4
НОМЕР

БОНЦ

ISSN 2304-9081
ЭЛЕКТРОННЫЙ ЖУРНАЛ
http://www.elmag.uran.ru

БЮЛЛЕТЕНЬ

ОРЕНБУРГСКОГО НАУЧНОГО ЦЕНТРА УрО РАН

Оренбургская область
Урочище Петровские сосны
Вельмовский П.В.

2023

УЧРЕДИТЕЛЬ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
ОРЕНБУРГСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
УРАЛЬСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

© Коллектив авторов, 2023

УДК. 579.63

Д.М. Афордоаньи[1], Ш.З. Валидов[1], М.Х. Саттаров [2], А.В. Новиков[1]

ВЫДЕЛЕНИЕ И АНАЛИЗ МИКРООРГАНИЗМОВ ДЛЯ СОЗДАНИЯ БИОПРЕПАРАТА, СПОСОБСТВУЮЩЕГО БЕЗОПАСНОЙ ДЕГРАДАЦИИ ОРГАНИЧЕСКИХ ОТХОДОВ В ОСАДКАХ СТОЧНЫХ ВОД

[1] Федеральный исследовательский центр КазНЦ РАН, Казань, Россия

[2] ООО НПО «Экоинновации» Казань, Россия

Цель. Выделение, идентификация и фенотипическое описание непатогенных микроорганизмов – потенциальных агентов для безопасной деградации органического субстрата, а также формирование консорциума, способствующего безопасной переработке осадков сточных вод в очистных сооружениях

Материалы и методы. Для выделения микроорганизмов использовали семена и корни озимой пшеницы и рапса. Отдельные колонии пересевали и тестировали для выявления изолятов, проявляющих ферментативные активности. Изоляты с наиболее разнообразными спектрами активности идентифицировали на основе сравнения фрагмента гена 16S рРНК. Непатогенные штаммы проверяли на совместимость в чашечных тестах. Пять штаммов, совместимых между собой, вносили в осадки сточных вод (ОСВ). Для определения влияния внесенных штаммов измеряли температуру ОСВ, а также определяли количество энтеробактериальных штаммов.

Результаты. Из семян и ризосферы пшеницы и рапса были выделены штаммы *Bacillus subtilis* MGMM115, *Priestia megaterium* MGMM116, *Pseudomonas protegens* MGMM117, *Brevibacillus brevis* MGMM20, *Streptomyces violascens* MGMM6, которые были совместимы между собой. Добавление данных штаммов в ОСВ приводило к разогреванию обрабатываемого осадка и снижению количества энтеробактерий.

Заключение. Растения могут быть источником для выделения безопасных штаммов, пригодных для безопасной переработки осадков сточных вод в очистных сооружениях.

Ключевые слова: илы очистных сооружений, ризосфера, микроорганизмы-симбионты, видовая идентификация, 16S рРНК, экзоферменты, энтеробактерии.

D.M. Afordoanyi[1], S.Z. Validov[1], M.Kh. Sattarov [2], A.V. Novikov[1]

ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF MICROORGANISMS FOR DESIGNING BIOPREPARATIONS DEGRADING ORGANIC WASTES IN ACTIVE SLUGE

[1] Federal Research Center KazSc RAS, Kazan, Russia

[2] Ecoinnovacii LLC, Kazan, Russia

Aim. To isolate, identify and phenotypically characterize non–pathogenic microorganisms - potential agents for the safe degradation of organic substrate, as well as to form a consortium contributing to the safe processing of wastewater sludge in wastewater treatment plants.

Materials and methods. Seeds and roots of winter wheat and rapeseed were used to isolate microorganisms. Individual colonies were replated and tested to identify isolates exhibiting enzymatic activity. Isolates with the most diverse activity spectra were identified based on a comparison of a fragment of the 16S rRNA gene sequence. Non-pathogenic strains were tested for compatibility *in vitro*. Five strains compatible with each other were introduced into sewage sludge. To determine the effect of the introduced strains, the temperature of the treated sludge

DOI: 10.24411/2304-9081-2023-14002

was measured, and the number of enterobacterial strains was determined in ti.

Results. Strains of *Bacillus subtilis* MGMM115, *Priestia megaterium* MGMM116, *Pseudomonas protegens* MGMM117, *Brevibacillus brevis* MGMM20, *Streptomyces violascens* MGMM6 were isolated from the seeds and rhizosphere of wheat and rapeseed, which were compatible with each other. The addition of these strains to the sewer sluge led to heating of the treated sediment and a decrease in the number of enterobacteria.

