

## БІОКОМПОСТУВАННЯ ОРГАНІЧНОГО СУБСТРАТУ НА ОСНОВІ ПТАШИНОГО ПОСЛІДУ ЗА ІНТРОДУКЦІЇ АСОЦІАЦІЇ ГРИБІВ *TRICHODERMA HARZIANUM* 128

В.В. Волкогон<sup>1</sup>, С.М. Деркач<sup>1</sup>, С.Б. Дімова<sup>1</sup>, М.В. М'ягка<sup>1</sup>, Н.В. Луценко<sup>1</sup>,  
Н.П. Штанько<sup>1</sup>, Л.Т. Наконечна<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Інститут сільськогосподарської мікробіології та агропромислового виробництва НААН

<sup>2</sup> Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України

Встановлено залежність динаміки розвитку мікроорганізмів у компостованих субстратах на основі курячого посліду від співвідношення — вуглець/азот. Врахування особливостей сукцесій мікроорганізмів у ході компостування дає змогу обґрунтувати оптимальні періоди для інтродукції в компости цінних агрономічних мікроорганізмів. Інокуляція субстрату споро-міцеліальною суспензією *Trichoderma harzianum* 128 на 2-й місяць компостування сприяє стрімкому зростанню чисельності інтродукованих мікроміцетів, що сягає на 7-й місяць 9744 тис. КУО/г сухого компосту. Доведено, що компостування субстрату на основі пташиного посліду із залученням асоціації *T. harzianum* 128 забезпечує інтенсифікацію мінералізаційних процесів та накопичення мікроорганізмів — активних деструкторів органічної речовини і продуцентів фізіологічно активних речовин, а також зменшує втрати вуглецю і азоту. Обґрунтовано, що отриманий у такий спосіб біокомпост є перспективним для використання в сільськогосподарському виробництві.

**Ключові слова:** компостування, сукцесії мікроорганізмів, пташиний послід, *Trichoderma harzianum*.

Серед органічних добрив важливе місце займає пташиний послід. Зацікавленість у його використанні для удобрення сільськогосподарських культур зростає внаслідок інтенсивного розвитку птахівництва. За даними Державної служби статистики України поголів'я птиці зросло з 123,3 млн у 1998 р. до 202,5 млн у 2017 р. Активний розвиток птахівництва вплинув на значне накопичення посліду — на рівні 1,5 млн т/рік. Безпосереднє використання посліду як добрива обмежено низкою технологічних та екологічних проблем, що спричиняє його накопичення в буртах і кар'єрах. Його тривале зберігання є небезпечним для довкілля. Ця проблема є характерною майже для всіх регіонів України, і вона найближчим часом може перерости в екологічну катастрофу. Запобігти їй можливо лише завдяки переробці посліду. Існує багато способів його утилізації, проте одним із найперспективніших, на нашу думку, є створення біо-

органічних добрив за дотримання науково обґрунтованих технологій компостування, що враховуватимуть необхідні характеристики, зокрема запрограмований склад угруповань мікроорганізмів [1, 2].

Перспективним вбачається створення технологій компостування органічної речовини на основі інтродукованих до компостних сумішей корисних з агрономічного погляду мікроорганізмів. По суті, такі компости можуть бути своєрідними мікробними препаратами комплексної дії. Так, для компостування органічного субстрату на основі пташиного посліду використовують різні види мікроскопічних грибів: з родів *Aspergillus* P. Micheli, *Trichosporon* Behrend, *Fusarium* Link, *Sporotrichum* Link, *Mucor* Fresen., *Trichoderma* Pers. [3]. Перспективними у цьому аспекті є мікроміцети роду *Trichoderma*, оскільки деякі представники цієї таксономічної групи володіють цінними агрономічними властивостями, зокрема, вони є потужними біодеструкторами органічної речовини, характеризуються антагоністичною дією на низку збудників

захворювань культурних рослин та є продуцентами фітогормонів [4, 5].

Мега роботи — визначити особливості сукцесій мікроорганізмів у процесі компостування органічних субстратів на основі пташиного посліду; дослідити особливості розвитку асоціації грибів *Trichoderma harzianum* 128 у компостованих субстратах за різних термінів їх інтродукції та з'ясувати втрати біогенних елементів і швидкість мінералізації компонентів органічного субстрату в процесі компостування.

