

Влияние нитрапирина на микробиоту и эмиссию парниковых газов из побочных продуктов животноводства

© 2024. Н. В. Сырчина¹, к. х. н., доцент, с. н. с.,

Л. В. Пилип², к. в. н., доцент,

Т. Я. Ашихмина^{1,3}, д. т. н., профессор, г. н. с., зав. лабораторией,

¹Вятский государственный университет,

610000, Россия, г. Киров, ул. К. Маркса, д. 112,

²Вятский государственный агротехнологический университет,

610017, Россия, г. Киров, Октябрьский проспект, д. 133,

³Институт биологии Коми научного центра

Уральского отделения Российской академии наук,

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

e-mail: nvms1956@mail.ru, pilip_larisa@mail.ru, ecolab2@gmail.com

Для побочных продуктов животноводства (ППЖ), применяемых в качестве удобрений, характерны такие неблагоприятные экологические характеристики, как выбросы парниковых газов (N_2O , CO_2 , CH_4) и наличие специфической микробиоты, приводящей к биологическому загрязнению почвы и водных источников. Снижению отрицательного воздействия ППЖ на окружающую среду способствует обработка соответствующего отхода нитрапирином. В настоящее время нитрапирин используют в качестве стабилизатора азотных удобрений, снижающего потери азота за счёт прямого ингибирования нитрифицирующих бактерий, окисляющих аммонийный азот в нитратный. В результате выполненных исследований установлено, что внесение нитрапирина в норме 0,05 г/л в жидкую фракцию свиных навозных стоков приводит к уменьшению эмиссии CH_4 и CO_2 , а также снижению видового разнообразия и численности условно-патогенных микроорганизмов, способствующих переносу генов антибиотикорезистентности в природные среды. Под влиянием нитрапирина количество таких микроорганизмов, как *Klebsiella* sp., *Proteus* spp., *Bacteroides* sp., *Pseudomonas* spp., *Candida* sp. сократилось на 2–4 порядка. Устойчивость к воздействию соответствующего реагента проявили только анаэробные бактерии рода *Clostridium* и аэробные плесневые грибы рода *Aspergillus*, численность которых в вариантах с добавкой нитрапирина практически не изменилась. Наиболее значительное снижение эмиссии CO_2 (в 2–5 раз по сравнению с контролем) наблюдали в первые 3–4 дня после внесения нитрапирина. Эмиссия CH_4 в вариантах с добавкой нитрапирина была ниже, чем в контроле на протяжении всего периода наблюдений (13 суток). Полученные экспериментальные данные можно использовать при разработке составов реагентов для улучшения микробиологических характеристик и снижения эмиссии парниковых газов из систем сбора навозных стоков животноводческих предприятий.

Ключевые слова: навоз, нитрапирин, ингибитор нитрификации, парниковые газы, метан, микробиота навозных стоков, побочные продукты животноводства.

The effect of nitrapyrin on microbiota and emissions of greenhouse gas from livestock by-products

© 2024. N. V. Syrchina¹ ORCID: 0000-0001-8049-6760[†]

L. V. Pilip² ORCID: 0000-0001-9695-7146[†]

T. Ya. Ashikhmina^{1,3} ORCID: 0000-0003-4919-0047[†]

¹Vyatka State University,

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

²Vyatka State Agrotechnological University,

133, Oktyabrsky Pr., Kirov, Russia, 610017,

³Institute of Biology of Komi Scientific Centre of the Ural Branch

of the Russian Academy of Sciences,

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

e-mail: nvms1956@mail.ru, pilip_larisa@mail.ru, ecolab2@gmail.com

The livestock by-products (LBP) using as fertilizers are characterized by such unfavorable environmental characteristics as emissions of greenhouse gases (N_2O , CO_2 , CH_4) and the presence of a specific microbiota leading to soil and water biological contamination. The waste processing by nitrapyrin reduces the negative environmental impact of LBP. Currently, nitrapyrin is used as a nitrogen fertilizer stabilizer that reduces nitrogen losses by direct inhibition of soil microorganisms (MO) oxidizing ammonium nitrogen to nitrate. It was found that 0.05 g/L nitrapyrin application to the liquid pig manure effluents decreases the CH_4 and CO_2 emissions, as well as the species diversity and the number of opportunistic pathogens that promote the transfer of antibiotic resistance genes into natural environments. The number of such MO as *Klebsiella* sp., *Proteus* spp., *Bacteroides* sp., *Pseudomonas* spp., *Candida* sp. decreased by 2–4 orders of magnitude due to nitrapyrin. Only anaerobic bacteria of the genus *Clostridium* and aerobic mold fungi of the genus *Aspergillus* showed the resistance to the appropriate reagent, the number of the above MO remained almost unchanged in the nitrapyrin variants. The most significant decrease in CO_2 emission (2–5 times compared to control) was observed in the first 3–4 days after the nitrapyrin application. The CH_4 emission in nitrapyrin variants was lower than in the control during the whole observation period (13 days). The obtained experimental data can be used in the development of reagent formulations to improve microbiological characteristics and to reduce greenhouse gases emission from manure collection systems of livestock enterprises.

Keywords: manure, nitrapyrin, inhibitor of nitrification, greenhouse gases, methane, microbiota of manure effluent, livestock by-products.

Побочные продукты животноводства (ППЖ), к числу которых относятся навоз, навозные стоки (НС), птичий помёт, являются хорошей питательной средой для развития различных микроорганизмов (МО), жизнедеятельность которых сопровождается эмиссией в окружающую среду (ОС) трёх важнейших парниковых газов (ПГ): диоксида углерода (CO_2), метана (CH_4) и оксида азота(I) (N_2O) [1]. Диоксид углерода является конечным продуктом микробиологического окисления содержащегося в ППЖ органического углерода, CH_4 синтезируется в процессе метанового брожения органических веществ в анаэробных условиях, а N_2O – в процессе микробиологического окисления азотсодержащих органических веществ и катионов аммония. Выполненные в США исследования показали, что объёмы выбросов ПГ (в CO_2 -эквиваленте) на тонну навоза на фермах крупного рогатого скота варьируют в широких пределах и, в зависимости от производительности и применяемых на фермах технологий, составляют: от 2200 до 12000 г/т на этапе сбора навоза; от 200 до 2400 г/т на этапе транспортировки; от 16000 до 84000 г/т на этапе хранения; от 16400 до 33500 г/т после внесения навоза в почву [2]. Для уменьшения выбросов ПГ предлагаются различные стратегии, базирующиеся на регулировании рационов, селекции, оптимизации способов содержания животных, а также технологий сбора, обработки и утилизации ППЖ [3].

