

**ТЕХНОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ
БІОКОМПОСТУВАННЯ ОРГАНІЧНОЇ РЕЧОВИНИ
З УКРАЇНСЬКИМИ ФОСФОРИТАМИ ЗА УЧАСТЮ
PSEUDOMONAS PUTIDA 17**

Гаценко М.В., Волкогон В.В., Луценко Н.В.

Інститут сільськогосподарської мікробіології НААН,
вул. Шевченка, 97, м. Чернігів, 14027

E-mail: mgatsenko@ukr.net

Досліджено особливості компостування органічної речовини, збагаченої фосфоритами, за участі фосфатмобілізуючої бактерії Pseudomonas putida 17. Зокрема, з'ясовано вплив різних норм фосфоритного борошна та бактеріального навантаження при вермикомпостуванні гною великої рогатої худоби на вивільнення водорозчинних фосфатів. Оптимізовано тривалість компостування та дози фосфоритів і бактеріальної суспензії для отримання компосту з найкращими показниками вмісту водорозчинних фосфатів.

Ключові слова: фосфатмобілізуюча бактерія Pseudomonas putida 17, бактеріальна суспензія, компост, вермикомпостування, фосфорити, водорозчинні сполуки фосфору.

Найпростішим засобом регулювання фосфорного живлення сільськогосподарських рослин є внесення фосфорних добрив [5]. Проте зазначений захід є високозатратним. Це зумовлено тим, що фосфорні добрива виробляються з використанням імпортової сировини, яка має високу вартість. Щодо місцевої сировини, то вона представлена великою кількістю природних фосфоритів, зокрема апатитів, які характеризуються низьким вмістом P_2O_5 і її використання для виготовлення фосфорних добрив нерентабельне.

Одним із шляхів забезпечення культурних рослин фосфором є застосування в технологіях їх вирощування компостів, одержаних при компостуванні органічної речовини з фосфоритним борошном [6–10]. Проте ефективність трансформації сполук фосфору у легкодоступні для рослин при цьому є невисокою. На наш погляд, збільшити кількість водорозчинних фосфатів при компостуванні органічної речовини з фосфоритами і досягти керованих параметрів можна за інтродукції до субстрату активного фосфатмобілізуюч-

ного мікроорганізму на початку процесу компостування, а не наприкінці, як це пропонується в окремих технологіях. Тому метою нашої роботи стало з'ясування технологічних особливостей вермикомпостування органіки, збагаченої фосфоритним борошном, за участі фосфатмобілізувальної бактерії *Pseudomonas putida* 17.

Матеріали і методи. Вивчення впливу активних фосфатмобілізувальних бактерій на ступінь розчинності фосфоритів в умовах компостування здійснювали в модельних дослідах. Для цього використовували чотири компоненти: гній великої рогатої худоби (ВРХ), фосфоритне борошно, активну фосфатмобілізувальну бактерію та вермиккультуру.

Активна фосфатмобілізувальна бактерія *Pseudomonas putida* 17 нами селекціонована раніше. Бактерію вирощували в умовах періодичної культури на живильному середовищі наступного складу: м'яса – 2 %; кукурудзяний екстракт – 2 %; вода – 96 %; рН 7,0.

Компостування проводили, підтримуючи вологість субстрату на рівні 70 % і перемішуючи один раз у два тижні.

Вміст загального фосфору в гної та компостах визначали фотометрично ванадієво-молібдатним методом з попереднім спалюванням 1 г компосту з концентрованою кислотою і селеном у присутності перекису водню як каталізатора [3]. Вміст мінерального водорозчинного фосфору в компості визначали за відповідними ГОСТами [10, 11]. Кількість органічного фосфору в компостах досліджували при визначенні фракційного складу фосфорних сполук за методом Соколова [1].

