

КОНСОРЦИУММИКРООРГАНИЗМОВ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЙ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ПОЛИФУНКЦИОНАЛЬНЫХ БИОПРЕПАРАТОВ

Кухар Е.В.¹, Исанов Т.Ш.²

¹Научно-исследовательская платформа сельскохозяйственной биотехнологии
Казахский агротехнический университет им. С. Сейфуллина, пр. Жеңіс, 62
г. Нур-Султан, 010011, Казахстан, kucharev@mail.ru

²ТОО «Stientific Industrial Enterprise» Altai Agro Farm LTD»,
г. Актау, Казахстан
<https://orcid.org/0000-0002-0592-3782?lang=ru>

Аннотация

Разработка эффективных микробиологических препаратов для сельского хозяйства, представляющих из себя живые клетки микроорганизмов, отобранные по полезным свойствам, становится все более актуальной. Целью исследований являлось создание нового полифункционального консорциума микроорганизмов с высоким уровнем биологической активности, адаптированного к глубинному культивированию и пригодного к получению биопрепаратов.

В статье описываются этапы и результаты исследований по разработке нового полифункционального консорциума микроорганизмов «УМБК-1Т» с высоким уровнем биологической активности, характеризующегося постоянством состава популяции, адаптированного к глубинному культивированию.

Авторами изучены культурально-морфологические свойства микроорганизмов, проведено метагеномное NGS-секвенирование, сделан анализ генома, подобраны методы хранения консорциума микроорганизмов. Генетический анализ показал, что микробиом нового пробиотического препарата в основном состоит из микроорганизмов типа *Firmicutes* (96,42%). Доминирующими видами в сообществе являются *Lactobacillus hilgardii* – 18,02%, *L.camelliae* – 15,24%, *L.rhamnosus* – 11,66% и *S.cerevisiae* – 38,07%. Консорциум микроорганизмов УМБК-1Т депонирован в Коллекции микроорганизмов РГП «Республиканская коллекция микроорганизмов» КН МОН РК под номером RKM 0862.

Ключевые слова: биопрепарат, дрожжи, консорциум, лактобактерии, микроорганизм, штамм

Введение

Микробиологические препараты, разрабатываемые для сельского хозяйства, представляют из себя живые клетки отобранных по полезным свойствам микроорганизмов, кото-

рые находятся или в культуральной жидкости, или адсорбированы на нейтральном носителе [1]. Существует огромное количество биопрепаратов, разработанных на основе

консорциумов микроорганизмов с различной функциональной активностью. К примеру, некоммерческий бактериальный консорциум преобладанием *Lactobacillus* (до 11,90%), испытывался в качестве биоудобрения для кукурузы (*Zea mays* L.). При этом бактерии, применяемые в качестве биоудобрения, имели лишь ограниченное влияние на относительную численность бактериальных групп в невозделываемой или культивируемой почве с кукурузой [2].

Консорциум штаммов микроорганизмов *Bacillus subtilis* В-5251, *B. amyloliquefaciens* В-11265, *Trametes hirsuta* F-302, *Streptomyces fradiae* АС-570, *B. pasteurii* В-10276, *Exophiala lanigrum* Y-748 в соотношении 1:1:1:1:0,5:0,5, соответственно, используется для получения биопрепарата активатора биодеструкции органических отходов животноводства и птицеводства [3].

Препараты для биоразложения углеводородов нефти, биологической очистки и рекультивации объектов от нефтяных загрязнений содержат консорциум штаммов мезофильных микроорганизмов *Pseudomonas fluorescens* ГНПО ПЭ-Р-5, *P. putida* ГНПО ПЭ-Р-6, *P. aeruginosa* ГНПО ПЭ-Р-11, *P. species* ГНПО ПЭ-Р-14, *Rhodococcus erythropolis* ГНПО ПЭ-Р-9, *Rh. luteus* ГНПО ПЭ-Р-10, *Rh. species* ГНПО ПЭ-Р-12, *Rh. species* ГНПО ПЭ-Р-13, *B. subtilis* ГНПО ПЭ-В-7 [4].

На основе штамма *Lactobacillus rhamnosus* GG под названием *L. rhamnosus* yoba 2012, создан новый пробиотический состав двух молочнокислых бактерий, где штамм *S.*

thermophilus С106 дополняет неспособность *L. rhamnosus* yoba 2012 расти в молоке за счет разложения казеина и лактозы. Консорциум сухих заквасок молочнокислой бактерии *L. rhamnosus* GG со *S. thermophilus* обеспечивает размножение обоих штаммов в молоке и других пищевых матрицах [5].

Известно, что основным компонентом пробиотических препаратов или заквасок для получения пищевых продуктов, для сбраживания навоза от животных или помета птиц часто являются лактобактерии [6]. Их способность продуцировать широкий спектр метаболитов является определяющим фактором в установлении ассоциаций с взаимодействующей микробиотой [7].

Консорциум микроорганизмов, состоящий из штаммов *Bifidobacterium bifidum* 791, *B. longum* в-379м, *L. acidophilus* nk-1, *S. thermophilus* 132, используется для производства кисломолочных продуктов, сквашивает молоко за 6 ч при внесении 5% закваски и характеризуется способностью к выживанию и развитию в кишечнике человека на фоне антибиотикотерапии [8].

