

Львівський національний університет ветеринарної медицини
та біотехнологій імені С. З. Гжицького

Факультет харчових технологій та біотехнологій

Кафедра біотехнологій та радіології

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

на здобуття освітнього ступеня «Бакалавр»

на тему: «Особливості функціонування мікробіому у технології
вермикультивування»

Виконала: студентка 4 курсу

Групи 1, спеціальності

162 «Біотехнології та біоінженерія»

_____ Молнар К.З.

Керівник: к.б.н.,

доцент кафедри біотехнологій та радіології

_____ Шемедюк Н. П.

Рецензент: к. б. н

доцент кафедри фармації та біології

_____ Грицина М. Р.

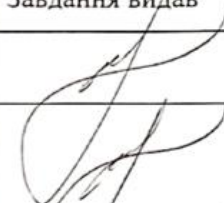
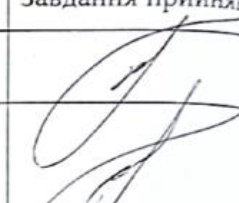

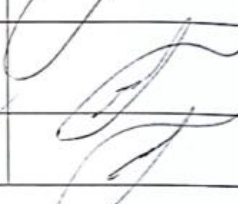
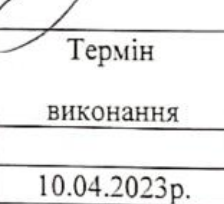
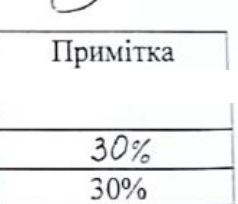
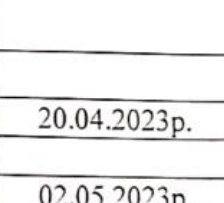
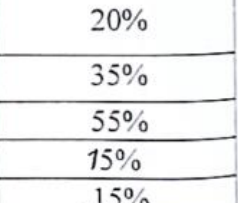
Робота заслухана на засіданні кафедри біотехнологій та радіології і
рекомендована до захисту на засіданні ЕК, протокол № 25 від 01.06.2023р.

Завідувач кафедри біотехнологій та радіології, професор, доктор с.-г.
наук Буцяк В. І. _____

Львів – 2023

застосуванням методів фарбування, вміст амінокислот, Вміст мінеральних елементів та амінокислот в зразках, Схема вермикомпостеру, фактичний вигляд.

Консультанти розділів кваліфікаційної роботи

Розділ	Консультант ПІБ, посада	Підпис, дата	
		Завдання видав	Завдання прийняв
1. Огляд літератури	к. б. н., доцент Шемедюк Н. П.		
2. Умови та методика проведення досліджень	к. б. н., доцент Шемедюк Н. П.		
3. Результати досліджень	к. б. н., доцент Шемедюк Н. П.		
4. Висновки	к. б. н., доцент Шемедюк Н. П.		

7. Дата видачі завдання 06.02.2023 року

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№	Назва етапів кваліфікаційної роботи	Термін виконання	Примітка
1.	Огляд літератури		30%
	I атестація:	10.04.2023р.	30%
2.	Умови та методика проведення досліджень		20%
3.	Результати досліджень		35%
	II атестація:	20.04.2023р.	55%
5.	Висновки		15%
	III атестація:	02.05.2023р.	15%
	Допущено до захисту	10.05.2023р.	100%

Здобувачка _____

Керівник кваліфікаційної роботи _____

 Молнар К. З.

Шемедюк Н.П.

ЗМІСТ

АНОТАЦІЯ.....	4
ВСТУП.....	7
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	9
1. 1 Вермикомпостування - безпечний метод утилізації органічних відходів	9
1 . 2 Властивості вермикомпосту та способи його застосування.....	10
1. 3 Значення мікроорганізмів у біотрансформації рослинних субстратів	12
1. 4 Використання біомаси дощових черв'яків	14
1. 5 Придатні види черв'яків для вермикомпостування	15
1. 6 Оптимальні умови для функціонування вермикультури	20
1. 6. 1. Температура	21
1. 6. 2. Вологість	22
1. 6. 3. Кислотність середовища (рН).....	22
1. 6. 4. Аерація	22
1. 6. 5. Вміст аміаку та неорганічних солей.....	23
1. 7 Відмінності між компостуванням та вермикомпостуванням	23
1. 8 Найпоширеніші методи вермикомпостування	24
1. 8. 1 Буртовий та траншейний методи вермикомпостування	25
1. 8. 2 Реактори безперервної дії	28
РОЗДІЛ 2. УМОВИ ТА МЕТОДИКА ПРОВЕДЕННЯ ДОСЛІДЖЕНЬ .	33
2. 1. Матеріали	33
2. 1. 1. Взірці субстрату активної фази вермікультивування, біогумусу. Приготування десятикратних розведень екстрактів взірців	33
2 .1. 2. Живильні середовища та умови культивування	33
2. 2. Вирощування культури бактерій на агаровому середовищі	34
2. 3. Ідентифікація мікробіоти	34
2. 3. 1. Фарбування за Грамом.	35
2. 3. 2. Фарбування за Цілем-Нільсеном	36

2. 3. 3. Виявлення каталазних властивостей мікроорганізмів	36
2. 4. Дослідження хімічного складу біогумусу	37
2. 4. 1. Дослідження амінокислот біогумусу	37
2. 4. 2. Дослідження масової частки деяких катіонів, аніонів біогумусу.	37
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ	38
3. 1. Мікробіологічне дослідження субстратів різних фаз вермікультивування	38
3. 2. Ідентифікація мікробіому субстратів різних фаз вермікультивування	42
3. 3. Дослідження хімічного складу одержаного біогумусу	46
3. 4 Технологічна схема вермикомпостування	47
3. 4. 1 Приготування субстрату	47
3. 4. 2 Установка для вермікультивування	47
3. 4. 3. Заселення вермікультури та оптимальні умови	48
3. 4. 4. Збір готового біогумусу	49
ВИСНОВКИ	50
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ.....	51

АНОТАЦІЯ

Актуальність. У даній кваліфікаційній роботі описано дослідження мікробіоти біогумусу та технологічну схему одержання даного добрива.

Використання екологічних добрив без додавання хімічних речовин є надзвичайно актуальним у наш час, адже у світі йде тенденція до максимального використання добрив, які не будуть мати шкідливого впливу на навколишнє середовище та здоров'я людини.

Досліджуваний біогумус містить у собі 7 штамів бактерій різних родів, які є важливими складниками мікробіоти ґрунту і впливають на його родючість. Мікроорганізми також допомагають розкласти рослинні рештки у процесі вермикомпостування, що у купі із особливостями травного тракту дощового черв'яка *Eisenia Foetida* дозволяє розкласти складні сполуки до простих, які будуть легко засвоюватись рослинами. Окрім мікроорганізмів біогумус також багатий великою кількістю мікро- та макроелементів, що також є важливим для розвитку рослин.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Кваліфікаційна робота є частиною наукових досліджень теми «Розробка технологій на основі нанотехнологій та біоінженерії з метою одержання відновлювальних джерел енергії і екологічно- безпечних продуктів біоконверсії» (номер державної реєстрації 0122U002494), виконуваних співробітниками кафедри біотехнології та радіології Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій ім. С. З. Гжицького.

Мета і завдання дослідження. Метою даної роботи є дослідження біогумусу, його мікробіологічного та хімічного складу, розробка технологічної схеми виробництва біогумусу.

Завдання дослідження:

1. Дослідити субстрати різних фаз вермикультивування;

2. Ідентифікувати мікробіом субстратів різних фаз вермикультивування;

3. Дослідити хімічний склад одержаного біогумусу;

4. Скласти технологічну схему процесу вермикультивування.

Об'єкт дослідження: біогумус, його мікробіологічний та хімічний склад, технологічний процес отримання біогумусу.

Предмет дослідження: хімічний склад біогумусу, ідентифікація колоній мікроорганізмів, які наявні у біогумусі, підбір оптимальних середовищ для ізолювання мікроорганізмів.

Методи дослідження: мікробіологічні методи (стерилізація, приготування десятикратних розведень, підготовка поживних середовищ, висів мікроорганізмів на поживні середовища, відбір проб, приготування фіксованих препаратів), ідентифікація мікроорганізмів (оцінка колоній з морфологічними ознаками, фарбування за Грамом та за Цілем-Нільсоном, мікроскопія), технологія отримання біогумусу.

Науковий внесок роботи. Вивчення та аргументування мікробіологічних аспектів процесу вермикомпостування дозволяє створювати низку біопрепаратів та біодобрив, які можна застосовувати для різних сільськогосподарських цілей для покращення кількісних та якісних показників врожайності рослин.

Практична цінність роботи. Велика кількість мікроорганізмів, що містяться у мікробіомі біогумусу показує, що біодобриво є якісним, володіє високими властивостями для стимуляції росту рослин та показане для можливого застосування для профілактики або лікування їх певних захворювань.

Апробація результатів дослідження. Результати дослідження було апробовано на конференціях, опубліковано у збірниках матеріалів конференцій, презентовано у вигляді доповідей:

- Молнар К. З., Шемедюк Н. П. Мікробіологічне дослідження субстратів різних фаз вермикультивування. «Дні студентської науки у ЛНУВМБ ім. С. З. Гжицького»: тези доповідей Студентської наукової конференції (Львів, 4-5 травня 2023 р.) Факультет харчових технологій та біотехнології. Львів, ЛНУВМБ ім. С. З. Гжицького, 2023 р.

ВСТУП

В сучасному світі виникає велика кількість проблем, що пов'язані із утилізацією та переробкою відходів. Вони потребують сучасних рішень без завдання небажаної шкоди довкіллю та людському здоров'ю.

При виробництві продукції за допомогою технологічних процесів більша частина підприємств використовує природні джерела, за рахунок чого спричиняється утворення великої кількості шкідливих відходів у твердому, рідкому чи газоподібному вигляді. Окрім цього також використовуються технології, в яких задіяні високотемпературні режими, підвищений тиск, хімічні каталізатори, високі концентрації реагентів, що у свою чергу завдає неабиякої шкоди для природи та людини.

Але не дивлячись на це відходи від промисловості можна розглядати не лише як джерело забруднення довкілля, але і як цінну сировину для вторинних матеріалів та енергетичний ресурс.

Саме біотехнології та її процесам притаманно переробляти відходи максимально безпечним шляхом, без завдання шкоди довкіллю та без шкідливих факторів. Одним з таких методів переробки відходів є вермикультивування – переробка органічних відходів за допомогою дощових черв'яків, в результаті чого вихідним продуктом є біогумус – повністю органічне добриво, яке не завдає шкоди довкіллю і є дуже поживним для ґрунту.

Основу біотехнологічного процесу вермикомпостування становлять мікробіологічні процеси, які проходять під час компостування відходів. Мікроорганізми допомагають розкладати складні сполуки до більш простих, формують гумусові речовини, забезпечують колообіг біологічних елементів у ґрунті.

Вивчення активності мікроорганізмів та наукове пояснення процесу вермикомпостування дозволяє створювати велику кількість екологічно

чистого біодобрива та біопрепаратів, які можуть застосовуватись у багатьох сферах сільського господарства та садівництва.

РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1 Вермикомпостування - безпечний метод утилізації органічних відходів

Перероблення та утилізацію органічних відходів за допомогою дощових черв'яків, які використовують дані відходи як джерело живлення та середовище для існування називають вермикультивуванням або вермикомпостуванням. Під час цього процесу утворюється біогумус або вермикомпост, а також біомаса із живих дощових черв'яків.

Отримання біогумусу, як вихідного продукту вермикультивування базується на властивості дощових черв'яків перетравлювати органічні рештки у кишківнику, виводячи їх у вигляді копроліту. Дощові черв'яки мають важливе значення для екосистеми ґрунту. Їх завдання полягає у зменшенні об'єму органічних залишків у верхніх шарах ґрунту, мінералізація та концентрація поживних речовин у копроліті, завдяки чому ці поживні речовини стають більш доступними для засвоєння рослинами.

Основною метою даного методу є одержання повністю натурального, чистого добрива. Його використовують для відновлення родючості ґрунтів, підживлення рослин. Також цей метод дає змогу безпечно знезаражувати побутові відходи у домашніх умовах.

Зараз у багатьох країнах світу функціонують тисячі підприємств які вирощують вермикультуру та виробляють біогумус у промислових масштабах. Вони також займаються продажем готової культури та обладнання. Найбільше таких підприємств у США, Канаді, Китаї.

1.2. Властивості вермикомпосту та способи його застосування

При переробці органічних відходів дощовими черв'яками отримують субстрат – біогумус або вермикомпост. Це матеріал, який пройшов через шлунково-кишковий тракт черв'яка і виділився у вигляді копроліту та залишку субстрату.

