

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

SERIES OF BIOLOGICAL AND MEDICAL

ISSN 2224-5308

Volume 4, Number 310 (2015), 121 – 129

**MICROBIAL CONSORTIUM –
THE MOST SUCCESSFUL WAY
OF MICROBIOLOGICAL INDUSTRY (REVIEW)**

M. G. Saubenova, T. V. Kuznetsova, A. E. Khalymbetova, M. M. Shormanova

Republic State Enterprise «Institute of Microbiology and Virology» Science Committee, Ministry of Sci. and Ed.,
Republic of Kazakhstan, Almaty.
E-mail: raduga.30@mail.ru

Keywords: microorganisms, consortiums, soil, dairy industry, probiotics, symbiosis, antagonism, competitiveness, population stability.

Abstract. Nowadays the opinion, that microbial consortia are "hot spot" of growth for Bioengineering and industrial biotechnology, which will determine their effectiveness over the time, as well as the pace of their development, is established. The examples of the successful use of associations of microorganisms in various areas of biotechnology, such as the production of drugs for improving soil fertility, production of probiotics and feed additives, as well as in the food industry, and the reasons of the failures associated with non-compliance with the conditions of their existence are given. It is shown that for the successful introduction of microbial agents, it is necessary that they have the competitive ability and population stability in a variety of ecological niches, which to a large extent can be attributed to their high growth rate in the particular conditions, as well as the presence of antagonist activity with respect to competing for feed resources of microorganisms. To create a sustainable and productive consortium it is necessary, that their constituent organisms have been associated food chain and do not have the inhibitory effects to each other. Best results can thus be obtained using consortia microorganisms which are in symbiotic or mutualistic relationships. Selection of active microorganisms and their adaptation to each other have been successfully carrying out in continuous culture.

УДК 579.6: 579.67

**КОНСОРЦИУМЫ МИКРООРГАНИЗМОВ –
НАИБОЛЕЕ УСПЕШНЫЙ ПУТЬ РАЗВИТИЯ
МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ (ОБЗОР)**

М. Г. Саубенова, Т. В. Кузнецова, А. Е. Халымбетова, М. М. Шорманова

РГП «Институт микробиологии и вирусологии» КН МОН РК, Алматы, Казахстан

Ключевые слова: микроорганизмы, консорциумы, почва, молочная промышленность, пробиотики, симбиоз, антагонизм, конкурентноспособность, популяционная устойчивость.

Аннотация. В настоящее время уже создано мнение, что для биоинженерии и индустриальной биотехнологии микробные консорциумы являются той «горячей точкой» роста, которая со временем будет определять их эффективность, а также темпы их дальнейшего развития. Приводятся примеры успешного использования ассоциаций микроорганизмов в различных областях биотехнологии, таких как получение препаратов для улучшения почвенного плодородия, производства пробиотиков и кормовых добавок, а также в пищевой промышленности, и рассматриваются причины неудач, связанных с несоблюдением условий их существования. Показано, что для успешной интродукции микробных препаратов в различные экологические ниши необходимо, чтобы они обладали конкурентной способностью и популяционной устойчивостью, что в большой степени может быть обусловлено их высокой скоростью роста в данных конкретных

условиях, а также наличием антагонистической активности по отношению к конкурирующим за источники питания микроорганизмам. Для создания устойчивых и продуктивных консорциумов необходимо, чтобы входящие в них микроорганизмы были связаны пищевой цепочкой и не оказывали друг на друга ингибирующего воздействия. Наилучшие результаты при этом могут быть получены при использовании консорциумов, микроорганизмы в которых находятся в симбиотических или мутуалистических отношениях. Селекция активных микроорганизмов и их адаптация друг к другу наиболее успешно осуществляется в условиях непрерывного культивирования.

Становление микробиологии как науки было основано на выделении и исследовании монокультур микроорганизмов, позволившем выявить закономерности метаболизма различных типов микроорганизмов, их распространения, участия в различных процессах синтеза или распада, лежащих в основе жизнедеятельности живых организмов, а также возможности использования в качестве продуцентов ряда продуктов микробного синтеза.

Между тем известно, что в природе, за исключением, может быть, только экстремальных условий (горячие гейзеры и др.), не существует условий для жизнедеятельности монокультур микроорганизмов. В подавляющем большинстве случаев в природных условиях складываются сообщества микроорганизмов, связанных между собой пищевой цепочкой. Почвенно-климатические, а также некоторые антропологические факторы, оказывают на их состав и жизнедеятельность большое влияние и выступают фактором отбора. При этом помимо специфических условий той экологической ниши, в которой они обитают, они находятся под воздействием метаболитов других микроорганизмов, что также отражается на их функциях. Взаимодействие микроорганизмов между собой редко бывает индифферентным, чаще оно бывает стимулирующим или ингибирующим. Именно эти взаимоотношения лежат в основе формирования микробиоценозов в каждом конкретных почвенно-климатических условиях. Положительное или отрицательное влияние метаболитов приводит к различным результатам взаимодействий микроорганизмов, а именно к их успешному сосуществованию, доминированию или вытеснению.

Жестокая конкуренция за субстрат способствует выживанию тех микроорганизмов, которые обладают более высокой скоростью роста, а также возможностью подавлять жизнедеятельность конкурентов путем синтеза антибиотических веществ или изменения условий их существования.. Неудачи, связанные с использованием для повышения плодородия почвы и защиты растений препаратов, представляющих собой монокультуры микроорганизмов, могут быть объяснены интродукцией их без знания взаимоотношений с почвенными микроорганизмами.

