АННОТАЦИЯ

диссертации на соискание степени доктора философии (PhD) по специальности 6D070100 – «Биотехнология»

Бауеновой Меруерт Омирбаевны

Биоремедиация загрязненных водных экосистем на основе ассоциации микроводорослей и водных растений

Общая характеристика работы. Диссертационная работа посвящена созданию ассоциации высших водных растений и микроводорослей и изучению возможности ее использования в биоремедиации загрязненных водных экосистем.

Актуальность темы исследования

Очистка бытовых и сточных вод промышленных предприятий является актуальной экологической проблемой во многих регионах планеты. Как известно, несмотря на все меры и методы, применяемые для очистки сточных вод, загрязнители продолжают поступать в водные объекты. В последнее годы все большее внимание привлекают проблемы динамики и сохранения биологического разнообразия в связи с усиливающимся антропогенным воздействием на различные экосистемы. В условиях крайне напряженной экологической ситуации, складывающейся во многих регионах мира, геохимические циклы тяжелых металлов в биосфере определяются не столько естественным перераспределением, сколько антропогенной деятельностью. Проблема загрязнения природной среды различными экотоксикантами усугубляется по мере урбанизации и индустриализации страны.

Одними из наиболее опасных загрязнителей являются ионы тяжелых металлов (ТМ). Известно, что тяжелые металлы могут образовывать чрезвычайно токсичные соединения, взаимодействуя с другими веществами, и накапливаться в пищевой цепи “вода – растения – животные – человек” в количествах, многократно превышающих их содержание в водных объектах, что может быть причиной различных заболеваний нервной системы и ряд других, включая онкологические.

В последнее время многие ученые-экологи все больше обращают внимание на изучение «судьбы» загрязнителей попавших в природную среду, их последующую трансформацию и связь с живыми организмами, непосредственно влияющих на оценку уровня загрязненности окружающей среды. Для ускорения процессов очистки и восстановления нарушенных водных экосистем необходимо использовать биологические резервы не только бактерий, но и других сообществ, включающих организмы с разными биохимическими возможностями. Природные ассоциации имеют значительно более богатый набор восстановительных функций, так как всегда включают в себя фотосинтезирующие организмы – высшие растения, эукариотические водоросли и цианобактерии. Использование в искусственных системах очистки воды консорциумов организмов различных таксономических групп, применение активных штаммов микроорганизмов-деструкторов, выделение и использование устойчивых к загрязненным водам микроводорослей, а также

введение в очищающий консорциум высших водных растений, позволяет создать новую комплексную биотехнологию очистки и восстановления водоемов, загрязненных различными поллютантами, в том числе и тяжелыми металлами. В связи с этим, поиск и подбор активных биообъектов для создания консорциума, выявление основных типов взаимоотношений между ними в искусственно сформированных ассоциациях и создание на этой базе консорциума с обширным спектром сорбции тяжелых металлов, его широкое применение для биоремедиации природных и сточных вод представляет особую актуальность.

Цель исследования: Создание ассоциации высших водных растений и микроводорослей и ее использование в биоремедиации загрязненных водных экосистем.

Для достижения поставленной цели были сформулированы следующие **задачи:**

1. Поиск и выделение альгологических и бактериологически чистых культур микроводорослей из различных загрязненных водных экосистем;
2. Отобрать наиболее продуктивные виды микроводорослей для дальнейшего использования в биоремедиации;
3. Отобрать виды микроводорослей, обладающие высокой сорбционной способностью к тяжелым металлам;
4. Отобрать виды высших водных растений, обладающие высокой сорбционной способностью к тяжелым металлам;
5. Создать ассоциацию высших водных растений и микроводорослей для применения в биоремедиации загрязенных водных экосистем;
6. Изучить возможность использования ассоциации высших водных растений и микроводорослей в биоремедиации загрязненных сточных вод.

Объекты исследования. В качестве объектов исследования использовали штаммы микроводорослей *Chlorella vulgaris* ВВ-2, *Chlorella vulgaris* ВВ-1, *Chlorella vulgaris* В-12, *Scenedesmus obliquus* В-3, *Scenedesmus quadricauda* В-1, *Chlamydomonas reinhardtii* В-4, *Ankistrodesmus sp.* ВІ-1, выделенные из реки Елек Актюбинской области и озера Биликоль Джамбульской области, а также высшие водные растения *Pistia stratiotes*, *Elodea canadensis* и *Lemna minor,* отобранные из водохранилища «Первомайский» в Илийском районе Алматинской области.

Методы исследования

В работе использованы биотехнологические, микробиологические, генетические и физико-химические методы исследования.

Научная новизна исследования

Впервые изучен видовой состав альгофлоры озера Биликоль и реки Елек. В результате проведенной работы из исследуемых объектов были выделены 7 альгологически и бактериологически чистых штаммов микроводорослей: *Chlorella vulgaris* ВВ-2, *Chlorella vulgaris* ВВ-1, *Chlorella vulgaris* В-12, *Scenedesmus obliquus* В-3, *Scenedesmus quadricauda* В-1, *Chlamydomonas reinhardtii* В-4 и *Ankistrodesmus* sp. ВІ-1.

