

Министерство науки и высшего образования Республики Казахстан
НАО «Южно-Казахстанский университет имени М.Ауэзова»

УДК 579.64; 631.85

На правах рукописи

ТЛЕУКЕЕВА АСЕЛЬ ЕРЖАНОВНА

Разработка альгоудобрения на основе процессов комплексной конверсии
фосфоросодержащих отходов г.Шымкент

8D05120-Биотехнологические аспекты в агропромышленном комплексе

Диссертация на соискание степени доктора философии (PhD)

Научные консультанты:

Д.с.-х.-н., профессор Алибаев Н.Н.

Д.б.н., профессор Жамбакин К.

PhD, Ассоциированный профессор Панкиевич Р.

Шымкент, 2023

СОДЕРЖАНИЕ

ПЕРЕЧЕНЬ ОБОЗНАЧЕНИЙ И СОКРАЩЕНИЙ	3
НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ.....	4
ВВЕДЕНИЕ	5
1 Аналитический обзор	9
1.1 Альгофлора морских и пресноводных водоемов	9
1.2 Особенности разработки биопрепаратов для повышений урожайности истощенных почв	12
1.3 Особенности биоконверсии отходов для промышленного культивирования водорослей	18
2 ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	24
2.1 Объекты исследования	24
2.2 Методы исследования	30
3 Результаты исследования и их обсуждение.....	33
3.1 Закономерность распространения зеленых микроводорослей в малых реках Туркестанской области, перспективных для использования в биоудобрении.....	33
3.1.1 Выделение активных штаммов зеленых микроводорослей	48
3.1.2 Характеристика активных штаммов зеленых микроводорослей.	52
3.2 Подбор состава альгоудобрения и оптимальных факторов культивирования зеленых микроводорослей на фосфорсодержащих отходах г.Шымкент	57
3.2.1 Влияние различных факторов на оптимизацию процесса культивированная микроводорослей	65
3.3 Влияние альгоудобрения «ФосфИТА» на морфометрические характеристики фито-тест-культур	69
3.4 Разработка технологической схемы производства альгоудобрения «ФосфИТА»	87
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	94
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ	97
ПРИЛОЖЕНИЕ А.....	109
ПРИЛОЖЕНИЕ Б	112

ПЕРЕЧЕНЬ ОБОЗНАЧЕНИЙ И СОКРАЩЕНИЙ

В настоящей диссертации применяют следующие обозначения и сокращения:

SI-индекс солюбилизации

БПК₅ – биохимическое потребление кислорода в течении 5 суток

г/га- грамм на гектар

г/л-грамм на литр

ГОСТ - Государственный стандарт

ДАГ – диацилглицерид

ИЗВ – индекс загрязненности воды

кг – килограмм

кл/г – клеток на грамм

кл/мл - клеток на миллилитр

КОЕ/л-клетка образующие единицы на литр

л/м² - литр на квадратный метр

м/сек – метр в секунду

МАГ- моноацилглицерид

мг – миллиграмм

мг/кг - миллиграмм на килограмм

мг/л-миллиграмм на литр

млн.га - миллион гектаров

ПДК- предельная допустимая концентрация

РПА-рыбно-пептонный агар

р-река

см- сантиметр

Среда ИТА – Среда Исаева-Тлеукеева-Алибаев

СТ РК - стандарт Республики Казахстан

т – тонна

ТАГ – триацилглицериды

ТОО – товарищество с ограниченной ответственностью

НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ

- ISO 14000 (ГОСТ Р ИСО 14001-2007) – защита окружающей среды от воздействия внешних хозяйственных факторов и улучшение экологической обстановки при одновременном увеличении объемов производства, снижение расходов сырья и материалов, улучшение качества продукции.
- ISO 14001:2004 (ГОСТ Р ИСО 14001-2007) «Системы управления окружающей средой. Требования и руководство по применению»
- ГОСТ 3885-73 Реактивы и особо чистые вещества. Правила приемки, отбор проб, фасовка, упаковка, маркировка, транспортирование и хранение
- ГОСТ 4517-87 Реактивы. Методы приготовления вспомогательных реактивов и растворов, применяемых при анализе
- ГОСТ 6.38-90 Унифицированные системы документации. Система организационно-распорядительной документации. Требования к оформлению документов.
- ГОСТ 7.1-2003. Библиографическая запись. Библиографическое описание. Общие требования и правила составления.
- ГОСТ 7.32-2001 Система стандартов по информации, библиотечному и издательскому делу. Отчет по научно-исследовательской работе. Структура и правила оформления.
- ГОСТ 7.9-95 Система стандартов по информации, библиотечному и издательскому делу. Реферат и аннотация. Общие требования.
- ГОСТ 8.315-97. Государственная система обеспечения единства измерений. Стандартные образцы состава и свойства веществ и материалов. Основные положения.
- СТ РК 1037-2001 Дело производство и архивное дело. Термины и определения
- СТ РК 1042-2001 Организационно-распорядительная документация. Требования к оформлению документов
- СТ РК ГОСТ Р 51592-2003 Вода. Общие требования к отбору проб
- СТ РК ИСО 14001-2006 Системы экологического менеджмента. Требования и руководство по применению – Введен взамен СТ РК ГОСТ Р ИСО 14001-2000

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. Проблема утилизации минеральных и техногенных отходов производства является одной из актуальных экологических проблем современности. В настоящее время Республика Казахстан является одной из сторон Базельской конвенции о контроле за трансграничной перевозкой опасных отходов и их удалением от 22 марта 1989 года (Базель, Швейцария), Стокгольмской конвенции о стойких органических загрязнителях от 17 мая 2004 года (Стокгольм, Швеция), Роттердамской конвенции о процедуре предварительного обоснованного согласия в отношении ряда опасных химических веществ и пестицидов в международной торговле от 1993 года (Роттердам, Нидерланды). Постепенно принимаются меры по безопасному складированию и утилизации твердых бытовых отходов по всей территории Казахстана. Но, помимо твердых бытовых отходов имеются и техногенные отходы после добычи и переработки полезных ископаемых. Анализ статистических данных показал, что объем образованных опасных отходов в 2018 г. по сравнению с 2017 г., увеличился на 23 088,1 тыс. т. (на 18%), а в 2019 г. еще на 30 544,35 тыс. т. (на 20%). Объем образованных неопасных отходов за 2019 г. увеличился на 57 302,55 тыс.т. (на 14%) по сравнению с 2017г. [1]. Основные отрасли, формирующие опасные и неопасные отходы за 2019 г. – горнодобывающая и обрабатывающая промышленности, которые образовали опасных отходов -131 203,75 тыс.т, неопасных отходов -318 683,45 тыс.т. Общий объем образованных опасных отходов в Туркестанской области в 2019 г составил 124345,6т., неопасных отходов -206 111,2 т. Известны различные технологии переработки твердых и жидких отходов [2], но наиболее перспективными являются биотехнологические методы, основанные на жизнедеятельности различных биологических объектов. Производство фосфорных удобрений, к сожалению, сопряжено с формированием твердых и жидких отходов, которые содержат остаточное количество фосфора и ряда микроэлементов. Факт наличия биогенных элементов в промышленных отходах предполагает возможность использования их в качестве сырья для культивирования различных микроорганизмов. Например, использование отходов производства биодизельного топлива для синтеза органических веществ [3], использование сельскохозяйственных отходов для дальнейшей микробной ферментации [4] или органических отходов для культивирования микроорганизмов [5]. С другой стороны, юг Казахстана характеризуется наличием огромных площадей истощенных и засоленных почв [6], где проблема повышения плодородия также является актуальной.

В этой связи, в биотехнологии Казахстана актуальным направлением научно-исследовательских работ является утилизация фосфорсодержащих отходов и получения альгоудобрения в повышении плодородия почв для решения актуальных экологических проблем юга Казахстана.

Цель работы – Разработка альгоудобрения на основе композиции микроводорослей, культивируемых на жидких фосфоросодержащих отходах, шлаках и шламах г.Шымкент

Для достижения поставленной цели решались следующие задачи:

– изучение распространения зеленых микроводорослей в малых реках Туркестанской области, перспективных для использования в биоудобрении;

– разработка состава альгоудобрения и подбор оптимальных факторов культивирования зеленых микроводорослей на фосфорсодержащих отходах г.Шымкент;

– изучение влияния альгоудобрения на морфометрические характеристики фито-тест-культур;

– разработка технологической схемы производства альгоудобрения на основе фосфорсодержащих отходов г.Шымкент.

Положения, выносимые на защиту.

- Распространение и идентификация зеленых микроводорослей в малых реках юга Казахстана и отбор перспективных штаммов, устойчивых к высоким концентрациям фосфорсодержащих отходов, такие как шлаки, шламы и осадочные воды.

-Разработанный состав альгоудобрения «ФосфИТА» на основе микроводорослей *C.vulgaris ASLI-1*, *C. vulgaris ASLI-2*, *Oocystis borgei ATP* с оптимальными условиями промышленного культивирования. Разработанная питательная среда ИТА для промышленного культивирования микроводорослей, г/л: фосфорсодержащие шлаки – 10; KNO_3 - 0.10 $MgSO_4 \times 7H_2O$ - 0.01 (патент РК №36030).

- Особенности солюбилизации фосфора альгоудобрением «ФосфИТА», при этом скорость солюбилизации фосфора из шлама выше, чем в случае с использованием фосфорсодержащего шлама. Стимулирующее действие суспензии фосфорсодержащего шлама до $7,5 \pm 0,5\%$ с увеличением токсического эффекта на фитотест-растения при дальнейшем повышении содержания отхода в водных растворах.

-Разработанная технологическая схема малоотходного производства альгоудобрения «ФосфИТА» на основе жидких фосфорсодержащих отходов ТОО «Кайнар» в г.Шымкент.

Научная новизна. Впервые из малых рек юга Казахстана выделено 68 изолятов зеленых микроводорослей, отнесенных к родам *Chlorella*, *Botryococcus*, *Scenedesmus*, *Desmodesmus*, *Chlamydomonas*, *Oocystis*, *Parachlorella*, из которых отселектированы новые штаммы *Chlorella vulgaris ASLI-1*, *C. vulgaris ASLI-2* и *Oocystis borgei ATP*, для которых установлены оптимумы промышленного культивирования. Выявлено наличие аллелопатических свойств у *O. borgei ATP*.

На основе новых штаммов микроводорослей *C. vulgaris ASLI-1*, *C. vulgaris ASLI-2*, *Oocystis borgei ATP* разработано альгоудобрение «ФосфИТА» с оптимальными условиями культивирования на новой среде ИТА, имеющей в составе фосфорсодержащие шлаки и аэрацией с использованием смеси

кислорода с $2,0 \pm 0,2\%$ содержанием углекислого газа, 12-часовом световом дне и температуре $+23 \pm 27^\circ\text{C}$.

Установлен порядок солубилизации фосфора разработанным альгоудобрением «ФосфИТА» и выявлена отрицательная корреляция между показанием солубилизованного фосфора и значениями pH. Выявлено, что скорость солубилизации фосфора из шлама выше, чем из шлака. Установлено, что фосфорсодержащий шлак при содержании $7,5 \pm 0,5\%$ оказывает стимулирующее действие на развитие фитотест-растений, остро токсическое действие начинаются с ингибирования развития вегетативных органов при $15,0 \pm 1,5\%$ и летальном исходе при $20,0 \pm 2,0\%$ и выше.

Разработаны научные основы использования фосфорсодержащих отходов и композиции штаммов зеленых микроводорослей для биоконверсии фосфорсодержащих отходов.

Практическая значимость работы. Выделены штаммы микроводорослей *Chlorella*, которые при культивировании на сточных водах эффективно накапливают биомассу и нейтральные липиды, что перспективно для биотехнологических целей широкого диапазона. Выявлено, что штамм *O. borgei ATP* обладает аллелопатическими свойствами и подавляет рост водорослей, что может быть использовано в борьбе с эвтрофикацией водоемов.

Разработаны состав альгоудобрения «ФосфИТА» и состав питательной среды для культивирования микроводорослей, которые решают проблему утилизации фосфорсодержащих отходов и повышения плодородия истощенных суглинистых сероземов в Туркестанской области.

Разработана технологическая схема малоотходного производства альгоудобрения «ФосфИТА» на основе жидких фосфорсодержащих отходов ТОО «Кайнар» в г.Шымкент и композиции штаммов зеленых водорослей *S. vulgaris ASLI-1*, *S. vulgaris ASLI-2*, *O. borgei ATP*, позволяющее создать новое производство с более 12 рабочими местами и улучшить экологическую ситуацию в промышленном регионе.

Результаты исследования внедрены в производство в СПК «Nomad agro group», ООО «Биос», а также внедрены в учебный процесс в дисциплины «Генетика», «Modern achievements of biotechnology».

Связь данной работы с другими научно-исследовательскими работами. Исследования проведены в рамках реализации проектов МОН РК: «Биопрепараты широкого спектра действия» (2011- 2014), «Разработка способа очистки загрязненных вод с использованием макроскопических нитчатых зеленых водорослей» (2015-2017), «Оптимизация функционирования децентрализованных систем биологической очистки сточных вод фармако-косметологической отрасли путем подбора состава растений-фитомелиорантов» (2021), «Технология получения органических удобрений на основе утилизации фосфорсодержащих и углесодержащих отходов для повышения урожайности овощных культур Туркестанской области» (2022-2024).

Апробация работы. Основные результаты диссертационной работы доложены на международных научно-практических конференциях: “Advances in Sciences and Technologies” XXV Межд. науч-практ.конф. (Москва, 2021), «Инновационные подходы в современной науке» СХХVIII Межд. науч-практ.конф. (Москва, 2022), «Экспериментальные и теоретические исследования в современной науке» LXXXII Межд. науч-практ.конф. (Новосибирск, 2022).

Публикации по теме диссертации. По результатам исследований опубликованы 3 статьи в сборниках международных конференций, 4 статьи в журналах базы Scopus, 2 статьи в журналах рекомендуемых ККСОН, 1 патент на изобретение.

Структура и объем диссертации. Диссертация содержит 118 стр., наименований 51 рисунков, 15 таблиц, 2 приложения и 167 литературных источников.

1 Аналитический обзор

1.1 Альгофлора морских и пресноводных водоемов

Водоросли – организмы, которые обитают в увлажненных средах. Встречаются одноклеточные и многоклеточные виды, они устойчивы к высоким и низким температурам. Исследования альгофлоры доказывают их высокую адаптивность к окружающей среде.

Исследование водорослей, их структуры и организации, определение внутренних взаимосвязей и функциональных особенностей, целостность с биоценозом и внешней средой, является одним из главных направлений в альгологии [7]. В настоящее время данное направление активно изучается, что связано с исследованием в области биоценологических взаимодействий [8-10]. С другой стороны методы исследования водорослей в биоценозе не полностью изучены. Некоторые исследователи [11-14] рассматривают водоросли самостоятельно, без контакта с другими обладателями биоценоза, часто применяя общепринятые геоботанические термины для обозначения их совокупности. С другой стороны, работы по альгологии проводятся в рамках общих гидробиологических исследований.

В то же время, водоросли в водоемах существуют не самопроизвольно, а как составная часть биоценозов [15]. Их функциональная роль аналогична роли гидромакрофтов: и те и другие занимают лидирующие позиции в процессах инициации органических веществ в водоемах. Следует отметить, что есть определенные связи между высшими водными растениями и популяцией водорослей [16], эпифитная альгофлора и макрофиты очень тесно связаны друг с другом при этом зарастание водоемов высшей водной растительностью приводит к изменениям в фитобентосе. Структурно-функциональные особенности водорослей во многом зависят от их развития независимо или совместно с высшей водной растительностью. Это определяет целесообразность рассмотрения растительности водоема в целом и использования единых принципов и методов анализа полученных данных, а также терминологии для таксономических групп высших водных растений и водорослей [17].

Разработка и совершенствование принципов и методов изучения водорослей в аспекте альгогруппировки имеет большое общее гидробиологическое значение [18-20], поскольку популяция организмов-гидробионтов тесно связана с водорослями [21, 22].

Распространение водорослей в мире и в природе определяет их огромное значение, как в жизни человека, так и в его ежедневной деятельности [23], в основном, это пищевая промышленность [24], косметология [25] и медицина [26]. Несмотря на многочисленные исследования, возможности применения водорослей в практике полностью не изучены. Особую значимость водоросли имеют в рыбном [27-28], сельском и коммунальном хозяйствах [29], таких как

очистка водоемов [30] и дополнительный корм рыбам [31], при эксплуатации водного транспорта и гидротехнических сооружений [32], в современном мире - часто в медицине при обертывании [33], в виде биологически активных добавок [34] и медицинской косметологии [35]. С другой стороны, основная часть водорослей применяется в качестве пищевого продукта и сырья в производстве в виде желатирующих элементов [36], вкусовых добавок [37], как пищевая основа [38], высокоiodированные салаты [39], капсулы с содержанием агара [40] и т.п. Наибольшим спросом в пищевой промышленности пользуются морские водоросли, такие как ламинария, порфира и другие.

Исследования показывают, что в пищевой промышленности чаще всего применяют морские водоросли, в то время как пресноводные водоросли не пользуются особым спросом. Пищевое значение имеют водоросли, которые образуют крупные колонии и конъюгируются в большие массы [41, 42]. К таким видам водорослей можно отнести три вида сине-зеленых водорослей из рода *Nostoc*, которые образуют крупные колонии, из них можно отметить носток сливообразный (*Nostoc pruniforme*), носток обыкновенный (*N. commune*) и носток войлочный (*N. flagelliforme*), который широко применяется в Северном Китае, где он распространен на бесплодных почвах и в сухом состоянии имеет вид войлочных дерновин из тонких темных нитей, которые становятся слизистыми при увлажнении [43]. В современной альгобиотехнологии популярна сине-зеленая нитчатая водоросль спирулина (*Spirulina platensis*), которая широко распространена в водах Южной Африки и является отличной моделью для культивирования в промышленных масштабах [44].

Применение морских водорослей в биотехнологическом производстве, в сравнении с культивированием пресноводных водорослей, имеют долгую историю и крупные масштабы. В настоящее время альгобиотехнология, в большинстве случаев, направлена на переработку морских водорослей, где получают различную продукцию такую, как органические соединения и минеральные вещества. Известны промышленные продукты из водорослей как агар – слизистое вещество, получаемое из морских водорослей путем выварки [45], которое широко используют в пищевой промышленности и в микробиологии.

К сожалению, применение континентальных водорослей в промышленном масштабе ограничено. Известны исследования, где для производства бумаги были использованы такие водоросли, как кладофора и ризоклониум, которые широко распространены в озерах Западной Сибири и северных районов Казахстана [46]. Клеточная мембрана вышеназванных водорослей содержит большое количество клетчатки, которая необходима для получения бумажной продукции. В результате исследования были получены беловая бумага, оберточная бумага, картон и строительные материалы.

В сельском хозяйстве одной из главных проблем является применение дорогостоящих органических удобрений, которые в итоге повышают стоимость сельскохозяйственной продукции. В связи с этим, многие сельскохозяйственные угодья применяют недорогие синтетические удобрения,

содержащие азот, фосфор и калий, которые могут вызывать генетические изменения при высокой концентрации внесения в почву. С развитием сельскохозяйственной биотехнологии, появились различные биопрепараты на основе микроорганизмов, которые повышают плодородность посевных почв [49-51].

Актуальным направлением решения этой проблемы является использование зеленых микроводорослей. Самая популярная пресноводная водоросль, применяемая в альгобиотехнологии - хлорелла [47]. Хлорелла за счет неприхотливости в культивировании, удобства исследования и высокого содержания органических и минеральных соединений является идеальной моделью для промышленного культивирования.

Хлорелла (*Chlorella*) - пресноводная одноклеточная зеленая водоросль-космополит, неприхотливая к условиям обитания. Может встречаться в планктоне, бентосе, перифитоне и нейстоне, также на наземных субстратах и в почве. Ее вегетативные клетки обычно не превышают в диаметре 15 мкм, протопласт, покрытый хорошо выраженной двухконтурной оболочкой, имеет один чашевидный хлоропласт с одним пиреноидом в утолщенной части. Имеет одно ядро. Размножается хлорелла исключительно автоспорами, возникающими обычно по 4—8 в одной клетке [48]. Органические соединения хлореллы представляют витамины, белки, углеводы и жиры, которые по содержанию и качеству превосходят многие растительные корма и культуры сельскохозяйственного производства, в ней имеются все необходимые аминокислоты, в том числе незаменимые.

Наряду с применением в качестве кормов, эти водоросли давно используют в сельском хозяйстве в качестве удобрений, так как в их состав входят фитогормоны, влияющие на развитие растений. Биомасса микроводорослей обогащает почву фосфором, калием, йодом и значительным количеством микроэлементов, пополняет также ее бактериальную, в том числе азотфиксирующую, микрофлору. При этом в почве водоросли разлагаются быстрее, чем навозные удобрения, не засоряют ее семенами сорняков, личинками вредных насекомых, спорами фитопатогенных грибов.

Во многих странах издавна используют хлореллу в пищевых и промышленных целях. В странах СНГ микроводоросли используются как лабораторные объекты [52], в качестве БАДов, удобрений, но научные данные по использованию зеленых водорослей для улучшения плодородия истощенных почв весьма малочисленны [53]. Исследования показывают, что при внесении в почву биомассы зеленых водорослей питательная ценность зерна повышается в 1,5 раза. При этом происходит увеличение биомассы, повышение фиксации атмосферного азота, кислорода и понижение роста патогенных бактерий, влияющих на развитие агрокультур [54]. Многие вещества, содержащиеся в хлорелле, накапливаются и в ее культуральных средах. Установлено, что в клеточной массе содержится до 350 различных веществ, а в культуральной среде до 310. Это различные углеводы, белки, органические и жирные кислоты, углеводороды, спирты и эфиры, карбонильные соединения, витамины,

фитогормоны, стероиды и другие вещества с высокой биологической активностью, которые могут успешно применяться в медицине и сельском хозяйстве. Хлорелла также неприхотлива в культивировании. В лабораторных условиях ее часто выращивают на питательной среде Тамия. При культивировании хлореллы возможно использование не только химических питательных смесей и минеральных вод, но и отходов сельскохозяйственного производства.

Таким образом, использование альгофлоры в народном хозяйстве способствует решению не только экологических проблем, но и играет существенную роль в получении высококачественных биоудобрений.

1.2 Особенности разработки биопрепаратов для повышения урожайности истощенных почв

Республика Казахстан является одной из крупных агропромышленных держав мира, которая поставляет в 70 стран зерновые и бобовые культуры, фрукты, овощи. В досрочном плане развития экономики Казахстана, указанном в Меморандуме о взаимопонимании Правительством Республики Казахстан и Организацией экономического сотрудничества и развития, предполагается расширение зарубежных рынков сбыта с 3,5 млрд.долларов в 2021 г. До 9,9 млрд.долларов в 2030г. Структура экспорта сельхозпродукции представлена следующим образом: пшеница – 5,7млн.т. или 37,5%; ячмень – 0,8 млн.т.; семена льна – 336,6 тыс.т.; мука -1,5млн.т.; масло подсолнечное - 97 тыс.т.; мука – 1,5 млн.т.; хлопковолокно – 63тыс.т. [55]. Особо необходимо отметить, что Казахстан входит в десятку стран, производящих экологически чистую органическую продукцию.

С другой стороны, интенсивное использование почвенных ресурсов приводит к снижению содержания биогенных элементов в ней. По мнению казахстанских ученых, недостаток внесения органических удобрений и дисбаланс в применении минеральных удобрений привел к дефициту в почве азота, фосфора, калия и ряда микроэлементов[56]. В этих условиях необходимо изменить существующую систему землепользования и агротехнологию возделывания сельскохозяйственных культур.

В настоящее время во всех природных зонах Казахстана техногенным опустыниванием охвачено около 180,0 млн. га. По официальным данным почти все пахотные почвы Казахстана утратили до 20-30% гумуса, а 12,0 млн. га подвергаются ветровой, 5,0 млн. га водной и 500,0 тыс. га ирригационной эрозии [57]. Более того, в результате бессистемного выпаса скота 63,0млн. га пастбищ находится в разной стадии деградации.

Биотехнологии в сельском хозяйстве, в особенности, в земледелии предлагают различные способы повышения плодородия почв. Проблема повышения эффективности земледелия не теряет своей актуальности. Одним из таких направлений является внесение в почву бактерий, способных эффективно обогащать ее биодоступным азотом и фосфором. Так, например, в некоторых исследованиях в почву вносят азотфиксаторы и фосфатмобилизующие

микроорганизмы, аммиачную селитру, фосфоритную муку в обычном и наноразмерном виде [58]. Аммиачная селитра широко применяемый источник азота, а фосфоритовая мука эффективная и безопасная минеральная добавка с долгосрочным действием. На территории СНГ часто применяют препарат «Мизорин» на основе штамма *Arthrobacter mysorens*, который положительно влияет на многие сельскохозяйственные культуры [58, 59]. Авторами отмечено, что при проведении сравнительного анализа при использовании аммонифицирующих микроорганизмов, фазы онтогенеза составили около 19,0-23,5 млн/г, в то время как при внесении аммиачной селитры и миозина количество микроорганизмов повысилась до 25,5-41,0млн/г. Аналогичное исследование проводилось с биопрепаратом «БиоАзоФосфит» на территории Казахстана, где данным препаратом обрабатывались зерна пшеницы с расчетом 2,0 л/т [60]. В составе данного биопрепарата имеются азотфиксирующие и фосфориммобилизирующие микроорганизмы, которые по результатам исследований показали что «БиоАзоФосфит» при предпосевной обработке семян льна и ячменя, с норме расхода 1,5–2,0 л/т, повышает лабораторную всхожесть семян, при умеренно увеличивает густоту всходов растений, а также подавляет заражение семян плесневыми грибами.

Биологические удобрения обладают рядом преимуществ по сравнению с минеральными удобрениями [61]:

- 1) Являются безвредными для человека, животных, птиц и насекомых
- 2) улучшают плодородие почв
- 3) являются дешевыми в изготовлении
- 4) производство биологических удобрений и их использование не наносит вреда окружающей среде, так как компоненты биопрепаратов не накапливаются в экосистемах и легко утилизируются.

Для производства бактериальных удобрений микроорганизмы культивируются в биореакторах, где созданы необходимые условия, такие как питательная среда, аэрация, температура, рН, отборка продуктов метаболизма, отсутствие контаминации [62]. В биореакторах штаммы микроорганизмов синтезируют необходимые промышленные продукты или микробную биомассу. Полученную биомассу сепарируют и смешивают с адсорбентом при необходимости, где в качестве основы для иммобилизации применяют почву, торф, вермикулит, древесные опилки и т.д. [63].

В современном агропромышленном комплексе применяют ирокий спектр биоудобрений, которые обладают различными свойствами такими, как фиксация азота, стимуляция роста растений, подавление роста фитопатогенной микрофлоры.

Например, широкое распространение получил биопрепарат на основе PGPR-bacteria, PGPB, которое инокулируется непосредственно на растение и обладает ростостимулирующим действием. Ученые отмечают, что данный биопрепарат активизирует фиксацию азота в ризосфере и повышает общую микробиологическую активность в прикорневой системе [64]. Азотфиксирующие бактерии занимают особое место в культивировании сорго,

ячменя и озимой пшеницы. Так, при добавлении азотфиксирующих микроорганизмов в почву продуктивность сорго увеличилась на 15-20%, в то время как фиксация азота повысилась на 20-50% [65]. В варианте исследований с озимой пшеницей наибольшую урожайность показал опытный вариант с комбинацией азотных удобрений и азотфиксирующих бактерий [66].

Можно провести краткое описание популярных биологических удобрений, широко применяемых в сельском хозяйстве, таких как Нитрагин, Азотобактерин, AZ-kalk и др.

Нитрагин был разработан в Германии, а промышленное производство его началось в 1896 году, авторами разработки являются Ф.Ноббе и Л. Гильтнер. Нитрагин чаще всего применяется на почвах, где предполагается культивирование бобовых растений. В опытах Мишустина Е. и Бернарда В. [67] были использованы различные типы почв Европейской части России, где было выявлено, что независимо от типа почвы, внесение биоудобрения привело к повышению плодородия почв.

Высокая эффективность данного препарата связана с наличием штаммов *Rizobium* и *Bradirhizobium*, которые в сочетании с ббовыми растениями, активно фиксируют атмосферный азот. Биоудобрения, направленные на повышение плодородия истощенных почв и урожайности сельскохозяйственных культур, отличаются составляющими основу микроорганизмами и дополнительными компонентами, например, штамм *Gliocladium zaleskii* 278 обладает фитотоксическими свойствами [68], комплекс из ббовых культур, азотфиксирующих бактерий и фосфатмобилизирующего микромицета для повышения плодородия почв [69]. Кроме того, для улучшения культуральных свойств *Bradyrhizobium japonicum* предлагается модифицирование штамма лектином [70]. Эффективность микробных удобрений зависит от ряда абиотических факторов, как погодноклиматические условия [71] или тип почвы, куда вносятся удобрения [72].

Фосфоробактерин является микробным препаратом, который содержит спорообразующую бактерию *Basillus megaterim* var. *phosphaticum*, которая разлагает сложные фосфорорганические соединения в доступную для растений форму [73]. Морфологически бактерия представляет собой мелкие, аэробные, спорообразующие палочки. Бактерии размножаются на средах, где в качестве источника углерода используется глюкоза, сахароза, мальтоза, а в качестве источника азота применяют аспарагин, пептон, сульфат аммония. При наличии серосодержащих аминокислот начинают выделять сероводород. Данную бактерию выращивают методом глубинного культивирования на различных средах, при оптимуме температур +30+32°C. Фосфоробактерин эффективен при совместном применении с минеральными фосфорными удобрениями, при этом эффективность применения последних зависит от дозы инокулированного на семена фосфоробактерина. По всей вероятности, это связано с биологическими активными веществами, продуцируемыми *B. megaterium*: тиамином, биотином, различными кислотами и витаминами. При инокуляции бактерии попадают на семена растений, далее, при развитии

вегетативных органов проникают в ткани растения и усиливают усвоение всех питательных элементов. В целом, фосфобактерин является препаратом стимулирующего действия.

Азотобактерин является одним из первых биоудобрений, применяемых со времен СССР, который содержит культуру *Azotobacter chroococcum*. Было установлено, что азотобактер не только фиксирует азот, необходимый для развития растений, но и продуцирует органические соединения такие, как витамины и стимуляторы роста. Более того азотобактер обладает фунгистатическим свойством и эффективен для широкого спектра фитопатогенных плесневых грибов. Основным недостатком азотобактерина является малоэффективность для полевых культур, он хорошо показывает себя только в окультуренных почвах. Например, данный биопрепарат показывает высокую урожайность до 20-30% на почвах, удобренных предварительно навозом. При дополнительном внесении азотобактерина создаются благоприятные условия для корневой системы растений [74]. При промышленном производстве азотобактерина применяют только активные штаммы азотобактера, который не только фиксирует азот, но и частично выделяет его в питательную среду. Кроме этого, при применении биопрепарата необходимо учитывать свойства почвы [75]. Исследования азотобактера показали, что в комплексе с другими микроорганизмами влияние на развитие растений и повышение урожайности увеличивается на 6-7%. Например, чистый штамм азотобактера выделяет в среду 173 мг гормона ауксина, в то время как при добавлении *Bacillus mycoides* данная цифра увеличивается до 220 мг [76]. Многочисленные исследования показывают, что смешанные культуры намного эффективнее, обладают повышенной нитрогеназной активностью и способны создавать синтрофные ассоциации [77].

Исследования по определению оптимальных соотношений микроорганизмов показал, что некоторые микроорганизмы подавляют свойства азотобактера. Так, например, при добавлении *Bacillus subtilis* численность клеток *Azotobacter chroococcum* снизилась в 2-5 раз [78]. Было установлено, что данный вид бактерий в качестве источника питания использует корневые выделения растений, продуцируя соединения подавляющий рост азотобактера [79]. Одним из лимитирующих факторов для развития культуры азотобактера является недостаток источника углерода в почве, то есть при внесении азотобактера необходимо дополнение в виде органических удобрений [80].

Азотобактерин по сравнению с вышеописанным нитрагином оказался более эффективным в засушливых районах. При применении азотобактерина ростовые вещества в корневой системе активируются и прорастают сквозь пересыхающий горизонт и проросток растения лучше, снабжается влагой [81]. С другой стороны по сравнению с нитрагином азотобактерин малоэффективен на кислых почвах. Для повышения эффективности биопрепарата необходимо дополнительное известкование почвы. Специально для кислых почв разработан биопрепарат на основе ископаемого известняка и азотобактера – AZ-Kalk,

который корректирует уровень кислотности почвы и повышает плодородие почвы.

Также проводились исследования по применению азотобактера с добавлением микроудобрений [82]. По результатам исследований, было установлено, что урожайность культур повышается на 2,4ц/га. При исследовании другого вида азотобактера *Azotobacter vinelandii* были получены результаты, которые показали, что данный вид в разной степени стимулирует прорастание семян [83]. Скорее всего, это обусловлено различной восприимчивостью семян растений на культуру азотобактера.

В агропромышленном комплексе широко применяются биопрепараты на основе свободноживущих олигонитрофилов, таких как *Bacillus polymyxa*, кроме свойств фиксации азота, они обладают статистическими свойствами к широкому спектру фитопатогенных грибов [84].

После исследований по созданию симбиоза между азотфиксирующими микроорганизмами и небобовыми растениями, началось развиваться новое направление исследований, которое было основано на нитрогеназной активности микроорганизмов. Эти бактерии потенциально полезны, но их способность к созданию комплексов еще полностью не изучена [85]. На основе данных исследований были созданы биопрепараты Агарофил, Агрофор, Азоризин, Мизорин, Ризоагрин, Флавобактерин и другие [86]. Также был разработан биопрепарат Экстрасол, который содержит целый комплекс почвенных и ризосферных микроорганизмов таких, как *Arthobacter mysorens* K., *Flavobacterium sp* L20, *Agrobacterium radiobacter* 204, *Azomonas agolis* 12, *Bacillus subtilis* 4-13, *Pseudomonas fluorescens* 2137, *Azospirillum lipoferum* 137. По типу воздействия производится три типа биоудобрений, это экстрасол-90 – фунгицидного действия, экстрасол-09 – стимулирующего действия и экстрасол-55 – фунгицидно-стимулирующего действия [87]. Проводились так же работы со штаммом *Azospirillum brasilense* 104 [88]. При инокуляции на зернах яровой пшеницы, данный штамм повысил фиксацию азота в 2,2 раза, а хлорофилл а и b в листьях повышен на 86,5%. Так же было отмечено, что азотоспириллы понижают распространение прикорневой гнили в 1,7-1,8 раз. По результатам исследований с азоспириллами установлено, что урожайность пшеницы повысилась на 26,4% за три года.

Кроме влияния на сельскохозяйственные культуры, азоспириллу применяли, как стимулятор роста для съедобных грибов [81]. При таком применении мицелиальная биомасса грибов повышалась на 30-35%, более того сокращалось время культивирования данных грибов.

Известен биопрепарат Биоплант-К на основе штамма бактерии рода *Klebsiella* (*K. planticola*, штамм ТСХА-91) [82]. Данный препарат рекомендован в качестве бактериального удобрения под овощные культуры. Благоприятное действие Биопланта-К на растения определяется присутствием в препарате азотфиксирующих, витаминпродуцирующих микроорганизмов. Применение данного препарата урожайность огурцов повысилась на 21-23 %, томатов и тыквы – на 31 %, картофеля – на 21 %.

Перспективным является применение биологических препаратов на основе комплекса микроорганизмов. Например, совместная инокуляция *Azospirillum lipoferum* и *Sinorhizobium meliloti* повышало урожайность люцерны в несколько раз [83]. А инокуляция семян комплексом из *Azospirillum* и *Rhizobium* увеличивала численность клубеньков у бобовых растений в 2-3 раза, способствовало повышению азотфиксации и улучшало минеральное питание. Также отмечалось более раннее формирование клубеньков на корневой системе [84].

В современном сельском хозяйстве перспективным также является совместное использование ассоциативных азотфиксирующих бактерий и микоризных грибов. В этом случае появляется симбиоз, в котором бактерия снабжает всех партнеров азотом, гриб-санитар убивает болезнетворные микроорганизмы и помогает растению всасывать воду и минеральные вещества, а растение обеспечивает микроорганизмы и грибы органическими веществами [85]. Примером такого симбиоза может служить искусственный симбиоз: сорго, флавобактерии и гриб *Glomus fasciolum*, при этом урожай сорго увеличивается на 50% .

По оценкам Международной организации было показано, что около 70% площади суши земного шара представлены малопродуктивными угодьями, производительность которых ограничена почвенно-климатическими, рельефными или хозяйственными условиями. С развитием агропромышленности и необходимостью повышения продуктивности повышается общее давление на продуктивность почв. По данным мониторинга было выявлено, что за последние полстолетия площадь данных почв уменьшилась до 300 млн.га, а утраченный углерод составил около 38.млрд. т. По мнению Шуляковской Л.Н. без привлечения природных малопродуктивных и деградированных земель данный вопрос решить сложно [86]. Одной из проблем понижения биологической активности почв является неразлагаемые пожнивные остатки, которые понижают урожайность сельскохозяйственных культур. Исследования Новиковой И.И. показывают, что в этих остатках обнаружены фитопатогены, которые несмотря на большое количество времени для восстановления остаются в почве и занимают большую часть микрофлоры почвы, около 75% [87].

В агропромышленности последние годы широко применяют ферментативные препараты такие, как американские биопрепараты AG-zyme и HC-zyme. Аналогичные препараты выпускает Украина, которые называются – Дорзин, Агрозин и Оксизин.

Исследования микробиологических препаратов таких, как нитрагин, ризоторфин, азотобактерин, фосфобактерин, показывают их высокую эффективность в повышении плодородия почвы. Данные биоудобрения не только повышают плодородие почвы, но также экономически выгодны так, как отпадает необходимость в большом количестве минеральных удобрений. Это понижает нагрузку на почву, а также сокращает время восстановления почвенных ресурсов [88].

По мнению Смирновой И.П. одним из популярных биологических препаратов являются препараты на основе микроскопического гриба триходерма [89]. В сельском хозяйстве он известен под названием Глиокладин, который является аналогом препарата Триходермин. Микроскопический гриб триходерма обладает подавляющим воздействием на фитопатогены и является их прямыми конкурентами за растительные остатки.

Были созданы биопрепараты на основе штаммов клубеньковых бактерий, которые обладают способностью повышать урожайность зеленой массы сельскохозяйственных культур, таких как люцерна и эспарцета на 70-80%. Такими препаратами являются «Ризобифит» [90], в основу которого входит вермикулитная основа и 7,5-8 млрд.кл/г клубеньковых бактерий, и «Ризоторфин» [91], который содержит торфяную основу т 10-15 млрд. клеток клубеньковых бактерий.

Таким образом, можно сделать следующее заключение - рынок биопрепаратов ежегодно пополняется новыми видами продукции, адаптированными к различным типам почв и погодно-климатическим условиям местности. Приоритет в области разработок биопрепаратов экологического действия принадлежит России и США, при этом основу биопрепаратов составляют микроорганизмы различных таксономических групп [92]. Схема разработки биопрепаратов состоит из этапов выделения доминирующих групп микроорганизмов, селекции активных штаммов, изучения окислительной способности, оценке их влияния на окружающую среду, эффективности использования в условиях *in situ* и *ex situ*. Однако, несмотря на разнообразие рынка биопрепаратов, большинство из них приурочено к конкретным параметрам окружающей среды и в условиях аридного климата Казахстана неэффективны [93]. Особенности разработки и производства биопрепаратов для юга Казахстана связаны с влагодефицитом, высоким уровнем ультрафиолетового облучения и солесодержания в воде и почве [94]. Эти моменты становятся ключевыми препятствиями при попытке использования известных зарубежных и отечественных биопрепаратов для решения локальных экологических и сельскохозяйственных проблем на юге Казахстана.

1.3 Особенности биоконверсии отходов для промышленного культивирования водорослей

Микроводоросли играют важную роль в функции биосферы, являясь основой трофической системы. В современной биотехнологии все чаще используют водоросли в различных сферах таких, как производство кормов, удобрений, питательных добавок, получение биотоплива.

Культивирование микроводорослей в промышленных масштабах началась в Германии в середине прошлого столетия, технология была направлена на получение пищевых масел из диатомовых водорослей, к сожалению данная технология оказалась не эффективной [95]. В этот же период внимание ученых привлекли зеленые микроводоросли из родов *Chlorella* и

Scenedesmus, которые легко культивируются в промышленном масштабе и служат основой альгобиотехнологии в настоящее время [96]. Но, несмотря на многочисленные исследования, до сих пор технологические параметры выращивания микроводорослей требуют доработок или адаптации для каждого конкретного сырья или цели использования.

Полученная биомасса водорослей используется в сельском хозяйстве, в пищевой промышленности, парфюмерии, фармакологии, медицине и в других областях народного хозяйства. Хотя альгофлора в мире насчитывает более 40 тыс. видов, в биотехнологическом производстве наиболее перспективными считают представителей семейств *Chlorella* [97], *Dunaliella* [98], *Scenedesmus* [99], *Spirulina* [100-101]. Среди микроводорослей в производстве высокую продуктивность показали водоросли семейства *Diatomeae* и зеленые водоросли *Chlorophyceae*. Кроме этого путем генной инженерии и селекции получают новые перспективные штаммы микроводорослей, которые обладают высокой продуктивностью и полезными экзометаболитами. Так например *Botryococcus braunii* содержит более 70% углеводов от массы сухого вещества, имеет широкую экологическую амплитуду и значительный географический ареал распространения [102].

