

Оригинальная статья / Original article

УДК 631.3/636.034

DOI: 10.18470/1992-1098-2023-3-118-125



Колиформные бактерии как компоненты биопленок навозных стоков

Лариса В. Пилип¹, Надежда В. Сырчина², Тамара Я. Ашихмина^{2,3}, Екатерина П. Колеватых⁴¹Вятский государственный агротехнологический университет, Киров, Россия²Вятский государственный университет, Киров, Россия³Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН, Сыктывкар, Россия⁴Кировский государственный медицинский университет, Киров, Россия

Контактное лицо

Лариса В. Пилип, кандидат ветеринарных наук, доцент, кафедра зооигиены, физиологии и биохимии, Вятский государственный агротехнологический университет; 610000 Россия, г. Киров, Октябрьский проспект, 133. Тел. +79991008078

Email pilip_larisa@mail.ruORCID <https://orcid.org/0000-0001-9695-7146>

Формат цитирования

Пилип Л.В., Сырчина Н.В., Ашихмина Т.Я., Колеватых Е.П. Колиформные бактерии как компоненты биопленок навозных стоков // Юг России: экология, развитие. 2023. Т.18, N 3. С. 118-125. DOI: 10.18470/1992-1098-2023-3-118-125

Получена 17 марта 2022 г.

Прошла рецензирование 14 апреля 2023 г.

Принята 10 августа 2023 г.

Резюме

Цель. Изучить внутривидовое разнообразие колиформных бактерий, представленных в микробных сообществах биопленок свиных навозных стоков (НС) и оценить влияние химических реагентов на состав микробных консорциумов и некоторые свойства бактерий рода *Escherichia*.

Материал и методы. Биопленки НС получали в лабораторных условиях, изучали их качественный и количественный микробный состав. Для обработки НС применяли растворы H_2SO_4 и $NaOCl$. Состав микробиоты определяли методом посева на питательные среды.

Результаты. Преобладающими группами микроорганизмов в биопленках НС были облигатно-и факультативно-анаэробные бактерии родов *Clostridium*, *Bacteroides* и *Escherichia*. Род *Escherichia* представлен *E. coli*, *E. fergusonii*, *E. hermannii* (*Atlantibacter hermannii*), *E. blattae* (*Shimwellia blattae*), *E. coli inactive*, *E. vulneris* с различной биохимической активностью. Повышенным колонизационным потенциалом, способствующим выживаемости популяций бактерий в микробном консорциуме, обладают *Escherichia fergusonii*, *Escherichia coli inactive*, *Escherichia vulneris*. Бактерии рода *Escherichia* способны образовывать ассоциации с факультативным анаэробом *Proteus vulgaris* и дрожжами *Rhodotorula glutinis*. Выявлена значительная устойчивость *E. coli* к воздействию химических реагентов, используемых для обезвреживания и устранения запаха НС (H_2SO_4 до pH 5,5±0,1; внесение 12,5 мг/л активного хлора в составе $NaOCl$). Обработка НС не привела к полной гибели *E. coli*, однако снизило концентрацию на 2 порядка. Использование указанных химических препаратов позволяет снизить общий объем выделяющихся газов на 30–40% и уменьшить интенсивность неприятного запаха.

Заключение. Полученные результаты могут найти практическое применение при разработке составов биопрепаратов для снижения запаха и повышения эффективности рациональной утилизации побочных продуктов животноводства.

Ключевые слова

Побочные продукты животноводства, биопленки, колиформные бактерии, *Escherichia*, консортивные связи микроорганизмов.

Coliform bacteria as components in biofilm of manure effluents

Larisa V. Pilip¹, Nadezhda V. Syrchina², Tamara Ya. Ashikhmina^{2,3} and Ekaterina P. Kolevatykh⁴

¹Vyatka State Agrotechnological University, Kirov, Russia

²Vyatka State University, Kirov, Russia

³Institute of Biology, Komi Science Centre, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Syktyvkar, Russia

⁴Kirov State Medical University, Kirov, Russia

Principal contact

Larisa V. Pilip, Candidate of Veterinary Sciences, Professor, Chair, Zoohygiene, Physiology and Biochemistry, Vyatka State Agrotechnological University; 133 Oktyabrsky Ave, Kirov, Russia 610000. Tel. +79991008078

Email pilip_larisa@mail.ru

ORCID <https://orcid.org/0000-0001-9695-7146>

How to cite this article

Pilip L.V., Syrchina N.V., Ashikhmina T.Ya., Kolevatykh E.P. Coliform bacteria as components in biofilm of manure effluents. *South of Russia: ecology, development*. 2023, vol. 18, no. 3, pp. 118-125. (In Russian) DOI: 10.18470/1992-1098-2023-3-118-125

Received 17 March 2022

Revised 14 April 2023

Accepted 10 August 2023

Abstract

Aim. To study the intraspecific diversity of coliform bacteria represented in microbial communities in biofilms of manure effluents (ME), as well as to evaluate the effect of chemical reagents on the composition of microbial consortia and some properties of bacteria of the genus *Escherichia*.

