

БИОЛОГИЧЕСКИЙ МЕТОД ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ

УДК 632.937.14:40.57:631.86

М. В. Федорович¹, Д. В. Войтка¹, И. И. Полоз²

¹РУП «Институт защиты растений», Прилуки, Беларусь

²ГНУ «Институт жилищно-коммунального хозяйства НАН Беларуси», Минск

РАЗРАБОТКА КОМПОЗИЦИИ МИКРОБИОАГЕНТОВ ДЛЯ БИОКОНВЕРСИИ ТВЕРДЫХ КОММУНАЛЬНЫХ ОТХОДОВ И ЦЕЛЛЮЛОЗОСОДЕРЖАЩИХ МАТЕРИАЛОВ ПРИ ПОЛУЧЕНИИ ОРГАНИЧЕСКОГО УДОБРЕНИЯ

Дата поступления статьи в редакцию: 29.05.2024

Рецензент: канд. биол. наук Комардина В. С.

Аннотация. Проведен подбор сочетания штаммов грибов рода *Trichoderma* по показателям целлюлозолитической активности с использованием органических субстратов. Наибольшей целлюлозолитической активностью обладала смесь штаммов *Trichoderma* sp. L-3 + *Trichoderma* sp. L-6 + *Trichoderma asperellum* D-11 – разложение субстрата достигало 92,5 %. Наиболее результативной дозировкой данной смеси грибов была норма расхода 1,0–2,0 л/т – на 40-е сутки потеря веса составила 43,5–50,2 % массы субстрата, на 90-е – 66,9–71,3 %.

Ключевые слова: биоконверсия, компостирование, целлюлозосодержащие субстраты, *Trichoderma*, штаммы, целлюлозолитическая активность.

Введение. Применение минеральных удобрений влечет за собой ряд экологических проблем, что сказывается на плодородии почвы [1]. Органические отходы являются перспективным и недорогим источником для получения агропродуктов, способствующих сохранению почвенного плодородия. Для получения удобрений на основе таких отходов в ряде стран мира применяют способ компостирования [2]. В Индии проводят биоконверсию коровьего навоза с наполнителем из сухих листьев в различных комбинациях. Данная технология сохраняет аэробную среду, поддерживает влажность (50–60 %) в процессе разрушения субстрата [3]. В Японии при компостировании рисовой соломы вносят рапсовый жмых и птичий помет, что позволяет получить компост с улучшенными характеристиками [4].

Процесс биологического разложения отходов осуществляется преимущественно с помощью микроорганизмов, поэтому для ускорения и оптимизации процесса компостирования органических отходов применяют микробиологические агенты грибной и бактериальной природы.

В Казахстане при конверсии рисовой соломы и шелухи риса, которая составляет 2 % от общей массы компостируемой смеси на основе птичьего помета, минеральных удобрений применяют штаммы *Cellucomonas effuse* ВКПМ В-4465 и *Bacillus cutaseus* ВКПМ В-4441 в виде водной суспензии клеток. Данный процесс осуществляется при термостатировании при влажности 50–60 % и температуре 25–30 °С – 20 суток, затем последующие 10 суток биоконверсия протекает при комнатной температуре, полученное органическое удобрение вносят в дозе 2 т/га [5]. В Бангладеш для производства органического компоста из отходов картофеля и жома сахарного тростника используют пять штаммов бактерий *Cellulomonas* sp., *Klebsiella* sp., *Proteus* sp., *Enterobacter* sp. и *Salmonella* sp. Данное сочетание штаммов бактерий оказалось наиболее эффективным способом разложения субстрата, что вызвало уменьшение содержания углерода (26,75 %), повышение содержания азота (2,34 %), фосфора (1,15 %) и калия (1,37 %), а также способствовало увеличению разнообразия микроорганизмов (бактерий, грибов и актиномицетов) [6].

Микроорганизмы, используемые для направленной конверсии твердых коммунальных отходов и целлюлозосодержащих материалов, должны обладать высоким уровнем целлюлозолитической активности, конкурентоспособностью и рядом других целевых характеристик. Этим требованиям отвечают грибы рода *Trichoderma*, широко используемые в мировой сельскохозяйственной практике не только как основа микробиологических препаратов для защиты растений, но и как инокулянты при получении органических удобрений из субстратов, содержащих целлюлозу.

