

Компост из куриного помёта как источник устойчивости почвенных актиномицетов к антибиотикам

© 2023. И. Г. Широких^{1,2}, д. б. н., в. н. с., профессор,
Н. А. Боков², м. н. с., аспирант, Н. Е. Завьялова³, д. б. н., г. н. с.,
Т. Я. Ашихмина^{1,2}, д. т. н., зав. лабораторией, г. н. с.,

¹Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения
Российской академии наук,

167982, Россия, г. Сыктывкар, ул. Коммунистическая, д. 28,

²Вятский государственный университет,

610000, Россия, г. Киров, ул. Московская, д. 36,

³Пермский Федеральный исследовательский центр

Уральского отделения Российской академии наук,

614990, Россия, г. Пермь, ул. Ленина, д. 13а,

e-mail: irgenal@mail.ru

Развитие птицеводства сопровождается существенным увеличением объёмов производимого куриного помёта и его концентрацией в местах хранения, что приводит к загрязнению окружающей среды. Традиционной формой утилизации помёта является его использование в качестве органического удобрения. Высокое содержание органики и элементов минерального питания в компостах, приготовленных на основе животноводческих отходов, улучшает структуру почвы и способствует почвенному плодородию. Однако, ввиду широкого применения в птицеводстве антибиотиков, удобрения на основе птичьего помёта могут повлиять на антибиотический резистом почвы и, в итоге, способствовать распространению устойчивости к антибиотикам среди клинически значимых микроорганизмов. В этой связи актуальной является оценка влияния свежего и ферментированного куриного помёта на антибиотический резистом почвы, используемой в сельскохозяйственном производстве. В данной работе представлены результаты сравнительного исследования спектров устойчивости к определённому набору антибиотиков и частоты встречаемости резистентных к антибиотикам штаммов среди типичных почвенных бактерий – актиномицетов. Культуры актиномицетов выделены из компоста на основе куриного помёта и дерново-подзолистой почвы: после удобрения компостом, в процессе его хранения (под буртом) и фоновой, не контактировавшей с птичьим помётом или компостом. Определены группы антибиотиков, устойчивость к которым статистически значимо увеличилась в результате использования компоста на основе куриного помёта – тетрациклины, рифампицины и хинолоны.

Ключевые слова: куриный помёт, компост, дерново-подзолистая почва, антибактериальные препараты, *Streptomyces*, антибиотический резистом.

Compost from chicken manure as a source of antibiotic resistance of soil actinomycetes

© 2023. I. G. Shirokikh^{1,2} ORCID: 0000-0002-3319-2729, N. A. Bokov² ORCID: 0000-0002-1000-1192,
N. E. Zavyalova³ ORCID: 0000-0003-4005-8998, T. Ya. Ashikhmina^{1,2} ORCID: 0000-0003-4919-0047

¹Institute of Biology of the Komi Science Centre of the Ural Branch
of the Russian Academy of Sciences,

28, Kommunisticheskaya St., Syktyvkar, Russia, 167982,

²Vyatka State University,

36, Moskovskaya St., Kirov, Russia, 610000,

³Perm Federal Research Centre Ural Branch of the Academy of Sciences,

13a, Lenina St., Perm, Russia, 614990,

e-mail: irgenal@mail.ru

The development of poultry farming is accompanied by a significant increase in the volume of chicken manure produced and its concentration in storage areas, which leads to environmental pollution. The traditional form of manure

disposal is its use as an organic fertilizer. The high content of organic matter and mineral nutrition elements in compost prepared on the basis of chicken manure improves the soil structure and promotes soil fertility. However, due to the widespread use of antibiotics in poultry farming, fertilizers based on bird droppings can affect the antibiotic resistance of the soil and, as a result, contribute to the spread of antibiotic resistance among clinically significant microorganisms. In this regard, it is relevant to assess the effect of fresh and fermented chicken manure on the antibiotic resistance of the soil used in agricultural production. This paper presents the results of a comparative study of the spectra of resistance to a certain set of antibiotics and the frequency of occurrence of antibiotic-resistant strains among typical soil bacteria – actinomycetes. Actinomycete cultures were isolated from compost based on chicken manure and sod-podzolic soil: after fertilization with compost, during its storage (under the burt) and background, not in contact with bird droppings or compost. Groups of antibiotics have been identified, the resistance to which has increased statistically significantly as a result of using compost based on chicken manure – tetracyclines, rifampicins and quinolones.

Keywords: chicken manure, compost, sod-podzolic soil, antibacterial drugs, *Streptomyces*, antibiotic resistance.

Птицеводство занимает в настоящее время лидирующие позиции в сельскохозяйственном сегменте экономики по всему миру. Укрупнение птицеводческих комплексов приводит к существенному увеличению объёмов производимого помёта и его концентрации в местах хранения, что способствует загрязнению окружающей среды (ОС) и нарушению экологического состояния территорий, примыкающих к птицеводческим предприятиям [1]. Мировая и отечественная практика показывают, что наиболее традиционной формой утилизации птичьего помёта является использование его в качестве органического удобрения. Содержащиеся в помёте вещества улучшают структуру почвы и способствуют увеличению её плодородия и урожайности сельскохозяйственных культур. Содержание основных элементов питания для растений в помёте значительно варьирует в зависимости от его вида (нативный и подстилочный), степени его разложения и вида птицы. Удобрительная ценность куриного помёта предварительно определяется следующими данными по содержанию элементов минерального питания: азот общий – 6,2%, фосфор (P_2O_5) – 3,5%, калий (K_2O) – 2,1% от массы свежего помёта (согласно РД-АПК 1.10.15.02-17). Однако сырой птичий помёт является не только быстродействующим эффективным органическим удобрением, но и опасным источником загрязнения и заражения ОС. К сожалению, по разным причинам, свыше 40 млн т навоза и птичьего помёта сбрасывается ежегодно в водоёмы, балки, ложбины, вызывая загрязнение почвы, грунтовых и поверхностных вод [2].

С побочными продуктами птицеводства и животноводства связан такой чрезвычайно важный аспект, как распространение в ОС генов резистентности к антибиотикам (antibiotic resistance genes – ARGs), благодаря сбросу в ОС отходов жизнедеятельности сельскохозяйственных животных, получавших антибио-

тики для лечения, профилактики заболеваний и в качестве стимуляторов роста [3, 4].