В промышленных условиях, например, при производстве биомассы одноклеточных в чистых, но нестерильных условиях, далеко не всегда засеваемый вид остается доминирующим. Появляются микроорганизмы – засорители, зачастую успешно конкурирующие со штаммом-продуцентом и порой резко снижающие выход искомого продукта. Утилизация сложных субстратов, как в природных, так и в промышленных условиях наиболее полно и успешно осуществляется именно смешанными культурами, при этом спонтанно складывающиеся ассоциации не всегда оказываются наиболее эффективными.

Теоретическому и экспериментальному анализу закономерностей развития смешанных культур микроорганизмов в открытых системах, а также использованию микробных ассоциаций в некоторых областях прикладной микробиологии удалено достаточное внимание [1, 2]. Однако даже в последние годы, когда на смену монокультурам в биотехнологии все больше приходят ассоциации микроорганизмов, подбор микробных компонентов в них зачастую осуществляется без учета взаимодействия их как между собой, так и с другими микроорганизмами, что и является причиной низкой эффективности подобного рода биопрепаратов.

Наиболее удачным примером вышеуказанного может служить история с японским препаратом «Кюссей», первоначально предназначенный для разуплотнения почвы в садах и понижения токсичности почв. В его состав входило в первом варианте 3 группы микроорганизмов в совместной культуре – дрожжи, молочнокислые и фотосинтезирующие бактерии, затем в разные композиции было добавлено еще до трех видов. Это легло в основу разработки целого ряда новых комплексных микробных препаратов под общим называнием Эффективные Микроорганизмы. Российскими учеными был предложен сложный препарат сельскохозяйственного назначения, объединяющий до 20 видов микроорганизмов, получивший название «Биофит». Состав японской

закваски в нем был усилен целлюлолитическими, азотфиксирующими и фосфатомобилизующими микроорганизмами и имел антагонистическую активность. Однако полностью заменить им минеральные удобрения, как предполагалось ранее, и использовать его как средство защиты растений не получилось, что в большой степени связано с трудностями соблюдения технологии производства и использования произвольно набранных микроорганизмов и потерей, вследствие этого, отдельных микробных компонентов. Так, по данным А. Г. Харченко [3], изучение специалистами различных коммерческих препаратов, взятых из розничной торговли, показывает, что вместо заявленного микробного разнообразия обнаруживаются лишь дрожжи и молочнокислые бактерии, то есть микроорганизмы, находящиеся в симбиотических взаимоотношениях.

Смешанные культуры молочнокислых бактерий и дрожжей издавна используются в практике человеческой деятельности. Они лежат в основе получения таких ценных молочнокислых продуктов как кефир, сметана, кумыс, шубат. При подобном сочетании усиливаются показатели ферментативной активности отдельных микроорганизмов, в частности, ферментов брожения. При этом одни формы молочнокислых бактерий обогащают среду ароматическими веществами, другие влияют на вкусовые качества, а третья определяют консистенцию продукта. Дрожжевые клетки используют продукты метаболизма молочнокислых бактерий, обогащая в свою очередь их необходимым комплексом витаминов. Зачастую такие смешанные культуры складываются спонтанно, и полученные закваски могут неопределенно долго использоваться в домашних условиях. Наглядным примером симбиоза дрожжей и молочнокислых бактерий могут служить «кефирные зерна», придающие молочнокислому напитку общезвестные оздоровительные свойства. В процессе молочнокислого и спиртового брожения происходит более глубокая пептонизация белков молока, что обеспечивает диетические свойства кефира. Смешанная культура компонентов кефирных заквасок обладает высокой антагонистической активностью, что успешно используется при различных заболеваниях желудочно-кишечного тракта.

При исследовании микрофлоры заквасок казахских национальных продуктов, обладающих высоким оздоровительным эффектом, было замечено, что монокультуры молочнокислых бактерий при их выделении из ассоциаций, снижают свою антибактериальную активность. Нами была поставлена задача получения ассоциаций молочнокислых микроорганизмов с высокой антагонистической активностью по отношению к патогенным грибам, в частности, дрожжам рода *Candida*. При составлении смешанных культур было обнаружено, что для появления противогрибковой активности необходимо введение в нее лактозосбраживающих дрожжей [4]. При этом довольно значительный размер зон подавления роста грибов (до 40 мм в диаметре) меняет традиционные представления о слабой противогрибковой активности молочнокислых бактерий. Отмечено, что в случае устранения из ассоциации дрожжей с помощью противогрибкового антибиотика нистатина эффект подавления роста *C. albicans* пропадает. В условиях непрерывного культивирования в режиме pH-стата был отселекционирован консорциум молочнокислых микроорганизмов, характеризующийся стабильностью и популяционной устойчивостью [5], который был внедрен в качестве закваски для производства шубата, не только способствующего элиминации из ЖКТ человека условно-патогенных и патогенных дрожжевых и бактериальных микроорганизмов, но также обладающий антивирусными свойствами [6].

Продуктом симбиоза дрожжей и кислотообразующих бактерий является также так называемый «Тибетский рис», целебные качества которого подтверждены научно [7].