Conclusion. Plants can be a source for the isolation of safe strains suitable for the safe processing of sewage sludge in wastewater treatment plants.

Keywords: sewer sludge, rhizosphere, symbiont microorganisms, species identification, 16S rRNA, secreted enzymes, enterobacteria.

Введение

Осадки сточных вод являются одним из наиболее объемных городских отходов, которые требуют депонирования на специально отведенных сооружениях в виду исходящих от них токсичных газов [1]. Будучи антропогенными отходами, илы содержат также и патогенную для человека микрофлору, которая может поддерживаться в них значительное время, а при контакте с человеком и животными способна стать источником бактериальных инфекций. При длительном выдерживании илов их органическая составляющая постепенно утилизируется микроорганизмами, превращаясь в углекислый газ и воду, соответственно исчезают токсичные газы и характерный запах, а также уменьшается численность патогенной микрофлоры [2].

Ускорение процесса переработки илов может быть стимулировано внесением микроорганизмов, которые интенсивно деградируют органические вещества канализационных илов: клетчатку, углеводы, белки, жиры, лигнин. Размножение непатогенных микроорганизмов, утилизирующих органические вещества, способствует вытеснению менее приспособленных к илам представителей патогенной микрофлоры человека [3]. Интенсивное размножение микроорганизмов может приводить к разогреву массы илов до 50°С-70°С, что является фактором, элиминирующим патогенную микрофлору.

Источником таких микроорганизмов может быть ризосфера растений. Пшеница и рапс являются часто возделываемыми в Средней полосе Поволжья Российской Федерации однодольными и двудольными культурами, соответственно. Развивая мощную корневую систему, оба растения колонизуются разнообразными микроорганизмами, которые могут выделять внушительный спектр литических ферментов.

В настоящей работе описаны выделение, видовая идентификация, фенотипическая характеристика ризосферных микроорганизмов и результаты их испытания в качестве биопрепарата для обработки осадков сточных вод.

Материалы и методы

Среды и буферные растворы, использованные в работе. В качестве среды для выделения микроорганизмов была использована среда Lysogenety broth (LB), которая содержит 10 г/л триптона, 5 г/л дрожжевого экстракта и 5 г/ NaCl. Для получения агаризованной среды к указанному составу добавляли агар в количестве 20 г/л. Для приготовления среды LB все компоненты смешивали и доводили объем до 1 литра дистиллированной водой. Для идентификации энтеробактерий использовали готовую среду Эндо, которую готовили в соответствии с рекомендациями производителя.

Среды с добавками для тестирования липазной, целлюлазной, амилазной и фитазной активностей готовили, добавляя в готовящуюся среду LB Tween 80, карбоксиметилцеллюлозу (1 г/л), крахмал (2г/л) и фитат. Стерилизованный кипячением раствор обезжиренного сухого молока (ООО «ДиаэМ», Москва, Россия) 100 г/л добавляли непосредственно в чашку Петри с незастывшим LB-агаром, после чего агар перемешивали. Для разведения проб, приготовления суспензий клеток использовали фосфатно-солевой буфер (ФСБ), pH 7.0. Все компоненты сред и растворов были закуплены в фирме ООО «ДиаэМ» (Москва, Россия). Все среды и ФСБ стерилизовали в автоклаве при температуре 110°С в течение 40 минут.

Выделение микроорганизмов из ризосферы пшеницы. Для выделения микроорганизмов пробу корней с прилипшей к ней почвой весом 1 г помещали в 10 мл стерильного ФСБ и перемешивали с помощью вортекса в течение 10 мин. Из полученной суспензии готовили разведения и высевали на чашки с добавлением раствора сухого молока, Tween80, крахмала и фитата. После инкубирования при 30°С в течение 72 ч, одиночные колонии с проявлениями протеазной, липазной, амилазной и фитазной активностей, в виде появления зоны просветления около колоний, отбирали и пересевали репликатором. Реплику распечатывали на среду LB и LB с карбоксиметилцеллюлозой. После инкубации при 30°С в течение 72 часов чашку с карбоксиметил целлюлозы окрашивали раствором конго красного и отмывали раствором 1 М NaCL. Целлюлазную активность детектировали по исчезновению

DOI: 10.24411/2304-9081-2023-14002

красной окраски вокруг колоний.