Результаты многих исследований указывают на существование связи между применением антибиотиков в животноводстве и распространением устойчивости к противомикробным препаратам у людей [5, 6]. Устойчивость к антибиотикам угрожает самим основам современной медицины, и в ближайшие десятилетия антибиотикорезистентность может стать более частой причиной смертей, чем онкология. Эта проблема особо обострилась в связи с пандемией коронавируса SARS-CoV-2 и ускорением образования антибиотикорезистентных госпитальных штаммов [7–9].

Важнейшую роль в формировании и распространении среди микробных популяций антибиотикорезистентности играют универсальные для бактерий процессы обмена генетической информацией – конъюгация, трансформация, трансдукция и рекомбинация. В результате передачи в составе мобильных элементов генома (транспозоны, интегроны, IS-элементы, плазмиды) ARG могут свободно циркулировать в природе [10, 11].

Почва, как естественная среда обитания микроорганизмов, представляет собой резервуар устойчивых форм и содержит соответствующую генетическую информацию об устойчивости к антибиотикам [11–13]. Однако распространение устойчивости к антибиотикам в почвах разного генезиса и, тем более, при различном сельскохозяйственном использовании, изучено довольно фрагментарно [14–16]. Высокие уровни устойчивости, как средство самозащиты от разрушения собственными антибиотиками, характерны для мицелиальных прокариот – актиномицетов, которые лидируют среди известных в настоящее время среди промышленных продуцентов антибиотиков. Значительный вклад актиномицетов в формирование почвенного антибиотического резистома был отмечен неоднократно [12, 17]. Врождённая антибиотикоустойчивость широ-

ко распространена среди представителей рода *Streptomyces* и обусловлена особенностями строения внешних клеточных покровов, препятствующих проникновению антибиотика в клетку, и наличием различных неспецифических эффлюкс-систем, обеспечивающих удаление из клетки токсичных для неё веществ [17, 18].

Цель работы – сравнение антибиотической резистентности почвенных стрептомицетов при использовании компоста на основе куриного помёта в качестве органического удобрения на дерново-подзолистой почве.

Материалы и методы исследования

Образцы для выделения чистых культур актиномицетов в работе были представлены следующими субстратами: интактная дерново-подзолистая почва; почва, отобранная под буртом компоста; компост на основе куриного помёта; почва после внесения компоста. Из каждого образца при микробиологическом посеве на казеин-глицериновый агар было выделено не менее 15 штаммов с типичными для рода *Streptomyces* культуральными и морфологическими признаками [19]. Выборочно штаммы идентифицировали с помощью метода молекулярной филогении. Первичный сравнительный анализ полученных нуклеотидных последовательностей фрагмента 16S рРНК (ООО «Синтол», г. Москва) с последовательностями из базы данных GenBank проводили с помощью программы NCBI BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>). Парное выравнивание последовательностей осуществляли с помощью программы LALIGN (https://embnet.vital-it.ch/software/LALIGN_form.html).

Для определения чувствительности выделенных культур к антибиотикам использовали диски индикаторные ДИ-ПЛС-50-01 по ТУ 9398-001-39484474-2000 (НИЦФ, Россия, СПб) с антибиотиками в следующих концентрациях: 30 мкг канамицин (КАН); 20 мкг амоксициллин (АКК); 30 мкг налидиксовая кислота (НК); 1,25/23,75 мкг триметоприм/сульфаметоксазол (ТС); 30 мкг тетрациклин (ТЕТ); 30 мкг стрептомицин (СТР), 5 мкг рифампицин (РФМ); 300 ЕД полимиксин (ПМ); 15 мкг линкомицин (ЛНК), 15 мкг азитромицин (АРН), 30 мкг цефтриаксон (ЦРО). Тестировали не менее 15 природных изолятов из каждого образца. Фиксировали величину диаметров зон ингибирования роста изолятов каждым антибиотиком в соответствии с инструкцией к тест-системе.

На основе данных о величине зон ингибирования антибиотиками роста стрептомицетов была построена тепловая карта антибиотических резистомов в разных субстратах с использованием электронного сервиса <https://build.ngchm.net/NGCHM-web-builder/#> [20].

В выборках изолятов равного объёма, полученных из разных субстратов, определяли также долю/встречаемость (%) резистентных к каждому антибиотику штаммов. Обработку результатов осуществляли методами непараметрической статистики с помощью онлайн-калькулятора статистики Statistics Kingdom (<http://www.statskingdom.com>). Для попарного сравнения вариантов использовали *U*-критерий Манна-Уитни.

Результаты и обсуждение

В общей сложности из исследуемых субстратов было выделено в чистую культуру 64 бактерии с характерными для рода *Streptomyces* микроморфологическими признаками: нефрагментированный субстратный и воздушный мицелий, длинные цепочки спор на воздушном мицелии и отсутствие спор на субстратном мицелии [19]. Выборочный анализ фрагментов гена 16S рРНК у изолятов данного морфотипа подтвердил, что выделенные культуры являются представителями рода *Streptomyces*, семейства Streptomycetaceae, порядка Streptomycetales, класса Actinobacteria.

Далее диско-диффузионным методом определяли у изолятов чувствительность/резистентность к антибиотикам из различных классов и разных механизмов действия, регистрируя величины зон ингибирования роста каждой культуры отдельными антибактериальными препаратами, взятыми в клинически значимых концентрациях. Совокупность полученных данных визуализировали в виде тепловой карты, на которой принадлежность отдельных изолятов к исследуемым субстратам отображена следующим образом: компост на основе куриного помёта (П11), интактная почва (П13), удобренная компостом почва (П14), почва под буртом куриного помёта (П15) (рис. 1, см. цв. вкладку II).

Анализ иерархической кластеризации 64-х изолятов из разных субстратов выявил среди них наличие трёх обособленных групп. Первая группа объединила 17 штаммов, полученных как из интактной почвы (23,4%), так и из субстратов, в разной степени сопряжённых с куриным помётом. Наибольшую долю (35,4%) составили изоляты из почвы, ото-

И. Г. Широких, Н. А. Боков, Н. Е. Завьялова, Т. Я. Ашихмина
 «Компост из куриного помёта как источник устойчивости
 почвенных актиномицетов к антибиотикам». С. 101.