Молочнокислые бактерии в сочетании с дрожжами применяются в составе биопрепарата, предназначенного для использования в качестве пробиотика [8]. Однако показано, что малокомпонентные составы не всегда способны изменить устоявшийся дисбаланс микробного сообщества в кишечном тракте и оказать влияние на формирование нормального микробного сообщества. Их интродукция может быть успешной только в том случае, если в экосистеме, каковой является сообщество микроорганизмов желудочно-кишечного тракта, произойдет в результате этого повышение ферментативной активности, и интродуцируемые микроорганизмы не будут элиминированы в результате естественного отбора. Для этого необходимы симбиотические взаимодействия между ними, обеспечивающие их конкурентоспособность и популяционную устойчивость. Для повышения продуктивности сельскохозяйственных животных и предотвращения их заболеваний путем расширения спектра antimикробного действия успешно используют многокомпонентные

микробные препараты, состоящие из большого набора разных штаммов молочнокислых бактерий и дрожжевых организмов, обладающие комплексным действием [9].

С целью повышения воздействия биопрепараторов на доступность питательных веществ корма широко применяется использование в составе препарата также целлюлолитических бактерий, как руминококков [10], так и спорообразующих бациллярных штаммов [11-13].

При создании любого комплексного микробного препарата необходимо учитывать в первую очередь межмикробные взаимодействия, такие как их способность взаимовыгодно использовать метаболиты друг друга, а также подавлять жизнедеятельность конкурентов за субстрат. Примером таких взаимоотношений в природе являются сообщества микроорганизмов, разлагающих растительные остатки. Ведущую роль в этих процессах играют грибы и бактерии, синтезирующие целлюлолитические ферменты. Сопутствующие микроорганизмы, утилизируя продукты их жизнедеятельности, устраняют тем самым эффект ретроингибиования, способствуя активизации метаболизма целлюлолитических микроорганизмов, что приводит к более глубокой конверсии субстрата и к формированию консорциумов микроорганизмов, взаимно обогащающих друг друга и обеспечивающих плодородие почвы.

Являясь комбинацией различных микробных компонентов, существующих на взаимно выгодных условиях, микробные консорциумы становятся значительно менее чувствительными к различным повреждающим факторам и ингибиторам и характеризуются популяционной устойчивостью и конкурентной способностью.

В последние годы как во всем мире, так и в РК, отмечается нарушение естественного баланса в саморегулирующейся экосистеме растения – микроорганизмы, тогда как именно последним принадлежит решающая роль в обеспечении почвенного плодородия. Нарушение в результате антропологического воздействия оптимальной естественной среды существования растений приводит к снижению их устойчивости к неблагоприятным факторам и невозможности полного проявления их природного потенциала. В результате глобальных изменений в некоторых видах почв отдельные виды микроорганизмов находятся на грани исчезновения, а на их место приходят нетипичные для почвеннообразовательных процессов и эффективного взаимодействия с растениями микроорганизмы, которые не «кормят» сельскохозяйственные культуры элементами питания, а паразитируют на них [3].

В настоящее время наиболее перспективным направлением в решении проблемы улучшения почвенного плодородия признана разработка биопрепараторов, стимулирующих рост растений, а также подавляющих жизнедеятельность фитопатогенов различной природы. Успешное функционирование многокомпонентного биопрепарата в почве зависит от его конкурентной способности, которая определяется более высокой активностью метаболизма в данных условиях, а также способностью подавлять жизнедеятельность посторонних микроорганизмов, менее пригодных для улучшения условий существование растений, или даже патогенных для них. Повышенная же конкурентная способность биопрепарата, основанная на правильном подборе его микробных компонентов, обеспечит его доминирование в почве и устранит необходимость затрат на ежегодное внесение его.

Исходя из этого, для создания полиштаммового комплексного биопрепарата представляется необходимым, прежде всего, подобрать микробные компоненты, не оказывающие подавляющего влияния друг на друга, а по возможности, связанные пищевой цепочкой, что является основным условием для формирования симбиотических взаимоотношений. Для того, чтобы микроорганизмы легко адаптировались в условиях конкуренции за субстрат в микробиоценозах, необходимо чтобы они имели высокую антагонистическую активность по отношению к другим микроорганизмам, не обладающими полезными для растений свойствами. Известно, что именно антагонистические свойства микроорганизмов являются определяющим механизмом колонизационной резистентности биотопа [14], потому такое взаимодействие микроорганизмов в биопрепараторе, наряду с высокой скоростью роста, позволит ему обрести конкурентную способность и сохраняться в почве. При этом в качестве объекта микробной географии следует рассматривать не биологический вид и не произвольный набор микроорганизмов, а микробное сообщество. Стратегия симбиотических (кооперативных) адаптаций является не менее, а может быть даже более распространенной в живой природе, чем стратегия индивидуальных адаптаций. Есть мнение, что тема взаимоотношения

микроорганизмов может быть выделена в самостоятельную отрасль биологической науки – симбиологию [15].

Как известно, географический фактор в распределении микроорганизмов проявляется через комплекс экологических факторов: влажность, тип субстрата, кислотность, температура, степень засоленности. Для разных почв характерны разные ассоциации микроорганизмов – комплексы доминирующих почвенных микробов. Именно список доминантов является одним из репрезентативных показателей таксономической структуры микробных комплексов, тесно связанных с типом экосистем [16]. С учетом большого разнообразия почв и почвенно-климатических условий, участвующих в их формировании, представляется необходимым разработка биопрепарата для каждого конкретного случая.

