

Г. Өнерхан<sup>1</sup>, Б.К. Заядан<sup>2</sup>, С. Билал

**ЗЕРЕНДІ КӨЛІНЕН АЛЫНҒАН СУ ҮЛГІЛЕРІНЕ *CHLORELLA SP-3K* ШТАМЫН ӨСІРУ  
АРҚЫЛЫ БИОТЕСТ ЖҮРГІЗГЕН НӘТИЖЕЛЕР**

(<sup>1</sup> Ш.Ш. Уәлиханов атындағы Көкшетау мемлекеттік университеті,  
<sup>2</sup> Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті)

*Көкшетау өңірі көлдерінің су экожүйелерінен бөлініп алынған микробалдырлардың штамдарынан, табиғи суларда тез өсетін және ластанған суларды тазалау қабілеті жоғары *Chlorella sp-3K* шамы сұрыптып алынып, осы штамм көмегімен Зеренді көл суына биотестілеу жүргізілді. Биотестілеу нәтижесінде Зеренді көл суында *Chlorella sp-3K* шамы клеткалар саны  $16,8 \times 10^6 \pm 0,5$ -ке дейін өсіп, орташа улылықты көрсетті.*

Табиғи суларды тазалаудың бірнеше әдістері бар, олар – механикалық, физикалық және биологиялық әдістер. Соның ішінде ең тиімдісі биологиялық әдіс болып есептеледі. Бірақ та биологиялық әдіс қазіргі уақытқа дейін бактериялар негізінде жүріп келеді. Сондай-ақ тазалау негізінде балдырлар мен жоғары сатыдағы өсімдіктердің рөлі зор. Соның ішінде балдырлармен тиімді тазалау қолға алынып жатыр. Олар автотрофты организмдер ретінде фотосинтез кезінде су ортасындағы қоспалардың минералдануын жылдамдатады [1].

Көптеген балдырлар мен су макрофиттері тек минералдық заттармен ғана емес, сонымен қатар жай органикалық қосылыстармен де қоректенеді. Олар белсенді түрде азот ионын, фосфор мен басқа да биогенді заттарды сіңіреді. Құрамында 40-50 мг/л азоты бар қоректік ерітіндідегі хлорелла мен сценедесмус 5-7 тәулік ішінде басқа бактерияларды толығымен жояды екен. Протококты балдырлар мен көптеген жоғары сатыдағы өсімдіктердің бактериоциттік қасиеті бар. Оларды ағын суға қосқанда жұқпалы микроорганизмдер жойылады. Ал хлорелла мен сценедесмустың антибактериялық қасиеті жоғары, олар тырысқақ, оба, туберкулез, ішек және т.б. ауру туғызатын микробтарға кері әсері бар [2,3].

Балдырлардың биомассасымен байытылған ағын суларды жер суғаруға пайдаланады. Хлорелла, сценедесмус, анкистродесмус және т.б. протококты балдырлар ауыл шаруашылық өсімдіктеріне бағалы биостимулятор болып табылады. Олар жерді витаминдермен, амин қышқылдарымен байытады және ондағы органикалық заттардың құрамын жоғарылатады. Хлорелла мен сценедесмус және т.б. балдырлардың суспензиясын ретімен пайдаланып, жерді суарып отырса, күріш, жуа және мақта өсімдігі (20-25 пайызға) және т.б. ауыл шаруашылық дақылдарының өнімділігі жоғарылайды [4,5,6].

Табиғи және жасанды суайдындарына улы заттардың түсуінен экожүйе бұзылу процестерге ұшырайды. Экотоксиканттар немесе улы заттарға ауыр металл қосылыстары (сынап, қалайы, мыс, мырыш, қорғасын және хром металдары), хлорорганикалық, күкіртті органикалық заттар, пестицидтер, мұнай және мұнай өнімдері, синтездік белсенді заттар, қышқылдар, фенолдар және т.б. қосылыстар жатады [3].