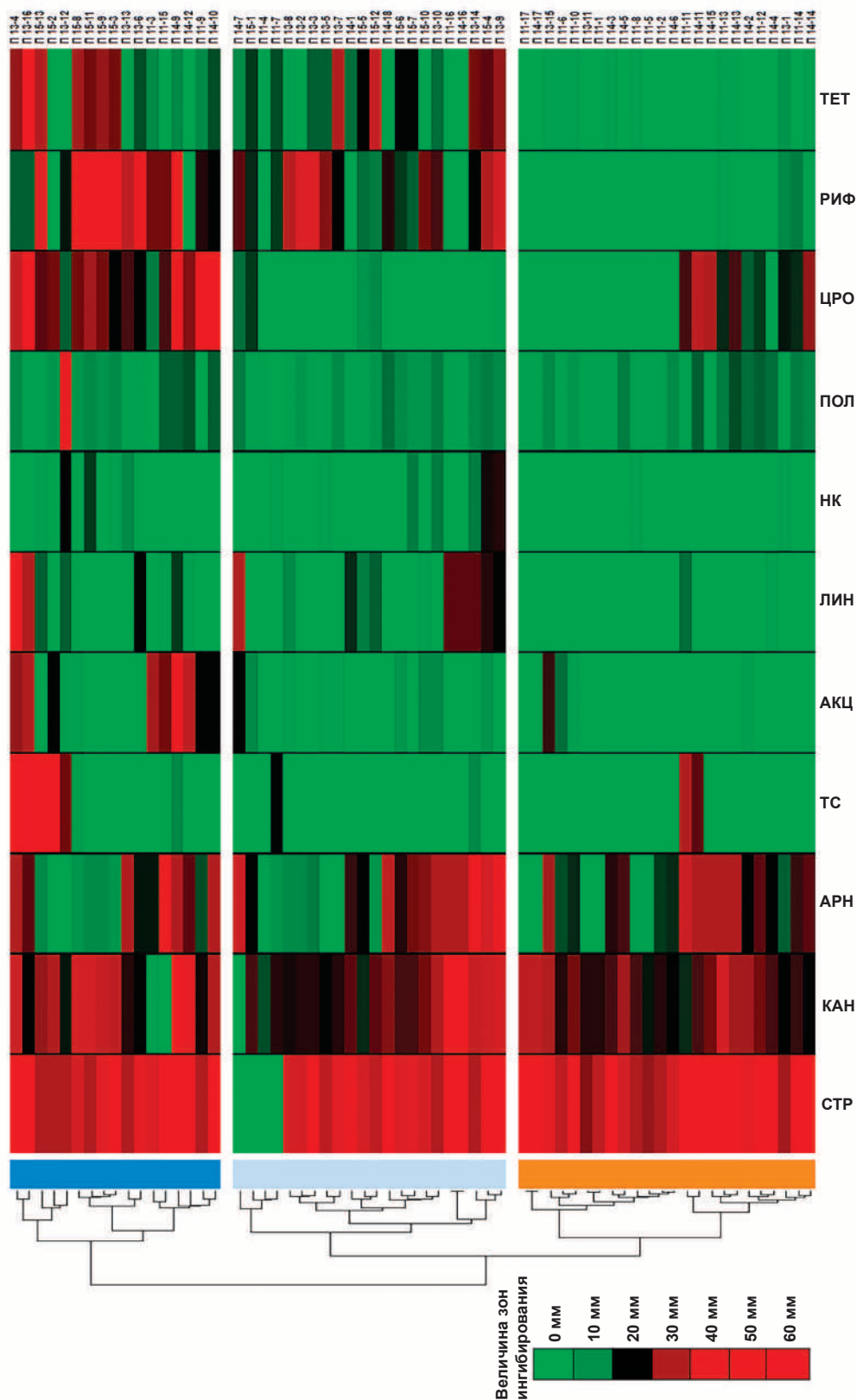


Рис. 1. Тепловая карта, отражающая различия в чувствительности/резистентности к тест-антибиотикам изолятов из различных субстратов (пояснение в тексте). Столбцы означают различные антибиотики. Красный цвет указывает на увеличение зон ингибирования (чувствительность), зелёный – на уменьшение зон ингибирования (резистентность) роста изолятов антибактериальными препаратами

Fig. 1. Heat map reflecting differences in sensitivity/resistance to test antibiotics of isolates from different substrates (explanation in the text). The columns indicate various antibiotics, red indicates an increase in inhibition zones (sensitivity), while green indicates a decrease in inhibition zones (resistance) of the growth of isolates with antibacterial drugs

бранной под буртом куриного помёта (П15). Количество штаммов, полученных из компоста (П11) и удобренной компостом почвы (П14), составило в первом кластере по 17,6%. Рост большинства культур этого кластера в сильной степени ингибировали антибиотики из группы аминогликозидов первого поколения (СТР и КАН), ЦРО, РИФ и АРН. Величина зон подавления роста стрептомицетов колебалась от 20 до 60 мм в зависимости от тест-препарата. Несколько реже отмечены штаммы с высокой чувствительностью к ТЕТ, АКЦ и ТС. Среди культур первого кластера в основном были представлены штаммы с устойчивостью не более чем к 2–4 антибиотикам одновременно, лишь один штамм (П15-2) обладал устойчивостью к пяти антибактериальным препаратам одновременно.

Вторую группу составили 23 культуры, изолированные преимущественно (69,5%) из интактной почвы (П13) и почвы, отобранной под буртом куриного помёта (П15). На долю штаммов, изолированных из компоста (П11) и почвы, удобренной компостом (П14), в этом кластере приходится 30,5%. Большинство культур второго кластера также проявили высокую чувствительность к СТР, но среди них присутствовали и устойчивые к аминогликозидам формы (П14-7). Судя по меньшим в сравнении с первым кластером диаметрам зон подавления роста (от 10 до 40 мм), культуры второй группы проявили большую устойчивость к ЦРО, ТС, АКЦ, РИФ и ТЕТ. Среди штаммов второго кластера отмечены изоляты, устойчивые одновременно к шести и более антимикробным препаратам, хотя их доля в данной выборке невысокая (13%). Применение в птицеводстве антимикробных препаратов ведёт к расширению спектра устойчивости к антибиотикам у кишечных бактерий. В популяциях *Escherichia coli*, изолированных от цыплят-бройлеров, в кормовой рацион которых добавляли противомикробные препараты, 88% изолятов обладали, по крайней мере, одним ARG, а у 42% изолятов была обнаружена множественная лекарственная устойчивость (МЛУ) [21]. Наши результаты согласуются с этими данными.