С целью разработки альтернативной стратегии экологически устойчивого земледелия путем создания новых видов биопрепараторов следует использовать микробные комплексы из местных бактериальных штаммов, характеризующихся низкой чувствительностью к биоценотическим факторам и устойчивостью к стандартным пестицидам, способных лучше сохранять свои основные свойства в экстремальных условиях, являющихся более перспективными по сравнению с импортными препаратами [17]. Важнейшим условием их пригодности является также технологичность штаммов: высокая скорость роста, неприхотливость по отношению к источникам питания, устойчивость к бактериофагам.

Делом ближайшего будущего становится создание ассоциаций микроорганизмов почв, и разработка технологии управления ими в современных агроландшафтах. Для решения этой задачи российскими учеными разрабатываются молекулярные методы анализа таких структур и идентификации почвенных сообществ микроорганизмов [18].

Известно, что между микроорганизмами существуют также взаимоотношения различного типа, далеко выходящие за пределы связей, обусловленных пищевой цепочкой. Поскольку специфика микробиоты почв формируется под влиянием почвенно-климатических условий, для гарантированно высокого эффекта применения препарата, обеспечивающего коррекцию микрофлоры и способствующего максимальному проявлению природного потенциала сельскохозяйственных растений, представляется целесообразным его разработка с их учетом в каждом конкретном случае.

При выполнении проекта «Разработка комплексного многокомпонентного бактериального препарата широкого спектра действия для стимуляции роста и защиты различных сельскохозяйственных культур» нами была показана принципиальная возможность создания такого биопрепарата, и в 2014 году в условиях полевых опытов на делянках с различными сельскохозяйственными растениями, культивируемыми на сероземах Жамбылской области, выявлена его высокая активность. Отобранные для производства биопрепарата ассоциации бактерий при использовании на посевах озимой и яровой пшеницы, ярового ячменя, люцерны, сафлора и сахарной свеклы повышали показатели всхожести, формирования массы растений, химического состава семян и урожайность. Так, урожай озимой пшеницы был на 3,3 ц/га выше контрольного варианта, выпад растений во время перезимовки был на 8,2-9,6% меньше, чем в контроле. Прибавка урожая яровой пшеницы была от 1,9 до 4,2 ц/га, урожай семян люцерны превысил контроль на 25-33%, сафлора – до 34,6%. Однако состав разработанного препарата был ограничен лишь бактериальными организмами, а его взаимодействие с почвенными грибами и другими сапроптическими микроорганизмами оставалось невыясненным [19]. В настоящее время планируется создание и испытание многокомпонентного биопрепарата широкого спектра действия для повышения плодородия почв, используемых для выращивания различных сельскохозяйственных культур, не требующего ежегодного внесения в почву. С целью обеспечения пролонгированного действия биопрепарата необходимо, чтобы входящие в него организмы обладали повышенными показателями конкурентной способности, а для этого следует добиваться его максимального приближения к микрофлоре, характерной для каждого конкретных условий. Поэтому представляется целесообразным в планируемый к разработке препарат включить как представителей микроорганизмов-почвообразователей, выделенных из конкретного типа почвы, подлежащей мелиорации и уже прошедших испытание в ней в процессе выполнения предыдущего проекта, так и широкий спектр вновь выделенных микроорганизмов, связанных с ними метаболическими связями. В его состав помимо

бактериальных организмов будут введены как одноклеточные, так и мицелиальные грибы, принимающие активное участие в процессах почвообразования. Это обеспечит более высокие показатели эффективности и конкурентной способности ассоциации, и, следовательно, ее приживаемость в почве. Предполагается, что подобный подход позволит устраниить необходимость ежегодного внесения препарата и связанных с этим материальных затрат.

Непременным условием для успешной интродукции любого биопрепарата, содержащего комплекс микроорганизмов, необходимо чтобы он сохранял свой состав в условиях той экологической ниши, для которой он предназначен, т.е. обладал популяционной устойчивостью. Необходимо также, чтобы он имел преимущества по скорости роста и потребления субстрата, т.е. был конкурентоспособен, что обеспечивается также наличием антагонистической активности по отношению к другим представителям микробиоценоза. Кроме того, важнейшим условием для рентабельного производства биопрепарата является простота и экономичность его наработки. Все эти условия могут быть обеспечены путем подбора микроорганизмов-партнеров и адаптации их друг к другу на уровне метаболитов в условиях непрерывного культивирования с последующей автоселекцией полученного консорциума в соответствующем режиме выращивания.

Такой подход представляется единственно правильным, тем более уже создано мнение, что для биоинженерии и индустриальной биотехнологии микробные консорциумы становятся той «горячей точкой» роста, которая со временем будет определять темпы их дальнейшего развития.