Чисельність фосфатмобілізувальних мікроорганізмів у компостах вивчали чашковим методом на агаризованому середовищі Муромцева при внесенні ортофосфату і гліцерофосфату [2, 12]. Приживаність бактерій визначали за використання резистентного методу шляхом обліку чисельності стрептоміцинстійких клітин інтродукованого штаму. З цією метою раніше в лабораторних умовах отримали стрептоміцинстійкий мутант *P. putida* 17^{str} [4].

Результати та обговорення. З метою визначення технологічних параметрів компостування для отримання біоорганічного добрива, збагаченого на водорозчинні форми фосфатів, проводили компостування гною ВРХ з різною кількістю фосфоритного борошна та суспензією *P. putida* 17 зі зростаючим бактеріальним навантаженням.

Визначення вмісту доступних форм фосфатів демонструє, що комбіноване внесення до компосту компонентів забезпечило різний вплив на розчинність фосфоритів в умовах компостування (табл. 1). Так, застосування фосфоритного борошна в кількості 10 % від маси гною та 8×10^6 бактеріальних клітин на кілограм компосту сприяло найбільшому вивільненню водорозчинних фосфатів. За цих умов на початку компостування загальна кількість P_2O_5 у субстраті дорівнювала 53,8 г/кг, з них уміст водорозчинного P_2O_5 складав 16,5 г/кг (30 %). У процесі компостування спостерігається інтенсивний розвиток інтродукованого мікроорганізму, який сприяє збільшенню вмісту водорозчинних форм фосфатів до 23,2 г/кг, що складає 43 % від валового вмісту фосфатів у компості.

Таблиця 1. Вплив різних доз фосфоритного борошна та суспензії *P. putida* 17 на ступінь розчинення фосфатів у вермикомпості на кінцевому етапі компостування

Варіанти дослідів	Загальний водорозчинний P_2O_5 , г/кг
Контроль (без внесення фосфоритного борошна і бактеріальної суспензії)	19,6±0,1
Компост із внесенням фосфоритного борошна – 10 %	
Без внесення бактеріальної суспензії	19,1±0,8
Бактеріальна суспензія (БС) – 4×10^6 /кг	21,6±0,2
БС – 8×10^6 /кг	23,2±0,2
БС – 120×10^6 /кг	22,9±0,04
БС – 160×10^6 /кг	22,9±0,2
БС – 250×10^6 /кг	22,9±0,1
Компост із внесенням фосфоритного борошна – 15 %	
БС – 4×10^6 /кг	21,8±0,07
БС – 8×10^6 /кг	22,5±0,1
БС – 120×10^6 /кг	22,5±0,04
БС – 160×10^6 /кг	22,5±0,1
БС – 250×10^6 /кг	22,4±0,2
Компост із внесенням фосфоритного борошна – 20 %	
БС – 4×10^6 /кг	21,6±0,07
БС – 8×10^6 /кг	22,2±0,1
БС – 120×10^6 /кг	22,2±0,2
БС – 160×10^6 /кг	21,9±0,1
БС – 250×10^6 /кг	21,8±0,1
Початковий субстрат (гній)	16,2±0,2

Поєднане внесення 10 % фосфоритного борошна та 8×10^6 бактеріальних клітин на 1 кг субстрату забезпечує отримання максимальних показників вмісту водорозчинних фосфатів як по відношенню до контролю (компостування без внесення фосфоритного борошна і бактеріальної суспензії) – на 18,4 %, так і до інших варіантів досліду. В той же час, компостування з нижчим (4×10^6 на 1 кг компосту) титром *P. putida* 17 забезпечує дещо менші значення вмісту розчинних фосфатів у всіх варіантах досліду. Застосування бактеріальної суспензії з титром 120×10^6 (і вище) не сприяє збільшенню розчинності фосфоритів порівняно з варіантом, де вносили 8×10^6 клітин. Більше того, інколи спостерігається зниження показників, ймовірно внаслідок розвитку процесів іммобілізації через високу кількість клітин інтродукованого мікроорганізму.

