

Утилизация сменных тепличных грунтов с использованием местных штаммов почвенных микроорганизмов-деструкторов

© 2015. А. А. Широких¹, д.б.н., в.н.с., Е. В. Товстик¹, м.н.с., Р. И. Абубакирова¹, м.н.с., Я. И. Назарова¹, аспирант, м.н.с., О. Н. Шуплецова¹, к.б.н., с.н.с., К. И. Пересторонин², генеральный директор, И. Г. Широких¹, д.б.н., зав. лабораторией,

¹Зональный научно-исследовательский институт сельского хозяйства Северо-Востока им. Н. В. Рудницкого, ²ООО «Костино-АГРО», e-mail: irgenal@mail.ru

Возникшая при выращивании лука на перо проблема переработки сменного тепличного грунта в торфо-перегнойный субстрат, пригодный для производства этой же или другой растениеводческой продукции, решается с помощью интродукции в компостную смесь искусственной ассоциации мицелиальных микроорганизмов. По результатам скрининга на целлюлозолитическую активность более 140 штаммов микробных культур выявлено 33 адаптированных к местным почвенно-климатическим условиям перспективных штамма стрептомицетов и два штамма микроскопического гриба рода *Trichoderma*. Изучен характер взаимодействия между ними. Составлена искусственная ассоциация микроорганизмов *Trichoderma* sp. H2+*Streptomyces* sp. 2-F-1+*Streptomyces* sp. 1-F-1, обеспечившая при модельном компостировании повышение в 2-4 раза численности микроорганизмов, участвующих в круговороте азота. Это, в свою очередь, привело к увеличению степени разложения луково-торфяного субстрата на 53% и убыли биомассы отходов на 19% по сравнению с контролем. Сделан вывод о необходимости учёта антагонистических взаимоотношений между интродуцируемыми в компост микроорганизмами при создании искусственных микробных ассоциаций. Совершенствование методов биотехнологической переработки отходов сельскохозяйственного производства позволит решить проблему их утилизации без загрязнения окружающей среды и получить новую полезную продукцию.

Growing green onions caused the problem of processing removable greenhouse soil humus into peat substrate suitable for the manufacture of the same or some others plant products, this problem is solved by the introduction of artificial association of filamentous microorganisms into the compost mixture. As a result of screening cellulolytic activity of more than 140 strains of microbial cultures there were stated 33 strains of Streptomyces and two strains of microscopic fungi genus *Trichoderma* adapted to local soil and climatic conditions. The character of their interaction was researched.

Artificial association of microorganisms *Trichoderma* sp. H2 + *Streptomyces* sp. 2-F-1 + *Streptomyces* sp. 1-F-1 was made up, at the model composting it ensured a 2-4 times increase in the number of microorganisms involved in the nitrogen cycle. This has led to an increase in the degree of decomposition of onion-peat substrate by 53%, and to the loss of biomass waste by 19% as compared with the control. It was concluded that it is needed to consider the antagonistic relationship between the organisms introduced in compost at creating artificial microbial associations. Improved methods of biotechnological processing of agricultural waste will solve the problem of their disposal without environmental pollution and to obtain new useful products.

Ключевые слова: отходы растениеводства, сменные тепличные грунты, разложение целлюлозы, *Streptomyces* sp., *Trichoderma* sp., компостирование, минерализация, степень разложения.

Keywords: crop residues, removable greenhouse soils, decomposition of cellulose, *Streptomyces* sp., *Trichoderma* sp., composting, mineralization, decomposition degree.

В процессе производства растениеводческой продукции накапливается значительное количество медленно разлагаемых в естественных условиях растительных остатков, что приводит к загрязнению окружающей среды. В связи с этим остро встаёт вопрос об их утилизации. Наиболее экологичным и в то же время наименее энергозатратным способом переработки такого сырья является компостирование с использованием эффективных штаммов

микроорганизмов [1–3]. Однако в связи с тем, что многие микроорганизмы обладают необходимой биологической активностью в сравнительно узком диапазоне температуры и влажности, необходим поиск деструкторов, адаптированных к региональным почвенно-климатическим условиям, что позволит эффективно утилизировать растительные отходы в почвах конкретного региона. Совершенствование методов биоорганической переработки

и/или утилизации отходов сельскохозяйственного производства позволит решить проблему их утилизации, снизив уровень загрязнения окружающей среды [4].

При производстве лука на зелень в тепличном хозяйстве возникла проблема переработки сменных грунтов, включающих большое количество трудноразлагаемых растительных отходов с высокой влажностью. С экологической точки зрения отходы растениеводства могут стать сырьём для получения новых полезных продуктов с помощью методов биотехнологии. Одним из таких методов является компостирование торфяно-лукового субстрата с использованием высокоэффективных штаммов микроорганизмов-гидролитиков, обладающих антибиотической активностью, которые способствуют более интенсивному разложению растительных остатков и их обеззараживанию от фитопатогенной микрофлоры. В ходе такого компостирования формируется торфяно-перегнойный субстрат, пригодный для дальнейшего использования в производстве зеленных и других сельскохозяйственных культур.

