

**ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ ВЕРМИКУЛЬТИВУВАННЯ НА МІКРОФЛОРУ
ТВЕРДОЇ ОРГАНІЧНОЇ БІОМАСИ БІОГАЗОВОГО КОМПЛЕКСУ ПРАТ
«ОРІЛЬ-ЛІДЕР»**

О. І. СІДАШЕНКО, кандидат біологічних наук, доцент кафедри біотехнології

В. В. НІКОЛАЄВА, магістр кафедри біотехнології*

К. І. ТИМЧИЙ, науковий співробітник кафедри біотехнології

Державний вищий навчальний заклад «Український державний хіміко-технологічний університет», м. Дніпро

О. В. МИХАЙЛОВСЬКА, начальник відділу охорони навколишнього середовища ПрАТ «Оріль-Лідер»

Р. Д. ВОЛКОВ, директор ПрАТ «Оріль-Лідер»

ПрАТ «Оріль-Лідер» с. Єлизаветівка, Дніпропетровська область

О. В. УТЕШЕВ, директор птахокомплексу філії ТОВ «Вінницька птахофабрика»

Птахокомплекс філія ТОВ «Вінницька птахофабрика», м. Ладижин, Вінницька область

E-mail: microb.sidashenko@gmail.com

Анотація. Проведено вермикультивування твердої органічної біомаси, отриманої після роботи біогазового комплексу ПрАТ «Оріль Лідер» протягом 50 діб. Процес біотрансформації забезпечувала популяція черв'яків роду *Eisenia*, спеціалізована на переробку жорстких субстратів. Порівняно кількісний та якісний склад різних еколого-трофічних груп мікроорганізмів у отриманому біогумусі та контролі – органічній біомасі, яку не піддавали вермикультивуванню.

Встановлено, що на 20 добу експерименту вміст мікроміцетів у біогумусі збільшився у 7,0 разів, на 30 добу – у 19 разів, на 50 – у 15 разів порівняно з контролем. Кількість актиноміцетів на 20 добу вермикультивування збільшилась у 1,4 рази, на 30 добу – 2,2 на 50 добу – у 3 рази, а кількість амоніфікаторів на 20 добу підвищилася у 1,2 разів, на 30 добу – у 1,7 разів, на 50 добу біотрансформації – у 2,0 разів порівняно з контролем.

Ключові слова: мікрофлора, еколого-трофічні групи мікроорганізмів, вермикультивування, біогумус, тверда органічна біомаса

Актуальність. Сьогодні є надзвичайно актуальним дослідження біологічної різноманітності ґрунтової екосистеми. У агроєкосистемах мікробіота виступає одним із факторів ґрунтоутворюючого процесу, живлення рослин і фітосанітарного стану ґрунту. Відомо, що родючість ґрунтів тісно пов'язана з діяльністю ґрунтових мікроорганізмів. Мікробіота активно функціонує та формує верхній ґрунтовий горизонт, таким чином беручи участь в утворенні гумусового шару, в якому зосереджений найбільший запас органічних форм поживних елементів [9, 3]. Крім того, за

* Науковий керівник – Сідашенко О.І.

О. І. СІДАШЕНКО, В. В. НІКОЛАЄВА, К. І. ТИМЧИЙ, О. В. МИХАЙЛОВСЬКА, Р. Д. ВОЛКОВ, О. В. УТЕШЕВ, 2018

сучасними уявленнями [7, 8], вважається, що мікроорганізми є індикаторами екологічного стану та родючості ґрунтів.

Окрім відновлення та збереження родючості ґрунтів, сьогодні важливим питанням є утилізація різноманітних органічних відходів та залишків, які у перспективі можуть використовуватися як екологічно безпечні добрива.

Останнім часом виробниками аграрного сектору перевага надається екологічно безпечним стимуляторам росту, які не накопичуються у ґрунті, водоймах та продуктах харчування. Досвід багатьох країн світу свідчить про перспективність та актуальність використання біологічної біотрансформації органічних відходів шляхом вермикультивування. Тобто використання дощових черв'яків роду *Eisenia*. Оскільки виготовлені таким чином препарати здатні підвищити адаптивні властивості рослин, виконуючи роль антидепресанту, та збільшити врожаї. Продуктом вермикультивування є біогумус [10].