Material and Methods. Biofilms of ME were obtained under laboratory conditions and their qualitative and quantitative microbial composition studied. H₂SO₄ and NaOCl solutions were used for entry into ME. The composition of the microbiota was determined by the method of inoculation on nutrient media.

Results. The dominant groups of microorganisms in biofilms of ME were obligate and facultative anaerobic bacteria of the genera *Clostridium*, *Bacteroides* and *Escherichia*. The genus *Escherichia* is represented by *E. coli*, *E. fergusonii*, *E. hermannii* (*Atlantibacter hermannii*), *E. blattae* (*Shimwellia blattae*), *E. coli inactive* and *E. vulneris* with varying biochemical activity. *Escherichia fergusonii*, *Escherichia coli inactive* and *Escherichia vulneris* have increased colonization potential, which contributes to the survival of bacterial populations in the bacterial consortium. Bacteria of the genus *Escherichia* are able to form associations with the facultative anaerobe *Proteus vulgaris* and the yeast *Rhodotorula glutinis*. The significant resistance of *E. coli* to the effects of chemical reagents used to neutralize and eliminate the smell of ME (H₂SO₄ to pH 5.5±0.1; introduction of 12.5 mg/l of active chlorine in NaOCl) was revealed. ME treatment did not lead to the complete death of *E. coli*. However, it reduced the concentration by 2 orders of magnitude. The use of these chemicals can reduce the total volume of gases released by 30–40% and reduce the intensity of unpleasant u.

Conclusions. The results obtained can find practical application in the development of formulations of biological products to reduce odour and improve the efficiency of rational disposal of animal by-products.

Key Words

By-products of animal husbandry, biofilms, coliform bacteria, *Escherichia*, consort bonds of microorganisms.

ВВЕДЕНИЕ

К числу важнейших экологических задач, стоящих перед современным промышленным животноводством, относится защита окружающей среды от химического и биологического загрязнения. Основными источниками загрязнения являются побочные продукты животноводства (ППЖ): навоз и навозные стоки, которые только после специальной обработки (обезвреживания) могут вноситься в пашню в качестве органических удобрений. Однако, внесение соответствующих удобрений приводит не только к повышению плодородия почв, но и к переносу в окружающую среду широкого спектра несвойственных природным экосистемам микроорганизмов (МО), включая патогенные и условно патогенные. Вместе с МО в почву попадают резистентные к антибиотикам бактерии и гены устойчивости, сформировавшиеся в желудочно-кишечном тракте сельскохозяйственных животных под влиянием ветеринарных препаратов и стимуляторов роста. Распространение антибиотикорезистентной микробиоты в окружающей среде становится глобальной проблемой современности, существенно усложняющей возможности лечения инфекционных заболеваний [1; 2].

Состав микробиоты ППЖ формируется не только на основе МО, попадающих в навоз из кишечника животных, но и из внешней среды с водой, кормами, почвой. Доминирующая часть микробиоты ППЖ представлена анаэробными или факультативно анаэробными видами бактерий, что обусловлено бескислородными условиями толстого кишечника. Далеко не все населяющие кишечник МО способны существовать вне живого организма. Большинство представителей кишечной микробиоты погибает, однако наиболее устойчивые сохраняют свою жизнеспособность в природных условиях. К числу МО, способных существовать не только в условиях кишечника, но и во внешней среде, относятся колиформные бактерии (КБ). Наиболее изученным представителем КБ является кишечная палочка (*Escherichia coli*), впервые выделенная и описанная в 1885 г. австрийским ученым Теодором Эшерихом. *E. coli* входит в число МО, населяющих нижние отделы кишечника человека и теплокровных животных (резидентная микрофлора). Большинство штаммов *E. coli* не представляют угрозы для здоровья, однако некоторые представители этой группы (условно-патогенная и патогенная микрофлора) могут приводить к развитию инфекционных заболеваний. Например, тяжелые кишечные расстройства – эшерихиозы может вызывать *Diarheagenic E. coli*, менингиты новорожденных – *Neonatal Meningitis E. coli*, заболевания мочеполовой системы – *Uropathogenic E. coli*, а развитие сепсиса – *Sepsis associated pathogenic E. coli* [3; 4].

E. coli принимает активное участие в процессах аммонификации органических веществ, содержащихся в ППЖ. Продуктами разложения являются аммиак, биогенные амины, сероводород, тиолы (меркаптаны), летучие жирные кислоты, индол, скатол, фенол, крезол и другие соединения с неприятным запахом [5; 6]. Запахообразующие вещества, попадающие в атмосферу в результате микробиологических процессов деструкции навоза, доставляют значительный дискомфорт населению, проживающему вблизи размещения животноводческих предприятий [7; 8]. Различные виды КБ отличаются ферментативными свойствами и антигенной структурой. В последние годы были описаны

редкие формы бактерий рода *Escherichia* (*E.*), среди которых выделяют *E. blatte* (*Shimwellia blattae*), *E. hermannii* (*Atlantibacter hermannii*), *E. fergusonii*, *E. vulneris*, *E. coli inactive*, *E. albertii*, *E. faecalis*, *E. marmotae*, *E. senegalensis* [9–11]. Соответствующие бактерии могут играть заметную роль в развитии патологических процессов у животных и человека [12]. Одним из источников распространения редких форм бактерий рода *Escherichia* (РФБЭ) в природе может стать навоз животных. В настоящее время проблема масштабов и вероятных последствий переноса РФБЭ в окружающую среду практически не изучена, что сопряжено с определенными экологическими рисками.

