

Әл-Фараби атындағы Қазақ Ұлттық Университеті

ӘОЖ 579.64 (043)

Қолжазба құқығында

МӘЛІК АЖАР МӘЛІКҚЫЗЫ

**«Тұрақты органикалық қосылыстармен ластанған топырақтарды
биоремедиациялауда деструктор микроорганизмдерді қолдану
технологиясын жасау»**

8D05105 – Биотехнология

Философия докторы (PhD)
дәрежесін алу үшін дайындалған диссертация

Отандық ғылыми кеңесші:
б.ғ.к., доцент Абдиева Г.Ж.

Шетелдік ғылыми кеңесші:
профессор Темиз Артманн А.

Қазақстан Республикасы
Алматы, 2024

МАЗМҰНЫ

	КІРІСПЕ	5
1	ӘДЕБИЕТТЕРГЕ ШОЛУ	11
1.1	Тұрақты органикалық қосылыстардың химиялық құрамы, хлорорганикалық пестицидтердің классификациясы	11
1.2	Қазақстан Республикасының қоршаған орта объектілерінің тұрақты органикалық қосылыстармен ластану мәселелері және қоршаған ортаға әсері	24
1.3	Тұрақты органикалық қосылыстармен ластанған қоршаған ортаны биоремедиациялауда микроорганизмдер және микробтық консорциумдарды қолдану	30
2	ЗЕРТТЕУ ОБЪЕКТІЛЕРІ, МАТЕРИАЛДАРЫ МЕН ӘДІСТЕРІ	45
2.1	Зерттеу объектілері	45
2.2	Зерттеу материалдары	46
2.3	Зерттеу әдістері	47
2.3.1	Тұрақты органикалық қосылыстармен ластанған топырақ үлгілерін химиялық талдау әдісі	47
2.3.2	Пестицидтермен ластанған топырақ үлгілерінің микробтық алуантүрлілігін метагеномды талдау және микробиологиялық зерттеу әдісі	49
2.3.3	Таза дақылдардың морфология – культуральдық, физиология-биохимиялық, молекулалық - генетикалық қасиеттерін зерттеу және идентификациялау әдістері	51
2.3.4	Перспективті штамдардың деструктивті белсенділігінің механизмдерін зерттеу және деструктор –штамдарға скрининг жүргізу әдісі	54
2.3.4.1	Штамм-деструкторлардың ферментативті белсенділігін анықтау әдісі	55
2.3.5	Перспективті штамм-деструкторлардың биосәйкестігін зерттеу және консорциум құру әдісі	56
2.3.5.1	Штамм-деструкторлардың хлорорганикалық пестицидтерді ыдырату дәрежесін масс-спектрометриялық детекторы бар газды – сұйық хроматография әдісімен анықтау	57
2.3.5.2	Штамм – деструкторлардың хлорорганикалық пестицидтерді ыдырату белсенділігін модельді тәжірибиелерде зерттеу әдісі	58
2.3.5.3	Штамм-деструкторлардың пестицидтер қатысында функциональдық топтарын ИҚ-Фурье спектрометрі ALPHA II әдісімен анықтау	59
2.3.6	Тұрақты органикалық қосылыстармен ластанған топырақты штамм-деструкторлар консорциумы негізінде биоремедиациялау технологиясын жасау әдісі	60
2.4	Тәжірибе нәтижелерін статистикалық өңдеу	60

3	ЗЕРТТЕУ НӘТИЖЕЛЕРІ ЖӘНЕ ТАЛҚЫЛАУ	
3.1	Тұрақты органикалық қосылыстармен ластанған топырақ үлгілеріне мониторинг	61
3.2	Пестицидтермен ластанған топырақ үлгілерінің микробтық алуантүрлілігі	68
3.3	Микроорганизмдердің морфология – культуральдық, физиология-биохимиялық қасиеттері және молекулалық - генетикалық идентификациясы	89
3.4	Перспективті штамдардың хлорорганикалық пестицидтер қатысындағы деструктивтік белсенділігі және деструктор – штамдардың скринингі	111
3.4.1	Деструктор – штамдардың ферментативті белсенділігі	116
3.5	Перспективті штамм – деструкторлардың биосәйкестігі және микробтық консорциум құру	120
3.5.1	Деструктор – штамдардың хлорорганикалық пестицидтерді ыдырату белсенділігі	123
3.5.2	Модельді тәжірибиелерде штамм – деструкторлардың хлорорганикалық пестицидтерді ыдырату белсенділігі	132
3.5.3	Деструктор-штамдардың функциональдық топтарын анықтау	141
3.6	Тұрақты органикалық қосылыстармен ластанған топырақты штамм - деструкторлар консорциумы негізінде биоремедиациялау технологиясын жасау	145
	ҚОРЫТЫНДЫ	147
	ПАЙДАЛАНЫЛҒАН ӘДЕБИЕТТЕР ТІЗІМІ	149
	ҚОСЫМША А	169
	ҚОСЫМША Ә	171

БЕЛГІЛЕУЛЕР МЕН ҚЫСҚАРТУЛАР

ДДТ	4,4'-дихлордифенилтрихлорметилметан
ДДЭ	дихлордифенилэтилен
ГХЦГ	1,2,3,4,5,6-гексахлорциклогексан
ТОҚ	Тұрақты органикалық қосылыстар
ХОП	хлорорганикалық пестицидтер
ХОҚ	хлорорганикалық қосылыстар
2,4-Д	2,4-дихлорфеноксиацет қышқылы
СД50	сынақ тобындағы дарақтардың 50%-ның летальді дозасы
МРД	максималды рұқсат етілген деңгей
ШРК	шекті рұқсат етілетін концентрация
РТД	рұқсат етілген тәуліктік доза
УРТД	уақытша рұқсат етілген тәуліктік доза
КТБ	колония түзуші бірлік
ТТФ	трифенилформаза
ТТХ	2,3,5-трифенил тетразолий хлориді

КІРІСПЕ

Жұмыстың жалпы сипаттамасы

Диссертациялық жұмыс Алматы облысы, Талғар ауданының елді-мекендерінің тұрақты органикалық қосылыстармен ластанған топырақ үлгілерінің микробтық алуантүрлілігі және деструктор-микроорганизмдердің скринингі, сонымен қатар ластанған топырақтарды биоремедиациялауда штамм-деструкторлар негізінде консорциум құрастыруға арналған.

Тақырыптың өзектілігі

Қазіргі уақытта қоршаған орта объектілерінің тұрақты органикалық қосылыстармен кең ауқымды ластануы экологиялық маңызды мәселелерінің бірі болып табылады. Қазақстанда және ТМД-ға іргелес елдерде соңғы 30 жыл ішінде химиялық қосылыстардың әртүрлі кластарына жататын 700-ден астам пестицидтер қолданылды. 2013–2022 жылдар аралығында Қазақстан Республикасының аумағында қолдануға рұқсат етілген пестицидтердің шамамен 1021 түрі тіркелген, жыл сайын пестицидтердің тізімі 15–20 жаңа препараттарымен толықтырылады. Ауылшаруашылығында инсектицидтер, фунгицидтер және гербицидтер ретінде көп жағдайда хлорорганикалық пестицидтер қолданылады [1-3].

Біріккен Ұлттар Ұйымының Даму Бағдарламасы (БҰҰДБ)/ Ғаламдық Қоршаған Ортақ Қоры (ГҚОК) «Қазақстан Республикасына тұрақты органикалық қосылыстар туралы Стокгольм конвенциясы бойынша міндеттемелерді орындауға алғашқы көмек көрсету» жобасы аясында Қазақстанда тұрақты органикалық қосылыстарға алдын ала инвентаризация жүргізу нәтижелері бойынша Қазақстан Республикасының аумағында пестицидтер сақталған 727 қойма және 15 көму орындары бар [4].

Тұрақты органикалық қосылыстар қоршаған ортада ұзақ уақыт сақталатын және жартылай ыдырау механизміне байланысты, қоректік тізбек арқылы адам денсаулығына кері әсері ететін ксенобиотиктер. Қазіргі таңда 20-дан астам хлорорганикалық пестицидтер тұрақты органикалық қосылыстардың тізіміне енгізілген [5]. Пестицидтердің адам және жануарлар организміне әсерін зерттеу нәтижелері бойынша репродуктивті бұзылулар, туа біткен аномалиялық ақаулар және патологиялық өзгерістер, иммундық жүйенің дисфункциясы, неврологиялық аурулар және қатерлі ісіктер дамитындығы көрсетілген. Соңғы жылдары тұрақты органикалық ластағыштардың қоршаған ортада кең таралуы мен тұрақтылығы, жоғары биоаккумуляциялану потенциалы, биологиялық зиянды әсерлеріне халықаралық деңгейде назар аударылып отыр.

Қоршаған орта объектілерін тұрақты органикалық ластағыштардан тазартуда микроорганизмдердің деструктивтік қасиетіне негізделген биоремедиация әдісінің маңызы жоғары. Ластанған топырақтарды биоремедиациялауда микроорганизмдердің алуантүрлілігіне негізделген микробиологиялық деструкция экологиялық таза және экономикалық тиімді әдістердің бірі болып табылады. Деструктор – микроорганизмдердің метаболиттік механизмдері қоршаған орта факторларына жоғары бейімділуге, қолайсыз жағдайларға төзімділікке және ферментативтік белсенділігі әсерінен

тұрақты органикалық қосылыстарды салыстырмалы түрде токсинділігі төмен қосылыстарға айналдыруға қабілетті.

Сондықтан, пестицидтермен ластанған топырақтардың микробиоценозын, деструктор – микроорганизмдердің физиологиялық, биохимиялық, генетикалық аспектілерін және тұрақты органикалық қосылыстарды биотрансформациялау механизмдерін зерттеу өзекті болып табылады.

Зерттеу жұмысының мақсаты:

Тұрақты органикалық қосылыстармен ластанған топырақтардың микробтық алуантүрлілігін зерттеу, перспективті деструктор – микроорганизмдердің скринингін жүргізу және ластанған топырақтарды биоремедиациялауда деструктор – микроорганизмдердің консорциумын қолдану технологиялық сызбасын жасау.

Зерттеу міндеттері:

1. Алматы облысы, Талғар ауданының тұрақты органикалық қосылыстармен ластанған топырақтарға химиялық талдау жасау;
2. Топырақ микробиоценозын Illumina's MiSeq NGS system метагеномды талдау және микробиологиялық зерттеу, аборигенді микроорганизмдердің таза дақылдарын бөліп алу;
3. Бөлініп алынған штамдардың морфология – культуральдық, физиология-биохимиялық қасиеттерін зерттеу және молекулалық-генетикалық идентификациялау;
4. Перспективті штамдардың деструктивті белсенділігінің механизмдерін зерттеу және деструктор – штамдарға скрининг жүргізу;
5. Деструктор – штамдардың биосәйкестігі негізінде консорциум құру және хлорорганикалық пестицидтерді ыдырату дәрежесін анықтау;
6. Штамм – деструкторлардың хлорорганикалық пестицидтерді ыдырату белсенділігін модельді тәжірибиелерде зерттеу. Тұрақты органикалық қосылыстармен ластанған топырақты штамм-деструкторлар консорциумы негізінде биоремедиациялаудың технологиялық сызбасын жасау.

Зерттеу объектілері

Зерттеу жұмысының объектілері ретінде пестицидтермен ластанған Алматы облысы, Талғар ауданының Қызылқайрат, Бесқайнар, Амангелді №1, Амангелді №2, Белбұлақ, Басшы елді – мекендерінің топырақ үлгілері және осы үлгілерден бөлініп алынған микроорганизмдердің таза дақылдары қолданылды.

Зерттеу әдістері

Диссертациялық жұмыс барысында тәжірибелер зертханалық жағдайда химиялық талдаудың Agilent Technologies 6890N газды хроматографиялық әдісі, заманауи Illumina's MiSeq NGS system метагеномды талдау, дәстүрлі микробиологиялық әдістер, молекулалық – генетикалық, сканерлеуші электронды микроскопиялық (СЭМ), флуоресцентті спектроскопия, ИҚ-Фурье спектрометрі ALPNA II әдістерін қолдана отырып жүргізілді.

Зерттеудің ғылыми жаңалығы

Алғаш рет Қазақстан Республикасы, Алматы облысы, Талғар ауданының Қызылқайрат, Бесқайнар, Амангелді №1, Амангелді №2, Белбұлақ елді – мекендерінің тұрақты органикалық қосылыстармен ластанған топырақ

үлгілерінің микробтық алуантүрлілігін микробиологиялық дәстүрлі және заманауи MiSeq NGS Illumina метагеномды талдау нәтижесінде, үлгілерде *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Acidobacteria*, *Planctomycetes*, *Chloroflexi*, *Gemmatimonadates*, *Saccharibacteria*, *Firmicutes*, *Verrucomicrobia* бактерия филумдары (типтері) басым екендігі және *Bacillus*, *Pseudomonas* туысының өкілдері 68-80% кездесетіндігі анықталды.

Зерттеу жұмысында тұрақты органикалық қосылыстармен ластанған топырақ үлгілерінен 40 штамм бөлініп алынып, олардың морфология – культуральдық, физиология-биохимиялық және деструктивті қасиеттері зерттеліп, белсенді 10 штамм іріктеліп алынды. *Pseudomonas plecoglossicida* K2, *Bacillus aryabhattai* K3, *Solibacillus isronensis* KS1, *Pseudomonas sp.* KS2, *Bacillus pumilus* B1, *Bacillus amyloliquefaciens* B2, *Bacillus subtilis* AK5, *Pseudomonas koreensis* AK1, *Bacillus megaterium* AS1, *Bacillus paramycoides* SA1 деструктор-штамдары түрге дейін идентификацияланып, оларға филогенетикалық талдау жасалынды.

Перспективті штамдардың деструктивті белсенділігінің механизмдері олардың ферментативтік қасиетіне негізделеді және деструктор – штамдардың хлорорганикалық пестицидтерді ыдыратуға қабілетті протеаза, лакказа, каталаза, целлюлаза, дегидрогеназа ферменттерін түзетіндігіні дәлелденді.

Тұрақты органикалық қосылыстарды ыдыратудың тиімділігін жоғарылату мақсатында перспективті штамдар негізінде консорциумдар құрастырылды. Хлорорганикалық пестицидтерді *Pseudomonas plecoglossicida* K2 + *Bacillus aryabhattai* K3 консорциумы 69%, ал *Bacillus pumilus* B1 + *Bacillus amyloliquefaciens* B2 консорциумы 78% ыдыратындығы анықталды. Зерттеу нәтижелерінде перспективті штамдар тұрақты органикалық қосылыстарды алициклді қосылыстар циклоалкандарға ($-\text{CH}_2$), ароматты гетероциклді қосылыстарға ($\text{C}=\text{C}$, $\text{COO}-$) және алифатты қосылыстардың ішінде алкан тобының бөлігі алкил топтарына дейін ($-\text{CH}_3$ және $-\text{CH}_2$) ыдыратуға қабілетті екені байқалды.

Зерттеу жұмысында алынған нәтижелер бойынша тұрақты органикалық қосылыстармен ластанған топырақтарды биоремедиациялауда деструктор - штамдарға негізделген консорциумдарды қолдану технологиясының сызба нұсқасы ұсынылды.

Жұмыстың ғылыми және практикалық маңыздылығы

Деструктивті қасиеттері бойынша іріктеліп алынған деструктор – штамдар *Pseudomonas plecoglossicida* K2 (OK217230), *Bacillus aryabhattai* K3 (MW866565), *Solibacillus isronensis* KS1 (OK236011), *Pseudomonas sp.* KS2 (OL348382), *Bacillus pumilus* B1 (OL348383), *Bacillus amyloliquefaciens* B2 (OL348394), *Bacillus subtilis* AK5 (MW866566), *Pseudomonas koreensis* AK1 (OL348403), *Bacillus megaterium* AS1 (OL348404), *Bacillus paramycoides* SA1 (OL348439) түрге дейін идентификацияланды, Genbank Ұлттық биотехнологиялық ақпарат орталығы (NCBI) дерекқорында тіркелді. Зерттеу жұмыстарына қолдану үшін идентификацияланған жаңа штамдар әл-Фараби атындағы ҚазҰУ-нің қолданбалы микробиология зертханасының коллекциясына енгізілді.

Жұмыста алынған деструктор-штамдар негізіндегі консорциумдардың деструктивтік белсенділіктері модельді тәжірбиелерде зерттелініп, консорциум штамдары *Pseudomonas plecoglossicida* K2 + *Bacillus aryabhattai* K3 83%, *Bacillus pumilus* B1 + *Bacillus amyloliquefaciens* B2 хлорорганикалық пестицидтерді 86% ыдырататындығы анықталды. Пестицидтермен ластанған топырақтарда бидай тұқымдарының өну белсенділігі моно штамдарда *Bacillus aryabhattai* K3 бар нұсқаларда жалпы 67-83% - ға, ал *Pseudomonas plecoglossicida* K2 + *Bacillus aryabhattai* K3 консорциум штамдары бар нұсқаларда 82 – 88%, *Bacillus pumilus* B1 + *Bacillus amyloliquefaciens* B2 консорциум нұсқаларында 87 – 94%- ға артқаны байқалады.

Тұрақты органикалық қосылыстармен ластанған топырақ үлгілерінен перспективті деструктор – микроораганизмдер іріктеліп алынып, деструктивті қасиеттері зерттелді және «Пестицидтерді микробиологиялық деструкциялау тәсілі», (№ 34115, 09.01.2020 ж.), «Органохлорлы пестицидтерді микробиологиялық жою тәсілі» (№ 7731, 13.01.2023ж.) патенттері алынды. Тұрақты органикалық қосылыстармен ластанған топырақтарды биоремедиациялауда деструктор - штамдар негізінде консорциумдар ұсынылды.

Зерттеу жұмысында алынған нәтижелерді жоғарғы оқу орындарында студенттер мен магистранттарға, докторанттарға теориялық және практикалық курстарда оқу материал ретінде пайдалануға болады.

Қорғауға ұсынылатын негізгі қағидалар

1. Алматы облысы, Талғар ауданының тұрақты органикалық қосылыстармен ластанған топырақ үлгілерінде 4,4-ДДЭ, 4,4-ДДТ, α-ГХЦГ, β-ГХЦГ және γ-ГХЦГ хлорорганикалық пестицидтердің мөлшері жоғары болды. Хлорорганикалық пестицидтердің концентрациясы сәйкесінше зерттеуге алынған топырақ үлгілерінде Қызылқайрат - 121,054, Бесқайнар - 47,334, Амангелді №1 - 5382, Амангелді №2 - 1032, Белбұлақ - 1025, Басшы – 146 мкг/кг⁻¹ мөлшерінде болды.

2. Тұрақты органикалық қосылыстармен ластанған топырақ үлгілерінде *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Acidobacteria*, *Planctomycetes*, *Chloroflexi*, *Gemmatimonadates*, *Saccharibacteria*, *Firmicutes*, *Verrucomicrobia* бактерия филумдары (тип) басым болды және *Bacillus*, *Pseudomonas* туысының өкілдері 68-80% кездесті.

3. Белсенді деструктор-штамдар *Pseudomonas plecoglossicida* K2 (OK217230), *Bacillus aryabhattai* K3 (MW866565), *Solibacillus isronensis* KS1 (OK236011), *Pseudomonas* sp. KS2 (OL348382), *Bacillus pumilus* B1 (OL348383), *Bacillus amyloliquefaciens* B2 (OL348394), *Bacillus subtilis* AK5 (MW866566), *Pseudomonas koreensis* AK1 (OL348403), *Bacillus megaterium* AS1 (OL348404), *Bacillus paramycoides* SA1 (OL348439) түрге дейін идентификацияланды және NCBI дерекқорына тіркелді.

4. Перспективті штамдардың хлорорганикалық пестицидтерді ыдырату белсенділігін протеаза, лакказа, каталаза, целлюлаза, дегидрогеназа ферменттері қамтамасыз етеді.

5. Деструктор – штамдардың биосәйкестігі негізінде 2 консорциум құрастырылды. *Pseudomonas plecoglossicida* K2 + *Bacillus aryabhattai* K3

консорциумы хлорорганикалық пестицидтерді 84% және *Bacillus pumilus* B1 + *Bacillus amyloliquefaciens* B2 консорциумы 86% биодеградациялады.

Жұмыстың ғылыми зерттеу бағдарламасымен байланыстылығы

Диссертациялық жұмыс ИРН BR05236379 Жалпы генетика және цитология институты бағдарламасы барысында «Қолданылмайтын және тыйым салынған пестицидтердің Алматы облысы тұрғындарының генетикалық жағдайы мен денсаулығына әсерін кешенді бағалау: пестицидтер көмілген жерлерге іргелес аумақтың микробтық алуантүрлілігін анықтау, скрининг жүргізу, деструктор - микроорганизмдерді бөліп алу» жобасының аясында жасалды.

Қорғауға ұсынылатын ғылыми жұмыс нәтижелерінің жасақталуына қосқан диссертанттың жеке үлесі

Зерттеу жұмысының нәтижелері, әдеби деректерге шолу, жұмыстың мақсат-міндеттерін анықтау, тәжірибелік зерттеулерді жүргізу және алынған нәтижелерді талдау, статистикалық өңдеу автордың жеке қатысуымен орындалды.

Диссертациялық жұмыстың апробациясы: Диссертация жұмысының негізгі қағидалары және зерттеу нәтижелері төмендегідей халықаралық ғылыми конференциялар мен симпозиумдарда баяндалды және талқыланды:

1. The 2nd International Conference on Renewable Energy and Environment Engineering (30th October 2019);

2. The international scientific conference of young scientists «Fundamental research and innovations in molecular biology, biotechnology, biochemistry» dedicated to the 80th anniversary of academician Murat Aitkhozhin (28-29th November 2019);

3. VII Халықаралық Фараби оқулары, «Фараби әлемі» атты халықаралық ғылыми конференция (Алматы, 6-9 сәуір 2020 ж.);

4. Annali d'Italia Scientific Journal of Italy, 2020;

5. II Международное книжное издание стран Содружества Независимых Государств «Лучшие молодые ученые – 2020» (Астана, Казахстан, 28 сентябрь 2020);

6. VIII Халықаралық Фараби оқулары, «Фараби әлемі» атты халықаралық ғылыми конференция (Алматы, 6-8 сәуір 2021 ж.);

7. The International scientific and practical conference "Modern problems of biotechnology: from the laboratory researches to production", (4-5 June, 2021, Almaty, Kazakhstan);

8. IX Халықаралық Фараби оқулары, «Фараби әлемі» атты халықаралық ғылыми конференция (Алматы, 6-8 сәуір 2022 ж.);

9. X Халықаралық Фараби оқулары, «Фараби әлемі» атты халықаралық ғылыми конференция (Алматы, 6-8 сәуір 2023 ж.);

Басылымдар. Диссертациялық жұмыста алынған материалдар баспадан шыққан 27 ғылыми еңбектерде жарияланды, соның ішінде резенцияланатын шетелдік ғылыми басылымдарда – 2 мақала; *Web of Science* және *Scopus* деректер қорларында индекстелетін, нөлдік емес импакт-факторы бар Q2 квартильге енгізілген халықаралық рецензияланатын ғылыми журналдардағы – 1 мақала;

Web of Science және Scopus деректер қорларында индекстелген CiteScore бойынша пайыздық көрсеткіші кемінде 25 болатын халықаралық ғылыми конференцияда – 1 мақала; Қазақстан Республикасы Білім және Ғылым саласындағы бақылау Комитеті ұсынған республикалық ғылыми басылымдарда – 4 мақала; Халықаралық конференциялар материалдарында – 13 тезис жарияланды. Диссертациялық жұмыс нәтижелері бойынша өнертабысқа ресми сараптамадан өткен, Қазақстан Республикасының 2 патенті және 2 авторлық куәлігі алынды.

Диссертацияның құрылымы. Диссертация 172 беттен, белгілеулер мен қысқартулар, кіріспе, әдебиеттерге шолу, зерттеу объектілері, материалдары мен әдістері, зерттеу нәтижелері мен талқылау, қорытынды бөлімдерінен, 268 пайдаланылған әдебиеттер тізімінен, 9 кестеден, 53 суреттен тұрады.

1 ӘДЕБИЕТТЕРГЕ ШОЛУ

1.1 Тұрақты органикалық қосылыстардың химиялық құрамы, хлорорганикалық пестицидтердің классификациясы

Тұрақты органикалық қосылыстар – қоршаған ортадағы ыдырау процестеріне төзімді улы органикалық қосылыстар болып табылады. Тұрақты органикалық қосылыстар әртүрлі физика-химиялық қасиеттері мен токсиндік әсері бар химиялық қосылыстардың үлкен тобын қамтиды [6].

Тұрақты органикалық қосылыстардың қолданылуы және өндірісін тоқтату, жою мақсатында Біріккен Ұлттар Ұйымының Қоршаған Орта Жөніндегі Бағдарламасы (ЮНЕП) Тұрақты органикалық қосылыстар туралы әлемдік келісім шартқа сәйкес, Стокгольм конвенциясын ратификациялау туралы заң 2004 жылы мамыр айынан бастап, 150 мемлекеттен аса елдерде ұсынылды [7].

Қазақстан Республикасында Тұрақты органикалық қосылыстарды пайдалану туралы заң, Қазақстан Республикасының Әділет министрлігі, нормативтік құқықтық актілерінің ақпараттық-құқықтық жүйесіне сәйкес 2007 жылғы 7 маусымдағы N 259 Заңы бойынша бекітілді [8].

Бастапқы тұрақты органикалық қосылыстар Стокгольм конвенциясында 2001 жылдан белгілі, соның ішінде жиі қолданылатын өндірістік пестицидтер қатарына: альдрин, хлордан, ДДТ, дильдрин, эндрин, гептахлор, гексахлорбензол, мирекс, токсафен, полихлорлы дифенилдер (ПХБ), полихлорлы дибензо-п-диоксиндер (ПХДД) және полихлорлы дибензофурандар (ПХДФ) жатады. 2009 жылдан бастап Стокгольм конвенциясына жаңа 13 тұрақты органикалық ластағыштардың тізімі қосылып жаңартылды: хлордекон, альфа-гексахлорциклогексан, бета-гексахлорциклогексан, гексабромдифенил, гексабромдифенил және гептабромдифенил эфирлері, линдан, пентахлорбензол, перфтороктанды сульфон қышқылы және оның тұздары, перфтороктанды сульфонилфторид, және тетрабромдифенил, пентабромдифенил эфирлері [9-11].

Химиялық құрамы бойынша пестицидтердің құрамы 4 топқа жіктеледі. Оларға хлорорганикалық қосылыстар, фосфорорганикалық қосылыстар, карбаматтар, және пиретриндер мен пиретроидтар жатады (Сурет 1) [12].



Сурет 1. Тұрақты органикалық қосылыстардың химиялық құрамы бойынша классификациясы, (Carla Maria Raffa and Fulvia Chiampo. Bioremediation of Agricultural Soils Polluted with Pesticides // 2021 Bioengineering (Basel))

Хлорорганикалық пестицидтер химиялық құрылымы бойынша хлор атомымен ковалентті байланысқан көмірсутек тізбектерінен тұратын органикалық қосылыстар болып табылады. Ауыл шаруашылығында жәндіктердің көптеген түрлерімен күресу үшін инсектицидтер ретінде қолданылады. 1 – суретте көрсетілгендей ең көп таралған хлорорганикалық қосылыстарға: дихлордифенилтрихлорэтан (ДДТ), дихлордифенилдихлорэтан (ДДД), дикофол, диэldrин, линдан, алдрин, хлордан, эндосульфан, изодрин, изобензан, токсафен және хлоропропилат жатады [13].

Органофосфаттар немесе фосфорорганикалық қосылыстар синтетикалық пестицидтер болып табылады, олардың құрамына фосфор қышқылының күрделі эфирлері немесе тиофосфор қышқылының күрделі эфирлері кіреді. Гексаэтилтетрафосфат (ГТФ) ең алға ауылшаруашылық инсектицидтер ретінде пайдаланылған фосфорорганикалық пестицидтер класы болып табылады.

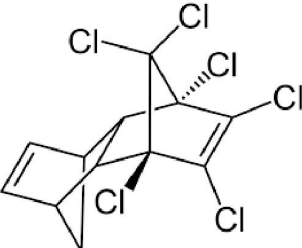
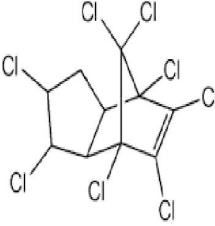
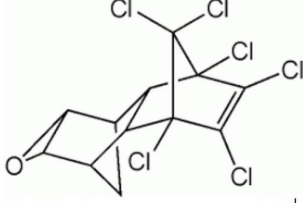
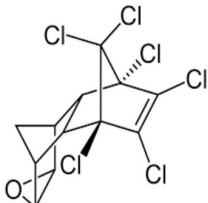
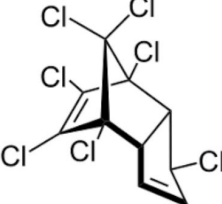
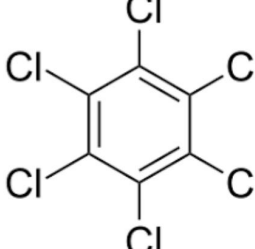
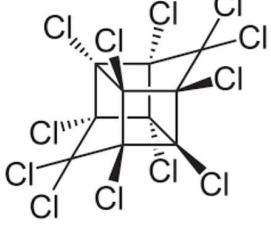
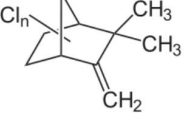
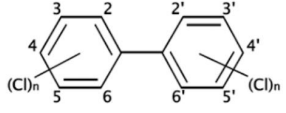
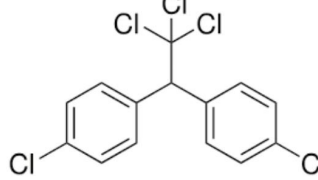
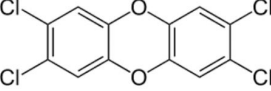
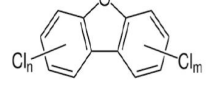
Карбаматтар - карбамин қышқылынан алынған қосылыстар, химиялық құрылымы күрделі эфир тобымен байланысқан амин тобымен сипатталады. Әдетте R_1 және R_2 органикалық радикалдар немесе сутегі топтарынан тұрады. Егер R_2 сутегі тобынан тұратын болса, R_1 функционалдық тобын ескере отырып, қолдану мақсатын түсінуге болады [14]. Мысалы: инсектицидтер ретінде,

R₁ метил тобы болғанда, гербицидтер, R₁ хош иісті топ болған кезде, R₁ бензимидазол бөлігі болған кезде фунгицидтер ретінде қолданылады.

Пиретриндер және пиретроидтер. Пиретриндер - табиғи инсектицидтер, олардың белсенді түрі *Tanacetum cinerariaefolium* (*Chrysanthemum cinerariaefolium* немесе *Pyrethrum cinerariaefolium*) деп аталатын гүлдерінен алынады. Химиялық құрылымы бойынша белсенді компоненттері 2,2-диметил-3-(2-метил-л-пропенил)-1-циклопропанкарбон қышқылының (хризантемин қышқылы) және 3-(2-метоксикарбонил-1-пропенил)-2,2- күрделі эфирлері болып табылатын диметил-л-циклопропанкарбон қышқылынан (пиретр қышқылы) тұрады.

Қазіргі таңда Стокгольм конвенциясына 20 тұрақты органикалық ластағыштардың тізімі көрсетілген (сурет 2). Басқа да белсенді Тұрақты органикалық қосылыстардың тізіміне қысқа тізбекті хлорланған парафиндер, хлорирнафталин, гексахлорбутadiен және пентахлорфенол кіреді. Сонымен қатар, тұрақты органикалық қосылыстарға қоршаған ортада кең таралған және жоғары токсинді полициклді ароматты көмірсулар (РАНs) және бромдалған антипирендер, металорганикалық қосылыстар жатады [15 – 17].

2001 ж. қосылған ТОҚ, (лас дюжина)

			
Альдрин	Хлордан	Дидьдрин	Эндрин
			
Гептахлор	Гексахлорбензол	Мирекс	Токсафен
			
Полихлорланған дифенилдер, ПХД	ДДТ	Диоксин	Полихлорланған дибензофуран

2009 ж. қосылған ТОҚ

α -ГХЦГ	β -ГХЦГ	γ -ГХЦГ	Хлордекон
Гексабромбифенил	Гексабромбифенил эфир Неха-BDEs	Линдан	Пентахлорбензол
Тетрабромдифенил эфир	Перфтороктансульфонатты қышқыл	Перфтороктансульфонилфторид	

2011 ж. қосылған ТОҚ

2013 ж. қосылған ТОҚ

Эндосульфан	Гексабромциклододекан

Сурет 2. Стокгольм конвенциясында көрсетілген тұрақты органикалық қосылыстар (ТОЛ), (Eddy Y. Zeng, Persistent Organic Pollutants (POPs): Analytical Techniques, Environmental Fate and Biological Effects//2015 Elsevier B.V.)

Көптеген тұрақты органикалық қосылыстар жасанды қосылыстар және пестицидтер, өндірістік химикаттар болып табылады. Стокгольм конвенциясының тізіміне кіретін тұрақты органикалық қосылыстар «лас дюжина» деген атауға ие, оларға альдрин, хлордан, ДДТ, дильдрин, эндрин, гексахлорбензол, мирекс және токсафен – хлорорганикалық пестицидтер (ХОП),

полихлорлы дифенилдер (ПХД) – өндірістік химикаттар, толық емес жану кезінде түзілетін қосалқы өнімдер ішінде полихлорлы дибензо-пара-диоксиндер (ПХДД) және полихлорлы дибензолфурандар (ПХДФ) жатады. Тұрақты органикалық қосылыстардың галогенирленген алифатты және ароматты сақиналары (F, Cl және Br) негізгі қасиеті болып табылады (сурет 2). Химиялық құрамы бұндай Тұрақты органикалық қосылыстар суда нашар ериді, майларда жоғары ерігіштік қасиетке ие, химиялық, биологиялық және фотолитикалық ыдырауға жоғары төзімділік көрсетеді [18].

Альдрин-термит, шегіртке, ұзын түкті және басқа да жәндіктермен күресу үшін арналған, құстар, балық және адамдар үшін улы болып табылады. Мысалы, альдринмен өңделген күріш Техастағы Мексика шығанағының жағалауындағы суда жүзетін құстар мен торғайлардың қырылуының себебі болған [19]. Құстар мен жануарлардың улануы осы күрішпен қоректену нәтижесінде пайда болды. Ересек адам үшін альдриннің өлім дозасы шамамен 5 грамм. Әдетте, альдрин адам ағзасына сүт және ет өнімдері арқылы енуі мүмкін.

Хлордан – термиттермен күресу үшін және бірқатар ауыл шаруашылығы дақылдарын өсіру кезінде кең ауқымды әсер ететін инсектицид ретінде кеңінен қолданылды. Ұзақ уақыт бойы топырақта қалады, жартылай ыдырау кезеңі бір жылды құрайды. Хлорданның летальды дозасы балықтар мен құстардың өлімге алып келеді. Хлордан адам ағзасының иммундық жүйесіне зиянды және канцерогенді әсер етеді [20].

ДДТ (Дихлордифенил-трихлорэтан) – хлорорганикалық пестицид, әртүрлі елдерде әртүрлі атаулармен белгілі. Мысалы ДДТ, гезарол, гуезарол, неоцид, дикофан және т.б. Негізінен шыбындар, масалар мен шегірткелерге қарсы қолданылған. ДДТ 1940-1970 жылдары кеңінен таралды және жәндіктер зиянкестерімен күресудің ең танымал және кеңінен қолданылатын химиялық құралы болды. Жыл сайын үш онжылдық ішінде ДДТ-ны үнемі өсіп келе жатқан масштабта қолдану оның сыртқы ортада, топырақта, суда, өсімдіктер мен жануарлар организмдерінде, соның ішінде адам ағзасында айтарлықтай жиналуына әкелді. Қазіргі уақытта ДДТ-ды пайдалануға тыйым салынған [21-26].

Кейбір белсенді-эколог зерттеуші ғалымдардың айтуы бойынша, әсіресе, құстардың көбеюіне әсер етіп, пестицидтер олардың жұмыртқаларының қабығында жиналады. Осындай себептерге қарамастан, КСРО-да және басқа да көптеген елдерде шектеулі қолданылып келді, бірақ қазіргі таңда қолдануға тыйым салынған. Кең таралған тұрмыстық атауы ДДТ - "дуст". Безгектің тасымалдаушыларымен (The use of DDT in malaria vector control) күресу үшін ДДТ қолдану бойынша ДДҰ ресми ұстанымы: Безгектің алдын алу мақсатында ДДТ қолдану ұсынылады.

ДДТ-ны қолдану әлемнің көптеген елдерінде айтарлықтай шектелген немесе тыйым салынған, бірақ көптеген аймақтарда күнделікті тәжірибеде қала береді. Бүгінгі таңда әлемде басқа улы пестицидтер өндіріледі және қолданылады [27]. Пестицидтердің өндірісі мен қолданылуы экологтар үшін ғана емес, жалпы денсаулық сақтау жүйесі үшін де маңызды мәселелердің бірі болып табылады. Ауыл шаруашылығында жұмыс істейтін жұмысшылар әртүрлі

ауруларға, атап айтқанда пестицидтермен уланудың салыстырмалы түрде жоғары қаупіне ұшырайды. Ауылшаруашылық жұмысшыларында пестицидтер денеде ұзақ уақыт жиналуына байланысты өткір улану немесе созылмалы инфекциялық ауруларды тудыруы мүмкін [28-31].

Гексахлоран (ГХЦГ) – 1,2,3,4,5,6-гексахлорциклогексанның сегіз стереоизомерінен тұратын хлорорганикалық пестицид. Ауылшаруашылығында инсектицид түрінде қоладынылған, қазіргі таңда пайдалануға тыйым салынған [10]. Жылы қанды жануарлар үшін токсинді, бірақ канцерогендік әсері жоқ. Хлорорганикалық пестицидтердің ішінде гексахлоранның үш изомері ауылшаруашылығында кеңінен қолданылған: α -гексахлорциклогексан, β -гексахлорциклогексан, γ -гексахлорциклогексан. Таза гексахлоран-қатты, ақ, ұнтақ зат, іс жүзінде иіссіз, тазартылмаған — техникалық ГХЦГ-да пентахлорциклогексен мен тетрахлорциклогексадиеннің қоспаларына байланысты тұрақты жағымсыз көгеру иісі, сарғыш-сұр түсті болады. Суда нашар ериді, органикалық полярлы емес еріткіштерде жақсы ериді-керосин (1:7), ацетон (1: 2), диэтил эфирі, бензол, липофильді қосылыс минералды майлармен, май қышқылдарымен және липидтермен жақсы әрекеттеседі. ГХЦГ термиялық тұрғыдан тұрақты, бірақ жоғары температурада ол ақ, қою түтін шығарады, бұл оны аэрозоль түрінде қолдануға мүмкіндік береді. Ультракүлгін сәулелердің әсерінен әлсіз өзгеріске ұшырайды, бірақ салыстырмалы түрде жоғары құбылмалылықтың арқасында су буларымен сублимацияланады немесе буланады, сондықтан оның сақталуы температураға байланысты [32]. ГХЦГ әртүрлі тотықтырғыштар мен концентрацияланған қышқылдардың азот, күкірт, тұз, температура) әсеріне өте төзімді. Бұл қасиет өсімдіктерде инсектицид қалдықтарын анықтауда қолданылады, ол үшін өсімдік сынамасы күкірт қышқылымен өңделіп, ГХЦГ су буымен сублимацияланады [33]. Сілтілердің немесе жоғары температураның әсерінен барлық ГХЦГ изомерлері HCl бөлінуімен және трихлорбензол түзілуімен ыдырайды. Ылғалды топырақта γ -изомер ыдырап, пентахлорциклогексен түзеді, жылы қанды жануарлар үшін γ -изомерге қарағанда 1000 есе аз уытты болып келеді [34 – 37].

Дильдрин-негізінен ауыл шаруашылығы алқаптарының топырағында мекендейтін жәндіктермен, термиттермен күресу үшін қолданылды. Дильдриннің топырақтағы жартылай ыдырау кезеңі шамамен бес жыл. Альдрин пестицидінің тотығу-тотықсыздану әсерінен дильдринге тез өзгереді, сондықтан қоршаған ортадағы дильдриннің мөлшері және оны пайдалану көрсеткіштері жоғары. Дильдрин балықтар мен басқа да су жануарлары үшін жоғары улы, атап айтқанда, бақалар, тіпті кішкентай дозасы эмбрион омыртқасының деформациясын тудыруы мүмкін. Дильдриннің қалдықтары ауада, суда, топырақта, балық, құстар мен сүтқоректілердің, сонымен қатар адам организмінде табылған. Дильдриннің адам ағзасына түсуінің негізгі көзі тағам болып табылады. Дильдрин АҚШ-та пастерленген сүт құрамында анықталу жиілігі бойынша екінші орында болып табылады [38].

Эндрин-бұл инсектицид бірқатар ауыл шаруашылығы дақылдарын, атап айтқанда мақта мен дәнді дақылдарды өсіру кезінде және кеміргіштермен күресу үшін қолданылады. Эндрин жануарлардың зат алмасу процесіне әсер етеді, май

тіндерінде пестицидтердің жоғары концентрациясы жинақталады. Жартылай ыдырау кезеңі ұзақ -12 жылға дейін созылады. Адам организміне көбінесе тағам өнімдері арқылы түседі [39].

Гептахлор-бастапқыда термиттермен күресу үшін пайдаланылған. Кейіннен мақта зиянкестерімен, шегірткемен, ауыл шаруашылығы дақылдарының басқа да зиянкестерімен және безгек масалармен күресу үшін кеңінен қолданылды. Гептахлор құстардың кейбір түрлерінің, соның ішінде канадалық казарканың және Колумбия өзенінің (АҚШ) бассейніндегі құстарының таралуының қысқаруына себеп болған. Жүргізілген зертханалық сынақтар бойынша үлкен мөлшердегі гептахлор-күзен, егеуқұйрық және қояндардың тіршілігін жою қауіптілігін көрсетті. Гептахлордың шағын дозасының өзі жануарларда мінез-құлқында өзгерістер туғызады және репродуктивті қабілетін төмендетеді. Гептахлор канцерогенді заттарға жатады. Адам ағзасына түсудің негізгі жолы-тамақ. Бұл зат АҚШ пен Австралияда ірі қара малдың қанынан табылды [37-40].

Гексахлорбензол (ГХБ) 1945 жылы ГХБ алғаш рет астық өңдеу және азық-түлік дақылдарының саңырауқұлақ ауруларымен күресу үшін пайдаланылды. Ол бидай бастарымен күресу үшін кеңінен қолданылды. ГХБ белгілі бір өнеркәсіптік химиялық заттарды өндірудің жанама өнімі және кейбір пестицидтердің құрамындағы қоспа болып табылады [40].

1954 жылдан 1959 жылға дейін ГХБ өңделген астықты Түркияның шығысында пайдалану бірқатар симптомдардың пайда болуына, оның ішінде тері қабатының жарық сезгіш зақымдануына, шаншуына және сарқылуына әкелді. Бірнеше мың зардап шеккендердің метаболизм процесінің бұзылуы — гексахлорбензолды порфириясы (адам организмінде ТОҚ жинақталуы салдарынан гемоглобин метаболизмінің аралық өнімдерінің бұзылуы) дамыды, 14% жағдай өліммен аяқталды. ГХБ эмбриондарға плацента және жаңа туған нәрестелерге емшек сүтімен беріледі. Үлкен мөлшерде жануарлардың кейбір түрлерін өлімге ұшыратады, аз мөлшерде репродуктивті қабілетін төмендетеді. ГХБ барлық азық-түлік өнімдерінде анықталған, мысалы Испаниядағы барлық ет үлгілерінен табылған. Бағалау бойынша, Үндістандағы ГХБ тәуліктік тұтыну адам салмағының килограммына 0,13 мкг құрайды [41].

Мирекс 1970 жылдары АҚШ, Бельгия, Франция, Германия, Ұлыбритания және Нидерланды елдерінде кеңінен қолданылды. Мирекстің техникалық маркаларының құрамында (пайызбен), 1% мирекс және 2,58% хлордекон бар (қалған қоспадардың саны көрсетілмеген). Мирекс тұрақты пестицидтердің бірі болып саналады, оның топырақтағы жартылай ыдырау кезеңі 10 жылды құрайды. Мирекстің салыстырмалы ұшқыш коэффициенті ұзақ қашықтыққа тасымалдауға мүмкіндік береді. Герметикалық қаптамада өзінің қасиеттерін шексіз уақытқа дейін сақтайды. КСРО/РФ-да мирекс іс жүзінде қолданылмады және 1965-1999 жылдардағы улы химикаттар туралы анықтамалар мен ғылыми мақалаларда көрсетілмеген. Мирекстің токсинділігі: сүтқоректілер үшін орташа: егеуқұйрықтар үшін $LD_{50} = 235$ мг / кг, ал қояндардағы тері арқылы токсинділігі 80 мг/кг құрайды. Мирекс адамда эндокриндік аурулардың туындауына және канцерогендік аурулардың қаупін тудыруы мүмкін [42].

Токсафен – мақта, дәнді дақылдар, жемістер, жаңғақтар мен көкөністерді өсіруде, сондай-ақ үй жануарларында кенелермен күресу үшін қолданылатын инсектицид. 1975 жылы АҚШ-та ең көп қолданылатын пестицидтер болды. Жартылай ыдырау кезеңі-12 жылды құрайды. Адам ағзасына токсафен негізінен тағаммен түседі. Токсафен уыттылығы адам ағзасына тікелей әсер еткенде жоғары болмаса да, зертханалық жануарларға сынақ нәтижелері бойынша адам организмі үшін канцерогендер тобына жатқызылды. Токсофен балықтар үшін жоғары токсинді. Токсафеннің әсерінен форель балығының 90 күннен кейін салмағы 46% - ға қысқарған және уылдырығының тірішілікке қабілеттілігі төмендеген [43].

Полихлорбифенилдер (ПХБ). ПХБ өнеркәсіпте жылу тасығыштар ретінде, бояуда, көшірме қағазда және пластмассада қосымша ретінде, сондай-ақ электр трансформаторлары мен конденсаторларда пайдаланылады. ПХБ-ның 13209 түрі диоксиндер сияқты токсинді. ПХБ тұрақтылығы хлорлау дәрежесіне байланысты, жартылай ыдырау кезеңі 10 күннен бір жарым жылға дейін болуы мүмкін. ПХБ балықтар үшін токсинді: үлкен мөлшерде өлімге алып келеді, шағын балықтарда уылдырықтың бұзылуына әсерін тигізеді. Зерттеулерлерге сәйкес жабайы жануарлардың кейбір түрлерінің репродуктивтік және иммундық жүйелерінің бұзылуына алып келгені анықталған [43,44].

ПХБ ластанған тамақ өнімдерімен адам ағзасына түседі. 1968 жылы Жапонияда және 1979 жылы Тайванда ПХБ ластанған күріш майын тұтыну тырнақ пластиналары мен шырышты қабықтардың пигменттелуін, көз қабақтарының қалыңдығын, шаршағандықты, жүрек айнуы мен құсу сияқты аурулардың себебі болды. Тайванда ПХБ әсеріне ұшыраған әйелдер жеті жыл бойы дамуы мен мінез-құлқы бұзылған балаларды дүниеге әкелді [45]. Сондай-ақ, Мичиган көлінен жұқтырылған балықтарды көп тұтынған аналардан туған балалардың қысқа мерзімді есте сақтауының бұзылуы анықталды. ПХБ адамның иммундық жүйесінің жұмысын бұзады және адам организмі үшін тұрақты канцерогендерге жатады.

Полихлорланған дибензодиоксиндер (ПХДД, диоксиндер) химиялық заттардың толық жанбау нәтижесінде, сондай-ақ пестицидтер мен құрамында хлоры бар басқа да заттарды өндіру кезінде пайда болады. ПХДД қосылыстары негізінен медициналық, коммуналдық-тұрмыстық және қауіпті қалдықтарды жағу нәтижесінде, сондай-ақ автомобильдерден бөлінетін газдар, шымтезек, көмір және ағаш жануы кезінде пайда болады. Диоксиндердің 75 түрінің 7 түрі өте қауіпті. Олардың бірі бірінші қолданғаннан кейін 10-12 жыл өткен соңда топырақта табылған. Диоксиндер адам денсаулығына зиянды әсер етеді, иммунитетті төмендетеді, ферментацияны бұзады және терінің зақымдануына әкеледі (хлоракне), адам үшін канцерогендердің тобына жатады. Зертханалық жануарларға сынаулар басқа да бірқатар зиянды әсерлерді, оның ішінде туа біткен кемістіктер мен өлі туулар санының ұлғаюына алып келетіні анықталды. Балықтардың тіршілік етуіне әсер етіп, тез өлімге әкеледі. Адам ағзасына түсудің негізгі көзі етті тағамдар болып табылады.

Полихлорланған дибензофуранды (ПХДФ, фурандар) қосылыстар диоксиндер сияқты процестердің нәтижесінде, сондай-ақ ПХБ өндірісі кезінде пайда болады. ПХДФ қоқыс жағатын қондырғылар мен автокөлік қалдықтарынан

табылған. Фуранның құрылымы мен уытты әсері бойынша диоксиндерге ұқсас. Әртүрлі уланулардың 135 түрі бар. Фурандар ұзақ уақыт бойы қоршаған ортада сақталады және тұрақты адам канцерогендеріне жатады. Адам ағзасына түсудің негізгі көзі етті тағамдар болып табылады [46].

ТОЛ-дың ластану көздері агрохимикаттар мен өнеркәсіптік химикаттарды тиісінше пайдаланбау және жою, жоғары температуралар мен жану процестері, сондай-ақ өнеркәсіптік процестердің немесе жанудың жағымсыз жанама өнімдері [47].

Соңғы онжылдықта тұрақты органикалық қосылыстардың басым тізімі жаңартылып, оған 2017 жылы Стокгольм конвенциясында аталған полибромирленген дифенилдік эфирлер және гексабромциклодекандар, бромдалған антипирендер сияқты қосылыстарды қосу үшін жаңартылды. Жақында танылған галогенденген қосылыстардың тағы бір тобы перфторирленген алкильді заттар болып табылады, олардың ішінде перфтороктанды сульфонат (ПФОС), оның тұздары мен перфтороктанды сульфонилфториді де 2017 жылы Стокгольм тізіміне енгізілді. Жаңа тізімдегі басқа қосылыстар эндосульфан, линдан, пентахлорбензол, хлордекон және гексабромциклодекандарды (ГБЦД) камтиды [48].

Соңғы уақытқа дейін ең көп қолданылатын пестицидтер қатарына хлорорганикалық пестицидтерді (ХОП) жатқызамыз. Бұл қосылыстардың өткір токсинділігі әртүрлі, олардың ерекшелігі қоршаған орта объектілеріндегі жоғары төзімділігі және тірі организмдердің май тіндерінде жинақталу үрдісі болып табылады. Пестицидтердің қауіптілігін бағалаудың және оларды жіктеудің жүйелі тәсіліне арналған жұмыстарда ХОП-дің тұрақтылығы мен биоаккумуляциясының критерийлері ең жоғары баллға ие [49].

Бірқатар елдерде тұрақты ХОП-ді қолдануға тыйым салынады және ауыл шаруашылығында тұрақты ХОП-ді қолданудың орнына қауіпсіз органофосфор пестицидтеріне және синтетикалық пиретроидтарға ауысуы жалғасуда. Бірақ қоршаған ортаға енгізілген ХОП-дің мөлшері өте жоғары, сондықтан олардың қоршаған ортаға және адам денсаулығына зиянды әсерін ескермеуге болмайды.

ХОП және синтетикалық пиретроидтер қоршаған ортаны және ауылшаруашылық өнімдерін басым ластаушылардың бірі болғандықтан, судағы және тамақ өнімдеріндегі ХОП-дің қалдық мөлшерінің пайда болуы оларды қатаң бақылау қажеттілігі туралы үлкен алаңдаушылық тудырды. Ең көп таралған ХОП-дің қатарына гексахлорциклогексанның альфа және гамма изомерлері (ГХЦГ), 4,4'-дихлордифенилтрихлорметилметан (ДДТ), альдрин, гептахлор және 2,4-дихлорфеноксиацет қышқылы (2,4-Д) жатады. Ең танымал синтетикалық пиретроидтер - декис және сумицидин болып табылады [49-51].

Қоршаған ортаны ХОП-мен ластау проблемасы биосфераның тұрақты хлорорганикалық қосылыстармен (ХОҚ), атап айтқанда, қоршаған ортада өзін-өзі ұстайтын диоксиндер мен полихлорланған бифенилдер сияқты қосылыстармен улануының жалпы проблемасының бөлігі болып табылады. Қоршаған орта объектілерінде мұндай ХОҚ-дың болуы көбінесе ДДТ және басқа ХОП-дің үлкен шоғырлануымен байланысты болады. Сонымен қатар,

диоксиндердің қоршаған ортаға және халықтың денсаулығына зиянды әсері ХОП-дің әсерінен асып кетуі мүмкін.

Осылайша, азық-түлік шикізаты мен тамақ өнімдерінің ХОП-мен және синтетикалық пиретроидтармен ластануын анықтау әлеуметтік-гигиеналық мониторинг жүйесіндегі маңызды міндет болып табылады. Соңғы жылдардағы зерттеулер қазіргі кездегі химиялық токсиканттардың ішінде халықтың денсаулығы мен қоршаған орта үшін басты қауіп ДДТ емес, ауыр металдар мен жоғары уытты ХОҚ (диоксиндер мен полихлорланған бифенилдер) екенін дәлелдегенімен, ХОП құрамын тамақ, ауыз су және емшек сүтінен бақылау мәселесі өзекті болып табылады. Қазіргі жағдайда пестицидтердің жаңа буынының өндірісі – синтетикалық пиретроидтер, олар әлдеқайда аз токсинді, зиянсыз өнімдерге тез ыдырайды және селективті әсерге ие – ХОП-ге тиімді балама болып табылады [52,53].

Тұрақты органикалық қосылыстардан қорғаныс шараларын енгізудің І кезеңінде пестицидтерді қолданудың негізгі мақсаты зиянды заттарды жою болып табылады және жоғары тұтыну нормалары бар бейорганикалық қосылыстар қолданылады.

ІІ кезеңде белсенділігі мен селективтілігі жоғары органикалық препараттардың пайда болуына, дақылдарды өсірудің қарқынды технологияларын енгізуге байланысты қорғаныс шараларының стратегиясы өзгерді. Пестицидтерді қолдану мақсаты зиянкестерді жою емес, олардың санын, зияндылық дәрежесін экономикалық шегіне дейін азайту болып табылады.

Қазіргі уақытта ІІІ кезеңде агроценоздарды реттеу міндеті пестицидтердің зиянды объектілерге тікелей әсерін ғана емес, сонымен қатар олардың агроценоздардың барлық компоненттеріне жанама әсерін, сондай-ақ ұзақ мерзімді салдарын ескере отырып қойылған. Препараттар ассортиментінде тек зиянкестермен күресу мақсатында пестицидтер ғана емес, сонымен қатар реттеуші әсер ететін феромондар, ювеноидтар және т. б. хлорорганикалық пестицидтер қолданылады.

Өсімдіктерді қорғаудағы келесі кезең гендік инженерияның дамуымен және зиянкестер мен аурулар кешеніне төзімді өсімдіктердің генетикалық түрлендірілген сорттарын өсірумен байланысты болады. Соның нәтижесінде пестицидтерді қолдануды азайтуға немесе оларды қолданудан мүлдем бас тартуға мүмкіндік береді [54].

Пестицидтерді дозасы бойынша бірнеше топқа бөліп қарастыруға болады:

1) шектік мөлшерге дейінгі доза - организмде өзгерістер тудырмайтын заттың ең көп мөлшері;

2) шекті доза - жануар улануының сыртқы белгілері болмаған кезде неғұрлым сезімтал биохимиялық және физиологиялық тесттермен анықталатын, ағзада өзгерістер тудыратын заттың ең аз мөлшері;

3) сублетальды доза – организмнің тіршілік әрекетінің елеулі бұзылуын тудыратын, бірақ оның өліміне алып келмейтін пестицидтің дозасы;

4) летальды доза - тәжірибелік объектінің өліміне әкелетін пестицидтің дозасы;

5) орташа уытты доза – тәжірибелік объектілердің жартысының өліміне әкелетін доза (СД₅₀) [55].

Пестицидтердің ингаляциялық токсигенділігі бойынша жіктеуді будың қаныққан концентрациясын ескере отырып жүргізеді:

- 1) өте қауіпті зат (қаныққан концентрация токсинділігі өте жоғары);
- 2) қауіпті зат (қаныққан концентрация шекті мәннен жоғары);
- 3) қауіптілігі төмен зат (қаныққан концентрация шекті мәннен аз).

Сонымен қатар бұл негізгі критерийлерден басқа пестицидтердің патологиялық әсерлері зерттеледі:

1) тератогенділік – химиялық агенттердің әсерінен эмбриональды дамудың бұзылуы және морфологиялық өзгерістер мен жетіспеушіліктердің дамуы;

2) репродуктивтік токсигенділік- адамның репродуктивтік функциясына әсері;

3) эмбриоуыттылық - эмбрион дамуының бұзылуы;

4) мутагенділік - мутациялардың пайда болуы;

5) канцерогендік – қатерлі ісіктердің пайда болуы;

6) аллергиялық – организмнің химиялық заттардың әсеріне сезімталдығының артуы [56].

Пестицидтің қауіптілік тобын шекті көрсеткішін ескере отырып, толық токсикологиялық бағалау негізінде анықтайды. Қауіптілік тобы препаратты таңдау, жұмыс ауысымының ұзақтығын белгілеу, жеке қорғаныс құралдарын таңдау кезінде ескеріледі.

Қауіптілігі 1-топтағы пестицидтерді ауыл шаруашылығында қолдану ұсынылмайды, оларды тек мамандар ерекше жағдайларда ғана пайдалана алады, бұл қауіпті пестицидтерді бөлшек саудаларда сатуға тыйым салынады. Қажет болған жағдайда 2-топтағы пестицидтерді мамандар немесе олардың бақылауымен арнайы кәсіптік даярлығы бар адамдар ғана қолданады, бөлшек саудаларда сатуға тек кәсіптік даярлығы бар адамдарға ғана рұқсат етіледі. 3-және 4-топтағы пестицидтер белгіленген регламенттерге сәйкес пайдаланылады. Бұл ретте мамандандырылмаған сауда орындарында қауіптілігі 3-топтағы пестицидтерді сатуға тыйым салынады.

Сол себептен пестицидтерді қолданудың ерекше тәртібін білдіретін ережелер жиынтығы, ғылыми негізделген ұсыныстар мен қатаң міндетті шектеуде тағайындалған. Оларды ғылыми-зерттеу институттары әзірлейді, мемлекеттік химиялық комиссия белгілі бір мерзімге рұқсат береді және денсаулық сақтау министрлігімен келісіледі. Пестицидтерді қолдану регламенттері тізімдерде әрбір жылға жарияланады, онда препараттардың түр – түрі, өңделетін дақылдар мен зиянды объектілер, шығыс нормалары, өңдеу мерзімдері мен тәсілдері, өңдеу еселігі, өнімді жинау алдындағы соңғы өңдеу мерзімі бойынша күту кезеңі, алынған өнімді пайдалануға шектеулер, қолмен және механикаландырылған жұмыстар үшін өңделген аймақтарға шығу мерзімі көрсетіледі.

Адамдардың пестицидтермен улануына жол бермеу үшін Денсаулық сақтау министрлігі оларды пайдаланудың гигиеналық нормативтерін әзірледі:

1) МРД – максималды рұқсат етілген деңгей. Өсімдік шаруашылығы өнімінде пестицидтің қалдық мөлшерінің рұқсат етілген ең жоғары деңгейі, өлше бірлігі (мг/кг);

2) ШРК - ауадағы, судағы, топырақтағы шекті рұқсат етілетін концентрация. ШРК бойынша жіктелуі:

- атмосфералық ауадағы әсердің шамамен қауіпсіз деңгейі (мг/м³);
- су қоймалары суындағы шамамен рұқсат етілген деңгей (мг/л);
- топырақтағы шамамен рұқсат етілген концентрация (мг/кг).

3) РТД – пестицидтің ағзаға түсуінің рұқсат етілген тәуліктік дозасы (мг/кг дене салмағына);

4) УРТД – уақытша рұқсат етілген тәуліктік доза.

Қауіпсіздік нұсқаулары келесі бөлімдерді қамтуы керек:

1. Жалпы қауіпсіздік талаптары.
2. Тасымалдау және сақтау ережелері.
3. Пестицидтерді қолдану тәртібі.
4. Уланудан қорғау, оның ішінде: жеке қорғаныс құралдары, қауіпсіздік белгілері, арнайы киімдерді, ыдыстарды залалсыздандыру, алғашқы көмек көрсету шаралары.

Жаңа пестицидтерді синтездеу шығындары жыл сайын артып келеді, өйткені дәрі-дәрмектерге санитарлық-гигиеналық және экологиялық-токсикологиялық көрсеткіштер тұрғысынан қатаң талаптар қойылады. АҚШ–та пестицидтерге жұмсалатын жалпы шығындардың 21%-ын қосылыстарды синтездеу және скрининг жөніндегі жұмыстарға, 6%-ын токсикологиялық бағалауға, 20%-ын далалық зерттеулерге, 16%-ын метаболизмді, экотоксикологияны зерттеуге және қалдықтарды талдауға, қалған 37%-ын препараттық нысандарды өңдеуге, өнеркәсіптік технологияларды жасауға және тіркеуге арналған шығындарды құрайды [57]. Жаңа пестицидтерді жасау әртүрлі жолдармен жүзеге асырылады:

1) барлық синтезделетін қосылыстардың биологиялық белсенділікке эмпирикалық синтезі және стандартты скринингі;

2) құрылымы жағынан биологиялық белсенді заттарға жақын қосылыстардың синтезі;

3) табиғи өнімдерді модельдеу (мысалы, синтетикалық пиретроидтер);

4) әсер етудің ықтимал тетігін ескере отырып, биохимиялық құрастыру.

Әлемдегі пестицидтердің ең ірі өндірушісі - Солтүстік Америка, бірақ соған қарамастан, Азия-Тынық мұхиты аймағында орташа жылдық өсу қарқыны ең маңызды болды деп болжануда [58]. Мысалы, 2014-2020 жылдардан бастап пестицидтердің орташа жылдық өсу қарқыны 7,9% құрады. Өсімдіктерді қорғауда жетекші позициялар келесі өндірушілерге тиесілі: неміс BAYER, швейцариялық SYNGENTA және DUPONT, қытайлық HONBOR, IPROCHEM, даниялық CHEMINOVA, австриялық DOW AGROSCIENCES, израильдік GOLTIX және басқа да компаниялар [59].

Пестицидтер қолдану объектілері бойынша, әсер ету сипаты бойынша, сондай-ақ химиялық құрылымы бойынша жіктеледі.

Пестицидтерді қолдану объектілері бойынша классификациясы пестицидтерді олармен күресу үшін пайдаланылатын объектіні ескере отырып, бірнеше топтарға бөледі:

1) жәндіктер санын реттеу үшін инсектицидтер, кенелерге – акарицидтер, нематодтарға - нематодицидтер, зиянды кеміргіштерге - родентицидтер, моллюскаларға - моллюскицидтер;

2) саңырауқұлақ ауруларының дамуын басу үшін - фунгицидтер, бактериялық аурулар үшін - бактерицидтер;

3) арам шөпті өсімдіктерді жою үшін – гербицидтер, ағаш-бұта өсімдіктерін жою үшін – арборицидтер тағайындалған.

Сонымен қатар пестицидтердің осы топтарының арасында арнайы кіші топтарға бөлуге болады, мысалы:

- афидицидтер - теңқанаттылар отрядына жататын жәндіктермен күресу үшін;
- вермицидтер - құрттармен күресу үшін;
- овицидтер - зиянды жәндіктер мен кенелердің жұмыртқаларын жоюға арналған;

- ларвицидтер - жәндіктердің личинкаларын жою үшін арналған.

Пестицидтердің әсер ету сипаты бойынша жіктелуі. Мысалы контактілі, жүйелік және фумигациялық пестицидтер бар.

1. Контактілі пестицидтер өсімдікке тікелей қолданылатын жерде ғана әсер етеді.

2. Жүйелік пестицидтер, керісінше, өсімдік құрамына еніп, онда ұзақ уақыт сақталады және өсімдік арқылы зиянды ағзаны басады (фунгицидтер, акарицидтер, инсектицидтер) немесе бүкіл өсімдікті (гербицидтер) толығымен жояды. Мұндай пестицидтер әсіресе өсімдік ішінде дамиды қоздырғыштарға және күшті тамыр жүйесі бар арамшөптерге қарсы тиімді.

3. Фумигациялық әсер ететін пестицидтер (фумиганттар) – газ немесе бу түрінде тыныс алу жолдары арқылы зиянды организмге енетін химиялық заттар.

Сонымен қатар, өсімдікке әсер ету сипаты мен қолдану бағыты бойынша пестицидтердің жіктелуі:

1) дефолианттар - өсімдіктердің пісіп жетілуін жеделдету және жинау жұмыстарын механикаландыруды жеңілдету мақсатында өсімдіктерден жапырақтарды жинау алдында алып тастауға арналған химиялық заттар;

2) десиканттар - өсімдіктерді жинау алдында кептіруге арналған химиялық заттар;

3) өсімдіктердің өсуін реттегіштер – өсімдіктердің өсуі мен дамуын ынталандыратын немесе тежейтін заттар. Олардың ішінде өсімдіктердің өсу қарқынын төмендететін дәрілер - ретарданттар жиі ерекшеленеді.

Химиялық құрылымы бойынша пестицидтерді жіктеу. Бұл жіктеу бір химиялық топтың заттары жалпы химиялық қасиеттерге және бірдей биологиялық белсенділікке ие болуымен байланысты үш топқа жіктеледі:

1) бейорганикалық қосылыстар (мыс тұздары, фосфидтер, күкірт);

2) шығу тегі табиғи заттар (биопестицидтер – микробиологиялық және вирустық препараттар, микробиологиялық синтез өнімдері);

3) органикалық синтетикалық қосылыстар (бұл ең үлкен топ) [60-63].

1.2 Қазақстан Республикасының қоршаған орта объектілерінің тұрақты органикалық қосылыстармен ластану мәселелері және қоршаған ортаға әсері

Тұрақты органикалық ластағыштар - қоршаған ортада сақталатын әртүрлі химиялық заттардың тобы, қоршаған ортадағы топырақта, шөгінділерде, ауада және биотада ұзақ жартылай ыдырау кезеңіне ие, гидрофобты және липофильді, қоршаған орта температурасында газ фазасына өтуге бейім және ұзақ қашықтыққа тасымалдауға қабілетті, бүкіл әлемде таралған органикалық қосылыстар болып саналады. Тіпті ешқашан пайдаланылмаған Арктика сияқты адам аяғы баспаған табиғи орталарда тұрақты органикалық қосылыстар табылған. Тұрақты органикалық қосылыстардың комбинациясы метаболитикалық тұрақтылығы мен липофильділігі олардың биоаккумуляцияланатынын білдіреді, қоректік тізбектер арқылы тасымалданады. Адам және жануарларды тұрақты органикалық ластағыштардың әсеріне зерттеу нәтижелері бойынша репродуктивті бұзылулар, туа біткен аномалиялық және патологиялық өзгерістер, иммундық жүйенің дисфункциясы, неврологиялық аурулар және қатерлі ісіктер дамыған [64]. Бұл химиялық ластағыштар соңғы жылдары халықаралық назарға ие болды, олардың барлық жерде кездесуі, тұрақтылығы, биоаккумуляцияның жоғары потенциалы және зиянды биологиялық әсерлері анықталған.

Дамушы елдердегі тұрақты органикалық қосылыстардың мысалдары бромдалған заттардың бірнеше түрі болып табылады полибромды дифенил эфирлері (PBDEs) сияқты өртке қарсы заттар (BFR), перфторланған қосылыстар және полихлорланған нафталин (ПХН) [65]. Жаһандық ортадағы ТОҚ ішінде «ескірген» ТОҚ (ДДТ және ГХЦГ сияқты) хлорорганикалық пестицидтері өнеркәсіптік дамыған елдерде, тропикалық және субтропиктік дамушы елдерде, соның ішінде Үндістан мен Қытайда, өндіріске кеш тыйым салу немесе заңды және заңсыз пайдалануды жалғастыру салдарынан, ауыл шаруашылығында пайдаланылған [66, 67]. Сонымен қатар, әлемдік саудадағы соңғы оқиғалардың нәтижесінде тауарлар өндірісін еңбек шығыны төмен және әлсіз дамушы елдерге ауыстыру қоршаған ортаны қорғау заңнамасы бойынша тауарлардың өнеркәсіптік өндірісінде де бұл өзгерістерде PBDE сияқты «жаңа» ТОҚ-дың жаһандық таралуына себеп болып табылады [68-70]. ТОЛ адамға әсер етуі тағамдық, әсіресе ет, балық және сүт өнімдерін тұтыну арқылы болады. Дегенмен, ТОЛ-ның ұзақ қашықтыққа таралу қабілетіне байланысты, ТОЛ азық-түлік өнімдері өндірілетін фермаларға жақын орналасқан зауыттардан әрдайым табылады. Осы шаруашылықтарда қолданылатын пестицидтерден немесе өндірілетін азық-түлік өнімдері арқылы қоршаған ортаға таралады. Жалпы тұрақты органикалық қосылыстар ауа және су көздері арқылы мыңдаған миль шақырымдарға дейін таралу қабілеттілігіне ие.

Дамушы елдердегі ТОЛ көздеріне ауыл шаруашылығында және зиянкестермен күресуде қолданылатын хлорорганикалық пестицидтер, өнеркәсіптік химиялық заттар сияқты конденсаторлар мен трансформаторлар ПХД, мысалы, полициклді хош иісті көмірсутектер (РАН), диоксиндер және

фурандар, сондай-ақ PBDEs, тұтынушылық өнімдердегі жалынға қарсы заттар ретінде маңыздылығы бар негізгі ТОҚ химиялық заттар болып табылады [71].

Қазақстан аймағының тұрақты органикалық ластағыштармен ластану мәселелері.

Қазақстанда тұрақты органикалық қосылыстардың (ТОҚ) өндірісі жоқ. Тұрақты органикалық ластағыштардың ластануының негізгі көздері ауыл шаруашылығында ескірген және пайдалануға жарамсыз пестицидтер (оның ішінде тұрақты органикалық ластағыштардың қасиеттері бар), құрамында тұрақты органикалық ластағыштар бар жабдықтар, өнеркәсіпте диоксиндер мен фурандардың әдейі емес шығарылуына әкелетін технологияларды пайдалану, ашық жану процесінде диоксиндер мен фурандардың түзілуі болып табылады [72].

Қазақстанның барлық аудандарында тұрақты органикалық қосылыстармен ластарған жерлер тек қоршаған орта экологиясына ғана емес сонымен қатар, адам мен саулығына да қауіп төндіруде. Қазіргі уақытта Қазақстанда тыйым салынған, пайдалануға жарамсыз ескірген пестицидтердің едәуір көлемінің жиналуына байланысты экологиялық проблемалар туындауда. Қазақстанда және ТМД-ға іргелес елдерде соңғы 30 жыл ішінде химиялық қосылыстардың әртүрлі кластарына жататын 700-ден астам пестицидтер қолданылды. Қазақстан шетелден пестицидтердің 230-дан астам түрін импорттайды [73]. Қазақстанда 250-ден астам пестицидтер, улы химикаттар тіркелген. Жыл сайын тіркелген пестицидтер тізімі жаңа препараттармен толықтырылады, Республикада өндірілетін пестицидтердің, улы химикаттардың тізімі кеңейтілуде [74].

2000 және 2006 жылдардағы статистикалық мәліметтерді талдау Талғар ауданы - Алматы қаласының шетіндегі аудан тұрғындарының аурушандығы тыныс алу органдарының аурулары санының орташа өңірлік статистикасынан едәуір асып түскенін көрсетті [75].

Талғар ауданының халқының аурушандығына қатысты статистиканы талдау көрсеткендей, 2000 жылдан бастап 2015 жылға дейінгі кезеңде елеулі денсаулық проблемалары байқалды, аймақтағы аурушандық деңгейі облыста айтарлықтай жоғары деңгейде қалды. Жүйке жүйесі, тыныс алу жүйесі, ас қорыту жүйесі және туа біткен ауытқулар ауруларының айтарлықтай өсуі байқалады. Талғар ауданының тұрғындарының денсаулығының төмендігі туралы ресми түрде келтірілген фактілер пестицидтермен ластанумен байланысты аймақтың терең экологиялық апатының салдары болуы мүмкін [76].

Елде ауыл шаруашылығында ескірген және пайдалануға жарамсыз пестицидтер, оларды химиялық сәйкестендіру проблемасы өткір мәселе болып тұр. Мұндай пестицидтер мен олардың қоспаларының 1500 т-дан астамы Республиканың қоймаларында сақталған, олардың бір бөлігі бейімделмеген, шатыры бар ескі үй-жайларда сақталады, көбінесе бір үймеге төгілген. Олардың шамамен 10% - ы қосымша қасиеттері бар пестицидтер тобына жатады. Топырақтардың ТОЛ-ға жататын пестицидтер қалдықтарымен ластануы көп және сирек таралған, бұл ТОЛ-дың қасиеттері бар пестицидтермен ластанған аумақтарды тазарту бойынша үлкен көлемді талап етеді.

Қазақстан аумағының полихлордифенилдермен (ПХД) ластану деңгейі зерттелген. Республика аумағында таза полихлордифенилдер мен олардың негізіндегі майлардың (совол, совтол және т.б.) қоры жоқ. Өскемен конденсатор зауытында (УККЗ) конденсаторларды толтыруға арналған сұйықтық ретінде полихлордифенилдер (ПХД) 1968 жылдан 1990 жылға дейін өнеркәсіптік өндірісте қолданылды. Мәселе полихлордифенилдер (ПХД) бар жабдық және ПХД ластанған аумақтар болып табылады. Қазіргі уақытта Қазақстанда полихлордифенилдермен (ПХД) ластанған 57 мыңға жуық жабдық бар. Пайдалану мерзіміне жеткенше герметизацияланған жағдайда жабдық жұмыс істеушілер үшін ықтимал қауіп төндіреді. Сонымен қатар, Қазақстанда әртүрлі дәрежеде полихлордифенилдермен (ПХД) ластанған 9 алаң анықталды. Тұрақты органикалық ластағыштардың қалдықтарының қоры бойынша Қазақстан Республикасы Ресей Федерациясынан кейін Шығыс және Орталық Еуропа елдері арасында екінші орынды алады. Өскемен конденсатор зауытында трихлордифенил қалдықтары және өндірісте полихлордифенилдерді (ПХД) қолдануға тыйым салынғаннан кейін өндіріс қалдықтары 1990 жылы зауыт ауданында алынған қатты ластанған топырақпен бірге зауыттың жинақтау тоғанында көмілді. Осылайша, Өскемен конденсатор зауыты жинақтауыш тоған қазіргі уақытта ең қауіпті ауа ластағыштарының бірі болып табылады, әсіресе, жер асты сулары, өйткені жинағыш тоған түбінде экрандаушы қабаты жоқ [77].

