

На правах рукописи

ЯРЛЫЧЕНКО СВЕТЛАНА АЛЕКСАНДРОВНА

**КОМПОСТИРОВАНИЕ ОРГАНИЧЕСКОЙ ФРАКЦИИ ТВЕРДЫХ БЫТОВЫХ
ОТХОДОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ДОБАВОК**

03.00.07-03 – Микробиология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

КАЗАНЬ – 2008

Работа выполнена на кафедре прикладной экологии факультета экологии и географии Государственного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Казанский государственный университет им. В.И. Ульянова-Ленина».

Научный руководитель: доктор биологических наук, профессор
Селивановская Светлана Юрьевна

Официальные оппоненты: доктор биологических наук, профессор
Наумова Римма Павловна
(Казанский государственный университет им.
В.И. Ульянова-Ленина, г. Казань)

доктор биологических наук, зав. лаборатории
гидрологии
Ратушняк Анна Александровна
(Институт экологии природных систем АН РТ,
г. Казань)

Ведущая организация: Казанский институт биохимии и биофизики
КНЦ РАН, г. Казань

Защита диссертации состоится 28 февраля 2008 г. в _____ часов на заседании Диссертационного совета Д. 212.081.08 при Казанском государственном университете им. В.И. Ульянова-Ленина по адресу: 420008, г. Казань, ул. Кремлевская, д. 18, главное здание, ауд. 211.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке им. Н.И. Лобачевского Казанского государственного университета.

Автореферат разослан _____ 2008 г.

Ученый секретарь Диссертационного совета,
доктор биологических наук

Абрамова З.И.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы. Классическая схема превращения органического вещества в природе включает в себя продукцию этого вещества автотрофными организмами, трансформацию и последующую деструкцию микроорганизмами с выделением соединений, используемых продуцентами. В настоящее время наблюдается нарушение этого цикла в связи с размещением в окружающей среде огромного количества отходов, общий объем образования которых в мировом масштабе составляет около 5 млрд. м³ в год. В г. Казани, в частности, ежегодно образуется около 300-400 тыс. т твердых бытовых отходов (ТБО) (Государственный доклад, 2001-2006; Альшайях, 2003). Современная стратегия обращения с отходами, принятая в РФ, а также Директивы стран Европейского союза диктуют необходимость снижения поступления на полигоны органических отходов, которые составляют до 80% от массы ТБО, и недопустимость их поступления в необработанном виде (Концепция..., 2000; Korner et al., 2007). Предлагаемые пути переработки органической фракции ТБО так или иначе зависят от местных условий, однако предпочтение отдается биотехнологическим процессам, в частности, компостированию с последующим использованием компостов в качестве мелиорантов нарушенных почв, в зеленом строительстве, в сельском и лесном хозяйстве (Витковская, 2000, 2005; Recycling..., 2003; Ros et al., 2003; Hargreaves et al., 2007). Основным компонентом органической фракции ТБО является целлюлоза, поэтому искусственная интродукция микроорганизмов, обладающих целлюлазным комплексом, может способствовать более полному и быстрому протеканию процесса компостирования. Традиционно для инокуляции компостных смесей используются микромицеты. Известны также и технологии, основанные на использовании чистых ферментов целлюлазного комплекса микромицетов (Биотехнология..., 1988; Экологическая биотехнология..., 1991; Никольский, Соколов, 1993; Xi et al., 2005). Однако большая часть целлюлозоразрушающих грибов может вызывать развитие микоаллергозов, кишечных и респираторных инфекций, инфекций наружных покровов, а также способна стать причиной увеличения фитотоксичности компостов (Кураков, Попов, 1995; Киреева с соавт., 2003; Свистова с соавт., 2004). Альтернативой могут служить биологические добавки, в состав которых входят только бактерии. Такие добавки представляют интерес еще и потому, что бактерии, в частности бациллы, известны своей супрессивной способностью по отношению к микромицетам (Study of three fertilizers..., 2005).

Цель настоящей работы – разработка способа интенсификации процесса компостирования органической фракции ТБО с использованием бактериальных добавок и оценка эффективности применения компостов в качестве нетрадиционного удобрения.

Основные задачи исследования:

1. Выделить из почвы и охарактеризовать сообщества микроорганизмов, содержащие микромицеты и бактерии и только бактерии, обладающие целлюлазной активностью (ЦА);

2. Среди ряда штаммов бацилл отобрать штамм, обладающий высокой ЦА и супрессивной способностью по отношению к микромицетам. Методами молекулярной микробиологии идентифицировать видовую принадлежность отобранного штамма;
3. Осуществить процесс компостирования органической фракции ТБО с применением различных биологических добавок: сообщества бактерий и микромицетов, сообщества бактерий, индивидуального штамма бацилл и коммерческой добавки «Тамир». Проанализировать изменение ряда показателей: температуры, рН, влажности, содержания органического вещества (ОВ), растворимого органического углерода (РОУ), аммонийного азота, численности бактерий и микромицетов, ЦА, респираторной активности и фитотоксичности в зависимости от используемой схемы компостирования;
4. Выявить влияние биологических добавок на сообщества микроорганизмов компостов;
5. Установить показатели процесса компостирования, являющиеся наиболее достоверными предикторами степени фитотоксичности компоста;
6. С использованием математического моделирования экспериментальных данных определить оптимальную схему компостирования;
7. Оценить удобрительные свойства компостов и их влияние на почвенное микробное сообщество.

Научная новизна. Впервые показано, что два выделенных из одного почвенного образца сообщества микроорганизмов (бактериальное и смешанное) обладают соизмеримой ЦА. Установлено, что отобранный и идентифицированный методами молекулярной биологии штамм *Bacillus pumilus* КМ-4F обладает высокой ЦА и способен проявлять антагонистические свойства в отношении микромицетов. Показано, что при компостировании органической фракции ТБО интродукция бактериального сообщества или штамма *B. pumilus* КМ-4F увеличивает ЦА и респираторную активность компостов, а также ускоряет их стабилизацию. Впервые установлено, что бактериальная добавка на основе *B. pumilus* КМ-4F изменяет структуру микробного сообщества, что выражается в уменьшении численности микромицетов, а также снижает уровень фитотоксичности компостов. Впервые для определения оптимальной биотехнологии компостирования предложен подход, основанный на использовании методов математического моделирования.

Практическая значимость работы. Полученные в работе результаты являются основой биотехнологии переработки органической фракции ТБО. Применение данной биотехнологии, во-первых, позволит снизить объем отходов, поступающих на полигоны, и тем самым увеличить срок эксплуатации последних; во-вторых, за счет ускорения процесса позволит более эффективно использовать территорию, отведенную под площадки для компостирования. Компосты, получаемые с использованием предлагаемой биотехнологии, могут применяться как для рекультивации нарушенных

почв, так и в качестве нетрадиционного удобрения в сельском хозяйстве. Полученные в диссертационной работе результаты переданы для использования в Министерство экологии и природных ресурсов РТ, а также в ООО «Элит Сервис».

Результаты исследований используются при проведении практических работ по курсу «Управление в обращении с отходами» на кафедре прикладной экологии Казанского государственного университета (КГУ).

Полученные результаты могут быть использованы при разработке мер по минимизации негативного влияния промышленных отходов на окружающую среду и совершенствованию отдельных аспектов экологического нормирования хозяйственной деятельности человека.

Связь работы с научными программами и собственный вклад автора в исследования. Работа проведена в соответствии с тематическим планом НИР КГУ по теме: «Биогеохимические исследования фундаментальных закономерностей переноса вещества и энергии в экосистемах при дестабилизирующем воздействии внешних возмущений (№ гос. рег. 01.200609676). Исследование поддержано грантом Программы развития приоритетных направлений науки в РТ «Повышение степени экологической безопасности при обращении с органическими отходами: региональное нормирование» (№ 09-9.3-184/2004-2006) и индивидуальным грантом «Инновационные технологии для человека». Научные положения диссертации и выводы базируются на результатах собственных исследований автора. Идентификация штамма *Bacillus pumilus* КМ-4F проводилась на базе университета им. Юстуса-Либиха (Гиссен, Германия). Математическое моделирование результатов выполнено на кафедре моделирования экосистем КГУ.