Растительные отходы на 35–50% состоят из целлюлозы, на 20–35% - гемицеллюлозы, на 10–25% - лигнина [5], а также содержат небольшие количества золы, белка и пектина [6]. Поэтому для эффективной деградации растительных остатков необходимы штаммы микроорганизмов, продуцирующие соответствующие гидролитические ферменты. Известно, что наиболее активными гидролитиками, в том числе продуцентами целлюлаз [7, 8], пектиназ [9, 10] и ферментов, разрушающих лигнин [11–13], являются мицелиальные грибы и актиномицеты. Микроорганизмы, принадлежащие именно к этим группам, наиболее часто выделяют из компостов и используют для их приготовления.

Целью нашей работы являлось создание оригинальной микробной композиции, адаптированной к местным почвенно-климатическим условиям, и проведение модельного компостирования торфяно-лукового субстрата с предварительно отобранными в чистых культурах штаммами мицелиальных микроорганизмов.

Методика и условия проведения экспериментов

Объектами исследования служили 139 культур стрептомицетов и 2 культуры гриба *Trichoderma* sp. из рабочей коллекции ФГБНУ

«НИИСХ Северо-Востока», выделенные в разные годы из различных субстратов в местных почвенно-климатических условиях. Скрининг целлюлозолитически активных штаммов проводили на минеральной среде Гетчинсона [14] с целлюлозой в качестве единственного источника углерода. Культуры высевали на поверхность целлюлозного фильтра, помещённого на поверхность агаризованной среды в чашках Петри. Инкубацию посевов проводили при 27°C в темноте в течение 28 сут. Характер роста культур оценивали визуально.

Количественную оценку целлюлозолитической активности выполняли по методу [15]. К минеральной основе среды Гетчинсона добавляли 1% карбометилцеллюлозы (КМЦ), размоченной в холодной воде. Посев стрептомицетов на поверхность стерильной агаризованной среды осуществляли «полоской», а грибов – уколом. Чашки с посевами инкубировали при 27°C в темноте в течение 7 сут. Затем поверхность агара с выросшими колониями микроорганизмов заливали 0,1% водным раствором Конго красного и выдерживали 15 мин. при комнатной температуре. Затем краситель убрали и добавляли 1М раствор хлорида натрия. Спустя 10 мин. измеряли величину зоны просветления около тестируемого микроорганизма. Метод основан на том, что продукты разрушения целлюлозы не окрашиваются красителем Конго красным. Повторность определений для каждого штамма 3-кратная.

Антагонистическую активность культур стрептомицетов в отношении гриба *Trichoderma* оценивали методом диффузии в агар [16].

Модельное компостирование торфяно-лукового субстрата с предварительно отобранными в чистых культурах штаммами проводили при естественной влажности. Процесс приготовления субстрата для микробной трансформации включал отделение от лукович внешних чешуй и корней. Подготовленные таким образом луковичи (их мясистую часть) измельчали в блендере. Корни, луковый фарш и торфяной субстрат в соотношении 1:2:4 (по объёму) тщательно перемешивали и раскладывали по 350±50 г в пластиковые контейнеры объёмом 1 л. Внешние сухие (окрашенные) чешуи раскладывали на поверхность луково-торфяного субстрата поштучно – 3-4 шт./контейнер. При закладке отбирали пробы на определение влажности субстрата и производили пересчёт индивидуальных навесок на воздушно-сухое вещество.

В зависимости от варианта интродукции в контейнеры с субстратом добавляли разведён-

ные водой 1:1 суспензии 5-суточных культур микроорганизмов в количестве 100 мл. За контроль принимали вариант без интродукции микроорганизмов. Каждый вариант закладывали в трёх повторениях. Инкубировали в темноте, при 19°C. По истечении 5 месяцев контейнеры с субстратом взвешивали и отбирали пробы для определения влажности субстрата, рассчитывали убыль массы субстрата по вариантам.

Отобранные по активной деструкции в первой серии опытов штаммы микроорганизмов выращивали в газонной культуре в течение 4 сут. на плотных агаризованных средах. Для получения различных по составу микробных ассоциаций жидкую картофельную среду [14] инокулировали, соответственно варианту (табл. 4), вырезанными из газонных культур агаровыми блоками. Вносили в каждую колбу, содержащую 50 мл среды, по пять блоков, диаметром 6 мм. В вариантах с грибом *Trichoderma* для инокуляции использовали всегда один грибной блок, а четыре других блока были распределены между культурами стрептомицетов поровну (1 или 2 блока) согласно схеме опыта (табл. 4). Инкубацию вели на качалке (180 об./мин.) при комнатной температуре. Суспензии 4-суточных смешанных культур микроорганизмов вносили в подготовленный субстрат в количестве 50 мл. Каждый вариант закладывали в трёх повторениях. Инкубировали в темноте при 16–18°C. Контролем служил вариант без интродукции микроорганизмов, но с увлажнением субстрата питательной средой (контроль 2), на которой выращивались микроорганизмы, а также субстрат, не подвергнутый компостированию (контроль 1). По истечении 7 недель контейнеры с субстратом взвешивали и отбирали пробы для определения влажности субстрата, рассчитывали убыль массы субстрата по вариантам.