Источник финансирования. Данное исследование было проведено по проекту «Разработка комплексного многокомпонентного бактериального препарата широкого действия для стимуляции роста и защиты различных сельскохозяйственных культур» в рамках грантового финансирования научных исследований Комитета Науки Министерства образования и науки Республики Казахстан.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Смешанные культуры микроорганизмов / под ред. Печуркина Н.С. Изд-во «Наука» Сиб.отд., Новосибирск, 1981, 196с.
- [2] Печуркин Н.С., Брильков А.В., Марченкова Т.В. Популяционные аспекты биотехнологии, 1990, Новосибирск «Наука» Сиб. отд. 172с.
- [3] Харченко А.Г. Восстановление плодородия почвы – возвращение к истокам. Разложение поживных остатков: какой препарат выгоднее? 2012, 184с.
- [4] Саубенова М.Г., Кузнецова Т.В., Халымбетова А.Е., Шорманова М.М. Противогрибковая активность ассоциаций молочнокислых микроорганизмов // Известия НАН РК, сер. Биол. и мед, 2014, №3, 91-95с.
- [5] Пузыревская О.М., Никитина Е.Т., Саубенова М.Г., Байжомартова М.М. Консорциум молочнокислых бактерий и дрожжей *Streptococcus* *lactis* II -1, *Streptococcus* *cretensis* K-3, *Lactobacillus* *bulgaricus* C-5, *Saccharomyces* *lactis* 13, обладающий противогрибковой и антибактериальной активностью //Инновационный патент РК № 37179, 2002, опубл. 05.02.2002.
- [6] Чувакова З.К., Бейсембаева Р.У., Пузыревская О.М. и др. Химический состав, микробиологический и антивирусные свойства свежеприготовленного и консервированного шубата «Бота» // 2-ая Международная конф. «Агропромышленные аспекты развития верблюдоводства», Алматы, Казахстан, 8-12 сент. 2000, Материалы конф, Алматы, 2000, С.47.
- [7] Тихомирова О.М., Иванова Е.А. Противогрибковая активность микроорганизмов природной ассоциации «Тибетский рис» // Проблемы медицинской микиологии, 2011, №4, С.39-42.
- [8] Шурыгин А.Я.,Шурыгина Л.В., Злицева Э.И. и др. Биологически активная кормовая добавка для молодняка сельскохозяйственных животных и птиц (лактостим) и способ ее получения / Патент RU2436408, 2010.
- [9] Калининих В.В., Вольвачев В.Н., Димов В.Т. и др. Кормовая добавка для сельскохозяйственных животных «лакто-плюс» / Патент RU (11)2350101, 2006,Опубл. 27.03.2009.
- [10] Грудинина Т.Н., Лаптев Г.Ю., Прокопьева В.И., Солдатова В.В. Способ кормления цыплят и способ получения препарата для кормления цыплят / Патент РФ № 2171037, 2001.
- [11] Участов Д.С., фролова О.Н. Кормовая добавка для молодняка свиней / Патент RU №2359465, 2008,Опубл. 27.06.2008.
- [12] Чекасина Е.В., Калинина Ж.А., Пичугина Т.В. Кормовая добавка на основе свекловичного жома и способ получения кормовой добавки путем ферментации свекловичного жома / Патент RU №2352136, 2006,Опубл. 20.04.2009.
- [13] Дегтярева О.Н., Кулаков Г.В., Илиев В.Д. Пробиотическая кормовая добавка / Патент RU №2437563, 2010, Опубл. 27.12.2011.
- [14] Тихонович И.А., Проворов Н.А. Сельскохозяйственная микробиология как основа экологически устойчивого агропроизводства: Фундаментальные и прикладные аспекты // Сельхоз. биология, 2011, №3, С.3-9.
- [15] Черкасов С.В., Тишков В.И. Молекулярные основы резистентности к антибиотикам // Успехи биол. Химии, 2004, №44, С.263-306.
- [16] Добровольская Т.Г. Structureofsoilsbacterialsuccessions // М.:Академкнига, 2002, 281с.
- [17] Мурова С.С., Давранов К.Д. Комплексные микробные препараты. Применение в сельскохозяйственной практике //Biotechnologia acta, 2014, Vol. 7, No 6,Р. 92-101.

- [18] Иванов Л.А. Научное земледелие России: итоги и перспективы // Земледелие, 2011, №3, С. 25-29.
- [19] «Разработка комплексного многокомпонентного бактериального препарата широкого спектра действия для стимуляции роста и защиты различных сельскохозяйственных культур» (промежуточный) /АО «Нац. Центр научно-техн. информ.»: рук. Кузнецова Т.В.; исполн.: Саубенова М.Г, Алматы,2014, 76 с. - № ГР 0113РК00479. – И nv. № 0214РК00834.
- [20] Грудинина Т.Н., Лаптев Г.Ю., Прокопьева В.И., Солдатова В.В. Способ кормления цыплят и способ получения препарата для кормления цыплят / Патент РФ № 2171037, 2001.
- [21] Участов Д.С., Фролова О.Н. Кормовая добавка для молодняка свиней / Патент RU №2359465, 2008, Опубл. 27.06.2008.
- [22] Чекасина Е.В., Калинина Ж.А., Пичугина Т.В. Кормовая добавка на основе свекловичного жома и способ получения кормовой добавки путем ферментации свекловичного жома / Патент RU №2352136, 2006, – Опубл. 20.04.2009.
- [23] Дегтярева О.Н., Кулаков Г.В., Илиеш В.Д. Пробиотическая кормовая добавка / Патент RU №2437563, 2010, Опубл. 27.12.2011.
- [24] Тихонович И.А., Проворов Н.А. Сельскохозяйственная микробиология как основа экологически устойчивого агропроизводства: Фундаментальные и прикладные аспекты // Сельхоз. биология, 2011, №3, С.3-9.
- [25] Черкасов С.В., Тишков В.И. Молекулярные основы резистентности к антибиотикам // Успехи биол. химии. 2004, №44, С.263-306.
- [26] Доброльская Т.Г. Structure of soils bacterial successions // M.: Академкнига, 2002, 281с.
- [27] Заварзин Г.А. Лекции по природоведческой микробиологии. М.: Наука, 2003, 348с.
- [28] Зяблых Р.Ю. Консорциумы микроорганизмов на основе почвенных азотфикссирующих цианобактерий и их агробиологический потенциал. / Автореф. дисс... канд. биол. наук, 2008, 175с.
- [29] Смолин В.Ю. Симбиотическая азотфиксация при инокуляции сои смешанными культурами микроорганизмов. / Автореф. дисс... канд. биол. наук, Москва, 1996, 117с.
- [30] Сопрунова О.Б. Циано-бактериальные комплексы в очистке сточных вод.// Электронный журнал «Исследовано в России», 2009.
- [31] Жукова О.В. Формирование консорциума микроорганизмов для очистки сточных вод производств органического синтеза от углеводородов нефти / Автореф. дисс... докт. техн. наук. Казань, 2012, 183с.
- [32] Дегтярева И.А., Яппаров А.Х., Яппаров И.А. Хидиятуллина А.Я. Оценка эффективности аборигенных сообществ микроорганизмов-деструкторов углеводородов на типичном черноземе Республики Татарстан. // Достижения науки и техники АПК. Теорет. и научно-практ. журнал, 2014.
- [33] Ушакова Н.А., Некрасов В.В., Правдин В.Г. и др. Новое поколение пробиотических препаратов кормового назначения. // Научный журнал ISSN, 2012, №1.
- [34] Мурова С.С., Давранов К.Д. Комплексные микробные препараты. Применение в сельскохозяйственной практике // Biotechnologia acta, 2014, vol. 7, No 6, P. 92-101.
- [35] Иванов Л.А. Научное земледелие России: итоги и перспективы // Земледелие, 2011, №3, С. 25-29.
- [36] Разработка комплексного многокомпонентного бактериального препарата широкого спектра действия для стимуляции роста и защиты различных сельскохозяйственных культур». Отчет о научно-исслед. работе ИМВ МОН РК, 2014, 76с.
- [37] Шендеров Б.А. Медицинская микробная экология и функциональное питание: Т.3: / Б.А.Шендеров Пробиотики и функциональное питание М.: Гранть, 2001, 288 с.