Положения, выносимые на защиту:

1. Выделенное из почвы бактериальное сообщество и индивидуальный штамм *Bacillus pumilus* КМ-4F обладают ЦА и могут быть использованы в качестве биологических добавок при компостировании ТБО.
2. Внесение бактериальных добавок на основе индивидуального штамма *Bacillus pumilus* КМ-4F приводит к изменению структуры сообщества компостных смесей, выраженному в уменьшении численности микровицетов, и снижению уровня фитотоксичности получаемых компостов.
3. Предложенный подход, включающий рейтинговую оценку средневзвешенного времени достижения компостами стабильного состояния, позволяет установить наиболее эффективную схему компостирования отходов.

Апробация работы. Материалы работы изложены на итоговых научных конференциях Казанского государственного университета (Казань, 2004-2006); межрегиональной конференции молодых ученых «Пищевые технологии» (Казань, 2004); международных молодежных конференциях «Туполевские чтения» (Казань, 2004, 2005); всероссийской научно-практической конференции «Современные проблемы аграрной науки и пути их решения» (Ижевск, 2005); всероссийской научной

конференции «Современные аспекты экологии и экологического образования» (Казань, 2005); международной конференции «Проблемы биодеструкции техногенных загрязнителей окружающей среды» (Саратов, 2005); международной научной конференции «Проблемы устойчивого функционирования водных и наземных экосистем» (Ростов-на-Дону, 2006), I Экологическом форуме экологов Прикамья «Экология Прикамья» (Набережные Челны, 2007).

Публикации. Основные результаты диссертации изложены в 4 статьях и 9 тезисах докладов.

Структура и объём диссертации. Работа изложена на 152 страницах, содержит 12 таблиц и 26 рисунков, состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов и обсуждения, выводов, списка литературы, включающего 327 источников, из которых 205 на иностранном языке, и приложения.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Объектами исследования служили индивидуальные штаммы бактерий рода *Bacillus* (*Bacillus* sp. КМ-21, *Bacillus* sp. КМ-5, *Bacillus* sp. КМ-34, *Bacillus* sp. КМ-3F, *Bacillus* sp. КМ-16, *Bacillus* sp. КМ-22, *Bacillus* sp. КМ-4F, *Bacillus* sp. КМ-13 и *Bacillus* sp. КМ-6), полученные на кафедре микробиологии КГУ, а также сообщества микроорганизмов, разрушающих целлюлозу.

Индивидуальные штаммы бацилл культивировали на L-бульоне. Для определения ЦА и при подготовке биологических добавок культивирование осуществляли на среде Гетчинсона. Целлюлозоразрушающие сообщества выделяли из почвы методом посева на жидкую среду Гетчинсона. Для получения сообщества, содержащего только бактерии, в среду Гетчинсона добавляли нистатин в концентрации 400-1000 мг л⁻¹.

Видовую идентификацию осуществляли методами молекулярной биологии на основе анализа нуклеотидной последовательности 16S рДНК. Идентификации подвергали штамм *Bacillus* sp. КМ-4F. Экстрагирование ДНК проводили с использованием буфера TE[®], SDS[®], протеиназы К, ацетата аммония, лизоцима, изопропанола и этанола. Для проведения полимеразной цепной реакции (ПЦР) использовали раствор Master Mix, праймеры MRfor, MRrev и таг-полимеразу. ПЦР проводили в аппарате Biometra[®] T-Gradient. Секвенирование продукта ПЦР проводили согласно процедуре ABI PSISM Big Dye[®] с использованием флуоресцентных меток для нуклеотидных оснований Big Dye[®] и AmpliTag Polymerase FS[®] согласно Cycle Sequencing Kit ABI PRISM[®] в аппарате ABI PRISM[®] Genetic Analyser 310, тип геля POP-6™.

Обработку полученных хроматограмм проводили в программе Mega 3.1. Для идентификации нуклеотидных последовательностей использовали базы данных www.ncbi.nlm.nih.gov/blast.

Микробиологические методы. Численность микроорганизмов определяли методом посева на плотные питательные среды: МПА для гетеротрофных бактерий и среда Чапека для микромицетов. Численность целлюлозоразрушающих микроорганизмов определяли методом предельных разведений (Теппер с соавт., 2004).

Для определения антагонистических свойств бацилл использовали метод дисков и метод изменения биомассы (Руководство..., 1983; Chang et al., 2006).

ЦА определяли колориметрическим методом (Колешко, 1981; Нетрусов, 2005). Содержание белка определяли по Бредфорду (Нетрусов, 2005).

Респираторную активность определяли титриметрическим методом (Methods..., 1995).

Определение фитотоксичности компостов осуществляли с использованием в качестве тест-объекта семян редиса *Raphanus sativus* (сорт «Красный с белым кончиком») (Селивановская, Латыпова, 2001).

Аналитические методы. Влажность определяли как потерю веса после высушивания образца при 105⁰С в течение 24 ч (ГОСТ 25713-85, 1985). Значения рН определяли потенциометрическим методом в водном (1:10) экстракте. Содержание РОУ определяли после экстракции K₂SO₄ в течение 1 ч мокрым окислением 0,167М K₂Cr₂O₇ с последующим титрованием 0,1М (NH₄)₂Fe(SO₄)₂·6H₂O (ISO 14240-2, 1997). Содержание ОВ определяли как потерю веса после прокаливании образца при температуре 550⁰С в течение 5 часов (ГОСТ 26714-85, 1985). Содержание аммония определяли в водном экстракте (1:10) компостов ионоселективным методом с помощью аммонийселективного электрода ХС-NH₄-001 на анализаторе ЭКСПЕРТ-001.

Приготовление компостных смесей, проведение процесса компостирования и отбор проб. Процесс компостирования осуществляли в емкостях объемом 20 л, накрытых теплоизоляционным материалом. Для компостирования использовали 15 кг органической фракции ТБО, содержащей смесь садовых отходов в виде опавшей листвы, пищевых отходов, бумаги и текстиля в соотношении по массе 68:20:11:1. Биологическую добавку, представляющую собой культуральную жидкость вместе с клетками индивидуального штамма или сообщества микроорганизмов, выращенных на синтетической солевой среде с использованием целлюлозы в качестве единственного источника углерода, вносили в компостируемую смесь в соотношении объем добавки/масса отходов 1/10-2/10. В контрольном варианте вносили аналогичное количество водопроводной воды. Компостируемые смеси перемешивали один раз в неделю в первый месяц компостирования, а затем один раз в две недели. В работе анализировали шесть вариантов компостных смесей: К – контрольный вариант без биологической добавки, Т – вариант с добавлением коммерческой добавки «Тамир», СБГ – вариант с добавлением 15% биодобавки в виде смешанного сообщества микроорганизмов, СБ – вариант с добавлением 15% бактериального сообщества, Бац10, Бац15 и Бац 20 – варианты с добавлением 10%, 15% и 20% чистой культуры бактерий *Bacillus pumilus* КМ-4F соответственно.

Пробы отбирали в пяти точках компостных смесей в количестве 100 г каждая, затем пробы усредняли методом конверта. Отбор проб производили на 1, 14, 21, 36, 43, 50, 57, 71, 83, 106 и 124 сутки компостирования.

Для оценки влияния компостов на растения и почвенное сообщество 100 г серой лесной почвы помещали в инкубационный сосуд и добавляли компост в количестве 1%. В качестве контроля использовали почву без добавления компоста. Почву увлажняли, инкубировали в течение 5 суток, отбирали пробы для определения респираторной активности, а затем засевали 5 семенами пшеницы (*Triticum dicocum* сорт Тулейковская-10). Через 14 суток измеряли высоту проростка и его биомассу.

Математическое моделирование применяли для выявления показателей-предикторов уровня фитотоксичности компостов и определения оптимальной схемы компостирования. В работе использовали GAM модели, выбор сложности которых проводили с помощью перекрестной проверки. Все вычисления были проведены в среде R (R Development Core Team, 2006). GAM модели были построены с помощью пакета mgcv в среде R (Wood, 2000, 2003, 2004).

Статистическую обработку результатов проводили с помощью программ Microsoft Office Excel 2003 и Origin 7.5. Достоверность различий средних значений оценивали с использованием коэффициента Стьюдента ($P \leq 0,05$). Взаимосвязь ряда данных устанавливали с помощью коэффициента корреляции. Табличные и графические данные содержат средние значения и стандартную ошибку.