В каждом варианте определяли степень разложения субстрата методом отмучивания на ситах [17]. Расчёт производили по формуле:

Степень разложения = $100 - \frac{\text{вес сухого волокна}}{\text{вес сухого субстрата}} \cdot 100\%$.

Микробиологический анализ компоста проводили методом посева из разведений суспензий на агаризованные среды. На мясо-пептонном агаре (МПА) учитывали численность бактерий, утилизирующих органические формы азота, на крахмало-аммиачном (КАА) – численность бактерий, усваивающих минеральные формы азота, на агаре Гетчинсона - количество целлюлозолизитиков [14, 16].

Микроскопию исходных субстратов и субстратов, полученных в результате модельного компостирования, осуществляли, используя световой микроскоп Leuca 2500DM, увеличение $\times 200$.

Статистическую обработку результатов проводили стандартными методами с применением программы EXCEL.

Результаты и их обсуждение

Прямая микроскопия исходных субстратов показала, что поверхность луковых чешуёв в отработанных тепличных грунтах в сильной степени была заселена нематодами, микробный комплекс был представлен грибным мицелием в ассоциации с бактериями, очень часто встречался спороносящий актиномицетный мицелий (рис. 1, цв. вкладка). Поверхность корней также была заселена микроскопическим грибами и, отчасти, бактериями.

При помещении исходных субстратов на картофельную агаровую среду с последующей инкубацией во влажной камере было установлено, что в естественных условиях в деструкции поверхностных чешуёв лука принимали участие микроскопические грибы *Aspergillus niger*, представители родов *Penicillium*, *Acremonium*, *Mucor*, *Fusarium*, *Phiallophora*, *Stemphilium* (в порядке снижения частоты встречаемости) и бактерии рода *Streptomyces*. Это совпало с результатами, приведёнными в литературе в отношении состава минерализующего микробного комплекса других растениеводческих отходов [1, 2, 8, 9] и послужило основанием к проведению скрининга активных штаммов-деструкторов среди данных групп мицелиальных микроорганизмов.

На первом этапе исследований в лабораторных экспериментах определяли способность 139 культур стрептомицетов и 2 культур гриба *Trichoderma* sp. утилизировать целлюлозу в качестве единственного источника углерода. Штаммы, характеризовавшиеся на целлюлозе обильным ростом, далее оценивали с использованием количественного метода. Учитывая, что среди актиномицетов широко распространена способность продуцировать антибиотики и подавлять тем самым развитие других микроорганизмов, у выделенных в первом тесте культур проводили определение способности ингибировать развитие микробицетов *Trichoderma* sp. Н1 и Н2 (табл. 1).

В результате двухэтапного тестирования культур микроорганизмов на способность разлагать целлюлозу, а также по признаку

Таблица 1

Результаты тестирования рабочей коллекции стрептомицетов на целлюлозолитическую активность и антагонизм к триходерме

№ п/п	Штамм	Целлюлозолитическая активность		Антагонизм	
		характер роста на целлюлозе	зона просветления на КМЦ, мм	зона подавления роста <i>Trichoderma</i> sp., мм	
				Н 1	Н 2
1	<i>S. hygroscopicus</i> 140.13	++	18	33	33
2	<i>S. pseudogriseolus</i> 140.9	++	24	25	32
3	<i>S. pseudogriseolus</i> 140.2	+	15	25	30
4	<i>S. antimycoticus</i> 140.1	++	20	24	30
5	<i>Streptomyces</i> sp. 84.9.12	+	20	0	0
6	<i>Streptomyces</i> sp. 84.4.12	+	14	30	20
7	<i>Streptomyces</i> sp. 60.7.12	±	0	0	0
8	<i>S. variabilis</i> 88.7	+	10	0	0
9	<i>Streptomyces</i> sp. 62.3	++	28	23	23
10	<i>Streptomyces</i> sp. 43.10.7	+	15	0	0
11	<i>Streptomyces</i> sp. 43.14.7	+	0	0	0
12	<i>S. wedmorensis</i> 38.11	++	15	26	26
13	<i>Streptomyces</i> sp. 140.5	++	10	27	26
14	<i>Streptomyces</i> sp. 17.11.8	++	20	18	18
15	<i>Streptomyces</i> sp. 3.4.12	+	10	18	18
16	<i>Streptomyces</i> sp. 43.10.12	++	20	25	25
17	<i>Streptomyces</i> sp. 17.5.12	+	12	18	26
18	<i>Streptomyces</i> sp. 54.8.12	+	19	0	0
19	<i>S. gelaticus</i> 38.7	++	13	0	0
20	<i>S. noursei</i> 75.5	+	11	0	0
21	<i>Streptomyces</i> sp. 43.2.7	++	28	0	0
22	<i>S. wedmorensis</i> 88.6	+	10	24	25
23	<i>Streptomyces</i> sp. 60.9.12	+	11	26	24
24	<i>Streptomyces</i> sp. 60.4.12	±	14	0	0
25	<i>Streptomyces</i> sp. 54.2.12	++	18	0	0
26	<i>S. chromofuscus</i> 140.6	++	17	18	20
27	<i>Streptomyces</i> sp. 7.2	+	10	0	0
28	<i>S. albus</i> 42.3	++	15	0	0
29	<i>Streptomyces</i> sp. 7.5.12	±	0	20	20
30	<i>S. hygroscopicus</i> 140.10	+	10	26	26
31	<i>Streptomyces</i> sp. A-2	++	13	0	0
32	<i>Streptomyces</i> sp. 4-F-1	++	16	0	0
33	<i>Streptomyces</i> sp. 2-F-1	++	12	0	0

Примечание: ± - слабый; + - умеренный, ++ - обильный рост.