Для бактерий рода *Escherichia* характерно образование разнообразных консорциумов с другими МО. Примером таких консорциумов могут служить биопленки, формирующиеся на поверхности НС. Выживаемость и продуктивность МО в составе консорциумов обычно выше, чем вне него. В связи с этим изучение состава биопленок и факторов, оказывающих влияние на консортивные связи между отдельными видами МО, представляет большой практический интерес [13–15].

Целью настоящей работы явилось изучение внутривидового разнообразия колиформных бактерий, представленных в микробных сообществах биопленок жидкой фракции свиных НС, а также оценка влияния химических реагентов на состав микробных сообществ и некоторые свойства бактерий рода *Escherichia*.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектом исследования явились колиформные бактерии, выделенные из биопленок, формирующихся на поверхности свиных НС. Для проведения исследований использовали свежие НС из цеха дорастивания (влажность НС $99,5 \pm 0,1\%$). В качестве реагентов для обработки НС применяли растворы серной кислоты (H_2SO_4) и щелочного гипохлорита натрия ($NaOCl$). НС помещали в бутылки из PET пластика, вносили добавки реагентов и укрепляли на горловинах бутылей специальные пакеты из FEP пленки для сбора выделяющихся газов (объем бутылей – 5 л, объем НС – 4 л).

Варианты эксперимента: 1 – контроль (НС без добавок, pH = 6,9); 2 – НС с добавкой H_2SO_4 (опыт 1); 3 – НС с добавкой $NaOCl$ (опыт 2).

Раствор H_2SO_4 (10%) добавляли в НС до pH $5,5 \pm 0,1$; щелочной раствор $NaOCl$ (pH $11,5 \pm 0,1$; содержание активного хлора – 5%) вносили в НС в количестве 12,5 мг активного хлора на 1,0 л НС. Количество реагентов определяли исходя из следующих требований: уровень подкисления не должен вызывать коррозию оборудования и ухудшать свойства ППЖ как удобрения, т. е. pH подкисленных НС не должен быть ниже 5,0. Добавка $NaOCl$ должна обеспечивать заметный бактерицидный эффект, но не приводить к чрезмерному увеличению расходов животноводческого предприятия на приобретение реагента. Содержание реагентов в НС не должно представлять опасности для окружающей среды.

На протяжении всего эксперимента (14 суток) бутылки с НС находились в затемненном помещении при температуре $22 \pm 1^\circ C$. В конце эксперимента определяли микробиологический состав поверхностных биопленок, общий объем выделившихся газов (откачивание газа производили шприцем Жанэ) и интенсивность запаха.

Для органолептической оценки запаха привлекали группу экспертов из 5 человек. Интенсивность запаха оценивали в баллах по шкале от 0 (запах отсутствует) до 5 (очень сильный неприятный запах).

Образцы биопленок отбирали с поверхности НС в стерильные емкости с соблюдением правил асептики и антисептики и транспортировали в микробиологическую лабораторию для идентификации и подсчета количества МО. Из исследуемого материала готовили ряд серийных разведений с применением стерильного физиологического раствора, посев осуществляли в питательную среду Эндо, инкубировали при 37°C в течение 24 часов. Изучали колонии, характерные для бактерий рода *Escherichia*. Морфологические особенности клеток определяли при микроскопии фиксированных препаратов, окрашенных методом Грама. Идентификацию проводили с помощью набора ЭНТЕРОтест 24 (Erba Lachema, Чехия), предназначенного для биохимической дифференциации.

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

ПОЛУЧЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В результате выполненных микробиологических исследований было установлено, что общее количество МО в биопленках нативных НС (контроль) в конце эксперимента составило $(6,6 \pm 1,2) \cdot 10^7$ КОЕ/мл. Микро-биоценоз НС в основном был представлен облигатными (93,2%) и факультативными анаэробами (6,4%). Среди облигатно-анаэробных МО преобладали бактерии родов *Clostridium* (97,7%) и *Bacteroides* (1,14%). Факультативные анаэробы включали *Escherichia coli* (94,9%), *Klebsiella* sp. (2,14%), *Proteus* ssp. (1,43%), *Staphylococcus epidermidis* (1,41%) и др.

E. coli были обнаружены в количестве $(4,0 \pm 0,9) \cdot 10^6$ КОЕ/мл, при этом спектр представителей бактерий рода *Escherichia* в НС по видовому составу был крайне разнообразен и включал как распространенные (*E. coli*), так и редкие формы бактерий (*E. fergusonii*, *E. hermannii* (*Atlantibacter hermannii*), *E. blattae* (*Shimwellia blattae*), *E. vulneris*). По морфологическим характеристикам перечисленные виды бактерий идентичны между собой и представляют палочки, не образующие спор и капсул, имеющие жгутики по всей поверхности тела клеток. При проведении биохимических исследований обнаружена различная протеолитическая и сахаролитическая активность бактерий рода *Escherichia* (табл. 1).