Консорциум микроорганизмов, входящих в состав биопрепарата «Байкал-ЭМ-1» содержит молочнокислые, фотосинтезирующие, азотфиксирующие бактерии, дрожжевые грибки. Основными компонентами биопрепарата являются молочнокислые бактерии *Lactobacillus* spp., *Acetobacter* spp., дрожжи-сахаромицеты, почвенные микроорганизмы [9]. Встречаются сообщения о разработке препаратов по аналогии с биопрепаратом «Байкал-ЭМ-1» с

превосходным влиянием на рост комнатных растений [10].

Целью исследований является создание нового полифункционального консорциума микроорганизмов

Материалы и методы исследований

Для анализа культурально-морфологических свойств проводили культивирование на средах МРС-1, МРС-4, агар Сабуру, ГМФ-агар, среда Кесслера.

Для анализа физиологических особенностей и изучения биохимических свойств применяли стандартные готовые среды Гисса с различными сахарами, молочный агар, бульон Сабуру.

Для анализа антагонистических свойств и выявления устойчивости к антибиотикам использовали среды АГВ, Сабуру, МРС-4 и МРС-1. Питательные среды готовили и стерилизовали согласно инструкции производителя.

Оценку адгезивных свойств лактобактерий осуществляли с помощью фотоколориметрического экспресс-метода [12]. Антагонистическую, антиоксидантную, антилизоцимную и протеолитическую активность, жизнеспособность, кислотоустойчивость и чувствительность к желчи изучали по [13].

Результаты

При изучении культурально-морфологических свойств микроорганизмов, входящих в состав консорциума отмечали следующее (рисунок 1):

с высоким уровнем биологической активности, адаптированного к глубинному культивированию и пригодного к получению биопрепаратов.

Культивирование консорциума микроорганизмов проводили 48 часов при температуре – 37°C (для молочнокислых бактерий) и 28°C (для дрожжей).

Сравнительную генетическую идентификацию изучаемого консорциума микроорганизмов и биопрепарата «Байкал-ЭМ-1» проводили методом метагеномного NGS-секвенирования на приборе MiSeq Illumina [14, 15].

Лиофильное высушивание микроорганизмов проводили в защитной среде на обезжиренном молоке во флаконах, хранение осуществляли при температуре не выше 0 °С. Режим замораживания: объем по 1 см³, охлаждение до -70°C, затем высушивание, укупорка и хранение при -18 °С.

Криоконсервацию проводили в криозащитной среде, %: глицерин – 20, сахароза – 10, поливинилпирролидон – 10, растворитель – МРС-1 – 60.

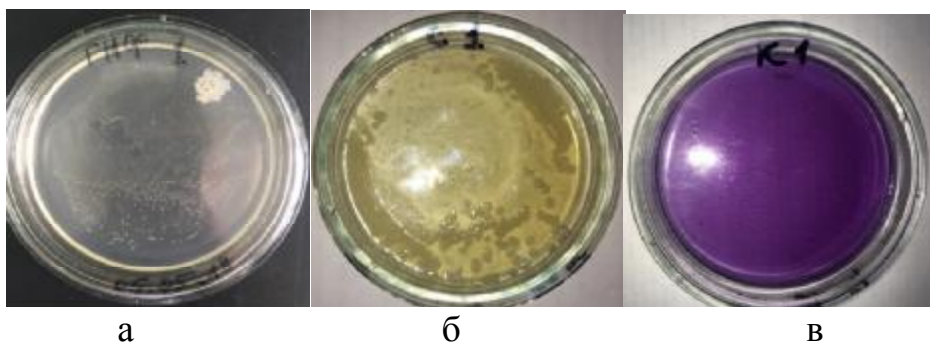


Рисунок 1 – Рост микроорганизмов консорциума УМВК-1Т на питательных средах: а) ГМФ, б) Сабуро, в) Кесслера

На ГМФ-агаре росли непрозрачные колонии белого цвета от 2 до 10 мм, гладкие и шероховатые, круглые, сложные либо амебовидные, профиль плоский или бугристый, структура однородная или мучнистая; на среде Сабуро отмечается рост колоний бежевого цвета, матовых, с ровными краями; округлой формы; диаметром 2-3 мм, при открывании крышки появляется легкий квасной запах; на среде Кесслера – роста микроорганизмов нет. На среде МРС-4 образуются круглые колонии, края ровные, белого цвета, мягкой консистенции, выпуклые, не прозрачные, пигментов не образуют, диаметр колоний 1-2 мм; на среде МРС-1 колонии имеют свежий кисломолочный запах, вызывают помутнение столбика бульона, осадок белого цвета

Микроорганизмы консорциума сбраживают: арабинозу, целлибиозу, фруктозу, галактозу, лактозу, мальтозу, мелибиозу, маннозу, раффинозу, сахарозу; продуцируют молочную кислоту и этиловый спирт; разлагают казеин.

Антагонистическая активность, изученная методом отсроченного антагонизма, составляет, мм: *S. pyogenes* – 15, *P. vulgaris* – 20, *E. coli* – 20, *Salm. typhimurium* – 10, *Ser. marcescens* – 4. Консорциум микроорганизмов резистентен к канамицину, тетрациклину.

Максимальный показатель жизнеспособности штаммов лактобацилл консорциума составил $5,6 \times 10^8$ КОЕ/мл. Лактобациллы об-

ладают антиоксидантной, антилизосимной и протеолитической активностью; имеют высокую степень адгезивности со средним показателем адгезии 2,3. Консорциум сохраняет жизнеспособность (10^4 КОЕ/мл) при последовательном действии кислоты и желчи; устойчив к действию 2-6% NaCl, в присутствии 20% желчи имеет показатель жизнеспособности 10^5 КОЕ/мл.