В третий кластер вошли 24 штамма, выделенные преимущественно (87,5%) из субстратов, наиболее тесно сопряжённых с куриным помётом: компоста (П11) и почвы, удобренной компостом (П14). Доля изолятов из интактной почвы (П13) в этом кластере была небольшой (12,5%). Зоны ингибирования роста большинством тест-антибиотиков

у штаммов этого кластера отсутствуют или не превышают 10 мм, что свидетельствует об устойчивости культур к данным антибактериальным препаратам. Высокую чувствительность (зоны ингибирования – 20 мм) все штаммы этого кластера продемонстрировали только к антибиотикам из группы аминогликозидов (СТР и КАН), а отдельные культуры – к АРН, ТС и ЦРО. Штаммы третьего кластера отличала меньшая (зоны ингибирования ≤ 10 мм), чем в первых двух кластерах, чувствительность к антибиотикам из групп тетрациклинов (ТЕТ), β -лактамов (АКЦ) и рифампицина (РИФ). Кроме того, доля культур с устойчивостью к шести и более препаратам одновременно (37,5%) в третьем кластере оказалась почти втрое больше, чем во втором (13%). Об увеличении относительной доли бактерий с МЛУ в удобряемых куриным помётом почвах сообщали и другие авторы. Так, в результате удобрения плантаций сахарного тростника куриным помётом 67,7% (88/130) почвенных изолятов бактерий рода *Enterococcus* spp. приобрели МЛУ, тогда как до его внесения в почву МЛУ характеризовались лишь 10% (13/130) почвенных изолятов [22].

Таким образом, изоляты из субстратов П11 и П14, тесно сопряжённых с куриным помётом, были сосредоточены в третьем кластере (21 штамм), из субстрата П15, менее тесно сопряжённого с куриным помётом, распределены между первым (6 культур) и вторым (8 культур), а изоляты, ассоциированные с интактной почвой П13 (16 культур), были представлены во всех трёх кластерах в соотношении 5 : 8 : 3. Из этого следует, что культуры стрептомицетов, выделенные из субстратов П11 и П14, обладали сходными характеристиками антибиотической устойчивости, резко отличающимися их от изолятов интактной почвы (П13) и почвы под буртом куриного помёта, ферментируемого в компост (П15). Хотя в последнем случае механического перемешивания компоста с почвой не производилось, нельзя исключить вероятность просачивания влаги сквозь субстрат, обогащённый бактериями, устойчивыми к антимикробным препаратам, и последующий горизонтальный перенос генов антибиотикорезистентности (ARG) в клетки почвенных микроорганизмов.

Наряду с анализом изменчивости зон ингибирования роста изолятов одним и тем же набором тест-антибиотиков, определяли частоту встречаемости изолятов с устойчивостью к антибактериальным препаратам в выборках