Таблица 2

Результаты микробиологического анализа торфяно-лукового субстрата с интродукцией штаммов-целлюлозолитиков

Вариант интродукции	Численность КОЕ на средах, млн/г в.-с. в.		K минерализации	Длина мицелия, м/г
	МПА	КАА		
Контроль без интродукции	55±21	≤1	0,02	34±19
<i>Trichoderma</i> sp.Н1	271±19	223±54	0,82	172±56
<i>Trichoderma</i> sp.Н2	261±60	70±41	0,27	508±181
<i>S. albus</i> 42.3	226±66	155±12	0,69	188±24
<i>Streptomyces</i> sp. 2-F-1	214±64	218±18	1,02	177±86
<i>Streptomyces</i> sp 43.2.7	209±13	236±25	1,13	135±25
<i>Streptomyces</i> sp. A-2	275±89	148±32	0,54	66±28
<i>Streptomyces</i> sp. 1-F-1	183±20	146±19	0,80	81±16
<i>S.gelaticus</i> 38.7	146±28	114±43	0,78	101±28
<i>Streptomyces</i> sp. 54.2.12	144±45	360±111	2,50	63±38
<i>Streptomyces</i> sp. 4-F-1	191±31	155±25	0,81	19±26

отсутствия антагонистической активности в отношении гриба *Trichoderma* sp., для проведения модельного компостирования торфяно-лукового субстрата были отобраны следующие штаммы стрептомицетов: *Streptomyces* sp. 4-F-1 (зона просветления 16 мм), *Streptomyces* sp. A-2 (13 мм), *Streptomyces* sp. 2-F-1 (12 мм), *S. albus* 42.3 (15 мм), *S. gelaticus* 38.7 (13 мм), *Streptomyces* sp. 54.2.12 (18 мм), *Streptomyces* sp. 43.2.7 (28 мм). Далее определяли в модельном опыте способность этих культур ускорять минерализацию луково-торфяного субстрата.

Как следует из приведённых в таблице 2 данных, численность микроорганизмов, утилизирующих органические формы азота (на МПА), составила сотни миллионов колониеобразующих единиц (КОЕ) на 1 г торфяно-лукового субстрата и мало изменялась по вариантам опыта.

В контроле без интродукции микроорганизмов численность на МПА была на порядок (существенно) ниже и составила всего 55 млн КОЕ/г. Это свидетельствует о том, что в присутствии интродуцированных микроорганизмов процессы аммонификации происходят более активно, чем в контроле. Численность бактерий, усваивающих преимущественно минеральные формы азота (на КАА), изменялась в гораздо большем диапазоне значений, чем численность на МПА. Так, в контроле при посеве из пятого десятичного разведения рост бактерий не обнаружен, что указывает на численность, меньшую, чем 1 млн КОЕ/г. В вариантах с интродукцией различных культур-целлюлозолитиков численность на КАА изменялась от 70 млн КОЕ/г (*Trichoderma* sp. H2) до 360 млн КОЕ/г (*Streptomyces* sp. 54.2.12). Коэффициент минерализации *K*, равный соотношению численности бактерий на этих средах (КАА/МПА), изменялся в пределах от 0,02 в контроле до 2,5 в варианте со *Streptomyces*

sp. 54.2.12. Значения *K*, превышающие 1 или близкие к ней, указывают на преобладание или достаточно высокое содержание в субстрате минеральных источников азота, тогда как более низкие значения *K*, наоборот, свидетельствуют о превалировании в субстрате органического азота и, следовательно, менее интенсивных процессах минерализации, чем в первом случае.

Высокой степенью минерализации, на основании значений *K*, отличались варианты с внесением в субстрат бактерий *Streptomyces* sp. 43.2.7 (1,13), *Streptomyces* sp. 2-F-1 (1,02), *Streptomyces* sp. 1-F-1 (0,8), а также гриба *Trichoderma* sp. H1 (0,82). Добавление к субстрату другого штамма гриба *Trichoderma* sp. H1 сопровождалось менее интенсивной минерализацией, о чём свидетельствует наиболее низкое в опыте значение $K=0,27$. Среди исследованных стрептомицетов довольно низкими значениями *K* характеризовались культуры *Streptomyces* sp. A-2 (0,54) и *S. albus* 42.3 (0,69).

Сопоставление значений коэффициента минерализации по вариантам с убылью воздушно-сухой массы субстрата за время инкубации показало, что прямой корреляции между ними не прослеживается (табл. 3).

Максимальная убыль массы субстрата (29,6%) имела место в вариантах с внесением культур *Trichoderma* sp. H2 и *S. albus* 42.3, не отличающихся высокими значениями *K*. В вариантах с минимальной убылью массы субстрата *Streptomyces* sp. 4-F-1 (12,2%), *S. gelaticus* 38.7 (16,5%), *Streptomyces* sp. 54.2.12 (18,7%), наоборот, по микробиологическим данным, степень минерализации была достаточно высокой ($K=0,78-2,5$).