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Дослідження проводили впродовж 2013–2015 рр. у лабораторії ґрунтової мікробіології Інституту сільськогосподарської мікробіології та агропромислового виробництва НААН, а також у відділі фізіології і систематики мікроміцетів Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України.

У досліді № 1 визначали особливості формування угруповань мікроорганізмів у посліді під час компостування залежно від вуглецево-азотного співвідношення. Як відомо, в курячому посліді співвідношення вуглецю до азоту становить 9,6:1, тому в технології компостування було передбачено його попереднє доведення у субстраті до рівня 20:1. Таких параметрів досягали шляхом змішування посліду з торфом і соломною, як додатковим джерелом вуглецю, у розрахованих кількостях. У досліді використовували пластикові контейнери об'ємом 20 дм<sup>3</sup>, куди поміщали по 5 кг курячого посліду вологістю 70%. До посліду додавали 0,7 кг подрібненої соломи і 1,9 кг торфу, попередньо перемішавши. Схема посліду складалась з двох варіантів:

1. Нативний курячий послід;

2. Компостна суміш (курячий послід з соломною і торфом).

Чисельність мікроорганізмів у компостованих субстратах визначали в динаміці, зокрема: амоніфікувальних бактерій — на м'ясо-пептонному агарі; мікроорганізмів, що засвоюють переважно мінеральні сполуки азоту, — на крохмале-аміачному агарі [6]. Облік чисельності азотфіксувальних

бактерій здійснювали методом граничних розведень на напіврідкому середовищі Ешбі за використання ацетиленового тесту [7]. Чисельність мікроорганізмів, що розчиняють важкодоступні сполуки фосфору, визначали на середовищі Муромцева за внесення ортофосфату і гліцерофосфату [8]; мікроміцетів — на сусло-агарі [6].

У модельному досліді № 2 визначали ефективність інтродукції мікроміцетів роду *Trichoderma* до компостної суміші (курячий послід з соломною і торфом). Досліджували приживаність і вплив на перебіг компостування раніше селекціонованої нами асоціації грибів *T. harzianum* 128. Асоціацію грибів депоновано у Депозитарії Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України (реєстраційний номер — *T. harzianum* ІМВ К-14). Асоціація також зберігається в Національній колекції корисних ґрунтових мікроорганізмів Інституту сільськогосподарської мікробіології та агропромислового виробництва НААН (за № 268).

Культуру мікроміцетів вносили на різних етапах компостування субстрату згідно зі схемою досліді:

1. Компостна суміш без внесення асоціації мікроміцетів (контроль);

2. Інтродукція до компостної суміші *T. harzianum* 128 у 1-й місяць компостування;

3. Те саме у 2-й;

4. Те саме у 3-й;

5. Те саме у 4-й місяць компостування.

Споро-міцеліальну суспензію *T. harzianum* 128 отримували шляхом вирощування мікроміцетів на сусло-агарі з подальшим змиванням водою. Отримана суспензія мала титр  $6,4 \times 10^6$  КУО/мл. Частка внесення становила 2% від маси сухої компостованої суміші (в перерахунку — 128 тис. КУО/г сухого субстрату).

У досліді визначали інтенсивність розкладу соломи. У різні періоди компостування, а саме: на 2-, 3-, 4-, 5-, 6- і 7-й місяці відбирали зразки компостованого субстрату, поміщали у посудину з водою, перемішували, після чого з поверхні знімали залишки соломи, а напіврозкладені рештки вимивали з компосту через сито з отво-

ром 0,25 мм. Обидві фракції рослинних решток об'єднували, висушували до постійної маси, зважували і розраховували вміст відносно початкової маси соломи. Частку розкладання порівнювали з такою у контрольному варіанті (без інтродукції асоціації *T. harzianum* 128).

Уміст вуглецю та азоту в субстратах досліджували методом Анстена в модифікації Пономарьової і Ніколаєвої [9].

Повторність дослідів – чотириразова. Статистичну обробку одержаних результатів здійснювали за використання дисперсійного аналізу [10].

### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Дослідження особливостей компостування субстрату на основі пташиного посліду та облік чисельності представників різних еколого-трофічних груп мікроорганізмів свідчать про поступове розкладання складних органічних сполук одними мікроорганізмами та створення джерел живлення для інших.