Полихлорланған дифенилдер жоғары уытты қасиеттерге ие, химиялық және биологиялық ыдырауға төзімді қосылыстар болып табылады, тірі ағза майлы тіндерінде шоғырланады, әр түрлі орталарда үлкен қашықтыққа таралуға қабілетті. ПХД-ДДТ қарағанда тиімді хлорорганикалық заттар арасындағы ең қауіпті улардың бірі. ПХД суда ерімейді, бірақ майларда, көмірсутектерде және басқа да органикалық қосылыстарда оңай ериді. ПХД ағзаның ішкі реттеу жүйесін бұзады - гормондық немесе эндокриндік-сондықтан эндокриндік бұзылушылар деп аталады.

Өскемен ауданында биоиндикация әдісімен өсімдік қоғамдастығының морфологиясына ПХД елеулі әсері анықталмады. Бірақ тұрақты органикалық ластағыштардың әсері өсімдіктердің ішкі құрылысының бұзылуына әсер етеді, бұл осы өсімдіктер құрылымының өзгеруіне, олардың қоршаған ортаға бейімделу қасиеттерінің өзгеруіне әкеледі. Ластанған топырақты микробиологиялық зерттеу, ластанған топырақта аэробты және анаэробты жағдайларда клетчатканы ыдырататын микроорганизмдердің өсуінің бәсеңдеуі байқалатынын көрсетті. Олардың саны тәжірибелі үлгіге қарағанда үш рет төмен болды. Яғни, ПХД топырағының ластануы топырақ микрофлорасының тежелуіне әкеледі [78].

Аблакетка кенті ауданында (Өскемен конденсатор зауытына іргелес) онкологиялық және басқа да патологиялардың жиілігі зерттелді. Тұрақты органикалық ластағыштардың ластану белгілері бар аудандарда тұратын халықтың денсаулығына әсер етуінің үлкен ықтималдығы туралы куәландырады. Соңғы 10 жылда алғашқы ауру көрсеткіштері тыныс алу органдары, қан және қан шығару органдары, тері аурулары бойынша 6-15 пайызға өсті [79].

Қазақстанның барлық ПХД-қалдықтарының шамамен 80%-ын құрайтын Өскемен конденсаторлық зауыты мен оның тоған жинағыш тұнбасының

ауданында ПХД ластанған топырақты тиімді ремедиациялау үшін ластанудың әртүрлі дәрежесіндегі учаскелерді бөліп бере отырып, кең ластанған алаңға (10 км²) егжей-тегжейлі аудандастыру қажет. Құрамында ПХД жоғары топырақты плазмалық конвертерді пайдалана отырып жинау және залалсыздандыру қажет, ал құрамында ПХД аз аумақтарда ПХД ыдырайтын және қоршаған ортаға зиян келтірмейтін микроорганизм-деструкторларды қолдана отырып, биоремедиациялау тиімді [80].

Қазіргі уақытта Қазақстанда құрамында полихлордифенил (ПХД) қалдықтар мен ПХД-ластанған жабдықтар көлемі бойынша материалдарды талдау нәтижесі бойынша ластанудың жалпы көлемі 2500 га құрайды.

Пестицидтерді жою жөніндегі қондырғыларды салу мен пайдалануды қоса алғанда, қазіргі уақытта белгілі полихлордифенилдермен (ПХД) ластанған топырақтар мен жабдықтарды жою жөніндегі жұмыстардың жалпы құны алдын ала 15-18 млрд. теңгеге бағаланады. Конвертерлік қондырғының жобалық қуаты жылына 5 000 т және Қазақстанның әр түрлі аудандарында үш қондырғының бір мезгілде жұмыс істеуі кезінде ПХД-ластанған тұнба мен топырақты – полихлордифенил (ПХД) қалдықтарының көлемді түрін жою ұзақтығы 11-12 жылды құрайды. Қосымша қалдықтармен жұмыс істеу мәселесінде шешілмеген көптеген проблемалар бар. Қазақстан Республикасында құрамында полихлордифенил (ПХД) бар жабдықтарды басқару, мониторингілеу және бақылау жүйесі, пайдаланылатын жабдықтарды экологиялық қауіпсіз басқару және қалдықтармен жұмыс істеу жөніндегі нормативтік базасы жоқ. Кәсіпорындарда және бақылаушы органдар тарапынан жабдықтарды пайдалануға мониторинг пен бақылауды жүзеге асыруға қабілетті оқытылған персоналдың жетіспеушілігі байқалады. Құрамында полихлордифенилдер (ПХД) бар жабдықтар мен қалдықтарды уақытша сақтауға арналған мамандандырылған арнайы орындар жоқ [81-85].

Полихлордифенилдермен (ПХД) жұмыс істеудің тиімді жүйесін ұйымдастыру үшін орнықты органикалық ластағыштар туралы Стокгольм конвенциясы бойынша Қазақстан Республикасының міндеттемелерін орындаудың Ұлттық жоспарын бекіту және орындау қажет. Жоспарды табысты орындау үшін мемлекеттік органдар мен жеке құрылымдардың шынайы деректерді ұсынғаны үшін жауапкершілігі туралы үкіметтік шешім орынды.

Елде тұрақты органикалық қосылыстар жөніндегі мамандандырылған орталық құру қажет, ол мониторингтік зерттеулерді, ақпарат жинауды, нормативтік базаны дайындауды, қосымша ластанған жабдықтарды пайдаланудан шығаруды және ластанған аумақтарды оңалтуды қоса алғанда, Қазақстан Республикасы Ішкі Істер Министрлігінің Ішкі қауіпсіздік департаменті бойынша барлық мәселелер шеңберімен айналысатын болады. Құрамында қосымша қалдықтармен жұмыс істеу жөніндегі жұмыстарды орындау үшін арнайы зертханалық база, оның ішінде диоксин зертханасын құру қажет.

Тұрақты органикалық қосылыстардың адам денсаулығына және қоршаған орта объектілеріне әсерін ескере отырып, аталған мәселелерді шешуде бірқатар комплексті шараларды қолдану қажет [86-88].

Тұрақты органикалық қосылыстардың қоршаған ортаға әсері, жалпы биогеоценозға табиғи айналым жолымен түсіп, өз әсерін бірнеше жылдар бойы тұрақты сақтайды. Тұрақты органикалық қосылыстар (ТОҚ) қоршаған ортаның өзгерістерінің белгілі процестерінің көпшілігіне төзімді. Тұрақты органикалық ластағыштарды қоршаған ортада таралуының көптеген жолдары бар. Пестицидтермен ластанудың негізгі көздері оларды пайдалану, тасымалдау, сақтау болып табылады [89-91]. Кейбір басқа химиялық заттар полихлорланған дифенилдер (ПХД), пентахлорфенол, конденсаторлар мен трансформаторлардағы майлар, диэлектрлік және салқындатқыш сұйықтықтар ретінде консервациялау үшін пайдаланылады және ағын сулармен, булану нәтижесінде қоршаған ортаға шығарылады. Диоксиндер, фурандар, полициклді хош иісті көмірсутектер (ПАУ) және гексахлорбензол сияқты бірқатар заттар көптеген өнеркәсіптік процестердің жанама өнімдері тікелей ауаға шығарылады [92-100].

Тұрақты органикалық ластағыштардың қоршаған ортадағы көптеген процестерге тұрақты болуына қарамастан, қоршаған ортада кейбір молекулалық өзгерістер болуы мүмкін, олар неғұрлым қарапайым немесе токсинді қосылыстарға дейін ыдырайды. Тұрақты органикалық ластағыштардың метаболиттерінің кейбірі бірдей күрделі және тіпті бастапқы молекулаларға қарағанда токсинді болып келеді [101]. Қоршаған ортадағы ТОҚ ыдырау процестерінің көпшілігіне микроорганизмдер әсер етеді. Дегенмен, тұрақты органикалық ластағыштардың биodeградация процестерінің жартылай ыдырау кезеңі өте ұзақ болып табылады, бұл олардың қоршаған ортада ұзақ сақталуына мүмкіндік береді [102, 103]. Олар қоршаған ортаға, адамдарға, өсімдіктер мен жануарлардың түрлеріне және табиғи экожүйелерге тікелей әсер етеді [104-106].

Тұрақты органикалық ластағыштардың қосымша дозасының адамға денсаулығы үшін бірқатар теріс әсерлерді тудыруы мүмкін, соның ішінде: өлімге әкелу, обыр ауруларының түрлері, аллергия, жоғары сезімталдық, жасқа байланысты өзгеруі, орталық және перифериялық нерв жүйесінің зақымдануы, эндокриндік, репродуктивтік және иммундық жүйелердің бұзылуы.

Тұрақты органикалық ластағыштардың әсері эмбриондардың даму процесінде әртүрлі кемістіктерінің туындауына, созылмалы ауруларға және өлімге әкелуі мүмкін. Олардың кейбірі канцерогендер болып табылады, сүт безі обырын қоса алғанда. Көптеген тұрақты органикалық ластағыштардың қосылыстары репродуктивті жүйеде, орталық жүйке жүйесінде немесе иммундық жүйеде эндокриндік бұзылуларды тудыруы мүмкін [107-110]. Тұрақты органикалық ластағыштардың әсеріне адамдар кездейсоқ немесе кәсіби түрде май тіндерінде биоаккумуляциялануы мүмкін және биоценоз тізбегіндегі биоаккумуляция нәтижесінде жануарлардан алынатын өнімдерден де тікелей адам организміне түсіп отырады. Жалпы қан сарысуындағы тұрақты органикалық ластағыштардың деңгейі ерлерге қарағанда жасы ұлғайған әйелдерде жоғары кездеседі [111-115].

АҚШ-тың қоршаған ортаны қорғау жөніндегі агенттігінің деректері бойынша балықтардың, құстардың және сүтқоректілердің кейбір түрлерін қоса алғанда, жабайы табиғат түрлеріндегі аурулар немесе аномалиялардың жиілігінің артуы мен әсерінің арасында байланыс бар. Теңіз және жағалау ортасындағы

пестицидтердің теріс салдарларына тірі коралл жамылғысының азаюы және балдырлар мен губкалардың ұлғаюы, сондай-ақ балдырлар мен басқа да су өсімдіктерінің гербицидтермен келтірілетін зардаптары сияқты рифтік қауымдастық құрылымындағы өзгерістер жатады [116-120].

Пестицидтер өсімдіктерге тікелей дақылдарды, азық-түлік қорларын өңдеу кезінде, сондай-ақ топырақтың, судың, ауаның ластануы нәтижесінде түсуі мүмкін. Жануарлардан алынатын өнімдерге, атап айтқанда, сүтке, ет пен майға пестицидтер эктопаразиттерді жою мақсатында жануарлардың терісін өңдеген кезде, сондай-ақ мал құрамында улы химикаттардың қалдықтары бар жемді пайдаланған кезде түсуі мүмкін. Пестицидтермен ластанған тағамдарды ұзақ уақыт тұтыну адам ағзасына зиянды әсер етеді. Пестицидтердің адам ағзасына жағымсыз әсері жедел және созылмалы улану түрінде көрінуі мүмкін. Жедел улану көбінесе пестицидтерді қолдану ережелерін және пестицидтермен өңделген тағамдарды пайдалану ережелерін өрескел бұзған кезде пайда болады (мысалы, гранозанмен уланған тұқым дәнін пайдалану). Созылмалы улану құрамында пестицидтер бар тамақ өнімдерін шекті рұқсат етілген концентрациядан сәл асатын дозада ұзақ уақыт қолдану нәтижесінде пайда болады. Созылмалы уланудың көрінісі көбінесе асқорыту органдарының (бауыр, асқазан), жүрек-тамыр жүйесінің ауруларымен бірге жүреді [121-125].

Бүкіл әлемде арамшөптер мен зиянкестерден болатын жыл сайынғы шығындар ықтимал өнімнің 34% - ын құрайды және 75 млрд. доллармен бағаланады. Пестицидтерді қолдану егіннің едәуір бөлігін сақтайды, сондықтан оларды қолдану ауыл шаруашылығына тез енгізіледі, бірақ бұл көптеген жағымсыз әсерлерге алып келеді. Зиянкестермен қатар олар күрделі экологиялық жүйелерді бұзып, көптеген басқа жануарлардың өліміне ықпал етеді. Кейбір пестицидтер біртіндеп қоректік тізбектерде жиналып, адам ағзасына азық-түлікпен бірге еніп, әртүрлі қауіпті ауруларды тудыруы мүмкін. Кейбір биоцидтер генетикалық аппаратқа радиациядан қарағанда қатты әсер етеді [126]. Пестицидтердің топырақтағы сақталу ұзақтығы олардың құрамына байланысты. Тұрақты органикалық қосылыстардың ыдырау уақыты 10 жылға дейін және одан да көп уақытқа созылуы мүмкін.

Қазір көптеген елдерде қоршаған ортаның пестицидтермен ластануын бақылау жүргізілуде. Пестицидтер үшін топырақтағы ШРК нормалары белгіленген, олар топырақтың жүзден және оннан бір бөлігін құрайды [127].

Пестицидтердің топыраққа түсуі оларды тікелей енгізумен қатар, өсімдіктерді суарумен және өсімдіктер бетінен жауын-шашынның ағып кетуімен, егістіктерді, орман алқаптарын өңдеу кезінде препараттарды бұзумен және т. б. байланысты, топырақта пестицидтердің жинақталу мүмкіндігі оларды қолдану шарттарымен (тұтыну нормалары, өңдеу жиілігі), препараттардың тұрақтылығы мен ерігіштігі, топырақтың түрі, рН, температура мен ылғалдылық, сілтілену жағдайлары, өсімдіктердің белсенді емес әсері, ену тереңдігі және т. б. байланысты. Топырақтағы химиялық және биологиялық процестердің нәтижесінде ондағы пестицидтердің мөлшері азаяды, дегенмен олардың қалдық мөлшері жүзден он микрограммға дейін 1кг құрайды. Құмды топырақтардағы пестицидтер тұрақтылығы ең аз, ал саз, органикалық заттар, темір, алюминий

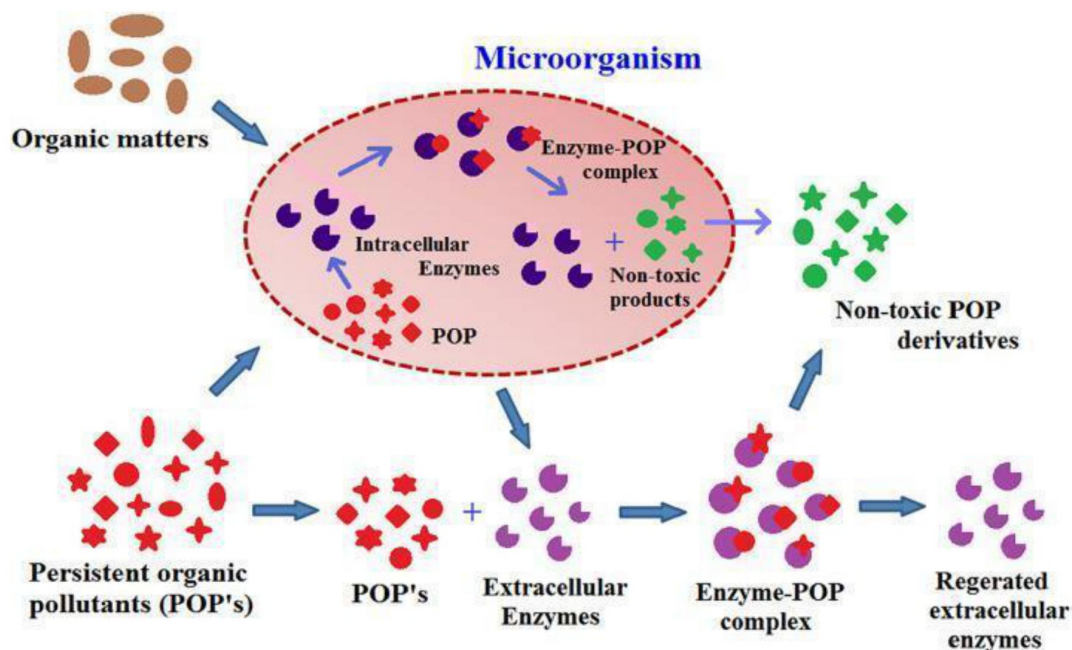
және марганец иондары көп топырақтарда ең тұрақты пестицидтер кездеседі. Топырақта пестицидтер абиотикалық факторларға (жарық, ауа, су) ұшырайды, олардың ыдырауында микроорганизмдер маңызды рөл атқарады. Сонымен қатар гидролиз, тотығу, демитилизация және басқа процестердің нәтижесінде пестицидтер ыдырайды, бірақ кейде улы өнімдер пайда болуы мүмкін [128-130].

Сонымен, қоршаған ортадағы тұрақты органикалық ластағыштардың баяу ыдырауы тірі организмдер үшін өте қауіпті, әсіресе токсинділігінің әсерінен топырақ шөгінділерінде жинақталу және олардың биоаккумуляциясымен су және жер үсті биоценоз тізбектеріндегі биоаккумуляциясы жоғарылауы мүмкін.

1.3 Қоршаған орта биоремедиациясында микроорганизмдер мен микробтық консорциумдарды пайдалану артықшылықтары.

Табиғи жағдайда пестицидтер ретінде қолданылатын барлық химиялық қосылыстар абиотикалық және биотикалық факторларға байланысты белгілі бір дәрежеде деградацияға ұшырайды. Биотикалық факторлардың ішінде бұл процесте топырақ микрофлорасы жетекші рөл атқарады. Көптеген пестицидтер ультракүлгін сәулеленудің әсерінен, кейбір улы қосылыстар гидролиз нәтижесінде ыдырайтыны анықталды, сонымен қатар пестицидтер микроорганизмдермен белсенді түрде ыдырайды. Қазіргі уақытта пестицидтерді улы емес қосылыстарға ыдырата алатын саңырауқұлақтар, бактериялар, актиномицеттер, балдырлар штамдарының көптеген түрлері белгілі. Пестицидтерді микроорганизмдермен жоюдың ұзақтығы заттың химиялық құрамына, микроорганизмдердің түрлеріне, топырақтың қасиеттеріне (температура, аэрация және т.б.) байланысты бірнеше күннен бірнеше айға дейін, кейде ондаған жылдарға дейін созылуы мүмкін. Сондықтан токсинді хлорорганикалық қосылыстарды залалсыздандырудың барлық белгілі әдістерінің ішінде биотехнологиялық әдістер ең перспективті әдісі болып табылады. Микробиологиялық залалсыздандыру әдістерінің басқа әдістерден артықшылығы микроорганизмдердің ферменттік жүйелердің алуан түрлілігіне және метаболизмнің үлкен тұрақсыздығына ие болуымен түсіндіріледі, бұл химиялық төзімді қосылыстардың кең спектрін ыдыратуға мүмкіндік береді. Сонымен қатар бұл әдіс өзінің артықшылықтарын үнемді және термодинамикалық тұрғыдан қол жетімділігімен көрсете білді, себебі микроорганизмдер пестицидпен ластанған кез-келген химиялық затты қолдана алады. Қолайлы жағдайларда микробтар пестицидтерді көміртек, күкірт көзі және электронды донор ретінде пайдаланады. Солардың ішінде бактериялар (*Bacillus*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Moraxella*, *Acinetobacter*, *Arthrobacter*, *Paracoccus*, *Aerobacter*, *Alkaligenes*, *Burkholderia* and *Sphingomonas*), актиномицеттер (*Streptomyces*) мен саңырауқұлақтар (*Fusarium*, *Aspergillus niger*, *Penicillium*, *Lentinula edodes*, *Lecanicillium*, *Oxysporum*) хлорорганикалық пестицидтерді, полихлорланған дифенилдерді, полициклді хош иісті көмірсутектерді, орғанофосфор қосылыстарын деградацияға немесе детоксикациялауға қабілетті екені анықталған. Сондай-ақ, пестицидтер түріндегі тұрақты органикалық ластағыштар микробтық ферменттермен, атап айтқанда дегидрогеназа, лигниназа, оксигеназа, пероксидаза, фосфотриэстераза,

гидролаза, дегалогеназа, лаказа және органофосфор қышқылының ангидролаза ферменттерінің көмегімен ыдырайды [131-135].



Сурет 3. Тұрақты органикалық қосылыстардың микробтық деградациясы (J. Aravind kumar, T. Krithiga, S. Sathish, A. Annam Renita, D. Prabu, S. Lokesh, R. Geetha, S. Karthick Raja Namasivayam, Mika Sillanpaa. Persistent organic pollutants in water resources: Fate, occurrence, characterization and risk analysis. *Science of The Total Environment*, vol. 831, 2022, 154808)

Аэробты целлюлозаны ыдыратушы микроорганизмдер санының өзгеруі топырақтың целлюлозаны ыдырататын белсенділігімен байланысты. Алынған деректерді салыстыру зығыр маталардың ыдырауының ең жоғары белсенділігі флавобактеринмен тұқымдарды өңдеумен нұсқада пайдалы микрофлорамен топырақты байыту кезінде байқалғанын көрсетеді. Бұл нұсқадағы тіндердің жойылу дәрежесі бақылауға қарағанда (2,8 есе) және химиялық заттарды қолданған кезде (3,3– 3,4 есе) айтарлықтай жоғары. Пестицид пен бактериялық тыңайтқыш қоспасы қолданылған нұсқада химиялық нұсқаларды басқарумен салыстырғанда целлюлозаны ыдырататын процестердің белсенділігі де байқалды [136].

Топырақ микроорганизмдерінің органикалық қосылыстардың, оның ішінде өсімдік қалдықтарының ыдырауында, топырақ құнарлылығын арттыруда және өсімдіктердің қоректенуін оңтайландыруда таптырмайтын рөлі белгілі. Көптеген зерттеушілер дақылдардың өнімділігі мен топырақтың биологиялық белсенділігі арасындағы тығыз оң байланысты атап өтті. Топырақта тіршілік ететін микроорганизмдердің едәуір бөлігі органикалық заттар мен минералды қоректену элементтерінің қол жетімді емес формаларын өсімдіктерге оңай сіңетін формаларға айналдыруға белсенді қатысатындығы анықталған. Микроорганизмдердің бұл тобы топырақтың биологиялық белсенділігін

анықтайды. Атмосфералық ылғалдың жетіспеушілігімен топырақтағы ең белсенді микробиологиялық белсенділік көктемде ылғалмен қамтамасыз етілген кезеңде жүреді.

Көптеген пестицидтер топырақ биотасына біркелкі емес, жиі теріс әсер етеді. Пестицидтерді қолдану топырақтағы экологиялық жағдайдың өршуіне алып келуі мүмкін, топырақ микробиоценозын өзгертеді – микроорганизмдердің кейбір топтарын тежейді және басқалардың көбеюін ынталандырады, физиологиялық топтардың кейбір өкілдері фитотоксиндік улы қосылыстарды түзуге қабілетті және осылайша топырақты тазартау мақсатында қолданылатын препараттардың теріс әсерін күшейтеді.

Л. В. Коваленко өсімдіктерді қорғауда химиялық хлорорганикалық пестицидтердің ұсынылған дозаларын кешенді қолдану аммонификациялайтын бактериялар санының азаюына алып келетіні, топырақтағы целлюлозаны ыдыратуға қабілетті микроорганизмдердің микроценозының өзгеріске ұшырайтыны анықталды. Зерттеуші ғалымдардың жұмыстарында пестицидтер топырақтың токсинділігін анықтап қана қоймай, сонымен қатар тамыр жүйесі мен өнімде толық жиналып, экологиялық тұрғыдан сапасыз төмен өнім алуға әкелетінін атап өтті. Волгоград облысында астық тұқымдарын көптеген ондаған жылдар бойы кеңінен хлорорганикалық пестицидтерді қолдану салдарынан топырақ микробиоценозында аммонификациялаушы, олигонитрофилдер және фосфор ыдыратушы бактериялардың азаюы байқалған [137-140].

Топырақтың ықтимал құнарлылығының деңгейі тек гумустың сандық және сапалық көрсеткіштеріне және оның қоректік режимін анықтайтын қоректік заттар кешеніне ғана байланысты емес екені белгілі. Басқа көрсеткіштермен қатар ол егістік қабатының микробиологиялық және ферментативті белсенділігімен анықталады. Негізінен топырақтың биохимиялық қасиеттерін анықтайтын микробтық қауымдастық - бұл белгілі бір экотрофты бірлікті құрайтын әртүрлі түрлердің бірге өмір сүретін микроорганизмдердің жиынтығы. Экожүйенің барлық биотикалық компоненттерінің ішінен микробтық қауымдастық экожүйелердің ауылшаруашылық дамуы кезінде болатын экологиялық жағдайдың өзгеруіне және антропогендік әсердің басқа түрлерінің, соның ішінде ластаушы заттардың болуына өте сезімтал. Әр түрлі микроорганизмдердің бір-бірімен және өсімдікпен, сондай-ақ агробиоценоздың басқа компоненттерімен қарым-қатынасының күрделілігі мен әртүрлілігі топырақтың фитосанитариялық жағдайын және оның тұрақтылығын анықтайды [141-143].

Ластанған топырақтың микробиоценоздарының құрамын, сондай-ақ токсинді химикаттарды көму аумағындағы топырақты зерттеу қоршаған орта мониторингі үшін де, токсиканттардың жоғары дозаларына төзімді микроорганизмдерді бөліп алу үшін де айтарлықтай ғылыми қызығушылық тудырады. Топырақтың ластануының әртүрлі түрлері үшін тиісті арнайы штамм-деструкторлар қолданылады. Пестицидтерге төзімді микроорганизмдердің бөлінуін ұзақ уақыт пестицидтердің жоғары концентрациясы бар топырақ сынамаларында жүргізген жөн. Сонымен қатар топырақтың әр түріне белгілі бір штамм-деструкторлар тән. Аборигендік деструкторларды тікелей ластанған

аумақтан енгізу әдісін қолданған кезде табиғи микрофлора қауымдастығынан ең белсенді штамдар бөлінеді, оңтайлы өсіру жағдайларын таңдайды, биомасса шығарады және оны ластанған ортаға енгізеді, содан кейін стандартты агротехникалық әдістермен белсендіріледі [145].

Топырақ бактериялары жоғары бейімделу потенциалына және ерекше ферменттік жүйелерге ие және көптеген пестицидтерді деградациялауға қабілетті. Микроорганизмдердің бұл қабілеті топырақтың биоремедиациясының әртүрлі әдістерін жасауда кеңінен қолданылады. Пестицидтердің деградация процесін күшейту үшін қолданылатын негізгі тәсіл – микроорганизмдердің дақылдарын – (токсиканттардың белсенді деструкторларын) топыраққа енгізу. Микроорганизмдерді қоршаған ортаға енгізер алдында олардың тіршілікке қабілеттілігін және пестицидтің биодеградациясының тиімділігін бағалау қажет.

Микроорганизмдердің дақылдары табиғи субстраттардың үлгілерінен бөлініп алынады немесе коллекциялық штамдар қолданылады. Ластаушы заттардың концентрациясының жоғары дәрежесінде микроорганизмдерді дақылдау белсенді деструкторларды таңдауға мүмкіндік береді. Мұндай жағдайларда өсу қарқыны төмен және осы ластаушы заттардың биодеградациясы жеткіліксіз көрсеткіші бар микроорганизмдер алғашқы қауымдастықтардан шығарылады [146].

Осыған байланысты, заманауи биотехнологияның өзекті міндеттерінің бірі ксенобиотиктермен ластанған топырақты оңалтуға байланысты міндеттер кешенін шешу үшін аборигендік микрофлорадан алынған деструктор штамдар негізінде биопрепараттар құру болып табылады. Қазіргі уақытта монокультуралар түрінде де, консорциумдарда да микроорганизмдердің көптеген штамдары бөлініп алынған. Ксенобиотиктерді ыдыратуға қабілетті топырақ микроорганизмдерінің негізгі тобы 100-ден астам органикалық қосылыстарды ыдыратуға қабілетті *Pseudomonas* туысына жататын бактериялардан тұрады. *Pseudomonas* туысының көптеген бактериялары хош иісті және галогені бар органикалық қосылыстардың ыдырауын катализдейтін ферменттерді кодтайтын плазмидтерді тасымалдайды [147].

Антропогендік әсерлер топырақтың физикалық, химиялық және биологиялық деградациясына ғана емес, құнарлылығының жоғалуына, өнімдер мен жемде токсинді заттардың жиналуына алып келеді. Сондықтан топырақтың бастапқы қасиеттерін қалпына келтіру (ремедиация) жолдарын іздеу және жүзеге асыру өте маңызды жұмыстардың бірі болып табылады. Осыған байланысты әр түрлі микроорганизмдерді қолдануды қамтитын биоремедиация әдістері негізінде қоршаған орта жүйелерін қалпына келтіру жұмыстарын жүргізу үшін жүйелі деңгейлер мен микроорганизмдер және олардың консорциумдары кеңінен қолданылады. Топырақтың супрессивтілігін қалпына келтіру оны фитопатогендер мен микробтық фитотоксиндерден босатудан, поллютанттар мен ксенобиотиктердің детоксикациясынан шыққан техногендік және агрогендік шығу тегіне байланысты болады [148]. Топыраққа үнемі антропогендік әсер ету арқылы топырақтың құрамы өзгеріске ұшырайды немесе "сау" топыраққа тән микробоценоздар жойылады [149]. Сау топырақ деген ұғымның мағынасы топырақ биожүйесі берілген кеңістік шекараларында өсімдіктер мен

жануарлардың өнімділігін, су мен ауаның қолайлы сапасын сақтау, сонымен қатар адамдардың, жануарлар мен өсімдіктердің денсаулығын қамтамасыз ету дегенді білдіреді [150]. Қоршаған ортаны техногендік ластанудан тазарту әдістерінің ең тиімді әдістерінің бірі биоремедиация болып табылады. Биоремедиация кезінде топырақ құнарлылығының бастапқы параметрлерін біртіндеп қалпына келтіру өсімдік-микробтық жүйеге байланысты өздігінен жүруі мүмкін. Алайда бұл процестер кейде өте баяу жүреді және қалпына келтіру процестерінің жылдамдығын арттыру үшін күш қажет, бұл топырақ биотехнологиясының бірінші кезектегі міндеттері [151]. Қоршаған ортаны тазартудың басқа әдістерімен салыстырғанда ластану биоремедиациясы *in situ* әлдеқайда арзан әдіс болып табылады. Сараптамалық биоремедиация әдістерінің орташа құны химиялық әдістер құнының 20% - ынан арзан деп бағаланады. Диффузиялық ластану кезінде биоремедиацияға балама жоқ [152]. Мүмкіндігі бар өнеркәсіптік биотехнологиядан айырмашылығы технологиялық процестің барлық параметрлеріне төтеп беру, биоремедиация, әдетте, ашық жүйеде жүзеге асырылады. Поллютанттардың алуан түрлілігі, соның ішінде биологиялық токсиндер биоремедиация әдістерінің алуан түрлілігін және биоремедиатор организмдердің кең ауқымын қолдануды талап етеді. Биоремедиация процесінің жылдамдығы мен сапасы организмдердің немесе биожүйелердің үш мүмкіндігімен анықталады: 1) қосылыстарға дейін ластаушы заттарды жою мүмкіндігі аз токсинді немесе токсинді болмауы; 2) поллютанттарды органикалық қосылыстардан алу және оларды детоксикациялау қабілеті; 3) токсин түзуші организмдердің қызметін тежеу қабілеті. Биоремедиаторлардың бірінші ерекшелігі экзоэнзимдер синтезімен байланысты, көбінесе гидролитикалық немесе оксидоредуктаза, екінші ерекшелігі токсиканттарды белсенді емес күйге дейін ыдырататын әртүрлі метаболиттік механизмдермен анықталады, үшіншісі антагонистік репрессия механизміне негізделген [153].

Биоремедиациялық шаралар жүйесінде ластанған топырақтың токсинділігін төмендетуге қабілетті микроорганизмдердің келесі топтарына жіктеледі:

- аборигенді микрофлора. Ксенобиотиктерді ыдыратуға қабілетті немесе топырақ микрофлорасының автохтонды түрлері;

- бөлініп алынған микроорганизм штамдары ластаушы заттарға қатысты деструктивті қабілеті болу керек. Бұл жағдайда аборигенді микрофлора да, басқа ластанған орындарынан бөлініп алынған микроорганизмдер де қолданылады (биоаугментация).

- бір-біріне қолайлы жағдай тудыратын, микроорганизмдердің консорциумдары;

- жоғары сатыдағы өсімдіктер мен микроорганизмдердің симбиозды тіршілік процесі, ластаушы заттарды жинай алатын фиторемедиторлар ретінде ұсынылады.

Осылайша, әртүрлі жүйелік топтардың ағзаларын қолдана отырып, техногендік аумақтарды қалпына келтіруде салыстырмалы түрде үлкен тәжірибе жинақталды. Сонымен қатар, биодеградация процесінің жылдамдығына және тазарту тереңдігіне әсер ететін абиотикалық факторларды зерттейтін стандартты

зерттеулер жүргізілуде, ластаушы заттардың температура, рН, ылғалдылық, аэрация деңгейі, ластаушы заттардың концентрациясы, деструктивті микроорганизмдер үшін минералды және органикалық қоректену көздерінің болуы және т. б. факторлар әсер етеді [154].

Биоремедиациялық іс-шаралардың экологиялық-токсикологиялық сипаттамасы үшін қауіпсіздікті және топырақты биоремедиациялау технологиясының тиімділігі:

1. Іріктеліп алынған деструктор штамдардың адамдар мен жануарлар үшін қауіпсіздігін зерттейді, дәрілік препараттарды өндіруші микроорганизмдер үшін халықаралық тәжірибеде қабылданған ең қатаң критерийлер бойынша жануарларда сынама өткізеді.

2. Биоремедиация алдында топырақтағы химиялық ластаушы қосылыстардың нақты құрамы және олардың топырақ қабаттары бойынша бөлінуі туралы ақпаратты қамтитын учаскенің картасын жасау, химиялық талдау өткізу.

3. Биоремедиацияның тиімділігін жан-жақты бағалау үшін топырақтың интегралды токсинділігі және оның биофункционалды белсенділігі зерттеледі.

4. Биоремедиация аймағында тұратын халықтың сырқаттану қаупін бағалайды.

Қазіргі уақытта жиі қолданылатын әдістер тобы ластанған жерлерге жергілікті микроорганизмдердің популяцияларды ынталандыру үшін әртүрлі заттар қосылады: тотықтырғыштар, косубстраттар (меласса, этанол, көң, көң ағындары), азот және фосфор көздері, эмульгаторлар. Аэрацияны жақсарту үшін топырақ қопсытылады. Автохтонды микрофлораны белсендірудің әртүрлі технологияларын қолданудың тиімділігі топырақтың жасына және ластану дәрежесіне, топырақтың механикалық құрамына, тазаланатын аумақтың көлеміне және оны шаруашылықта пайдалану бағытына байланысты [155].

Микроорганизм-деструкторларды енгізудің міндетті шарттары мыналар болып табылады: деструктор-микроорганизмдер енгізілетін экожүйенің жағдайын жан-жақты зерттеу, ластаушы заттың шоғырлану деңгейі; интродуценттің деструктивті белсенділігі. Бөлінген микроорганизм-деструкторды енгізу сәттілігінің болжамы оның модельдік экожүйеде тұрақтануын және ластаушы заттың тиісті концентрациясына байланысты микроорганизмнің деструктивті қасиеттерін тексеру негізінде жасалады. Бұл болжамдар осы микроорганизмге тән метаболиттік ерекшеліктері интермедиаттарының абсолютті экологиялық қауіпсіздік көрсеткіштерімен біріктірілуі керек [156-158].

Сонымен қатар, биоремедиациялық шаралардың айтарлықтай жетістіктері топырақ үшін табиғи (шымтезек, сапропель, түрлі өсімдік қалдықтары) және жұқа талшықты, ұсақ түйіршікті, түрлі тасымалдаушыларға деструктор микроорганизмдерді иммобилизациялау әдісіне байланысты. Теңіз бактерияларын биоремедиациялау процесінде қолдану мүмкіндігі туралы мәліметтер бар [159]. Теңіз суларынан бөлініп алынған бактериялардың детоксикация, көмірсутектер және басқа да қауіпті қосылыстар мен ксенобиотиктер үшін қолдануға мүмкіндік беретін қасиеттері бар екені белгілі.

Бұл бактериялардың әсер ету механизмі клеткадан тыс полимерлі заттарды шығару қабілетіне негізделген. Теңіз бактерияларын алдын-ала генетикалық манипуляцияларсыз биоремедиация мақсатында қолдануға болады. Кейбір микроорганизмдердің жоғары тұрақтылық деңгейі оларды биоремедиацияда қолдану негіздерінің бірі болып табылады [160-165].

Пестицидтердің әлемдік ассортиментін және ластанған топырақты қалпына келтірудің биологиялық әдістерін қолданудың экономикалық тиімділігін ескере отырып, деструктор микроорганизмдерінің практикалық қолданылуы ұсынылады. Хлорорганикалық пестицидпен (ДДТ) ластанған топырақты биоремедиациялау үшін ақ зең саңырауқұлағы және оның метаболиті лакказа сығындысымен деградациялау әдісі қолданылды [166]. Фосфонатпен ластанған N-фосфометилглицинмен топырақтан бөлініп алынған *Pseudomonas fluorescens*, *Rhodotorula glutinis*, *Saccharomyces*, *Candida*, *Pichia*, *Thiobacillus* туысының өкілдері гликофосфататқа төзімді штамдарын осы ксенобиотиктің биодеградациясының биотехнологиялық процестерінде қолдану мүмкіндігі эксперименталды түрде дәлелденген [167-168].

Деструктивті микроорганизмдердің қатарына перспективті бактериялардың ішінде топырақта кездесетін автохтонды микрофлора өкілдері жатады [169]. *Bacillus* және *Pseudomonas* туыстарының өкілдері тұрақты органикалық қосылыстарды биодеструкторлар мен биосорбенттердің қасиеттерін біріктіретін штамдар болып есетеледі [170]. Зерттелген штамдар стационарлық жағдайда теңіз және тұщы су бетінен мұнай қалдықтарын ыдыратуға қабілетті екені анықталды, деструкция тиімділігі 14-21 тәулік ішінде 60% - дан 98% - ға дейін артқаны байқалады. тұрақты органикалық қосылыстарды белсенді түрде деградациялауға қабілетті бактериялардың ішінде *Acinetobacter* және *Mycobacterium* туыстарына жататын штамдар анықталды [171].

Химиялық кәсіпорындардың қалдықтарымен ластанған топырақтардан моно -, полиароматикалық көмірсутектерді және бірқатар хлорорганикалық қосылыстарды ыдыратуға қабілетті микроорганизмдер бөлінді. Деструктивті бактериялар *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Alcaligenes*, *Rhodococcus*, *Mycobacterium*, *Cellulomonas*, *Arthrobacter*, *Brevibacterium* туыстарына жатқызылды. Анықталған бактериялар ксенобиотиктерді температураның кең диапазонында, қоршаған ортаның әртүрлі рН деңгейінде және натрий хлоридінің жоғары концентрациясы болған кезде деградациялауға қабілетті [172].

Биоремедиацияға арналған биопрепараттар жасау үшін полихлорланған бифенилдермен ластанған топырақты *Bacillus* туысының бактерияларының белгілі штамдарын қолдану перспективті болып табылады. Гексахлорциклогексанмен ластанған топырақтан бөлініп алынған *Bacillus* туысының бактерияларының коллекциялық штамдары қоректену мен энергияның жалғыз көзі бифенилдерді пайдаланады және бифенилді қосылыстарды белсенді түрде деградациялауға қабілетті [173].

Микробтық қауымдастықтарға микроорганизмдердің бірнеше түрлері немесе штамдары кіреді. *Pseudomonas stutzeri* және *Pseudomonas putida* штамдарының қауымдастығы антропогендік ластану аймақтарындағы

цианидтер мен тиоцианаттарды өте жоғары концентрацияда ыдыратуға қабілетті [174]. *Pseudomonas* туысының өкілдерінің қауымдастығы тіршілік барысында цианидтерді азот көзі, ал тиоцианатты күкірт көзі ретінде пайдаланады [175].

Микроорганизмдер ластағыш қосылыстардың микробтық биодеградациясына қатысуы, ризосферадағы катаболикалық белсенділікті арттыру, органикалық ластаушы заттардың фитотоксинділігін төмендету, өсімдіктердің өсуін ынталандыру арқылы фиторемедиацияға қатысады. Бұл жағдайда бірдей ксенобиотиктердің ыдырау жолдары әр түрлі болуы мүмкін. Көбінесе биологиялық қосылыстардың деградациясын күшейту үшін биопрепараттарды микроорганизмдердің консорциумы түрінде қолдану тиімді болып табылады.

Микробценоздардың құрылымы химиялық құрамы, мөлшері және қоршаған ортадағы ксенобиотиктердің тұрақтылығына байланысты болады. Деструктивті микроорганизмдердің скринингі топырақтың пестицидпен ластану аймақтарынан бөлініп алынатын микроорганизмдер мен биоиндикаторлы организмдерді аламыз. Белгілі бір препараттардың белсенді деградациясына қабілетті бактериялар, микромицеттер мен балдырлар арасындағы микроорганизмдердің таза дақылын іздеу және бөліп алу топырақты хлорорганикалық пестицидтерден биоремедиациялау шараларында пайдаланылады [176]. Топырақ микроорганизмдері қоршаған ортаның химиялық компоненттеріне белсенді әсер етеді. Жаңа қосылыстар пайда болған кезде микроорганизм жасушасы кездейсоқ емес ерекше қосылыстарға шабуыл жасайды [177-179]. Табиғи жағдайда микроорганизмдердің пестицидтерді ыдырату процесіне қосқан үлесі 10-70% бағаланады [180]. Микроорганизмдердің пестицидтерді ыдырату қабілеттерін жүзеге асыру үшін келесі шарттар қажет: пестицидтерді ыдыратуға қабілетті болуы қажет, пестицидтердің түрлену процестерін катализдейтін ферменттер синтезі үшін қажетті оптимальды жағдайлардың болуы, ферменттің өзгеру реакциясын жүзеге асыру үшін микроорганизмдердің белсенді болуы. Егер жоғарыда аталған шарттардың бірі өзгерген жағдайда, топырақта пестицидтердің деградация процесінің жүруі мүмкін емес.

Ғылыми әдебиеттерде әртүрлі пестицидтердің белгілі бір жағдайда және белгілі бір топырақта микроорганизмдердің әсерінен өзгеруі туралы көптеген мысалдар келтірілген. Мысалы, микроорганизмдердің әсерінен хлорорганикалық препараттар (ДДТ) хош иісті сақиналардың бөлінуімен терең ыдырауға ұшырайды. Хлорорганикалық қосылыс, ГХЦГ гамма изомері, микроорганизмдердің әсерінен фенолдарға метаболизденеді, кейін молекуласы толық жойылады. Топырақ құрамындағы 2,4-ДДТ ыдырау жылдамдығы мен бактериялардың саны, қабаттың тереңдігіне байланысты топырақтағы органикалық көміртегі мөлшерінің өзгеруімен байланысты екендігі көрсетілген [181-186]. Көптеген зерттеуші ғалымдардың еңбектерінде топырақтағы көміртегі мөлшерінің өзгеруін топырақтағы пестицидтердің ыдырау жылдамдығының өзгеруін бағалау үшін белгілі параметр ретінде пайдалануды ұсынады.

Фосфорорганикалық пестицидтерінің негізгі ыдырау реакциялары аэробты жағдайда гидролиз және тотығу болып табылады. Фосфорорганикалық қосылыстарының гидролиз жылдамдығы ортаның рН-на, температураға байланысты. Карбаминді қышқыл эфирлерді детоксикациялаудың негізгі жолдары гидролиз және гидроксилдену, конъюгататтардың түзілуі болып табылады [187]. Әр түрлі жүйелік топтардың микроорганизмдері пестицидтердің деградациясына қабілетті. Мысалы, *Agrobacterium radiobacter* топырақ бактериясы атразин гербицидін 94% азотсыз ортада 72 сағат ішінде минерализациялауға қабілетті. Аталған штамды топыраққа енгізу гербицидті минералдандыру қабілетін 2-5 есе арттырды [188].

Линданның деградациясы күріш алқабынан жиналған топырақ үлгілерінен бөлініп алынған бактериялармен белсенді түрде жүзеге асырылады: *Bacillus sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Micrococcus sp.*, *Proteus sp.* хлорорганикалық пестицидтермен ластанған топырақты тазарту үшін көміртек көздері, атап айтқанда крахмал қосылады, бұл топырақ бактериялары мен саңырауқұлақтардың тез өсуіне алып келеді, метаболизм белсенділігін арттырады, осылайша пестицидтердің табиғи деградациясының жоғарылауына ықпал етеді [189].

Phanerochaete chrysosporium көмегімен хлорорганикалық мен фосфорорганикалық инсектицидтері мен гербицидтерінің деградациялауға қабілетті, ластаушы заттардың жоғары концентрациясына төзімді [190]. Жалпы, пестицидтерден топырақты тазартудың теориялық тиімді әдісі - оларды жоюға қабілетті микроорганизмдерді топырақта көбейту болып табылады. Алайда, осы саладағы жұмыстарды талдау көрсеткендей, инокулятты микробтың тиімді жүктемесі 10^7 - 10^9 КТБ/г топырақ немесе 0,2–20 т/га құрайды, пестицидтердің өндірістік концентрациясы 2-5 реттен жоғары кезде болады [191-194]. Сондықтан бүгінде тазарту қондырғыларында, өсімдіктерді қорғау құралдарын сақтау және тарату орындарында, сондай-ақ салыстырмалы түрде шағын аудандарда пестицидтердің жоғары концентрациясы бар төтенше жағдайлар кезінде пестицидтерді детоксикациялау үшін микробтық препараттарды қолдану қажет. Тұрақты хлорорганикалық пестицидтерді, оның ішінде ДДТ және ГХЦГ қоса алғанда, кеңінен және ұзақ қолдану олардың құрлықта және теңіздердің жағалау бөлігінде қазіргі уақытта тірі организмдерге теріс әсер ететін аймақтарының пайда болуына әкелді. Тұрақты хлорорганикалық қосылыстардың әсер ету аймақтарын азайту жөніндегі қалпына келтіру шараларының ішінде, атап айтқанда, қолда бар энергия субстратының (көң немесе сидерат) үлкен мөлшерін (кем дегенде 1%) енгізу арқылы ксенобиотиктермен ластанған топырақтарды микробиологиялық өзін-өзі тазартуды күшейту ұсынылады.

Псевдомонадалар ацетохлор сияқты хлоры бар гербицидтің ыдырауында да тиімді болды. Мысалы, *Bacillus sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Micrococcus sp.*, *Proteus sp.* күріш алқабындағы топырақ үлгілерінен оқшауланған линданды ыдыратуға қабілетті [195].

Саратов ғалымдары Гезагард гербицидімен ластану жағдайындағы топырақтың биологиялық белсенділігін зерттеді және пестицидтердің тозу қарқынын келесі технологиялық әдістермен анықтады: агротехникалық

әдістермен автохтонды микрофлораны ынталандыру және капсулаланбаған МО деструкторын енгізу – *Pseudomonas putida* П2.

Pseudomonas putida П2 штаммының енгізілуі топыраққа детоксикацияға жауап беретін микробиологиялық процестерді белсендіреді. Жойылу деңгейі 70-80% құрады [196]. *Pseudomonas sp.* штамдарының бірін енгізумен топырақтың инкубациясы 15 күннің ішінде 90-100% гербицид атразиннің минералдануына әкелді [197]. *Agrobacterium radiobacter* сонымен қатар 72 сағат ішінде атразинді 90% минералдандыруға қабілетті болды.

Ластанған топырақтардың, сондай-ақ пестицидтерді жою аймағындағы топырақтың микробоценоздарының құрамын зерттеу қоршаған ортаны бақылау үшін де, уытты заттардың жоғары дозаларына төзімді микроорганизмдерді оқшаулау үшін де үлкен ғылыми қызығушылық тудырады. Топырақтың әр түрлі ластануына байланысты тиісті деструктивті штамдар қолданылады. Ксенобиотиктерге төзімді микроорганизмдерді оқшаулауды топырақтан ұзақ мерзімді ксенобиотиктердің жоғары концентрациясында жүргізген жөн [198-201].

Сонымен қатар, топырақтың әр түрі үшін белгілі деструктивті штамдар, ең алдымен жергілікті микрофлораның өкілдері тән. Жергілікті деструкторларды тікелей ластанған аумақтан енгізу әдісін қолдана отырып, табиғи микрофлора қауымдастығының белсенді штамдары оқшауланған, оңтайлы өсіру жағдайларын таңдайды, биомасса шығарылады және ластанған ортаға стандартты агротехникалық әдістермен іске қосылып енгізіледі. Қазіргі уақытта деструкторлардың көптеген штамдары оқшауланған және культура түрінде де, консорциум түрінде де сақталған. Алайда пестицидтердің бірнеше түрін бірден жоюға арналған препараттар жоқ. Жоғарыда келтірілген мақсатқа байланысты жұмыс пестицидтермен ластанған жерден топырақты микробиологиялық зерттеу және деструкторларының тиімді микроорганизмдерін іздеу жұмыстары жүргізілген [202].

Деструктор микроорганизм штамдарын іздеу жұмыстары бірнеше саты бойынша жүргізіледі. Пестицидтер көмілген жерлерден және белгіленген аймақтағы топырақтың микробиологиялық құрамын зерттеу: Топырақтағы микроорганизмдердің басым популяциясын анықтау; Басым популяциялардың микроорганизмдерінің таза дақылдарын бөліп алу; Жалғыз органикалық көміртегі көзі ретінде ГХЦГ және 4,4-ДДТ пестицидтерін қолданатын деструкторлардың штамдарын таңдау; Идентификация үшін штам деструкторларының морфологиялық, культуралық және биохимиялық қасиеттерін зерттеу; күрделі биологиялық өнімді құру және бірлесіп өсіру мақсатында деструкторлардың штамдарының бір-біріне қатысты антагонистік байланысын анықтау; культуралардың деструктивті потенциалын анықтау және прометрин, 4,4 ДДТ пестицидтер топырақтарын тазартуға арналған биологиялық өнімдер жасау үшін ең перспективті штамдарды таңдау;

Саратов ғылыми-институтының ғалымдары тәжірибелерінде прометрин, 4,4-ДДТ және ГХЦГ пестицидтерінің мемлекеттік стандартты үлгілерін қолданған. Топырақ микроорганизмдерінің санын, ластаушы қосылыстарға төзімді физиологиялық топтарды анықтау үшін және көмілген жердегі топырақ микрофлорасының микробиологиялық құрамын (эксперименттік үлгілер) және 1

км қашықтықта жойылған аумақты (бақылау үлгілері) салыстырмалы зерттеу жұмыстары жүргізілген. Аэробты жағдайда ксенобиотикалық биодеградацияның бірінші кезеңі әр түрлі тотықтырғыштармен катализденетін тотығу метаболизм реакциялары болып табылады, олардың негізгілері дегидрогеназалар, осы ферменттерді микроорганизмдерде анықтау культурасының деструктивті қасиетін көрсетеді. Зерттеу нәтижесінде пестицидтер көмілген жерлерден алынған топырақтың микробиологиялық құрамын талдау ластанған топырақта аммонификациялаушы бактериялардың саны көбейіп, зенд саңырауқұлақтары мен аэробты целлюлоза ыдырататын бактериялардың саны азайғанындығын көрсетті. Сонымен, пестицидтердің көмілген жерінен оқшауланған *Pseudomonas putida* П2, *P. putida* П6, *P. putida* 8.3.2., *Jonesia den trifi cans* 151 штамдары ГХЦГ, 4,4-ДДТ және прометринге қарсы жоғары деструктивті белсенділікке ие екендігін көрсетті [203].

Экология және микроорганизмдердің генетикасы институтының ғалымдары Д.О. Егрова және В.В. Фарфоровна жүргізген тәжірибелері бойынша аэробты микроорганизмдердің деструктивті қасиетін жасанды селекция жүргізу арқылы анықтаған. 11 және 32 блоктардың топырақтары іріктеліп алынған және ДДТ-ны ыдырата алатын аэробты бактериялық қауымдастықтарды жасанды іріктеу процесінде қолданылған. Зертханаға іріктеу 4 кезеңде өткізілген. Нәтижесінде сабақтастық өзгерістері тіркелді, бұл микробтық қауымдастықтардағы бактериялық штаммдардың морфотиптерінің саны мен әртүрлілігінің төмендеуімен қатар жүргендігі анықталған. 16S рРНҚ талдауы мына штаммдардың өкілдерінің анықталғандығын көрсетті: *Bosea*, *Chryseobacterium*, *Cupriavidus*, *Kocuria*, *Mesorhizobium*, *Sphingobium*, *Terrabacter*. Нәтижесінде қауымдық селекция ДДТ-ны тиімді түрде ыдыратады - 10 айда 89-100%, ластаушы заттардың бастапқы концентрациясы 160 мг / л болды.

Дихлородифенилтрихлорэтан (ДДТ) - бұл хлорорганикалық кең спектрлі инсектицид. XX ғасырдың екінші жартысында. өсімдіктерді паразиттерден қорғау үшін бүкіл әлемде ауыл шаруашылығында кеңінен қолданылады. Белсенді пайдалану топырақтың, сондай-ақ экожүйенің басқа элементтерінің ластануына әкелді. ДДТ тұрақты органикалық ластағыштардың - қоршаған ортаға және адам денсаулығына өте қауіпті қосылыстардың «В» тізіміне енгізілген. Осылайша, оны өндіруге және қолдануға қазіргі уақытта тек Индия мен Қытайда безгек масасымен күресуде рұқсат етілген. Барлық басқа елдерде ДДТ сақтаалғандықтан, қоршаған ортада да жойылуы керек. Табиғи ортаны инсектицидтерден тазартудың тиімді әдістерінің бірі бактериалды штаммдарды қолдану арқылы биоремедитация болып табылады [204-210]. Әдебиеттерді талдау микроорганизмдер ДДТ-ны анаэробты да, аэробты жағдайда да жоятындығын көрсетеді. Алайда минералдану, яғни қоршаған ортаға зиянды емес қосылыстардың толық ыдырауы тек аэробты жағдайда ғана мүмкін болады. 4 - ХКБ - қауіптіліктің 4 класына жататын хлорорганикалық қосылыс. Осылайша, ДДТ-ны аэробты түрлендіру кезінде адамдар мен жануарларға аз қауіпті қосылыстар түзіледі.

Топырақтың микробоценоздағы химиялық қосылыстармен ұзақ уақыт ластануы кезінде табиғи іріктеу жалғасады, ол ластаушы затты ыдырату қабілеті

бар бактериялық штамдардың басым болуына бағытталған. Мысалы, химия өнеркәсібінің хлороорганикалық қалдықтарымен ұзақ уақыт ластанған топырақта микробценоздағы едәуір үлес хош иісті ластанушы заттардың деструктор штамдары және олардың хлорланған туындылары құрайды. Топырақтың құрамында хлор бар пестицидтермен ұзақ уақыт ластануы олардың әсеріне төзімді микрофлораның пайда болуына әкеледі, сонымен қатар пестицидтің ішінара немесе толық өзгеруіне алып келеді [211].

Бұл зерттеудің мақсаты табиғи және жасанды іріктеудің нәтижесінде аэробты жағдайда ДДТ-ны тиімді қолданатын бактериалды қауымдастықтың алу мүмкіндігін зерттеу болып табылады. Мұрағат деректеріне сәйкес, дайындықтар 1 га үшін 300 кг мөлшерінде қолданылды, ал хлороорганикалық қосылыстарының мөлшері енгізілген массаның 25% құрады. Одан әрі аумақты инсектицидтерді жою жұмыстары жүргізілмеді. Топырақтағы инсектицидтердің мөлшерін азайтуға бағытталған қалпына келтіру шаралары да жүргізілген жоқ. Осин Лесная Дача қорғалатын табиғи аумақтарының топырағында ДДТ-ны ыдыратуға қабілетті бактериялық штамдардың табиғи сұрыпталуы үшін жағдайлар жасалған. 32 және 11 блоктардың аумағында алынған топырақты химиялық талдау үлгілердің инсектицидтермен ластану деңгейінің арасындағы айырмашылықтарды анықтады. Қазіргі уақытта 1 және 2 үлгілердің топырағында ДДТ бар екендігі анықталмағандықтан, деструктивті штамдар бағыты бойынша табиғи сұрыптау болғандығы анықталған. Керісінше, хлороорганикалық қосылыстары 3 және 31 сынамаларының топырағында болады (ДДТ концентрациясы 25,05 мг / кг). Осыған байланысты микроорганизмдер жағымсыз фактордың қысымына ұшырайды және, мүмкін, штам-деструкторларды іріктеу процесі жалғасуда. Топырақтың барлық сынамаларындағы микробтық қауымдастықтар жасанды сұрыптаудың төрт сатысы бойынша жүргізілді, мұнда қол жетімді көміртегі көзі, ДДТ селективті фактор ретінде пайдаланылды. Үшінші және төртінші кезеңдерде қауымдастықтардың құрамы талданды [212-215].

Бөлініп алынған штамдардың 34% -ы ДДТ-да тиімді өсетіні, 30% -ы бифенилді және 36% штамдар 4-хлоробензой қышқылын өсу субстраты ретінде қолдана алатындығы анықталды. Осылайша, ДДТ-мен ластанған топырақтан оқшауланған штамдар ксенобиотикалық заттарға қатысты субстраттың кең спектріне ие екендігі анықталған.

Айта кету керек, бөлініп алынған штамдардың көпшілігі ДДТ көміртек көзі болған жағдайда әлсіз өсумен сипатталады. Бұл құбылыс бактериалды культураның тиімді өсуі субстраттың толық минералдануымен және, осылайша, құрамындағы көміртекті барынша көп пайдаланумен ғана мүмкін болатындығына байланысты болуы мүмкін.

Бастапқы концентрациясы 200 мг/л болғанда 40-64% ДДТ-да ыдырайтын бактерия штамдары 30 күнде сипатталған. Осылайша, осы жұмыста селекция нәтижесінде алынған аэробты бактериялардың қоғамдастықтары белгілі жеке штамдардан - ДДТ деструкторларынан, сондай-ақ ДДТ-ны өзгертетін бактериялық қауымдастықтары анықталған [216].

Пестицидтердің химиялық табиғаты өте әр түрлі - олар 20-дан астам әр түрлі қосылыстар тобына жатады. Инсектицидтер ретінде фосфорорганикалық қосылыстары көп мөлшерде қолданылады, хлорорганикалық және карбам қышқылы туындылары аз мөлшерде қолданылады. Мышьяк пен өсімдік уларынан тұратын заттар, мыс, сынап және т.б. қосылыстары да қолданылады. Топырақтағы пестицидтердің өзгеруі. Пестицидтердің топырақтағы өзгеруін ескере отырып, оған химиялық және физикалық факторлар, топырақ бөлшектерінің сорылуы және т.б. әсер ететіндігін атап өткен жөн, алайда топырақтағы пестицидтердің өзгеруіне әкелетін негізгі фактор микроорганизмдер болып табылады. Іс жүзінде жиі қолданылатын пестицидтердің дозалары олардың өмір сүру деңгейіне айтарлықтай кедергі келтірмейді [217]. Пестицидтердің конверсиясын тудыратын химиялық процестерге көбінесе саз минералдары катализденетін гидролиз реакциясы жатады. Пестицидтердің микробиологиялық жойылу жылдамдығы көбінесе олардың химиялық құрамына байланысты. Егер пестицидтің құрамында галоген, нитро немесе метил топтары болса, микробтарды жою процесі баяулайды. Феноксиді қосылыстардағы галогеннің орны да маңызды болып табылады. Органикалық фосфор қосылыстары, алифатты карбон қышқылдарының туындылары өте тез ыдырайды. Циклдік қосылыстар әлдеқайда баяу жойылады. Жақында қолдануға тыйым салынған 2,4-гербицидтің деградациясы бензол сақинасын түзуіне мысал бола алады [218].

Кейбір пестицидтерді микроорганизмдердің белгілі бір түрлері ғана ыдыратуы мүмкін. Пестицидтер мен басқа да табиғи емес қосылыстар (ксенобиотиктер) CO_2 мен H_2O , NH_3 , сульфаттар мен фосфаттарға дейін толық минералданудан (деградациядан) өтеді, әдетте метаболизмнің бүкіл жолынан өтеді және микроб қауымдастығының мүшелері көміртегі мен энергия көзі ретінде қолданыла алады.

Хлороорганикалық пестицидтер топырақта бұл топтың препараттары 2 жылдан 15 жылға дейін сақталады, ұзақ уақыт оның жоғарғы қабатында қалып, профиль бойымен баяу көшіп келеді. Сақтау уақыты топырақтың ылғалдылығына, оның түріне, қышқылдығына (рН) және температураға байланысты болады. Микроорганизмдер саны да үлкен рөл атқарады, өйткені микробтар препаратты ыдыратады [219].

Топырақтан пестицидтер өсімдіктерге, әсіресе түйнектер мен тамыр дақылдарына, сондай-ақ су объектілері мен жер асты суларына енеді. Топыраққа көп мөлшерде енгізіліп, олар 1-8 апта ішінде нитрификация процестерін тежей алады және оның жалпы микробиологиялық белсенділігін қысқартады. Алайда, олар топырақ қасиеттеріне үлкен әсер етпейді. Топырақтың жоғары сорбциялық қабілеттілігіне байланысты кез-келген ластаушы заттардың шашырауы және қоныс аударуы гидросфера мен атмосферада қарағанда баяу жүреді. Жердің сорбциялық сипаттамаларына органикалық заттар мен ондағы ылғал қатты әсер етеді. Жеңіл құмды топырақтар хлорорганикалық экотоксиканттарды нашар ұстайды, сондықтан олар профильден төмен түсіп, жер асты суларын ластайды. Гумусқа бай топырақтағы бұл компоненттер ұзақ уақыт бойы жоғарғы горизонттарда, негізінен 20 см қабатта болады. Органикалық заттарға бай

топыраққа 90% -дан астам ГЦХГ және ДДТ қолданғаннан кейін 5 ай өткен соң, ол он сантиметр қабатта болды. Сонымен бірге, ДДТ қолданғаннан кейін 20 жыл өткен соң, зат 100 см тереңдікке дейін қабатта біркелкі бөлінеді. Өсімдіктерде және олардың беткейлерінде жойылу өте баяу жүреді (бір реттік өңдеуден кейін олардың қалдықтарын 30-75 күннен кейін анықтауға болады, ал тамыр арқылы қабылдау бүкіл вегетация кезеңінде жалғасады). Олардың барлығы ұсынылған концентрациядағы қорғалған өсімдіктерге теріс мән бермейді және көбісі олардың өсуін ынталандырады.

Топыраққа пестицидтердің таралуының негізгі жолдары. Топырақтың пестицидтермен ластануы тікелей агрохимиялық өңдеу кезінде де, қопсытылған тұқым себу кезінде де, өңделген өсімдіктерді суару кезінде пайда болуы мүмкін. Жылына 2,38 кг гексахлороциклогексан мен 0,014 кг дихлородифенил трихлорэтанының бір гектар жерден 30° С температурада булануы мүмкін деп есептелген. Топырақтың сорбциялық қабілеті неғұрлым жоғары болса, одан пестицидтің булануы баяулайды. Пестицидтер топыраққа минералдардың кристалдық торларына (саздарға) шашырау нәтижесінде жиналады, олар қарашірік бөлшектерінің қуысына енеді. Қалыпты климаттық жағдайда пестицидтер топырақтың коллоидтарымен жақсы адсорбцияланады, нәтижесінде қоршаған орта объектілерінде тұрақты жиналады. Пестицидтердің жоғары концентрациясы (гексахлороциклогексан, дихлородифенил, трихлорэтан және олардың метаболиттері) топырақ сазды материалдармен және органикалық заттардың концентрациясы жоғарлайды. Топыраққа гумин қышқылын, темір тұздарын, биологиялық немесе синтетикалық тектес беттік-белсенді заттар қоспасын, сондай-ақ әр түрлі табиғи сорбенттерді қосу арқылы пестицидтерді сорбциялау тиімділігін арттыруға болады. Топырақ ылғалының да маңызы зор, өйткені пестицидтердің ең оңай гидролизі дәл ылғалды топырақтарда жүреді. Мұндай тұрақты пестицид, мысалы, дихлородифенил трихлорэтан белгілі бір жағдайларда, мысалы, топырақ сумен толтырылғанда және біршама жоғары температурада болғанда, улы емес заттардың пайда болуымен салыстырмалы түрде тез ыдырауы мүмкін. Ылғалды топырақта пестицидтер ұзақ уақыт бойы өз қызметін сақтайды және осылайша өсімдіктер мен топыраққа оңай енеді. Топырақ - бұл әртүрлі органикалық қосылыстардың, әртүрлі микроорганизмдер, бактериялар, саңырауқұлақтар және актиномицеттер бар. Микрофлораның органикалық пестицидтер оған енгеннен кейін топырақ қабатының қасиеттерін қалпына келтіре алатындығы тәжірибелік түрде дәлелденді [220-227].

Синтетикалық пестицидтерді жасау және кеңінен қолдану үлкен экономикалық нәтиже берді және өнеркәсіпке арналған әлемдік азық-түлік пен шикізат өндірісінің айтарлықтай өсуіне әкелді. Жоғары өнімділікке, қарапайымдылыққа және қол жетімділікке байланысты өсімдіктерді қорғаудың химиялық әдісі өсімдіктерді қорғаудың негізгі әдісіне айналды. Алайда, айқын оң нәтижемен қатар, уақыт өте келе өсімдіктерді химиялық қорғау құралдарын кеңінен қолданудың теріс әсерлері пайда бола бастады. Жалпы экологиялық проблемалардың қатарында пестицидтердің ғаламдық көші-қонын, оның ішінде

трофикалық тізбектер бойынша, адамға тікелей және тамақ арқылы әсер етуін, зиянкестерге қарсы тұрақтылықты және басқаларды бөліп көрсетуге болады.

Бұрын ДДТ (дихлородифенилтрихлорметилметан) қолданылған ауылшаруашылық жерлердің топырағында оның метаболиттерінің мөлшері, әдетте, бастапқы заттың мөлшерінен асып түседі. Тұрақты метаболиттердің түзілуі, сондай-ақ белсенді зат изомерлерінің препараттарында қоспалар түрінде болуы, әсіресе хлорорганикалық пестицидтерді қолдану кезінде туындайтын экологиялық және токсикологиялық проблемалардың тізімін толықтырады.

Соңғы жылдары халықаралық қауымдастық «тұрақты органикалық ластағыштар» (ТОЛ) деп аталатын химикаттар тобымен байланысты проблемаларға үлкен назар аударды. Бұл өте уытты қосылыстар пестицидтер ретінде немесе өнеркәсіпте пайдаланылды (және әлі де пайдаланылуда) және сонымен қатар өнеркәсіптік өндіріс кезінде жанама қоспа ретінде өндірілген. Қазіргі уақытта 12 ТОЛ анықталды, олар халықаралық деңгейде жедел әрекет етудің қажеттілігін мойындады. ТОЛ-ға қатысты ескірген пестицидтерге, сондай-ақ олардың физика-химиялық және биологиялық қасиеттерін жоғалтуға қатысты міндеттерге оларды түгендеу, анықтау және жою жатады. Мұндай жұмыс көптеген елдерде 90-жылдардың ортасынан бастап жүргізілуде [228].

Ескірген пестицидтерді сақтау және жою орындары, олардың арасында хлорорганикалық пестицидтер маңызды орын алады, қоршаған ортаға ықтимал және нақты теріс әсер етудің типтік көздері болып табылады. Олар пестицидтердің қоршаған ортаға әсерін бағалауға мүмкіндік беретін жалпы экологиялық мониторинг кезінде де, мақсатты мониторинг кезінде де міндетті түрде бақыланатын объект ретінде қарастырылуы керек.

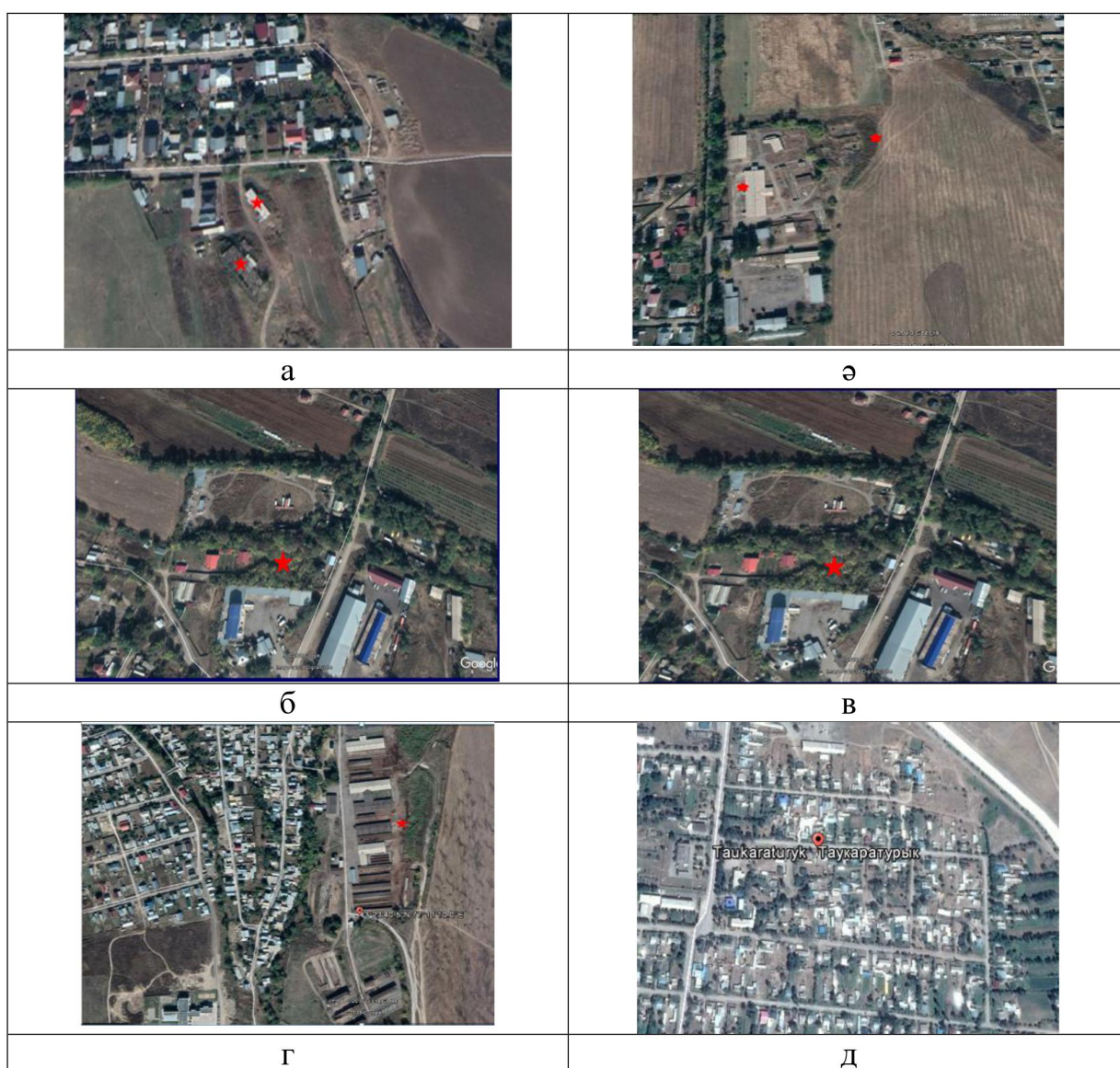
Табиғи нысандар мен ауылшаруашылық өнімдеріндегі пестицид қалдықтарының құрамын анықтау қиын аналитикалық міндет болып табылады, бұл токсиканттардың төмен деңгейімен және олардың топырақпен әрекеттесуімен байланысты. Пестицидтердің қоршаған ортаға токсинді болуы, өсімдіктерге зиянды әсер ету белсенділігі және басқа көрсеткіштері көбінесе топырақтағы пестицидтің түріне, құрамына байланысты болады. Сонымен қатар пестицидтің топырақтан еріткіштермен, яғни оның аналитикалық түрде анықталған мөлшерімен шығарылу деңгейіне әсер етеді [229]. Пестицидті топырақ компоненттерімен белсенді байланыстырғанда оның топырақтағы нақты мөлшері физика-химиялық әдіспен анықталғаннан едәуір көп болуы мүмкін. Пестицидтерді қоршаған орта объектілерінде, азық-түлік өнімдерінде, жем және биосубстраттарда толық бақылау үшін хроматографиялық талдау әдістері кеңінен қолданылады. Пестицидтердің құрамын және қосылыстарын аналитикалық бақылау үшін спектрофотометриялық, электрохимиялық және басқа әдістер қолданылады.

Қорытындылай келгенде, тұрақты органикалық қосылыстармен ластанған топырақтарды биоремедиациялауда деструктор – штамдардың консорциум негізінде алынған биопрепараттарды қолдану тиімді болып табылады.

2 ЗЕРТТЕУ ОБЪЕКТІЛЕРІ, МАТЕРИАЛДАРЫ МЕН ӘДІСТЕРІ

2.1 Зерттеу объектілері

Диссертациялық зерттеу жұмысында Алматы облысы, Талғар ауданы, Еңбекшіқазақ елді мекендерінің бірнеше аумақтарынан тұрақты органикалық қосылыстармен ластанған топырақ үлгілері МемСТ 26213-91 бойынша алынды: Қызылқайрат (N 43°17'58''78, E 077°11'40''21), Амангелді №1 (N 43°17'57''98, E 077°11'30''72), Амангелді №2 (N 43°18'00''97, E 077°12'37''06), Бесқайнар (N 43°13'16''36, E 077°06'49''78), Белбұлақ (N 43°19'25''95, E 077°06'19.63''), Басшы бақылау (N43°29.352', E 078°01.230'). Сонымен қатар зерттеу объектілері ретінде тұрақты органикалық қосылыстармен ластанған топырақ үлгілеріне скрининг жүргізу барысында, перспективті микроорганизмдердің штамдары іріктеліп алынды.



Сурет 4 – Үлгілерді алу нүктелері: а-Қызылқайрат, ә-Белбұлақ, б-Амангелді №1, в-Амангелді №2, г-Бесқайнар, д-Басшы бақылау

Зерттеу объектілері ретінде хлорорганикалық пестицидтермен ластанған топырақ үлгілерінен бөлініп алынған микроорганизм штамдары қолданылды:

- *Pseudomonas plecoglossicida* K2 (OK217230);
- *Bacillus aryabhattai* K3 (MW866565);
- *Solibacillus isronensis* KS1 (OK236011);
- *Pseudomonas* sp. KS2 (OL348382);
- *Bacillus pumilus* B1 (OL348383);
- *Bacillus amyloliquefaciens* B2 (OL348394);
- *Bacillus subtilis* AK5 (MW866566);
- *Pseudomonas koreensis* AK1 (OL348403);
- *Bacillus megaterium* AS1 (OL348404);
- *Bacillus paramycoides* SA1 (OL348439).