Условия культивирования для консорциума: оптимальное значение pH – 5,5-5,8, могут расти при pH 3,0; отношение к кислороду – микроаэрофилы.

С помощью технологии NGS-секвенирования на платформе MiSeq Illumina был проведен анализ ДНК, полученной непосредственно из препарата. Исследование метагеномного состава бактерий по этой методике был проведен без стадии культивирования. Для этого из образца напрямую выделяли всю геномную ДНК, которая была подвергнута анализу.

Была проведена генетическая идентификация всех присутствующих бактерий, в том числе и некультивируемых форм. В отличие от классического секвенирования по Сенгеру, NGS-платформы позволяют прочитывать миллионы небольших фрагментов ДНК параллельно, в результате чего получается огромное количество данных [15].

Фрагменты 16S rRNA гена секвенировали на платформе MiSeq Illumina. В результате таксономической классификации 98,88% микроорганизмов в об-

разце были идентифицированы как относящиеся к царству бактерий, 1,12% – к другим царствам, что может быть связано с необходимостью подбора другой методики. В результате разделения идентифицированных бактерий на типы было установлено следующее соотношение: *Firmicutes* (96,42%), *Proteobacteria* (1,78%), неклассифицировано 1,4%, другие филы 0,4%. На уровне класса 96,15% всех представителей консорциума были идентифицированы как *Bacilli*, из них 95,69% бактерий на уровне порядка определены как *Lactobacillales*. Классификация на уровне семейства определила таксономическую единицу бактерий *Lactobacillaceae* в 95,28%.

Генетическая характеристика консорциума микроорганизмов позволила выявить следующий состав:

- лактобациллы: *Lactobacillus paraffaraginis*– 3,59%, *L. camelliae*– 15,24%, *L. rhamnosus*– 11,66%, *L. hilgardii*– 18,02%, *L. faeni*– 5,25%, *L. paracasei*– 3,09%, *L. zeae*– 0,92%, *L. brantae*– 0,66%, *L. parakefiri*– 1,00%, *L. thailandensis*– 0,49%, *L. casei*– 0,38%;

- другие бактериальные штаммы (*Pediococcus spp.*, *Alkalibacterium spp.*, *Acetobacter spp.*, *Facklamia spp.*, *Carnobacterium spp.*, *Citrobacter spp.*) – 1,64%.

- неклассифицируемые (Unclassified) дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*– 38,07% (рисунок 2).



Unclassified	38,07%
<i>Lactobacillus hilgardii</i>	18,02%
<i>Lactobacillus camelliae</i>	15,24%
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	11,66%
<i>Lactobacillus faeni</i>	5,25%
<i>Lactobacillus paraffaraginis</i>	3,59%
<i>Lactobacillus paracasei</i>	3,09%
<i>Lactobacillus parakefiri</i>	1,00%
<i>Lactobacillus zeae</i>	0,92%
<i>Lactobacillus brantae</i>	0,66%
<i>Lactobacillus thailandensis</i>	0,49%
<i>Lactobacillus casei</i>	0,38%
Other Species	1,64%
Total	100%

Рисунок 2 – Результаты прочтений генома консорциума на уровне видов

Таким образом, генетический анализ показал, что в микробиоме нового пробиотического препарата доминирующими видами являются *L. hilgardii*– 18,02%, *L. camelliae*(15,24%), *L. rhamnosus*– 11,66% и *S. cerevisiae*– 38,07%.

Таблица 1 – Процентная концентрация микроорганизмов в различных вариантах консорциума УМВК

Состав консорциума сравнивали с составом биопрепарата «Байкал-ЭМ-1», который, как известно, содержит молочнокислые, фотосинтезирующие, азотфиксирующие бактерии и дрожжи (таблица 1):

№ п/п	Микроорганизм	Состав консорциума УМК-1Т	Состав консорциума Байкал-ЭМ-1
1	<i>Lactobacillus hilgardii</i>	18,02	1,58
2	<i>Lactobacillus camelliae</i>	15,24	3,99
3	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	11,66	2,69
4	<i>Lactobacillus faeni</i>	5,25	1,36
5	<i>Lactobacillus paraffaraginis</i>	3,59	13,43
6	<i>Lactobacillus paracasei</i>	3,09	1,88
7	<i>Lactobacillus parakefiri</i>	1,00	-
8	<i>Lactobacillus zeae</i>	0,92	0,66
9	<i>Lactobacillus brantae</i>	0,66	0,59
10	<i>Lactobacillus thailandensis</i>	0,49	-
11	<i>Lactobacillus casei</i>	0,38	-
12	<i>Lactobacillus buchneri</i>	-	6,52
13	<i>Lactobacillus kisonensis</i>	-	1,77
14	<i>Lactobacillus japonicus</i>	-	0,74
15	<i>Lactobacillus pentosus</i>	-	0,41
16	<i>Lactobacillus fermentum</i>	-	0,39
17	<i>Acetobacter pasteurianus</i>	-	19,44
18	Другие штаммы бактерий	1,64	5,97
19	Unclassified(<i>Scerevisiae</i>)	38,07	39,28

Как видно из таблицы, в составе консорциума увеличена концентрация лактобацилл: *L.camelliae*– 15,24%, *L.rhamnosus*– 11,66%, *L.hilgardii*– 18,02%, что позволило усилить пробиотические свойства биопрепарата.