Қазіргі кезде суайдындарының улылығын жедел анықтайтын тәсіл ретінде биотестілеу әдістемесі, яғни улы заттардың зияндылық дәрежесін көрсететін биологиялық тест-организмдер қолданылады. Зертханалық тәжірибе жағдайындағы судың сапасын анықтауда тест-организмдердің тіршілігі, көбею жылдамдығы, тіршілік процестерінің қарқындылығы (тыныс алу, асқорыту, фотосинтез) қимыл әрекеттік реакциялары сияқты көрсеткіштер есепке алынады. Бұл тәжірибелер улылығы жоғары, тез әсер ететін химиялық заттарды анықтауға бағытталған [7].

Тест-организмдерді таңдауда бірнеше шарттар орындалуы тиіс. Олардың көлемі өте ірі емес, өсуі күрделі емес, тіршілік циклі қысқа және улы заттарға сезімталдығы жоғары және орташа деңгейде болуы қажет [8].

**ЗЕРТТЕУ ОБЪЕКТІЛЕРІ МЕН ӘДІСТЕРІ**

Биологиялық модельді нысандарды пайдалану нәтижесінде гидросфераға биотест жүргізу биология ғылымында кеңінен таралған тәсілдердің бірі. Әр түрлі химиялық қосылыстардың уыттылығын бағалауда, су ортасын биотестілеу процесінде осы уытты заттардың әсерін сезіне алатын тірі организмдер қолданылады. Соңғы жылдары су экожүйелеріндегі антропогендік факторларды зерттеуге *Chlorella*, *Chlamydomonas*, *Scenedesmus* туыстарын пайдалануда [4,7,8].

Жұмыста тестілеу жүргізілген судағы улы заттардың әсерінен балдырлардың көбею қарқындылығының өзгеруін бақылау суымен салыстыра отырып анықтауға негізделген биотестілеу әдістемесі қолданылды. Қарқынды көбеюдің көрсеткіші – балдырлар клеткаларының өсім санының коэффициенті болып табылады.

Улылықтың белгісі бақылаумен салыстырғанда тест жүргізілетін судағы клеткалардың өсім

санының коэффициенттерінің төмендеуі болып келеді. Қысқа мерзімді биотестілеу – 96 сағат ішінде балдырларға тест жүргізілетін судағы өте улы әсердің барын, ал ұзақ – 14 тәулік ішінде созылмалы улы әсерді анықтауға мүмкіндік береді.

Тест нысаны ретінде арнайы бөлініп алынған микробалдыр *Chlorella sp-3K* штамы пайдаланылды. Балдырлардың дақылын қоректік ортасы бар залалсыздандырылған колбаға ашық жасыл түс беретін мөлшерде енгіздік. Балдырлар дақыл бетінен 30-40 см қашықтықта орналасқан күндізгі жарық шамдарында тәулік бойы жарық түсіру кезінде өсіріледі, жарықтану 2000-3000 л/к. Егу үшін экспоненциалды өсу сатысында 5-7 тәуліктік балдырлардың дақылы пайдаланылды. Биобақылау жүргізу алдында оны төртінші нөмірлі мембрандық сүзгіш немесе сүзгіштік қағаз арқылы Зейтц аппаратының көмегімен қоюлатады. Клеткаларды дақылды тұндырудан кейін колбадан ортаны сорып алумен шоғырландыруға болады.

Балдырлар сүзгіштен 30-50 мл бақылау суы бар колбаларға көшіріледі. Егу үшін қолданылатын клеткалардың сұйықтық санын тексереді. Сұйықтықта клетка саны 5-10 млн.кл/мл болу керек [8].

Колбаларды мақта-дәкелі тығындармен тығындайды, оларды жақсылап араластырады және әр колбадағы клеткалар санын анықтайды. Клеткалар санын санау үшін Горяевтің есеп камерасы пайдаланылды. Олардың саны 25-50 000 кл/мл болу керек. Колбаларды люминодатқа немесе тік түсетін күн сәулелерінен қорғаланатын, жақсы жарықтанған жерге қояды. Биотестілеу жарықта және қолайлы температурада жүргізіледі. Биотестілеу 96 сағаттан кейін аяқталады. Суда өте улы әсердің бар -жоғын анықтау үшін, әр колбадан клеткалардың санын санайды. Өте улы әсер болмаған жағдайда биотестілеу жалғастырылады. Жетінші тәулікте бақылау және тест жүргізілген суды жаңа алынған суға ауыстыру жасалады [9].