Біогумус – високомолекулярна органічна сполука, отримана в результаті переробки черв'яками органічних речовин і виділення у навколишнє середовище копролітів з їх кишково-шлункового тракту.

Вважають, що біогумус має позитивний вплив на підвищення агрохімічних, фізико-хімічних та біологічних показників ґрунту. У біогумусі акумульовано велику кількість макро- та мікроелементів, що безпосередньо засвоюються рослинами, він містить вітаміни, амінокислоти, антибіотики та ряд біологічно активних речовин. А також, біогумус збагачений значною кількістю корисної для ґрунту мікрофлори.

Внаслідок метанового бродіння на біогазовому комплексі ПрАТ «Оріль-Лідер» після стадії сепарації отримується тверда та рідка органічна біомаси. Основною сировиною для виробництва біогазу є органічні відходи тваринного походження – курячий послід з підстилкою, силос Сорго та стічні води цеху забою та переробки курчат-бройлерів.

Тверда органічна біомаса є цікавим та перспективним об'єктом для біотрансформації шляхом вермикультивування з метою підвищення її біологічної цінності, як біодобрива.

Мета дослідження – порівняння кількісного та якісного складу еколого-трофічних груп мікроорганізмів, виділених з твердої органічної біомаси та біогумусу, отриманого шляхом вермикультивування.

Матеріали і методи дослідження. Для переробки твердої органічної біомаси після метанового бродіння, використовували технологію вермикультивування. Процес біотрансформації забезпечувала популяція дощових черв'яків роду *Eisenia*, яка спеціалізована на переробку жорстких субстратів. Дану популяцію було сформовано на кафедрі біотехнології ДВНЗ УДХТУ. Процес біотрансформації тривав протягом 50 діб.

Для дослідження кількісного складу різних еколого-трофічних груп мікроорганізмів біогумусу та органічної біомаси використовували різні поживні середовища: МПА, Сабуро, крохмально-аміачний агар, Чапека-Докса [2, 6].

МПА (м'ясо-пептонний агар) використовували для культивування та визначення числа амоніфікаторів (*Clostridium*, *Pseudomonas*, *Erwinia*, *Bacillus*), а також вивчення культуральних властивостей різних мікроорганізмів.

На середовищі Сабуро визначали вміст дріжджових грибів, крохмально-аміачний агар використовували для виділення актиноміцетів, що знаходяться в ґрунті, середовище Чапека-Докса – для виділення цвілевих грибів.

Морфологічні ознаки (форма, розмір) вивчали за допомогою фарбування мазків за Грамом. Ідентифікацію проводили за допомогою визначника бактерій Берджі [11].

Результати та їх обговорення. Оскільки тверда органічна біомаса після роботи біогазового комплексу – це не традиційний субстрат для проведення процесу вермикультивування, потрібно було встановити його вплив на приріст біомаси черв'яків роду *Eisenia*.

Під час процесу біотрансформації встановлювали зміну маси черв'яків роду *Eisenia* на початку, у середині – на 30 добу та в кінці експерименту – на 50 добу.

З рис. 1 видно, що на середину терміну біотрансформації субстрату маса черв'яків р. *Eisenia* збільшилася у 2,2 рази, а на кінець процесу вермикультивування – у 2,5 разів порівняно з початком експерименту. Тому можемо сказати, що дана органічна біомаса – це жорсткий субстрат, який піддається вермикультивуванню спеціалізованою популяцією черв'яків роду *Eisenia* та позитивно впливає на збільшення їх біомаси.

Досліджували кількісні та якісні показники мікрофлори біотрансформованої органічної біомаси, тобто біогумусу та у контролі. У якості контролю виступала органічна біомаса, що не піддавалася біотрансформації.

Функціонування ґрунтової мікрофлори є одним з важливих факторів, що сприяють ґрунтоутворенню, до цієї мікрофлори належать мікроміцети, актиноміцети, амоніфікатори, стрептоміцети, фосфатмобілізуючі та спороутворювальні бактерії [4].

З'ясовано кількісний та якісний склад мікробіоти біотрансформованої органічної біомаси на 20 добу експерименту.