Определение совместимости штаммов. Совместимость штаммов определяли с помощью конфронтационного теста. Для этого культуры сеяли перпендикулярными линиями на поверхность чашки Петри с агаризованной средой LB. Штаммы считали совместимыми, если в месте контакта линий культур рост ни одной из них не угнетался.

Внесение штаммов в осадки сточных вод. Для внесения штаммы индивидуально выращивали в 5 мл среды LB в течение 15 часов. После этого количество жизнеспособных бактерий в культуре доводили до 10^9 клеток на миллилитр суспензии. На один килограмм осадка сточных вод вносили 10^9 клеток каждого из штаммов и тщательно перемешивали. Осадки инкубировали 14 дней. На каждый вариант использовали 10 кг осадка.

Высевы из проб осадка иловых площадок. Для определения микрофлоры осадка иловых площадок навеску ила (1 г) суспендировали в 10 мл стерильного ФСБ. Серийные разведения полученной суспензии высевали на агаризованные среды LB и Эндо для подсчета колониеобразующих единиц (КОЕ).

Выделение ДНК, амплификация фрагмента гена 16S рРНК, секвенирование и обработка данных. Для выделения ДНК из бактериальных изолятов суспензии клеток инкубировали в 1% растворе додецил сульфата натрия и 2 мг, мл протеазы при 60°С в течение 1 ч. После лизиса проводили фенол/хлороформную экстракцию. ДНК осаждали в присутствии 0,3 М ацетата калия с добавлением изопропанола в соотношении 0,6:1 (изопропанол : лизат). Смесь центрифугировали при 5000 об/мин в течение 5 мин при 22°С температуре. Осадок дважды промывали 70% этанолом и один раз 96% этанолом. Осадки высушивали и растворяли в 20-50 мкл деионизованной воды. Концентрации ДНК измеряли с помощью спектофотометра NanoDrop (Thermo, США). Реактивы приобретали в фирме ООО «ДиаэМ» (Москва, Россия).

Амплификацию гена 16S рРНК производили с использованием тотальной ДНК, выделенной из чистой культуры выделенного штамма. Реакционная смесь объемом 50 мкл была следующего состава: 1×буфер для Taq-полимеразы, 0,2 мМ/мкл всех четырех дезоксинуклеотидов, 1 пМ/мкл каждого из праймеров и 5 единиц HS Taq-полимеразы (ЗАО «Евроген», Россия), а также 50 нг тотальной ДНК. Для амплификации использовали стандартные универсальные праймерные олигонуклеотиды 27fm и R15542 (5’-AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG -

DOI: 10.24411/2304-9081-2023-14002

3’) и 1522R (5’- AAG GAG GTG ATC CAG CCG CA -3’) (1).

Реакцию проводили в следующем режиме: смесь прогревали до 95°С в течение 1 минуты для активации полимеразы, затем проводили 35 циклов в режиме 95°С в течение 10 сек, 54°С в течение 20 сек и 72°С в течение 1 мин. Для достройки фрагментов смеси выдерживали еще 5 мин при 72°С. Для амплификации использовали ДНК-амплификатор Verti (Thermo,США). Полученные в ходе амплификации фрагменты ДНК гена 16S рРНК разделяли в 1% агарозном геле (0,5×TBE) и экстрагировали с помощью набора CleanUp Mini (ЗАО Евроген, Москва, РФ). Определение нуклеотидной последовательности производили в компании ЗАО Евроген (Москва, РФ) с праймерами 27fm и1492R (5’-ACG GYT ACC TTG TTA CGA CTT-3’). Последовательности объединяли с помощью программы Clon Manager 9.0 (США) и анализировали в системе BLAST (https://blast.ncbi.nlm.nih.gov). Штаммы идентифицировали по наибольшему совпадению последовательностей со штаммами известных видов в коллекции GenBank.

Результаты и обсуждение

Выделение и идентификация микроорганизмов с поверхности семян и ризосферы пшеницы и рапса.

Идентификация микроорганизмов, выделенных с семян или ризосферы пшеницы или рапса, произведенная на основе сравнения последовательностей гена 16S рРНК, позволила определить видовой состав микробных консорциумов, населяющих растения (рис. 1).