При проходженні через шлунково-кишковий тракт, органічний субстрат, мінеральні речовини та рослинні залишки подрібнюються, біохімічно перетворюються. Перетворення полягає в тому, що полімерні сполуки органічної природи розщеплюються на більш прості речовини, збагачуються сполуками Магнію, Фосфору, Калію та різними видами ензимів. Мінеральні солі стають більш доступними для засвоєння рослинами, нейтралізуються кислоти, які містяться у вихідному субстраті. Також під час перетравлення утворюються молекули гумінових кислот, які мають наближену до нейтральної реакцію.

В результаті травлення виділяється продукт життєдіяльності – копроліт. Він являє собою матеріал, який є багатим на біологічно активні сполуки, гумінові речовини, мінерали, а також корисною мікрофлорою. За фізико-хімічною характеристикою біогумус є дуже наближеним до ґрунтового природного гумусу.

За кількісним вмістом гумусу у вихідному субстраті, вермикомпост переважає гній та компости у 4-10 разів. Вміст гумусу у копролітах природних черв'яків досягає 15%, а у спеціально культивованих – до 35% сухої речовини.

Біогумус перевершує традиційні органічні добрива за дією на ріст, розвиток та врожайність різноманітних сільськогосподарських культур. За агрохімічними показниками біогумус є кращим, ніж перегній, який традиційно використовують для удобрення городів та садів (Таблиця 1.1).

Порівняння агрохімічних показників біогумусу та перегною (%)

Склад	Біогумус	Перегній
Органічні речовини	45,7	23,6
Гумінові кислоти	3,3	2,3
Фульфо кислоти	2,3	0,6
Органічний вуглець	3,26	1,7
Азот	3,16	1,54
Співвідношення C:N	1,03	1,10

Біогумус має різноманітну мікрофлору. У ньому присутні актиноміцети, бактерії амоніфікатори, нітрифікатори тощо. Органічні та мінеральні фосфати, що розчиняються, також є присутніми у вермикомпості. Вони допомагають розвитку мікробних асоціацій, які властиві здоровому ґрунту, знешкоджують та пригнічують розвиток патогенної мікрофлори. Присутні також фітогормони, ауксини, гіберліни. У біогумуса немає мутагенних, тератогенних або канцерогенних властивостей.

Біогумус пришвидшує проростання насіння, зменшує термін дозрівання плодів приблизно на 10-15 діб, підвищує відсоток сходження рослин, підвищує засухо- та морозостійкість рослин, стимулює розвиток кореневої системи, підвищує стійкість до захворювань та шкідників.

При внесенні вермикомпосту у ґрунт не можливо перенаситити його окремими поживними елементами, що може статись при внесенні з великих порцій гною або звичайного компосту.

Нормою внесення біогумусу для основних сільськогосподарських культур є 4-10 т/га, а гною 30-40 т/га. Використання біогумусу сприяє

підвищенню врожайності кукурудзи та зернових на 30-40%, картоплі на 30-70%, овочів – на 35-70%.

Для біогумусу не існує санітарно-гігієнічних та екологічних норм внесення у ґрунт (окрім випадків виробництва біогумусу із забрудненого субстрату).

Біогумус формує агрономічно цінну структуру ґрунту, створює оптимальний склад ґрунтового розчину. Поживні речовини у вермикомпості збалансовані по вмісту поживних речовин і мікроелементів, вони повільно розчинні і забезпечують тривале споживання їх рослинами.

Але все ж таки вермикультивування є досить трудомістким способом – воно потребує певних знань та навичок. Вартість біогумусу і його об'єми обмежують його використання на великих територіях. Найбільш ефективний вермикомпост у закритому ґрунті. Його варто використовувати при вирощуванні лікарських рослин, певних рідкісних і зникаючих видів, для підживлення озеленення відкритих і закритих площ.

1. 3 Значення мікроорганізмів у біотрансформації рослинних субстратів

Одним з найважливіших чинників, який впливає родючість ґрунту є наявність у ньому мікроорганізмів. Всі вони відрізняються за своєю специфічністю, що обумовлює велику кількість біологічних та біохімічних процесів, що проходять у ґрунті. Кількість, склад та співвідношення представників мікробіоти ґрунту найчастіше залежить від способу обробки ґрунту, внесення рослинних решток, які трансформуються за допомогою неспоривих бактерій та мікроскопічних грибів.

Одним з основних хімічних елементів у ґрунті є Карбон. При внесенні рослинних залишків у ґрунт спостерігається різке зростання активності мікроорганізмів та підвищення їх чисельності. Все через те, що у рослинних

тканинах міститься велика кількість целюлози – це одна з найпоширеніших карбоновмісних сполук. (Рис 1. 1.)

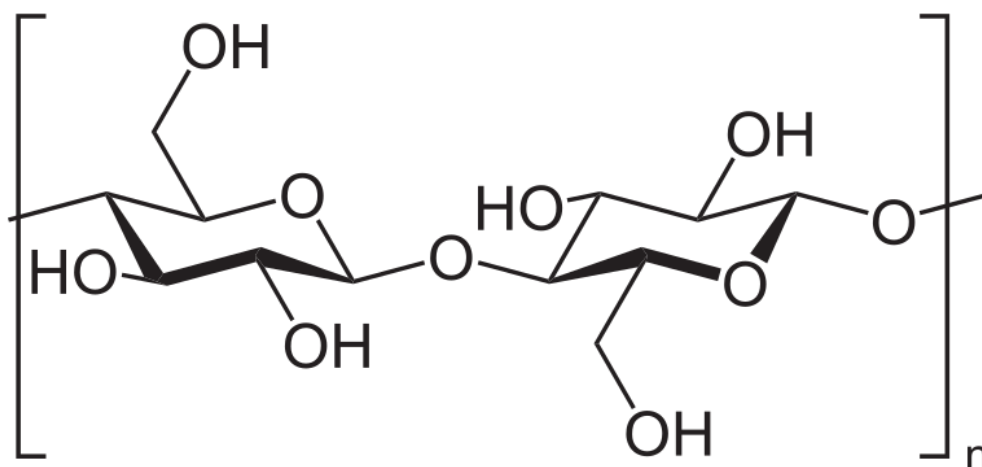


Рис 1. 1. Хімічна структура целюлози

Перетворення целюлози відбувається у більшій мірі завдяки грибам, а саме представникам родів *Chaetomium*, *Dicoccum*, *Penicillium*, та *Aspergillus*. При перетворенні залишків целюлози отримується велика кількість інших корисних органічних сполук таких як: органічні кислоти, біологічно активні речовини, амінокислоти, спирти тощо. Кінцевим продуктом деградації целюлози є глюкоза – вона виступає джерелом енергії та живлення для рослин та інших учасників біоценозу.

Ґрунтова мікрофлора має здатність виділяти у ґрунт речовини, які симулюють ріст та розвиток фітобіонтів. Вони синтезують в зоні кореню такі вітаміни: тіамін, В12, піридоксин, рибофлавін тощо, а також фітогормони. Всі ці речовини позитивно впливають на ріст, розвиток та плодоношення рослин.

Наявність у субстраті поліцукоридів можна виявити за допомогою амілолітичних бактерій. Активними продуцентами амілази є ґрунтові гриби, бацили *Bacillus macerans*, *Bacillus subtilis*, стрептоміцети різних видів тощо.

Наявність у ґрунті гумусу є одним з основних показників його доброї родючості. Важливу роль в утворенні та концентрації мінеральних речовин

гумусу належить саме мікроорганізмам. Показано, що інтенсивність перетворення органічних речовин мікроорганізмами стає більш інтенсивною з північних до південних регіонів. У ґрунтах південних регіонів вміст бактерій, які є руйнівниками целюлози значно більший, ніж грибів, але при цьому їх видова кількість є значно більшою. У ґрунтах північних регіонів поширені гриби роду *Penicillium*, а у південних – *Aspergillus*. Представники цих родів складають більше ніж 70% мікроміцетів у ґрунтах.

Нітрогенфіксуючу активність у ґрунті проявляють мікроорганізми таких родів як *Acetobacter*, *Clostridium*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Agrobacterium* тощо. Ці бактерії мають здатність засвоювати молекулярний Нітроген, який, після вмирання даних бактерій може вільно засвоюватись рослинам.

Не менш важливим від нітрогенфіксації процесом є процес деградації нітрогенвмісних сполук. Тому в ґрунті також містяться мікроорганізми, які відповідальні за цей процес. Цей процес називається амоніфікацією, так як під час розкладання нітрогенвмісних сполук утворюється амоній. Утворений аміак є субстратом для групи організмів під назвою нітрифікатори, які відповідальні за процес нітрифікації – окиснення амонію у нітрити, а потім у нітрати. До організмів-нітрифікаторів належать бактерії родів *Nitrosomonas* та *Nitrobacter*.

Ще одною важливою групою мікроорганізмів є мікроорганізми, що здатні мобілізувати фосфор з різних важкорозчинних сполук феруму, алюмінію, кальцію. До них відносяться мікроорганізми родів *Pseudomonas*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Saccharomyces*, *Candida*, *Hansenula*.

1. 4 Використання біомаси дощових черв'яків

Одним з найважливіших напрямків вермикультивування є вирощування біомаси дощових черв'яків. Цю біомасу використовують як

поновлюваний біоресурс для отримання високоякісних білково-вітамінних кормових добавок для птахівництва, тваринництва та рибної промисловості.

Тваринних білок в кормовому раціоні тварин та продуктах харчування людей має важливе значення для здоров'я та розвитку. Через досить високу вартість білкового борошна тваринного походження та зростаючим попитом на високоякісний тваринний білок для використання в тваринництві, звичайний дощовий черв'як може зіграти ключову роль у вирішенні даної проблеми.

У біомасі дощових черв'яків міститься достатня кількість білка і можуть бути використані у якості корму для тварин або як джерело кормового білку.

Велика кількість дослідів з тканиною дощових черв'яків різноманітних видів показує, що загальний склад цих тканин значно не відрізняється від тканин хребетних тварин. Спектр незамінних амінокислот в тканинах дощового черв'яка відповідає амінокислотам, які вміщуються у корма для тварин, птахів та риб. Біомаса дощових черв'яків багата на лізин та комбінації метіоніну з цистеїном та феніланіну з тирозином, які є важливими компонентами кормів для тварин. Також вони включають в себе широкий ряд вітамінів, нікотинову кислоту.

З біомаси черв'яків отримують пастоподібний продукт або муку. Також одним із способів використання вермикультури у вигляді кормової добавки для тварин вважається безпосереднє згодовування черв'яка без переробки у кінцевий продукт. Таким способом годують риб.

Додавання вермикультури у раціон може бути рекомендована у якості унікального джерела вуглеводів, жирів та білків, а мука з вермикультури може повноцінно замінити рибну або м'ясну муку.

1.5 Придатні види черв'яків для вермикомпостування

Дощові черв'яки – це макроскопічні кільчасті олігохети, які живуть у ґрунті. Вони сегментовані, симетричні з обох сторін, мають зовнішню залозу для вироблення яєчної капсули (кокону), чутливу зону біля рота (простоміум) та анальний отвір на іншому кінці тіла тварини з невеликою частиною щетинок на кожному з сегментів (Рис. 1.2)

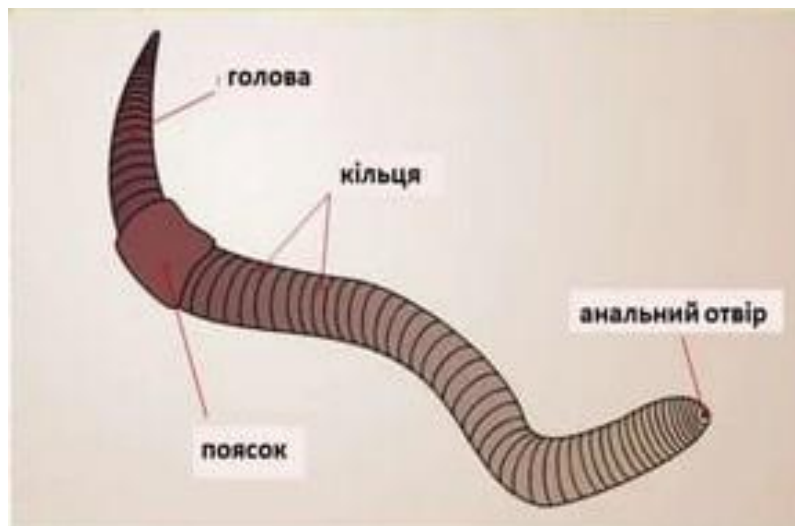


Рис. 1.2 Будова дощового черв'яка

Дощові черв'яки є гермафродитними тваринами. Їх розмноження зазвичай відбувається шляхом копуляції та перехресного запліднення, після чого кожна з особин виробляє кокони, у яких містяться від 1 до 20 запліднених яйцеклітин. (Рис. 1.3)

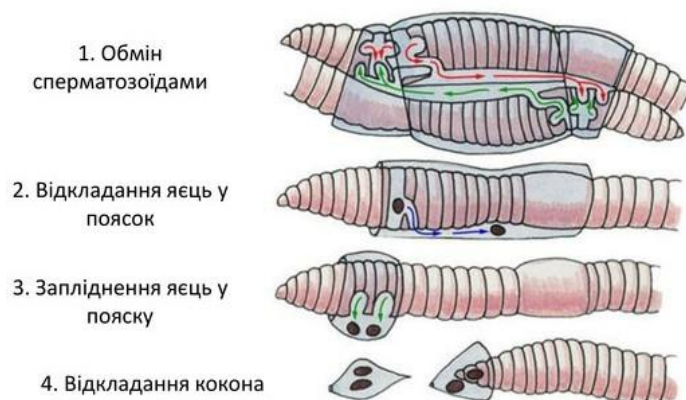


Рис. 1.3 Розмноження дощових черв'яків

Кокони мають різну форму, яка відрізняється в залежності від виду черв'яка. На вигляд кокони нагадують лимони. Зазвичай черв'яки відкладають їх у верхніх шарах ґрунту, ближче до поверхні, але під час засухи можуть відкладати їх у глибші шари.