Хранение консорциума микроорганизмов УМК в условиях лаборатории осуществляли под вазелиновым маслом при температуре - 4° С в течение 8 месяцев на полужидкой среде МРС-4. Для длитель-

Обсуждение полученных данных и заключение

В последние годы растет интерес к «органической» сельскохозяйственной продукции, получаемой без применения каких-либо искусственных, химических препаратов, используемых в современном агробизнесе для повышения продуктивности производства. Одним из развивающихся направлений в этой сфере является разработка и использование

ного хранения в глицероле подобрали температурный режим минус 80°С, который рекомендован для хранения молочнокислых микроорганизмов в течение 10 лет без потери биологических свойств.

Полученный консорциум микроорганизмов депонирован в Коллекции микроорганизмов РГП «Республиканская коллекция микроорганизмов» КН МОН РК под коллекционным номером РКМ 0862.

биопрепаратов на основе микроорганизмов с ценными свойствами. Рынок предоставляет целый ряд коммерческих биопрепаратов, включающих один или несколько штаммов микроорганизмов с полезными свойствами [16].

Большой интерес с точки зрения пролонгированного действия вызывают биопрепараты, представ-

ляющие собой симбиоз микроорганизмов, способных в результате взаимодействия продолжительное время поддерживать свою активность в почве, ризосфере, организме животных и в помещениях[17].

Предлагаемый консорциум микроорганизмов создан по аналогии с биопрепаратами, содержащими эффективные микроорганизмы (ЭМ). Создателем и разработчиком ЭМ-технологии является японский ученый Тэруо Хига, обнаруживший, что аэробные и анаэробные микроорганизмы могут находиться в симбиозе, проделывая при этом полезную работу [18]. В Казахстане ЭМ-технологии активно апробировались на базе Северо-Казахстанского НИИ животноводства и растениеводства для ускорения созревания перегноя и утилизации куриного помета; приготовления подстилки в свиноводстве; снижения смертности молодняка всех разновидностей сельского скота; увеличения удоев; очистки водоемов в местах разведения рыбной продукции; обеззараживание мест содержания животных[19].

В ходе предыдущих исследований сотрудниками лаборатории ТОО «*Altai Agro Farm LTD*» была подобрана ассоциация одиннадцати штаммов рода *Lactobacillus* и других микроорганизмов, обладающих пробиотической, антагонистической, высокой метаболической активностью, проявляющих неодинаковую активность по отношению к субстрату и условиям внешней среды (температура окружающей среды, рН загрязненной окружающей среды, источник азота, углеводов, углеводов и др.). Селекцию отобранных штаммов консорциума, ко-

торые выделялись из кисломолочных продуктов, содержимого кишечника новорожденных животных, почвенной микробиоты, проводили по физиолого-биохимическим свойствам, по свойствам, характеризующим лечебно-профилактическое действие, по производственным ценным свойствам.

Предлагаемый консорциум «УМБК-1Т» не содержит *Acetobacter pasteurianus*, плесневый гриб *Alternaria* spp., которые встречаются в препарате «Байкал-ЭМ-1». Ряд штаммов бактерий рода *Lactobacillus* spp. (*L. buchneri*, *L. kisonensis*, *L. japonicus*, *L. pentosus*, *L. fermentum*) и *Acetobacter* spp. не использованы для введения в состав консорциума. Введены штаммы *L. parakefiri*, *L. thailandensis*, *L. casei*, которые, как известно, отличаются наличием пробиотических свойств. Более чем в 3 раза снижена концентрация других видов микроорганизмов: *Pediococcus* spp., *Alkalibacterium* spp., *Acetobacter* spp., *Facklamias* spp., *Carnobacterium* spp., *Citrobacter* spp. [20].

Консорциум микроорганизмов «Универсальная микробиологическая культура» - *Lactobacillus* spp. УМБК-1Т используется для повышения эффективности использования кормов в животноводстве и нормализации работы желудочно-кишечного тракта животных [21]; для повышения урожайности комнатных, сельскохозяйственных и лесных культур [22]; для очистки и разделения нефтешламовых загрязнений [23].

Таким образом, в процессе работы разработан новый полифункциональный консорциум микроорганизмов «УМБК-1Т» с высоким

уровнем биологической активности, с постоянством состава популяции, адаптированный к глубинному культивированию.

Генетическая идентификация метагеномным NGS-секвенированием показала, что микробиом пробиотического препарата *UMBK-1T* состоит из микроорганизмов типа *Firmicutes* (96,42%) с доминированием *Lactobacillus hilgar dii* – 18,02%, *L. camelliae* – 15,24%,

L. rhamnosus – 11,66% и *S. cerevisiae* – 38,07%.

Консорциум микроорганизмов *UMBK-1T* депонирован в Коллекции микроорганизмов РГП «РКМ» КН МОН РК под номером РКМ 0862.

Конфликт интересов. Авторы не имеют конфликтов интересов.

Связь с другими НИР. Работа проводилась в 2017-2020 гг. по заказу ТОО «Scientific Industrial Enterprise» Altai Agro Farm LTD».

Список литературы

1 Saduakhasova S. Antioxidant activity of the probiotic consortium in vitro [Текст] / A/ Kushugulova, S. Kozhakhmetov, G. Shakhabayeva, I. Tynybayeva, T. Nurgozhin, Z. Zhumadilov // Cent Asian J Glob Health. 2014 Jan 24;2(Suppl):115. doi: 10.5195/cajgh.2013.115.