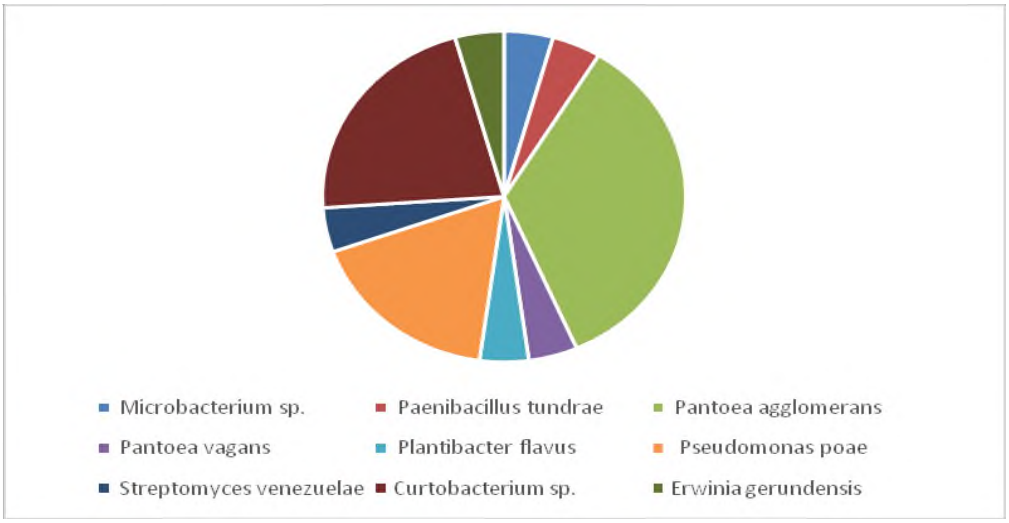

Рис. 1. Видовой состав эпифитной микрофлоры семян пшеницы.

Так, семяна озимой пшеницы сорта «Универсиада» населены как потен-

DOI: 10.24411/2304-9081-2023-14002

циально полезными бактериальными видами (*Pseudomonas poae, Paenibacillus tundrae* и *Streptomyces venezuelae)*, так и патогенами растений и животных (*Pantoea agglomerans, P. vagans, Curtobacterium* sp., *Erwinia gerundensis)*. Причем потенциально патогенная флора составляет 60,5% (рис. 1).

Эпифитная микрофлора семян рапса была представлена 11 видами в которых доминировали виды *Bacillus megaterium* и *B. pumilus* (по 15%). Среди микроорганизмов, обнаруженных на семенах рапса, только *Staphylococcus gallinarum* может быть классифицирован как потенциально патогенный микроорганизм. В целом бациллярные штаммы составляли более 60% микрофлоры, еще 30% представлены видами актинобактерий (рис. 2).

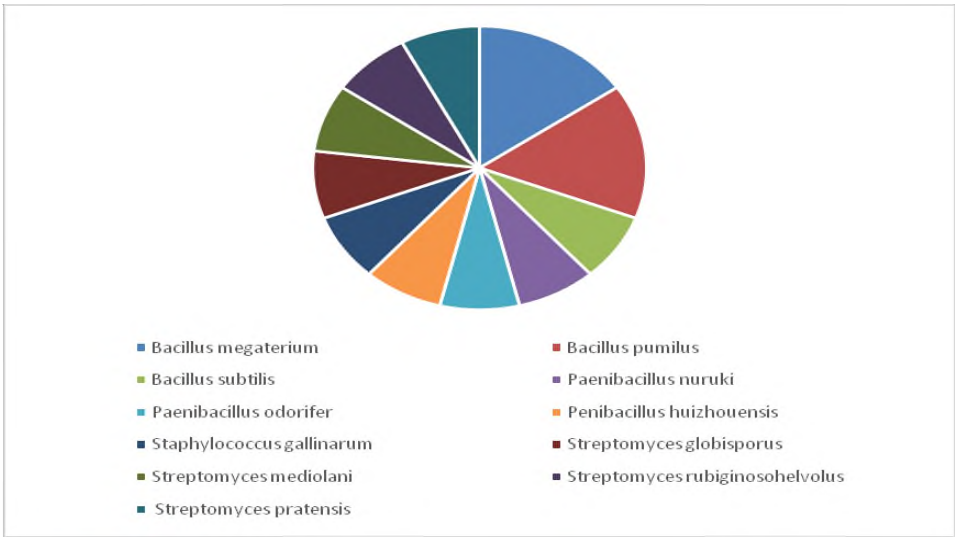

Рис. 2. Видовой состав эпифитной микрофлоры семян рапса.