Вилуплюються кокони після закінчення інкубаційного періоду, який залежить від виду дощового черв'яка та умов навколишнього середовища. Дощові черв'яки, які вилупились не мають забарвлення і всього лиш кілька міліметрів у довжину. Пігментацію набувають на протязі декількох діб.

Згідно з даними Рейнольдса та Ветцеля, підклас олігохет налічує понад 8300 видів і приблизно половина з них це наземні дощові черв'яки [5].

Епігейні види дощових черв'яки завдяки своїй природній здатності перетравлювати і засвоювати органічні речовини, швидким пристосуванням до широкого діапазону факторів зовнішнього середовища, короткий життєвий цикл, висока репродуктивність та витривалість є головними показниками для використання цих видів для вермикультивування. Лише кілька видів дощових черв'яків володіють усім набором характеристик, але для вермикультивування найчастіше використовують лише п'ять видів – *Eisenia andrei*, *Eisenia foetida*, *Dendrobaena veneta*, меншою мірою *Perionyx excavatus* та *Eudrilus eugeniae*. Характеристика та оптимальні умови для життєдіяльності даних видів зазначено у таблиці 1.2.

Таблиця 1.2

Характеристика та оптимальні умови життєдіяльності різних видів дощових черв'яків

	<i>Eisenia foetida</i>	<i>Eisenia andrei</i>	<i>Dendrobaena rubida</i>	<i>Dendrobaena veneta</i>	<i>Drawida nepalensis</i>	<i>Eudrilus eugeniae</i>	<i>Perionyx excavatus</i>	<i>Lumbricus rubellus</i>
Колір	Коричневий	Червоний	Червоно-фіолетовий	Червоний з фіолетовими кільцями	-	Червоно-коричневий	Червоно-коричневий	Червоно-коричневий
Розмір дорослої особи, мм	4-8мм × 50-100мм	4-8мм × 50-100мм	3-4мм × 35-60 мм	5-7мм × 50-80 мм	-	5-7мм × 80-190мм	4-5мм × 45-70мм	4мм × 70-150мм
Середня вага дорослої особи, г	0,55	0,55	0,25	0,92	0,82	2,7 – 3,5	0,5 – 0,6	0,80
Дозрівання, дні	28 – 30	21 – 28	54	65	34 – 42	40 – 49	28 – 42	74 – 91
Середня вага кокону, г	4,85мм × 2,82мм	4,8мм × 2,82мм	3,19мм × 1,97мм	3,14мм × 1,93мм	-	-	-	3,5 – 2,46
Період інкубації, дні	18 – 26	18 – 26	15-40	42,1	24	12 – 16	18	35 – 40
Життєздатність інкубації, %	73-80	72	85	20	75 – 88	75 – 84	90	60 – 70
Кількість коконів з черв'яками (⁻¹)	2,5 – 3,8	2,5 – 3,8	1,67	1,10	1,93	2 – 2,7	1 – 1,1	1
Життєвий цикл, дні	45 – 51	45 – 51	75	100-150	100 – 120	50 – 70	40 – 50	120 – 170
Діапазон комфортної температури, °С	0 – 35	0 – 35	-	15-25	-	16 – 30	25 – 37	-
Оптимальна вологість, %	70 – 90	70 – 90	-	65-85	-	70 – 85	-	-

Найпоширенішими видами, які використовуються у вермикультуванні є *Eisenia foetida* та *Eisenia andrei*.

Eisenia foetida або червоний черв'як найчастіше використовується для вермикомпостування. Це найменший вид дощових черв'яків на Землі. Зазвичай їх вирощують та розводять для отримання біодобрива – вермикомпосту, який широко використовується у садівництві. Цей черв'як відомий також під назвами червоний черв'як, тигровий черв'як, гнойовий черв'як, риб'ячий черв'як, смугастий черв'як тощо. [4]

Даний вид поширений у Європі, але зараз його можна зустріти на всіх континентах окрім Антарктиди. Для місця прожиття та життєдіяльності дані черв'яки обирають місцевість з високим вмістом гною, органічних рослинних решток, компостом.

Eisenia foetida має довге, трубкоподібне тіло, зазвичай ззовні вкрите слизом. Кровоносна система проста, замкнута, травна система знаходиться у трубці.

Тіло червоного черв'яка складається із сегментів, які набувають спеціалізації ближче до передньої частини. Відрізнити даного черв'яка від інших можна за чергуванням червоних та жовто-коричневих смуг (Рис. 1.4).



Рис 1.4 *Eisenia foetida*

Дощовий черв'як *Eisenia andrei* є близьким родичем із черв'яком *Eisenia foetida*. Цей вид також відноситься до епігейних черв'яків – віддає

перевагу прожиттю в компості або опалому листі, а не у мінеральних ґрунтах.

Eisenia andrei можна відрізнити від червоного черв'яка за кольором. Він є темнішим, а смуги менш виражені (Рис 1.5).



Рис 1.5 *Eisenia andrei*

1. 6 Оптимальні умови для функціонування вермикультури

Здатність утворювати кокони, темпи зростання та розвитку дощових черв'яків напряду залежать від навколишнього середовища, а саме від його умов.

Дощові черв'яки *Eisenia foetida* є стійкими та відносно толерантними до умов навколишнього середовища та складу органічного субстрату, тому їх широко використовують у вермикультивуванні.

Але завдяки вивченню поведження *Eisenia foetida* у різних умовах та у різних субстратах було чітко визначено, що дані черв'яки мають чітко визначені межі толерантності до показників навколишнього середовища. До цих параметрів відносять температуру, вологість, рН, аерація субстрату, вміст аміаку та солей амонію.

Визначено, що дощові черв'яки ефективно переробляють відходи у відносно вузькому діапазоні сприятливих фізичних та хімічних умов. Якщо межі показників будуть значно підвищені, то черв'яки можуть переміститись у зони, де умови будуть більш оптимальними, або загинути, що буде впливати на швидкість переробки субстрату.

1. 6. 1 Температура

Вермикультура *Eisenia foetida* досить спокійно ставляться до широкого спектру температури. У 1988 році Ньюхаузер проводив дослідження на здатність декількох видів дощових черв'яків рости у осадах стічних вод. Він прийшов до висновку, що всі види, над якими він проводив дослідження мали діапазон прийнятних температур для росту і розвитку у межах від +15 до +25°C. [4]

Оптимальна температура для *E. foetida* становить +25°C, а діапазон прийнятних температур від 0 до +35°C.

При температурі нижче 10°C спостерігається зниження активності та швидкості переробки субстрату.

За температури нижче 4°C повністю зупиняється виробництво коконів та розвиток молодих дощових черв'яків.

Як правило, за екстремальних показників температур дощові черв'яки впадають у сплячку або мігрують у глибші шари ґрунту для власного захисту.

Культура черв'яків *E. foetida* може легко звикнути до низької температури та спокійно пережити зиму. Але вони не можуть вижити тривалий час в умовах морозу, якщо не помістити їх у захисні камери.

Високі температури також несуть негативний вплив на життєдіяльність черв'яків, але не у вигляді прямого впливу. Високі температури мають вплив на хімічну та мікробну активність субстрату, а ця активність, зазвичай,

споживає доступний кисень. Саме це і впливає негативно на дощових черв'яків і може навіть призвести до їх загибелі.

1. 6. 2 Вологість

Швидкість росту та розвитку дощових черв'яків має тісний зв'язок із вмістом води у органічному субстраті. У системах для вермикомпостування оптимальним діапазоном вологості субстрату вважається значення від 50% до 90%. *Eisenia foetida* та *Eisenia andrei* можуть виживати при даних показниках вологості, але найкращі показники продуктивності переробки субстрату, швидкості росту та розвитку спостерігаються за вологості у діапазоні від 80% до 90%.

1. 6. 3 Кислотність середовища (рН)

Більшість дощових черв'яків, мешканців верхніх шарів ґрунту є лояльними до рівнів рН та можуть витримувати діапазон від 5,0 до 9,0. Але якщо помістити черв'яків у субстрат із різним рівнем рН, то вони будуть рухатись в бік матеріалу, який є більш кислим і має рН 5,0.

1. 6. 4 Аерація

У дощових черв'яків відсутні спеціальні органи дихання, тому кисень та вуглекислий газ проходять скрізь стінки тіла. Тому дощові черв'яки є дуже чутливими до анаеробних умов. *Eisenia foetida* може мігрувати з субстрату, який є перенасичений водою і у якому вичерпано кисень, а також накопичилась велика кількість вуглекислого газу та сірководню.

1. 6. 5 Вміст аміаку та неорганічних солей

E. foetida є дуже чутливими до вмісту аміаку у органічних субстратах, які містять високий рівень даного катіону. Таким субстратом, наприклад, може бути пташиний послід. В таких субстратах черв'яки одразу гинуть. Вони також не можуть вижити і у субстратах, у яких є велика кількість неорганічних солей. Але органічні субстрати можуть стати придатними для їх переробки дощовими черв'яками після видалення аміаку шляхом попереднього компостування або промивання субстрату водою.

1. 7 Відмінності між компостуванням та вермикомпостуванням

Компостування та вермикомпостування є найпоширенішими методами біологічної переробки органічних відходів.

Під компостуванням розуміють прискорене розкладання органічної речовини мікроорганізмами в умовах, які контролюються. Під час цього процесу органічний матеріал піддається термообробці під час характерної термофільної стадії у + 45 - 65°C, завдяки чому відбувається дезінфекція матеріалу та усунення патогенної мікрофлори.

Компостування можна розділити на дві фази:

- Термофільна фаза – процес розкладання субстрату інтенсивний. Це основна фаза компостування;
- Фаза дозрівання – відбувається зниження температури до мезофільного діапазону (+15 - 40°C). На цій стадії залишкові органічні сполуки розкладаються з меншою швидкістю.

Тривалість активної фази залежить від характеристики відходів (кількості речовин, що легко розкладаються) та від управління контрольованими параметрами (аерація, зволоження).

Ступінь фази дозрівання також може бути різною. Зазвичай вона відзначається зникненням фітотоксичних сполук.

Вермикомпостування передбачає окиснення та стабілізацію органічного матеріалу за спільної роботи дощових черв'яків та мікроорганізмів. Мікроорганізми біохімічно розкладають органічну речовину, а дощові черв'яки фрагментують, аерують та кондиціонують субстрат, чим і збільшують підвищення активності мікроорганізмів.

Дощові черв'яки мають роль механічних змішувачів. Вони подрібнюють органічну речовину, змінюючи її фізичний та хімічний склад, поступово зменшуючи співвідношення Карбон-Нітроген, роблячи субстрат більш сприятливим для мікробної діяльності та подальшого розкладання.

У вермикультивуванні також можна виділити дві фази:

- Активна фаза – дощові черв'яки обробляють органічний субстрат змінюючи фізичний, хімічний та мікробний склад цього субстрату;
- Друга фаза – переміщення дощових черв'яків у свіжіші шари неперетравлених органічних залишків.

Як компостування, так і вермикомпостування є аеробними процесами біодеградації органічних відходів, які передбачають складну взаємодію між органічним субстратом, мікроорганізмами, вологою та вмістом кисню.

1. 8 Найпоширеніші методи вермикомпостування

Якщо розглядати вермикультуру та біогумус як відносно не дорогий та якісний засіб отримання вторинних речовин та добрива то можна дійти до висновку, що сам по собі процес вермикультивування не повинен бути затратний по коштам, а його технологія має бути відносно простою.