Степень разложения луково-торфяного субстрата, определённая методом отмучивания на ситах, изменялась тоже в широких пределах от 51,7% (*S. gelaticus* 38.7) до 82,2% (*Trichoderma* sp. H2). Соответствие между

Таблица 3

Убыль массы и степень разложения луково-торфяного субстрата при интродукции штаммов-целлюлозолитиков

Вариант интродукции	Убыль массы, % к исходной	Степень разложения, %
Контроль без интродукции	0	—
<i>Trichoderma</i> sp. H1	20,6±1,99	81,8
<i>Trichoderma</i> sp. H2	29,6±2,41	82,2
<i>S. albus</i> 42.3	29,6±0,15	70,9
<i>Streptomyces</i> sp. 2-F-1	21,5±0,81	82,0
<i>Streptomyces</i> sp. 43.2.7	22,5±4,52	67,6
<i>Streptomyces</i> sp. A-2	26,7±3,42	58,3
<i>Streptomyces</i> sp. 1-F-1	22,7±2,05	72,0
<i>S. gelaticus</i> 38.7	16,5±15,16	51,7
<i>Streptomyces</i> sp. 54.2.12	18,7±5,23	67,0
<i>Streptomyces</i> sp. 4-F-1	12,2±2,41	64,0

**А. А. ШИРОКИХ, Е. В. ТОВСТИК, Р. И. АБУБАКИРОВА, Я. И. НАЗАРОВА,
О. Н. ШУПЛЕЦОВА, К. И. ПЕРЕСТОРНИН, И. Г. ШИРОКИХ**

**УТИЛИЗАЦИЯ СМЕННЫХ ТЕПЛИЧНЫХ ГРУНТОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ
МЕСТНЫХ ШТАММОВ ПОЧВЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ – ДЕСТРУКТОРОВ (С. 60)**