В ризосфере пшеницы бактериологическим методом путем высева на питательные среды выявлено 10 видов бактерий: *Bacillus amyloliquefaciens*, *B. aryabhattai*, *B. horikoshii*, *B. megaterium*, *B. subtilis*, *Paenibacillus silvae*, *Pantoea agglomerans*, *P. brenneri*, *P. vagans*, *Sphingobium yanoikuyae*. Потенциально полезные виды бацилл и *S. yanoikuyae* составляли 52% всех видов, однако грам-отрицательная флора была представлена исключительно патогенными для человека видами из рода *Pantoea* (рис. 3).

Ризосфера рапса была представлена 18 видами эубактерий (рис. 4). Среди 40 выделенных и идентифицированных микроорганизмов наиболее представлены виды *Bacillus velezensis* (22%), *B. subtilis* (10%), флюоресцирующие (полезные) псевдомонады (10%), *Stenotrophomonas sp.* (5%), *Bacillus aryabhattai* (10%), остальные полезные виды составляли не более 2,5% каждый.

DOI: 10.24411/2304-9081-2023-14002

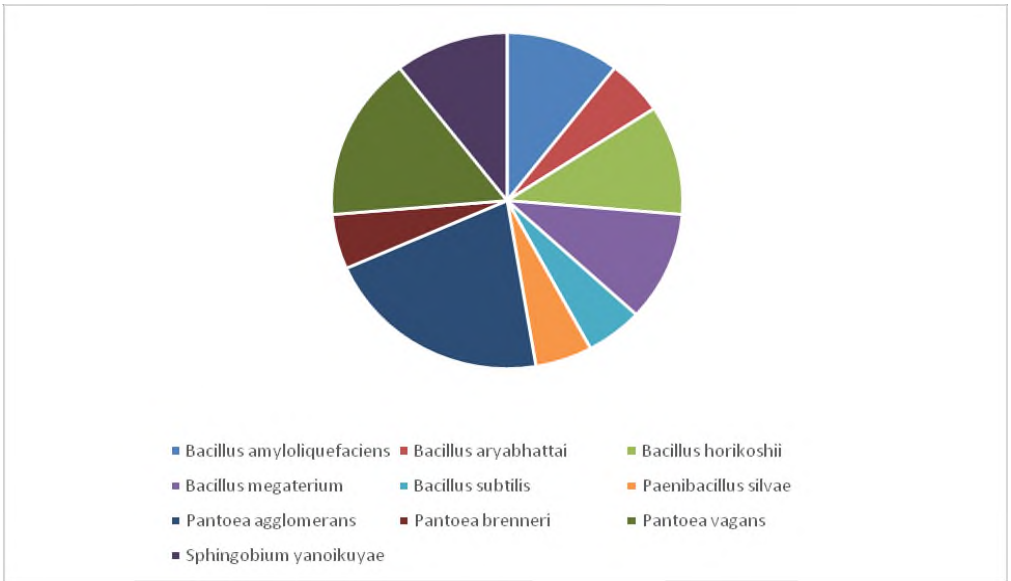

Рис. 3. Видовой состав микрофлоры ризосферы пшеницы.