2.2 Зерттеу материалдары

2.2.1 Микроорганизмдерді дақылдау үшін келесі қоректік орталар қолданылды:

Микроорганизмдердің жалпы санын анықтау үшін ет-пептон агар, топырақта кездесетін саңырауқұлақтарды анықтау үшін - сусло-агар, әртүрлі физиологиялық топтардың санын анықтау үшін – элективті қоректік орта қолданылады. Зең саңырауқұлақтарын санау агарлы Чапека-Докса, аммонификациялаушы бактериялар қоректік заттары төмен синтетикалық агар, азотфиксациялаушы бактериялар - Эшби ортасында, аэробты целлюлозолитикалық бактериялар - Хатчинсон мен Клейтонның тығыз қоректік орталарында анықталды. Микроорганизмдердің деструктивті қасиетін анықтауда – синтетикалық – минералды (М9) ортасы қолданылды.

Ет – пептонды агардың құрамы (г/л): пептон – 5, NaCl - 5, етті сығынды-1,5, ашытқы сығындысы – 1,5, агар – 15, рН - 7,4.

Сусло-агар (Wort Agar) ортасының құрамы (г/л): балық ұнының панкреатикалық гидролизаты - 12, ферментативті құрғақ пептон – 12, NaCl - 6, агар – 15, рН – 4,8.

Чапек-Докс (Czapek–Dox) ортасының құрамы (г/л): сахароза - 30, NaNO₃ - 2, K₂HPO₄ - 1, MgSO₄ - 0,5, KCl - 0,5, FeSO₄ - 0,01, агар - 15, рН 7,3.

Синтетикалық агар (SNA medium) ортасының құрамы (г/л): KH₂PO₄ - 1, KNO₃ – 1, MgSO₄·7H₂O - 0.5, KCl - 0.5, глюкоза - 0.2, сахароза - 0.5, рН – 6,5.

Эшби ортасында (Ashby) ортасының құрамы (г/л): сахароза - 20, K₂SO₄-0.2, K₂HPO₄ – 0.2, CaCO₃ - 5, MgSO₄ - 0.2, NaCl - 0,2 г, агар - 15, рН – 7,0.

Хатчинсон мен Клейтонның (Hutchinson and Clayton) ортасының құрамы (г/л): CaCl₂ – 0,1, FeCl₃ – 0,01, K₂HPO₄ -1, MgSO₄·× 7H₂O -0,3, NaCl – 0,1, NaNO₃ - 2,5, агар - 15, рН – 7,2.

Синтетикалық – минералды көміртекті емес орта М9 құрамы (г/л): Na₂HPO₄- 6,0, KH₂P0₄- 3,0 , NaCl - 0,5, NH₄Cl - 1,0 , 2,3,5- трифенилтетразолий хлориді - 2, 2% агар – агар, рН - 7,0. Микроорганизмдерге қоректік ортаның

көміртегінің (C) жалғыз көзі ретінде тұрақты органикалық қосылыстар қосылады.

Хлорорганикалық пестицидтер:

- 4.4-ДДЕ (дихлордифенилдихлорэтилен),
- 4.4-ДДД (ддихлордифенилдихлорэтан),
- 4.4-ДДТ (дихлордифенилтрихлорметилметан),
- α -ГХЦГ (α -Гексахлорциклогексан),
- β -ГХЦГ (β -Гексахлорциклогексан),
- γ -ГХЦГ (γ -Гексахлорциклогексан).

2.3 Зерттеу әдістері

2.3.1 Тұрақты органикалық қосылыстармен ластанған аумақтардан топырақ үлгілерін алу және оларды химиялық талдау әдісі

Зерттеу жұмыстарына арналған топырақ үлгілері Алматы қаласы, Талғар ауданында орналасқан, ескірген пестицид көмілген қоймалар маңындағы топырақ үлгілері алынады:

- Амангелді №1 (N 43°17'57''98, E 077°11'30''72);
- Амангелді №2 (N 43°18'00''97, E 077°12'37''06);
- Белбұлақ (GPS 43°19'25,95" N 77°06'19,63" E);
- Бесқайнар (GPS 43°13'16,36" ш., 77°06'49,78" шығыс);
- Қызылқайрат (GPS 43°17'58,78" N 77°11'39,60" E);
- Бақылау Басшы (GPS 44°09'03.00"N 78°46'06.00" E).

Топырақ сынамаларын алу МемСТ 26213-91 бойынша жүргізілді, стандартты конверт әдісі арқылы: 6 топырақ үлгілерінің сынамалары алынды. Сынақ алаңы 5 м 0-0,6 м тереңдікте және аралас болып келеді. Зерттеу жұмыстарына жиналған топырақ үлгілері залалсыздандырылған ыдыста 4–5°C температурада және 24 сағаттан аралығында (МемСТ 26213-91) зертханаға жеткізілді. Топырақ үлгілерін тығыз таза қағазға салып, майда тастардан және өсімдіктік үгінділері мен басқа да қоспалардан тазартылды. Топырақ үлгілерінің ірі түйірлері фарфорлы ұнтақтағыш ыдыстарда араластырылып, ұнтақталады. Жақсылап араластарылған біркелкі топырақ үлгілерін төртбұрыш таза қағазға салып, шпательмен төрт бөлікке (үшбұрыштарға) бөлінеді. Қарама-қарсы үшбұрыштардан алынған топырақ үлгілері алынып тастайды, және қалған екі үлгі бір-біріне қосылып, араластырылады және төрт бірдей бөліктерге бөлінеді. Зерттелетін топырақ үлгілері 0,5 кг дейін жеткізілді. Инокуляция процесінің алдында топырақ үлгілері беті стерильді қағазбен жабылған, d = 3 мм болатын елегіштен өткізілді [230].

Топырақ үлгілерінің микробтық алуантүрлілігін анықтау мақсатында 1–10 г топырақ сынамалары қажет. Бірінші сұйылту залалсыздандырылған құбыр сумен 1:10 (1 г топырақ : 10 мл H₂O) қатынасында алынды [231].

Топырақ үлгілерінің микрофлорасын зерттеу дәстүрлі микробиологиялық және заманауи Illumina NGS метагеномды талдау әдістер арқылы жүргізілді. Дайындалған топырақ сұйылтуларын әртүрлі қоректік орталарға егу арқылы, бактериологиялық әдіс және тікелей микроскопия әдісі арқылы зерттелді.

2.3.1.1 Тұрақты органикалық қосылыстармен ластанған топырақ үлгілерінің химиялық талдау

Тұрақты органикалық қосылыстармен ластанған топырақ үлгілерінің химиялық анализі ЖШС «Ғылыми аналитикалық орталығында» жүргізілді.

Хлорорганикалық пестицидтердің құрамы (ХОП): ГХБ, α -ГХЦГ, β ГХЦГ, γ -ГХЦГ, δ -ГХЦГ, гептахлор, альдрин, кельтан, гептахлорэпоксид, хлордан, эндосульфан 1, ДДТ, ДДЭ, 4,4-ДДД, 2,4- ДДД, дельдрин, хлорбензилат, эндрин, эндосульфан 2, эндрин альдегид, эндосульфан сульфат, дибутилэндан, метоксихлор, гексабромбензол және ауыр металдар (АМ): мырыш, кадмий, кобальт, қорғасын, мышьяк, никель, мыс, хром анықталды. Хлорорганикалық пестицидтер ҚР Мемлекеттік стандарты 2011-2010; 2131-2011 бойынша электронды ұстағыш детекторы бар капиллярлық газ хроматографиясында (Agilent Technologies 6890N газды хроматографы) анықталды.

Хроматографты жұмысқа дайындығын пайдалану ҚР СТ 2011-2010 мемлекеттік стандарт нұсқаулығы бойынша жүргізіледі.

Химиялық талдауға дайындық

Н-гександы тазарту. Н-гександы (2/3 колба) бірінші және соңғы айдау үлесін алып тастай отырып, кондырғының көмегімен айдайды. Алынған н-гексанның тазалығын газды хроматографтың көмегімен анықтайды. Бұл үшін 50 см³ сыйымдылықтағы конустық колбаға 10 см³ алынған н-гександы және ауа немесе азот тоғында 65°C температура кезінде колба қыздырғышта 3 см³ көлемге дейін булайды. Сығынды қалдығын 10 см сыйымдылықтағы мөлшерлегіш түтікте қайта салады және 1 см көлемге дейін булайды. Алынған сынаманы хроматографиялау жағдайында талдайды [232].

Н-гексан хлорорганикалық пестицидтерді анықтауға кедергі жасайтын қосындылардың пиктерін хроматограммада пайда болмайтын жағдайда талдау үшін жарамды және тазартылған деп саналады.

Хромды қоспаны дайындау

Хромды қоспаны дайындау үшін фарфор стаканына 50 г екі хром қышқылды калийді құяды және 1 дм³ құнарланған күкірт қышқылы бөліктері бойынша мұқият араластыра отырып ақырын құйылады. Хром қоспасын шыныдан алынған ыдыста сақтайды. Хром қоспасын сақтау мерзімі шектеусіз.

Газды хроматографты дайындау

Хроматографиялық бағаналарды дайындау

Алдын ала хром қоспасымен жуылған, этил спиртімен, содан кейін диэтилді эфирмен дайындалған құрғақ шыны бағаналы вакуумды немесе су сорғалап ағатын сорғыштың көмегімен қондырмамен толтырады. Термостатта орнатылған хроматографиялық бағана жұмыс алдында мынадай режимде салқындатады: 100°C кезінде 2 сағ; 150°C кезінде 2 сағ; 200°C кезінде 4 сағ; 220°C кезінде 4 сағ. Салқындату кезінде бағана детектордан ажыратылуы тиіс. Салқындатуды бағаналарды ауыстыру кезінде, сондай-ақ жұмысқа ұзақ ұзақ үзілістерден кейін жүргізген жөн. Салқындату аяқталған соң бағананы салқындатады, детекторға қосады және хроматографты жұмыс режиміне шығарады.

2.3.2 Пестицидтермен ластанған топырақ үлгілерінің микробтық алуантүрлілігін метагеномды талдау және микробиологиялық зерттеу әдісі

Хлорорганикалық пестицидтермен ластанған топырақ үлгілерінің микроорганизмдерінің қауымдастығы заманауи Illumina NGS метагеномды әдіс арқылы зерттелді. Зерттеу жұмысы Қытай Халық Республикасының (ҚХР) молекулалық биология зертханасында жасалды.

Табиғи жағдайда тіршілік ететін микроорганизмдердің 99% - ы зертханалық тәжірибеде қолданылатын *in vitro* қоректік ортада өсе алмайтыны дәлелденген. Қазіргі уақытта топырақ, минералдар және т. б. қоршаған орта объектілерінің микробтық алуантүрлілігін зерттеу үшін омикс технологияларына негізделген дәстүрлі емес әдістерді қолдануда үлкен мүмкіндіктер бар.

ДНҚ экстракциясы және ПТР амплификация келесідей жүргізілді: Зерттеудегі микроорганизмдерден ДНҚ молекуласын бөліп алу арнайы E.Z.N.A. (Omega Bio-tek, АҚШ) стандартты жиынтығын қолдану арқылы және өндіруші фирманың нұсқаулығының көмегімен жүзеге асырылды. ДНҚ молекуласының концентрациясы NanoDrop 2000 (Thermo Scientific, АҚШ) спектрофотометрі көмегімен және сапалық тазалығы 1% агарозды геледе электрофорез әдісі арқылы анықталды. ПТР амплификация үшін 16S рРНҚ бактериялық генінің гипервариабельді V3-V4 аймақтарын нысанаға алу үшін 338f (5'-ACTCCTACGGGGGCAGCAGCAG-3') және 806R (5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3') праймерлері пайдаланылды. ПТР реакциялары келесі бағдарлама бойынша термоциклді ПТР жүйесін (GeneAmp 9700, АҚШ) пайдалана отырып жүргізілді: 95°C температурада 3 минут денатурация, 95°C температурада 30 секундтан 27 цикл, 55°C температурада 30 секунд жасыту (отжиг), 72°C температурада 45 секунд ұзарту және 72°C температурада соңғы ұзарту 10 минут ішінде. ПТР реакциялары 4 мкл 5× FastPfu буферінен, 2 мкл 2,5 mM dNTP, әр праймерден 0,8 мкл (5 мкМ), 0,4 мкл FastPfu полимеразасынан және 10 нг шаблондық ДНҚ-дан тұратын 20 мкл реакция қоспасында үш қайталамда жүргізілді. Содан кейін алынған ПТР өнімдері 2% агарозды геледен алынып, өндірушінің хаттамасына сәйкес АхуPrep (Axugen Biosciences, АҚШ) гелінен ДНҚ экстракциясы жинағы арқылы одан әрі тазартылды және QuantiFluor™-ST (PROMEGA, АҚШ) көмегімен сандық түрде анықталды.

Illumina MiSeq реттілігі үшін тазартылған ампликондар эквимольарлық қатынаста біріктіріліп, Majorbio Bio-Pharm Technology Co. Ltd. (Қытай) белгілеген стандартты хаттамаларға сәйкес Illumina MiSeq платформасында (Illumina, АҚШ) жұптық секвенирленді (2 × 300). Реттілік деректерін өңдеу бірнеше қадамдарды қамтыды: өңделмеген fastq файлдары мультиплекстелген және Trimmomatic көмегімен сапалы фильтрациядан өткен, содан кейін FLASH көмегімен біріктірілген. Фильтрация критерийлеріне мыналар кірді: (I) 50 бит/с жылжымалы терезе шегінде орташа сапа көрсеткіші <20 болатын сайттардағы көрсеткіштерді кесу. (II) Екі нуклеотидтің сәйкессіздігін ескере отырып, праймерлерді дәл туралау және мағынасы жоқ негіздері бар қайталымдарды жою. (III) бір-біріне сәйкес келетін тізбектер негізінде 10 ж.н. - дан астам

қабаттасатын тізбектерді біріктіру. Операциялық таксономиялық бірліктер (OTU) UPARSE (7.1 нұсқасы) көмегімен 97% ұқсастық шегімен топтастырылды. Химерикалық тізбектер UCHIME алгоритмі арқылы анықталды және жойылды. Әрбір 16S рРНҚ гендік тізбегінің таксономиялық жіктелуі 70% сенімділік шегі бар 16S рРНҚ Silva (SSU123) дерекқорына негізделген RDP жіктеуіш алгоритмі арқылы орындалды. Бактериялық қауымдастықтардың барлық талдаулары Majorbio I-Sanger Cloud Platform онлайн платформасы арқылы жүргізілді [233]. (www.i-sanger.com).

Тұрақты органикалық қосылыстармен ластанған топырақ үлгілерінің микрофлорасын зерттеу және аборигенді микроорганизмдердің таза дақылдарын бөліп алу әдісі

Топырақ үлгілелерінің микробтық пейзажын бағалау әдісі

Топырақтағы микроорганизмдердің әртүрлі топтарының сандық көрсеткіштерін, ластаушы заттарға төзімді физиологиялық топтарды анықтау және тұрақты органикалық қосылыстармен ластанған топырақ микрофлорасының микробиологиялық құрамын салыстыру үшін топырақ суспензиясын тығыз қоректік ортаға егіп, бактериологиялық Кох әдісі арқылы сұйылту жүргізілді.

Әдістің мәні зерттеліп отырған белгілі микроорганизм суспензиясын Петри табақшасына қатты қоректік ортаға егіп, өскен колонияларды санау болып табылады. Кохтың қағидасы бойынша бұндағы әр колония бір клетканың көбею нәтижесі ретінде саналады. Зерттелетін суспензияның белгілі көлемін қатты қоректік ортаға егу арқылы өсіп шыққан колониялардың саны негізінде бастапқы құрамында қанша микроорганизм клеткалары болғандығын айтуға мүмкіншілік береді.

Егу 3 кезеңнен тұрады: сұйылту дайындау, Петри табақшасына тығыз қоректік орталарға отырғызу, өскен колонияларды санау.

Сұйылту дайындау. Жекеленген колониялар алу үшін микроорганизмдер бар дақылды немесе материалды сұйылтады. Сұйылтуды стерилді құбыр суында, сұйылтудың тұрақты коэффициентін пайдалана отырып дайындайды, әдетте бұл коэффициент 10 санына тең. Сұйылту дайындау үшін стерилді құбыр суын стерилді құрғақ пробиркаларға 9 мл-ден құяды. Одан кейін стерилді пипетканың көмегімен алынған бастапқы суспензияның 1 мл-ін 9 мл стерилді суы бар пробиркаға құяды.

Петри табақшасына егу. Суспензияны беттік және тереңдік әдістермен егуге болады. Стерилді пипеткамен сәйкес сұйылтудың белгілі көлемін 0,1 мл енгізеді. Суспензияны қоректік орта бетіне Дригальский шпателінің көмегімен жаяды. Табақшаларды термостатқа 28-30⁰С температурасында бірнеше күнге қалдырады.

Өскен колонияларды санау. Өсу жылдамдығына байланысты Петри табақшасында өскен колониялардың санын дақылдаудың 1-15 тәулігінен кейін санайды. Табақшадағы колониялардың орташа санын анықтайды да формула бойынша 1 мл-дегі клеткалар санын есептейді (1).

$$M = \frac{a \cdot 10^n}{v} \quad (1)$$

мұнда, М- 1 мл-дегі микроорганизм клеткаларының саны; а- Петри табақшасындағы микроорганизмдер колониясының орташа саны; 10- сұйылту коэффициенті; n- егу жүргізілген сұйылтудың реттік саны; v- егуге алынған суспензияның көлемі.

Микроорганизмдердің жалпы санын анықтау үшін ет-пептонды агар (ЕПА), микроорганизмдердің әртүрлі физиологиялық топтарының санын анықтау элективті қоректік орталарға егу арқылы жүргізілді: топырақтағы саңырауқұлақтардың құрамын анықтау – сусло-агар (СА), зең саңырауқұлақтары Чапека-Докса қатты ортасында, аммонификатор бактериялар ГРМ-агарда, азотфиксациялаушы бактериялар Эшби ортасында, аэробты целлюлозаыдыратушы бактериялар Хетчинсон және Клейтонның тығыз қоректік орталарында жүргізілді.

Гетеротрофты бактерияларды 2 тәулік, ашытқылар, азотфиксациялаушы бактериялар және зең саңырауқұлақтар 5-7 тәулікте және целлюлоза ыдыратушы бактерияларды 7-9 тәулік аралығында термостатта 28-30°C температурада дақылдау жүргізілді. Элективті қатты қоректік орталарда өсіп шыққан колонияларды санау арқылы 1 г топырақтағы колония түзуші бірліктердің (КТБ) саны анықталды [234].

Тұрақты органикалық қосылыстармен ластанған топырақ үлгілерінен абorigенді микроорганизмдердің таза дақылдарды бөліп алу.

Таза дақылдарды бөліп алу тығыз қоректік ортада сиретіп егу және штрих әдістері арқылы жүргізілді. Қатты қоректік ортада өсіп шыққан оқшауланған колониялардағы микроорганизмдердің тазалығы зерттелініп, қиғаш қоректік ортаға отырғызылды.

2.3.3 Таза дақылдардың морфология – культуральдық, физиология-биохимиялық, молекулалық - генетикалық қасиеттерін зерттеу және идентификациялау әдістері

Морфологиялық қасиеттері клетка пішін, мөлшері, клеткалардың кеңістікте орналасуы, спора түзуі, капсулалардың болуы, қозғалғыштығы және бактериялардың Грам әдісімен боялуы ерекшелігіне негізделеді. Микроорганизмдердің клетка морфологиясы қоректік заттардың түріне, дақылдау кезінде қоршаған ортаның факторлар байланысты өзгеріске ұшырауы мүмкін. Микроорганизмдердің культуралдық қасиеттері әртүрлі қоректік орталарда өсу ерекшелігімен сипатталады. Қатты агарлы қоректік орталарды S (тегіс), R (кедір-бұдыр) және М (сілемейлі) типті колониялар түзіп өседі. Колония мөлшері 0,1 мм-ден бірнеше см дейін болуы мүмкін. Колониялар дөңгелек, әр түрлі шеттері бар жалпақ болуы мүмкін: тегіс, кедір-бұдыр, ризоид тәрізді болады.

Пестицидтермен ластанған қоршаған орта объектілерінен бөлініп алынған таза дақылдардың физиологиялық – биохимиялық қасиеттерін келесі белгілері бойынша анықталды: рН, температураға төзімділігі, желатин гидролизі, крахмал

гидролизі, казеин гидролизі, каталазалық белсенділік, молекулалық азотты пайдалану.

Желатин гидролизі. Микроорганизмдердің желатинді ыдырату қабілетін зерттеу ет-пептонды желатинге (ЕПЖ) егу арқылы анықталынады. 100 мл ЕПЖ-ға 10-15 г желатинді қосады, 20-30 минутқа қалдырады, ортаны су моншасында желатин толығымен ерігенше қыздырады және алынған ЕПЖ-ны 8-10 мл-ден пробиркаға құяды. 15 минут 0,5 атм. автоклавта залалсыздандырады. Егуді ине арқылы жүргізеді. Дақылдау ұзақтығы бөлме температурасында 7-10 тәулік. Желатиннің ыдырауын визуальды қаралады. Егер желатин сұйытылса, сұйылту қарқындылығы мен пішінін көрсетеді - воронка тәрізді, қап тәрізді, көпіршікті және т. б.

Казеин гидролизі. Бұл қабілеттілікті анықтау үшін залалсыздандырылған, майсыздандырылған сүттің және 3% сулы агардың тең бөліктерінен тұратын сүтті агар-ортаны пайдаланады. Әдетте, ортаны дайындау алдында сүтті 15 минут бойы центрифугалау арқылы майсыздандырады. Сүттің бетінде жеткілікті тығыз пленка түзетін майлар жойылады, ал сүтті 0,5 атм. қысымда 30 мин. залалсыздандырады. Стерилизациядан кейін оны жылытады және таза балқытылған және салқындатылған 50°C дейін сулы агарға тұрақты араластыру кезінде қосады. Алынған ортаны стерильді Петри табақшаларына құяды. Микроорганизмдерді ыдыстың диаметрі бойынша штрихпен немесе инемен егеді. Дақылдау ұзақтығы 2-10 тәулік, 50°C температурада. Казеин гидролизін колонияның айналасындағы ортаның түссіздену аймағы бойынша өскен микроорганизмдерді анықтайды. Әсіресе, ол 5%-дық трихлор сірке қышқылының ерітіндісімен ортаны өндегеннен кейін анық көрінеді. Казеин гидролизінің аймағын штрихтің шетінен немесе колонияның ашық аймақтың шекарасына дейін өлшейді. Ашық аймақтың диаметрі неғұрлым көп болса, бактериялардың казеинолитикалық белсенділігі соғұрлым жоғары болады.

Крахмал гидролизі. Крахмалдың белсенді продуценттері *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Streptomyces*, *Aspergillus* және *Penicillium* түрлері амилазаның әсерінен гидролитикалық ыдырауға ұшырайды. Амилолитикалық белсенділікті анықтау үшін келесі құрам ортасын қолданады (г/л): пептон-10,0; K_2HPO_4 -5,0; крахмал-2,0; агар-15,0; рН 6,8-7,0. Дақылдау ұзақтығы 2-10 тәулік. Крахмал гидролизін агарлы пластинканы Люголь ерітіндісімен өндегеннен кейін анықталады. Ол үшін ортаның бетіне 3-5 мл Люголь ерітіндісін құяды. Крахмал бар орта көк түске боялады, ал гидролиз аймағы түссіз қалады немесе крахмал декстриндерге дейін гидролизделген болса, қызыл-қоңыр түске ие болады. Крахмал гидролиз аймағын штрихтың шетінен ашық аймақтың шекарасына дейін өлшейді. Ашық аймақтың диаметрі неғұрлым көп болса, соғұрлым амилоликалық белсенділік жоғары.

Молекулалық азотты пайдалану. Аэробты микроорганизмдердің молекулалық азотты пайдалану қабілеті туралы олардың өсуі бойынша Эшби ортада қарастыруға болады, оның құрамы(г/л): маннит-20,0; K_2HPO_4 -0,2; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ -0,2 ; NaCl-0,2; K_2SO_4 -0,1; $CaCO_3$ -5,0; агар-20,0; рН 7,1-7,3. Ортаны пробиркаларға құяды, 0,5 атм-да залалсыздандырады, егу штрих әдісімен жүргізіледі. Дақылдау ұзақтығы 7-10 тәулік. Эшби ортасында

молекулалық азотты бекітетін микроорганизмдер ғана емес, олигонитрофилдер де, яғни реактивтерде, суда және ауада болатын байланысқан азоттың мөлшерін сңіруге қабілетті микроорганизмдер де өсе алатынын атап өту қажет.

Каталазды белсенділік. Каталазалық белсенділік көптеген аэробты микроорганизмдерге тән. Облигатты анаэробтар және микроаэрофильдер каталаза түзбейді. Каталаза оттегі түзіп сутегінің асқын тотығын ыдыратады. 10% H_2O_2 -ң бір тамшысын колонияға тамызады немесе микроорганизм клеткасын осы ерітіндіде сұйылтады. Егер оттегі түзілсе клеткада каталаза бар. Оттегінің түзілуін газ көпіршіктерінің пайда болуынан көруге болады [235].

Сканерлеуші электронды микроскоп көмегімен (СЭМ) деструктор – микроорганизмдерді цифрлық форматта зерттеу әдісі

Сканерлеуші электронды микроскоп (СЭМ) — үлкейтілген кескіндерді алу үшін оптикалық микроскоптан әлдеқайда асып түсетін көп функциялы жабдық. Сканерлеуші электронды микроскоп (СЭМ) көмегімен ластанған топырақ үлгілерінің микроорганизмдерін айқын қолданылатын әдіс болып табылады және үлгіні 300000 есе үлкейтіп көрсетеді. Сонымен қатар, топырақ бетінің кедір-бұдырлығы СЭМ-ді материалдың бетіндегі жарықтар мен саңылауларда бактериялардың клеткалары мен биотаспалардың пайда болуы туралы толық ақпарат беретін құрал болып табылады [236]. Зерттеу әдісін жүргізу үшін сканерлеуші электронды микроскоп Quanta 200i 3D (FEI Company, АҚШ) қолданылды.

Перспективті штамм-деструкторлардың молекулалық-генетикалық қасиеттерін зерттеу және идентификациялау әдістері. Деструктор – микроорганизмдердің ДНҚ, РНҚ және белоктардың сандық анықтау әдістері

Деструктор – микроорганизмдердің ДНҚ, РНҚ және белоктардың сандық анықтау әдістері

Нуклеин қышқылын (ДНҚ, РНҚ) және микроорганизмдердің ақуызын сандық анықтау флуориметрия (Qubit 2.0, Thermo Scientific, АҚШ) және ELISA әдістер арқылы жүзеге асырылады [238].

Әрбір кубит талдау жинағы концентрацияланған талдау реагентін, сұйылту буферін және алдын ала сұйылтылған стандарттарды қамтамасыз етеді және барлық талдау реагенттері бөлме температурасында сақталады. Берілген буфердің көмегімен реагентті сұйылтады, үлгіні қосады (кез-келген көлем 1-ден 20 мкл-ге дейін) және 2 минуттық инкубациядан кейін Qubit 2.0 Fluorometer флюорометрімен ДНҚ, РНҚ және ақуыздың концентрациясы өлшенеді.

Деструктор-микроорганизм штамдарын ПТР әдісі арқылы идентификациялау

Штамдарды идентификациялау аймақтың ITS (генаралық транскрипцияланатын аймақ) тікелей нуклеотидтер тізбегін анықтау арқылы, және GeneBank халықаралық деректер базасына нуклеотидтік тізбектердің сәйкестігін енгізу арқылы жүзеге асырылады [239].

Геномдық ДНҚ 1-2 тәуліктік бактериялардың дақылдарынан өндіруші хаттамасына сәйкес (Invitrogen, Carlsbad, АҚШ) PureLink Genomic DNA Kit ДНҚ бөлу жиынтығының көмегімен бактерияларды бөліп алды. ДНҚ және үлгілердегі

ПТР-өнімнің концентрациясын QUBIT™ dsDNA HS Assay Kit (Life Technologies, Oregon, АҚШ) жиынтығының көмегімен Qubit® 2.0 флуориметрінде анықталды.

РНҚ-ның 16S бөлігін амплификациялау үшін 25 мкл мөлшерінде реакциялық қоспаны дайындады:

- 12,5 мл Q5® Hot Start High-Fidelity 2X Master Mix (New England Biolabs Ins., АҚШ);
- әмбебап жұп праймерлер: 8F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') және 806R (5'-GGACTACCAGGGTATCTAAT-3') 1,2 мкл-ден 10мл концентрациясы;
- ДНҚ-матрица;
- 25 мл су.

Ампликация режимі келесі циклдерден тұрады: 95°C температурада 5 минут ішінде, одан кейін: 95°C-30 секунд, 55°C-40 секунд, 72°C-50 секунд-30 цикл; 10 минут ішінде 72°C кезінде элонгация.

ПТР-өнім 1,2% агарозды геледе бөлініп, жолақтар бромды этидийімен боялды және УК-трансиллюминаторында визуализацияланды. Электродты буфер ретінде 1×TBE-буфер қолданылды. ПТР-өнімді CleanSweep (Thermo Scientific, АҚШ) тазалауға арналған реагенттің көмегімен тазартылды.

Бактериялардың 16s rRNA генінің фрагменттерін секвенирлеу Big Dye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, АҚШ) жиынтығымен жүргізілді. Секвенирлеу өнімдерін тазалау үшін өндіруші хаттамасына сәйкес BigDye XTerminator Purification Kit жинағы пайдаланылды. Капиллярлы форец ABI PRISM 3500 (Applied Biosystems, АҚШ) генетикалық анализаторында жүргізілді.

Секвенирлеу нәтижелері Sequencing Analysis v5.1 бағдарламасында өңделді. 16s rRNA гендерінің гомологиялық нуклеотидтік тізбектерін іздеуді BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) бағдарламасының көмегімен АҚШ-та биотехнологиялық ақпарат Ұлттық орталығының Gene Bank-те жүргізілді. ([HTTP://www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov)). Филогенетикалық талдау MEGA6 бағдарламалық қамтамасыз етуді қолдану арқылы жүргізілді. Нуклеотидті тізбектерді теңестіру ClustalW алгоритмін пайдалана отырып жүргізілді. Филогенетикалық ағаштар құру үшін Neiighbor-Joining (NJ) әдісі қолданылды [240].

2.3.4 Перспективті штамдардың деструктивті белсенділігінің механизмдерін зерттеу және деструктор –штамдарға скрининг жүргізу әдісі

Перспективті штамдардың хлорорганикалық пестицидтер қатысында өсу динамикасын зерттеу әдісі

Перспективті штамдардың хлорорганикалық пестицидтер қатысында өсу динамикасын зерттеу М9 сұйық қоректік (құрамы, г/л: Na₂HPO₄ – 6,0; KH₂PO₄ – 3,0; NaCl – 0,5; NH₄Cl – 1,0; дистилденген су 1000 мл, 2% агар) ортасына 0,01% көміртегі көзі ретінде пестицид мөлшерін қосып 28°C температурада 7 тәулік дақылдау жүргізілді. Өсу динамикасында микроорганизмдердің өсу қарқылындылығын М9 сұйық қоректік ортасында дақылдардың өсу белгілерін визуальді анықтау, Петри табақшаларындағы қатты қоректік орталарға егу арқылы микроорганизмдердің тіршілікке қабілеттілігін өсіп шыққан колония

түзу бірліктерін санау арқылы бағаланды, дақылдардың оптикалық тығыздығын анықтау арқылы биомасса жинау қарқындылығы анықталды.

Перспективті штамдардың хлорорганикалық пестицидтер қатысында деструктивтік белсенділігін зерттеу әдісі

Штамм-деструкторларды іріктеп алу мақсатында пестицидтермен ластанған топырақ үлгілерінен бөлініп алынған таза дақылдардың М9 қатты қоректік ортасы бар Петри табақшасына (құрамы, г/л: Na_2HPO_4 – 6,0; KH_2PO_4 – 3,0; NaCl – 0,5; NH_4Cl – 1,0; дистилденген су 1000 мл, 2% агар) егіп, оған 0,01% көміртегі көзі ретінде пестицид, бактериялардың дегидрогеназалық белсенділігін анықтауда 2,3,5–трифенил-тетразолий хлориді (ТТХ) индикатор ретінде қосылды. Штамдар 5 күн ішінде 28°C температурада дақылданды. Аэробты жағдайда ксенобиотиктердің биодеградациясының бірінші кезеңі әртүрлі оксидоредуктазалармен катализделген тотығу метаболизмінің реакциясы болып табылады, олардың негізгілері дегидрогеназалар болып табылады, микроорганизмдердегі осы ферменттерді анықтау дақылдың деструктивті мүмкіндіктерін көрсетеді. Бактерияларда дегидрогеназа белсенділігін анықтау үшін М9 ортасына қосылған 2,3,5-трифенил тетразолий хлоридінің (ТТХ) 5% сулы ерітіндісі қолданылды. Микроорганизмдердің препаратты бұзу қабілеті колониялардың және олардың айналасындағы ортаның қызыл түске боялуымен дәлелденді, бұл қалпына келтірілген трифенилформазанның (ТФФ) пайда болуын көрсетті. Осы негізде пестицидтермен ластанған топырақ үлгілерінен барлығы 40 штамм бөлініп алынды, оның 20 штамы белсенді деструктор-штамдары ретінде іріктеліп алынды.

2.3.4.1 Перспективті штамдардың деструктивті белсенділігінің механизмдерін зерттеу әдістері. Деструктор – микроорганизмдердің ферментативті белсенділігін анықтау

Микроорганизмдердің ферментативті белсенділігі спектрофотометрдің (Cary 60 UV-Vis) көмегімен анықталады. Ферментативті белсенділікті зерттеу кезінде штамм-деструкторлардың хлорорганикалық пестицидтерді ыдырату қабілетіне жауапты келесі ферменттердің түрі анықталады: протеаза, лакказа, каталаза, целлюлаза [241].

Протеолитикалық белсенділікті анықтау: протеаза түзетін штамның тәуліктік дақылы (1%), 5% NaCl және 1% казеин бар, рН 7,0 болатын ет-пептонды сорпаға егілді, 150 айн/мин шайқау кезінде 37°C температурада 24 сағат дақылданды. Инкубациядан кейін дақыл 10000 айн/мин температурада центрифугаланады. Ансон әдісімен протеазаны талдау үшін клеткасыз супернатант қолданылады. Құрамында 1 мл фермент бар реакция қоспасы 1 мл казеинге қосылады (50 мм калий-фосфат буферінде 1% в/в, рН 7,5) және қоспа 37°C температурада 10 минут ішінде инкубацияланады. Реакция 2 мл 10% трихлорацет қышқылының реагентін қосу арқылы аяқталады, бөлме температурасында 30 минут инкубацияланады, содан кейін 10000 айн/мин температурада 15 минут центрифугаланып, 2 мл фильтрат 3 мл 500 мм натрий

карбонатының ерітіндісімен араласады және спектрофотометрдің көмегімен (Cary 60 UV-Vis) 280 нм-де алынған үлгі өлшенеді.

Лакказа белсенділігін анықтау: лакказаның белсенділігі екі түрлі субстратты, атап айтқанда гуаякол мен гидрохинонды қолдану арқылы анықталады. Бактериялық дақыл сұйықтығындағы лакказаның белсенділігі субстрат ретінде 10 мМ гуаякол және 10 мМ гидрохинон бар 30 мМ Трис-буферде (рН 8,0) анықталады және 10 минут ішінде 37°C температурада инкубацияланады. Бактериялық дақыл сұйықтығындағы лакказаның белсенділігі Трис-НСІ (рН 8,0) буферінде анықталады, реакция 10 мМ соңғы концентрация алынғанша буферге гуаякол мен гидрохинонның бастапқы ерітінділерін қосу арқылы басталады, содан кейін гуаякол үшін 470 нм ($\epsilon = 6740^{\text{m}^{-1}\text{Cm}^{-1}}$) және гидрохинон үшін 248 нм ($\epsilon = 17252^{\text{m}^{-1}\text{Cm}^{-1}}$) сәйкесінше спектрофотометрдің көмегімен (Cary 60 UV-Vis) анықталады.

Каталаза белсенділігін анықтау: каталаза белсенділігін зерттеу талдауға дайындалған коллекциялық микроорганизмдердің лизаттарын қолдану арқылы жүзеге асырылады. Нөлдік уақытта әр лизаттың 1,8 мл (250 мкг/мл) құрамында 10 мМ сутегі асқын тотығы бар 0,2 мл фосфат буферімен араласады. Қоспаның бір миллилитрін бірден бір реттік кюветке (0,1 см) қосып, спектрофотометрге салады. Каталаза белсенділігі уақыт өте келе ультракүлгін сәуленің (240 нм) сіңуінің төмендеуімен анықталатын сутегі асқын тотығының ыдырауынан байқалады. Сіңіру өлшемдері сутегі асқын тотығы буферіне лизат қосылғаннан кейін 15, 30, 60 және 120 с арқылы жүзеге асырылады.

Целлюлаза белсенділігін анықтау: коллекциялық микроорганизмдердің дақылдары конустық колбалардағы бактериялар үшін 1% карбоксиметилцеллюлоза (СМЦ) бар қоректік сұйық ортаға егіледі. Бактериялардың изоляттарын алу үшін 24 сағат ішінде 37 °С температурада инкубацияланады. Инкубациядан кейін целлюлоза белсенділігі динитросалицил қышқылы (DNSA) әдісін қолдана отырып спектрофотометрмен өлшенеді. Культура сұйықтығы тиісінше бактериялар үшін бес минут 8000 айналым (айн/мин) жылдамдықпен центрифугаланып, № 1 watman қағаз сүзгісі арқылы сүзіледі, және 1 мл культура сүзгісі, буферде бір миллилитр (1 мл) 1% КМЦ, 0,05 м цитрат, рН 4,8 37 °С температурада 30 минут бойы инкубацияланады, кейін DNS реагентімен әрекеттеседі (реакцияның өсуін тоқтатады) және 5 минут қыздырылады, алынған үлгінің целлюлаза белсенділігі 240 нм спектрофотометрмен өлшенеді.

2.3.5 Перспективті штамм-деструкторлардың биосәйкестігін зерттеу және консорциум құру әдісі

Перспективті штамм-деструкторлардың биосәйкестігін зерттеу Глушанов әдісі арқылы жүргізілді. Сұйық қоректік ортада өсірілген бір тәуліктік дақылды бактериологиялық тұзақпен Петри табақшасындағы қатты ортаның бетіне диаметрі 2-3 мм болатындай етіп егеді, тамшы толық сіңірілгенше бөлме температурасына қалдырады. Содан соң, бірінші тамшы жақтауынан 1-2 мм қалдырып, сол қоректік ортада өсірілген зерттелетін тәуліктік дақылды тамызады. Екінші тамшы ағып, дақыл культурасының орнына шамамен

диаметрдің жартысына дейін енеді. Қабаттасқан культура бөлігінде бір-бірімен бәсекелесе отырып дамиды. Екінші культураның тамшысы кепкен соң, дақылы бар табакшаларды қолайлы температурада қақпағын төмен қарата отырып инкубациялайды. Нәтижелерді алдын- ала есепке алу инкубациядан 18-20 сағаттан кейін, соңғы есеп – 48 сағаттан кейін жүргізіледі. Егер бөлшектеп біріктірілген тамшылардағы өсуі бақылаудағы өсуінен ерекшеленбесе, штамдар биологиялық сәйкес болғаны, егер бөлшектеп біріктірілген тамшыларды бақылаумен салыстырғанда штамм өсуі баяу немесе мүлдем болмаса, штамдар арасындағы қатынасы антагонистік деп қарастырған, және ол штамдарды биологиялық сәйкес емес деп таныған [242].

2.3.5.1 Штамм-деструкторлардың хлорорганикалық пестицидтерді ыдырату дәрежесін масс-спектрометриялық детекторы бар газды – сұйық хроматография әдісімен анықтау

Сынамалар ҚазҰАУ Қазақстан-Жапон инновациялық орталығының Азық-түлік және экологиялық қауіпсіздік зертханасында газды хроматография әдісімен талданды. Хлороорганикалық пестицидтерді анықтау termo Scientific GC column TG-5SILMS 30м-0,25 мм-0,25 мкм капиллярлық бағанасы бар tsq 8000 EVO үштік квадрупольдік масс-спектрометриялық детекторы бар «Хромос ГХ-1000» газды хроматографында (Ресей) ГОСТ 31481-2012 бойынша хроматографиялық әдіспен жүргізілді. Төмен полярлы фазасы 5% дифенил/95% диметил полисилоксан. Кіріс көлемі: 1 мкл, бөлу коэффициенті 1:100, ағынның жылдамдығы 1 мл/мин, бағанның қыздыру жылдамдығы: 70°C-тен 285°C-ке дейін, жылдамдығы 10C/мин, талдау уақыты 34 мин, инжектор температурасы 210°C, детектор көзінің температурасы 285°C.

Сынаманы талдауға дайындау.

Көлемі 1000 см³ талданатын М9 сынамасы бөлгіш воронкаға салынады, үстіне 30 см 3 н-гексан қосылады және 3 минут бойы қатты шайқалады. Экстракция кезінде эмульсия түзгенде қоспаға аз мөлшерде этил спирті қосылады. Фазалық бөлінуден кейін гексан қабаты конустық колбаға құйылады, ал М9 фракциясымен экстракция 20 см³ н-гексанның жаңа бөлігімен тағы екі рет қайталанады, сығындылар біріктіріледі. Алынған сығынды сыйымдылығы 100 см³ пробиркаға ауыстырылады және сусыз күкірт қышқылымен натриймен қаныққан 10 см³ күкірт қышқылын құяды және абайлап шайқайды. Төменгі қабатты бөліп, қышқыл түссіз болғанша өндеуді қайталайды. Тазартылған гексан сығындысы тазартылған М9 бейтарап реакциясына дейін дистилденген судың бірнеше порциясымен (шамамен 10 см³) ұзақ құйғышта жуылады. Сығынды сусыз натрий сульфаты бар құйғыш арқылы ағызылады, бөлгіш құйғышты н-гексанның кішкене ерітіндісімен шайып, оны біріктірілген сығындыға қосады және еріткішті айналмалы буландырғышта 0,1-0,2 см³ көлеміне дейін алып тастайды, содан кейін ауада кептіреді. Құрғақ қалдықты 1см³ н-гександа ерітеді және хроматографқа енгізу үшін пайдаланады. 31858-2012 МС бойынша гексахлорциклогексанның α , β , γ -ГХЦГ изомерлері мен 4,4- дихлордифенилтрихлорметилметанның (ДДТ) ДДД, ДДЭ

изомерлерін газды-сұйық хроматография әдісімен анықтау жұмыстары жүргізілді.

Қажетті құрал-жабдықтар ретінде электрондық түсіру детекторы бар газды хроматограф, SE типті силиконды эластомерлер, микрошприцтер, стерильді лабораториялық ыдыстар мен химиялық реактивтер қолданылды.

Хроматографты дайындау сатылары:

- Детектор температурасы – 270-290° С;
- Екі сатылы температураны бағдарлау жүйесі;
- Колонканың бастапты температурасы – 150°С, анализ уақыты 2 минут.
- Колонканың соңғы температурасы – 250°С [243-247].

2.3.5.2 Штамм – деструкторлардың хлорорганикалық пестицидтерді ыдырату белсенділігін модельді тәжірибиелерде зерттеу әдісі

Жұмыста пестицидтерді ыдырататын микроорганизмдер бір-бірімен биосәйкестігі принципі негізінде жаңа консорциумдарға біріктірілген. Консорциумдарда деструктор штамдары грам-оң және грам-теріс бактериялармен, қозғалғыш және қозғалмайтын, аэробты және факультативті анаэробты формалармен ұсынылған.

Пестицидтердің микробтық ыдырауының аралық өнімдері бастапқы қосылыстарға қарағанда улы болуы мүмкін [248]. Сондықтан табиғи орталарды биоремедиациялау технологиясы үшін микроорганизмдер-биодеструкторлар штамдарының маңызды көрсеткіштерінің бірі фитотоксинділігінің болмауы болып табылады.

Модельдік тәжірибелерде жаздық бидай көшеттеріне деструктор штамдарының дақылдық сұйықтығын қосып, пестицидтермен ластанған топырақтың фитотоксинділігі зерттелді. Тұқымдар пестицидтермен ластанған топырақтың зерттелген үлгілерінде және пестицидсіз бақылау топырақтарында Петри табақшаларында өніп шықты. Микроорганизмдердің штамм-деструкторларының суспензиясының түрлік арақатынасы әртүрлі қатынаста өзгерді: монокультура, екі түр, үш түр және бақылау (штамм-деструкторларды енгізусіз). Алдымен деструктивті – микроорганизмдер элективті қоректік ортада өсіру арқылы биомасса жинақтап алынады. Келесі кезең-микроорганизмдердің оқшауланған қауымдастығының пестицидтерге бейімделуі. Бейімделу минералды ортада аэрация жағдайында жүргізілді. Көміртектің жалғыз көзі ретінде хлорорганикалық пестицидтердің 6 түрі (ДДТ, ДДД, ДДЭ, αГХЦГ, βГХЦГ, μГХЦГ) енгізілді. Пестицидтер гетеротрофты микроорганизмдермен олардың тіршілік әрекеті процесінде ыдырайтыны белгілі. Деструктивті – микроорганизмдерге энергия көзі, органикалық және минералды қосылыстар түріндегі қоректену көздері, сондай-ақ ортаның тиісті оптимальды физика-химиялық жағдайлары (қышқылды топырақ және бейтарап орта (рН 6-7), ылғалдылық 50-70%, температура диапазоны 20-30°С, аэробты жағдай) қажет. Пестицидтермен ластанған топырақтағы бидай өскіндерінің морфометриялық көрсеткіштері бағаланды.

Тұрақты органикалық қосылыстарды ыдыратуға қабілетті деструктор – микроорганизмдерді флуоресцентті спектрофотометриялық талдау әдісі.

Микроорганизмдердің дегидрогеназа белсенділігін анықтау үшін ТТХ ерітіндісімен модификацияланған әдістеме пайдаланылды [249]. ТҚҚ - ға қатысты микроорганизмдер штамдарының деструктивті белсенділігі FP-8500 флуоресцентті спектрометрінде (Jasco, Japan) спектрофотометриялық талдау әдісімен анықталды.

Аэробты жағдайда ксенобиотиктердің биодеградациясының бірінші кезеңі әртүрлі оксидоредуктазалармен катализденетін тотығу метаболизмінің реакциялары болғандықтан, деструктор – микроорганизмдердің дегидрогеназа ферментін анықтау дақылдың деструктивті белсенділігін көрсетеді. Микроорганизмдердің дегидрогеназа белсенділігін анықтау үшін синтетикалық М9 қоректік ортасына қосылатын 2,3,5-трифенилтетразолий хлоридінің (ТТХ) 5% сулы ерітіндісі қолданылады. Микроорганизмдердің индикаторды жою қабілеті колониялардың және олардың айналасындағы ортаның қызыл түске боялуымен дәлелденеді, бұл қалпына келтірілген трифенилформазанның (ТФФ) түзілуін көрсетеді. Осы негізде деструктивті штамдар таңдалады. Талдау FP-8500 флуоресцентті спектрометрде (Jasco, Жапония) 20°C температурада 10 мг/л концентрацияда фосфат буферінде ерітілген үлгілердің қоздырғыш-эмиссиялық сипаттамаларын өлшеу үшін жүргізіледі. Сканерлеу 5 нм қадаммен 250-ден 600 нм-ге дейінгі диапазондағы қозу толқын ұзындығында (Em) және 5 нм қадаммен 260-тан 650 нм-ге дейінгі сәулелену толқын ұзындығында (Ex) жүргізіледі.

2.3.5.3 Штамм-деструкторлардың пестицидтер қатысында функциональдық топтарын ИҚ-Фурье спектрометрі ALPHA II әдісімен анықтау

ALPHA II әртүрлі үлгілермен жұмыс істеуге ыңғайлы болу үшін жасалған, сондықтан оны әртүрлі қолданбалар үшін пайдалану ыңғайлы. ALPHA II-нің маңызды қосымшаларының бірі-әр түрлі салалардағы сапаны бақылау. Мұнда ИҚ-Фурье талдау негізінен өнімнің сапасын тексеру және белгісіз үлгілерді анықтау үшін қолданылады.

Сұйық кюветтердің және әртүрлі NSAID модульдерінің болуы әртүрлі үлгілердің сапасын бақылау үшін оңтайлы жағдайларды таңдауға мүмкіндік береді. ИҚ-Фурье ALPHA II спектрометрі (Bruker, Германия) негізінде шараптың сапалық параметрлерін сандық талдау және дизельдегі FAME анықтау үшін дайын калибрлері бар мамандандырылған анализаторлар жасалды [250].

ИҚ-Фурье ALPHA II спектрометрі-спектрдің орта инфрақызыл аймағындағы ғылыми зерттеулер үшін, сондай-ақ әртүрлі өлшемдер үшін қолданылатын құрылғы. Ол отын, фармацевтика, сондай-ақ парфюмерия, мұнай-химия және басқа салаларда сапаны тексеру және сандық талдау жүргізу үшін таңдалады.

Фурье спектрометриясының классикалық оптикалық спектроскопия әдістерінен басты айырмашылығы-дисперсті элементтің болмауы. Спектр екі дәйекті процестен алынады. Бірінші кезеңде сәулелену интерферограммасы жазылады, содан кейін - Фурье түрлендіруінің көмегімен спектр есептелді.

Фурье спектрометрі бүкіл зерттелетін спектрді бір уақытта тіркей алады, бұл оны спектрлік аспаптардың басқа түрлерінен ерекшелендіреді. Аспаптағы интерференциялық сәулелердің айырмашылығы зерттелетін спектрді құрайтын монохроматикалық сәулеленуді модуляциялайды, оның жиілігі белгілі бір толқын ұзындығына сәйкес келеді. Сәулелену қабылдағышы сигналды жиілікке сәйкес энергияның таралу функциясының Фурье түрлендіруі және осылайша талданатын сәулелену спектрі ретінде тіркейді. Кері Фурье түрлендіруін орындау үшін заманауи есептеу техникасы қолданылды.

2.3.6 Тұрақты органикалық қосылыстармен ластанған топырақты штамм-деструкторлар консорциумы негізінде биоремедиациялау технологиясын жасау әдісі

Тұрақты органикалық қосылыстармен ластанған топырақ үлгілерінен бөлініп алынған аборигенді штамм деструкторлар негізінде консорциум құрастыру және перспективті консорциумдар негізінде биопрепараттарды алу хлорорганикалық ластағыштармен ластанған топырақтарды биоремедиациялауда ұсынылды.

2.4 Тәжірибе нәтижелерін статистикалық өңдеу

Ыдырау дәрежесі тұрақты органикалық қосылыстардың қалдықтары арасындағы айырмашылық бойынша бағаланды және 3 егілмеген (бақылау) үлгілері (%) (Triola et al., 2017) үшін орташа және стандартты ауытқулар MS Excel 2019-да қайталау деректерді талдау құралы арқылы есептелді. Орташа мәндер қолданумен салыстырылды MStat 6.1 (Мичиган) көмегімен $p < 0.05$ -те көрсетілген маңыздылығы бар ең аз маңызды айырмашылық (LSD) сынақтары (Мемлекеттік университет, Шығыс Лансинг, Мичиган, АҚШ).

Метагеномикалық талдау жүргізу барысында алынған геном мәліметтерін өңдеуде қолданылған компьютерлік бағдарламалардағы статистикалық талдау R Version 3.1.3 пакеттер жиынтығының көмегімен жүргізілді. Тетрануклеотидтік жиіліктер үшін алынған z-баллдарының корреляциялық коэффициенттерін салыстыру `gry2` және `gplots` жылу картасын қолдану арқылы құрастырылды. `ggplot2` пакетін пайдалану және пішінін өзгерту көмегімен графиктер құрастылды. Кластерлік талдау APE пакеті негізінде Пирсон және вард-дистанция көмегімен талданды [251].

3 ЗЕРТТЕУ НӘТИЖЕЛЕРІ ЖӘНЕ ТАЛҚЫЛАУ

3.1 Тұрақты органикалық қосылыстармен ластанған топырақ үлгілеріне мониторинг

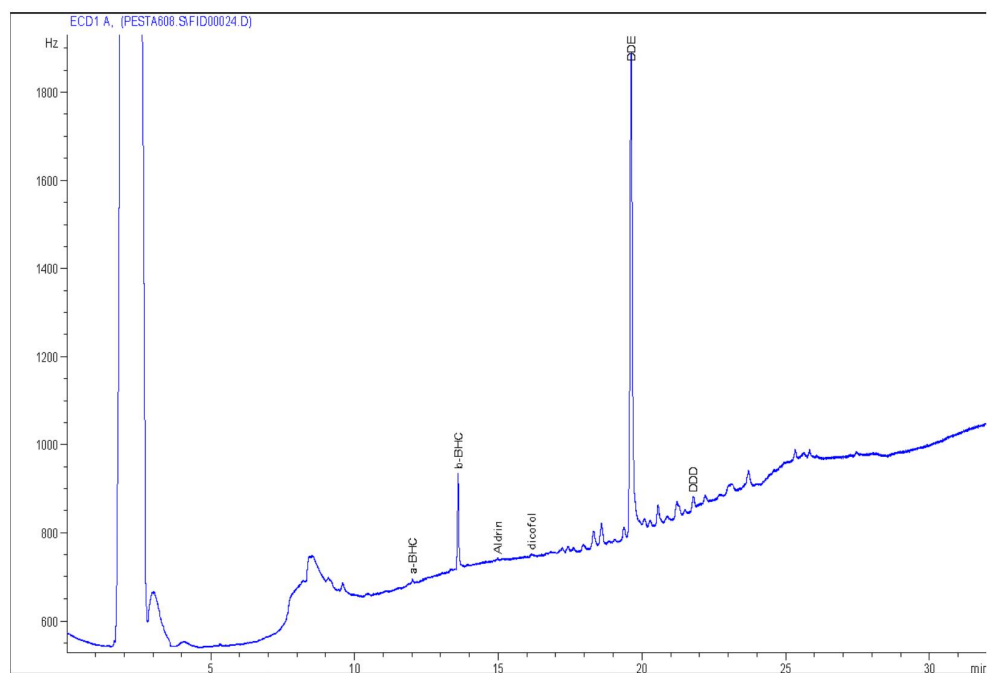
Тұрақты органикалық қосылыстар – улы, жартылай ұшқыш және әртүрлі қосылыстар түрінде қоршаған ортадағы өзгерістерге ұшырауға бейім, қозғалмалы химиялық заттар. Тұрақты органикалық қосылыстар ауада үлкен қашықтықта шаң бөлшектерінде, абиотикалық матрицаларда және тірі организмдерде биоаккумуляция арқылы жиналуы мүмкін. Табиғи немесе антропогендік әсерден органикалық қосылыстар класы физикалық – химиялық қасиеттері қоршаған ортада өте ұзақ сақталады, себебі тұрақты органикалық қосылыстар фотолизге, химиялық ыдырауға және кейбір жағдайларда биологиялық ыдырау процесіне тұрақты. Бұл санатқа хлорорганикалық пестицидтер (ОСРС), полихлорланған дифенилдер (ПХД) және бірнеше полициклді хош иісті көмірсутектер кіреді. Хлорорганикалық пестицидтер (ОСРС) – құрамында органикалық қосылыстар байланысты хлор атомдары жоғары липофильділікке және жоғары нейротоксинділікке ие.

Зерттелген топырақ үлгілері 24 хлорорганикалық пестицидтер бойынша талданды (Кесте1). Қазіргі таңда зерттеулерде кеңінен қарастырылатын белгілі ТОҚ бар: 4,4-ДДЕ, 4,4-ДДТ, α -ГХЦГ, β - ГХЦГ және γ - ГХЦГ (Кесте 1).

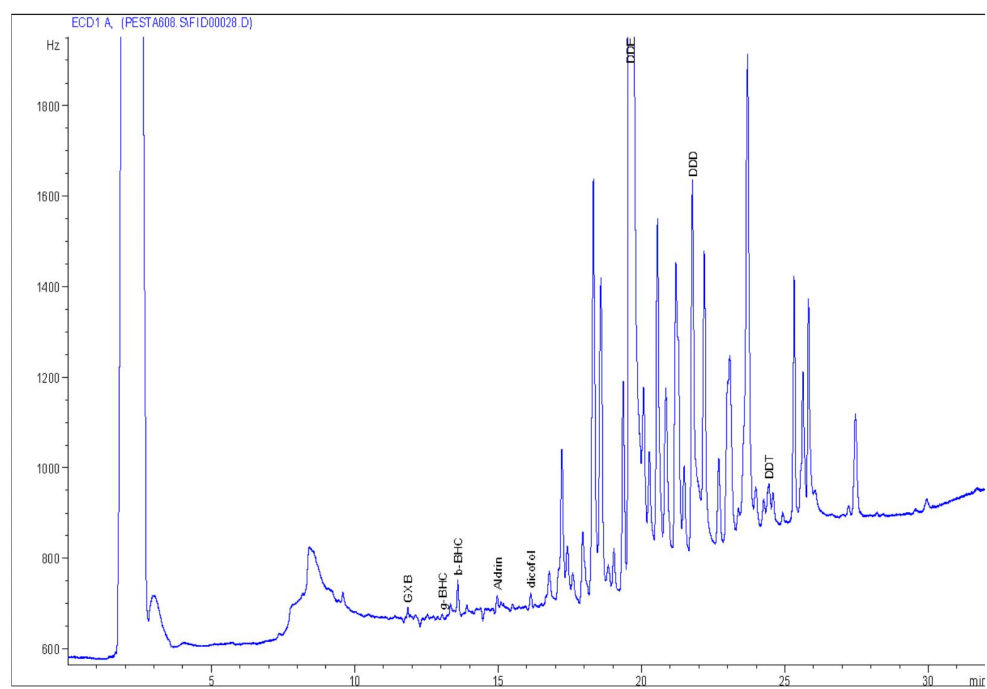
Кесте 1. Топырақ үлгілеріндегі тұрақты органикалық қосылыстардың концентрациясы, мкг кг⁻¹.

ТОҚ	ШМК ^а	Басшы	Амангелді 1	Амангелді 2	Белбулак	Бесқайнар	Қызылқайрат
4,4-ДДЕ	100	6,6 ± 1.3	1 163 ± 407	445 ± 88,5	577 ± 33,9	34 215 ± 1 305	778 ± 292
4,4-ДДТ	100	75,2 ± 9.1	1 237 ± 0	< LOD	20,6 ± 7,5	6 274 ± 179	10 023 ± 2 471
α -ГХЦГ	100	5,2 ± 1.7	7,3 ± 0.1	< LOD	< LOD	7,3 ± 2,3	89,2 ± 0.0
β -ГХЦГ	100	38,8 ± 4.7	54,1 ± 15.5	109 ± 11,8	3,1 ± 1,0	252 ± 49,3	488 ± 152
γ -ГХЦГ	100	< LOD	19,3 ± 0	< LOD	< LOD	13,4 ± 3,4	25,5 ± 16,4
Σ	-	126	2 481	554	601	40 762	11 404

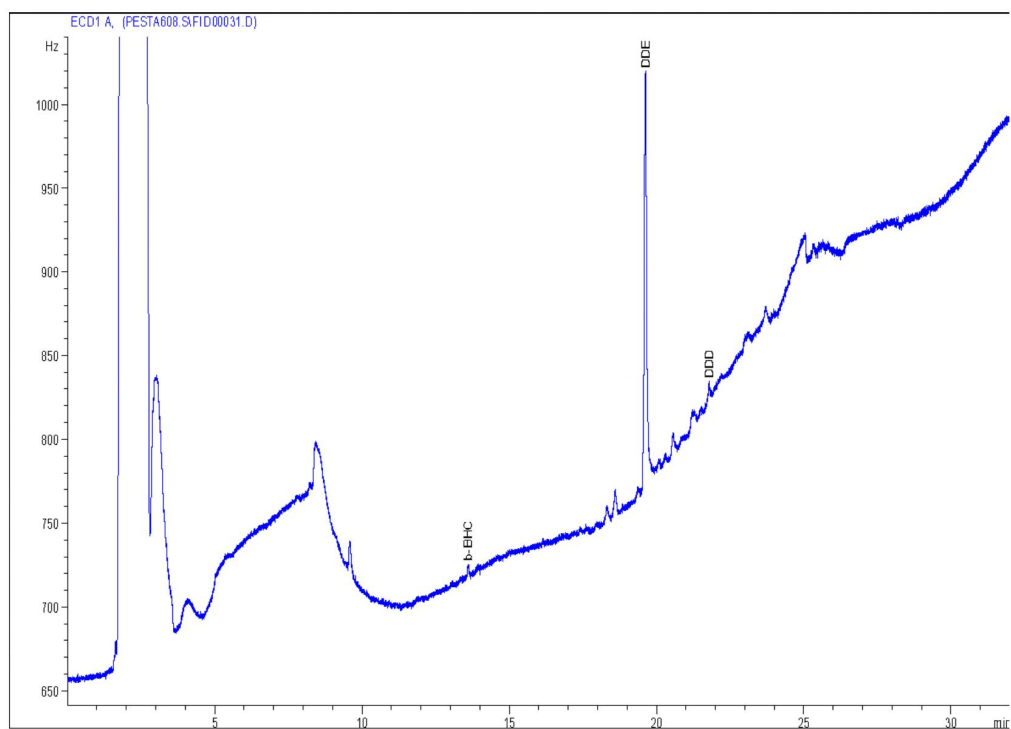
Ескерту: Анықтау шегі (LOD) = 0,1 мкг кг⁻¹; а-Қазақстан Республикасы үшін шекті мөлшер концентрацияның (ШПК) мәндері (МНРК және МЕРК, 2004);



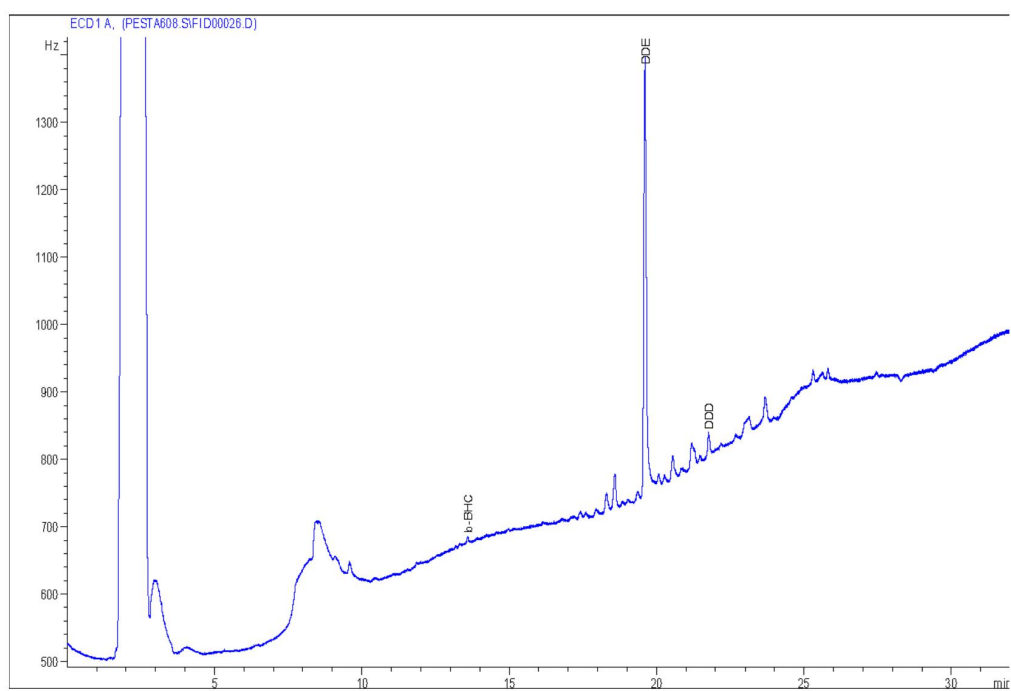
(a)



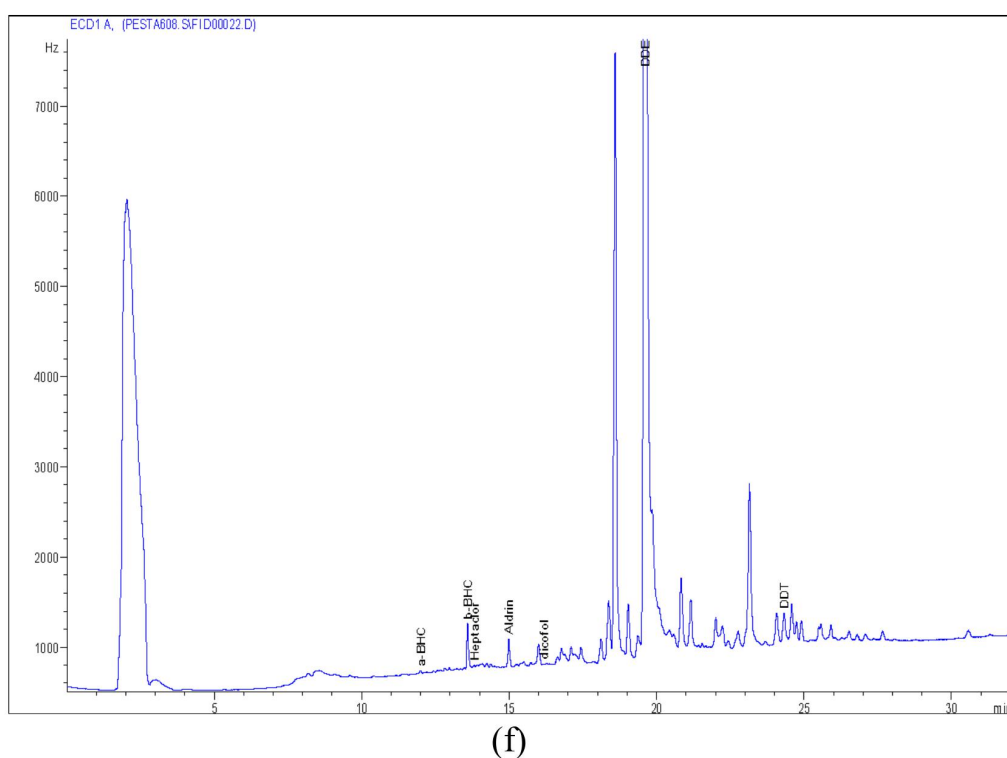
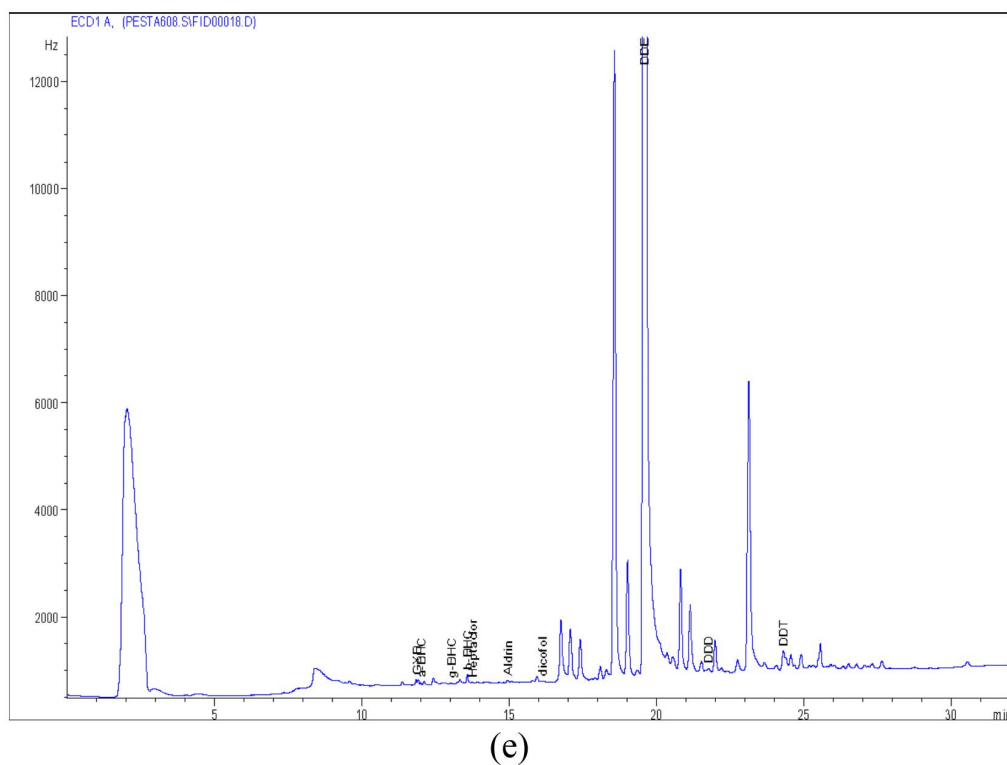
(b)



(c)



(d)



Сурет 5 – Топырақ үлгілерінің хлорорганикалық пестицидтердің концентрациясының хроматограмасы: а) Басшы; б) Амангелді №1; с) Амангелді №2; d) Белбұлақ; е) Бесқайнар; f) Қызылқайрат

Топырақ үлгілеріндегі хлорорганикалық пестицидтердің жалпы концентрациясының мөлшері: Қызылқайрат-121,054 мкг кг⁻¹, Бесқайнар-47,334 мкг кг⁻¹, Амангелді 1-5382 мкг кг⁻¹, Амангелді 2-1032 мкг кг⁻¹, Белбұлақ-1025

мкг кг⁻¹, ал Басшы-146 мкг кг⁻¹ құрады (Кесте 2, сурет 5). Бесқайнар және Қызылқайрат топырағы тұрақты органикалық қосылыстармен жоғары ластану көрсеткішіне ие болды.

Басшы бақылау топырағында тұрақты органикалық қосылыстардың қалдықтары табылды, және алдрин мөлшері ШМК-нан 2,9 есе асып кетті (Кесте 2). Амангелді 1 және Амангелді 2 ластанған топырақ үлгілерінде: барлық тұрақты органикалық қосылыстардың түрлері анықталды және ШМК-нан гептахлор 1,3 есе, 2,4-ДДД 1,5 есе, 4,4-ДДД 11,6 есе, 4,4-ДДЕ 12,4 есе, 4,4-ДДТ мен алдрин 2,2 есе, дильдрин және эндрин 44,2 есе жоғары екендігі анықталды. Амангелді - 2 топырағының құрамында алты тұрақты органикалық қосылыстардың түрі кездесті, ШМК-нан 4,4-ДДЕ 4,5 есе, дильдрин 26,2 есе, эндрин 182 есе және β-ГХЦГ 1,1 есеге көп кездесетіндігі анықталды (Кесте 2).

Кесте 2. Топырақ үлгілеріндегі тұрақты органикалық қосылыстардың концентрациясы (мкг кг⁻¹)

Хлорорганикалық пестицидтер	ШМК РК _а	Басшы	Амангелді 1	Амангелді 2	Белбұлақ	Бесқайнар	Қызылқайрат
2.4-ДДД*	100	< ШМК	128 ± 28.4	33 ± 11.2	176 ± 71.0	848 ± 32.2	14,072 ± 5,239
4.4-ДДД*	100	3.9 ± 1.3	147 ± 50.4	86.4 ± 65.3	200 ± 25.8	825 ± 32.9	11,434 ± 7,302
4.4-ДДЕ*	100	6.6 ± 1.3	1,163 ± 407	445 ± 88.5	577 ± 33.9	34,215 ± 1,305	778 ± 292
4.4-ДДТ*	100	75.2 ± 9.1	1,237 ± 0	< ШМК	20.6 ± 7.5	6,274 ± 179	10,023 ± 2,471
Альдрин*	2.5	7.2 ± 2.0	5.6 ± 1.9	< ШМК	< ШМК	64.0 ± 25.3	230 ± 59.1
Хлордан*	100	< ШМК	30.1 ± 16.5	< ШМК	4.1 ± 0.3	< ШМК	48.1 ± 27.6
Хлорбензилат	20	< ШМК	278 ± 200	< ШМК	8.5 ± 2.5	4,067 ± 165	32,061 ± 12,669
Дибутил хлорендат	-	< ШМК	182 ± 96.4	99.7 ± 64.8	< ШМК	< ШМК	2,135 ± 478
Дильдрин*	0.5	8.7 ± 2.9	22.1 ± 6.9	13.1 ± 8.2	22.0 ± 9.3	194 ± 13.1	133 ± 51.1
Эндосульфан α	100	< ШМК	83.2 ± 0	< ШМК	< ШМК	15.0 ± 0.0 °	5.5 ± 0.0
Эндосульфан β	100	< ШМК	< ШМК	< ШМК	< ШМК	233 ± 0.0 °	253 ± 163
Эндосульфан сульфат	-	< ШМК	332 ± 259	25.9 ± 10.5	< ШМК	< ШМК	119 ± 76.5
Эндрин*	1	< ШМК	1,289 ± 981	182 ± 0	11.9 ± 2.0	181 ± 17.0	44,085 ± 17,335
Эндрин альдегид	-	< ШМК	62.4 ± 9.6	5.2 ± 0	< ШМК	< ШМК	1,087 ± 198
Гексахлорбензол*	500	< ШМК	21.3 ± 13	< ШМК	< ШМК	< ШМК	4.7 ± 1.9
Гептахлор*	50	< ШМК	< ШМК	< ШМК	< ШМК	39.5 ± 25.5	215 ± 0.0
Гептахлор эпоксид	50	< ШМК	190 ± 174	< ШМК	1.8 ± 0.5	< ШМК	3,029 ± 1,192
Гексабромбензол	30	< ШМК	39.8 ± 0	< ШМК	< ШМК	< ШМК	201 ± 130
Кельан (Disofol)*	100	< ШМК	5.8 ± 2.6	< ШМК	< ШМК	14.7 ± 5.2	34.4 ± 0.0
Метаксихлор	1600	< ШМК	11.1 ± 0	< ШМК	< ШМК	91.5 ± 16.2	436 ± 281
α-ГХЦГ*	100	5.2 ± 1.7	7.3 ± 0.1	< ШМК	< ШМК	7.3 ± 2.3	89.2 ± 0.0
β-ГХЦГ*	100	38.8 ± 4.7	54.1 ± 15.5	109 ± 11.8	3.1 ± 1.0	252 ± 49.3	488 ± 152
γ-ГХЦГ*	100	< ШМК	19.3 ± 0	< ШМК	< ШМК	13.4 ± 3.4	25.5 ± 16.4
δ-ГХЦГ	100	< ШМК	73.6 ± 0	33.0 ± 11.2	< ШМК	< ШМК	67.4 ± 13.7
Σ	-	146	5,382	1,032	1,025	47,334	121,054

Ескерту: Анықтау шегі (LOD) = 0,1 мкг кг⁻¹; а-Қазақстан Республикасы үшін шекті мөлшер концентрацияның (ШМК) мәндері (МНРК және МЕРК, 2004); * - ТОҚ.