В настоящее время возросло количество публикаций о полезных свойствах экстрактов, полученных из морских водорослей. Многие современные биопрепараты содержат в себе биологически активные вещества из водорослей.

В медицинской биотехнологии одним из популярных направлений является поиск современных противоопухолевых препаратов на натуральной основе. По немногочисленным исследованиям альфлоры в медицине были получены результаты в которых доказано, что некоторые водоросли имеют свойства определять опухолевую активность и понижать распространение раковых клеток в организме. Японские исследователи выделили из бурых и зеленых водорослей экстракты, которые *in vitro* подавляли цитотоксическую активность в крови клеток мышиноного лейкоза L1210, при этом толерантны к здоровым клеткам. Препараты на основе экстрактов *Chlorella vulgaris* подавляло рост перевитой опухоли и стимулировало активность иммунной системы [103]. Аналогичные результаты показали и некоторые другие водоросли такие, как *Laminaria angustata* [104], *Westiellopsis prolifica* и *Eisenia bicyclis* Setchell [105], *Spirulina fusiformis* [106], *Dunliella salina* [107]. Некоторые виды водорослей имеют радиопротекторные свойства. Так, при добавлении в пищу лабораторным крысам *Dunaliella bardawil* было установлено, что организм освобождается от свободных радикалов, при облучении процент выживаемости и средний период жизни увеличивался по сравнению с крысами в контрольных вариантах [108].

Некоторые морские водоросли обладают гиполипидемическим свойством, понижают уровень жиров в организме, предотвращают возникновение ишемической болезни сердца. Проведены исследования водорослей *Phaeodactylum tricornutum*, *Skeletonema costatum* и *Chlorella stigmatophora* на

спазмолитическое действие в ЖКТ у крыс, получены положительные результаты. А препараты на основе *Laminariaceae* снижали артериальное давление у лабораторных крыс. В исследованиях по свертываемости крови были использованы БАВ, полученные из *Hypnea japonica* и *Spirulina platensis*, при приеме данных добавок понижалось тромбообразование у человека.

Исследования в области альгофлоры в иммунологии показали, что ряд водорослей *Dygenea simplex* и *Fucus vesiculosus*, *Schizymania pacifica*, *Nothogenia fastigiata* и *Cochlodinium polykrikoides*, *Spirulina platensis*, *Peyssonelia* проявляют противовирусную активность [109-110]. Такие водоросли, как *Chlorophyta*, *Phaeophyta* и *Rhodophyta* обладают бактерицидным действием в отношении *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* [111], *Acinetobacter Iwoffi* и *Esherichia coli* [112]. Есть исследования по применению *Caulerpa genus* в лечении дерматологических заболеваний, при местном применении структура кожных покровов улучшалась.

Популярны водоросли и в косметологии. Все чаще применяют различные вытяжки, экстракты, а иногда целые водоросли в производстве косметической продукции. Широко применяется водоросль ламинария в процедурах по восстановлению тонуса кожи, борьбе с растяжками и целлюлитом, а также при недостатке йода в организме. Спирулина является второй по популярности сине-зеленой водорослью, которую применяют при первых возрастных изменениях, повышении иммунитета и гидратации кожных покровов. При улучшении кожных покровов также популярны экстракты и масла их фукуса в микроионизированной форме, они повышают тонус кожи и помогают в борьбе с морщинами [113]. Плюсы данной косметологической продукции в том, что в основном она гипоаллергенна, содержит микро-и макроэлементы, органические соединения.

В агропромышленном комплексе микро-и макроводоросли применяют в основном в виде кормовых добавок. Известны исследования, где при добавлении суспензии *Chlorella vulgaris* в суточный рацион крупнорогатого скота продуктивность повысилась на 40%, сократился падеж молодняка, снизилась заболеваемость, повысилась усвояемость кормов [114].

Из за богатого биохимического состава бурые морские водоросли является уникальной кормовой добавкой. В птицеводстве ламинарию применяют при нарушении жизнедеятельности организма птиц, при несбалансированном кормлении. При добавлении ламинарии в количестве 3% от основной массы кормов, повысил выживаемость цыплят и яйценоскость кур [115].

В пищевой промышленности в настоящее время применяют около 160 видов водорослей. Основными потребителями водорослей являются население Азии и островов Тихого океана. Водоросли не только не уступают сельскохозяйственным растениям по составу, но и являются прекрасным источником витаминов и минералов. Наиболее широко потребляемыми водорослями являются сине-зеленые водоросли *Nostoc*, *Gleocapsa*, *Geotek*, *Mircocystis* [116], из них пекут хлеб, добавляют в еду, готовят салаты.

Микроводоросли спирулина, хлореллв применяется как высокоэффективная добавка к пище, которая повышает иммунитет, улучшает пищеварение.

Применение водорослей в качестве удобрения началось в середине XX века. Известны работы о влиянии сине-зеленых водорослей способны фиксировать свободный азот в почве и воде, которых необходим для продуктивного урожая риса [117]. Влияние водоросли *Torupothrix tenuis* на тест-растения риса, показало что длина листьев увеличилась на более чем 15%, а количество колосьев на 30%. Таким образом, общая урожайность с 1 гектара поля повысилась на 15%, то есть на 4,5ц. Многочисленные исследования данной водоросли на урожайность риса проводились при разных условиях и на разных почвах, в среднем прибавка урожайности за год составило 2%. При проведении сравнительного анализа водоросли *Tolypothrix tenuis*, культура была равнозначна внесению 71,8кг/га сульфата аммония.

Схожие опыты по повышению урожайности риса проводились в Индии с применением водоросли *Aulosira fertilissima* [118]. В опытном варианте в почву вносили измельченные водоросли и известь, было отмечено резкое повышение урожайности. В данных исследованиях показано, что сине-зеленые водоросли могут частично или полностью заменить минеральный источник азота.

В настоящее время начаты исследования азотфиксирующих сине-зеленых водорослей в Европе. Были разработаны методы культивирования *Nostoc punctiforme* и *Anabaena cylindrica*, при котором рост биомассы составил 7г/м² в сутки. Эти водоросли повышают урожайность риса и их азотное питание [119]. По результатам трехлетних исследований было отмечено повышение азота в почве, понижение количества фитопатогенов.

Исследования симбиоза культуры водорослей с добавлением мочевины показал, что водоросли повышают действие удобрений [120]. Возможно, что это связано со свойством сине-зеленых водорослей усваивать мочевину и накапливать за счет нее азотфиксирующую массу. При исследовании сине-зеленых и зеленых водорослей на накопление азота было выявлено, что *Anabaena nauculoides* фиксирует азот, в то время как *Chlorella pyrenoidosa* не накапливает, а снижает процессы окисления в почве и удерживают азот в почве.

В странах СНГ, в особенности Российскими учеными проводились опыты по внесению в дерново-подзолистую почву водорослей. Главной проблемой почв в СНГ является неполивное земледелие, не смотря на засушливую почву водоросли, показали хорошие результаты [121]. Было установлено, что препараты с водорослями лучше вносить под озимую культуру, в таком случае инокулят попадает во влажную почву и максимально раскрывает свои свойства. В описанных выше опытах на дерново-подзолистых почвах ощутимый эффект альгализации семян получался при внесении 130 г/га в полевых опытах, а в вегетационных опытах — от 10 до 100 мг сухой массы водорослей на 1 кг почвы, чаще всего 10—40 мг[122].

Анализ мобильности водорослей в почве после внесения показал, что биомасса альгофлоры лучше сохраняются лучше в ризосфере, чем в

прикорневой почве. К сожалению, поведение различных водорослей в почве еще полностью не изучены. Также не изучены взаимоотношения различных бактериальных препаратов, таких как азотобактерин и нитрагин, и культуры водорослей. Проведены исследования симбиотической системы сине-зеленых водорослей и водных растений *Azolla pinnata* и *A. caroliniana*, данный вид растений достаточно долгое время используют в повышении урожайности на рисовых полях. Были исследованы некоторые виды зеленых водорослей в сообществе с азотобактером, по результатам данный симбиоз показывал результаты превышающие результаты сине-зеленых водорослей [123]. Но до сих пор не полностью изучены типы почв под каждый вид водоросли, не разработана методика хранения и приемы внесения в почву биоальгопрепаратов.

При использовании водорослей в виде удобрений возникает вопрос в появлении конкуренции за минеральные вещества в почве. Были проведены опыты по изучению освобождение фосфора из клеток зеленых водорослей, применяя радиоактивный фосфор. Выяснилось, что доступный фосфор составляет 65.9% всего фосфора в составе водорослей [124]. В течение длительного времени фосфор в водорослях был более приемлем для проростков ячменя, чем полностью неорганический фосфор. Скорость поглощения фосфора из альгофлоры в первые 8—9 дней была ниже, чем из фосфорной кислоты, а затем повышалась и после 15—16 дней стала превышать скорость поглощения неорганического фосфора. По данным результатам можно сделать вывод, что краткосрочное введение в почву доступного фосфора или удобрений в клеточный материал почвенных водорослей — необходимый процесс, так как почвенные водоросли выводят доступный фосфор из сферы химического поглощения почвой и постепенно освобождают его для питания растения. В природе 82% общего фосфора водорослей остается в неорганической форме. Было доказано поглощение фосфора растениями риса из водорослевой массы. Ученые из России для определения мобильности ионов в почве применили радиоактивную серу и фосфор. При малом поливе мобильность воды не имела значения, основным материалом были корневые выделения, которые использовали водоросли. Эти водоросли, сепарированные от среды, вносили в новую культуру тест-растений, через 10 суток были обнаружены радиоактивные элементы в листьях новых проростков тест-растений. Таким образом, водоросли в почве перерабатывают корневые выделения растений, переработав их возвращают растениям [125].

По результатам исследований стало ясно, что влияние почвенных водорослей на высшие растения может быть прямым — продуктами своей жизнедеятельности и косвенным — действием на почву и ее микрофлору в корнеобитаемом слое [126]. Работами многих исследователей выяснено, что водоросли выделяют в окружающую среду различные вещества. Например, в фильтрах культуры *Oscillatoria splendida* были обнаружены многочисленные соли органических кислот. По некоторым данным в чистых культурах зеленых

водорослей *Scenedesmus*, *Chlorella* были обнаружены 2-12.5% общего ассимилированного углерода [127].

Исследования, проведенные на нескольких штаммах зеленых и сине-зеленых водорослей, показали, что внеклеточными продуктами водорослей в основном являются полисахариды. Кроме этого, было доказано что водоросли могут выделять в окружающую среду биологически активные вещества такие, как антибиотики, витамины, ауксины [128].

Таким образом, подытоживая аналитический обзор, можно сделать следующее заключение – водоросли являются космополитами и обитают во всех увлажненных экологических нишах, начиная от водоемов и заканчивая влажными субстратами, при этом необходимым условием для их размножения является достаточная освещенность, питательная среда и рН. Рынок биопрепаратов ежегодно пополняется новыми видами продукции, адаптированными к различным типам почв и погодно-климатическим условиям местности. Приоритет в области разработок биопрепаратов биотехнологического и агропромышленного действия принадлежит России, США и Японии, при этом основу биопрепаратов составляют микроорганизмы различных таксономических групп. Схема разработки биопрепаратов состоит из этапов выделения доминирующих групп микроорганизмов, изучения окислительной способности, оценке их влияния на окружающую среду, эффективности использования в условиях *in situ* и *ex situ*. Основная конверсия переработки природных субстратов при использовании альгофлоры направлено на удовлетворение, в основном, пищевых и медицинских потребностей. Особое место занимают водоросли в повышении плодородия почвы, при этом установлено, что совместное культивирование водорослей и высших растений могут положительно влиять на морфологические и физиологические характеристики растений, водоросли обладают лимитирующим действием на фитопатогены. Несмотря на разнообразие рынка биопрепаратов, большинство из них приурочено к конкретным параметрам окружающей среды и в условиях аридного климата Казахстана неэффективны. Особенности разработки и производства биопрепаратов для юга Казахстана связаны с влагодефицитом, высоким уровнем ультрафиолетового облучения и солесодержания в воде и почве. Эти моменты становятся ключевыми препятствиями при попытке использования известных зарубежных и отечественных биопрепаратов для решения локальных проблем производства биоудобрения на юге Казахстана.

2 ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.1 Объекты исследования

Объектами исследований были фосфорсодержащие отходы бывшего завода по производству фосфорных удобрений в г.Шымкент: шлаки, шламы и фосфорсодержащая осадочная вода. В настоящее время отходы складированы на территории ТОО «Кайнар» и занимают площадь 16,6га (рисунок 1).



А. Расположение фосфорсодержащих отходов на границе г.Шымкент, Б. ТОО «Кайнар», В. фосфорсодержащие шламы, Г. Фосфорсодержащие осадочные воды

Рисунок 1 - Место складирования фосфорсодержащих отходов в г.Шымкент (координаты точки отбора проб: с.д. 42.2703059, в.ш.69.7182539,276)

Цвет гранулированных и плотных отходов фосфорного производства варьирует от белого до черного, кислотность среды колеблется в пределах 6,0-7,2. В целях предотвращения возгорания фосфорсодержащих шламов под воздействием кислорода воздуха, их содержат во влажном состоянии. Осадочные фосфорсодержащие воды формируются из противопожарных вод и ливнево-осадочных вод, которые проходя через толщу шламов и шлаков, собираются в различных технических водоемах (рисунок 1, г).

Фосфорсодержащие шлаки и шламы - это отходы, получаемые в результате различных процессов переработки фосфорсодержащих сырьевых материалов, таких как руды фосфата, фосфориты или фосфатные удобрения. Шлаки образуются в результате плавления и охлаждения сырья, а шлами называются отходы, которые образуются при обработке жидкой фазы (например, фосфатных руд). Фосфорсодержащие шлаки и шламы обычно состоят из различных соединений фосфора, таких как фосфаты, фосфиды и оксиды. Они также могут содержать другие элементы, такие как кальций, магний, алюминий и железо, в зависимости от исходного сырья и процессов, вовлеченных в их образование. Шлаки и шламы, содержащие фосфор, имеют различные применения. Они могут использоваться в производстве фосфорных удобрений, а также в процессах отделения и концентрации фосфора. Фосфорсодержащие шлаки также могут быть использованы в производстве строительных материалов, таких как цемент. Кроме того, шлаки и шламы могут быть подвергнуты дальнейшей переработке для получения ценных элементов, таких как редкоземельные металлы.

Кроме того, для проведения сравнительного анализа альгофлоры и изучения особенностей распространения зеленых микроводорослей в природных водоемах юга Казахстана в качестве объектов исследования были выбраны малые реки: Келес, Арысь, Машат, Кушата, Кошкар-Ата, Бадам.

Река Келес и ее ответвление - правый приток Сырдарьи. Длина реки – 241 км, площадь бассейна - 3310 км. Река берет начало с хребта Каржантау и г. Казыгурт, впадает в р. Сырдарью в районе Шардаринского водохранилища. Питание реки смешанное, преимущественно снеговое. Средний расход воды в истоке - 6 м/сек. Ледовые явления с ноября по март. Бассейн реки Келес и ее ответвления Куруккелес занимает территорию между хребтами Казыгурт и Каржантау и открыт на юго-запад. Берега реки обильно покрыты зарослями тростника южного (рисунок 2). Воды мутные со слабым течением.



Рисунок 2 - Река Келес (координаты отбора проб:
41.500499,69.2562243,140)

Река Арысь является основной рекой бассейна и протекает в западном направлении. Арысь правый приток Сырдарьи. Длина реки - 378 км, площадь бассейна - 14 900 км². Истоки Арыси и её многочисленных притоков расположены в хребтах Таласский Алатау и Каратау. Относится к рекам снегово-дождевого питания. Река Арысь образуется в точке слияния двух её истоков: правый питается светлыми родниками с холодной водой, вода левого истока изначально мутная. На всем протяжении в нее впадает значительное число притоков - горных рек ледникового и смешанного снеголедникового и родникового питания. Правые притоки реки Арысь, берущие начало в хребте Каратау на высоте 1000 - 1500 м, в засушливое летнее время нередко высыхают, а весной, в период таяния снегов и ливней, сток носит селевой характер. Левобережные притоки (реки Жабаглы, Машат, Аксу, Сайрамсу, Бадам, Акжар, Каскасу, Кайнар, Тогуз, Наутсай и др.) питаются также и ледниковыми водами, поэтому в верхнем и среднем течении они еще многоводные, затем все их воды разбираются многочисленными оросительными каналами и только воды рек Тогуз и Бадам забираются в водохранилища (рисунок 3).



Рисунок 3 - Река Арысь (координаты отбора проб:
42.7762209,68.2862915,274)

Река Машат является левым притоком реки Арысь и правого притока Даулбаба, протяженностью около 20-25км, начинаясь от 2-3км к востоку от автомагистрали Термез-Алматы. Долина реки Машат начинается двумя ущельями- каньонами рек Даулбаба и Машат, ширина их от 5-6 до 30-40м, с крутыми скалистыми склонами, высотой от 120-150м (внизу) до 200-250 метров в верховьях. После слияния рек, долина расширяется до 150-200 иногда 300 метров, склоны обоих бортов также крутостенные (от 70 до 90), скалистые. Река в течение всего года многоводная, питается источниками подземных вод, а в весенне-осенний период и атмосферными осадками. Максимальные расходы реки приходятся на апрель, минимальные - на август-сентябрь. В селении Кельтемашат, расположенном в нижнем течении на правом берегу Машат, имеется один из крупнейших в Южном Казахстане подземных источников, известный в литературе как Кельтемашатский источник. Дебит родника доходит до 4000 л/сек. Воды трещинно-карстовые, пресные, гидрокарбонатные кальциевые с минерализацией 0,3-0,5 г/л (рисунок 4).



Рисунок 4 - Река Машат
(координаты отбора проб: 42.5823231,69.843542,275)

Река Бадам пересекает южную часть города Шымкента в субширотном направлении (рисунок 5). Истоки её находятся в хребте Каржантау (высшая точка 2500м), с общей длиной около 150 км. Устье реки находится в 70 км к западу, где она впадает в р. Арысь. В юго-восточной части в р. Бадам впадает ее правый приток река Сайрамсу.



Рисунок 5 - Река Бадам
(координаты отбора проб: 2.3090768,69.5374235,390)

Река Кошкар-ата начинается из крупного подземного источника в центре города Шымкент и пересекая весь город через 12км впадает реку Бадам. Характеристика водостока по гидрологическим признакам является однородным на всем протяжении реки. Течение умеренное, русло в ширину от 5 до 12 метров, дно песчано-илистое. Температура воды у истоков около 8-14⁰С, но в других точках реки температура воды колеблется от 5-20±2,2⁰С до 3-25±1,1⁰С. В ходе изучения сезонной динами гидрохимических и гидробиологических показателей воды из данной реки пробы были отобраны в 4 основных точках таких, как исток, ул.Туркестанская, проспект Республики и микрорайон Янги-Шахар. (Рисунок 6).



Рисунок 6 - Река Кошкар ата (координаты точки отбора проб: 42.3053146,69.6057962,138)

Река Кушата берет начало в предгорной части Западного Тянь-Шаня в районе г. Кентау. Малая река, периодически разделяющаяся на рукава с каменистым дном и бурным течением в районе мелководий. Глубина реки колеблется от 1,0-1,5 м до 0,5- 1,0 м. Берега реки обильно покрыта зарослями лоха серебристого, тростника южного, рогоза пузырчатого (рисунок 7). Воды реки используются местными жителями поселков Кушата, Урангай для полива

и водопоя крупного рогатого скота. В настоящее время река испытывает рекреационную нагрузку, что проявляется в загрязнении вод реки твердыми бытовыми отходами.



Рисунок 7 - Река Кушата (координаты точки отбора проб: 43.4396853,68.4254885,271)

В качестве тест-растений использовались такие овощные культуры, как плодовоовощные культуры (томат (*Solanum lycopersicum*), огурец (*Cucumis sativus*)), листовые культуры (базилик (*Ocimum sp.*)), корнеплодные культуры (редька (*Raphanus sativus*)), зернобобовые культуры (кукуруза (*Zea mays*)) (рисунок 8).

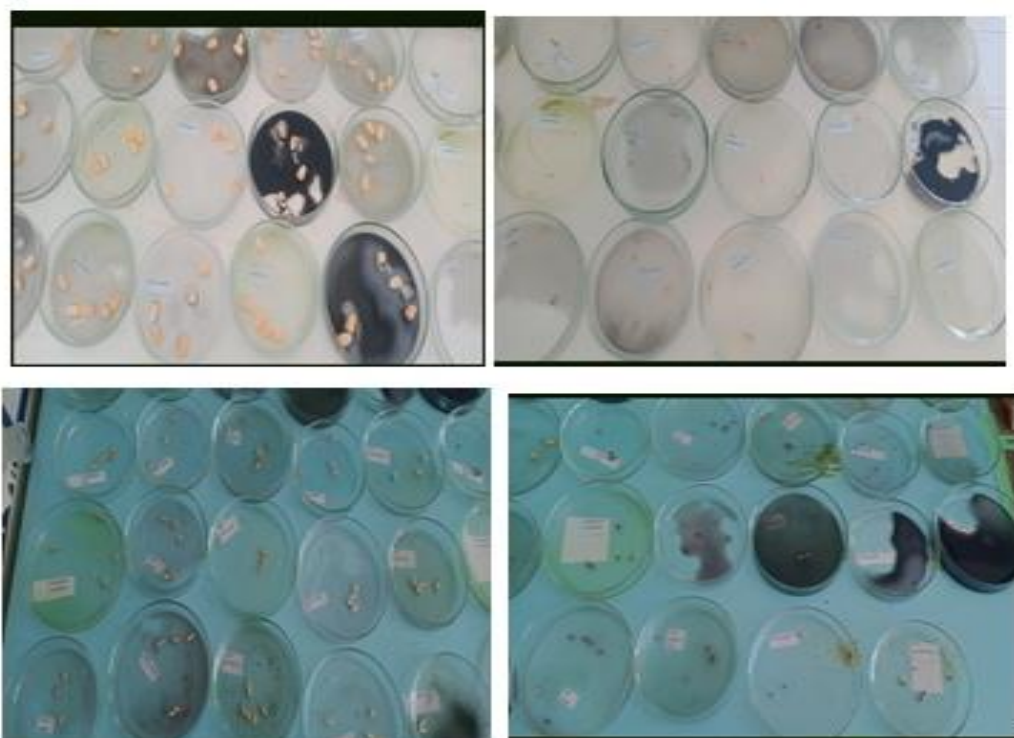


Рисунок 8 - Семена тест-растений после выборки и погружения в растворы с различным процентным содержанием фосфорсодержащих отходов и водорослей

2. 2 Методы исследования

Методика отбора проб. Пробы воды отбирались согласно методическим руководствам (ГОСТ 18826-73, 4388-72, 18293-72, 18309-72, 4245-72, 3351-74, 4979-49, 4151-72 и 18293-73) (рисунок 9).



Рисунок 9 - Процесс сбора фосфорсодержащих сточных вод на ТОО «Кайнар»

Элементарный состав отходов определялся с помощью ICP, объемно-весовые параметры и структура посредством электронно-растрового микроскопа марки JSM 649LV Jeol (Япония). Микроанализ был проведен с помощью микродисперсной системы марки INCA Energy 350 OXFORD Instruments (Великобритания), анализ на территории HKL Basis был реализован с использованием системы поликристаллического анализа.

Микроскопирование препаратов проводилось с помощью микроскопа «Биомед-5» с объективом 10×; 40×; 100× с использованием иммерсионного масла (ГОСТ 28489-90). Изучение пробы воды осуществлялось при помощи препарата «раздавленной капли». При этом были использованы обезжиренные покровные и предметные стекла размером соответственно 75×25 мм и 18×18 мм, пипетки на 1 и 2 мм. Для изучения подвижных гидробионтов был применен слабый раствор KI с целью их фиксации.

Таксономический анализ проводился на основе определителей [129]. Для видеофиксации изучаемых объектов использовался фотоаппарат (Samsung Digimax S600).

Микроорганизмы выращивались на соответствующих жидких и твердых селективных средах. При микробиологических посевах применялись методы Коха, Новогрудского, «истощающий посев», предельных десятикратных разведений. Чистые культуры выделялись на скошенном питательном агаре. Питательные среды и микробиологическая посуда стерилизовались согласно условиям в бактериологическом автоклаве (СПГА-100-I-НН). Культивирование микроорганизмов проводилось в термостате с программируемой температурой (ТС 1/80). Все микробиологические посева осуществлялись в предварительно

подготовленном микробиологическом боксе. В качестве элективных сред были использованы (ГОСТ Р 51758-2001):

Среда Чапека для микромицетов следующего состава, г/л: сахароза – 30,0 г; KH_2PO_4 – 1,0 г; $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,5 г; NaNO_3 – 3,0 г; KCl – 0,5 г; $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,01 г; агар – 20 г.

Среда РПА для гетеротрофных бактерий следующего состава, г/л: панкреатический гидролизат кильки – 10,05 г; NaCl – 4,95 г.

Среда Эшби для азотфиксирующих микроорганизмов следующего состава (г/л): $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$ – 2,0 г; K_2HPO_4 – 0,2 г; $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,2 г; NaCl – 0,2 г; K_2SO_4 – 0,1 г; FeSO_4 – 2 капли 1%-ного раствора; CaCO_3 – 0,5 г; агар – 20,0 г.

Среда Тамия: KNO_3 – 5,0; $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ – 2,5; KH_2PO_4 – 1,25; $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,003; Раствор микроэлементов – 1 мл, ЭДТА – 0,037

Состав среды Прата (г/л): KNO_3 – 0,10; $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,01; K_2HPO_4 – 0,01 $\text{FeCl}_3 \times 6\text{H}_2\text{O}$ – 0,001 агар-агар – 12 г

Среда ИТА, г/л: фосфорсодержащие шлаки – 10; KNO_3 – 0,10 $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,01. Были отобраны фосфорные шлаки в составе, которых было, г/л: P_2O_5 – 0,23, азот – 0,06, калий – 0,04. Шлаки измельчались в механическом измельчителе до 0,1–0,2 мм.

В контрольном варианте для полива тест-растений была использована водопроводная вода. В опытных вариантах были использованы различные процентные растворы фосфорсодержащих отходов и водорослей.

Таксономическую принадлежность бактерий проводили по «Определителю бактерии Берджи», микромицетов по «Определителю патогенных и условно патогенных грибов». Морфология микромицетов определялись по колониям на чашках Петри. При описании колоний учитывались форма, поперечный срез, края, текстура, цвет, пигментная диффузия на агаре.

При подготовке питательной среды применялись весы марки «Scout-Pro» (ГОСТ 24104-2001), а при стерилизации использовался автоклав марки СПГА-100-1-НН № 141 (Приложение А, рисунок 1). Для определения бактериального титра, полученный после квартования образец, объемом 1 г, размешивался в 100 мл воды на встряхивателе в течении 30 минут. Полученную суспензию разводили в питательной среде методом 10-кратного разведения. 1 мл суспензии образца культивировали на питательную среду. Культивирование микроорганизмов проходило при 25⁰С в течение 7 суток.

Лабораторная посуда и питательные среды стерилизовались в автоклаве (СПГА-100-1-НН № 141). Подсчет колоний проводился через 72 ч.

Культивирование водорослей производилось в стерильном боксе на твердых питательных средах Майерса и Прата (Приложение А, рисунок 2). Инкубация посева, произведенного на жидкую питательную среду, осуществлялась на световых стеллажах (№ ГС-1/80 СПУТУ 9452-002-00141798-97) при температурном режиме +23+25 °С. Накопительная культура микроводорослей выращивалась на световых стеллажах в пластиковой посуде, объемом 5 литров, при температуре +23+25 °С с постоянной

аэрацией. Содержание в водной среде ионов Pb^{2+} , Cd^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} определяли на комплексе СТА – 1, по методу инверсионной вольтамперметрии и атомно-адсорбционному методу на спектрофотометре ААС 1. Ионы хлоридов, сульфатов, нитратов и нитритов фотоколориметрическим методом на фотомере КФК -3-01-ЗОМЗ и ионометрическим методом на иономере И-500.

Подготовка процентных суспензий проводилось согласно ГОСТ 4517-87. Были подготовлены 5,0 об.%, 10,0 об.%, 15,0 об.% и 20,0 об.% суспензии шлака и шлама, в которых в течение 7 суток культивировали штаммы микроводорослей. В исследованиях использовались среда Прата и среда ИТА с добавлением фосфорсодержащих отходов (10,0±0,1 г фосфорсодержащих отходов было добавлено вместо 10,0±0,1 г калия фосфорнокислого двузамещенного). Культивирование проводилось в течение 7 суток при температуре +23,0±1,0⁰С с 12-ти часовым световым днем. Исследования на устойчивость водорослей к высоким концентрациям фосфорсодержащих шлаков проводили на базе ООЭО «Биос» (Акт внедрения №386 от 16.06.2023).

Для посева тест-растений использовали одноразовые пластиковые стаканы с 50,0±0,1 г стерильного вспученного вермикулита, куда высаживались откалиброванные семена тест-растений, инокулированные хлореллой (Приложение А, рисунок 3). Для поддержания влагообмена стаканы плотно закрывали пленкой. Исследования на открытом грунте проводились на базе СПК «Nomadagrogrou» (Акт внедрения №385 от 16.06.2023).

Морфометрические данные: длина растений, стебля и корней; показатели массы измеряли линейкой и на аналитических весах. Количество листьев на всходах подсчитывались визуально.

Качественный состав липидных экстрактов микроводорослей проводили методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) с применением гексаг-этиловый эфируксусная кислота (80:20:1) в качестве элюента. Анализ состава липидов проводили методом ГХ/МС на приборе Agilent 7000В в Департаменте химии Познаньского университета им.А.Мицкевича.

Статистическая обработка полученных результатов проводили с применением вычисления среднего арифметического значения и величины стандартного отклонения. Все исследования проводились в 5-ти кратной последовательности. Данные обрабатывались с помощью персонального компьютера на базе пакетов прикладных программ «Excel».

3 Результаты исследования и их обсуждение

3.1 Закономерность распространения зеленых микроводорослей в малых реках Туркестанской области, перспективных для использования в биоудобрении

На формирование альгоценозов области влияют различные природные факторы как гидрологические, гидротермические и гидрохимические параметры водотока, которые сильно варьируют от географически-ландшафтного уровня местности, по которой протекают исследуемые реки. Кроме того, в этом же направлении растет уровень антропогенной нагрузки на водоемы, который связан с хроническим поступлением сточных вод из населенных пунктов, сельскохозяйственных угодий и промышленных предприятий. Антропогенное поступление тяжелых металлов в окружающую среду резко возросло за последнее столетие, что связано не только с непрерывно растущими объемами производства металлов, но и эрозионными процессами, происходящими в районах складирования минеральных и техногенных отходов [129-130]. Распределение химических элементов в природных средах определяется многими факторами. Даже в отсутствии внешней антропогенной нагрузки содержание химических элементов и их соединений в природных субстратах зависит от их состава, а также естественных условий, обуславливающих накопление и миграцию вещества. Среди них определяющими являются метеорологические, ландшафтно-геохимические условия, условия водной миграции в гипергенных условиях, распределение элементов в средах определяется также физико-химическими процессами: диффузией, инфильтрацией, механическим переносом, биохимическими и химическими реакциями. В естественных условиях при сложившемся относительном равновесии процессов, происходящих в природе, скорость изменения содержаний элементов практически не заметна.

В промышленных районах в условиях истенсивной антропогенно нагрузки на окружающую среду нарушается естественное равновесие во всех геосферах [131]. При изучении ареалов распространения зеленых микроводорослей в малых реках юга Казахстана были проведены гидрохимические и гидробиологические исследования, исследовано влияние антропогенного пресса на изменение структуры альгофлоры. Гидрохимические исследования проводились с целью определения характера загрязнения водной среды, гидробиологические исследования преследовали цель – изучение влияния техногенной нагрузки водоема на формирование специфических гидроценозов. Размеры и интенсивность формирующихся при этом ореолов загрязнения определяются гидрогеологической, геологической и ландшафтно-геохимической ситуацией в районе, что было показано, например, для одного из горно-добывающих регионов Армении [132]. Одним из наиболее существенных факторов загрязнения водных ресурсов являются свалки техногенных и бытовых отходов, которые часто окружают производственные площади, разливы ГСМ, рассеяние промышленных материалов от коммуникаций и т.п., где возможно формирование устойчивых металлорганических соединений [133].

При проведении гидробиологического обследования водоемов нельзя не учитывать роль высших водных растений, которые формируют экологические биотопы, структура которых сильно варьирует от химического состава воды, как следствие, меняется и структура альгопопуляции таких биотопов.

Водные макрофиты малых рек Туркестанской области представлены такими видами как *Cerathophyllum demersum*, *Lemna minor*, *L. trisulca*, *Phragmites australis*, *Epilobium adnatum*, которые являются эффективными фитомелиорантами, значительно снижающие содержание основных загрязнителей в водоемах [134]. Тяжелые металлы являются одними из загрязнителей окружающей среды, которые оказывают серьезное воздействие на окружающую среду. Анализ гидромакрофитов, произрастающих в малых реках юга Казахстана с различным содержанием солей тяжелых металлов, показал, что морфометрические показатели одних и тех же видов растений существенно различаются в зависимости от уровня общей минерализации водной среды в разных реках Туркестанской области. Было установлено, что два вида растений могут быть использованы для биоиндикации содержания ионов свинца в водной среде: *Azolla caroliniana* Willd. и *Veronica beccabunga* L., которые необходимо вводить в тестируемые водные растворы в количестве $1,0 \pm 0,1$ кг/м³ и $1,8 \pm 0,1$ кг/м³ соответственно, чтобы полностью покрыть толщу воды на разных глубинах. Первые морфологические изменения в растениях, в виде разрушения структуры хлоропластов по краям развернутых листьев у *Azolla caroliniana* Willd. и легкое увядание нижних подводных листьев у *Veronica beccabunga* L., происходят уже при содержании Pb²⁺ в воде 1,5 мг/л, и дальнейшее увеличение содержания ионов свинца в воде до 600,0–800,0 мг/л приводит к гибели растений [135]. Кроме того, было обнаружено, что и водоросли можно использовать в качестве индикаторов загрязнения водной среды. Например, известен способ сравнительной оценки качества водной среды по содержанию тяжелых металлов [136], согласно которому собирают макрофиты и подготавливают пробы для определения в них содержания тяжелых металлов. В качестве биоиндикатора используют микроводоросли эпифитона. Для повышения точности способа микроводоросли эпифитона тщательно смывают с талломов макрофитов и фильтруют, используя капроновый фильтр с диаметром не более 100 мкм. Отфильтрованную пробу отстаивают, затем осадок количественно переносят в фарфоровую чашку и высушивают при $85,0 \pm 1,0$ °С, позднее сухой остаток растворяют в азотной кислоте и выпаривают. Содержание тяжелых металлов в пробе проводят методом атомной адсорбции. Полученные данные сравнивают с данными условно-фонового района. Или оценивают уровень загрязненности водной среды с помощью микроводорослей в течение суток, при этом, водоросли инкубируют в морской среде в течение суток, затем извлекают, отжимают, биомассу высушивают до постоянной массы, озоляют, фильтруют, растворяют [137]. В конечном итоге, определяют содержание тяжелых металлов в зольной массе. Модификацию данного способа можно

вполне использовать как способ очистки водных растворов от тяжелых металлов.

Закономерность распространения водорослей в водоемах ГО зависит от ряда факторов, как химический состав воды, общая минерализация, температурный режим и погодно-климатические параметры. Исследования показали, что по гидролого-гидрохимическим характеристикам малых рек Туркестанской области можно выделить основные биотопы с такими критериями как:

- 1) чистые воды с пониженной температурой;
- 2) воды, загрязненные минеральными ионами с умеренной температурой;
- 3) воды, сильно загрязненные минеральными и органическими веществами с умеренной температурой.

Методологически единая экогеосистема Туркестанской области представляет собой совокупность функционально связанных между собой всех природных сред (почвенного покрова, наземных и подземных вод, воздушного бассейна, биосферы). Ее современное экологическое состояние связано с общей техногенной нагрузкой на регион и с особенностями воздействия на эти среды выбросов свинцового завода (в период его функционирования) и связанных с ними производств (отходов производства, систем водоотведения и т.д.). Учитывая специфику развития промышленности на территории Туркестанской области, приоритетными загрязнителями почв региона являются органические загрязнители, группа биогенных элементов как азот, фосфор, калий; тяжелые металлы: свинец, цинк, медь, мышьяк, кадмий.

Исследования показали, что основными источниками загрязнения малых рек Туркестанской области является сброс твердых и жидких отходов от населенных пунктов, поверхностные стоки с сельскохозяйственных площадей и промышленных предприятий. Состав загрязнителей представлен нитратами, нитритами, сульфатами, нефтепродуктами, хлоридами, ионами свинца, цинка, магния и других тяжелых металлов, содержание которых местами превышает ПДК в 1,5-5,0 раз. Например, загрязнение реки Келес происходит из-за сброса в воды сточных вод животноводческих комплексов. Воды р. Бадам постоянно загрязняются ионами свинца и цинка из-за водно-ветровой эрозии в районе складирования свинцово-цинковых шлаков в Абайском районе. Река Кошкар-Ата со своей уникальной траекторией течения через весь г.Шымкент, загрязняется органическими ингредиентами в районах частных жилых массивов.

Антропогенное загрязнение природной среды зоны влияния производств на территории области имеет весьма сложный и многоплановый характер, что обуславливается наличием на исследуемой территории многих источников загрязнения. Основным местом депонирования газопылевых выбросов является верхний слой мощностью 1-2 см почвенного покрова, который не только разделяет две принципиально различные среды, но и играет важнейшую роль в определении дальнейших путей миграции при накоплении элементов антропогенных выбросов. Слой осаждения атмосферных выпадений является индикатором, фиксирующим

общую картину загрязнения территории и позволяющий на современном приборно-аналитическом уровне наметить основные тенденции и закономерности распределения в результате производственно-хозяйственной деятельности ряда элементов, которые не свойственны почвам в естественных ландшафтах в наблюдаемых концентрациях.

Анализ таксономической структуры фитопланктона малых рек Туркестанской области показал, что альгоценоз водоемов представлен водорослями отделов *Chlorophyta* на $47,0 \pm 4,5\%$, *Cyanophyta* - $27,2 \pm 2,5\%$, *Diatomophyta* - $26,1 \pm 2,1\%$ [138]. Основными, распространенными семействами водорослей являются *Naviculaceae*, *Fragillariaceae*, *Anabaeaceae*, *Nitzschiaceae*, *Oscillatoriaceae*. Наибольший диапазон разнообразия характерен для родов *Cocconeis*, *Navicula*, *Nitzschia*, *Synedra*, *Scenedesmus*, *Tetraedron*. Лимитирующим фактором для разнообразия состава альгофлоры является температура окружающей среды. Большая часть исследований была приурочена к летнему периоду и началу осеннего сезона – середине вегетационного периода. Характер сезонных изменений состава сообщества и уровня развития фитопланктона в реках Туркестанской области в разные вегетационные сезоны имел значительные различия. Например, диатомовые водоросли преобладали в весенние, осенне-зимние периоды при температуре воды $15,0 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$, зеленые и сине-зеленые водоросли в теплые периоды при температуре воды $20,5 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$ (рисунок 10). В начале летнего периода, после пика роста численности диатомовых водорослей, средняя численность фитопланктона резко снизилась. Доминирующие в весенний период виды диатомовых замещались представителями отдела *Chlorophyta*. В осенний период массового развития цианобактерий не наблюдалось. Это можно объяснить относительно невысокими температурами, а также пониженным содержанием биогенных элементов.

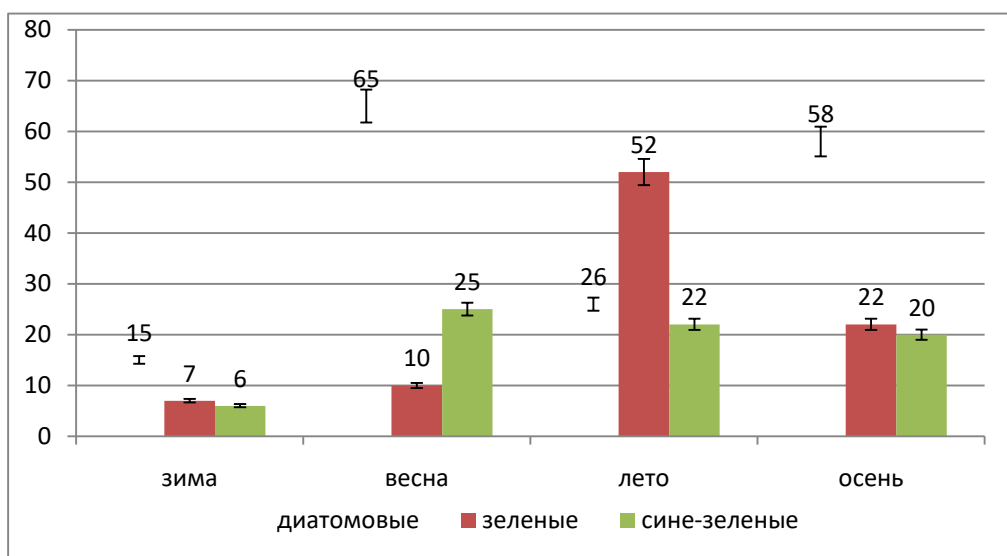


Рисунок 10–Сезонная динамика распространения водорослей в водоемах юга Казахстана

Альгологическое обследование ряда малых рек Туркестанской области выявило зависимость изменения структуры альгопопуляции от уровня загрязнения водоемов.