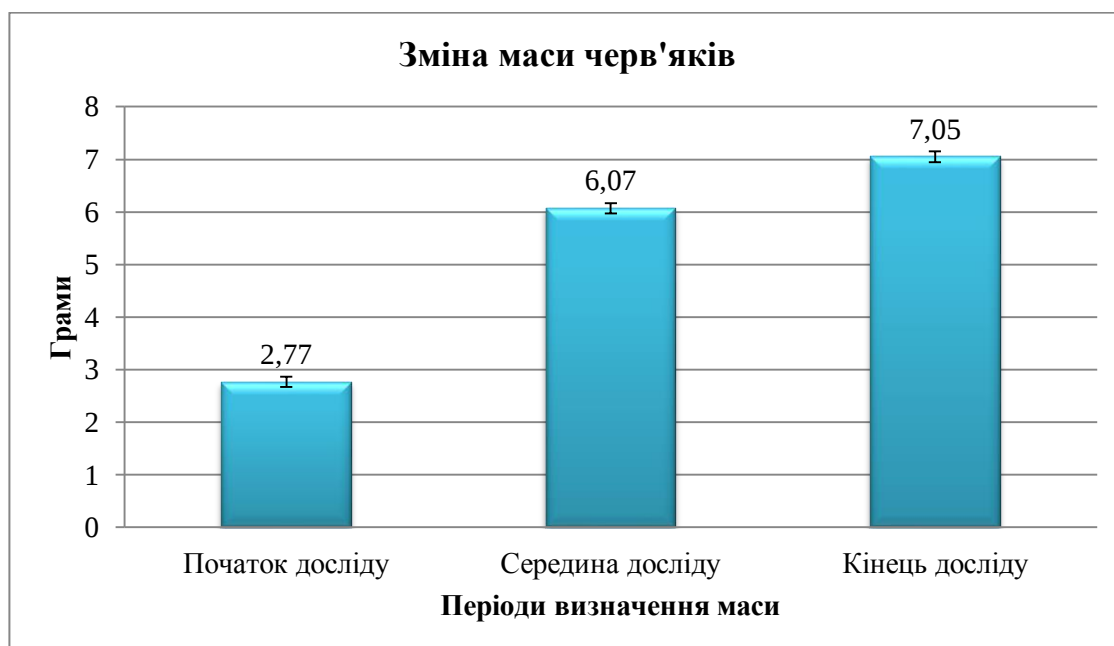


Рис. 1. Зміна біомаси черв'яків роду *Eisenia*

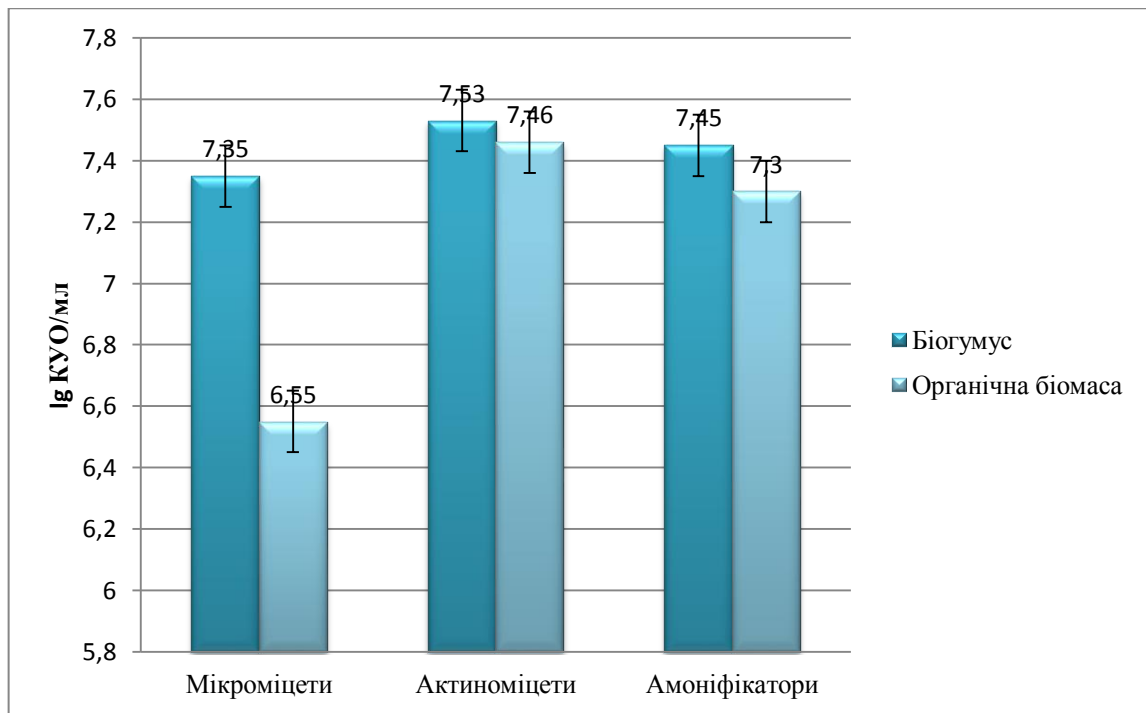


Рис. 2. Чисельність різних еколого-трофічних груп мікроорганізмів у біогумусі порівняно з контролем на 20 добу досліджень

Як видно з рисунку 2, у біогумусі вміст мікроміцетів вища у 7,0 разів, кількість амоніфікаторів – у 1,2 раза та актиноміцетів – у 1,4 раза порівняно з контролем.