Впервые создана ассоциация на основе отобранных штаммов микроводорослей и высших водных растений, характеризующаяся высокой сорбционной способностью к различным тяжелым металлам, и изучена возможность ее использования в биоремедиации загрязенных водных экосистем.

Научная и практическая значимость работы

Создана эффективная ассоциация на основе микроводоросли *Ankistrodesmus* sp. BI-1 и высшего водного растения *Pistia stratiotes* для очистки водных экосистем загрязненных повышенной концентрацией биогенных элементов и тяжелых металлов.

Выделенные микроводоросли *Chlorella vulgaris BB*-2, *Chlorella vulgaris* BB-1, *Chlorella vulgaris* B-12, *Scenedesmus obliquus* B-3, *Scenedesmus quadricauda* B-1, *Chlamydomonas reinhardtii* B-4 и *Ankistrodesmus* sp. BI-1 были включены в коллекцию фототрофных микроводорослей КазНУ имени аль-Фараби для дальнейшего их использования в решениях биотехнологических проблем.

Штаммы *Chlorella vulgaris BB*-2, *Scenedesmus quadricauda* B-1, *Chlamydomonas reinhardtii* B-4, *Ankistrodesmus sp.* BI-1 депонированы в РГП «Республиканская коллекция микроорганизмов» Комитета науки Министерства образования и науки Республики Казахстан под номерами RKM 0713, RKM 0709, RKM 0710, RKM 0714.

Был получен патент РК на полезную модель «Способ биологической очистки бытовых и промышленных сточных вод» № 2551 от 12.12.2017 г..

Полученные в ходе научных исследований данные внедрены в учебный процесс на кафедре биотехнологии Казахского национального университета имени аль-Фараби, для 3 курса бакалавриата специальности «6B070100-Биотехнология» по дисциплине «Экологическая биотехнология».

Основные положения, выносимые на защиту

Выделенные из водных экосистем альгологически и бактериологически чистые культуры микроводорослей идентифицированы как *Chlorella vulgaris BB*-2, *Chlorella vulgaris* BB-1, *Chlorella vulgaris* B-12, *Scenedesmus obliquus* B-3, *Scenedesmus quadricauda* B-1, *Chlamydomonas reinhardtii* B-4 и *Ankistrodesmus* sp. BI-1.

Штаммы микроводорослей *Chlorella vulgaris* BB-2, *Scenedesmus quadricauda* B-1, *Chlamydomonas reinhardtii* B-4 и *Ankistrodesmus* sp. BI-1 характеризуются высокой резистентностью и сорбционной способностью в отношении тяжелых металлов: кадмия, свинца, цинка и меди к концентрации 10 ПДК.

Высокая устойчивость и сорбционная способность высших водных растений *Elodea canadensis* и *Pistia stratiotes* в отношении тяжелых металлов: кадмия, свинца, цинка и меди к концентрации 10ПДК.

Получение ассоциации высшего водного растения *Pistia stratiotes* и микроводоросли *Ankistrodesmus* sp. BI-1, обладающей высокой биоремедиационной способностью к тяжелым металлам и биогенным элементам.

Основные результаты исследований и выводы

1. В результате изучения видового состава в пробах воды озера Биликоль были выявлены 96 видов фототрофных микроорганизмов, относящиеся к 4 отделам (*Cyanophyta* - 31, *Bacillariophyta* - 20, *Euglenophyta* - 19, *Chlorophyta* – 26), 9 классам, 9 порядкам, 17 семействам и 32 родам. В реке Елек определено 181 видов, относящихся к 4 отделам (*Cyanophyta* - 58, *Bacillariophyta* - 54, *Euglenophyta* - 6, *Chlorophyta* – 63), 12 классам, 20 порядкам, 49 семействам и 76 родам. Из озера Биликоль и реки Елек выделены 10 альгологически чистых культур зеленых микроводорослей, 7 из которых были очищены от сопутствующих бактерий. На основании культурально-морфологических свойств и анализа нуклеотидной последовательности генов 18S рРНК, выделенные чистые штаммы были идентифицированы как *Chlorella vulgaris* ВВ-2, *Chlorella vulgaris* ВВ-1, *Chlorella vulgaris* В-12, *Scenedesmus obliquus* В-3, *Scenedesmus quadricauda* В-1, *Chlamydomonas reinhardtii* В-4 и *Ankistrodesmus* sp. ВІ-1.

2. Определено, что из выделенных культур микроводорослей, штаммы *Chlorella vulgaris* sp ВВ-2*, Scenedesmus quadricauda B-1, Chlamydomonas reinhardtii* В-4 и *Ankistrodesmus* sp ВІ-1 имели высокую продуктивность при температуре культивирования 26-28^{0}С с интенсивностью освещения в 4000 лк.