Одним из перспективных направлений регулирования эмиссии ПГ может стать обработка НС химическими реагентами, оказывающими влияние на жизнедеятельность определённых групп МО [4, 5]. В ряде исследований показано, что применение ингибиторов нитрификации способствует значительному снижению выбросов N_2O [6, 7],

обработка НС тимолом приводит к снижению эмиссии CH_4 [8], аналогичный эффект обеспечивает внесение в навоз смеси дубильной кислоты и фторида натрия [9], антибиотиков [10], богатых галлокатахином и эпигаллокатахином растительных экстрактов, [11], подкисление НС минеральными и органическими кислотами [12–14]. Однако практическое применение могут найти только химические реагенты, отвечающие следующим требованиям: экологическая безопасность, быстрая деградация в ОС, низкие нормы расхода, доступная цена, эффективное снижение эмиссии ПГ [15]. К числу таких реагентов можно отнести ингибитор нитрификации нитрапирин – 2-хлор-6-(трихлорметил)пиридин. Соответствующий пестицид используется в практике сельского хозяйства в качестве стабилизатора азотных удобрений с 1974 г. К преимуществам нитрапирина можно отнести высокую эффективность в качестве ингибитора нитрификации, среднюю степень токсичности, низкие нормы расхода и быструю деградацию в ОС [16], что имеет принципиальное значение для минимизации рисков химического загрязнения пахотных земель [17]. Основное назначение нитрапирина – повышение эффективности использования азота в интенсивных системах земледелия за счёт прямого ингибирования почвенных МО, окисляющих аммонийный азот [18, 19]. Согласно результатам многочисленных исследований, нитрапирин способствует не только снижению выбросов N_2O [20, 21], но и оказывает влияние на эмиссию других ПГ: CO_2 и CH_4 [22–24], что повышает интерес к изучению возможности использования соответствующего реагента в системах сбора и обработки навоза и НС для снижения потерь азота и уменьшения выбросов ПГ [25, 26]. Следует отметить, что до настоящего времени

основное внимание научных исследований было сосредоточено на изучении влияния нитрапирина на эмиссию N_2O , а также микробиоту, участвующую в процессах нитрификации. Воздействие этого пестицида на другие группы МО практически не изучено. Особенно мало информации о влиянии нитрапирина на микробиоту ППЖ и выбросы CO_2 и CH_4 . Вместе с тем исследования в соответствующем направлении могут иметь большое практическое значение, особенно в плане определения перспектив применения нитрапирина для снижения эмиссии соответствующих ПГ, а также оценки потенциальных рисков, связанных с использованием обработанных нитрапирином ППЖ в сельском хозяйстве.

Цель работы – изучить влияние нитрапирина на эмиссию парниковых газов (CH_4 , CO_2) и состав микробиоты жидкой фракции свиных навозных стоков.

Материалы и методы исследования

Изучение влияния нитрапирина на эмиссию ПГ и состав микробиоты выполняли на примере жидкой фракции свиных навозных стоков (ЖФ). Образцы ЖФ были предоставлены одним из крупных свиноводческих предприятий Кировской области. Жидкую фракцию отбирали сразу после сепарирования стоков, удаляемых из навозонакопительных ванн. Время нахождения НС в навозонакопительных ваннах от начала заполнения

до удаления и сепарирования составляло 12 ± 1 сут. В таблице 1 приведены основные характеристики используемой для проведения исследований ЖФ (средние значения и стандартные отклонения трёх параллельных определений).

Изучение влияния нитрапирина на эмиссию CH_4 и CO_2 выполняли в лабораторных условиях. Пробы ЖФ помещали в пластиковые пятилитровые ёмкости (по 4 л в каждую ёмкость), вносили добавки нитрапирина ($0,05$ г/л в расчёте на чистое вещество), перемешивали, закрывали крышками и оставляли в помещении при температуре $+20 \pm 2$ °С в условиях слабого естественного освещения. Дозировку нитрапирина рассчитывали, исходя из опубликованных материалов, согласно которым добавка соответствующего пестицида к свиному навозу в норме $25–50$ мг/л приводит к повышению урожайности сельскохозяйственных культур [27].

Начало эксперимента (внесение добавок нитрапирина) – 5.04.2023 г.; окончание эксперимента – 17.04.2023 г.

Варианты эксперимента: 1) ЖФ без добавок (контроль); 2) ЖФ + нитрапирин (эксперимент).

Для измерения содержания CH_4 и CO_2 в выделяемых их ЖФ газах применяли переносной автоматический газоанализатор ГАНК-4 (ООО «НПО «ПРИБОР» ГАНК», Россия) с принудительным отбором проб воздуха.