Встановлено, що вміст мікроміцетів біогумусу на 30 добу експерименту у 19 разів вище порівняно з контролем, кількість актиноміцетів збільшилась у 2,2 рази, тоді як амоніфікаторів – у 1,7 раза.

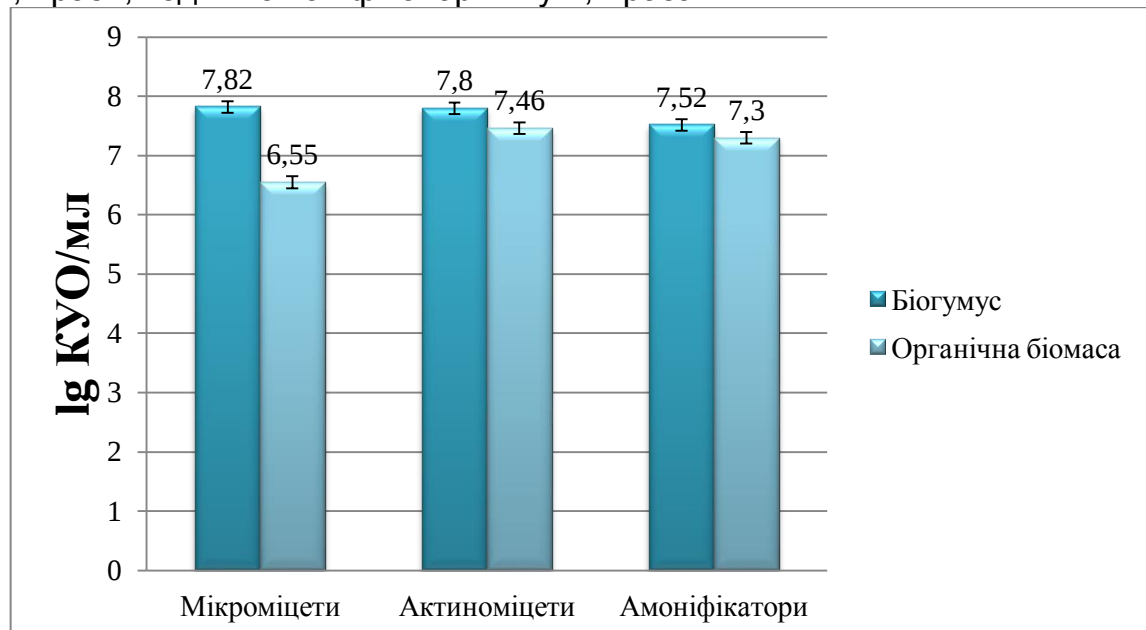


Рис. 3. Чисельність різних еколого-трофічних груп мікроорганізмів у біогумусі порівняно з контролем на 30 добу досліджень