Қызылқайрат топырақ үлгілері тұрақты органикалық қосылыстармен басқа топырақ үлгілеріне қарағанда жоғары ластанған және құрамында он төрт тұрақты органикалық қосылыстар анықталды. 2,4-ДДД 7,8 есе, 4,4-ДДД 100 есе, 4,4-ДДЕ 92,0 есе, 4,4-ДДТ 266 есе, алдрин 44 есе, дильдрин 4,3 есе, эндрин 4,9 есе, гептахлор 141 және β -ГХЦГ 114 есе ШМК -нан жоғары екендігі анықталды (Кесте 2). Бесқайнар топырақ үлгілерінде 13 тұрақты органикалық қосылыстардың концентрациясы анықталды, ШМК-нан 2,4- ДДД 342 есе, 4,4-ДДД 62,7 есе, 4,4-ДДЕ 25,6 есе, 4,4-ДДТ 388 есе, алдрин 181 есе, дильдрин 2,5 есе, эндрин 8,5 есе және β -ГХЦГ 8,3 есе асып түсті. Белбұлақ топырақ үлгілерінде, тұрақты органикалық қосылыстардың 8 түрі анықталды, және ШМК-нан 2,4-ДДД 1,8 есе, 4,4-ДДД 2,0 есе, 4,4-ДДЕ 5,8 есе, дильдрин 44,0 есе және эндрин 11,9 есе жоғары екені анықталды. Осылайша, зерттелген барлық топырақ үлгілерінде тұрақты органикалық қосыластардың 4,4-ДДД, 4,4-ДДЕ, дилдрин және β -ГХЦГ, 4,4-ДДТ түрлерінің басым екендігі анықталды.

Сонымен зерттеу нәтижелері бойынша зерттеуге алынған топырақ үлгілері Қызылқайрат, Бесқайнар топырақ үлгілері пестицидтермен жоғары дәрежеде ластанғаны, Амангелді №1, Амангелді №2, Белбұлақ топырақ үлгілері Басшы бақылау үлгісімен салыстырғанда тұрақты органикалық қосылыстармен орташа дәрежеде ластанғаны анықталды.

3.2 Пестицидтермен ластанған топырақ үлгілерінің микробтық алуантүрлілігі

Топырақтың құнарлығы және сапалығының негізгі көрсеткіштерінің бірі оның микробтық алуантүрлілігі және микробтық белсенділігі болып табылады. Топырақтың микробиоценозы оның құнарлылығын, микроорганизмдердің тіршілік әрекетіне байланысты биохимиялық процестердің жиынтық нәтижесін сипаттайды. Топырақ микроорганизмдері кешендерінің сапалық және сандық құрамы топырақ жағдайының маңызды диагностикалық көрсеткіші болып табылады, бұл микробтық қауымдастықтардың жекелеген өкілдерінің экологиялық жағдайлардың өзгеруіне жоғары сезімталдығымен байланысты [252].

Топырақтың құнарлылығы оның құрамындағы органикалық заттардың синтезі мен деградациясының, азотты бекітудің, гумификацияның, биогендік элементтердің айналымының және т.б. маңызды функцияларын жүзеге асыратын микроорганизмдердің белгілі бір топтарының болуына байланысты. Топыраққа пестицидтер сияқты бөгде қосылыстар енгізілсе, салдарынан жергілікті микробтық кешендердің деградациясына әкелуі мүмкін. Екінші жағынан, бұл пестицидтердің трансформациясы мен биодеградациясында жетекші рөл атқаратын микроорганизмдер, тіршілік әрекеті процесінде көміртегі, азот, фосфор және энергия көздері ретінде қолданады. Топырақ пен суда микроорганизмдердің немесе олардың ферменттерінің қатысуымен пестицидтердің гидролизі, тотығуы және тотықсыздану процестері жүреді [253].

Зерттеу жұмысында хлорорганикалық пестицидтермен ластанған топырақ үлгілерінің сынамалары 7 нүктеден (Алматы облысының Талғар ауданы) Қызылқайрат, Белбұлақ, Амангелді №1, Амангелді №2, Бесқайнар, Басшы (бақылау) алынды.

Соңғы жылдары экологиялық тепе-теңдікті сақтауда микроорганизмдердің орасан зор рөлі анықталды. Микроорганизмдердің көптеген формалары ксенобиотиктерді метаболизм үдересінде пайдалану қабілетіне ие, яғни оларды клетканың құрылымдық және энергетикалық метаболизмінде қолданады. Ферменттік жүйелер арқылы жүзеге асырылатын токсиканттардың микробтық деградациясы органикалық токсиканттарды жоюдың белсенді тәсілі болып табылады. Экологиялық маңызды биологиялық агенттердің, соның ішінде микроорганизмдердің номенклатурасы жүйелі түрде кеңейіп келеді. Осыған байланысты, жұмыста Алматы облысының хлорорганикалық пестицидтермен ластанған топырақ үлгілерінің микробтық алуантүрлілігіне метагеномды талдау жүргізілді.

Зертханалық жағдайда микроорганизмдердің дақылдауға келетін бөлігін ғана зерттеуге болады, ал топырақтағы барлық микроорганизмдердің ДНҚ-на негізделген әдістер топырақ құрамының құрылымдық және алуантүрлілілік ерекшеліктерін зерттеуде қолданылады. Қоршаған ортадан тікелей алынған генетикалық материалды (ДНҚ немесе РНҚ) зерттеу метагеномика деп аталады. Метагеномика микробиология, экология саласындағы іргелі ғылым салаларында қолданылатын негізгі жаңа заманауи әдіс болып табылады. Гендердің ДНҚ

тізбегін салыстыру арқылы анықталады. Бактерияларды анықтауға арналған алтын стандарт және архей түрлері-бұл бактериялық қауымдастықтардың құрылымын түсіндіру үшін кеңінен қолданылатын 16s РНҚ (рибосомалық РНҚ) суббірлігін кодтайтын генге негізделген.

Топырақ метагеномикасының негізгі мәселесі топырақтан нуклеин қышқылдарын бөліп алу. Бактериялар экстракцияның тиімділігі клетка қабырғасының құрылымына, бактерия түріне, өсу формаларына байланысты. Әр түрлі топырақтарда нуклеин қышқылдарымен бірге алынатын гуминдер әртүрлі мөлшерде кездеседі. Осыған байланысты ДНҚ әдістерінің әртүрлі секрециялары кейінгі зерттеулерден алынған нәтижелерге әсер етеді. Топырақ бактерияларынан нуклеин қышқылдарын бөліп алу және топырақ матрицасынан нуклеин қышқылдарын тазарту ең күрделі процесс болып табылады. ПТР (полимеразды тізбекті реакция), негізінде зерттелетін гендер пробиркада экспоненциалды түрде көбейеді.

Топырақ бактерияларының көпшілігін ДНҚ молекулалары негізінде ғана зерттеуге болатындықтан, бірнеше метагеномды зерттеуге арналған ДНҚ-мақсатты әдістер микробтық экологияның негізгі сұрақтарына жауап береді. Бактериялардың құрамы қауымдастық 16s рРНҚ гендерін клондау арқылы немесе бірнеше жыл бұрын жасалған келесі ұрпақ секвенирлеу әдістерін (NGS) қолдану арқылы анықталады. Микробтар қауымдастығындағы 16s рРНҚ гендерді бөлу арқылы уақыттың әртүрлі нүктелерінде қауымдастық кескіндерін жасауға және математикалық әдістерді қолдану арқылы уақыт өзгерістерін есептеуге негізделген. Микробтық қауымдастық функциясы катаболикалық гендерді анықтау және сандық анықтау әдістерін қолдану, мысалы, сандық ПТР әдістері немесе флуоресцентті *in situ* будандастыру әдістері (FISH) негізінде жүзеге асырылады. Экологиялық транскриптомика, қоршаған ортадағы мРНҚ молекулаларының ген экспрессиясын сандық бағалау катаболикалық гендердің белсенділігін өлшеуге мүмкіндік береді.

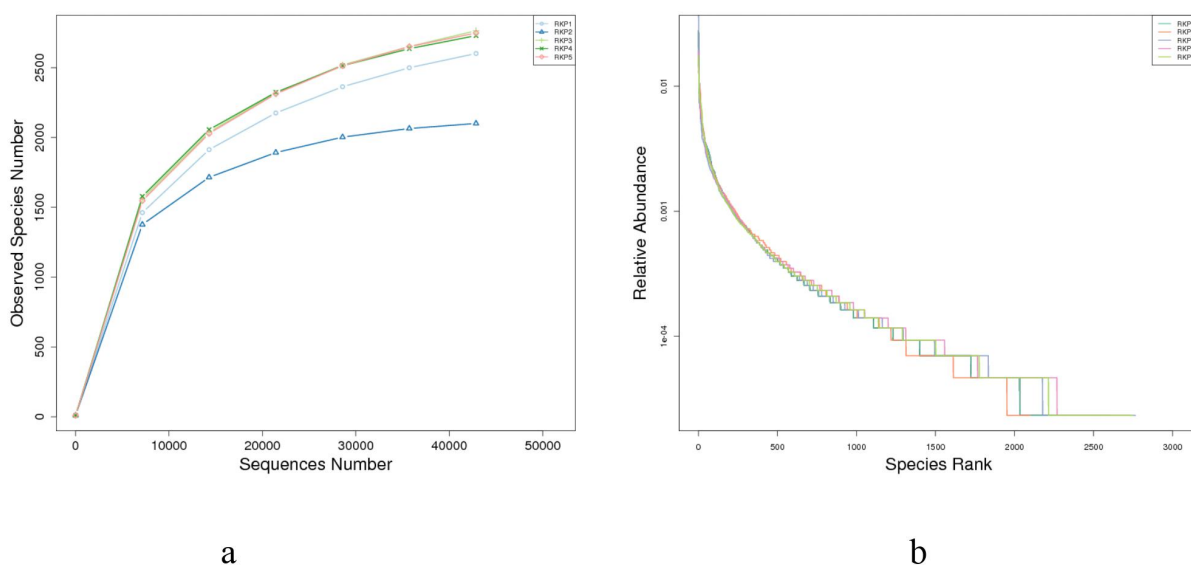
Ең күшті метагеномдық құралдар көбінесе ДНҚ әдістерінің комбинациясы және химиялық немесе микроскопиялық әдістер болып табылады. Мысалы, тұрақты изотоптарды (SIP) зерттеуде маркер ретінде радионуклидтер немесе тұрақты изотоптар арқылы бактериялар пайдаланатын молекулалар ағынын ДНҚ құрылымды блоктары үшін қоректік заттар ретінде өлшеуге болады. Сондай-ақ, метаболиттік зерттеулер үшін флуоресцентті *in situ* будандастыру әдістері радионуклидтермен біріктіріледі.

Ғылыми зерттеу жұмысында Illumina NGS технология платформасы негізінде алынған тұрақты органикалық қосылыстармен ластанған топырақ үлгілерінің микробтық алуантүрлілігі зерттелді.

Тұрақты органикалық қосылыстармен ластанған топырақ үлгілерінде кездесетін ферментативті белсенділігі жоғары, әртүрлі хлорорганикалық ластағыштарды түрлендіруге қабілетті микроорганизмдерді зерттеу қызығушылық тудыруда. Бұл микробтар қауымдастығының өкілдері зертханалық жағдайда жасанды қоректік орталарда оқшаулануы мүмкін. Әр түрлі ортада өмір сүретін прокариоттар қауымдастығының 90-99%-ын өсуге

бейім емес, бұл олардың биогеохимиялық және экологиялық функцияларын стандартты микробиологиялық әдістермен нақты зерттеуге болмайтынын білдіреді [254]. Молекулалық биологиялық әдістер микроорганизмдердің дақылданбаған көпшілігін анықтау мен бағалау үшін тиімді, бұл микроорганизмдердің қасиеттерін таза дақылда оқшауламай зерттеуге мүмкіндік береді. Олардың ішінде метагеномиканы, белгілі бір биологиялық жүйеден оқшауланған барлық генетикалық материалды талдауда пайдалануға болады. Метагеномдық тәсіл генетикалық ақпараттың үлкен көлемін талдауға мүмкіндік беретін ДНҚ нуклеотидтер тізбегін «оқуға» арналған жоғары өткізу қабілеттілігін, заманауи технологияларды дамытудың арқасында мүмкін береді. Метагеномдық зерттеулерде құрылымы прокариотты организмдердің қазіргі филогенетикалық классификациясына негізделген 16S рДНҚ генінің талдауы ең танымал болып табылады. Соңғы онжылдықтарда топырақтағы микробтардың құрылымы мен алуантүрлілігі және олардың қоршаған орта факторларымен байланысы метагеномика әдістерімен белсенді түрде зерттелді.

Тұрақты органикалық қосылыстармен ластанған топырақ үлгілеріндегі микроорганизм реттіліктерінің саны кең шектерде өзгергендіктен, сонымен қатар алуантүрліліктің әртүрлі индекстерін есептеу үшін, әр таңдаманың реттіліктің кездейсоқ үлгілері үшін есептелген индикаторлардың орташа мәндерін қолдандық (Rarefaction талдау).

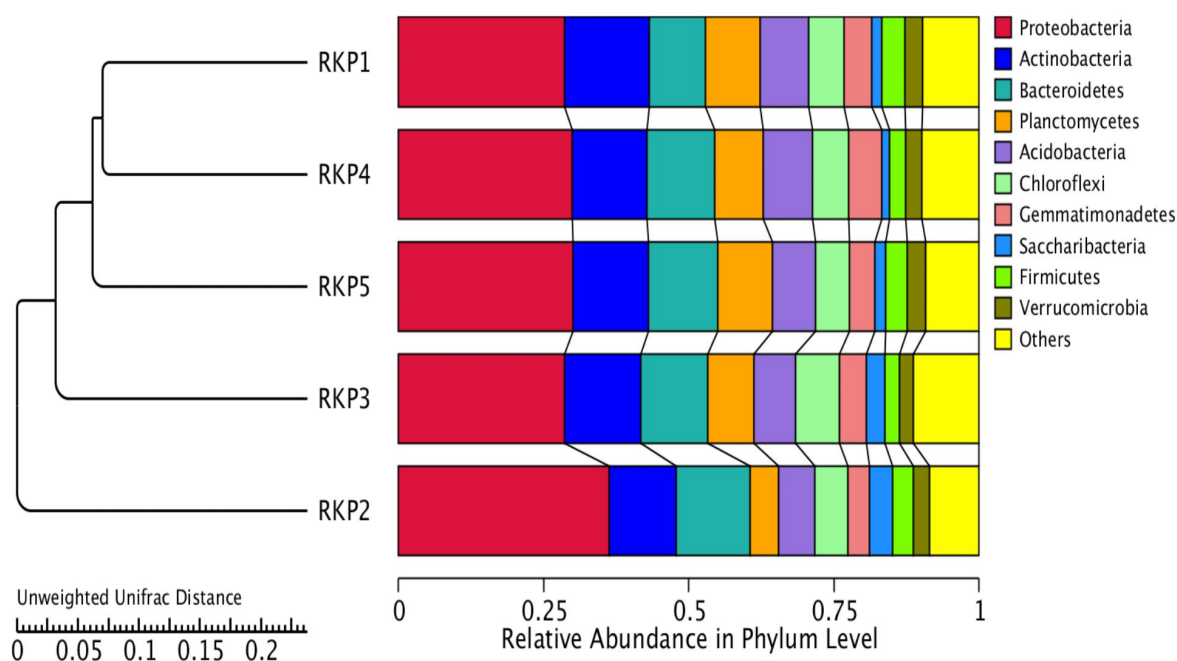


Сурет 6 - «Rarefaction» тесті: а. өсу қисығы, б. сан қисығы

6 – суретте көрсетілгендей үлгілер үшін жүргізілген реттілікті талдау нәтижелері секвенирленген реттіліктің көлемі ұлғаюымен ОТБ жинақталуының әр түрлі бағытты динамикасын көрсетті (сурет 6, өсу қисығы). Графиктегі қисықтардың көлбеулік бұрышы биоалуантүрліліктің қосымша индикаторы болып табылады – көлбеулік бұрышы неғұрлым үлкен болса, микрофлора соғұрлым алуан түрлі болады. Ал сан қисығы (сурет 6, сан қисығы) микробтық

қауымдастықтың түрлік құрамының динамикасын салыстырмалы қарқындылығын көрсетеді.

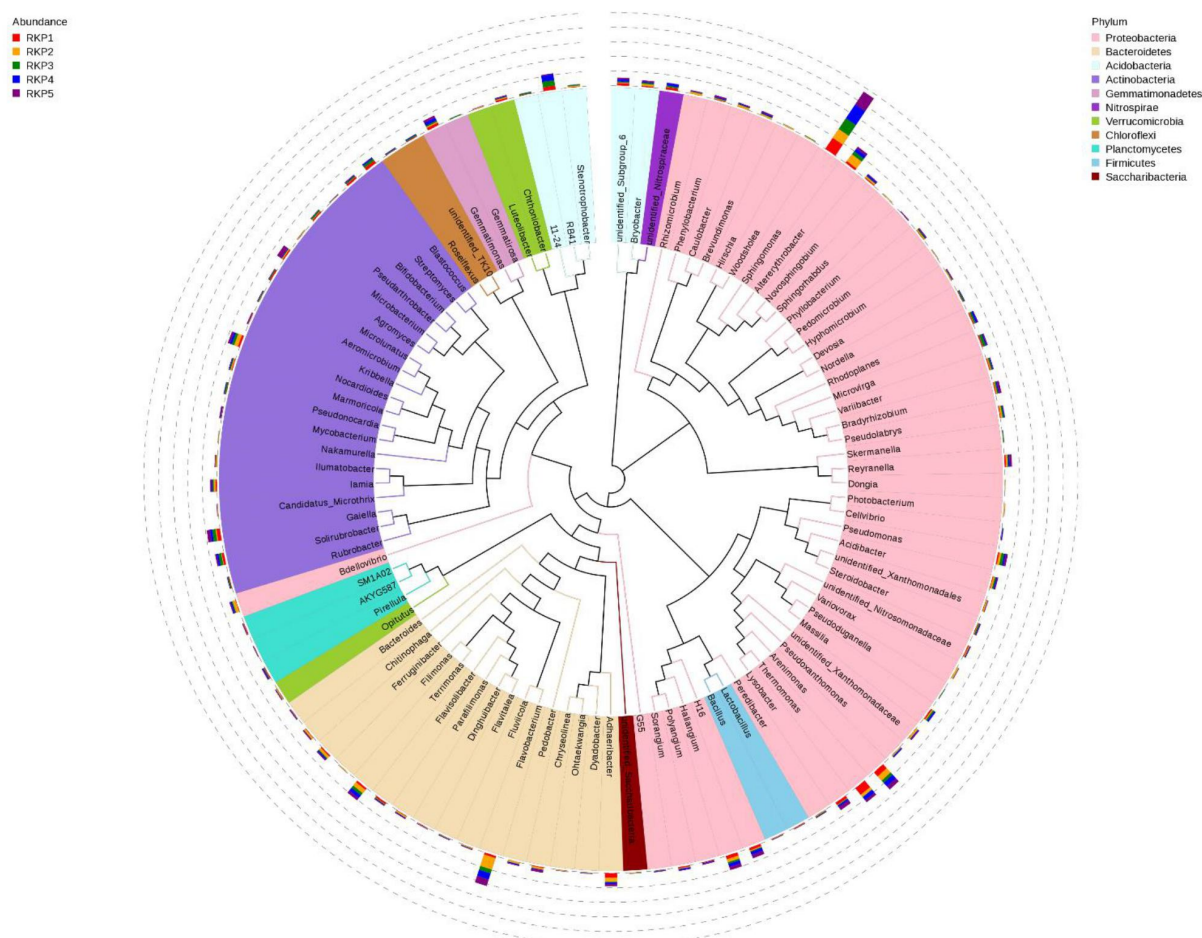
Тұрақты органикалық қосылыстармен ластанған топырақ үлгілерінің микробиоценозының таксономиялық құрылымын талдау. Домен деңгейіндегі микрофлораның таксономиялық құрылымын талдау қауымдастықтың көпшілігі бактериялар екенін көрсетті. Топырақ үлгілерін метагеномды зерттеу нәтижелері бойынша (RKP1 – Қызылқайрат, RKP2 – Бесқайнар, RKP3 – Амангелді №1, RKP4– Амангелді №2, RKP5 – Белбулақ) бактериялардың 10 таксономиялық топтары *Proteobacteria* 36%, *Actinobacteria* 16%, *Bacteroidetes* 13%, *Acidobacteria*, *Planctomycetes*, *Chloroflexi*, *Gemmatimonadates*, *Saccharibacteria*, *Firmicutes*, *Verrucomicrobia* және тағы басқалары басым болатындығы анықталды. (Сурет 7). Топырақтың микробтық қауымдастығының иерархиялық кластерлік талдауы MG-Rast бағдарламасы көмегімен жүргізілді. Дендрограмма құру үшін Пирсон корреляциясы және таксондар арасындағы арақашықтықтары қолданылды.



Сурет 7 – Топырақтың микробтық қауымдастығының иерархиялық кластерлік талдауы (RKP1 – Қызылқайрат, RKP2 – Бесқайнар, RKP3 – Амангелді №1, RKP4 – Амангелді №2, RKP5 – Белбулақ)

Белгіленген жүйелі позициясы бар бактериялардан басқа, 7 – суретте көрсетілгендей барлық үлгілерде фил деңгейінде анықталмайтын тізбектердің көп түрлері болатындығы анықталды. Тұрақты органикалық қосылыстармен ластанған аймақта *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Bacteroidetes* туыстарының басым болуымен сипатталады, ал *Verrucomicrobia* өкілдерінің саны салыстырмалы түрде аз болатындығы анықталды.

Proteobacteria 9%, *Bacteroides* 2,5 % және *Actinobacteria* 1,5 % екендігі анықталды.

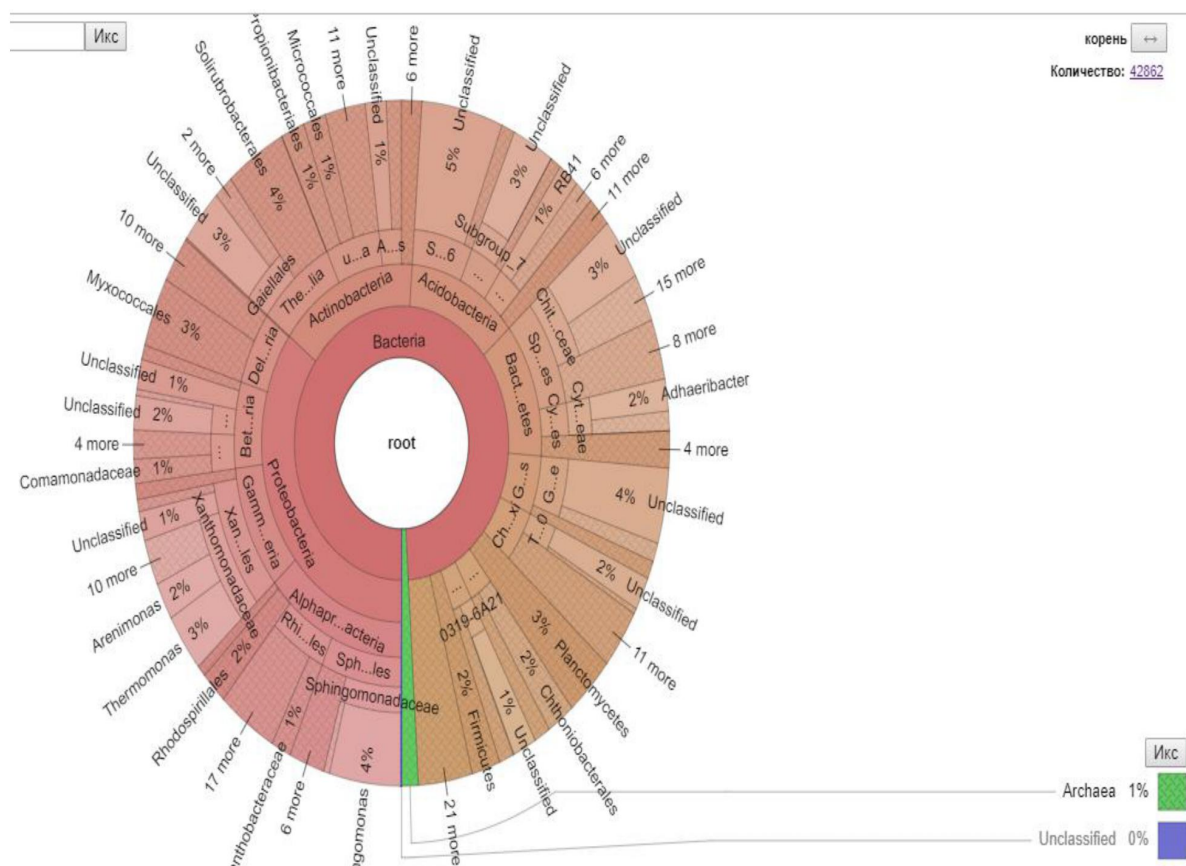


Сурет 9 – Филогенетикалық ағаш түрлерінің тұқымдасы-көлденең түрлердің жүйелі байланысы

Әр түрлі топырақ үлгілерінің микроорганизмдерінің ұқсастығын зерттеу үшін кластерлік талдау қолданылады. Экологиялық микробиологияда UPGMA (орташа арифметикалық өлшенбеген жұптық топ әдісі) кластерлік әдіс қолданылады, бұл әдіс сынақ үлгілерінің өзара байланысын визуализациялау үшін пайдаланылды. Қашықтық матрицалары Unifrac талдаулары арқылы анықталды (сурет 7). Сондай-ақ әр үлгідегі тип деңгейі бойынша 10 негізгі бактериялық топ салыстырылды (сурет 9). Жалпы алғанда, топырақ үлгілер арасында ең кең таралған 10 бактерия тобы анықталды, солардың ішінде *Proteobacteria*, *Bacteroides* және *Actinobacteria* фил өкілдері басым болды. Үлгілердегі топтардың ең көп бөлігі *Proteobacteria* өкілдерінің болуына байланысты, 16s рДНҚ бактериялық гендерінің жалпы тізбегінің 0% - дан 45,5%

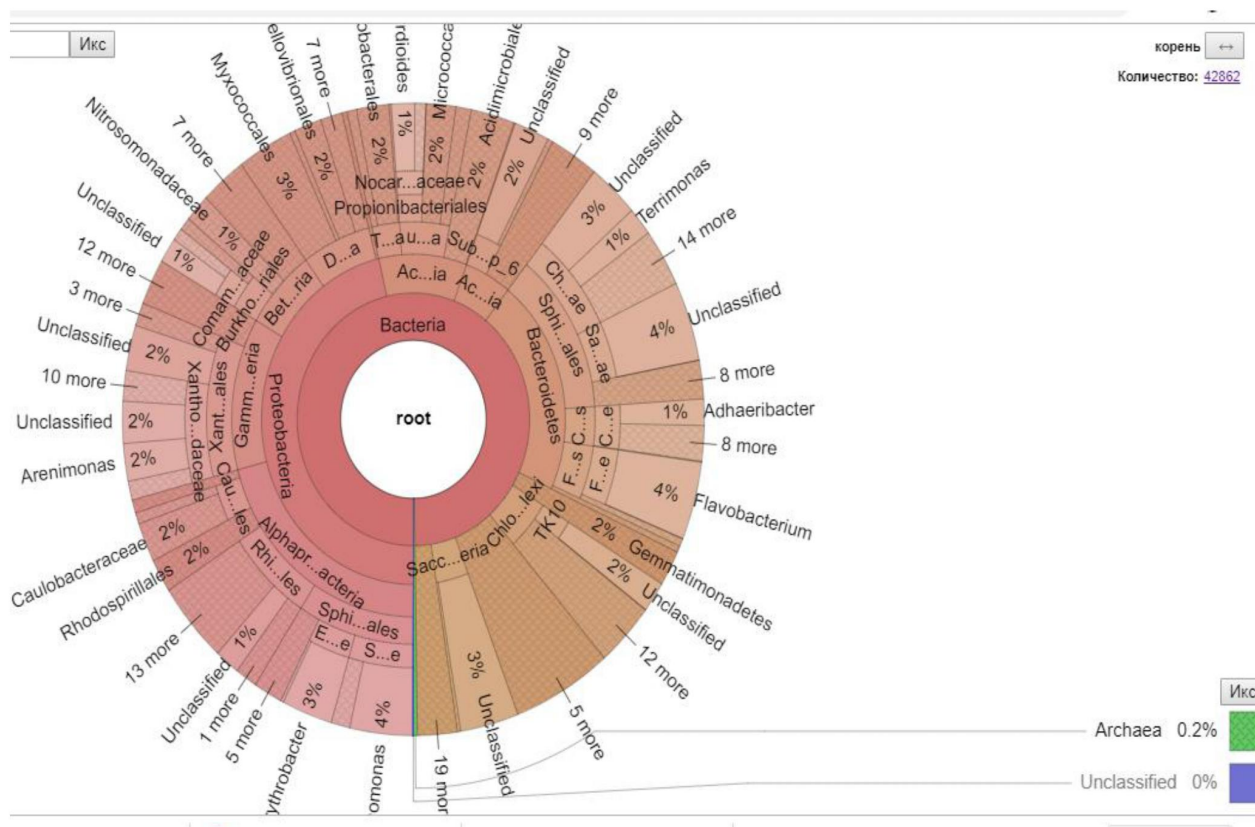
-ға дейін өзгергені байқалды. Ал *Tenericutes* мөлшері 65,4% көрсетті, *Bacteroides* салыстырмалы көрсеткіші 33-55,0% құрады, *Firmicutes* салыстырмалы саны шамамен 3,2-45% құрады, *Nitrospirae phylum*, *P. hlrflexi*, *Gemmatimonas*, *Acidobacteria* және *Fusobacteria* барлық топырақ үлгілерінде аз мөлшерде кездесті.

Тұрақты органикалық қосылыстармен ластанған топырақ үлгілерінің микробтық қауымдастығының Крона графигі Krona Tools бағдарламасы көмегімен жүзеге асырылды [255].



Сурет 10 – Қызылқайрат топырақ үлгісінде анықталған таксондардың салыстырмалы санының Крона графигі

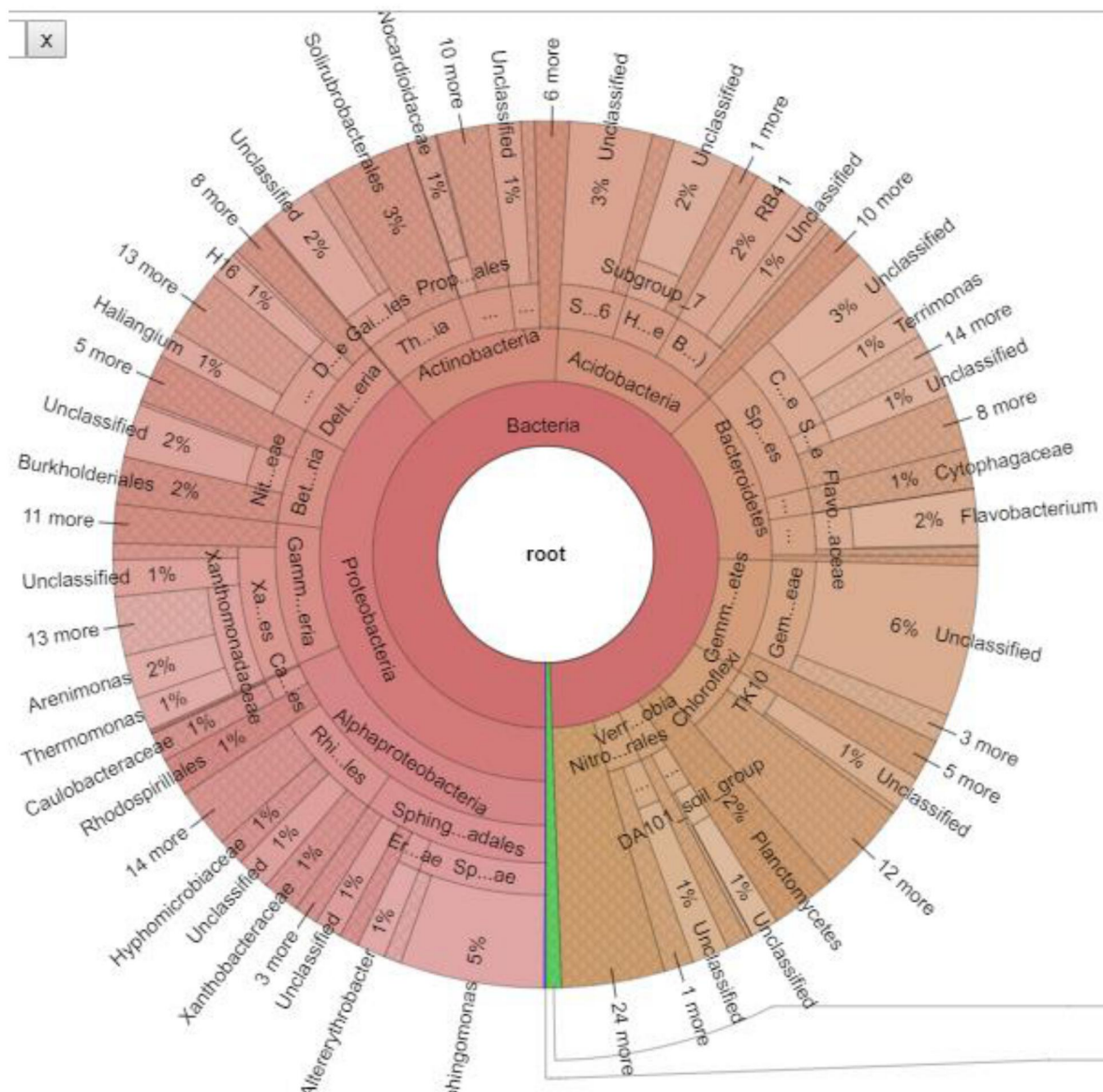
10 –суретте, Қызылқайрат топырақ үлгілерінде *Proteobacteria*, *Actinobacteria* және *Bacteroides* туыстарының басым екендігі көрсетілген. Үлгілердегі түрлердің ең көп саны *Proteobacteria*-ның салыстырмалы мөлшері 16s рДНҚ бактериялық гендерінің жалпы тізбегінің 36% өзгертті. *Proteobacteria* тобының басым бөлігін *Alphaproteobacteria* 39%, *Gammaproteobacteria* 27%, *Betaproteobacteria* 18%, *Deltaproteobacteria* 16% құрайтындығы анықталды. *Actinobacteria* екінші кең таралған түрі болды, салыстырмалы 16% құрады. Үшінші түрі *Bacteroides* салыстырмалы құрамы 12% кездесетіндігі анықталды.



Сурет 11 – Амангелді № 1 топырақ үлгісінде анықталған таксондардың салыстырмалы санының Крона графигі

Зерттеу нәтижесінде 11 – суретте көрсетілгендей тұрақты органикалық қосылыстармен ластанған Амангелді №1 пестицидтермен ластанған топырақ үлгілерінде ең көп кездесетін туыс *Proteobacteria* болып табылады, 16s рДНҚ бактериялық гендерінің жалпы тізбегінің 46% көрсетті. *Bacteroides* 21%, *Actinobacteria* 9% екендігі анықталды. Осылайша, топырақ үлгілеріндегі хлорорганикалық заттар ретінде пестицидтердің болуы аммонификациялаушы бактериялардың көбеюін ынталандырды. Зеңдердің азаюы ластанған топырақта олардың өсуін тежейтін хлорорганикалық пестицидтерінің болуына байланысты болуы мүмкін. Ластанған топырақ үлгілеріндегі микроорганизмдердің санын талдау гетеротрофты бактериялардың басым екенін көрсетті, сондықтан осы топта деструктор – микроорганизмдерді іздеу және идентификациялау жүргізілді.

Әрі қарай микробиологиялық зерттеулердің маңызды шарты микроорганизмдердің басым популяцияларының штамдарын идентификациялау және олардың деструктивті қасиеттерін зерттеу үшін таза дақылдарды бөліп алу. Амангелді №2 топырақ үлгілерінің жалпы микрофлорасын зерттеу нәтижелері 12-суретте көрсетілген.



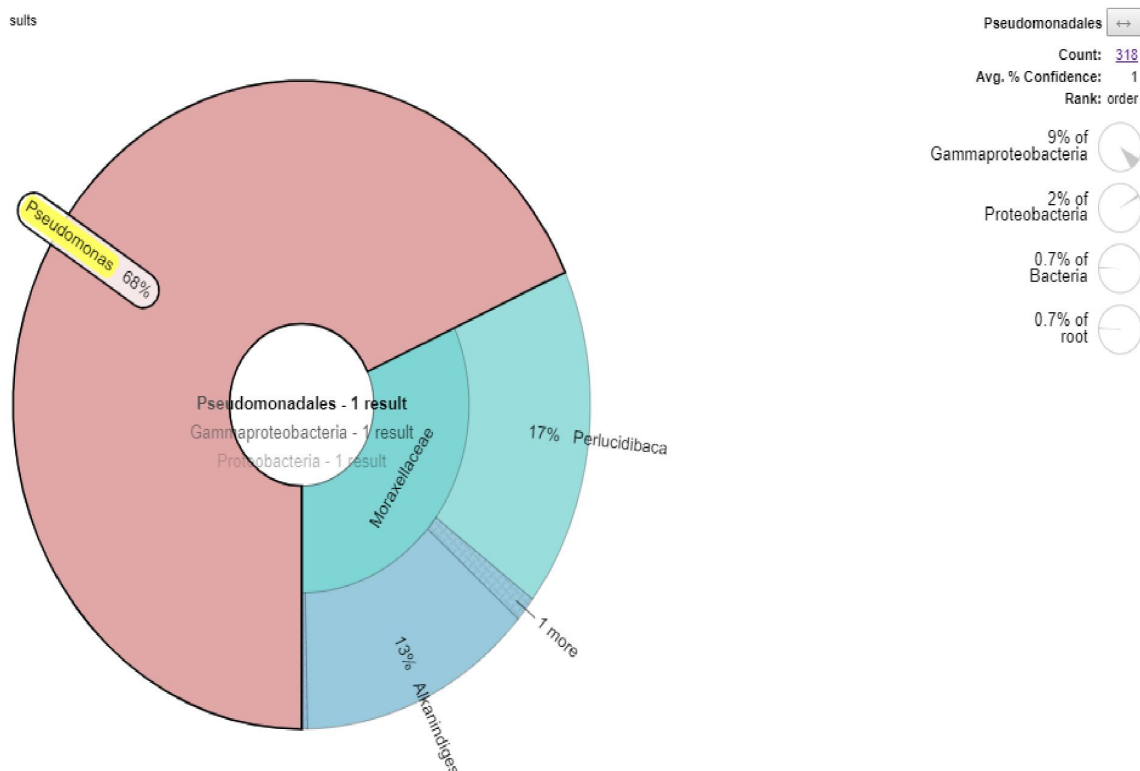
Сурет 12 – Амангелді № 2 топырақ үлгілерінен анықталған таксондардың салыстырмалы санының Крона графигі.

Метагеномды талдау нәтижелері бойынша Амангелді №2 топырақ үлгілерінде микроорганизмдердің келесі физиологиялық топтары анықталған: *Protobacteria* 39%, *Alfaprotobacteria* 47%, *Beta protobacteria* 15%, *Gammaprotobacteria* 22%, *Deltaprotobacteria* 16% құрады.

Alfaprotobacteria филдары *Sphingomonadaceae* тұқымдастарының 53%, *Erythrobacteraceae* 11% құрайды. *Beta protobacteria* 37% *Nitrosomonadaceae* 37%, *Comamonadaceae* 46% тұрады. *Gammaprotobacteria* *Xanthomonadaceae* 83%, *Moraxellaceae* 32% құрайды. *Deltaprotobacteria* *Sandaracinaceae* 5%, *Desulfobulbaceae* 20%, *Bacteriovoracaceae* 28% құрайды.

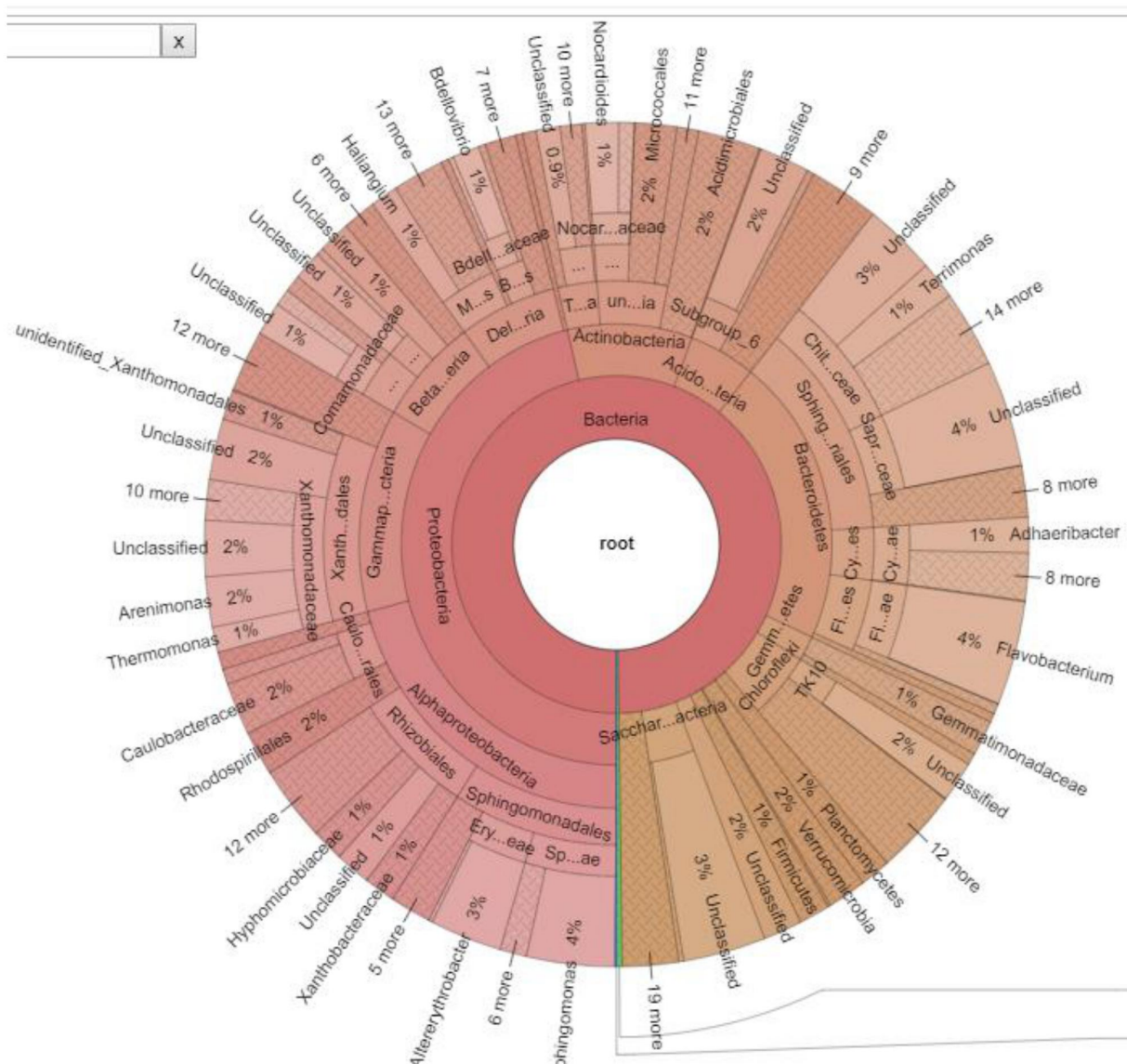
Амангелді № 2 топырақ үлгілерінде *Protobacteria* филумы *Gammaprotobacteria* тобы *Pseudomonadales* қатарына жататын,

Pseudomonadaceae тұқымдасының *Pseudomonas* туысының өкілдері 68% кездесетіндігі анықталды.



Сурет 13 – Амангелді № 2 топырақ үлгілерінен анықталған *Pseudomonas* туысының бактерияларының үлесін көрсететін веб-бейнелеу Крона таксономиясы

13 – суретте көрсетілгендей *Pseudomonas* туысының бактерияларының үлесін көрсететін веб-бейнелеу Крона таксономиясы көрсетілген. Амангелді №2 топырақ үлгілерінің микробтық алуантүрлілігінің құрамында *Pseudomonadaceae* тұқымдасының грамтеріс бактериялары басым, жалпы саны 68% құрады, олардың ішінде *Pseudomonas* туысының бактериялары көптеп кездеседі. Бұл көрсеткіштер топырақ микрофлорасының құрамында хлорорганикалық пестицидтердің деструкторлары *Pseudomonadaceae* тұқымдасының бактериялары басым екенін көрсетеді.



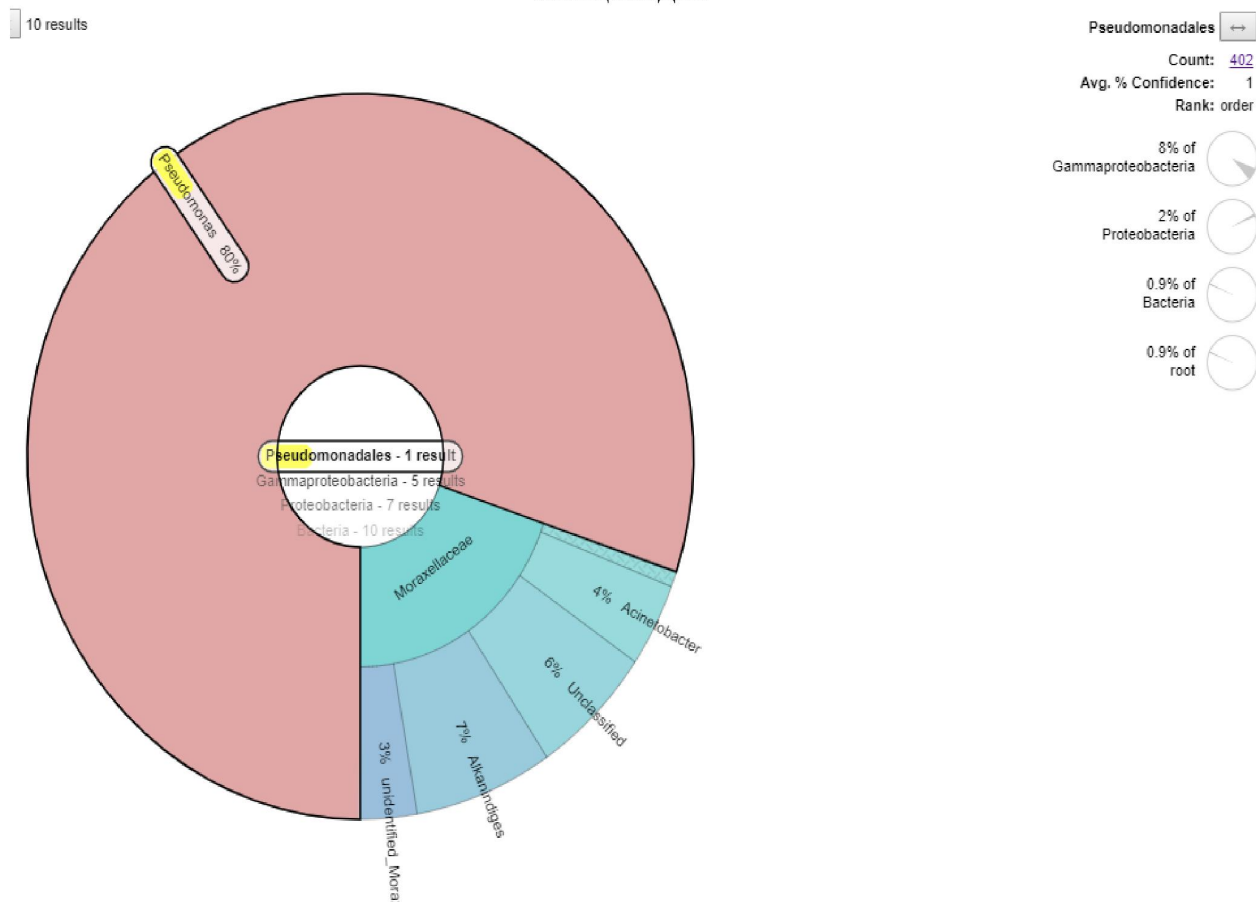
Сурет 14 – Белбұлақ топырақ үлгілерінен анықталған таксондардың салыстырмалы санының Крона графигі

14 – суретте көрсетілгендей, *Illumina* заманауи секвенирлеу метагеномды талдауы бойынша Белбұлақ топырақ үлгілерінің жалпы микробтық алуантүрлілігін зерттеу жүргізілді.

Пестицидтермен ластанған топырақ үлгілерін зерттеу метагеномды талдау барысында микроорганизмдердің келесі физиологиялық топтары анықталды: *Protobacteria* 46%, *Alfaprotobacteria* 45%, *Beta protobacteria* 14%, *Gammaprotobacteria* 27%, *Deltaprotobacteria* 13% болатындығы көрсетілді.

Alfaprotobacteria физиологиялық тобы *Sphingomonadaceae* 44% және *Erythrobacteraceae* 33% тұқымдасынан тұрады. *Beta protobacteria* филасы *Nitrosomonadaceae* 22%, сонымен қатар *Comamonadaceae* тұқымдасының 75% құрайды. *Gammaprotobacteria* филасы *Xanthomonadaceae* 65%, *Moraxellaceae* 20% тұқымдасынан тұрады. *Deltaprotobacteria* *Sandaracinaceae* 13%,

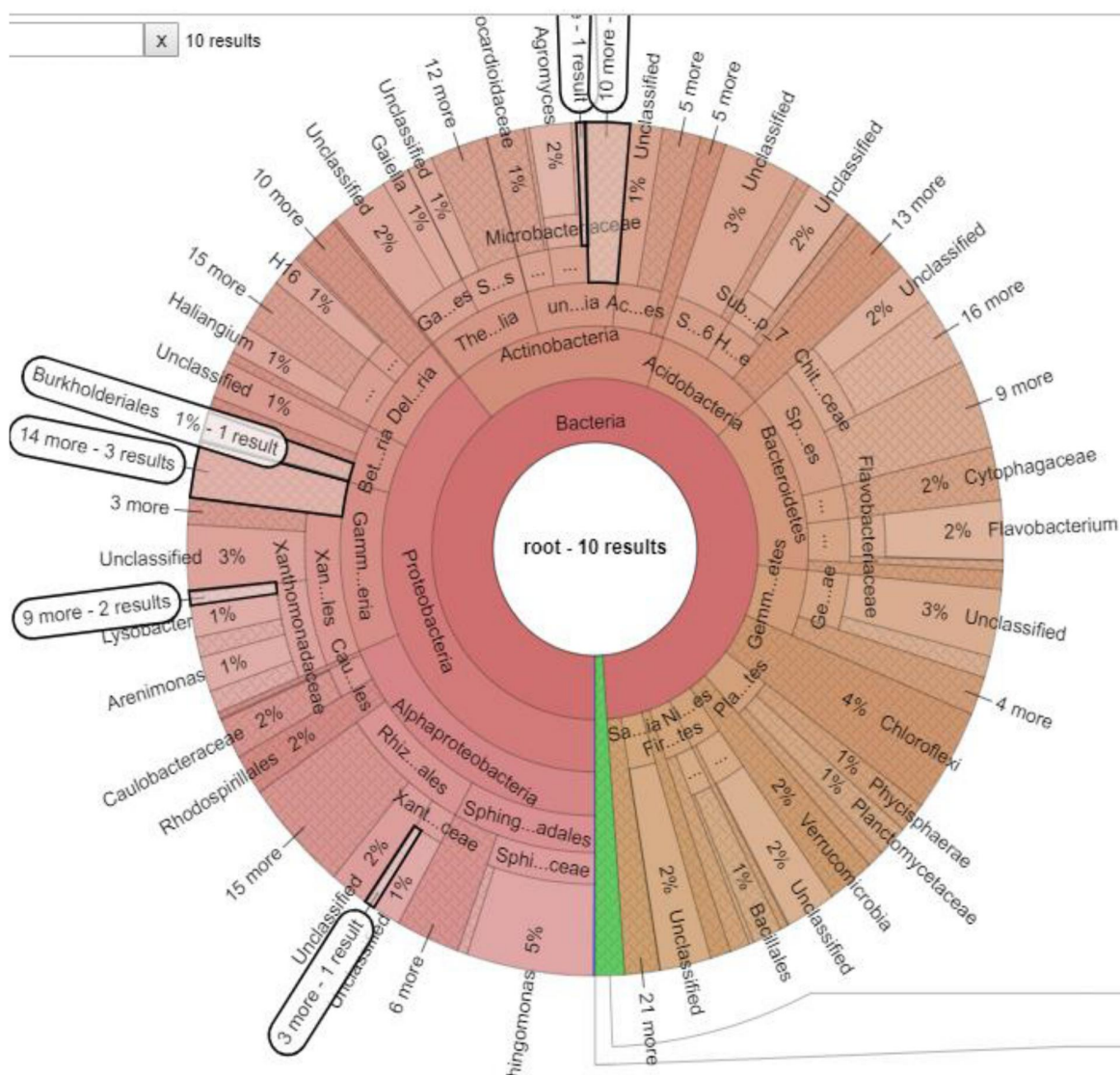
Desulfobulbaceae 5%, *Bacteriovoracaceae* 18% тұқымдасынан тұратындығы анықталды.



Сурет 15 – Белбұлақ топырақ үлгілерінен анықталған *Pseudomonas* туысының бактерияларының үлесін көрсететін веб-бейнелеу Крона таксономиясы

15-суретте *Pseudomonas* туысының бактерияларының үлесін көрсететін веб-бейнелеу Крона таксономиясы ұсынылған. Белбұлақ топырақ үлгілерінің микробтық алуантүрлілігінің құрамында *Pseudomonadaceae* тұқымдасының грамтеріс бактериялары басым екені көрсетілген. Бұл көрсеткіштер топырақ микрофлорасының құрамында хлорорганикалық пестицидтердің деструкторлары *Pseudomonas* туысының бактериялары 80% болатыны көрсетілді. Экологиялық қауіпсіз биотыңайтқыштарды алуда және жаңа биопрепараттарды құрастыруда *Pseudomonas* туысының көптеген өкілдері өсуді ынталандырушы және биологиялық бақылауды қамтасыз етуде маңызды рөл атқарады. Қоршаған ортадан тұрақты органикалық қосылыстарды жою және ыдырату мақсатында, құрамында катаболитикалық гендері, плазмида және геномдары P450 экспрессиялауға қабілетті *Rhodococcus*, *Gordonia*, *Mycobacterium* және *Pseudomonas* сияқты бірнеше микроорганизмдердің түрлерін Chakraborty және Das атты ғалымдар ұсынған болатын [256]. Тұрақты органикалық қосылыстардың кең спектірін ыдыратуда гемтиолат -

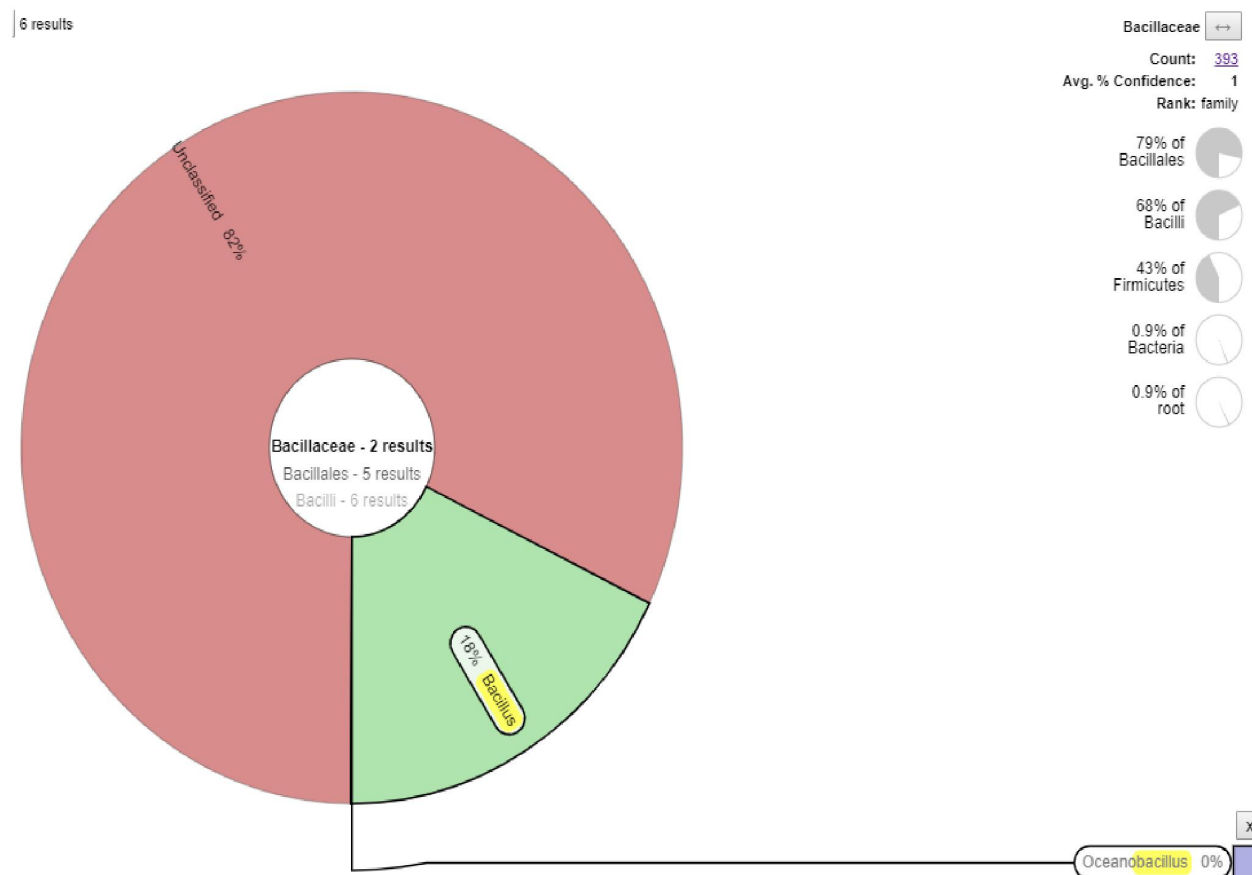
ақуыздарының түрлерін синтездейтін P450 цитохром монооксигеназаның да үлесі зор болып табылады.



Сурет 16 – Бесқайнар топырақ үлгілерінен анықталған таксондардың салыстырмалы санының Крона графигі

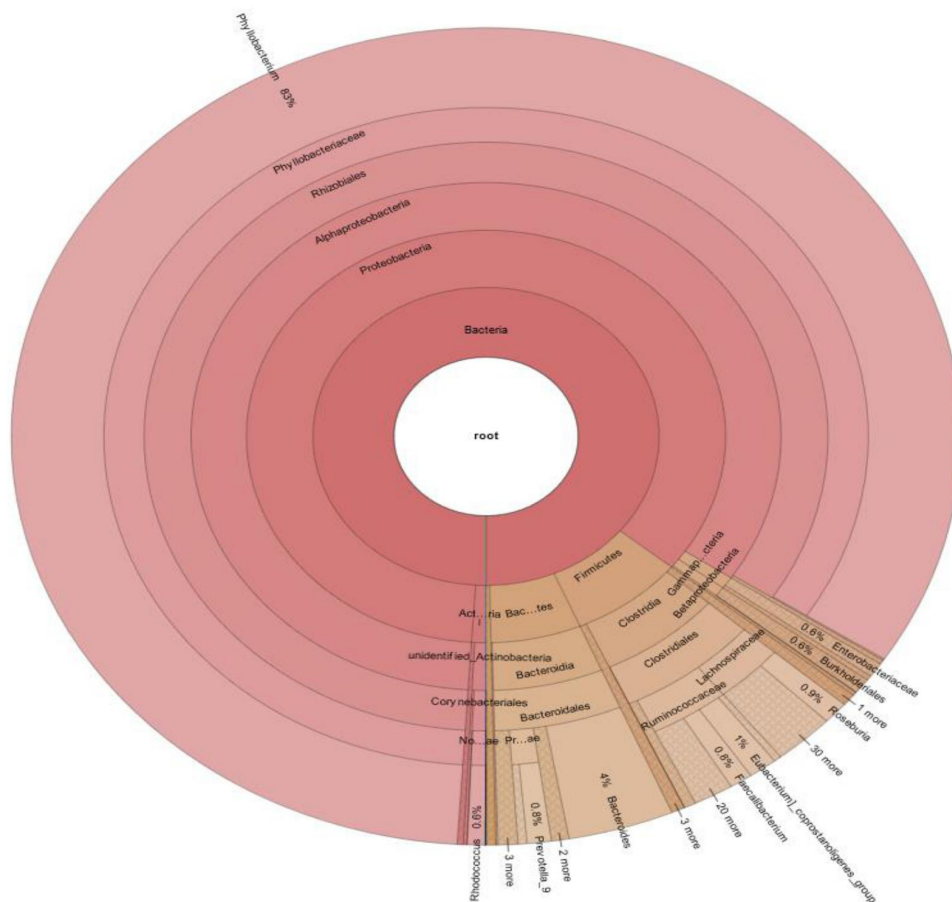
16 – суретте көрсетілгендей, *Illumina* заманауи секвенирлеу метагеномды талдауы бойынша Бесқайнар топырақ үлгілерінің жалпы микробтық алуантүрлілігін зерттеу жүргізілді. Пестицидтермен ластанған топырақ үлгілерін зерттеу метагеномды талдау барысында микроорганизмдердің келесі физиологиялық топтары анықталды: *Protobacteria* 40%, *Alfaprotobacteria* 48%, *Beta protobacteria* 9%, *Gammaprotobacteria* 26%, *Deltaprotobacteria* 16%. *Alfaprotobacteria* тобы *Sphingomonadaceae* 43%, *Erythrobacteraceae* 10%, *Beta protobacteria* *Nitrosomonadaceae* 19%, *Comamonadaceae* 67%, *Gammaprotobacteria* *Xanthomonadaceae* 56%, *Moraxellaceae* 20%,

Deltaprotobacteria *Sandaracinaceae* 9%, *Desulfobulbaceae* 21%,
Bacteriovoracaceae 36% тұқымдастарынан тұратыны анықталды.



Сурет 17 – Бесқайнар топырақ үлгілерінен анықталған *Bacillus* туысының бактерияларының үлесін көрсететін веб-бейнелеу Крона таксономиясы

17 – суретте көрсетілгендей *Bacillus* туысының бактерияларының үлесін көрсететін веб-бейнелеу Крона таксономиясының визуализациясы көрсетілген. Топырақ үлгілерінің микробтық алуантүрлілігін зерттеу барысында грам-оң спора түзетін бактериялары *Bacillaceae* тұқымдасының 79% басым екені анықталды. Бесқайнар топырақ үлгілерінің микробиотасында *Bacillus* туысының бактериялардың саны 18% құрады.



Сурет 18 – Басшы (бақылау) топырақ үлгілерінен анықталған таксондардың салыстырмалы санының Крона графигі

18 – суретте көрсетілгендей *Illumina* заманауи секвенирлеу метагеномды талдауы бойынша Бесқайнар топырақ үлгілерінің жалпы микробтық алуантүрлілігін зерттеу жүргізілді.

Пестицидтермен ластанған топырақ үлгілерін зерттеу метагеномды талдау барысында микроорганизмдердің келесі физиологиялық топтары анықталды: *Proteobacteria*, *Tenericutes*, *Actinobacteria*, *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Nitrospirae* және *Acidobacteria*.

Микробтық кешендердің қоршаған ортаны ластайтын факторлармен өзара әрекеттесуін зерттеудің маңызы олардың практикалық құндылығы болып табылады. Қоршаған ортаны қайта қалпына келтірудің әдісі ретінде - микроорганизмдердің биотехнологиялық потенциалын пайдалану тиімді болып табылады [257]. Соңғы жылдары ғылыми зерттеулерде қоршаған ортаны биомониторинг және биоремедиациялау мақсатында пайдалануға болатын объектілер ретінде топырақ микроорганизмдерінің әртүрлі систематикалық топтарына деген қызығушылық өте жоғары. Микроорганизмдерді биоремедиацияда пайдалану физиологиялық-биохимиялық және экологиялық, молекулалық – генетикалық ерекшеліктеріне байланысты. Топырақтың кез-

келген түрінде микроорганизм популяцияларының саны 1 г-да миллиондаған-миллиардтаған клеткалар кездеседі. Микроорганизмдердің көбею процесіндегі жоғары жылдамдылық белсендігі, стресстік әсерлерге жауап беру жылдамдығы қысқа уақыт ішінде қоршаған ортаға енетін белгілі метоболиттік өнімдерінің ықтимал қауіптілік деңгейін анықтауға мүмкіндік беретіні негізгі қабілеттері болып табылады.

Микробтық қауымдастықтар мен қоршаған орта объектілерінің ластаушы факторлармен өзара әрекеттесуін зерттеу практикалық мәселелерді шешетін өзекті мәселелердің бірі болып табылады.

Сонымен зерттеу нәтижелеріне сәйкес тұрақты органикалық қосылыстармен ластанған топырақ үлгілерінің ішінде Қызылқайрат және Бесқайнар топырақ үлгілерінде *Pseudomonas* және *Bacillus* туысының өкілдері басым екені көрсетілген. Бұл деструктор – штамдардың ферментативті белсенділігіне байланысты және ластанған топырақтарды биоремедиациялауда ұсынуға болады.

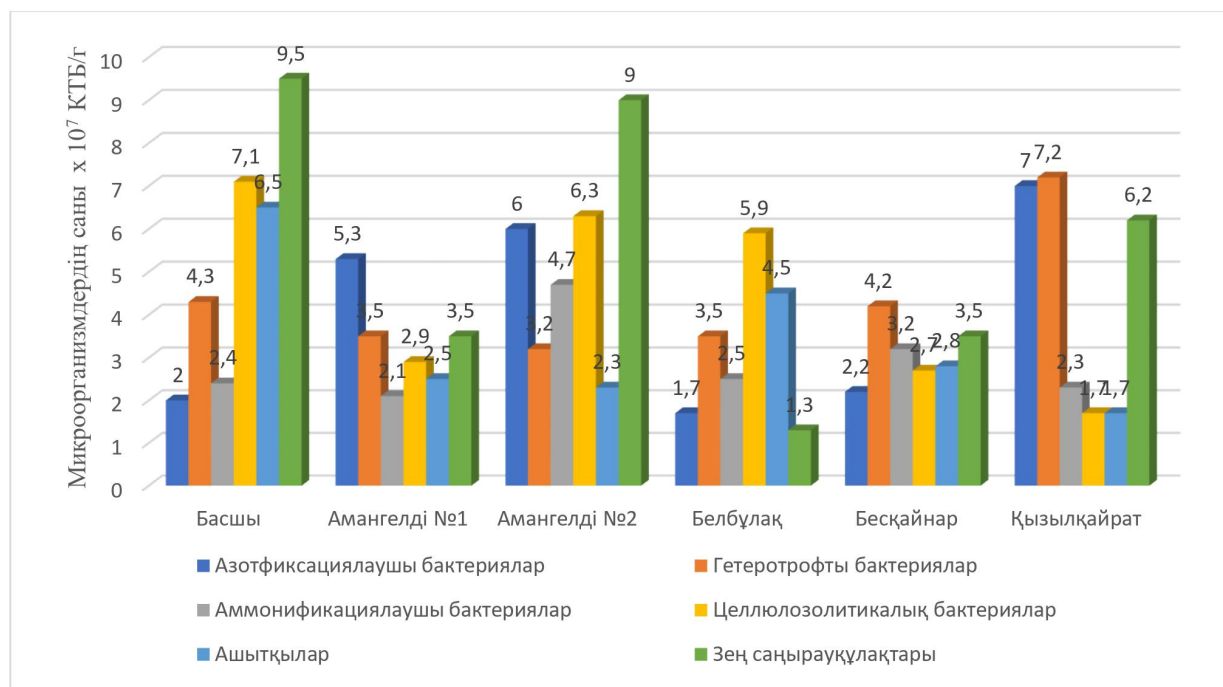
Тұрақты органикалық қосылыстармен ластанған топырақ үлгілерінің микробтық алуантүрлілігі

Топырақ микроорганизмдері көптеген биогеохимиялық процестерге жауапты органикалық заттардың минералдануы, элементтер айналымы, фосфордың өзгеруі, ақуыз және нуклеин қышқыл синтезі сияқты процестерге қатысады. Ауылшаруашылық биоалуантүрлілікке жергілікті бактериялар, саңырауқұлақтар, өсімдіктер және жануарлар кіреді. Топырақтың микробтық алуантүрлілігін бағалау тек қана сандық және сапалық сипаттамалары ғана емес, сонымен қатар экожүйедегі қызметі мен рөлі және тірі организмдерге әсері кіреді. Топырақтың биологиялық белсенділігі топырақ алуантүрлілігінің, микроорганизмдердің құрамы мен ферментативті белсенділігіне тікелей байланысты. Микроорганизмдер топырақтағы барлық процестердің 80-90% қатысады. Олар өсімдіктердің өнуі тұқым үшін қолайлы жағдай жасайды және тамырдың дамуы биомасса шығымына оң әсер етеді. Өсімдік тамырлары топырақтағы микробтық алуантүрлілікке әсер ететін әртүрлі химиялық қосылыстарды бөліп шығарады. Өсімдіктердің ризосферасы бактериялар мен микоризды саңырауқұлақтардың тіршілік ету ортасы болып табылады, өйткені олар тамыр секрециясын қорек көзі ретінде пайдаланады. Сонымен қатар, микроорганизмдер антибиотиктерді, сондай-ақ өсімдіктердің өсуін ынталандыратын заттарды (мысалы, этилен, ауксиндер және цитокиндер) және қоректік заттардың биожетімділігін арттыра алатын фосфатты қосылыстарды түзуге бейім болып келеді. *Pseudomonas* туысының өкілдері әртүрлі биологиялық белсенді қосылыстар түзе алады мысалы, антибиотиктер, литикалық ферменттер, этилен, ауксиндер және гиббереллиндер. *Pseudomonas* *sp.* штамы Fe үшін сидерофора түзу арқылы қоректік орта үшін патогенді микроорганизмдермен бәсекелеседі.

Жоғарыда айтылған процесстерді ескере отырып, тұрақты органикалық қосылыстармен ластанған топырақтардың жалпы микрофлорасын зерттеу жүргізілді.

Зерттеу жұмысында тұрақты органикалық қосылыстармен ластанған топырақ үлгілері келесі нүктелерден алынды: Алматы облысы Талғар ауданының Амангелді №1, Амангелді №2, Белбұлақ, Қызылқайрат, Бесқайнар. Бақылау ретінде Басшы топырақ үлгілері болды.

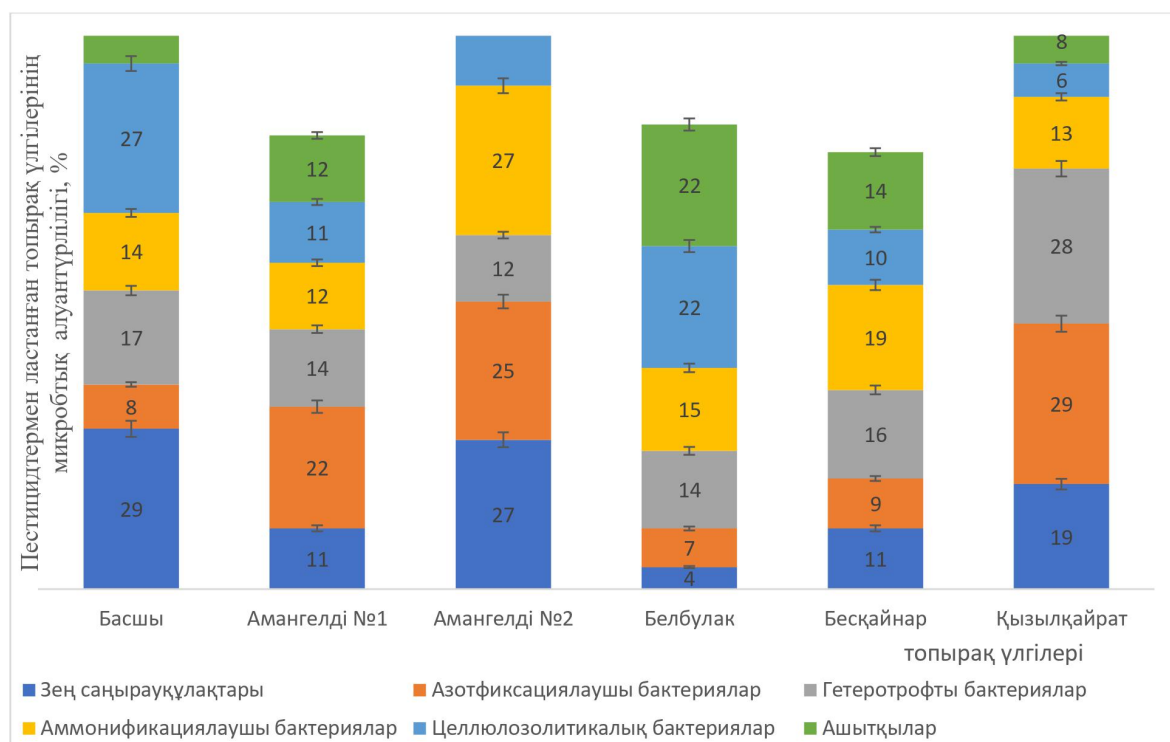
Тұрақты органикалық қосылыстармен ластанған топырақтардың микробтық алуантүрлілігін зерттеу 19 – суретте келтірілген.



Сурет 19 – Тұрақты органикалық қосылыстармен ластанған топырақ үлгілерінің микробтық алуантүрлілігі

19 – суретте көрсетілгендей, тұрақты органикалық қосылыстармен ластанған топырақтардың микробтық алуантүрлілігін зерттеуде микроорганизмдердің келесі топтары анықталды: гетеротрофты бактериялар – $3,2\text{--}7,2 \times 10^7$ КТБ г^{-1} , аммонификациялаушы бактериялар – $2,1\text{--}4,7 \times 10^7$ КТБ г^{-1} , зең саңырауқұлақтар – $1,3\text{--}9,5 \times 10^7$ КТБ г^{-1} , ал целлюлоза ыдыратушы аэробты бактериялар – $1,7\text{--}7,1 \times 10^7$ КТБ г^{-1} . Басшы бақылау топырақ үлгісінде зең саңырауқұлақтарымен, целлюлоза ыдыратушы аэробты бактериялар және ашытқы саңырауқұлақтары басым. Амангелді №2 және Белбұлақ топырақ үлгілерінде микробтық алуантүрлілігіне байланысты микроорганизмдердің бірдей топтары анықталған. Амангелді №2 топырақ үлгілері көбінесе зең саңырауқұлақтардан, целлюлоза ыдыратушы аэробты бактериялардан және азотфиксациялаушы бактериялардан, Белбұлақ топырақ үлгілерінің микробтық алуантүрлілігі – целлюлоза ыдыратушы аэробты бактериялардан, ашытқы саңырауқұлақтарынан және гетеротрофты бактериялардан тұратындығы анықталған. Амангелді №1 топырақ үлгілерінде азотфиксациялаушы бактериялар және гетеротрофты бактериялар, зең саңырауқұлақтары бірдей

мөлшерде кездесті. Бесқайнар топырақ үлгілерінде гетеротрофты бактериялар мен зең саңырауқұлақтары, аммонификациялаушы бактериялар басым болды. Тұрақты органикалық қосылыстармен ластанған басқа топырақ үлгілеріне қарағанда Қызылқайрат топырақ үлгілері салыстырмалы түрде пестицидтермен жоғары ластанған, гетеротрофты бактериялар мен зең саңырауқұлақтары, азотфиксациялаушы бактериялар кездесетіні анықталған. Бақылау үлгісінде мезофильді аэробты және факультативті-анаэробты микроорганизмдердің жалпы саны $4,3 \times 10^7$ КТБ г⁻¹ құрады. Сонымен, ластанған топырақ үлгілерінде азотфиксациялаушы бактериялардың басым болуына байланысты целлюлолитикалық бактериялар мен ашытқы саңырауқұлақтарының аз кездесуімен сипатталады (20-сурет).