Своєрідним показником ступеня інтенсивності мінералізаційних процесів у компостованих субстратах є чисельність амоніфікувальних мікроорганізмів. Особливістю їх розвитку є два періоди активізації (табл. 1). Так, у контрольному варіанті (без оптимізації співвідношення C:N) спостерігалось незначне зростання чисельності протеолітичних мікроорганізмів на початкових стадіях (1-й місяць) з подальшим зниженням показників і деяке відновлення, починаючи з шостого місяця компостування. В умовах оптимізованого за співвідношенням «вуглець : азот» субстрату відзначено значно активніший розвиток представників досліджуваної групи мікроорганізмів у перші місяці – чисельність бактерій перевищувала контрольні показники у 2–5 рази залежно від терміну компостування. Період відновлення чисельності протеолітичних бактерій (друга хвиля розвитку, що обумовлена деструкцією складних органічних сполук) також наставав значно раніше, ніж у контрольному варіанті – вже через три місяці, що свідчить про пришвидшення мінералізаційних процесів.

Таблиця 1

Динаміка розвитку амоніфікувальних мікроорганізмів у компостованих субстратах, млрд КУО/г сухого субстрату

Варіанти дослідів	Терміни проведення аналізів (дні від початку компостування)									
	21	42	84	105	147	168	231	252		
Курачий послід (контроль)	0,64±0,06	0,52±0,09	0,19±0,01	0,23±0,01	0,26±0,05	1,50±0,11	1,26±0,04	0,25±0,01		
Компостна суміш (курачий послід з соломою і торфом)	3,03±0,02	0,33±0,06	0,47±0,02	1,65±0,02	1,24±0,06	0,22±0,01	0,67±0,02	0,05±0,01		

Починаючи з п'ятого місяця компостування, спостерігалось призупинення мінералізаційних процесів, тоді як на контролі вони лише розпочиналися.

Чисельність бактерій, які засвоюють переважно мінеральні сполуки азоту, зростає після періодів активного розвитку амоніфікаторів, що є цілком логічно, адже унаслідок мінералізації органічних речовин з'являється неорганічний азот, який використовують ці мікроорганізми.

Натомість чисельність азотфіксувальних бактерій є невисокою впродовж усього періоду компостування і збільшується лише наприкінці його перебігу (табл. 2). Очевидно, наявність у компостованому субстраті неорганічних азотних сполук не сприяє розвитку діазотрофів, і лише після загибання процесів трансформації сполук азоту з'являються відповідні умови для формування популяції азотфіксаторів і для самого перебігу процесу азотфіксації.

Облік фосфатмобілізувальних мікроорганізмів демонструє низьку їх чисельність, що опосередковано може свідчити про відсутність відповідних умов для їх розвитку (насамперед, це відображення низького вмісту фосфатів у субстраті).

Особливості розвитку мікроміцетів полягають у поступовому збільшенні їх чисельності впродовж перших трьох місяців компостування і найактивнішому – у четвертий – п'ятий місяці (рис. 1).

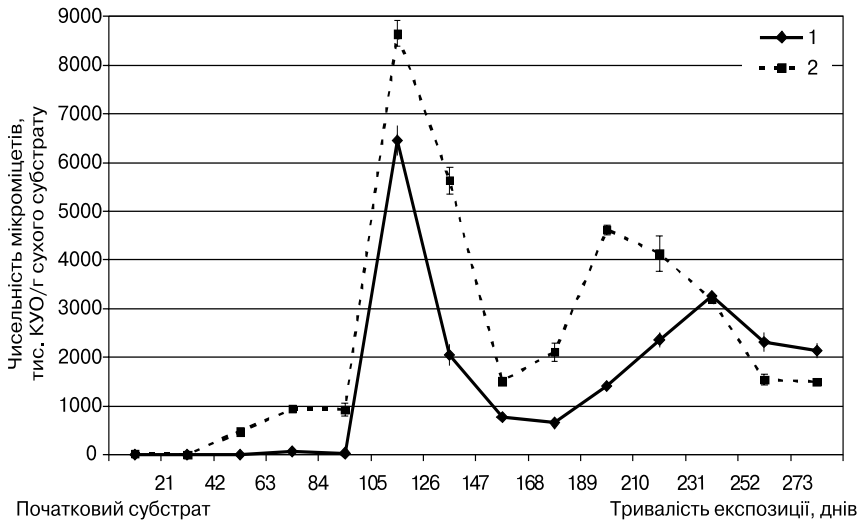
Слід зауважити, що найвищу чисельність мікроміцетів зафіксовано в оптимізованому субстраті (суміші посліду з соломкою і торфом) – 8649 тис. КУО/г сухого компосту. Значна чисельність мікроскопічних грибів у оптимізованому за співвідношенням C:N субстраті, безперечно, пояснюється вмістом додаткових компонентів, до складу яких входить вуглець, що є джерелом енергії і основою синтезу органічних речовин для мікроорганізмів.