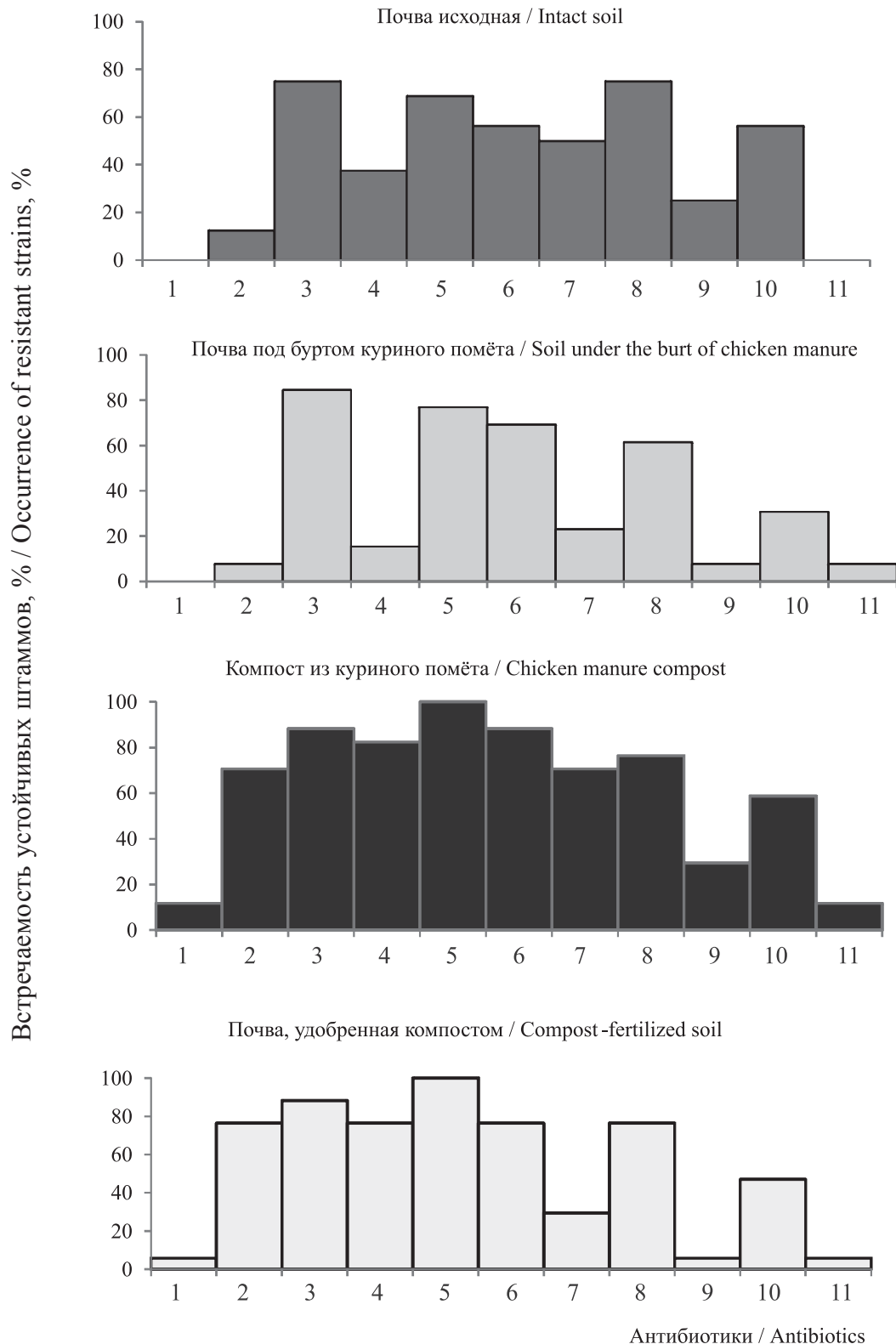


Рис. 2. Антибиотикограммы изолятов стрептомицетов из разных субстратов: 1 – kanamycin, 2 – rifampicin, 3 – trimethoprim/sulfamethoxazole, 4 – tetracycline, 5 – nalidixic acid, 6 – lincomycin, 7 – polymyxin, 8 – amoxicillin, 9 – azithromycin, 10 – ceftriaxon, 11 – streptomycin
Fig. 2. Antibioticograms of streptomycetes isolates from different substrates: 1 – kanamycin, 2 – rifampicin, 3 – trimethoprim/sulfamethoxazole, 4 – tetracycline, 5 – nalidixic acid, 6 – lincomycin, 7 – polymyxin, 8 – amoxicillin, 9 – azithromycin, 10 – ceftriaxon, 11 – streptomycin

равного объёма, полученных из каждого исследуемого субстрата. В резистоме интактной почвы встречаемость устойчивых в среднем по антибиотикам культур составила 35% (рис. 2).

В разрезе отдельных групп антибиотиков с наибольшей частотой в выборке отмечены изоляты с устойчивостью к сульфаниламидам (84,6%) и хинолонам (76,9%). Изоляты, резистентные к аминогликозидам (КАН и СТР), в интактной почве не выявлены. Антибиотический резистом в образце почвы, отобранном под буртом ферментируемого куриного помёта, отличался в сравнении с исходной почвой незначительно: встречаемость устойчивых к антибиотикам изолятов возросла до 41,5%, в выборке отмечены отдельные устойчивые к СТР штаммы (7,7%).

Более существенные отличия от резистома интактной почвы выявлены при определении антибиотической устойчивости стрептомицетов, ассоциированных с самим компостом. Встречаемость устойчивых к антибактериальным препаратам изолятов составила в среднем по антибиотикам 61,5%, т. е. была максимальной. Парное сравнение антибиотических резистомов исследуемых субстратов с помощью U -критерия Манна-Уитни показало, что частота встречаемости устойчивых к РИФ, ТЕТ и НК форм в компосте из куриного помёта статистически значимо выше, чем в интактной почве. Эмпирические значения U -критерия Манна-Уитни ($U_{\text{эмп}}$) составили для РИФ, ТЕТ и НК соответственно 47, 65 и 87,5, при критических значениях U ($U_{\text{кр}}$), соответственно равных 71, 71 ($p \geq 0,01$) и 89 ($p \geq 0,05$).

Достоверная разница по частоте встречаемости устойчивых штаммов к некоторым из испытанных антибиотиков была обнаружена также между исходной почвой и почвой, удобренной компостом на основе ферментированного куриного помёта. Статистически значимое увеличение встречаемости устойчивых изолятов в удобренной почве отмечено в отношении тех же антибиотических препаратов: ТЕТ ($U_{\text{эмп}} = 53,5; p \geq 0,01$), РИФ ($U_{\text{эмп}} = 62; p \geq 0,01$) и НК ($U_{\text{эмп}} = 76,5; p \geq 0,05$). В среднем по препаратам встречаемость устойчивых изолятов составила в удобренной почве 53,5%.

Заключение

Таким образом, антибиотические резистомы компоста из куриного помёта и удобренной им почвы проявили между собой по рассмотренным характеристикам высокое сходство, тогда как резистом почвы, отобран-

ной под буртом куриного помёта, значительно отличался от них и был ближе к резистому интактной почвы.

Сочетание в оценке антибиотических резистомов двух критериев – изменчивости зон ингибирования роста изолятов антибактериальными препаратами и частоты встречаемости в выборках равного объёма изолятов с устойчивостью к этим же препаратам, позволило выявить антибиотики, устойчивость к которым среди почвенных бактерий рода *Streptomyces* статистически достоверно возросла в связи с использованием компоста из куриного помёта. Это – тетрациклины, рифампицины и налидиксовая кислота (группа хинолонов). В литературе ранее отмечалось, что применение птичьего помёта в качестве органического удобрения приводит к увеличению частоты встречаемости в почве генов устойчивости к тетрациклинам и β -лактамам [23]. Наши результаты совпадают с предыдущими данными в отношении тетрациклина, как препарата из наиболее широко используемого класса антибиотиков в ветеринарии и медицине. Различия в отношении других классов антибиотиков, скорее всего, обусловлены спектром конкретных препаратов, применяемых на том или ином птицеводческом предприятии.

Известно, что антибиотики используются для лечения или профилактики заболеваний у 60–80% домашнего скота в США [24]. В Китае сельское хозяйство и животноводство потребляют не менее 100,8 тыс. т антибиотиков ежегодно [25]. В России животные ежегодно употребляют около 3,5 тыс. т антибиотиков, из них 23% – для лечения и профилактики, 19% – в качестве стимуляторов роста, 36% – как противопаразитарные препараты, 22% – как профилактические средства [26]. Препараты антибиотиков, введённые в рацион птицы, оказывают стимулирующее действие на её рост, яйценоскость и эффективное использование корма [27]. Вместе с тем, внесение в почву удобрительных компостов, приготовленных на основе отходов птицеводства и животноводства, может способствовать обогащению почвенного микробиома бактериями, устойчивыми к антибиотикам, широко используемым в ветеринарии, создавая экологический резервуар устойчивости к противомикробным препаратам с потенциальными рисками для здоровья человека и ОС.

В связи с этим целесообразно в рационах кормления животных заменять, по возможности, антибиотики на ростстимулирующие

кормовые добавки, фитобиотики, пробиотические и пребиотические препараты [28, 29]. Безопасные добавки на основе полезных микроорганизмов и биологически активных веществ растительного происхождения оказывают положительное воздействие на здоровье и сохранность поголовья, показатели продуктивности и качество продукции [27].