В Малайзии в качестве стимулятора для переработки отходов производства масличной пальмы, таких как пустые фруктовые гроздья и сточные воды завода по производству пальмового масла, при компостировании используют гриб *Trichoderma virens*. Это сокращает процесс конверсии до 21–45 дней. Обычное компостирование без добавления *T. virens* занимает от 4 до 6 месяцев [7]. В России применяется способ переработки отходов органического сырья с помощью дождевых червей *Eisenia fetida* одновременно с внесением штамма *Trichoderma asperellum* МГ-97 (ВКПМ F-765) в виде спор и мицелия или препарат триходермин-М в количестве 10^5 – 10^6 КОЕ/кг исходного субстрата [8]. Благодаря такому способу наряду с разложением отходов происходит

снижение количества фитопатогенных грибов, а полученное удобрение обладает ростостимулирующим эффектом.

Существует несколько методов разложения лигнинсодержащих остатков, один из которых – применение грибов рода *Trichoderma*, которые не только разлагают лигноуглеводный материал, но также вносят свой вклад в разрушении органических соединений [2].

В связи с этим, целью работы являлся подбор эффективной композиции штаммов микромицетов р. *Trichoderma* для направленной биоконверсии целлюлозосодержащего субстрата.

Материалы и методы проведения исследований. Исследования проводили путем постановки специальных экспериментов в лаборатории микробиологического метода защиты растений от вредителей и болезней РУП «Институт защиты растений».

В опыте использовали штаммы грибов рода *Trichoderma*: *Trichoderma* sp. L-3 и *Trichoderma* sp. L-6 (основа инокулянта микробиологического Ресойлер, Ж), *Trichoderma asperellum* D-11 (основа препарата биологического Фунгилекс, Ж).

Для выявления наиболее активного с точки зрения целлюлозолитической активности штамма, а также сочетания штаммов в опытах был использован натуральный органический субстрат – листовой опад и трава, который помещали в стеклянную емкость объемом 3 л и обрабатывали культуральной жидкостью штаммов грибов. Контроль – растительные остатки, обработанные водопроводной водой. Периодически (1–2 раза в неделю) субстрат увлажняли и перемешивали. Через 90 суток растительные остатки извлекали, подсушивали и взвешивали, подсчитывали убыль массы (потерю веса).

Убыль массы (потерю веса) рассчитывали по формулам 1 и 2:

$$\text{Потеря веса, } g = M_{\text{до}} - M_{\text{после}}, \quad (1)$$

где $M_{\text{до}}$ – масса субстрата до начала опыта, g ; $M_{\text{после}}$ – масса субстрата, через 40 и 90 суток с начала опыта, g .

$$\text{Потеря веса, \%} = \frac{(\text{Потеря веса, } g \times 100)}{M_{\text{до}}}, \quad (2)$$

Исследования по подбору эффективной дозировки культуральной жидкости штаммов проводили с использованием целлюлозосодержащего органического субстрата – опилки + трава + листва в соотношении 1:1:1.

В пластиковую емкость с отверстиями для вентилирования помещали растительные остатки. Данный субстрат обрабатывали препаратом на основе смеси штаммов грибов *Trichoderma* sp. L-3, *Trichoderma* sp.

L-6, *Trichoderma asperellum* D-11 с различными нормами расхода: 0,5 л/т (вариант 1), 1,0 л/т (вариант 2), 1,5 л/т (вариант 3), 2,0 л/т (вариант 4). Контроль – растительные остатки, обработанные водопроводной водой.

Периодически (1 раз в неделю) проводили перемешивание растительного субстрата. Через 40 и 90 суток растительные остатки были извлечены, высушены и взвешены, подсчитана убыль массы (потеря веса) по формулам 1 и 2.

Статистическую обработку результатов экспериментов проводили с расчетом наименьшей существенной разницы (НСР).

Результаты исследований. В результате сравнительной оценки целлюлозолитической активности грибов *Trichoderma* sp. L-3, *Trichoderma* sp. L-6, *Trichoderma asperellum* D-11 установлено, что изученные штаммы разлагали целлюлозосодержащий субстрат на 54,9–72,4 %, тогда как в контрольном варианте данный показатель не превышал 7,52 % (таблица 1).