Отбор проб для выполнения микробиоло-

Таблица 1 / Table 1
Основные характеристики жидкой фракции (ЖФ) свиных навозных стоков
Main characteristics of the liquid pig manure effluents (LF)

Показатель Indicator	Значение Value	Метод анализа Method of analysis
Влажность, % Moisture, %	$98,1 \pm 1,5$	Гравиметрический (высушивание навески ЖФ в термостате при температуре 107 ± 2 °С до постоянной массы) / Gravimetric (the LF sample drying in a thermostat at a temperature of 107 ± 2 °С to a constant mass)
Активная кислотность, ед. рН Active acidity, pH units	$6,8 \pm 0,1$	Потенциометрический Potentiometric
Органическое вещество, % (на сухое вещество) / Organic matter, % (on dry matter basis)	$1,52 \pm 0,19$	Термогравиметрический по ГОСТ 27980-88 Thermogravimetric according to GOST 27980-88
N (общий), % (на сухое вещество) N (total), % (on dry matter basis)	$3,4 \pm 0,1$	Метод Кьельдаля по ГОСТ 26715 The Kjeldahl method according to GOST 26715
P_2O_5 (общий), % (на сухое вещество) P_2O_5 (total), % (on dry matter basis)	$0,33 \pm 0,07$	Фотометрический по ГОСТ 26717 Photometric according to GOST 26717
K_2O (общий), % (на сухое вещество) K_2O (total), % (on dry matter basis)	$1,32 \pm 0,26$	Пламенная фотометрия по ГОСТ 26718 Flame photometry according to GOST 26718

гических исследований проводили в стерильные ёмкости с соблюдением правил асептики и антисептики и в течение 1 часа доставляли в специализированную микробиологическую лабораторию. Пробы отбирали до внесения, а также через 13 сут после внесения добавок нитрапирина (окончание эксперимента). Поскольку на поверхности ЖФ за время наблюдений сформировались колонии МО в виде биоплёнок, то для микробиологических исследований отбирали как пробы биоплёнок, так и пробы бактериопланктона (с глубины 12–15 см).

Общую численность МО определяли методом посева на питательные среды в соответствии с ОФС.1.7.2.0008.15 «Определение концентрации микробных клеток» (приказ МЗ РФ от 31.10.2018 №749). Микробиологические исследования включали посев из серии десятикратных разведений суспензии исследуемых МО на плотную питательную среду, инкубацию и подсчёт количества колоний.

В исследованиях использовали следующие питательные среды: Эндо, Левина, Плоскирева – для определения численности бактерий группы кишечной палочки – (БГКП), желточно-солевой агар – численности стафилококков, мясо-пептонный агар – численности сарцин, «Клебсиелла 5-АСК» – численности клебсиелл, ЦПХ-агар – численности псевдомонад, Блаурокка – численности бифидобактерий, MRS-агар (HiMedia, Индия) – для определения лактобактерий, АнаАэроагар (HiMedia, Индия) – для определения анаэробных бактерий, Сабуро – для определения дрожжей, Pitt-агар – для определения численности грибов рода *Aspergillus* (HiMedia, Индия).

Идентификацию МО проводили с использованием биохимических тестов ERBA Lachema: АНАЭРОтест23, ЭНТЕРОтест 24N, СТАФИтест16, СТРЕПТОтест16, САНДИДАтест21 (Erba Lachema, Чехия), АР120СНL, АР150СНL (bioMerieux, Франция).

Кроме того, таксономическое положение МО устанавливали в реакции агглютинации с использованием диагностических родо- и видоспецифических агглютинирующих сывороток (ООО «РЕАГЕНТ», Россия).

Микробиологические и газоаналитические исследования проводили в трёхкратной повторности. Статистическую обработку полученных результатов выполняли стандартными методами с использованием встроенного пакета программ Microsoft Excel.

Результаты и обсуждение

Внесение нитрапирина оказало существенное влияние как на микробиоту, так и на эмиссию CO_2 и H_2O из ЖФ.

Данные о количестве выявленных МО в разных вариантах эксперимента приведены в таблице 2.

Согласно результатам микробиологических исследований, высокую устойчивость к воздействию нитрапирина проявили только анаэробные спорообразующие бактерии рода *Clostridium* и аэробные плесневые грибы рода *Aspergillus*. Численность соответствующих МО в экспериментальном варианте по сравнению с контролем практически не изменилась. Наличие *Clostridium* и *Aspergillus* в НС, используемых в качестве удобрений, весьма нежелательно. Род *Clostridium* насчитывает более 80 видов. Оптимальными условиями для их размножения являются нейтральная или слабощелочная среда и температура 30–40 °С. Клостридии способны метаболизировать практически все биогенные органические компоненты, содержащиеся в НС. Высокая устойчивость к широко применяемым в животноводстве антибиотикам и другим химическим препаратам способствует выживанию данных МО не только в НС, но и в природных средах, что приводит к микробиологическому загрязнению почвы и водных объектов [28].

Поступление в ОС плесневых грибов рода *Aspergillus* способствует обострению проблемы фитотоксикоза почв [29]. Опасность развития фитотоксикоза повышается на фоне структурной и химической деградации почвы, переувлажнения, внесения высоких норм удобрений, сокращения ротации сельскохозяйственных культур. Соответствующие факторы обеспечивают благоприятные условия для неизвестной ранее аллелопатии грибов рода *Fusarium* с грибами *Aspergillus* и *Penicillium*. Грибы рода *Aspergillus* оказывают стимулирующее влияние на спорообразующую активность и продуцирование грибами рода *Fusarium* фитотоксинов, приводящих к быстрой гибели растений.

Численность МО других родов, выявленных в ЖФ, под влиянием нитрапирина, существенно сократилась. Из состава микробиоты полностью исчезли *Sarcina ventriculi*, *Anaerococcus prevotii*, *Bifidobacterium* spp. Непатогенные лактобактерии сохранились только в составе бактериопланктона, но их количество уменьшилось примерно в 10 раз. Аналогичный результат был получен и для условно-

Таблица 2 / Table 2

Состав микробиоты жидкой фракции навозных стоков
Microbiota composition of the liquid manure effluents