Вермикомпостування можна проводити в наступних умовах:

- Відкриті площі або у польових умовах;
- Вермикультивування у закритих приміщеннях;
- Комплексне вермикультивування – одночасне культивування у закритих та відкритих приміщеннях;

Вермикультивування у відкритому просторі є найпростішим із способів вермикультивування за організацією процесу. Воно є дешевим та направлений у більшій мірі на отримання біомаси черв'яків, а не на отримання біогумусу.

Вермикультивування у закритих приміщеннях є більш інтенсивним та продуктивним процесом, але різниця продуктивності між вермикультивування відкритим та закритим способом не сильно різниться – лише у 2-3 рази.

Зазвичай вермикультивування у відкритих умовах застосовують у регіонах, в яких теплий або помірний клімат, а вермикультивування закритим способом – у країнах з холодним кліматом. При вермикультивуванні закритого типу приміщення, у яких вирощується вермикультура додатково опалюється взимку.

Зазвичай за допомогою вермикультивування відкритим способом можливо провести до двох повних циклів переробки органічних відходів у теплу пору року. Культивування у закритих приміщеннях є більш оптимальним, якщо розглядати його з боку продуктивності, адже дозволяє здійснити до п'яти циклів вермикомпостування з повною переробкою органічного субстрату на рік.

За методами вермикультивування поділяють на грядкове або буртове вермикультивування, ящикове вермикультивування та реакторне вермикультивування.

1. 8. 1 Буртовий та траншейний методи вермикомпостування

Буртовий метод вермикультивування відноситься до вермикультивування на відкритій площі, тому цей метод підходить для теплої пори року. Якщо у зимовий період додатково утеплити на покрити бурти, то дощові черв'яки добре перенесуть зиму, але не будуть переробляти субстрат.

Зазвичай один цикл вермикомпостування буртовим методом складає від трьох до дванадцяти місяців, в залежності від умов клімату та виду органічного субстрату. Якщо помістити бурти у теплиці, то вермикультивування можна проводити впродовж цілого року.

Для проведення процесу вермикультивування у відкритому просторі буртовим методом спочатку готують основи з бетону або ґрунту. На цих основах формують гряди 1,5-2,0 м. у довжину та 0,15-0,40 м. у висоту. Такі розміри необхідні для оптимальної аерації субстрату, рівномірного розподілу вермикультури по всій площі субстрату та для запобігання зайвому тиску на живих черв'яків.

Для формування гряд, розподілу підкормки та збирання готового біогумусу з його подальшою переробкою існує пристрій під назвою компостна машина (Рис 1. 6.).

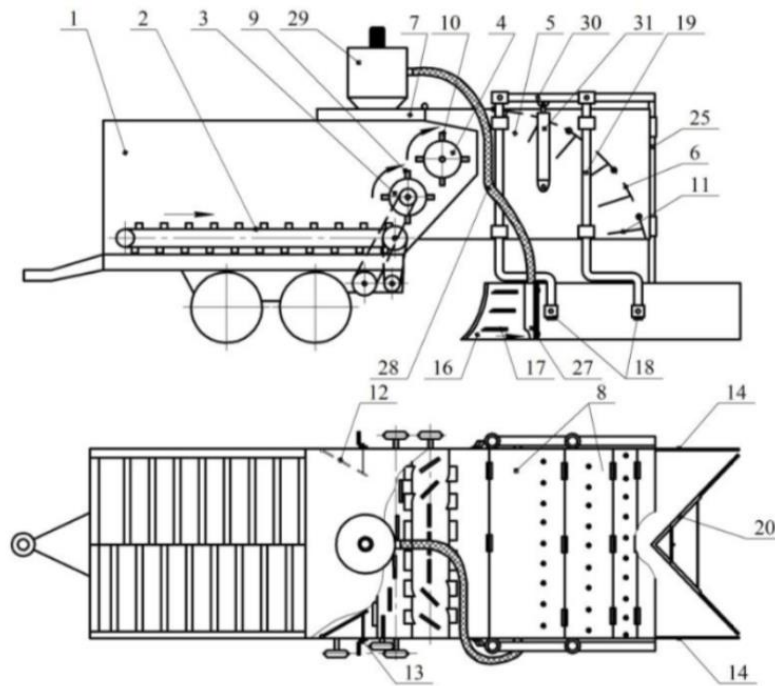


Рис 1. 6. Компостна машина

1 – бункер, 2 – горизонтальний транспортер, 3 – барабан, що подає, 4 – барабан-прискорювач, 5 – дробильна камера, 6 – передня стінка, 7 – рама, 8 – прямокутна пластина, 9 – лопаті, 10 – лопаті барабана-прискорювача, 11 – подрібнюючі штифти, 12 – рухомі заслінки, 13 – механізм «гвинт-гайка», 14 – комбіновані формуючі пластини, 15 – пластина, 16, 17 – ніж з додатковими ріжучими елементами, 18 – обертовий механізм, 19 – стійка, 20 – скребок, що трансформується, 21, 22 – шарнірно-з'єднуючі пластини, 23 – знімні тригранна призма, 24 – фіксуюча втулка, 25 – стійка, 26 – фіксатор, 27 – забірний пристрій, 28 – гнучкий трубопровід, 29 – циклон, 30 – коромисло, 31 – гідроциліндр.

Найпоширенішими способами бурового вермикультивування є буртове вермикультивування з вертикальним та боковим розподіленням підкормки (Рис 1. 7.)

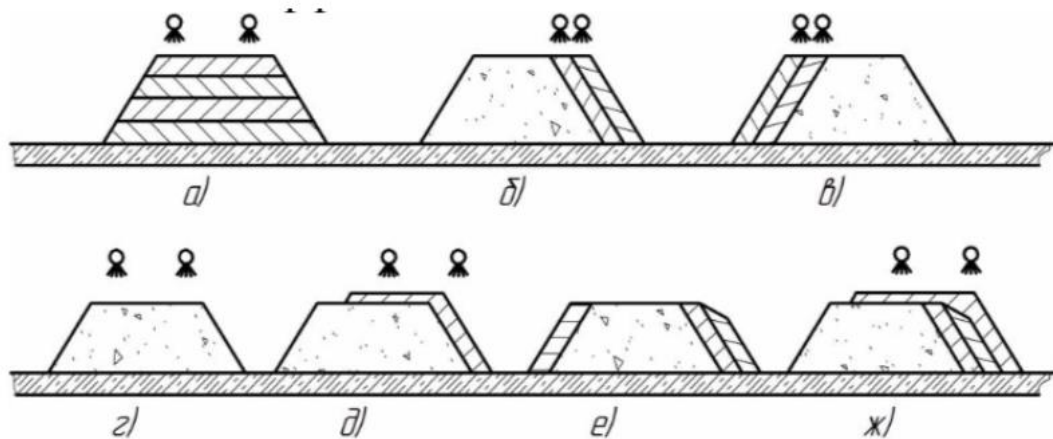


Рис 1. 7. Буртовий метод вермикультивування: а) з вертикальним розподілом підкормки; б, в) – з боковим розподілом підкормки; г,д,е,ж) – з частковим і боковим розподілом підкормки.

Важливим також є і розміщення буртів у відносно сторін світу, а також товщина утеплюючого покриття бурту. Площі, на яких розміщені вермибурти обов'язково повинні бути розміщені на схилі для стікання надлишку води.

Щоб кислотність субстрату набула нейтрального значення вносять гіпс (якщо субстрат лужний) або крейду, доломіт, гашене вапно – для кислих субстратів. Бурти звожують та залишають на декілька діб для відстоювання.

Після відстоювання у бурти починають вводити вермикультуру. Роблять це за допомогою перекидання контейнерів із культурою у завчасно викопані невеликі ямки. Використовують молодих, статеводозрілих черв'яків, які вже здатні відкладати кокони.

До нового субстрату заселена вермикультура адаптується приблизно 7-10 діб. Перші два-три місяці черв'яки посилено споживають субстрат і розмножуються. В цей період вони споживають таку кількість їжі, яка є рівнозначною їх вазі, і при цьому їх вага подвоюється з кожним тижнем, через що необхідно постійно додавати свіжий субстрат.

У субстрат можуть додавати крейду, кавову гущу, продукти із вмістом протеїну. Це стимулює діяльність дощових черв'яків. Якщо їх активність

нормальна то можна проводити першу підкормку – зазвичай це місяць після початку вермикомпостування.

1. 8. 2 Реактори безперервної дії

Існує велика кількість систем для вермикультивування, які є автоматизованими. Найбільш перспективною схемою для переробки субстрату є вермикультивування за допомогою так званих вермиреакторів. В них створюються оптимальні умови середовища для росту та розвитку вермикультури, а також досягається максимальна продуктивність процесу. Найпоширенішими є вермиреактори у вигляді горизонтальних барабанів, що обертаються та вермиреактори баштового типу.

Реакторні системи безперервного культивування мають у довжину 40 м. і ширину 2,4 м. Розташовані на металевих каркасах розміром 2,4х2,4 м. з фанерними або пластиковими сторонами, які захищені від вологи (Рис 1. 8.).

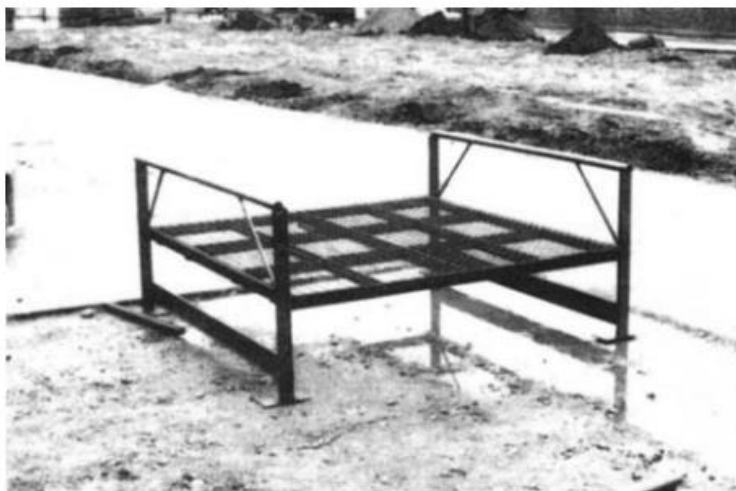


Рис 1. 8. Металевий каркас для реактору безперервної дії.

Корпус вермиреактору має глибину 1 м. та стоїть на ніжках висотою 1 м. (Рис 1. 9). Встановлюють реактори в забудові під накриттям для того, щоб контролювати умови навколишнього середовища.

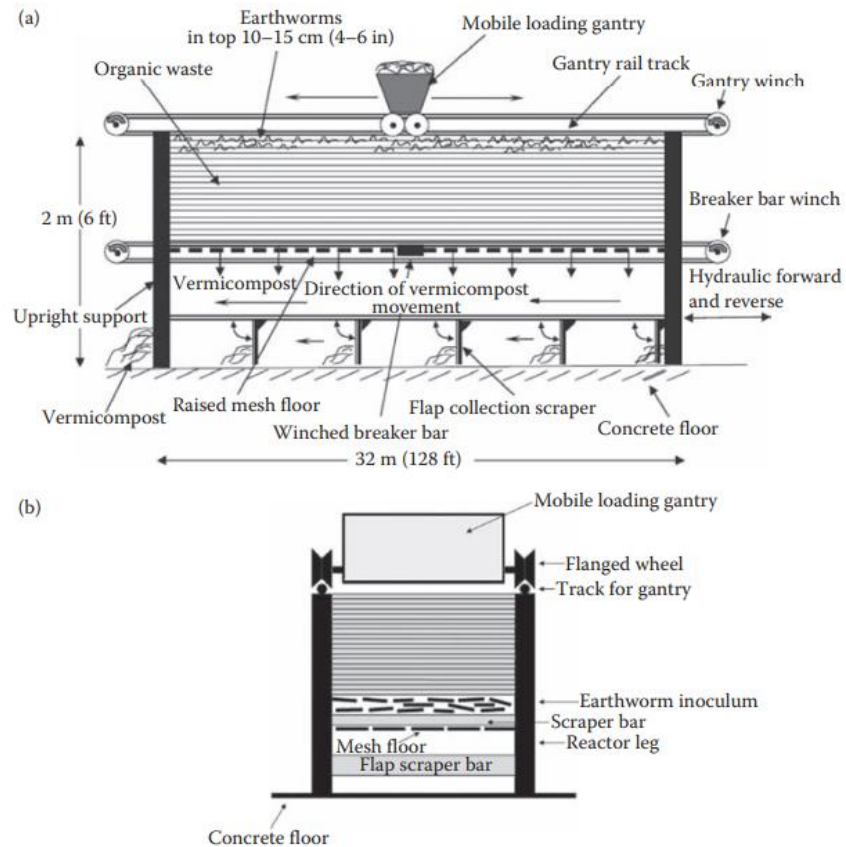


Рис 1. 9. Вермиреактор а) вид з боку; б) вид з торця.