Таблица 1 – Влияние штаммов грибов рода *Trichoderma* на деструкцию целлюлозосодержащего субстрата – листового опада

Штаммы	Потеря веса	
	г	%
<i>Trichoderma</i> sp. L-3	9,98	61,83
<i>Trichoderma</i> sp. L-6	8,86	54,89
<i>Trichoderma asperellum</i> D-11	11,67	72,35
Контроль	1,23	7,52
НСР ₀₅	1,017	

Согласно проведенным исследованиям высокий уровень целлюлозолитической активности был характерен для штаммов *Trichoderma* sp. L-6 и *Trichoderma* sp. L-3 – разложение листового опада составило 54,9 % и 61,8 % соответственно. Более эффективным деструктором был штамм *Trichoderma asperellum* D-11 – убыль массы листового опада достигала 72,4 %.

Дальнейшие исследования с целью выявления наиболее эффективно влияния композиции штаммов на разложение целлюлозосодержащего субстрата показали, что все штаммы грибов р. *Trichoderma* при моно-несении активизировали разложение целлюлозосодержащего субстрата на 86,7–89,5 % (таблица 2).

Интенсивность разложения целлюлозосодержащего субстрата для бинарных и трехкомпонентной композиции была несколько выше. Учитывая предварительно полученные результаты по наиболее высокой среди изученных штаммов целлюлозолитической активности гриба *Trichoderma asperellum* D-11, отобрана трехкомпонентная микробная композиция состава *Trichoderma* sp. L-3 + *Trichoderma* sp. L-6 + *Trichoderma asperellum* D-11.

Таблица 2 – Эффективность штаммов грибов р. *Trichoderma* в разложении целлюлозосодержащего органического субстрата (травы)

Вариант	Потеря веса	
	г	%
<i>Trichoderma</i> sp. L-6	134,17	89,5
<i>Trichoderma</i> sp. L-3	130,09	86,7
<i>Trichoderma asperellum</i> D-11	130,41	86,9
<i>Trichoderma</i> sp. L-6 + <i>Trichoderma asperellum</i> D-11	137,03	91,4
<i>Trichoderma</i> sp. L-3 + <i>Trichoderma asperellum</i> D-11	137,12	91,4
<i>Trichoderma</i> sp. L-6 + <i>Trichoderma</i> sp. L-3	136,57	91,1
<i>Trichoderma</i> sp. L-6 + <i>Trichoderma</i> sp. L-3 + <i>Trichoderma asperellum</i> D-11	138,69	92,5
Контроль	104,54	69,7
HCP ₀₅	1,280	

В результате определения наиболее эффективной дозировки микробиологического компонента для разложения целлюлозосодержащего субстрата установлено, что на 40-е сутки во всех вариантах с применением микроорганизмов убыль массы (потеря веса) была выше в сравнении с контролем. Более эффективными были варианты с нормой расхода 1,0–2,0 л/т, обеспечившие убыль 43,5–50,2 % массы субстрата (таблица 3).

Таблица 3 – Влияние нормы расхода образца микробиопрепарата (*Trichoderma* sp. L-6 + *Trichoderma* sp. L-3 + *Trichoderma asperellum* D-11) на убыль массы субстрата

Вариант опыта – норма расхода биопрепарата	Сутки биоде- струкции	Потеря веса	
		г	%
Вариант 1 – 0,5 л/т	40-е	114,90	38,3
	90-е	183,90	61,3
Вариант 2 – 1 л/т	40-е	130,61	43,5
	90-е	200,69	66,9
Вариант 3 – 1,5 л/т	40-е	139,77	46,6
	90-е	208,32	69,4
Вариант 4 – 2 л/т	40-е	150,73	50,2
	90-е	213,84	71,3
Контроль	40-е	108,50	36,2
	90-е	179,92	60,0
HCP ₀₅	40-е	5,351	
	90-е	6,360	

На 90-е сутки во всех вариантах с применением микробиологических агентов прослеживалась более интенсивная в сравнении с контролем убыль массы. Использование микробиопрепарата с нормой расхода 1,0–2,0 л/т оказалось более результативным – убыль массы составила 66,9–71,3 %.

Работа выполнена в рамках мероприятия 7 «Разработать и внедрить технологию производства органического удобрения на основе органической части твердых коммунальных отходов и целлюлозосодержащих материалов» подпрограммы 4 «Обеспечение инновационного развития отрасли жилищно-коммунального хозяйства» Государственной программы «Научно-инновационная деятельность Национальной академии наук Беларуси».