Алғашқы 7 тәулік бойы биотестілеу жүргізілген колбалардың құрамын жақсылап араластырады. Резинкалы грушасы бар пипеткамен әр колбадан 25 мл-ден алып, жаңадан дайындалған ерітінділерге құйып араластырады. Әрі қарай әр колбадағы клеткалар санын анықтайды. Кейін тағы 7 тәулік бойы биотестілеу жалғастырылады. 14-тәуліктен кейін тест жүргізілген су балдырларға созылмалы улылық әсерді көрсете ме, жоқ па дегенді анықтайды.

Бақылаумен салыстырғанда тест жүргізілген судағы клеткалар өсім саны коэффициентінің төмендеуі тест жүргізілген суда балдырларға өте немесе созылмалы улылық әсердің бар екендігін көрсетеді [10].

### НӘТИЖЕЛЕР МЕН ТАЛҚЫЛАУЛАР

Зеренді көлі Көкшетау қыратының тау аралық ойысында, Ақмола облысы Зеренді ауданының солтүстік шығысында, «Көкшетау» мемлекеттік ұлттық табиғи саябағы аумағында орналасқан.

Көл Көкшетау қаласынан 50 шақырым жерде орналасқан. Көл теңіз деңгейінен 370,4 метр абсолютті биіктікте жатыр. Су жинау бассейні – 97,7 км<sup>2</sup>. Көлдің батыс жағы төбешікті, ал оңтүстік-шығыс және солтүстік жағалаулары жадағай тегіс болып келеді. Суайдынының оңтүстік-батыс бөлігі қайың, қарағайлы орманмен көмкерілген. Қалған бөліктері далалы, егістікті жерлерге ұласады. Көлдің ұзындығы – 6 км, ені – 2,5 км, ауданы орташа есеппен – 1070 га, максималды тереңдігі 6,5 м-ге тең. Көл жағалауының ұзындығы 21,3 км. Көл беті негізінен ашық, жағаға жақын жерлерін қамыс басқан. Көл түбі тегіс, лайлы, жағалаулары құмды, қиыршық тас пен қойтасты. Көл - ағынсыз. Көлге оңтүстік жағалау тұсынан ұзындықтары 0,3-1,5 км болатын мезгілдік сипаттағы суағарлар келіп құйылады. Бұл тек көктем айларында бірнеше күнде немесе қатты сел, жаңбыр жауған күндері болады. Көл суы тұрмыстық-шаруашылық мақсаттарда қолданылады. Зеренді көлінің жағалауында демалыс базалары, демалыс лагерьлері, сауықтыру-шипажайлары және қысқа мерзімді демалыс орындары бар[11].

Табиғи суларға бейімделген микробалдырларды зертхана жағдайында өсіріп, оларды келешекте су тазалау жүйесіне қолдану мақсатында Көкшетау өңірі көлдерінен су сапасын анықтауда маңызды нысан болатын *Chlamydomonas reinhardtii var reinhardtii Dang.*, *Chlorella vulgaris var vulgaris Beijerinck.*, *Chlorella sp.*, *Scenedesmus obliquus*, *Euglena viridis Ehr.*, *Spirulina major*, *Phormidium foveolarum*, *Oscillatoria tenuis* және *Ankistrodesmus falcatus var radiatus* микробалдырлар түрлері бөлініп алынып, сипаттама берілді. Көкшетау өңірі көлдерінің су экожүйелерінен бөлініп алынған осы микробалдырлардың штамдарынан, табиғи суларда тез өсетін және ластанған суларды тазалау қабілеті жоғары түрлері сұрыпталды. Нәтижесінде зерттеуге алынған микробалдырлар арасынан *Chlorella sp-3K* штамы белсенділік көрсетті [12].