REFERENCES

- [1] Smeshannyie kultury imikroorganizmov, pod red. Pechurkina N.S. Izd-vo «Nauka» Sib. otd., Novosibirsk. **1981**, 196 s(in Russ.).
- [2] Pechurkin N.S., Brilkov A.V., Marchenkova T.V. Populyatsionnye aspeky biotekhnologii, **1990**, Novosibirsk «Nauka» Sib. otd. 172 s (in Russ.).
- [3] Harchenko A.G. Vosstanovlenie plodoroziy pochvyi – vozvraschenie k istokam. Razlozhenie pozhnivnyih statkov: kakoy preparaty igodnee? **2012**, 184s.(in Russ.).
- [4] Saubanova M.G., Kuznetsova T.V., Khalymbetova A.E., Shormanova M.M. Protivogribkovaya aktivnost assotsiatsiy molochnokislyih mikroorganizmov. Izvestiya NAN RK, ser. Biol. i med. **2014**, №3, S. 91-95(in Russ.).
- [5] Puzyrevskaya O.M., Nikitina E.T., Saubanova M.G., Bayzhomartova M.M. Konsortsium molochnokislyih bakteriy drozhzhey Streptococcus lactis P -1, Streptococcus cremoris K-3, Lactobacillus bulgaricus C-5, Saccharomyces lactis 13, obladayushchiy protivogribkovyantibakterialnoy aktivnostyu. Innovatsionnyiy patent RK № 37179, **2002**, opubl. 05.02.2002(in Russ.).
- [6] Chuvakova Z.K., Beysemaeva R.U., Puzyrevskaya O.M. idr. Himicheskiy sostav, mikrobiologicheskiy antivirusnyie svoystva vsezh prigotovlennoy ikonservirovannogoshubata «Bota». 2-aya Mezdunarodnaya konf. «Agropromyishlennyye aspeky razvitiya verbylyudovodstva», Almaty, Kazakhstan, 8-12 sent. 2000. Materialy konf. (narus. i angl.yaz.) Almaty, **2000**, S.47(in Russ., Eng.).
- [7] Tihomirova O.M., Ivanova E.A. Protivogribkovaya aktivnost mikroorganizmov prirodnayayassotsiatsii «Tibetskiyris». Problemy imeditsinskoy mikrobiologii. **2011**, №4, S.39-42 (in Russ.).
- [8] Shuryigin A.Ya., Shuryigina L.V., Zlischeva E.I. i dr. Biologicheskaya aktivnost kormovaya dlya molodnyakaselskohozyastvennyih zhivotnyih piptits (laktostim) isposobee polucheniya. Patent RU2436408, **2010**(in Russ.).
- [9] Kalinin V.V., Volvachev V.N., Dimov V.T. idr. Kormovaya dlobavka kadlyayaselskohozyastvennyih zhivotnyih «laktoplyus». Patent RU (11)2350101, **2006**, Opubl.27.03.2009(in Russ.).
- [10] Grudinina T.N., Laptev G.Yu., Prokopeva V.I., Soldatova V.V. Sposob kormleniya tsiplyatsi posob polucheniya preparata dlya kormleniya tsiplyat. Patent RF № 2171037, **2001**(in Russ.).