3. Установлено, что из иссследованных культур микроводорослей более эффективными биоаккумуляторами меди является *Chlorella vulgaris* ВВ-2, кадмия - *Ankistrodesmus* sp.ВІ-1 и *Chlamydomonas reinhardtii* В-4, свинца - *Ankistrodesmus sp.*ВІ-1 и *Chlorella vulgaris* ВВ-2. Цинк аккумулируется всеми исследованными культурами микроводорослей. Выявлено, что тяжелые металлы из среды селективно поглощаются в последовательности $Zn^{2+} > Cu^{2+} > Cd^{2+} > Pb^{2+}$.

4. Выявлено, что высшие водные растения *Elodea canadensis* и *Pistia stratiotes,* характеризуются высокой устойчивостью и сорбционной способностью в отношении тяжелых металлов: кадмий, свинец, цинк и медь в концентрации 10ПДК, при этом необходимо отметить, что *Pistia stratiotes* и *Elodea canadensis* являются макроконцентраторами цинка, свинца и меди, и микроконцентраторами кадмия, в то время как *Lemna minor* является микроконцентратором всех исследуемых металлов.

5. Установлено, что зеленая микроводоросль *Chlorella vulgaris* ВВ-2 и высшие водные растения *Pistia stratiotes* и *Elodea canadensis* характеризовались нейтральным типом взаимоотношения, тогда как между зеленой микроводорослью *Ankistrodesmus* sp. ВІ-1 и *Pistia stratiotes* сформировался симбиотический тип взаимоотношений. На основе полученных данных создана ассоциация высшего водного растения *Pistia stratiotes* и микроводоросли *Ankistrodesmus* sp. ВІ-1 для применения в биоремедиации воды, загрязненной тяжелыми металлами.

6. В результате использования ассоциации высшего водного растения *Pistia stratiotes* и микроводоросли *Ankistrodesmus* sp. ВІ-1 в очистке загрязненной сточной воды, эффективность удаления в ней биогенных элементов на 8 сутки составило 98%, ионов тяжелых металлов 89-93% при

внесении консорциума в следующем объеме: штамма *Ankistrodesmus* sp. BI-1 в количестве 40,0x10^6 кл/мл и *Pistia stratiotes* в количестве 600 г/$м^3$ (60±2 шт.).

Личный вклад автора

Анализ литературных данных касающихся исследуемой проблемы, определение цели и задач исследования, проведение экспериментальных исследований, анализ полученных результатов и статистическая обработка, изложение диссертационной работы выполнены лично автором.

Связь работы с планом государственных программ

Диссертационная работа выполнена в рамках проектов №4256/ГФ4 «Биоремедиация различных сточных вод от тяжелых металлов на основе применения фито-альго-цианобактериальных консорциумов», № госрегистрации 0115РК00395 (2015-2017 гг.); №0477/ГФ4 «Пополнение, сохранение, паспортизация и создание банка данных коллекционных культур фототрофных микроорганизмов перспективных для получения биотоплива, биоудобрений и биологически активных веществ» № госрегистрации 015РК00290 (2015-2017 гг); АР05131743 «Разработка научно-методических основ технологии биомониторинга и прогнозирования состояния загрязненных водных экосистем с применением фототрофных микроорганизмов», № госрегистрации 0118РК00086 (2018-2020 гг.);

Апробация научной работы

Материалы диссертационной работы доложены и обсуждены на следующих международных конференциях и симпозиумах:

- Международная конференция студентов и молодых ученых «Фараби әлемі», Алматы, Казахстан, 2015-2018 гг.

– «Симпозиум 5-й Всероссийский симпозиум с международным участием автотрофные микроорганизмы», Россия, Москва, 2015 г.

– Международная научно-практическая конференция «Современные проблемы биотехнологии: от лабораторных исследований к производству» в рамках III Международных Фарабиевских чтений, КазНУ, Алматы, 2016 г.

– Материалы международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы биотехнологии, экологии и физико-химической биологии», КазНУ, Алматы, 6-7 апрель, 2017 г.

– 36-я Международная конференция Польского фикологического общества «Массовое развитие водорослей: перспективы биоразнообразия, экологии и управления», Польша, Люблин- нижний Казимеж, 24-27 май 2017 г.

– 37-я Международная конференция Польского фикологического общества «Зеленое будущее: водоросли - приложения и перспективы», Польша, Краков, 21-25 май 2018 г.

Публикации.

Материалы диссертационной работы опубликованы в 22 научных трудах, в том числе, 1 статья в рецензируемых зарубежных научных изданиях, индексируемых в базах данных Web of Science и Scopus с ненулевым импакт-фактором; 9 статей в республиканских научных журналах из перечня

Комитета по контролю в сфере образования и науки Республики Казахстан; 12 тезисов в материалах международных конференций и симпозиумов. В результате исследования был получен 1 патент на полезную модель Республики Казахстан.

Структура диссертации.

Диссертационная работа изложена на 134 страницах компьютерного текста и состоит из обозначений и сокращений, введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов и их обсуждения, заключения, списка использованных источников из 239 наименований. Объем работы включает в себя 13 таблиц, 38 рисунков и 3 приложении.