Отже, в процесі компостування зафіксовано суцесійні зміни в угрупованні мікроорганізмів, за яких у певні періоди складаються сприятливі умови для розвитку тієї чи іншої еколого-трофічної групи мікроорганізмів. Відповідно до цього,

Таблиця 2

Динаміка розвитку азотфіксаторів у компостованих субстратах, млн КУО/г сухого субстрату

Варіанти дослідів	Терміни проведення аналізів (дні від початку компостування)									
	21	42	84	105	147	168	231	252		
Курачий послід (контроль)	0,031	0,002	0,002	0,002	0,003	1,778	909,091	830,000		
Компостна суміш (курачий послід з соломкою і торфом)	0,105	0,004	0,004	0,022	0,041	2,898	1083,333	838,710		



**Рис. 1.** Розвиток мікроміцетів у компостованих субстратах: 1. Контроль (курячий послід); 2. Компостна суміш (курячий послід з соломою і торфом)

інтродукція необхідного для збагачення компостів штаму бактерій або мікроміцетів у різні фази компостування також буде здійснюватись за сприятливих і несприятливих умов. На нашу думку, для забезпечення оптимальних умов інтродукції підібраний для цього мікроорганізм потрібно вносити до компостованого субстрату перед фазою активного розвитку відповідної еколого-трофічної групи. Так, оптимальними періодами для інтродукції амоніфікаторів до компостованих субстратів на основі курячого посліду є перший місяць компостування, азотфіксувальних мікроорганізмів – шостий, мікроміцетів – період упродовж першого – другого місяців компостування. Інтродукція відповідних представників мікробіоти у ці періоди, на нашу думку, дає змогу збагатити компости корисними мікроорганізмами.

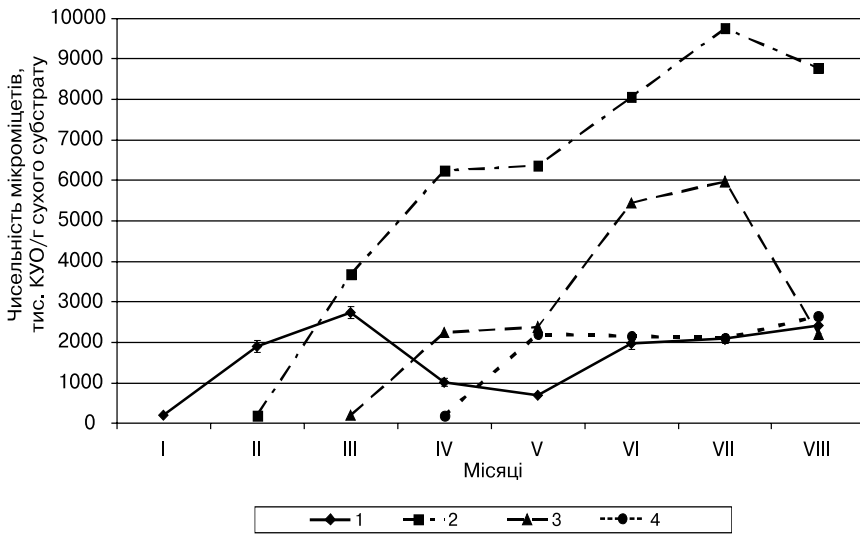
Практична перевірка цього припущення за використання раніше селекціонованої асоціації мікроміцетів *T. harzianum* 128 свідчить про можливість успішної інтродукції мікроорганізмів до компостованої суміші, особливо за внесення культури на другий місяць компостування (рис. 2). Так, інтродукція до субстрату *T. harzianum* 128 на другий місяць компостування сприяє стрімкому зростанню чисельності інтроду-

кованих мікроорганізмів, що на сьомий місяць компостування сягає 9744 тис. КУО/г сухого компосту. Внесення споро-міцеліальної суспензії мікроміцетів в інші досліджувані періоди компостування забезпечує нижчі параметри розвитку грибів.