Результаты и обсуждение

Получение микробных добавок для компостирования и анализ их свойств. В качестве добавок для компостирования предполагалось использовать сообщество микроорганизмов, состоящее только из бактерий, и индивидуальный штамм бактерий, обладающие высокими ЦА. Эта посылка базировалась на информации об известном негативном влиянии спор и мицелия микромицетов на здоровье персонала, имеющего контакт с компостами, способности микромицетов подавлять развитие растений, вызывать их болезни, а также увеличивать фитотоксичные свойства получаемого продукта (Кураков, Попов, 1995; Hamilton, Holdom, 1997; Киреева с соавт., 2000; Лебедева, 2004). Бактериальное сообщество выделили из почвы на среде Гетчинсона с нистатином (1000 мг л^{-1}) для подавления микромицетов. Концентрация нистатина была определена экспериментально (табл. 1). Параллельно из этого же образца было получено смешанное сообщество.

На следующем этапе было установлено, какую долю от общего числа гетеротрофов составляют целлюлолитические микроорганизмы, поскольку именно целлюлоза является основным компонентом органических отходов (Hogland, 1996). Численность целлюлозоразрушающих микроорганизмов была оценена с использованием метода предельных разведений и выявлено, что в смешанном и бактериальном сообществах максимальное количество целлюлозоразрушающих микроорганизмов наблюдалось на 7 сутки культивирования и составило соответственно

88 и 82% от общей численности микроорганизмов. Относительное содержание целлюлозоразрушающих микроорганизмов в полученных нами сообществах оказалось в 10-30 раз выше по сравнению с таковым, представленным в литературе для различных типов почв (Сорокина, Сорокин, 2007). Подобное явление, на наш взгляд, связано с созданием определенных селективных условий.

Таблица 1

Изменение численности бактерий и микромицетов в составе целлюлозоразрушающего сообщества микроорганизмов при внесении различных доз нистатина

Время выращивания	Концентрация нистатина, мг л ⁻¹						
	0	100	500	750	1000	1250	1500
Численность бактерий, lgКОЕ мл ⁻¹							
0 сутки	3,1±0,3	*	*	*	*	*	*
3 сутки	4,2±0,2	4,0±0,3	5,2±0,3	6,8±0,3	7,3±0,4	7,2±0,4	6,9±0,3
8 сутки	6,5±0,4	6,8±0,3	7,2±0,3	7,9±0,3	8,6±0,4	8,8±0,5	8,5±0,5
15 сутки	4,8±0,2	5,0±0,2	5,2±0,3	5,9±0,3	7,1±0,4	7,0±0,3	7,2±0,4
28 сутки	3,6±0,3	3,7±0,2	3,9±0,3	4,3±0,2	4,5±0,3	4,7±0,4	4,5±0,3
Численность грибов, lgКОЕ мл ⁻¹							
0 сутки	0,6± 0,3	*	*	*	*	*	*
3 сутки	0,7±0,2	-	-	-	-	-	-
8 сутки	2,2±0,3	0,7±0,3	0,7±0,2	-	-	-	-
15 сутки	2,8±0,2	2,6±0,3	1,5±0,3	0,2±0,1	-	-	-
28 сутки	3,2±0,3	3,1±0,3	1,8±0,2	0,6±0,3	-	-	-

* - определения не проводились; – - отсутствие роста

Чтобы рекомендовать полученное бактериальное сообщество в качестве биологической добавки, были проанализированы изменения уровней ЦА в динамике роста смешанного и бактериального сообществ (рис. 1). Установлено, что на 3 сутки культивирования ЦА бактериального сообщества была выше в 1,6 раза по сравнению с ЦА смешанного сообщества. Более того, нами отмечено, что бактерии демонстрируют максимальную активность на 3-9 сутки выращивания, в то время как ЦА смешанного сообщества достигает максимума на 6-12 сутки. Такое смещение максимума активности может быть связано с тем, что микромицеты, численность которых в смешанном сообществе существенна, являются более медленно растущими организмами по сравнению с бактериями.

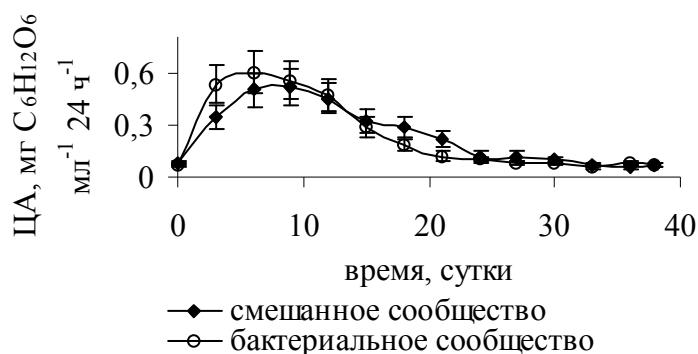


Рис. 1 Изменение ЦА бактериального и смешанного сообществ микроорганизмов

При выборе индивидуального штамма-целлюлолитика рассматривали бактерии, относящиеся к роду *Bacillus*, так как известно, что они обладают высокой ЦА и представители этого рода доминируют в составе сообщества, разлагающего

целлюлозу (Study..., 2005; Mayende et al., 2006). Исходя из этого, на следующем этапе работы был проведен скрининг среди 8 штаммов бактерий рода *Bacillus* на наличие ЦА. Бактерии выращивали в течение 15 суток на среде Гетчинсона. На 0, 3, 8, и 15 сутки в культуральной жидкости определяли ЦА (рис. 2). Максимальная ЦА обнаружена у штамма *Bacillus* sp. KM-4F, которая составила 0,64 мг глюкозы мл⁻¹ 24 ч⁻¹, что оказалось в 3,0-8,1 раз выше по сравнению со всеми остальными изучаемыми штаммами. Таким образом, несмотря на то, что в настоящее время большинство целлюлаз, используемых в промышленности, имеют грибное происхождение (Ферментативный гидролиз..., 1980; Клесов, 1988; Новые сведения..., 2003), полученные результаты свидетельствуют о том, что бактериальные целлюлазы, продуцируемые бациллами, также имеют перспективу практического использования. На следующем этапе исследований была определена способность изучаемых штаммов бактерий рода *Bacillus* проявлять антагонистический эффект в отношении четырех штаммов микромицетов: *Alternaria* sp., *Fusarium* sp., *Penicillium* sp. и *Trichoderma* sp.

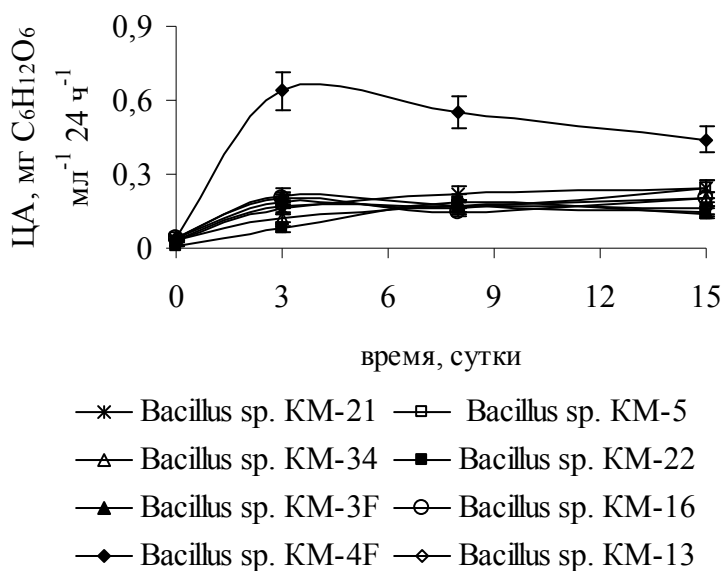


Рис. 2 Изменение ЦА индивидуальных штаммов бактерий рода *Bacillus* в процессе роста на среде Гетчинсона

Предварительно была проверена фитотоксичность этих штаммов и установлено, что культуральные жидкости *Alternaria* sp., *Fusarium* sp., *Penicillium* sp. и *Trichoderma* sp. вызывают ингибирование развития семян тест-объекта *Raphanus sativus* на 90, 85, 68 и 65% соответственно. Установлено, что наиболее активно подавляют рост микромицетов четыре штамма – *Bacillus* sp. KM-34, *Bacillus* sp. KM-3F, *Bacillus* sp. KM-4F и *Bacillus* sp. KM-13.