Сурет 20 – Пестицидтермен ластанған топырақ үлгілерінің микробтық алуантүрлілігі, %

20 – суретте көрсетілгендей Басшы, Қызылқайрат және Амангелді №2 топырақ үлгілерінде зең саңырауқұлақтары 19-29% құрады, азотфиксациялаушы бактериялар Амангелді №1, Амангелді №2 және Қызылқайрат топырақ үлгілерінде 22-29%, аммонификациялаушы бактериялар Бесқайнар және Амангелді №2 топырақ үлгілерінде 19-27% құрайтындығы көрсетілген.

Ластанған топырақ үлгілерінің микробтық алуантүрлілігін зерттеу нәтижесінде келесі физиологиялық топтар бойынша басым болды: аммонификациялаушы, N₂-фиксациялаушы, гетеротрофты бактериялар мен зең саңырауқұлақтары. Бұл физиологиялық топтар топырақтың өзін-өзі тазарту қабілетін қамтамасыз етіп, топырақ түзу процестеріне тікелей қатысады.

Тұрақты органикалық қосылыстардың сорбция/десорбциясынан кейін органикалық ластаушы заттар әдетте клетка мембранасына тасымалданады және микроорганизм клеткасына сіңеді. Тұрақты органикалық қосылыстармен ластанған топырақ үлгілеріндегі сорбция және тасымалдау маңызды процестер болып табылады, тұрақты органикалық қосылыстар және микробтардың биожетімділігін жақсарту бейімделу механизмдері бұл процесте шешуші рөл атқарады.

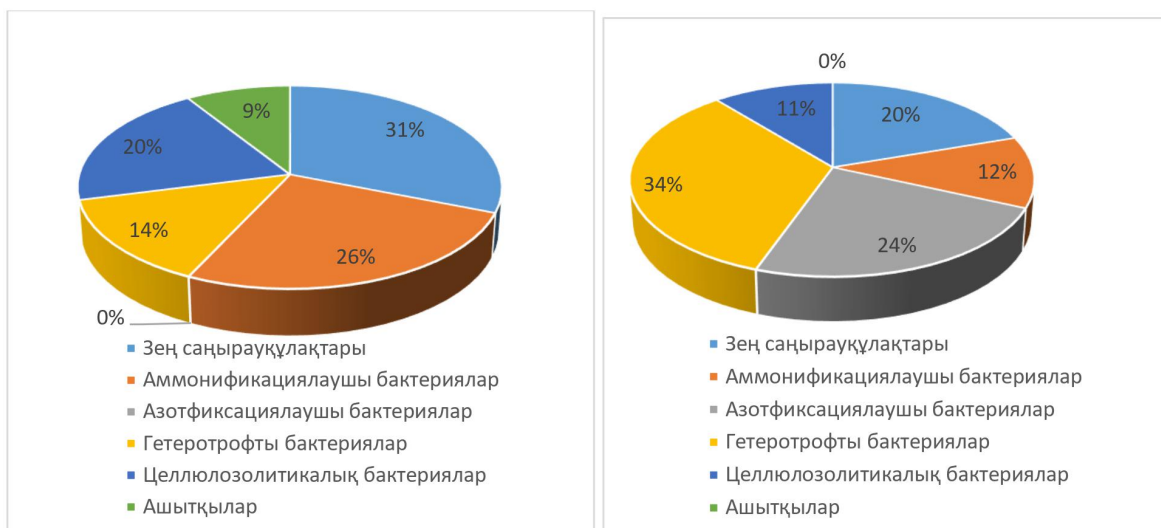
Экожүйенің барлық биотикалық компоненттерінің ішінде микробтар қауымдастығы экожүйелердің ауылшаруашылық дамуы кезінде болатын экологиялық жағдайдың өзгеруіне және антропогендік әсердің басқа түрлерінің, соның ішінде ластаушы заттардың болуына өте сезімтал. Әр түрлі микроорганизмдердің бір-бірімен және өсімдікпен, сондай-ақ агробиоценоздың басқа компоненттерімен қарым-қатынасының күрделілігі мен әртүрлілігі топырақтың фито-санитарлық жағдайын және оның тұрақтылығын тұтастай жүйе ретінде анықтайды [258].

Топыраққа енетін пестицидтер микроорганизмдер қауымдастығына тікелей немесе жанама әсер етеді. Қазіргі таңда микробиологиялық мониторинг қоршаған ортаның сапасын бақылаудың басым бағыттарына жатады. Қазіргі уақытта микроорганизм қауымдастықтарының құрылымдық қайта құруларын зерттеуге және микроорганизмдердің әртүрлі топтарын есепке алуға негізделген поллютанттардың әсерін бағалау әдістері жақсы әзірленген [259].

Экологиялық тұрғыдан алғанда, топырақ күрделі гетерогенді жүйе болып табылады. Топырақ жағдайлары микрофлораның алуантүрлілігіне және қызметіне әсер етеді, сонымен қатар пестицидтің токсинді әсерінің көріну дәрежесін анықтайды.

Пестицидтермен ластанған топырақ үлгілерінің микробтық алуантүрлілігі зерттелді. Топырақ үлгілерінің микрофлорасының сандық және сапалық құрамының деректері алынды.

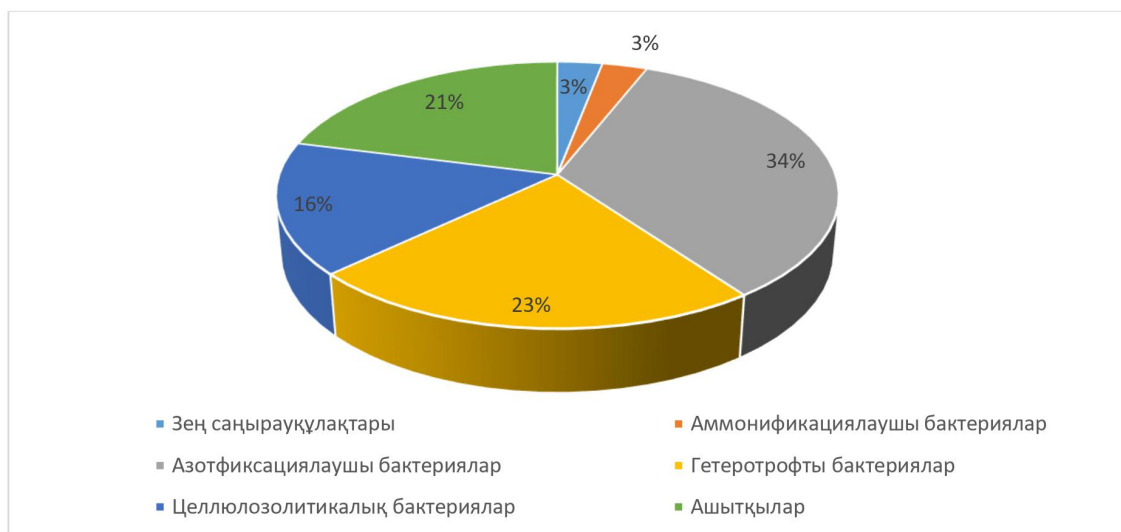
Жұмыстың келесі кезеңдерінде Амангелді №1 және Амангелді № 2 топырақ үлгілеріндегі микрофлораның сапалық және сандық құрамы зерттелді, нәтижелері 21 – суретте көрсетілген.



Сурет 21 – Амангелді №1 және Амангелді №2 топырақ үлгілері микрофлорасының сандық және сапалық құрамы

Топырақ үлгілеріндегі микрофлораның сапалық және сандық құрамын зерттеу нәтижесінде Амангелді №1 топырақ үлгілерінің микрофлорасында зең саңырауқұлақтары (31%), аммонификациялаушы бактериялар (26%), аэробты целлюлоза ыдыратушы бактериялар (20%), гетеротрофты бактериялар (14%), ашытқылар (9%) кездесті. Амангелді № 2 топырақ үлгілерінде гетеротрофты бактериялар (34%), азотфиксациялаушы бактериялар (24%), аммонификациялаушы бактериялар (12%), аэробты целлюлоза ыдыратушы бактериялар (11%), зең саңырауқұлақтары (20%) болатыны анықталды.

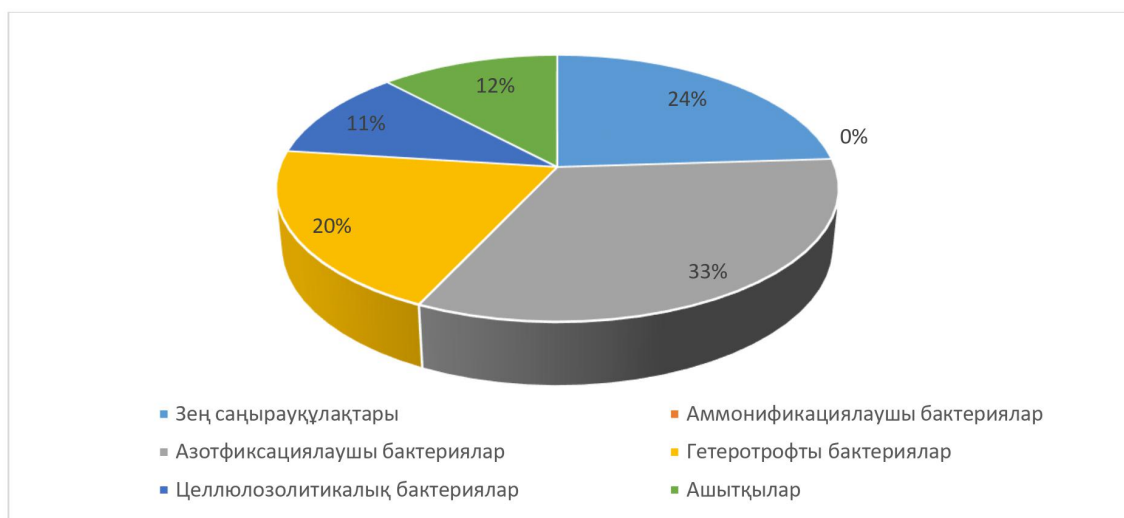
22 – суретте Қызылқайрат топырақ үлгілеріндегі микрофлораның сапалық және сандық құрамы көрсетілген.



Сурет 22 – Қызылқайрат топырақ үлгілері микрофлорасының сандық және сапалық құрамы

Топырақтың микробиологиялық құрамын зерттеу нәтижелері көрсеткендей, Қызылқайрат микрофлорасында гетеротрофты бактериялардың саны 34%, аммонификациялаушы бактериялар - 23%, ашытқы – 21%, аэробты целлюлоза ыдыратушы бактериялар - 16%, азотфиксациялаушы бактериялар- 3%, зең саңырауқұлақтары-микроорганизмдердің жалпы санының 3% құрайды. Қызылқайрат топырақ микрофлорасында гетеротрофты және аммонификациялаушы бактериялар басым.

23, 24 – суретте Бесқайнар және Белбұлақ топырақ үлгілеріндегі микрофлораның сапалық және сандық құрамын зерттеу нәтижелері келтірілген.



Сурет 23 –Бесқайнар топырақ үлгілері микрофлорасының сандық және сапалық құрамы

Бесқайнар топырақ үлгілерін зерттеу нәтижесінде гетеротрофты бактериялардың саны 26%, зең саңырауқұлақтары - 24%, аммонификациялаушы бактериялар - 20%, ашытқылар - 12%, аэробты целлюлоза ыдыратушы бактериялар-11% құрады. Бесқайнар топырағының микробиоценозында сапрофитті микроорганизмдердің топтары, соның ішінде аммонификациялаушы және гетеротрофты бактериялар, зең саңырауқұлақтары басым екені анықталды.



Сурет 24 –Белбұлақ топырақ үлгілері микрофлорасының сандық және сапалық құрамы

24 – суретте Белбұлақ топырақ үлгілерінің микрофлорасында аммонификациялаушы бактериялар (35%), ашытқылар (27%), гетеротрофтардың (18%) саны басым екендігі, сондай-ақ аэробты целлюлоза ыдыратушы бактериялар (9%), азотфиксациялаушы бактериялар (7%) және зең саңырауқұлақтар (4%) екені анықталды.

Тұрақты органикалық ластағыштармен ластанған топырақ үлгілерінің микробиологиялық құрамын талдау ластанған топырақта гетеротрофты және аммонификациялаушы бактериялардың көбеюін және зеңдер мен аэробты целлюлозалитикалық бактериялардың азаюын көрсетті.

3.3 Микроорганизмдердің морфология – культуральдық, физиология-биохимиялық қасиеттері және молекулалық - генетикалық идентификациясы

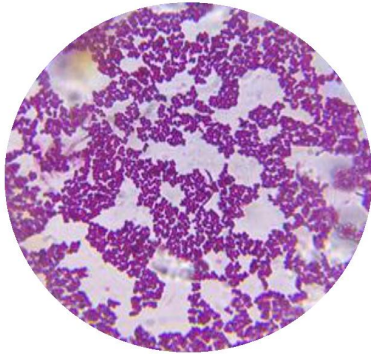
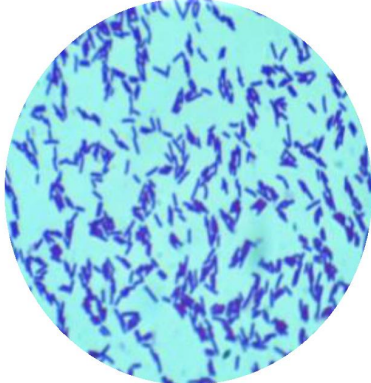
Пестицидтерді қолдану ауылшаруашылық өндірісін интенсификациялаудың негізгі жолдарының бірі болып отыр. Алайда, қоршаған ортаға қолданылатын бөгде химиялық заттар болғандықтан, олар табиғат пен адамға қауіп төндіруі мүмкін. Хош иісті қатардың хлор туындылары ерекше қауіп төндіреді. Ксенобиотикалық молекулаларды қауіпсіз формаларға айналдыруға қабілетті деструктивті микроорганизмдерді қолдануға негізделген биосфераға жағымсыз әсерлердің алдын алудың биотехнологиялық тәсілі ең заманауи әдістердің бірі болып табылады және қайталама ластану өнімдерінің пайда болуын болдырмайды. Қоршаған ортадағы айналымдағы ксенобиотиктердің деградациясындағы үлкен рөл топырақ бактерияларына тиесілі. Сондықтан ксенобиотиктердің микробиологиялық деструкциясын

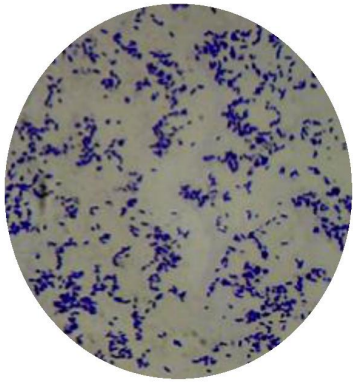
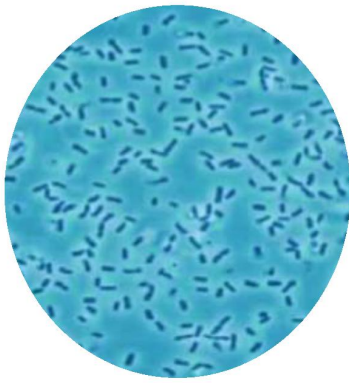
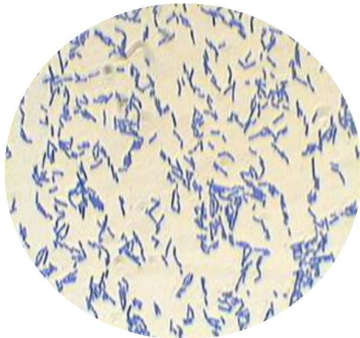
зерттеудің қазіргі кезеңі деструктор штамдарының физиологиялық, биохимиялық және генетикалық ерекшеліктерін зерттеуге деген қызығушылықпен сипатталады [260].

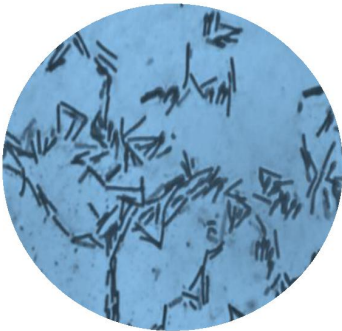
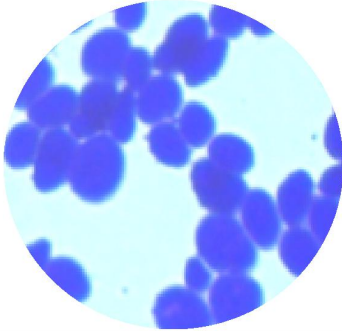
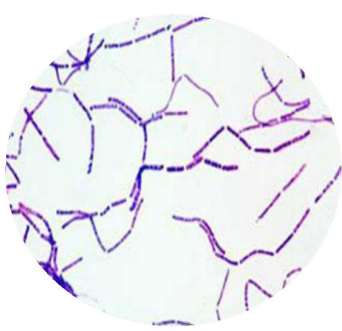
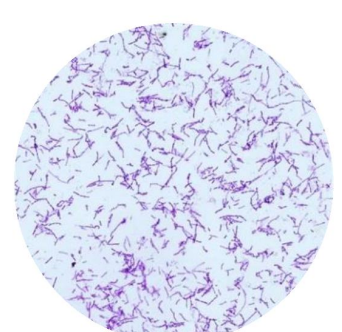
Осыған байланысты, зерттеу жұмысында біз тұрақты органикалық қосылыстармен ластанған топырақ үлгілерінен (Қызылқайрат, Бесқайнар, Амангелді №1, Амангелді №2, Белбұлақ) және бақылау (Басшы) перспективті штамдарды анықтаймыз. Жұмыс барысында тұрақты органикалық қосылыстарды ыдыратуға қабілетті деструктор – микроорганизмдердің скринингін жүргізу үшін, ластанған топырақ үлгілерінен барлығы 40 таза дақылдар бөлініп алынды.

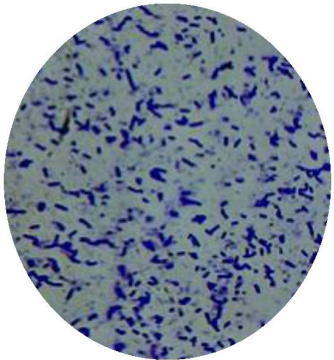
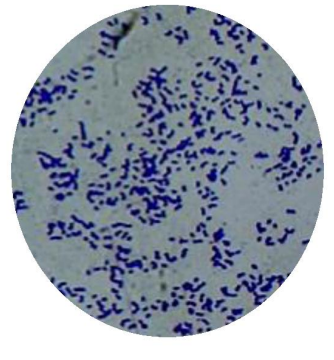
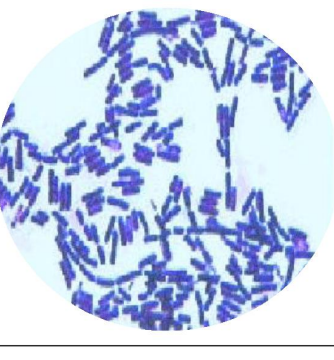
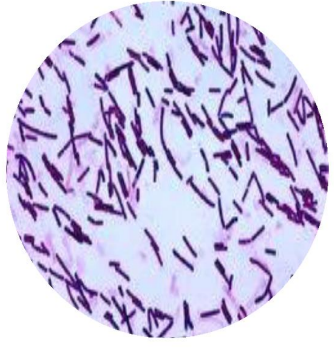
Деструктивті микроорганизм дақылдарының морфологиялық-культуральдық және физиологиялық-биохимиялық қасиеттері зерттелді. 1-кестеде деструктор – микроорганизмдердің морфологиялық-культуральдық қасиеттері көрсетілген.

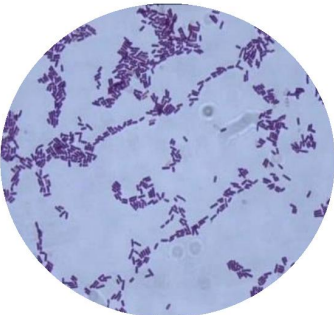
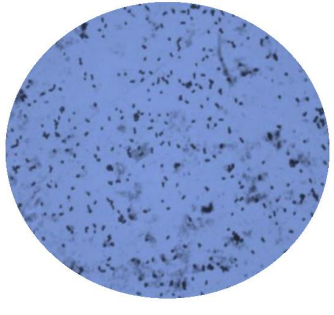
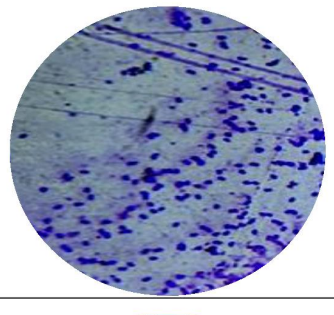
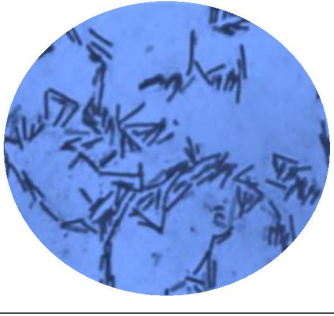
Кесте 3. Деструктор – микроорганизмдердің морфология-культуральдық қасиеттері

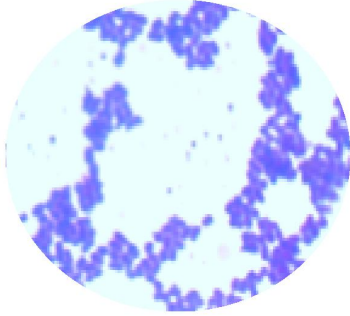
№	Деструктор-микроорганизмдер	Клетка морфологиясы 600X	Морфология-культуральдық қасиеттердің сипаттамалары
1	2	3	4
1	<i>Pseudomonas plecoglossicida</i> K2		Грам теріс, таяқша тәрізді, қозғалмалы бактерия, 0,5-1,0 x 1,5 – 5,0 мкм болатын екі полярлы жіпшесі бар және тік таяқшалы формалы. Тығыз қоректік ортада олар жұқа жылтыр жабынды, тұтас, тегіс жиегі бар дөңес колонияларды құрайды. Колонияларда беткі қабықшалар түзбейді.
2	<i>Bacillus aryabhatai</i> K3		Грам оң, түзу таяқшалар, дөңгелек ұштары бар, өлшемі 0,5-2,5 x 1,2-10 мкм, жұп болып орналасқан. Үлкен, тегіс, дөңес, ақ колонияларды құрайды.

3	<i>Pseudomonas koreensis AK1</i>		Грамм теріс таяқшалар, қозғалмалы, клетка мөлшері 0,5 – 1,0 x 1,5-4,0 мкм. Тығыз қоректік ортада олар жұқа, жылтыр жабынды, тұтас, тегіс жиектері бар дөңес колонияларды құрайды.
4	<i>Bacillus amyloliquefaciens AK3</i>		Грамм оң қозғалмалы таяқшалар, перитрихтер, мөлшері 0,5-0,7x2,5-3,0 мкм, тізбектер түзбейді. Тығыз қоректік ортада диаметрі 3-5 мм болатын кішкентай, тегіс, дөңес ақ күңгірт колониялар пайда болады.
5	<i>Bacillus pumilus AK4</i>		Орталық немесе парацентрально орналасқан эллипсоидты споралары бар грамм оң аэробты таяқшалар, клетка мөлшері 0,7-0,8 x 2-3 мкм. Тығыз қоректік ортада үлкен колониялар құрайды, шеттері біркелкі емес.
6	<i>Bacillus subtilis AK5</i>		Грамм оң, спора түзетін аэробты, таяқша тәрізді, клетка мөлшері 2-5 x 0,4-0,6 мкм. Споралар сопақша, клетка өлшемінен аспайды, орталықта орналасқан. Тығыз өсетін ортада колониялар құрғақ, ұсақ мыжылған. Колонияның шеті толқынды.

7	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> SK2		Грам оң, спора түзетін аэробты, таяқша тәрізді, клетка мөлшері 0,5-1,5 мкм. Споралар сопақша, клетка өлшемінен аспайды, жалғыз немесе жұппен орналасады, кейде тізбектер түзеді. Тығыз қоректік ортада ақшыл түсті колониялар пайда болады. Пигмент түзбейді.
8	<i>Rhodotorula glutinis</i> B5		Бір клеткалы пигмент түзуге қабілетті ашытқы. Қызғылт түсті тегіс колониялармен түзеді. Клетка мөлшері 3,8-5 мкм. Көбею көпполярлы бүршіктену есебінен жүреді.
9	<i>Bacillus thuringiensis</i> SA'2		Грам оң, спора түзетін анаэробты, таяқша тәрізді бактериялар, клетка мөлшері 0,4-0,6x1,5-5 мкм. Қозғалғыш, субтерминалда орналасқан ыстыққа төзімді спора түзеді. Тығыз қоректік ортада колониялар құрғақ, ұсақ мыжылған.
10	<i>Bacillus subtilis</i> SA'3		Грам оң, спора түзетін аэробты, таяқша тәрізді, клетка мөлшері 2-5 × 0,4-0,6 мкм. Споралар сопақша, клетка өлшемінен аспайды, орталықта орналасқан. Тығыз өсетін ортада колониялар құрғақ, ұсақ. Колонияның шеті толқынды.

11	<i>Solibacillus isronensis</i> KS1		Грам оң, спора түзетін таяқшалар, клетка мөлшері 0,5-1,0 x 1,5 - 5,0 мкм. Қозғалғыш, субтерминалда орналасқан ыстыққа төзімді термофильді спора түзеді. Тығыз қоректік ортада колониялар құрғақ, ұсақ мыжылған.
12	<i>Pseudomonas</i> sp. KC2		Грам-теріс, таяқша тәрізді, клетка мөлшері 0,5-1,0 x 1,5 - 3,0 мкм. Тығыз қоректік орталарда жұқа жылтыр жабын, қатты, біркелкі шеттері бар дөңес колониялар құрайды.
13	<i>Bacillus pumilus</i> B1		Орталық немесе парацентральды орналасқан эллипсоидты споралары бар грам оң аэробты таяқшалар, клетка мөлшері 0,8-0,9 x 1-2 мкм. Тығыз қоректік ортада үлкен колониялар құрайды.
14	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> B2		Грам оң, спора түзетін аэробты, таяқша тәрізді, клетка мөлшері 0,6-1,7 мкм. Споралар сопақша, клетка өлшемінен аспайды, жалғыз немесе жұппен орналасады, кейде тізбектер түзеді.

15	<i>Bacillus subtilis</i> B3		Грам оң, спора түзетін аэробты, таяқша тәрізді, клетка мөлшері $2-4 \times 0,3-0,7$ мкм. Споралар сопақша, клетка өлшемінен аспайды, орталықта орналасқан.
16	<i>Bacillus pumilus</i> SB1		Грам теріс түзу таяқшалар, ұзындығы 1,1-1,3 мкм, перитрихияльды флагелла есебінен қозғалады. Тығыз қоректік ортада тұтас, тегіс жиегі бар шырышты, дөңес колониялар түзіледі.
17	<i>Bacillus paramycoides</i> SA1		Грам оң, таяқшалар, клетка мөлшері $0,8-1,2 \times 1,8 - 3,5$ мкм. Спора түзу қабілеті жоқ. Тығыз қоректік ортада колониялар құрғақ, ұсақ мыжылған.
18	<i>Bacillus megaterium</i> AS1		Грам оң, спора түзетін таяқшалар, клетка мөлшері $0,5-1,5 \times 2,0-3,8$ мкм. Споралары сопақша, клетка өлшемінен аспайды, жеке немесе жұп болып орналасады, кейде тізбектер түзеді. Тығыз қоректік ортада ақ түсті колониялар түзеді. Қоректік ортаға пигмент түзбейді.
19	<i>Cutaneotrichosporon moniliiforme</i> (синоним <i>Trichosporon moniliiforme</i>) BR4		Перитрихияльды флагелла есебінен қозғалатын грам теріс таяқшалар. Ұзындығы 1,1-1,3 мкм және ені $0,5-0,6$ мкм. Тығыз қоректік ортада қызғылт-күлгін түсті колониялар түзіледі, тегіс жиегі бар.

20	<i>Alkanindiges illinoisensis</i> BP7		Грамтеріс алканды бұзатын бактериялар. Аэробты, спора түзбейді, мөлшері 0,9-1,6 мкм және ұзындығы 1,5-2,5 мкм болатын ұсақ таяқшалар стационарлық өсу фазасында сфералық болады. Тығыз қоректік ортада тұтас, тегіс жиегі бар дөңес колониялар түзіледі.
----	---------------------------------------	---	--

Морфологиялық – культуральдық белгілері бойынша K2 штамы - грам – теріс қысқа, спора түзбейтін, қозғалмалы таяқшалар, ал K3 штамы – грам – оң ірі, спора түзетін, қозғалмалы таяқшалар, AK3 – грам – оң, спора түзетін, қозғалмалы кокктар, AK5-грам оң, спора түзетін, қозғалмалы таяқшалар, AK4-грам-оң, спора түзбейтін, қозғалмалы таяқшалар, AS1-грам-оң, спора түзуші, жылжымалы таяқшалар, BR1-грам-оң, спора түзетін, қозғалмалы, ұсақ таяқшалар, BR3-грам-оң, спора түзетін, жылжымалы кокктар, BR7 – грам-позитивті, спора түзетін, қозғалмалы кокктар.

4 – кестеде негізгі диагностикалық белгілері бойынша бөлініп алынған штамдардың сипаттамасы берілген.

Кесте 4 – Бөлініп алынған таза дақылдардың негізгі морфологиялық, тинкториалдық және биохимиялық қасиеттері

№ п/п	Дақыл	Клетка формасы	Грам әдісі бойынша бояу	Қозғалғыштығы	Спорасы	Желатин гидролизі	Крахмал гидролизі	Казеин гидролизі	Каталаза белсенділігі	Молекулалық азотты қолдануы	42°C температура өсуі	Молекулалық оттегіге қатысы
1	K2	п	-	+	-	+++	++	++	+	+	+++	аэробты
2	K3	п	+	+	+	++	++	+	+	-	+++	аэробты
3	K1	п	+	+	+	++	+++	+++	+	-	+++	аэробты
4	K4	к	-	+	-	+	+	++	+	-	-	аэробты
5	KS1	п	+	+	+	++	+	++	++	-	++	аэробты
6	B1	к	+	+	-	+++	++	+++	+	+	++	аэробты
7	B2	п	+	+	+	++	+++	++	+	+	+++	микро-аэрофильді
8	B3	п	+	+	+	++	+++	+	++	+	++	аэробты
9	B4	п	+	-	-	++	++	++	++	-	++	аэробты
10	SK1	к	+	+	-	+++	+++	+	+++	+	+++	микро-аэрофильді
11	SK2	п	+	-	+	+++	++	++	+++	+	++	микро-аэрофильді
12	SB1	п	+	-	+	++	+	++	++	+	+++	аэробты
13	SB2	п	+	+	+	+++	+	+++	++	+	++	аэробты
14	AK1	к	+	+	-	+++	++	+++	+	+	++	микро-аэрофильді

15	AK2	к	+	+	-	+	+	-	+	+	++	аэробты
16	AK3	к	+	+	+	+++	+++	++	+++	+	+++	аэробты
17	AK4	п	+	+	-	++	+++	+	+++	+	+++	аэробты
18	AK5	п	+	+	+	+++	+++	-	++	-	++	аэробты
19	AK6	п	+	+	+	++	+++	+	++	-	+	аэробты
20	AC1	п	+	+	+	+++	++	+	+++	+	++	аэробты
21	AC2	к	-	-	-	+	+	++	+	+	++	аэробты
22	AC3	к	+	-	-	+++	+	+	+++	+	++	аэробты
23	AC4	к	+	+	-	+	+	+++	+	-	++	аэробты
24	AC5	к	+	+	-	++	+	+	+	+	++	микро-аэрофильді
25	AC6	п	+	+	+	++	++	+++	+	+	+++	микро-аэрофильді
26	AC7	к	+	+	-	++	+++	+++	+++	-	+++	аэробты
27	AC8	к	-	+	-	+	+	++	+	-	-	аэробты
28	CA1	п	+	+	+	++	++	++	++	-	++	аэробты
29	CA2	п	+	-	+	+++	++	+	++	-	+++	аэробты
30	CA'1	п	+	+	+	++	++	+++	++	-	+++	аэробты
31	CA'2	к	-	-	-	++	+++	+++	+++	-	++	микро-аэрофильді
32	CA'3	к	-	-	-	++	++	+	++	-	++	микро-аэрофильді
33	CA'4	п	+	+	+	+++	++	++	+++	-	+++	аэробты
34	BR1	п	+	+	+	++	++	++	+	+	+++	микро-аэрофильді
35	BR2	п	+	+	+	++	++	+	+	+	+++	аэробты
36	BR3	к	+	+	+	+++	+++	+++	+	+	+++	аэробты
37	BR4	п	+	+	+	+++	+	++	++	-	++	аэробты
38	BR5	о	+	+	-	-	-	-	+	+	++	анаэробты
39	BR6	о	-	+	-	-	-	-	+	+	++	анаэробты
40	BR7	к	+	+	+	++	+++	+	++	+	++	аэробты
Ескерту-п-таяқша тәрізді клеткалар; к-коккалар, о-сопақ клеткалар; «+ -» белгі бойынша оң; «- -» белгі бойынша теріс												

Алынған мәліметтер негізінде топырақ үлгілерінен окшауланған микроорганизмдердің дақылдары арасында грам-оң таяқшалар мен кокктар, грам-теріс таяқша тәрізді бактериялар және сопақ клеткалар анықталды. Зерттелетін дақылдардың ішінде 18 штамм-K2, K4, B1, B4, SK1, AK1, AK2, AK4, AS2, AS3, AS4, AS5, AS7, AS8, SA'2, SA'3, BR5, BR6 спора түзбейді, ал қалған штамдар эндоспоралар түзеді. B4, SK2, SB1, AS2, AS3, SA2, SA'2 және SA'3 штамдарынан басқа барлық бөлініп алынған штамдар жылжымалы. Көптеген дақылдар 42⁰С температурада жақсы өсті және молекулалық азотты қолдануда белсенді болды. Молекулалық оттегінің қатысуымен дақылдардың өсуін зерттеу кезінде 9 дақыл аэробты болды B1, B2, A1, AS5, AS6, CA'2, CA'3 және BR1

микроаэрофилдерге, BR5 және BR6 – факультативті анаэробтар. Каталаздың белсенділік барлық штамдары оң, крахмал мен казеинді және желатинді гидролиздейді.

Морфология – культуральдық және физиологиялық-биохимиялық қасиеттерін зерттеу нәтижесінде бөлініп алынған дақылдар *Bacillus*, *Rhodococcus*, *Pseudomonas*, *Rhodotorula* түрлеріне жатқызылды.

Топырақтың әр түрлі ластануы деңгейі үшін арнайы штамм - деструкторлар қолданылады. Ксенобиотиктерге төзімді микроорганизмдердің бөлінуін ксенобиотиктердің жоғары концентрациясы ұзақ уақыт болатын топырақтан жүргізген жөн [261]. Сонымен қатар, топырақтың әр түріне белгілі бір штаммдар-деструкторлар, жергілікті микрофлораның өкілдерінен бөлініп алынады. Аборигендік деструкторларды тікелей зерттеу нәтижесінде табиғи микрофлора қауымдастығынан ең белсенді штаммдар оқшауланады, эффективті өсіру жағдайлары таңдалады, биомасса өндіреді және оны ластанған ортаға енгізеді, содан кейін стандартты агротехникалық әдістермен белсендіріледі.

Деструктор-микроорганизм штамдарын ПТР әдісі арқылы идентификациялау.

ДНК/РНҚ және ақуыз арақатынастары штаммдардың өсу жылдамдығымен тығыз байланысты екені анықталды. Рибосомалар өсіп келе жатқан жасушалардағы жалпы РНҚ-ның шамамен 85% құрайтынын ескере отырып, жалпы РНҚ құрамы өсу жылдамдығымен байланысты. Зерттеу жұмыстарының нәтижелеріне сәйкес, K2, K3, B1, B2, AK1 және AK5 штамдары үшін РНҚ/ДНК/ақуыз арақатынасының салыстырмалы өсу қарқынымен салыстырмалы жақын корреляциясы байқалды (5-кесте). Сонымен қатар, тұрақты органикалық қосылыстарды ыдыратуға қабілетті 20 штамм молекулалық – генетикалық әдіспен түрге дейін идентификацияланды (6-кесте).

Кесте 5 – Тұрақты органикалық қосылыстарды ыдыратуға қабілетті перспективті деструктор – штаммдардың сандық генетикалық сипаттамасы

Штамм	Әдістерді салыстыру									Флуориметрлік ДНҚ	
	Спектрофотометриялық			Флуориметриялық			ЖЭСХ				
	(μg g ⁻¹)			(μg g ⁻¹)			(μg g ⁻¹)				
	Д	Р	Р/Д	D	R	R/D	D	R	R/D	F/S	F/H
K2	39.7±14.2	29.9±5	0.84	18.6±0.3	5.7±2.8	0.31	39.8±4.4	24.1±2.4	0.61	47	47
K3	38.5±11	19.1±3.1	0.96	31.4±1.9	25.0±3.5	0.8	37.3±0.5	9.7±0.4	0.26	82	84
KS1	37.4±19.3	20.5±13.5	0.58	5.1±0.4	5.3±1	1.04	34.5±3.1	6±0.3	0.17	14	15
KS2	16.6±4.7	5.1±0.9	0.157	2.9±0.1	3.6±0.3	1.25	31.7±3.3	2.9±0.2	0.09	17	9
B1	34±5.8	2.2±1.1	0.05	8.4±0.7	7.5±1.9	0.9	33.5±2.2	2.8±0.2	0.08	25	25
B2	37.7±10.4	0.8±0.4	0.004	3.7±0.4	6.7±1.9	1.82	25.2±4.3	2.7±0.2	0.11	10	15
AK5	12.3±8.2	0.4±0.7	0.08	2.1±0.5	4.7±1.4	2.2	33.6±1.2	1.3±0.2	0.04	17	6
AK1	31.2±11.5	21.3±2	0.64	10.6±0.1	5.3±2.1	0.21	49.3±1.4	15.1±1.7	0.52	38	34

<i>ASI</i>	27.5±10	16.1±2.1	0.86	21.7±1.1	15.0±3.1	0.7	27.3±0.4	9.5±0.3	0.16	72	55
<i>SAI</i>	25.4±14.3	19.4±12.5	0.48	4.1±0.2	3.3±1.2	2.04	14.3±4.1	7±0.2	0.27	24	18
<i>Avg</i>	30.9	11.1		10.3	8.4		33.7	7.1		30	29

Ескерту: Д – ДНҚ; Р – РНҚ; Р/Д – РНҚ/ДНҚ; F/S - % флюорометриялық өлшенген ДНҚ – ның спектрофотометриялық әдіспен өлшенген ДНҚ концентрациясы; F/H - % флюорометриялық өлшенген ДНҚ – ның ЖЭСХ әдімен өлшенген ДНҚ концентрациясы.

Микроорганизмдердің молекулалық – генетикалық идентификациясы Сенгер секвенирлеу әдісі бойынша жүргізілді. Бөлініп алынған деструктивті штамдар түрге дейін идентификацияланды.

Алынған ПТР ДНҚ - дан геннің 16S rRNA фрагменті амплификацияланды, шамамен 600 ж.н. үлгіні амплификациялау нәтижелері 14.суретте көрсетілген.

Нуклеотидтер тізбегін талдау. Анықталатын штамм генінің 16S rRNA нуклеотидтер тізбегі талданды және SeqA (Applied Biosystems) бағдарламалық құралында жалпы тізбекке біріктірілді. Осыдан кейін соңғы фрагменттер алынып тасталды (праймерлердің нуклеотидтер тізбегі, сапа көрсеткіші төмен фрагменттер) бұл бізге BLAST алгоритмі бойынша GeneBank-те анықталған шамамен 600 ж.н. нуклеотидтер тізбегін алуға мүмкіндік берді [262].

Нуклеотидтер тізбегі және сәйкестендіру нәтижелері 6 – кестеде келтірілген.

6 – кесте 16S rRNA генінің нуклеотидтер тізбегін талдау арқылы сәйкестендіру нәтижелері

Кесте 6 – Микробтық штамдардың 16S rRNA идентификация нәтижелері.

№	Шартты атау	16S рРНҚ генінің фрагменттерінің тізбегі	Тіркеу нөмері	Штамм	Ұқсастық
1	2	3	4	5	6
1	K2	GTCCAGGTGGTCGCCTTCGCCACTGGTGTTCCTTCCT ATATCTACGCATTTACCGCTACACAGGAAATTCAC CACCCTCTACCGTACTCTAGCTCGCCAGTTTGGATG CAGTTCACAGGTTGAGCCCGGGCTTTCACATCCAAC TTAACGAACCACCTACGCGCGCTTTACGCCAGTAAT TCCGATTAAACGCTTGACCCCTCTGTATTACCGCGGCT GCTGGCACAGAGTTAGCCGGTGCTTATTCTGTGCGTA ACGTCAAAACAGCAAGGTATTAGCTTACTGCCCTTCC TCCCAACTTAAAGTGCTTTACAATCCGAAGACCTTCT TCACACACGCGGCATGGCTGGATCAGGCTTTTCGCC ATTGTCCAATATTCCCCACTGCTGCCTCCCGTAGGAG TCTGGACCGTGTCTCAGTTCAGTGTGACTGATCATC CTCTCAGACCAGTTACGGATCGTCGCCTTGGTGAGCC ATTACCCACCAACTAGCTAATCCGACCTAGGCTCAT CTGATAGCGCAAGGCCCGAAGGTCCCCTGCTTTCTCC CGTAGGACGTATGCGGTATTAGCGTTCSTTTCGAAAC GTTGTCCCCACTACCAGGCAGATTCTAGGCATTAC TCACCCGTCCGCCGCTGAATCAAGGAGCAAGCTCCC GTCATCCGCTCGACTTGCATGTGTTAGGCCTGCCG	FPC951	<i>Pseudomonas plecoglossici da</i>	100%

2	K3	TTAGAAGCTTGCTTCTATGACGTTAGCGGCGGACGG GTGAGTAACACGTGGGCAACCTGCCTGTAAGACTGG GATAACTTCGGGAAACCGAAGCTAATACCGGATAGG ATCTTCTCCTTCATGGGAGATGATTGAAAGATGGTTT CGGCTATCACTTACAGATGGGCCCCGGTGCATTAG CTAGTTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCAACGAT GCATAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGG GACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGC AGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACG GAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGCTTTCGGGTC GTAAAACTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTACGAGA GTAAGTGTCTCGTACCTTGACGGTACCTAACCAGAAA GCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATA CGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGT AAAGCGCGCGCAGGCGGTTTCTTAAGTCTGATGTGA AAGCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGGAAAC TGGGGAACCTTGAGTGCAGAAGAGAAAAGCGGAATTC CACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGA ACACCAGTGGCGAAGGCGGCTTTTGGTCTGTAAC GACGCTGAGGCGCGAAGCGTGGGGAGCAAACAGG A	NR 115953.1	<i>Bacillus aryabhatai</i>	100%
3	KSI	GTCAGTTACAGACCAGACAGTCGCCTTCGCCACTGG TGTTCTCCAAATCTCTACGCATTTACCGCTACACT TGGAATTCCACTATCCTCTTCTGCACTCAAGTTCCCC AGTTTCCAATGACCCTCCCCGGTTGAGCCGGGGGCTT TCACATCAGACTTAAGGAACCACTGCGCGCGCTTT ACGCCCAATAATTCCGGACAACGCTTGCCACCTACG TATTACCGCGGCTGCTGGCAGTAGTTAGCCGTGGCT TTCTAACAAGGTACCGTCAAGGTAGCGCCAGTTACT ACGCTACTTGTTCTTCCCTTGCAACAGAGTTTTACGA ACCGAAATCCTTCTTCACTCACGCGGCGTTGCTCCAT CAGACTTTCGTCCATTGTGGAAGATTCCCTACTGCTG CCTCCCGTAGGAGTCTGGGCGGTGTCTCAGTCCCAGT GTGGCCGATCACCTCTCAGGTGCGCTACGCATCGTT GCCTTGGTGAGCCGTTACCTCACCACTAGCTAATGC GCCGCGGGTCCATCTTATAGTGACAGCCGAAACCGT CTTTCAACTTCAAAACATGTGTTAAAAAGTATTATTC GGTATTAGCCCCGGTTTCCCGGAGTTATCCCAATCTA TAAGGTAGGTACCCACGTGTTACTACCCGTCCGCC GCTAAATTTTAAAGGTGCAAGCACAATAAAATTT CCGCTCGACTTGC	NR 115952.1	<i>Solibacillus isronensis B3W22</i>	99%
4	KS2	CTTGCTCCTGAATTCAGCGGCGGACGGGTGAGTAAT GCCTAGGAATCTGCCTGGTAGTGGGGGACAACGTCT CGAAAGGGACGCTAATACCGCATACGTCTACGGGA GAAAGCAGGGGACCTTCGGGCCTTGCCTATCAGAT GAGCCTAGGTTCGATTAGCTAGTTGGTGAGGTAATG GCTACCAAGGCGACGATCCGTAACTGGTCTGAGAG GATGATCAGTCACACTGGAAGTACGACACGGTCCAG ACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACA ATGGGCGAAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGTGT GAAGAAGGTCTTCGATTGTAAAGCACTTTAAGTTG GGAGGAAGGGCAGTAACTTAATACGTTGCTGTTTG ACGTTACCGACAGAATAAGCACCGGCTAACTCTGTG CCAGCAGCCGCGGTAATACAGAGGGTGCAAGCGTTA ATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCGCGTAGGTGGT TTGTTAAGTTGGATGTGAAAGCCCCGGGCTCAACCT GGGAAGTGCATTCAAACTGACAAGCTAGAGTATGG TAGAGGTGGTGGAATTTCTGTGTAGCGGTGAAAT G	NR 042543.1 and NR 025227.1	<i>Pseudomonas mohnii</i> IpA-2 and <i>Pseudomonas umsongensis</i> Ps 3-10	99%
5	B1	AGTCGCCTTCGCCACTGGTGTCTCCACATCTCTAC GCATTTACCGCTACACGTGGAATTCCACTCTCCTCT	NR 115334.1	<i>Bacillus pumilus</i> CIP	100%

		TCTGCACTCAAGTTTCCAGTTTCCAATGACCCCTCCC CGGTTGAGCCGGGGGCTTTCACATCAGACTTAAGAA ACCGCCTGCGAGCCCTTTACGCCCAATAATTCCGGAC AACGCTTGCCACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCA CGTAGTTAGCCGTGGCTTTCTGGTTAGGTACCGTCAA GGTGCGAGCAGTTACTCTCGCACTTGTTCTTCCCTAA CAACAGAGCTTTACGATCCGAAAACCTTCATCACTC ACGCGGCGTTGCTCCGTCAGACTTTCGTCCATTGCGG AAGATTCCCTACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGGC CGTGTCTCAGTCCCAGTGTGGCCGATCACCTCTCAG GTCGGCTACGCATCGTCGCCTTGGTGAGCCATTACCC CACCAACTAGCTAATGCGCCGCGGTCCATCTGTAA GTGACAGCCGAAACCGTCTTTCATCCTTGAACCATGC GGTTCAAGGAACTATCCGGTATTAGCTCCGGTTTCCC GGAGTTATCCCAGTCTTACAGGCAGGTTACCCACGT GTTACTACCCGT	52.67		
6	B2	AGTCGCCTTCGCCACTGGTGTTCCTCCACATCTCTAC GCATTTACCGCTACACGTGGAATTCCACTCTCCTCT TCTGCACTCAAGTTCCCAAGTTTCCAATGACCCCTCCC CGGTTGAGCCGGGGGCTTTCACATCAGACTTAAGAA ACCGCCTGCGAGCCCTTTACGCCCAATAATTCCGGAC AACGCTTGCCACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCA CGTAGTTAGCCGTGGCTTTCTGGTTAGGTACCGTCAA GGTGCCGCCCTATTTGAACGGCACTTGTTCTTCCCTA ACAACAGAGCTTTACGATCCGAAAACCTTCATCACT CACGCGGCGTTGCTCCGTCAGACTTTCGTCCATTGCG GAAGATTCCCTACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGG CCGTGTCTCAGTCCCAGTGTGGCCGATCACCTCTCA GGTCGGCTACGCATCGTTGCCTTGGTGAGCCGTTACC TCACCAACTAGCTAATGCGCCGCGGTCCATCTGTA AGTGGTAGCCGAAGCCACCTTTTATGTTTGAACCATG CGGTTCAAACAAGCATCCGGTATTAGCCCCGGTTTCC CGGAGTTATCCCAGTCTTACAGGCAGGTTACCCACGT GTTACTACCCGTCCGCCGCTAACATCAGGGAGCAA GCTCCCATCTGTCCGCTCGACTT	NR 116022.1	<i>Bacillus amyloliquefa ciens</i> BCRC 11601	99.85%
7	AK5	GTCGCCTTCGCCACTGGTGTTCCTCCACATCTCTACG CATTTACCGCTACACGTGGAATTCCACTCTCCTCTT CTGCACTCAAGTTCCCAAGTTTCCAATGACCCCTCCC GGTTGAGCCGGGGGCTTTCACATCAGACTTAAGGAA CCGCCTGCGAGCCCTTTACGCCCAATAATTCCGGACA ACGCTTGCCACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCAC GTAGTTAGCCGTGGCTTTCTGGTTAGGTACCGTCAAG GTACCGCCCTATTGGAACGGTACTTGTTCTTCCCTAA CAACAGAGCTTTACGATCCGAAAACCTTCATCACTC ACGCGGCGTTGCTCCGTCAGACTTTCGTCCATTGCGG AAGATTCCCTACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGGC CGTGTCTCAGTCCCAGTGTGGCCGATCACCTCTCAG GTCGGCTACGCATCGTTGCCTTGGTGAGCCGTTACCT CACCAACTAGCTAATGCGCCGCGGTCCATCTGTAA GTGGTAGCCGAAGCCACCTTTTATGTTTGAACCATGC GGTTCAAACAAGCATCCGGTATTAGCCCCGGTTTCCC GGAGTTATCCCAGTCTTACAGGCAGGTTACCCACGT GTTACTACCCGTCCGCCGCTAACATCAGGGAGCAA GCTCCCATCTGTCCGCTCGACTTGCATGTATTAGGCA CGCCGCC	MW8665 66	<i>Bacillus subtilis</i> BGSC 3A28	99%
8	AK1	CTTGCTCCTGGATTACGCGGCGGACGGGTGAGTAAT GCCTAGGAATCTGCCTGGTAGTGGGGGACAACGTTT CGAAAGGAACGCTAATACCGCATACGTCTACGGGA GAAAGCAGGGGACCTTCGGGCCCTTGCCTATCAGAT GAGCCTAGGTCCGATTAGCTAGTTGGTGAGGTAATG GCTACCAAGGCGACGATCCGTAACCTGGTCTGAGAG	NR 025228.1	<i>Pseudomona s koreensis</i> Ps 9-14	99.13%

		GATGATCAGTCACACTGGAAGTGGAGACACGGTCCAG ACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACA ATGGGCGAAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGTGT GAAGAAGGTCTTCGGATTGTAAAGCACTTTAAGTTG GGAGGAAGGGCAGTAAATTAATACTTTGCTGTTTTG ACGTTACCGACAGAATAAGCACCGGCTAACTCTGTG CCAGCAGCCGCGTAATACAGAGGGTGCAAGCGTTA ATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCGCGTAGGTGGT TTGTTAAGTTGGATGTGAAATCCCCGGGCTCAACCTG GGAAGTGCATCCAAAAGTGGCAAGCTAGAGTATGGT AGAGGGTGGTGGAAATTTCTGTGTAGCGGTGAAATG CGTAGATATAGGAAGGAACACCAAGTGGCGAAGGCG ACCACCTGGACTGATACTGACACTGAGGTGCGAAAG CGTGGG			
9	ASI	CAAAAAGCCGCCTTCGCCACTGGTGTTCCTCCACATC TCTACGCATTTACCGCTACACGTGGAATTCCGCTTT TCTCTTCTGCACTCAAGTTCCCCAGTTTCCAATGACC CTCCACGGTTGAGCCGTGGGCTTTACATCAGACTTA AGAAACCGCCTGCGCGCGCTTTACGCCAATAATTC CGGATAACGCTTGCCACCTACGTATTACCGCGGCTGC TGGCACGTAGTTAGCCGTGGCTTTCTGGTTAGGTACC GTCAAGGTACGAGCAGTTACTCTTGTACTTGTCTTC CCTAACACAGAGTTTACGACCCGAAAGCCTTCAT CACTACGCGGCGTGTCTCCGTACAGCTTTCGTCCAT TGCGGAAGATTCCCTACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTC TGGGCCGTGTCTCAGTCCCAGTGTGGCCGATCACCT CTCAGGTCGGCTATGCATCGTTGCCTTGGTGAGCCGT TACCTACCAACTAGCTAATGCACCGCGGGCCCCTCT GTAAGTGATAGCCGAAACCATCTTTCAATCATCTCCC ATGAAGGAGAAGATCCTATCCGGTATTAGCTTCGGT TTCCCGAAGTTATCCAGTCTTACAGGCAGGTTGCC ACGTGTTACTACCCGTCCGCCGCTCACGTCATAGAA GCAAGCTTCTAATCAGTTCGCTCGACTTGCATGTAT	NR 116873.1	<i>Bacillus megaterium</i>	99%
10	SAI	TAAGAGCTTGCTCTTATGAAGTTAGCGGCGGACGGG TGAGTAACACGTGGGTAACTGCCATAAGACTGGG ATAACTCCGGGAAACCGGGGCTAATACCGGATAACA TTTTGAACCGCATGGTTCGAAATTGAAAGGCGGCTTC GGCTGTCACTTATGGATGGACCCGCGTCGCATTAGCT AGTTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCAACGATGC GTAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGA CTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAG TAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGA GCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGCTTTCGGGTCGT AAAAGTCTGTTGTTAGGGAAGAAAGTGTAGTTG AATAAGCTGGCACCTTGACGGTACCTAACCAGAAAG CCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATAC GTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTA AAGCGCGCGCAGGTGGTTTCTTAAGTCTGATGTGAA AGCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGGAAACT GGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGAAAGTGGAATTCC ATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATATGGAGGAA CACCAGTGGCGAAGGCGACTTCTGGTCTGTAAC	NR 157734.1	<i>Bacillus paramycoides</i> MCCC 1A04098	100%
11	B3	TCGCCTTCGCCACTGGTGTTCCTCCACATCTCTACGC ATTTACCGCTACACGTGGAATTCCACTCTCCTCTTC TGCACTCAAGTTCCCCAGTTTCCAATGACCTCCCCG GTTGAGCCGGGGGCTTTCACATCAGACTTAAGGAAC CGCTGCGAGCCCTTTACGCCAATAATTCCGGACA ACGCTTGCCACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCAC GTAGTTAGCCGTGGCTTCTGGTTAGGTACCGTCAAG GTACCGCCTATTGCAACGGTACTTGTTCTTCCCTAA CAACAGAGCTTTACGATCCGAAAACCTTCATCACTC	NR 104873.1	<i>Bacillus subtilis</i> BGSC 3A28	99.85%

		ACGCGGCGTTGCTCCGTCAGACTTTTCGTCCATTGCGG AAGATTCCCTACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGGC CGTGTCTCAGTCCCAGTGTGGCCGATCACCTCTCAG GTCGGCTACGCATCGTTGCCTTGGTGAGCCGTTACCT CACCAACTAGCTAATGCGCCGCGGGTCCATCTGTAA GTGGTAGCCGAAGCCACCTTTTATGTTTGAACCATGC GGTTCAAACAAGCATCCGGTATTAGCCCCGGTTTCCC GGAGTTATCCCAGTCTTACAGGCAGGTTACCCACGT GTTACTCACCCGTCCGCCGCTAACAT			
12	SK2	GTCGCCTTCGCCACTGGTGTTCCCTCCACATCTCTACG CATTTACCGCTACACGTGGAATTCCACTCTCCTCTT CTGCACTCAAGTTCCCCAGTTTCCAATGACCCTCCCC GGTTGAGCCGGGGGCTTTCACATCAGACTTAAGAAA CCGCCTGCGAGCCCTTTACGCCCAATAATTCCGGACA ACGCTTGCCACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCAC GTAGTTAGCCGTGGCTTTCTGGTTAGGTACCGTCAAG GTGCCGCCCTATTTGAACGGCACTTGTTCTTCCCTAA CAACAGAGCTTTACGATCCGAAAACCTTCATCACTC ACGCGGCGTTGCTCCGTCAGACTTTTCGTCCATTGCGG AAGATTCCCTACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGGC CGTGTCTCAGTCCCAGTGTGGCCGATCACCTCTCAG GTCGGCTACGCATCGTTGCCTTGGTGAGCCGTTACCT CACCAACTAGCTAATGCGCCGCGGGTCCATCTGTAA GTGGTAGCCGAAGCCACCTTTTATGTCTGAACCATGC GGTTCAAACAACCATCCGGTATTAGCCCCGGTTTCCC GGAGTTATCCCAGTCTTACAGGCAGGTTACCCACGT GTTACTCACCCGTCCGCCGCTAACATCA	NR 117946.1	<i>Bacillus amyloliquefac iens</i> MPA 1034	99%
13	SB1	GTCAGTTACAGACCAGAGAGTCGCCTTCGCCACTGG TGTTCTCCACATCTCTACGCATTTACCGCTACACG TGGAATTCCACTCTCCTCTTCTGCACTCAAGTTTCCC AGTTTCCAATGACCCTCCCCGGTTGAGCCGGGGGCTT TCACATCAGACTTAAGAAACCGCCTGCGAGCCCTTT ACGCCCAATAATTCCGGACAACGCTTGCCACCTACG TATTACCGCGGCTGCTGGCACGTAGTTAGCCGTGGCT TTCTGGTTAGGTACCGTCAAGGTGCGAGCAGTTACTC TCGCACTTGTTCTTCCCTAACACAGAGCTTTACGAT CCGAAAACCTTCATCACTCACGCGGCGTTGCTCCGTC AGACTTTCGTCCATTGCGGAAGATTCCCTACTGCTGC CTCCCGTAGGAGTCTGGGCCGTGTCTCAGTCCCAGTG TGGCCGATCACCTCTCAGGTGCGCTACGCATCGTCG CCTTGGTGAGCCATTACCCACCAACTAGCTAATGCG CCGCGGGTCCATCTGTAAGTGACAGCCGAAACCGTC TTTCATCCTTGAACCATGCGGTTCAAGGAACTATCCG GTATTAGTCCGGTTTCCCGGAGTTATCCCAGTCTTA CAGGCAGGTTACCCACGTGTTACTCACC	NR 115334.1	<i>Bacillus pumilus</i> CIP 52.67	100%
14	AK3	CAGACCAGAGAGTCGCCTTCGCCACTGGTGTTCTCC ACATCTCTACGCATTTACCGCTACACGTGGAATTCC ACTCTCCTCTTCTGCACTCAAGTTCCCCAGTTTCCAA TGACCCTCCCCGGTTGAGCCGGGGGCTTTCACATCAG ACTTAAGAAACCGCCTGCGAGCCCTTACGCCCAAT AATTCCGGACAACGCTTGCCACCTACGTATTACCGCG GCTGCTGGCACGTAGTTAGCCGTGGCTTTCTGGTTAG GTACCGTCAAGGTGCCGCCCTATTTGAACGGCACTTG TTCTTCCCTAACACAGAGCTTTACGATCCGAAAACC TTCATCACTCACGCGGCGTTGCTCCGTCAGACTTTCG TCCATTGCGGAAGATTCCCTACTGCTGCCTCCCGTAG GAGTCTGGGCCGTGTCTCAGTCCCAGTGTGGCCGATC ACCTCTCAGGTGCGCTACGCATCGTTGCCTTGGTGA GCCGTTACCTACCAACTAGCTAATGCGCCGCGGGT CCATCTGTAAGTGATAGCCGAAGCCACCTTTTATGTC TGAACCATGCGGTTCAACAACCATCCGGTATTAGCC	NR 041455	<i>Bacillus amyloliquefa ciens</i>	99%

		CCGGTTTCCCCGAGTTATCCCAGTCTTACAGGCAGG TTACCCACGTGTTACTACCCGTCGCCCGC			
15	AK4	AGTCGCCTTCGCCACTGGTGTTCCTCCACATCTCTAC GCATTTACCGCTACACGTGGAATTCCACTCTCCTCT TCTGCACTCAAGTTTCCCAGTTTCCAATGACCCTCCC CGGTTGAGCCGGGGGCTTTACATCAGACTTAAGAA ACCGCCTGCGAGCCCTTTACGCCCAATAATTCCGGAC AACGCTTGCCACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCA CGTAGTTAGCCGTGGCTTTCTGGTTAGGTACCGTCAA GGTGCGAGCAGTTACTCTCGCACTTGTCTTCCCTAA CAACAGAGCTTTACGATCCGAAAACCTTCATCACTC ACGCGGCGTTGCTCCGTCAGACTTTCGTCCATTGCGG AAGATTCCCTACTGCTGCCTCCCGTAGGAATCTGGGC CGTGTCTCAGTCCCAGTGTGGCCGATCACCCCTCTCAG GTCGGCTACGCATCGTCGCCTTGGTGAGCCATTACCC CACCAACTAGCTTATGCGCCGCGGGTCCATCTGTAA GTGACAGCCGAAACCGTCTTTCATCCTTGAACCATGC GGTTCAAGGAACTATCCGGTATTAGCTCCGGTTTCCC GGAGTTATCCCAGTCTTACAGGCAGGTTACCCACGT GTTACTCACCCGTCCGCCGCTTACATCCGGGAGCAA GCTCCCTTCTGTCCGCTCG	NR 115334.1	<i>Bacillus pumilus</i>	99%
16	SA2	GACCAGAAAGTCGCCTTCGCCACTGGTGTTCCTCCAT ATCTCTACGCATTTACCGCTACACATGGAATTCCAC TTTCTCTTCTGCACTCAAGTCTCCCAGTTTCCAATG ACCTCCACGGTTGAGCCGTGGGCTTTACATCAGAC TTAAGAAACCACCTGCGCGCGCTTTACGCCCAATAA TTCCGGATAACGCTTGCCACCTACGTATTACCGCGGC TGCTGGCACGTAGTTAGCCGTGGCTTTCTGGTTAGGT ACCGTCAAGGTGCCAGCTTATTCAACTAGCACTTGTT CTTCCCTAACAACAGAGTTTTACGACCCGAAAGCCTT CATCACTACGCGGCGTTGCTCCGTCAGACTTTCGTC CATTGCGGAAGATTCCCTACTGCTGCCTCCCGTAGGA GTCTGGGCCGTGTCTCAGTCCCAGTGTGGCCGATCAC CCTCTCAGGTGCGCTACGCATCGTTGCCTTGGTGAGC CGTTACCTACCAACTAGCTAATGCGACGCGGGTCC ATCCATAAGTGACAGCCGAAGCCGCCTTCAATTTG AACCATGCAGTTCAAAATGTTATCCGGTATTAGCCCC GGTTTCC	NR 043403.1	<i>Bacillus thuringiensis</i> IAM 12077	100%
17	SA3	GTCGCCTTCGCCACTGGTGTTCCTCCACATCTCTACG CATTTACCGCTACACGTGGAATTCCACTCTCCTCTT CTGCACTCAAGTTCCCAGTTTCCAATGACCCTCCCC GGTTGAGCCGGGGGCTTTACATCAGACTTAAGGAA CCGCCTGCGAGCCCTTTACGCCCAATAATTCCGGACA ACGCTTGCCACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCAC GTAGTTAGCCGTGGCTTTCTGGTTAGGTACCGTCAAG GTACCGCCCTATTGAAACGGTACTTGTCTTCCCTAA CAACAGAGCTTTACGATCCGAAAACCTTCATCACTC ACGCGGCGTTGCTCCGTCAGACTTTCGTCCATTGCGG AAGATTCCCTACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGGC CGTGTCTCAGTCCCAGTGTGGCCGATCACCCCTCTCAG GTCGGCTACGCATCGTTGCCTTGGTGAGCCGTTACCT CACCAACTAGCTAATGCGCCGCGGGTCCATCTGTAA GTGGTAGCCGAAGCCACCTTTTATGTTTGAACCATGC GGTTCAAACAAGCATCCGGTATTAGCCCCGGTTTCCC GGAGTTATCCCAGTCTTACAGGCAGGTTACCCACGT GTTACTCACCCGTCCGCCGC	NR 104873.1	<i>Bacillus subtilis ssp. inaquosorum</i> BGSC 3A28	98.84%
18	BR4	ACACCAGCGAACTTATTACGCCAGATAGACAAGTT AAACACGCTAACTCTTTAAGGCGAGCCAGGCGACT GGCAACACCCAATTCCAAGCCATTAAGAAACCTAA TGTTGAGATTTTCATGATACTCAAACAGGCATGCTCT CCGGAATACCAGAGAGCGCAAGTTGCGTTCAAAGAT	KY103022 .1 and KY103021 .1	<i>Cutaneotricho sporon moniliiforme</i> CBS:5959 and CBS:9633	100%

		TCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTCACATTACTTA TCGCATTTTCGCTGCGTTCTTCATCGATGCGAGAGCCA AGAGATCCGTTGTTGAAAGTTATTTTTGTTATAATAA CATGACGTTTCATTACACAATGTTTGTAAGTAATTG ACCGAAGTCAATCAACAGTTCACAGGTGTAGATGGA TATAGTTTAACGCTCAGAGAGCAATTCATAATGATC CTTCCG			
19	B5	CCAACCCGGCTCTAGTCCGAAGACTAGAATTCCTCA GCGAATAGTCTATTACGCCAAGTCAATCCGAAGTTC GATTGCGGATGCTAATGCATTACGAACGAGCTAGAC CCTAAAGGCCAGCAGCGCTCAGAAACCAACACCTC TTCAATCATTAAGAAAGAGGAGGGTTGAAGTATTCA TGACACTCAAACAGGCATGCTCCACGGAATACCATG GAGCGCAAGGTGCGTTCAAAGATTTCGATGATTCACT GAATTCTGCAATTCACATTACTTATCGCATTTTCGCTG CGTTCTTCATCGATGCGAGAGCCAAGAGATCCGTTGT TGAAAGTTTTATTTTGTATAAAATTTAATACATTCA TAGACTTTGTGTTTATAAGTGAATAGGAGTTCGCCCT CTTGCGAGAGTTACTATCCCAAACAAATGCACAGGG TTAGAAAGTGAGAGTTCGGACTCCAAGTTAAGTTGG ACGTCCTATATTCATAATGATCCTTCCGC	ON840015	<i>Rhodotorula glutinis</i>	100%
20	BR7	TCTACGCATTTACCGCTACACCTGGAATTCACCAT CCTTACCGCACTCTAGCTTGCCAGTATCGAATGCAA TTCCAGGTTGAGCCCGGGGATTTACATCTGACTTA ACAAGCCGCCTACGCGCGCTTTACGCCAGTAAATC CGATTAACGCTTGCAACCCTCTGTATTACCGCGGCTGC TGGCACAGAGTTAGCCGGTGCTTATTCTGCCAGTAAC GTC	NR 025254.1	<i>Alkanindiges illinoisensis</i>	95%

Халықаралық банктерде GeneBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>), Ribosomal Database Project (RDP-II) (<http://rdp>) нуклеотидтер тізбегінің болуын көрсететін әдебиет деректерін ескере отырып cme.msu.edu/html/), қателер, сонымен қатар филогенетикалық ағаштар осы түрлердің анықтамалық штаммдарының 16S рРНҚ генінің нуклеотидтер тізбегі арқылы құрастырылған (<http://www.bacterio.net>).

Талдау 16S рРНҚ генінің нуклеотидтер тізбегін, филогенетикалық тұрғыдан ең жақын микроорганизмдерді қамтыды.

K2 штамының филогенетикалық ағашын құру үшін біз *Pseudomonas plecoglossicida* тобына жататын эталондық штамдардың 16S рРНҚ нуклеотидті тізбегін пайдаландық.



Сурет 25 – *Pseudomonas plecoglossicida* 16S рРНҚ генінің фрагментін талдау негізінде салынған филогенетикалық ағаш

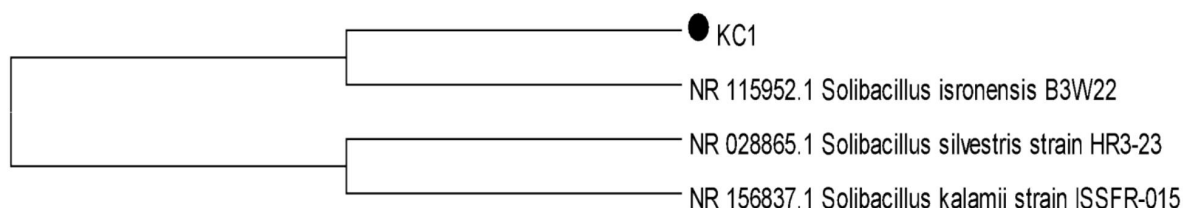
25 – суреттен көріп отырғанымыздай, K2 штамы *Pseudomonas monteilii* және

Pseudomonas pseudoalcaligenes бір бұтақта орналасқан, осы түрлердегі 16S рРНҚ жоғары сәйкестігін ескере отырып, сенімді идентификациялау үшін ақуыздарды кодтайтын гендердің нуклеотидтер тізбегін талдау немесе фенотиптік талдау жүргізілді.



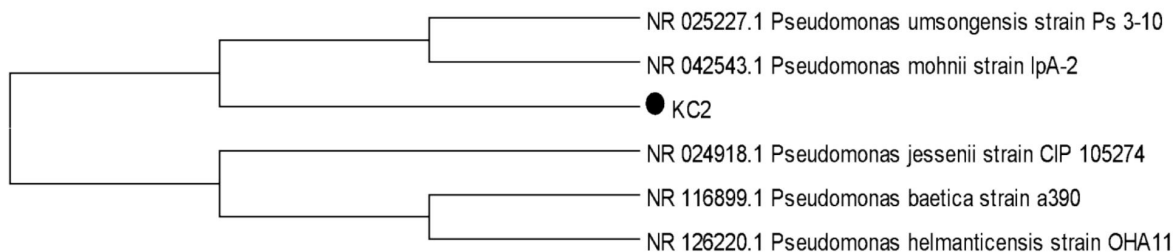
Сурет 26 – *Bacillus aryabhattai* 16S рРНҚ генінің фрагментін талдау негізінде салынған филогенетикалық ағаш

26 – суретте *Bacillus aryabhattai* және *Bacillus megaterium* генетикалық туыс түрлерінің филогенетикалық талдауы көрсетілген. Нәтижелерден K3 штамдарының *Bacillus aryabhattai* және *Bacillus megaterium* эталондық штамдарының нуклеотидтер тізбегі сияқты бір тармақта орналасқанын көруге болады.



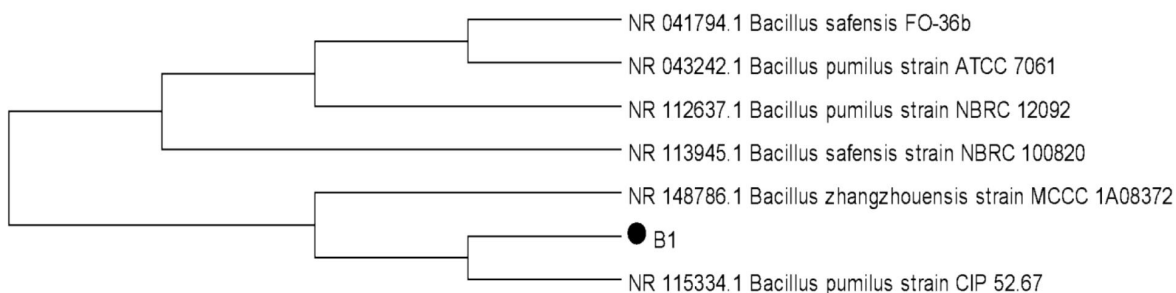
Сурет 27 – *Solibacillus isronensis* 16S рРНҚ генінің фрагментін талдау негізінде салынған филогенетикалық ағаш

27 – суретте *Solibacillus isronensis* және *Solibacillus kalamii* генетикалық туыс түрлерінің филогенетикалық талдауы көрсетілген. Нәтижелерден KS1 штаммы *Solibacillus isronensis* және *Solibacillus kalamii* эталондық штамдарының нуклеотидтер тізбегі сияқты бір тармақта орналасқанын көруге болады. NR 115952.1 *Solibacillus isronensis* B3W22 штаммының гомологиялық сәйкестігі 99% құрады.



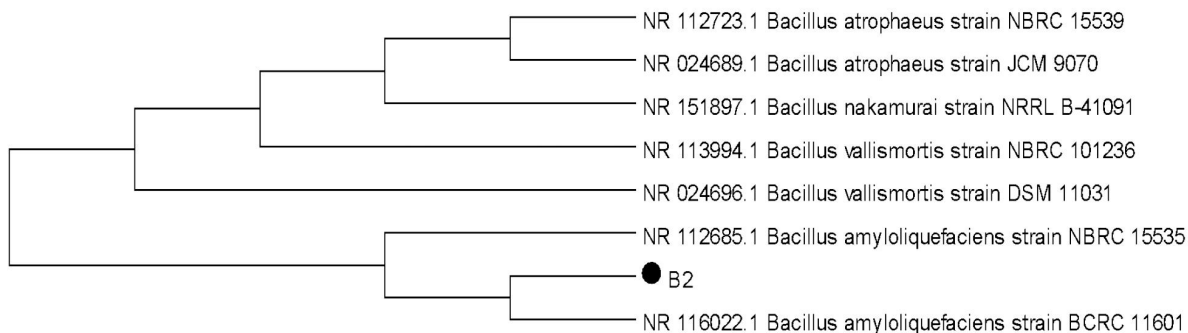
Сурет 28 – *Pseudomonas mohnii* IpA-2 16S рРНҚ генінің фрагментін талдау негізінде салынған филогенетикалық ағаш

28 – суретте *Pseudomonas mohnii* strain IpA-2 және NR 025227.1 *Pseudomonas umsongensis* strain Ps 3-10 генетикалық туыс түрлерінің филогенетикалық талдауы көрсетілген [24,25]. Нәтижелерден KS2 штамы *Pseudomonas mohnii* strain IpA-2 және NR 025227.1 *Pseudomonas umsongensis* strain Ps 3-10 эталондық штамдарының нуклеотидтер тізбегі сияқты бір тармақта орналасқанын көруге болады. NR 042543.1 *Pseudomonas mohnii* strain IpA-2 и NR 025227.1 *Pseudomonas umsongensis* strain Ps 3-10 штамының гомологиялық сәйкестігі 99% құрады.