Вермиреактор обладнений гідравлічним лебідковим бункером та редукторним приводом, який рухається по рейках у верхній частині стінок реактора (Рис 1.10) та може автоматично додавати 1-3 см субстрату на поверхню реактора кожні декілька днів.

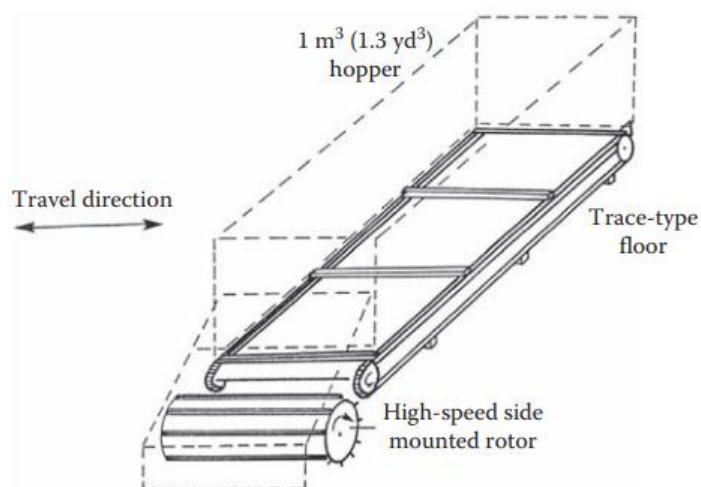


Рис 1. 10. Завантажувальний бункер з ротором на всю довжину.

Основа верхньої частини реактору має металеве сітчасте днище з отвором 5 x 10 см. Над цим перфорованим днищем розташована планка з електричною лебідкою, яку можна тягнути по всій довжині реактору у будь-якому напрямку (Рис 1. 11).

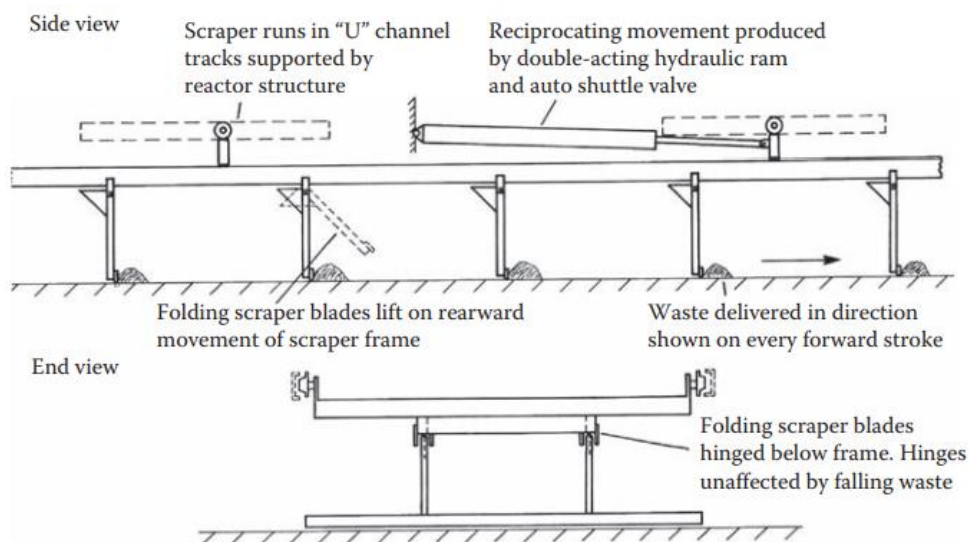


Рис 1. 11 Система для збору біогумусу

У вермиреакторах баштового типу переробку субстрату проводять у циліндричних або конусоподібних баштах. В реактори даного типу субстрат безперервно передають зверху, а знизу вивантажують готовий продукт (біогумус). Перемішування здійснюють за допомогою шнеку, завдяки якому також здійснюється і аерація.

Баштовий реактор можна умовно розділити на три зони: зона завантаження, зона переробки, та зона розвантаження готового вихідного продукту (Рис. 1. 12).

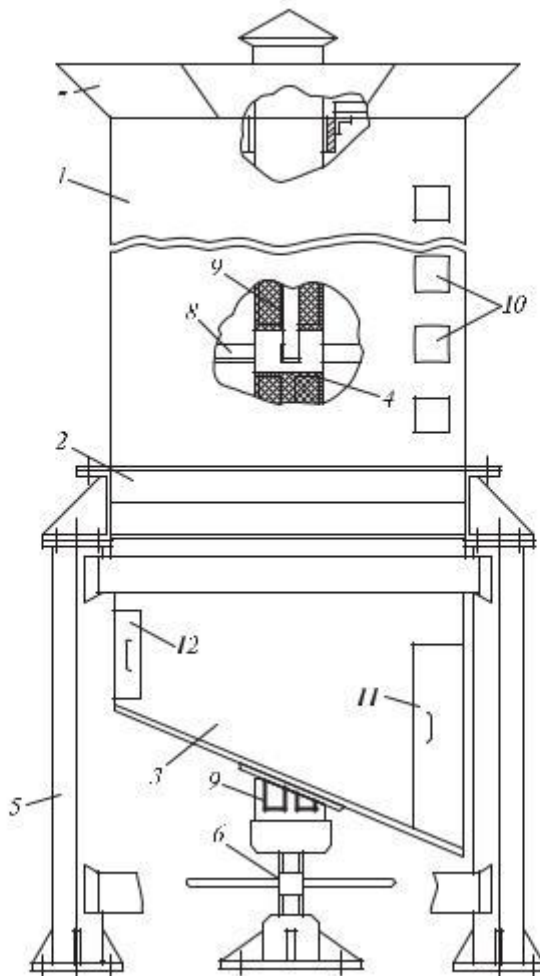


Рис 1. 12. Баштовий вермиреактор безперервної дії

1 – корпус реактору, 2 – розвантажувальний шибер, 3 – розвантажувальний відділ, 4 – труба для аерації, 5 – опорні ніжки, 6 – привід для аераційної труби, 7 – завантажувальна горловина, 8 – розвантажувальні елементи, 9 – аераційні отвори, 10 – вікна для спостереження, 11 – розвантажувальний люк, 12 – технологічний люк.

Якщо висота шару, який завантажують, заввишки більше 2 м., то у нижній частині вермиреактору утворюються так звані «мертві зони». Їх утворення провокує зниження якості вихідного продукту, пригнічує ріст та розвиток дощових черв'яків, або може навіть призвести до їх загибелі через токсичні продукти, які утворюються у процесі гниття.

Через вікна, які вмонтовані у корпус вермиреактору, можна контролювати процеси завантаження субстрату та вермикультури. За

допомогою технологічного люку можна контролювати ступінь переробки субстрату культурою дощових черв'яків.

Після закінчення процесу переробки субстрату вермикультурою потрібно вивантажити готовий субстрат. Роблять це за допомогою розвантажувальних шиберів, які мають вигляд вил. Завдяки приводу, який приводить в рух аераційну трубу, субстрат рівномірно переміщується і не прилипає до стінок реактору.

Між вивантаженням вихідного продукту та внесенням нової порції субстрату має пройти деякий час. Це потрібно для того, щоб дощові черв'яки перемістились у верхні шари субстрату.

Після першого вивантаження продукту та довантаження свіжого субстрату реакторну установку переводять у циклічний режим роботи – операції по розвантаженню готового продукту та довантаженню субстрату проводять періодично кожні 2 тижні.

В найбільш продуктивних реакторах цикл вермикомпостування триває приблизно 7 діб.

РОЗДІЛ 2. УМОВИ ТА МЕТОДИКА ПРОВЕДЕННЯ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Матеріали

2.1.1. Взірці субстрату активної фази вермикультивування, біогумусу. Приготування десятикратних розведень екстрактів взірців.

Для аналізу субстрату активної фази вермикультивування та зрілого біогумусу відбирали по 10 г кожного з взірців, досліди проводили у трьох повторях. Взірці субстрату активної фази відбирали на 21-й день вермикультивування. Наважки переміщували у стерильні ступки і диспергували методом Д. Звягінцева [16] Приготували досліджувані вихідні суспензії взірців.

Послідовні десятикратні розведення (в стерильній водопровідній воді) здійснювали з таким розрахунком, щоб при посіві на живильне середовище можна було візуалізувати ізольовані колонії. Для приготування розведень стерильну водопровідну воду розлили по 9 мл в стерильні пробірки. Стерильною піпеткою/дозатором перенесли в першу пробірку 1 мл досліджуваної суспензії мікроорганізмів – це перше розведення (1:10). Перенести 1 мл з першого розведення у другу пробірку – друге розведення (1:100). Аналогічно приготували розведення 1:1000.

2.1.2. Живильні середовища та умови культивування.

- Середовище TSA (триптосоевий агар): TSB (триптосоевий бульйон) – 30 г; агар – 20 г; вода дистильована – 1 л. рН – 7,4-8.
- Середовище SG2: глюкоза – 20 г; дріжджовий екстракт – 5 г; соєвий пептон – 10 г; агар – 20 г; вода дистильована – 1 л. рН – 7,5-8.

Після засіву живильних середовищ 0,1 мл досліджуваних взірців, їх інкубували за температури 28-30 °С упродовж 5–14 діб (залежно від швидкості росту мікроорганізмів певних груп).

2. 2. Вирощування культури бактерій на агаровому середовищі

Мікроорганізми висіяно на середовища, ковзаючи по поверхні агару бактеріологічною петлею, утворюючи газон. При роботі дотримувались правил асептики, кожного разу ретельно фламбуючи петлю.

2. 3. Ідентифікація мікробіоти

Для оцінювання та ідентифікації мікробіоти біогумусу використовували загальноприйняті у ґрунтовій мікробіології методи. Мікробіоту біогумусу ідентифікували за допомогою визначника Берджі та методів фарбування зразків колоній: фарбування клітин за Грамом, за Цілем-Нільсеном для визначення кислотостійкі, забарвлення спор, виявлення каталазних властивостей мікроорганізмів.

Підготовка предметних і покривних скельць для приготування препаратів.

Предметні та покривні скельця вважаються чистими, коли крапля води розтікається по їхній поверхні. Нові скельця зазвичай кип'ятять в 1%-ому розчині соди, потім промивають дистильованою водою, слабким розчином соляної кислоти і потім знову дистильованою водою. Скельця, що вже використовувались, кип'ятять в мильній воді і потім не менше доби витримують в розчині хромової суміші. Від біхромату скельця відмивають дистильованою водою. Можна швидко знежирити скельця, натерши їх в сухому вигляді господарським милом та витерши потім.

Хромова суміш. 6 г Калію двохромовокислого розчиняють в 100 мл води,

потім в розчин обережно додають 100 мл сульфатної кислоти. Після багаторазового використання темнопомаранчевий колір хромової суміші змінюється на темнозелений. Така суміш вже не володіє миючими властивостями.

Хромова суміш руйнує рослинні і тваринні тканини. При потраплянні на одяг чи шкіру, негайно промити великою кількістю води, потім розведеним розчином амоніаку чи соди, а потім знову водою.

2. 3. 1. Фарбування за Грамом.

За Грамом рекомендується фарбувати клітини молодих культур. На одному предметному склі рекомендується приготувати препарати трьох культур: в центрі – досліджуваній, справа і зліва – відомих грампозитивних (наприклад, *Micrococcus luteus*, *Bacillus subtilis*) і грамнегативних (наприклад, *Escherichia coli*).

Приготувати фіксований препарат: на знежирене предметне скло нанести краплю досліджуваної культури, розподілити на площі 4см² та висушити на повітрі.

Провести фіксацію в полум'ї пальника.

Пофарбувати протягом 2 хв карболовим генціановим або кристалічним фіолетовим. Барвник змити, не промиваючи. Нанести на мазок розчин Люголю на 2 хв, після чого розчин Люголю злити. Нанести на мазок 96%-й етиловий спирт на 30-45 с. Швидко промити водою. Пофарбувати мазок водним розчином фуксину протягом 2 хв. Барвник злити, препарат промити водою і висушити. Мікроскопувати з імерсійною системою.

2. 3. 2. Фарбування за Цілем-Нільсеном

Для визначення кислотостійкості мікобактерій, актиноміцетів та інших кислотостійких мікроорганізмів використовується метод фарбування за Цілем-Нільсеном.