Отже, внесення суспензії з розрахунку 8×10^6 бактеріальних клітин на кілограм компосту забезпечує протягом всього терміну компостування найвищі показники вмісту розчинних фосфатів. Застосування бактеріальної суспензії з розрахунку більше, ніж 8×10^6 бактеріальних клітин на 1 кг компосту, вважаємо недоцільним.

Виявлено, що економічно доцільною дозою фосфоритного борошна є 10 % від маси гною. Збільшення дози фосфоритного борошна не вплинуло на додаткове вивільнення водорозчинних форм фосфатів. Вірогідно, це пояснюється відносним зменшенням частки органічних речовин у компості, що зумовлює обмеження вуглецевого живлення мікроорганізмів, і відповідно, їх розвиток та активність.

Іншим технологічним параметром компостування є його тривалість. Слід зазначити, що найвищий показник вмісту водорозчинних форм фосфатів за різного поєднання фосфоритного борошна і бактеріальної суспензії спостерігається через 90 днів від початку компостування. Біогумус, одержаний за цих умов, характеризується найвищим вмістом водорозчинних сполук фосфору (має на 40 % більше водорозчинних фосфатів, ніж у початковому субстраті) (рис.).

Збільшення терміну вермикомпостування супроводжується зниженням вмісту водорозчинних фосфатів у компості. Тому, технологічною особливістю даного біокомпостування є необхідність призупинення процесу через три місяці.

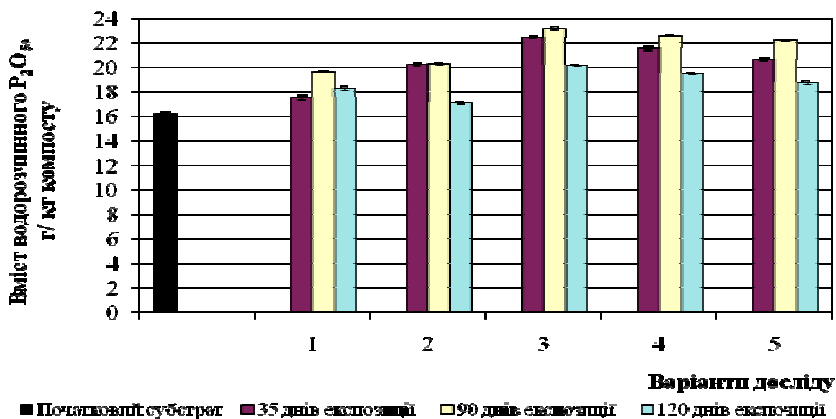


Рис. Динаміка вмісту загального водорозчинного P_2O_5 у вермикомпості в залежності від дози внесеного фосфоритного борошна

1 – контроль абсолютний (без внесення фосфоритного борошна і бактеріальної суспензії); 2 – компост з внесенням бактеріальної суспензії – 8×10^6 ; 3 – те ж + фосфоритне борошно 10 %; 4 – те ж + фосфоритне борошно 15 %; 5 – те ж + фосфоритне борошно 20 %.

Розчинення фосфоритів за впливу інтродукованих мікроорганізмів підтверджується приживаністю бактерій у вермикомпості. Здатність приживатися у компості вивчали в умовах вермикомпостування за участі *P. putida* 17^{str}. Бактерію вносили до субстрату у кількості $8,0 \times 10^6$ клітин на 1 кг компосту. Отримані результати свідчать, що через 30 днів експозиції чисельність клітин залишається досить високою і складає 9,72 млн КУО/г сух. субстрату (табл. 2). Із продовженням терміну компостування чисельність клітин інтродукованої бактерії зменшується разом із закономірним зменшенням загальної кількості мікроорганізмів. Але варто зазначити, що їх чисельність у період з 60 до 90 дня експозиції є сталою.