Кроме того, при использовании птичьего помёта для удобрения сельскохозяйственных почв необходимо придерживаться определённых правил организации агроландшафта. Так, при использовании для удобрения подстилки с птицеферм в недавней работе была показана высокая эффективность в снижении рисков миграции ARG в сточных водах разделительных буферных полос с подсевом местных степных трав [30]. Наличие аналогичных буферов из травы *Panicum virgatum* L. снизило содержание ARG в сточных водах после внесения свиного навоза [31]. Таким образом, создание узких полос из местных трав и разнотравья в объёме 5–25% от общей площади полей сельскохозяйственного назначения можно рассматривать как природоохранную практику и реальную перспективу в улучшении качества ОС в агроэкосистемах в связи с использованием органических удобрений на основе животноводческих отходов.

Работа выполнена в рамках государственного задания ИБ ФИЦ Коми НЦ УрО РАН по теме «Структура и состояние компонентов техногенных экосистем подзоны южной тайги», номер государственной регистрации в ЕГИСУ № 1220401000325.

Литература

1. Лысенко В.П. Куриный помёт – побочная продукция птицефабрик // Птица и птицепродукты. 2013. № 5. С. 65–67.
2. Агафонов Е.В., Каменев Р.А., Ефремов В.А., Манашов Д.А., Бельгин А.А., Громаков А.А., Турчин В.В., Иванов С.М. Использование птичьего помёта в земледелии Ростовской области. Научно-практические рекомендации. Персиановский: Изд-во Донского ГАУ, 2016. 86 с.
3. Heuer H., Solehati Q., Zimmerling U., Kleineidam K., Schloter M., Müller T., Focks A., Thiele-Bruhn S., Smalla K. Accumulation of sulfonamide resistance genes in arable soils due to repeated application of manure containing sulfadiazine // Applied and Environmental Microbiology. 2011. V. 77. No. 7. P. 2527–2530. doi: 10.1128/AEM.02577-10
4. Merchant L.E., Rempel H., Forge T., Kannangara T., Bittman S., Delaquis P., Topp E., Ziebell K.A., Diarra M.S. Characterization of antibiotic-resistant and potentially pathogenic *Escherichia coli* from soil fertilized with litter of broiler chickens fed antimicrobial-supplemented diets // Canadian Journal of Microbiology. 2012. V. 58. No. 9. P. 1084–1098.
5. Hammerum A.M., Lester C.H., Heuer O.E. Antimicrobial-resistant enterococci in animals and meat: A human health hazard? // Foodborne Pathogens and Disease. 2010. V. 7. No. 10. P. 1137–1146.
6. Marshall B.M., Levy S.B. Food animals and antimicrobials: Impacts on human health // Clinical Microbiology Reviews. 2011. V. 24. No. 4. P. 718–733.
7. Global antimicrobial resistance and use surveillance system (GLASS) report: 2022 [Электронный ресурс] <https://publichealthupdate.com/global-antimicrobial-resistance-and-use-surveillance-system-glass-report-2022/> (Дата обращения: 14.12.2022).
8. Zhou N., Cheng Z., Zhang X., Lv C., Guo C., Liu H., Zhu Y. Global antimicrobial resistance: a system-wide comprehensive investigation using the Global One Health Index // Infectious diseases of poverty. 2022. V. 11. No. 1. P. 1–16.
9. Aljeldah M.M. Antimicrobial resistance and its Spread is a global threat // Antibiotics. 2022. V. 11. No. 8. Article No. 1082.
10. Супотницкий М.В. Механизмы развития резистентности к антибиотикам у бактерий // Биопрепараты. 2011. № 2. С. 4–44.
11. Kozhevnikov P.A., Vinogradova K.A., Bulgakova V.G. The soil antibiotic resistome // Moscow University Soil Science Bulletin. 2013. V. 68. No. 2. P. 53–59.
12. D'Costa V.M., King C.E., Kalan L., Morar M., Sung W.W., Schwarz C., Froese D., Zazula G., Calmels F., Debruyne R., Golding G.B., Poinar H.N., Wright G.D. Antibiotic resistance is ancient // Nature. 2011. V. 477. No. 7365. P. 457–461.
13. Allen H.K., Donato J., Wang H.H., Cloud-Hansen K.A., Davies J., Handelsman J. Call of the wild: antibiotic resistance genes in natural environments // Nature Reviews Microbiology. 2010. V. 8. No. 4. P. 251–259.
14. Wang F., Xu M., Stedtfeld R.D., Sheng H., Fan J., Liu M., Tiedje J.M. Long-term effect of different fertilization and cropping systems on the soil antibiotic resistome // Environmental Science & Technology. 2018. V. 52 No. 22. P. 13037–13046.
15. Qing L., Qigen D., Jian H., Hongjun W., Jingdu Ch. Profiles of tetracycline resistance genes in paddy soils with three different organic fertilizer applications // Environmental Pollution. 2022. V. 306. Article No. 119368.
16. Cui E., Wu Y., Zuo Y., Chen H. Effect of different biochars on antibiotic resistance genes and bacterial community during chicken manure composting // Bioresour. Technol. 2016. V. 20. P. 11–17.
17. Fatahi-Bafghi M. Antibiotic resistance genes in the Actinobacteria phylum // Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 2019. V. 38. P. 1599–1624.

18. Kaur P., Peterson E. Antibiotic resistance mechanisms in bacteria: relationships between resistance determinants of antibiotic producers, environmental bacteria, and clinical pathogens // *Frontiers in Microbiology*. 2018. V. 9. Article No. 2928.

19. Гаузе Г.Ф., Преображенская Т.П., Свешникова М.А., Терехова Л.П., Максимова Т.С. Определитель актиномицетов. Роды *Streptomyces*, *Streptoverticillium*, *Chainia*. М.: Наука, 1983. 248 с.

20. Ryan M.C., Stucky M., Wakefield C., Melott J.M., Akbani R., Weinstein J.N., Broom B.M. Interactive clustered heat map builder: An easy web-based tool for creating sophisticated clustered heat maps // *F1000Research*. 2019. V. 8. Article No. 1750.

21. Bonnet C., Diarrassouba F., Brousseau R., Masson L., Topp E., Diarra M.S. Pathotype and antibiotic resistance gene distributions of *Escherichia coli* isolates from broiler chickens raised on antimicrobial-supplemented diets // *Applied and Environmental Microbiology*. 2009. V. 75. No. 22. P. 6955–6962.