Река Кушата, из исследуемых рек, относится к самым чистым с ИЗВ $0,95 \pm 0,13$. Содержание основных элементов находится в пределах ПДК. Локальные загрязнения органическими примесями из-за аэрации и инсоляции незначительны. Основными загрязнителями водной среды являются ионы магния и сульфаты, определяющие жесткость воды, содержание которых не превышает значений ПДК. Незначительное содержание органических веществ и низкая температура воды являются лимитирующим фактором для скорости биохимических процессов с показателями БПК₅ – от $0,6 \pm 0,03$ мг O₂/дм³ до $1,05 \pm 0,04$ мг O₂/дм³ и при формировании альгоценозов, адаптированных к таким условиям. Как закономерность, в водах реки единично отмечены 2 вида диатомовых водорослей, 2 вида зеленых водорослей и представители 7 видов протозоофауны. В небольших лагунах обнаружены скопления *Spirogyra sp.* Река, несмотря на температурные колебания, промерзает до $6,0 \pm 0,5$ см, однако, возможно, из-за минерализации сохраняет оптимальные условия для жизнедеятельности гидробионтов. Поэтому колебания по сезонной численности организмов – гидробионтов не резкие (рисунок 11). Сохраняют жизнедеятельность диатомовые водоросли и амёбы.

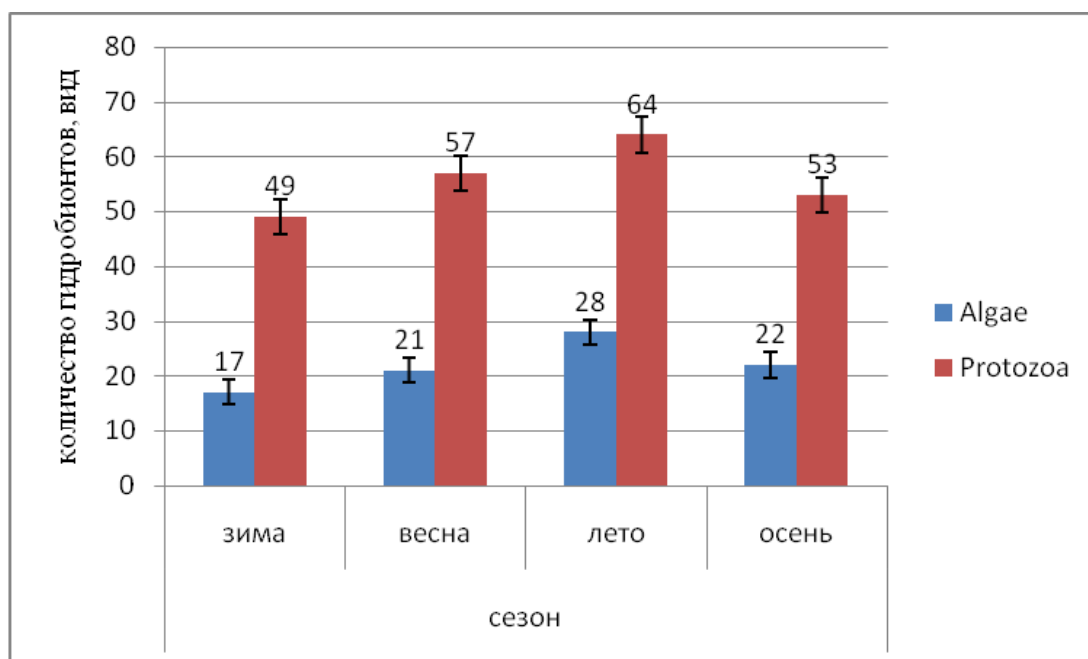


Рисунок 11 – Сезонные показатели изменения количества гидробионтов в р.Кушата

Река Бадам с ИЗВ $3,80 \pm 0,14$, соответствующие второму биотопу, протекает через производственные районы Туркестанской области и загрязняется ионами тяжелых металлов, фосфатами, сульфатами и хлоридами. Колебания температуры воды значительные, в зимние месяцы от $2,5 \pm 0,2$ °C, в летние – до $17,0 \pm 1,5$ °C. Так, в результате проведенных исследований была

установлена сезонная динамика колебаний содержания тяжелых металлов в воде р. Бадам, связанная с поступлением поверхностных ливневых стоков с территории АО «Южполиметалл» (ЮПМ). У устья реки гидрохимические показатели вод соответствуют пятому классу чистоты – грязные, что впоследствии определяет качество вод р. Бадам. В средней части реки воды классифицируются как умеренно загрязненные. Было установлено, что в теплый период содержание меди, цинка и свинца в водах р. Бадам превышает ПДК в $2,4 \pm 0,2$ раза (Таблица 1). В данном водоеме обнаружены *Chlorella vulgaris*, *Chlorococcus sp.*, *Spirogyra sp.*

Таблица 1 - Гидрохимические показатели вод р.Бадам

Ингредиенты	Значения ПДК, мг/л	Показатели, мг/л
Нитраты (по N)	$9,1 \pm 0,43$	$23,1 \pm 1,3$
Нитриты (по N)	$0,02 \pm 0,0$	$0,04 \pm 0,001$
Аммоний солевой	$0,5 \pm 0,02$	$1,31 \pm 0,1$
Нефтепродукты	$0,3 \pm 0,02$	$0,1 \pm 0,02$
Фенолы	$0,001 \pm 0,0$	$0,00 \pm 0,0$
Фториды	$0,05 \pm 0,001$	$0,001 \pm 0,0$
Магний	$0,00 \pm 0,0$	$9,43 \pm 0,43$
Цинк	$1,0 \pm 0,1$	$5,93 \pm 0,43$
Ртуть	$0,0005 \pm 0,0$	$0,00 \pm 0,0$
Медь	$1,0 \pm 0,1$	$4,79 \pm 0,11$
Свинец	$0,003 \pm 0,0$	$0,008 \pm 0,001$
Кадмий	$0,001 \pm 0,0$	$0,004 \pm 0,0$
БПК ₅ , мг O ₂ / л	$3,0 \pm 0,1$	$2,76 \pm 0,11$

Результаты анализов показали, что ввода участка реки на границе города содержание тяжелых металлов не превышает значений ПДК. Основное загрязнение представлено нитратами - $11,5 \pm 1,1$ мг/л и нитритами $0,04 \pm 0,00$ мг/л, которые поступают в реку с водами рек Тогус и Ленгерсай. Наиболее грязный участок реки, протекающий по территории промышленной зоны АО «Южполиметалл», где отмечается превышение концентрации загрязнителей по ПДК: сульфаты- в $3,2 \pm 0,3$ раза; нитриты – в $2,1 \pm 0,2$ раза; магний – в $2,0 \pm 0,1$ раза; свинец – в $3,5 \pm 0,3$ раза, кадмий – в $3,0 \pm 0,2$ раза и цинк – в $3,5 \pm 0,2$ раза. Содержание органических веществ скачкообразно повышается после поступлений вод р.Кошкар-Ата.

По результатам альгологического исследования было установлено, что в пробах преобладают диатомовые водоросли: *Microcystis sp.*, *Navicula lanceolata*, *Pinnularia sp.* Из нитчатых макроскопических водорослей был обнаружен вид *Spirogyra porticalis*. Протозоофауна представлены видами *Aspidisca costata*, *Euplotes patella*, *Bodo lens*, *Stylochya mytilus*, из беспозвоночных единично отмечены малощетинковые *Aelosoma tenebratum* и круглые черви *Nematoda sp.* Изучение сезонной динамики изменения численности простейших и альгофлоры показало, что наибольшее количество видов встречается в летний

период, когда отмечены высокие показатели температуры воздуха и воды (рисунок 12).

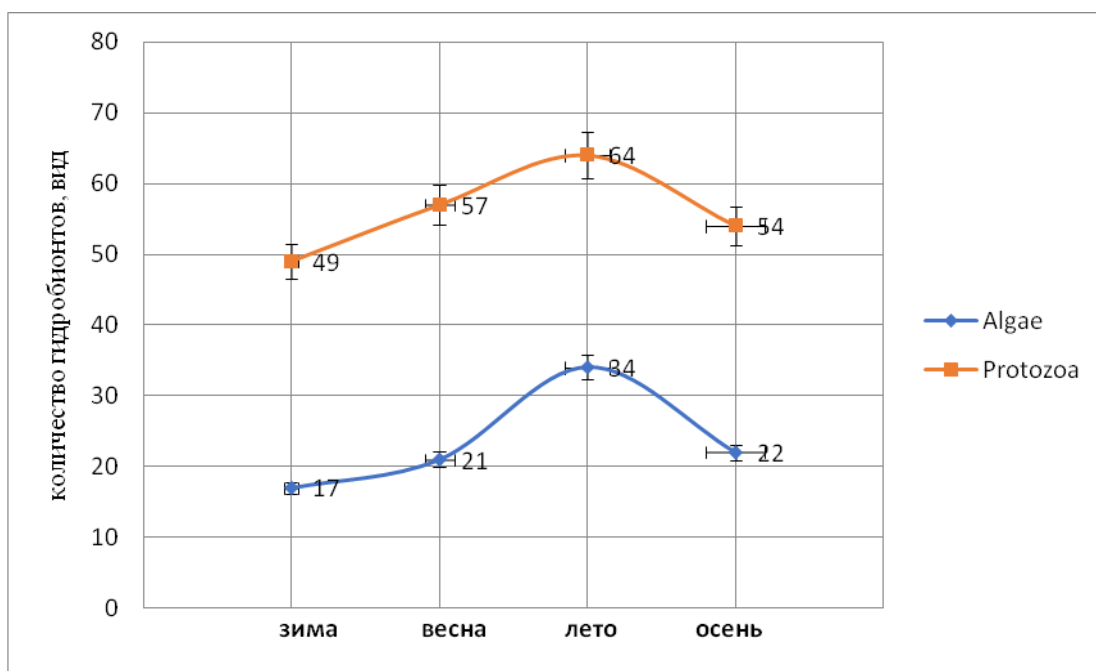


Рисунок 12 - Сезонная динамика численности организмов-гидробионтов в воде р.Бадам

По результатам альгологического исследования реки Арысь с ИЗВ $2,1 \pm 0,1$, отнесенного к умеренно загрязненным водам. Также, было установлено, что воды бассейна реки Арысь загрязнены, в основном, ионами магния, меди, цинка, нитритами, ионами аммония и нефтепродуктами, среднегодовые концентрации которых превышают норму ПДК в 5,1 раз (Рисунок 13). В соответствии с показателями индекса загрязненности от $0,3 \pm 0,01$ до $2,8 \pm 0,2$, воды р. Арысь относятся к третьему классу чистоты - умеренно - загрязненные. Уровень загрязненности вод реки Арысь возрастает по мере принятия вод основных ее притоков. По мере увеличения количества впадающих в нее притоков меняются количественные и качественные показатели загрязненности вод, которые также варьируют по сезонам года. Гидробиологический анализ показал, аналогичные результаты с рекой Бадам. Так, в пробах были обнаружены в большом количестве *Microcystis sp.*, *Navicula lanceolata*, *Pinnularia sp.* Из зеленых водорослей преобладала только *Spirogira sp.*

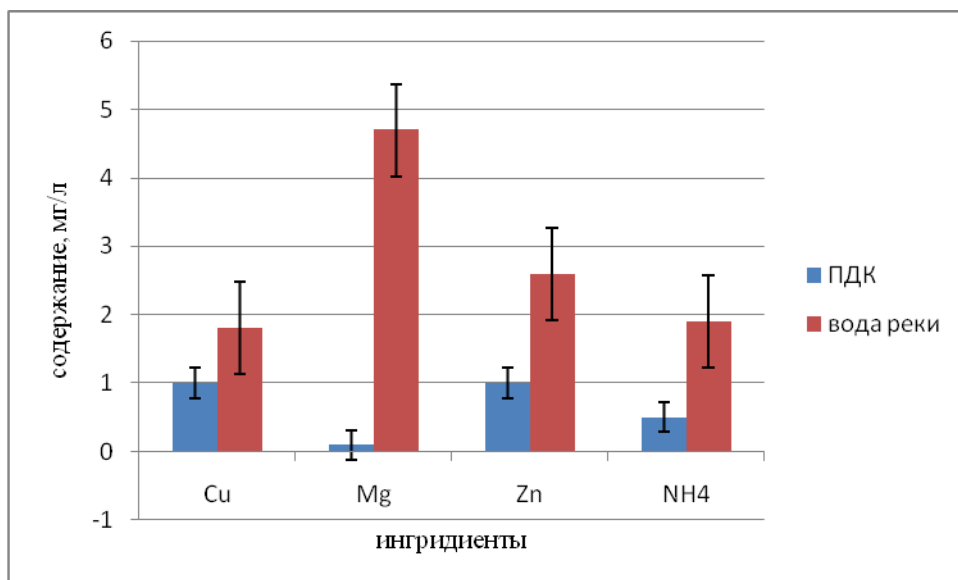


Рисунок 13 - Показатели загрязнения реки Арысь в начальном участке

В среднем течении реки, основными загрязнителями вод являются нитраты, обнаруженные в количестве $52,3 \pm 4,1$ мг/л, что в разы превышает показатели ПДК $9,1 \pm 0,8$ мг/л, отмечено превышение ПДК и по другим ингредиентам (Рисунок 14).

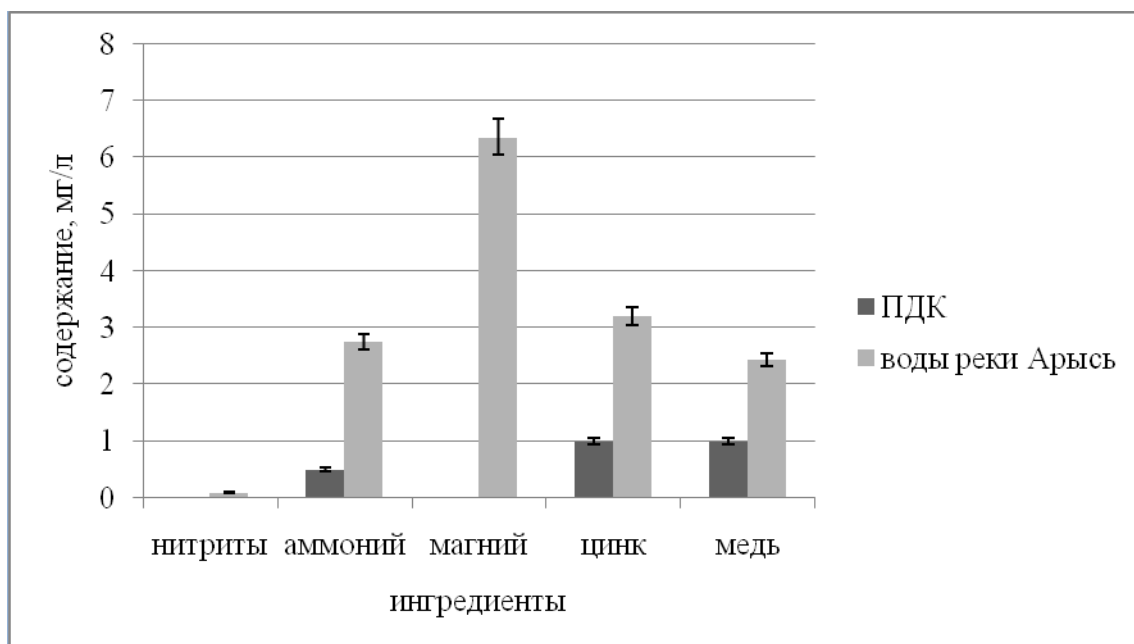


Рисунок 14 - Показатели загрязнения вод на среднем участке р.Арысь

Изучение сезонной динамики распространения гидробионтов в реке Арысь показало, что наибольшее количество видов альгофлоры и простейших встречается в летний период, когда отмечены высокие показатели температуры воздуха и воды (рисунок 15).

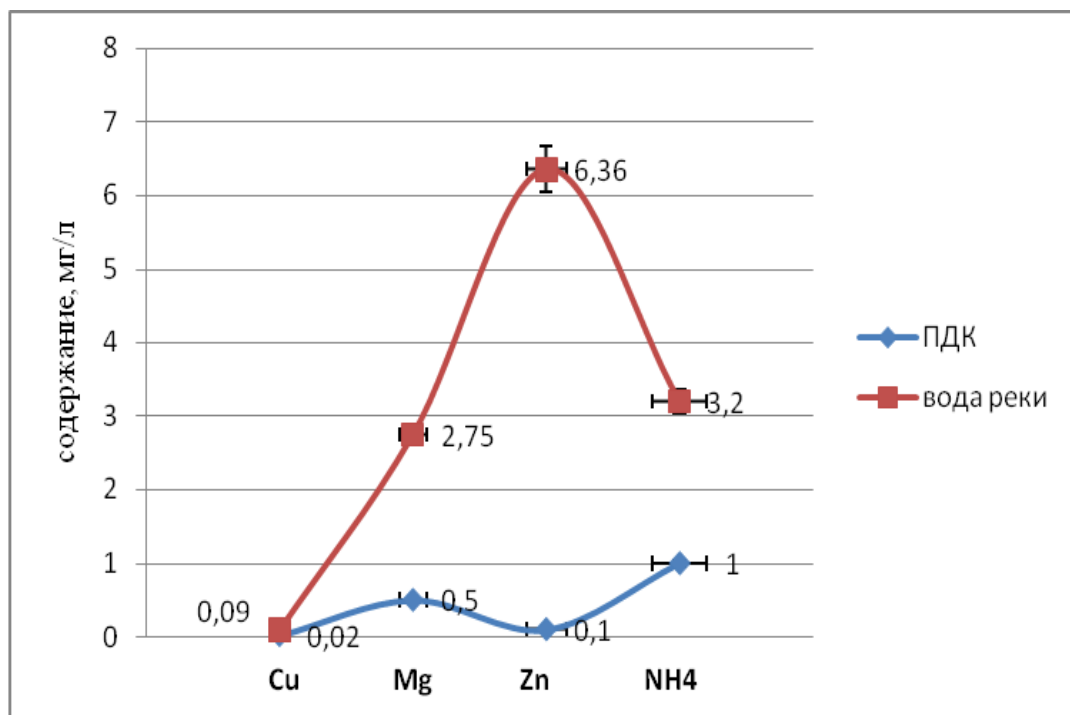


Рисунок 15- Показатели загрязнения вод на среднем участке р.Арысь

Исследования воды в зимний период не обнаружили *Microcystis sp.*, *Bodo lens*, *Stylonichia mytilus*. В незначительном количестве выявлены *Navicula lanceolata*, *Pinnularia sp.*, *Aspidisca costata*, *Euplotes patella*. Черви и нитчатые водоросли не обнаружены. Численность организмов-гидробионтов р.Арысь изменяется незначительно, что можно объяснить ландшафтными условиями и более мягкими температурными колебаниями. В пробах воды обильно встречаются мелкие амебы, единично и редко обнаруживаются эвгленовые водоросли. Альгообрастания отмечены только на прибрежных камнях и ветках и представлены спирогирой. Русло реки находится в глинистом ущелье, что смягчает действие природных факторов. Однако, в весенний период из-за повышения мутности воды за счет попадания лессовых пород, снижается фотосинтетическая активность водорослей, что и объясняет снижение их титра (рисунок 16).

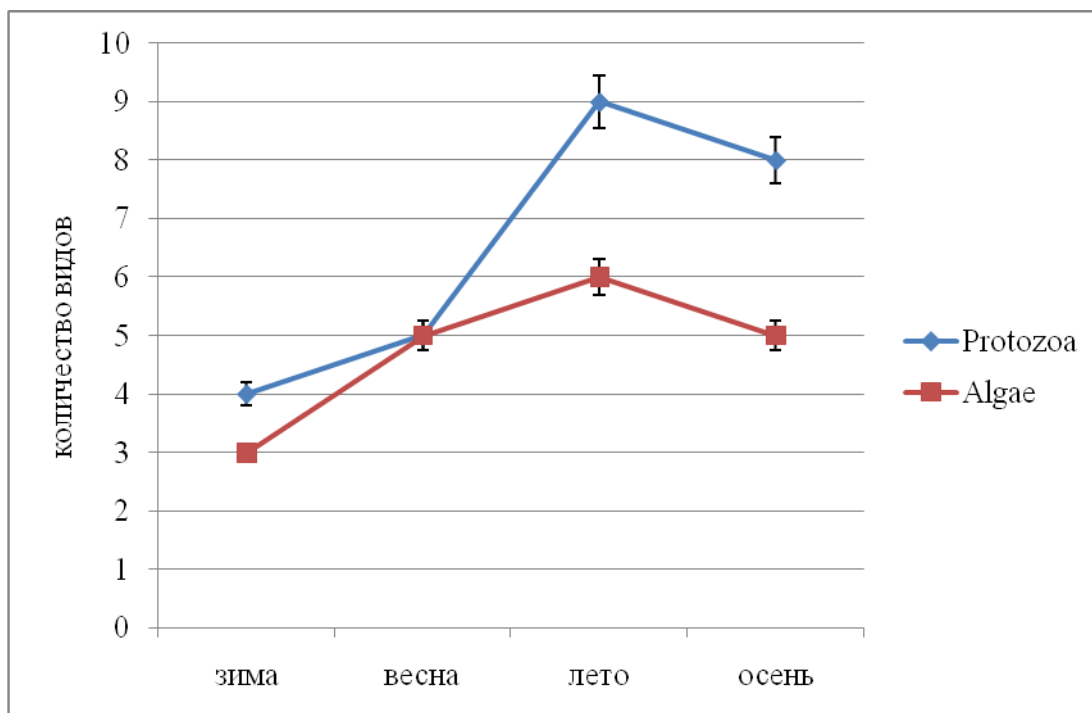


Рисунок 16 - Сезонные колебания численности организмов-гидробионтов р.Арысь

Основными источниками загрязнения вод р. Келес являются сточные воды прилегающих сельскохозяйственных угодий. В настоящее время в Келес сбрасываются сточные воды семи коллекторов с орошаемых земель. Основными загрязняющими ингредиентами являются сульфаты, нитриты, медь и магний. Содержание загрязнителей в воде превышает ПДК: по сульфатам в 8,7 раз, по нитратам в 1,5 раз, по меди в 6,2 раз, по магнию в 2,9 раз. (Рисунок 17). Река Келес по степени загрязненности относится к шестому классу – очень грязные воды.

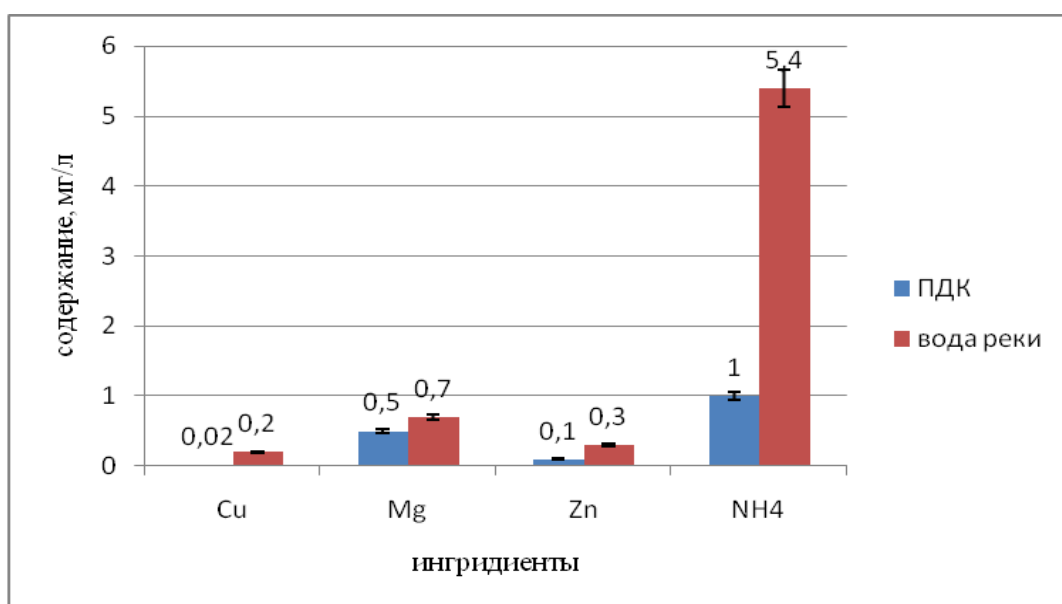


Рисунок 17 - Показатели загрязнения р.Келес

В результате микроскопирования вод р. Келес было установлено, что в воде большом количество встречаются диатомовые водоросли, чаще всего *Nitzchia* sp. Из зеленых водорослей встречается один вид зигемовых и два вида протококковых водорослей. Протозоофауна представлена 7 видами простейших, количество амёб указывает на дефицит растворенного кислорода в среде обитания. Климатические условия Туркестанской области влияют на численность гидробионтов в реке Келес, однако соотношение групп в популяции сохраняется (рисунок 18).

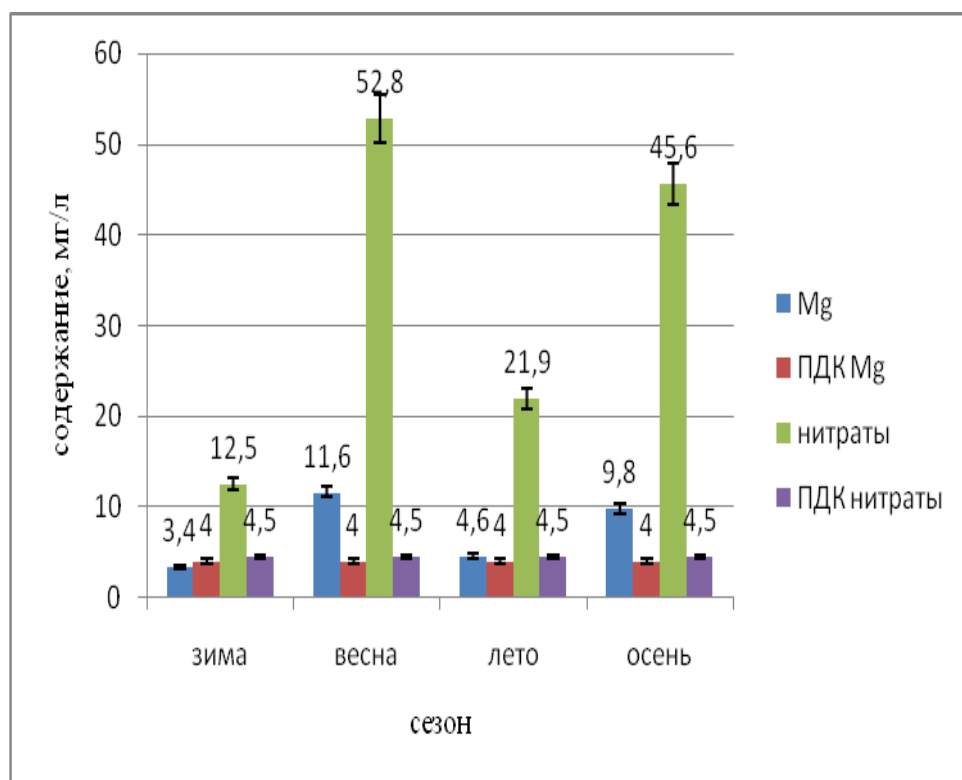


Рисунок 18 - Сезонная динамика содержания нитратов и магния в водах р.Келес

Основными загрязнителями реки Машат являются пищевые отходы и коммунально-бытовые сточные воды, что связано с развитием стихийного туризма в регионе. У устья реки содержание сульфатов, нитратов и нитритов превышают ПДК в $3,8 \pm 0,3$ раза. Максимальные их значения в летние месяцы доходит до $6,5 \pm 0,6$ ПДК и усиливается динамика биохимических процессов, связанных с разложением органических примесей, значение БПК₅ составляет $8,8 \pm 0,7$ мг O₂/л. Уровень минерализации воды повышается в $4,3 \pm 0,3$ и более раза. В устье реки, перед сливанием с рекой Арысь ИЗВ составляет $2,4 \pm 0,2$, что соответствует третьему классу качества вод как умеренно загрязненные воды. Альгологическое исследование вод реки Машат с ИЗВ $2,40 \pm 0,11$, согласно которому воды классифицируются как умеренно загрязненные, показало 4 вида диатомовых, 4 вида зеленых водорослей и 1 вид сине-зеленых. В пробе преобладали нитчатые зеленые водоросли – зигнемовые *Cladophora refracta*,

Spirogyra porticalis и протококковые *Chlorococcus sp.*, *Chlorella vulgaris*. Процессы эвтрофикации способствуют развитию амёб *Amoeba limax*, *A. radiosa* и кольчатых червей *Nematoda sp.* На мелководье часто встречается *Euglena acus*. Река Машат из-за нахождения в предгорной зоне, испытывает сильное воздействие от температурных колебаний, верхняя часть реки в морозный период промерзает, что препятствует развитию организмов-гидробионтов. Данный фактор является лимитирующим фактором для жизнеспособности организмов в зимний период (рисунок 19).

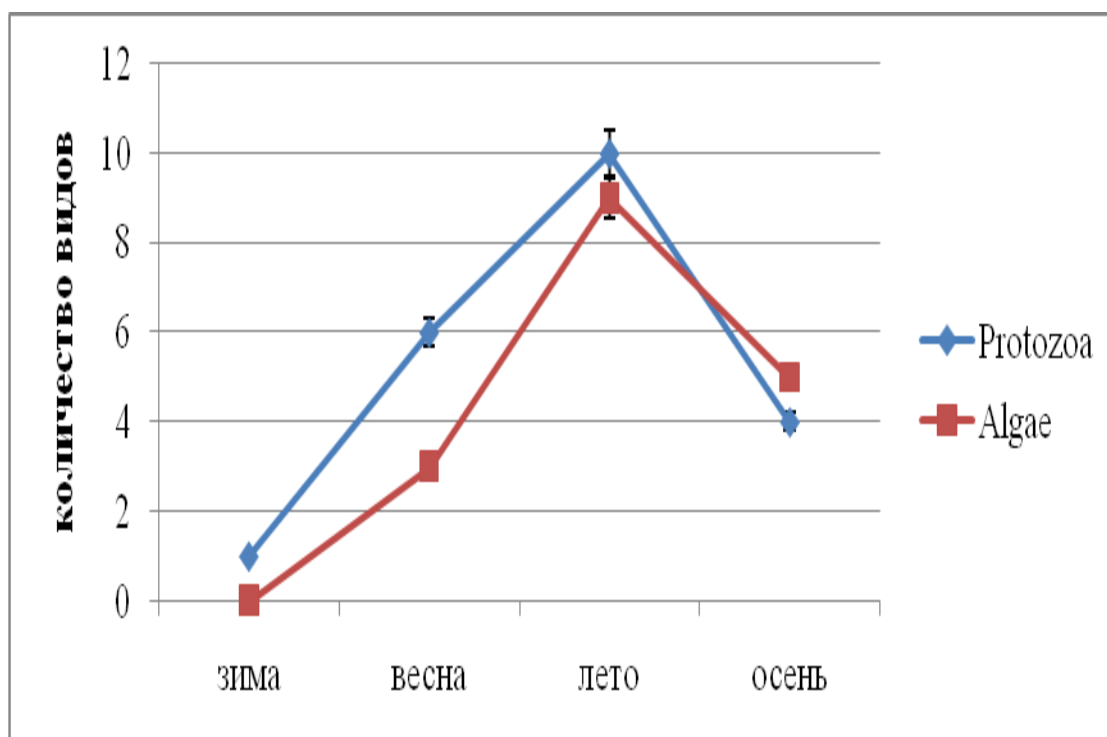


Рисунок 19 - Сезонные колебания численности организмов-гидробионтов р.Машат

Река Кошкар-ата является модельным водоемом, где можно исследовать влияние различных гидрохимических показателей воды с разнообразными уровнями техногенной нагрузки на гидробионты. Источниками загрязнения вод реки Кошкар-Ата являются неорганизованный сброс бытового и технического мусора, коммунально-бытовые сточные воды частного сектора. Гидробиологический анализ начального участка реки Кошкар-ата позволяет отнести данный водоем к третьему биотопу и к пятому классу – очень грязные воды. Качественные характеристики вод в устье реки соответствуют к шестому классу чистоты – очень грязные. По составу загрязняющих веществ преобладают взвешенные вещества – $47,8 \pm 4,5$ мг/л, нитраты – $35,8 \pm 3,5$ мг/л, нитриты - $0,4 \pm 0,0$ мг/л, ионы магния - $26,4 \pm 2,5$ мг/л, меди – $4,5 \pm 0,2$ мг/л, цинка $5,3 \pm 0,5$ мг/л. Ввиду того, что из-за погодных-климатических условий, процесс загрязнения реки носит сезонный характер, содержание ингредиентов в воде существенно варьирует. По этой причине максимальные показатели загрязненности приходится на весенние и осенние, а минимальные на летние и

зимние месяцы года (Рисунок 20). В данных точках отбора проб, преобладали диатомовые водоросли, а именно *Cocconeis placentula*, *Achnanthes biaolettiana*, *Gomphonema olivaceum*, *Navicula laterostrata*, *Meridion circulaare*. В то время как из зеленых микроводорослей в малом количестве встречалась *Chlorella*, *Scenedesmus sp.*

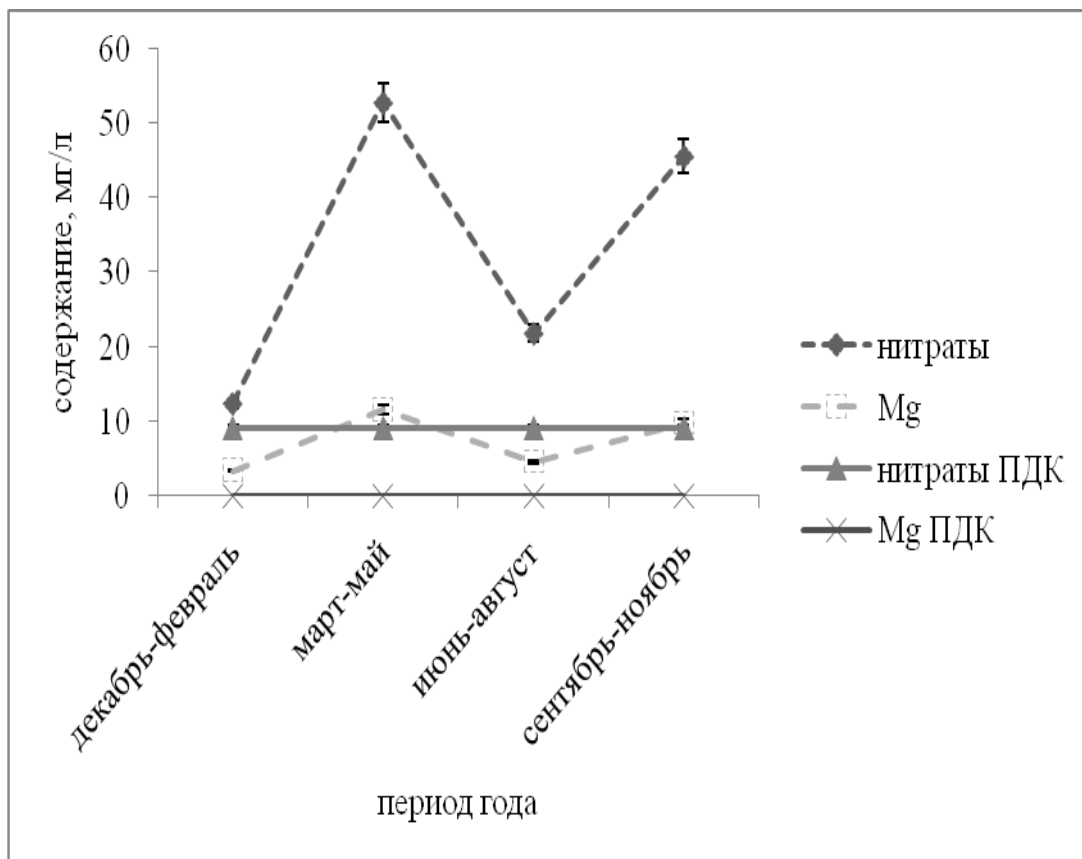


Рисунок 20- Сезонная динамика содержания нитратов и магния в водах р.Кошкар-Ата

В таких условиях процессы поглощения растворенного в воде кислорода усиливаются, процессы развития организмов- гидробионтов активизируются и, как следствие, резко ухудшаются сапробиологические характеристики вод. Альгологический анализ начального участка реки выявил зеленые микроводоросли *Chlorella vulgaris*, *Chlorococcus sp.*, диатомовые водоросли *Cocconeis placentula*, *Achnanthes biosolettiana*, *Gomphonema olivaceum*, *Navicula laterostrata*, *Meridion circularе*. Далее по течению в реку поступают хозяйственно-бытовые стоки, при этом, прозрачность воды резко уменьшается, увеличивается БПК₅ - до $2.9 \pm 0,2$. Визуально отмечается увеличение численности водорослей с изменением цвета воды. На прибрежных и природных камнях зеленая водоросль *Cladophora fracta* образует массовые обрастания, на их поверхности обильно вегетируют эпифитные диатомовые: *Meridion circularе*, *Cocconeis placentula*. *M.circularе* можно оценить как β -мезасопробную водоросль. Единично и редко отмечались олигомезасопроб,

как *Fragilaria atomus*, а также β - мезосапробные диатомовые *Cymbella ventricosa*, *Synedra ulna* и *S. pulchella*. Индекс загрязнений по показателям фитопланктона на данном участке равен $1,55 \pm 0,1$, что соответствует β - мезосапробной зоне, по шкале качества вод – это умеренно загрязненные воды. Гидробиологический анализ вод реки в центре города показал массовую вегетацию зеленой нитчатой водорослей *Stigeoclonium tenue* – это резко выраженный сапробный организм, чувствительно реагирующий на загрязнение воды органическими отходами и образующий обрастание на водных предметах, которое влияет на накопление большого количества медленно минерализующихся органических веществ. Вследствие этого, активно размножаются *Euglena viridis* - поли-мезосапробные организмы. Микрופерифитон представлен, в основном, сине-зелеными водорослями *Oscillatoria amphigranulata*, *Pormidium foveolarum*, и диатомовыми *Cocconeis placentula*, *Gomphonema constrictum*, *Caloneis amphisbaena*. В воде, отобранной на границе города характерно большое содержание фосфатов. В составе альгофлоры обнаружены массовые обрастания обильно вегетирующих α - мезосапробов: *Stigeoclonium tenue*, *Mougeotia scalaris*. Нити *Mougeotia scalaris* которая из-за большого количества расценивается как β - мезосапроб, сплошь покрыты эпифитными диатомовыми водорослями *Cocconeis placentula*, *Melosira varians*, *Opephora martyi*, *Rhoicosphenia curvata*.

Все описанные выше водоросли типичные мезосапробы. Изредка попадаются α -мезосапробы *Phormidium foveolarum*, *Nitzschia sublinearis*. Эти водоросли плохо переносят сильно загрязненные воды и требуют для своей жизнедеятельности больше света, чем диатомовые и зеленые водоросли. Визуально самая загрязненная третья часть реки пересекает одну из оживленных улиц города. Загрязнение представлено как твердыми бытовыми отходами, так и жидкими, в результате смыва с дорог и моечных станций. Микробиологический анализ показал разнообразие альгофлоры: *Chlorella vulgaris*, *Spirogira porticalis*, *Ulotrix zonata*, *Microcystis sp.*, *Tabellaria sp.*, *Meridion circulare*, *Fragilaria crotonensis*, *Synedra ulna*, *Psammothidium sp.*, *Navicula lanceolata*, *Cymbella cistula*, *Pinnularia sp.* По степени загрязнения данный участок отнесен к полисапробной зоне. Изменение видового разнообразия альгофлоры реки Кошкар-ата зависит от температурных параметров погоды и представлено в увеличении общего числа видов водорослей в весенне-летний период и уменьшении показателей численности в осенний сезон.

На основании анализа установленных гидрохимических и гидротермических показателей, исследованные водные источники можно разделить на следующие условные группы:

- чистые водные источники с пониженной температурой водной среды – р.Кушата;
- загрязненные минеральными веществами водные источники с умеренной температурой водной среды- реки Машат и Арысь;

- загрязненные минеральными и органическими веществами водные источники с умеренной температурой водной среды- р. Бадам;
- водные источники, характеризующиеся загрязненностью минеральными, органическими веществами и с активными процессами эвтрофикации - реки Кошкар-Ата, Келес.