Микроорганизмы Microorganisms	Количество микроорганизмов, КОЕ/мл Number of microorganisms, CFU/mL				
	До внесения добавок Before additive application	Через 13 суток после внесения добавок 13 days after additive application			
		Контроль Control		Эксперимент Experiment	
		биоплёнки biofilms	бактерио- планктон bacterial plankton	биоплёнки biofilms	бактерио- планктон bacterial plankton
<i>Staphylococcus aureus</i>	$(4,0 \pm 0,4) \cdot 10^2$	отсутствует / not found			
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	$(6,2 \pm 0,6) \cdot 10^7$	отсутствует / not found			
<i>Enterococcus</i> sp.	$(7,5 \pm 0,6) \cdot 10^6$	отсутствует / not found			
<i>Escherichia coli</i>	$(5,4 \pm 0,6) \cdot 10^7$	$(2,6 \pm 0,3) \cdot 10^3$	$(3,6 \pm 0,4) \cdot 10^6$	$(0,6 \pm 0,3) \cdot 10^2$	$(0,7 \pm 0,3) \cdot 10^2$
<i>Klebsiella</i> sp.	$(4,2 \pm 0,4) \cdot 10^2$	$(1,4 \pm 0,3) \cdot 10^2$	$(2,4 \pm 0,4) \cdot 10^4$	отсутствует / not found	$(1,2 \pm 0,3) \cdot 10^1$
<i>Candida</i> sp.	$(5,5 \pm 0,6) \cdot 10^4$	$(2,4 \pm 0,3) \cdot 10^3$	$(2,1 \pm 0,3) \cdot 10^6$	отсутствует / not found	$(4,8 \pm 0,6) \cdot 10^3$
<i>Proteus</i> spp.	$(6,6 \pm 0,7) \cdot 10^3$	$(2,1 \pm 0,4) \cdot 10^3$	$(6,2 \pm 0,8) \cdot 10^6$	отсутствует / not found	$(3,8 \pm 0,5) \cdot 10^2$
<i>Bacteroides</i> sp. (<i>B. ovatus</i> , <i>B. vulgates</i> , <i>B. fragilis</i>)	$(4,1 \pm 0,3) \cdot 10^5$	$(1,0 \pm 0,3) \cdot 10^2$	$(5,4 \pm 0,7) \cdot 10^6$	отсутствует / not found	$(4,3 \pm 0,5) \cdot 10^2$
<i>Fusobacterium</i> sp. (<i>F. nucleatum</i> , <i>F. varium</i> , <i>F. necrophorum</i>)	$(6,3 \pm 0,5) \cdot 10^4$	$(2,4 \pm 0,3) \cdot 10^2$	$(6,6 \pm 0,8) \cdot 10^5$	$(2,4 \pm 0,3) \cdot 10^1$	$(4,6 \pm 0,5) \cdot 10^3$
<i>Prevotella</i> sp. (<i>P. buccalis</i> , <i>P. oralis</i> , <i>P. intermedia</i> , <i>P. bivia</i> , <i>P. melaninogenica</i>)	$(5,8 \pm 0,7) \cdot 10^5$	$(1,8 \pm 0,2) \cdot 10^3$	$(3,0 \pm 0,3) \cdot 10^6$	$(2,8 \pm 0,3) \cdot 10^1$	$(4,5 \pm 0,5) \cdot 10^3$
<i>Clostridium</i> spp.	$(7,5 \pm 0,8) \cdot 10^5$	$(5,6 \pm 0,5) \cdot 10^5$	$(3,8 \pm 0,3) \cdot 10^7$	$(3,4 \pm 0,5) \cdot 10^5$	$(2,2 \pm 0,4) \cdot 10^7$
<i>Peptococcus</i> sp. (<i>P. niger</i>)	$(4,5 \pm 0,3) \cdot 10^3$	отсутствует / not found			
<i>Peptostreptococcus</i> sp. (<i>P. anaerobius</i>)	$(7,4 \pm 0,8) \cdot 10^4$	отсутствует / not found			
<i>Peptoniphilus</i> sp. (<i>P. asaccharolyticus</i>)	$(6,1 \pm 0,5) \cdot 10^3$	отсутствует / not found	$(1,8 \pm 0,2) \cdot 10^5$	отсутствует / not found	
<i>Sarcina ventriculi</i>	$(3,3 \pm 0,3) \cdot 10^5$	отсутствует / not found	$(1,5 \pm 0,2) \cdot 10^6$	отсутствует / not found	
<i>Veillonella parvula</i>	$(6,4 \pm 0,5) \cdot 10^4$	отсутствует / not found			
<i>Pseudomonas</i> spp.	$(6,4 \pm 0,3) \cdot 10^2$	$(1,6 \pm 0,3) \cdot 10^2$	$(3,0 \pm 0,4) \cdot 10^3$	отсутствует / not found	$(4,6 \pm 0,5) \cdot 10^1$
<i>Acidaminococcus fermentans</i>	$(4,2 \pm 0,3) \cdot 10^4$	отсутствует / not found			
<i>Anaerococcus prevotii</i>	$(1,6 \pm 0,4) \cdot 10^4$	отсутствует / not found	$(4,3 \pm 0,4) \cdot 10^2$	отсутствует / not found	
<i>Bifidobacterium</i> spp.	$(5,5 \pm 0,4) \cdot 10^8$	$(1,2 \pm 0,3) \cdot 10^3$	$(5,3 \pm 0,4) \cdot 10^7$	отсутствует / not found	
<i>Lactobacillus</i> spp.	$(4,2 \pm 0,4) \cdot 10^7$	$(1,4 \pm 0,3) \cdot 10^4$	$(5,4 \pm 0,5) \cdot 10^7$	отсутствует / not found	$(4,6 \pm 0,4) \cdot 10^6$
<i>Aspergillus</i> spp.	$(2,3 \pm 0,3) \cdot 10^5$	$(3,6 \pm 0,3) \cdot 10^5$	$(2,5 \pm 0,3) \cdot 10^6$	$(3,6 \pm 0,5) \cdot 10^5$	$(5,2 \pm 0,6) \cdot 10^5$
Общая численность микроорганизмов Total number of microorganisms	$(7,2 \pm 0,4) \cdot 10^8$	$(9,3 \pm 0,5) \cdot 10^5$	$(1,7 \pm 0,3) \cdot 10^8$	$(7,0 \pm 0,4) \cdot 10^5$	$(2,3 \pm 0,4) \cdot 10^7$

патогенных видов, таких как *Klebsiella* sp., *Proteus* spp., *Bacteroides* sp., *Pseudomonas* spp., *Candida* sp., которые сохранились в бактериопланктоне, но исчезли из состава биоплёнок. Данные МО имеют целый ряд негативных экологических и санитарно-гигиенических характеристик. Так, бактерии рода *Klebsiella* входят в число основных возбудителей внутрибольничных инфекций. В 2017 г. ВОЗ причислила клебсиеллы к наиболее опасным бактериям в связи с их резистентностью к существующим антибактериальным препаратам. Множественная устойчивость к антибиотикам характерна и для бактерий, относящихся к родам *Proteus*, *Pseudomonas* и *Bacteroides* [30]. Устранение соответствующих МО из состава микробиоты способствует улучшению экологических характеристик ЖФ, в том числе снижению интенсивности переноса генов антибиотикорезистентности в ОС. Характерные для НС микроскопические дрожжеподобные грибы рода *Candida* (*C. albicans*, *C. glabrata*) могут вызывать опасные инфекции слизистых оболочек или системные инфекции у людей и животных. Отсутствие кандид в составе биоплёнок, обусловленное добавкой нитрапирина, уменьшает риски развития кандидозов у животных и людей.

