыстарда көрсетілген, олардың 4 мақала, ҚР білім және ғылым саласын бақылау бойынша Комитет тізіміндегі республикалық ғылыми журналдарда, 1-ші кварталда 2 ғылыми мақалалар және халықаралық конференцияларда 6 тезис жарияланды. Зерттеу нәтижелері бойынша №8167, 28.02.2023 пайдалы модельге патент алынды.

Диссертация құрылымы: Диссертациялық жұмыс 117 компьютерлік мәтіннен және белгілер мен қысқартылған сөздерден, кіріспе, әдебиетке шолу, зерттеу материалдары мен әдістері, зерттеу нәтижелері және оларды талқылау, қорытынды және 241 пайдаланылған әдебиеттерден тұрады. Жұмыстың көлеміне 5 кесте, 43 сурет, 1 қосымша бет кіреді.

Диссертация биоэнергетикада қолдану үшін әртүрлі экожүйелерден

цианобактериялардың белсенді штамдарын бөліп алуға арналған.

Әр түрлі су экожүйелерінен бактериологиялық таза *Anabaena variabilis* A-1, *Anabaena variabilis* A-2, *Synechocystis sp* S-1, *Oscillatoria sp* O-1, *Phormidium tenue* P-1, *Nostoc commune* N-1, *Nostoc calcicola* N-2, *Oscillatoria sp* O-2 цианобактерия дақылдары бөлініп алынды.

Гетероцисталы цианобактерия *Anabaena variabilis* A-1 штаммы биоэнергетикада қолданылатын биоотын алу үшін шикізат ретінде пайдаланылуы мүмкін сутегінің белсенді өндірушісі ретінде таңдалды және сутегі шығымдылығын арттыру үшін оңтайландыру жұмыстары жүргізілді.