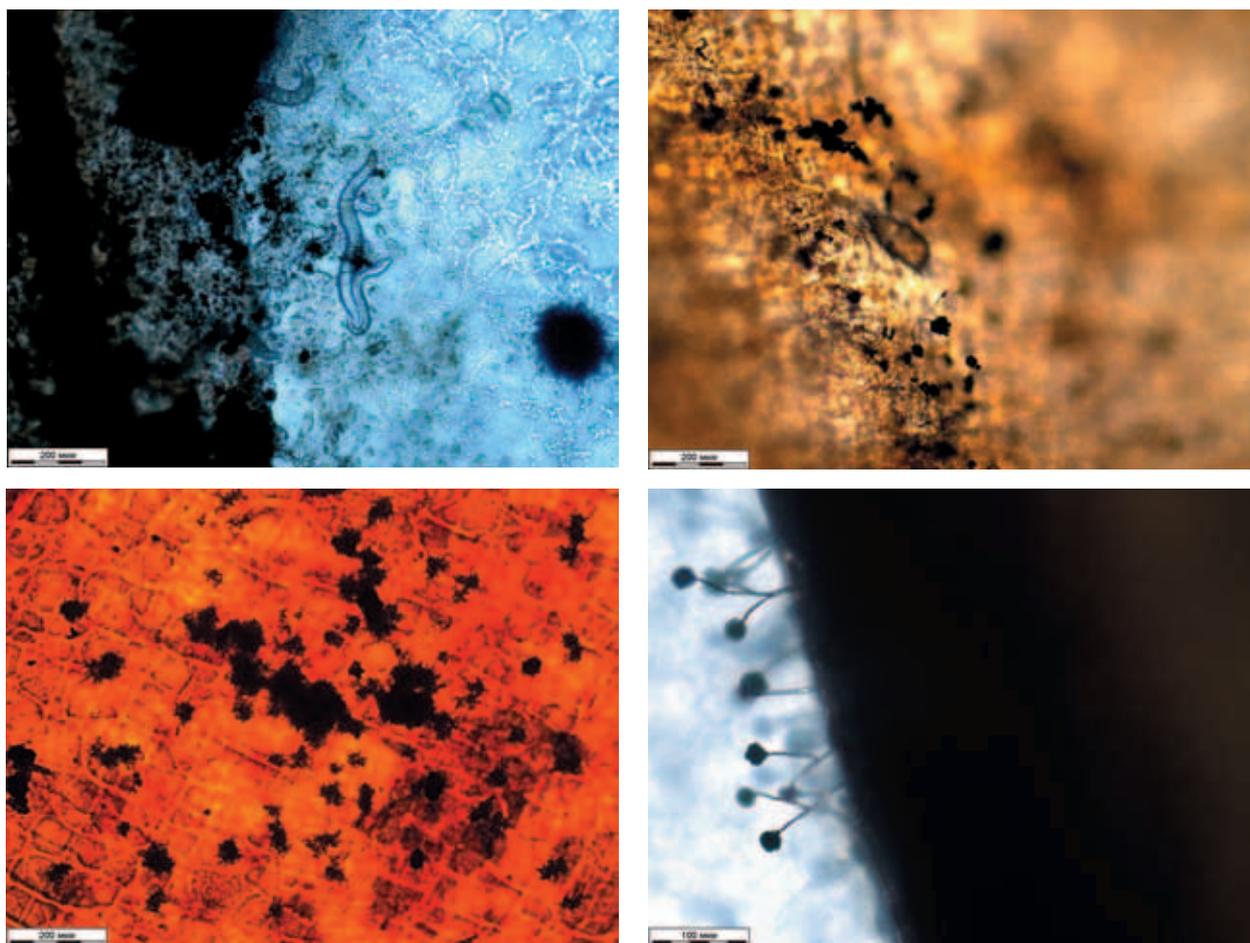


Рис. 1. Микроскопическая картина естественной колонизации чешуй и корней лука нематодами и мицелиальными микроорганизмами.

А. А. ШИРОКИХ, Е. В. ТОВСТИК, Р. И. АБУБАКИРОВА, Я. И. НАЗАРОВА,
О. Н. ШУПЛЕЦОВА, К. И. ПЕРЕСТОРОНИН, И. Г. ШИРОКИХ

УТИЛИЗАЦИЯ СМЕННЫХ ТЕПЛИЧНЫХ ГРУНТОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ
МЕСТНЫХ ШТАММОВ ПОЧВЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ – ДЕСТРУКТОРОВ (С. 60)

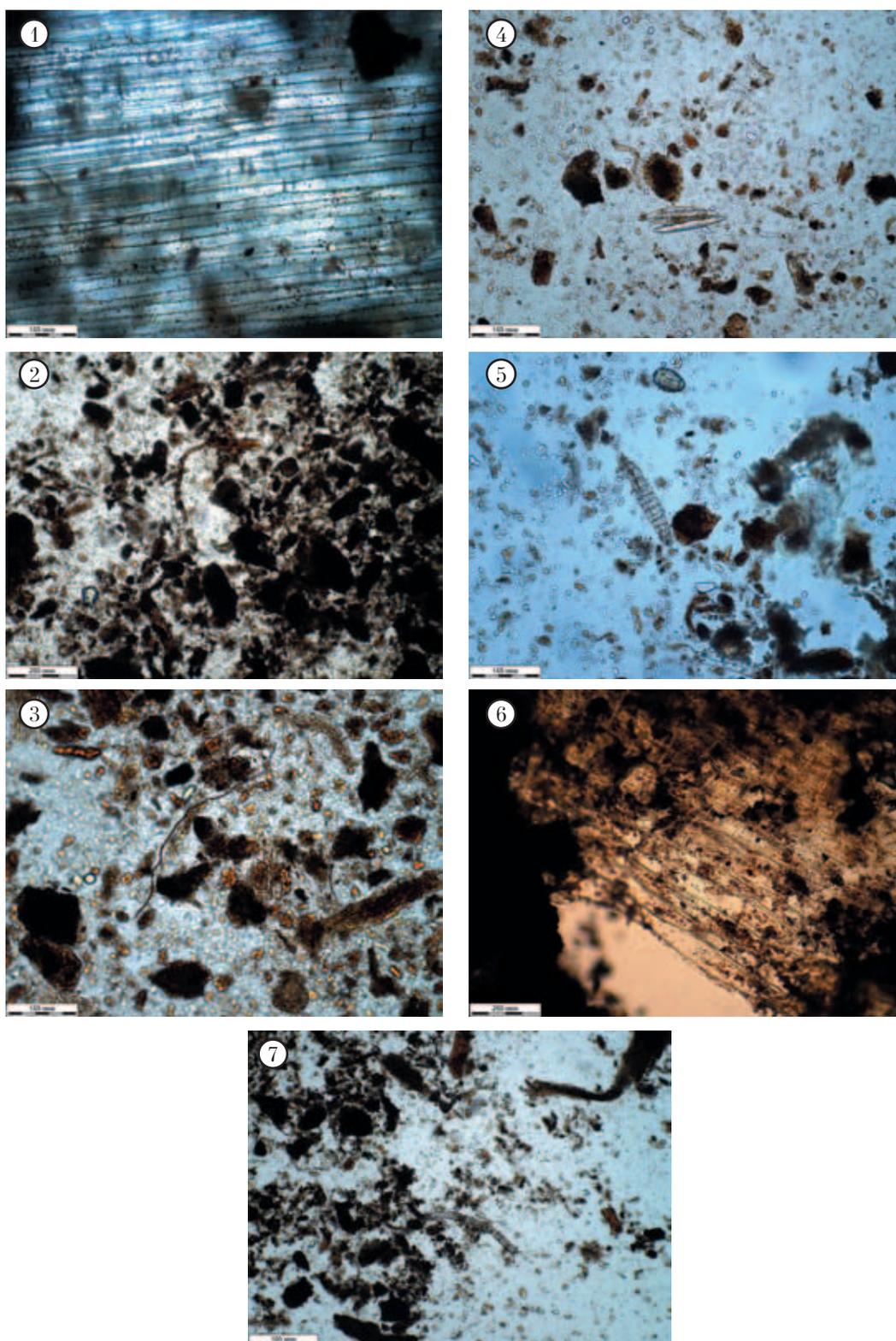


Рис. 2. Микроскопия торфяно-лукового субстрата в контроле (1) и при интродукции культур *Trichoderma* sp.Н1 (2); *S. albus* 42.3 (3); *Streptomyces* sp. 2-F-1 (4); *Streptomyces* sp. 1-F-1 (5); *S. gelaticus* 38.7 (6); *Streptomyces* sp. 4-F-1 (7).