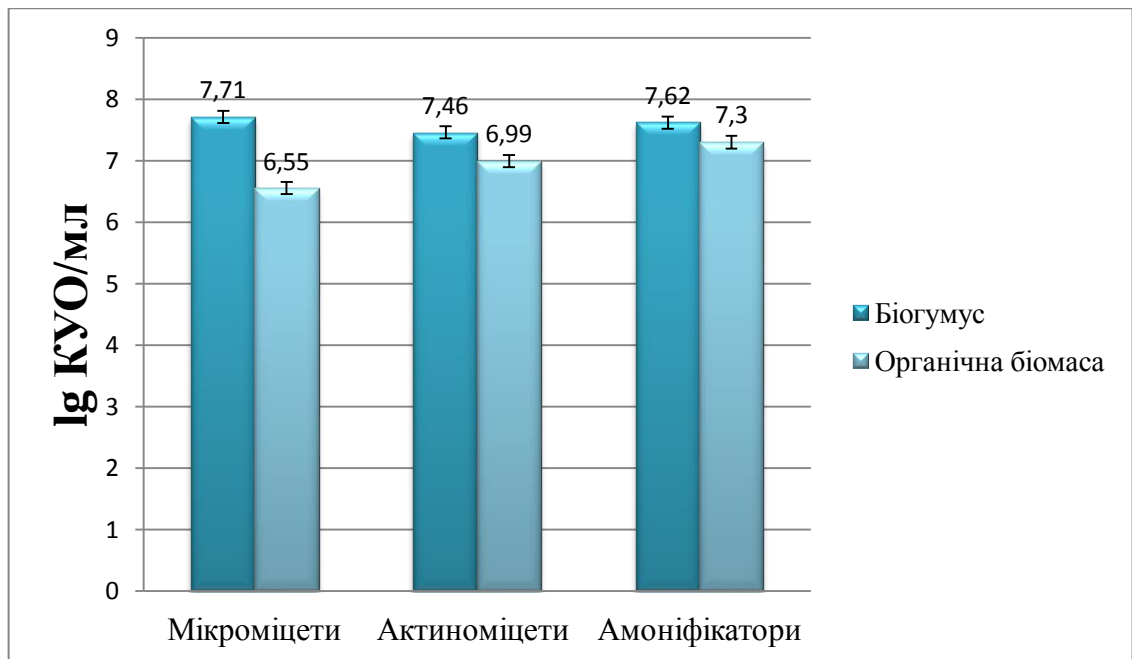


Рис. 4. Чисельність різних еколого-трофічних груп мікроорганізмів у біогумусі порівняно з контролем на 50 добу досліджень

Як видно з рисунку 4, кількість мікроміцетів у 15 разів вище, актиноміцетів – у 3 рази, а вміст амоніфікуючих мікроорганізмів – б 2,0 рази порівняно з контролем. Таким чином, чисельність різних еколого-трофічних груп мікроорганізмів на 50 добу експерименту у 1,8 разів вище, ніж у контролі.

Відомо, що актиноміцети беруть участь у мінералізації органічних речовин, які недоступні для інших мікроорганізмів та постачають рослинам елементи живлення [1], наприклад, *Streptomycesgardneri*, *Actinoplanes*. Аналогічну роль виконують амоніфікатори, які також позитивно впливають на трансформацію органічних решток у ґрунті – *B. subtilis*, *B. cereus*, *B. mycoides*.

Потрібно зазначити, що мікроміцети безпосередньо впливають на родючість ґрунту, вони є консортами, що беруть участь у процесах перетворення органічної речовини, в тому числі і важкогідролізованої [5].

Висновки і перспективи. З огляду на отримані дані, можемо сказати, що найбільший вміст мікроорганізмів різних еколого-трофічних груп спостерігався на 30 добу досліджень у біогумусі порівняно з небіотрансформованою органічною біомасою. Оскільки, вміст мікроміцетів у 19 разів, кількість амоніфікаторів – у 1,7 раза, актиноміцетів – у 2,2 раза вище порівняно з контролем. Це говорить про те, що у процесі переробки популяцією черв'яків *p. Eisenia* відбувається збагачення органічної біомаси значною кількістю корисних для ґрунту мікроорганізмів.

Тверда органічна біомаса, отримана після роботи біогазового комплексу, яка є нетрадиційним субстратом для вермикультивування, показала високий приріст біомаси популяції черв'яків *p. Eisenia* та виявилась гарною основою для їх культивування, внаслідок чого збагатилася основними групами ґрунтових мікроорганізмів та може використовуватися для відновлення ґрунтового екобіоценозу. У зв'язку з цим внесення такого біодобрива сприятиме ґрунтоутворюючим процесам та покращуватиме загалом стан та родючість ґрунтів.