Исходя из того, что из четырех отобранных штаммов штамм *Bacillus* sp. KM-4F обладал максимальной ЦА, на следующем этапе были получены количественные характеристики степени его негативного воздействия на микромицеты. Выявлено, что наибольшее ингибирование накопления грибной биомассы штамм *Bacillus* sp. KM-4F проявляет в отношении *Alternaria* sp. (88%), тогда как *Penicillium* sp. оказался нечувствителен к действию культуральной жидкости изучаемого штамма. Полученные нами данные об антагонистическом действии бацилл в отношении микромицетов согласуются с данными, представленными в литературе, упоминается также и о возможности их избирательного воздействия (Микробы-антагонисты..., 2004; Chang et al., 2007).

Полученные результаты о высокой ЦА штамма *Bacillus* sp. КМ-4F в совокупности с проявленной им супрессивной способностью позволили нам рекомендовать использование указанного штамма в качестве биологической добавки при компостировании. Основанием для этого явилось предположение о том, что антагонистическая способность штамма позволила бы снизить численность микромицетов в компосте и, как следствие, уменьшить его фитотоксичность, тогда как высокая ЦА способствовала бы поддержанию необходимой скорости превращения органических соединений компоста.

Для видовой идентификации выбранного штамма методами молекулярной биологии была установлена нуклеотидная последовательность 16S рДНК. Результаты сравнения установленной последовательности с таковыми, содержащимися в базе данных www.ncbi.nlm.nih.gov/blast, позволили идентифицировать изучаемый штамм как *Bacillus pumilus* (рис.3).

Рис. 3 Результаты сравнения нуклеотидных последовательностей штамма *Bacillus* sp. КМ-4F и штаммов из базы данных www.ncbi.nlm.nih.gov

Компостирование органической фракции ТБО. Эффективность применения биологических добавок в процессе компостирования оценивали в условиях лабораторного эксперимента. Для этого были подготовлены компостные смеси из отсортированных вручную органических отходов. Характеристика компостируемой смеси представлена в табл. 2.

При подготовке добавок опирались на результаты, полученные в предыдущих экспериментах. Время выращивания добавок соответствовало времени максимального проявления ЦА и составляло для *Bacillus pumilus* КМ-4F – 3 суток, бактериального сообщества – 5 суток, смешанного сообщества – 7 суток. Помимо указанных добавок для сравнения была использована коммерческая добавка «Тамир», подготовленная и вносимая в соответствии с инструкцией. Характеристики полученных добавок приведены в табл. 3.

Реализуемый нами подход, заключающийся в интенсификации процесса компостирования за счет использования микроорганизмов или их ферментов, не является принципиально новым. Однако необходимо отметить, что основой всех известных нам добавок являются либо микромицеты, либо смесь микромицетов и бактерий (Aerobic composting..., 1996; Влияние компостной закваски..., 2004; Composting of lead-contaminated..., 2007).

Таблица 2

Характеристика компостной смеси

Показатель	Характеристика	Показатель	Характеристика
ОВ, %	87,2±6,4	N _{общ} , %	1,2±0,2
C _{общ} , %	46,2±4,1	C:N	40,2±10,1

Таблица 3

Характеристики биологических добавок, используемых в процессе компостирования

Шифр добавки	Добавка	Удельная ЦА, ед. г ⁻¹	Численность бактерий, lgКОЕ мл ⁻¹	Численность микромицетов, lgКОЕ мл ⁻¹
Бац	<i>Bacillus pumilus</i> КМ-4F	65,8±1,3	6,4±0,3	-
СБГ	Сообщество бактерий и грибов	4,5±0,2	6,1±0,3	2,4±0,2
СБ	Сообщество бактерий	13,7±0,5	8,2±0,4	-
Т	«Тамир»	–	2,2±0,1	2,7±0,1

Оценка эффективности применения биологических добавок при проведении процесса компостирования органической фракции ТБО. В литературе достаточно полно представлена информация о биохимических, микробиологических и других аспектах процесса компостирования органических отходов, образующихся в сельском и коммунальном хозяйстве, пищевой промышленности и т.п. (Carbon., 1996; Maturity indices., 2004; Norbu et al., 2005). Поэтому в дальнейшем необходимо было оценить, влияет ли инокуляция компостных смесей биологическими добавками на процесс компостирования ТБО. В целом, завершенность процесса компостирования характеризуется двумя понятиями – «стабильность» и «зрелость» компоста, которые, несмотря на свои концептуальные различия, одновременно используются для определения степени разложения ОВ во время процесса компостирования. Нами были выбраны параметры, позволяющие оценить как интенсивность разложения ОВ (температура, содержание ОВ, РОУ и аммонийного азота), так и его стабильность (респираторная активность и ЦА, численность бактерий и микромицетов) и зрелость (рН, фитотоксичность).

Изменение физических и химических показателей в процессе компостирования ТБО. **Температура** определяет интенсивность протекания биологических процессов, происходящих внутри компостируемой смеси (Composting process., 1981; Manios, 2004). В процессе компостирования наблюдали все характерные стадии процесса: мезофильная стадия длилась с 1 по 4 сутки, термофильная – до 23 суток, фаза остывания – с 23 по 83 сутки и фаза созревания компоста начиналась примерно с 83 суток и продолжалась до конца эксперимента.

Влажность компостных смесей, измеренная на начальный момент, составляла 60%. К 50-57 суткам содержание влаги увеличилось до 67-76%, что связано с активным разложением **ОВ** и выделением воды в процессе метаболизма легкоокисляемых соединений. В результате шестого перемешивания произошло снижение содержания влаги до 52-57%. В дальнейшем для предотвращения пересыхания компостных смесей влажность искусственно поддерживали на уровне 53-58%, поскольку именно этот диапазон указывается как оптимальный для активной деструкции органических соединений (Norbu et al., 2005).

Изменение содержания **ОВ** представлено на рис. 4 на примере компостирования с добавками Бац10, Бац15 и Бац20. При компостировании наблюдалось снижение **ОВ** за

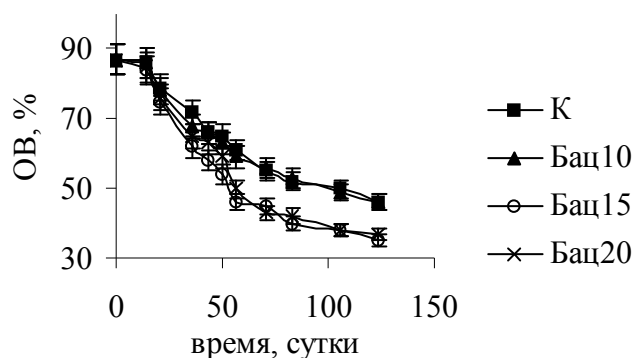


Рис.4 Изменение содержания **ОВ** в вариантах компостирования ТБО без биологической добавки (К) и с добавлением Бац10, Бац15 и Бац20

(Chemical and microbiological parameters..., 2003; Iyengar, Vhave, 2006). Впрочем, необходимо отметить, что слишком низкое содержание **ОВ** в готовых компостах (менее 30%) не приветствуется, поскольку компост при этом теряет свои удобрительные свойства (Касатиков, 1989).

Несмотря на то, что в литературе представлены данные о возможности использования при компостировании добавок в виде отдельных видов или смесей микроорганизмов, представляется крайне затруднительным сравнить эффективность этих добавок ввиду разрозненности данных. Так, например, имеются сведения, что при компостировании коры и ветвей хвойных пород внесение закваски, содержащей *Aspergillus niger*, *A. oryzae*, *Glyocladium sp.*, *Trichoderma sp.*, *Streptomyces griseus*, *S. globisporius*, *S. viridosporus*, *Bacillus cereus*, *B. subtilis*, оказывало положительный эффект (Влияние компостной закваски..., 2004). Китайские авторы сообщают, что применение добавок, включающих *Bacillus azotofixams*, *B. megaterium*, *B. mucilaginosus*, *Trichoderma koningii*, *Streptomyces cellulosaе* и микромицета – возбудителя белой гнили, эффективно для ускорения скорости деградаци и стабилизации компостируемых продуктов (Xi et al., 2005). В то же время представлены данные и об отсутствии положительного эффекта от внесения добавки на основе *Cephalosporium sp.* на интенсивность протекания процесса компостирования (Aerobic composting..., 1996).

Очевидно, что интродуцируемые микробные популяции находятся в условиях жесткой конкуренции с аборигенным сообществом. Именно поэтому до настоящего времени вопрос о механизме их взаимодействия остается открытым.