Определённую чувствительность к нитрапирину проявила и *Escherichia coli*, однако, в отличие от других МО, численность кишечной палочки наиболее существенно снизилась не в биоплёнках, а в бактериопланктоне. Повышенная жизнеспособность *E. coli* в составе биоплёнок может быть обусловлена способностью этих бактерий образовывать устойчивые ассоциации с другими МО [31]. В целом микробиологические исследования показали, что обработка нитрапирином приводит к снижению численности и видового разнообразия

характерной для ЖФ условно-патогенной микробиоты.

В таблице 3 приведены экспериментальные данные (средние значения и стандартные отклонения), характеризующие влияние нитрапирина на концентрацию CH_4 и CO_2 в выделяемых из ЖФ газах.

Согласно приведённым в таблице 3 данным, уровень эмиссии CH_4 из ЖФ был значительно выше, чем уровень эмиссии CO_2 , как в контрольном, так и в экспериментальном вариантах. Добавка нитрапирина способствовала снижению эмиссии CH_4 и CO_2 . Наиболее отчётливо соответствующий эффект проявился в течение первых четырёх суток после внесения добавки. Можно предположить, что нитрапирин оказывает угнетающее воздействие не только на метаболизм микроорганизмов-нитрификаторов, но и на жизнедеятельность метаногенных архей, а также других групп МО, участвующих в минерализации органических веществ, что приводит к сокращению выбросов CH_4 и CO_2 .

Заключение

Выполненные исследования показали, что нитрапирин может представлять существенный интерес в качестве реагента для обработки навозных стоков с целью улучшения их экологических характеристик.

Установлено, что обработка ЖФ нитрапирином способствует значительному сокращению выбросов CH_4 и CO_2 . Эмиссия соответствующих ПГ из ЖФ в варианте с добавкой нитрапирина была ниже, чем в контроле на протяжении всего периода наблюдений. Особенно большое практическое значение имеет сокращение эмиссии CH_4 , потенциал глобального потепления которого значительно выше, чем у CO_2 .

Таблица 3 / Table 3

Концентрация CH_4 и CO_2 в выделяемых из жидкой фракции свиных навозных стоков газах
Concentration of CH_4 and CO_2 in gases emitted from the liquid pig manure effluents

Дата проведения анализа Date of analysis	Концентрация газа, мг/кг / Gas concentration, mg/kg			
	CH_4		CO_2	
	контроль control	эксперимент experiment	контроль control	эксперимент experiment
6.04	10960±2136	2013±217	601±56	300±26
7.04	5461±633	1837±228	1295±142	238±24
10.04	1777±219	1305±145	938±85	371±44
12.04	1247±169	1174±136	423±38	401±39
14.04	4735±506	1183±99	531±49	440±39
17.04	2678±298	1205±115	564±64	446±51

Примечание: полужирным шрифтом выделены статистически значимые различия между вариантами ($p < 0,05$).
Note: statistically significant differences between variants are highlighted in bold ($p < 0.05$).

Обработка ЖФ нитрапирином способствует улучшению микробиологических характеристик соответствующего ППЖ. Содержание большинства выявленных условно-патогенных МО в ЖФ с добавкой нитрапирина снижается. Количество клостридий и аспергиллов, перенос которых в ОС сопряжён с определёнными экологическими рисками, остаётся на уровне контрольного варианта.

Полученные данные могут быть использованы при разработке составов реагентов для улучшения микробиологических характеристик и снижения эмиссии ПГ из систем сбора и обработки навозных стоков животноводческих предприятий.