Таким образом, в результате исследования сезонной динамики распространения гидробионтов на юге Казахстана было установлено, что основным лимитирующим фактором для развития альгофлоры является температурный режим, обусловленный ландшафтом и химический состав вод. При этом, резкие колебания в численности гидробионтов отмечены в реках, протекающих в предгорной местности – Машат и Кушата. В связи с активной эвтрофикацией водоемов в реках Бадам, Келес и Кошкар-ата, было отмечено, что изменения в численности гидробионтов незначительны. Изменения в структуре популяции организмов-гидробионтов р.Арысь обусловлены колебаниями в гидрохимическом составе воды, имеющими место во время весенних паводков. Установлена коррелятивная зависимость между численностью альгофлоры и бактериальной обсемененностью вод, что объяснимо разноскоростными процессами эвтрофикации малых рек Шымкента и Туркестанской области.

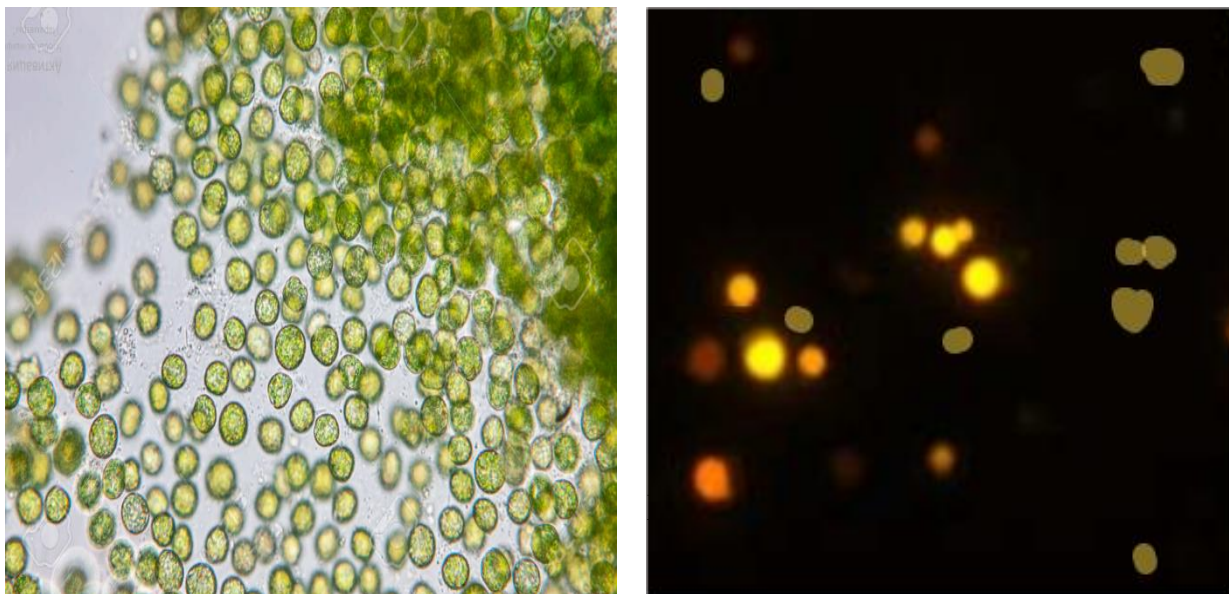
3.1.1 Выделение активных штаммов зеленых микроводорослей

Выделение и изучение свойств новых штаммов микроводорослей представляет значительный интерес для разработки биоудобрений. В настоящее время существует около 20 тысяч штаммов микроводорослей, в основном относящихся к зеленым водорослям *Chlorophyta*. Микроводоросли имеют широкий ареал распространения, что позволяет находить новые штаммы для определенных биотехнологических целей.

Из образцов вод изученных малых рек выделили 68 изолятов зеленых микроводорослей, из которых методом последовательного разведения и скрининга по критерию скорости накопления биомассы выделено 20 штаммов микроводорослей. Предварительный таксономический анализ показал их принадлежность к отделам *Chlorella*, *Botryococcus*, *Scenedesmus*, *Desmodesmus*, *Chlamydomonas*, *Oocystis*, *Parachlorella*. Для дальнейшего фототрофного культивирования были использованы штаммы *Chlorella vulgaris* ASLI-1, *Chlorella vulgaris* ASLI-2, *Chlorella vulgaris* AsB, *Chlorella vulgaris* KAI, которые обладали способностью к поддержанию жизнедеятельности при многократных пассажах и фототрофном культивировании. Для миксотрофного культивирования дополнительно были использованы штаммы *Oocystis borgei* АТР, *Oocystis borgei* AsK, выделенные из фосфорсодержащих осадочных вод ТОО «Кайнар».

Методом световой и флуоресцентной микроскопии выявлено, что из четырех изучаемых штаммы хлореллы, наибольшее количество липидных

капель формируются у штаммов *C.vulgaris* ASLI-1, *C. vulgaris* ASLI-2 (рисунок 21).



А. световая микроскопия ($\times 600$), Б. флуоресцентная микроскопия ($\times 600$)
Рисунок 21 – Вид клеток *C.vulgaris* ASLI-1 с липидными каплями

Результаты фотоавтотрофного культивирования штаммов микроводорослей показали, что штаммы *C.vulgaris* ASLI-1, *C.vulgaris* ASLI-2 эффективно накапливали биомассу и нейтральные липиды с общим содержанием липидной фракции $W_L=36,1\pm 3,2\%$ и $W_L=39,9\pm 3,55$, соответственно (рисунок 22).

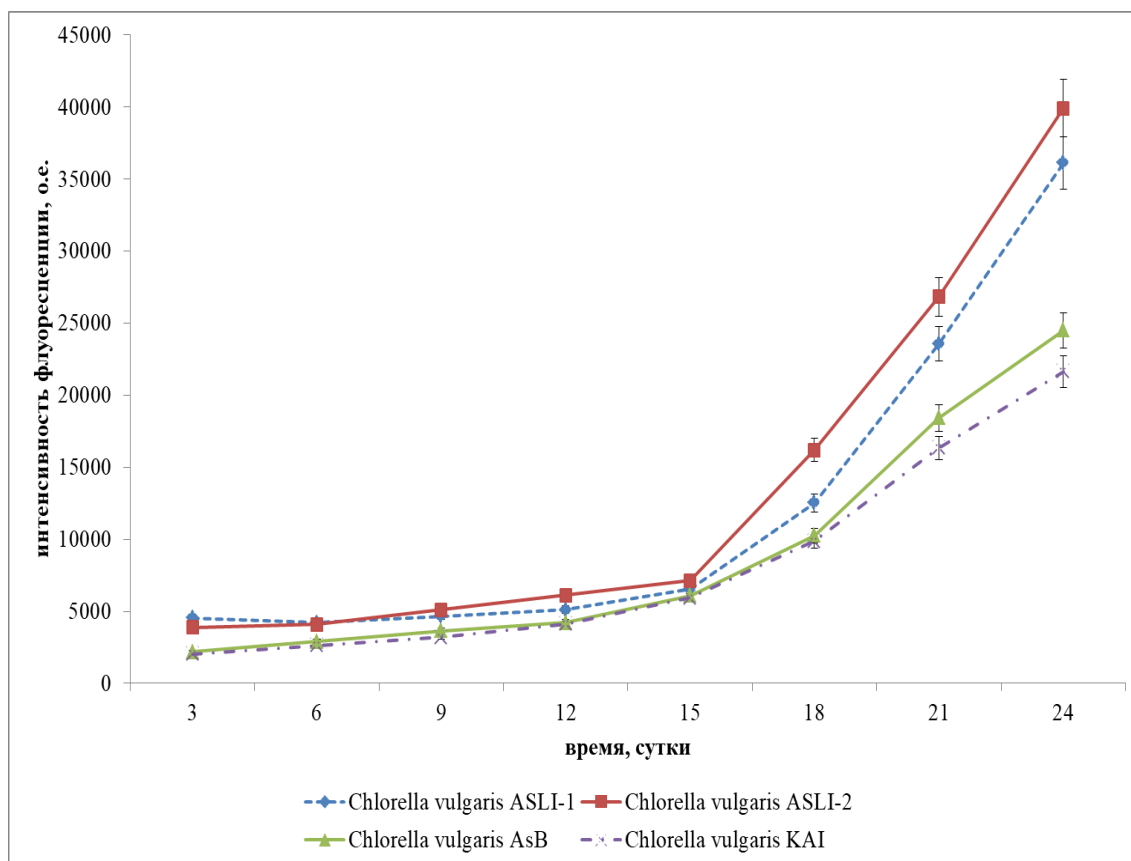
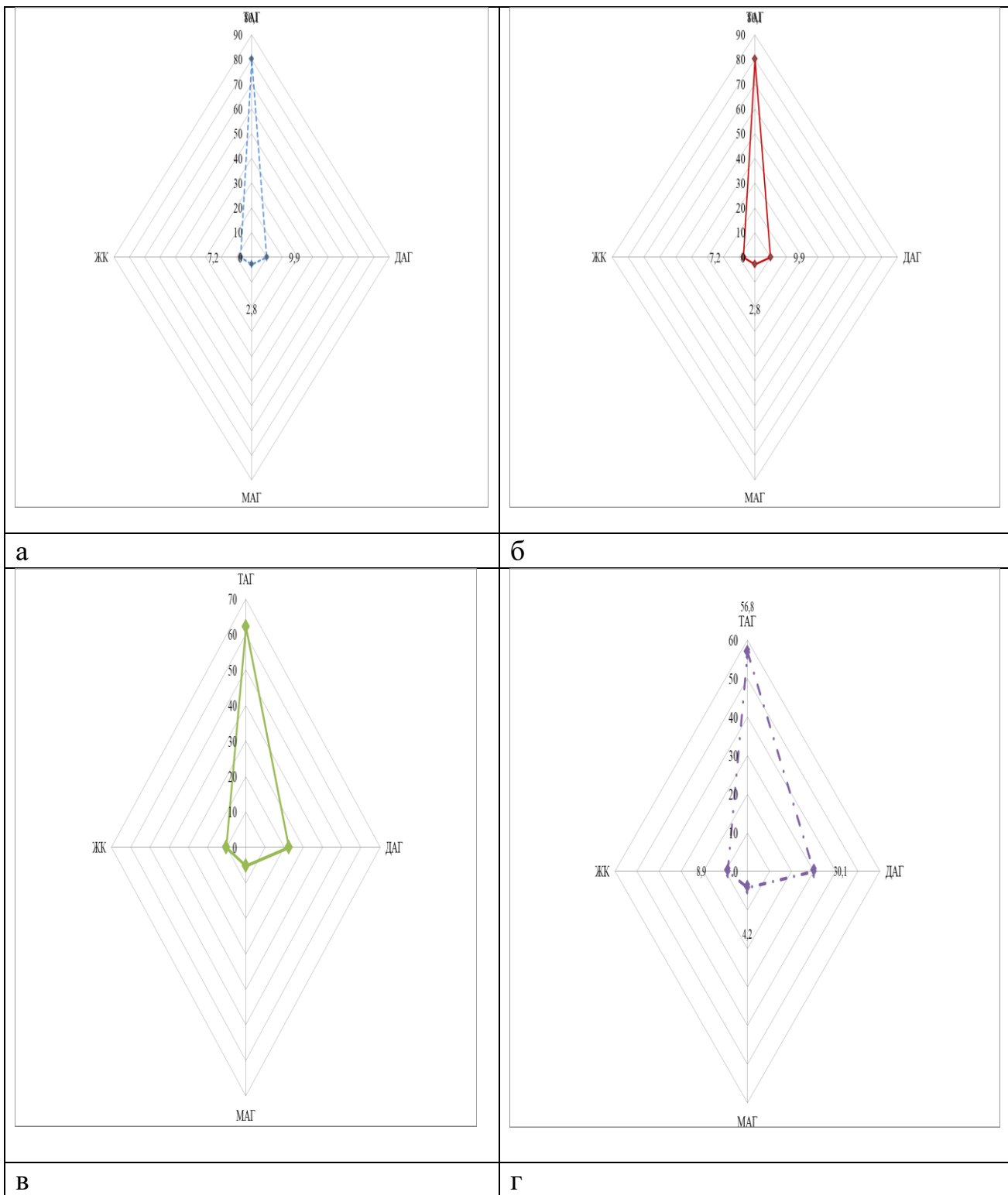


Рисунок 22-Динамика изменения интенсивности флуоресценции разными штаммами хлореллы

Методом тонкослойной хроматографии установлено, что содержание фосфолипидов в биомассе водорослей очень низкое, в пределах $3,1 \pm 0,3\%$, поэтому качественный и количественный анализ отдельных фракции получить не удалось. На нейтральные липиды приходится порядка $97,0 \pm 1,2\%$. Из нейтральных липидов выявлены триацилглицериды, диацилглицериды, моноацилглицериды и жирные кислоты (рисунок 23), т.е. липиды представлены четырьмя фракциями. При этом выявлено, что в составе липидов преобладают триацилглицериды, количество которых колеблется от $80,1 \pm 7,8\%$ у *Chlorella vulgaris* ASLI-1 до $56,8 \pm 5,2\%$ у *Chlorella vulgaris* KAI, т.е. липиды представлены четырьмя фракциями. Но с другой стороны, количество диацилглицеридов имеет обратную коррелятивную зависимость и самое большое их количество отмечено у *Chlorella vulgaris* KAI – $30,1 \pm 2,5\%$.



а *Chlorella vulgaris* ASLI-1, б. *Chlorella vulgaris* ASLI-2, в. *Chlorella vulgaris* AsB, г. *Chlorella vulgaris* KAI

Рисунок 23-Количественный и качественный состав нейтральных липидов разных штаммов хлореллы

3.1.2 Характеристика активных штаммов зеленых микроводорослей

Културальные и физиологические свойства микроводорослей были изучены дополнительно, в данном исследовании были описаны морфологические характеристики колоний и клеток, физиолого-биохимические особенности штаммов (таблица 2), уровень непатогенности и неаллергенности для человека и теплокровных животных.

Таблица 2 – Таксономические характеристики активных штаммов микроводорослей

Название штамма	Место изолирования штамма	Морфология колоний	Морфология клеток	Физиолого-биохимические свойства
<i>Chlorella vulgaris</i> ASLI-1	Река Кошкарата (обрастания на камнях, участок 3)	Колонии круглые, гладкие, в начале желто-зеленые, позже насыщенного зеленого оттенка	Клетки водоросли круглые, редко эллипсоидные, цвет зеленый, размеры от 3 до 15 мкм, грамотрицательные. Культуральные свойства - кислотоустойчивы, имеют целлюлозную оболочку, размножение автоспорами.	фотоавтотрофы, свободно живущие, азотолерантные, оптимальная температура $29,0 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$, pH $7,5 \pm 0,5$. Накапливают до $80,1 \pm 7,8\%$ ТАГ.
<i>Chlorella vulgaris</i> ASLI-2	Река Кошкарата (глинистый берег, участок 2)	Колонии круглые или округлой формы, зеленого цвета, края ровные, профиль выпуклый. Пигмент не проникает в среду, поверхность колоний- блестящая, консистенция слизистая.	Клетки сферические, без жгутиков, верхушечная точка и воздушные пузыри отсутствуют. Размножение митотическим и бесполом путем. Хроматофор в виде многочисленных шариков, пиренофор расположен в виде зерен в цитоплазме. Движение пассивное, без жгутиков.	Свойства аналогичны штамму <i>Chlorella vulgaris</i> ASLI-1, но накапливают ТАГ до $75,2 \pm 6,8\%$
<i>Chlorella vulgaris</i> AsB	Река Бадам, обрастания на камнях	Колонии на 3 сутки бледно-зеленые, на 7-сутки приобретают изумрудно-зеленый цвет. Края ровные, профиль каплевидный, блестящие, не выделяют пигмент в среду	Клетки морфологически идентичны другим описанным штаммам, но визуально, пиреноидов значительно меньше. Движение пассивное.	Свойства аналогичны штамму <i>Chlorella vulgaris</i> ASLI-1, но накапливают наибольшее количество МАГ – более $5,0 \pm 0,2\%$ и ЖК – более $10,0 \pm 1,0\%$.

<i>Chlorella vulgaris</i> KAI	Фосфорсодержащие сточные воды ТОО «Кайнар»	Колонии круглые с ровными краями, профиль плоский, диаметр колоний от 2,0 до 16,0 мм. Цвет колоний ярко-зеленый.	Клетки морфологически идентичны другим описанным штаммам, с большим количеством хроматофорных шариков. Движение пассивное.	Свойства аналогичны штамму <i>Chlorella vulgaris</i> ASLI-1, но накапливают наибольшее количество ДАГ – более 30,0±0,3%.
<i>Oocystis borgei</i> AsK	Река Келес	Колонии круглые, имеют гладкие края, насыщенного зеленого цвета, размер колонии 4,0-6,0 мм.	Клетки водоросли овальные, иногда собираются в 2-8 клеток, цвет зеленый, размеры от 5,5 до 15 мкм, грамотрицательные. Кислотонеустойчивые, имеют светло-коричневую оболочку, размножение автоспорами. Хлоропласты (1—8 шт) пристенные, корытообразные, с ровными или слегка рассечёнными краями, каждый с пиреноидом.	Фотоавтотрофы, аэротолерантные, оптимальная температура 29,0±3,0°C при pH 7,4±0,2. Не выделяют экзоферменты. Предпочтение-аммиачный азот.
<i>Oocystis borgei</i> ATP	Фосфорсодержащие воды ТОО «Кайнар»	Колонии мелкие, круглые, светло-зеленого цвета, края ровные, профиль выпуклый. Пигмент в среду не выделяют, матовые. Консистенция слизистая.	Клетки овальной, эллиптической или лимонovidной формы. Не блестящие, с одним ядром и хлоропластами, расположенными вдоль клеточной стенки. Клетки соединены по парно или группами, окруженными прозрачной оболочкой.	Фототрофы, оптимум температуры 25,0±1,5°C, pH 7,5±0,5. Соленость воды – не более 5,0±0,2%. Предпочтение фосфатному фосфору с аммиачным азотом.

По результатам исследования на непатогенность культур было выявлено, что все изучаемые штаммы *Chlorella vulgaris* не проявляют лецитиназной и гемолитической активности на желточном и кровяном агаре. Результаты изучения вирулентности штаммов *Chlorella vulgaris* идентичны и показаны в таблице 3.

Таблица 3 - Результаты исследования острой токсичности штаммов *Chlorella vulgaris* при внутрибрюшном и пероральном введении

№	Количество животных в опыте	Способ введения	Доза КОЕ/мл	Заболело животных	Пало животных	Выжило животных
1	12	Внутрибрюшинно	10^3	0	0	12
2	12	Внутрибрюшинно	10^5	0	0	12
3	12	Внутрибрюшинно	10^7	0	0	12
4	12	Внутрибрюшинно	10^9	3	0	12
Контр	12	Внутрибрюшинно	Физ.раст	0	0	12
5	12	Перорально	10^5	0	0	12
6	12	Перорально	10^7	0	0	12
7	12	Перорально	10^9	0	0	12
8	12	Перорально	10^{11}	2	0	12
Контр	12	Перорально	Физ.раст	0	0	12

Результаты опытов показали, что при внутрибрюшном введении культуры в дозе 10^9 КОЕ заболело три животных. При пероральном заражении в дозе 10^{11} КОЕ заболели 2 мыши. Через 24 часа после введения культуры у них отмечались: вялость, потеря аппетита, разжижение стула, исключенность шерстного покрова. На 2-е сутки после заражения все мыши выздоровели. Результаты морфологических изменений внутренних органов после вскрытия показали, что культура не влияет на их изменения. Органы чистые, гладкие, легко отделяемы, спаек не замечено.

Среднеаллергенная доза культуры составила $7,8 \times 10^5$ КОЕ на одно животное, т.е. штамм практически не обладает аллергенным действием. При изучении место раздражающего действия в дозе $1,0 \times 10^9$ КОЕ/см³ наблюдалась слабая положительная реакция в виде инъекции сосудов склеры и роговицы, слизистых выделений из глаз. На третьи сутки наблюдений вышеназванные явления у всех животных полностью купировались и последующие 5 суток отклонений от нормы не наблюдались. В целом установлено, что культура обладает слабовыраженным местно-раздражающим действием.

Исследования, проведенные с микроводорослями *Oocystis borgei* [139] показали, что концентрации азота оказывали значительное влияние на скорость поглощения данной водорослью аммония, нитратов, нитритов и мочевины. При этом индекс относительного предпочтения аммония был выше, чем у других соединений. Установлено оптимальное сочетание условий окружающей среды для потребления аммонийного азота: температура $20,0 \pm 1,0^\circ\text{C}$, pH $7,5 \pm 0,5$, интенсивность света $81,0 \pm 5,5$ мкмоль м⁻² с⁻¹, соленость $15,0 \pm 1,0\%$ и концентрация водорослей $(5,5 \pm 0,5) \times 10^8$ кл/мл. Установлено, что в условиях

обитания на территории складирования фосфорсодержащих отходов культуры *O.borgei* приобрели сочетанное предпочтение к фосфатному фосфору в сочетании с азотом аммиачным (рисунок 24). При этом установлено, что штамм *O.borgei ATP* потребляет фосфор со скоростью $0,11\pm 0,01$ мг/мл в сутки, в то время как введение в питательную среду ионов аммония повышает данную скорость до $0,14\pm 0,01$ мг/мл в сутки. По рисунку видно, что штамм *O.borgei ATP* более активен в потреблении фосфора фосфатного, что вполне объяснимо адаптацией к условиям проживания в фосфорсодержащих сточных водах. Введение в фосфорсодержащую сточную воду дополнительного количества аммиачного азота способствовало бурному росту водорослей (рисунок 25).

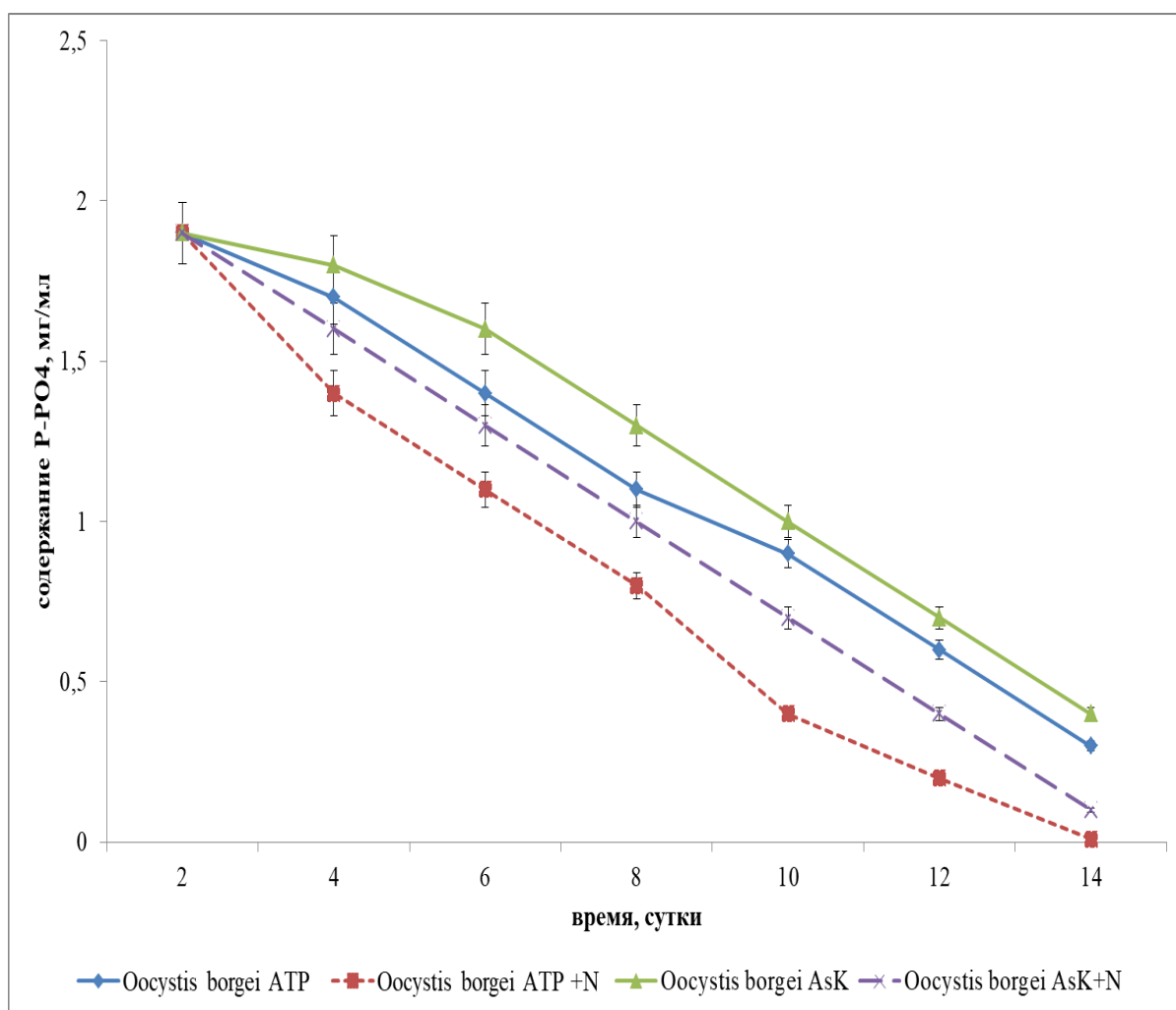


Рисунок 24 - Динамика снижения штаммами *O.borgei* содержания фосфора фосфатного в условиях с отсутствием или введением аммиачного азота

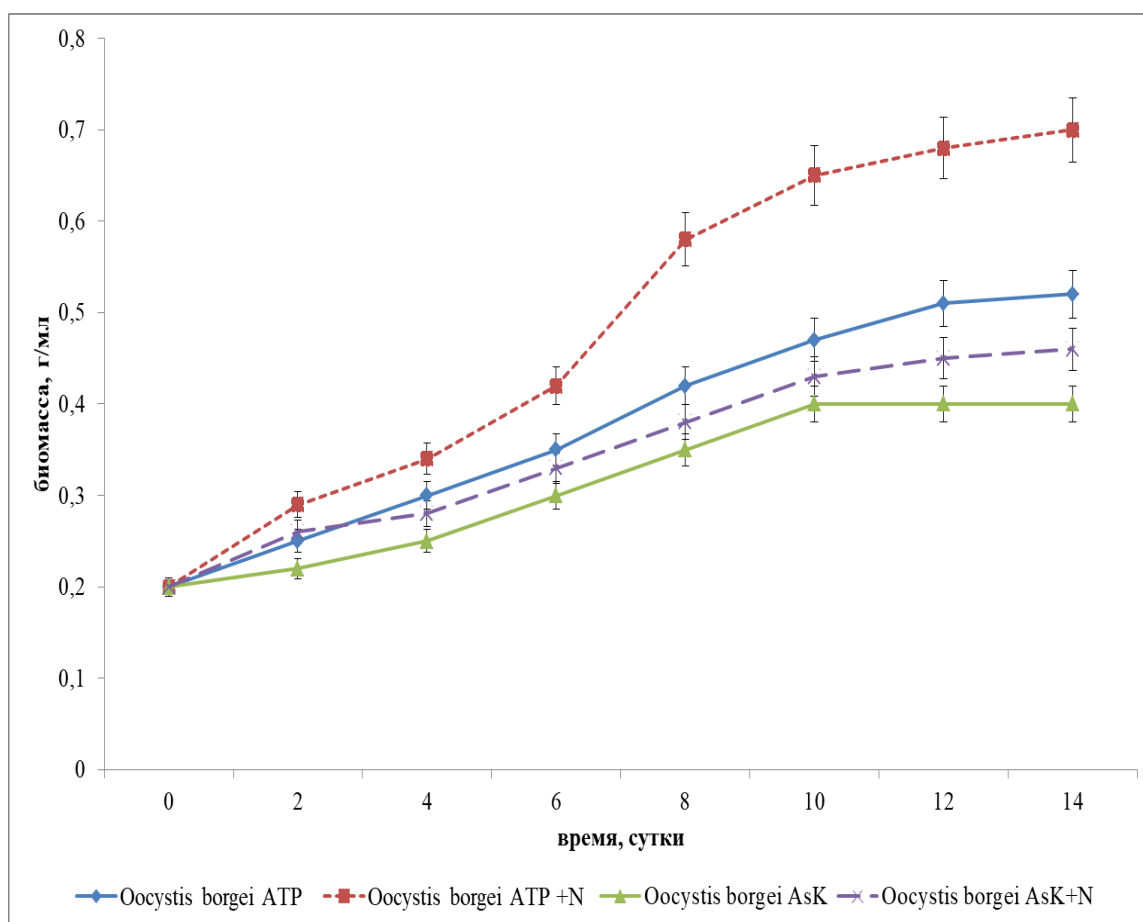


Рисунок 25- Динамика накопления биомассы штаммами *O.borgei* в фосфорсодержащих осадочных водах с введенным аммонийным азотом

Другое исследование [140] показало, что данная водоросль обладает аллелопатическими свойствами, что может сыграть благоприятную функцию в составе разрабатываемого удобрения. Были проанализированы такие параметры как рост, проницаемость клеточной стенки и активность эстеразы при совместном культивировании токсичной водоросли *Microcystis aeruginosa*. Было установлено, что ооцистис способен разрушать клеточную стенку и мембранную систему *M. aeruginosa* при объемных соотношениях 4:1 и 1:1 в экспоненциальной фазе, подавляет активность эстеразы и фотодыхание. В накопительной смешанной культуре, культивируемой на сточных фосфорсодержащих водах ТОО «Кайнар» в лабораторных условиях, выявлено, что штамм *Oocystis borgei ATP* подавляет рост эвгленовых водорослей *Euglena viridis*, *Phacus splendens Pochm*, сине-зеленых водорослей *Oscillatoria* sp., обильно произрастающих в сточных водах.

Таким образом, при отборе штаммов водорослей для получения биоудобрения были выделены 5 штаммов: *Chlorella vulgaris* ASLI-1, *Chlorella vulgaris* ASLI-2, *Chlorella vulgaris* AsB, *Oocystis borgei* ATP, *Oocystis borgei* AsK. В ходе исследования после дополнительных опытов были выделены 3 штамма: *Chlorella vulgaris* ASLI-1, *Chlorella vulgaris* ASLI-2, *Oocystis borgei* ATP, которые оказались устойчивы к высоким концентрациям фосфора.

3.2 Подбор состава альгоудобрения и оптимальных факторов культивирования зеленых микроводорослей на фосфорсодержащих отходах г.Шымкент

Следующим этапом нашего исследования являлось определение оптимального соотношения фосфорсодержащих отходов в питательном растворе для культивирования микроводорослей.

В современной биотехнологии есть два направления культивирования микроводорослей:

1. Экстенсивное культивирование в открытых водоемах;
2. Интенсивное культивирование в закрытых установках в полностью контролируемых условиях.

При промышленном культивировании применяют обычные минеральные или специальные среды, в которых учитывается расход основных компонентов в процессе роста биомассы микроводорослей.

Выделенные чистые культуры зеленых микроводорослей *Chlorella vulgaris* ASLI-1 (Приложение А, рисунок 4), *Chlorella vulgaris* ASLI-2, *Oocystis borgei* АТР из альгобактериальных сообществ водоемов Туркестанской области можно использовать для производства водорослевой биомассы как основу биологических удобрений. При подборе оптимального состава биоудобрения с данными штаммами и фосфорсодержащими отходами станет возможным решение проблемы замещения синтетических удобрений на органические. При производстве удобрения на основе зеленых микроводорослей первостепенное значение имеет подбор питательной среды и процесс их культивирования.

Деградация окружающей среды по оценке экологического мониторинга промышленных регионов превращаются в очаговые зоны крупных изменений в литосфере и биосфере. В исследованиях казахстанских ученых [141] отмечено, в пятикилометровой зоне влияния предприятий, выпускающих фосфор и фосфорные удобрения, концентрация фтора достигает иногда 100 - 200 мг/м³. Так же отмечено, что под воздействием данных выбросов снижается фотосинтез локальных растений, наблюдается угнетение растительности и др. По качественному составу и вредности выбросов предприятия фосфорного производства относятся к промышленным производствам, имеющим выбросы в атмосферу газов или аспирационного воздуха, содержащие канцерогенные и ядовитые вещества.

Основной идеей исследования на данном этапе было использование твердых и жидких отходов производства фосфорных отходов в качестве компонентов питательной среды для культивирования микроводорослей. Чтобы удобрение из водорослей полностью раскрыло свой потенциал, затраты на их выращивание должно быть недорогим, позволяющим производить экономичное массовое сырье. В этом отношении, дешевым источником для культивирования водорослей являются промышленные или муниципальные сточные воды, различные жидкие отходы, богатые биогенными элементами. С

одной стороны решается проблема их очистки, поскольку загрязненные воды сбрасываясь в открытые водоемы или проникая в подземные и грунтовые воды, способствуют их дальнейшему загрязнению. Ввиду известности того, что водоросли успешно растут на сточных водах, возможным синергетическим решением является размещение и интеграция производства альгоудобрения с обработкой богатых питательными элементами сточных вод.

Переработка фосфоритового сырья на элементарный фосфор во многих случаях производит большое количество побочных продуктов и отходов такие, как фосфатного шлака, фосфорного шлама и др. Данные отходы образуются из-за неоднородности исходного сырья и не модернизированным оборудованием для подготовки сырья для электротермической возгонки фосфора. Например, переработка фосфоритового сырья на желтый фосфор на выходе образует 1 т фосфора 25 - 27 кг его соединений, 10 - 12 т шлака и до 170 кг фосфорного шлама.

В результате минералогического анализа был уточнен состав фосфорсодержащих шлаков, состоящих из псевдоволластонита (α - $\text{CaO} \times \text{SiO}_2$), куспидина ($3\text{CaO} \times \text{CaF}_2 \times 2\text{SiO}_2$), феррофосфора Fe_2P , мелилита - $\text{Ca}_2(\text{Al}, \text{MgSi})\text{Si}_2\text{O}_7$, акерманита- $\text{Ca}_2\text{MgSi}_2\text{O}_7$, ранкинита $3\text{CaO} \times 2\text{SiO}_2$, фторапатита – $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{F}$, витлокита - NaF , флюорита CaF_2 , силикокарнотита $5\text{CaO} \times \text{P}_2\text{O}_5 \times \text{SiO}_2$ [142].

Фосфорный шлак образуется в виде расплава остатков силикокальциевых и магниевых расплавов, содержащих микроэлементы, диаметром до 2-3мм.

Фосфорный шлам образуется в процессе пыле-газо очистки газобразного фосфора в электрофильтрах, как коттрельная пыль направляемой после электрофильтра в баке коттрельного молока для образования суспензий плотностью $1,3\text{г}/\text{см}^3$. Фосфорный шлам хранится под водой и при обезвоживании его происходит окисление фосфора кислородом атмосферного воздуха, приводящего к возгоранию фосфора и проявлению отравляющего и удушающего дымообразного соединения P_2O_5 .

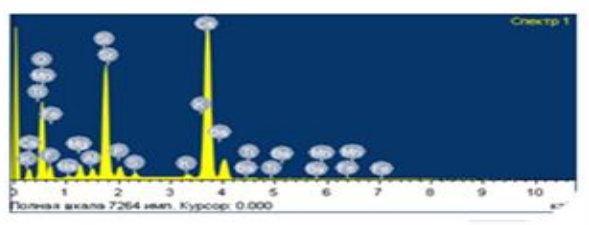
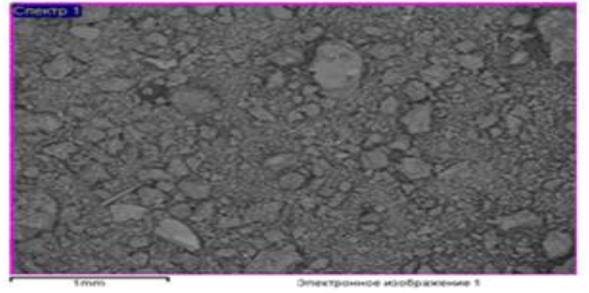
Результаты РЭМ-анализа показали, что в составе фосфорсодержащих шлаков и шламов содержится значительное количество биогенных элементов (Рисунок 26), включая фосфор, содержание которого, в зависимости от пробы, колеблется в пределах $0,5 \pm 0,01$ - $0,9 \pm 0,02$; калий- $0,02 \pm 0,00$ - $0,46 \pm 0,04$ вес.%. Наличие ряда металлов, необходимых фототрофным организмам в качестве источников ростовых факторов и микроэлементного питания, как магний, марганец, фтор, железо и т.д. и объем складированных отходов, занимающих более $16,0 \pm 1,5$ га земель, указывает на возможность использования данных отходов в качестве источников для промышленного культивирования перспективных для биотехнологических целей фототрофов.

Было установлено, что фракционный состав фосфорсодержащих шлаков разный и колеблется в пределе до $0,12 \pm 0,01$ до $1,0 \pm 0,15$ см, шламы имеют более мелкий размер – от $0,9 \pm 0,01$ до $0,22 \pm 0,01$. Шламы, складированные на территории ТОО «Кайнар», хранятся во влажном состоянии из-за высокой вероятности самовозгорания под открытым небом. В результате

проникновения осадочной и поливочной жидкости сквозь толщу шлаков и шламов вокруг мест складирования твердых фосфорсодержащих отходов сформировались водные растворы, накапливающиеся в низинах и бетонированных водоемах технологической схемы бывшего фосфорперерабатывающего завода (рисунок 27). Объем растворов постоянно поддерживается на определенном уровне за счет природных осадков и искусственного увлажнения для предотвращения самовозгорания шлама.

Элемент	Салмагы %			
F	4.59			
Na	0.37			
Mg	1.54			
Al	0.77			
Si	10.67			
P	1.42			
S	0.53			
K	0.46			
Ca	25.37			
Mn	0.06			
Fe	0.25			

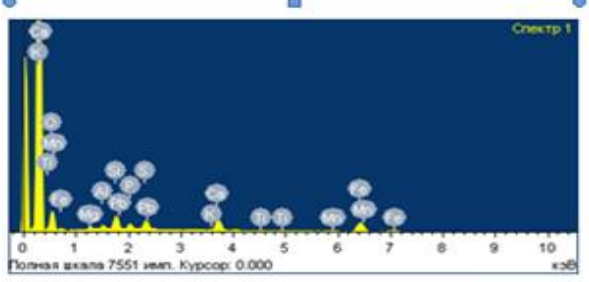
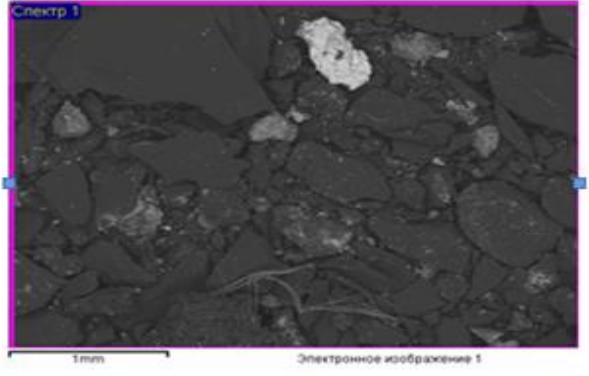
Комментарий: F, Si, P, Ca, издеpi



А

Элемент	Салмагы %			
Mg	0.21			
Al	0.31			
Si	1.16			
P	0.50			
S	0.94			
K	0.03			
Ca	1.51			
Mn	0.14			
Fe	3.35			
Pb				

Комментарий: Si, Ca, Fe



Б

А-шлак, Б-шлам
 Рисунок 26-Результаты РЭМ-анализа различных образцов фосфорсодержащих отходов



а



б



в

г

а, б. ливневые и осадочные воды, скапливающиеся в низинах; в, г. осадочные воды, стекающие после просачивания фосфорсодержащих шлаков и шламов

Рисунок 27-Формирование фосфорсодержащих осадочных вод на территории складирования фосфорсодержащих шлаков в г.Шымкент

Для определения уровня увлажненности шламов на местах их складирования подготовлены специальные углубления для измерения уровня воды. В весенне-летнее время, при повышенной температуре и инсоляции в

данных углублениях, заполненных водой, отмечаются массовые биологические обрастания, представленные нитевидными водорослями *Spirogira longata*, *Ulotrix zonata*, в толще которых обитают *O.borgei*, *C. vulgaris*, *Phacus sp.*(предположительно *P.caudatus*), 3 вида *Euglena*. Цвет воды в таких углублениях приобретает ярко-зеленый цвет с резким химическим запахом, рН колеблется в пределах $5,25 \pm 0,3$.

Органолептические характеристики жидких проб, отобранных из разных участков бетонированных водоемов, показали следующее: проба А – мутный раствор болотного цвета с резким химическим запахом. После отстаивания муть выпадает в рыхлый осадок. При отстаивании в течение нескольких суток на поверхности раствора образуется белая пленка. Проба Б – мутный раствор светло-коричневого цвета с резким химическим запахом. После отстаивания муть выпадает в рыхлый осадок. Проба В - раствор зеленого цвета со слабым запахом. Осадок образуется только после многодневного отстаивания в темном месте. При наличии доступных источников солнечного освещения сохраняет визуальные параметры.

Первичное альгологическое обследование жидких фосфорсодержащих проб выявило наличие таких таксономических групп водорослей как: *Ameoba limax*, *Navicula sp.*, *Meridion circulare*, *Oocystis sp.*, *Diatoma sp.*, *Anabaena sp.*, *Chlamydomonas sp.*, *Chlorella vulgaris* [143].