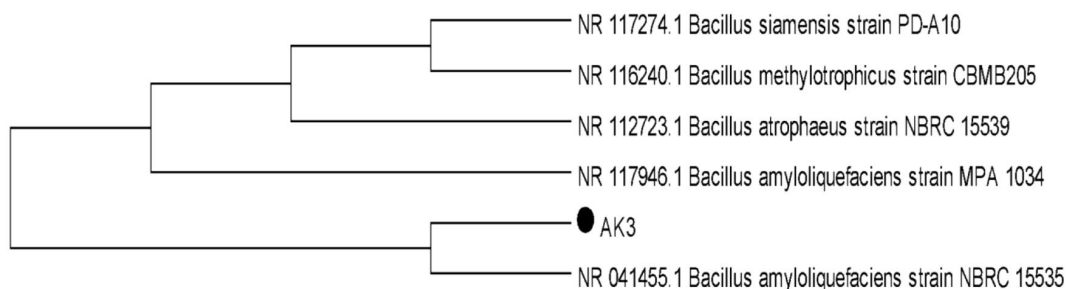
Сурет 29 – *Bacillus pumilus* рРНҚ генінің фрагментін талдау негізінде салынған филогенетикалық ағаш

29 – суретте *Bacillus pumilus* және *Bacillus safensis* генетикалық туыс түрлерінің филогенетикалық талдауы көрсетілген. Нәтижелерден B1 штамы *Bacillus pumilus* және *Bacillus safensis* эталондық штамдарының нуклеотидтер тізбегі сияқты бір тармақта орналасқанын көруге болады. NR 115334.1 *Bacillus pumilus* strain CIP 52.67 штамының гомологиялық сәйкестігі 100% құрады.



Сурет 30 – *Bacillus pumilus* рРНҚ генінің фрагментін талдау негізінде салынған филогенетикалық ағаш

30 – суретте *Bacillus amyloliquefaciens* және *Bacillus atrophaeus* генетикалық туыс түрлерінің филогенетикалық талдауы көрсетілген. Нәтижелерден В2 штамы *Bacillus amyloliquefaciens* және *Bacillus atrophaeus* эталондық штамдарының нуклеотидтер тізбегі сияқты бір тармақта орналасқанын көруге болады. NR 116022.1 *Bacillus amyloliquefaciens* strain BCRC 11601 штамының гомологиялық сәйкестігі 99,85% құрады.



Сурет 31 – *Bacillus amyloliquefaciens* 16S рРНҚ генінің фрагментін талдау негізінде салынған филогенетикалық ағаш

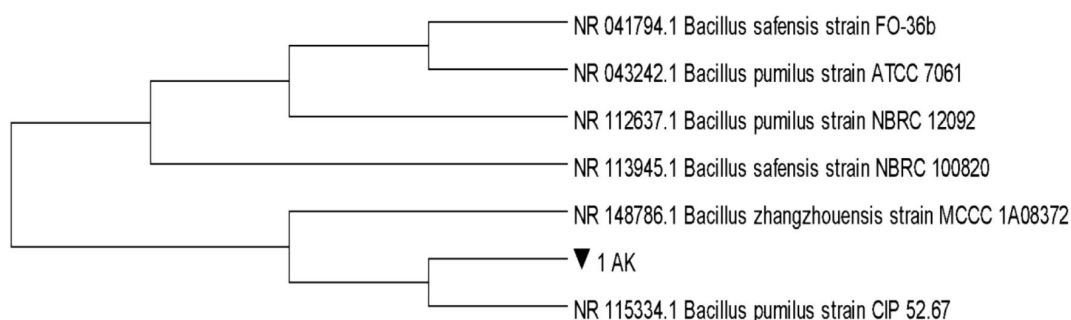
31 – суреттен көрініп тұрғандай, АК3 штамы *Bacillus siamensis* және *Bacillus amyloliquefaciens*-пен бір тармақта орналасқан, бұл түрлердегі 16S рРНҚ-ның жоғары сәйкестігін ескере отырып, сенімді идентификациялау ақуыздарды кодтайтын гендердің нуклеотидтер тізбегін талдау немесе фенотиптік талдау жүргізілді.



Сурет 32 – *Bacillus subtilis* 16S рРНҚ генінің фрагментін талдау негізінде салынған филогенетикалық ағаш

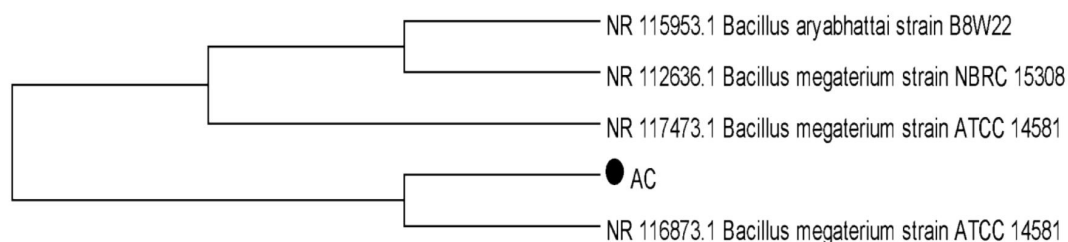
32 – суретте *Bacillus mojavensis* және *Bacillus subtilis* генетикалық туыс түрлерінің филогенетикалық талдауы көрсетілген.

АК4 штаммы үшін филогенетикалық ағашты құру үшін *Bacillus pumilus* тобына жататын референт штамдарының 16S rRNA нуклеотидті тізбегі пайдаланылды.



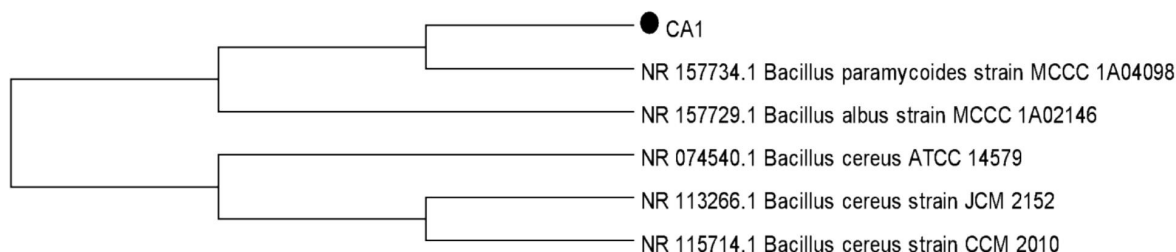
Сурет 33 – *Bacillus pumilus* 16S рРНҚ генінің фрагментін талдау негізінде салынған филогенетикалық ағаш

33 – суреттен көрініп тұрғандай, АК4 штамы *Bacillus safensis* және *Bacillus pumilus* сияқты бір бұтақта орналасқан, осы түрлердегі 16S рРНҚ жоғары сәйкестігін ескере отырып, сенімді идентификациялау ақуыздарды кодтайтын гендердің нуклеотидтер тізбегін талдау немесе фенотиптік талдау жүргізілді.



Сурет 34 – *Bacillus megaterium* 16S рРНҚ генінің фрагментін талдау негізінде салынған филогенетикалық ағаш

34 – суретте *Bacillus aryabhattai* және *Bacillus megaterium* генетикалық туыс түрлерінің филогенетикалық талдауы көрсетілген. Нәтижелер AS1 штамдарының *Bacillus aryabhattai* және *Bacillus megaterium* референтті штамдарының нуклеотидтер тізбегі сияқты бір тармақта орналасқанын көрсетеді. Сенімді сәйкестендіру үшін акуыздарды кодтайтын гендердің нуклеотидтер тізбегін талдау немесе фенотиптік талдау жүргізілді.



Сурет 35 – *Bacillus megaterium* 16S рРНҚ генінің фрагментін талдау негізінде салынған филогенетикалық ағаш

35 – суретте *Bacillus paramycoides* және *Bacillus cereus* генетикалық туыс түрлерінің филогенетикалық талдауы көрсетілген. Нәтижелер SA1 штмдарының *Bacillus paramycoides* және *Bacillus cereus* референтті штамдарының нуклеотидтер тізбегі сияқты бір тармақта орналасқанын көрсетеді. Сенімді сәйкестендіру үшін акуыздарды кодтайтын гендердің нуклеотидтер тізбегін талдау немесе фенотиптік талдау жүргізілді. *NR 157734.1 Bacillus paramycoides strain MCCC 1A04098* штамының гомологиялық сәйкестігі 100% құрады.



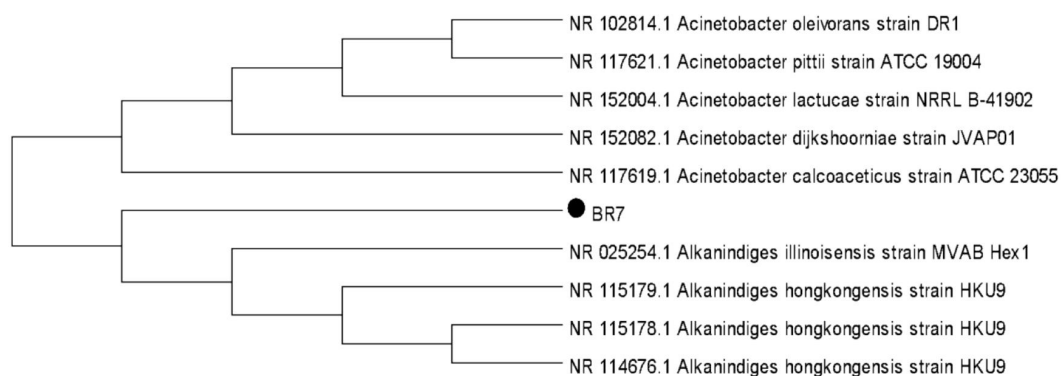
Сурет 36 – *Serratia quinivorans* 16S рРНҚ генінің фрагментін талдау негізінде салынған филогенетикалық ағаш

36 – суреттен көрініп тұрғандай, BR1 штамы *Serratia plymuthica* және *Serratia quinivorans* сияқты бір бұтақта орналасқан, бұл түрлердегі 16S рРНҚ жоғары сәйкестігі байқалады.



Сурет 37 – *Enterobacter cloacae subsp. dissolvens* 16S рРНҚ генінің фрагментін талдау негізінде салынған филогенетикалық ағаш

37 – суреттен көрініп тұрғандай, BR3 штамы *Enterobacter ludwigii* және *Enterobacter cloacae subsp.* сияқты бір тармақта орналасқан, осы түрлердегі жоғары 16S рРНҚ сәйкестігі байқалады.



Сурет 38 – *Alkanindiges illinoisensis* 16S рРНҚ генінің фрагментін талдау негізінде салынған филогенетикалық ағаш

38 – суретте *Alkanindiges hongkongensis* және *Alkanindiges illinoisensis* генетикалық туыс түрлерінің филогенетикалық талдауы көрсетілген.

Микроорганизмдердің таңдалған дақылдарын молекулалық-генетикалық идентификациялау нәтижесінде *Pseudomonas plecoglossicida* K2, *Bacillus aryabhattai* K3, *Solibacillus isronensis* KS1, *Pseudomonas sp.* KS2, *Bacillus pumilus* B1, *Bacillus amyloliquefaciens* B2, *Bacillus subtilis* AK5, *Pseudomonas koreensis* AK1, *Bacillus megaterium* AS1 және *Bacillus paramycoides* SA1, - *Serratia quinivorans* BR1, *Enterobacter cloacae subsp.* BR3, *Alkanindiges illinoisensis* BR7 түріне жатқызылды.

Осылайша, жүргізілген зерттеулер пестицидтер көмілген жерлерге іргелес аумақтағы микробтардың алуантүрлілігіне тұрақты мониторинг жүргізу, сондай-ақ қоршаған ортаның ластану көрсеткіштері ретінде микроорганизмдерді пайдалану мүмкіндігін зерттеу қажеттілігін көрсетеді. Белгілі бір тұрақты органикалық ластаушы заттардың белсенді ыдырауына қабілетті бактериялар, микромицеттер арасында микроорганизмдердің перспективті дақылдарын іздеу

және идентификациялау топырақты қалдық пестицидтерден тазарту бойынша биоремедиация шараларын құрастыруға негіз болып табылады.

3.4 Перспективті штамдардың хлорорганикалық пестицидтер қатысындағы деструктивтік белсенділігі және деструктор – штамдардың скринингі

Тұрақты органикалық қосылыстардың ыдырауы абиотикалық реакциялармен, сондай-ақ қолайлы жағдайларда микроорганизмдердің биохимиялық процестерімен, аз токсикалық жанама өнімдерге айналуымен реттеледі. Осылайша, қазіргі уақытта зерттеулер деструктор штамдарының физиологиялық, биохимиялық және генетикалық сипаттамаларын зерттеуге және ксенобиотиктердің биотрансформация жолдарын анықтауға бағытталған.

Feng және т.б. (1998) ғылыми зерттеу жұмыстарында жалғыз көміртегі көзі ретінде ДДТ-мен байытылған М9 қоректік ортасында өсу кезінде колониялар бастапқы ақ-бұлыңғыр түстен қызылғылт түске өзгергені көрсетілген.

Деструкторларды іздеу басым популяциялардың микроорганизмдер дақылдары арасында жүргізілді. М9 қатты ортасында топырақтың бүкіл микробиотасының құрамында деструктивті штамдардың болуы 0,01% көміртегі ретінде пестицидті және бактериялық дегидрогеназалық белсенділік 2,3,5-трифенилтетразолий хлориді (ТТСН) индикаторын қолдану арқылы анықталды. Дақылдардың деструктивті белсенділігі хлорорганикалық химиялық заттардың қатысуымен клетканың өсуі және тіршілікке қабілеттілігін сақтау белсенділігімен өлшенді [263].

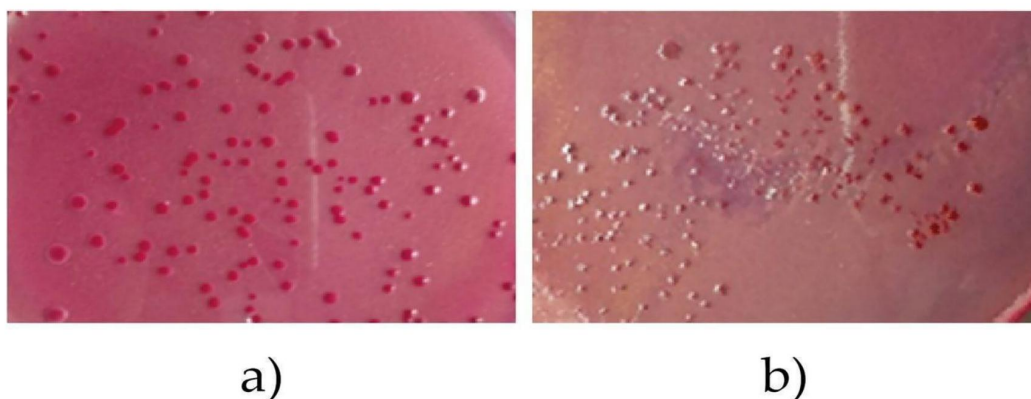
Қазіргі заманғы биотехнологияның өзекті міндеттерінің бірі ксенобиотиктермен ластанған топырақтарды қайта қалпына келтіруге байланысты мәселелерін шешу үшін аборигендік микрофлорадан бөлініп алынған деструктор штамдары негізінде биопрепараттар алу болып табылады. Пестицидтерді қолдану нормалары мен ережелерін бұза отырып интенсивті қолдану салдарынан топырақ ерекше деструктивті әсерге ұшырайды, бұл пестицидтердің топырақта жиналуының негізгі себебі болып табылады. Пайдаланылмаған немесе тыйым салынған химиялық заттарға арналған полигондар да қоршаған ортаға ерекше қауіп төндіреді. Топырақтың өзін-өзі тазартуының табиғи процестері мұндай ластану көлеміне төтеп бере алмайды.

Топырақтың құнарлылығы мен өзін-өзі тазартуы микробиологиялық процестердің белсенділігіне тікелей байланысты екені белгілі, алайда топырақтың жоғары интоксикациялық нәтижесінде автохтонды микрофлора тежеледі. Сондықтан топырақтың негізгі функцияларын қалпына келтіруге және құнарлылығын арттыруға бағытталған кешенді технологияларды жасау теориялық және қолданбалы микробиология үшін айтарлықтай ғылыми қызығушылық тудырады. Қазіргі уақытта биологиялық ремедиация әдістері ластанған топырақтарды тазалау мәселелерін шешудің басым әдістері ретінде қарастырылады [264]. Биодеградация органикалық ластаушы заттармен, соның ішінде пестицидтермен ластанған топырақ жүйелерін рекультивациялау технологияларының ең перспективалы бағыты болып саналады.

Жоғарыда айтылғандарға байланысты әрі қарай зерттеулердің мақсаты тиімді деструктор микроорганизмдердің скринингін жүргізу, дақылдардың деструктивті белсенділігін зерттеу және ең перспективті штамдарды таңдау болды. Деструкторларды іздеу микроорганизмдердің басым популяцияларынан алынған дақылдар арасында жүргізілді. Топырақтың жалпы микробиотасының құрамындағы деструктор штамдарын анықтау көміртегі көзі ретінде ДДТ пестицидін 0,01%, бактериялардың дегидрогеназа белсенділігінің көрсеткіші 2,3,5-трифенилтетразолий хлоридін (ТТХ) қосу арқылы қатты ортада М9 жүргізілді [265].

Зерттеу жұмысы барысында 40 штамм тұрақты органикалық қосылыстармен ластанған топырақ үлгілерінен бөлініп алынды. Штамдардың жартысы көміртегінің жалғыз көзі ретінде тұрақты органикалық қосылыстар бар ортада өспегенін көрсетті, бұл деструктивті белсенділіктің жоқтығын көрсетеді. Скрининг нәтижесінде тұрақты органикалық қосылыстар бар ортада белсенді өсуге қабілетті 10 перспективті штамм іріктеліп алынды, атап айтқанда, *Pseudomonas plecoglossicida* K2, *Bacillus aryabhattai* K3, *Solibacillus isronensis* KS1, *Pseudomonas* sp. KS2, *Bacillus pumilus* B1, *Bacillus amyloliquefaciens* B2, *Bacillus subtilis* AK5, *Pseudomonas koreensis* AK1, *Bacillus megaterium* AS1 және *Bacillus paramycoides* SA1 (Сурет 26).

39 – суретте көрсетілгендей, М9 қоректік ортада өсірілген барлық колониялар тегіс, жылтыр қызыл және S-тәрізді болды.



Сурет 39 – Тұрақты органикалық қосылыстар бар ортада деструктивті микроорганизмдердің өсуі. a *Pseudomonas plecoglossicida* K2. b *Bacillus aryabhattai* K3

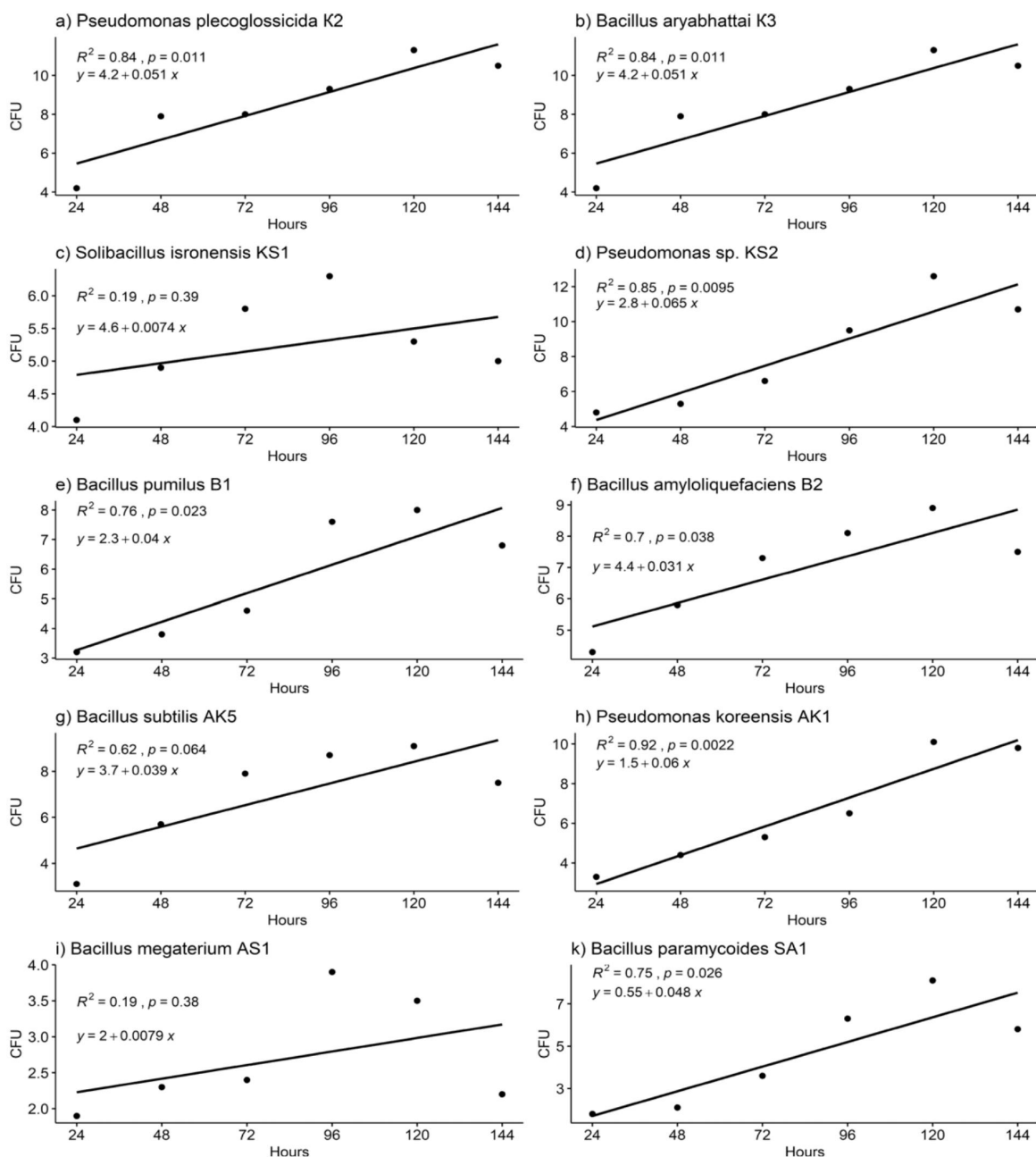
39 – суретте көрсетілгендей тұрақты органикалық заттардың тотығу-қалпына келтіру реакцияларын катализдейтін дегидрогеназа ферментін анықтау үшін синтетикалық М9 қоректік ортасына 2,3,5-трифенилтетразолий хлориді (ТТХ) индикаторы қосылып, петри табақшаларында қызыл бояудың пайда болуы ксенобиотиктің деструкциясын анықтайды. Яғни, ортада қалпына келтірілген үшфенилформазанның (ТФФ) түзілуіне байланысты.

Дақылдардың деструктивті белсенділігі хлорорганикалық қосылыстардың қатысуымен өсу және клетканың тіршілікке қабілеттілігін сақтау

белсенділігімен бағаланды. Микроорганизмдерді және олардың ыдырау өнімдерін ыдырататын белсенді тұрақты органикалық қосылыстардың скринингі топырақтан бөлініп алынған таза дақылдардың барлық 40 штамында жүргізілді. Скринингтік зерттеулердің негізінде 20 штамм көміртегінің жалғыз көзі ретінде ДДТ қосылған ортада өсуге қабілетсіз болды. Дақылдың қатты қоректік ортада өспеуі штаммдардың деструктивті белсенділігінің жоқтығын көрсетеді. Тұрақты органикалық қосылыстармен ластанған топырақ үлгілерінен бөлініп алынған *Pseudomonas plecoglossicida* K2, *Bacillus aryabhattai* K3, *Solibacillus isronensis* KS1, *Pseudomonas* sp. KS2, *Bacillus pumilus* B1, *Bacillus amyloliquefaciens* B2, *Bacillus subtilis* AK5, *Pseudomonas koreensis* AK1, *Bacillus megaterium* AS1 және *Bacillus paramycoides* SA1 штамдарының ДДТ-ға қатысты деструктивті белсенділігі жоғары екендігі анықталды.

Ғылыми әдебиеттерде хлорорганикалық пестицидтердің кең спектрін қолдану бұл қосылыстардың микроорганизмдердің прокариоттық және эукариоттық клеткаларына, гетеротрофты микроорганизмдерге әсер етуінің әртүрлі механизмдерін қамтитынын және бұл механизмдердің ауқымы өте кең екенін көрсететін мәліметтер бар. Карбаматтардың туындылары клетканың бөліну процесіне әсер ететіні белгілі, органикалық мыс қосылыстары және дитиокарбаматтар – мембрананың өткізгіштігі және тотығу фосфорлануы, тыныс алу тізбегіндегі электрондардың тасымалдануы бойынша, органикалық сынап қосылыстары клеткалық компоненттермен әрекеттеседі, карбоксил, сульфгидрил, амин топтары және металл иондарымен әрекеттеседі [266]. Сондықтан бөлініп алынған таза дақылдардың штамдары хлорорганикалық препараты бар қоректік ортада әртүрлі өсу белсенділігін көрсетті.

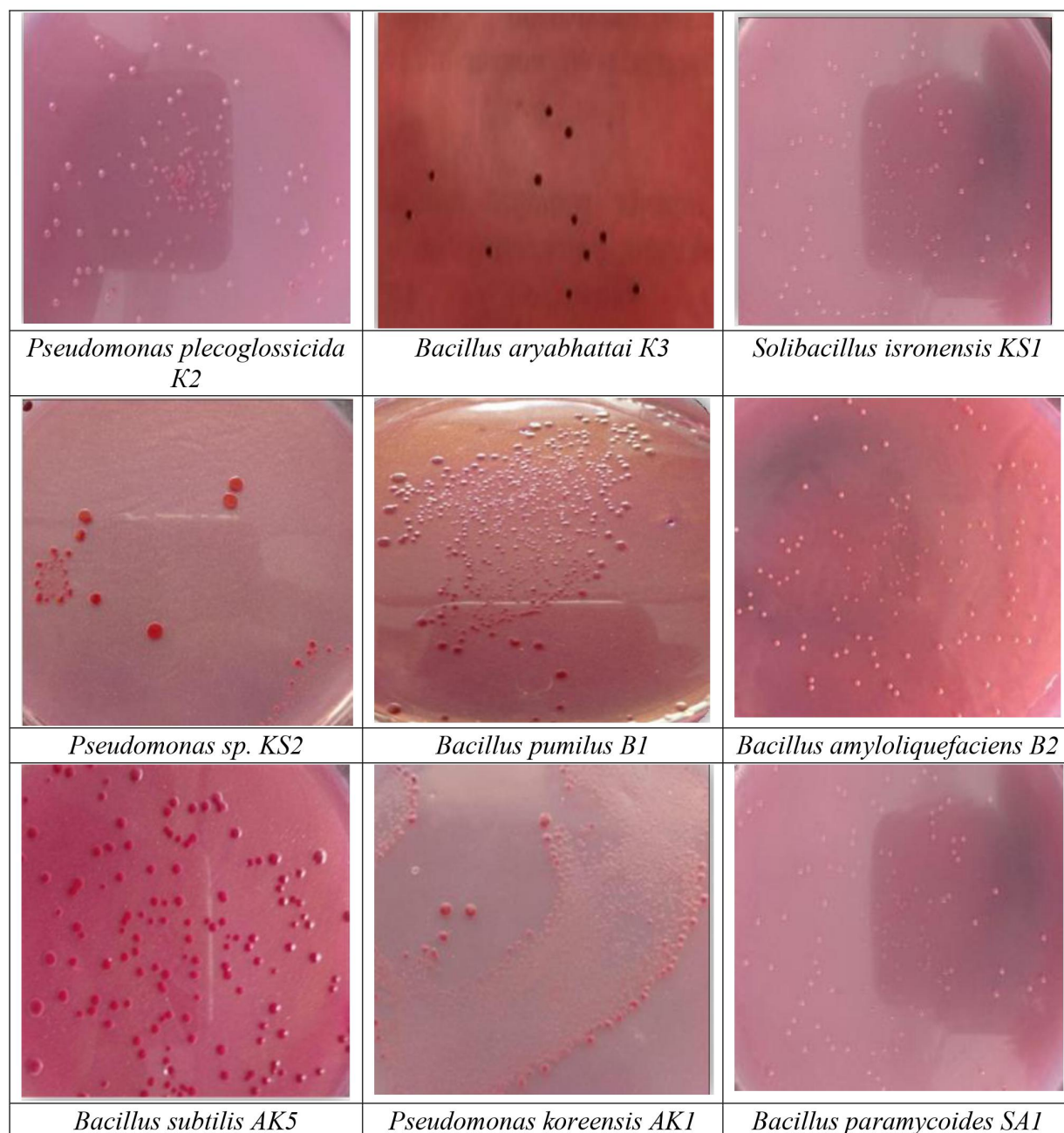
Скрининг нәтижесінде ДДТ хлорорганикалық қосылысы бар қоректік ортада белсенді өсу белсенділігіне ие микроорганизмдердің 10 перспективті штамдар іріктеліп алынды. Нәтижелер 40 – суретте көрсетілген.



Сурет 40 – ДДТ қосылған қоректік ортада тұрақты органикалық қосылыстарды ыдырататын деструктор - штамдардың өсу динамикасының сызықтық регрессиясы

Деструктор - штамдардың ДДТ қосылған қоректік ортада өсуі 5 тәулік бойы зерттелді, 40 – суретте көріп тұрғандарыңыздай, *Pseudomonas plecoglossicida* K2, *Bacillus aryabhattai* K3, *Pseudomonas koreensis* AK1 штамдары *Bacillus megaterium* AS1 және *Bacillus paramycoides* SA1 штамдарымен салыстырғанда белсенді өсуді көрсетті. Зерттелетін штамдардың клетка саны 24 сағаттан кейін $1,7 \times 10^7$ - $8,6 \times 10^7$ КТБ/г, бесінші күні $2,1 \times 10^7$ - $1,2 \times 10^7$ КТБ/г шегінде болды. Зерттелген штамдардың ішінде *Solibacillus isronensis* KS1, *Pseudomonas*

sp. KS2, *Bacillus pumilus* B1, *Bacillus amyloliquefaciens* B2, *Bacillus subtilis* AK5, штамдары ең жоғары өсу белсенділігін көрсетті. *Bacillus subtilis* AK5 штамы дақылдаудың бірінші күнінде өсуі белсенді, клетка саны $2,9 \times 10^7$ КТБ/г құрады. Тәжірибе соңында барлық клетка саны $2,4 \times 10^7$ – $4,8 \times 10^7$ КТБ/г шегінде болды (41-сурет). ДДТ қосылған ортада дақылдардың белсенді өсуі штамдардың көміртегінің жалғыз көзі ретінде хлорорганикалық қосылыстарды пайдаланатынын көрсетеді. 41 – суретте ДДТ қосылған ортада микроорганизмдер – деструкторлар дақылдарының өсуі көрсетілген.



Сурет 41 – ДДТ қосылған қатты қоректік ортада деструктор - штамдарының дегидрогеназалық белсенділігі (600X)

44 – суретте көрініп тұрғандай, ДДТ қосылған ортадағы деструктор - штамдарының көлемі 1-2,5 мм беттік колониялар түзеді. ДДТ бар М9 қоректік ортада дақылдар колонияларының өлшемі үлкен болды - 1,8-3 мм құрады. Колониялар дөңгелек, жиегі тегіс және беті тегіс, күңгірт қызыл түсті болды. Колониялардың құрылымы біртекті, барлық штамдар S типті колониялар түзді, кейде шырышты (О) колониялар пайда болды. *Pseudomonas plecoglossicida* K2, *Pseudomonas koreensis* AK1, *Bacillus megaterium* AS1 штамдарында дөңгелек және тегіс, жылтыр колониялар байқалды. ДДТ қосылған М9 қоректік ортасында барлық штамдар колонияларының айналасында әртүрлі түссіздену аймақтары пайда болды.

Зерттеу нәтижелері бойынша М9 синтетикалық қоректік ортасында барлық колониялар қызыл түсті тегіс, жылтыр S пішінді болды. Көміртектің жалғыз көзі ретінде ДДТ қосылған М9 қоректік ортадағы дақылдар бастапқы ақ – күңгірт түсті қызыл түске өзгертеді, бұл ортада қалпына келтірілген үшфенилформазанның (ТФФ) түзілуіне байланысты. Ғылыми әдебиеттерде белгілі бір жағдайларда және белгілі бір топырақта микроорганизмдердің әсерінен әртүрлі пестицидтердің өзгеруіне көптеген мысалдар келтірілген. Мысалы, хлорорганикалық препараттар (ДДТ) микрофлораның әсерінен хош иісті сақиналардың ыдырауымен терең деградацияға ұшырайды.

Химиялық ластаушы заттарды деструкторлардың штамдарын зерттеу нәтижесінде микроорганизмдердің *Pseudomonas plecoglossicida* K2, *Bacillus aryabhattai* K3, *Solibacillus isronensis* KS1, *Pseudomonas* sp. KS2, *Bacillus pumilus* B1, *Bacillus amyloliquefaciens* B2, *Bacillus subtilis* AK5, *Pseudomonas koreensis* AK1, *Bacillus megaterium* AS1 және *Bacillus paramycoides* SA1 штамдары тұрақты органикалық қосылыстарды жоюға қабілетті екендігі анықталды, бұл қызғылт колониялардың пайда болуын көрсетті және олардың айналасындағы орта қызарып, қысқартылған трифенилформазанның (ТФФ) түзілуін көрсетеді. Аэробты жағдайда ксенобиотиктердің биодеградациясының бірінші сатысы әртүрлі оксидоредуктазалармен катализделген тотығу метаболизмінің реакциялары болғандықтан, олардың негізгілері дегидрогеназалар, микроорганизмдерде бұл ферменттердің анықталуы дақылдың деструктивті белсенділігін көрсетеді.

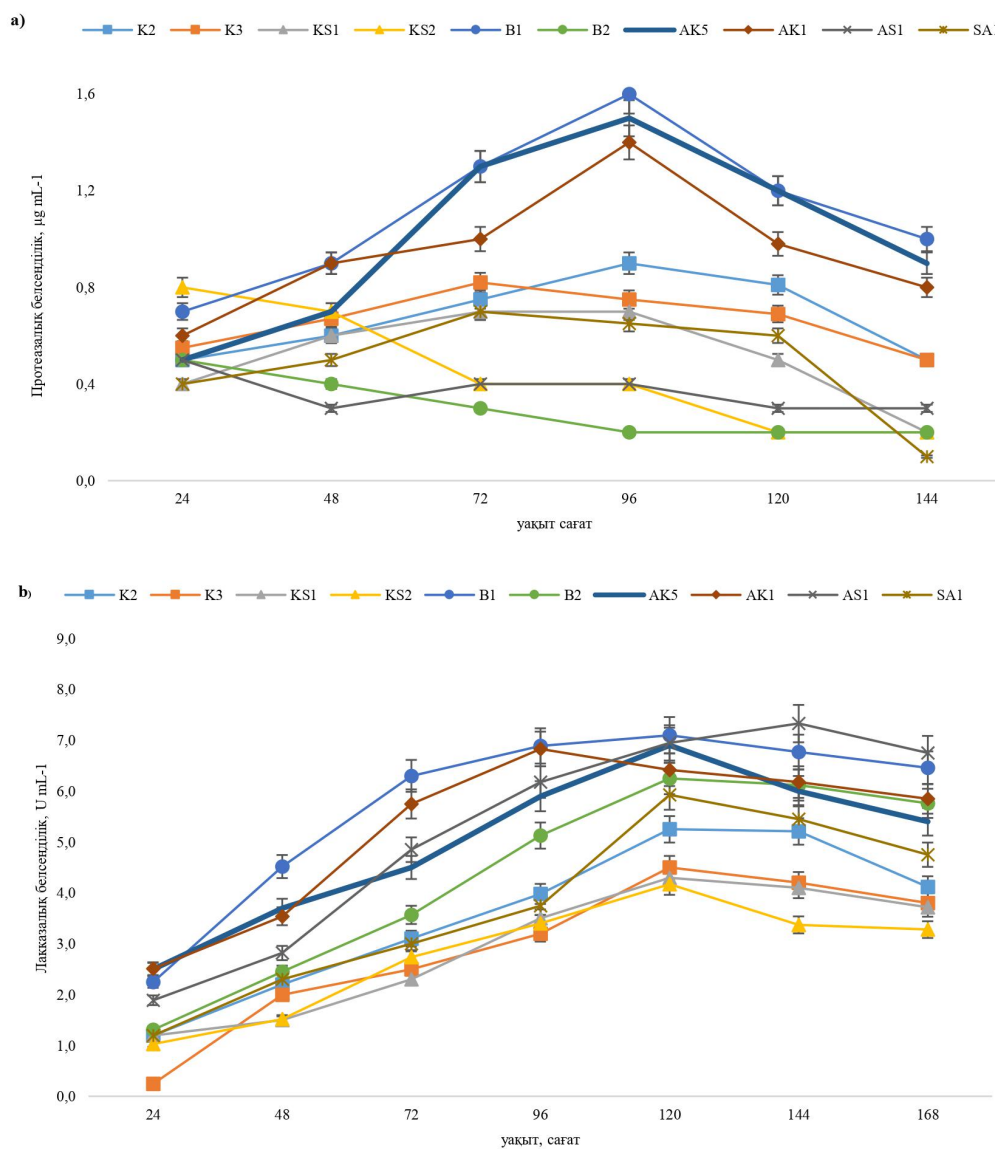
3.4.1 Деструктор – штамдардың ферментативті белсенділігі және белсенді штамдардың скринингі

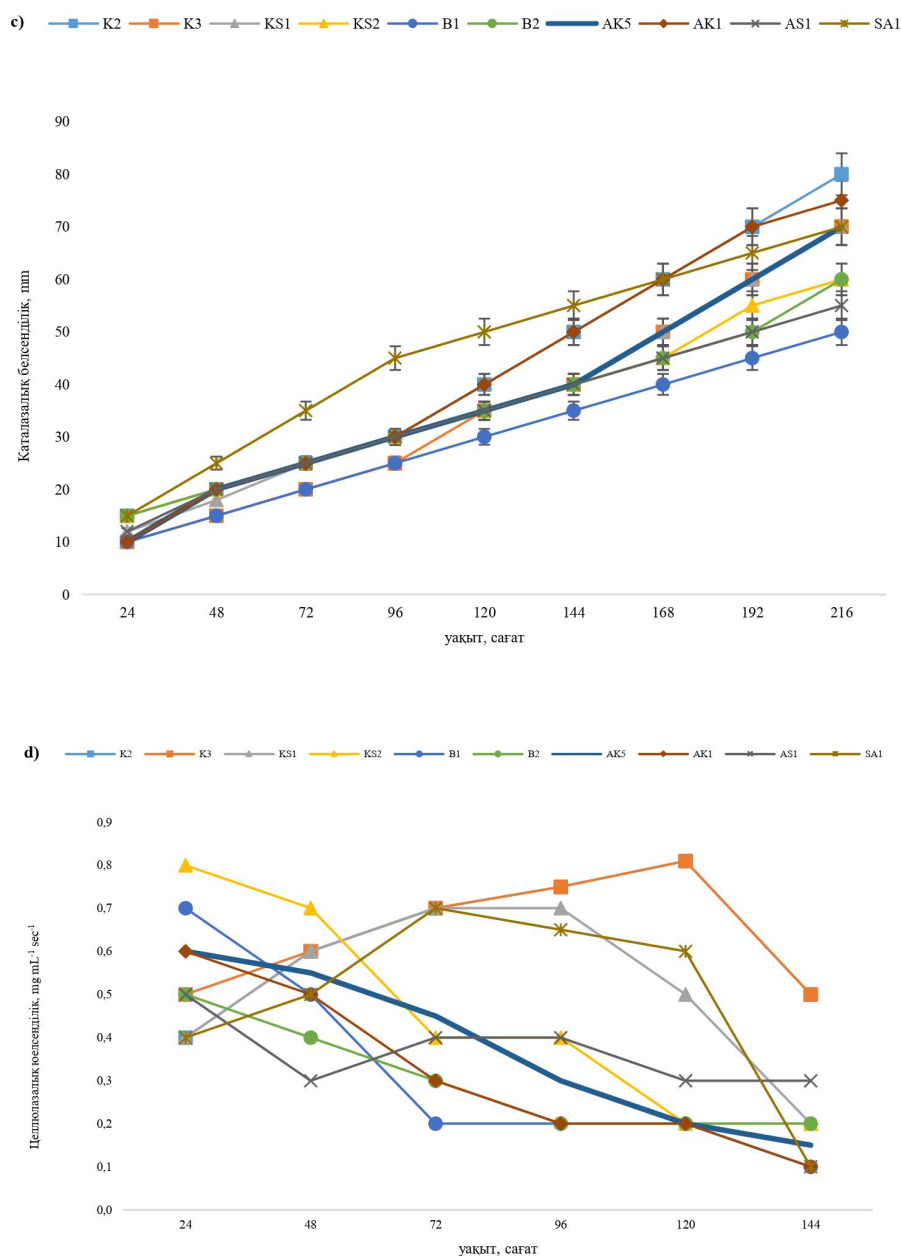
Деструктор – микроорганизмдердің дегидрогеназалық белсенділігімен қатар қосымша ферментативті белсенділігі зерттелді.

Пестицидтерді ыдыратудың физика-химиялық әдістері көбінесе үлкен шығындарды қажет ететіндіктен және токсинді жанама өнімдер түзуі мүмкін болғандықтан, пестицидтерді биоремедиациялаудың тиімдірек және экологиялық таза тәсілдеріне сұраныс артып келеді. Биодеградация, ферменттерге негізделген перспективті процесс болып табылады, оксидоредуктазалар, монооксигеназалар, диоксигеназалар, карбоксилэстеразалар, фосфотриэстеразалар, галогеналкандегалогеназалар және

дегидрохлориназалар, диизопропилфторофосфатаза, параоксоназа және ангидролаза органофосфат қышқылы сияқты ферменттерді атап өтуге болады. Микроорганизмдердің оксидоредуктазалар, дегидрогеназа, лакказа және каталаза ферменттері ТОҚ қатысты деструктивті мүмкіндіктерінде шешуші рөл атқарады.

Деструктор - штамм ретінде анықталған микроорганизмдердің ферментативті белсенділігі спектрофотометриялық әдіспен талданды (Сурет 42).





Сурет 42 – ДДТ қосылған қоректік ортада өсірілген деструктор - штамдардың ферментативті белсенділігі

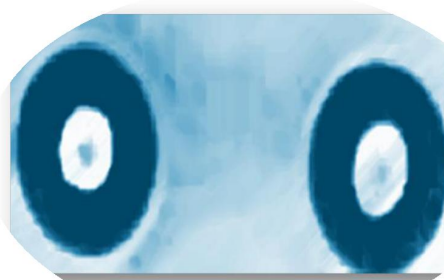
Зерттеу перспективті штамдарға бағытталған. *Pseudomonas plecoglossicida* K2, *Bacillus aryabhattai* K3, *Solibacillus isronensis* KS1, *Pseudomonas* sp. KS2, *Bacillus pumilus* B1, *Bacillus amyloliquefaciens* B2, *Bacillus subtilis* AK5, *Pseudomonas koreensis* AK1, *Bacillus megaterium* AS1 және *Bacillus paramycoides* SA1 деструктор – штамдарының барлығы жоғары ферментативті белсенділікті көрсетті. Бұл штамдар деструктивті қабілетке жауап беретін жоғары ферментативті белсенділікке ие - протеаза, лакказа, каталаза және целлюлоза сияқты ферменттерге негізделген.

Bacillus туысының өкілдері өндірістік маңызы бар бірнеше ферменттерді синтездейтіні белгілі, атап айтқанда амилаза, протеаза, целлюлаза, каталаза және т.б. Біздің зерттеу жұмысымызда *Bacillus* туысының өкілдерімен қатар, *Solibacillus*, *Pseudomonas* туыс өкілдерінің ферментативті белсенділігі зерттелді.

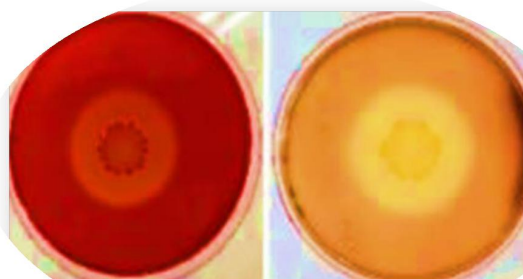
Биоремедиацияда қолданылатын ферменттердің қатарына цитохром Р450, лакказа, гидролаза, дегалогеназа, дегидрогеназа, протеаза, липаза және целлюлозаферменттері жатытыны анықталған. Аталған ферменттер полимерлердің, ароматты көмірсутектердің, галогенді қосылыстардың, бояғыштар мен детергенттердің, агрохимиялық қосылыстардың деградациялауында белсенді болып табылады. Ферменттердің бұндай қасиеттері әртүрлі механизмдерге негізделген: тотығу - тотықсыздану, қайта қалпына келтіру, циклді элиминирлеуші.



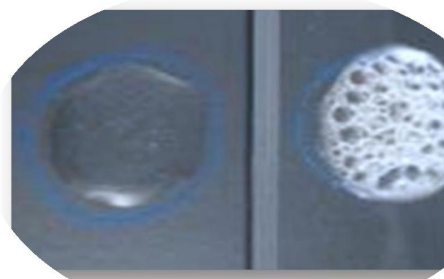
Лакказа



Протеаза



Целлюлоза



Каталаза

Сурет 43 – ДДТ қосылған қоректік ортада өсірілген деструктор - штамдардың сапалық ферментативті белсенділігі

43 – суретте көрсетілгендей, *Pseudomonas plecoglossicida* K2, *Bacillus aryabhatai* K3, *Solibacillus isronensis* KS1, *Pseudomonas* sp. KS2, *Bacillus pumilus* B1, *Bacillus amyloliquefaciens* B2, *Bacillus subtilis* AK5, *Pseudomonas koreensis* AK1, *Bacillus megaterium* AS1 және *Bacillus paramycoides* SA1 деструктор – штамдардың ферментативті белсенділігін зерттеу барысында, лакказа, протеаза, целлюлоза, каталаза ферменттерінің белсенділігі зерттелді. Скрининг жүргізу барысында гидролизденген агарлы ортада еріген азотты қосылыстардың

түзілгені, яғни бактериялардың протеолитикалық белсенділігі өскен колониялардың жанында түссіз аймақтың байқалуымен сипатталады. Карбоксиметилцеллюлоза агар (КМЦ) қоректік ортасында өскен колонияларды йод ерітіндісімен өңдеу нәтижесінде түссіз аймақтың пайда болуы целлюлоза белсенділігін көрсетті. Келесі зерттеу деструктор-штамдарының биосәйкестігіне талдау жүргізу жоспарланады.

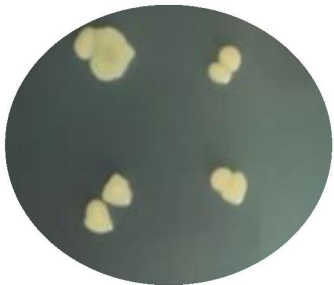
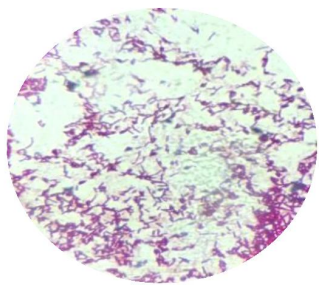
3.5 Перспективті штамм – деструкторлардың биосәйкестігі және микробтық консорциум құру

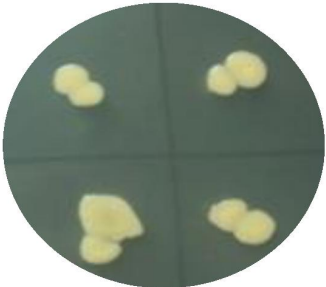
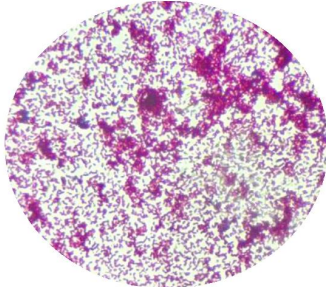
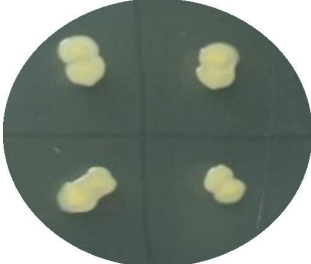
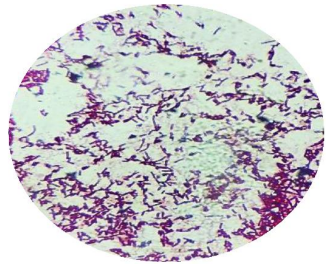
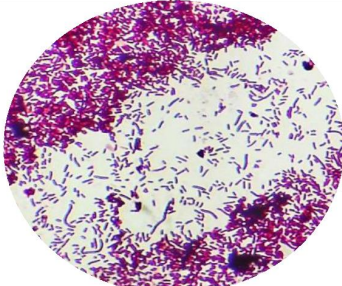
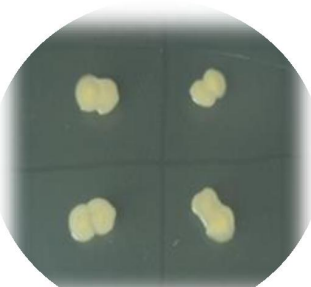
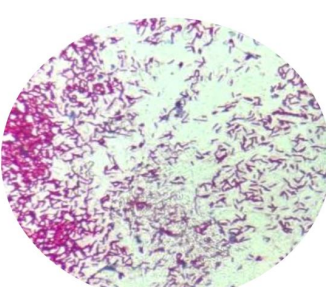
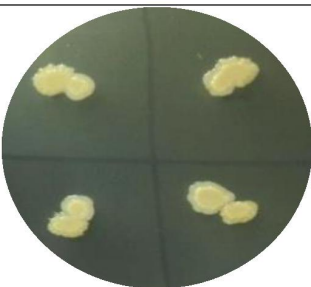
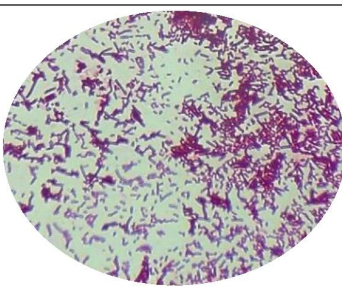
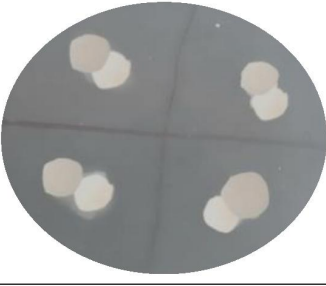
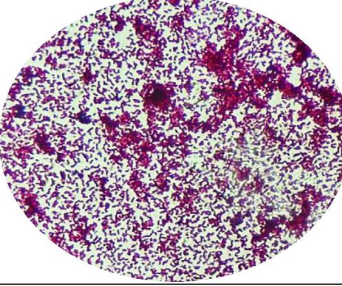
Биодеградация процесінің тиімділігі үшін микробтық қауымдастықтардың жүйелі консорциумдарын қолдану тиімді болып табылады. Қоршаған ортадағы ксенобиотиктердің трансформациясы үшін деструктор – штамдар арасында антагонистік қасиет болмауы қажет.

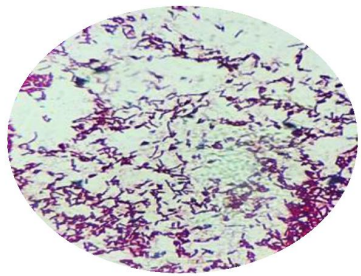
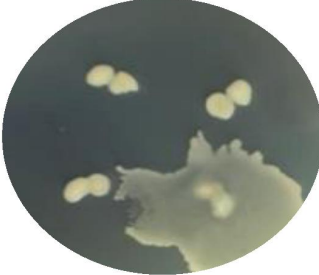
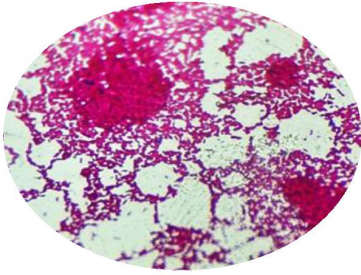
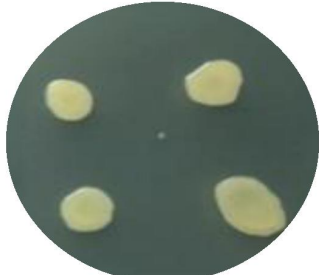
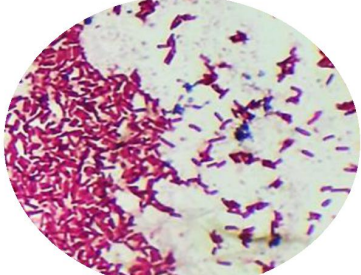
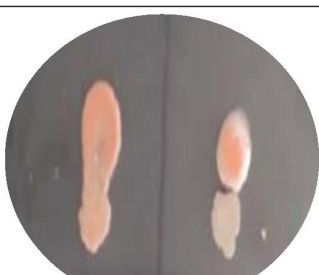
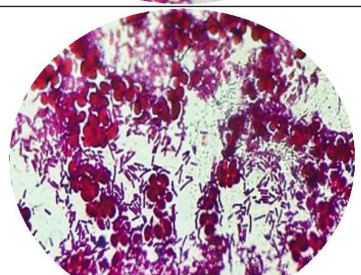
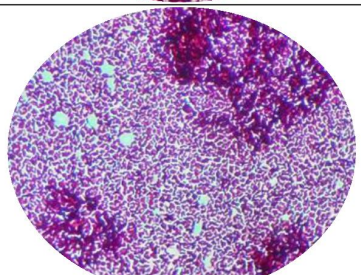
Зерттеу жұмысы барсыныда деструктор – штамдардың биосәйкестігі Глушанов әдісімен зерттелді. Зерттеу нәтижелеріне сәйкес 7 биосәйкес консорциумдар іріктеліп алынды: *Bacillus subtilis* AK5 – *Pseudomonas koreensis* AK1, *Pseudomonas plecoglossicida* K2 – *Bacillus pumilus* B1, *Bacillus aryabhattai* K3 – *Bacillus amyloliquefaciens* B2, *Bacillus paramycoides* SA1 – *Pseudomonas koreensis* AK1, *Bacillus subtilis* AK5 – *Pseudomonas plecoglossicida* K2, *Solibacillus isronensis* KS1 – *Pseudomonas* sp. KS2, *Bacillus paramycoides* SA1 – *Bacillus subtilis* AK5.

Жоғарыда көрсетілген штамдардың бір – біріне антагонистік қасиеттері анықталмады, бұл штамдардың биосәйкес екендігін және биоремедиация процесі үшін консорциум негізіндегі биопрепараттарды қолдану тиімділігін арттыруға болады. Зерттеу жұмысының нәтижесінде 191 комбинациядан 55 биосәйкестік анықталып, ең белсенді 7 консорциум таңдалып алынды. Зерттеу нәтижелері 5 кестеде көрсетілген.

Кесте 7 – Перспективті ТОҚ ыдыратуға қабілетті деструктор – штамдардың биосәйкестігі

№	Штамдар	Қоректік ортада өсуі	Клетка морфологиясы 600X
1	2	3	4
1	<i>Bacillus subtilis</i> AK5 – <i>Pseudomonas koreensis</i> AK1		

2	<i>Pseudomonas plecoglossicida</i> K2 – <i>Bacillus pumilus</i> B1		
3	<i>Bacillus aryabhattai</i> K3 – <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> B2		
4	<i>Bacillus paramycoides</i> SA1 – <i>Pseudomonas koreensis</i> AK1		
5	<i>Bacillus subtilis</i> AK5 – <i>Pseudomonas plecoglossicida</i> K2		
6	<i>Solibacillus isronensis</i> KS1 – <i>Pseudomonas</i> sp. KS2		
7	<i>Bacillus paramycoides</i> SA1 – <i>Bacillus subtilis</i> AK5		

8	<i>Bacillus megaterium</i> AS1- <i>Solibacillus isronensis</i> KS1		
9	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> AK3- <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> B2		
10	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> AK3- <i>Cutaneotrichosporon moniliiforme</i> BR4		
11	<i>Bacillus pumilus</i> SB1- <i>Rhodotorula glutinis</i> B5		
12	<i>Bacillus paramycoides</i> SA1- <i>Rhodotorula glutinis</i> B5		

Деструктор – штамдар арасындағы антагонистік қасиетті бағалау колониялар айналасындағы тежелу аймағының диаметрін өлшеу арқылы жүргізілді. Зерттеу нәтижелері бойынша *Bacillus megaterium* AS1-*Solibacillus isronensis* KS1, *Bacillus amyloliquefaciens* AK3-*Bacillus amyloliquefaciens* B2, *Bacillus amyloliquefaciens* AK3-*Cutaneotrichosporon moniliiforme* BR4, *Bacillus pumilus* SB1-*Rhodotorula glutinis* B5, *Bacillus paramycoides* SA1-*Rhodotorula glutinis* B5 штамдары бір – біріне антагонистік қасиет көрсетті, яғни симбиозды

тіршілік ете алмайды, ал *Bacillus subtilis* AK5 – *Pseudomonas koreensis* AK1, *Pseudomonas plecoglossicida* K2 – *Bacillus pumilus* B1, *Bacillus aryabhattai* K3 – *Bacillus amyloliquefaciens* B2, *Bacillus paramycoides* SA1 – *Pseudomonas koreensis* AK1, *Bacillus subtilis* AK5 – *Pseudomonas plecoglossicida* K2, *Solibacillus isronensis* KS1 – *Pseudomonas sp.* KS2, *Bacillus paramycoides* SA1 – *Bacillus subtilis* AK5 деструктор - штамдары арасында антагонисттік қасиет болмайтыны анықталды және бактериялық консорциумдар құрастырылды. Бұл штамдарда бір-біріне қатысты тежеу қасиеттерінің болмауы олардың бірлесе симбиозды тіршілік ететінін көрсетеді. Биосәйкестік биоремедиация немесе биодеградация процесі үшін консорциум негізінде биопрепараттар пайдаланудың перспективті факторлары болып табылады.

Морфологиялық-культуралдық қасиеттері бойынша биосәйкес штамдар грам оң және грам теріс, клетка пішіндері сопақша, кокка және таяқша тәрізді болып келеді. Қатты қоректік ортаның бетінде екі дақыл бірлесіп өскені, штамдардың биосәйкес екенін көрсетеді. Өсіп шыққан дақылдардың пішіні домалақ, біртекті және шеттері тегіс және кедір-бұдырлы, ақшыл түсті жылтыр колониялар. Келесі зерттеу жұмысы барысында биосәйкес штамдардың морфологиялық-культуралдық қасиеттері зерттеліп, перспективті штамдар молекулалық-генетикалық әдіс негізінде түрге дейін идентификацияланды. Келесі бөлімде молекулалық – генетикалық әдіс негізінде түрге дейін идентификацияланған перспективті деструктор – микроорганизмдердің, тұрақты органикалық қосылыстарды ыдырату белсенділігі газды – сұйықтықты хроматография әдісімен анықталды.

3.5.1 Деструктор – штамдардың хлорорганикалық пестицидтерді ыдырату белсенділігі

Масс-спектрометриялық детекторы бар газды – сұйық хроматография әдісімен хлорорганикалық пестицидтерді анықтау

Соңғы бірнеше онжылдықта қоршаған ортадағы хлорорганикалық пестицидтердің мөлшеріне анализ жүргізу және олардың қоршаған ортаға соның ішінде биологиялық объектілерге әсерін бағаулауға көңіл бөлінуде.

Сынамалар ҚазҰАУ Қазақстан-Жапон инновациялық орталығының Тамақ және экологиялық қауіпсіздік зертханасында хлорорганикалық пестицидтердің құрамы масс-спектрометриялық детекторы бар газды- хроматография әдісі арқылы зерттелінді. Зерттеу жұмысында көміртегінің жалғыз көзі ретінде хлорорганикалық пестицидтердің 5 түрі (ДДТ, ДДЭ, αГХЦГ, β ГХЦГ, μГХЦГ) қосылған М9 синтетикалық қоректік ортасы пайдаланылды.

Зерттеудің келесі кезеңінде хроматографқа жіберілетін градуирлинген ерітіндіні дайындау үшін *Bacillus aryabhattai* K3 моно штамы, *Pseudomonas plecoglossicida* K2 +*Bacillus aryabhattai* K3, *Bacillus pumilus* B1+*Bacillus amyloliquefaciens* B2 штамдарының консорциумы бар колбаға гексан алканы құйылды. Пестицидтер 10-15 мл гександа ерітілді. Сыйымдылығы 100 мл колбаға стерильді пипеткамен 1 мл ерітінді алынды. Сұйық ортадағы штамдардың пестицидтермен қаншалықты қоректенгенін анықтау үшін

хроматографиялық анализге сынамалар дайындалды. Гексан мен М9 қоректік ортасының тығыздықтары әртүрлі болғандықтан, екі сұйықтық бір бірімен араласпады. Күкірт қышқылы арқылы органикалық қосылыстарды жойып, экстракция жүргізілді. Қышқыл ортаны бейтараптандыру үшін алдымен калий гидрокарбонаты, кейін дистильденген су қолданылды. рН мәні 5-ке жеткенде тек пестицидтері бар гексан қажетті мөлшерде алынып, қажет емес суспензия төгілді. Келесі кезеңде гександы қайнатып, 70°C температурада буландыру процесі жүрді. Ваккумдық сорғы арқылы процесс жылдамдатылды. Пестицидтері бар сынамадан микрошприц көмегімен 1 мкл сұйықтық алынып, хроматограф жабдығына жіберілді.

1,4,6-тәуліктерде α -ГХЦГ, β -ГХЦГ, γ -ГХЦГ, ДДТ, ДДЭ хлорорганикалық пестицидтерінің ыдырау дәрежесі келесі кезеңдегі хроматограммалар арқылы зерттелді. Газды хроматография әдісі-қоршаған орта объектілеріндегі ХОП анықтаудың ең көп кең таралған әдістердің бірі. Зерттеу нәтижесі төменгі 8 кестеде көрсетілген.

Кесте 8 – *Bacillus aryabhattai* K3, *Pseudomonas plecoglossicida* K2 +*Bacillus aryabhattai* K3 штамдарының ДДТ, ДДЭ, α -ГХЦГ, β -ГХЦГ, γ -ГХЦГ изомерлерлері бар пестицидтерді ыдырату белсенділіктері

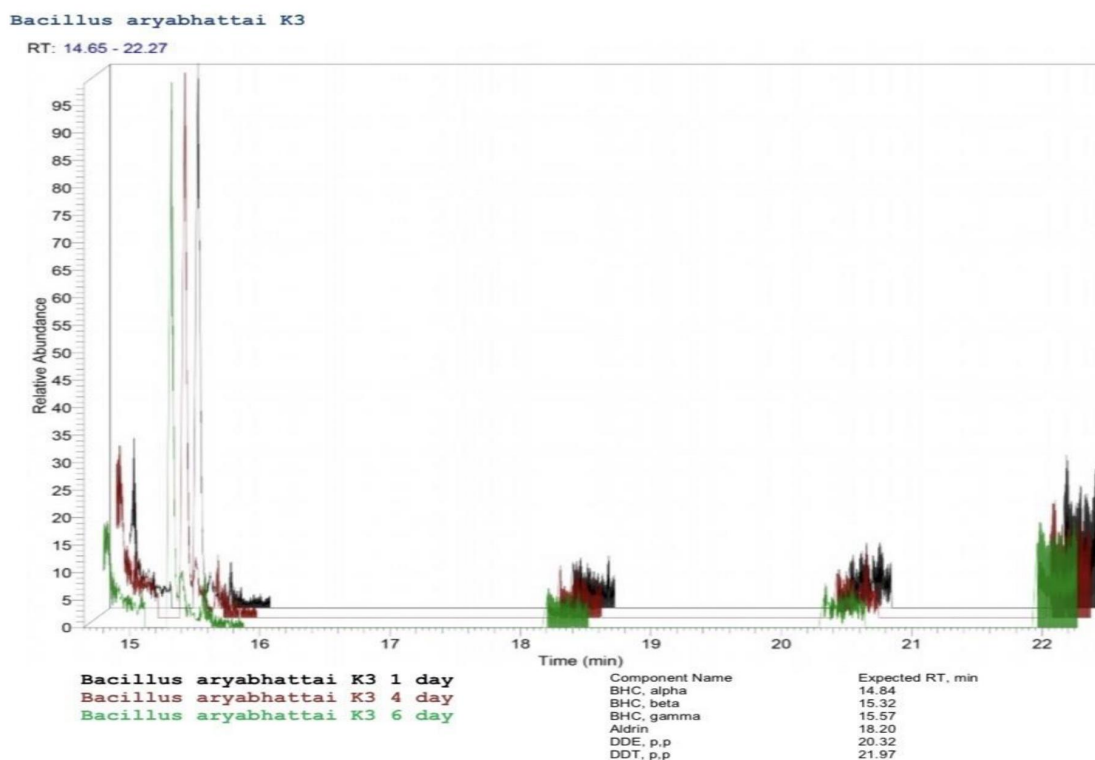
ГХЦГ α -изомерлер			
Үлгілер	Талдау күні	Сынақ нәтижелері бойынша нақты мәндер, мкг / мл	Ыдырату белсенділігі %
Бақылау	1 тәулік	1,227	0
	4 тәулік	1,201	2,12
	6 тәулік	1,240	1,06
<i>Bacillus aryabhattai</i> K3	1 тәулік	0,694	0
	4 тәулік	0,645	7,06
	6 тәулік	0,598	13,83
<i>Pseudomonas plecoglossicida</i> K2 + <i>Bacillus aryabhattai</i> K3	1 тәулік	0,820	0
	4 тәулік	0,794	3,17
	6 тәулік	0,747	8,90
<i>Bacillus pumilus</i> B1 + <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> B2	1 тәулік	2,803	0
	4 тәулік	1,232	56,09
	6 тәулік	0,742	73
ГХЦГ β -изомерлер			
Үлгілер	Талдау күні	Сынақ нәтижелері бойынша нақты мәндер, мкг/мл	Ыдырату белсенділігі %
Бақылау	1 тәулік	1,709	0
	4 тәулік	1,679	-1,76
	6 тәулік	1,630	-4,62
<i>Bacillus aryabhattai</i> K3	1 тәулік	1,027	0
	4 тәулік	0,922	-10,22

	6 тәулік	0,763	-25,71
<i>Pseudomonas plecoglossicida</i> K2 + <i>Bacillus aryabhatai</i> K3	1 тәулік	1,516	0
	4 тәулік	1,437	-5,21
	6 тәулік	1,275	-15,90
<i>Bacillus pumilus</i> B1+ <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> B2	1 тәулік	0,828	0
	4 тәулік	0,463	-44,1
	6 тәулік	0,294	-64,4
ГХЦГ γ-изомерлер			
Үлгілер	Талдау күні	Сынақ нәтижелері бойынша нақты мәндер, мкг / мл	Ыдырату белсенділігі %
Бақылау	1 тәулік	1,172	0
	4 тәулік	1,043	-11,01
	6 тәулік	1,148	-2,05
<i>Bacillus aryabhatai</i> K3	1 тәулік	1,006	0
	4 тәулік	0,826	-17,89
	6 тәулік	0,878	-12,72
<i>Pseudomonas plecoglossicida</i> K2 + <i>Bacillus aryabhatai</i> K3	1 тәулік	1,177	0
	4 тәулік	1,058	-10,11
	6 тәулік	0,802	-68,86
<i>Bacillus pumilus</i> B1+ <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> B2	1 тәулік	1,035	0
	4 тәулік	0,543	-48,3
	6 тәулік	0,282	-73,2
4,4-ДДТ			
Үлгілер	Талдау күні	Сынақ нәтижелері бойынша нақты мәндер, мкг / мл	Ыдырату белсенділігі %
Бақылау	1 тәулік	5,617	0
	4 тәулік	5,872	4,54
	6 тәулік	5,646	0,52
<i>Bacillus aryabhatai</i> K3	1 тәулік	7,148	0
	4 тәулік	5,776	-19,19
	6 тәулік	3,203	-55,19
<i>Pseudomonas plecoglossicida</i> K2 + <i>Bacillus aryabhatai</i> K3	1 тәулік	5,767	0
	4 тәулік	4,619	-19,91
	6 тәулік	2,864	-50,34
<i>Bacillus pumilus</i> B1+ <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> B2	1 тәулік	1,802	0
	4 тәулік	0,799	-56,3
	6 тәулік	0,514	-72,3
4,4-ДДЭ			

Үлгілер	Талдау күні	Сынақ нәтижелері бойынша нақты мәндер, мкг / мл	Ыдырату белсенділігі %
Бақылау	1 тәулік	3,007	0
	4 тәулік	2,910	-3,23
	6 тәулік	2,956	-1,70
<i>Bacillus aryabhattai</i> K3	1 тәулік	2,283	0
	4 тәулік	2,003	-12,26
	6 тәулік	1,203	-47,31
<i>Pseudomonas plecoglossicida</i> K2 + <i>Bacillus aryabhattai</i> K3	1 тәулік	3,498	0
	4 тәулік	2,444	-30,13
	6 тәулік	1,646	-52,94
<i>Bacillus pumilus</i> B1 + <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> B2	1 тәулік	0,442	0
	4 тәулік	0,158	-64,2
	6 тәулік	0,098	-77,8

8 – кестеде көрсетілгендей, *Bacillus aryabhattai* K3 штамдарының α , β , γ - ГХЦГ ыдырату белсенділіктері 1-тәулікте ешқандай өзгеріс байқалмаған, ал 6-тәулікте жоғары болғандығы байқалды. α –ГХЦГ бойынша пайыздық көрсеткіші – 13,83%, β –ГХЦГ бойынша- 25,71%, γ –изомерлі ГХЦГ бойынша- 12,72 % құрады. *Bacillus aryabhattai* K3 ДДТ ыдыратуының ең жоғарғы пайыздық көрсеткіші 6-тәулікте 55,19% тең болды. Ал 1-ші тәулікте ешқандай өзгеріс байқалмады. ДДЭ ыдыратуының ең жоғарғы пайыздық көрсеткіші 6-тәулікте 47,31% тең болды. Хроматография нәтижелеріне сәйкес *Bacillus pumilus* B1 + *Bacillus amyloliquefaciens* B2 штамдарының консорциумының пестицидтерді ыдырату көрсеткіштерінің жоғары екені анықталды. 1 тәуліктен соң α -ГХЦГ 2,803 мкг/мл, ДДД 1,910 мкг/мл, ДДТ 1,802 мкг/мл болды. 4-тәулікте α -ГХЦГ 1,232 мкг/мл, ДДД 0,809 мкг/мл, 6-тәулікте α -ГХЦГ 0,742 мкг/мл, ДДД 0,518 мкг/мл, ДДТ пестициді 0,514 мкг/мл концентрацияларға дейін азайды. Пайыздық көрсеткіштерге сәйкес, 4-тәулікте α -ГХЦГ 43,9%, β -ГХЦГ 55,9%, γ -ГХЦГ 42,8%, ДДЭ 35,7% , ДДД 42,3%, ДДТ 44,3% ыдырады. 6-тәулікте α -ГХЦГ 60%, β -ГХЦГ 63,4%, γ -ГХЦГ 51,9%, ДДЭ 62,0%, ДДД 64,2%, ДДТ 64,3% ыдырады.

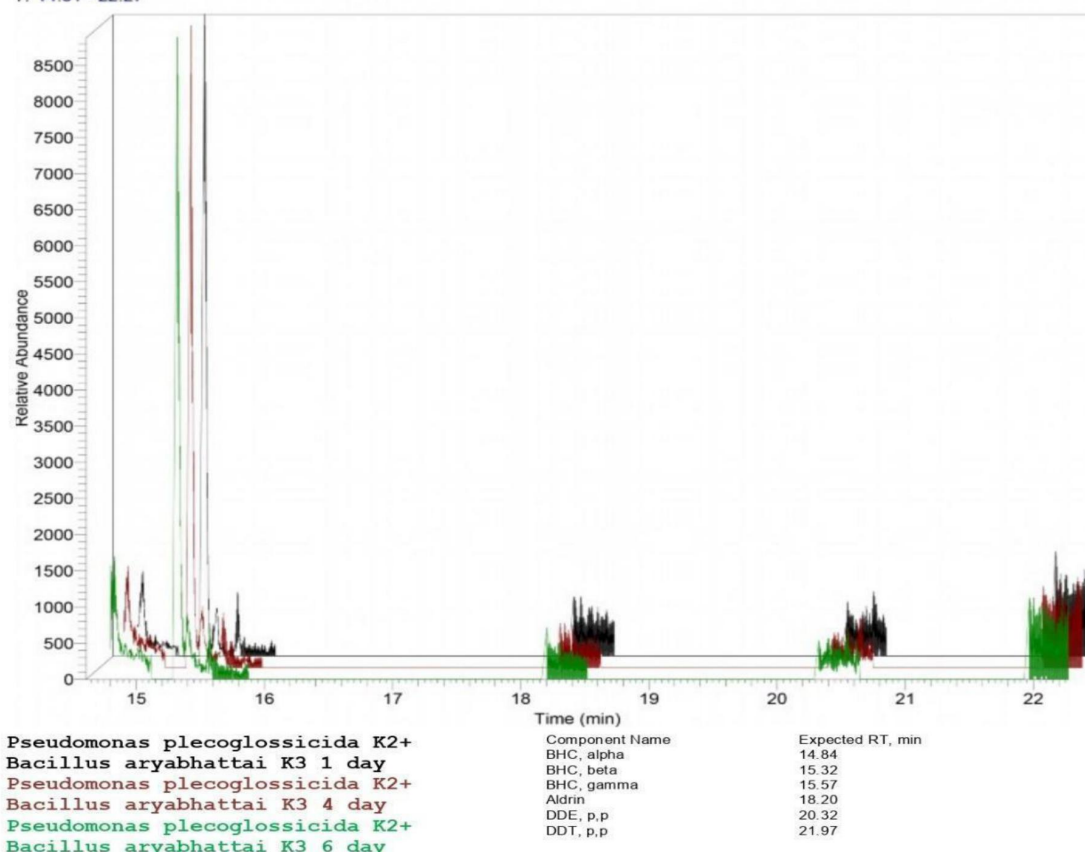
Алынған нәтижелер хроматографиялық спектр негізінде 44-45 суреттерде көрсетілген.