- [11] Uchashov D.S., frolova O.N. Kormovayadobavkadlyamolodnyakasviney. Patent RU №2359465, 2008, Opubl. 27.06.2008(in Russ.).
- [12] Chekasina E.V., KalininaZh.A.,Pichugina T.V. Kormovaya dobavka na osnove sveklovichchnogo zhomaaisposob polucheniya kormovoy dobavkiputemfermentatsiisveklovichchnogozhoma. Patent RU №2352136, 2006, Opubl. 20.04.2009 (in Russ.).
- [13] Degtyareva O.N., Kulakov G.V., Iliesh V.D. Probioticheskayakormovayadobavka. Patent RU №2437563, 2010, Opubl. 27.12.2010(in Russ.).
- [14] Tihonovich I.A., Provorov N.A. Selskohozyaystvennayamikrobiologiyakakosnovaekologicheskiustoychivogoagro proizvodstva: Fundamentalnyieiprikladnyieaspektiyi. Selhoz.biologiya, 2011, №3. –S.3-9 (in Russ.).
- [15] Cherkasov S.V., Tishkov V.I. Molekulyarnyieosnovyirezistentnosti k antibiotikam. Uspehi biol. himii. 2004, №44, S.263-306(in Russ.).
- [16] DobrovolskayaT.G.Structure of soils bacterial successions. M.: Akademkniga, 2002, 281s(in Eng.).
- [17] Murova S.S., Davranov K.D. Kompleksnyiemikrobnyiepreparatyi. Primenenie v selskohozyaystvennoypraktike. Biotechnologiaacta, 2014, vol. 7, No 6, P. 92-101(in Russ.).
- [18] Ivanov L.A. Nauch noezemledelieRossii: itogiiperspektivi. Zemledelie, 2011, №3, S. 25-29(in Russ.).
- [19] Razrabotkakompleksnognomogokomponentnogobakterialnogopreparatashirokogo spectra dejstviya dlya stimulya cirostataizashchityrazlichnyhselskohozyajstvennyhkulturpromezhutochnyjAO Nac. Centrauchno-tekhni.inform.:rukKuznecova T.V. ispoln.: Saubenova M.G. Almaty, 2014, 76 s, № gr. 0113rk00479, № inv. 0214rk00834(in Russ.).
- [20] Grudinina T.N., Laptev G.Yu., Prokopeva V.I., Soldatova V.V. Sposobkormleniya tsyiplyati sposob polucheniya preparatadlyakormleniyatsyiplyat. Patent RF № 2171037, 2001(in Russ.).
- [21] UchashovD.S., FrolovaO.N. Kormovayadobavkadlyamolodnyakasviney. PatentRU№2359465, 2008, Opubl. 27.06.2008 (inRuss.).
- [22] ChekasinaE.V., KalininaZh.A., PichuginaT.V. Kormovaya dobavka na osnove sveklovichchnogozhomaaisposob polucheniya kormovoy dobavkiputemfermentatsiisveklovichchnogozhoma. PatentRU№2352136, 2006, Opubl. 20.04.2009(inRuss.).
- [23] DegtyarevaO.N., KulakovG.V., IlieshV.D. Probioticheskayakormovayadobavka. PatentRU№ 2437563, 2010, Opubl. 27.12.2011(inRuss.).
- [24] TihonovichI.A., ProvorovN.A. Selskohozyaystvennayamikrobiologiyakakosnovaekologicheskiustoychivogoagro proizvodstva: Fundamentalnyieiprikladnyieaspektiyi. Selhoz.biologiya, 2011, №3, S.3-9 (in Russ.).
- [25] Cherkasov S.V., Tishkov V.I. Molekulyarnyieosnovyirezistentnostkantibiotikam. Uspehi biol. himii. 2004, №44, S.263-306 (in Russ.).
- [26] DobrovolskayaT.G.Structure of soils bacterial successions. M.: Akademkniga, 2002, 281p(in Eng.).
- [27] Zavarzin G.A. Lektsiipoprirodovedcheskoymikrobiologii. M.: Nauka, 2003, 348p(in Russ.).
- [28] ZyablyihR.Yu.
- Konsortsiumyimkroorganizmovnaosnoveepochvennyihazotfiksiruyuschihtsianobakteriyiihagrobiologicheskypotentsial. Avtoref.diss... kand. biol. nauk, 2008, 175p(in Russ.).
- [29] Smolin V.Yu. Simbioticheskayaazotfiksatsiyapriinokulyatsiisoismeshannyimikulturamimkroorganizmov. Avtoref. diss...kand. biol. nauk, Moskva, 1996, 117p(in Russ.).
- [30] Sopranova O.B. Tsiano-bakterialnyiek kompleksyi v ochistkestochnyihvod.Elektoronyiyzhurnal «Issledovano v Rossii», 2009(in Russ.).
- [31] Zhukova O.V. Formirovaniekonsortsiumamikroorganizmovdlyaochistki stochnyih vod proizvodst v organicheskogo sintezaotuglevodorodovnefti. Avtorefer. diss...dokt. tehn. nauk. Kazan, 2012, 183p (in Russ.).
- [32] Degtyareva I.A., Yapparov A.H., Yapparov I.A. HidiyatullinaA.Ya. Otsenkaeffektivnostiaborigennyihsoobschestv mikroorganizmov-destruktotorovuglevodorodovnatipichnomchernozemerespubliki Tatarstan. Dostizheniyanaukiitehniki APK. Teoret. inauchno-prakt. zhurnal, 2014(in Russ.).
- [33] Ushakova N.A., Nekrasov V.V., Pravdin V.G. idr. Novoe pokolenie probioticheskikh preparatov kormovogo naznacheniya. Nauchnyiyzhurnal ISSN, 2012, №1(in Russ.).
- [34] Murova S.S., Davranov K.D. Kompleksnyiemikrobnyiepreparatyi. Primenenie v selskohozyaystvennoypraktike. Biotechnologia acta, 2014, vol. 7, No 6, P. 92-101(in Russ.).
- [35] Ivanov L.A. NauchnozemledelieRossii: itogiiperspektivi. Zemledelie, 2011, №3, S. 25-29(in Russ.).
- [36] Razrabotkakompleksnognomogokomponentnogobakterialnogopreparatashirokogospektradeystviyadlyastimulyatsii rostaizaschityrazlichnyihselkohozyaystvennyihkultur». Otchet o nauchno-issled.rabote IMV MON RK, 2014, 76p(in Russ.).
- [37] Shenderov B.A. Meditsinskayamikrobnayaekologiyaifunktionalnoepitanie: T. 3: B.A.Shenderov Probiotikii funktsionalnoepitanie, M.: Grant', 2001, 288p (in Russ.).