Таблица 1. Дифференциация бактерий рода *Escherichia* по биохимическим свойствам

Table 1. Differentiation of bacteria of the genus *Escherichia* according to biochemical properties

Тест / субстрат Test / substrate	<i>Escherichia</i>				
	<i>coli</i>	<i>hermannii</i>	<i>vulneris</i>	<i>fergusonii</i>	<i>blattae</i>
Образование индола Formation of indole	±	+	-	+	-
Орнитин / Ornithine	±	+	-	+	+
Сахароза / Sucrose	±	±	-	-	-
Дульцит / Dulcitol	±	+	-	+	-
Адонит / Adonite	±	-	-	+	-
Сорбит / Sorbitol	±	-	-	-	-
Малонат натрия Sodium malonate	-	-	±	±	+
Целлобиоза Cellobiose	-	+	+	+	-
Желтый пигмент Yellow pigment	-	+	±	-	-

Примечание: «+» – характерно, «-» – не характерно, «±» – переменный признак

Note: «+» – is characteristic, «-» – is not characteristic, «±» – is a variable sign

Согласно результатам эксперимента, наиболее биохимически активными оказались *E. coli*, *E. hermannii*, *E. fergusonii*, менее активными *E. vulneris* и *E. blattae*. Полученные в настоящей работе данные хорошо согласуются с опубликованными результатами других исследований [12].

В ходе исследований было обнаружено, что бактерии рода *Escherichia* в биопленках НС способны образовывать межвидовые микробные ассоциации, а также ассоциации с *Proteus vulgaris* и *Rhodotorula glutinis*. Бактерии рода *Proteus*, также, как и род *Escherichia* входит в семейство *Enterobacteriaceae*. *Proteus vulgaris* является обычным представителем микробиоты кишечника многих животных. Эти МО способны выживать в навозе, почве и водной среде. *Proteus vulgaris* относится к патогенным МО, в связи с этим повышение его жизнеспособности в составе микробных сообществ биопленок является нежелательным.

Анаэробные дрожжи *Rhodotorula glutinis*, в отличие от *Proteus vulgaris*, попадают в НЖ не из кишечника, а из внешней среды (например, в составе корма). Требования к условиям обитания у энтеробактерий и дрожжей существенно различаются и, тем не менее, между этими МО в поверхностных биопленках формируются консортивные связи. Возможность установления соответствующих связей между *E. coli* и некоторыми представителями дрожжей была показана во многих исследованиях [16; 17]. В настоящее время консорциумы *E. coli* и дрожжей находят широкое применение в биотехнологических процессах для производства ценных продуктов медицинского и промышленного назначения. В смешанных сообществах организмов реализуются такие возможности, как уменьшение метаболической нагрузки на отдельные виды, разделение клеток эукариот на компартменты, в которых локализуются отдельные биохимические процессы, комбинирование каталитических особеннос-

тей разных видов для оптимизации биохимических реакций и др. [18]. Следует отметить, что консортивные связи между *E. coli* и дрожжами способствуют увеличению количества последних в биопленках. Выявленный факт может найти практическое применение при разработке составов биопрепаратов для снижения запахового загрязнения атмосферного воздуха и воздуха в помещениях для содержания животных. Известно, что различные виды дрожжей способствуют уменьшению

эмиссии запахообразующих веществ из биогенных отходов, в том числе из свиного навоза [19].

В результате настоящих исследований статистически достоверно доказано участие в бактериальном консорциуме *Escherichia fergusonii*, *Escherichia coli inactive*, *Escherichia vulneris*. Данные, характеризующие количество различных видов рода *Escherichia* в монокультуре и в ассоциации с другими МО, приведены в таблице 2.

Таблица 2. Ассоциации энтеробактерий рода *Escherichia**

Table 2. Associations of enterobacteria of the genus *Escherichia**

Микроорганизмы Microorganisms		Количество микроорганизмов, КОЕ/мл Number of microorganisms, CFM /ml	
		в монокультуре in monoculture	в ассоциации in association
<i>Escherichia</i>	<i>coli</i>	$(6,6 \pm 1,2) \cdot 10^7$	$(6,9 \pm 0,3) \cdot 10^7$
	<i>blattae</i>	$(4,0 \pm 0,3) \cdot 10^3$	$(8,2 \pm 0,3) \cdot 10^3$
	<i>coli inactive</i>	$(7,1 \pm 0,4) \cdot 10^2$	$(5,1 \pm 0,3) \cdot 10^5$
	<i>fergusonii</i>	$(6,0 \pm 0,3) \cdot 10^2$	$(6,2 \pm 0,3) \cdot 10^4$
	<i>hermannii</i>	$(5,2 \pm 0,3) \cdot 10^2$	$(5,3 \pm 0,5) \cdot 10^3$
	<i>vulneris</i>	$(7,1 \pm 0,3) \cdot 10^1$	$(6,1 \pm 0,3) \cdot 10^4$
<i>Proteus vulgaris</i>		$(6,2 \pm 0,3) \cdot 10^4$	$(7,2 \pm 0,4) \cdot 10^6$
<i>Rhodotorula glutinis</i>		$(5,3 \pm 0,4) \cdot 10^2$	$(7,1 \pm 0,3) \cdot 10^4$