Сурет 44 – Хлорорганикалық пестицидтер және *Bacillus aryabhattai K3* штамдары бар тәжірибе сынамасының хроматография нәтижелері

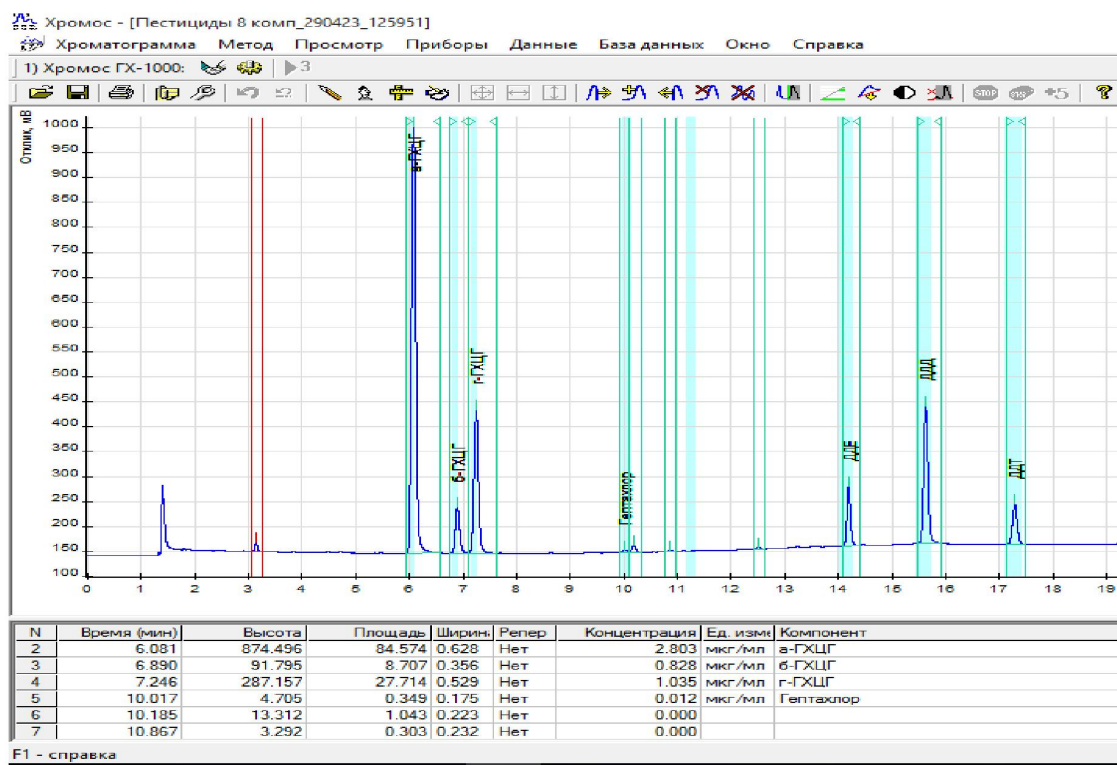
44 – суретте көрсетілгендей *Bacillus aryabhattai K3* штамы 1 -тәулікте қоректік ортаның ішінде ДДЭ қосылған пестицидтің мөлшері 2,283 мкг / мл құраса, ал 6-тәуліктен кейін *Bacillus aryabhattai K3* штамы 1,203 мкг / мл құрады. Нәтижесінде 47 %-ға дейін ыдыратып жіберді. ДДТ қосылған пестицидтің мөлшері 55%-ға ыдыратты. Ал, α –ГХЦГ бойынша пайыздық көрсеткіші – 13,83 %, β –ГХЦГ бойынша- 25,71 %, γ –изомерлі ГХЦГ бойынша- 12,72 % құрады.

T: 14.61 - 22.27

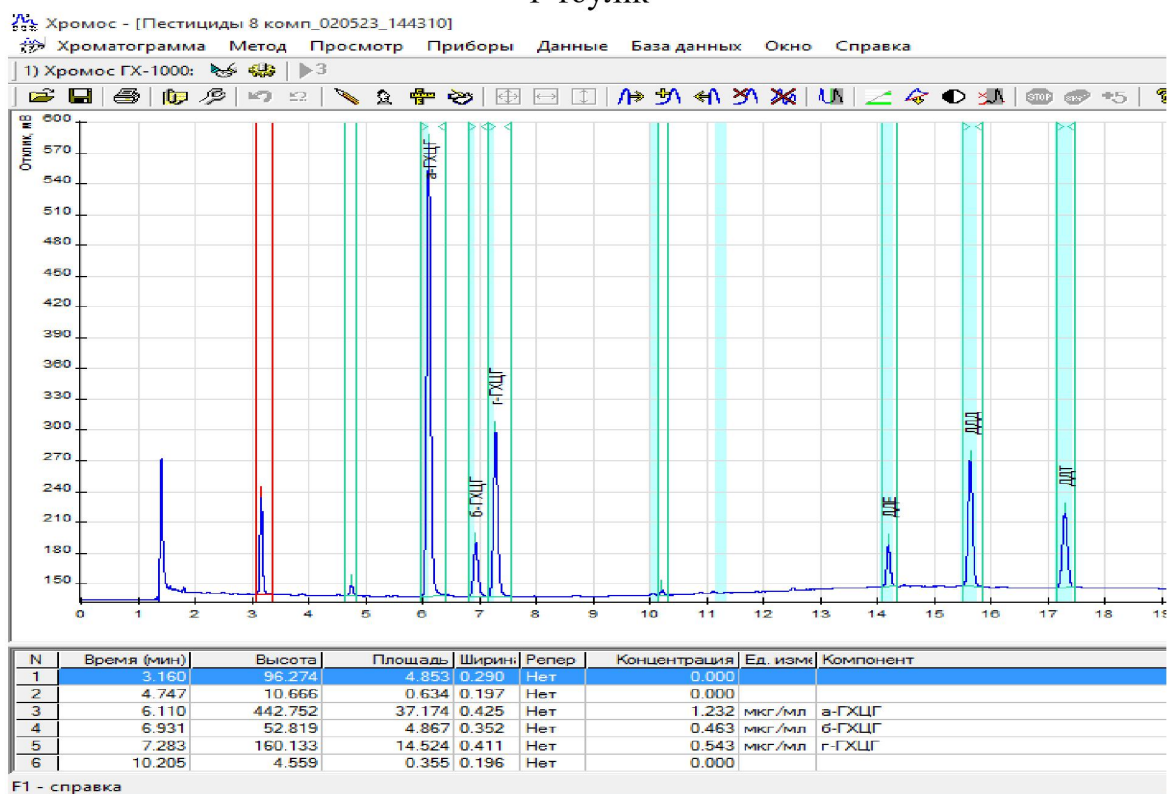


Сурет 45 – Хлорорганикалық пестицидтер және *Pseudomonas plecoglossicida* K2 +*Bacillus aryabhatai* K3 штамдары бар тәжірибе сынамасының хроматография нәтижелері

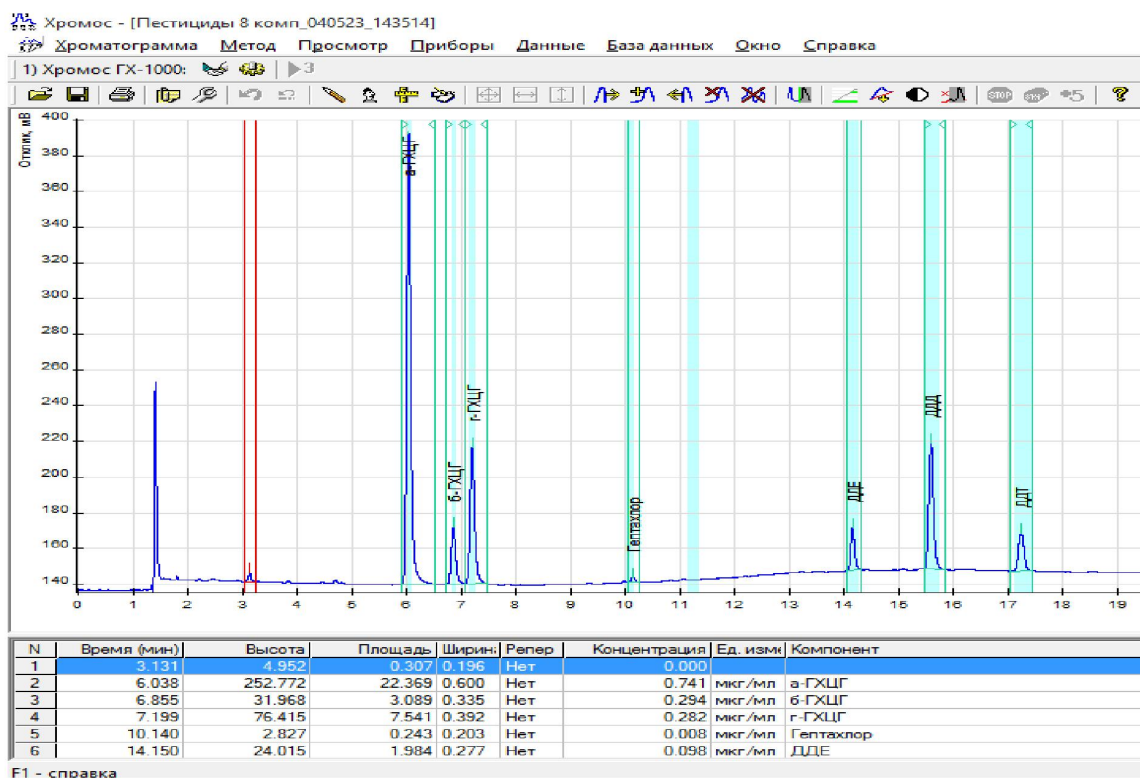
45 – суретте көрсетілгендей *Pseudomonas plecoglossicida* K2 +*Bacillus aryabhatai* K3 консорциум штамдарының ыдырату белсенділігі α –ГХЦГ бойынша пайыздық көрсеткіші – 8,90%, β –ГХЦГ бойынша- 15,90 %, γ – изомерлі ГХЦГ бойынша- 31,86 % құрады. *Pseudomonas plecoglossicida* K2 +*Bacillus aryabhatai* K3 консорциумы 1 -тәулікте қоректік ортаның ішінде ДДЭ қосылған пестицидтің мөлшері 5,767 мкг/мл құраса, ал 6-тәуліктен кейін 2,864 мкг / мл құрады. Нәтижесінде 50,34 %-ға дейін хлорорганикалық пестицидтерді ыдырату белсенділігін көрсетті. 1 -тәулікте ДДТ мөлшері 3,498 мкг/мл құраса, ал 6-тәулікте 1,646 мкг/мл құрады, және пестицидтің мөлшері 52,94%-ға ыдыратуға қабілеттілігі анықталды. Бұл *Pseudomonas plecoglossicida* K2 +*Bacillus aryabhatai* K3 консорциумының ферментативті белсенділігі және консорциумның тиімділігімен сипатталады.



1-тәулік



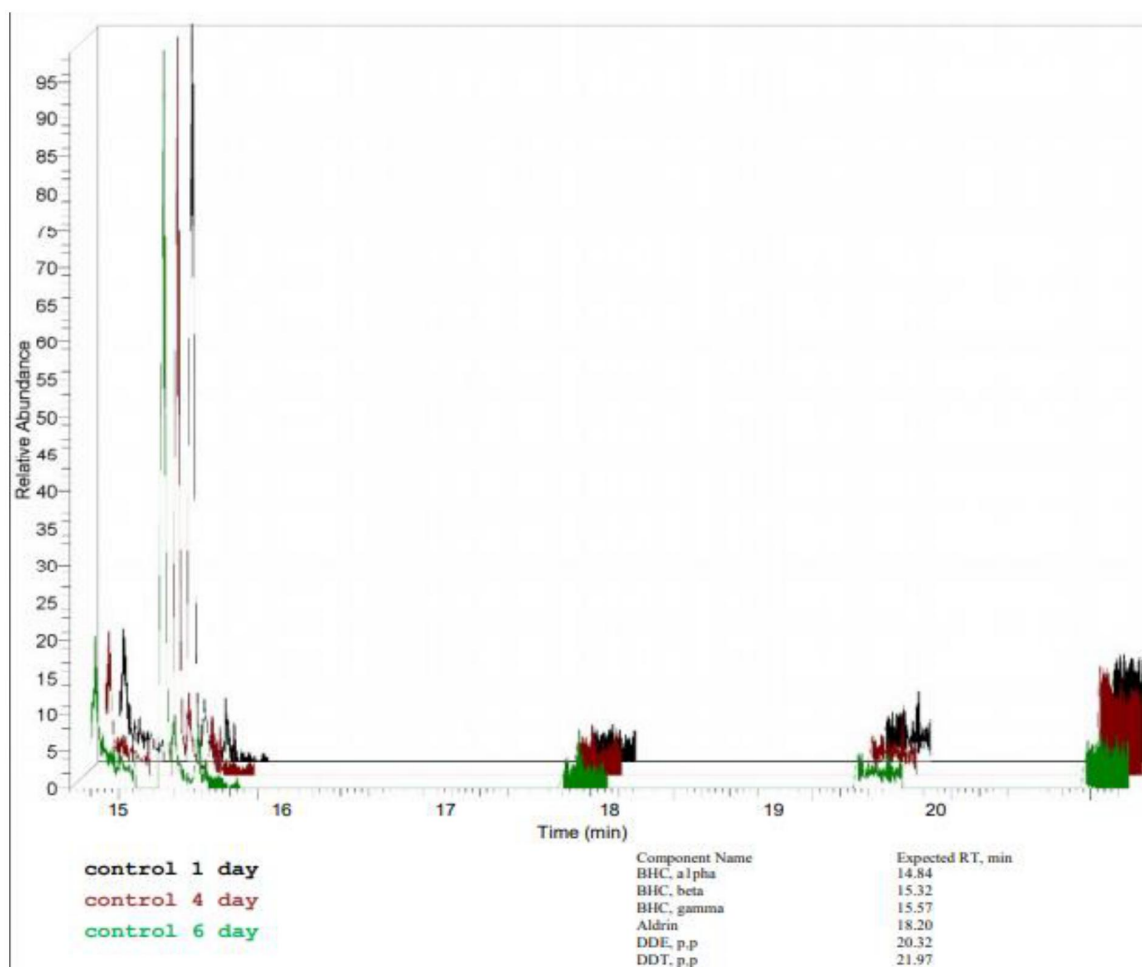
4-тәулік



6-тәулік

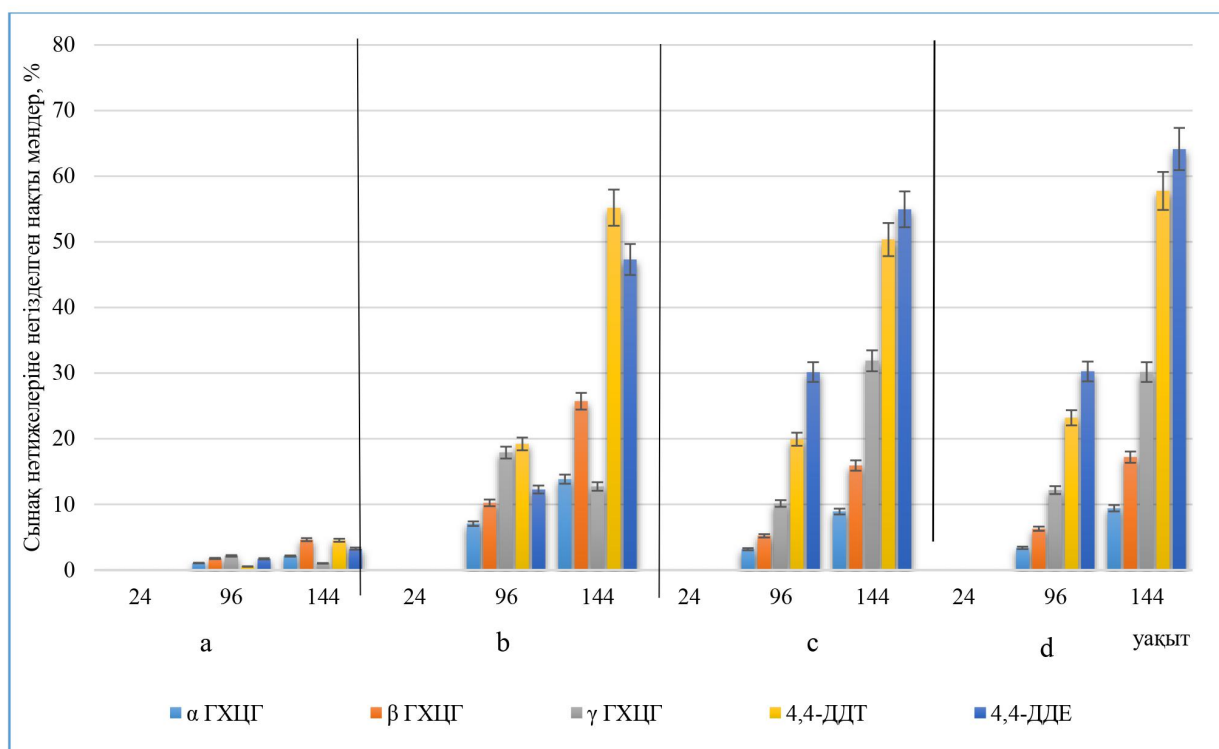
Сурет 46 – Хлорорганикалық пестицидтер және *Bacillus pumilus* B1 + *Bacillus atyloliquefaciens* B2 штамдары бар тәжірибе сынамаcының хроматография нәтижелері

46 – суретте көрсетілген хроматография диаметрі 0.5 мм, ұзындығы 30 мм ValcoBond VB-5 колонкаларында жүргізілді. 1-тәулікте 38 минут жүргізілген жұмыс барысында α-ГХЦГ, β-ГХЦГ, γ-ГХЦГ пестицидтері детектордың 250-450 мВ мәнінде 6-7 минутта көрінді. ДДЭ, ДДД, ДДТ пестицидтері 119.1-81.2 мВ-та 14-17 минутта анықталды. 4-тәулікте сәйкесінше 442.7-160.1 мВ детектор кернеуінде α-ГХЦГ, β-ГХЦГ, γ-ГХЦГ пестицидтері 6;6;7 минуттарда, ДДЭ, ДДД, ДДТ пестицидтері 14;15;17 минуттарда 41.3-72.8 мВ кернеуде анықталды. 6-тәулікте α-ГХЦГ, β-ГХЦГ, γ-ГХЦГ пестицидтері детектордың 252.7- 76.4 мВ мәнінде 6 минутта, ал ДДЭ, ДДД, ДДТ пестицидтері 24.0-21.2 мВ көрсеткіште 14 минутта көрінді.



Сурет 47 – Хлорорганикалық пестицидтер бар бақылау сынамасының хроматография нәтижелері

47 – суретте көрсетілгендей бақылау сынамасының нәтижесі бойынша *Bacillus aryabhatai* K3 және *Pseudomonas plecoglossicida* K2 + *Bacillus aryabhatai* K3 консорциум штамдары бар тәжірибе сынамаларымен салыстарғанда нәтижелері өзгеріссіз екендігі байқалады. Перспективті деструктивті штамдардың моно және консорциумының деструктивті белсенділігі 48-суретте көрсетілген.



Сурет 48 – Перспективті моно және консорциум штамдарының деструктивті белсенділігі (a – бақылау, b – *Bacillus aryabhattai* K3, c – *Pseudomonas plecoglossicida* K2 + *Bacillus aryabhattai* K3, d – *Bacillus pumilus* B1 + *Bacillus amyloliquefaciens* B2)

48 – суретте көрсетілгендей зерттеу нәтижесі бойынша перспективті штамдардың деструктивтік белсенділіктерінің пайыздық көрсеткіштері анықталды. *Pseudomonas plecoglossicida* K2 + *Bacillus aryabhattai* K3 30-55 % және *Bacillus pumilus* B1 + *Bacillus amyloliquefaciens* B2 30-64 % деструктивті бесленділігі анықталды. Аталған консорциумдар тұрақты органикалық қосылыстарды биоремедиациялауда қолдануға ұсынылады.

3.5.2 Модельді тәжірибиелерде штамм – деструкторлардың хлорорганикалық пестицидтерді ыдырату белсенділігі

Қазіргі уақытта пестицидтермен ластанған қоршаған орта объектілерін тазарту, сондай-ақ қоймаларда пестицидтерді көму орындарына іргелес аумақтарда орналасқан тұрақты органикалық қосылыстардың артық мөлшерін деградациялау өзекті мәселелердің бірі болып отыр. Химиялық қосылыстар класы бойынша хлорорганикалық пестицидтер ауылшаруашылығында кеңінен қолданылады. Табиғи жағдайларда пестицидтер ретінде қолданылатын барлық химиялық қосылыстар белгілі бір дәрежеде абиотикалық және биотикалық факторлар мен процестердің әсерінен ыдырауға ұшырайды. Биотикалық факторлардың ішінде бұл процесте жетекші рөлді топырақ микрофлорасы атқарады. Көптеген зерттеулер пестицидтердің ыдырауында топырақ микроорганизмдерінің маңыздылығын атап көрсетеді. Пестицидтердің

микроорганизмдермен ыдырау ұзақтығы қосылыстың химиялық құрамына, микроорганизмдердің түрлеріне, топырақ қасиеттеріне (температура, аэрация және т.б.) байланысты бірнеше күннен бірнеше айға, кейде ондаған жылдарға дейін өзгеруі мүмкін.

Микробиологиялық дезактивация әдістерінің басқа әдістерге қарағанда артықшылығы микроорганизмдердің ферменттік жүйелерінің алуантүрлілігімен және химиялық тұрақты қосылыстардың кең спектрін ыдыратуға мүмкіндік беретін үлкен метаболикалық лабильділігімен түсіндіріледі. Пестицидтерді ыдыратудың ең тиімді жолы монокультураға қарағанда, микроорганизмдердің перспективті штамдары негізінде құрастырылған консорциумын пайдалану болып табылады. Топырақ микроорганизмдерінің консорциумының зат алмасу мүмкіндіктері монокультураларға қарағанда жоғары және алуантүрлі. Консорциум микроорганизмдерінің бірлескен қызметі пестицидтерді толық минералдануға дейін жеткізуге мүмкіндік береді, ал бұл микроорганизмдердің бір түрінің популяциясы үшін әрқашан мүмкін емес.

Индуктор-пестицид мөлшері бастапқы қоспаның 10-100 мг/кг аралығында болуы керектігі тәжірибе жүзінде анықталған. Осылайша, бейімделген дақылдар консорциумын бірлесіп қолдану пестицидтердің ыдырау дәрежесін арттырады және жойылу уақытын қысқартады [267].

Перспективті штамдар негізінде құрастырылған консорциумдар грам-оң және грам-теріс бактерияларды, сондай-ақ метаболикалық белсенділіктің кең ауқымына және жоғары деградация белсенділігіне, қозғалғыш және қозғалмайтын, аэробты және факультативті анаэробты әртүрлі деструктор – штамдарды қамтиды.

Тұрақты органикалық қосылыстардың микроорганизмдер әсерінен деградациялану процесі барысында кейде аралық метаболиттер бастапқы қосылыстарға қарағанда токсинді болуы мүмкін болғандықтан, фитотоксинділігін бағалау штамдардың биоремедиация үшін эффективтілігін бағалауда негізгі көрсеткіш болып табылады.

Деструктор – микроорганизмдерді лабораториялық жағдайда тестілеу үшін бақыланатын тәжірибелерде жаздық бидай дәндерін пайдалану арқылы деструктор штамдарының культуралық сұйықтығымен өңделген тұрақты органикалық қосылыстармен ластанған топырақтардың фитотоксинділігі бағаланды. Тәжірибелік бидай тұқымдары алдын ала тұрақты органикалық қосылыстармен өңделген және бақылау ретінде табиғи жағдайда өнген бидай қолданылады. Тұрақты органикалық қосылыстарды ыдыратуға қабілетті штамм деструкторларының бірнеше комбинациялары таңдалып алынды: монокультура екі немесе үш түрдің комбинациялары, сонымен қатар деструктор штамдарынсыз бақылау үлгісі. тұрақты органикалық қосылыстармен ластанған топырақтағы бидайдың морфометриялық көрсеткіштері: өскіндерінің өнуі және өсу параметрлерін бағалау 7-ші күні жүргізілді. Тәжірибе нәтижелері 9 – кестеде көрсетілген.

Кесте 9 – Тұрақты органикалық ластағыштармен ластанған топырақта бидайдың морфометриялық көрсеткіштері

Топырақ	ДДТ, мг/кг	Штамм	Өнуі, %	Ұзынды ғы/ биіктігі, см	Тамыр ы ның ұзынды ғы, см
Басшы (бақылау)	-	-	98	12.7±0.38	6.7±0.20
Пестицидпен ластанған топырақ үлгісі					
Басшы	10	-	73	10.6±0.32	5.4±0.16
Басшы	100	-	54	8.6±0.25	4.1±0.12
Топырақ+деструктор микроорганизм+пестицид					
Топырақ	10	<i>Bacillus aryabhattai K3</i>	83	15.6±0.46	6.9±0.21
Топырақ	100	<i>Bacillus aryabhattai K3</i>	68	11.6±0.35	4.8±0.14
Топырақ	10	<i>Pseudomonas plecoglossicida K2</i> + <i>Bacillus aryabhattai K3</i>	88	11.9±0.47	5.7±0.17
Топырақ	100	<i>Pseudomonas plecoglossicida K2</i> + <i>Bacillus aryabhattai K3</i>	80	8.6±0.25	3.6±0.11
Топырақ	10	<i>Bacillus pumilus B1</i> + <i>Bacillus</i> <i>amyloliquefaciens B2</i>	94	14.2±0.42	7.5±0.23
Топырақ	100	<i>Bacillus pumilus B1</i> + <i>Bacillus</i> <i>amyloliquefaciens B2</i>	85	12.8±0.38	5.5±0.16
Топырақ+деструктор микроорганизм					
Топырақ Қызылқай рат	-	-	58	10.1±0.32	4.3±0.13
Топырақ	-	<i>Bacillus aryabhattai K3</i>	67	13.3±0.39	5.8±0.17
Топырақ	-	<i>Pseudomonas plecoglossicida K2</i> + <i>Bacillus aryabhattai K3</i>	82	8.9±0.26	3.8±0.11
Топырақ	-	<i>Bacillus pumilus B1</i> + <i>Bacillus</i> <i>amyloliquefaciens B2</i>	84	13.6±0.40	6.2±0.18
Топырақ Бесқайнар	-	-	62	13.0±0.39	5.2±0.15
Топырақ	-	<i>Bacillus aryabhattai K3</i>	80	15.4±0.46	6.8±0.20
Топырақ	-	<i>Pseudomonas plecoglossicida K2</i> + <i>Bacillus aryabhattai K3</i>	78	13.9±0.41	4.7±0.14
Топырақ	-	<i>Bacillus pumilus B1</i> + <i>Bacillus</i> <i>amyloliquefaciens B2</i>	87	14.8±0.44	7.3±0.22

Зерттеудің негізгі бағыты бидай тұқымдарының өну жылдамдығымен көрсетілген хлорорганикалық пестицидтің токсинді әсерін бағалау 9-кесте көрсетілген. Зерттеу барысында Басшы бақылау топырақ үлгілерін хлорорганикалық пестицид қосылмаған және ортада хлорорганикалық пестицид мөлшері 10 мг/кг және 100 мг/кг бар нұсқаларда бидайдың өну белсенділігі

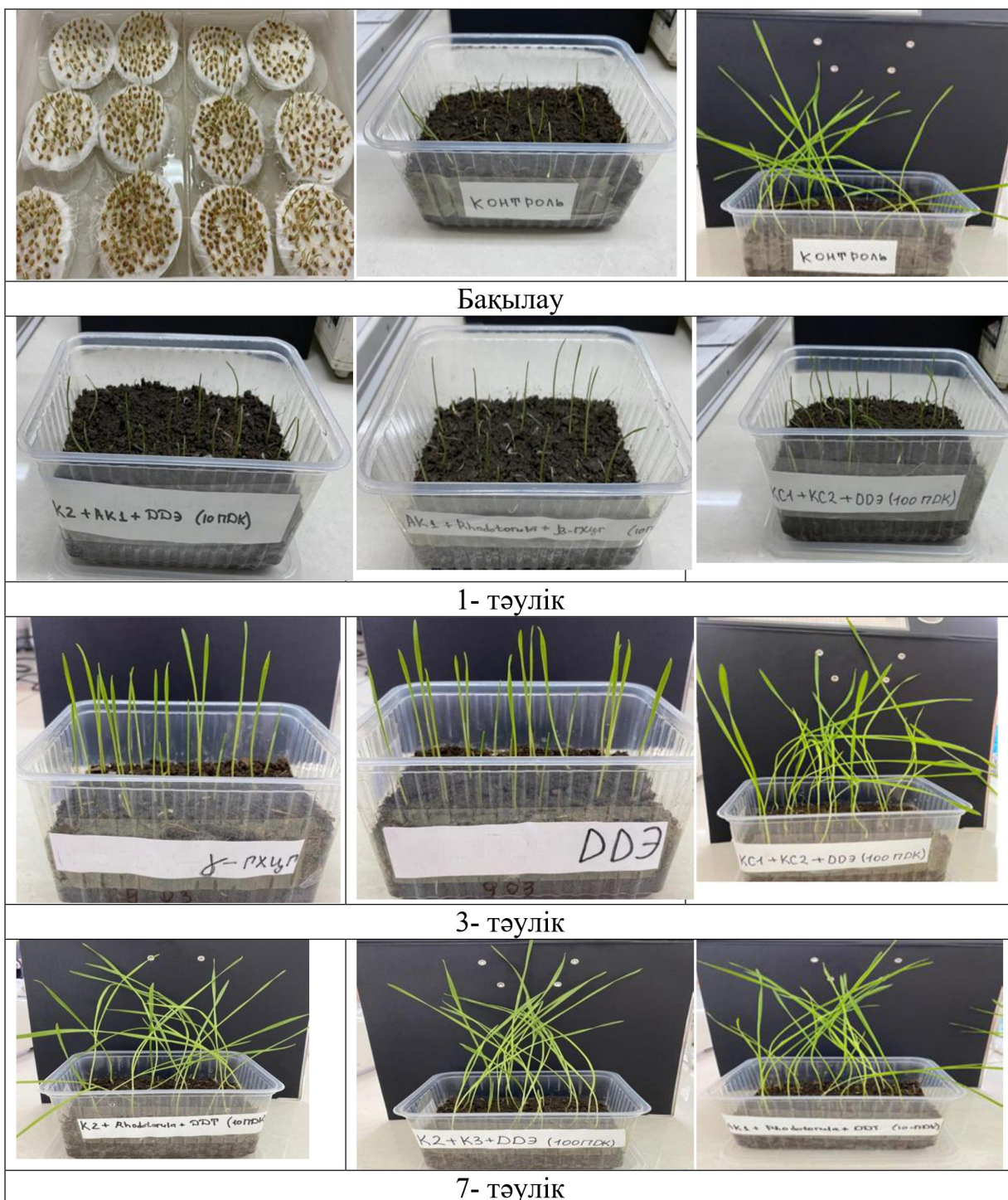
анықталды. Хлорорганикалық пестицид қосылмаған Басшы бақылау топырақ үлгілерінде бидайдың өнгіштігі 98% құраса, бақылау топырақ + 10 мг/кг ДДТ қосылған нұсқаларда бидайдың өнгіштігі 73%, топырақ + 100 мг/кг ДДТ бар нұсқаларда 54% құрады.

Топырақ + моно штамм *Bacillus aryabhatai* K3 + 10 мг/кг ДДТ бар нұсқаларда бидайдың өнуі 83%, ал топырақ+ *Bacillus aryabhatai* K3 + 100 мг/кг ДДТ бар нұсқаларда бидайдың өнуі 68% құрады. Консорциум нұсқаларында бақылау үлгілерімен салыстырғанда, топырақ + *Pseudomonas plecoglossicida* K2 + *Bacillus aryabhatai* K3 + 10 мг/кг ДДТ бар нұсқаларда бидайдың өнуі 93%, ал топырақ+ *Pseudomonas plecoglossicida* K2 + *Bacillus aryabhatai* K3+ 100 мг/кг ДДТ бар нұсқаларда бидайдың өнуі 80% артты. Келесі консорциум нұсқаларында топырақ + *Bacillus pumilus* B1+*Bacillus amyloliquefaciens* B2+ 10 мг/кг ДДТ бар нұсқаларда бидайдың өнуі 94%, ал топырақ+ *Bacillus pumilus* B1+*Bacillus amyloliquefaciens* B2+ 100 мг/кг ДДТ бар нұсқаларда бидайдың өнуі 85% артқаны байқалады.

Қызылқайрат топырақ үлгілерінде бидайдың өнгіштігі 58% құраса, топырақ + *Bacillus aryabhatai* K3 моно штамы бар нұсқаларда 67%, топырақ + *Pseudomonas plecoglossicida* K2 + *Bacillus aryabhatai* K3 консорциум нұсқаларында 72% және топырақ + *Bacillus pumilus* B1+*Bacillus amyloliquefaciens* B2 нұсқаларында 84% артқаны байқалады. Бесқайнар топырақ үлгілерінде бидайдың өнгіштігі 62% құраса, топырақ + *Bacillus aryabhatai* K3 моно штамы бар нұсқаларда 80%, топырақ + *Pseudomonas plecoglossicida* K2 + *Bacillus aryabhatai* K3 консорциум нұсқаларында 78% және *Bacillus pumilus* B1+*Bacillus amyloliquefaciens* B2 консорциум нұсқаларында 87% артты.

Хлорорганикалық пестицидтермен ластанған топырақ үлгілерін модельді тәжірибеде зерттеу нәтижелеріне сәйкес, бақылаумен үлгілерді салыстырғанда бидай тұқымдарының өну белсенділігі моно дақыл *Bacillus aryabhatai* K3 бар нұсқаларда жалпы 67-83% - ға, ал *Pseudomonas plecoglossicida* K2 + *Bacillus aryabhatai* K3 консорциум штамдары бар нұсқаларда 82 – 88%, *Bacillus pumilus* B1+*Bacillus amyloliquefaciens* B2 консорциум нұсқаларында 87 – 94%- ға артқаны байқалады.

Бидай өскіндерінің морфометриялық параметрлеріне бойынша, хлорорганикалық пестицидтермен өңделген нұсқаларда бақылау үлгілерімен салыстырғанда бидайдың өсу көрсеткіштерінің төмендеуі байқалса, деструктор микроорганизм штамдары бар нұсқаларда 28%-ға артқаны, ал консорциум дақылдары бар нұсқаларда тамырдың өсуі 42%-ға артқаны 49 – суретте көрсетілген.



Сурет 49 – Бидайдың микроорганизм консорциумдары мен пестицидтер қатысында өсуі және морфометриялық көрсеткіштері

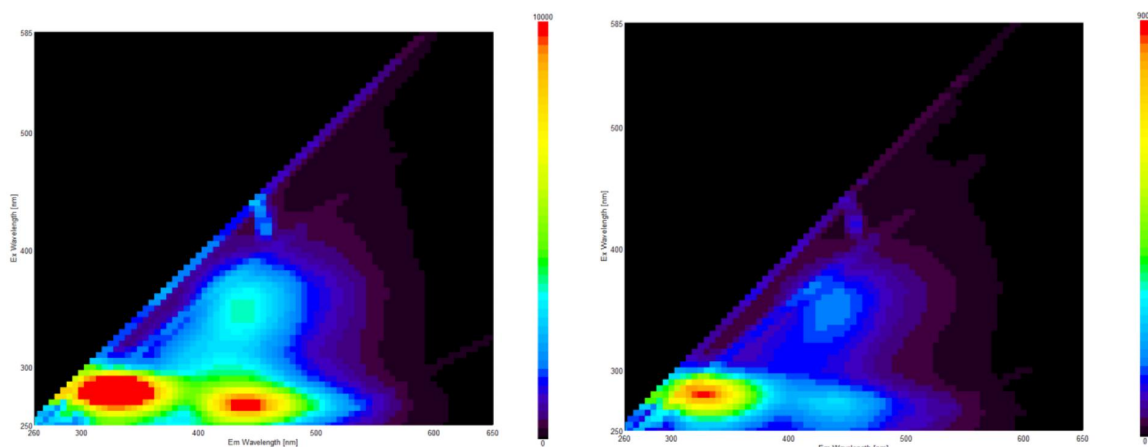
49 – суретте көрсетілген бидай тұқымы 3- күн қажетті жағдайларды ескере отырып өсірілді. Өскен бидай өскіндері микроорганизм консорциумдары және әртүрлі пестицидтердің қатысындағы топыраққа егілді. 7- тәулік соңында бидай өскіндеріне морфометриялық көрсеткіштері анықталды. Есеп бойынша, бақылау

және тәжірибелік өскіндер алынды. 7- тәулікте бидай өскіндерінің ұзындығы- әртүрлі көрсеткішті көрсетті. Ең жоғарғы көрсеткішке ие бидай сабағы - 30 см құрады. Сонымен қатар, бақылаумен салыстырғанда тәжірибиелік бидай өсінділерінің ұзындықтары жоғарғы көрсеткішті көрсетті.

Зерттеу жұмысында сонымен қатар топырақ үлгілеріндегі пестицидтерді ыдырататын деструктор – микроорганизмдердің өсу белсенділігімен бақыланды. Деструктор – микроорганизмдердің болуы мен белсенділігі дақылдың өсу қарқыны мен тіршілікке қабілеттілігімен бағаланды. Тәжірибе барысында деструктор штаммдары тіршілікке қабілеттілігін сақтап, клетка санының артуы байқалды, тәжірибелік нұсқаларда $2,8 \times 10^5$ - $6,0 \times 10^7$ КТБ/г, бақылау үлгілерінде $5,2 \times 10^4$ - $4,4 \times 10^5$ КТБ/г құрады. Бұл микроорганизмдердің ДДТ-ны көміртегінің жалғыз көзі ретінде пайдаланғанын көрсетеді.

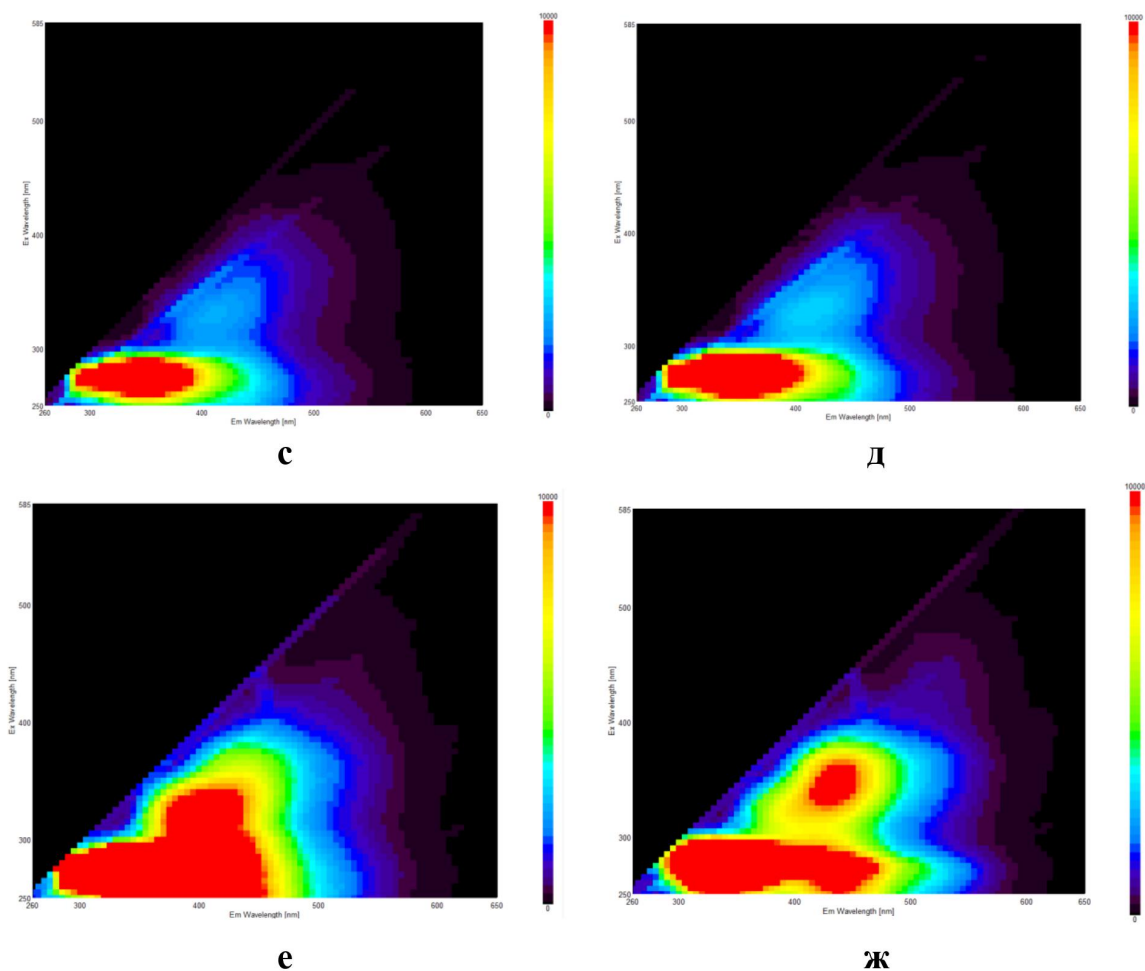
Эксперимент консорциумдағы ДДТ ыдырату қабілеттілігінің ең жоғары тиімділігін көрсетті. *Bacillus aryabhattai* K3 және *Pseudomonas plecoglossicida* K2 +*Bacillus aryabhattai* K3, *Bacillus pumilus* B1+*Bacillus amyloliquefaciens* B2 консорциумдарымен ДДТ деструкциясын растау үшін флуоресценттік-спектрометриялық талдау жүргізілді.

Сонымен қатар, зерттеу осы микроорганизмдер бар ортадағы ДДТ концентрациясының спектрлерін зерттеді. Микроорганизмдерді қосқандағы кез келген спектрлік өзгерістер ДДТ деградациясының көрсеткіші болды. 50 – сурет ДДТ бар үлгілерден алынған 3D ЕЕМ флуоресценция спектрлерін көрсетеді, бұл биодеградация процесі туралы қосымша түсінік береді.



а

б



Сурет 50 –Көміртегінің жалғыз көзі ретінде ДДТ қосылған ортаның 3D EEM флуоресценция спектрлері (а, б – бақылау, *Bacillus aryabhatai* K3, с – ферментацияның 1 тәулік, д – ферментацияның 5 тәулік: *Pseudomonas plecoglossicida* K2 +*Bacillus aryabhatai* K3, е – ферментацияның 1 тәулік, ж – ферментацияның 5 тәулік: консорциум *Bacillus pumilus* B1+*Bacillus amyloliquefaciens* B2)

50 – суреттен көрініп тұрғандай, үлгілердің шығу тегі бойынша А және В шыңдарының орны мен қарқындылығында айтарлықтай айырмашылықтар болды. Осы нәтижелерге сәйкес *Bacillus aryabhatai* K3 1-ші күні III аймақта орналасқан толқын ұзындығы 290/385 нм Ex/Em жұбымен сипатталды. 5-ші күні Ex/Em 295/430 нм болды. Тәжірибелік үлгілерімен салыстыру үшін ДДТ қосылмаған бақылау ортасы қолданылды. Осы нәтижелерге сәйкес бақылау Ex / Em 280/500 нм толқын ұзындығы жұбын көрсетті және 1-ші күні шыңдардың қарқындылығы бірден екі шыңға өсті, яғни бірінші шың Ex / Em 280/370 нм, екінші шыңы Ex / Em 265/470 нм IV және V аймақтармен байланысты. Осы нәтижелерге сәйкес 5-ші күн III аймақта орналасқан толқын ұзындығы 295/380 нм Ex/Em жұбымен сипатталды.

Әрі қарай жұмысымызда *Pseudomonas plecoglossicida* K2, *Bacillus aryabhatai* K3, *Bacillus subtilis* AK5 микроорганизмдері бар ортадағы пестицид концентрациясының спектрлерін зерттедік. Ортаға микроорганизмдер қосылған кезде спектрдегі кез келген өзгерістер пестицидтің деградациялануы ретінде қабылдануы мүмкін.

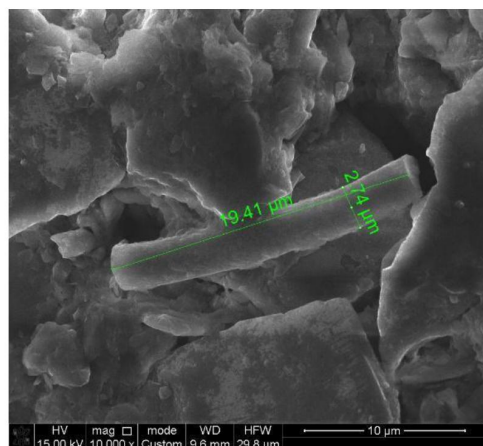
Осы нәтижелерге сәйкес, 1-ші тәулікте *Pseudomonas plecoglossicida* K2 + *Bacillus aryabhatai* K3 клеткалары негізіндегі микроорганизмдер консорциумы III аймақта орналасқан толқын ұзындығы 295/405 нм Ex/Em жұбымен сипатталды. 5-ші тәулікте Ex/Em 300/430 нм болды. Тәжірибелік үлгілерімен салыстыру үшін ДДТ қосылмаған бақылау қолданылды. Осы нәтижелерге сәйкес бақылау Ex / Em 380/500 нм толқын ұзындығы жұбын көрсетті және 1-ші тәулікте шыңдардың қарқындылығы бірден екі шыңға өсті, яғни бірінші шың Ex / Em 380/470 нм. , Ex / Em 365/470 нм екінші шыңы IV және V аймақпен байланысты. Осы нәтижелерге сәйкес 5-ші тәулікте III аймақта орналасқан толқын ұзындығы 395/380 нм Ex/Em жұбымен сипатталды. Алынған спектрограммаларды талдау зерттелетін пестицидтер консорциумның бактериялық штамдарымен жойылуға ұшырайтынын көрсетті.

Пестицидтермен ластанған топырақ үлгілерінен бөлініп алынған *Bacillus aryabhatai* K3, *Pseudomonas plecoglossicida* K2 + *Bacillus aryabhatai* K3, *Bacillus pumilus* B1 + *Bacillus amyloliquefaciens* B2 штамдары негіздегі бактериялық консорциум ДДТ-ға қарсы жоғары деструктивті белсенділікке ие. Ең тиімді биодеструктор штамдарына негізделген бактериялық консорциумды пайдалану тиімді, зерттеу нәтижелеріне сәйкес 5-ші тәулікте топырақта ДДТ ыдырау дәрежесі 86% құрады. Сонымен бірге топырақтағы биодеструктор клеткаларының концентрациясы артып, олардың тіршілікке қабілеттілігі сақталды. Бұл деструктор штамдарын хлорорганикалық пестицидтермен ластанған аймақтарды тазалауға арналған биологиялық препараттарды жасау үшін ұсынуға болады. Хлоорорганикалық пестицидтермен ластанған топырақ үлгілерінің аборигенді микрофлорасы негізіндегі биопрепараттарды пайдалану ластанған жерлерді қайта қалпына келтіруде перспективті жол болып табылады.

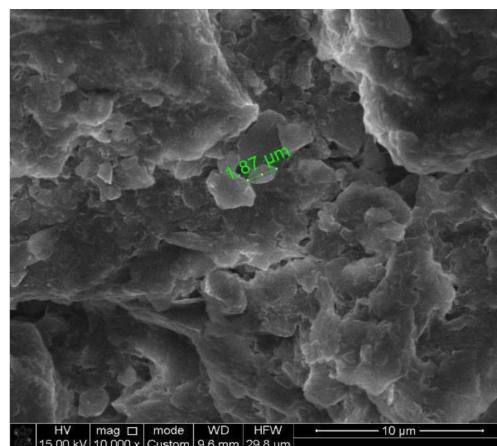
Сканерлік электрондық микроскоп көмегімен деструктор – микроорганизмдердің x 5000, 10 000 есе үлкейтілген кесінділерін алуға болады. Ластанған топырақ үлгілерінің беттік құрылымын толық талдау үшін сканерлеуші электронды микроскопия әдісі қолданылды, үлгілерінің микросуреттері 52 – суретте көрсетілген. Талдау үлгілері төртке бөлінді: 1. Бақылау (пестицид және деструктор-штаммен ластанбаған топырақ); 2. 10 мг/кг пестицидпен ластанған топырақ және деструктор-штамм; 3. 100 мг/кг пестицидпен ластанған топырақ және деструктор-штамм; 4. Деструктор-штамм (пестицид қосылмаған) негізіндегі топырақ.

Топырақ құрылымы орташа тығыздықпен сипатталады, топырақтың жарықтармен бөлінген гетерогенді бөліктері көрсетілген. Топырақ құрылымының күрделілігі оның гетерогенділігімен байланысты, себебі құрамында айқын органикалық және минералды компоненттер болады.

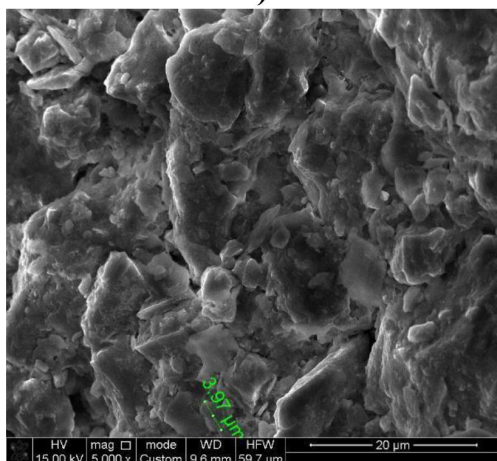
Топырақтың органикалық бөлігі конденсацияланған алифатты және ароматты құрылымдардың қатар болуымен сипатталады, олардың әрқайсысы айқын кристалды түзілімдер құрайды.



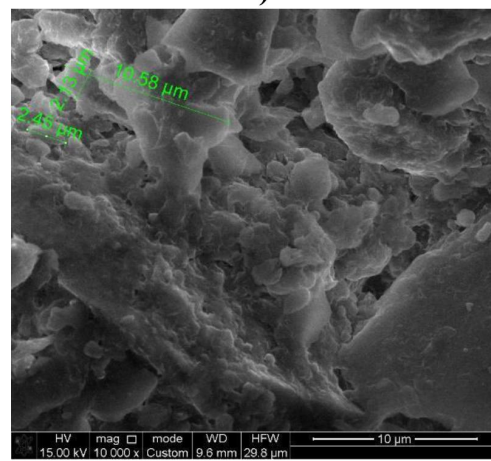
а)



б)



в)



с)

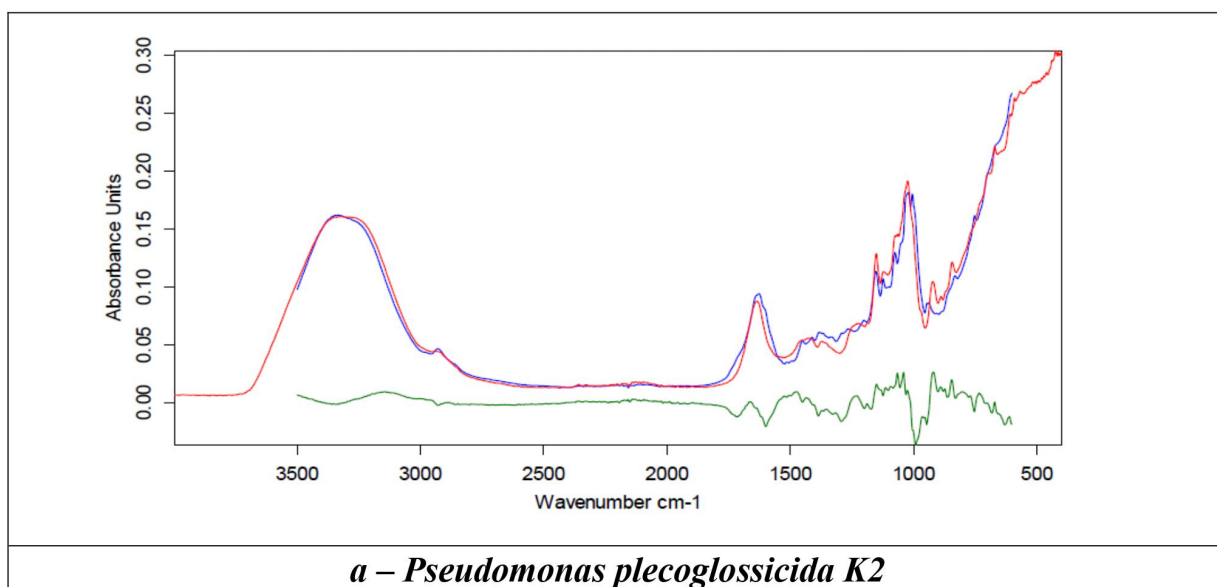
Сурет 51 – Топырақ үлгілерінің сканерлеуші электронды микроскопия әдісі арқылы алынған суреттері (3000×) (а – бақылау, б – 10 мг/кг пестицид + топырақ + деструктор штамм, в – 100 мг/кг пестицид + топырақ + деструктор штамм, с – топырақ + деструктор штамм)

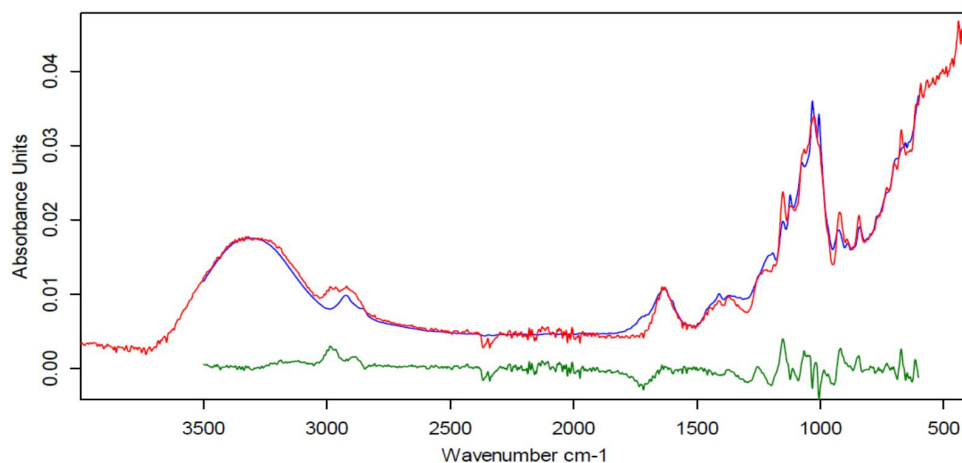
51 – суретте көрсетілгендей топырақ үлгілерінің беті изометриялық формалардың жергілікті жинақталуымен гетерогенді құрылыммен сипатталады, топырақ құрамында хлорорганикалық ластағыштардың қосылыстары және деструктор – штамдардың клеткалары бар екендігін көрсетеді. Бетінде сонымен қатар мөлшері 0,1-2 мкм болатын глобулярлы микроқұрылымдар да бар. Деструктор – микроорганизмдер тіршілігі барысында тұрақты органикалық қосылыстарды энергия және көміртегі көзі ретінде пайдалануда, клеткаларының морфологиялық құрылымына байланысты өзгермейтіндігі яғни, тұрақты екендігі байқалады.

3.5.3 Деструктор-штамдардың функциональдық топтарын анықтау

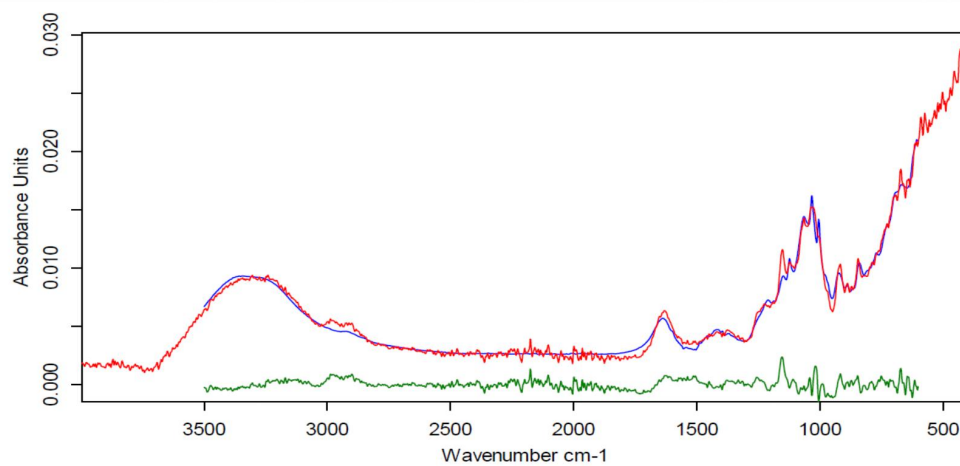
ИҚ спектроскопиясындағы эксперименттік нәтиже инфрақызыл спектр болып табылады-оның жиілігінен өткізілген инфрақызыл қарқындылық функциясы. Әдетте, инфрақызыл спектрде бірқатар сіңіру жолақтары бар, олардың орналасуы мен салыстырмалы қарқындылығы зерттелетін үлгінің құрылымы туралы қорытынды жасайды. Бұл тәсіл көптеген жинақталған эксперименттік ақпараттың арқасында мүмкін болды: сіңіру жиіліктерін үлгіде белгілі бір молекулалық фрагменттердің болуымен байланыстыратын арнайы кестелер бар. Белгісіз талданатын заттың спектрін бұрыннан белгілі заттармен автоматты түрде салыстыруға және сол затты анықтауға мүмкіндік беретін қосылыстардың кейбір кластарының ИҚ спектрлерінің негіздері де құрылды. Үлгіні сәулелендіру тербелмелі және электронды еркіндік дәрежелерін қоздыратын монохроматикалық емес инфрақызыл сәулелену арқылы жүзеге асырылады. Нәтижесінде түскен сәуле тербелмелі және электронды деңгейлердің энергия айырмашылығына сәйкес жиіліктерде жұтылады. Бұл сипаттамалық жиіліктер бағаланатын ерекшеліктер спектрінде пайда болуына әкеледі.

FTIR ИҚ-Фурье спектрометрі әдісі деструктор-штамдардың функциональдық топтарын анықтауға мүмкіндік береді. Деструктор-штамдардың ферментативті белсенділігі бірінші және екінші реттік метаболиттердің түзілуімен тікелей байланысты. Зерттеу жұмысында деструктор – микроорганизмдердің функционалды топтары 52 – суретте көрсетілген.

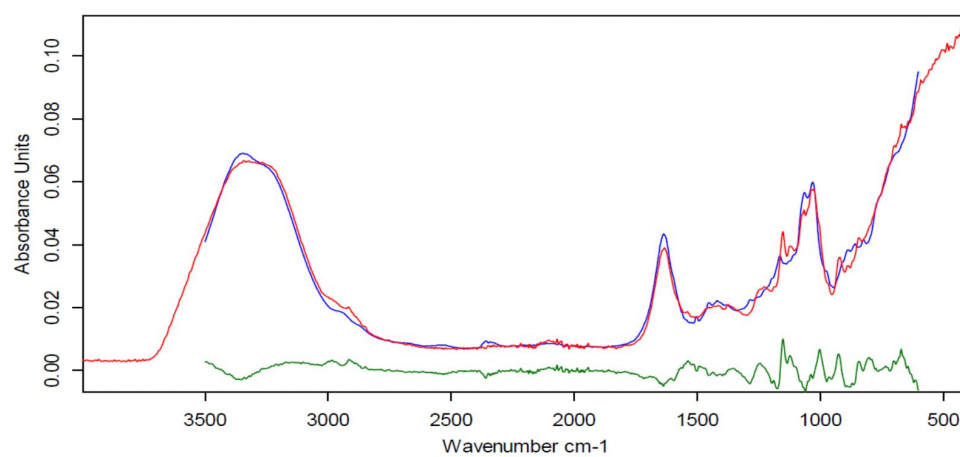




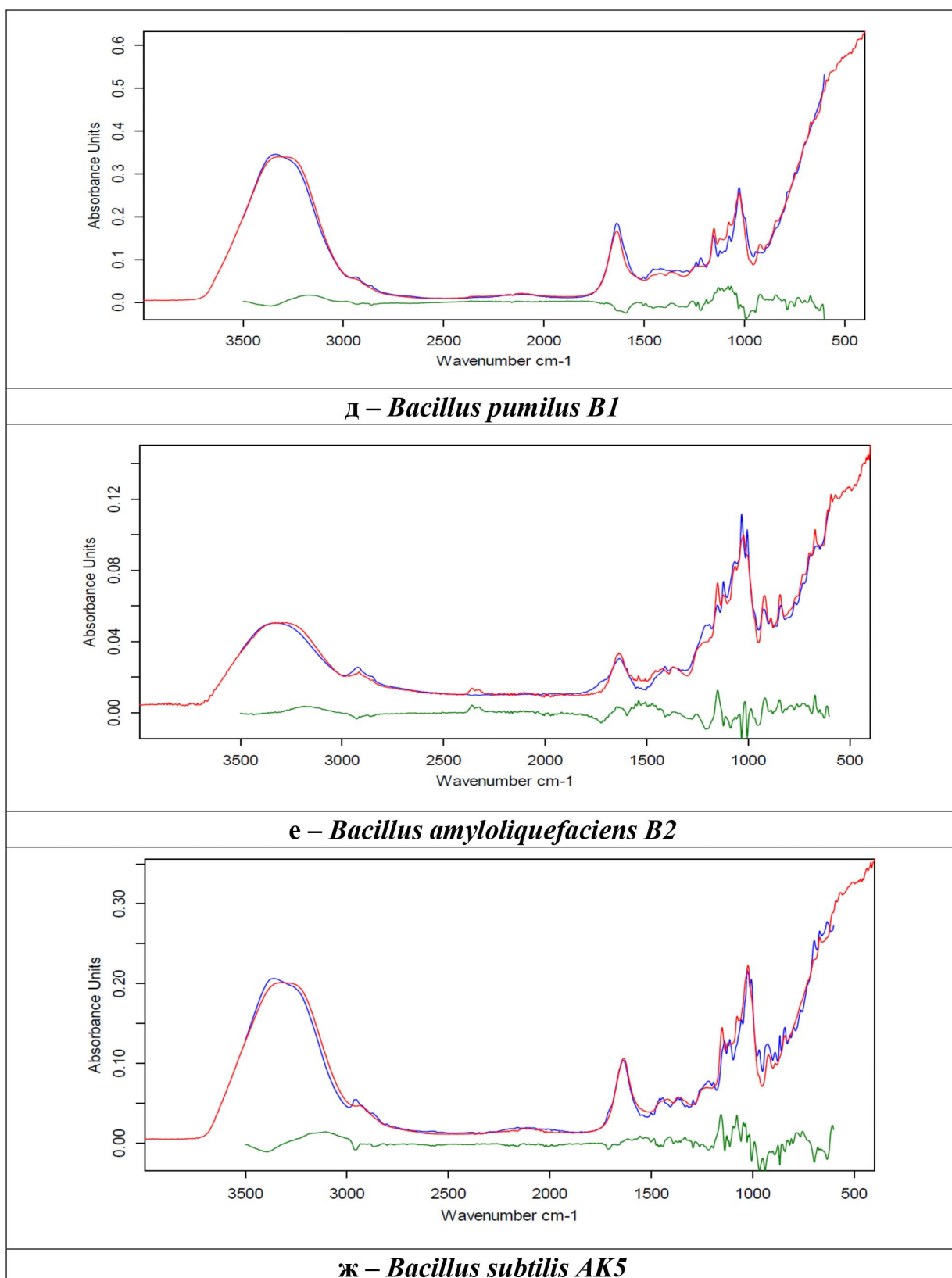
б – *Bacillus aryabhattai* K3

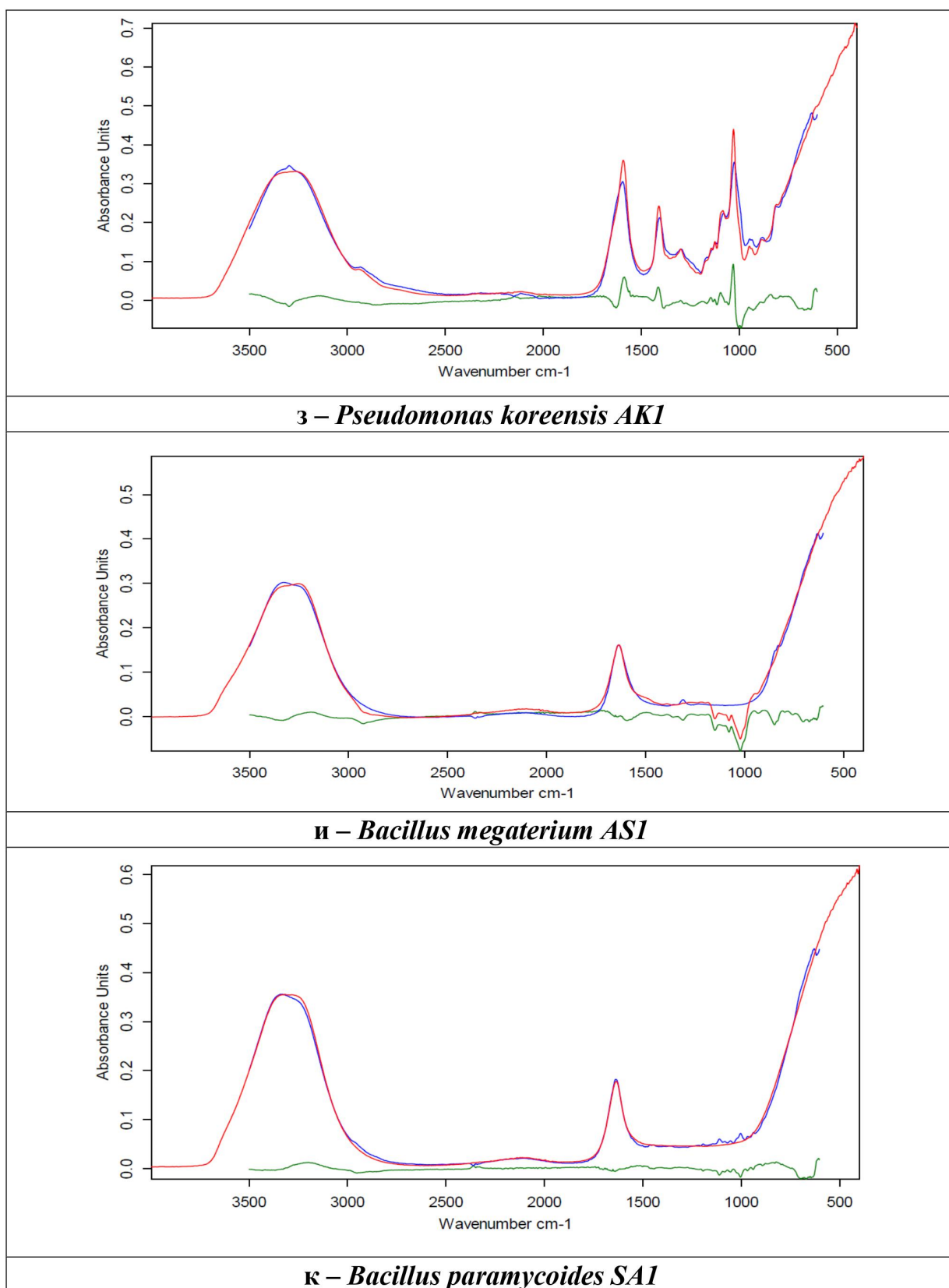


в – *Solibacillus isronensis* KS1



г – *Pseudomonas* sp. KS2





Сурет 52 – Деструктор штамдардың ИҚ-спектрлері: а – *Pseudomonas plecoglossicida* K2, б – *Bacillus aryabhatai* K3, в – *Solibacillus isronensis* KS1, г –

Pseudomonas sp. KS2, д – *Bacillus pumilus B1*, е – *Bacillus amyloliquefaciens B2*, ж – *Bacillus subtilis AK5*, з – *Pseudomonas koreensis AK1*, и – *Bacillus megaterium ASI*, к – *Bacillus paramycoides SAI*

52 – суретте көрсетілгендей перспективті деструктор штамдардың ИҚ-спектрлерінде әр түрлі шығу тегі тұрақты органикалық қосылыстарды ыдыратуға тән сіңіру жолақтары бар. Ол 3400 см^{-1} кезінде интенсивті жолақпен сипатталады, бұл гидроксил топтарының едәуір мөлшерінің болуын көрсетеді ($-\text{OH}$). *Pseudomonas plecoglossicida K2*, *Bacillus aryabhattai K3*, *Pseudomonas sp. KS2*, *Bacillus pumilus B1*, *Bacillus subtilis AK5*, *Pseudomonas koreensis AK1*, *Bacillus megaterium ASI*, *Bacillus paramycoides SAI* үлгілерінің спектрлерінде 3200 см^{-1} ауданында алкил топтарының ($-\text{CH}_3$ және $-\text{CH}_2$) валентті тербелістерінен туындаған қарқындылық бар.

1554 см^{-1} ауданындағы жолақ $\text{C}=\text{C}$ ароматты қосылысты байланысының бар екендігін көрсетеді. 1400 см^{-1} шамасындағы жұтылу жолағын CH_2 топтарындағы $\text{C}-\text{H}$ байланысының деформациялық тербелістеріне жатқызуға болады. $1000\text{-}500\text{ см}^{-1}$ ауданында сіңіру шыңдары минералды компоненттерге байланысты пайда болуы мүмкін. Карбоксил топтары (1247 см^{-1}), сондай-ақ гидроксил топтары (1038 см^{-1}) сияқты оттегі құрамды функционалды топтарға әлсіз қарқындылықтың бірнеше жолақтарын жатқызуға болады.

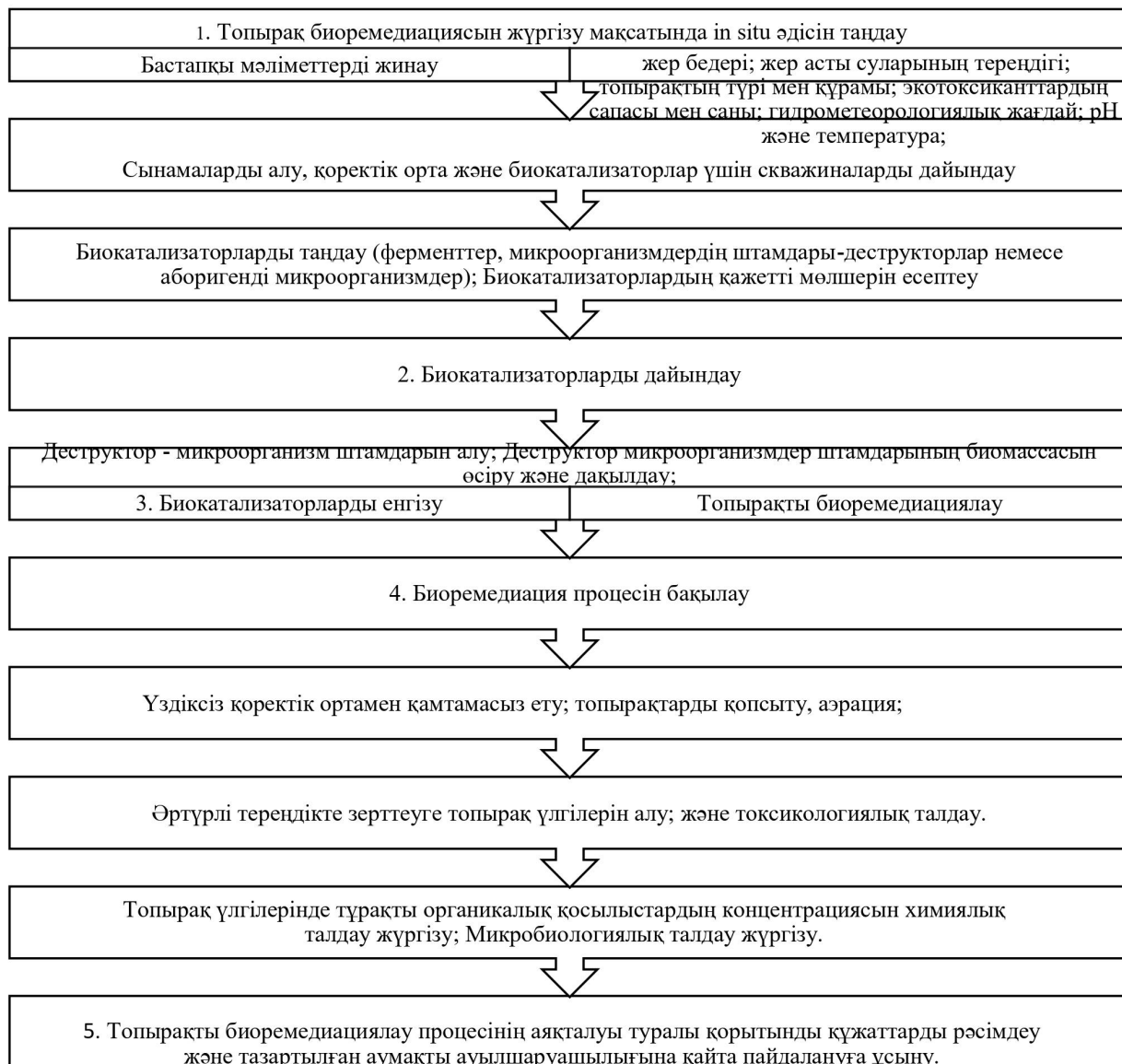
Зерттеу үлгілерінің ИҚ спектрлері функционалды топтарының алуантүрлілігін көрсететін сіңіру жолақтарының әр түрлі сипаттамалық жиынтығын анықтады. Үлгілердің $-\text{OH}$ негізгі аймақтары ($3500\text{-}1220\text{ см}^{-1}$) $-\text{NH}_3^+$, $-\text{NH}_2^+$, $-\text{CO}-\text{NH}_2^+$, $-\text{CO}-\text{NH}-$ қосындылары бар созылмалы тербелістерге; алифатикалық жолақтар ($\text{C}-\text{H}$) $2980\text{-}2845\text{ см}^{-1}$; эфирлердің шамалы үлесі бар $1850\text{-}1650\text{ см}^{-1}$ аймағында COOH , $-\text{CHO}$, $-\text{CO}$ карбонил жолақтары; $1635\text{-}1600\text{ см}^{-1}$ ароматты қосылысты жолақтардың ($\text{C}=\text{C}$, $\text{COO}-$) созылу тербелістері, $873\text{-}728\text{ см}^{-1}$ кездесетін алмастырылмайтын сақиналар, $430\text{-}550\text{ см}^{-1}$ органикалық галогенидтер мен минералдар жатады.

Зерттеу нәтижелеріне сәйкес тұрақты органикалық қосылыстарды ыдыратуға қабілетті штамдар ароматты ($\text{C}=\text{C}$, $\text{COO}-$) және алкил топтарының ($-\text{CH}_3$ және $-\text{CH}_2$) қосылыстарын ыдыратуға қабілетті екені анықталды.