Изменение содержания **РОУ** предлагается многими авторами в качестве показателя, отражающего стабильность компоста (Dissolved organic carbon., 2005; Tognetti et al., 2007). В процессе компостирования наблюдалось снижение содержания РОУ, при этом выявлено, что скорость изменения параметра максимальна в течение первых двух недель и демонстрирует тенденцию к снижению в последующий период (рис. 5). После 4 месяцев компостирования содержание РОУ варьировало на уровне 3,8-8,0 мг г⁻¹. Принимая во внимание, что индикатором зрелости компоста является содержание РОУ менее 10 мг г⁻¹ (Hue, Liu, 1995), такое содержание свидетельствует о высокой зрелости компостов.

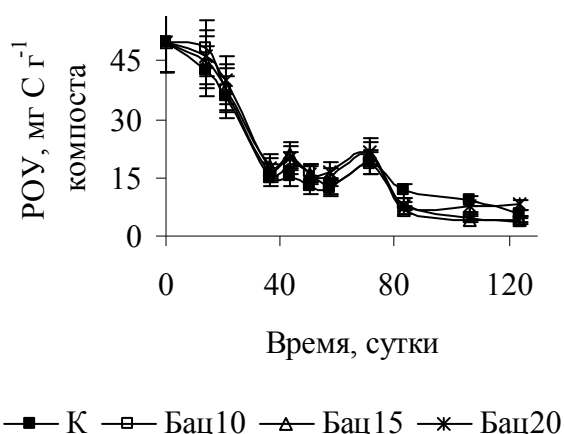


Рис.5 Изменение содержания РОУ в вариантах компостирования ТБО без биологической добавки (К) и с добавлением Бац10, Бац15 и Бац20

Внесение биологических добавок не оказало влияния на уменьшение периода деградации доступной части органического вещества. Скорее всего, отсутствие эффекта связано с тем, что в состав добавок входили микроорганизмы, которые были направленно селекционированы по признаку высокой ЦА. Окисление легкодоступных органических соединений осуществляли аборигенные сообщества, одинаковые как в контрольном, так и в опытных вариантах.

Изменение содержания **NH₄⁺-N** характеризует динамику минерализации азотсодержащих веществ (Maturity indices., 2004). Как видно из данных, представленных на рис. 6, начальное содержание NH₄⁺-N в компостных смесях составляло 0,9 г кг⁻¹, что соответствует 5,9% от общего азота (табл. 2). На протяжении двух месяцев компостирования отмечали колебания уровня NH₄⁺-N в интервале 0,64-1,17 г кг⁻¹, что не противоречит данным, представленным в литературе (Влияние компостной закваски., 2004). К концу компостирования все варианты в нашем исследовании демонстрировали содержание NH₄⁺-N ниже уровня, предъявляемого к зрелым компостам (1,0-2,5 г кг⁻¹) (Самойлов, 1984; Tognetti et al., 2007).

Изменение значений **pH** компоста связано с превращением органических соединений (рис. 7). Обнаружено, что исходные компосты имели слабо кислую реакцию среды (pH 6,2). Изменение pH на начальных стадиях компостирования определяется балансом органических кислот, NH₄⁺-N и CO₂, образующихся в процессе микробного метаболизма. В течение процесса дважды наблюдалось увеличение

значений рН в конечном итоге до 7,9-8,2. Слабощелочные значения рН компостов обусловлены выделением $\text{NH}_4^+\text{-N}$ при аммонификации белков. В пользу этого утверждения свидетельствует и динамика изменения $\text{NH}_4^+\text{-N}$, представленная на рис. 6. Стабилизация и даже некоторое снижение значений рН к концу эксперимента, возможно, является результатом образования гумусоподобных веществ, о чем косвенно свидетельствует стабилизация уровней содержания ОВ и РОУ (рис. 4, 5). Все варианты опыта демонстрировали идентичное изменение рН, не имеющее достоверных различий.

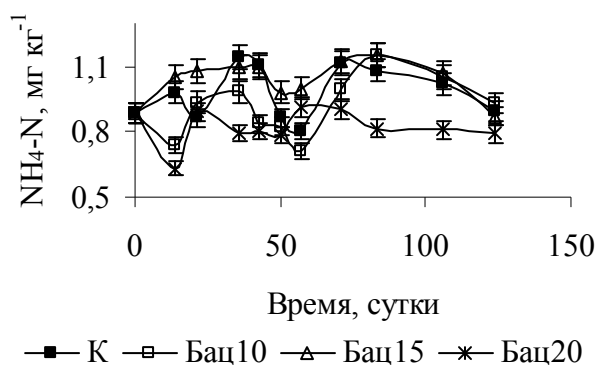


Рис. 6 Изменение содержания аммония в вариантах компостирования ТБО без биологической добавки (К) и с использованием Бац10, Бац15 и Бац20

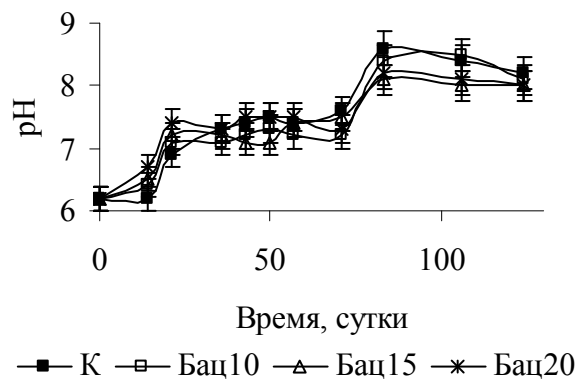


Рис. 7 Изменение рН в вариантах компостирования ТБО без биологической добавки (К) и с использованием Бац10, Бац15 и Бац20

Изменение микробиологических характеристик и биохимических свойств КОМПОСТОВ.

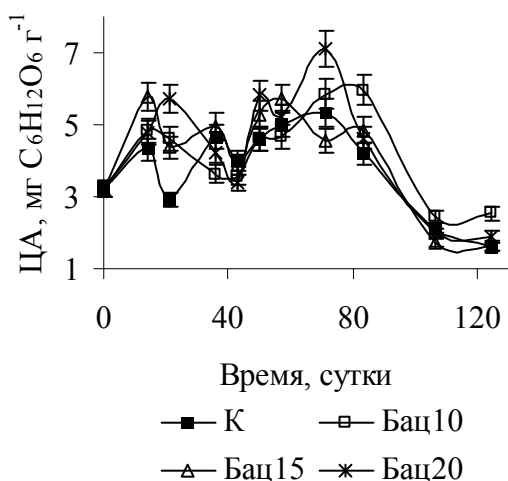


Рис. 8 Изменение ЦА в процессе компостирования ТБО без добавления биодобавки (К) и с добавлением Бац10, Бац15, Бац20

К числу крайне важных ферментов, вовлеченных в процесс компостирования, относится, наряду с глюкозидазой, амидогидролазой, протеазой, уреазой, фосфатазой, и фермент **целлюлаза**. Важность последнего обусловлена тем, что, несмотря на совершаемые усилия по извлечению бумаги из потока ТБО, целлюлоза и целлюлозо-содержащие продукты все еще составляют их значительную часть (Characterization..., 1994). Поэтому измерение скорости деструкции целлюлозы микрофлорой компостов является необходимым для характеристики процесса в целом (рис. 8).

При определении ЦА в процессе компостирования установлено, что тенденция ее изменения в вариантах с использованием биологических добавок идентична таковой в

контрольном варианте. Уровень ЦА на начальных этапах флуктуировал, достигая максимума на 57-83 сутки компостирования. Низкая активность целлюлазы на начальном этапе компостирования обусловлена преимущественной деструкцией микроорганизмами простых соединений. По мере их истощения, о чем свидетельствует снижение содержания РОУ (рис. 5), возникает необходимость использовать в качестве источника питания и энергии более сложные, полимерные соединения. Высокая метаболическая активность микроорганизмов в целом и ЦА в частности приводит к деструкции сложных органических соединений. Результатом этого является снижение ЦА в конце компостирования, которое по времени совпадает со стабилизацией содержания ОВ в компостах (рис. 4). Применение биологических добавок приводило в большей части к стимулированию ЦА компостов. Максимальное превышение ЦА (в 1,9 раз) над ЦА контрольного варианта выявлено в случае добавки Бац20.