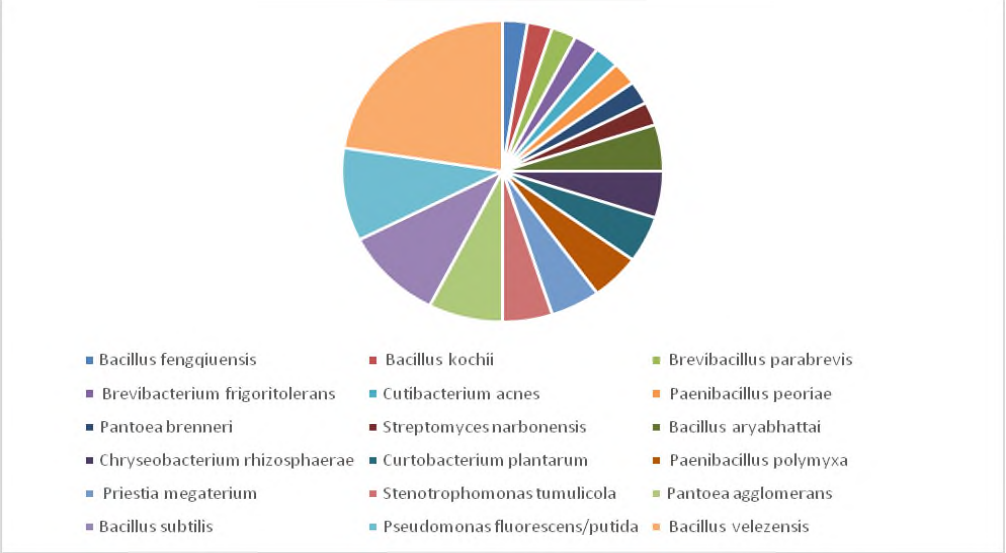

Рис. 4. Видовой состав микрофлоры ризосферы рапса.

Характеристика ферментативной активности выделенных штаммов.

Анализ выделенных микроорганизмов показал, что среди изученных изолятов присутствуют штаммы способные фиксировать атмосферный азот, а также имеются штаммы, синтезирующие амилазы, β-глюконазы, липазы, протеазы, фитазы и целлюлазы (табл. 1).

Изоляты с наиболее ярким проявлением литических свойств были отобраны для дальнейшей работы. Из набора изолятов исключены штаммы, принадлежащие к потенциально патогенным или фитопатогенным видам, поскольку их применение в виде биопрепаратов неприемлемо.

DOI: 10.24411/2304-9081-2023-14002

Таблица 1. Ферментативная активность выделенных бактериальных изолятов

	Группы микроорганизмов			
	Эпифиты семян пшеницы	Эпифиты семян рапса	Изоляты ризосферы пшеницы	Изоляты ризосферы рапса
Количество изолятов (n)	24	99	147	57
Фиксация азота	14 (58.3%)	27 (27.3%)	89 (60.5%)	47 (82.5%)
	Наличие соответствующих ферментов			
Амилаза	13 (54.2%)	3 (3%)	26 (17.7%)	46 (80.7%)
β-глюконаза	11 (45.8%)	10 (10%)	31 (21.1%)	21 (36.8%)
Липаза	5 (20.8%)	48 (48.5%)	39 (26.5%)	14 (24.6%)
Протеаза	13 (54.8%)	13 (13%)	69 (47%)	32 (56%)
Фитаза	17 (58.3%)	7 (7%)	35 (23.8%)	27 (47.4%)
Целлюлаза	3 (12.5%)	18 (18.2%)	11 (7.5%)	28 (49%)

Получение консорциумов путем соединения штаммов

Для разработки биопрепаратов необходимо, чтобы штаммы в предполагаемом консорциуме были совместимы. С помощью конфронтационного теста были подобраны штаммы, которые совместимы друг с другом и обладают, в совокупности, набором необходимых активностей (табл. 2).

Таблица 2. Энзиматическая активность выделенных штаммов.

Штамм	**Азот-фиксация**	**Амилаза**	**Липаза**	**Протеаза**	**Фитаза**	**Целлюлаза**
Bacillus subtilis MGMM115	+	+	+	+	–	+
Priestia megaterium MGMM116	+	+	–	+	+	–
Pseudomonas protegens MGMM117	+	–	–	+	–	–
Brevibacillus brevis MGMM20	–	–	+	+	–	–
Streptomyces violascens MGMM6	–	+	+	+	–	+

Все выбранные штаммы принадлежат к видам, среди которых не встречаются патогенные представители. Штаммы *B. subtilis* MGMM115, *P. megaterium* MGMM116 и *Ps. protegens* MGMM117 могут фиксировать атмосферный азот. При утилизации крахмала, клетчатки и жиров, эти штаммы могут сбалансировать потребление азота и углерода. При этом штамм MGMM116, также выделяет фитазу(ы), что увеличивает доступность фосфо-

DOI: 10.24411/2304-9081-2023-14002

ра. Все выбранные штаммы синтезируют протеазы, что способствует быстрой утилизации белковых компонентов в отходах.