Литература

1. Кантор Г.Я., Сырчина Н.В. Альтернативная оценка вклада метана в парниковый эффект // Теоретическая и прикладная экология. 2023. № 3. С. 197–207. doi: 10.25750/1995-4301-2023-3-197-207
2. Aguirre-Villegas H.A., Larson R.A. Evaluating greenhouse gas emissions from dairy manure management practices using survey data and lifecycle tools // Journal of Cleaner Production. 2017. V. 143. P. 169–179. doi: 10.1016/j.jclepro.2016.12.133
3. Llonch P., Haskell M.J., Dewhurst R.J., Turner S.P. Current available strategies to mitigate greenhouse gas emissions in livestock systems: an animal welfare perspective // Animal. 2017. V. 11. No. 2. P. 274–284. doi: 10.1017/S1751731116001440
4. Сырчина Н.В., Пилип Л.В., Колеватых Е.П., Ашихмина Т.Я., Кузнецов Д.А. Влияние гипохлорита натрия на микробиоту и запах навозных стоков // Поволжский экологический журнал. 2023. № 1. С. 107–116. doi: 10.35885/1684-7318-2023-1-107-116
5. Пилип Л.В., Сырчина Н.В., Колеватых Е.П., Рутман В.В. Влияние различных типов поверхностно-активных веществ на эмиссию газов и микробиоту жидкой фракции навозных стоков // Теоретическая и прикладная экология. 2023. № 3. С. 59–72. doi: 10.25750/1995-4301-2023-3-059-072
6. Cai Y., Chang S.X., Cheng Y. Greenhouse gas emissions from excreta patches of grazing animals and their mitigation strategies // Earth-science reviews. 2017. V. 171. P. 44–57. doi: 10.1016/j.earscirev.2017.05.013
7. Pérez-Castillo A.G., Arrieta-Méndez J., Elizondo-Salazar J.A., Monge-Muñoz M., Zaman M., Sanz-Cobena A. Using the nitrification inhibitor nitrapyrin in dairy farm effluents does not improve yield-scaled nitrous oxide and ammonia emissions but reduces methane flux // Frontiers in Sustainable Food Systems. 2021. V. 5. Article No. 620846. doi: 10.3389/fsufs.2021.620846
8. Varel V.H., Wells J.E. Influence of thymol and a urease inhibitor on coliform bacteria, odor, urea, and methane from a swine production manure pit // Journal of Environmental Quality. 2007. V. 36. No. 3. P. 773–779. doi: 10.2134/jeq2006.0394
9. Dalby F.R., Svane S., Sigurdarson J.J., Sørensen M.K., Hansen M.J., Karring H., Feilberg A. Synergistic tannic acid-fluoride inhibition of ammonia emissions and simultaneous reduction of methane and odor emissions from livestock waste // Environmental Science & Technology. 2020. V. 54. No. 12. P. 7639–7650. doi: 10.1021/acs.est.0c01231
10. Yang Y., Huang W., Huang W. Antibiotic inhibition on anaerobic digestion of animal manure and controlling strategies: a short review // CLEAN – Soil, Air, Water. 2019. V. 47. No. 1. Article No. 1700653. doi: 10.1002/clen.201700653
11. Svane S., Karring H. Combining fluoride with either phenolic compounds or plant extracts offers potential mitigation strategy for ammonia and methane emissions from livestock manure // Environmental Technology & Innovation. 2022. V. 28. Article No. 102830. doi: 10.1016/j.eti.2022.102830
12. Moset V., Cambra-López M., Møller H.B. The inhibiting effect of sulfate on thermophilic anaerobic digestion of cattle and pig waste slurry // Transactions of the ASABE. 2012. V. 55. No. 6. P. 2309–2317. doi: 10.13031/2013.42499
13. Dalby F.R., Guldberg L.B., Feilberg A., Kofod M.V.W. Reducing greenhouse gas emissions from pig slurry by acidification with organic and inorganic acids // PLoS ONE. 2022. V. 17. No. 5. Article No. e0267693. doi: 10.1371/journal.pone.0267693
14. Пилип Л.В., Козвонин В.А., Сырчина Н.В., Колеватых Е.П., Ашихмина Т.Я. Влияние подкисления навозных стоков на их микробиологические характеристики // Теоретическая и прикладная экология. 2020. № 3. С. 161–167. doi: 10.25750/1995-4301-2020-3-161-167
15. Колеватых Е.П., Пилип Л.В., Сырчина Н.В., Козвонин В.А., Ашихмина Т.Я. Трансформация микробиоты отходов животноводства под влиянием химических реагентов для устранения запаха // Теоретическая и прикладная экология. 2022. № 4. С. 159–165. doi: 10.25750/1995-4301-2022-4-159-165
16. Nitrapyrin: Reregistration Eligibility Decision Document. 2005 [Электронный ресурс] <https://citeseerx.ist.psu.edu/document?repid=rep1&type=pdf&doi=3b1db31f667590f2e2057ba008ea98c694ede82> (Дата обращения: 19.12.2023).
17. Сырчина Н.В., Пилип Л.В., Ашихмина Т.Я. Химическая деградация земель под воздействием отходов животноводства // Теоретическая и прикладная экология. 2022. № 3. С. 219–225. doi: 10.25750/1995-4301-2022-3-219-225
18. Papadopoulou E.S., Bachtsevani E., Papazlatani C.V., Rousidou C., Brouziotis A., Lampronikou E., Tsiknia M., Vasileiadis S., Ipsilantis I., Menkissoglu-Spirodi U., Ehaliotis C., Philippot L., Nicol G.W., Karpouzas D.G. The effects of quinone imine, a new potent nitrification inhibitor, dicyandiamide, and nitrapyrin on target and off-target soil microbiota // Microbiology Spectrum. 2022. V. 10. No. 4. P. e02403-21. doi: 10.1128/spectrum.02403-21

19. Пилип Л.В., Сырчина Н.В. Роль аммонификаторов в эмиссии аммиака из свиных навозных стоков // Известия КГТУ. 2023. № 68. С. 46–54. doi: 10.46845/1997-3071-2023-68-46-54

20. Zhang Z., Gao Q., Yang J., Li Y., Liu J., Wang Y., Su H., Wang Y., Wang S., Feng G. The adsorption and mechanism of the nitrification inhibitor nitrapyrin in different types of soils // Royal Society Open Science. 2020. V. 7. No. 9. Article No. 200259. doi: 10.1098/rsos.200259

21. Tao R., Zhao X., Wu X., Hu B., Vanyanbah K.B., Li J., Chu G. Nitrapyrin coupled with organic amendment mitigates N₂O emissions by inhibiting different ammonia oxidizers in alkaline and acidic soils // Applied Soil Ecology. 2021. V. 166. Article No. 104062. doi: 10.1016/j.apsoil.2021.104062

22. Zhang H., Zhang L., Tao R., Hu J., Chu G. Nitrapyrin addition mitigated CO₂ emission from a calcareous soil was closely associated with its effect on decreasing cellulolytic fungal community diversity // Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2022. V. 70. No. 17. P. 5299–5309. doi: 10.1021/acs.jafc.1c08020

23. Bronson K.F., Mosier A.R. Suppression of methane oxidation in aerobic soil by nitrogen fertilizers, nitrification inhibitors, and urease inhibitors // Biology and Fertility of Soils. 1994. V. 17. P. 263–268. doi: 10.1007/BF00383979

24. O'Loughlin E.J., Antonopoulos D.A., Arend K.K., Flynn T.M., Koval J.C., Owens S.M. Inhibition of microbial methane oxidation by 2-chloro-6-methylpyridine // BioRxiv. Preprint. October 14, 2022 [Электронный ресурс] <https://doi.org/10.1101/2022.10.13.512149> (Дата обращения: 21.12.2023).