Хроматографический анализ показал, что состав проб А, Б, В аналогичен и отличается количественными характеристиками содержащихся ингредиентов (таблица 4). Наибольшее количество натрия, калия, аммония, фосфатов, хлоридов, сульфатов и фторидов обнаружено в пробе Б.

Таблица 4-Химический состав проб фосфорсодержащих осадочных вод

Наименование	Проба А	Проба Б	Проба В
рН, ед	$5,1 \pm 0,2$	$5,1 \pm 0,2$	$5,8 \pm 0,1$
Катионы			
	мг/дм ³	мг/дм ³	мг/дм ³
Li ⁺	$0,8 \pm 0,05$	$1,3 \pm 0,1$	$2,8 \pm 0,2$
Na ⁺	$109,6 \pm 10,0$	$1575,3 \pm 100,0$	$5398,9 \pm 210,0$
NH ⁴⁺	$19,2 \pm 1,8$	$39,8 \pm 3,5$	$225,8 \pm 16,3$
K ⁺	$325,0 \pm 28,5$	$6041,9 \pm 125,0$	$21139,2 \pm 201,0$
Ca ²⁺	$285,2 \pm 25,1$	$44,0 \pm 4,1$	$61,4 \pm 5,2$
Mg ²⁺	$142,1 \pm 10,2$	$219,1 \pm 15,0$	$772,8 \pm 65,3$

Продолжение табл. 4			
Анионы			
F ⁻	24,4±2,1	54,3±5,4	403,0±35,2
Cl ⁻	38,1±3,5	636,8±60,5	3233,5±25,6
NO ³⁻	1,7±0,1	41,9±4,0	12,8±1,0
PO ₄ ³⁻	2959,2±201,3	12319,2±220,0	66385,8±501,2
SO ₄ ²⁻	174,3±15,1	4747,9±45,5	11330,7±205,3

В то же время можно отметить дисбаланс по соотношению N:P:K 19:2989:325 (при норме, мг/л: 220:50:200) с явным дефицитом ионов азотной и калийной группы. Как известно, культура *Chlorella vulgaris* и *Oocystis* могут использовать как источник азота различные виды солей (NH₄)₂CO₃, (NH₄)₂SO₄, NH₄NO₃ и KNO₃, т.е. азот аммонийный или азот нитратный. При интенсивном культивировании штаммов микроводорослей необходимо поддерживать концентрацию азота в пределах 150,0±15,0 мг/л. При недостатке азота в питательной среде, нитрогеназа в составе водоросли *Chlorella vulgaris* может фиксировать азот из атмосферы объемом до 95,0 кг/га. Для полноценной биоконверсии фосфорсодержащих отходов зелеными микроводорослями был проведен опыт по поиску оптимального баланса N:P:K в питательной среде. На основе проведенного сравнительного анализа аналогичных исследований, было выявлено, что сине-зеленая водоросль *Anabaena sp.* может фиксировать свободный азот до 300 кг/га [144].

Смешанную культуру диких видов водорослей вполне успешно можно выращивать на питательных веществах сточных вод и потенциально масштабировать до коммерческого производства. Водоросли уже продемонстрировали способность заселять сточные воды с низким содержанием питательных веществ в малых реках Туркестанской области и богатых биогенным фосфором сточных водах на ТОО «Кайнар». Однако, при выращивании данных видов водорослей в модельных условиях закрытого помещения, они ограничены по освещенности, т.к. искусственное освещение сильно тормозит их естественные процессы, что подтверждает исследования [145].

В ходе работы микроводоросли культивировались на растворах с различным содержанием фосфорсодержащих отходов. Был выбран следующий режим культивирования: световой день 12 часов, температура воды +23,0±2,0 °С, pH 5,5±0,5, барботация CO₂ по 2 часа в сутки (Приложение А, рисунок 5). Было установлено, что при культивировании в растворах, содержащих отходы от 1,0±0,1 об.% до 5,0±0,3 об.% данные по приросту биомассы водорослей не отличается от контроля (питательная среда Пратта без добавления отходов). Увеличение содержания отходов выше 7,0±0,5 об.%, приводит к тому, что рост

консорциума микроводорослей *Chlorella vulgaris* ASLI-1, *Chlorella vulgaris* ASLI-2, *Oocystis* АТР замедляется, а при $15,0 \pm 1,5$ об.% растворе фосфорсодержащих шлаков и шламов наблюдается гибель клеток водорослей.

После культивирования в течение недели плотность клеток микроводорослей в питательных средах была следующая:

- 1,0 об.% раствор – $(7,0 \pm 0,5) \times 10^8$ г/см³;
- 5,0 об.% раствор – $(7,1 \pm 0,6) \times 10^9$ г/см³;
- 10,0 об.% раствор – $(6,7 \pm 0,5) \times 10^9$ г/см³;
- 15,0 об.% раствор – $(4,2 \pm 0,4) \times 10^3$ г/см³;
- 20,0 об.% раствор – $(2,3 \pm 0,2) \times 10^2$ г/см³.

С другой стороны, результаты исследований ряда ученых показывают разные данные по продуктивности водорослей, выращиваемых на сточных водах. Обычно описывается относительно высокое поглощение водорослями азота и фосфора, но общее поглощение азота ниже, т.к. органический азот, скорее всего, не усваивался водорослями [146]. При этом, средняя урожайность, полученная за весь период культивирования, составила $3,3 \pm 0,3$ г сухого вещества на 2 сутки. Другие исследования [147], проведенные с *Chlorella vulgaris*, выращенных на сточных водах, сообщают о норме производства водорослей в 3 г сухого вещества в сутки на м², что подтверждает предыдущие данные. Исследования Ли [148] сообщают о норме производства 13,0 г сухого вещества водорослей в сутки на м², при выращивании их на избыточном активном иле. При этом удалялось до $94,0 \pm 2,9\%$ аммиака, $89,1 \pm 8,1\%$ общего азота и $81,2 \pm 7,6\%$ азота нитратного. Однако, в следующем исследовании Краггса [149] утверждается, что в открытых водоемах достижима большая вариабельность по получению количества биомассы и удалению биогенных компонентов в зависимости от диапазона факторов, влияющих на этот процесс: состав сточных вод, уровень инсоляции, характер местности и рельефа и т.д.

Основной проблемой биотехнологического производства органических удобрений является повышение экономической эффективности производства, которое требует оптимизации процесса, применение новых экономически выгодных видов сырья, повышение качества и урожайности биомассы микроводорослей.

Оптимизация питательных веществ, для культивирования микроводорослей необходима, так как основная масса микроводорослей в природе адаптировалась к разнообразным условиям окружающей среды, таким как повышенная концентрация фосфора, азота и углевода. Такие штаммы микроводорослей нуждаются в повышенной концентрации данных элементов и в промышленном культивировании. Таким образом, подбор питательных веществ влияет на экономическую и экологическую значимость, а также на общий энергетический баланс культуры микроводорослей. Переработка сточных вод с помощью водорослей создает возможность одновременного получения удобрения и удаления биогенных элементов, что будет иметь преимущества перед биологическим удалением биогенов, например, с помощью бактерий или гидромакрофитов. В отличие от культивирования

микроводорослей в пресной воде, в случае сточных вод скорость роста и накопление биомассы сильно зависят от состава сточных вод [150]. В этом случае, важно использовать те виды водорослей, которые способны к потреблению биогенных элементов и отсутствию токсичных качеств, что в случае проведенных исследований подтверждает правоту в выборе штаммов микроводорослей *C. vulgaris* ASLI-1, *C. vulgaris* ASLI-2, *O.borgei* ATP, достоверно снижающих содержание фосфора фосфатного и азота аммонийного в сточных водах с последовательным накоплением биомассы. С другой стороны, известны исследования, описывающие снижение количества липидов при усилении роста микроводорослей [151], т.к. водоросли, выращенные в сточных водах, имеют низкое липидное содержание по сравнению с условиями азотного недостатка в среде. Данное заключение противоречит с исследованиями Шурина [152], где показана возможность повышения содержания липидов без понижения выхода биомассы. Например, подача экзогенного углекислого газа увеличивает и содержание липидов и выход биомассы у *Auxenochlorella protothecoides*. Компромисс между производительностью биомассы и липидным содержанием может быть решен при использовании поликультур микроводорослей. В этом отношении, состав изучаемых штаммов микроводорослей вполне обоснован тем, что каждый штамм способен к синтезу определенных групп липидов, результаты которых были описаны в главе 3.1.2.

Результаты влияния различных концентраций фосфорсодержащих отходов на плотность биомассы водорослей показано в таблице 5.

Таблица 5-Влияние различных концентраций фосфорсодержащих шлаков на изменение оптической плотности штаммов *C.vulgaris*ASLI-1, *C. vulgaris* ASLI-2, *O.borgei*ATP (λ 560нм).

Питательная среда	<i>C. vulgaris</i> ASLI-1, г/см ³	<i>C.vulgaris</i> ASLI-2, г/см ³	<i>O.borgei</i> ATP, г/см ³
Дистиллированная вода	5,7±0,5	5,7±0,4	3,6±0,3
Среда Прата	17,8±1,5	17,8±1,5	18,1±1,7
1,0±0,05 об.% раствор фосфорсодержащих отходов	13,5±1,1	12,4±1,2	15,4±1,5
5,0±0,1 об.% раствор фосфорсодержащих отходов	16,2±1,6	15,8±1,4	17,8±1,7
10,0±0,1 об.% раствор фосфорсодержащих отходов	16,1±1,5	16,2±1,5	17,5±1,6
15,0±0,1 об.% раствор фосфорсодержащих отходов	12,6±1,1	12,4±1,1	16,4±1,5
20,0±0,2 об.% раствор фосфорсодержащих отходов	2,1±0,1	2,2±0,2	1,4±0,1
Среда ИТА	19,8±1,6	19,7±1,8	20,4±2,0

По результатам, показанным в таблице можно отметить, что наибольшая плотность биомассы микроводорослей отмечена в $5,0\pm 0,1$ об.%, $10,0\pm 0,1$ об.% растворах фосфорсодержащих отходов и среде ИТА. В среде Прата плотность биомассы выше, чем в фосфорсодержащих растворах, что объясняется оптимизированным составом первой среды.

Таким образом, скрининг штаммов *Chlorella vulgaris* ASLI-1, *Chlorella vulgaris* ASLI-2, *Oocystis bordei* АТР в отношении фосфорсодержащих отходов в питательной среде показал, что оптимальная концентрация фосфорсодержащих отходов для получения максимальной плотности биомассы водорослей являются $5,0\pm 0,1$ об.% и $10,0\pm 0,1$ об.%, а также среда ИТА с $10,0\pm 0,1$ об.% содержанием фосфорсодержащих отходов.

3.2.1 Влияние различных факторов на оптимизацию процесса культивирования микроводорослей

На рост и развитие культуры микроводорослей оказывают влияние многие факторы как рН, наличие кислорода и углекислого газа, свет, температура. Так, например, углерод является основным элементом в биомассе, который занимает около 40-60% в беззольной массе. Зеленые микроводоросли, являясь фотоавтотрофами, получают его в процессе фотосинтеза из углекислого газа. Также как и кислород, который занимает меньше зольного остатка, около 12-29%, но является основным элементом в синтезе белка, углеводов и жиров. Одним из важных элементов является фосфор, который участвует в синтезе белков и нуклеиновых кислот. Недостаток данных элементов может привести к понижению плотности биомассы микроводорослей.

Исследования по изучению влияния абиотических факторов проводились в модельных условиях на базе ООЭО «Биос» в зимний период (Приложение Б). При изучении влияния рН на обилие водорослей, установлено, что оптимум этого показателя для трех исследуемых штаммов был в пределах рН $6,0\pm 0,2$ (рисунок 28). При этом *O. bordei* АТР предпочитает слабо-кислые среды, но является более космополитичным, т.к. показывает устойчивость и к показателям рН $8,5\pm 0,5$.

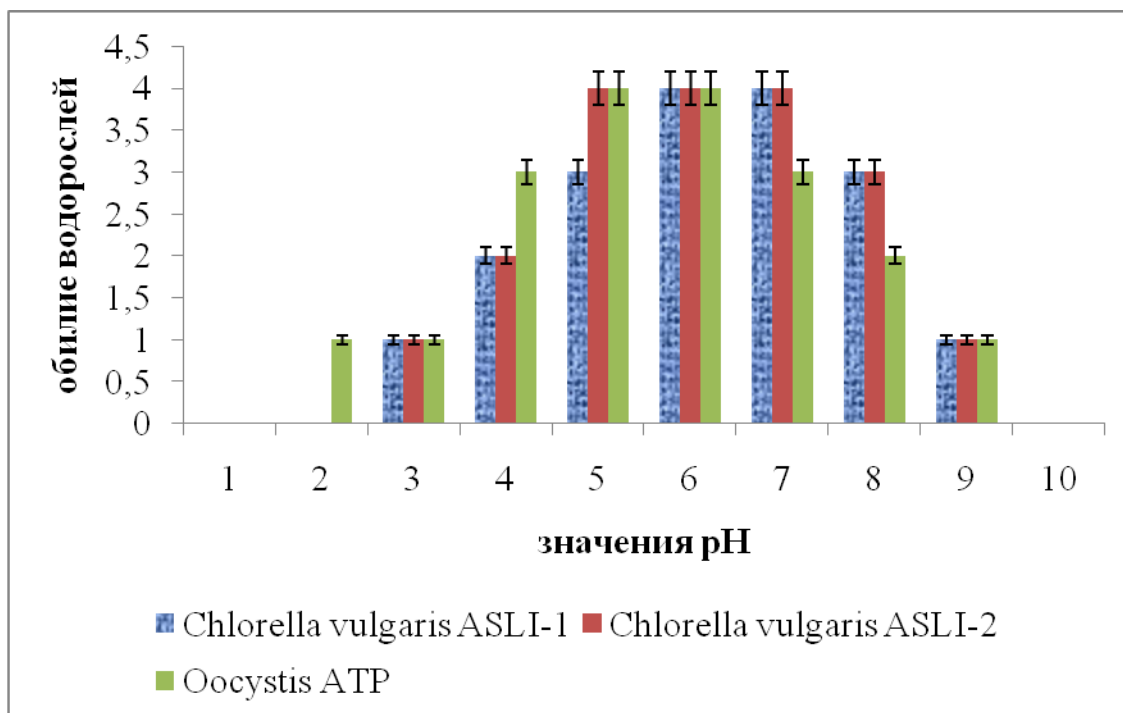


Рисунок 28 - Влияние различных значений pH на обилие экземпляров штаммов микроводорослей

В ходе исследований аэрация культуральной жидкости со штаммами *Chlorella vulgaris* ASLI-1, *Chlorella vulgaris* ASLI-2, *Oocystis* ATP осуществлялась барботированием углекислым газом и кислородом в разные временные отрезки. В зависимости от времени аэрации было отмечено, что в вариантах с продолжительностью насыщения кислородом среды в течение 6 часов, углекислым газом – в течение 12 часов и смешанным барботированием в течение 6 часов отмечены самые высокие показатели плотности выращенной биомассы штаммов микроводорослей (таблица 6).

Таблица 6 - Влияние углекислого газа и кислорода на плотность биомассы микроводорослей

Аэрация	Продолжительность, ч	<i>C. vulgaris</i> ASLI-1, г/см ³	<i>C.vulgaris</i> ASLI-2, г/см ³	<i>O. borgei</i> ATP, г/см ³
Кислород	3	$(5,1\pm 0,5)\times 10^2$	$(4,8\pm 0,4)\times 10^2$	$(3,0\pm 0,3)\times 10^2$
	6	$(7,0\pm 0,5)\times 10^4$	$(6,3\pm 0,4)\times 10^4$	$(7,0\pm 0,2)\times 10^4$
	12	$(3,2\pm 0,3)\times 10^2$	$(2,8\pm 0,3)\times 10^2$	$(2,3\pm 0,5)\times 10^2$
	24	$(1,7\pm 0,1)\times 10$	$(1,4\pm 0,3)\times 10$	$(1,0\pm 0,3)\times 10$
CO ₂	3	$(7,2\pm 0,7)\times 10^4$	$(6,9\pm 0,4)\times 10^4$	$(7,9\pm 0,2)\times 10^4$
	6	$(6,8\pm 0,6)\times 10^7$	$(6,4\pm 0,3)\times 10^7$	$(6,0\pm 0,3)\times 10^7$
	12	$(8,2\pm 0,8)\times 10^7$	$(8,9\pm 0,3)\times 10^7$	$(8,5\pm 0,3)\times 10^7$
	24	$(3,3\pm 0,3)\times 10^2$	$(3,0\pm 0,2)\times 10^2$	$(2,3\pm 0,4)\times 10^2$
Кислород+С O ₂ (2,0±0,1%)	3	$(5,1\pm 0,2)\times 10^6$	$(5,0\pm 0,3)\times 10^6$	$(6,1\pm 0,3)\times 10^6$
	6	$(8,2\pm 0,5)\times 10^9$	$(7,4\pm 0,5)\times 10^9$	$(7,8\pm 0,4)\times 10^9$
	12	$(5,8\pm 0,3)\times 10^8$	$(5,8\pm 0,4)\times 10^8$	$(5,3\pm 0,4)\times 10^8$
	24	$(4,1\pm 0,3)\times 10^5$	$(3,9\pm 0,2)\times 10^5$	$(3,3\pm 0,3)\times 10^5$

По данным таблицы можно сделать вывод, что оптимальные параметры аэрации для получения высокой плотности биомассы - продолжительность 6 часов с использованием смеси кислорода с $2,0 \pm 0,1\%$ содержанием углекислого газа. Наиболее устойчивыми штаммами микроводорослей к изменению аэрационного периода являлись *C.vulgaris* ASLI-1 и *O.borgei* ATP, их титр при использовании смешанного газа для барботирования составил $(8,7 \pm 2,1) \times 10^9$ КОЕ/см³ и $(8,2 \pm 3,6) \times 10^9$ КОЕ/см³, соответственно.

При изучении влияния продолжительности светового дня на накопление биомассы микроводорослей, в качестве источников освещения использовались ультрафиолетовые лампы Phillips PL-L55W/840 Cool White с различной экспозицией в 3, 6, 12 и 24 часа. Динамика изменения плотности биомассы культуры микроводорослей контролировалась на спектрофотометре с длиной волны 750 нм, а удельная скорость роста культуры высчитывалась по следующей формуле:

$$\mu = (\ln OD_{750}(t_2) - \ln OD_{750}(t_1)) / (t_2 - t_1) \quad (1)$$

где, μ = удельная скорость роста

OD_{750} = оптическая плотность при 750 нм

$OD_{750}(t_1)$ = OD_{750} за раз

$OD_{750}(t_2)$ = OD_{750} за раз

t_1 = время 1 (ч)

t_2 = время 2 (ч)

Удельная скорость роста является средней скоростью роста всех клеток биомассы и может определить увеличение биомассы за отрезок времени и пропорциональна биомассе культуры микроводорослей в период экспоненциальной фазы. Эти показатели применялись для сравнения различных условий освещения в рамках скрининга для каждого штамма водорослей. По результатам исследования было установлено, что максимальная удельная скорость роста биомассы микроводорослей достигалась при длине светового дня равного $12,0 \pm 0,1$ часам. Так, титр *C. vulgaris* ASLI-1 был $(8,7 \pm 0,8) \times 10^9$ КОЕ/мл, *C. vulgaris* ASLI-2 – $(7,9 \pm 0,5) \times 10^9$ КОЕ/мл, *O.borgei* ATP – $(8,2 \pm 0,5) \times 10^9$ КОЕ/мл.

При определении оптимального режима культивирования консорциума микроводорослей температурный режим для культивирования биомассы микроводорослей был подобран приближенно к природным условиям водоемов Туркестанской области согласно сезонной динамике (рисунок 28).

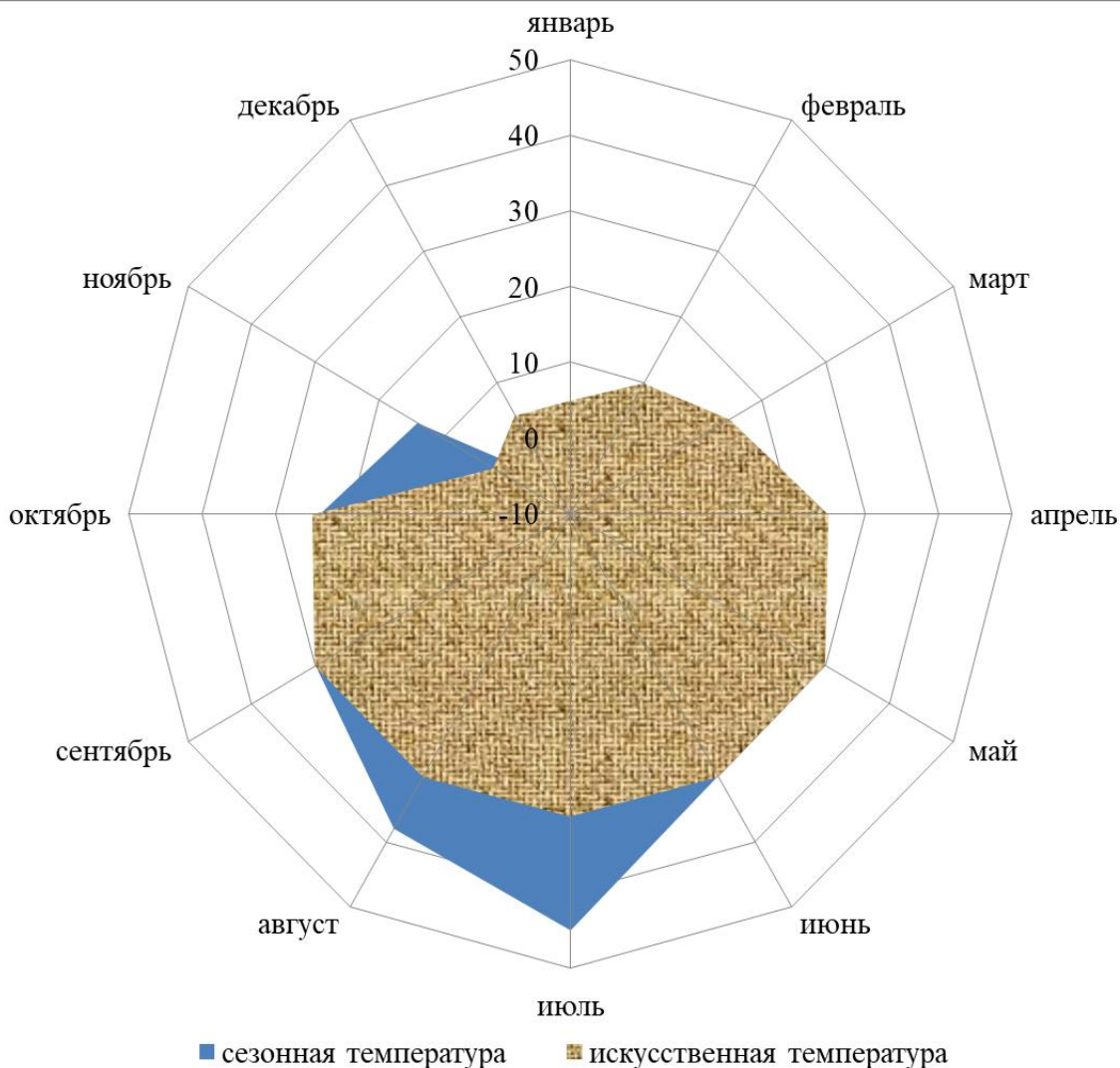


Рисунок 28- Температурные параметры сезонного культивирования микроводорослей в искусственных условиях

Климат Туркестанской области характеризуется резкими перепадами температур от высоких, местами до $+52,5 \pm 2,5^{\circ}\text{C}$ летом до $-17,5 \pm 1,5^{\circ}\text{C}$ в зимние месяцы в некоторые годы. В условиях искусственного культивирования необходимо соблюдение оптимальных и коррелирующих с природными значениями параметров температурного режима, т.е. избегание критических температур. Это позволит не только ослабить стрессовые моменты, но и значительно сэкономит энергетические ресурсы, необходимые для охлаждения/обогрева технологического процесса. Установлено, что плотность биомассы, в зависимости от температурных колебаний, изменяется незначительно (рисунок 29).

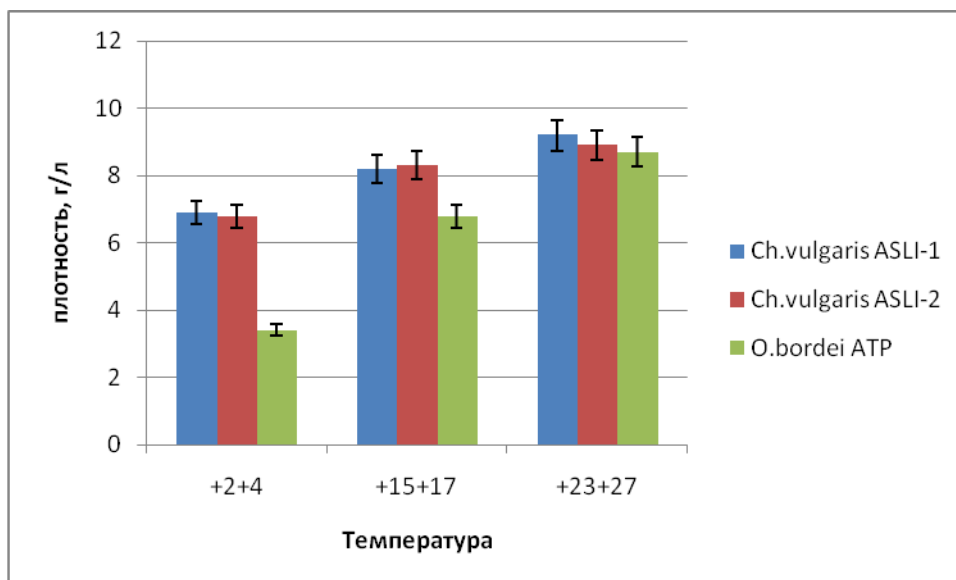


Рисунок 29 - Плотность биомассы микроводорослей при различном температурном режиме, г/см³

Как показывают результаты, оптимальная температура для культивирования в промышленном масштабе является $+25,0 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$, где штаммы *C. vulgaris* ASLI-1, *C. vulgaris* ASLI-2 и *O.borgei* ATP набирают максимальное количество клеток $(9,0 \pm 0,5) \times 10^7$ КОЕ/мл, $(8,9 \pm 0,6) \times 10^7$ КОЕ/мл и $(8,7 \pm 0,5) \times 10^7$ КОЕ/мл, соответственно.

Таким образом, оптимальной средой для культивирования микроводорослей *Chlorella vulgaris* ASLI-1, *Chlorella vulgaris* ASLI-2 и *Oocystis* ATP в промышленном масштабе является среда ИТА с $10,0 \pm 0,1\%$ содержанием фосфорсодержащих шлаков, с такими параметрами культивирования как аэрация с использованием смеси кислорода с $2,0 \pm 0,1\%$ содержанием углекислого газа, длиной светового дня $12,0 \pm 0,1$ часа при температуре $+25,0 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$.

3.3 Влияние альгоудобрения «ФосфИТА» на морфометрические характеристики фито-тест-культур

Несмотря на широкий вариатив используемых в сельском хозяйстве минеральных и органических удобрений, поиск новых видов удобрений с заданными свойствами, остается открытым и чрезвычайно важным. Многочисленные исследования в области применения отходов металлургии для использования в агропромышленном комплексе в качестве удобрения актуальны и сейчас. Фосфаты используются в виде различных форм как, например, фосфогипс [153] или суперфос [154]. Фосфорные шлаки гранулируют или обрабатывают высокими температурами для получения фосфорсодержащей муки. Основными недостатками данных технологий является высокая цена на оборудование, также довольно часто удобрение из шлаков может накапливаться в почве в форме не приемлемым для

использования растениями, например в форме фторпатита [155]. Также популярен экстракционный метод для разложения апатита, фосфорита серными, азотной и фосфорной кислотами. Основные недостатки – это загрязнение кислот, а также низкая продуктивность. Известные исследования в агропромышленной биотехнологии связаны с утилизацией фосфора в почве с применением фосфатмобилизующих микроорганизмов [156]. В исследованиях российских ученых [157] установлено, что использование консорциума diaзотрофных и фосфатмобилизующих микроорганизмов в предпосевной обработке семян сельскохозяйственных культур значительно повышает такие показатели биологической активности серой лесной почвы как микробная биомасса и респираторная активность. Выявлено, что применение консорциума способствует увеличению количества аммонификаторов и актиномицетов, участвующих в биологическом круговороте органического углерода. Несомненным достоинством является и подавление роста микромицетов-фитопатогенов данного типа почвы.

Для питания растений наибольшую ценность представляют подвижные или растворимые формы фосфора. К этой группе относятся различные формы фосфатов, участвующие в динамическом равновесии между твердыми фазами почвы и ее растворами, т.е. в процессах перехода фосфора из твердых фаз в раствор и обратно. Степень доступности для растений подвижных фосфатов зависит от различных абиотических и биотических факторов как тепловой, воздушный, водный режим, физико-химическая характеристика почв, биологическая активность почв и т.д. В случае с фосфорсодержащими отходами г.Шымкент визуально можно отметить, что в местах складирования шлаков и шламов фосфор находится в недоступной для растений формах, что подтверждается отсутствием растительности на поверхности складирования отходов. Однако, многолетние процессы водной эрозии, вероятно, способствовали активизации процессов фосфатмобилизации в поверхностных и краевых слоях отходов, которые начали постепенно заселяться аборигенными видами зеленых микроводорослей *Chlorella vulgaris*, *Chlorococcus sp.* и, впоследствии, высшими сосудистыми растениями как свиной пальчатый (*Cynodon dactylon*), додарция восточная (*Dodartia orientalis*), костер кровельный (*Bromus tectorum*), которые постепенно начинают оккупировать края накопителя фосфорсодержащих шламов. Осадочные и поливные воды, проникая через толщу твердых фосфорсодержащих отходов и растворяя различные соли, формируют фосфорсодержащие сточные воды, которые накапливаются в различных бетонированных резервуарах и низинах на территории складирования отходов. О том, что фосфор начинает переходить в легкоусвояемую для растений форму, свидетельствуют процессы активного развития альгофлоры в водоеме и рост гигро- и гидромакрофитов: камыш озерный (*Scirpus lacustris*), осока пузырчатая (*Carex vesicaria*), тростник южный (*Phragmites australis*), вероника поручейная (*Veronica beccabunga*), горец птичий (*Poligonum aviculare*) на возвышенностях.

Одним из критериев оценки перевода нерастворимых форм фосфатов в растворимые и используемые растениями в метаболизме является индекс солюбилизации (solubilization index SI) [157]. Оценка SI выделенных изолятов микроводорослей показала, что штаммы *C. vulgaris* ASLI-1, *C.vulgaris* ASLI-2, *O.borgei* ATP имеют самые высокие показатели по данному критерию (рисунок 30).

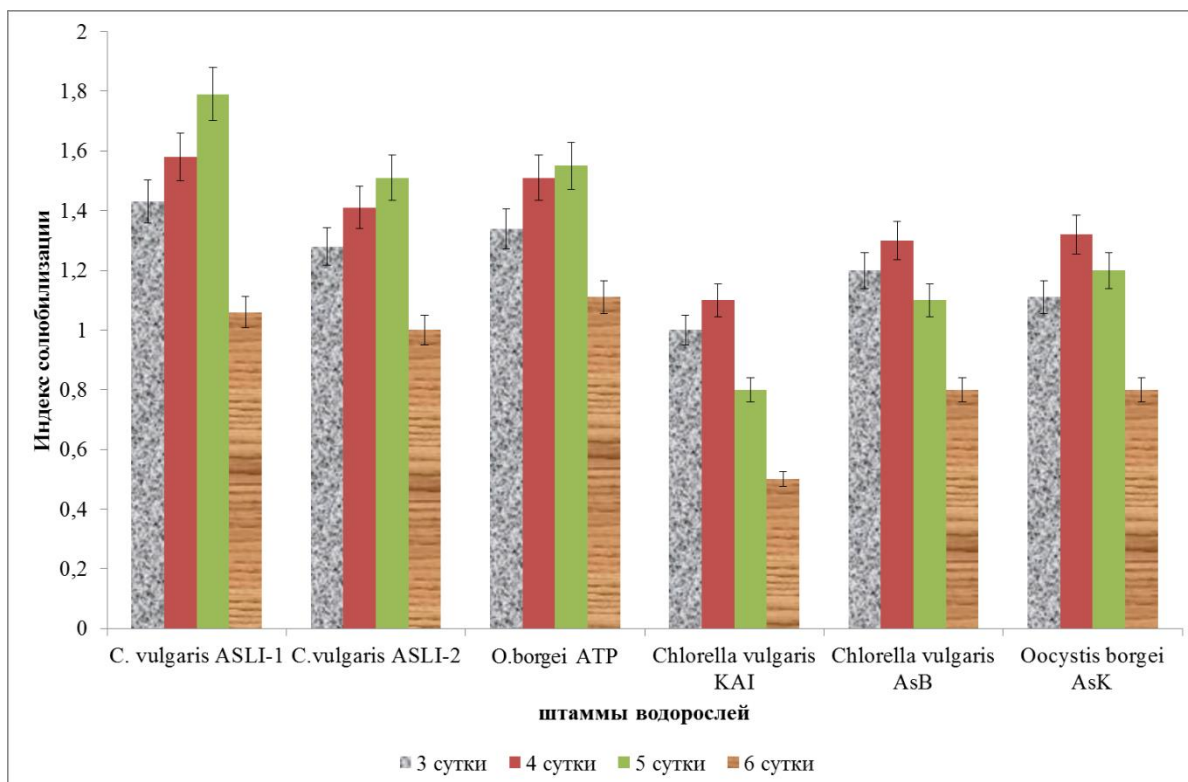


Рисунок 30 - Сравнительная характеристика SI выделенных штаммов микроводорослей

Способность солюбилизировать фосфор композицией из трех активных штаммов микроводорослей *C. vulgaris* ASLI-1, *C.vulgaris* ASLI-2, *O.borgei* ATP была проверена дополнительно в условиях разных вариантов азотного питания, где в качестве источника азота использовались аммиачная селитра, нитрат калия, нитрат натрия, сульфат натрия, вводимые в среду Пратта. В контрольном варианте азот в среду не вводился. Установлено, что солюбилизация фосфора происходит в следующем порядке: сульфат аммония→ нитрат калия→ нитрат натрия→ аммиачная селитра. Была выявлена отрицательная коррелятивная зависимость между солюбилизированным фосфором и значениями pH, т.е. с увеличением количества высвобожденного фосфора значения pH снижались (рисунок 31). Степень подкисления происходила по следующему порядку: сульфат аммония→ нитрат калия→ нитрат натрия→ аммиачная селитра.

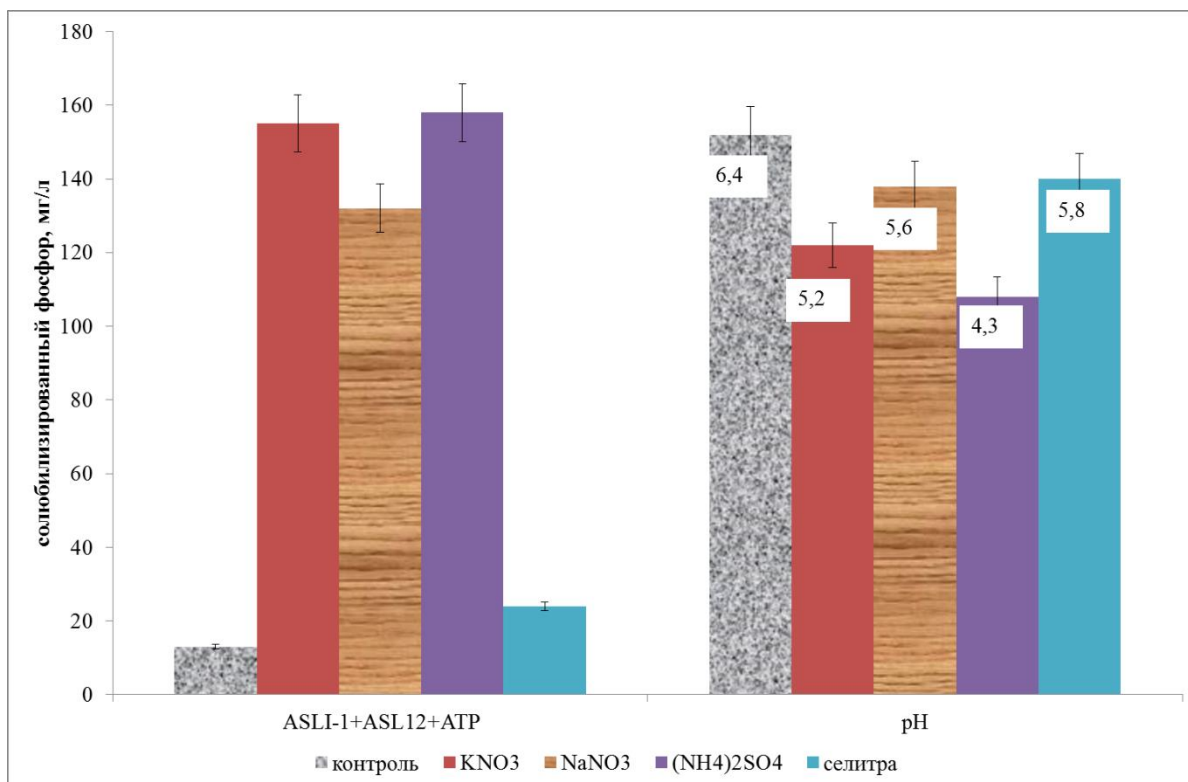


Рисунок 31- Влияние источника азота на степень солубилизации фосфора композицией микроводорослей *C. vulgaris ASLI-1*, *C.vulgaris ASLI-2*, *O.borgei ATP*

Изучение фосфорсолубилизирующей способности композиции микроводорослей *C. vulgaris ASLI-1*, *C.vulgaris ASLI-2*, *O.borgei ATP* изучалась дополнительно на фосфорсодержащих шлаках и шламах, где использовалась среда Пратта с усредненными и отквартованными отходами в качестве единственного источника фосфора (рисунок 32). Было установлено, что процессы фосфорсолубилизации проходят с большей интенсивностью в варианте с применением суспензии фосфорсодержащих шламов, что вполне объяснимо большой площадью соприкосновения твердых частиц отходов с биомассой водорослей. Скорость солубилизации фосфора из шлама составила $0,1 \pm 0,01$ SI/сутки, что на $0,02 \pm 0,00$ SI/сутки выше, чем в случае с использованием фосфорсодержащего шлама. Кроме того, необходимо отметить что в отличие от показателей солубилизации фосфора в среде Пратта с введенным фосфатом в виде $Ca_3(PO_4)_2$, динамика изменения растворенного фосфора в суспензиях со шламом и шлаком поступательна положительна, что можно объяснить постепенным высвобождением фосфора из твердых отходов.

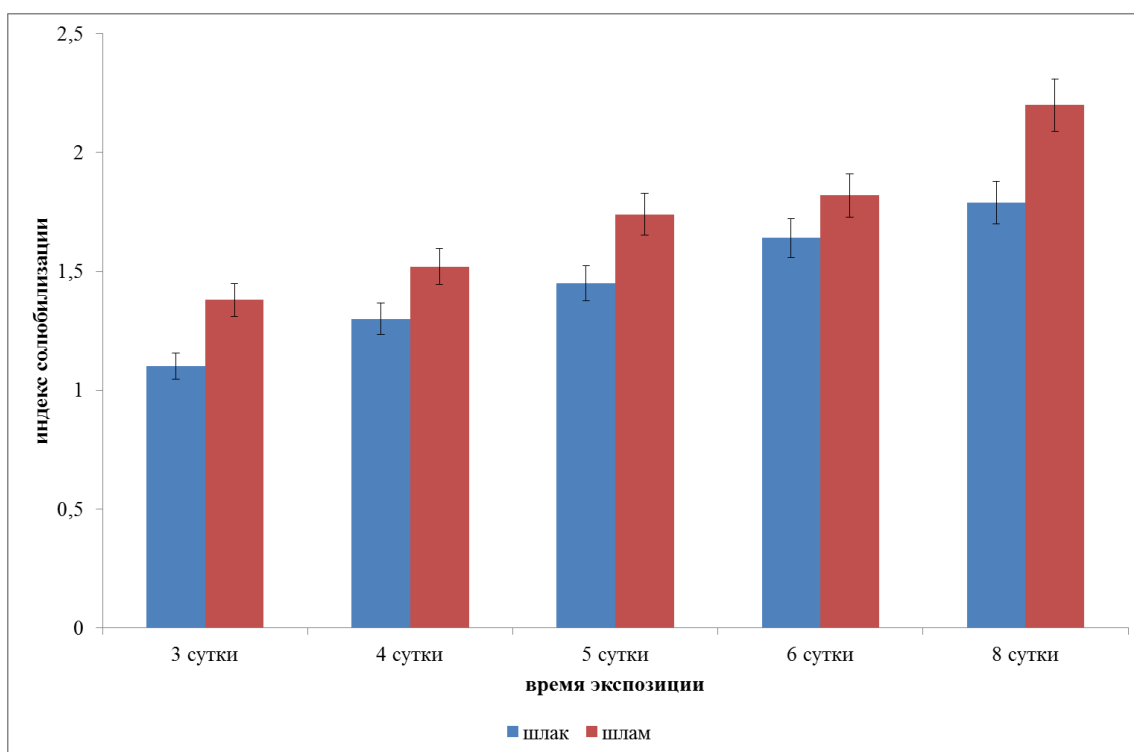


Рисунок 32- Динамика фосфорсольubilизации из фосфорсодержащих шлаков и шламов композицией микроводорослей *C. vulgaris* ASLI-1, *C.vulgaris* ASLI-2, *O.borgei* АТР

Несмотря на схожесть химического состава фосфорсодержащих шламов и шлаков, влияние их на рост и развитие тест-растений разное. Для изучения влияния твердых фосфорсодержащих отходов на морфометрические показатели фито-тест-культур были использованы наиболее распространенные в Туркестанской области плодовоовощные культуры: томат (*Solanum lycopersicum*), огурец (*Cucumis sativus*), листовые культуры - базилик (*Ocimum* sp.), корнеплодные культуры - редька (*Raphanus sativus*), зернобобовые культуры - кукуруза (*Zea mays*).