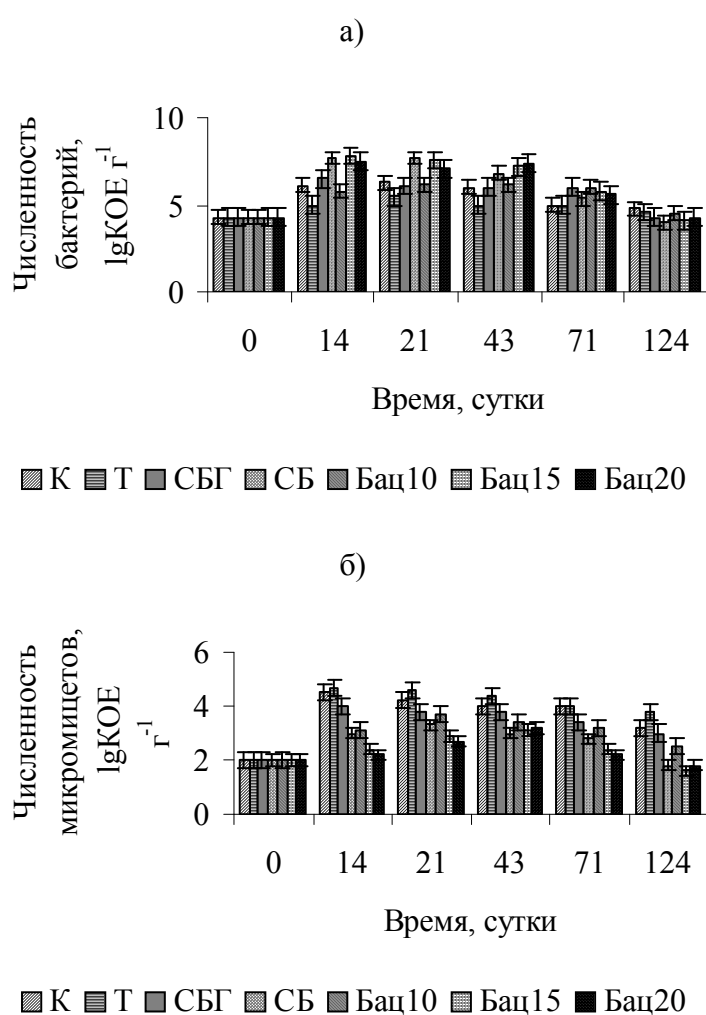


Рис. 9 Изменение численности бактерий (а) и микромицетов (б) в компостируемых смесях при внесении различных биологических добавок

Скорость деструкции ОВ напрямую зависит от **численности микроорганизмов** и состава микробных сообществ. Поэтому нами была проведена оценка численности гетеротрофных бактерий и грибов в динамике процесса компостирования (рис. 9 а, б). Начальная численность бактерий находилась на уровне 4,3 lgKOE г⁻¹. В течение первых недель компостирования происходило увеличение численности бактерий до 6,2-7,8 lgKOE г⁻¹, а после 71 суток снижалась, составляя к концу компостирования 4,0-4,8 lgKOE г⁻¹.

Полученные нами данные об изменении численности гетеротрофных бактерий хорошо коррелируют с изменением содержания ОВ и РОУ (Рис. 4, 5), тем самым подтверждая

ведущую роль гетеротрофных бактерий в процессе компостирования. Все добавки способствовали увеличению численности бактерий в компостных смесях. Максимальная численность отмечалась в случае использования добавок СБ и Бац15 –

7,7 и 7,8 lgКОЕ г⁻¹ соответственно. Кроме того, внесение добавок уменьшало период достижения максимальной численности бактерий. Полученные данные о численности гетеротрофных бактерий могут объяснить эффект ускорения разложения ОВ в компостных смесях с добавками. На начальных этапах в компостных смесях присутствует большое количество ОВ, тогда как численность микроорганизмов достаточно низкая (рис. 4). Внесение же микробной добавки за счет увеличения численности микроорганизмов способствует ускорению процесса разложения ОВ. Еще одним возможным объяснением положительного влияния добавок на численность бактерий может служить тот факт, что внесение микроорганизмов, обладающих высокой ЦА, способствует более активной деструкции сложных биополимеров, продукты разложения которых служат субстратом для развития большего числа бактерий. В пользу этого говорит наиболее выраженный эффект при использовании добавок на основе бацилл (Бац15) или СБ, у которых была обнаружена максимальная ЦА (табл. 3). Иная зависимость обнаружена в отношении численности микромицетов (рис. 9 б). Наиболее быстро максимальной численности достигали микромицеты в вариантах К и Т. На 14 сутки компостирования их численность составила 4,5 и 4,7 lgКОЕ г⁻¹ соответственно. Во всех остальных вариантах пик численности микромицетов приходился на более поздние сроки.

Найденный ингибирующий эффект в отношении микромицетов вполне закономерен, если принять во внимание установленную ранее способность *Bacillus pumilus* KM-4F подавлять рост микромицетов, а также данные литературы об антагонистических свойствах бацилл в целом (Применение бацилл-антагонистов..., 2006; Chang et al., 2007). На наш взгляд, установленное снижение численности микромицетов является скорее положительным, чем отрицательным фактом. Действительно, во-первых, уменьшение численности грибов не повлекло за собой снижение скорости деструкции ОВ (рис. 4), а во-вторых, снизило риск образования в компостах фитотоксичных соединений.

Широко используемым параметром для оценки стабильности компоста является **респираторная активность** (Maturity indices..., 2004; Said-Pullicino et al., 2007). При ее анализе в процессе компостирования установлено, что в течение первых двух недель происходило увеличение в 1,4-3,6 раз уровня респирации во всех вариантах опыта. Последующие три недели характеризовались снижением респираторной активности до исходного уровня; начиная же с 50 суток, наблюдался второй пик респираторной активности, а с 80 суток уровень респирации не подвергался флуктуациям. Согласно данным литературы компост считается стабильным в том случае, если уровень респираторной активности находится в интервале 2,0-5,0 мг СО₂-С г⁻¹ 24 ч⁻¹ и очень стабильным при уровне менее 2 мг СО₂-С г⁻¹ 24 ч⁻¹ (Maturity indeces..., 2004; Tognetti et al., 2007). Таким образом, можно заключить, что, начиная с 71 суток компостирования, компосты с добавлением Бац15 и Бац20 приобретают свойства стабильности, а к 124

суткам компосты СБГ, СБ, Бац15 и Бац20 могут быть классифицированы как очень стабильные (рис. 10).

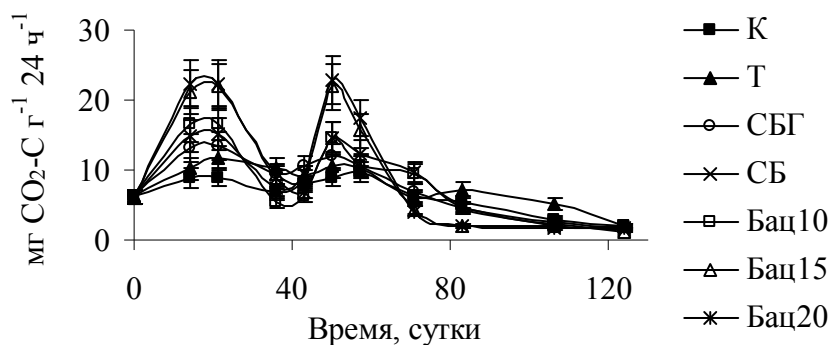
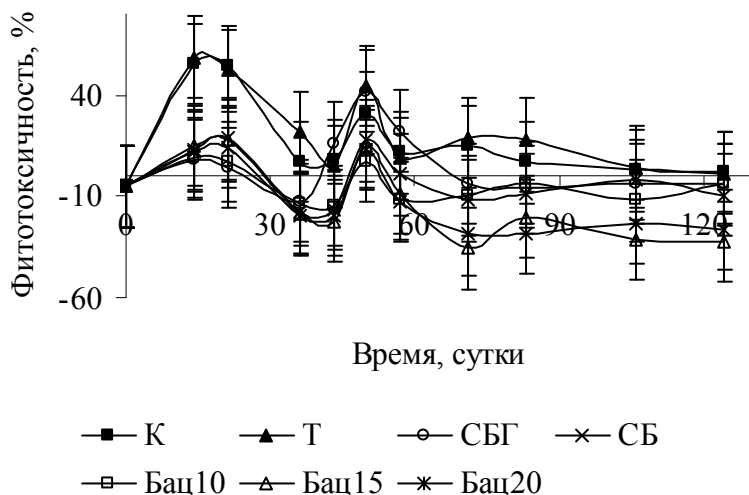


Рис. 10 Изменение респираторной активности в процессе компостирования ТБО при внесении различных биологических добавок

Изменение фитотоксичности компостов при внесении различных биологических добавок. Изменение степени зрелости компоста в динамике компостирования определяли, анализируя эффект водного экстракта компостов на рост семян тест-растения – *Raphanus sativus* (сорт «Редис красный с былым кончиком»).