25. Vetsch J.A., Scherder E.F., Ruen D.C. Does liquid swine manure application timing and nitrapyrin affect corn yield and inorganic soil nitrogen? // Agronomy Journal. 2017. V. 109. No. 5. P. 2358–2370. doi: 10.2134/agronj2017.03.0163

26. Lin S., Hernandez-Ramirez G. Nitrogen turnover and N₂O production in incubated soils after receiving field applications of liquid manure and nitrification inhibitors // Canadian Journal of Soil Science. 2021. V. 101. No. 2. P. 290–304. doi: 10.1139/cjss-2020-0102

27. McCormick R.A., Nelson D.W., Sutton A.L., Huber D.M. Increased N efficiency from nitrapyrin added to liquid swine manure used as a fertilizer for corn // Agronomy Journal. 1984. V. 76. No. 6. P. 1010–1014. doi: 10.2134/agronj1984.00021962007600060034x

28. Пилип Л.В., Сырчина Н.В., Козвонин В.А., Колевых Е.П., Ашихмина Т.Я., Сазанов А.В. Биологическое загрязнение пахотных земель отходами свиноводства // Теоретическая и прикладная экология. 2022. № 3. С. 199–205. doi: 10.25750/1995-4301-2022-3-199-205

29. Сокирко В.П. Оздоровление почв Кубани от фузариозно-альтернариозной инфекции – источник повышения урожая зерновых культур // Труды Кубанского государственного аграрного университета. 2015. № 53. С. 154–156.

30. Niestępski S., Harnisz M., Ciesielski S., Korzeniowska E., Osińska A. Environmental fate of *Bacteroidetes*,

with particular emphasis on *Bacteroides fragilis* group bacteria and their specific antibiotic resistance genes, in activated sludge wastewater treatment plants // Journal of hazardous materials. 2020. V. 394. Article No. 122544. doi: 10.1016/j.jhazmat.2020.122544

31. Пилип Л.В., Сырчина Н.В., Ашихмина Т.Я., Колевых Е.П. Колиформные бактерии как компоненты биопленок навозных стоков // Юг России: экология, развитие. 2023. Т. 18. № 3 (68). С. 118–125. doi: 10.18470/1992-1098-2023-3-118-125

References

1. Kantor G. Ya., Syrchina N.V. Alternative assessment of methane's contribution to the greenhouse effect // Theoretical and Applied Ecology. 2023. No. 3. P. 197–207 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2023-3-197-207

2. Aguirre-Villegas H.A., Larson R.A. Evaluating greenhouse gas emissions from dairy manure management practices using survey data and lifecycle tools // Journal of Cleaner Production. 2017. V. 143. P. 169–179. doi: 10.1016/j.jclepro.2016.12.133

3. Llonch P., Haskell M.J., Dewhurst R.J., Turner S.P. Current available strategies to mitigate greenhouse gas emissions in livestock systems: an animal welfare perspective // Animal. 2017. V. 11. No. 2. P. 274–284. doi: 10.1017/S1751731116001440

4. Syrchina N.V., Pilip L.V., Kolevatykh E.P., Ashikhmina T.Ya., Kuznetsov D.A. Effect of sodium hypochlorite on the microbiota and odor of manure effluents // Povolzhskiy Journal of Ecology. 2023. No. 1. P. 107–116 (in Russian). doi: 10.35885/1684-7318-2023-1-107-116

5. Pilip L.V., Syrchina N.V., Kolevatykh E.P., Rutman V.V. Influence of various types of surfactants on gas emissions and microbiota of the liquid fraction of manure effluents // Theoretical and Applied Ecology. 2023. No. 3. P. 59–72 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2023-3-059-072

6. Cai Y., Chang S.X., Cheng Y. Greenhouse gas emissions from excreta patches of grazing animals and their mitigation strategies // Earth-science reviews. 2017. V. 171. P. 44–57. doi: 10.1016/j.earscirev.2017.05.013

7. Pérez-Castillo A.G., Arrieta-Méndez J., Elizondo-Salazar J.A., Monge-Muñoz M., Zaman M., Sanz-Cobena A. Using the nitrification inhibitor nitrapyrin in dairy farm effluents does not improve yield-scaled nitrous oxide and ammonia emissions but reduces methane flux // Frontiers in Sustainable Food Systems. 2021. V. 5. Article No. 620846. doi: 10.3389/fsufs.2021.620846

8. Varel V.H., Wells J.E. Influence of thymol and a urease inhibitor on coliform bacteria, odor, urea, and methane from a swine production manure pit // Journal of environmental quality. 2007. V. 36. No. 3. P. 773–779. doi: 10.2134/jeq2006.0394

9. Dalby F.R., Svane S., Sigurdarson J.J., Sørensen M.K., Hansen M.J., Karring H., Feilberg A. Synergistic tannic acid-fluoride inhibition of ammonia emissions and simultaneous