S.lycopersicum культивируется на территории более 25 тыс.га земель в Казахстане, в Туркестанской области земли под выращивание томата отведено около 9-10тыс.га, где средний объем урожайности составляет $222,1 \pm 1,9$ ц/га. Общеизвестно, что урожайность томатов зависит не только от погодноклиматических условий, но и содержания биогенных элементов в почве, где фосфор играет важную роль. Наличие такого неучтенного ресурса как фосфорсодержащие отходы в Туркестанской области и возможность использования фосформобилизирующих способностей нового консорциума микроводорослей может способствовать улучшению условий культивирования томатов и, как следствие, положительно повлиять на их урожайность. Кроме того, что для полноценного развития растения и последующего развития плодов необходима защита растений от грибково-гнилостных инфекций.

В наших исследованиях применялись различные процентные растворы фосфорсодержащих удобрений, а также маточная культура зеленых микроводорослей с добавлением фосфорсодержащих отходов (рисунок 33).

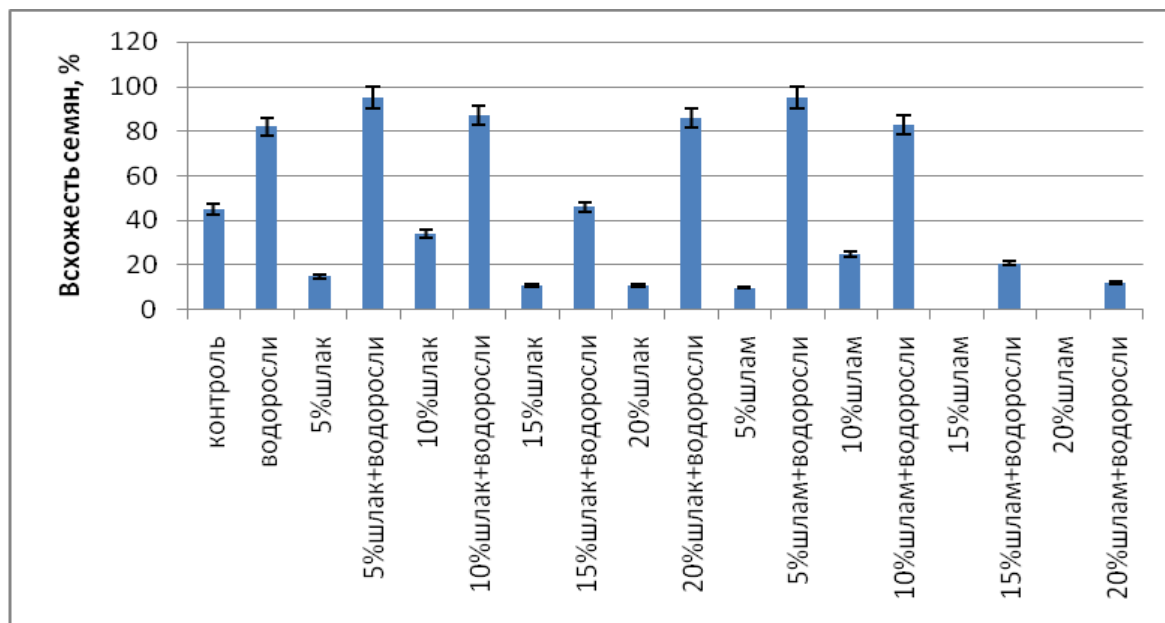


Рисунок 33 – Влияние различных концентраций фосфорсодержащих отходов и зеленых микроводорослей на всхожесть семян томата

Как показано на рисунке растворы фосфорсодержащих шлаков с микроводорослями положительно влияют на развитие семян томата. По сравнению с контрольным вариантом с чистой водой и с водорослями, опытные образцы показали лучший результат, кроме образца с 20,0±0,5% раствором шлама [158]. Можно отметить, что фосфорсодержащие шлаки и шламы в чистом виде не влияют на всхожесть семян томата, а при концентрации выше 15,0±0,8% могут привести к гибели растений. В то же время при добавлении маточной культуры зеленых микроводорослей *C. vulgaris* ASLI-1, *C. vulgaris* ASLI-2, *O. borgei* ATP и цианобактерии *Anabaena sp.* при 5,0±0,5 % суспензии шлаков и шламов отмечено 100,0±0,0% всхожесть семян томата. Кроме этого, было отмечено в образцах где использовалась культуры водорослей было меньше грибкового заражения, возможно культуры *C. vulgaris* ASLI-1, *C.vulgaris* ASLI-2, *O.borgei* ATP обладают фунгицидным действием. Российские ученые доказали бактерицидное, антивирусное и противомикробное действие *C.vulgaris*, которое по сравнению с другими антибиотиками избирательно подавляет только патогенные микроорганизмы [159].

При измерении морфометрических показателей, таких как длина корней и стеблей было отмечено, что суспензии с фосфорсодержащим шлаком активизируют рост корней, а суспензии с фосфорсодержащим шламом оптимизируют рост надземной части растений (Рисунок 34).

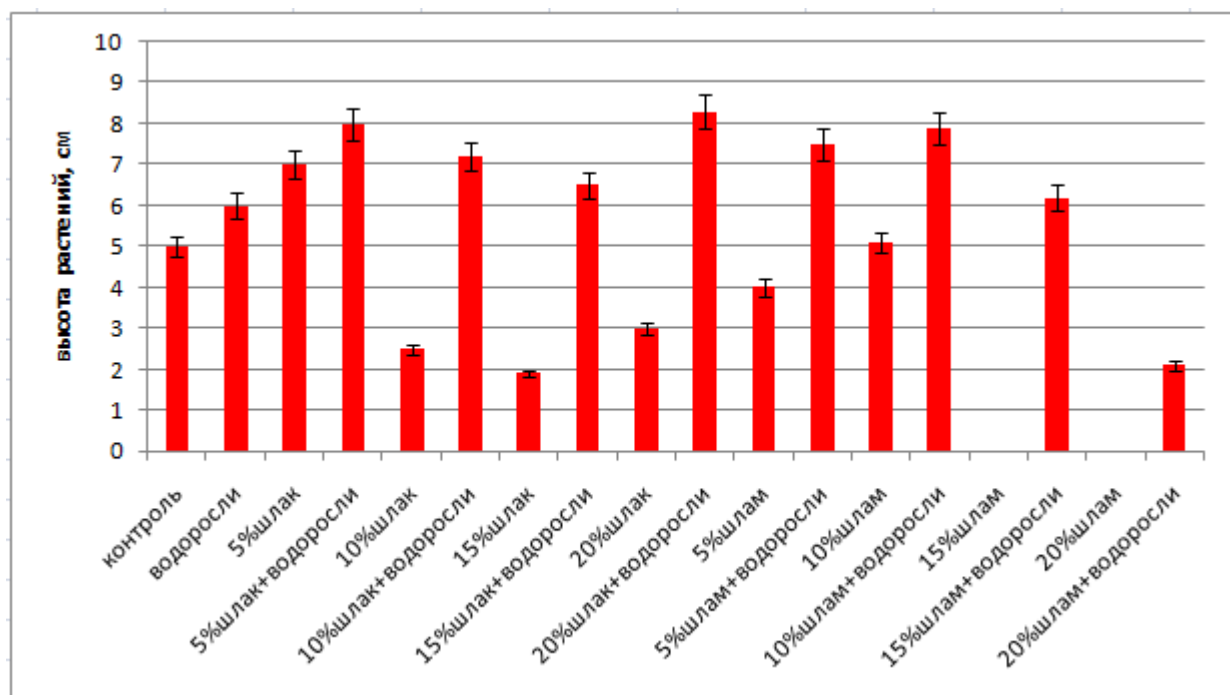


Рисунок 34- Влияние различных процентных суспензий фосфорсодержащих отходов и водорослей на морфометрические показатели томата

В образце с $5,0 \pm 0,5\%$ суспензией фосфорного шлака длина корня в $4,1 \pm 0,2$ раз превысила длину корня в контрольном варианте. При добавлении культуры водорослей в фосфорсодержащий шлак, повышается развитие стебля растений, например при $15,0 \pm 0,8\%$ раствора фосфорсодержащих шлаков длина стебля томата составила $0,3 \pm 0,01$ см, в таком же процентном растворе при добавлении композиции водорослей высота стебля была выше уже на $3,8 \pm 0,2$ см. Увеличение концентрации фосфорсодержащих шламов до $15,0 \pm 0,8\%$ и выше, привело к гибели опытных томатов, однако, введение композиции микроводорослей способствовало выживанию проростков.

C. sativus -теплолюбивая овощная культура, которая благодаря короткому периоду вегетации (около - 40-55 дней) и интенсивной урожайности остается одной из популярных сортов овощей. На юге Казахстана культивируется примерно на 462 га земли с урожайностью 35 кг/м^2 . В составе огурца есть витамины группы В, С, каротин, макро-и микроэлементы, вода. Для полноценного культивирования и высокой урожайности *C. sativus* почва удобряется из расчета NPK 30 г/м^2 . Исследования показали, что всхожесть семян огурца в условиях полива разнопроцентными суспензиями шлака и шлама без и с введением композиции микроводорослей варьирует и обратно коррелирует с количеством отходов в суспензии (рисунок 35), при этом в вариантах с введением композиции микроводорослей всхожесть семян повышается, в среднем, на $23,5 \pm 2,1\%$.

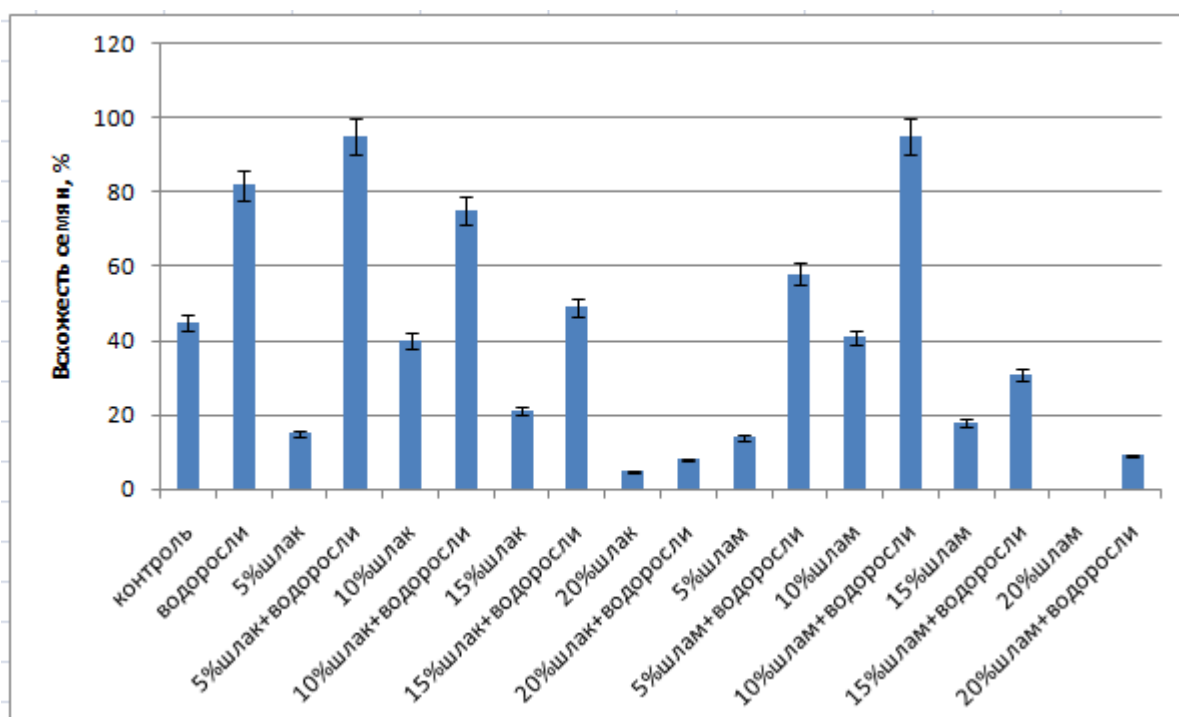


Рисунок 35 – Всхожесть семян *Cuscutis sativus* при различном сочетании фосфорсодержащих отходов и водорослей

При исследовании морфометрических показателей было установлено, что фосфорсодержащий шлак даже при повышенных концентрациях $5,0 \pm 0,5$ и $10,0 \pm 0,8\%$ оказывает стимулирующее действие (рисунок 36), границы острого токсического действия начинаются при повышении концентрации шлака до $20,0 \pm 1,0\%$ с началом ингибирования развития вегетативных органов при $15,0 \pm 0,8\%$.

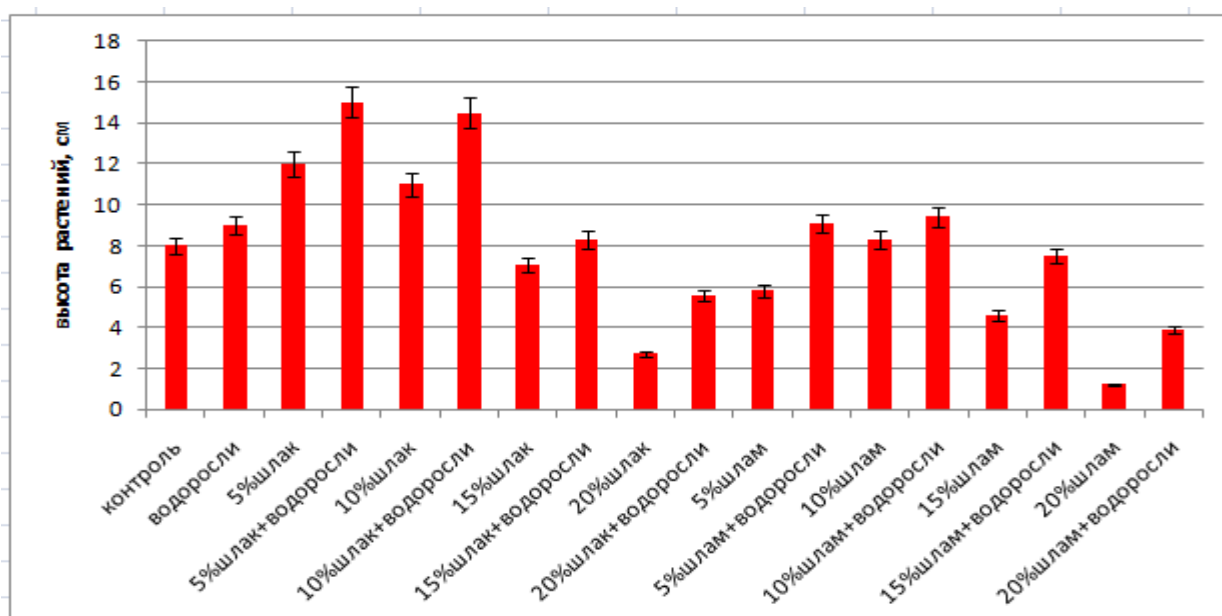


Рисунок 36 – Влияние различных процентных суспензий фосфорсодержащих отходов и водорослей на морфометрические показатели *C. sativus*

Как показано на рисунке, в контрольной группе длина проростка от корня до вершины стебля в среднем составила $9,4 \pm 0,2$ мм, а в группе с фосфорсодержащими шлаками $9,8 \pm 0,3$ мм. Необходимо отметить, что наивысшего роста проростки огурца достигли в вариантах с использованием $5,0 \pm 0,5\%$ и $10,0 \pm 0,8\%$ фосфорсодержащих шлаков. Как и для томатов, фосфорсодержащие шламы оказались более токсичными для *C. sativus*. При введении композиции водорослей *C. vulgaris* ASLI-1, *C. vulgaris* ASLI-2, *O. borgei* АТР в суспензию фосфорсодержащих отходов морфометрические показатели *C. sativus* улучшились. В среднем, морфометрические показатели тест-растений *C. sativus* при добавлении микроводорослей в суспензии фосфорсодержащих отходов зависели от соотношения и повысились до $8,9 \pm 0,4\%$.

Для повышения достоверности результатов изучения влияния суспензии фосфорсодержащих отходов на сельскохозяйственные культуры были выбраны тест-организмы, относящиеся к разным семействам. Базилик (*Ocimum sp.*) – пряное травянистое растение из семейства яснотковые (*Lamiaceae*), легко культивируемое и достаточно неприхотливое. Помимо доступных условий культивирования, растение имеет ярко выраженные вегетативные органы и короткий срок вегетации. В последние годы с повышением популярности листовых культур в пище, в Казахстане все большую площадь занимает выращивание различных видов листовых овощных культур, среди них также особое место занимает и базилик. Он является теплолюбивым растением, в связи с этим около 89-92% общей массы данного растения культивируют на юге Казахстана. Оптимальным соотношением для культивирования *Ocimum sp.* является соотношение азота, фосфора и калия в расчете NPK 2:5:3.

В исследованиях по изучению влияния различных концентраций фосфорсодержащих твердых отходов в различных сочетаниях с композицией микроводорослей на всхожесть и морфометрические характеристики базилика выявлено, что включение суспензии водорослей ослабляет токсическое действие отходов. При повышении концентрации как шлака, так и шлама до $15,0 \pm 0,8\%$ введение микроводорослей повышает всхожесть семян на $20,0 \pm 1,0\%$ и сокращает сроки появления всходов. Однако гибель семян базилика происходит при поливе $20,0 \pm 1,0\%$ суспензией фосфорсодержащих отходов, как шлаков, так и шламов, независимо от введения в воду суспензии микроводорослей (таблица 7).

Таблица 7- Сравнительная всхожесть семян *Ocimum sp.* по времени

Вид удобрения	Время, сутки	Всхожесть, %
Контроль (вода)	5	$75,0 \pm 5,5$
Водоросли	5	$100,0 \pm 0,0$
5% шлак	3	$100,0 \pm 0,0$
5% шлак+водоросли	2	$100,0 \pm 0,0$
10% шлак	3	$76,2 \pm 4,5$

Продолжение табл.7		
10% шлак+водоросли	2	100,0±0,0
15% шлак	4	58,4±1,6
15% шлак+водоросли	6	76,2±4,5
20% шлак	0	0
20% шлак+водоросли	0	0
5% шлам	4	75,6±4,2
5% шлам+водоросли	3	100,0±0,0
10% шлам	5	55,8±4,2
10% шлам+водоросли	3	76,2±4,5
15% шлам	7	18,1±1,9
15% шлам+водоросли	5	28,2±1,2
20% шлам	0	0
20% шлам+водоросли	0	0
Примечание: статистическая достоверность результатов при $P > 0,95$, не более 10,0%; Процентное содержание удобрений показано в округленных значениях		

При измерении морфометрических показателей опытных растений *Ocimum sp.* так же показали различные результаты с фосфорсодержащими шлаками и шламами (рисунок 37).

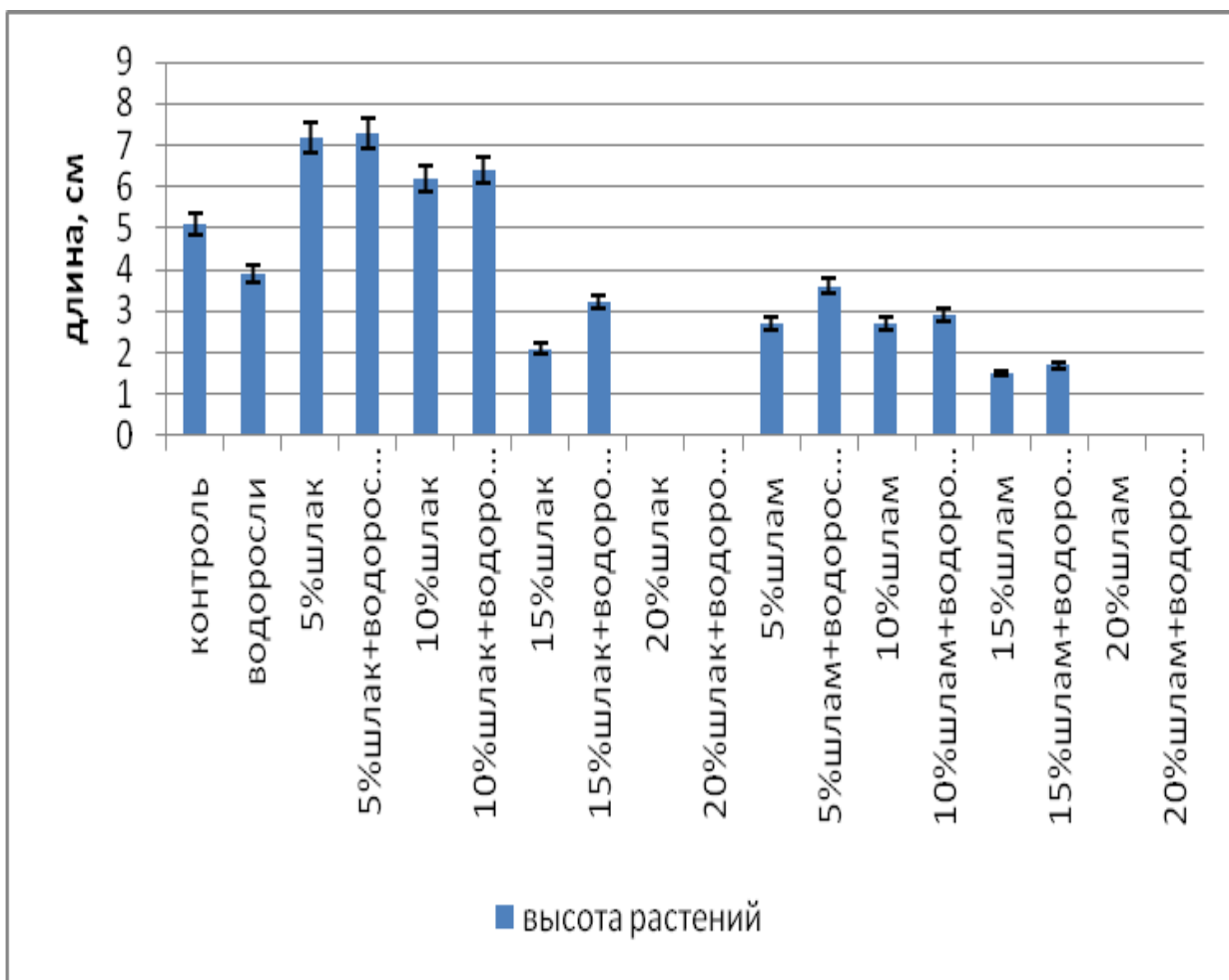


Рисунок 37 - Влияние различных концентраций фосфорсодержащих отходов и водорослей на длину *Ocimum sp.*, см

Можно отметить, что наибольший рост и развитие растений отмечен в вариантах с $5,0 \pm 0,1\%$ и $10,0 \pm 0,1\%$ концентрациями фосфорсодержащих шлаков и добавлением суспензии водорослей *C. vulgaris* ASLI-1, *C. vulgaris* ASLI-2, *O. borgei* АТР. Так, при концентрации $5,0 \pm 0,1\%$ шлака и шлака с водорослями высота растений превысила контрольные варианты на $2,2 \pm 0,2$ и $3,4 \pm 0,3$ см, соответственно.

Следующее тест-растение - Редька (*Raphanus sativus*) – является овощной культурой, которая более популярна в странах Азии, таких как Япония и Корея. У данного растения высокая урожайность, около 75-95 т/га, короткий вегетационный период, который составляет примерно 35-70 дней. В *R. sativus* содержится большое количество витаминов и минералов, необходимых для жизни человека. В настоящее время редьку чаще культивируют на приусадебных участках, в небольшом объеме в агропромышленных комплексах. Традиционно, при культивировании *R. sativus* удобрения вносят из расчета NPK 2:3:3 на 1 м^2 .

При изучении всхожести семян редьки в лабораторных условиях было установлено, что $15,0 \pm 0,1\%$ и $20,0 \pm 0,1\%$ концентрация фосфорсодержащих

шлаков и шламов токсична для этого вида тест-растений. В остальных вариантах опыта максимальная всхожесть- $97,5 \pm 8,8\%$, была отмечена в варианте с 5% содержанием шлаков и культур водорослей. В опытах без добавления водорослей на семенах растений *R. sativus* отмечен рост плесени.

Влияние различных концентраций фосфорсодержащих отходов и композиции водорослей на морфометрические показатели *R. sativus* были измерены на 7 и 14 сутки после высаживания на вермикулите (рисунок 38). Было установлено, что концентрация в $15,0 \pm 0,1\%$ шлаков и шламов вызывает остро токсический эффект на прорастание семян, но введение суспензии водорослей снижает их токсичность, давая проросткам развиваться в незначительной степени. При $20,0 \pm 0,2\%$ концентрации фосфорсодержащих шлаков с добавлением маточной культуры водорослей средняя длина растений составила $1,2 \pm 0,1$ см.

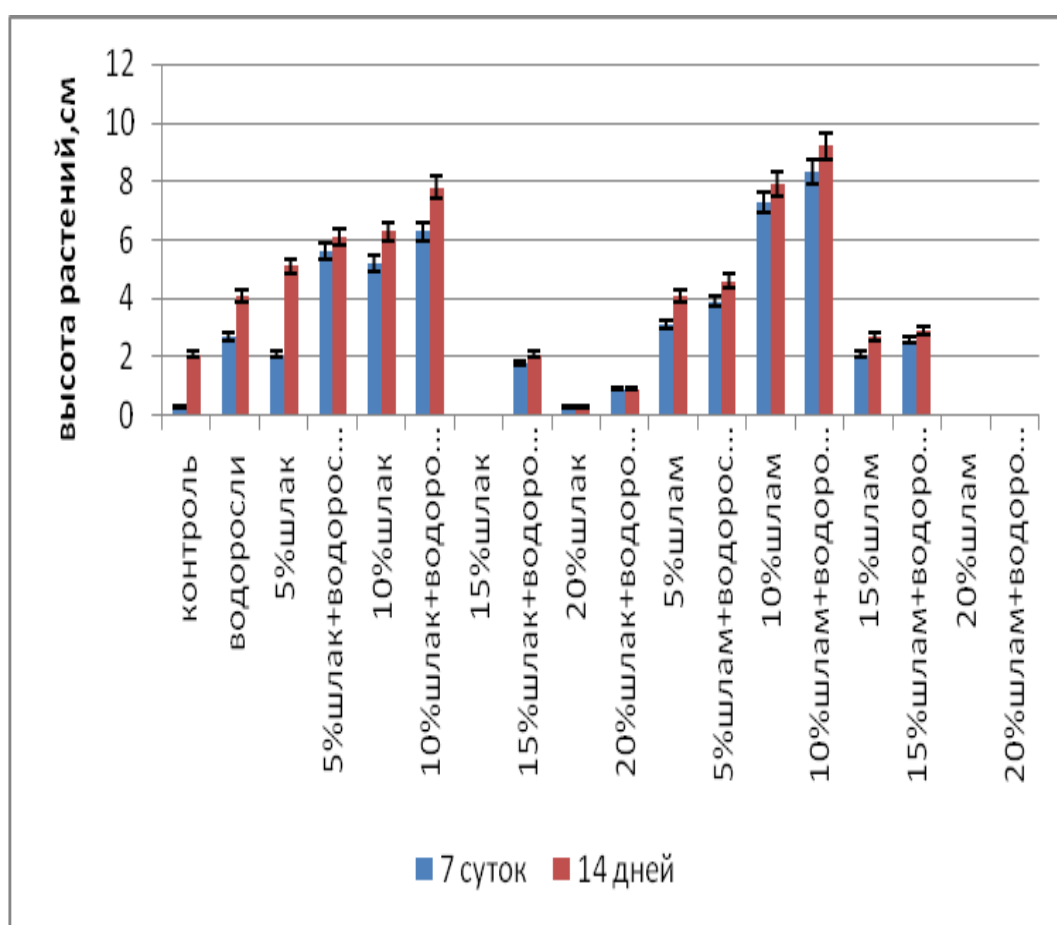


Рисунок 38- Динамика изменения высоты растения *Raphanus sativus* при различных концентрациях фосфорсодержащих отходов и водорослей

Кукуруза (*Zea mays*)-однолетнее травянистое растение, популярное в странах Азии. Теплолюбивое растение, со средним периодом вегетации, которое составляет около 80-100 дней. Биохимический состав кукурузы богат на витамины и минералы, что делает ее незаменимой в пище и

кормопроизводстве. В Казахстане кукуруза культивируется более чем 2700 га земли, примерная продуктивность около 98 ц/га. Для культивирования и получения высокой урожайности необходимы удобрения в расчете NPK 30:13:27. В модельных условиях всхожесть и морфометрические показатели *Z. mays* при различных концентрациях фосфорсодержащих удобрений и водорослей отслеживались в течение 7 суток (рисунок 39).

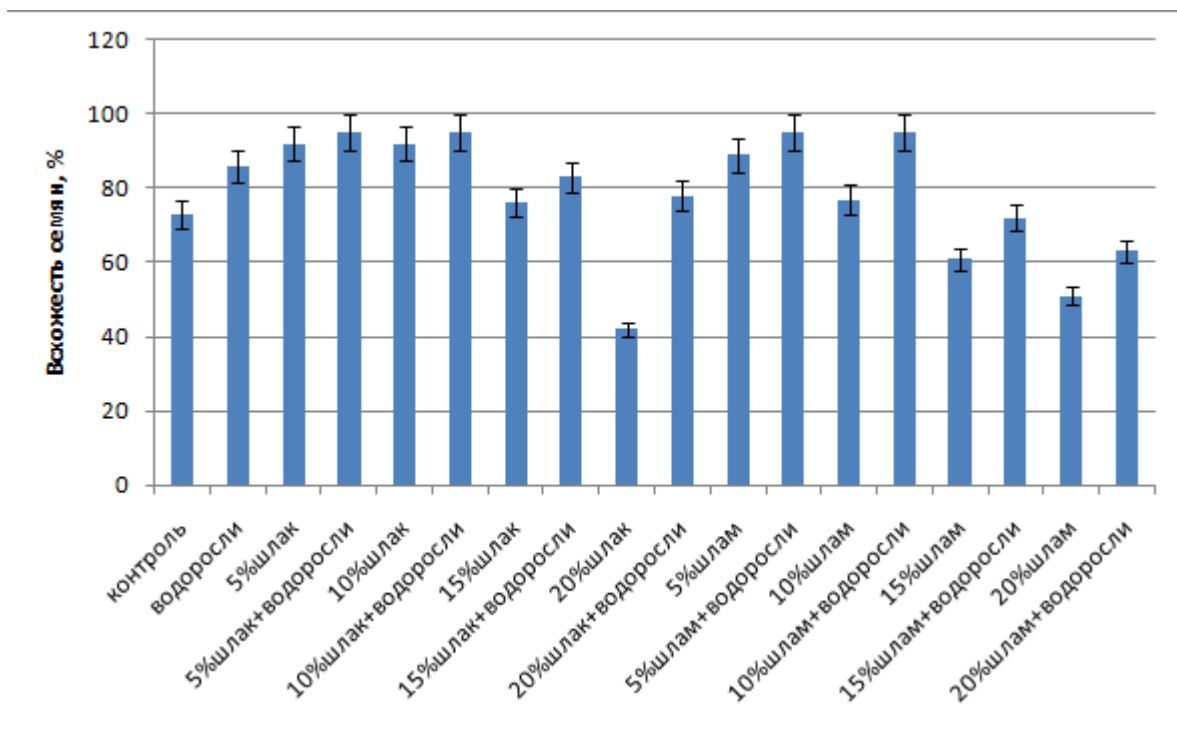


Рисунок 39 - Всхожесть семян *Z.mays* при различных концентрациях фосфорсодержащих отходов и водорослей

По результатам всхожести *Z.mays*, можно отметить, что данный вид сельскохозяйственных культур более устойчив к высоким концентрациям фосфора в почве, в сравнении с *Solanum lycopersicum*, *Cucumis sativus*, *Ocimum sp.*, *Raphanus sativus*. Так, при концентрации $20,0 \pm 0,1\%$ фосфорсодержащих шлаков всхожесть составила $46,5 \pm 4,5\%$, а при добавлении культур водорослей всхожесть повысилась на $31,0 \pm 3,0\%$. А при высокой токсичности 20% концентрации шламов всхожесть составила $53,5 \pm 5,1\%$, при добавлении водорослей всхожесть повысилась на $7,3 \pm 0,7\%$, в то время как для других видов тест-растений данная концентрация являлась лимитирующим фактором роста.

Морфометрические показатели кукурузы измеряли стандартным методом (рисунок 40).

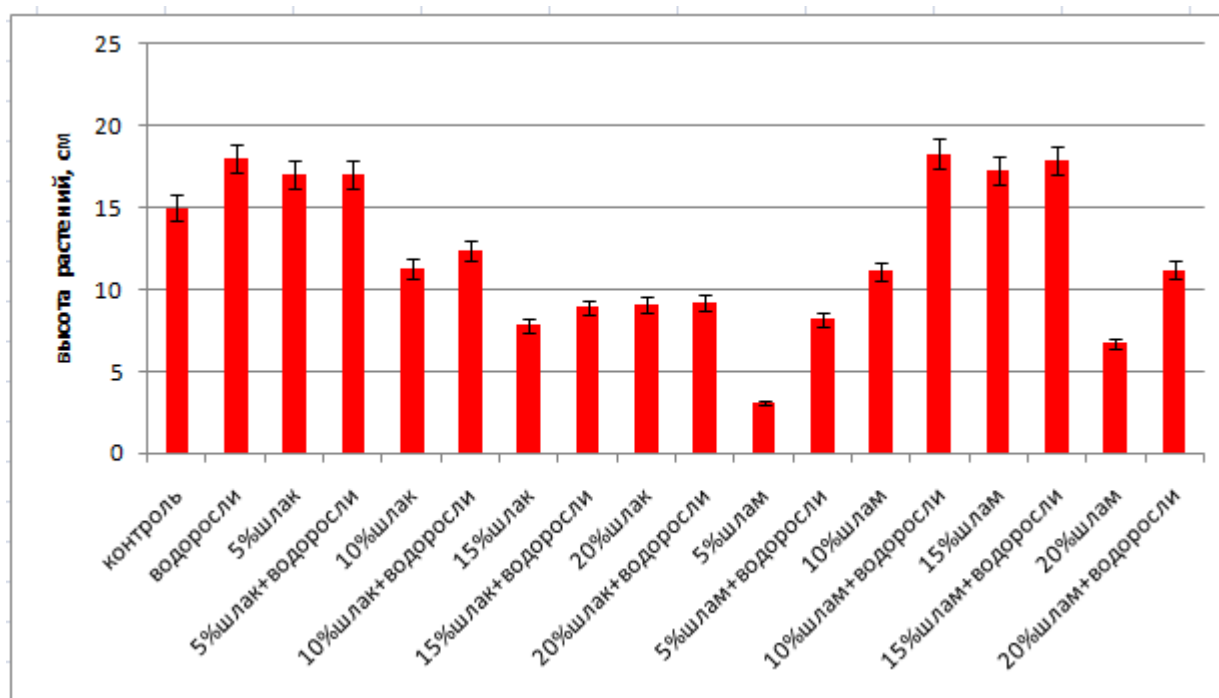


Рисунок 40 - Морфометрические показатели *Z. mays* при различных концентрациях фосфорсодержащих отходов и водорослей

В данном случае можно отметить, что высокие концентрации фосфора в почве ускоряют развитие *Z. mays*. Например, в опыте с 5,0±0,1% раствором фосфорсодержащих шлаков высота растений составила в среднем 16,9±0,6см, при добавлении маточной культуры водорослей длина растений повысилась на 1,1±0,1см. Высокие концентрации фосфорсодержащих шламов для вышеописанных тест-растений оказались токсичными, при опыте с кукурузой высокие результаты по морфометрическим показателям были отмечены в 10,0±0,1% и 15,0±0,1% суспензии шламов с водорослями, где высота растений составила 17,1±0,6см и 17,9±0,2 см, соответственно, что превышало контрольные варианты с водой на 5,2±0,5 см, с водорослями на 5, 7±0,5 см.

По результатам лабораторных исследований был создан прототип биоудобрения на основе фосфорсодержащих шлаков и шламов с добавлением суспензии микроводорослей «ФосфИТА» (Приложение А, рисунок 6) [160].

С применением биоудобрения «ФосфИТА» были проведены опыты в тепличных условиях на бобах *Phaseolus vulgaris* (рисунок 41), где в качестве контроля применяли минеральное удобрение аммофос.



А.

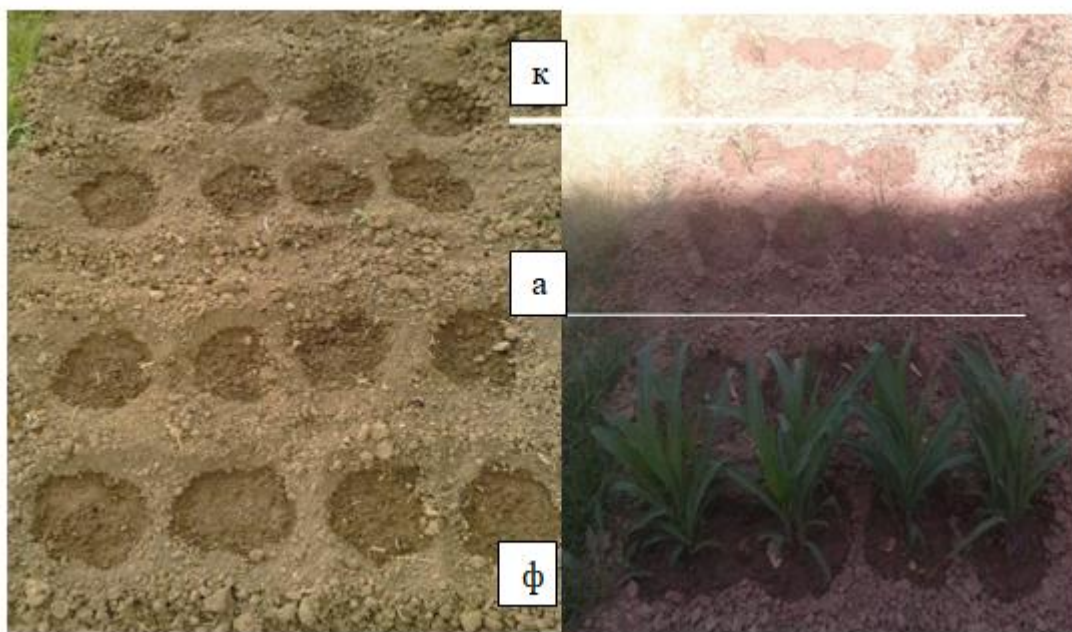
Б.

А - первая неделя, Б - третья неделя

Рисунок 41 – Всходы фасоли в закрытом грунте, слева- «ФосфИТА», справа- аммофос

По рисункам можно отметить различную интенсивность всхожести и развития растений. При этом, всхожесть в контрольном варианте составила $78,0 \pm 6,5\%$, в то время как в опытном варианте – $91,0 \pm 3,5\%$. При морфометрическом измерении растений на 21 сутки были отмечены более крупные листья и высота растений в опытном варианте. Так высота растений в контроле в среднем составила $68,2 \pm 0,6$ см, в опытном варианте высота растений превысила $98,4 \pm 1,3$ см. Количество листьев в контрольном варианте в среднем на куст составила 8 листьев, в опытном варианте 12 листьев на один куст.

Следующий опыт проводился на открытом грунте с использованием *Z. mays*. Посев и исследования проводились в весенне-летний период на территории СПК «Nomad agro group» (Приложение Б). В контрольном варианте также применялся аммофос (рисунок 42).



А.

Б.

А. до опыта, Б. на 20-й день после постановки опыта:
к. контроль, а –аммофос, ф-Фосфита

Рисунок 42 - Влияние аммофоса и биоудобрения «ФосфИТА» на всхожесть кукурузы на открытом грунте

После завершения вегетационного периода были получены початки кукурузы– 3 штуки в опытном варианте с биоудобрением «ФосфИТА», 5 штук - в контроле с аммофосом. Длина початков в опытном варианте составила $30,95 \pm 0,05$ см, вес $200,98 \pm 10,02$ грамм (рисунок 43).