2 Afanador-Barajas. Impact of a bacterial consortium on the soil bacterial community structure and maize (*Zea mays* L.) cultivation [Текст] / L.N. Afanador-Barajas, Y.E. Navarro-Noya, M.L. Luna-Guido, L. Dendooven. - SciRep. – 2021. – Vol.11. – P. 13092.

3 Заявка 2014116492А Российская Федерация. МПК С12N1/14, А61К39/00. Биопрепарат-активатор биодеструкции органических отходов животноводства и птицеводства, консорциум штаммов микроорганизмов, используемый для получения биопрепарата, и способ его получения [Текст] / Королева О.В., Леонова М.Я., Снегирев Д.В., Майструк И.В.; заявитель: ООО «Велес». – 2014116492/10; заявл. 24.04.2014; опубл. 27.10.2015. – Бюлл. №30. - 2 с.

4 Патент 20407 Республика Казахстан, МПК С12N1/20; С12R1/39. Консорциум штаммов мезофильных микроорганизмов [Текст] / патентообл.: ГНПОПЭ «Казмеханобр». – №2006/1089.1; заявл. 03.10.2006; опубл. 15.02.2011. – Бюлл. №2.

5 Kort R. A novel consortium of *Lactobacillus rhamnosus* and *Streptococcus thermophilus* for increased access to functional fermented foods [Текст] / R. Kort, N. Westerik, L.M. Serrano, F.P. Douillard, W. Gottstein, I.M. Mukisa, C.J. Tuijn, L. Basten, B. Hafkamp, W.C. Meijer, B. Teusink, W. M. de Vos, G. Reid & W. Sybesma // Microb Cell Fact. – 2015. – Vol.14. – P. 195.

6 Bintsis Th. Lactic acid bacteria as starter cultures: An update in their metabolism and genetics // J. AIMS Microbiology. – 2018. – 4(4): 665-684.

7 García C. Liquid-phase food fermentations with microbial consortia involving lactic acid bacteria: A review [Текст] / C. García, M. Rendueles, M. Díaz // Food Research International, Vol. 119. – 2019. – P. 207-220.

8 Патент 2454460 Российская Федерация. МПКС12N1/20, А23С9/123, А23С9/12. Консорциум микроорганизмов, состоящий из штаммов *Bifidobacterium bifidum* 791, *Bifidobacterium longum* В-379М, *Lactobacillus acidophilus* НК-1, *Streptococcus thermophilus* 132, используемый для производства кисломолочных продуктов [Текст] / Раскошная Т.А., Рожкова И.В., Семенихина В.Ф., Харитонов В.Д.; заявит. и патентообл.: ГНУ «ВНИИ молочной промышленности», Учреждение РАНИ институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН. – №2010146584/10; заявл. 17.11.2010; опубл. 27.06.2012.

9 Дегтярева И.А. Оценка эффективности жидких форм биопрепаратов [Текст] / И.А. Дегтярева, Д.А. Яппаров, А.Я. Хидиятуллина, С.К. Зарипова // Ученые записки КГАВМ им. Н.Э. Баумана. – 2013. – №3. [Электрон. ресурс]. URL: <https://cyberleninka.ru/article/> (дата обращения: 01.08.2021).

10 Махамбетов И.М. Изучение микробного состава закваски «УМБК» [Текст] / И.М. Махамбетов, Е.В. Кухар, А.Д. Жумагалиев // Мат. конф. «Сейфуллинские чтения – 14». – Астана, 2018. – Т.2, Ч.1. – С. 195-198.

11 Behjati S. What is next generation sequencing? [Текст] / Behjati S., Tarpey P.S. // Archives of Disease in Childhood. – 2013. – V. 98(6). – P. 236-238.

12 Пат. № 2360969 Российская Федерация. МПК G01N33/483, C12Q1/02. Способ определения бактериофиксирующей активности эритроцитов [Текст] / В.Е. Романов, А.Г. Ивонин, А.Л. Бондаренко. – 2007141246/13; заявл. 06.11.2007; опубл. 20.05.2009, Бюл. № 11. – 11 с.; илл.

13 Yerlikaya O. Starter cultures used in probiotic dairy product preparation and popular probiotic dairy drinks. Food Science and Technology [online] [Текст] / O. Yerlikaya 2014, v. 34, n. 2. <https://doi.org/10.1590/fst.2014.0050>.

14 Ребриков Д.В. NGS высокопроизводительное секвенирование [Текст] / – М.: БИНОМ, 2014. – 228 с.

15 Кухар Е.В. Результаты NGS-секвенирования консорциума микроорганизмов нового пробиотического препарата [Текст] / Кухар Е.В., Даугалиева С.Т., Исанов Т.Ш. // Мат. Межд. научно-практ. конф. – Нур-Султан, 2019. – С. 78-79.

16 Тихонович И.А. Биопрепараты в сельском хозяйстве (Методология и практика применения микроорганизмов в растениеводстве и кормопроизводстве) [Текст] / И.А. Тихонович, А.П. Кожемяков, В.К. Чеботарь. – М., 2005. – 154 с.