Примечание: * Жирным шрифтом выделены микроорганизмы, достоверно ($P < 0,001$) отличающиеся от количества МО в монокультуре

Note: The microorganisms that differ significantly ($P < 0.001$) from the number of microorganisms in the monoculture are highlighted in bold

Различные микроорганизмы проявляют разную устойчивость к воздействию тех или иных приемов обезвреживания. Для бактерий рода *Escherichia* характерна высокая устойчивость к воздействию неблагоприятных факторов [20]. Проведенные нами

исследования показали, что на численность бактерий рода *Escherichia* оказывают существенное влияние различные физико-химические факторы, среди которых изменение активной реакции среды и действие окислителей (табл. 3).

Таблица 3. Влияние химических реагентов на численность *E. coli*, *Proteus vulgaris*, *Rhodotorula glutinis*, образующих консорциумы в биопленках навозных стоков*

Table 3. Effect of chemical reagents on the abundance of *E. coli*, *Proteus vulgaris* and *Rhodotorula* forming consortia in biofilms of manure effluents*

Вариант эксперимента Experimental variant	Количество микроорганизмов в 1 мл, КОЕ/мл Quantity of microorganisms in 1 ml, CFM/ml			Объем выделив- шихся газов из 4-х л НС, мл Volume of released gases from 4 litres of ME, ml	Интенсив- ность запаха, баллы Intensity of odour, points
	<i>E. coli</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Rhodotorula glutinis</i>		
Контроль (НС без добавок) Control (ME without additives)	$(4,0 \pm 0,9) \cdot 10^6$	$(6,0 \pm 1,7) \cdot 10^4$	$(7,0 \pm 2,2) \cdot 10^4$	4925,0±14,4	5
Опыт 1 (подкисление НС раствором H₂SO₄ до pH 5.5±0.1) Experiment 1 (acidification of ME with a solution of H ₂ SO ₄ to pH 5.5±0.1)	$(7,0 \pm 0,9) \cdot 10^4$	$(7,0 \pm 1,4) \cdot 10^5$	$(9,0 \pm 1,5) \cdot 10^5$	3310,0±18,3	3
Опыт 2 (внесение в НС 12.5 мг/л активного хлора в форме раствора NaOCl) Experiment 2 (introduction of 12.5 mg/l of active chlorine into the ME in the form of solution NaOCl)	$(7,0 \pm 1,3) \cdot 10^4$	$(5,0 \pm 0,8) \cdot 10^4$	$(8,0 \pm 1,0) \cdot 10^5$	2836,7±18,6	2

Примечание: * Жирным шрифтом выделены варианты с добавками, достоверно ($P < 0,001$) отличающиеся от вариантов без добавок

Note: Variants with additives that differ significantly ($P < 0.001$) from variants without additives are highlighted in bold

Согласно приведенным в табл. 3 данным, *E. coli* оказалась весьма устойчивой к воздействию химических реагентов, однако подкисление до pH=5,5±0,1, а также добавка окислителя (щелочной раствор NaOCl) существенно снизило концентрацию этих бактерий (почти на 2 порядка). Можно предположить, что подкисление вызывает нарушение работы ферментативных систем бактериальных клеток, а внесение в НС NaOCl приводит к окислительному стрессу за счет накопления свободных радикалов в клеточных мембранах микроорганизмов. В ранее выполненных исследованиях было показано, что оба реагента оказывают существенное влияние на качественный и количественный состав микробиоты и могут найти применение для обработки НС с целью снижения эмиссии запахообразующих и токсичных веществ, в том числе H₂S и NH₃, в атмосферный воздух [21; 22]. *Proteus vulgaris* и *Rhodotorula glutinis* проявили высокую толерантность к воздействию реагентов. Численность этих МО при внесении в НС растворов H₂SO₄ и NaOCl не изменилась или несколько увеличилась.

E. coli принимают активное участие в аммонификации азотсодержащих органических соединений. Уменьшение количества этих бактерий в биопленках коррелирует со снижением объема выделившихся газов и интенсивностью неприятного запаха НС. В таблице 3 приведены данные, характеризующие общий объем газов, выделившихся за 14 дней из 4-х л НС в каждом варианте эксперимента.