Подальша робота полягала у визначенні тривалості зберігання отриманого компосту. З'ясовано, що стабільний вміст водорозчинних фосфатів зберігається в компості протягом 12 місяців його зберігання. Про це свідчать отримані дані (табл. 3). Щодо різниці між вмістом фосфатів у контрольному та експериментальному компостах, то вона зберігається протягом усього терміну зберігання. Отже, результати досліджень вказують

на можливість зберігання компосту протягом року без погіршення його якості.

Таблиця 2. Розвиток інтродукованих фосфатмобілізувальних бактерій у компості

Варіанти дослідів	Чисельність стрептоміцинстійких бактерій, млн КУО/г сухого субстрату			
	30 днів експозиції	60 днів експозиції	90 днів експозиції	120 днів експозиції
Контроль (без додавання бактерій)	0,22±0,03	0,20±0,04	0,26±0,03	0,24±0,04
Компостування за участю <i>Pseudomonas sp. 17</i>	9,72±1,36	3,56±0,32	3,08±0,56	3,12±0,42

Таблиця 3. Динаміка вмісту водорозчинних фосфатів у експериментальних компостах при їх зберіганні

Варіанти дослідів	Вміст водорозчинного P ₂ O ₅ , г/кг компосту				
	кінець компостування	3 місяці зберігання	6 місяців зберігання	9 місяців зберігання	12 місяців зберігання
Контроль (без додавання бактерій)	12,72±0,24	12,59±0,86	12,63±0,48	12,25±0,29	12,44±0,38
Компостування за участю <i>Pseudomonas sp. 17</i>	15,24±0,48	15,23±0,46	15,28±0,20	15,11±0,61	15,19±0,21

Таким чином, технологічними параметрами вермикомпостування гною ВРХ, які забезпечують найбільше вивільнення водорозчинних фосфатів, є внесення до компосту фосфоритного борошна у кількості 10 % від маси гною і бактеріальної суспензії *P. putida 17* на рівні 8×10⁶ клітин на кілограм субстрату з тривалістю компостування три місяці. Визначені технологічні параметри є основою для створення технології біокомпостування органіки та отримання біоорганічного добрива, яке може бути використане при вирощуванні сільськогосподарських культур.

1. Агрохімічний аналіз /[Городній М.М., Лісовал А.П., Бикін А.В. та ін.]; за ред. М.М. Городнього. – [2-ге вид.]. – К.: Арістей, 2005. – 476 с.
2. Звягинцев Д.Т. Методи ґрунтової мікробіології та біохімії /Д.Т. Звягинцев. – М.: Изд-во МГУ, 1980. – 224 с.
3. Корма, комбикорма, комбикормовое сирье. Методи определения содержания фосфора: ГОСТ 26657-85. – [Введен от 1987-07-01] – М.: Изд-во стандартов, 1986. – 12 с.
4. Методи общей бактериологии /Под ред. Ф. Герхардта [и др.]. – М.: Мир, 1984. – Т. 2. – 472 с.
5. Носко Б.С. Проблема оптимізації фосфорного живлення сільськогосподарських культур та шляхи їх вирішення /Б.С. Носко, В.В. Медведєв, А.О. Христинко //Фосфор і калій у землеробстві. Проблеми мікробіологічної мобілізації: міжнародна науково-практична конференція (12–14 липня 2004 р.). – Чернігів–Харків: КП «Друкарня № 13», 2004. – С. 107–114.
6. Пат. 2125549 РФ, МПК C05F 11/08, C05F 11/00. Спосіб отримання біоудобрень /Киселева Н.И., Жариков Г.А., Галкина Н.Н., и др.; заявитель и патентообладатель Научно-исследовательский центр токсикологии и гигиенической регламентации биопрепаратов. – № 97122342/13; заявл. 29.12.97; опубл. 27.01.99, Бюл. № 1.
7. Пат. 2286979 РФ, МПК (2006.01) C05F 11/08, C05G 3/04, C12N1/20. Спосіб отримання мікробіологічного добрива на основі біогумуса /Коцаєв А. Г.; заявитель и патентообладатель Кубанский государственный аграрный университет. – № 2004135692/13; заявл. 06.12.04; опубл. 10.11.06, Бюл. № 11.
8. Пат. 63613 А Україна, МПК (2006) A01C 21/00, C09K 17/00. Спосіб мобілізації фосфору фосфоритів /Трускавецький Р.С., Цапко Ю.Л., Чешко Н.Ф., Чмирь Д.О., Горякіна В.М.; заявник і патентовласник Національний науковий центр «Інститут ґрунтознавства та агрохімії ім. О.Н. Соколовського». – № 2003054299; заявл. 13.05.03; опубл. 15.01.04, Бюл. № 1. – 3 с.
9. Пат. 2286981 РФ, МПК (2006.01) C05F 11/08, C05G 3/04, C12N1/20. Спосіб приготування комбінованого добривного ґрунту на основі біогумуса /Коцаєв А.Г.; заявитель и патентообладатель Кубанский государственный аграрный университет. – № 2004135695/13; заявл. 06.12.04; опубл. 10.11.06, Бюл. № 11.
10. Почвы тепличные. Метод определения водорастворимого фосфора: ГОСТ 27753.5-88. – [Введен от 1990-01-01]. – М.: Изд-во стандартов, 1989. – 79 с.
11. Почвы тепличные. Метод приготування водної витяжки: ГОСТ 27753.2-88. – [Введен от 1990-01-01] – М.: Изд-во стандартов, 1989. – 79 с.