Останнім часом велику увагу приділяють підвищенню родючості ґрунтів, яка пов'язана з діяльністю ґрунтової мікрофлори. І одним із можливих шляхів покращення стану ґрунтової екосистеми є використання біодобрих, ефективність яких залежить від ряду факторів, які не завжди можуть задовольнятися. Альтернативою звичайним біодобривам є біогумус, який отримують шляхом вермикультивування. Тому дослідження та встановлення кількісного та якісного складу різних еколого-трофічних груп мікроорганізмів, отриманого на нетрадиційних субстратах біогумусу є надзвичайно актуальним та перспективним напрямом у вирішенні питання покращення стану та родючості ґрунтів.

References

1. Bobrik N. YU. Mikrobotsenoz gruntu luchnoi ekosistemi v umovakh vplivu zaliznichnogo transportu / N. YU. Bobrik, M.V. Krivtsova, V.I. Nikolaychuk // Visnik Dnipropetrovs'kogo universitetu. Biologiy.Yekologiya. – 2012. – T. 2 (20). – S. 3–9. (in Ukrain).
2. Zvyagintsev D.G. Metody pochvennoy mikrobiologii i biokhimii / D.G. Zvyagintsev, I. V. Aseyeva. – Moskva: Moskva, 1980. –223 s. (in Russia).
3. Zenova G. M. Praktikum po biologii pochv / G. M. Zenova, A.L. Stepanov, A.A. Likhacheva. – Moskva: Izdatel'stvo, 2002. – 120 s. (in Russia).
4. Iutinska G.O. Gruntova mikrobiologiya: Navch. posib. / G.O. Iutins'ka. – Kiiv: Aristey, 2006. – 284 s. (inUkraine).
5. Mishustin Ye. N. Pochvennye mikroorganizmy kak component biogeotsinoza / Ye. N.Mishustin. – Moskva: Nauka, 1984. – 224 s.(inRussia).
6. Patika V.P. Mikrobniy biom riznikh gruntiv gruntovo-klimatichnikh zon Poltav'skoi oblasti / V.P. Patika, S. V. Taranenko, A. O. Taranenko // Mikrobiologichniy zhurnal – 2014. –T. 76 (5). – S. 20 – 25. (in Ukraine).
7. Patika V.P. Agroyekologichniy monitoring ta pasportizatsiya silskogospodars'kikh zemel / V.P. Patika, O.G. Tarariko. – Kiiv: Fitosotsiotsentr, 2002. – 168 s. (in Ukraine).
8. Patika N.V. Suchasni problemi bioriznomanittya / N.V. Patika, V.P. Patika // Kormi i kormovirobnitstvo. – 2013. – T. 76. –S. 10 – 109. (in Ukraine).
9. Pokhvan M. F. Vermikultura: proizvodstvo i ispolzovani / M. F. Pokhvan, I.A. Melnik, V.A. Andriyenko. – Kiyev: UkrINTEI, 1994. – 128 s. (inUkraine).
10. Chandran V. Vermifiltration of Fruit Juice Processing Waste water from in Brisbane. 40 CP Vermiculture Project, School of Engineering Environment / V. Chandran. – Australia: Griffith University, 2010. – 17-20 p. (in Australia).
11. Bergey's manual of systematic bacteriology / Ed. by P. De Vos, G.M. Garrity, D. Jones et. al. – Second., Vol.3. The Firmicutes – Dordrecht, Heidelberg, London, NewYork: Springer, 2009. –1450 p. (inUSA).

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ВЕРМИКУЛЬТИВИРОВАНИЯ НА МИКРОФЛОРУ ТВЕРДОЙ ОРГАНИЧЕСКОЙ БИОМАССЫ БИОГАЗОВОГО КОМПЛЕКСА ЧАО «ОРЕЛЬ-ЛИДЕР»

О. И. Сидашенко, В. В. Николаева, Е. И. Тимчий, О. В. Михайловская, Р. Д. Волков, А. В. Утешев

Анотация. В течение 50 суток проведено вермикультивирование твердой органической биомассы, полученной после работы биогазового

комплекса ЧАО «Орель-Лидер». Процесс биотрансформации обеспечивала популяция червей р. *Eisenia*, специализированная на переработке жестких субстратов. Исследовали количественный и качественный состав различных эколого-трофических групп микроорганизмов в полученном биогумусе и контроле – органической биомассе, которую не подвергали вермикультивированию.