В нативных НС объем выделившихся газов за время эксперимента был самым высоким (4925,0±14,4 мл), а интенсивность неприятного запаха оценивалась в 5 баллов. Подкисление НС позволило снизить выделение газообразных продуктов на 30 %, при этом интенсивность неприятного запаха уменьшилась до 3 баллов. При обработке НС раствором NaOCl образование газов снизилось на 40 %, а интенсивность неприятного запаха была оценена в 2 балла. Можно предположить, что основную роль в снижении интенсивности неприятного запаха играют входящие в состав биопленок дрожжи *Rhodotorula glutinis*, количество которых в опытных образцах НС увеличилось.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В составе биопленок свиных НС преобладают облигатно-анаэробные и факультативно-анаэробные микроорганизмы родов *Clostridium*, *Bacteroides*, *Escherichia*. Кроме *E. coli* в составе формирующихся на поверхности НС биопленок, выявлен широкий спектр других видов этого рода. Наиболее биохимически активными оказались *E. coli*, *E. hermannii*, *E. fergusonii*, менее активными *E. vulniferis* и *E. blattae*.

E. coli проявляет значительную устойчивость к обработке НС растворами H₂SO₄ (до pH 5,5) и NaOCl (12,5 мг/л активного хлора). Внесение в НС реагентов в соответствующей дозировке способствует уменьшению численности, но не приводит к гибели *E. coli*.

Бактерии рода *Escherichia* в биопленках образуют консорциумы с дрожжами *Rhodotorula glutinis*, а также с факультативными анаэробами *Proteus vulgaris*. Количество *Rhodotorula glutinis* и *Proteus vulgaris* при подкислении НС и внесении NaOCl увеличивается или не изменяется. Выявленный факт может найти практическое применение при разработке составов биопрепаратов для повышения эффективности обработки ППЖ методом компостирования.

Обработка НС растворами H₂SO₄ и NaOCl позволяет снизить общий объем выделяющихся газов на 30-40%, интенсивность неприятного запаха при этом уменьшается, что, вероятно, связано с увеличением численности дрожжей в поверхностных биопленках. Соответствующий эффект может быть использован для улучшения качества воздуха в помещениях при содержании животных и снижения затрат на вентиляцию.

БЛАГОДАРНОСТЬ

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.

ACKNOWLEDGMENT

The study was supported by the framework of the state task of the Institute of Biology, Federal Research Centre, Komi Scientific Centre, Ural Branch, Russian Academy of Sciences on the topic: «Structure and State of the Components of Technogenic Ecosystems in the Southern Taiga Subzone», state registration number EGISU N 1220401000325.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Данилова Н.В., Галицкая П.Ю., Селивановская С.Ю. Мультирезистентность бактерий к ветеринарным антибиотикам в образцах навоза и помета сельскохозяйственных животных // Ученые записки Казанского университета. 2016. N 4. С. 507–516.
2. Трифонова Т.А., Космачева А.Г., Чеснокова С.М. Влияние антибиотиков на целлюлозолитическую и нитрифицирующую активности серой лесной почвы // Юг России: экология, развитие. 2020. N 15(4). С. 52–62. <https://doi.org/10.18470/1992-1098-2020-4-52-62>
3. Kaper J.B., Nataro J.P., Mobley H.L.T. Pathogenic *Escherichia coli* // Nature reviews microbiology. 2004. T. 2. N 2. С. 123–140. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2005.06.008>
4. Литусов Н.В. Эшерихии. Екатеринбург: УГМА, 2016. 36 с.
5. Zhu J. A review of microbiology in swine manure odor control // Agriculture, Ecosystems and Environment. 2000. T. 78. pp. 93–106. [https://doi.org/10.1016/S0167-8809\(99\)00116-4](https://doi.org/10.1016/S0167-8809(99)00116-4)
6. Сырчина Н.В., Пилип Л.В., Ашихмина Т.Я. Контроль запахового загрязнения атмосферного воздуха (обзор) // Теоретическая и прикладная экология. 2022. N 2. С. 26–34. <https://doi.org/10.25750/1995-4301-2022-2-026-034>
7. Mackie R.I., Stroot P.G., Varel V.H. Biochemical identification and biological origin of key odor components in livestock waste // Journal of Animal Science. 1998. T. 76. С. 1331–1342. <https://doi.org/10.2527/1998.7651331x>
8. Пилип Л.В., Сырчина Н.В. Роль аммонификаторов в эмиссии аммиака из свиных навозных стоков // Известия КГТУ. 2023. N 68. С. 46–54. <https://doi.org/10.46845/1997-3071-2023-68-46-54>
9. Popescu G.A., Daha I., Popescu C., Mitache E. *Staphylococcus aureus* and *Escherichia hermannii* in diabetes patient // Emerging Infectious Diseases. 2004. N 10(7). С. 1335–1337. <https://doi.org/10.3201/eid1007.030567>
10. Savini V., Catavittello C., Talia M., Manna A. et al. Multidrug-resistant *Escherichia fergusonii*: a case of acute cystitis // Clinical Microbiology. 2008. N 46(4). С. 1551–1552. <https://doi.org/10.1128/JCM.01210-07>
11. Leung J.M., Gallant C.V. Infections due to *Escherichia* and *Shigella* // Reference Module in Biomedical Sciences: Reference Module in Biomedical Sciences. 2014. N 6. С. 1–10. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801238-3.05090-X>