22. Fatoba D.O., Abia A.L.K., Amoako D.G., Essack S.Y. Rethinking manure application: Increase in multidrug-resistant *Enterococcus* spp. in agricultural soil following chicken litter application // *Microorganisms*. 2021. V. 9. No. 5. Article No. 885.

23. Merchant L.E., Rempel H., Forge T., Kannangara T., Bittman S., Delaquis P., Topp E., Ziebell K.A., Diarra M.S. Characterization of antibiotic-resistant and potentially pathogenic *Escherichia coli* from soil fertilized with litter of broiler chickens fed antimicrobial-supplemented diets // *Canadian Journal of Microbiology*. 2012. V. 58. No. 9. P. 1084–1098.

24. Literature review of contaminants in livestock and poultry manure and implications for water quality (EPA 820-R-13-002). Washington, DC: United States Environmental Protection Agency, 2013. 137 p.

25. Zhou L.J., Ying G.G., Liu S., Zhang R.Q., Lai H.J., Chen Z.F. Excretion masses and environmental occurrence of antibiotics in typical swine and dairy cattle farms in China // *Sci. Total Environ*. 2013. V. 444. P. 183–195.

26. Капитонова Е.А., Гласкович М.А., Кузьменко П.М., Гласкович С.А., Соболев Б.Н. Современное состояние и проблемы применения антибиотиков в сельском хозяйстве // *Учёные записки УО ВГАВМ*. 2011. Т. 47. Вып. 2. С. 284–288 [Электронный ресурс] <http://repo.vsavm.by/handle/123456789/704> (Дата обращения: 24.01.2023).

27. Шацких Е.В., Галиев Д.М., Нуфер А.И. Мясная продуктивность цыплят-бройлеров при замене кормовых антибиотиков в рационе на ростостимулирующие кормовые добавки // *Птица и птицепродукты*. 2019. № 6. С. 26–29.

28. Фисинин В.И., Егоров И.А., Лаптев Г.Ю., Ленкова Т.Н., Никонов И.Н., Ильина Л.А., Манукян В.А., Грозина А.А., Егорова Т.А., Новикова Н.И., Ёлдырым Е.А. Получение продукции птицеводства без антибиотиков с использованием перспективных программ кормления на основе пробиотических препаратов // *Вопросы питания*. 2017. № 6. С. 114–124.

29. Васильева О.А., Нуфер А.И., Шацких Е.В. Альтернативные пути замены кормовых антибиотиков // *Эффективное животноводство*. 2019. № 4. С. 13–15 [Электронный ресурс] <https://cyberleninka.ru/article/n/alternativnye-puti-zameny-kormovyh-antibiotikov> (Дата обращения: 24.01.2023).

30. Flater J.S., Alt L.M., Soupir M., Moorman T.B., Howe A. Prairie strips' effect on transport of antimicrobial resistance indicators in poultry litter // *Journal of Environmental Quality*. 2022. V. 51. No. 2. P. 260–271.

31. Soni B., Bartelt-Hunt S.L., Snow D.D., Gilley J.E., Woodbury B.L., Marx D.B., Li X. Narrow grass hedges reduce tylosin and associated antimicrobial resistance genes in agricultural runoff // *Journal of Environment Quality*. 2015. V. 44. No. 3. P. 895–902.

References

1. Lysenko V.P. Chicken droppings – by-products of poultry farms // *Ptitsa i ptitseprodukty*. 2013. No. 5. P. 65–67 (in Russian).

2. Agafonov E.V., Kamenev R.A., Efremov V.A., Manashov D.A., Belgin A.A., Gromakov A.A., Turchin V.V., Ivanov S.M. The use of bird droppings in agriculture of the Rostov region: scientific and practical recommendations. *Persianovskiy: Izd-vo Donskogo GAU*, 2016. 86 p. (in Russian).

3. Heuer H., Solehati Q., Zimmerling U., Kleinedam K., Schloter M., Müller T., Focks A., Thiele-Bruhn S., Smalla K. Accumulation of sulfonamide resistance genes in arable soils due to repeated application of manure containing sulfadiazine // *Applied and Environmental Microbiology*. 2011. V. 77. No. 7. P. 2527–2530. doi: 10.1128/AEM.02577-10

4. Merchant L.E., Rempel H., Forge T., Kannangara T., Bittman S., Delaquis P., Topp E., Ziebell K.A., Diarra M.S. Characterization of antibiotic-resistant and potentially pathogenic *Escherichia coli* from soil fertilized with litter of broiler chickens fed antimicrobial-supplemented diets // *Canadian Journal of Microbiology*. 2012. V. 58. No. 9. P. 1084–1098. doi: 10.1139/w2012-082

5. Hammerum A.M., Lester C.H., Heuer O.E. Antimicrobial-resistant enterococci in animals and meat: A human health hazard? // *Foodborne Pathogens and Disease*. 2010. V. 7. No. 10. P. 1137–1146. doi: 10.1089/fpd.2010.0552

6. Marshall B.M., Levy S.B. Food animals and antimicrobials: Impacts on human health // *Clinical Microbiology Reviews*. 2011. V. 24. No. 4. P. 718–733. doi: 10.1128/CMR.00002-11

7. Global antimicrobial resistance and use surveillance system (GLASS) report: 2022 [Internet resource] <https://publichealthupdate.com/global-antimicrobial-resistance-and-use-surveillance-system-glass-report-2022/> (Accessed: 14.12.2022).

8. Zhou N., Cheng Z., Zhang X., Lv C., Guo C., Liu H., Zhu Y. Global antimicrobial resistance: a system-wide comprehensive investigation using the Global One Health Index // *Infectious diseases of poverty*. 2022. V. 11. No. 1. P. 1–16. doi: 10.1186/s40249-022-01016-5