Установлено, что на 20 сутки эксперимента количество микромицетов в биогумусе увеличилось в 7,0 раз, на 30 сутки – в 19 раз, на 50 сутки – в 15 раз по сравнению с контролем.

Количество актиномицетов на 20 сутки вермикультивирования увеличилась в – 1,4 раза, на 30 сутки – 2,2 раза, на 50 сутки – в 3 раза, а количество аммонификаторов на 20 сутки повысилось в 1,2 раза, на 30 сутки – в 1,7 раза, на 50 сутки биотрансформации– в 2,0 раза по сравнению с контролем.

Ключевые слова: микрофлора, эколого-трофические группы микроорганизмов, вермикультивирование, биогумус, твердая органическая биомасса

INVESTIGATION OF EFFECT OF VERMICULTIVATION ON THE MICROFLOOR OF THE SOLID ORGANIC BIOMASS OF THE BIOGAS COMPLEX

O.I. Sidashenko, V.V. Nikolaeva, K. I. Timchyi, O.V. Mykhaylovskaya,
R.D. Volkov, O.V. Uteshev

Abstract. In agroecosystems, the microbiota acts as one of the factors of soil-forming processes, plant nutrition and the phytosanitary state of the soil. It is known that the fertility of soils is closely related to the activity of soil microorganisms.

Functioning of the soil microflora is one of the important factors contributing to soil formation. This microflora includes micromycetes, actinomycetes, ammonifiers, streptomycetes, phosphatimobilizing and spore-forming bacteria.

Recently, producers of the agrarian sector have a preference for environmentally friendly fertilizers that do not accumulate in soil, water bodies and foodstuffs. The experience of many countries of the world testifies to the promising and relevant use of biological biotransformation of organic waste by vermiculturing. That is, the use of earthworms of the genus *Eisenia*. The product of vermicultivation is a biohumus. The biohumus contains amino acids, macro- and trace elements, vitamins, antibiotics and enriched with a useful microflora.

As a result of methane fermentation in the biogas complex after the separation stage, solid organic biomass remains. This organic fraction is an interesting and promising object for biotransformation by means of vermiculturing in order to increase its biological value, as biofertilizers.

Therefore, the purpose of the study was to compare the quantitative and qualitative composition of ecological trophic groups of microorganisms isolated from solid organic biomass and biohumus, obtained by vermicultivation.

For the processing of solid organic biomass after methane fermentation, the technology of vermicultivation was used. The process of biotransformation

was provided by a population of earthworms of the genus *Eisenia*, which specializes in the processing of rigid substrates. The process of vermicultivation lasted 50 days.

Various nutrient media were used to study the quantitative composition of various ecological-trophic groups of microorganisms of biohumus and organic biomass: MPA, Saburo, starch-ammonia agar, Chapek-Doksa, nutrient medium of Menkina.

Morphological signs (shape, size) were studied by staining smears on Gram. Identification was carried out using the Bergi determiner.

Quantitative and qualitative composition of ecological trophic groups of microorganisms of the obtained biohumus was investigated in comparison with control. Organic biomass no-biotransformation acted as control.

It was established that for 20 days of the experiment, the number of micro-micrets in the biohumus increased 7,0 times, for 30 days – 19 times, for 50 days – 15 times compared with the control.

The number of actinomycetes per 20 days of vermicultivation increased by – 1,4 times, for 30 days – by 2,2 per 50 days – by 3 times, and the amount of ammonifiers for 20 days increased by 1,2 times, for 30 days – by 1,7 times, for 50 days biotransformation – in 2,0 times in comparison with the control.

Thus, the highest content of microorganisms of various ecological trophic groups was observed for 30 days of studies in biohumus, which was obtained by vermicultivation in comparison with control. This suggests that in the process of processing a population of worms of the genus *Eisenia*, the organic biomass enriches with a large amount of soil-friendly microorganisms.

Keywords: *microflora, ecological-trophic groups of microorganisms, vermicultivation, biohumus, solid organic biomass*