Приготування фіксованого препарату: на знежирене предметне скло нанести краплю досліджуваного матеріалу, розподілити тонким шаром та висушити при кімнатній температурі.

Зафіксувати мазок на предметному скельці над полум'ям паяльника.

На зафіксований препарат покласти смужку фільтрувального паперу та залити карболовим фуксином Ціля. Нагріти даний мазок над полум'ям паяльника до утворення пари.

Зняти фільтрувальний папір, промити препарат дистильованою водою.

Опустити скельце з препаратом у 5%-й розчин сірчаної кислоти або у розчин солянокислого спирту на 3 хвилини.

Після збігу 3 хвилин витягнути препарат, ретельно промити дистильованою водою та забарвити 1%-м розчином метиленового синього протягом 2 хвилин. Промити препарат дистильованою водою, висушити на повітрі.

Мікроскопувати з імерсійною системою.

2. 3. 3. Виявлення каталазних властивостей мікроорганізмів

Для визначення каталазної активності на предметне скло наносять краплю 3%-го Гідроген пероксиду, в ній суспендують тест-культуру. Або ж можна нанести розчин Гідроген пероксиду на поверхню поживного середовища в чашці Петрі з колоніями бактерій, які на ньому виростили.

Каталаза, яка продукується бактеріями, буде розкладати Гідроген пероксиду на воду та Оксиген, який виділяється у вигляді бульбашок. Якщо бактерії володіють каталазною активністю, то спостерігається бурхливе

газоутворення через 1-5 хв після внесення бактерій, якщо ні – газ не виділяється

2. 4. Дослідження хімічного складу біогумусу

2. 4. 1. Дослідження амінокислот біогумусу.

Визначення вмісту амінокислот проводили за допомогою системи капілярного електрофорезу «КАПЕЛЬ-105/105М». Метод базується на тому, що взірці піддаються кислотному гідролізу, у результаті якого амінокислоти переходять у вільні форми фенілізотіокарбамільних похідних (ФТК-похідних). Надалі їх розділення і кількісне визначення відбувається методом капілярного електрофорезу. Детектування проводили у УФ-ділянці спектру за довжини хвилі 254 нм.

2. 4. 2. Дослідження масової частки деяких катіонів, аніонів біогумусу.

Дослідження масової частки деяких катіонів, аніонів біогумусу відбувається методом капілярного електрофорезу з використанням системи капілярного електрофорезу «Капель-105М». Метод вимірювання базується на фільтруванні, за необхідності розведенні проби бідистильованою водою, наступному розділенні досліджуваних компонентів методом капілярного електрофорезу. Детектування проводили за довжини хвилі 254 нм («Капель-103/103РТ», «Капель-104/104Т») і 267 нм («Капель-105/105М»).

РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ

3. 1. Мікробіологічне дослідження субстратів різних фаз вермикультивування

Одним із основних шляхів збільшення вмісту гумусу в ґрунтах є застосування органічних добрив. Поряд з традиційними видами добрив активного розвитку набуває вермикомпостування. Вермикультивування, вермикомпостування – це біологічне окиснення і стабілізація органічного матеріалу, пов'язані з дією дощових черв'яків і мезофільних мікроорганізмів, за якого з органічних речовин (відходів) можна отримати вермикомпост (біогумус). У вермикультивуванні розрізняють активну фазу і фазу дозрівання.

Метою діяльності мікробіому у буртовому вермикультивуванні є деградування біополімерів субстрату (лігніну, целюлози, геміцелюлози, протеїнів тощо) до низькомолекулярних: цукоридів, амінокислот. Найповільніше деградують лігнін, дубильні речовини. Спряженим з процесами деградування полімерів субстрату активної фази вермикультивування є синтез комплексу гумусових сполук.

Отже, первинним результатом діяльності мікроорганізмів активної фази вермикультивування є зменшення маси органічних речовин та збагачення субстрату Нітрогеном, гумусом, зростання зольності переробленого субстрату. Крім цього, у кишківнику гібрида каліфорнійського черв'яка органічна речовина біохімічно трансформується, збагачується ензимами та мікроорганізмами його травної системи. Як наслідок активуються процеси життєдіяльності, метаболізму ризобактерій: *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Actynomices*, *Bacillus*, *Azotobacter*, що сприяють росту рослин, солюбілізуючи поживні речовини для уможливлення їх всмоктування рослиною з ґрунту. Ризобактерії синтезують фітогормони, 1-аміноциклопропан-1-карбоксилат, дезамінази, деякі з них здатні до фіксації

Нітрогену (представники родів *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Azotobacter*). Вторинні метаболіти цих мікроорганізмів, зокрема антибіотики, флуоресцентні пігменти, сидерофори та ензими (хітинази та глюканаз), деградують клітинні стінки фітопатогенних мікроміцетів.

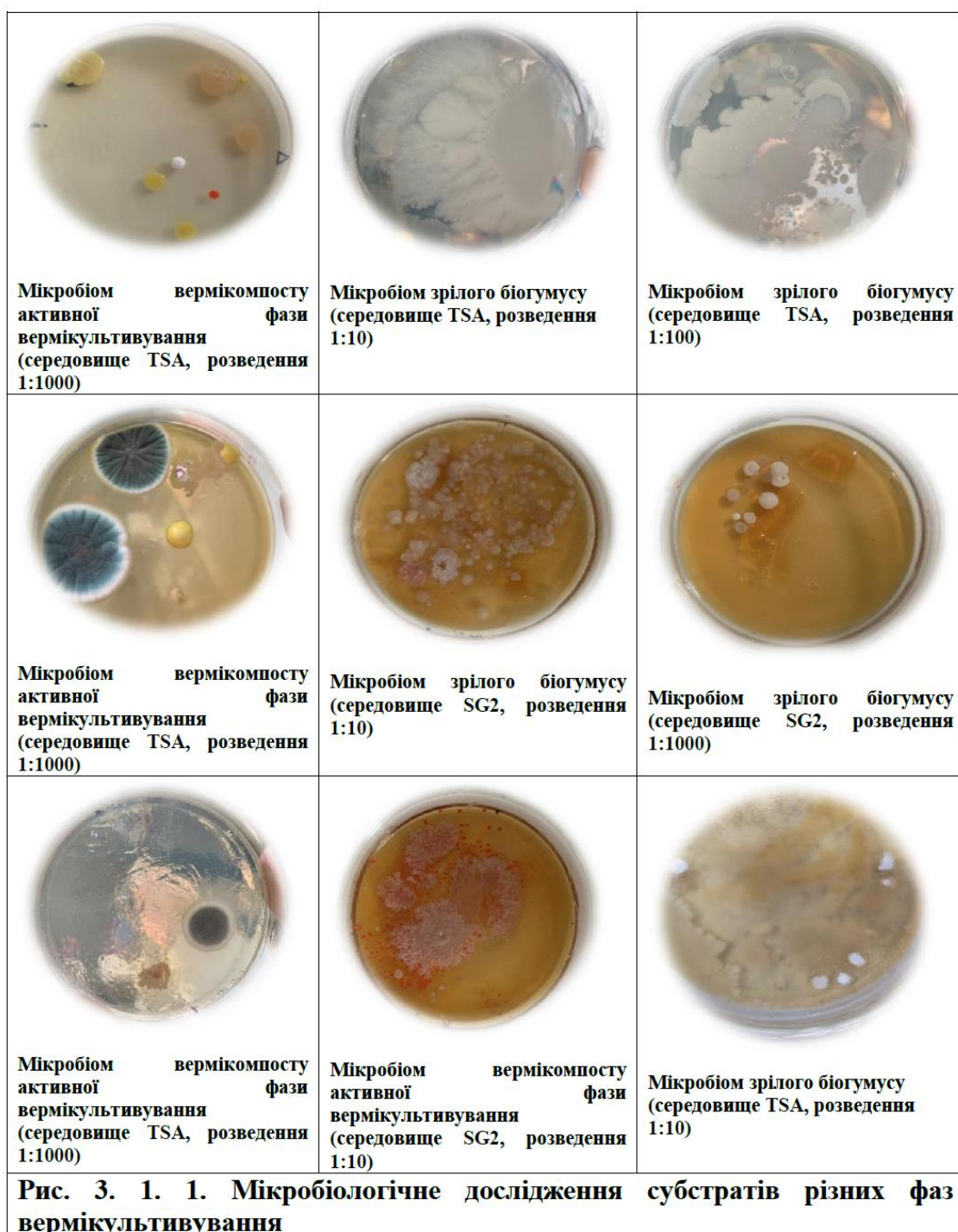
За рахунок процесів нітрифікації на початку активної фази вермикомпостування рН субстрату є кислим – в межах 4,5 – 6, субстрат вологим. Створюється оптимальне середовище для розвитку у ньому грибів – деструкторів целюлози та інших органічних сполук, фіксаторів Нітрогену. Ми ідентифікували мікроміцети родів *Penicillium*, *Mucor* та кислотостійкі бактерії родів *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Azotobacter*.

Для дослідження мікробіому вермикомпосту активної фази приготували його екстракт та десятикратні розведення у стерильній дистильованій воді: 1:10, 1:100, 1:1000. Максимальна активність ензимів (целюлаз, амілаз, інвертаз, протеаз та уреаз) спостерігається упродовж 21–35-ти днів вермикомпостування. Тому на 21 день вермикомпостування відібрано субстрат для дослідження. Суспензію висівали газonom на тверді живильні середовища TSA, SG2 у чашки Петрі у розведеннях 1:10, 1:100, 1:1000. На третю-сьому добу культивування досліджено колонії мікроскопічних грибів родів *Penicillium*, *Mucor* (рис. 3. 1. 1) та бактерій *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Azotobacter* (рис. 3. 1. 1). Також досліджено колонії представників грамполозитивних коків.

У кишківнику черв'яка під впливом його травних ензимів та мікробіому відбуваються процеси деструкції органічних речовин. Синергізм ензимів кишківника і мікробіому реагує на зміни навколишнього середовища, складових субстрату, може бути потенційним джерелом нових організмів. Ензими кишківника активують проліферацію та деструктивні властивості мікроорганізмів (зокрема роди *Pseudomonas*, *Acidobacterium*, *Bacillus*, представники родин *Enterobacteriaceae*, *Flavobacteriaceae*). рН середовища близьке до 7, що сприяє розвитку та діяльності

Actinomycetaceae. Зменшується кількість та різноманітність мікроміцетів, пригнічується розвиток фітопатогенів.

Для дослідження мікробіому зрілого біогумусу готували екстракт біогумусу. Готували десятикратні розведення екстракту біогумусу у стерильній дистильованій воді: 1:10, 1:100, 1:1000. Суспензію висівали газомом на тверді живильні середовища TSA, SG2 у чашки Петрі у розведеннях 1:10, 1:100, 1:1000.



Результатом нашої роботи на третю-сьому добу культивування та аналіз статей науковців, які вивчають мікробіологічні процеси вермикультивування, є дослідження у копролітах черв'яків домінування грамнегативних аеробних бактерій роду *Pseudomonas*, *Lactobacillus*, грампозитивних *Bacillus*, дещо в менших кількостях – представників *Actinomycetaceae*, *Azotobacter* (рис. 3. 1. 1).

Для узагальнення та порівняння було сформовано схему, яка висвітлює аналіз сучасних досліджень щодо різноманітності та співвідношення основних груп мікроорганізмів, які задіяні у різних фазах вермикультивування (рис. 3. 1. 2).