На протяжении первых двух недель компостирования наблюдалось увеличение уровня фитотоксичности, наиболее выраженное в вариантах К и Т (рис. 11). К 50 суткам было обнаружено второе повышение уровня фитотоксичности, максимальное в случае вариантов К, Т и СБГ. Скорее всего, вклад в увеличение уровня фитотоксичности в большей мере вносят токсины,

Рис. 11 Изменение фитотоксичности компостов при проведении процесса компостирования традиционным способом (К) и при использовании биологических добавок Т, СБГ, СБ, Бац10, Бац15 и Бац20

образующиеся микромицетами, поскольку именно на период увеличения фитотоксичности приходится их максимальное развитие. Подтверждением этому служит и максимальная численность микромицетов в компостах, обладающих максимальной фитотоксичностью (варианты К и Т). Не исключено, что и органические кислоты, образующиеся при деструкции компонентов отходов, также обуславливают увеличение фитотоксичности компостов, поскольку наиболее активное снижение РОУ и ОВ наблюдалось на начальных этапах компостирования (рис. 4, 5). Менее вероятна обусловленность возрастания фитотоксичности высокой концентрацией $\text{NH}_4\text{-N}^+$. Во-первых, мы не обнаружили корреляции между уровнем фитотоксичности и содержанием $\text{NH}_4\text{-N}^+$, во-вторых, содержание $\text{NH}_4\text{-N}^+$, которое ингибирует рост

растений должно быть много больше, чем установлено в наших исследованиях. На заключительных этапах уровень фитотоксичности компостов снижался, а в случае вариантов Бац15 и Бац20 был выявлен достоверный стимулирующий эффект. Это свидетельствует о том, что компост свободен от фитотоксичных соединений и его применение не нанесет вреда растениям. В целом можно заключить, что внесение биологических добавок на основе сообщества бактерий или индивидуального штамма бацилл оказывает существенный положительный эффект, выраженный в снижении уровня фитотоксичности компостов, по сравнению с компостированием, осуществляемым по традиционной технологии или с добавками, содержащими наряду с бактериями и микромицеты. Вероятно, такой эффект связан с изменением структуры сообщества, в частности, с элиминацией из сообщества или подавлением численности микромицетов – продуцентов фитотоксинов интродуцированными бактериями, обладающими антагонистическими свойствами.

Определения показателей-предикторов фитотоксичности компоста. Поскольку в процессе компостирования нами было определено большое количество показателей процесса, представляло интерес выявить, какие из них будут наиболее точными предикторами уровня фитотоксичности.

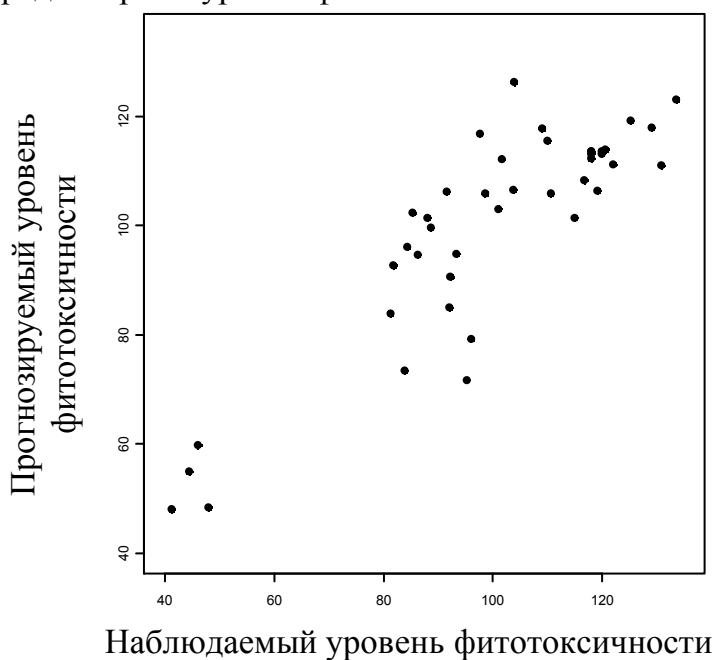


Рис. 12 Прогнозные качества модели фитотоксичности

Для этого были построены и сравнены GAM модели зависимости фитотоксичности от всех измеренных показателей. Сложность GAM моделей от каждого показателя была определена с помощью перекрестной проверки. Для оценки точности полученной модели и адекватности прогноза были использованы две характеристики модели: корреляция прогнозных и измеренных значений фитотоксичности и ошибка прогноза фитотоксичности. На основании указанных характеристик установлено, что наилучшее

качество прогноза фитотоксичности дает модель, совокупно учитывающая два показателя – содержание ОВ и численность микромицетов (рис. 12). Основанием для такого утверждения является то, что, во-первых, оба показателя в модели значимы ($p\text{-value} \leq 0,001$); во-вторых, при одновременном учете этих показателей возрастает корреляция прогнозируемых и измеренных значений фитотоксичности до 0,86 по сравнению с корреляциями, полученными для моделей, связывающих фитотоксичность с каждым показателем в отдельности (0,61 и 0,76), и, в-третьих, в модели, учитывающей

совместный вклад показателей, ошибка прогноза уровня фитотоксичности снижается до 12 по сравнению с ошибками, полученными для моделей, учитывающих каждый показатель в отдельности (18 и 15).

Определение наиболее эффективной биологической добавки при компостировании органической фракции ТБО. Представленные выше результаты свидетельствуют о том, что при анализе каждого из показателей процесса компостирования в отдельности можно выделить наиболее эффективный вариант биологической добавки. Однако для итогового заключения необходимо учитывать результаты всех показателей процесса в совокупности. Для этого нами предложено применить рейтинговую систему, базирующуюся на средневзвешенном времени достижения показателями компоста стабильного состояния.

Для получения средневзвешенного времени стабилизации для каждого варианта компостирования по каждому показателю определяли точность получения времени, необходимого для достижения показателем значения, соответствующего качеству стабильного компоста. Точность оценки времени для каждого показателя и каждой схемы компостирования была получена как дисперсия ошибки прогноза с помощью выбранных GAM моделей. Затем в предположении нормального закона распределения значений показателя в точке, соответствующей качеству стабильного компоста, была вычислена оценка плотности распределения вероятности необходимого значения показателя. Оценки плотности распределения вероятности значений были использованы в качестве весов. В итоге было установлено, что наиболее эффективной схемой протекания процесса является компостирование органической фракции ТБО с использованием биологических добавок Бац15 и Бац20, для которых средневзвешенное время составило соответственно 79 и 80 суток. Однако, поскольку эффекты двух добавок соизмеримы, с экономической точки зрения добавка Бац15 наиболее целесообразна.

Влияние компостов, приготовленных с использованием различных биологических добавок, на микробные сообщества почвы и растения. Основной целью получения компостов из различных органических отходов является их использование в качестве почвенного мелиоранта при выращивании сельскохозяйственных культур или восстановлении нарушенных почв. Поэтому на следующем этапе необходимо было оценить удобрительные свойства полученных компостов. Установлено, что внесение компостов приводило к изменению уровня респираторной активности серой лесной почвы, причем наибольший стимулирующий эффект (в 3,3 раза) отмечен для свежеприготовленной компостной смеси и практически для всех вариантов компостов, отобранных на 14 и 21 сутки. Принимая во внимание тот факт, что в пробах компостов, отобранных на 0, 14 и 21 сутки, наблюдается наибольшее содержание РОУ (рис. 5), именно с его содержанием могут быть связаны обнаруженные нами эффекты. Чем выше уровень стабильности ОВ в компосте, тем меньший эффект компост оказывает на респираторную активность почв.

Несмотря на снижение уровня респираторной активности в результате внесения компостов, отобранных на более поздних сроках, по сравнению с респираторной активностью почвы без компостов она остается в среднем на 28% выше.