12. Частоедова Е.В., Колеватых Е.П. Веретация редких видов бактерий рода *Escherichia* на слизистых оболочках влагалища женщин репродуктивного возраста // Вятский медицинский вестник. 2017. N 1(53). С. 52–56.
13. Brenner K., Karig D.K., Weiss R., Arnold F.H. Engineered bidirectional communication mediates a consensus in a microbial biofilm consortium // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2007. T. 104. N 44. С. 17300–17304. <https://doi.org/10.1073/pnas.0704256104>
14. Qingxin M., Yang W., Men M., Bello A., Xu X., Xu B., Deng L., Jiang X., Sheng S., Wu X., Han Y., Zhu H. Microbial community succession and response to environmental variables during cow manure and corn straw composting // *Frontiers in microbiology*. 2019. T. 10. С. 93–106. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00529>
15. Wan J., Wang X., Yang T., Wei Z., Banerjee S., Friman V., Mei X., Xu Y., Shen Q. Livestock manure type affects microbial community composition and assembly during composting // *Frontiers in Microbiology*. 2021. T. 12. С. 93–106. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.621126>
16. Zhou K., Qiao K., Edgar S., Stephanopoulos G. Distributing a metabolic pathway among a microbial consortium enhances production of natural products // *Nature biotechnology*. 2015. T. 33. N 4. С. 377–383. <https://doi.org/10.1038/nbt.3095>
17. Wang C., Liwei M., Park J.B., Jeong S.H., Wei G., Wang Y., Kim S.W. Microbial platform for terpenoid production: *Escherichia coli* and yeast // *Frontiers in microbiology*. 2018. T. 9. С. 2460–2472. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02460>
18. Shong J., Diaz M.R.J., Collins C.H. Towards synthetic microbial consortia for bioprocessing // *Current Opinion in Biotechnology*. 2012. T. 23. N 5. С. 798–802. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2012.02.001>
19. Kim B.N., Ahn J.Y., Song M.S., Kim H., Yu K., Kim S., Wee J., Kim Y., Min, J. Development of odorous gases reduction agents using recombinant yeast-derived extract // *Toxicology and Environmental Health Sciences*. 2019. T. 11. С. 271–277. <https://doi.org/10.1007/s13530-019-0420-6>
20. Терехов В.И., Сердюченко И.В. Бактерии рода *Escherichia* (Аналитический обзор) // Вестник ветеринарии. 2016. N 2(77). С. 35–42.
21. 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. N 1. С. 107–116. <https://doi.org/10.35885/1684-7318-2023-1-107-116>
22. 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. N 3. С. 161–167. <https://doi.org/10.25750/1995-4301-2020-3-161-167>
23. Danilova N.V., Galitskaya P.Yu., Selivanovskaya S.Yu. Multiresistance of bacteria to veterinary antibiotics in samples of manure and droppings of agricultural animals. *Uchenye zapiski Kazanskogo universiteta* [Scientific notes of Kazan State University]. 2016, no. 4. pp. 507–516. (In Russian)
24. Trifonova T.A., Kosmacheva A.G., Chesnokova S.M. Effect of antibiotics on the cellulolytic and nitrification activity of gray forest soil. *South of Russia: ecology, development*, 2020, no. 15(4), pp. 52–62. (In Russian) <https://doi.org/10.18470/1992-1098-2020-4-52-62>
25. Kaper J.B., Nataro J.P., Mobley H.L.T. Pathogenic *Escherichia coli*. *Nature reviews microbiology*, 2004, vol. 2, no. 2, pp. 123–140. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2005.06.008>
26. Litusov N.V. *Escherichia* [Escherichia]. Ekaterinburg, USMA, 2016, 36 p. (In Russian)
27. Zhu J. A review of microbiology in swine manure odor control. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 2000, vol. 78, pp. 93–106. [https://doi.org/10.1016/S0167-8809\(99\)00116-4](https://doi.org/10.1016/S0167-8809(99)00116-4)
28. Syrchina N.V., Pilip L.V., Ashikhmina T.Ya. Control of odor pollution of atmospheric air (review). *Theoretical and applied ecology*, 2022, no. 2. pp. 26–34. (In Russian) <https://doi.org/10.25750/1995-4301-2022-2-026-034>
29. Mackie R.I., Stroob P. G., Varel V. H. Biochemical identification and biological origin of key odor components in livestock waste. *Journal of Animal Science*, 1998, vol. 76, pp. 1331–1342. <https://doi.org/10.2527/1998.7651331x>
30. Pilip L.V., Syrchina N.V. The importance of microorganisms-ammonifiers of manure effluents in the emission of ammonia. *KSTU News*, 2023, no. 68. pp. 46–54. (In Russian) <https://doi.org/10.46845/1997-3071-2023-68-46-54>
31. Popescu G.A., Daba I., Popescu C., Mitache E. *Staphylococcus aureus* and *Escherichia hermannii* in diabetes patient. *Emerging Infectious Diseases*, 2004, no. 10(7), pp. 1335–1337. <https://doi.org/10.3201/eid1007.030567>
32. Savini V., Catavittello C., Talia M., Manna A. et al. Multidrug-resistant *Escherichia fergusonii*: a case of acute cystitis. *Clinical Microbiology*, 2008, no. 46(4), pp. 1551–1552. <https://doi.org/10.1128/JCM.01210-07>
33. Leung J.M., Gallant C.V. Infections due to *Escherichia* and *Shigella*. *Reference Module in Biomedical Sciences: Reference Module in Biomedical Sciences*, 2014, no. 6, pp. 1–10 <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801238-3.05090-X>
34. Chastodoeva E.V., Kolevatykh E.P. Vegetation rare species of bacteria of the genus *Escherichia* in the vaginal mucous membranes of reproductive age women. *Vyatskii meditsinskii vestnik* [Vyatka Medical Bulletin]. 2017, no. 1(53). pp. 52–56. (In Russian)
35. Brenner K., Karig D.K., Weiss R., Arnold F.H. Engineered bidirectional communication mediates a consensus in a microbial biofilm consortium. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2007, vol. 104, no. 44, pp. 17300–17304. <https://doi.org/10.1073/pnas.0704256104>
36. Qingxin M., Yang W., Men M., Bello A., Xu X., Xu B., Deng L., Jiang X., Sheng S., Wu X., Han Y., Zhu H. Microbial community succession and response to environmental variables during cow manure and corn straw composting. *Frontiers in microbiology*, 2019, vol. 10, pp. 93–106. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00529>
37. Wan J., Wang X., Yang T., Wei Z., Banerjee S., Friman V., Mei X., Xu Y., Shen Q. Livestock manure type affects microbial community composition and assembly during composting. *Frontiers in Microbiology*, 2021, vol. 12, pp. 93–106. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.621126>
38. Zhou K., Qiao K., Edgar S., Stephanopoulos G. Distributing a metabolic pathway among a microbial consortium enhances production of natural products. *Nature biotechnology*, 2015, vol. 33, no. 4, pp. 377–383. <https://doi.org/10.1038/nbt.3095>
39. Wang C., Liwei M., Park J.B., Jeong S.H., Wei G., Wang Y., Kim S.W. Microbial platform for terpenoid production: *Escherichia coli* and yeast. *Frontiers in microbiology*, 2018, vol. 9, pp. 2460–2472. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02460>
40. Shong J., Diaz M.R.J., Collins C.H. Towards synthetic microbial consortia for bioprocessing. *Current Opinion in Biotechnology*, 2012, vol. 23, no. 5, pp. 798–802. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2012.02.001>
41. Kim B.N., Ahn J.Y., Song M.S., Kim H., Yu K., Kim S., Wee J., Kim Y., Min, J. Development of odorous gases reduction agents using recombinant yeast-derived extract. *Toxicology and Environmental Health Sciences*, 2019, vol. 11, pp. 271–277. <https://doi.org/10.1007/s13530-019-0420-6>
42. Терехов В.И., Сердюченко И.В. Бактерии рода *Escherichia* (аналитический обзор). *Vestnik veterinarii* [Veterinary Bulletin]. 2016, no. 2(77), pp. 35–42. (In Russian)
43. 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, pp. 107–116. (In Russian) <https://doi.org/10.35885/1684-7318-2023-1-107-116>