17 Hatti-Kaul R. Lactic acid bacteria: from starter cultures to producers of chemicals [Текст] / R. Hatti-Kaul, L. Chen, T. Dishisha, H. El Enshasy // FEMS Microbiology Letters. – 2018. – Vol. 365, Iss. 20. – P. 213. <https://doi.org/10.1093/femsle/fny213>

18 Higa, T. Effective microorganisms: A biotechnology for mankind [Текст] / In J.F. Parr, S.B. Hornick, and C.E. Whitman (ed.) Proceedings of the First International Conference on Kyusei Nature Farming. U.S. Department of Agriculture, Washington, D.C., USA. – 1991. – P. 8-14. /

19 Минжасов К.И. ЭМ-технология в животноводстве [Текст] / К.И. Минжасов, Н.П. Иванов, А.А. Новицкий, М.Р. Алимбаева // ОмГТУ. 2014. №6. – URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/em-tehnologiya-v-zhivotnovodstve> (дата обращения: 08.08.2021).

20 Пат. 35149 Республика Казахстан, МПК С12N1/14 А61К39/00. Консорциум микроорганизмов, используемый для получения полифункциональных биопрепаратов с биологической активностью [Текст]/ Исанов Т.Ш., Кухар Е.В., Шерьязданова Т.Т., Исанов М.Ш.; заявит. и патентообл.: Исанов Т.Ш.; №2020/0135.1, заявл. 26.02.2020; опубл. 18.06.2021.; 15 с.; илл.

21 Пат.35268 Республика Казахстан, МПК А61К 39/00 С12N 1/14. Пробиотический препарат [Текст]/ Кухар Е.В., Курманов Б.А., Исанов Т.Ш.; заявит. и патентообл.: Кухар Е.В., Курманов Б.А., Исанов Т.Ш.; №2020/0477.1, заявл. 16.07.2020; опубл. 03.09.2021; 17 с.; илл.

22 Кабанова С.А. Опыт интенсивного выращивания однолетних сеянцев сосны обыкновенной в Павлодарской области Республики Казахстан [Текст]/ С.А.Кабанова, М.А.Данченко, И.С.Кочегаров, А.Н. Кабанов // Лесной журнал. – 2019. – №6. – С. 104-117.

23 Пат.35103 Республика Казахстан, МПК В09С 1/10, В09С 1/00. Способ биоремедиации нефтезагрязненных почв [Текст]/ Исанов Т.Ш., Кенжетаяев Г.Ж., Боранбаева А.Н., Койбакова С.Е., Сырлыбекқызы С., Исанов М.Ш., Шерьязданова Т.Т., Куандыков Б.М.; заявит. и патентообл.: Исанов Т.Ш.; №2020/0141.1, заявл. 27.02.2020; опубл. 04.06.2021.- 5 с.; илл.

References

1 Saduakhasova S. Antioxidant activity of the probiotic consortium in vitro [Текст] / A/ Kushugulova, S. Kozhakhmetov, G. Shakhbayeva, I. Tynybayeva, T. Nurgozhin, Z. Zhumadilov // Cent Asian J Glob Health. 2014 Jan 24;2(Suppl):115. doi: 10.5195/cajgh.2013.115.

2 Afanador-Barajas L.N. Impact of a bacterial consortium on the soil bacterial community structure and maize (*Zea mays* L.) cultivation [Текст]/ L.N., Afanador-Barajas, Y.E., Navarro-Noya, M.L., Luna-Guido, L. Dendooven // Sci Rep. – 2021. – Vol. 11. – P. 13092.

3 Заявка 2014116492 А Rossiiskaya Federaziya. МПК С12N1/14, А61К39/00. Биопрепарат-активатор биодеструкции органических отходов животноводства и птицеводства, консорциум штаммов микроорганизмов, используемый для получения биопрепарата, способ его получения [Текст]/ Koroleva O.V., Leonova M.Ya., Snegerev D.V., Mastruk I.V.; заявитель: ООО «Veles». – №2014116492/10; заявл. 24.04.2014; опубл. 27.10.2015. – Булл. №30.

4 Пат. 20407 Республика Казахстан. МПК С12N1/20; С12R1/39. Консорциум штаммов мезофильных микроорганизмов [Текст]/ Патентообл.: GNPOPE «Kazmechanoobr». – №2006/1089.1; заявл. 03.10.2006; опубл. 15.02.2011. – Булл. №2.

5 Kort R. A novel consortium of *Lactobacillus rhamnosus* and *Streptococcus thermophilus* for increased access to functional fermented foods [Текст]/ R. Kort, N. Westerik, L.M. Serrano, F.P. Douillard, W. Gottstein, I.M. Mukisa, C.J. Tuijn, L. Basten, B. Hafkamp, W.C. Meijer, B. Teusink, W. M. de Vos, G. Reid & W. Sybesma. // Microb Cell Fact. – 2015. – Vol. 14. – P. 195.

6 Bintsis Th. Lactic acid bacteria as starter cultures: An update in their metabolism and genetics [Текст]/ Th. Bintsis // J. AIMS Microbiology. – 2018. – 4(4): 665-684.

7 García C. Liquid-phase food fermentations with microbial consortia involving lactic acid bacteria: A review [Tekst] / C.García, M.Rendueles, M. Díaz // Food Research International. – Vol. 119. – 2019. – P. 207-220.