Слід зауважити, що *T. harzianum* 128 активно впливає на швидкість мінералізації органічних речовин, які входять до складу компосту. Отримані результати (табл. 3) свідчать, що починаючи з третього місяця компостування (з моменту, коли інтенсивно розвивається інтродукований мікроорганізм) з *T. harzianum* 128 у субстраті інтенсивність розкладу соломи значно (у 1,8–2,5 раза) перевищувала контрольні показники.

Наприкінці восьмого місяця компостування субстрат з інтродукованою асоціацією грибів характеризувався розкладом органічної речовини на рівні 100%. У контрольному варіанті мінералізація соломи у вказаний період не була завершеною.

Насправді, закінчувати компостування субстрату на основі пташиного посліду можна вже на сьомий місяць, коли спостерігається найвища чисельність *T. harzianum* 128, але, слід зауважити, закінчення терміну лімітується іншими параметрами готовності компосту. Так, зокрема, у досліді



**Рис. 2.** Розвиток асоціації *T. harzianum* 128 у компостованій суміші за різних термінів інтродукції: 1–4 — у перший — четвертий місяці відповідно

Таблиця 3

**Інтенсивність розкладання соломи у компостованому субстраті за інтродукції мікроорганізмів, %**

Варіанти досліду	Місяці компостування						
	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
Без інтродукції мікроорганізмів (контроль)	5,1	11,6	22,4	34,8	42,7	54,3	60,4
За використання <i>T. harzianum</i> 128	5,1	24,5	57,3	71,2	83,5	98,1	100

повне завершення процесу компостування суміші (відсутність специфічного запаху, повне розкладання соломи) зафіксовано на восьмий місяць від його початку. Проте вказаний період також характеризується високими показниками розвитку інтродукованих мікроорганізмів, що свідчить про значні перспективи отримання збагаченого цінними формами мікроорганізмів агрономічного продукту.

За інтродукції до компостованої суміші асоціації *T. harzianum* 128 спостерігалося зменшення втрат вуглецю і азоту. Так, уміст вуглецю в контрольному варіанті (без інтродуцента) зменшився на 18,8%, а у варіанті з використанням асоціації грибів *T. harzianum* 128 — на 9,5%.

Уміст азоту в контрольному варіанті зменшився на 39,1%, а у варіанті з інтродукцією мікроорганізму — на 31,4% відповідно. Отримані дані свідчать про позитивний вплив асоціації *T. harzianum* 128 на збереженість біогенних елементів у компості.

**ВИСНОВКИ**

Оптимізація субстрату на основі курячого посліду для його подальшого компостування сприяє активному перебігу мікробіологічних процесів. Так, у певні періоди складаються умови домінування тієї чи іншої еколого-трофічної групи мікроорганізмів. Відповідно, здійснення інтродукції необхідного для збагачення компостів штаму бактерій або мікроміцетів у різні фази ком-

постування має сприятливі і несприятливі умови. Інтродукція асоціації мікроміцетів *T. harzianum* 128 до компостованого субстрату на основі пташиного посліду забезпечує скорочення терміну компостування, накопиченню в компості цінних агрономічних мікроорганізмів — активних деструкторів органічної речовини, сприяє збереженню важливих елементів живлення.

Збагачення компостів на основі пташиного посліду цими мікроорганізмами, до яких відносяться і представники *T. harzianum*, є перспективним прийомом з екологічного погляду, оскільки сприятиме розв'язанню проблеми утилізації відходів птахівництва, з одного боку, а з іншого — надасть змогу забезпечити землеробство органічними добривами.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Composting of municipal solid waste of Jabalpur city / S.P. Gautam, P.S. Bundela, A.K. Pandey et al. // *Global J. Environ Res.* — 2010. — Vol. 4, No. 1. — P. 43–46.
2. *Ishii K.* Microbial succession during a composting process asevaluated by denaturing gradient gel electrophoresis analysis / K. Ishii, M. Fukui and S. Takii // *Journal of Applied Microbiology.* — 2000. — Vol. 89, No. 5. — P. 768–777.
3. *Prabhakaran D.* Effect of inoculating lignocellulolytic fungus on nutrient changes during different phases of composting of poultry droppings amended with bagasse / D. Prabhakaran, S. Manivannan // *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* — 2014. — Vol. 3, No. 9. — P. 582–595.
4. *Trichoderma harzianum* T-78 supplementation of compost stimulates the antioxidant defence system in melon plants / A. Bernal Vicente, J.A. Pascual, F. Tittarelli et al. // *J. Sci Food Agric.* — 2015. — Vol. 95, No. 11. — P. 2208–2214.
5. Changes induced by *Trichoderma harzianum* in suppressive compost controlling *Fusarium wilt* /