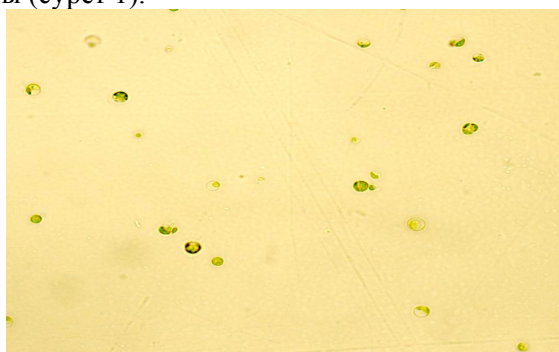
*Chlorella sp-3K* штамының әр түрлі су үлгілерінде жақсы өсіп, жоғары нәтиже беретіндігі басқа да зерттеулер мен әдебиеттерде келтірілген [13].

Біздің *Chlorella sp-3K* штамының өнімділігін тексеріп, сұрыптаудағы мақсатымыз Зеренді көлінен алынған су үлгілеріне осы штамм көмегімен биотестілеу жүргізу болып табылады. Зерттеу

әдісінде тест жүргізілетін судағы улы заттардың әсерінен микробалдырлардың көбею қарқындылығының өзгерісін бақылаумен салыстыра отырып есепке алатын биотестілеу әдісі қолданылды. Бұл бір клеткалы микробалдырды биотестілеуге қолданудың негізгі артықшылығы оның зертханалық жағдайда көптеген ұрпақтар бойы клетка популяциясын бақылауға мүмкіндік беретін жоғарғы көбею жылдамдығы болып саналады.

*Chlorella sp-3K* микробалдыры жүйелік қатынасы бойынша *Chlorophyta* бөлімінің *Protococophyceae* класының *Chlorococcales* қатарының *Chlorellaceae* тұқымдасының *Chlorella* туысының өкілі.

Клеткалары пиреноидты, бірақ байқалмайды. *Chlorella vulgaris*-ке қарағанда клеткалары кішірек, диаметрі 2-3,5 мк. Клеткалары көбейер алдында 7,5-8мк дейін үлкейеді. Негізгі қоректік ортасы стандартты 04 қоректік ортасы (сурет 1).



Сурет 1 – *Chlorella sp-3K*.

Зеренді көліне биотестілеу жүргізу үшін бақылау және тәжірибеге арналған қоректік орталары және *Chlorella sp-3K* штамы пайдаланылды.

Одан кейін оған тест-организм *Chlorella sp-3K* штамы енгізілді. Клеткалардың өсу динамикасы 8 күн бойы зерттелініп, алынған мәліметтерге салыстырмалы анализ жасалынды. Таза бақылау суы мен көл суларының дақылдық ортасын дайындау үшін клеткалардың қоректенуіне қажетті минералды тұздар 04 стандартты қоректік ортасына сәйкес келетін мөлшерде қосылды.

Таза су және көл суларына 04 стандартты жасанды қоректік ортаға сәйкес келетін минералды тұздарды қосу арқылы *Chlorella sp-3K* штамын 8 күн өсіріп, олардың клеткаларының өсу динамикасына зерттеу жүргіздік. Зерттеу жұмысына көл суларының 2 түрлі нұсқасы алынды. 1-нұсқаға 2 есе сұйылтылған көл сулары, ал 2-нұсқаға алғашқы алынған көл суы сынамасы өзгертілмей алынды. Енгізілген хлорелла клеткасының санын барлық нұсқаларда бірдей  $5 \times 10^6 \pm 0,6$  мл болғыздық.