8 Pat. 2454460 Rossiiskaya Federaziya. MPK C12N1/20, A23C9/123, A23C9/12. Konsortium mikroorganizmov, sostoyaschiyi iz shtammov *Bifidobacterium bifidum* 791, *Bifidobacterium longum* B-379M, *Lactobacillus acidophilus* NK-1, *Streptococcus thermophilus* 132, ispolzuemyi dlya proizvodstva kislomolochnykh produktov [Tekst] / Raskoshnaya T.A., Rozhkova I.V., Semnihina V.F., Haritonov V.D.; zayavit. ipatentoobl.: GNU «VNII molochnoi promyshlennosti», Uchrezhdenie RAN Institut obschei genetiki im. N.I.Vavilova PAN. – №2010146584/10; zayavl. 17.11.2010; opubl. 27.06.2012.

9 Degtyareva I.A. Ozenka effektivnosti zhidkikh formbiopreparata [Tekst] / I.A.Degtyareva, D.A.Yapparov, A.Ya.Chidiyatullina, S.K. Zaripova // Uchenye zapiski KGAVM im. N.E. Baumana. – 2013. – №3. [Elektronniy resurs]. URL: <https://cyberleninka.ru/article/> (Data obrascheniya: 01.08.2021).

10 Machambetov I.M. Izuchenie mikrobnogo sostava zakvaski «UMBK» [Tekst] / I.M.Machambetov, E.V.Kukhar, A.D. Zhumagaliev // Mat. konf. «Seifullinskii chteniya – 14». – Astana, 2018. – T.2, Ch.1. – S. 195-198.

11 Behjati S. What is next generation sequencing? [Tekst] / S.Behjati, P.S.Tarpey // Archives of Disease in Childhood. – 2013. – V. 98(6). – P. 236-238.

12 Pat. 2360969 Rossiiskaya Federaziya. MPKG01N33/483, C12Q1/02. Spособ predeleniya bakteriofiksiruyushey aktivnosti eritrocitov [Tekst] / V.E. Romanov, A.G. Ivonin, A.L. Bondarenko. – 2007141246/13; zayavl. 06.11.2007; opubl. 20.05.2009, Bul. № 11. – 11 s. ill.

13 Yerlikaya O. Starter cultures used in probiotic dairy product preparation and popular probiotic dairy drinks. Food Science and Technology [online] [Tekst] / O. Yerlikaya 2014, v. 34, n. 2. <https://doi.org/10.1590/fst.2014.0050>.

14 Rebrikov D.V. NGS vysokoproizvoditelnoe sekvenirovaniye [Tekst] / D.V. Rebrikov. – M.: BINOM, 2014. – 228 s.

15 Kukhar E.V. Rezultaty NGS-sekvenirovaniya konsorcium mikroorganizmov novogo probioticheskogo preparata [Tekst] / E.V.Kukhar, S.T.Daugaliev, T.Sh.Issanov // Mat. Mezhd. nauchno-prakt. konf. – Nur-Sultan, 2019. – S. 78-79.

16 Tihonov I.A. Biopreparaty vselskom chozyaistve (Metodologiya i praktika primeneniya mikroorganizmov vrasteniyevodstve i kornoproizvodstve) [Tekst] / I.A.Tihonov, A.P.Kozhemyakov, V.K.Chebotar. – M., 2005. – 154 s.

17 Hatti-Kaul R. Lactic acid bacteria: from starter cultures to producers of chemicals [Tekst] / R.Hatti-Kaul, L.Chen, T.Dishisha, H. El Enshasy // FEMS Microbiology Letters. – 2018. – Vol. 365, Iss. 20. – P. 213.

18 Higa T. Effective microorganisms: A biotechnology for mankind [Tekst] / T.Higa. – 1991. – P. 8-14. / In J.F. Parr, S.B. Hornick, and C.E. Whitman (ed.) Proceedings of the First International Conference on Kyusei Nature Farming. U.S. Department of Agriculture, Washington, D.C., USA.

19 Minzhasov K.I. EM-tehnologiya v zhivotnovodstve [Tekst] / K.I.Minzhasov, N.P.Ivanov, A.A.Novickii, M.R. Alimbaeva // OmGTU. – 2014. – №6. [Elektronniy

resurs]. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/em-tehnologiya-v-zhivotnovodstve> (Data obrascheniya: 08.08.2021).

20Pat.35149Respublika Kazachstan. Konsorcium mikroorganizmov, ispolzuemyi dlya polucheniya polifunkcionalnyh biopreparatov s biologicheskoi aktivnost'yu [Tekst] / Issanov T.Sh., Kukhar E.V., Sheryazdanova T.T., Issanov M.Sh.; zayavitel ipatentoobl.: Issanov T.Sh.; №2020/0135.1, zayavl. 26.02.2020; opubl. 18.06.2021.; 15 s.; ill.

21Pat. RK №35268Respublika Kazachstan. Probioticheskiy preparat [Tekst] / Kukhar E.V., Kurmanov B.A., Issanov T.Sh.; zayavitel i patentoobl.: Kukhar E.V., Kurmanov B.A., Issanov T.Sh.; №2020/0477.1, zayavl. 16.07.2020; opubl. 03.09.2021.; 17 s.; ill.

22Kabanova S.A. Opyt intensivnogo vyraschivaniya odnoletnih ceyancev sosny obyknovennoiv Pavlodarskoi oblasti Respubliki Kazachstan [Tekst] / S.A. Kabanova, M.A. Danchenko, I.S. Kochegarov, A.N. Kabanov // Lesnoizhurnal. – 2019. – №6. – С. 104-117.