- reduction of methane and odor emissions from livestock waste // *Environmental Science & Technology*. 2020. V. 54. No. 12. P. 7639–7650. doi: 10.1021/acs.est.0c01234
10. Yang Y., Huang W., Huang W. Antibiotic inhibition on anaerobic digestion of animal manure and controlling strategies: a short review // *CLEAN – Soil, Air, Water*. 2019. V. 47. No. 1. Article No. 1700653. doi: 10.1002/clen.201700653
11. Svane S., Karring H. Combining fluoride with either phenolic compounds or plant extracts offers potential mitigation strategy for ammonia and methane emissions from livestock manure // *Environmental Technology & Innovation*. 2022. V. 28. Article No. 102830. doi: 10.1016/j.eti.2022.102830
12. Moset V., Cambra-López M., Møller H.B. The inhibiting effect of sulfate on thermophilic anaerobic digestion of cattle and pig waste slurry // *Transactions of the ASABE*. 2012. V. 55. No. 6. P. 2309–2317. doi: 10.13031/2013.42499
13. Dalby F.R., Guldberg L.B., Feilberg A., Kofod M.V.W. Reducing greenhouse gas emissions from pig slurry by acidification with organic and inorganic acids // *PloS ONE*. 2022. V. 17. No. 5. Article No. e0267693. doi: 10.1371/journal.pone.0267693
14. Pilip L.V., Kozvonin V.A., Syrchina N.V., Kolvevtykh E.P., Ashikhmina T.Ya. Effects of acidifying manure effluent on its microbiological characteristics // *Theoretical and Applied Ecology*. 2020. No. 3. P. 161–167 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2020-3-161-167
15. Kolvevtykh E.P., Pilip L.V., Syrchina N.V., Kozvonin V.A., Ashikhmina T.Ya. Transformation of the microbiota of animal husbandry waste under the influence of chemical reagents to eliminate odor // *Theoretical and Applied Ecology*. 2022. No. 4. P. 159–165 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2022-4-159-165
16. Nitrapyrin: Reregistration Eligibility Decision Document. 2005 [Internet resource] <https://citeseerx.ist.psu.edu/document?repid=rep1&type=pdf&doi=3b1db31f667590f6e2057ba008ea98c694edea82> (Accessed: 19.12.2023).
17. Syrchina N.V., Pilip L.V., Ashikhmina T.Ya. Chemical land degradation under the influence of animal husbandry waste // *Theoretical and Applied Ecology*. 2022. No. 3. P. 219–225 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2022-3-219-225
18. Papadopoulou E.S., Bachtsevani E., Papazlatani C.V., Rousidou C., Brouziotis A., Lampronikou E., Tsiknia M., Vasileiadis S., Ipsilantis I., Menkissoglu-Spiroudi U., Ehaliotis C., Philippot L., Nicol G.W., Karpouzas D.G. The effects of quinone imine, a new potent nitrification inhibitor, dicyandiamide, and nitrapyrin on target and off-target soil microbiota // *Microbiology Spectrum*. 2022. V. 10. No. 4. P. e02403-21. doi: 10.1128/spectrum.02403-21
19. Pilip L.V., Syrchina N.V. The importance of microorganisms-ammonifiers of manure effluents in the emission of ammonia // *KSTU news*. 2023. No. 68. P. 46–54 (in Russian). doi: 10.46845/1997-3071-2023-68-46-54
20. Zhang Z., Gao Q., Yang J., Li Y., Liu J., Wang Y., Su H., Wang Y., Wang S., Feng G. The adsorption and mechanism of the nitrification inhibitor nitrapyrin in different types of soils // *Royal Society Open Science*. 2020. V. 7. No. 9. Article No. 200259. doi: 10.1098/rsos.200259
21. Tao R., Zhao X., Wu X., Hu B., Vanyanbah K.B., Li J., Chu G. Nitrapyrin coupled with organic amendment mitigates N₂O emissions by inhibiting different ammonia oxidizers in alkaline and acidic soils // *Applied Soil Ecology*. 2021. V. 166. Article No. 104062. doi: 10.1016/j.apsoil.2021.104062
22. Zhang H., Zhang L., Tao R., Hu J., Chu G. Nitrapyrin addition mitigated CO₂ emission from a calcareous soil was closely associated with its effect on decreasing cellulolytic fungal community diversity // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2022. V. 70. No. 17. P. 5299–5309. doi: 10.1021/acs.jafc.1c08020
23. Bronson K.F., Mosier A.R. Suppression of methane oxidation in aerobic soil by nitrogen fertilizers, nitrification inhibitors, and urease inhibitors // *Biology and Fertility of Soils*. 1994. V. 17. P. 263–268. doi: 10.1007/BF00383979
24. O'Loughlin E.J., Antonopoulos D.A., Arend K.K., Flynn T.M., Koval J.C., Owens S.M. Inhibition of microbial methane oxidation by 2-chloro-6-methylpyridine // *BioRxiv*. Preprint. October 14, 2022 [Internet recourse] <https://doi.org/10.1101/2022.10.13.512149> (Accessed: 21.12.2023).
25. Vetsch J.A., Scherder E.F., Ruen D.C. Does liquid swine manure application timing and nitrapyrin affect corn yield and inorganic soil nitrogen? // *Agronomy Journal*. 2017. V. 109. No. 5. P. 2358–2370. doi: 10.2134/agronj2017.03.0163
26. Lin S., Hernandez-Ramirez G. Nitrogen turnover and N₂O production in incubated soils after receiving field applications of liquid manure and nitrification inhibitors // *Canadian Journal of Soil Science*. 2021. V. 101. No. 2. P. 290–304. doi: 10.1139/cjss-2020-0102
27. McCormick R.A., Nelson D.W., Sutton A.L., Huber D.M. Increased N efficiency from nitrapyrin added to liquid swine manure used as a fertilizer for corn // *Agronomy Journal*. 1984. V. 76. No. 6. P. 1010–1014. doi: 10.2134/agronj1984.00021962007600060034x
28. Pilip L.V., Syrchina N.V., Kozvonin V.A., Kolvevtykh E.P., Ashikhmina T.Ya., Sazanov A.V. Biological contamination of arable land with pig waste // *Theoretical and Applied Ecology*. 2022. No. 3. P. 199–205 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2022-3-199-205
29. Sokirko V.P. Improvement of Kuban soils from *Fusarium-Alternaria* infection is a source of increased grain yield // *Trudy Kubanskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta*. 2015. No. 53. P. 154–156 (in Russian).
30. Niestępski S., Harnisz M., Ciesielski S., Korzeniewska E., Osińska A. Environmental fate of *Bacteroidetes*, with particular emphasis on *Bacteroides fragilis* group bacteria and their specific antibiotic resistance genes, in activated sludge wastewater treatment plants // *Journal of hazardous materials*. 2020. V. 394. Article No. 122544. doi: 10.1016/j.jhazmat.2020.122544
31. Pilip L.V., Syrchina N.V., Ashikhmina T.Ya., Kolvevtykh E.P. Coliform bacteria as components in biofilm of manure effluents // *South of Russia: Ecology, Development*. 2023. V. 18. No. 3 (68). P. 118–125 (in Russian). doi: 10.18470/1992-1098-2023-3-118-125