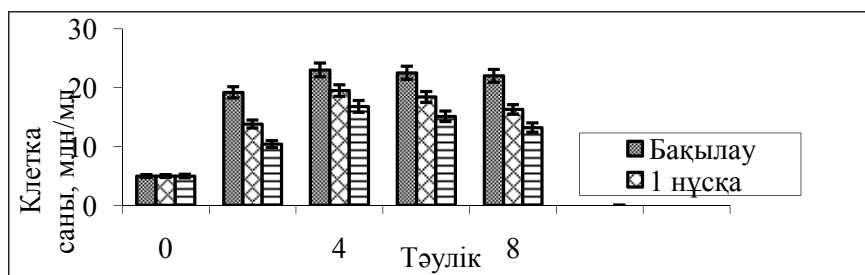
Клеткалардың өсу динамикасы 8 күн бойы бақылғанда таза бақылау суындағы *Chlorella sp-3K* штамының клеткалар саны 4 тәулікте  $23 \times 10^6 \pm 0,65$  өскені анықталды. 2 есе сұйылтылған 1 нұсқадағы көл суында *Chlorella sp-3K* штамы клеткалар саны алғашқы 4-тәулікте 1 мл-де  $19,5 \times 10^6 \pm 0,45$  дейін өсті де, келесі тәуліктерде өсуі байқалмады. Ал алғашқы алынған көл суы сынамасы өзгертілмей алынған 2 нұсқада клеткалар саны алғашқы 4-тәулікте 1 мл-де  $16,8 \times 10^6 \pm 0,5$  дейін өсті де, келесі тәуліктерде өсуі байқалмады (кесте 1).

Кесте 1 – Зеренді көлінің суына биотестілеу жүргізгендегі *Chlorella sp-3K* клеткасының өсуі

| Сынамалар | Тәулік бойынша 1 мл-дегі клетка саны |                             |                             |                             |                             |
|-----------|--------------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
|           | 0                                    | 2                           | 4                           | 6                           | 8                           |
| Бақылау   | $5 \times 10^6 \pm 0,25$             | $19,2 \times 10^6 \pm 0,6$  | $23 \times 10^6 \pm 0,65$   | $22,5 \times 10^6 \pm 0,55$ | $22 \times 10^6 \pm 0,54$   |
| 1-нұсқа   | $5 \times 10^6 \pm 0,3$              | $13,8 \times 10^6 \pm 0,36$ | $19,5 \times 10^6 \pm 0,45$ | $18,4 \times 10^6 \pm 0,5$  | $16,3 \times 10^6 \pm 0,48$ |
| 2-нұсқа   | $5 \times 10^6 \pm 0,3$              | $10,4 \times 10^6 \pm 0,35$ | $16,8 \times 10^6 \pm 0,5$  | $15,1 \times 10^6 \pm 0,49$ | $13,2 \times 10^6 \pm 0,46$ |

Зеренді көлінің суын *Chlorella sp-3K* штамының көмегімен биотестілегендегі клеткалардың өсу динамикасы 2- суретте көрсетілді.

Бақылаумен салыстырғанда тест жүргізілген суда хлорелла клеткаларының өсім саны төмендеу болды. Себебі Зеренді көлінде *Chlorella sp-3K* штамының өсуіне кедергі келтіретін фторид, сульфаттардың ШРМ-нен артық мөлшерлері бар.



Сурет 2 – Зеренді көлі су сынамаcы және бақылаудағы *Chlorella sp-3K* штамының өсу динамикасы

Биотестілеу жүргізген зерттеу нәтижесінде *Chlorella sp-3K* штамы Зеренді көліндегі улы заттар концентрациясына орташа сезімтал екені анықталды.

Зерттеулерден байқағанымыздай табиғи суларға микробалдырлар көмегімен биотест жүргізу жылдам, әрі тез және химиялық зерттеулер нәтижесін толықтыратындығы анықталды.

1. Унифицированные методы исследования качества вод // Методы биологического анализа воды. Приложение I. Индикаторы сапробности. – М.: СЭВ, 1977. – С. 11-42.

2. Унифицированные методы исследования качества воды // Методы биологического анализа воды. Приложение

3. Крайнюкова А.Н. Биотестирование в охране вод от загрязнения // Методы биотестирования вод. – Черногоровка, 1988. – С. 4-14.