9. Aljeldah M.M. Antimicrobial resistance and its Spread is a global threat // *Antibiotics*. 2022. V. 11. No. 8. Article No. 1082. doi: 10.3390/antibiotics11081082
10. Supotnitsky M.V. Mechanisms of development of resistance to antibiotics in bacteria // *Biopreparaty*. 2011. No. 2. P. 4–44 (in Russian).
11. Kozhevnikov P.A., Vinogradova K.A., Bulgakova V.G. The soil antibiotic resistome // *Moscow University Soil Science Bulletin*. 2013. V. 68. No. 2. P. 53–59. doi: 10.3103/S014768741302004X
12. D'Costa V.M., King C.E., Kalan L., Morar M., Sung W.W., Schwarz C., Froese D., Zazula G., Calmels F., Debruyne R., Golding G.B., Poinar H.N., Wright G.D. Antibiotic resistance is ancient // *Nature*. 2011. V. 477. No. 7365. P. 457–461. doi: 10.1038/nature10388
13. Allen H.K., Donato J., Wang H.H., Cloud-Hansen K.A., Davies J., Handelsman J. Call of the wild: antibiotic resistance genes in natural environments // *Nature Reviews Microbiology*. 2010. V. 8. No. 4. P. 251–259. doi: 10.1038/nrmicro2312
14. Wang F., Xu M., Stedtfeld R.D., Sheng H., Fan J., Liu M., Tiedje J.M. Long-term effect of different fertilization and cropping systems on the soil antibiotic resistome // *Environmental Science & Technology*. 2018. V. 52. No. 22. P. 13037–13046. doi: 10.1021/acs.est.8b04330
15. Qing L., Qigen D., Jian H., Hongjun W., Jingdu Ch. Profiles of tetracycline resistance genes in paddy soils with three different organic fertilizer applications // *Environmental Pollution*. 2022. V. 306. Article No. 119368. doi: 10.1016/j.envpol.2022.119368
16. Cui E., Wu Y., Zuo Y., Chen H. Effect of different biochars on antibiotic resistance genes and bacterial community during chicken manure composting // *Bioresour. Technol.* 2016. V. 20. P. 11–17. doi: 10.1016/j.biortech.2015.12.030
17. Fatahi-Bafghi M. Antibiotic resistance genes in the Actinobacteria phylum // *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2019. V. 38. P. 1599–1624. doi: 10.1007/s10096-019-03580-5
18. Kaur P., Peterson E. Antibiotic resistance mechanisms in bacteria: relationships between resistance determinants of antibiotic producers, environmental bacteria, and clinical pathogens // *Frontiers in Microbiology*. 2018. V. 9. Article No. 2928. doi: 10.3389/fmicb.2018.02928
19. Gause G.F., Preobrazhenskaya T.P., Sveshnikova M.A., Terekhova L.P., Maksimova T.S. Determinant of actinomycetes. The genera *Streptomyces*, *Streptoverticillium*, *Chainia*. Moskva: Nauka, 1983. 248 p. (in Russian).
20. Ryan M.C., Stucky M., Wakefield C., Melott J.M., Akbani R., Weinstein J.N., Broom B.M. Interactive clustered heat map builder: An easy web-based tool for creating sophisticated clustered heat maps // *F1000Research*. 2019. V. 8. Article No. 1750. doi: 10.12688/f1000research.20590.2
21. Bonnet C., Diarrassouba F., Brousseau R., Masson L., Topp E., Diarra M.S. Pathotype and antibiotic resistance gene distributions of *Escherichia coli* isolates from broiler chickens raised on antimicrobial-supplemented diets // *Applied and Environmental Microbiology*. 2009. V. 75. No. 22. P. 6955–6962. doi: 10.1128/AEM.00375-09
22. Fatoba D.O., Abia A.L.K., Amoako D.G., Es-sack S.Y. Rethinking manure application: Increase in multidrug-resistant *Enterococcus* spp. in agricultural soil following chicken litter application // *Microorganisms*. 2021. V. 9. No. 5. Article No. 885. doi: 10.3390/microorganisms9050885
23. Merchant L.E., Rempel H., Forge T., Kannangara T., Bittman S., Delaquis P., Topp E., Ziebell K.A., Diarra M.S. Characterization of antibiotic-resistant and potentially pathogenic *Escherichia coli* from soil fertilized with litter of broiler chickens fed antimicrobial-supplemented diets // *Canadian Journal of Microbiology*. 2012. V. 58. No. 9. P. 1084–1098. doi: 10.1139/w2012-082
24. Literature review of contaminants in livestock and poultry manure and implications for water quality (EPA 820-R-13-002). Washington, DC: United States Environmental Protection Agency, 2013. 137 p.
25. Zhou L.J., Ying G.G., Liu S., Zhang R.Q., Lai H.J., Chen Z.F. Excretion masses and environmental occurrence of antibiotics in typical swine and dairy cattle farms in China // *Sci. Total Environ.* 2013. V. 444. P. 183–195.
26. Kapitonova E.A., Glaskovich M.A., Kuzmenko P.M., Glaskovich S.A., Sobolev B.N. The current state and problems of the use of antibiotics in agriculture // *Uchenyye zapiski UO VGAVM*. 2011. V. 47. No. 2. P. 284–288 [Internet resource] <http://repo.vsavm.by/handle/123456789/704> (Accessed: 24.01.2023) (in Russian).
27. Shatskikh E.V., Galiev D.M., Nufer A.I. Meat productivity of broiler chickens when replacing feed antibiotics in the diet with growth-stimulating feed additives // *Ptitsa i ptitseprodukty*. 2019. No. 6. P. 26–29 (in Russian).
28. Fisinin V.I., Egorov I.A., Laptev G. Yu., Lenkova T.N., Nikonov I.N., Ilyina L.A., Manukyan V.A., Grozina A.A., Egorova T.A., Novikova N.I., Yildirim E.A. Obtaining poultry products without antibiotics using promising feeding programs based on probiotic preparations // *Voprosy pitaniya*. 2017. No. 6. P. 114–124 (in Russian).
29. Vasil'eva O.A., Nufer A.I., Shatskikh E.V. Alternative ways to replace feed antibiotics // *Efektivnoye zhivotnovodstvo*. 2019. No. 4. P. 13–15 [Internet resource] <https://cyberleninka.ru/article/n/alternativnye-puti-zameny-kormovyh-antibiotikov> (Accessed: 24.01.2023).
30. Flater J.S., Alt L.M., Soupir M., Moorman T.B., Howe A. Prairie strips' effect on transport of antimicrobial resistance indicators in poultry litter // *Journal of Environmental Quality*. 2022. V. 51. No. 2. P. 260–271. doi: 10.1002/jeq2.20333
31. Soni B., Bartelt-Hunt S.L., Snow D.D., Gilley J.E., Woodbury B.L., Marx D.B., Li X. Narrow grass hedges reduce tylosin and associated antimicrobial resistance genes in agricultural runoff // *Journal of Environment Quality*. 2015. V. 44. No. 3. P. 895–902. doi: 10.2134/jeq2014.09.0389