Заключение. В исследованиях эффективности препарата для улучшения компостирования органической части ТКО и целлюлозосодержащих материалов выявлено, что все штаммы грибов р. *Trichoderma* при моновнесении активизировали разложение целлюлозосодержащего субстрата на 86,7–89,5 %. Как оптимальная отобрана трехкомпонентная микробная композиция на основе штаммов грибов *Trichoderma* sp. L-3 + *Trichoderma* sp. L-6 + *Trichoderma asperellum* D-11, способствующая разложению целлюлозосодержащего субстрата до 92,5 %.

Наиболее эффективными нормами расхода препарата, которые обеспечили убыль массы субстрата на 66,9–71,3 %, были варианты с нормой расхода 1,0–2,0 л/т. Учитывая экономическую составляющую и незначительную разницу в эффективности между вариантами целесообразно использовать дозировку препарата 1,0 л/т.

Список литературы

1. Коломбет, Л. В. Микофунгицид – препарат на основе *Trichoderma viride* для борьбы с болезнями растений / Л. В. Коломбет [и др.] // Бактериология. – 2016. – Т. 1, № 1. – С. 54–61.
2. Демидова, Н. А. Использование компостов на основе древесной коры в качестве удобрения при выращивании саженцев черной смородины / Н. А. Демидова, Б. А. Мочалов, М. Л. Бунтина ; Северный НИИ лесного хоз-ва // Науч. ведомости БелГУ. Сер. Естественные науки. – 2013. – № 7 (160), вып. 24. – С. 43–49.
3. Dayanand, Sh. Bioconversion of flowers waste: Composting using dry leaves as bulking agent / Sh. Dayanand, D. Yadav Kunwar // Department of Civil Engineering, S.V. National Institute of Technology, Surat, Gujarat, India. – 2017. – Vol. 22, № 3. – P. 237–244.
4. Abdelhamid, Magdi T. Composting of rice straw with oilseed rape cake and poultry manure and its effects on faba bean (*Vicia faba* L.) growth and soil properties / Magdi T. Abdelhamid, Takatsugu Horiuchi, Shinya Oba // Bioresource Technology. – 2004. – Vol. 9, № 2. – P. 183–189.
5. Способ получения компоста : пат. 21700, Казахстан, МПК : C05F 11/08 / Х. Джамантиков, Е. Х. Джамантиков, И. Э. Смирнова, А. Б. Абжалелов, М. Х. Джамантикова. – Опубл. 25.06.2009.

6. Sarker, T. C. Physico-chemical profile and microbial diversity during bioconversion of sugarcane press mud using bacterial suspension / T. C. Sarker [et al.] // Not. Sci. Biol. – 2013. – Vol. 5, № 3. – P. 346–353.

7. Bioconversion of empty fruit bunches (EFB) and palm oil mill effluent (POME) into compost using *Trichoderma virens* / R. Dayana Amira [et al.] // African J. of Biotechnology. – 2011. – Vol. 10, № 81. – P. 18775–18780.

8. Способ переработки органических отходов : пат. 2 467 989 C2, МПК : C05A 11/08 / А. В. Кураков, В. С. Садыкова. – Опубл. 27.11.2012.

M. V. Fedarovich¹, D. V. Voitka¹, I. I. Poloz²

¹RUE «Institute of Plant Protection», Priluki, Minsk region

²SSI «Institute of housing and communal services of the National Academy of Sciences of Belarus», Minsk

DEVELOPMENT OF A COMPOSITION OF MICROBIAL AGENTS FOR THE BIOCONVERSION OF MUNICIPAL SOLID WASTE AND CELLULOSE- CONTAINING MATERIALS IN THE PRODUCTION OF ORGANIC FERTILIZERS

Summary. The selection of a combination of *Trichoderma* genus fungi strains in terms of cellulolytic activity using organic substrates was carried out. The mixture of *Trichoderma* sp. L-3 + *Trichoderma* sp. L-6 + *Trichoderma asperellum* D-11 strains had the greatest cellulolytic activity – the decomposition of the substrate reached 92,5 %. The most effective dosage of this fungal mixture was a consumption rate of 1.0–2.0 l / t – on the 40th day, weight loss was 43,5–50,2 % of the substrate weight, on the 90s – 66,9–71,3 %.

Key words: bioconversion, composting, cellulose-containing substrates, *Trichoderma*, strains, cellulolytic activity.