4. Музафаров А.М., Таубаев Т.Т., Методы массового культивирования и применения хлореллы. – Ташкент: Фан, 1974. – 120 с.

5. Шаланки Я. Биомониторинг природной среды. // Журн.общ. биол. –1985. – Т.46, №6. – С. 743-752

6. Таубаев Т.Т. Хлорелла. – Ташкент: Фан, 1980. – 150 с.

7. Биоиндикация и биотестирование природных вод. // Тез. Докл. Всес. конф. – Ростов, 1986. – С. 198.

8. Заядан Б.К., Су экожүйелеріне биологиялық тест жүргізуге жасыл балдыр *Chlorella sp-1* табиғи түрін пайдаланудың маңызы // Вестник КазГУ, Серия экологии. – 2001. – №2. – Б. 25-29.

9. Биоиндикация загрязнений наземных экосистем / Под ред. Р. Шуберт. – М.: Мир, 1988. – С. 324.

10. Шорабаев Е.Ж., Болатхан Б.К. Өндірістік қалдық суларды жасыл балдырлар көмегімен биоақылау және тазарту. // ҚазМАУ нәтижелер, ізденістер. – 1999. – №4. – Б. 183-186.

11. Ақмола облысының су қоры: Ақмола облыстық қоршаған ортаны қорғау туралы материалдар. – Көкшетау, 2008. – 105 б.

12. Өнерхан Г. Көкшетау өңірі көлдерінің экологиялық жағдайын альгофлора көмегімен бағалау: биол. ғылым. канд. ... дисс. –Алматы, 2010. – 112 б.

13. Заядан Б.К. Роль фототрофных микроорганизмов в мониторинге, функционировании и ремедиации водных экосистем: автореф. ... д-ра биол. наук. – Алматы, 2006. – 38 с.

\*\*\*

В работе проведено биотестирование озер по штамму *Chlorella sp-3K* выделенного с водных экосистем озер Кокшетауского региона, который отличается быстрой размножаемостью и очищающей способностью загрязнений природных вод. В результате биотестирования, выявлено, что воды озера Зеренда средний уровень токсичности: рост клеток средний  $16,8 \pm 0,5$  млн/мл.

\*\*\*

Respective was biotesting lakes on cultures of microseaweed allocated with water ecosystem of lakes Kokshetau region is carried out is especial on strain *Chlorella sp-3K*, distinguished fast duplicate and clearing ability of pollution of natural waters. As a result of biotesting, is revealed, that waters of lake Zerenda an average level toxicity: growth of crates average  $16,8 \pm 0,5$  mln/ml.

УДК: 579:576.6

Ратникова И.А., Н.Н. Гаврилова Н.Н., Л.П. Треножникова, К. Баякышова, А.Х. Хасенова

### УСТОЙЧИВОСТЬ К ЖЕЛЧИ МОЛОЧНОКИСЛЫХ, ПРОПИОНОВОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ И ИХ АССОЦИАЦИЙ, АДАПТИРОВАННЫХ К НИЗКОМУ ЗНАЧЕНИЮ PH

(РГП «Институт микробиологии и вирусологии» КН МОН РК, e-mail: iratnikova@almanet.kz)

Исследованные штаммы молочнокислых бактерий являются более чувствительными к желчи, чем к низкому значению pH. Наиболее чувствительными к желчи оказались культуры *L. plantarum* 22, *L. brevis* Б-3, *L. plantarum* 2в и 14д. Адаптированные к низкому значению pH культуры *L. brevis* Б-3 и *L. plantarum* 22 стали более устойчивыми к желчи по сравнению с исходными. Наиболее устойчивыми к желчи являются культуры *L. fermentum* 27 и *P. shermanii*.

Непрерывным условием для получения эффективных пробиотиков является использование штаммов с высокой антимикробной активностью к наиболее часто встречающимся возбудителям заболеваний, доминирующим в данном регионе. Кроме того, в необходимых случаях для усиления лечебного действия в отношении определенных возбудителей заболеваний должна проводиться коррекция микробного состава препарата. Для этого надо иметь в резерве штаммы с высокой