МИКРООРГАНИЗМДЕР КОНСОРЦИУМДАРЫ – МИКРОБИОЛОГИЯЛЫҚ ӨНДІРІСТІҢ ЕРЕКШЕ СӘТТИ ЖОЛЫ (ЖАЛПЫ ШОЛУ)

М. Г. Саубенова, Т. В. Кузнецова, А. Е. Халымбетова, М. М. Шорманова

PMK «Микробиологияжәне вирусология институты» КР БФМ ФК, Алматы, Қазақстан

Тірек сөздер: микроорганизмдер, консорциумдар, топырақ, сүт өнеркәсібі, пробиотиктер, симбиоз, антагонизм, бәсекеге қабілеттілік, популяциялықұрактылық.

Аннотация. Қазіргі таңда, микробтық консорциумдар биоинженерия мен индустриялық биотехнология үшін олардың тиімділігін, сонымен қатар олардың ары қарай дамуының екпінін анықтайдын өсудің «жедел нұктесі» деген пікір қалыптасқан. Топырақ құнарлығын жоғарылату, пробиотиктар өндірісі мен жемдік қоспалар секілді препараторларды алу мен тағам өндірісі сияқты биотехнологияның түрлі салаларында микроорганизмдер ассоциациясы сәтті қолданылатындығы туралы, сонымен қатар олардың тіршілік жағдайлары қарастырылмаған жағдайдағы сәтсіздік себептері туралы мысалдар келтірлген. Түрлі экологиялық текшелер үшін микробтық препараторларды сәтті өндіру үшін, олар корек көзіне бәсекелес микроорганизмдерге қатысты антагонистік белсенділігі жоғары болуы керек, сонымен қатар нақты бәсекелес жағдайда өсу жылдамдығы жоғары болуы тиіс. Тұракты әрі өнімді консорциум жасау үшін, оның құрамына кіретін микроорганизмдер өзара тағамдық тізбекпен байланысқан болуы және бірінін өсуін бірі тежемеуі тиіс. Бұл жағдайда тиімдісі, құрамына кіретін микроорганизмдері бірімен бірі симбиоз немесе мутуалдық қатынастағы консорциумдарды қолданған кезде сәтті нәтиже болуы мүмкін. Белсенді микроорганизмдерді сұрыптау мен олардың біріне бірі бейімделуі үздіксіз культивирлеу кезінде сәтті жүзеге асады.

Поступила 31.07.2015 г.

N E W S

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

SERIES OF BIOLOGICAL AND MEDICAL

ISSN 2224-5308

Volume 4, Number 310 (2015), 129 – 136

MICROBIOLOGICAL AND MOLECULAR GENETIC CHARACTERISTICS OF PLANT PATHOGENIC FUNGI, INFECTS SOYBEAN IN ALMATY REGION

A. I. Seitbattalova, S. T. Daugalieva, O. N. Shemshura, E. T. Ismailova

Institute of Microbiology and Virology, Committee of Science,
Ministry of Science and Education, Almaty, Kazakhstan.
E-mail: aika2006_81@mail.ru

Keywords: phytopathogenic fungi, *Fusarium*, *Alternaria*, morphological and microscopic characteristics ITS-DNA regions, primers, sequencing.

Abstract. As a result of studies on the morphological characteristics of plant pathogenic fungi that infect soybean in the Almaty region, allowed to determine their tribal affiliation.

The total cellular DNA from *Fusarium* and *Alternaria* fungi has been isolated by the CTAB method. The PCR has been carried out with ITS5 (5'-GGAAGTAAAGTCGTAAACAAGG-3'), and ITS4(5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') primers. Bioinformaticdata analysis and homology search of the nucleotide sequences have been performed using available genetic database of GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>).

We have found that the CTAB method is optimal to use for genomic DNA extraction from a purifiedfungi culture. Sequencing of the fungal DNA allowed identifying species of *Fusarium* and *Alternaria*. Determined nucleotide sequences of isolated fungi completely matched with sequences of similar fungal region available in GenBank database. According to the phylogenetic analysis based on the comparison of DNA sequences of ITS region, the strain of *Fusarium* sp.has been grouped in a separate cluster composed of similar strains of *F. incarnatum*, *F. equiseti*, *F. chlamidosporum*, and *F. campoceras*; whereas, the strain of *Alternaria* sp. is very similar to *A. alternata*, *A. tenuissima*, *A. compacta*, and *A. porris*species.