23Pat.35103Respublika Kazachstan. Sposob bioremediacii neftezagryaznennyh pochv [Tekst] / Issanov T.Sh., Kenzhetayev G.Zh., Boranbayeva A.N., Koibakova S.Ye., Syrlybekkyzy S., Issanov M.Sh., Sheryazdanova T.T., Kuandykov B.M.; zayavitel i patentoobl.: Issanov T.Sh.; №2020/0141.1, zayavl. 27.02.2020; opubl. 04.06.2021. - 5 s.; ill.

Благодарность

Авторы выражают благодарность сотрудникам лаборатории химических и молекулярно-генетических методов исследования и анализа ТОО «НПЦ «Микробиологии и вирусологии», ТОО «КазНИИЛХА им. А.Н. Букейхана», КГУТИ им. Ш.Есенова, ТОО «*Stientific Industrial Enterprise*» *Altai Agro Farm LTD*», НАО «КазАТУ им. С.Сейфуллина», за помощь и участие в получении результатов.

ПОЛИФУНКЦИОНАЛДЫ БИОПРЕПАРАТТАР АЛУ ҮШІН ҚОЛДАНЫЛАТЫН МИКРООРГАНИЗМДЕР КОНСОРЦИУМЫ

Кухар Е. В.¹, Исанов² Т. Ш.

¹*«С. Сейфуллина» Қазақ агротехникалық университеті» КеАҚ, Ауыл шаруашылығы биотехнологиясы ғылыми-зерттеу платформасы Нұр-Сұлтан қ., Жеңіс д-лы, 62, 010011, Қазақстан, kucharev@mail.ru*

²*«Stientific Industrial Enterprise» Altai Agro Farm LTD» ЖШС, Ақтау қ., Қазақстан*

Түйін

Ауыл шаруашылығы қажеттіліктері үшін пайдалы қасиеттері бойынша іріктеліп, таңдалған микроорганизмдердің тірі жасушалары ретіндегі тиімді микробиологиялық препараттарды айқындап, ғылыми құрастырымдар түрінде ұсыну өзекті мәселе болып табылады. Зерттеудің мақсаты жаңа жоғары биологиялық белсенділік деңгейіндегі, терең өсінділеу жағдайларына

бейімделген және биопрепараттар алуға жарамды полифункционалды микроорганизмдер консорциумын құрастыру.

Мақалада терең өсінділеуге бейімделген туыстастықтың тұрақты құрамда болуымен сипатталатын жоғары биологиялық белсенділік деңгейіне ие жаңа «УМБК-1Т» полифункционалды микроорганизмдер консорциумын құрастыру бойынша зерттеу жұмыстарының кезеңдері мен зерттеу нәтижелері баяндалған.

Авторлар микроорганизмдердің өсінділік-морфологиялық қасиеттерін зерттеген, метагеномды NGS-секвенирлеу өткізген, геномға талдаулар жасаған, микроорганизмдер консорциумын сақтау әдістерін таңдап, ұсынған. Генетикалық талдаулар жаңа пробиотикалық препараттың микробиомы негізінен *Firmicutes* типіндегі микроорганизмдерден тұратынын көрсеткен (96,42%). Қауымдастықтағы доминантты түрлерге жататыны *L. hilgardii* – 18,02%, *L. camelliae* – 15,24%, *L. rhamnosus* – 11,66% және *S. cerevisiae* – 38,07%. Аталған УМБК-1Т микроорганизмдер консорциумы ҚР БЖҒМ ҒК «Республикалық микроорганизмдер жинағы» РМК РКМ 0862 номері түрінде депонирленген.

Кілт сөздер: биологиялық өнім, ашытқы, консорциум, лактобактериялар, микроорганизм, штамм

CONSORTIUM OF MICROORGANISMS USED TO OBTAIN POLYFUNCTIONAL BIOPREPARATIONS

Kukhar E.V.¹, Isanov T.Sh.²

¹ *Agricultural Biotechnology Research Platform*

Kazakh Agrotechnical University named after S. Seifullin, Zhenis ave, 62

Nur-Sultan, 010011, Kazakhstan, kucharev@mail.ru

² *LLT "Scientific Industrial Enterprise" Altai Agro Farm LTD", Aktau, Kazakhstan*

Abstract

It is becoming more urgent to develop adequate microbiological preparations for agriculture, representing themselves as living cells of microorganisms. The study aimed to create a new multifunctional consortium of microorganisms with a high level of biological activity, adapted to deep cultivation and suitable for obtaining biological products.

The article describes the stages and results of research on developing a new multifunctional consortium of microorganisms "UMBK-1T" with a high level of biological activity, characterized by the constancy of the composition of the population, adapted to submerged cultivation.

The authors studied microorganisms' cultural and morphological properties, carried out metagenomic NGS sequencing, analyzed the genome, and selected storage methods for a consortium of microorganisms. Genetic analysis showed that the microbiome of the new probiotic preparation mainly consists of microorganisms of the *Firmicutes* type (96.42%). The dominant species in the community are *L. hilgardii* - 18.02%, *L. camelliae* - 15.24%, *L. rhamnosus* - 1.66% and *S. cerevisiae* - 38.07%. The consortium of microorganisms UMBK-1T has been deposited in the Collection

of Microorganisms of the Republican State Enterprise "Republican Collection of Microorganisms" of the KN MES RK under the number RKM 0862.

Keywords: biological product, yeast, consortium, lactobacilli, microorganism, strain