Испытание штаммов на илах очистных сооружений

Влияние выделенных бактерий на активные илы определено в модельном эксперименте, когда к илам очистных сооружений добавлена смесь из пяти выбранных совместимых штаммов (табл. 3). При этом отслеживали следующие параметры: температуру илов, кислотную реакцию (pH), количество энтеробактерий. Показано, что добавление консорциума микроорганизмов способствует быстрому и более активному разогреву массы илов. Кроме того, внесение консорциума обеспечивает снижение активной реакции илов до значений 4.8-5.1, тогда как у контрольного варианта pH оставался в районе 6.7-7.0. Внесение в илы консорциума также снижало количество энтеробактерий в 35 раз (по данным высевов на среду Эндо). Эти изменения сопровождались изменением запаха илов, который детектируют органолептически: в конце процесса тяжелый запах канализации пропадает и сменяется запахом, характерным для почвы. В контроле без добавления консорциума запах оставался без изменений.

Таблица 3. Параметры обрабатываемых осадков сточных вод (илов)

Вариант	Температура в момент максимального разогрева, °С	pH	Титр энтеробактерий, КОЕ*	Наличие запаха
Контроль	30±3	6.9	24534±343	+
Опыт	71±5	5.1	700±27	–

Примечание: *КОЕ – колонии образующие единицы.

Городское население производит огромное количество отходов, из которых илы очистных сооружений лидируют как по объемам, так и по уровню причиняемого дискомфорта [1]. В то же время эти илы богаты органическими веществами, которые при должной переработке могут стать почвогрунтом с возможностью использования его для рекультивации земель, промышленного и городского озеленения, а при низком содержании тяжелых металлов не исключено его использование в аграрном секторе [4].

Кроме характерного запаха проблемой илов очистных сооружений является также наличие большого количества патогенных микроорганизмов, размножение и распространение которых крайне нежелательно [3].

DOI: 10.24411/2304-9081-2023-14002

Илы очистных сооружений, как и другие органические отходы очень часто содержат микрофлору, которая со временем перерабатывает эти субстраты и делает их безопасными [5]. Очевидно, что этот естественный процесс можно ускорить, если в илы очистных сооружений добавить необходимую микрофлору.

Требования для штаммов, которые могут быть использованы для переработки илов очистных сооружений следующие: утилизация широкого круга биополимеров и принадлежность к непатогенным видам. Последнее требование обязательно, хотя и не влияет на эффективность процесса переработки. Получаемый субстрат, в случае использования патогенных микроорганизмов, не может быть использован в сельском хозяйстве.

Почвенные сообщества, колонизирующие растения, на наш взгляд, являются наиболее удобными нишами для селекции микроорганизмов, пригодных для переработки илов очистных сооружений. В ризосфере много микроорганизмов, проявляющих широкий спектр гидролитических активностей, таких как протеаза, липаза, фитаза, целлюлаза и др. [6]. Непатогенные ризобактерии часто являются фитостимуляторами и могут защищать растения от фитопатогенов. Немаловажным является их способность фиксировать атмосферный азот [7], поскольку при активной деградации клетчатки и жиров, дополнительный источник азота помогает создать баланс между основными элементами, необходимыми для успешного размножения микроорганизмов-деструкторов.

В естественных местообитаниях часто выделяются микроорганизмы, проявляющие антагонизм по отношению друг к другу. Благодаря разным стратегиям выживания и пространственному распределению в ризосфере микроорганизмы могут сосуществовать, даже будучи антагонистами. Очевидно, что для биопрепаратов совместимость штаммов имеет важное значение, поскольку неантагонистические, а еще лучше синергические взаимодействия могут способствовать большей эффективности процесса. Кроме того, совместимые штаммы могут храниться в виде смеси, что технически проще и хранить, и применять.

Ни один из микроорганизмов, использованных в консорциуме, не мог эффективно расти уже при 50°С. Предполагаем, что деятельность вносимых штаммов создает условия для размножения микроорганизмов, способных

DOI: 10.24411/2304-9081-2023-14002

разогревать массу до 70°С и доводить процесс переработки илов очистных сооружений до завершения. Очевидно, разогрев массы, который происходит в процессе развития микрофлоры илов, также способствует уничтожению энтеробактерий, температурный оптимум которых обычно составляет 37°С. Остаточные количества энтеробактерий, возможно, сохраняются на периферии иловой массы, которая не разогревается до высоких температур.

Заключение

Проведенные исследования свидетельствуют, что ризосфера растений достаточно разнообразна для выделения микроорганизмов, способных эффективно перерабатывать илы очистных сооружений. Субстраты, в которых снижены концентрации патогенных микроорганизмов до разрешенных уровней, могут использоваться для приготовления почвогрунтов.

(Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования в рамках проекта «Генетическая технология конструирования искусственных консорциумов микроорганизмов для создания биопрепаратов в растениеводстве» – Соглашение от 25 октября 2021 г. № 075-15-2021-1395 (вн. № 15.ИП.21.0020), а также по теме государственного задания Федерального исследовательского центра КазНЦ РАН.)

ЛИТЕРАТУРА

1. Скворцов Л.С., Коныгин А.А., Селиверстов А.Ф. Технология и производство экологически безопасных органических удобрений из избыточного ила канализационных очистных сооружений. Водоснабжение и канализация. 2010. 4: 39-44.
2. Бегматов Ш.А., Дорофеев А.Г., Пименов Н.В. и др. Высокая эффективность удаления патогенных микроорганизмов при очистке коммунальных сточных вод города Москвы. Микробиология. 2023. 92(5): 521-526.
3. Dias F.F., Bhat J.V. Microbial ecology of activated sludge. I. Dominant bacteria. Appl Microbiol. 1964. 12(5): 412-417.
4. Макенова М.М., Науанова А.П., Бостубаева М.Б, Шуменова Н.Ж. Влияние различных доз иловых осадков на морфолого-фенологические особенности амаранта (*Amaranthus cruent*us). Вестник СКУ им. М. Козыбаева. 2021. 2(51): 138-144.
5. Лицкевич А.Н., Гулькович М.В., Черничко О.А. Способы стабилизации и детоксикации осадков сточных вод молокоперерабатывающих предприятий. Природопользование. 2016. 29: 172-176.
6. Validov S., Kamilova F., Qi S., Stephan D., Wang, J.J., Makarova N.; Lugtenberg B. Selection of bacteria able to control *Fusarium oxysporum* f. sp *radicis-lycopersici* in stonewool substrate. Journal of Applied Microbiology. 2007. 102(2): 461-471.
7. Евдокимова М. А. Продуктивность ячменя при использовании биопрепаратов на основе ассоциативных диазотрофов. Бюлл. ВИУА. 2001. 115: 128-129.

Поступила 18.12.2023 г.

(*Контактная информация:* **Валидов Шамиль Завдатович** – PhD, заведующий лабораторией молекулярно-генетических и микробиологических методов ФИЦ КазНЦ РАН; адрес: 420059, г. Казань, ул. Оренбургский тракт, 20А; e-mail: sh.validov@knc.ru)

REFERENCES

1. Skvortsov L.S., Konygin A.A., Seliverstov A.F. Technology and production of environmentally friendly organic fertilizers from excess sludge from sewage treatment plants. Water supply and sewerage. 2010. 4: 39-44.
2. Begmatov Sh.A., Dorofeev A.G., Pimenov N.V. etc. High efficiency of removal of pathogenic microorganisms during the treatment of municipal wastewater in the city of Moscow. Microbiology. 2023. 92(5): 521-526.
3. Dias F.F., Bhat J.V. Microbial ecology of activated sludge. I. Dominant bacteria. Appl Microbiol. 1964. 12(5): 412-417.
4. Makenova M.M., Nauanova A.P., Bostubaeva M.B., Shumenova N.Zh. The influence of different doses of silt sediments on the morphological and phenological characteristics of amaranth (Amaranthus cruentus). Vestnik SKU im. M. Kozybaeva. 2021. 2(51): 138-144.
5. Litskevich A.N., Gulkovich M.V., Chernichko O.A. Methods for stabilization and detoxification of wastewater sludge from dairy processing plants. Nature management. 2016. 29: 172-176.
6. Validov S., Kamilova F., Qi S., Stephan D., Wang, J.J., Makarova N.; Lugtenberg B. Selection of bacteria able to control Fusarium oxysporum f. sp radicis-lycopersici in stonewool substrate. Journal of Applied Microbiology. 2007. 102(2): 461-471.
7. Evdokimova M. A. Barley productivity when using biological products based on associative diazotrophs. Bulletin VIUA, M. 2001. 115: 128-129.

Образец ссылки на статью:

Афордоаньи Д.М., Валидов Ш.З., Саттаров М.Х., Новиков А.В. Выделение и анализ микроорганизмов для создания биопрепарата, способствующего безопасной деградации органических отходов в осадках сточных вод. Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН. 2023. 4. 12 с. [Электр. ресурс] (URL: http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2023-4/Articles/DMA-2023-4.pdf). DOI: 10.24411/2304-9081-2023-14002