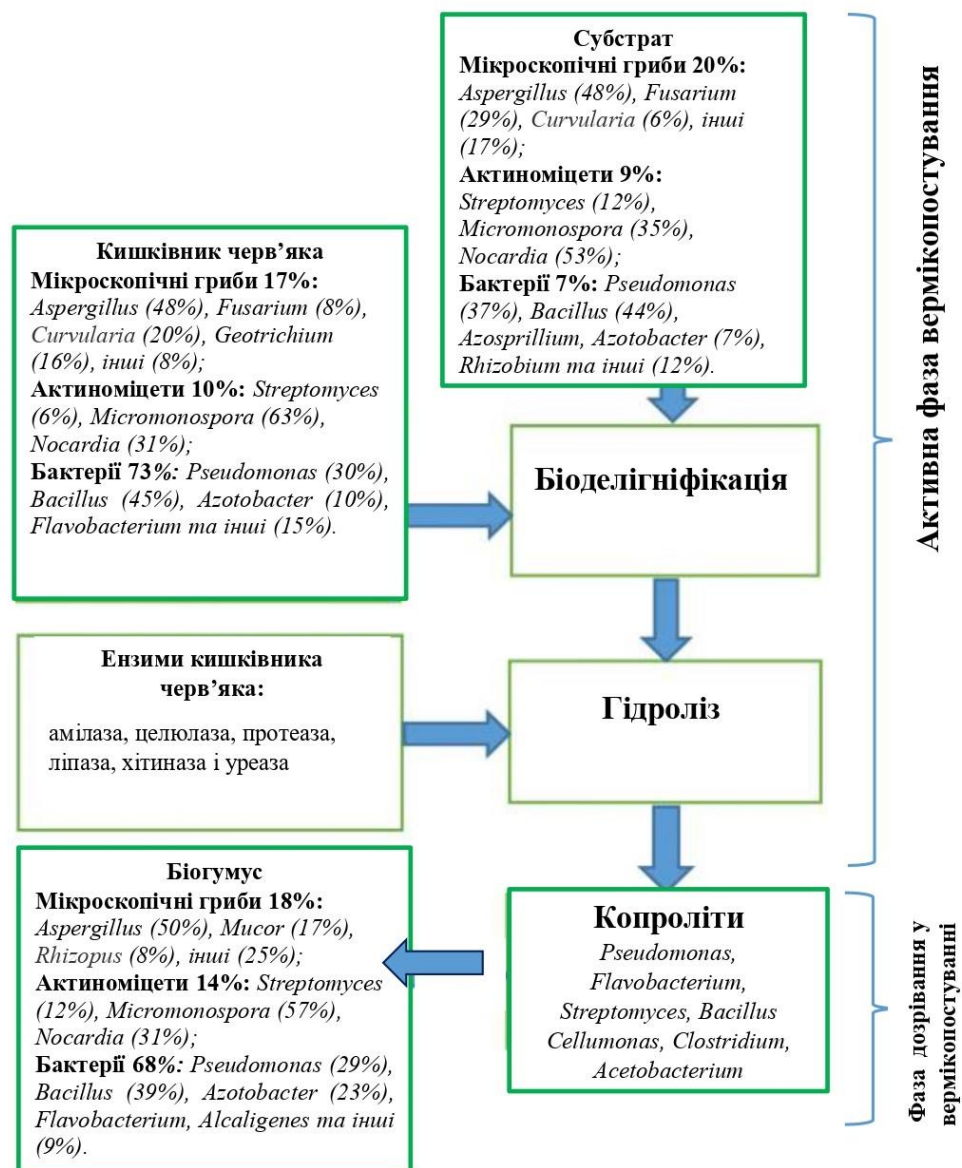


Рис. 3. 1. 2. Фази вермикультивування, різноманітність та співвідношення основних груп мікроорганізмів, які у них задіяні

У результаті здійсненого ящикового вермикультивування отримано біогумус, мікробіом якого складають бактерії роду *Pseudomonas*, *Lactobacillus*, *Bacillus*, *Actinomycetaceae*, *Azotobacter*, що відрізняється від субстрату активної фази вермикультивування за відсутністю фітопатогенів та мікроміцетів. Такий мікробіологічний склад дозволяє використовувати отриманий біогумус як самостійне цінне біоорганічне добриво або як перспективний компонент біопрепарату для захисту рослин.

3. 2. Ідентифікація мікробіому субстратів різних фаз вермикультивування

Мікроорганізми різних субстратів ідентифіковано, використовуючи визначник Берджі за морфологічними ознаками та методами фарбування за Грамом; методами фарбування з метою виявлення спор, кислотостійкості, каталазної активності.

Ідентифіковано представників ризобактерій, нітрогенфіксувальних бактерій у зрілому біогумусі: рід *Pseudomonas*, рід *Bacillus*, родина *Actinomycetaceae*, рід *Azotobacter*, а також представників лактобактерій.


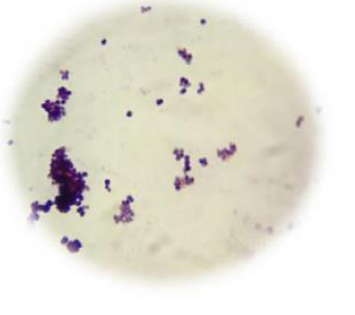
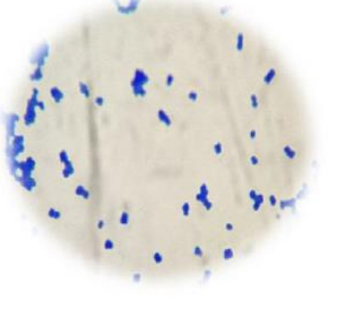

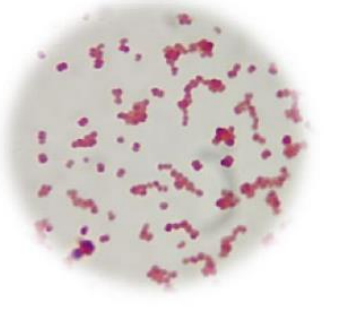
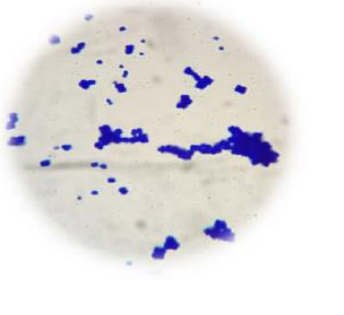

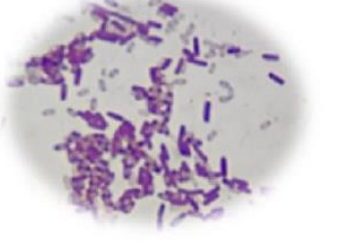




Щоб довести, що серед різних популяцій мікроорганізмів зрілого біогумусу є культура бактерій роду *Bacillus*, проведено мікроскопування та фарбування. Під світловим мікроскопом добре видно, що клітини грампозитивні (табл. 3. 2. 1), мають форму паличок із ендоспорами, які добре візуалізуються. Клітини прямі, частіше поодинокі. Реакція на кислотостійкість та наявність каталази позитивна (табл. 3. 2. 1). Колонії молочно-білого кольору з хвилястим краєм.


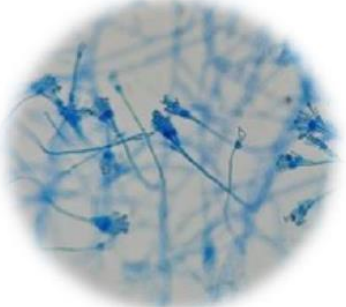

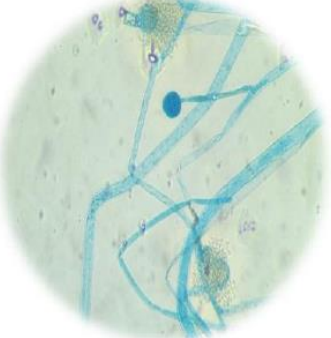

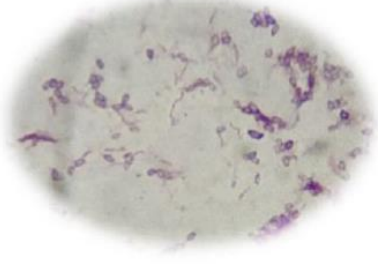
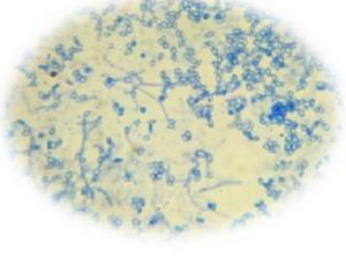



Поверхня колоній представників роду *Pseudomonas* гладенька, блискуча. За фарбування за Грамом – це грамнегативні палички,

розміщувались ланцюжками та, зрідка, поодинокі (табл. 3. 2. 1). За величиною – це тоненькі палички, палички середнього розміру. Реакція на кислотостійкість та наявність каталази позитивна (табл. 3. 2. 1).

Таблиця 3. 2. 1.

Ідентифікація колоній мікроорганізмів із застосуванням методів фарбування

Морфологічні ознаки колонії	Фарбування за Грамом	Виявлення кислотостійкості
Грамположитивні коки		
		
рід <i>Azotobacter</i>		
		
рід <i>Bacillus</i>		
		
рід <i>Pseudomonas</i>		
		

Морфологічні ознаки колонії	Фарбування за Грамом	Виявлення кислотостійкості
рід <i>Penicillium</i>		
		
рід <i>Mucor</i>		
		
родина <i>Actinomycetaceae</i>		
		
рід <i>Lactobacillus</i>		
		

Клітини *Azotobacter* середнього розміру, сферичної форми, можуть розташовуватися парами, поодинокі, неправильними скупченнями або

ланцюжками різної довжини (табл. 3.2.1). Клітини азотобактера можуть утворювати цисти. Реакція на кислотостійкість та наявність каталази позитивна (табл. 3. 2. 1).

Щоб довести, серед різних популяцій мікроорганізмів є культура молочнокислих бактерій, проведено мікроскопування та фарбування. Під світловим мікроскопом добре видно, що клітини грампозитивні (табл. 3. 2. 1), мають форму паличок із закругленими кінцями, прямі, зустрічаються короткими ланцюжками, неспорують. Реакція на кислотостійкість позитивна (табл. 3. 2. 1), лактобацили не мають каталази, тому утворення газу у пробі з Гідроген перексидом не відбувалось.

Колонії *Actinomycetaceae* покриті повітряним міцелієм – вільні гіфи, які зростають вертикально вгору від поверхні колонії. Ці гіфи спочатку не зафарбовані, але коли починається дозрівання спор, вони набувають різного забарвлення. На цій стадії колонії актиноміцетів виглядають бархатистими, та їх легко відрізнити від типових бактеріальних колоній. Представники родини *Actinomycetaceae* грампозитивні, кислотостійкі (табл. 3. 2. 1), каталазопозитивні.

На рисунку таблиці 3. 2. 1. Чітко видно нитчасту структуру колонії *Actinomycetaceae* та спори.

Досліджуючи субстрат активної фази вермикомпостування, ідентифіковано представників ризобактерій, нітрогенфіксувальних: рід *Pseudomonas*, рід *Bacillus*, рід *Azotobacter*. Крім описаних мікроорганізмів, у екстракті цього субстрату ідентифіковано мікроміцети родів *Penicillium*, *Mucor*. Мікроміцети характеризуються наявністю видоспецифічних спорангіїв та спор (табл. 3. 2. 1), утворенням міцелію, кислотостійкістю (табл. 3. 2. 1), каталазонегативні. Нами виявлено, але неідентифіковано колонії грампозитивних коків. Ці мікроорганізми кислотостійкі (табл. 3. 2. 1), каталазопозитивні, утворюють колонії жовтого кольору.

Отже, більшість мікроорганізмів мікробіому зрілого біогумусу та субстрату активної фази вермикультивування є грампозитивними,

каталазоактивними, усі кислотостійкими. Серед грамнегативних нами ідентифіковано роди *Pseudomonas* та *Azotobacter*.

3. 3. Дослідження хімічного складу одержаного біогумусу

Ми визначали вміст амінокислот у робочому розчині біогумусу за допомогою системи капілярного електрофорезу «КАПЕЛЬ-105/105М». Робочий розчин готували як витяжку 10 грамів біогумусу у 100 мг дистильованої стерильної води. Результати цього дослідження свідчать про широкий спектр амінокислот у одержаному нами біогумусі: аргінін, лізин, тирозин, фенілаланін, гістидин, лейцин, ізолейцин, метіонін, валін, пролін, треонін, серин, аланін, гліцин (табл. 3. 3. 1). Одержаний біогумус характеризується вищим вмістом деяких амінокислот: аргініну (33 мг/л), проліну (4,3 мг/л), треоніну (20 мг/л) (табл. 3. 3. 1), порівняно, наприклад, з робочим розчином комерційного біопрепарату для захисту рослин «Гуміфренд».

Таблиця 3. 3. 1.

Вміст амінокислот

Назва показника	Вміст у робочому розчині біогумусу
аргінін	33 мг/л
лізин	8,8 мг/л
тирозин	3,2 мг/л
фенілаланін	2,5 мг/л
гістидин	1,3 мг/л
лейцин+ізолейцин	7,1 мг/л
метіонін	1,1 мг/л
валін	5,8 мг/л
пролін	4,3 мг/л
треонін	20 мг/л
серин	3,6 мг/л
аланін	5,2 мг/л
гліцин	5,1 мг/л

Такі показники найпевніше свідчать про більш різноманітний спектр мікроорганізмів одержаного біогумусу та більший його кількісний вміст. Натомість «Гуміфренд» багатший йонами, які характеризують масову частку Амонію, Калію, Натрію, Магнію, Кальцію, Фосфору у препараті.

Дослідження масової частки деяких катіонів, аніонів біогумусу відбувалось методом капілярного електрофорезу з використанням системи капілярного електрофорезу «Капель-105М». Масова частка сполук у біогумусі: Амонію 4,7 мг/л; Калію 242,0 мг/л; Натрію 62 мг/л; Магнію 60,7 мг/л; Кальцію 109,7 мг/л; Фосфору менше 50 мг/л (табл. 3. 3. 2).