- J. Blaya, R. López-Mondéjar, E. Lloret et al. // *Pesticide biochemistry and physiology.* — 2013. — Vol. 107, No. 1. — P. 112–119.
6. Методи ґрунтової мікробіології та біохімії / [И.В. Асеева, И.П. Бабьева, Б.А. Бызов и др.]; под ред. Д.Г. Звягинцева. — М.: МГУ, 1991. — 304 с.
7. *Villemin G.* Utilization du test de reduction de l'acetylene pour la numeration des bacteries libres fixatrices d'azote / G. Villemin, J. Balandreau, Y. Dommergues // *Ann. Microbiol. Enzimol.* — 1974. — Vol. 24, No. 2. — P. 87–94.
8. Експериментальна ґрунтова мікробіологія / [В.В. Волкогон, О.В. Надкєрнична, Л.М. Токмакова та ін.]; за ред. В.В. Волкогона. — К.: Аграр. наука, 2010. — 464 с.
9. Агрохімічний аналіз / [М.М. Городній, А.П. Лісовал, А.В. Бикін та ін.]; за ред. М. М. Городнього. — 2-ге вид. — К.: Арістей, 2005. — 476 с.
10. *Доспєхов Б.А.* Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований). — 5-е изд., доп. и перераб. — М.: Агропромиздат, 1985. — 351 с.

## REFERENCES

1. Gautam, S.P., Bundela, P.S., Pandey, A.K., Awasthi, M.K. and Sarsaiya, S. (2010). Composting of Municipal Solid Waste of Jabalpur Cit. *Global J. Environ. Resea*, 4, 1, 43–46 [in English].
2. Ishii, K., Fukui, M. and Takii, S. (2000). Microbial succession during a composting process as evaluated by denaturing gradient gel electrophoresis analysis. *Journal of Applied Microbiology*, 89, 768–777 [in English].
3. Prabhakaran, D., Manivannan, S. (2014). Effect of inoculating lignocellulolytic fungus on nutrient changes during different phases of composting of poultry droppings amended with bagasse. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.*, 3, 9, 582–595 [in English].
4. Bernal-Vicente, A., Pascual, J., Tittarelli, F., Hernandez, J., Diaz-Vivancos, P. (2014). *Trichoderma harzianum* T-78 supplementation of compost stimulates the antioxidant defense system in melon plants. *J Sci Food Agric*, 95, 2208–2214 [in English].
5. Blaya, J., López-Mondéjar, R., Lloret, E., Pascual, J.A., Ros, M. (2013). Changes induced by *Trichoderma harzianum* in suppressive compost controlling *Fusarium wilt*. *Pesticide biochemistry and physiology*, 107, 1, 112–119 [in English].
6. Aseeva, I.V., Babieva, B.A., & Byzov, B.A. et al. (1991). *Metody pochvennoi mikrobiologii i biokhimii [Methods of soil microbiology and biochemistry]*. D.G. Zviagintsev (Ed.). Moskva: MSU [in Russian].
7. Villemin, G., Balandreau, J., Dommergues, Y. (1974). Utilization du test de reduction de l'acetylene pour la numeration des bacteries libres fixatrices d'azote. *Ann. Microbiol. Enzimol*, 24, 2, 87–94 [in French].
8. Volkohon, V.V., Nadkernychna, O.V., & Tokmakova, L.M. et al. (2010). *Eksperymentalna ґruntova mikrobiologia [Experimental soil microbiology]*. V.V. Volkohon (Ed.). Kyiv: Ahrarna nauka [in Ukrainian].
9. Horodnii, M.M., Lisoval, A.P., & Bykin, A.V. et al. (2005). *Ahrokhimichnyi analiz [Agrochemical analysis]*. M.M. Horodnii (Ed.). Kyiv: Aristei [in Ukrainian].
10. Dospekhov, B.A. (1985). *Metodika polevogo opyta (s osnovami statisticheskoi obrabotki rezultatov issledovaniy) [Field experiment procedure (with foundation of statistical treatment of the results of investigation)]*. Moskva: Agropromizdat [in Russian].