Рисунок 43 – Влияние биоудобрения «ФосфИТА» на формирование початков кукурузы

Зерна кукурузы в опытном варианте полноценны, початки полные, рыльца развиты. Стебли кукурузы были крепкие, листья ровные. В то время как в контроле длина початков составила, в среднем, $10,98 \pm 1,02$ см, вес $56,95 \pm 4,5$ грамм. Початки слаборазвиты, некоторые зерна не созрели, рыльца малоразвиты, стебли растений низкие, листья мелкие.

В ходе исследования также была подтверждена способность альгоудобрения «ФосФИТА» к подавлению развития плесени на семенах тест-растений. При проведении дополнительных опытов были получены результаты по изучению фунгистатистических способностей водорослей (рисунок 44).



а. аммофос, б.«ФосФИТА»

Рисунок 44 - Изучение фунгицидных качеств биоудобрения «ФосФИТА»

В лабораторных опытах в качестве тест-растений были отобраны бобы фасоли и сои. На рисунке видно, что после недели инкубации бобов в контрольном варианте с аммофосом бобы покрылись плесенью примерно на $95,2 \pm 2,3\%$, в то время как в опыте с есменами, инокулированными «ФосФИТА» плесневение в среднем составило около $12,3 \pm 0,4\%$.

Дополнительные опыты по изучению фунгицидных свойств биоудобрения «ФосФИТА» были проведены с использованием зрелых плодов *Daucus carota*. Зрелые плоды обработали в воде (А), аммофосе (Б), биоудобрении «ФосФИТА»(В) и инкубировали в течении недели в закрытой таре (рисунок 45).



а



б



в

а. вода, б. аммофос, в. ФосфИТА

Рисунок 45- Изучение фунгицидных качеств биодобрения «ФосфИТА» на плодах моркови

По рисункам можно заметить, что в контрольном варианте с водой плесень покрывает около $68,7 \pm 3,7\%$ поверхности плодов, в варианте с аммофосом площадь порчи составила $29,4 \pm 2,3\%$ поверхности, кроме этого отмечена изменение структуры плодов, начался процесс разложения овощной культуры. В опытном варианте с биоудобрением «ФосфИТА» плесень покрывала около $18,1 \pm 0,9\%$ поверхности плодов, но структурные изменения в корнеплодах не отмечены. По результатам исследования фунгицидных свойств водорослей в составе биоудобрения можно отметить, что плесневение понижается в среднем на $28,6 \pm 2,2\%$ при использовании «ФосфИТА».

Таким образом, по результатам исследования влияния различных концентраций фосфорсодержащих отходов и водорослей было установлено, что оптимальная концентрация отходов, в среднем, составляет $7,5 \pm 2,5\%$, при этом для культуры *Z. maus* можно применять более высокие концентрации фосфорсодержащих шламов около $15,0 \pm 0,1\%$. Также отмечено, что при использовании прототипа биоудобрения «ФосфИТА» с композицией зеленых водорослей, фунгицидные свойства удобрения повышаются в среднем на $28,6 \pm 2,2\%$.

3.4 Разработка технологической схемы производства альгоудобрения «ФосфИТА»

Проведенные исследования показали, что как жидкие, так и твердые фосфорсодержащие отходы г.Шымкент могут быть использованы в качестве сырья для производства биологических удобрений. В первую очередь, культура водорослей на сточных водах позволяет производить кислород при минимальных затратах. Кроме того, альгофлора позволяет солубилизировать труднодоступный фосфор, превращая его в форму, необходимую для метаболизма высших растений, включая сельскохозяйственные культуры. Результаты химического анализа фосфорсодержащих сточных вод на ТОО «Кайнар» показали отсутствие токсичных компонентов, некоторый дисбаланс по биогенным компонентам и оптимальные показатели физико-химических параметров для культивирования водорослей на самом предприятии: температура, рН, инсоляция, содержание кислорода в воде, ландшафтные особенности. Немаловажным фактором является наличие частичной инфраструктуры бывшего фосфорного завода на территории предприятия: сохраненная система водо- и электроснабжения, транспортная коммуникация, наличие бетонированных водоемов, структурированная система формирования фосфорсодержащих сточных вод, значительные запасы твердых фосфорсодержащих отходов в виде шлаков и шламов.

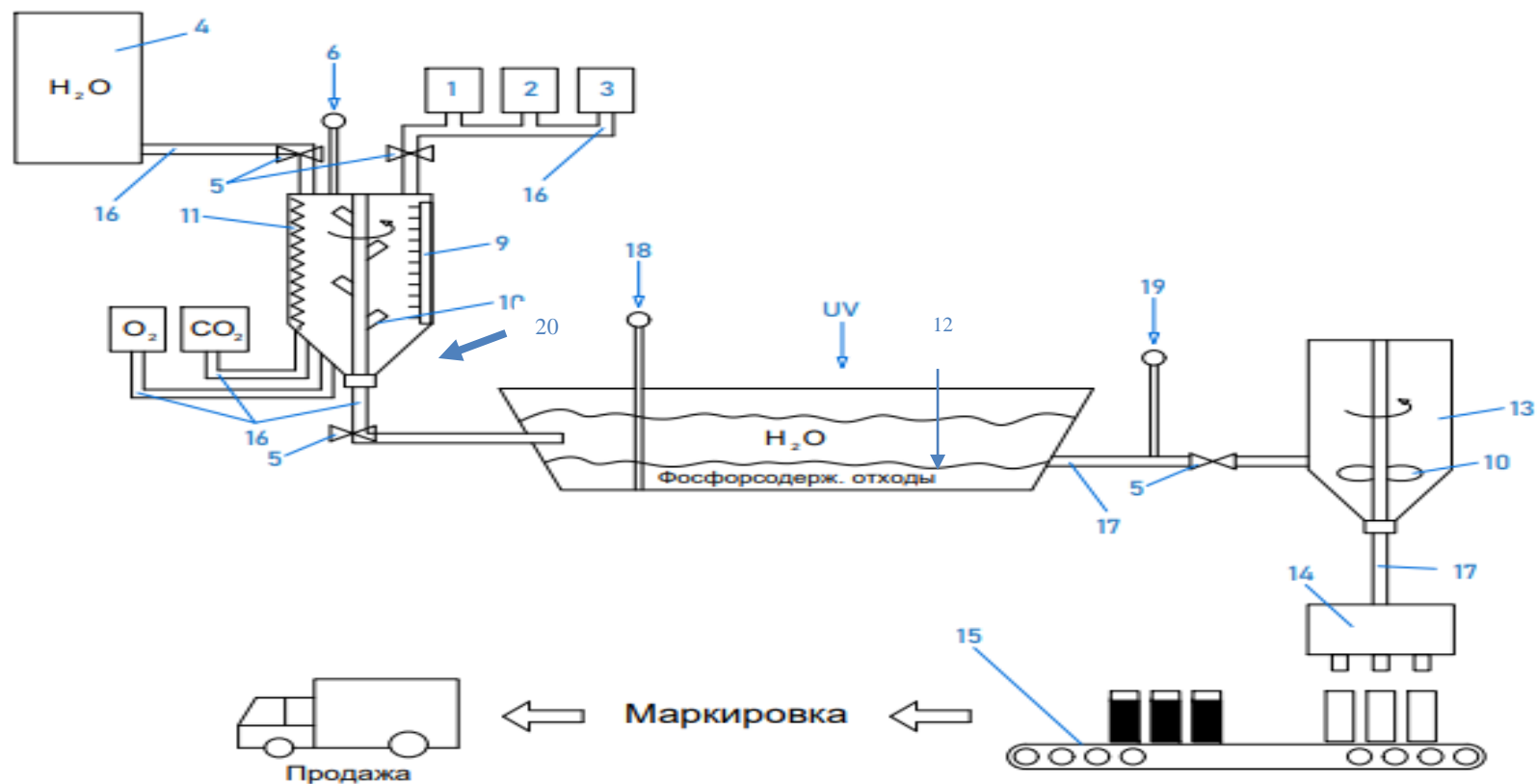
В последнее время большое внимание уделяется производству органических видов продукции и организация производства экологически чистого биологического удобрения соответствует требованиям времени. Уже доказаны такие положительные качества альгоудобрений или экстрактов водорослей как ускорение прорастания семян и укоренения черенков [161],

повышение урожайности и устойчивости к различным стрессам [162], увеличение сроков хранения скоропортящихся продуктов или использование в косметологической продукции [163]. Поэтому и неудивительно, что водоросли используются как биостимуляторы роста растений. В предыдущих главах описано действие композиции выделенных штаммов зеленых микроводорослей *C. vulgaris ASLI-1*, *C.vulgaris ASLI-2*, *O.borgei ATP*, выращенных на фосфорсодержащих питательных растворах к биостимуляции развития ряда сельскохозяйственных культур, использованных в качестве тест-растений. Наличие сырьевой базы в виде жидких и твердых фосфорсодержащих отходов в Туркестанской области и разработанной композиции на основе новых штаммов микроводорослей будет способствовать решению не только задачи производства биоудобрений – стимуляторов роста и развития сельскохозяйственных культур для агропромышленного сектора, но и позволит снизить напряженность в плане охраны окружающей среды ввиду утилизации фосфорсодержащих отходов. В исследованиях [164] было показано, что, несмотря на незначительное содержание биогенных элементов в водорослях, инокуляция ими семян растений неожиданно приводит к высоким урожаям, что может быть объяснимо наличием в водорослях стимулирующих фитогормонов [165].

Проведенный патентный поиск показал наличие широкого ряда изобретений, связанных с культивированием и переработкой водорослей для получения удобрений. Известны альгоудобрения «Альгомин» или Algen extract, которые получены в результате ферментации морских водорослей. Технологическая схема переработки морских водорослей достаточно проста: водоросли промываются для снижения соледержания, в анаэробных условиях биомасса сбраживается, далее возможно смешивание с каким-либо органическим наполнителем, как, например, древесными опилками, рисовой шелухой или нейтральными иммобилизаторами как бентонит или вермикулит и т.д. Анализ информативных данных показал, что в большинстве случаев для производства альгоудобрений предлагается использование морских водорослей. Информация по производству биостимуляторов роста растений на основе пресноводных водорослей, в т.ч. зеленых микроводорослей, культивируемых на производственных сточных водах, отсутствует.

По результатам проведенных лабораторных и модельных исследований была разработана Технологическая схема производства альгоудобрения «ФосфИТА» (рисунок 46). Согласно разработанной схеме процесс производства удобрения «ФосфИТА» состоит из основных 6 этапов. В начале производственного цикла заготавливается сырье для культивирования (1, 2, 3) и вода (4). Требование к воде определяется такими параметрами как $pH \sim 7,0 \pm 0,2$; низкое соледержание; отсутствие ионов хлора; отсутствие патогенной микрофлоры; допустимые следы В, Mn, Cr, Fe, K, N в качестве микроэлементов. В качестве питательной среды для культивирования суспензии микроводорослей *C. vulgaris ASLI-1*, *C.vulgaris ASLI-2*, *O.borgei ATP* рекомендуется использование, г/л: $KNO_3-5,0$; $MgSO_4 \times 7H_2O-2,5$; $FeSO_4 \times 7H_2O-$

0,003 и фосфорсодержащие шлаки. Маточная культура микроводорослей добавляется в фотобиореактор (20), куда через трубки подвода (16) добавляется вода и сырье. Культивирование занимает 7 суток. Стандартный фотобиореактор (20) состоит из обогревательного прибора -змеевика (11), стержня с лопастями (10), датчиком измерения уровня pH (6) и УФ-лампы (9). На юге Казахстана преобладает солнечный климат, что в весенне-летний период УФ-лампы можно заменить солнечными лучами, в этот период повышается экономическая эффективность производства. Показатели длин волн для культивирования биомассы микроводорослей $-480,0 \pm 23,0$ нм, с оптимумом при облучении биомассы красным светом при длине волны в пределах $460,0 \pm 42,1$ нм и синим светом при длине волны $625,0 \pm 5,0$ нм. При культивировании микроводорослей в Технологической схеме можно использовать кварцевые галогенные с отражателями, зеркальные или люминесцентные лампы, возможно применение дуговых ртутных люминесцентных, ксеноновых или натриевых ламп. Через трубки подачи из соответствующих газогенераторов поступает кислород и углекислый газ периодичностью 12 часов для барботации культуры микроводорослей. При барботации поддерживаются параметры в минуту $5,7 \pm 0,4$ г/л O_2 и $0,09 \pm 0,01$ г/л CO_2 . Далее при помощи насоса (5) готовая культура попадает в искусственный водоем с отходами фосфорного производства под открытым небом, где установлен индикатор-определитель уровня азота, фосфора и калия (18). Параметры водоема определяются необходимым планируемым объемом получаемой биомассы, например, для получения $500,0 \pm 35,0$ т/год биомассы, необходима подготовка бетонированного водоема глубиной $1,4 \pm 0,1$ м и стенами $100,0$ м \times $100,0$ м. Через $8,0 \pm 0,8$ суток готовая биомасса биоудобрения через трубки отвода (17), проходит через датчик плотности биомассы (19) $70,0 \pm 7,0$ мг/л и с помощью насосов поступает в гомогенизатор (13). Далее через трубки отвода биоудобрение поступает в фасовочный аппарат (14), где после фасовки на фасовочной линии (15), маркируется и готовится к транспортировке и реализации в сети специализированных маркетов. Твердый осадок, накапливающийся на дне резервуаров (12), собирается в песколовках и может быть утилизирован в качестве наполнителя для строительных материалов.



1- питательная среда, 2- фосфорсодержащие отходы, 3- маточная культура, 4 – вода, 5- насосы, 6- рН-метр, 7- кислородный резервуар, 8- резервуар для углекислого газа, 9-УФ-лампа/солнечные лучи, 10-вращающиеся лопасти, 11-змеевик, 12- водоем с фосфорными отходами, 13- гомогенизатор, 14 – фасовочная машина, 15- фасовочная линия, 16 – подводные трубы, 17- отводные трубы, 18 – датчик азота, фосфора, калия, 19 – датчик плотности биомассы, 20 - фотобиореактор

Рисунок 46 – Технологическая схема производства биоудобрения «ФосФИТА»на основе биоконверсии фосфорсодержащих отходов с применением микроводорослей

Бизнес -план
 миницефа по производству альгоудобрения «ФосфИТА» на основе твердых
 фосфорсодержащих отходов ТОО «Кайнар» в г.Шымкент

Земельный участок под строительство: площадь: 675 м²
 Место строительства: сейсмостойкое
 Возможность получения разрешения на строительство: не требуется
 Строительство объекта: площадь помещений: 576 м²
 Предполагаемый объем финансирования: 29 355 863,46 тенге
 Мощность производства: не менее 500,0 т/год биомассы
 Продукция: жидкие биоудобрения
 Технические параметры продукции: суспензия однородная, без запаха, травяного цвета, без вкуса. Возможен зеленый осадок на дне.

Структура управления: директор, инженер-технолог, биотехнолог, лаборант, рабочие.

Объем рабочей силы: 12 человек

Оборудование. Для реализации предлагаемого проекта предполагается приобретение оборудования для создания производства по получению биологических удобрений/белково-витаминных концентратов (таблица 10). Расчеты сделаны на основании вычисления среднеарифметических данных не менее 3 поставщиков (P>95) и представлены в ценах на используемые материалы, реагенты и т.п. на 2022 г., с погрешностью в условиях рыночных отношений не более 10,0%.

Таблица 10 - Состав производства по получению биоудобрения, тенге

Наименование	Стоимость
Подготовка питательной среды и порционирование (смешивающая и разливная установка)	22 272
Газогенератор O ₂	42000
Газогенератор CO ₂	35041,28
Фотобиореактор	11066266
Гомогенизатор	3847738,75
Детектор азота	55064
Детектор плотности биомассы	67000
Бойлер для воды	984001
Насосы(х4)	17093,76(68375,04)
Фасовочный аппарат	3648841, 24
ИТОГО	20 151 999,31

В отличие от аналоговых технологий, предлагаемая технология, позволяет отказаться от мануального управления и сократить не только энергоемкость линии, но и снизить расход воды и реактивов.

Общая стоимость проекта-без учета вложений в ремонт и подготовку помещений, а также оборудования предприятия, участвующего в технологическом процессе, составляет 29 355 863,46 тенге (таблица 11).

Таблица 11- Расчет стоимости проекта, тенге

Наименование	Стоимость	Доля
Оборудование	20 151 999,31	69%
Таможенная пошлина (5%)	1 007 599,96	3,4%
НДС на оборудование (20%)	4 030 399,86	13,4%
Таможенные процедуры (0,15%)	30 277,99	0,1%
Накладные расходы	1 200 000	4,1%
Заработная плата	2 935 586,35	10%
ИТОГО	29 355 863,46	100,00%

Расчет себестоимости 1 л биоудобрения показан в таблице 12.

Таблица 12- Калькуляция себестоимости 1 литра биоудобрений

№ пп	Наименование статьи затрат	Стоимость, тенге
1	Затраты на материалы и реактивы	6,97
2	Затраты по воде	0,08
3	Затраты по электроэнергии	7,17
4	Затраты по заработной плате	82,89
5	Социальный налог (в т.ч. социальные отчисления)	8,21
6	Итого расходов:	105,32
7	Прочие накладные расходы (6% от п.6)	6,32
8	ВСЕГО РАСХОДОВ:	111,64

Таблица 13- Расходные показатели, используемые при расчете Калькуляции

№ пп	Наименование показателя	Ед.изм.	Величина показателя
1	Цэл - Стоимость 1 кВт-ч электроэнергии	тенге	16,82
2	Цв - Стоимость 1 м3 воды водопроводной	тенге	84,28
3	Тср/мес - Среднемесячный баланс времени (годовой) при 5-дневной рабочей неделе	час/мес	164,67
4	Тцикла - Продолжительность производственного цикла	час	72
5	Уцикла - объем готовой суспензии за один цикл	л	25
6	Од - Должностной оклад инж.-ВУК	тенге	65000,00

Таблица 14- Затраты на материалы и реактивы

№ пп	Наименование реактива (материала)	Цена, тенге/кг	Удельный расход г/л	Затраты на 1 л биоудобрения тенге/л
1	Калий азотнокислый KNO_3	3500	1,213	4,25
2	Магния сульфат 7-водный $MgSO_4 \times 7H_2O$	600	1,204	0,72
3	Калий фосфорнокислый однозамещенный KH_2PO_4	1600	1,224	1,96
4	Железа сульфат $Fe_2(SO_4)_3$	565	0,0747	0,04
5	Итого:			6,97

Таблица 15- Затраты по заработной плате на 1 человека при производстве 1 л биоудобрения

№ пп	Наименование показателя	Оклад, тенге	Время работы, час.	Затраты на 1 л биоудобрения тенге/л
1	Инженер ВУК (0,5 ставки)	32500,00	10,5	82,89
	Итого:			82,89

Окупаемость продукции: 3 года

Таким образом, разработана технологическая схема малоотходного производства альгоудобрения «ФосфИГА» на основе фосфорсодержащих отходов г.Шымкент и композиции штаммов зеленых водорослей *C. vulgaris ASLI-1*, *C.vulgaris ASLI-2*, *O.borgei ATP*, мощностью $500,0 \pm 35,0$ т/год и сроком окупаемости $-3,0 \pm 0,3$ года. Реализация предлагаемой схемы производства в местах складирования фосфорсодержащих отходов в г.Шымкент позволит создать новое производство с 12 рабочими местами, способствует биоконверсии отходов в товарный продукт и снизит негативное влияние на окружающую среду.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании полученных результатов были сделаны следующие выводы:

1. Изучено распространение зеленых микроводорослей в малых реках юга Казахстана, было выделено 68 изолятов зеленых микроводорослей, относящиеся к родам *Chlorella*, *Botryococcus*, *Scenedesmus*, *Desmodesmus*, *Chlamydomonas*, *Oocystis*, *Parachlorella*. Результат скрининга к росту на средах с фосфорсодержащими отходами выявил активные штаммы *C. vulgaris ASLI-1*, *C. vulgaris ASLI-2*, эффективно накапливающие биомассу и нейтральные липиды с общим содержанием липидной фракции $W_L = 36,1 \pm 3,2\%$ и $W_L = 39,9 \pm 3,5\%$ соответственно. Для миксотрофного культивирования были использованы штаммы *Oocystis borgei* АТФ, *O. borgei* АсК для которых установлены оптимумы для потребления аммонийного азота: температура $20,0 \pm 2,0^\circ\text{C}$, pH $7,2 \pm 0,5$, интенсивность света $81 \text{ мкмоль м}^{-2} \text{ с}^{-1}$, соленость $15,0 \pm 1,0\%$ и концентрация водорослей $(5,5 \pm 0,5) \times 10^8 \text{ кл/мл}$. При этом установлено, что штамм *O. borgei* АТФ потребляет фосфор со скоростью $0,11 \text{ мг/мл}$ в сутки, в то время как введение в питательную среду ионов аммония повышает данную скорость до $0,14 \text{ мг/мл}$ в сутки. Кроме того, выявлено, что штамм *O. borgei* АТФ обладает аллелопатическими свойствами и подавляет рост водорослей *Euglena viridis*, *Phacus splendens*, *Oscillatoria* sp., обильно произрастающих в сточных водах.

2. Разработан состав альгоудобрения, представленный штаммами *C. vulgaris ASLI-1*, *C. vulgaris ASLI-2*, *Oocystis borgei* АТФ, для которых выявлено оптимальное значение pH 6, при этом *O. borgei* АТФ устойчив к диапазону pH 6~9. Установлено, что оптимальной средой для культивирования композиции микроводорослей *C. vulgaris ASLI-1*, *C. vulgaris ASLI-2* и *O. borgei* АТФ в промышленном масштабе является среда ИТА следующего состава, г/л: фосфорсодержащие шлаки – 10; KNO_3 - 0.10 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 0.01. Условия культивирования: аэрация с использованием смеси кислорода с 2% содержанием углекислого газа, длина светового дня - 12 часов, температура $+23$ – $+27^\circ\text{C}$. При этом титр микроводорослей в культуральной жидкости достигает: *C. vulgaris ASLI-1* – $(8,7 \pm 0,8) \times 10^9 \text{ КОЕ/мл}$, *C. vulgaris ASLI-2* – $(7,9 \pm 0,5) \times 10^9 \text{ КОЕ/мл}$, *O. borgei* АТФ – $(8,2 \pm 0,5) \times 10^9 \text{ КОЕ/мл}$.

3. Разработано альгоудобрение «ФосфИТА» с высоким индексом солюбилизации (SI), на основе активных и отселектированных штаммов микроводорослей *C. vulgaris ASLI-1*, *C. vulgaris ASLI-2* и *O. borgei* АТФ. Получен патент РК №36030. Установлено, что солюбилизация фосфора разработанным альгоудобрением происходит в следующем порядке: сульфат аммония → нитрат калия → нитрат натрия → аммиачная селитра. Выявлена отрицательная коррелятивная зависимость между солюбилизированным фосфором и значениями pH, т.е. с увеличением количества высвобожденного фосфора значения pH снижались, при этом, степень подкисления происходила по следующему порядку: сульфат аммония → нитрат калия → нитрат натрия →

аммиачная селитра. Скорость солубилизации фосфора из шлама составила $0,1 \pm 0,01$ SI/сутки, что на $0,02 \pm 0,00$ SI/сутки выше, чем в случае с использованием фосфорсодержащего шлама. Исследования показали, что всхожесть семян фитотест-растений в условиях полива разнопроцентными суспензиями шлама и шлама без и с введением альгоудобрения «ФосфИТА» варьирует и обратно коррелирует с количеством отходов в суспензии, при этом в вариантах с введением композиции микроводорослей всхожесть семян повышается, в среднем, на $23,5 \pm 2,1\%$. При исследовании морфометрических показателей было установлено, что фосфорсодержащий шлак даже при повышенных концентрациях $7,5 \pm 2,5\%$ оказывает стимулирующее действие, границы острого токсического действия начинаются при повышении концентрации шлама до $20,0 \pm 2,0\%$ с началом ингибирования развития вегетативных органов при $15,0 \pm 1,5\%$.

4. Разработана технологическая схема малоотходного производства альгоудобрения «ФосфИТА», на основе фосфорсодержащих отходов ТОО «Кайнар» в г.Шымкент и композиции штаммов зеленых водорослей *C. vulgaris ASLI-1*, *C.vulgaris ASLI-2*, *O.borgei ATP*, мощностью 500,0 т/год и сроком окупаемости -3 года. Установлено, что в фосфорсодержащих сточных вод на ТОО «Кайнар» отсутствуют токсичные компоненты, выявлены оптимальные показатели физико-химических параметров водных растворов: температура, рН, инсоляция, содержание кислорода в воде, ландшафтные особенности.

Оценка полноты решений поставленных задач. Результаты теоретических исследований и их оценка, инициализация и изучение распространения микроводорослей на юге Казахстана, определение оптимального состава питательной среды для культивирования микроводорослей, определение оптимального состава биоудобрения на основе микроводорослей и фосфорсодержащих шлаков, разработка модернизированной системно-поэлементной методологии исследования и расчета экологически совершенного оборудования, экспериментальное изучение влияния биоудобрения «ФосфИТА» на тест-растениях, разработанная технологическая схема производства и биоудобрения «ФосфИТА» на основе зеленых микроводорослей и фосфорсодержащих отходов полностью соответствуют поставленной в диссертации цели.

Разработка рекомендаций и исходных данных по конкретному использованию результатов. Разработанная технология получения альгоудобрения на основе композиции микроводорослей, культивируемых на жидких фосфорсодержащих шлаках могут быть использованы в производстве органических удобрений, в сельско-хозяйственных угодьях, в агропромышленных научно-исследовательских институтах, а также могут быть использованы при проведении различных форм занятий в учебных заведениях.

Оценка технико-экономической эффективности внедрения. По результатам проведенных исследований разработанное биоудобрение «ФосфИТА» внедрено на СПК «Nomadagroggroup» и ООЭО «Биос», что подтверждено актами внедрения в производство, где при и применении данного биоудобрения

урожайность овощных культур повысилась в среднем на 22-39%. Коммерциализация предлагаемой схемы производства в местах складирования фосфорсодержащих отходов в г.Шымкент позволит создать новое производство с 12 рабочими местами, способствует биоконверсии отходов в товарный продукт и снизит негативное влияние на окружающую среду.

Оценка научного уровня выполненной работы в сравнении с лучшими достижениями в данной области. Работы по разработке биоудобрения на основе зеленых микроводорослей и фосфорсодержащих отходов, выполненные на основе современной методологии по биотехнологии, являются новыми в мировой практике. Результаты исследования показывают возможность минимализации отходов фосфорного производства во всех отраслях производства.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Информационный обзор по результатам ведения Государственного кадастра отходов производства и потребления за 2019 год [Электронный ресурс], 2020. <https://ecogofond.kz/wp-content/uploads/2020/09/Informacionnyj-obzor-za-2019-god.pdf>
2. Сагдеева Г.С., Патракова Г.Р. Переработка отходов производства и потребления с использованием их ресурстного потенциала //Вестник Казанского технологического университета. - 2014. - №6. –С.15-19
3. Pirog T.P., Grytsenko N.A., Sofilkanych A.P., Savenko I.v. Technologies of synthesis of organic substances by microorganisms using waste biodiesel production// Biotech.acta. - 2015.- №3. –С.24-27.
4. Martin J.G.P., Porto E., Correa C.B., Alencar S.M., Gloria E.M., Cabral I.S.R., Aquino L.M. Antimicrobial potential and chemical composition of algo-industrial wastes// J. Nat. Prod.- 2012.- № 5.-С.27–36
5. Do D.T.H., Theron C.W., Fickers P. Organic wastes as feedstocks for Non-conventional yeast-based bioprocesses // Microorganisms. -2019.-№ 7. –С. 229.
6. Пачикин К.М., Ерохина О.Г., Сапаров А.С., Омирзакова А.Н., Сонгулов Е.Е. Почвенные исследования орошаемых и залежных засоленных почв Присырдарьинской части Туркестанской области // Почвоведение и агрохимия. -2019. -№(4).-С.5-17.
7. Faqih Sh. Nitrate and phosphate uptake dynamics in two halotolerant strains of *Chlorella vulgaris* is differentially influenced by carbon, nitrogen and phosphorus supply // Chemical Engineering Journal.-2023. -№2.-С.15.
8. Barros A.I., Goncalves A.L., Simoes M., Pires J.C.M. Harvesting techniques applied to microalgae: A review renew //Sustain. Energy Rev.-2015.-№ 41.-С. 1489-1500.
9. Vorobyeva N.G., Sergeev V.N., Knoll A.Y. Neoproterozoic microfossils from margin of the East European platform and the search for a biostratigraphic model of lower Ediacaran rocks // Precambrian Res. -2009. - № 173.-С. 163–169.
10. Mau L., Kant J., Walker R., Kuchendorf C.M., Schrey S.D., Roessner U., Watt M. Wheat can access phosphorus from algal biomass as quickly and continuously as from mineral fertilizer // Front. Plant Sci. -2021. – С.23-24.
11. Liu P., Yin C., Gao L. New mineral of microfossils from the Edicaran Doushauntuo formation in the Zhangcunping areas, Yichang, Hubei province and it's zircon SHRIMP U-Pb age // Chines Sci. Bul. - 2009. - № 54(6). -С. 1058–1064.
12. Willman S., Moczydlowska M. Adiacaran acritarch biota from the Giles 1 drillhole, Officer basin, Australia, and it's potential for biostratigraphic correlation. - 2008.- № 162. -С. 498–530
13. Денисов Д.Б, Валькова С.А., Черепанов А.А. Первые результаты комплексного исследования экосистемы оз. Тахтаръявр (Хибинский горный массив, Кольский полуостров) // Тр. 4 Всерос. научн. конф. «Экологические проблемы северных регионов и пути их решения». - 2012.- С. 176–180.

14. Paul C.A., Douglas M.S.V., Smol J.P. Diatom-inferred holocene climatic and environmental changes in an unusually subsaline high Arctic nunatak pond on Ellesmere island (Nunavut, Canada) Paul // *J. Paleolimnology*. - 2010. - № 44.-С. 913–929.
15. Сиренко Л.А. Биологически активные вещества водорослей и качество воды / Л.А. Сиренко. - М. - 2012. –256 с.
16. Семенова Е.В., Билименко А.С., Чеботок В.В. Использование морских водорослей в медицине и фармации// *Современные проблемы науки и образования*. -2019. - №5. – С. 44-46.
17. Фаминцын А. Действие света на водоросли и некоторые другие близкие к ним организмы / А. Фаминцын. - М.: ЁЁ Медиа. - 2011. – С. 501.
18. Балашова Н.Б. Водоросли/ Н.Б. Балашова, В.Н. Никитина. - М.: Лениздат. - 2012. – 479 с.
19. Белякова Г.А. Ботаника. В 4 томах. Том 1. Водоросли и грибы / Г.А. Белякова, Ю. Т. Дьяков, К.Л. Тарасов. - Москва: Огни. -2010. – 320 с.
20. Amoah-Antwi C., Kwiatkowska-Malina J., Thornton S., Fenton O., Malina G., Szara E. Restoration of soil quality using biochar and brown coal waste: a review // *Science of The Total Environment*.-2020.- С.722.
21. Anemana T., Ovari M., Szegedi A., Uzinger N., Rekasi M., Tatar E., Yao J., Strelci C., Zaray G., Mihucz V.G. Optimization of lignite particle size for stabilization of trivalent chromium in soil // *Soil and sediment contamination*. – 2020. – С. 4.
22. Фаламин А.А., Пиневиц А.В. Биоминерализация с участием бактерий // *Биокосные взаимодействия: жизнь и камень* / Е.Г. Панова, В.В. Гавриленко (ред.). СПб: СПбГУ. - 2006.- С. 98–106.
23. Петушкова Ю.П., Колотилова Н.Н. Альгофлора памятников архитектуры и влияние на нее консервирующих составов//*Альгология*. - 1999. - Т. 9. № 2. - С. 105–106.
24. Ereemeeva N.A., Savoskina O.A., Poddymkina L.M., Abdulmashidov K.A., Gamodov A.G. Analysis of anthropogenic impact on the environment, measures to reduce it, and waste management // *Front. Bioeng. Biotechnol.* – 2023. –С. 43-44.
25. Bezrukova E.V., Tarasov P.E., Solovieva N. Last glacial-interglacial vegetation and environmental dynamics in southern Siberia: Chronology, forcing and feedbacks // *Palaeogeogr., Palaeoclimatol., Palaeoecol.* - 2010. - № 296. - С.185–198.
26. Курчиков А.Р., Кислухин В.И., Кислухин И.В. Литолого-фациальная характеристика верхнеюрских отложений Западной Сибири // *Геология, геофизика и разработка нефтяных и газовых месторождений*. -2012. -№ 6. - С. 4–10.
27. Руденко Р.А., Ткачева И.В. Биотехнология водорослей в аквакультуре // *МНИЖ*. - 2021. - №8-1 (110). - С. 15-16.
28. Руденко Р.А. Питание рыб в аквакультуре // *МНИЖ*. - 2021. №8-1 (110). – С.21-23.
29. Михеева Т. Перспективы использования культивируемых и планктонных микроскопических водорослей // *Наука и инновации*. - 2018. - №180.- С. 12.

30. Шалыго Н. Микроводоросли и цианобактерии как биоудобрение // Наука и инновации.- 2019. - №3 (193). –С. 21
31. Бакеева А.В., Титова Н.Н., Исакова В.В., Тюкова А.О., Квитко К.В. Свойства цианобактерий и микроводорослей из загрязненных радионуклидами водоемов ВУРСа // Biological communications. - 2011. - №1.- С. 202.
32. Шалыго Н. Медицинские аспекты альгологии // Наука и инновации. - 2018. -№180. –С.38-39.
33. Гудвиллович И.Н., Боровков А.Б. Биологическая ценность БАД на основе спирулины // Бюллетень ГНБС. -2012. - №105. –С. 12.
34. Первушкин С.В., Куркин В.А., Тархова М.О., Сохина А.А., Желонкин Н.Н., Сазонова И.И., Климова Л.Д., Бер О.В. Исследования по созданию нового лекарственного средства суппозиториев с биомассой *Spirulina platensis* // Известия Самарского научного центра РАН. - 2014. - №5-2. –С. 87-89.
35. Желонкин Н.Н., Первушкин С.В., Еремина Н.В., Сохина А.А., Тархова М.О., Маркова И.И. Разработка комбинированной лекарственной формы «Спирулина-спрей» как перспективного препарата для лечения экологически обусловленных заболеваний верхних дыхательных путей // Известия Самарского научного центра РАН. - 2009. - №1-6.
36. Чмыхалова В.Б. Перспективные направления использования бурых водорослей в пищевой промышленности // Вестник Камчат ГТУ. - 2012. -№21.
37. Ковалева Е.А., Соколова В.М. Обоснование использования ламинариевых для получения пищевых систем с заданными функциональными свойствами // Научные труды Дальрыбвтуза. -2011. - №5.-С.62-63.
38. Соколан Н.И., Куранова Л.К., Воронько Н.Г., Гроховский В.А. Исследование возможности получения альгината натрия из продукта переработки фукусовых водорослей // Вестник ВГУИТ. - 2018. - №1 (75).
39. Пьянкова А.С. Получение и использование полисахаридов бурых водорослей // Вестник Камчат ГТУ. - 2012. - №20. –С. 27-28.
40. Balasubramaniam V., Gunasegavan R., Mustar S. Isolation of industrial important bioactive compounds from microalgae // Molecules. – 2021.- №26.
41. Alobwede J.R., Leake J. Circular economy fertilization: Testing micro and mfcro algal species as soil improvers and nutrient sources for crop production in greenhouse and field conditions // Geoderma.-2019. -№334.-С.113-123.
42. Горбунова С.Ю. Культивирование *Spirulina platensis* (Nordst.) Geitler на минерально- органической питательной среде // Бюллетень ГНБС. - 2013. - №109. –С. 29-31.
43. Фокина А.И., Домрачева Л.И., Огородникова С.Ю. Влияние цианобактерий *Nostoc paludosum* и ее экзометаболитов на рост ячменя // Princ. ekol.. - 2019. - №3 (33). –С.46.
44. Siebers N., Hofmann D., Schiedung H., Landsrath A., Ackermann B., Gao L. Towards phosphorus recycling for agriculture by algae: soil incubation and rhizotron studies using ³³P-labeled microalgal biomass // Algal Res. -2019.-№ 43.
45. Schreiber C., Schiedung H., Harrison L., Briese C., Ackermann B., Kant J. Evaluating potential of green algae *Chlorella vulgaris* to accumulate phosphorus and

to fertilize nutrient-poor soil substrates for crop plants // J. Appl. Phycol.-2018.-№ 30. –С. 2827–2836.

46. Garbisu C., Garaiurrebaso O., Epelde L., Grohmann E., Alkorta I. Plasmid-mediated bioaugmentation for the bioremediation of contaminated soils // Front. Microbiol.-2017. -№ 8:1966. – С.74.

47. Parfrey L.W., Barbero E., Lasser E., Dunthorn M., Bhattacharya D., Patterson D., Katz L. Evaluating support for the current classification of eukaryotic diversity // PLoS Genet.- 2006. - №2 (12). –С. 220.

48. Kisko M., Shukla V., Kaur M., Bouain N., Chaiwong N., Lacombe B. Phosphorus transport in Arabidopsis and wheat: emerging strategies to improve P pool in seeds // Agriculture.- 2018. -№8:27. – С.59.

49. Abdel-Raouf N., Al-Homaidan A., Ibraheem I. Agricultural importance of algae // African J. Biotechnol. -2016. -№11. –С. 11648-11658.

50. Иванов Д.В. Редкие виды грибов в бассейне р.Хопер Аркадакского и Балашовского районов Саратовской области // Структура, состояние и охрана экосистем Прихоперья. Балашов. - 2006. - С. 39-40.

51. Сулига Е.М. Лишайники как биоиндикаторы загрязнения воздуха в городе Балашове // Проблемы биологии, экологии, географии, образования: история и современность: матер. Второй междунар. науч.-практич. конф. -2008. - С. 234-236.

52. Chatterjee A. Role of algae as biofertilizer // In book: Algal Green Chemistry Recent Progress in Biotechnology. -2017.-С.189-200

53. Khlossi R., Marks E., Minon J., Montero O., Debdoubi A., Rad C. Biofertilizing effect of Chlorella sorokiniana suspensions on wheat growth // J. Plant Growth Regul.-2018. -№ 38.-С. 644–649.

54. Issayeva A.U., Uspabayeva A.A., Sattarova A.M., Shingisbayeva Z.A., Isaeva R. Consortium of hydrocarbon-oxidizing microorganisms as a basis for a biological product for treating petroleum industry waste in southern Kazakhstan // Ekoloji.-2017.-№ 26(100).

55. <https://informburo.kz/> от 01.09.2022

56. Байшанова А.Е., Кедельбаев Б.Ш. Проблемы деградации почв и анализ современного состояния плодородия орошаемых почв Республики Казахстан // Научное обозрение. Биологические науки. - 2016. - № 2. – С. 5-13.

57. Кобегенова Х.Н., Шакенова Т.К. Деградация свойств почвы в результате воздействия природных и антропогенных факторов на территории Республики Казахстан // Вестник ПГУ им. Шолом-Алейхема. - 2017. - №3 (28).

58. Алащенкова З.М., Сафронова Г.В., Мельникова Н.В., Есенбаева А.Е., Тен О.А. Азотфиксирующие и фосфатмобилизующие бактерии для стимуляции роста сельскохозяйственных культур// Вестник Башкирск. ун-та.- 2015. -№1. – С. 87-88.

59. Ковалевская Н.П., Шаравн Д.Ю., Бессонова Л.В. Роль микробно-растительных симбиозов в повышении стрессоустойчивости зерновых культур Предуралья// Вестник Пермского федерального исследовательского центра. - 2018. -№1. – С. 14-16.