12. Теппер Е.З. Практикум по микробиологии: учебное пособие [для вузов] /Е.З. Теппер, В.К. Шильникова, Г.И. Переверзева. – М.: Дрофа, 2005. – 256 с.

ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ БИОКОМПСТИРОВАНИЯ ОРГАНИЧЕСКОГО ВЕЩЕСТВА С УКРАИНСКИМИ ФОСФОРИТАМИ ПРИ УЧАСТИИ *PSEUDOMONAS PUTIDA* 17

Гаценко М.В., Волкогон В.В., Луценко Н.В.

Институт сельскохозяйственной микробиологии НААН,
г. Чернигов

*Исследованы особенности компостирования органического вещества, обогащенного фосфоритами, при участии фосфат-мобилизирующей бактерии *Pseudomonas putida* 17. В том числе определено влияние разных норм фосфоритной муки и бактериальной нагрузки при вермикомпостировании навоза крупного рогатого скота на освобождение водорастворимых фосфатов. Оптимизированы длительность компостирования, дозы фосфоритов и бактериальной суспензии для получения компоста с наилучшими показателями содержания водорастворимых фосфатов.*

Ключевые слова: *фосфатмобилизирующая бактерия *Pseudomonas putida* 17, бактериальная суспензия, компост, вермикомпостирование, фосфориты, водорастворимые соединения фосфора.*

TECHNOLOGICAL FEATURES OF BIOCOMPOSTING OF ORGANIC MATTER WITH UKRAINIAN PHOSPHORITES AND USE OF *PSEUDOMONAS PUTIDA* 17

Gatsenko M.V., Volkogon V.V., Lutsenko N.V.

Institute of Agricultural Microbiology NAAS, Chernihiv

*The certain features of composting of organic matter enriched with phosphorites and phosphate-mobilizing bacteria *Pseudomonas putida* 17 were investigated. The effect of different kinds of phosphate flour and bacterial load on the release of water-soluble phosphorus at vermicomposting of cattle manure was determined. It resulted in optimization of composting duration, dose of bacterial suspension and phosphorus in order to produce compost with best indexes of water-soluble phosphates content.*

Key words: *phosphate-mobilizing bacteria *Pseudomonas putida* 17, bacterial suspension, compost, vermicomposting, phosphorus, water-soluble phosphorus compounds.*