Таблица 4

Результаты микробиологического анализа торфяно-лукового субстрата с интродукцией различных ассоциаций целлюлозолитиков

Вариант интродукции	Численность КОЕ на средах, млн/г в.-с. в.		К минерализации	Убыль массы, % к исходной	Степень разложения, %
	МПА	КАА			
Исходный субстрат без компостирования (контроль 1)	336±148	335±15	1,0	4,8	19±4,6
Увлажнение средой без интродукции (контроль 2)	465±47	395±20	0,8	17,2±2,4	59±2,8*
<i>Trichoderma</i> sp. H2+ <i>Streptomyces</i> sp. 2-F-1+ <i>Streptomyces</i> sp. 1-F-1	744±36*	1338±288*	1,8*	23,7±1,3*	71±4,4*
<i>Trichoderma</i> sp. H2+ <i>Streptomyces</i> sp. 54.2.12+ <i>Streptomyces</i> sp 43.2.7	413±42	292±148	0,7	17,6±0,6	66±5,2*
<i>Trichoderma</i> sp. H2+ <i>Streptomyces</i> sp. 54.2.12+ <i>Streptomyces</i> sp 43.2.7+ <i>Streptomyces</i> sp. 2-F-1+ <i>Streptomyces</i> sp. 1-F-1	323±46	598±165	1,8*	17,8±0,9	33±5,7*
<i>Streptomyces</i> sp. 54.2.12+ <i>Streptomyces</i> sp 43.2.7+ <i>Streptomyces</i> sp. 2-F-1+ <i>Streptomyces</i> sp. 1-F-1	494±33	411±81	0,8	19,7±0,7*	50±0,5

Примечание: * – различия достоверны при $P < 0,05$

показателями степени разложения и убылью массы субстрата по вариантам было вполне удовлетворительным.

На основании комплекса выполненных исследований к числу штаммов, обеспечивших высокую скорость разложения луково-торфяного субстрата, были отнесены гриб *Trichoderma* sp. H2 и стрептомицеты *Streptomyces* sp. 2-F-1, *Streptomyces* sp 43.2.7, *Streptomyces* sp. 1-F-1, *Streptomyces* sp. 54.2.12. В условиях модельного опыта эти культуры одновременно характеризовались значениями К минерализации $\geq 0,8$, убылью массы субстрата в пределах от 18,7 до 29,6% и степенью разложения субстрата в пределах от 67 до 82%. Микроскопическая картина степени разложения субстрата различными культурами мицелиальных микроорганизмов-целлюлозолитиков приведена на рисунке 2 (цв. вкладка). Кроме того, выделившиеся по комплексу признаков штаммы не проявляли по отношению друг к другу антагонизма, что явилось основанием к формированию на их основе микробных ассоциаций для увеличения скорости разложения луково-торфяного субстрата.

При модельном компостировании луково-торфяного субстрата с искусственно составленными ассоциациями микроорганизмов выявлено стимулирующее воздействие на деструкцию субстрата уже простого увлажнения картофельной средой, без интродукции микроорганизмов. По сравнению с исходным субстратом без компостирования численность

автохтонных микроорганизмов, усваивающих органические (на МПА) и минеральные (КАА) формы азота, существенно увеличилась, благодаря чему убыль сухой биомассы в этом варианте возросла на 12,4–14,8%, а степень разложения была выше в 3 раза по сравнению с контролем без компостирования (табл. 4).

В наибольшей степени деструкции луково-торфяного субстрата способствовала искусственная ассоциация, включающая культуры *Trichoderma* sp. H2+ *Streptomyces* sp. 2-F-1+ *Streptomyces* sp. 1-F-1. В этом варианте численность микроорганизмов и коэффициент минерализации (1,8) оказались наиболее высокими, что совпало с максимальными в опыте значениями убыли исходной биомассы (23,7%) и степени разложения субстрата (71%). Другие варианты искусственно составленных ассоциаций способствовали ускорению процесса минерализации торфяно-лукового субстрата по сравнению с контролем 1 в меньшей степени, поскольку существенно отличались от него лишь по 1-2, а не по всему комплексу показателей. Так, использование при компостировании мико-бактериальной ассоциации *Trichoderma* sp. H2+ *Streptomyces* sp. 54.2.12+ *Streptomyces* sp. 43.2.7, а также ассоциации, представленной исключительно стрептомицетами, привело к результатам, которые незначительно отличались по значениям основных показателей (К минерализации, убыль сухой биомассы, степень разложения субстрата) от варианта с использованием картофельной среды без микроорганизмов.