60. Завалин А.А. Оптимизация минерального питания и продуктивности растений при использовании биопрепаратов и удобрений // Достижения науки и техники АПК. - 2015. - №5. – С. 31-32.
61. Москвичев А.Ю., Балашов А.В., Пятибратов В.В. Применение мизорина и бишофита при возделывании картофеля на фоне разуплотнения почвы// Плодородие. - 2009. - №6. - С. 61-64.
62. Мертасов А.Г., Бабак В.А., Жакупов Е.Ж. Эффективность биологического удобрения «БиоАзоФосфит» на сельскохозяйственных культурах// Молодой ученый. - 2018. - №48(234). - С.347-351.
63. Русанова И.В. Солома важный фактор биологизации земледелия// Земледелие. - 2001. - №1. - С. 19-22.
64. Теппер Е.З. Практикум по микробиологии// Изд-во «Дрофа», Москва.- 2004. – С. 412.
65. Symanowisz B., Toczko R., Toczko M. Enzymatic activity of soil after applying mineral fertilizer and waste lignite to maize grown for silage// Agriculture. – 2022. -№ 12. – С. 2146.
66. Datta A., Singh R., Kumar S. Effective and beneficial plant growth promoting soil bacterium «Rhizobium»: A Review// Annals of Plant Sciences. -2015.-№ 4(01). – С. 933-942.
67. Simarro R., González N., Bautista L.F., Molina M.C. Assessment of the efficiency of in situ bioremediation techniques in a creosote polluted soil: change in bacterial community// J Hazard Mater.- 2013.- № 262. – С. 152.
68. Емцев, В.Т. Микробиология: учебник для вузов / В.Т.Емцев, Е.Н.Мишустин // 6-изд., испр. – М.: Дрофа. - 2006. – С. 444.
69. Горбань В.П. Изменение ультраструктуры клубеньков люпина под влиянием метаболитов почвенного гриба *Gliocladium zaleskii* 278 // Тезисы Межд. Науч. Конференции «Микроорганизмы и биосфера». М.- 2007.- С. 32-34.
70. Sawale S.K., Phirke N.V. Exploring the Possibilities of Using Bradyrhizobium japonicum as a Nitrogen Fixing Bioresource in Soybean Cultivation in Purna-river Basin// The Scientific Temper.-2022. -№13. –С.8-14.
71. Сытников, Д.М. Эффективность биопрепаратов клубеньковых бактерий сои, модифицированных гомологичным лектином // Прикладная биохимия и микробиология. - 2007. - Т. 43. №3.- С.304-310.
72. Gazizov R., Sukhanova I., Prishchepenko E., Sidorov V. Influence of sapropel, diatomite, brown coal and vermicompost in normal and ultrafine forms on productivity and quality of Spring Barley// BIO Web of Conferences.-2021.-№ 37.
73. Wani S.A., Chand S., Wani M.A., Ramzan M., Hakeem K.R. Azotobacter chroococcum – a potential biofertilizer in agriculture: An Overview/ In: Hakeem, K., Akhtar, J., Sabir, M. (eds)// Soil Science: Agricultural and Environmental Prospectives. Springer, Cham.-2016.
74. Bloem, E., Albiñ, A., Elving, J., Hermann, L., Lehmann, L., Sarvi, M., et al. (2017). Contamination of organic nutrient sources with potentially toxic elements, antibiotics and pathogen microorganisms in relation to P fertilizer potential and

treatment options for the production of sustainable fertilizers: a review// *Sci. Total Environ.*-2017. -№60. – С.225–242.

75. A Citizen's Guide to Soil Washing// United States Environmental Protection Agency. - 2004.

76. Soleimanzadeh H, Gooshchi F (2013) Effects of Azotobacter and nitrogen chemical fertilizer on yield and yield components of wheat (*Triticum aestivum* L.). // *World Appl Sci J.*-2013.-№ 21(8). – С. 1176–1180.

77. Кистень А.Г., Кудиш И.К., Бега З.Т., Царенко И.Ю. Влияние некоторых факторов на рост чистых и смешанных культур *Azotobacter chroococcum* и *Bacillus subtilis* // *Прикладная биохимия и микробиология*. 2006. Т. 42. №3. - С.315-320.

78. Воробьев Н.И., Проворов Н.А. Quorum Sensing инодуляционная конкурентоспособность ризобий при инфицировании бобовых растений // *С.-х. биол., Сельхозбиология, S-h biol, Sel-hoz biol, Sel'skokhozyaistvennaya biologiya, Agricultural Biology*. - 2015. - №3.

79. Сафин Р.И. Хузина Э. Эффективность бактериальных удобрений на яровой пшенице// *Агро XXI*. -2007. -№ 10-12. -С. 39-40.

80. Курдиш И.К., Бега З.Т., Гордиенко А.С., Дыренков Д.И. Влияние *Azotobacter vinelandii* на прорастание семян растений и адгезия этих бактерий к корням огурцов // *Прикладная биохимия и микробиология*. - 2008. -Т. 43.№4. - С.442-447.

81. Salhia B. The effect of *Azotobacter chroococcum* nitrogen biofertilizer on the growth and yield of *Cucumis sativus*// *The Islamic University Gaza, Deanery of Higher Education Faculty of Science, Master of Biological Sciences, Botany*. -2013.

82. Carvajal-Muñoz J.S., Carmona-Garcia C.E. Benefits and limitations of biofertilization in agricultural practices// *Livest. Res. Rural Dev.* – 2012. -№24.-С. 1-8.

83. Копылов Е.П. Определение видовой принадлежности бактерий рода *Azospirillum* с использованием методов молекулярно-генетического анализа // *Тезисы Межд. Науч. Конференции «Микроорганизмы и биосфера»*. - М. -2007. -С. 66-67.

84. Беккер З.Э. Физиология и биохимия грибов, – М.: Изд. МГУ. - 1988.

85. Фурина, Е.К. Влияние совместной и отдельной инокуляции растений люцерны культурами *Azospirillum lipoferum* и *Sinorhizobium meliloti* на активность процессов денитрификации и азотфиксации // *Прикладная биохимия и микробиология*. - 2007. - Т. 43. №3. -С.318-324.

86. Справочник пестицидов и агрохимикатов, разрешенных к применению в Российской Федерации в 2000 году. М.: Агро-рус, - 2000. – С. 277.

87. Naseri R, Moghadam A, Darabi F, Hatami A, Tahmasebi G.R. The Effect of deficit irrigation and *Azotobacter Chroococcum* and *Azospirillum brasilense* on grain yield, yield components of maize (S.C.704) as a second cropping in western// *Iran Bull Environ Pharmacol Life Sci*. -2013. -№2(10). –С.104–112.

88. Gonçalves A.L. The Use of Microalgae and Cyanobacteria in the improvement of agricultural practices: A review on their biofertilising, biostimulating and biopesticide roles// *Appl Sci.* – 2021. -№11. –С. 871.
89. Новикова И.И. Полифункциональные биопрепараты для фитосанитарной оптимизации агроэкосистем в биологическом земледелии. // *АгроЭкоИнженерия.* -2019. -№2 (99).
90. Guo S., Wang P., Wang X. Microalgae as biofertilizer in modern agriculture // *Microalgae Biotechnol Food, Heal High Value Prod.* -2020. –С. 397–411.
91. Смирнова И.П., Каримова Е.В., Шнейдер Ю.А. Некоторые перспективы использования метаболитов рода *Trichoderma* // *Вестник РУДН. Серия: Агрономия и животноводство.* - 2016. - №3.
92. Крутило Д.В. Эффективность штаммов *Bradyrhizobium uaronicum* на фоне местных популяций ризобий сои // *Вестник АГАУ.* - 2014. - №4 (114).
93. Жаркова С.В., Манылова О.В., Быков Е.С. Применение препарата Ризоторфин на посевах сои // *Международный журнал гуманитарных и естественных наук.* - 2019. - №7-2.
94. Milosevic N, Tintor B, Protic BC, Cvijanovic R. Effect of inoculation with *Azotobacter chroococcum* on wheat yield and seed quality// *Rom Biotechnol Lett.* - 2012. - №17(3). –С.7352–7357.
95. Москвичев А.Ю., Карпова Т.Л., Егоров С.А. Совершенствование технологии возделывания продовольственного картофеля при использовании препаратов от комплекса болезней и вредителей в условиях нижнего Поволжья // *Известия НВ АУК.* - 2018. - №1 (49).
96. Гамзаева Р.С. Влияние биопрепаратов Флавобактерин и мизорин на физиолого-биохимические показатели различных сортов ячменя // *Известия СПбГАУ.* - 2015. - №40.
97. Ramachandra T.V.; Mahapatra D.M.; Karthick B., Gordon, R. Milking diatoms for sustainable energy: biochemical engineering versus gasoline-secreting diatom solar panels// *Industrial & Engineering Chemistry Research.* - 2009. - №48. –С. 8769-8788.
98. Adams M. Superfoods for optimum health: Chlorella and spirulina.- 2013.
99. Kaur I. Seaweeds: Soil Health Boosters for Sustainable Agriculture. -2020. –С. 163–182.
100. Dmytryk, A., Chojnacka, K. Algae as fertilizers, biostimulants, and regulators of plant growth. In: Chojnacka, K., Wieczorek, P., Schroeder, G., Michalak, I. (eds) *Algae Biomass: Characteristics and Applications// Developments in Applied Phycology*, vol 8. Springer, Cham. -2018.
101. Stadnik M.J., de Freitas M.B. Algal polysaccharides as source of plant resistance inducers// *Trop Plant Pathol.*-2014. -№ 39. –С.111–118.
102. Sharma SH.S, Fleming C., Selby C., Rao J.R., Martin T. Plant biostimulants: a review on the processing of macroalgae and use of extracts for crop management to reduce abiotic and biotic stresses// *J Appl Phycol.*-2014. -№26(1). – С.465–490.

103. Sharma SH.S., Lyons G., McRoberts C., McCall D., Carmichael E., Andrews F., McCormack R. Brown seaweed species from Strangford Lough: compositional analyses of seaweed species and biostimulant formulations by rapid instrumental methods// J Appl Phycol. -2012. -№ 24. –С.1141–1157.
104. Samarakoon K., Jeon Y.J. Bio-functionalities of proteins derived from marine algae – a review//Food Res Int. -2012. -№ 48(2). –С. 948–960.
105. Нагорская В. П., Реунов А. В., Лапшина Л. А., Ермак И. М., Барабанова А. О. Влияние κ/β -каррагинана из красной водоросли *Tichocarpus crinitus* на развитие локальной инфекции, индуцированной вирусом табачной мозаики в листьях табака сорта Ксанти – НК // Изв. РАН. Сер.биол. -2008. -№ 3. – С. 360-364.
106. Rao P.V.S., Mantri V.A., Ganesan K. Mineral composition of edible seaweed *Porphyra vietnamensis*// Food Chem.-2007.-№102. –С. 215–218.
107. Семенова Е.В., Билименко А.С., Чеботок В.В. Использование морских водорослей в медицине и фармации // Современные проблемы науки и образования. - 2019. -№1.-С. 41-43.
108. Крыжановский С.П. Антидислипидемические и противовоспалительные эффекты полисахаридов бурых водорослей у пациентов с ишемической болезнью сердца и дислипидемией // Здоровье. Медицинская экология. Наука. -2014. -№3. –С. 59-63.
109. Tleukeyeva A.Ye., Alibayev N., Pankiewicz R., Issayeva A.U. The possibility of using green algae as fertilizer in agriculture// Научный журнал «Доклады НАН РК». -2021. -№1. –С.19–23.
110. Волотовская А. В. Лечебные физические факторы как основа спатерапии // Международные обзоры: клиническая практика и здоровье. - 2013. - №3 (3). –С. 4-7.
111. Кузнецова Т.А., Ковалев Н.Н., Беседнова Н.Н., Плехова Н.Г., Сомова Л.М. Оценка эффективности гелей, содержащих биологически активные вещества из морских гидробионтов, на модели термического ожога // Здоровье. Медицинская экология. Наука. - 2014. - №3.
112. Имбс Т.Н., Звягинцева Т.Н., Ермакова С.П. «Фуколам» - первая в России биологически активная добавка на основе фукоидана // Вестник ДВО РАН. - 2015. - №6 (184).
113. Edwards M., Watson, L. Cultivating *Laminaria digitata*// Aquaculture Explained.-2011. -№26. -71 с.
114. Беседнова Н.Н. Морские гидробионты - потенциальные источники лекарств // Здоровье. Медицинская экология. Наука. -2014. -№3.
115. Мельников С., Мананкина Е. Использование хлореллы в кормлении сельскохозяйственных животных // Наука и инновации. -2010. -№90. – С.23-24.
116. Журавлева С.В., Бойцова Т.М., Прокопец Ж.Г. Структурно-механические свойства фаршевых систем на основе гидробионтов и мяса птицы механической обвалки // Техника и технология пищевых производств. -2018. - №1.

117. Подкорытова А.В., Игнатова Т.А. Морские красные водоросли - неиссякаемый источник биологически активных веществ для медицины и фармацевтики // Труды ВНИРО. - 2022.
118. Schiener P., Black K.D., Stanley M.S. The seasonal variation in the chemical composition of the kelp species *Laminaria digitata*, *Laminaria hyperborea*, *Saccharina latissima* and *Alaria esculenta* // *JApplPhycol.* -2015.-№27. –С. 363–373.
119. Персикова Т. Ф. Агроэкологические аспекты повышения плодородия дерново-подзолистых почв // *Агрохимический вестник.* - 2008. - №1. –С. 1-5.
120. Ammar E.E., Aioub A.A., Elesawy A.E., Karkour A.M., Mouhamed M.S., Amer A.A., El-Shershaby N.A. Algae as Bio-fertilizers: Between current situation and future prospective // *Saudi J Biol Sci.* -2022. -№29(5). –С.3083-3096.
121. Valderrama D. Social and economic dimensions of seaweed farming: a global review// Paper presented at the Proceedings of the 16th International Institute of Fisheries Economics and Trade (IIFET) Dar es Salaam, Tanzania. -2012.
122. Сорокина О.Ю. Эффективность минеральных и органоминеральных удобрений при возделывании льна масличного в условиях центрального нечерноземья // *Плодородие.* -2021. -№1 (118).
123. Парахин Н. В., Петрова С. Н. Симбиотически фиксированный азот в агроэкосистемах // *Вестник ОрелГАУ.* -2009. -№3.
124. Alvarenga P., Martins M., Ribeiro H., Mota M., Guerra I., Cardoso H., Silva J. Evaluation of the fertilizer potential of *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus obliquus* grown in agricultural drainage water from maize fields // *L.Sci Total Environ.* – 2023. -№25:861. –С.670.
125. Платонов В.В., Ларина М.А., Дмитриева Е.Д., А Бодял М. Биологически активные медицинские препараты на основе сапропелевого гуминового комплекса // *Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание.* -2016. -№2.
126. Tuhtaboyeva Y.A., Tojiboev S. Algae light brown soil Fergana Valley in Uzbekistan // *European science review.* -2016. -№1-2.
127. Парахин Н. В., Петрова С. Н. Симбиотически фиксированный азот в агроэкосистемах // *Вестник ОрелГАУ.* -2009. - №3.
128. Alvarenga P., Martins M., Ribeiro H., Mota M., Guerra I., Cardoso H., Silva J.L. Evaluation of the fertilizer potential of *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus obliquus* grown in agricultural drainage water from maize fields // *Sci Total Environ.* - 2023. -№ 25:861. –С.160.
129. Нухимовская Ю.Д., Быков А.В., Колесников А.В., Степанова Н.Ю. Ботанический феномен на засоленных равнинах северного прикаспия - «биологическая балка» биосферного резервата «Озеро Эльтон» // *Экосистемы: экология и динамика.* -2022. -№1.
130. Определитель пресноводных водорослей СССР в четырнадцати выпусках / Ответственный редактор М. М. Голлербах, Изд.: Наука, Ленинград. - 1986.

131. Barbiery M. The importance of enrichment factor (EF) and geoaccumulation index (Igeo) to evaluate the soil contamination// J Geol. Geophys. - 2016. - №5.-С. 237.
132. Moiseenko T.I. Evolution of biogeochemical cycles under anthropogenic loads: limits impacts //Geochem.Int.- 2017. - №55. –С.841–60.
133. Salim Y., Yerimbetova A., Baiduisenova T., Tleukeyeva A. Soil Pollution with Heavy Metals in Turkestan Region// Journal of Ecological Engineering. -2023. -№24(2). –С.31-38.
134. Ghazaryan K. A., Movsesyan H. S., Ghazaryan N. P. Heavy metals in the soils of the mining regions of Kajaran, Armenia: a preliminary definition of contaminated areas //Acad. J. Sci. -2017. -№7. –С. 421–430.
135. Yue C., Du H., Li Y., Yin N., Peng B., Cui Y. Stabilization of Soil Arsenic with Iron and Nano-Iron Materials: A Review// Journal of Nanoscience and Nanotechnology. - 2021. - № 21(1).-С.10-21.
136. Tleukeyeva A. Ye., Myrzabayeva Zh. K., Issayeva A. U. , Baitasheva G. U., Yerimbetova A. A. The role of higher vascular plants in biological wastewater treatment //Доклады Национальной Академии Наук Республики Казахстан. - 2021. - № 2.
137. Issayeva A., Myrzabayeva Zh., Kidirbayeva K., Ibragimov T., Baitasheva G., Tleukeyeva A. Reaction of Aquatic Plants of Small Rivers of the Turkestan Region of Kazakhstan to Heavy Metal Ions// Journal of ecological engineering. -2022. -№ 23(6). –С.43.
138. Патент РФ № 2589896 от 10.07.2016, G01N 33/20 (2006.01)
139. Авторское свидетельство СССР, №1677625, МПК G01N 33/18
140. Tleukeyeva A.Ye., Alibayev N.N., Pankiewicz R., Issayeva A. U., The possibility of using green algae as fertilizer in agriculture// Доклады Национальной Академии Наук Республики Казахстан. -2021. -№1
141. Liu M., Huang XH., Li CL. Study on the uptake of dissolved nitrogen by *Oocystis borgei* in prawn (*Litopenaeus vannamei*) aquaculture ponds and establishment of uptake model// Aquacult Int. -2020. -№28, -С. 1445–1458.
142. Wang X., Zhang Y., Li C. Allelopathic effect of *Oocystis borgei* culture on *Microcystis aeruginosa*//Environmental Technology. -2020. -№43. -С.1-10.
143. Жаксыбаева Г.С. Ошакбаев М.Т. Утегулов Н.И. Керейбаева Г.Х. Садыкова Ж.А. Физико-химическое исследование процесса диспергирования фосфоритов Каратау// Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. -2015. -№ 12 (часть 5) – С. 863-866.
144. Tleukeyeva A.Ye., Alibayev N., Issayeva A., Mambetova L., Sattarova A., Issayev Ye. The Use of Phosphorus-Containing Waste and Algae to Produce Biofertilizer for Tomatoes// Journal of ecological engineering. -2022. -№ 23(2). –С. 48-52.
145. Tleukeyeva A.Ye., Pankiewicz R., Issayeva A., Alibayev N., Tleukeyev Zh. Green Algae as a Way to Utilize Phosphorus Waste// Journal of ecological engineering. - 2021. -№ 22(10). –С. 235–240.

146. Mohammed S., El-Sheekh M.M., Hamed Aly S., Al-Harbi M., Elkelish A., Nagah A. Inductive role of the brown alga *Sargassum polycystum* on growth and biosynthesis of imperative metabolites and antioxidants of two crop plants. //Front Plant Sci. – 2023. -№24:14. –С.113.
147. Agathokleous E., Kitao M., Komatsu M., Tamai Y., Harayama H., Koike T. Single and combined effects of fertilization, ectomycorrhizal inoculation, and drought on container-grown Japanese larch seedlings // J. For. Res. – 2022. –С. 1–18.
148. Dalrymple O.K., Halfhide T., Udom I. Wastewater use in algae production for generation of renewable resources: a review and preliminary results// Aquat. Biosyst. - 2013. - №9, -С.2.
149. Wu Y, Gao H, Wang Y, Peng Z, Guo Z, Ma Y, Zhang R, Zhang M, Wu Q, Xiao J, Zhong Q.J. Effects of different extraction methods on contents, profiles, and antioxidant abilities of free and bound phenolics of *Sargassum polycystum* from the South China Sea. //Food Sci. -2022. -№87(3). –С.968-981.
150. Alexander V. Prazukin, Elena V. Anufriieva, Nickolai V. Shadrin. Withdrawal notice to “Unlimited possibilities to use *Cladophora* (Chlorophyta, Ulvophyceae, Cladophorales) biomass in agriculture and aquaculture with profit for the environment and humanity” // Science of The Total Environment.-2023. -№884. - 789с.
151. Li Y, Chen Y-F, Chen P, Min M, Zhou W, Martinez B, Zhu J, Roger R: Characterization of a microalga *Chlorella* sp. well adapted to highly concentrated municipal wastewater for nutrient removal and biodiesel production //Bioresour Technol. - 2011, - №102.- С. 5138-5144.
152. Craggs R.J., Heubeck S., Lundquist T.J., Benemann J.R. Algal biofuels from wastewater treatment high rate algal ponds// Water Sci Technol. -2011. -№ 63.- С. 660-665.
153. Shoener B.D., Bradley I.M., Cusick R.D., Guest J.S. Energy positive domestic wastewater treatment: the roles of anaerobic and phototrophic technologies// Environmental Science. Processes & Impacts.- 2014. -№ 16(6).-С. 1204-1222.
154. Gao H., Scherson Y.D., Wells G.F. Towards energy neutral wastewater treatment: methodology and state of the art. Environmental Science //Processes & Impacts. - 2014. - № 6. -С. 1223-1246.
155. Shurin J.B., Abbott R.L., Deal M.S. et al. Industrial-strength ecology: trade-offs and opportunities in algal biofuel production//Ecology Letters. - 2013.- №16.-С. 1393-1404.
156. Жиленко С., Аканова Н., Винничек Л. Агрэкономическая эффективность применения новых форм удобрений на основе фосфогипса в посевах кукурузы // МСХ. -2016. -№2.
157. Каренгина Л.Б. Влияние суперфоса на урожайность культур при основном внесении // АБУ. - 2016.- №7 (149).
158. Беясова Н.А., Игнатовец О.С., Сергиевич Д.С., Минаковский А.Ф., Босак В.Н., Сачивко Т.В. Выделение и характеристика почвенных

фосфатмобилизующих микроорганизмов // Вестник Белорусской государственной сельскохозяйственной академии. - 2018. - №2.

159. Дегтярева И. А., Яппаров А. Х., Дмитричева Д. С., Зарипова С. К. Предпосевная обработка семян сельскохозяйственных культур диазотрофными и фосфатмобилизующими микроорганизмами // Вестник Казанского технологического университета. -2012. -№7.

160. Tleukeyeva A., Alibayev N., Issayeva A., Mambetova L., Sattarova A., Issayev Ye. The Use of Phosphorus-Containing Waste and Algae to Produce Biofertilizer for Tomatoes //Journal of ecological engineering. -2022. -№ 23(2). – С.48-52.

161. <https://deluxe.com.ua/articles/spice-and-health/spirulina-i-chlorella-raznica.html>

162. Тлеукеева А.Е., Исаева А.У., Алибаев Н., Тлеукеев Ж., Егинбай А. Патент на изобретение №36030. Способ биоконверсии фосфорсодержащих отходов для получения биоудобрений для томатов. - 2022.

163. Khan W., Rayirath U. P., Subramanian S., Jithesh M. N., Rayorath P., Hodges D. M., Critchley A. T., Craigie J. S., Norrie J., Prithiviraj B. Seaweed extracts as biostimulants of plant growth and development// J. Plant Growth Regul. - 2009. - № 28.-С. 386-399.

164. Panda D., Pramanik K., Nayak B. R. Use of seaweed extracts as plant growth regulators for sustainable agriculture// Int. J. Biores. Stress Manag. -2012. -№ 3. –С. 404-411.

165. Michalak I., Chojnacka K., Saeid A. Plant growth biostimulants, dietary feed supplements and cosmetics formulated with supercritical CO₂ algal extracts// Molecules. -2017. -№ 22. –С. 66-83.

166. Chojnacka K., Saeid A., Witkowska Z., Tuhy L. Biologically active compounds in seaweed extracts-the prospects for the application //Open Conf. Proc. J. -2012. -№ 3. –С. 20-28.

167. Шибеева Т.Г., Шерудило Е.Г., Титов А.Ф. Экстракты морских водорослей как биостимуляторы растений // Труды КарНЦ РАН. - 2021. - №3. – С. 15.

ПРИЛОЖЕНИЕ А

Дополнительные материалы к основной части



Рисунок А.1- Подготовка питательных сред



Рисунок А.2- Выделение чистых штаммов водорослей на твердой питательной среде Майерса



Рисунок А.3-Процесс выборки и посева семян, изучение морфометрических показателей тест-растений

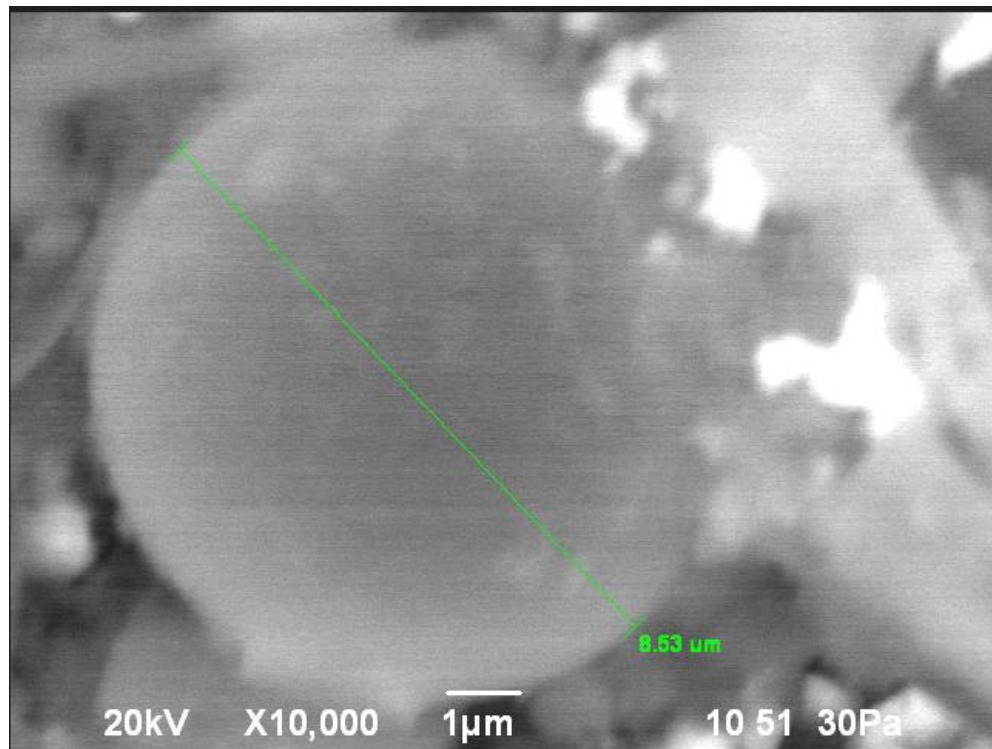


Рисунок А.4- Клетка *Chlorella vulgaris* ASLI-1 под растровым электронным микроскопом



Рисунок А.5- Процесс насыщения культуры микроводорослей углекислым газом



Рисунок А.6- Биологическое удобрение «ФосФИТА»

ПРИЛОЖЕНИЕ Б

Патент и акты внедрения


ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ РЕСПУБЛИКА КАЗАХСТАН
REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

**ПАТЕНТ
PATENT**
№ 36030

ӨНЕРТАБЫСҚА / НА ИЗОБРЕТЕНИЕ / FOR INVENTION

 (21) 2021/0714.1
(22) 24.11.2021
(45) 30.12.2022

(54) Фосфорсұрамды қалдыстарды биоконверсиялау негізіндегі қызынастарға арналған биотыңайтқышты алу тәсілі
Способ биоконверсии фосфорсодержащих отходов для получения биоудобрений для томатов
Process for biococonversion of phosphorus-containing waste to obtain biofertilizers for tomatoes

(73) Тлеукеева Асель Ержановна (KZ)
Tleukeeva Assel Yerzhanovna (KZ)

(72) Исаева Акмарал Умурбековна (KZ) Issayeva Akmaral Umurbekovna (KZ)
Тлеукеев Жанболат Асетович (KZ) Tleukeev Zhanbolat Asetovich (KZ)
Егінбай Айгерім Муратовна (KZ) Yeginbay Aigerim Muratovna (KZ)
Алибаев Нурадин (KZ) Alibayev Nuradin (KZ)


ЭЦҚ көп қолданды
Подписано ЭЦП
Signed with EDS

Е. Оспанов
E. Ospanov
Y. Ospanov

«Үлгілік заңгерлік компания институты» РМҚ директоры
Директор РПН «Национальный институт интеллектуальной собственности»
Director of the «National Institute of Intellectual Property» RSE

СОГЛАСОВАНО

Проректор по ИР и ИИ
ЮКУ им. М. Ауэзова



Ф.7.07-15

АКТ № 215 от 16.06.23г.

внедрения результатов научно-исследовательских работ в производство для технических специальностей

Мы, нижеподписавшиеся представители НАО «Южно-Казахстанского университета имени М.Ауэзова», научный руководитель Алибаев Н., ответственный исполнитель докторант кафедры «Биотехнология» Тлеукуева А., исполнитель к.и.н. Тлеукуев Ж.А.

настоящим актом подтверждаем, что результаты научно-исследовательской работы по теме диссертации «Разработка агроудобрения на основе процессов комплексной конверсии фосфоросодержащих отходов г.Шымкент»

выполненный на кафедре «Биотехнология» внедрены в СПК «Nomad agro group».

Вид внедрения результатов: прикладные исследования в области биотехнологии в сельском хозяйстве

Область и форма внедрения: Областью внедрения являются фермерские хозяйства, тепличные комплексы и организации по производству органических удобрений. Форма внедрения методика культивирования овощных культур.

Эффект внедрения. Опыты проводились с 3 апреля по 31 мая 2023 года на открытом грунте площадью 3х3м. Объектом исследования являлись тест-растения Zea mays (Кукуруза сахарная). В контрольном варианте зерна обрабатывались традиционным методом, в опытовом варианте применяли биоудобрение «ФосФИТА». После применения биоудобрения «ФосФИТА» со штаммами зеленых водорослей продуктивность растений в опытовом варианте повысилась на 22%, в сравнении с контрольными растениями, в которых применялись традиционные удобрения. Было установлено, что фунгицидные свойства удобрения «ФосФИТА» понижают плесневение зерен при предварительном замачивании на 15-26%.

Выводы и предложения Результаты, полученные в ходе исследования могут быть использованы для других овощных культур для повышения урожайности.

Приложение: Акт испытаний

От вуза
Директор ДАН Назарбек У.
(подпись)

Руководитель НИР Алибаев Н.
(подпись)

Ответственный исполнитель Тлеукуева А.

Исполнитель Тлеукуев Ж.

16.06.2023г.

От предприятия
зам. руководителя по
производству Кенесов Т.А.
(подпись)

Инженер планово-экономического отдела
Смаилов С.С.
(подпись)

Инженер по охране труда и технике безопасности Кобеев К.А.
(подпись)

16.06.2023г.

АКТ
испытаний результатов научно-исследовательских работ в производстве для технических специальностей

Научно-исследовательская работа проводилась в рамках выполнения научно-исследовательской работы по теме диссертации «Разработка альгоудобрения на основе процессов комплексной конверсии фосфоросодержащих отходов г.Шымкент», были проведены испытания работы на базе СПК «Nomad agro group».

Опыты проводились с 3 апреля по 31 мая 2023 года на открытом грунте площадью 3х3м. Объектом исследования являлись тест-растения Zea mays (Кукуруза сахарная). В контрольном варианте зерна обрабатывались традиционным методом, в опытном варианте применяли биоудобрение «ФосФИТА». Зерна после выборки, замачивались в течение суток в биоудобрении «ФосФИТА». Зерна высаживали на расстоянии 10 см друг от друга, полив проводился методом капельного орошения 1 раз в сутки. Всхожесть рассчитывалась на 7 суток после посева. Измерение массы плодов и высоты растений проводилось на 60 суток после посева. После применения биоудобрения «ФосФИТА» со штаммами зеленых водорослей продуктивность растений в опытном варианте повысилась на 22%, в сравнении с контрольными растениями, в которых применялись традиционные удобрения. Было установлено, что фунгицидные свойства удобрения «ФосФИТА» понижают плесневение зерен при предварительном замачивании на 15-26%.

Со стороны ЯОКУ им М.Аузова:

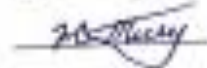
Алибаев Н.



Тлеукеева А.



Тлеукеев Ж.



Со стороны СПК «Nomad agro group»

Алимбаев А.Д.



Кенесов Т.А.

(подпись)



СОГЛАСОВАНО
Проректор по ИР и ИИ
ЮКУ им. М. Ауэзова



УТВЕРЖДАЮ
Президент АО «Биос»
Алибаев К.



АКТ №386 от 16.06.23г.

внедрения результатов научно-исследовательских работ в производство для технических специальностей

Мы, нижеподписавшиеся представители НАО «Южно-Казахстанского университета имени М.Ауэзова», научный руководитель Алибаев Н., ответственный исполнитель докторант кафедры «Биотехнология» Глазуков А. настоящим актом подтверждаем, что результаты научно-исследовательской работы по теме диссертации «Разработка альгоудобрения на основе процессов комплексной конверсии фосфоросодержащих отходов г.Шымкент»

выполненной на кафедре «Биотехнология» внедрены в ООО «Биос» (Общественное объединение экологическое общество «Биос»).

Вид внедрения результатов: прикладные исследования в области биотехнологии в сельском хозяйстве

Область и форма внедрения: Областью внедрения являются фермерские хозяйства, тепличные комплексы и организации по производству органических удобрений. Форма внедрения методика культивирования овощных культур.

Эффект внедрения. Исследования проводились с 1 по 28 февраля 2023 года. Целью научной работы были оптимизирование концентраций фосфоросодержащих шламов и шламов в питательной среде для культивирования зеленых микроводорослей. В ходе исследования применяли штаммы *Chlorella sp.*, *Dosystis sp.*, *Euglena sp.*, *Amalveia sp.* Установлено, что к высоким концентрациям фосфоросодержащих отходов устойчивы штаммы *Dosystis sp.*, при создании комплекса со штаммами хлореллы состав питательной среды обогащается азотом, калием и органическими соединениями.

Выводы и предложения Результаты, полученные в ходе исследования могут быть использованы в производстве удобрений, кормовых добавок и очистки воды от фосфоросодержащих соединений.

Продолжение: Акт испытаний

От науки
Директор ДАН Назарбек У.
(подпись)

Руководитель НИИ Алибаев Н.
(подпись)

Ответственный исполнитель Глазуков А.

14.06.2023г.

От предприятия
зам. руководителя по
производству Егенов А.

Инженер по качеству Бердасов М.

Инженер по охране труда и технике безопасности Сарсем С.
(подпись)

14.06.2023г.

АКТ
испытаний результатов научно-исследовательских работ в производство для технических специальностей

Исследования проводились с 1 по 28 февраля 2023 года в микробиологической лаборатории на базе ООО «Биос». Методы исследования соответствовали с традиционной методикой культивирования микроорганизмов и водорослей. Отбор проб воды с водорослями проводился с помощью пластиковой посуды. Для сбора планктонных водорослей использовалась планктонная сетка.

Микроскопирование препаратов проводилось с помощью светового микроскопа с объективом 10x; 40x; 100x с использованием иммерсионного масла. Изучение пробы воды осуществлялось при помощи метода «средакленной капли». При этом были использованы обезжиренные покровные и предметные стекла размером соответственно 75x25 мм и 18x18 мм, пипетки на 1 и 2 мм. Для каждой пробы применялась отдельная пипетка. Для изучения подвижных гидробионтов был применен слабый раствор KI с целью их фиксации. Таксономический анализ проводился на основе определителей. Культивирование водорослей производилось в стерильном боксе на твердых питательных средах Майерса и Прата. Инкубация посева, произведенного на жидкую питательную среду, проводилась на световых стеллажах (№ ГС-1/80 СПУТУ 9452-002-00141798-97) при температурном режиме 23-25 °С. Пробы воды были разведены в пробирках с водой в концентрации 1 мл пробы в воды на 100 мл простерилизованной воды. Для посева были использованы пробирки № 3 и № 4, где разведение соответствовало 10^3 и 10^4 . Накопительная культура микроводорослей выращивалась на световых стеллажах при температуре 23-25 °С с постоянной аэрацией.

В ходе исследования применяли штаммы *Chlorella sp.*, *Oocystis sp.*, *Euglena sp.*, *Alabaena sp.* Установлено, что к высоким концентрациям фосфорсодержащих отходов устойчивы штаммы *Oocystis sp.*, при создании комплекса со штаммами хлореллы состав питательной среды обогащается азотом, калием и органическими соединениями.

Со стороны ЮКУ им. М. Ауэзова:

Алибаев Н.

Тлеукаева А.



Со стороны ООО «Биос»:

Утебеков А.

Егетов А.



Бөкітмелік
Шымкент университетінің оқу және
адістемелік істері жөніндегі проректоры,
п.ғ.к. Керимбайев А.А.

Керимбайев А.А.


Ғылыми зерттеу жұмыстарының нәтижелерін оқу процесіне
ЕНДІРУ АКТІСІ *N 15*

1. Жұмыс ендірілетін мекеме атауы: Шымкент университеті
2. Үсыныс атауы: Оқу процесіне «К вопросу о производстве биопрепаратов экологического действия» атты монографиясын 6В01504 - «Биология» ББ «Микробиология» пәнінің оқу жұмыс бағдарламасына (сиклабус) ендіру.
3. Ендіру аясы: ШУ-дың Жаратылыстану және гуманитарлық ғылымдар факультетінің «Жаратылыстану ғылымдары» кафедрасы.
4. Ендіру мерзімі: 2022-2023 оқу жылы.
5. Ендіруге жауапты орындаушы: б.ғ.д., профессор Исәева А.У., докторант Тлеукеева А.Е.

Біз төменде қол қоюшылар, Академиялық қызмет департаментінің директоры Мамбетова Л.М., Ғылым департаментінің директоры, а.-ш.ғ.к. Тастанбекова Г.Р., «Жаратылыстану ғылымдары» кафедрасының меңгерушісі Тлегенова К.Б., орындаушылар Исәева А.У., Тлеукеева А.Е.

Монографияда кең спектрінде қолданылатын биопрепараттар бойынша мәліметтер көрсетілген. Микроорганизмдер негізінде жасалған биопрепараттардың топырақты құнарландырудағы, ластанған суларды тазартудағы, ауыл шаруашылық дақылдардың өнімділігін арттыруда маңызы көрсетілген.

Қорытындылай келе, бұл монографияны 6В01504 - «Биология», 6В05101 «Биология» ББ бойынша оқыған студенттер қолдана алады. Жаратылыстану және гуманитарлық ғылымдар факультеті, «Жаратылыстану ғылымдары» кафедрасының профессоры, б.ғ.д. А.У. Исәева, докторант Тлеукеева А.Е. «К вопросу о производстве биопрепаратов экологического действия» атты монографиясын 2022-2023 оқу жылынан бастап 6В01504 - «Биология», 6В05101 «Биология» ББ үшін оқу процесіне ендірілді.

Академиялық қызмет департаментінің
бастығы, а.-ш.ғ.к.

Л.М. Мамбетова

Мамбетова Л.М.

Ғылым департаментінің директоры,
а.-ш.ғ.к.

Г.Р. Тастанбекова

Тастанбекова Г.Р.

«Жаратылыстану ғылымдары»
кафедрасының меңгерушісі, а.-ш.ғ.к.

К.Б. Тлегенова

Тлегенова К.Б.

Орындаушылар

А.У. Исәева

Исәева А.У.

А.Е. Тлеукеева

Тлеукеева А.Е.

Бекітетін
Шымкент университетінің оқу және
оқитымелік істері жөніндегі проректоры,
п.ғ.к. Кереметов А.А.

« 29 » 04 2023

Ғылыми зерттеу жұмыстарының нәтижелерін оқу процесіне
ЕНДІРУ АКТІСІ *№16*

1. Жұмыс ендірілетін мекеме атауы: Шымкент университеті
2. Ұсыныс атауы: Оқу процесіне «Роль алыгофлоры в экобиотехнологии» атты монографиясын 7M01504 - «Биология» ББ «Modern achievements of biotechnology» пәнінің оқу жұмыс бағдарламасына (скайпабук) ендіру.
3. Ендіру аясы: ШУ-дың Жаратылыстану және гуманитарлық ғылымдар факультетінің «Жаратылыстану ғылымдары» кафедрасы.
4. Ендіру мерзімі: 2022-2023 оқу жылы.
5. Ендіруге жауапты орындаушы: б.ғ.д., профессор Исаева А.У., докторант Тлеукоева А.Е.

Біз төменде қол қоюшылар, Академиялық қызмет департаментінің директоры Мамбетова Л.М., Ғылым департаментінің директоры, а.ш.ғ.к. Тастанбекова Г.Р., «Жаратылыстану ғылымдары» кафедрасының меңгерушісі Тлегенова К.Б., орындаушылар Исаева А.У., Тлеукоева А.Е.

Монографияға кең спектрінде қолданылатын биопрепараттар бойынша мәліметтер көрсетілген. Микроағзалар негізінде жасалған биоопрепараттардың топырақты құнарландырудағы, аластатқан суларды тазартудағы, ауыл шаруашылық дақылдардың өнімділігін арттыруда мәнсіз көрсетілген.

Қорытындылай келе, бұл монографияны 7M01504 - «Биология» ББ бойынша оқитын магистранттар қолына алады. Жаратылыстану және гуманитарлық ғылымдар факультеті, «Жаратылыстану ғылымдары» кафедрасының профессоры, б.ғ.д. А.У. Исаева, докторант Тлеукоева А.Е. «Роль алыгофлоры в экобиотехнологии» атты монографиясы 2022-2023 оқу жылынан бастап 7M01504 - «Биология» ББ үшін оқу процесіне ендірілді.

Академиялық қызмет департаментінің
бастығы, а.-ш.ғ.к.

Мамбетова Л.М.

Ғылым департаментінің директоры,
а.-ш.ғ.к.

Тастанбекова Г.Р.

«Жаратылыстану ғылымдары»
кафедрасының меңгерушісі, а.-ш.ғ.к.

Тлегенова К.Б.

Орындаушылар

Исаева А.У.

Тлеукоева А.Е.