Таблиця 3. 3. 2.

Вміст мінеральних елементів та амінокислот в зразках

Назва показника	Вміст у робочому розчині біогумусу
Амоній	4,7 мг/л
Калій	242,0 мг/л
Натрій	62 мг/л
Магній	60,7 мг/л
Кальцій	109,7 мг/л
Сульфур	-
Фосфор	Менше 50 мг/л

Такий вміст та збалансованість хімічних сполук свідчить про можливість безпечного використання одержаного біогумусу як самостійного добрива для захисту рослин та його перспективність як основи для створення нових засобів захисту рослин. Також це дослідження доводить успішну трансформацію хімічних сполук відходів під час вермикультивування у доступні для рослин форми поживних речовин.

3. 4. Технологічна схема вермикомпостування

3. 4. 1. Приготування субстрату

Найсприятливіші умови для життєдіяльності дощових черв'яків *Eisenia Foetida* спостерігається при використанні у якості субстрату відходів, у яких вміст целюлози становить приблизно 20%. Рекомендовано додавати у відходи тваринництва тирсу, солому, кору, зелені рослинні рештки тощо.

В якості субстрату для вермикомпостування було використано вичавку з яблук, кролячий гній та солому у відсотковому співвідношенні 50:40:10 відповідно. У субстраті відсутні тверді частинки – метал, каміння, деревина.

Вологість субстрату 70-80%. рН 6,8-7,2.

3. 4. 2. Установа для вермикультивування

Для вермикомпостування було використано пластиковий вермикомпостер. Верхня частина складається із кришки та вермипокривала, завдяки якому підтримується оптимальна вологість системи. Середина вермикомпостеру складається із трьох відсіків для вермикомпостування, які розташовані один за одним і входять на 10 см всередину кожного наступного вермикопостера. Загальна висота установки 50 см (висота кожного з вермикопостерів 25 см), ширина 40 см та довжина 25 см.

Вермикопостери мають отвори по периметру піддона, які розташовані у шаховому порядку. Діаметр отворів 15 мм.

У нижній частині установки є піддон, в який збирається фільтрат вермикопосту (вермичай) та готовий біогумус. Цей піддон легко витягується, що дозволяє не вмішуватись у процес вермикомпостування. Схема вермикопостеру та його фактичний вигляд показаний на Рис. 3. 1. Та Рис 3. 2.

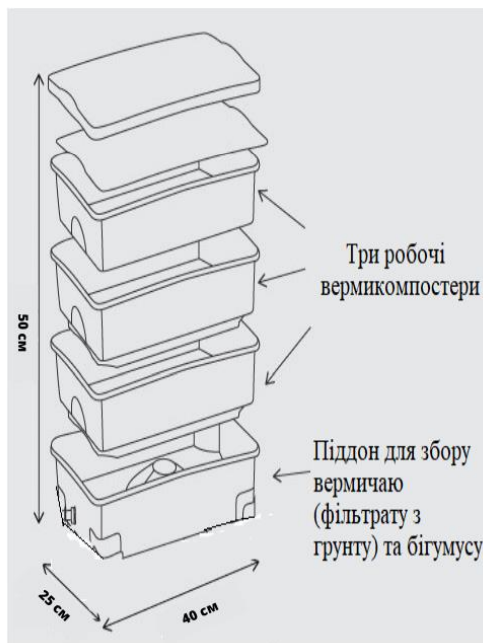


Рис. 3. 1. Схема вермикомпостеру **Рис 3. 2. Фактичний вигляд**

3. 4. 3. Заселення вермикультури та оптимальні умови

На дно нижнього вермикомпостеру вносять компостований кролячий гній, зволожують його. Далі розподіляють ґрунт універсальний, яблучну вичавку, та соломку (2500 г ґрунту, 500 г вичавки, 200 г соломи). Заселення вермикультури проводять через декілька днів, адже після зволоження гною субстрат нагрівається, що може згубно вплинути на вермикультуру.

Для заселення беруть біомасу вермикультури *Eisenia Foetida* у кількості 3000 особин. Це оптимальна кількість для вермикомпостеру розміром 50*40*25 см.

Заселення проводять у верхній вермикомпостер. Для цього культуру поміщають на органічний субстрат, рівномірно та обережно розподіляючи черв'яків по поверхні. На деякий час контейнер освітлюють джерелом світла для того, щоб вермикультура поступово перебралась у нижні шари субстрату ховаючись від світла. Приблизно через годину роблять перевірку – черв'яків,

які залишились на поверхні потрібно прибрати, так як вони хворі або загинули.

Після цього світло виключають за закривають вермикомпостер кришкою.

Умови, при яких проводилось вермикультивування:

Температура: +25 – 28°C;

Вологість субстрату: 70-85%;

pH – 5,0-8,0;

Хороша аерація субстрату;

3. 4. 4 Збір готового біогумусу

Збір готового біогумусу проводиться методом вивантаження та впорядкування. Для цього вміст контейнера викладається на брезент або твердий пластиковий лист у місці, яке добре освітлюється. Неперетравлений матеріал відокремлюється від готового біогумусу вручну. Біогумус потрібно перекласти у місткості та залишити на світлі. Через якийсь час черви почнуть мігрувати від світла, тому їх потрібно обережно зібрати і чекати до нової появи вермкультури.

Після того, як вермикультура *Eisenia Foetida* перестане мігрувати і її не залишиться у біогумусі, його можна вважати готовим та використовувати.

ВИСНОВКИ

1. У результаті здійсненого ящикового вермикультивування отримано біогумус, мікробіом якого складають бактерії роду *Pseudomonas*, *Lactobacillus*, *Bacillus*, *Actinomycetaceae*, *Azotobacter*, що відрізняється від субстрату активної фази вермикультивування за відсутністю фітопатогенів та мікроміцетів. Такий мікробіологічний склад дозволяє використовувати отриманий біогумус як самостійне цінне біоорганічне добриво або як перспективний компонент біопрепарату для захисту рослин.

2. Більшість мікроорганізмів мікробіому зрілого біогумусу та субстрату активної фази вермикультивування є грампозитивними, каталазоактивними, усі кислотостійкими. Серед грамнегативних нами ідентифіковано роди *Pseudomonas* та *Azotobacter*.

3. Вміст та збалансованість хімічних сполук свідчить про можливість безпечного використання одержаного біогумусу як самостійного добрива для захисту рослин та його перспективність як основи для створення нових засобів захисту рослин. Також це дослідження доводить успішну трансформацію хімічних сполук відходів під час вермикультивування у доступні для рослин форми поживних речовин.

4. Для найоптимальнішого отримання біогумусу рекомендовано дотримуватись під час вермикопостування температурного режиму у межах +25 – 28°C, рН 5,0-8,0, вологості субстрату 70-80% та забезпечувати добру аерацію вермикомпостера.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Ales Hanc, Tereza Castkova, Stanislav Kuzel and Tomas Cajthaml Dynamics of a vertical-flow windrow vermicomposting system / Waste Management & Research 2017, Vol. 35(11) 1121–1128.
2. Ali Ahmad, Zubair Aslam, Korkmaz Bellitürk and other Vermicomposting Methods from Different Wastes: An Environment Friendly, Economically Viable and Socially Acceptable Approach for Crop Nutrition: A Review / International Journal of Food Science and Agriculture, 2021, 5(1), 58-68.
3. Appelhof M., Olszewski J. Worms eat my garbage / 2017. 5-238 с.
4. Clive A. Edwards Norman Q. Arancon Rhonda Sherman Vermiculture Technology Earthworms, Organic Wastes, and Environmental Management 1-576 с.
5. Reynolds, J.W. and M.J. Wetzel. 2004. Terrestrial Oligochaeta in North America north of Mexico. Megadrilogica 9(11): 71-98.
6. Romero-Olivares, A.L., Allison, S.D., & Treseder, K.K. Soil microbes and their response to experimental warming over time: A meta-analysis of field studies. Soil Biology and Biochemistry. 2017. № 107. P. 32–40.
7. Selivanov Y., Marenkov O. Organic permaculture: cultivation of Eisenia andrei earthworms for use as feed for aquatic organisms / WSN 152 (2021) C. 39-54.
8. Sravan Kumar Tamminana A study on entrepreneurs of vermicompost technology in guntur district of andhra pradesh / 2012. 1-126 с.
9. Suresh Kumar, G. Tripathi, G. V. Mishra. A Comparative Study on Earthworm Biodiversity & Species Habitat-Relationship of Hilly and Plain Areas of Sirohi District of Rajasthan, India. Applied Ecology and Environmental Sciences. Vol. 9, No. 4, 2021, pp 419-439
10. What is Windrow Composting? Its Process, Advantages and Applications URL: <https://compost-turner.net/composting-technologies/windrow-composting-technology-and-advantages.html>

11. Безидель Р. В. Вплив складу субстрату на вихід вермикомпосту та біомаси штучної популяції *Eisenia Foetida* / Науковий вісник НЛТУ України – 2015. Випуск 25-10. С. 156-161.
12. Буцяк А. А. Використання біогумусу для підвищення родючості ґрунту і одержання екологічно безпечної продукції / Науковий вісник ЛНУВМБТ імені С. З. Гжицького, Том 14 №2 Частина 3, с. 33-36. Львів, 2012 р.
13. Журавель С.В та ін. Технологічні особливості застосування різних видів вермибіоти та їх вплив на процес компостування / Sciences of Europe # 80, 2021 р. 3-6 с.
14. Зайцева В.Г., Нестеренко О.В., Чернишенко Г.О., Самохвалова А.І. Вермикультура, її значення у вирішенні екологічних проблем та поліпшенні умов сільського господарства / Харківський національний університет будівництва та архітектури: Науковий вісник будівництва, 2020, т. 101, №3 с. 222 – 227.
15. Ладановська Д.О., Жукова В.С. «Ефективність вермикомпостування осадів шкіряного виробництва» / Д.О. Ладановська, В.С. Жукова // Тези XVIII Всеукр. наук. конф. молодих вчених та студентів [«Наукові розробки молоді на сучасному етапі»], (Київ, 18-19 квітня 2019 р.) / М-во освіти і науки України, КНУТД. – К. : КНУТД, 2019.
16. Люта В.А., Кононов О.В. Практикум з мікробіології: навч. посіб. Київ: Всеукраїнське спеціалізоване видавництво «Медицина», 2018. 184 с.
17. Каратєєва О. І., Коваль О. А., Гроза В. І. Технологія переробки побутових відходів та відходів сільського господарства : курс лекцій для здобувачів вищої освіти ступеня «бакалавр» спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія» / О. І. Каратєєва. – Миколаїв : МНАУ, 2018. – 190 с.
18. Курдиш І.К. Роль мікроорганізмів у відтворенні родючості ґрунтів / Сільськогосподарська мікробіологія: Міжвід. темат. наук. зб. – Чернігів, 2009.

19. Попко І. М., Корчин Д. В., Розум І. В., Розум Р. І., Патент №135661 Спосіб отримання біогумусу. Опубліковано 10.07.2019 р.
20. Сендецька О. Ефективність виробництва і застосування органічних добрив “біогумус” виготовлених методом вермикультивування / Вісник ТНЕУ № 1, 2014 р. 164-171 с.
21. Сенчук М.М. Теоретичні основи механізованого вермикомпостування. // Техніко-технологічні аспекти розвитку та випробування нової техніки і технологій для сільського господарства України: Збірник наук. пр./ УкрНДПВТ.- Вип.3.-Дослідницьке, 2000.-С.132-138.
22. Скіп О.С., Буцяк В.І., Печар Н.П Технологічні властивості та хімічний склад опалого листя як субстрату для вермикультивування // О.С Скіп, В.І Буцяк, Н.П Печар // Л.: Науковий вісник ЛНУВМБТ імені С.З. Гжицького. Частина 1. – 2011. Том 13 № 2(48) Частина 1. – С.466-470.
23. Слободяник М. С. та ін. Біоконверсія органічних відходів: теорія і практика / – Ніжин: Видавець ПП Лисенко М.М., 2015. – 208 с.: іл. ISBN 978-617-640-230-5
24. Торгоня В.С. Дослідження й обґрунтування прийнятих параметрів біотехнологічного процесу вермикультивування та обладнання для його реалізації / В.С. Торгоня // Науковий вісник НУБіП України :зб. наук. праць. – К. :Вид-во НУБіП України. – 2009. – Вип. 134, ч. 1. – С. 145-152.
25. Швед О. М. Екологічна біотехнологія / Швед О. М. – Львів: НУ "Львівська Політехніка", 2013. – С.385–390.