В варианте с включением в состав ассоциации полного набора всех исследуемых штаммов (*Trichoderma* sp. H2+ *Streptomyces* sp. 54.2.12+ *Streptomyces* sp. 43.2.7+ *Streptomyces* sp. 2-F-1+*Streptomyces* sp. 1-F-1) наблюдали снижение численности аммонифицирующих бактерий, в связи с чем степень разложения субстрата оказалась на 26% ниже, чем в варианте без интродукции микроорганизмов. Долевое участие и частота встречаемости грибов *Trichoderma* в этом варианте максимальное (100%), тогда как встречаемость стрептомицетов – ниже (75%), возможно, вследствие конкурентной борьбы при высокой плотности популяций.

Заключение

На основании комплекса выполненных исследований для утилизации сменных тепличных грунтов, представляющих собой торфяно-луковый трудноразлагаемый субстрат, рекомендована искусственная ассоциация микроорганизмов *Trichoderma* sp. H2+*Streptomyces* sp. 2-F-1+*Streptomyces* sp. 1-F-1, обеспечившая повышение в 2-4 раза численности микроорганизмов, участвующих в круговороте азота, что, в свою очередь, привело к увеличению степени разложения торфяно-лукового субстрата на 53% и убыли биомассы отходов на 18,9% по сравнению с контролем без интродукции микроорганизмов. Использование при компостировании торфяно-луковых отходов сложной многокомпонентной мико-бактериальной ассоциации (*Trichoderma* sp. H2+*Streptomyces* sp. 54.2.12+*Streptomyces* sp. 43.2.7+ *Streptomyces* sp. 2-F-1+*Streptomyces* sp. 1-F-1) в меньшей степени способствовало разложению субстрата, чем более простые ассоциации, что может объясняться подавлением аммонифицирующих бактерий в субстрате под воздействием продуцируемых стрептомицетами соединений с антибиотической активностью.

Литература

1. Rabia Ashraf, Faiza Shahid, Tasneem Adam Ali. Association of fungi, bacteria and actinomycetes with different composts// Pak. J. Bot. 2007. V. 39 (6). P. 2141–2151
2. Shiji Wilson, Padmaja C.K. Biodegradation of cassava waste by native fungal consortium// Int. J. of Recent Scientific Research. 2013. V. 4 (6). P. 1157–1159.

3. Тен Хак Мун, Ганин Г.Н. Способ приготовления торфодробинного компоста. 2006. Патент RU № 2296732.
4. Базылева Я.В., Слюсарь Н.Н., Ильиных Г.В., Коротаев В.Н. Анализ перспектив извлечения материального и энергетического потенциала из потоков твердых бытовых отходов// Теоретическая и прикладная экология. 2013. №1. С. 61–66.
5. Saha B.C. Hemicellulose bioconversion// Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology. 2003. V. 30. P. 279–291.
6. Sanchez C. Lignocellulosic residues: biodegradation and bioconversion by fungi// Biotechnol Adv. 2009. V. 27. P. 185–194.
7. Лунева Т.А. Трансформация коры древесных пород грибом рода *Trichoderma* и получение биопрепарата. Дисс. ... к.т.н. Красноярск. 2008. 140 с.
8. Abdullah Y. Al-Mahdi, Ahmed L.E. Mahmoud, Hala J. Al-Jebouri. Biodegradation of Agricultural Plant Residues by Some Fungi Isolated From Yemen// Egypt. Acad. J. Biolog. Sci. 2012. V. 3 (4). P. 41–51.
9. Ladjama A., Taibi Z., Meddour A. Production of pectinolytic enzymes using *Streptomyces* strains isolated from palm grove soil in Biskra area (Algeria)// African Crop Science Conference Proceedings. 2007. V. 8. P. 1155–1158.
10. Banik S., Grosh S.N. Pectinolytic activity of microorganisms in piling of jute// Indian Journal of Fibre & Textile Research. 2008. V. 33. P. 151–156.
11. Pathak S., Chaudhary H.S. Perspective of microbial species used in lignocelluloses bioconversion // Int. J. Pharm Bio Sci. 2013. V. 4 (2). P. 1138–1153
12. Suzuki, T., Endo K., Ito M., Tsujibo H., Miyamoto K., Inamori Y. A thermostable laccase from *Streptomyces lavendulae* REN-7: purification, characterization, nucleotide sequence, and expression// Biosci. Biotechnol. Biochem. 2003. V.67. P. 2167–2175.
13. Sampoorna Laxmi M.V., Mazharuddin Khan. Effect of Natural Phenolic and Lignin rich Inducers on the Production of Laccases by *Streptomyces griseus* MTCC 4734// International Journal of Engineering Science and Technology 2010. V. 2(6). P. 2130–2132.
14. Практикум по микробиологии: Учеб. пособие для студ. высш. учеб. заведений/ Под ред. А.И.Нетрусова. М.: Издательский центр «Академия», 2005. 608 с.
15. Teather R.M., Wood P.I. Use of congo-red polysaccharide interaction in enumeration and characterization of cellulolytic bacteria the bovine rumen// Appl. Environ Microbia. 1982. V. 43. P. 777–780.
16. Методы почвенной микробиологии и биохимии/ Под ред. Звягинцева Д.Г. М.: Изд-во МГУ, 1991. 303 с.
17. Куликова Г.Г. Краткое пособие к ботаническому анализу торфа. М.: МГУ, 1974. 15 с.