3.6 Тұрақты органикалық қосылыстармен ластанған топырақты штамм - деструкторлар консорциумы негізінде биоремедиациялау технологиясын жасау

Тұрақты органикалық қосылыстармен ластанған топырақтарды биоремедиациялауда биотехнологиялық процестердің, соның ішінде биотрансформация, биодеградация, биостимуляция процестері маңызды болып табылады. Аталған процестерді жүзеге асыруда деструктор – микроорганизмдердің қолдану тиімді болып табылады. Әсіресе моно дақылға қарағанда консорциум негізінде құрастырылған штамдарды қолдану тиімді. Соңғы жылдары ғылыми зерттеу орталықтарында, микроорганизмдерді интродукциялау арқылы ластанған экожүйелерді қайта қалпына келтіру

жұмыстары жүргізілуде [268]. Қорытындылай келгенде, тұрақты органикалық қосылыстармен ластанған топырақтарды биоремедиациялауда деструктор микроорганизмдерді қолдану технологиясының сызба нұсқасы алынды (сурет 53).



Сурет 53 - Тұрақты органикалық қосылыстармен ластанған топырақтарды биоремедиациялауда деструктор микроорганизмдерді қолдану технологиясының сызба нұсқасы

ҚОРЫТЫНДЫ

1. Тұрақты органикалық қосылыстармен ластанған топырақ үлгілеріне химиялық талдау жүргізіліп, 4,4-ДДЭ, 4,4-ДДТ, α -ГХЦГ, β -ГХЦГ және γ -ГХЦГ хлорорганикалық пестицидтердің мөлшері жоғары болатындығы анықталды. Топырақ үлгілеріндегі хлорорганикалық пестицидтердің концентрациясы Қызылқайрат - 121,054, Бесқайнар - 47,334, Амангелді №1 - 5382, Амангелді №2 - 1032, Белбұлақ - 1025, Басшы – 146 мкг/кг⁻¹ сәйкесінше болды.

2. Топырақ үлгілерінің микробтық алуантүрлілігінде *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Acidobacteria*, *Planctomycetes*, *Chloroflexi*, *Gemmatimonadates*, *Saccharibacteria*, *Firmicutes*, *Verrucomicrobia* бактерия типтері басым екендігі және *Bacillus*, *Pseudomonas* туысының өкілдері 68-80% кездесетіндігі анықталды.

3. Тұрақты органикалық қосылыстармен ластанған топырақ үлгілерінің аборигенді микроорганизмдерінен 40 таза дақыл бөлініп алынды. Бөлініп алынған штамдардың морфологиялық - культуральдық, физиологиялық - биохимиялық қасиеттеріне зерттелініп, перспективті деструктор - штамдар *Pseudomonas plecoglossicida* K2 (OK217230), *Bacillus aryabhatai* K3 (MW866565), *Solibacillus isronensis* KS1 (OK236011), *Pseudomonas* sp. KS2 (OL348382), *Bacillus pumilus* B1 (OL348383), *Bacillus amyloliquefaciens* B2 (OL348394), *Bacillus subtilis* AK5 (MW866566), *Pseudomonas koreensis* AK1 (OL348403), *Bacillus megaterium* AS1 (OL348404), *Bacillus paramycoides* SA1 (OL348439) түрге дейін идентификацияланды және NCBI дерекқорына тіркелді.

4. Микроорганизмдердің деструктивті қасиеттерін зерттеу барысында көміртегінің жалғыз көзі ретінде ДДТ қосылған қоректік ортада микроорганизмдерді өсу динамикасы зерттелініп, *Pseudomonas plecoglossicida* K2 $1,2 \times 10^8$ КТБ/мл, *Bacillus aryabhatai* K3 $1,1 \times 10^8$ КТБ/мл, *Bacillus pumilus* B1 $7,7 \times 10^7$ КТБ/мл, *Bacillus amyloliquefaciens* B2 $8,9 \times 10^7$ КТБ/мл құрады.

5. Перспективті штамдардың деструктивті белсенділігінің механизмдері олардың ферментативтік қасиетіне негізделеді және деструктор – штамдардың хлорорганикалық пестицидтерді ыдыратуға қабілетті протеаза, лакказа, каталаза, целлюлаза, дегидрогеназа ферменттерін түзетіндігі анықталды.

6. Тұрақты органикалық қосылыстарды ыдыратуда эффективтілігін жоғарылату мақсатында перспективті штамдардың биосәйкестігі негізінде консорциумдар құрастырылды. *Pseudomonas plecoglossicida* K2 + *Bacillus aryabhatai* K3 консорциумы хлорорганикалық пестицидтерді 68% және *Bacillus pumilus* B1 + *Bacillus amyloliquefaciens* B2 78% ыдыратындығы анықталды.

7. Деструктор-штамдар негізіндегі консорциумдардың хлорорганикалық пестицидтер қатысындағы деструктивтік белсенділігін модельді тәжірбиелерде зерттелініп, *Pseudomonas plecoglossicida* K2 + *Bacillus aryabhatai* K3, *Bacillus pumilus* B1 + *Bacillus amyloliquefaciens* B2 консорциум штамдары 86% ыдырататындығы анықталды. Зерттеу нәтижелерінде перспективті штамдар тұрақты органикалық қосылыстарды алициклді қосылыстар циклоалкандарға (-

CH₂), ароматты гетероциклді қосылыстарға (C=C, COO-) және алифатты қосылыстардың ішінде алкан тобының бөлігі алкил топтарына дейін (-CH₃ және -CH₂) ыдыратуға қабілетті екені анықталды.

Пайдаланылган әдебиеттер тізімі

1. IPEN. Review on the implementation of the obligations of the Republic of Kazakhstan under the Stockholm Convention on POPs. Kazakhstan: Analytical Environmental Agency “Greenwomen,” - 2018. - P. 122.
2. Baubekova A., Akindykova A., Mamirova A., Dumat C., Jurjan S. Evaluation of environmental contamination by toxic trace elements in Kazakhstan based on reviews of available scientific data // Environ. Sci. Pollut. Res. - 2021. - Vol. 28, № 32. - P. 43315–43328.
3. Mit N., Cherednichenko O., Mussayeva A., Khamdiyeva O., Amirgalieva A., Begmanova M., Tolebaeva A., Koishakenova G., Zaypanova S., Pilyugina A., Amandykova M., Tlenshieva A., Nurzhanova A., Mamirova A., Bekmanov B., Djansugurova L. Ecological risk assessment and long-term environmental pollution caused by obsolete undisposed organochlorine pesticides // J. Environ. Sci. Health Part B. Taylor & Francis, - 2021. - Vol. 56, № 5. - P. 490–502.
4. Nurzhanova A., Kulakow P., Rubin E., Rakhimbayev I., Sedlovskiy A., Zhambakin K., Kalugin S., Kolysheva E., Erickson L. Obsolete Pesticides Pollution and Phytoremediation of Contaminated Soil in Kazakhstan // Application of Phytotechnologies for Cleanup of Industrial, Agricultural, and Wastewater Contamination / ed. Kulakow P.A., Pidlisnyuk V.V. Dordrecht: Springer Netherlands, - 2010. - P. 87–111.
5. Darnerud, P. O. Toxic effects of brominated flame retardants in man and in wildlife. Environment International, 29: 841–853(2003).
6. Legler, J., Brouwer, A. Are brominated flame retardants endocrine disruptors? Environment International, 29: 879–885 (2003).
7. Santillo, D., Johnston, P. Playing with fire: the global threat presented by brominated flame retardants justifies urgent substitution. Environment International, 29: 725–734(2003).
8. Stockholm Convention. [(accessed on 8 April 2021)]; Available online: <https://www.unido.org/our-focus/safeguarding-environment-implementation-multilateral-environmental-agreements/stockholm-convention>
9. Stockholm Convention [Electronic resource] // Persistent Organic Pollutants. - 2021. URL: <http://www.pops.int/Implementation/PesticidePOPs/tabid/5359/Default.aspx> (accessed: 01.04.2021).
10. Nurzhanova A., Mamirova A., Trögl J., Nebeská D., Pidlisnyuk V.V. Plant–Microbe Associations in Phytoremediation // Phytotechnology with Biomass Production: Sustainable Management of Contaminated Sites / ed. Erickson L.E., Pidlisnyuk V.V. CRC press Taylor & Francis Group, - 2021. - P. 123–140.
11. Nurzhanova A., Djansugurova L., Zhapbasov R., Vsevolodov E., Zhubanova A. Inventory of obsolete pesticides in Almaty region (on the example of Talgar region). Almaty, Kazakhstan: Institute of General Genetics and Cytology; Institute of Plant Biology and Biotechnology, - 2020. - P. 116.

12. Yadav I.C., Devi N.L. Pesticides Classification and Its Impact on Human and Environment. *Environ. Sci. Eng.* 2017; 6:140–157. doi: 10.20546/ijemas.2019.803.224.
13. Jayaraj R., Megha P., Sreedev P. Organochlorine pesticides, their toxic effects on living organisms and their fate in the environment. *Interdiscip. Toxicol.* 2016;9:90–100. doi: 10.1515/intox-2016-0012.
14. Dhouib I., Jallouli M., Annabi A., Marzouki S., Gharbi N., Elfazaa S., Lasram M.M. From immunotoxicity to carcinogenicity: The effects of carbamate pesticides on the immune system. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 2016;23:9448–9458. doi: 10.1007/s11356-016-6418-6.
15. Roberts J.R., Reigart J.R. *Recognition and Management of Pesticide Poisonings*. 6th ed. U.S. Environmental Protection Agency; Washington, DC, USA: 2013. Organophosphate Insecticides; pp. 199–204.
17. Rathnayake L.K., Northrup S.H. Structure and mode of action of organophosphate pesticides: A computational study. *Comput. Theor. Chem.* 2016; 1088:9–23. doi: 10.1016/j.comptc.2016.04.024.
18. Tanabe, S. Contamination by persistent toxic substances in the Asia-Pacific Region. In *Persistent Organic Pollutants in Asia. Sources, Distributions Transport and Fate* (eds A. Li S. Tanabe G. Jiang J. P. Giesy P. K. S. Lam). Elsevier Ltd, 2007, pp. 773–817.
19. Ali U., Syed J.H., Malik R.N., Katsoyiannis A., Li J., Zhang G., Jones K.C. Organochlorine pesticides (OCPs) in South Asian region: A review. *Sci. Total Environ.* 2014;476–477:705–717. doi: 10.1016/j.scitotenv.2013.12.107.
20. Tanabe, S., Ramu, K., Isobe, T., Takahashi, S. Brominated flame retardants in the environment of Asia-Pacific: an overview of spatial and temporal trends. *Journal of Environmental Monitoring*, 10: 188–197 (2008).
21. Wong, M. H., Wu, S. C., Deng, W. J., Yu, X. Z., Luo, Q., Leung, A. O. W., et al. Export of toxic chemicals – a review of the case of uncontrolled electronic-waste recycling. *Environmental Pollution*, 149: 131–140 (2007).
22. Liu, X., Tanaka, M., Matsui, Y. Electrical and electronic waste management in China: progress and the barriers to overcome. *Waste Management Research*, 24: 92–101 (2006).
23. UNEP DG-E. E-waste, the hidden side of ITEquipment's manufacture and use. Chapter 5 – Early warning on emerging environmental threats, 2005 (cited). Available from: <http://www.grid.unep.ch>.
24. Walker, K., Vallero, D. A., Lewis, R. G. Factors influencing the distribution of lindane and other hexachlorocyclohexanes in the environment. *Environmental Science and Technology*, 33: 4373–4378 (1999).
25. Li, Y. F., Cai, D. J., Singh, A. Technical hexachlorohexane use trends in China and their impact on the environment. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 35: 688–697 (1998).
26. Brigden, K., Labunska, I., Santillo, D., Johnston, P. Chemical contamination at e-waste recycling and disposal sites in Accra and Korforidua, Ghana. Greenpeace, 2008.

27. Barra, R., Colombo, J. C., Eguren, G., Gamboa, N., Jardim, W. F., Mendoza, G. Persistent organic pollutants (POPs) in Eastern and Western South American countries. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 185: 1–33 (2006).
28. Barakat, A. O. Assessment of persistent toxic substances in the environment of Egypt. *Environment International*, 30: 309–322 (2004).
29. Prudente, M., Malarvanna, G., Tanabe, S. Persistent toxic substances in the Philippine environment. In *Persistent Organic Pollutants in Asia. Sources Distribution, Transport and Fate* (eds A. Li S. Tanabe G. Jiang P. K. S. Lam). Elsevier Ltd, 2007, pp. 559–585.
30. Li, Y.-F. Global technical hexachlorocyclohexane usage and its contamination consequences in the environment: from 1948 to 1997. *Science of the Total Environment*, 232: 121–158 (1999).
31. Voldner, E. C., Li, Y.-F. Global usage of selected persistent organochlorines. *Science of the Total Environment*, 160/161: 201–210 (1995).
32. Karnatz, A. Obsolete pesticide disposal project. Department of Agriculture, Food and Markets, Montpelier, Vermont, 1991.
33. Schimpf, W.A. Obsolete pesticide stocks in developing countries. In *Chemistry of Crop Protection. Progress and Prospects in Science and Regulation* (eds G. Voss G. Ramos). Wiley-VCH, Weinheim, 2003, pp. 40–53.
34. UNEP. Regionally based assessment of persistent toxic substances. UNEP Chemicals, 2003.
35. Jain, V. Disposing of pesticides in the third world. *Environmental Science and Technology*, 26 (2): 226–229 (1992).
36. de-Voogt, P., Brinkman, U. A. T. (eds). *Production, Properties and Usage of Polychlorinated Biphenyls*. Elsevier–North Holland, Amsterdam, 1989.
37. Vallack, H. W., Bakker, D. J., Brandt, I., Brostrom-Lunden, E., Brouwer, A., Bull, K. R., et al. Controlling persistent organic pollutants – what next? *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 6: 143–175 (1998).
38. Breivik, K., Sweetman, A., Pacyna, J. M., Jones, K. C. Towards a global historical emission inventory for selected PCB congeners – a mass balance approach. 3. An update. *Science of the Total Environment*, 377(2–3): 296–307 (2007).
39. Breivik, K., Sweetman, A., Pacyna, J. M., Jones, K. C. Towards a global historical emission inventory for selected PCB congeners – a mass balance approach 1. Global production and consumption. *Science of the Total Environment*, 290: 181–198 (2002). 162 Persistent Organic Pollutants
40. Meijer, S. N., Ockenden, W., Breivik, K., Grimalt, J. O., Jones, K. C. Global distribution and budget of PCBs and HCB in background surface soils: implications for sources and environmental processes. *Environmental Science and Technology*, 37(4): 667–672 (2003).
41. Eduljee, G. H. PCBs in the environment. *Chemistry in Britain*, 24: 241–244 (1988).
42. Jones, K. C., de Voogt, P. Persistent organic pollutants (POPs): state of the science. *Environmental Pollution*, 100: 209–221 (1999).

43. UNECE. Protocol on persistent organic pollutants under the 1979 convention on long-range transport air pollution. Report ECE/EB.Air/60, Geneva, Switzerland, 1998.
44. UNECE. Preparation of an internationally binding instrument for implementing international action on certain persistent organic pollutants. Report UNEP/POPs/Inc.1/6, Geneva, Switzerland, 1998.
45. Kishida, M., Imamura, K., Maeda, Y., Lan, T. T. N., Thao, N. T. P., Viet, P. H. Distribution of persistent organic pollutants and polycyclic aromatic hydrocarbons in sediment samples from Vietnam. *Journal of Health Science*, 53(3): 291–301 (2007).
46. Anyinam, C. A. Transboundary movements of hazardous wastes: the case of toxic waste dumping in Africa. *International Journal of Health Service*, 21(4): 759–777 (1991).
47. Pellow, D. N. The politics of illegal dumping: an environmental justice framework. *Qualitative Sociology*, 27(4): 511–525 (2004).
48. Vir, A. K. Toxic trade with Africa. *Environmental Science and Technology*, 23: 23–25 (1989).
49. Wania, F., Mackay, D. Tracking the distribution of persistent organic pollutants: control strategies for these contaminants will require a better understanding of how they move around the globe. *Environmental Science and Technology*, 30(9): 390A–396A (1996).
50. Baker, J. I., Hites, R. A. Is combustion the major source of polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans to the environment? A mass balance investigation. *Environmental Science and Technology*, 34: 2879–2886 (2000).
51. Deutsch, D. G., Goldfarb, T. D. PCDD/PCDF contamination following a plastic fire in a university lecture hall building. *Chemosphere*, 17: 2423–2431 (1988).
52. Gullett, B. K., Lemieux, P. M., Lutes, C. C., Winterrowd, C. K., Winters, D. L. Emissions of PCDD/F from uncontrolled domestic waste burning. *Chemosphere*, 43: 721–725 (2001).
53. Edulijee, G. H., Dyke, P. An updated inventory of PCDD and PCDF emissions sources in the UK. *Science of the Total Environment*, 177: 303–321 (1996).
54. Brzuzy, L. P., Hites, R. A. Estimating the atmospheric deposition of polychlorinated dibenzo-p-dioxins from soils. *Environmental Science and Technology*, 29(8): 2092–2098 (1995).
55. Welsch-Pausch, K., McLachlan, M. S. Fate of airborne polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans in agricultural ecosystems. *Environmental Pollution*, 102(1): 129–137 (1998).
56. Rappe, C. Sources and environmental concentrations of dioxins and related compounds. *Pure and Applied Chemistry*, 68(9): 1781–1789 (1996).
57. Kocan, A., Bencko, V., Sixl, W. Polychlorinated dibenzo-p-dioxins (PCDDs) and dibenzofurans (PCDFs) in the hair of people living on municipal refuse dumping sites in Cairo (Egypt). *Toxicology and Environmental Chemistry*, 36: 33–37 (1992).
58. Crutzen, P. J., Andrea, M. O. Biomass burning in the tropics – impacts on atmospheric chemistry and biogeochemical cycles. *Science*, 250: 1669–1678 (1990).

59. Kasischke, E. S., Penner, J. E. Improving global estimates of atmospheric emissions from biomass burning. *Journal of Geophysical Research Atmospheres*, 109: D14 (2004).
60. Zheng, M.-H., Bao, Z.-C., Wang, K.-O., Yang, H., Xu, X.-B. Polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans in lake sediments from Chinese schistosomiasis areas. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 59: 653–656 (1997).
61. Bao, Z.-C., Wang, K. O., Kang, J. X., Zhao, L. W. Analysis of polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans in pentachlorophenol and sodium pentachlorophenate. *Environmental Chemistry (China)*, 14: 317–321 (1995).
62. Zheng, M.-H., Chu, S.-G., Sheng, G.-Y., Min, Y.-S., Bao, Z.-C., Xu, X. B. Polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans in surface sediments from Pearl River Delta in China. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 66: 504–507 (2001). *Persistent Organic Pollutants in the Developing World* 163
63. Wu, W. Z., Schramm, K.-W., Henkelmann, B., Xu, Y., Yediler, A., Kettrup, A., PCDD/Fs, PCBs HCHs, and HCB in sediment and soil of Ya-Er Lake area in China: results on residue levels and correlation to organic carbon and particle size. *Chemosphere*, 34: 191–202 (1997).
64. Wu, W. Z., Schramm, K.-W., Xu, Y., Kettrup, A. Mobility and profiles of polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans in sediment of Ya-Er Lake. China. *Water Research*, 35: 3025–3033 (2001).
65. Wu, W. Z., Schramm, K.-W., Kettrup, A. Bioaccumulation of polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans in sediments of Ya-Er Lake. China. *Water Research*, 35: 1141–1148 (2001).
66. Dwernychuk, L. W. Dioxin hot spots in Vietnam. *Chemosphere*, 60: 998–999 (2005).
67. Schechter, A., Cao, D. L., Papke, O., Prange, J., Constable, J. D., Matsuda, M., et al. Recent dioxin contamination from agent orange in residents of a southern Vietnam city. *Journal of Occupational Environmental Medicine*, 43: 435 (2001).
68. Connel, D. W., Miller, G. J., Mortimer, M. R., Shaw, G. R., Anderson, S. M. Persistent lipophilic contaminants, and other chemical residues in the southern hemisphere. *Environmental Science and Technology*, 29: 47–82 (1999).
69. Bailey, R. E. Global hexachlorobenzene emissions. *Chemosphere*, 43: 167–182 (2001).
70. Beyer, A., Mackay, D., Matthies, M., Wania, F., Webster, E. Assessing long-range transport potential of persistent organic pollutants. *Environmental Science and Technology*, 34: 699–703 (2000).
71. Moody, C. A., Field, J. A. Perfluorinated surfactants and the environmental implications of their use in fire-fighting foams. *Environmental Science and Technology*, 34(18): 3864–3870 (2000).
72. Kissa, E., *Fluorinated Surfactants and Repellants*, 2nd edition. Marcel Dekker, New York, 2001.
73. MHRK and MEPRK. Standards for maximum permissible concentrations of harmful substances, pests and other biological substances polluting the soil, approved by a joint order of the Ministry of Health of the Republic of Kazakhstan dated January

30, 2004, No. 99 and the Ministry of Environmental Protection of the Republic of Kazakhstan dated January 27, 2004 No. 21-P. - 2004.

74. Kannan, K., Newsted, J., Halbrook, R. S., Giesy, J. P. Perfluorooctanesulfonates and related fluorinated hydrocarbons in mink and river otters from the United States. *Environmental Science Technology*, 36: 2566–2571 (2002).

76. Guruge, K. S., Taniyasu, S., Yamashita, N., Manage, P. M. Occurrence of perfluorinated acids and fluorotelomers in waters from Sri Lanka. *Marine Pollution Bulletin*, 54: 1663–1672 (2007).

77. Kannan, K., Koistinen, J., Beckmen, K., Evans, T., Jones, P. D., Eero, H., et al. Accumulation of perfluorooctane sulfonate in marine mammals. *Environmental Science and Technology*, 35: 1593–1598 (2001).

78. Kannan, K., Franon, J. C., Bowerman, W. W., Hansen, K. J., Jones, P. D., Giesy, J. P. Perfluorooctane sulfonate in fish eating water birds including bald eagles and albatrosses. *Environmental Science Technology*, 35: 3065–3070 (2001).

79. Falandysz, J. Polychlorinated naphthalenes: an environmental update. *Environmental Pollution*, 101: 77–90 (1998).

80. Harner, T., Bidleman, T., Lee, R. G. M., Jones, K. C. Polychlorinated naphthalenes in the atmosphere. In *Persistent Bioaccumulative and Toxic Chemicals II. Assessment and New Chemicals* (eds R.L. Lipnik, B. Jansson, D. Mackay, M. Petreas). American Chemical Society, Washington, 2000.

81. Crookes, M. J., Howe, P. D. Environmental hazard assessment: halogenated naphthalenes. Report TSD/13, Department of the Environment, London, 1993.

82. Schneider, M., Stieglitz, L., Will, R., Zwick, G. Formation of polychlorinated naphthalenes on fly ash. *Chemosphere*, 37: 2055–2070 (1998).

83. Theisen, J., Maulshagen, A., Fuchs, J. Organic and inorganic substances in the copper slag 'Kieselrot'. *Chemosphere*, 26: 881–896 (1993).

84. Jaward, F. M., Barber, J. L., Booij, K., Jones, K. C. Spatial distribution of atmospheric PAHs and PCNs along a north–south Atlantic transect. *Environmental Pollution*, 132: 173–181 (2004).

85. Kannan, K., Imagawa, T., Blankenship, A. L., Giesy, J. P. Isomer-specific analysis and toxic evaluation of polychlorinated naphthalenes in soil, sediment, and biota collected near the site of a former chlor-alkali plant. *Environmental Science and Technology*, 32: 2507–2514 (1998). 164 Persistent Organic Pollutants

86. Oehme, M., Mano, S., Mikalsen, A. Formation and presence of polyhalogenated and polycyclic compounds in the emissions of small and large scale municipal waste incinerators. *Chemosphere*, 16: 102–114 (1987).

87. Helm, P., Bidleman, T., Stern, G., Koczanski, K. Polychlorinated naphthalenes and coplanar polychlorinated biphenyls in beluga whale (*Delphinapterus leucas*) and ringed seal (*Phoca hispida*) from the eastern Canadian Arctic. *Environmental Pollution*, 119(1): 69–78 (2002).

88. Jarnberg, U., Asplund, L., de Wit, C., Grafström, A. K., Haglund, P., Jansson, B., et al. Polychlorinated biphenyls and polychlorinated naphthalenes in

Swedish sediment and biota: levels, patterns, and time trends. *Environmental Science and Technology*, 27: 1364–1374 (1993).

89. Kannan, K., Yamashita, N., Imagawa, T., Decoen, W., Khim, J. S., Day, R. M., et al. Polychlorinated naphthalenes and polychlorinated biphenyls in fishes from Michigan waters including the Great Lakes. *Environmental Science and Technology*, 34(4): 566–572 (2000).

90. Gevao, B., Al-Omair, A., Sweetman, A., Al-Bahloul, M., Al-Ali, L., Helaleh, M., et al. Passivesampler derived air concentrations for polybrominated diphenyl ethers and polycyclic aromatic hydrocarbons in Kuwait. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 25(6): 1496–1502 (2006).

91. Harrad, S., Hunter, S. Spatial variation in atmospheric levels of PBDEs in passive air samples on an urban–rural transect. *Organohalogen Compounds*, 66: 3786–3792 (2004).

92. Rayne, S., Ikonou, M. G., Antcliffe, B. Rapidly increasing polybrominated diphenyl ether concentrations in the Columbia River system from 1992 to 2000. *Environmental Science and Technology*, 37(13): 2847–2854 (2003).

93. Zhu, L. Y., Hites, R. A. Temporal trends and spatial distributions of brominated flame retardants in archived fishes from the Great Lakes. *Environmental Science and Technology*, 38(10): 2779–2784 (2004).

94. Hassanin, A., Breivik, K., Meijer, S. N., Steinnes, E., Thomas, G. O., Jones, K. C. PBDEs in European background soils: levels and factors controlling their distribution. *Environmental Science and Technology*, 38(3): 738–745 (2004).

95. Gevao, B., Beg, M. U., Al-Ghadban, A. N., Al-Omair, A., Helaleh, M., Zafar, J. Spatial distribution of polybrominated diphenyl ethers in coastal marine sediments receiving industrial and municipal effluents in Kuwait. *Chemosphere*, 62: 1078–1086 (2006).

96. Song, W., Ford, J. C., Li, A., Mills, W. J., Buckley, D. R., Rockne, K. J. Polybrominated diphenyl ethers in the sediments of the Great Lakes. 1. Lake Superior. *Environmental Science and Technology*, 38(12): 3279–3285 (2004).

97. Gevao, B., Al-Bahloul, M., Al-Ghadban, A. N., Al-Omair, A., Ali, L., Zafar, J., et al. House dust as a source of human exposure to polybrominated diphenyl ethers in Kuwait. *Chemosphere*, 64: 603–608 (2006).

98. Jones-Otazo, H. A., Clarke, J. P., Diamond, M., Archbold, J. A., Ferguson, G., Harner, T., et al. Is house dust the missing exposure pathway for PBDEs? An analysis of the urban fate and human exposure to PBDEs. *Environmental Science and Technology*, 39(14): 5121–5130 (2005).

99. Gearhart, J., Posselt, H. Toxic at any speed. Chemicals in cars and the need for safe alternatives. The Ecology Center, Ann Arbor, Michigan, January, 2006.

100. Hites, R. A. Polybrominated diphenyl ethers in the environment and in people. *Environmental Science and Technology*, 38(4): 945–956 (2004).

101. North, K. D. Tracking polybrominated diphenyl ether releases in wastewater treatment plant effluent, Palo Alto, California. *Environmental Science and Technology*, 38(17): 4484–4488 (2004).

102. Alaei, M., Wenning, R. J. The significance of brominated flame retardants in the environment: current understanding, issues and challenges. *Chemosphere*, 46: 579–582 (2002).
103. de Wit, C. A. An overview of brominated flame retardants in the environment. *Chemosphere*, 46: 583–624 (2002).
104. D'Silva, K., Fernandes, A., Rose, M. Brominated organic micropollutants – igniting the flame retardant issue. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 34: 141–207 (2004).
105. Ikonomou, M. G., Rayne, S., Addison, R. F. Exponential increase of brominated flame retardants, polybrominated diphenyl ethers, in the Canadian Arctic from 1981 to 2000. *Environmental Science and Technology*, 36: 1886–1892 (2002). *Persistent Organic Pollutants in the Developing World* 165
106. Betts, K. S. Mounting concern over brominated flame retardants. *Environmental Science and Technology*, 35: 274A–275A (2001).
107. McDonald, T. A. A perspective on the potential health risks of PBDEs. *Chemosphere*, 46: 745–755 (2003).
108. Rahman, F., Langford, K. H., Scrimshaw, M. D., Lester, J. N. Polybrominated diphenyl ether (PBDE) flame retardants. *Science of the Total Environment*, 275: 1–17 (2001).
109. Meironyte, D., Bergman, A., Noren, K. Analysis of brominated diphenyl ethers in human milk. *Organohalogen Compounds*, 35: 387–390 (1998).
110. Meironyte, D., Noren, K., Bergman, A. Analysis of polybrominated diphenyl ethers in Swedish human milk. A time-related trend study, 1972–1997. *J. Toxicology and Environmental Health A*, 58: 101–113 (1997).
111. Noren, K., Meironyte, D. Contaminants in Swedish human milk. Decreasing levels of organochlorine and increasing levels of organobromine compounds. *Organohalogen Compounds*, 35: 1–4 (1998).
112. Noren, K., Meironyte, D. Certain organochlorine and organobromine contaminants in Swedish human milk in perspective of past 20–30 years. *Chemosphere*, 40: 1111–1123 (2000).
113. Alaei, M., Arias, P., Sjodin, A., Bergman, A. An overview of commercially used brominated flame retardants, their applications, their use patterns in different countries/regions and possible modes of release. *Environment International*, 29: 683–689 (2003).
114. Lueung, A. O. W., Luksemburg, W. J., Wong, A. S., Wong, M. H. Spatial distribution of polybrominated diphenyl ethers and polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans in soil and combusted residue at Guiyu, an electronic waste recycling site in Southern China. *Environmental Science and Technology*, 41: 2730–2737 (2007).
115. Kemmler, S., Hahn, O., Jann, O. Emissions of organophosphate and brominated flame retardants from selected consumer products and building materials. *Atmospheric Environment*, 37: 5485–5493 (2003).
116. Minh, N. H., Minh, T. B., Watanabe, M., Kunisue, T., Monirith, I., Tanabe, S., et al. Open dumping site in Asia developing countries: A potential source of

polychlorinated dibenzo-pdioxins and polychlorinated dibenzofurans. *Environmental Science and Technology*, 37: 1493–1501 (2003).

117. Kunisue, T., Watanabe, M., Iwata, H., Subramanain, A., Monirith, I., Minh, T. B., et al. Dioxins and related compounds in human breast milk collected around open dumpsites in Asian developing countries: bovine milk as a potential source. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 47: 414–426 (2004).

118. Kunisue, T., Watanabe, M., Someya, M., Monirith, I., Minh, T. B., Subramanain, A., et al. PCDDs, PCDFs, PCBs and organochlorine insecticides in human breast milk collected from Asian developing countries: risk assessment for infants. *Organohalogen Compounds*, 58: 285–288 (2002).

119. Kunisue, T., Someya, M., Kayama, F., Jin, Y., Tanabe, S. Persistent organochlorines in human breast milk collected from primiparae in Dalian and Shenyang, China. *Environmental Pollution*, 131: 381–392 (2004).

120. Minh, T. B., Minh, N. H., Iwata, H., Takahashi, S., Viet, P. H., Tuyen, B. C., et al. Persistent organic pollutants in Vietnam: levels, patterns, trends, and human health implications. In *Persistent Organic Pollutants in Asia. Sources Distributions Transport and Fate* (eds A. Li, S. Tanabe, G. Jiang, J. P. Giesy, P. K. S. Lam). Elsevier Ltd, 2007, pp. 515–555.

121. Kan-atireklap S. Subramanain A. Tanabe S. Persistent toxic substances in Thailand. In *Persistent Organic Pollutants in Asia. Sources, Distributions Transport and Fate* (eds A. Li, S. Tanabe, G. Jiang, J. P. Giesy, P. K. S. Lam). Elsevier Ltd, 2007, pp. 487–513.

122. Sudaryanto A. Takahashi S. Tanabe S. Persistent toxic substances in the environment of Indonesia. In *Persistent Organic Pollutants in Asia. Sources, Distributions Transport and Fate* (eds A. Li, S. Tanabe, G. Jiang, J. P. Giesy, P. K. S. Lam). Elsevier Ltd, 2007, pp. 587–627.

123. Li, A., Tanabe, S., Jiang, G., Giesy, J. P., Lam, P. K. S. (eds), *Persistent Organic Pollutants in Asia. Sources, Distribution, Transport, and Fate*. Elsevier Ltd, 2007. 166 *Persistent Organic Pollutants*

124. Pozo, K., Harner, T., Wania, F., Muir, D. C., Jones, K. C., Barrie, L. A. Toward a global network for persistent organic pollutants in air: results from the GAPs study. *Environmental Science and Technology*, 40(16): 4867–4873 (2006).

125. Iwata, H., Tanabe, S., Sakai, N., Nishimura, A., Tatsukawa, R. Geographical distribution of persistent organochlorines in air, water and sediments from Asia and Oceania, and their implications for global redistribution from lower latitudes. *Environmental Pollution*, 85: 15–33 (1994).

126. Iwata, H., Tanabe, S., Sakai, N., Tatsukawa, R. Distribution of persistent organochlorines in the oceanic air and surface seawater and the role of ocean on their global transport and fate. *Environmental Science and Technology*, 27(6): 1080–1098 (1993).

127. Kalantzi, O. I., Alcock, R. E., Johnston, P. A., Santillo, D., Stringer, R. L., Thomas, G. O., et al. The global distribution of PCBs and organochlorine pesticides in butter. *Environmental Science and Technology*, 35: 1013–1018 (2001).

128. Sericano, J. L., Wade, T. L., Jackson, T. J., Brooks, P. W., Tripp, B. W., Farrington, J. W., et al. Trace organic contamination in the Americas: an overview of the US national status and trends and the international 'Mussel Watch' programmes. *Marine Pollution Bulletin*, 31(4–12): 214–225 (1995).
129. Monirith, I., Ueno, D., Takahashi, S., Nakata, H., Sudaryanto, A., Subramanian, A. N., et al. Asia-Pacific mussel watch: monitoring contamination of persistent organochlorine compounds in coastal waters of Asian countries. *Marine Pollution Bulletin*, 46: 281–300 (2003).
130. Tanabe, S., Prudente, M., Kan-atireklap, S., Subramanain, A. Mussel watch: marine pollution monitoring of butyltins and organochlorines in coastal waters of Thailand, Philippines and India. *Ocean and Coastal Management*, 43: 819–839 (2000).
131. Wong, F., Alegria, H. A., Jantunen, L., Bidleman, T. F., Salvador-Figueroa, M., Gold-Bouchot, G., et al. Organochlorine pesticides in soils and air of southern Mexico: chemical profiles and potential for soil emissions. *Atmospheric Environment*, 42: 7737–7745 (2008).
132. Shen, L., Wania, F., Lei, Y. D., Teixeira, C., Muir, D. C., Bidleman, T. F. Hexachlorocyclohexanes in the North American atmosphere. *Environmental Science and Technology*, 38(4): 965–975 (2004).
133. Batterman, S. A., Chernyak, S. M., Gounden, Y., Matooane, M., Naidoo, R. N. Organochlorine pesticides in ambient air in Durban, South Africa. *Science of the Total Environment*, 397: 119–130 (2008).
134. Galindo-Reyes, J. G., Fossato, V. U., Villagrana-Lizarraga, C., Dolci, F. Pesticides in water, sediments, and shrimp from a coastal lagoon off the Gulf of California. *Marine Pollution Bulletin*, 38(9): 837–841 (1999).
135. DouAbul, A. A. Z., Al-Saad, H. T., Darmoian, S. A. Distribution of petroleum residues in surficial sediments from the North-West region of the Arabian Gulf. *Marine Pollution Bulletin*, 15: 198–200 (1984).
136. Thao, V. D., Kawano, M., Tatsukawa, R. Organochlorine residues in soils from Taiwan Thailand and Vietnam. *Environmental Pollution*, 81: 61 (1993).
137. Ntow, W. J. Organochlorine pesticides in water, sediment, crops, and human fluids in a farming community in Ghana. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 40: 557–563 (2001).
138. Wurl, O., Obbard, J. P. Organochlorine pesticides, polychlorinated biphenyls and polybrominated diphenyl ethers in Singapore's coastal marine sediments. *Chemosphere*, 58: 925–933 (2005).
139. Douabul, A. Z., Al-Saad, H. T., Al-Timari, A., Al-Rekabi, N. Tigris-Euphrates Delta: a major source of pesticides to the Shatt Al-Arab River (Iraq). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 17: 405–418 (1988).
140. Gevao, B., Beg, M. U., Al-Omar, A., Helaleh, M., Zafar, J. Spatial distribution of polychlorinated biphenyls in coastal marine sediments receiving industrial effluents in Kuwait. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 50: 166–174 (2006).

141. ROPME. Regional report on the state of the marine environment. ROPME, Kuwait, 2000.
142. Lee, D. B., Prudente, M., Tanabe, S., Tatsukawa, R. Organochlorine residues in soils and sediments from Manila and nearby provinces. *Toxicology and Environmental Chemistry*, 60: 171–181 (1997). Persistent Organic Pollutants in the Developing World 167
143. Ahmed, M. T., Ismail, S. M. M., Mabrouk, S. S. Residues of some chlorinated hydrocarbon pesticides in rainwater, soil and groundwater and their influence on some soil microorganisms. *Environment International*, 24: 665–670 (1998).
144. Miglioranza, K. S. B., Moreno, J. E. A., Moreno, V. J., Osterrieth, M. L., Escalate, A. H. Fate of organochlorine pesticides in soils and terrestrial biota of Los Padres pond watershed Argentina. *Environmental Pollution*, 105: 91–99 (1999).
145. EMC. Monitoring of persistent organic pollutants in the coastal hydrosphere of Indonesia. Country Report UNU, Japan, 2003.
146. Aichner, B., Glaser, B., Zech, W. Polycyclic aromatic hydrocarbons and polychlorinated biphenyls in urban soils from Kathmandu. Nepal. *Organic Geochemistry*, 38: 700–715 (2007).
147. Daly, G. L., Lei, Y. D., Teixeira, C., Muir, D. C., Castillo, L. E., Juantunen, L. M. M., et al. Organochlorine pesticides in the soils and atmosphere of Costa Rica. *Environmental Science and Technology*, 41: 1124–1130 (2007).
148. Westbom, R., Hussein, A., Megersa, N., Retta, N., Mathiasson, L., Bjorklund, E. Assessment of organochlorine pesticide pollution in Upper Awash Ethiopian state farm soils using selective pressurized liquid extraction. *Chemosphere*, 72: 1181–1187 (2008).
149. Kammerbauer, J., Moncada, J. Pesticide residue assessment in three selected agricultural production systems in the Choluteca River Basin of Honduras. *Environmental Pollution*, 103: 171–181 (1998).
150. Zhang, G. Qi, S., Parker, A., Li, X., Li, J., Wang, X. Distribution of organochlorine pesticides and polycyclic aromatic hydrocarbons in soils from the Pearl River delta, South China. In 3rd AsiaPacific Symposium on Environmental Chemistry, GuangZhou, China, 2001, p. 93.
151. ICAR. All India Coordinated Research Project on Pesticide Residue. Anand. ICAR Annual Report, 2002.
152. Fu, J., Mai, B., Sheng, G., Zhang, G., Wang, X., Peng, P., et al. Persistent organic pollutants in environment of the Pearl River Delta China: and overview. *Chemosphere*, 52: 1411–1422 (2003).
153. Thao, V. D., Kawano, M., Matsuda, M., Wakimoto, T., Tatsukawa, R., Cau, H. D., et al. Chlorinated hydrocarbon insecticide and polychlorinated biphenyl residues in soils from southern provinces of Vietnam. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 50: 147–159 (1993).
154. Thao, V. D., Kawano, M., Tatsukawa, R. Persistent organochlorine residues in soils from tropical and sub-tropical asian countries. *Environmental Pollution*, 81: 61–71 (1993).

155. Iwata, H., Tanabe, S., Ueda, K., Tatsukawa, R. Persistent organochlorine residues in air, water, sediments, and soils from the Lake Baikal region Russia. *Environmental Science and Technology*, 29(3): 792–801 (1995).
156. Goldberg, E. D., Bowen, V. T., Farrington, J. W., Harvey, G., Martin, J. H., Parker, P. L., et al. The mussel watch. *Environmental Conservation*, 5: 101–125 (1978).
157. de Brito, A. P. X., Bruning, I. M. R. D. A. Chlorinated pesticides in mussels from Guanabara Bay, Rio de Janeiro, Brazil. *Marine Pollution Bulletin*, 44: 71–81 (2002).
158. Ramesh, A., Tanabe, S., Subramanain, A., Mohan, D., Venugopalan, V. K., Tatsukawa, R. Persistent organic residues in green mussels from coastal waters of South India. *Marine Pollution Bulletin*, 21: 587–590 (1990).
159. Klumpp, D. W., Huansheng, H., Humphrey, C., Xinhong, W., Codi, S. Toxic contaminants and their biological effects in coastal waters of Xiamen. China. I. Organic pollutants in mussels and fish tissues. *Marine Pollution Bulletin*, 44: 752–760 (2002).
160. Kan-atireklap, S., Tanabe, S., Sanguuansin, J., Tabucanon, M. S., Hungspreugs, M. Contamination by butylin compounds and organochlorine residues in green mussels (*Perna viridis* L.) from Thailand coastal waters. *Environmental Pollution*, 97: 79–89 (1997).
161. Kan-atireklap, S., Yen, N. T. H., Tanabe, S., Subramanain, A. Butyltin compounds and organochlorine residues in green mussel (*Perina viridis* L.) from India. *Toxicology and Environmental Chemistry*, 67: 409–424 (1998).
162. IAEA. Contaminant Screening Project. First Mission Report, IAEA/ROPME, Monaco, 1999.
163. IAEA. Contaminant Screening Project. Second Mission and Final Report, IAEA/ROPME, Monaco, 1998. 168 Persistent Organic Pollutants
164. Fowler, S. W. Agrochemicals. In *The Gulf Ecosystem: Health and Sustainability* (eds N. Y. Khan, M. Munawar, A. R. G. Price). Backhuys Publishers, Leiden, 2002, pp. 193–204.
165. Hong, H., Wang, X., Xu, L., Chen, W., Zhang, L., Zhang, Z. Trace organic pollutants in the Southeast estuarine environments of China. *Journal of Environmental Science and Health A*, 35: 1833–1847 (2000).
166. IAEA. Contaminant Screening Project. Mid-term Progress Report, Monaco, 1996.
167. Li, Y.-F., Bidleman, T., Barrie, L. A., McConnell, L. L. Global hexachlorocyclohexane use trends and their impact on the Arctic atmospheric environment. *Geophysical Research Letters*, 25: 39–41 (1998).
168. Monirith, I., Ueno, D., Takahashi, S., Nakata, H., Sudaryanto, A., Subramanian, A., et al. AsiaPacific mussel watch: monitoring contamination of persistent organochlorine compounds in coastal waters of Asian countries. *Marine Pollution Bulletin*, 46: 281–300 (2003).
169. Minh, N. H., Someya, M., Minh, T. B., Kunisue, T., Iwata, H., Watanabe, M., et al. Persistent organochlorine residues in human breast milk from Hanoi and

Hochiminh, Vietnam: contamination, accumulation kinetics and risk assessment for infants. *Environmental Pollution*, 129: 431–441 (2004).

170. Sudaryanto, A., Kunisue, T., Tanabe, S., Niida, M., Hashim, H. Persistent organic compounds in human breast milk from mothers living in Penang and Kedah, Malaysia. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 49: 429–437 (2005).

171. Sudaryanto, A., Kunisue, T., Kajiwar, N., Iwata, H., Adibroto, T. A., Hartono, P., et al. Specific accumulation of organochlorines in human breast milk from Indonesia: levels, distribution, accumulation, kinetics and infant health risk. *Environmental Pollution*, 139: 107–117 (2006).

172. Paumgartten, F. J. R., Cruz, C. M., Chahoud, I., Palavinskas, R., Mathar, W. PCDDs, PCDFs, PCBs, and other organochlorine compounds in human milk from Rio de Janeiro, Brazil. *Environmental Research*, 83: 293–297 (2000).

173. Saeed, T., Sawaya, W., Ahmad, N., Rajagopal, S., Dashti, B., Al-Awadhi, S. Assessment of the levels of chlorinated pesticides in breast milk in Kuwait. *Food Additives and Contaminants*, 17(12): 1013–1018 (2000).

174. Kinyamu, J. K., Kanja, L. W., Skaare, J. U., Maitho, T. E. Levels of organochlorine pesticide residues in milk of urban mothers in Kenya. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 60: 732–738 (1998).

175. Cok, I., Bilgili, A., Ozdemir, M., Bilgili, N., Burgaz, S. Organochlorine pesticide residues in human breast milk from agricultural regions of Turkey, 1995–1996. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 59: 577–582 (1997).

176. Cok, I., Karakaya, A. E., Afkham, B. L., Burgaz, S. Organochlorine pesticide contaminants in human milk samples collected in Tebriz (Iran). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 63: 444–450 (1999).

177. Waliszewski, S. M., Aguirre, A. A., Infanzon, R. M., Silva, C. S., Siliceo, J. Organochlorine pesticide levels in maternal adipose tissue, maternal blood serum, umbilical blood serum, and milk from inhabitants of Veracruz, Mexico. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 40: 432–438 (2001).

178. Hooper, K., Petreas, M. X., She, J., Visita, P., Winkler, J., McKinney, M., et al. Analysis of breast milk to assess exposure to chlorinated contaminants in Kazakhstan: PCBs and organochlorine pesticides in southern Kazakhstan. *Environmental Health Perspectives*, 105: 1250–1254 (1997).

179. UNEP. Regionally based assessment of persistent toxic substances. Sub-Saharan Africa Regional Report, United Nations Environment Programme, December 2002.

180. J. Chakraborty and S. Das, “Molecular perspectives and recent advances in microbial remediation of persistent organic pollutants,” *Environmental Science and Pollution Research*, vol. 23, no. 17, pp. 16883–16903, 2016.

181. Degtyarenko KN (1999) Structural domain of P450 containing monooxygenase systems. *Protein Eng* 8:737–747

182. Parte S.G., Mohekar A.D., Kharat A.S. Microbial degradation of pesticide: A review. *Afr. J. Microbiol. Res.* 2017; 11:992–1012. doi: 10.5897/AJMR2016.8402.

183. Javaid M.K., Ashiq M., Tahir M. Potential of Biological Agents in Decontamination of Agricultural Soil. *Scientifica*. 2016; 2016:1598325. doi: 10.1155/2016/1598325.
184. Kumar M., Yadav A.N., Saxena R., Paul D., Tomar R.S. Biodiversity of pesticides degradation microbial communities and their environmental impact. *Biocatal. Agric. Biotechnol.* 2021; 31:101883. doi: 10.1016/j.bcab.2020.101883.
185. Bilal M., Iqbal H.M.N., Barceló D. Persistence of pesticides-based contaminants in the environment and their effective degradation using laccase-assisted biocatalytic systems. *Sci. Total Environ.* 2019; 695:133896. doi: 10.1016/j.scitotenv.2019.133896.
186. Kumar S., Singh A. Biopesticides: Present Status and the Future Prospects. *J. Fertil. Pestic.* 2015; 6:2–4. doi: 10.4172/2471-2728.1000e129.
187. Yadav I.C., Devi N.L. Pesticides Classification and Its Impact on Human and Environment. *Environ. Sci. Eng.* 2017; 6:140–157. doi: 10.20546/ijemas.2019.803.224.
188. Jayaraj R., Megha P., Sreedev P. Organochlorine pesticides, their toxic effects on living organisms and their fate in the environment. *Interdiscip. Toxicol.* 2016; 9:90–100. doi: 10.1515/intox-2016-0012.
189. Kolankaya D. Organochlorine pesticide residues and their toxic effects on the environment and organisms in Turkey. *Intern. J. Environ. Anal. Chem.* 2006; 86:147–160. doi: 10.1080/03067310500247918.
190. He T.T., Zuo A.J., Wang J.G., Zhao P. Organochlorine pesticides accumulation and breast cancer: A hospital-based case-control study. *Tumor Biol.* 2017; 39:1010428317699114. doi: 10.1177/1010428317699114.
191. Arrebola J.P., Belhassen H., Artacho-Cordón F., Ghali R., Ghorbel H., Boussen H., Perez-Carrascosa F.M., Expósito J., Hedhili A., Olea N. Risk of female breast cancer and serum concentrations of organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls: A case-control study in Tunisia. *Sci. Total Environ.* 2015; 520:106–113. doi: 10.1016/j.scitotenv.2015.03.045.
192. Roberts J.R., Reigart J.R. *Recognition and Management of Pesticide Poisonings*. 6th ed. U.S. Environmental Protection Agency; Washington, DC, USA: 2013. Organophosphate Insecticides; pp. 199–204.
193. Rathnayake L.K., Northrup S.H. Structure and mode of action of organophosphate pesticides: A computational study. *Comput. Theor. Chem.* 2016; 1088:9–23. doi: 10.1016/j.comptc.2016.04.024.
194. Eddleston M. Pesticides. *Medicine*. 2016; 44:193–196. doi: 10.1016/j.mpmed.2015.12.005.
195. Dhouib I., Jallouli M., Annabi A., Marzouki S., Gharbi N., Elfazaa S., Lasram M.M. From immunotoxicity to carcinogenicity: The effects of carbamate pesticides on the immune system. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 2016; 23:9448–9458. doi: 10.1007/s11356-016-6418-6.
196. Struger J., Grabuski J., Cagampan S., Sverko E., Marvin C. Occurrence and Distribution of Carbamate Pesticides and Metalaxyl in Southern Ontario Surface

Waters 2007–2010. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 2016; 96:423–431. doi: 10.1007/s00128-015-1719-x.

197. Arif I.A., Bakir M.A., Khan H.A. Microbial remediation of pesticides. In: Rathore H.S., Nollet L.M.L., editors. *Pesticides: Evaluation of Environmental Pollution*. 1st ed. Taylor & Francis Group; Boca Raton, FL, USA: 2012. pp. 131–144.

198. Wang Y., Chen C., Zhao X., Wang Q., Qian Y. Assessing joint toxicity of four organophosphate and carbamate insecticides in common carp (*Cyprinus carpio*) using acetylcholinesterase activity as an endpoint. *Pestic. Biochem. Physiol.* 2015; 122:81–85. doi: 10.1016/j.pestbp.2014.12.017.

199. Li Q., Kobayashi M., Kawada T. Carbamate Pesticide-Induced Apoptosis in Human T Lymphocytes. *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 2015; 12:3633–3645. doi: 10.3390/ijerph120403633.

200. Ensley S. Pyrethrins and pyrethroids. In: Gupta R.C., editor. *Veterinary Toxicology*. 2nd ed. Academic Press; Cambridge, MA, USA: 2007. pp. 494–498.

201. Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR) *Toxicological Profile for Pyrethrins and Pyrethroids*. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service; Atlanta, GA, USA: 2003.

202. Morgan M.K., MacMillan D.K., Zehr D., Sobus J.R. Pyrethroid insecticides and their environmental degradates in repeated duplicate-diet solid food samples of 50 adults. *J. Expo. Sci. Environ. Epidemiol.* 2018; 28:40–45. doi: 10.1038/jes.2016.69.

203. Wu S., Nomura Y., Du Y., Zhorov B.S., Dong K. Molecular basis of selective resistance of the bumblebee $BiNa_v1$ sodium channel to tau-fluvalinate. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2017; 114:12922–12927. doi: 10.1073/pnas.1711699114.

204. Saillenfait A.M., Ndiaye D., Sabaté J.P. Pyrethroids: Exposure and health effects—An update. *Int. J. Hyg. Environ. Health.* 2015; 218:281–292. doi: 10.1016/j.ijheh.2015.01.002.

205. Han J., Zhou L., Luo M., Liang Y., Zhao W., Wang P., Zhou Z., Liu D. Nonoccupational Exposure to Pyrethroids and Risk of Coronary Heart Disease in the Chinese Population. *Environ. Sci. Technol.* 2017; 51:664–670. doi: 10.1021/acs.est.6b05639.

206. Mishra J., Tewari S., Singh S., Arora N.K. Biopesticides: Where We Stand? In: Arora N.K., editor. *Plant Microbes Symbiosis: Applied Facets*. Springer India; New Delhi, India: 2015. pp. 37–75.

207. Sarwar M. Information on Activities Regarding Biochemical Pesticides: An Ecological Friendly Plant Protection against Insects. *Int. J. Eng. Adv. Res. Technol.* 2015; 1:27–31.

208. Parker K.M., Sander M. Environmental Fate of Insecticidal Plant-Incorporated Protectants from Genetically Modified Crops: Knowledge Gaps and Research Opportunities. *Environ. Sci. Technol.* 2017; 51:12049–12057. doi: 10.1021/acs.est.7b03456.

209. Montesinos E. Development, registration and commercialization of microbial pesticides for plant protection. *Int. Microbiol.* 2003; 6:245–252. doi: 10.1007/s10123-003-0144-x.

210. Haddi K., Tomé H.V.V., Du Y., Valbon W.R., Nomura Y., Martins G.F., Dong K., Oliveira E.E. Detection of a new pyrethroid resistance mutation (V410L) in the sodium channel of *Aedes aegypti*: A potential challenge for mosquito control. *Sci. Rep.* 2017; 7:46549. doi: 10.1038/srep46549.
211. Kleinschmidt I., Bradley J., Knox T.B., Mnzava A.P., Kafy H.T., Mbogo C., Ismail B.A., Bigoga J.D., Adechoubou A., Raghavendra K., et al. Implications of insecticide resistance for malaria vector control with long-lasting insecticidal nets: A WHO-coordinated, prospective, international, observational cohort study. *Lancet Infect. Dis.* 2018; 18:640–649. doi: 10.1016/S1473-3099(18)30172-5.
212. Sherwani S.I., Arif I.A., Khan H.A. Modes of Action of Different Classes of Herbicides. In: Price A., Kelton J., Sarunaite L., editors. *Herbicides, Physiology of Action, and Safety*. InTechOpen; London, UK: 2015. pp. 165–186.
213. Doolotkeldieva T., Bobusheva S., Konurbaeva M. The Improving Conditions for the Aerobic Bacteria Performing the Degradation of Obsolete Pesticides in Polluted Soils. *Airsoil Water Res.* 2021;14 doi: 10.1177/1178622120982590.
214. Jariyal M., Jindal V., Mandal K., Gupta V.K., Singh B. Bioremediation of organophosphorus pesticide phorate in soil by microbial consortia. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 2018; 159:310–316. doi: 10.1016/j.ecoenv.2018.04.063.
215. Oliveira B.R., Penetra A., Cardoso V.V., Benoliel M.J., Barreto Crespo M.T., Samson R.A., Pereira V.J. Biodegradation of pesticides using fungi species found in the aquatic environment. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 2015; 22:11781–11791. doi: 10.1007/s11356-015-4472-0.
216. Purnomo A.S., Sariwati A., Kamei I. Synergistic interaction of a consortium of the brown-rot fungus *Fomitopsis pinicola* and the bacterium *Ralstonia pickettii* for DDT biodegradation. *Heliyon.* 2020;6 doi: 10.1016/j.heliyon. 2020.e04027.
217. Scott C., Pandey G., Hartley C.J., Jackson C.J., Cheesman M.J., Taylor M.C., Pandey R., Khurana J.L., Teese M., Coppin C.W., et al. The enzymatic basis for pesticide bioremediation. *Indian J. Microbiol.* 2008; 48:65–79. doi: 10.1007/s12088-008-0007-4.
218. Luo X., Zhang D., Zhou X., Du J., Zhang S., Liu Y. Cloning and characterization of a pyrethroid pesticide decomposing esterase gene, *Est3385*, from *Rhodopseudomonas palustris* PSB-S. *Sci. Rep.* 2018;8:7384. doi: 10.1038/s41598-018-25734-9.
219. Gangola S., Sharma A., Bhatt P., Khati P., Chaudhary P. Presence of esterase and laccase in *Bacillus subtilis* facilitates biodegradation and detoxification of cypermethrin. *Sci. Rep.* 2018; 8:12755. doi: 10.1038/s41598-018-31082-5.
220. Castro J.V., Peralba M.C.R., Ayub M.A.Z. Biodegradation of the herbicide glyphosate by filamentous fungi in platform shaker and batch bioreactor. *J. Environ. Sci. Health Part B.* 2007; 42:883–886. doi: 10.1080/03601230701623290.
221. Kaczynski P., Lozowicka B., Wolejko E., Iwaniuk P., Konecki R., Dragowski W., Lozowicki J., Amanbek N., Rusilowska J., Pietraszko A. Complex study of glyphosate and metabolites influence on enzymatic activity and microorganisms' association in soil enriched with *Pseudomonas fluorescens* and

sewage sludge. *J. Hazard. Mater.* 2020; 393:122443. doi: 10.1016/j.jhazmat.2020.122443.

222. Sondhia S., Rajput S., Varma R.K., Kumar A. Biodegradation of the herbicide penoxsulam (triazolopyrimidine sulphonamide) by fungal strains of *Aspergillus* in soil. *Appl. Soil Ecol.* 2016; 105:196–206. doi: 10.1016/j.apsoil.2016.03.010.

223. Alexandrino D.A.M., Mucha A.P., Almeida C.M.R., Carvalho M.F. Microbial degradation of two highly persistent fluorinated —epoxiconazole and fludioxonil. *J. Hazard. Mater.* 2020; 394:122545. doi: 10.1016/j.jhazmat.2020.122545.

224. Wang X., Hou X., Liang S., Lu Z., Hou Z., Zhao X., Sun F., Zhang H. Biodegradation of fungicide Tebuconazole by *Serratia marcescens* strain B1 and its application in bioremediation of contaminated soil. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 2018; 127:185–191. doi: 10.1016/j.ibiod.2017.12.001.

225. Hoagland R.E., Zablotowicz R.M., Hall J.C. Pesticide Metabolism in Plants and Microorganisms: An Overview. In: Hall J.C., Hoagland R.E., Zablotowicz R.M., editors. *Pesticide Biotransformation in Plants and Microorganisms*. American Chemical Society; Washington, DC, USA: 2000. pp. 2–27. ACS Symposium Series.

226. Ma Y., Zhai S., Mao S.Y., Sun S.L., Wang Y., Liu Z.H., Dai Y.J., Yuan S. Co-metabolic transformation of the neonicotinoid insecticide imidacloprid by the new soil isolate *Pseudoxanthomonas indica* CGMCC 6648. *J. Environ. Sci. Health Part B.* 2014; 49:661–670. doi: 10.1080/03601234.2014.922766.

227. Guerin T.F. Natural attenuation of metabolites of a chlorinated pesticide in soil. *Int. J. Environ. Stud.* 2005; 62:235–248. doi: 10.1080/0020723042000257745.

228. Betancur-Corredor B., Pino N.J., Cardona S., Penuela G.A. Evaluation of biostimulation and Tween 80 addition for the bioremediation of long-term DDT-contaminated soil. *J. Environ. Sci.* 2015; 28:101–109. doi: 10.1016/j.jes.2014.06.044.

229. Baćmaga M., Wyszowska J., Kucharski J. Biostimulation as a process aiding tebuconazole degradation in soil. *J. Soils Sediments.* 2019; 19:3728–3741. doi: 10.1007/s11368-019-02325-3.

230. ISO 18400-203:2018. Soil quality — Sampling — Part 203: Investigation of potentially contaminated sites. ISO/TC 190/SC 7 Impact assessment, - 2018. - P. 32.

231. GOST 26213-91. Soil. Determination of humus by the Tyurin method. - 1991.

232. ST RK 2131-2011. Soil quality. Determination of organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls.

233. Ufarté L., Laville E., Duquesne S., Potocki-Veronese G. (2015). Метагеномика для обнаружения загрязняющих ферментов. *Biotechnol. Adv.* 33, 1845–1854. 10.1016

234. Нетрусова А. И. Большой практикум по микробиологии // учеб. пособие для студ. высш. учеб. заведений под ред. М. : ИЦ «Академия», - 2005. - № 2. - С. 608.

235. О. Ю. Ксенофонтова, П.А. Чиров. Экспериментальные данные о взаимодействии микроорганизмов и пестицидов в почве. ПОВОЛЖСКИЙ ЭКОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ. 2005. № 1. С. 29 – 35.

236. Skipper HD (1999) Bioremediation of contaminated soils. In: SylviaDM (ed) Principles and applications of soil microbiology. Prentice Hall, Upper Saddle River, NJ, pp 469–48.

237. Abdieva G.Zh., Ualieva P.S., Malik A.M., Artmann A.T., Akimbekov N.Sh. Selection of POPs degrading microorganisms and their molecular genetic identification // «Вестник КазНУ. Серия биологическая» № 2(83) 2020 год. С. 42-52

238. Мәлік А.М., Жубанова А.А., Уалиева П.С., Абдиева Г.Ж., Тастамбек К.Т., Акимбеков Н.Ш. Изучение микробного разнообразия почв и воды, загрязненных стойкими органическими загрязнителями. Статья Вестник КазНУ, Экологическая серия, №56, 2018. - С 77

239. A.M.Malik, Abdieva G.Zh., Ualieva P.S., Akimbekov N.Sh. Study of the destructive activity of microorganisms isolated from soil contaminated by pesticides. E3S Web Conf. Volume 122, 2019 *The 2nd International Conference on Renewable Energy and Environment Engineering (REEE 2019)*. DOI: <https://doi.org/10.1051/e3sconf/201912205007>

240. Saitou N, Nei M. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol Biol Evol.* 1987 Jul;4(4):406-25. doi: 10.1093/oxfordjournals.molbev.a040454. PMID: 3447015.

241. A.M. Malik, G.Zh. Abdieva, P.S. Ualieva. "Microbial diversity of soils contaminated with persistent organic pollutants and POP-degrading strains". *Water, Air, & Soil Pollution, Q2, 68-процентиль. Water Air Soil Pollut* (2023) 234:290 <https://doi.org/10.1007/s11270-023-06193-z>

242. Yermekkyzy N., Yeshmukhanbet A.N., Abdieva G.Zh., Malik A.M. Study of the destructive activity of microorganisms isolated from places contaminated with chlororganic pesticides // *Annali d'Italia Scientific Journal of Italy*, Vol. 1, no. 7, 2020, pp. 3-7. ISSN 3572-2436 http://www.anditalia.com/wp-content/uploads/2020/05/Annali_d%E2%80%99Italia-%E2%84%967-2020-part-1.pdf

243. WHO. Environmental health criteria 9: DDT and its derivatives. Geneva, Switzerland: World Health Organization, - 1979.

244. WHO. Environmental health criteria 91: Aldrin and Dieldrin. Geneva, Switzerland: World Health Organization, - 1989.

245. WHO. Environmental health criteria 38: Heptachlor. Geneva, Switzerland: World Health Organization, - 1984.

246. WHO. Environmental health criteria 195: Hexachlorobenzene. Geneva, Switzerland: World Health Organization, - 1997.

247. FAO, WHO. 1968 evaluations of some pesticide residues in food: Dicofol: FAO/PL:1968/M/9/1 WHO/Food Add. /69.35. Geneva, Switzerland: Food and Agriculture Organization of the United Nations, World and Health Organization, - 1969.

248. Abdieva G.Zh., Ualieva P.S., Malik A.M. *, Abylayeva U.A., Rakhimzhanova B.E. Study of biological properties and destructive activity of heterotrophic bacteria isolated from soil samples contaminated with pesticides. «Reports of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan», №1, 2021, p. 24-33.

249. Абдиева Г.Ж., Уалиева П.С., Мәлік А.М., Акимбеков Н.Ш., Ешмуханбет А.Н., Ермекқызы Н. Талғар ауданының пестицидтермен ластанған топырақ үлгілерінің микробтық алуантүрлігі. «Вестник КазНУ. Серия биологическая» №3 (86) 2021 год. С. 50-63.

250. A.M. Malik, G.Zh. Abdieva, P.S. Ualieva, A.A. Zhubanova, A.T. Artmann, N.Sh. Akimbekov, K.T. Tastambek. Screening of microorganisms – destructors of chlororganic pollutants. Bulletin of KazNU Al-Farabi Kazakh National University, Ecological series, № (4) 61, 2019, pp 61.

251. Paradis, E., Claude, J., and Strimmer, K. (2004). APE: analyses of phylogenetics and evolution in R language. *Bioinformatics* 20, 289–290. doi: 10.1093/bioinformatics/btg412

252. Bhardwaj P., Singh K.R., Jadeja N.B., Phale P.S., Kapley A. Atrazine Bioremediation and Its Influence on Soil Microbial Diversity by Metagenomics Analysis. *Indian J. Microbiol.* 2020;60:388–391. doi: 10.1007/s12088-020-00877-4.

253. Sagarkar S, Mukherjee S, Nousiainen A, Björklöf K, Purohit HJ, Jørgensen KS, Kapley A (2013) Monitoring bioremediation of atrazine in soil microcosms using molecular tools. *Environ Pollut* 172:108–115. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2012.07.048>

254. Khan A, Rao TS (2019) Molecular evolution of xenobiotic degrading genes and mobile DNA elements in soil bacteria. In: Das S, Dash H (eds) *Microbial diversity in the genomic era*. Academic Press, New York, pp 657–678

255. Ondov BD, Bergman NH, and Phillippy AM. Interactive metagenomic visualization in a Web browser. *BMC Bioinformatics*. 2011 Sep 30; 12(1):385.

256. Bhardwaj P, Sharma A, Sagarkar S, Kapley A (2015) Mapping atrazine and phenol degradation genes in *Pseudomonas* sp. EGD-AKN5. *Biochem Eng J* 102:125–134. https://doi.org/10.1007/978-81-322-2598-0_17

257. Singh DK (2008) Biodegradation and bioremediation of pesticide in soil: concept, method and recent developments. *Indian J Microbiol* 48:35–40. <https://doi.org/10.1007/s12088-008-0004-7>

258. Мәлік А.М., Абдиева Г.Ж., Уалиева П.С., Жұбанова А.А., Артманн А.Т., Акимбеков Н.Ш., Тастамбек К.Т. Selection of POPs degrading microorganisms and their molecular genetic identification. Стаття Вестник КазНУ, Экологическая серия, №4 (61) 2019. - С 61-71

259. Aislabie J, Lloyd-Jones G (1995). A review of bacterial-degradation of pesticides. *Aust. J. Soil Res.* 33(6):925-942.

260. Udiković-Kolić N, Scott C, Martin-Laurent F (2012) Evolution of atrazine-degrading capabilities in the environment. *Appl Microbiol Biotechnol* 96:1175–1189. <https://doi.org/10.1007/s00253-012-4495-0>

261. Anhalt JC, Moorman TB, Koskinen WC (2007). Biodegradation of imidacloprid by an isolated soil microorganism. *J. Environ. Sci. Health Part B*. 42:509-514.
262. Bao YJ, Xu Z, Li Y, Yao Z, Sun J, Song H (2017) High-throughput metagenomic analysis of petroleum contaminated soil microbiome reveals the versatility in xenobiotic aromatics metabolism. *J Environ Sci* 56:25–35. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2016.08.022>
263. ASTM D1762-84. Standard Test Method for Chemical Analysis of Wood Charcoal: ICS Code: 75.160.10. USA: American Society for Testing and Materials, - 2021. - P. 2.
264. Anwar S, Liaquat F, Khan QM, Khalid ZM, Iqbal S (2009). Biodegradation of chlorpyrifos and its hydrolysis product 3,5,6trichloro-2-pyridinol by *Bacillus pumilus* strain C2A1. *J. Hazard. Mater.* 168:400-405.
265. Chaudhry GR, Chapalamadugu S (1991). Biodegradation of halogenated organic compounds microbiological reviews. *Microbiol. Mol. Biol.* 55(1):59-79.
266. Barragan-Huerta BE, Costa-Pérez C, Peralta-Cruz J, Barrera-Cortés J, Esparza-García F, Rodríguez-Vázquez R (2007). Biodegradation of organochlorine pesticides by bacteria grown in microniches of the porous structure of green bean coffee. *Int. Biodeterior. Biodegradation* 59(3): 239-244.
267. Batisson I, Crouzet O, Besse-Hoggan P, Sancelme M, Mangot JF, Mallet C, Bohatier J (2009). Isolation and characterization of mesotrione-degrading *Bacillus* sp. from soil. *Environ. Pollut.* 157:1195-1201.
268. J.A. Field, Reyes Sierra-Alvarez. Microbial transformation and degradation of polychlorinated biphenyls *Environmental Pollution* (2008) <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2007.10.016>

ҚОСЫМША А

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ **РЕСПУБЛИКА КАЗАХСТАН**

REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

ПАТЕНТ
PATENT

№ 34115

ӨНЕРТАБЫСҚА / НА ИЗОБРЕТЕНИЕ / FOR INVENTION



(21) 2018/0680.1

(22) 01.10.2018

Қазақстан Республикасы Өнертабыстары мемлекеттік тізілімінде тіркеу күні
/ Дата регистрации в Государственном реестре изобретений Республики
Казахстан / Date of the registration in the State Register of Inventions of the
Republic of Kazakhstan: 09.01.2020

(54) Пестицидтердің микробиологиялық құрылымының бұзылу тәсілі
Способ микробиологической деструкции пестицидов
Method of microbial degradation of pesticides

(73) Тастамбек Қуаныш Талғатұлы (KZ)
Tastambek Kuanysh Talgatuly (KZ)

(72) Акимбеков Нуралы Шардарбекович (KZ) Тастамбек Қуаныш Талғатұлы (KZ) Мәлік Ажар Мәлікқызы (KZ) Абдиева Гулжамал Жанадиловна (KZ) Уалиева Перизат Серикказыевна (KZ) Жубанова Ажар Ахметовна (KZ) Кайырманова Гулжан Кайыржановна (KZ)	Akimbekov Nuraly Shardarbekovich (KZ) Tastambek Kuanysh Talgatuly (KZ) Malik Azhar Malikkyzy (KZ) Abdiyeva Gulzhamal Zhanadilovna (KZ) Ualiyeva Perizat Serikkazyevna (KZ) Zhubanova Azhar Akhmetovna (KZ) Kaiyrmanova Gulzhan Kaiyrzhanovna (KZ)
---	---



ЭЦК қол қойылды
Подписано ЭЦП
Signed by EDS

К. Батаева
K. Batayeva

«Ұлттық зияткерлік меншік институты» РМК директорының м.а.
И.о. директора РГП «Национальный институт интеллектуальной собственности»
Executive director of RSE «National institute of intellectual property»

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ



РЕСПУБЛИКА КАЗАХСТАН

REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

ПАТЕНТ PATENT

№ 7731

ПАЙДАЛЫ МОДЕЛЬГЕ / НА ПОЛЕЗНУЮ МОДЕЛЬ / FOR UTILITY MODEL



(21) 2022/1082.2

(22) 07.04.2021

(45) 13.01.2023

(54) Органохлорлы пестицидтерді микробиологиялық жою тәсілі
Способ микробиологической деструкции хлорорганических пестицидов
Method for microbiological decomposition of organochlorine pesticides

(73) Мәлік Ажар Мәлікқызы (KZ)
Malik Azhar Malikkyzy (KZ)

(72) Мәлік Ажар Мәлікқызы (KZ)
Абдиева Гулжамал Жанадиловна (KZ)
Уалиева Перизат Серикказыевна (KZ)
Акимбеков Нуралы Шардарбекович (KZ)
Тастамбек Қуаныш Талғатұлы (KZ)
Жұбанова Ажар Ахметқызы (KZ)

Malik Azhar Malikkyzy (KZ)
Abdiyeva Gulzhamal Zhanadilovna (KZ)
Ualiyeva Perizat Serikkazyevna (KZ)
Akimbekov Nuraly Shardarbekovich (KZ)
Tastambek Kuanysh Talgatuly (KZ)
Zhubanova Azhar Akhmetkyzy (KZ)



ЭЦҚ қол қойылды
Подписано ЭЦП
Signed with EDS

Е. Оспанов
Е. Оспанов
Y. Ospanov

«Ұлттық зияткерлік меншік институты» РМК директоры
Директор РГП «Национальный институт интеллектуальной собственности»
Director of the «National Institute of Intellectual Property» RSE

ҚОСЫМША Ә



ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ РЕСПУБЛИКА КАЗАХСТАН

**АВТОРЛЫҚ ҚҰҚЫҚПЕН ҚОРҒАЛАТЫН ОБЪЕКТІЛЕРГЕ ҚҰҚЫҚТАРДЫҢ
МЕМЛЕКЕТТІК ТІЗІЛІМГЕ МӘЛІМЕТТЕРДІ ЕНГІЗУ ТУРАЛЫ**

КУӘЛІК

2023 жылғы «11» сәуір № 34531

Автордың (лардың) жөні, аты, әкесінің аты (егер ол жеке басын куәландыратын құжатта көрсетілсе):
МӘЛІК АЖАР МӘЛІКҚЫЗЫ, Абдиева Гулжамал Жанадиловна, Уалиева Перизат Серикказыевна

Авторлық құқық объектісі: **әдеби туынды**

Объектінің атауы: **Микроорганизмы – деструкторы разлагающие стойкие органические загрязнители и их
молекулярно-генетическая идентификация**

Объектіні жасаған күні: **08.04.2023**





Құжат түпнұсқасын <http://www.kazpatent.kz/ru> сайтының
"Авторлық құқық" бөлімінде тексеруге болады. <https://copyright.kazpatent.kz>

Подлинность документа возможно проверить на сайте kazpatent.kz
в разделе «Авторское право» <https://copyright.kazpatent.kz>

ЭЦҚ қол қойылды Е. Оспанов

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ



РЕСПУБЛИКА КАЗАХСТАН

АВТОРЛЫҚ ҚҰҚЫҚПЕН ҚОРҒАЛАТЫН ОБЪЕКТІЛЕРГЕ ҚҰҚЫҚТАРДЫҢ
МЕМЛЕКЕТТІК ТІЗІЛІМГЕ МӘЛІМЕТТЕРДІ ЕНГІЗУ ТУРАЛЫ

КУӘЛІК

2024 жылғы «5» сәуір № 44347

Автордың (лардың) жөні, аты, әкесінің аты (егер ол жеке басын куәландыратын құжатта көрсетілсе):
МӘЛІК АЖАР МӘЛІКҚЫЗЫ, Абдиева Гулжамал Жанадиловна, Уалиева Перизат Серикқазыевна

Авторлық құқық объектісі: **әдеби туынды**

Объектінің атауы: **Турақты органикалық қосылыстарды ыдыратуға қабілетті перспективті деструктор –
штамдардың биосәйкестігін зерттеу және консорциум құрастыру**

Объектіні жасаған күні: **04.04.2024**



Құжат түпнұсқалығын <http://www.kazpatent.kz/ru> сайтының
“Авторлық құқық” бөлімінде тексеруге болады. <https://copyright.kazpatent.kz>

Подлинность документа возможно проверить на сайте kazpatent.kz
в разделе «Авторское право» <https://copyright.kazpatent.kz>

ЭЦҚ қол қойылды

Е. Оспанов