В отношении пшеницы внесение проб, отобранных в процессе компостирования, оказывало как ингибирующий, так и стимулирующий эффекты, проявление которых зависело от сроков компостирования и вида биологической добавки. При обработке почвы компостами, приготовленными с использованием штамма *Bacillus pumilus* КМ-4F, ни одна из проб не демонстрировала ингибирующего эффекта в отношении высоты и биомассы тестовых растений. Более того, внесение в почву проб, отобранных на 71 сутки компостирования и позднее, вызывало стимулирующий эффект. В случае остальных компостов выявлено, что незрелые компосты могут проявлять и негативный эффект в отношении тестовых растений. Таким образом, исходя из разнонаправленных эффектов, оказываемых внесением незрелых компостов в почвы на микробные сообщества и растения, можно рекомендовать для восстановления микрофлоры нарушенных почв использование незрелых компостов, приготовленных из целлюлозосодержащих отходов, а для увеличения урожайности растительных культур - применение зрелых компостов.

ВЫВОДЫ

1. Установлено, что выделенное из почвы бактериальное сообщество проявляет целлюлазную активность, уровень которой сопоставим с таковым смешанного сообщества, в состав которого входят микромицеты и бактерии.
2. Предложенный в качестве биологической добавки штамм, идентифицированный как *Bacillus pumilus* КМ-4F, обладает целлюлазной активностью на уровне 64,5-67,1 ед. г⁻¹ и избирательно ингибирует рост микромицетов.
3. При компостировании органической фракции ТБО с применением добавок, приготовленных на основе бактериального сообщества микроорганизмов и индивидуального штамма *Bacillus pumilus* КМ-4F, выявлены большие уровни респираторной и целлюлазной активностей компостов, приводящие к сокращению сроков стабилизации органического вещества в 1,3 и 1,6 раза соответственно, по сравнению с компостированием, осуществляемым по традиционной технологии.
4. Компосты, приготовленные с использованием бактериальных добавок, отличаются меньшей фитотоксичностью по сравнению с компостами, полученными по традиционной схеме или с добавками, содержащими наряду с бактериями и микромицеты. Этот эффект связан со снижением численности микромицетов в составе микробного сообщества компостов.
5. Оценка свойств математических моделей, связывающих фитотоксичность компостов с показателями-предикторами, выявила, что лучшими прогнозными способностями обладает нелинейная GAM модель, учитывающая совокупность

значимых ($P \leq 0,001$) показателей – содержание органического вещества и численность микромицетов.

6. Для определения наиболее эффективной схемы компостирования предложен подход, включающий сравнение средневзвешенного времени, необходимого для достижения компостом стабильного состояния. Наиболее эффективной является схема компостирования с интродукцией биологической добавки на основе *Bacillus pumilus* КМ-4F в количестве 15%.
7. Установлено, что внесение компостов в серую лесную почву приводит к увеличению ее респираторной активности, что свидетельствует об активизации почвенной микрофлоры. Наибольший стимулирующий эффект за счет доступного органического вещества оказывают образцы компостов, отобранные в течение первых недель компостирования. Максимальный положительный эффект в отношении размеров и биомассы проростков пшеницы выявлен в случае применения зрелых компостов. Удобрительная ценность компостов одного возраста выше в случае их получения с добавкой на основе индивидуального штамма *Bacillus pumilus* КМ-4F.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Селивановская, С.Ю. Влияние биологических добавок на процесс компостирования органической фракции твердых бытовых отходов и удобрительные свойства компостов [Текст] / С.Ю. Селивановская, С.А. Ярлыченко, В.З. Латыпова // *Агрехимия*. – 2007. - № 8. – С. 58-63.
2. **Ярлыченко, С.А.** Влияние биодобавки на начальный этап процесса компостирования твердых бытовых отходов на основе сообщества бактерий рода *Bacillus* [Текст] / С.А. Ярлыченко, С.Ю. Селивановская // *Ученые записки Казанского государственного университета*. – 2007. – Т. 149. – кн. 1. – С. 123-131.
3. **Васильева (Ярлыченко), С.А.** Сравнительная характеристика целлюлазной активности бактерий и микромицетов, входящих в состав почвенного сообщества [Текст] / С.А. Васильева, С.Ю. Селивановская, В.З. Латыпова, Янг-Тсе Ханг // *Вестник ТОРЭА*. – 2003. - № 4. – С. 19-23.
4. **Ярлыченко, С.А.** Переработка органической фракции муниципальных отходов микроорганизмами [Текст] / С.А. Ярлыченко, Б. Тумурбатор, А.Г. Бикмухаметова // *Вестник ТОРЭА*. – 2006. - № 3. – С. 57-58.
5. **Васильева (Ярлыченко), С.А.** Деструкция органического вещества отходов микроорганизмами [Текст] / С.А. Васильева // Тез. докл. итоговой научн. конф. Каз. гос. ун-та. – Казань: Изд-во Каз. гос. ун-та, 2003. – С. 134-135.
6. **Ярлыченко, С.А.** Микробные добавки – стимуляторы биоконверсии отходов [Текст] / С.А. Ярлыченко // Тез. докл. межрегион. конф. Молодых ученых «Пищевые технологии». – Казань: Изд-во КГТУ, 2004. – С. 122-123.

7. **Ярлыченко, С.А.** Целлюлозоразрушающие микроорганизмы как интенсификаторы процесса компостирования [Текст] / С.А. Ярлыченко // Матер. междунар. молодежной конф. «XII Туполевские чтения». – Казань: Изд-во КГТУ, 2004. – Т. 2. – С. 102-103.
8. **Ярлыченко, С.А.** Компостирование органической фракции твердых бытовых отходов с использованием биологической добавки [Текст] / С.А. Ярлыченко // Матер. всероссийск. научно-практической конф. «Современные проблемы аграрной науки и пути их решения». – Ижевск: Изд-во ФГОУ ВПО Ижевская ГСХА, 2005. – Т. 2. – С. 307-312.
9. **Ярлыченко, С.А.** Определения условий искусственного создания биологических добавок для переработки органической фракции твердых бытовых отходов [Текст] / С.А. Ярлыченко, С.Ю. Селивановская, Б. Тумурбатор, В.З. Латыпова // Матер. Всероссийской науч. конф. «Современные аспекты экологии и экологического образования». – Казань: Изд-во каз. гос. ун-та, 2005. – С. 501-503.
10. Селивановская, С.Ю. Создание бактериальных сообществ для превращения целлюлозосодержащей фракции компоста [Текст] / С.Ю. Селивановская, **С.А. Ярлыченко** // Матер. междунар. конф. «Проблемы биодеструкции техногенных загрязнителей окружающей среды». – Саратов: Изд-во «Научная книга», 2005. – С. 88-89.
11. **Ярлыченко, С.А.** Интенсификация процесса деструкции органического вещества как одно из решений проблемы твердых бытовых отходов [Текст] / С.А. Ярлыченко, Б. Тумурбатор // Матер. междунар. молодежной конф., посвящ. 1000-летию г. Казани «Туполевские чтения». – Казань: Изд-во КГТУ, 2005. – Т. 1. – С. 250-251.
12. **Ярлыченко, С.А.** Биотехнология переработки муниципальных отходов как составная часть системы их управления [Текст] / С.А. Ярлыченко, С.Ю. Селивановская // Матер. междунар. науч. конф. «Проблемы устойчивого функционирования водных и наземных экосистем». – Ростов-на-Дону: Изд-во КОПИЦЕНТР, 2006. – С. 496-497.
13. **Ярлыченко, С.А.** Изучение экологических особенностей представителей бактерий рода *Bacillus* как интенсификаторов процесса компостирования ТБО [Текст] / С.А. Ярлыченко // Материалы I Экологического форума экологов Прикамья «Экология Прикамья», Наб. Челны, 2007. – С. 211-212.

Автор выражает огромную признательность научному руководителю – д.б.н., проф. С.Ю. Селивановской за поддержку и внимательное отношение к работе; д.х.н., проф., зав. каф. прикладной экологии факультета географии и экологии КГУ В.З. Латыповой и сотрудникам кафедры за помощь и теплую рабочую атмосферу; д.б.н., проф., зав. каф. микробиологии биологического факультета КГУ О.Н. Ильинской за предоставление штаммов бацилл; директору института прикладной микробиологии университета им. Юстуса-Либиха (Гиссен, Германия), проф. С. Шнель; к.б.н. П.Ю. Галицкой за помощь в проведении идентификации бактериального штамма; к.ф.-м.н., д.б.н., проф. каф. математического моделирования факультета географии и экологии КГУ А.А. Савельеву и асс. Н. Чижиковой за помощь в проведении математической обработки результатов.