REFERENCES

1. Danilova N.V., Galitskaya P.Yu., Selivanovskaya S.Yu. Multiresistance of bacteria to veterinary antibiotics in samples of manure and droppings of agricultural animals. *Uchenye zapiski Kazanskogo universiteta* [Scientific notes of Kazan State University]. 2016, no. 4. pp. 507–516. (In Russian)
2. Trifonova T.A., Kosmacheva A.G., Chesnokova S.M. Effect of antibiotics on the cellulolytic and nitrification activity of gray forest soil. *South of Russia: ecology, development*, 2020, no. 15(4), pp. 52–62. (In Russian) <https://doi.org/10.18470/1992-1098-2020-4-52-62>
3. Kaper J.B., Nataro J.P., Mobley H.L.T. Pathogenic *Escherichia coli*. *Nature reviews microbiology*, 2004, vol. 2, no. 2, pp. 123–140. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2005.06.008>
4. Litusov N.V. *Escherichia* [Escherichia]. Ekaterinburg, USMA, 2016, 36 p. (In Russian)
5. Zhu J. A review of microbiology in swine manure odor control. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 2000, vol. 78, pp. 93–106. [https://doi.org/10.1016/S0167-8809\(99\)00116-4](https://doi.org/10.1016/S0167-8809(99)00116-4)

22. Pilip L.V., Kozvonin V.A., Syrchina N.V., Kolevatykh E.P., Ashikhmina T.Ya. Effects of acidifying manure effluent on its microbiological characteristics. *Theoretical and applied ecology*,

2020, no. 3, pp. 161–167. (In Russian)
<https://doi.org/10.25750/1995-4301-2020-3-161-167>

КРИТЕРИИ АВТОРСТВА

Лариса В. Пилип отбирала образцы. Екатерина П. Колеватых проводила микробиологические исследования. Лариса В. Пилип и Надежда В. Сырчина проводили химические исследования. Лариса В. Пилип, Надежда В. Сырчина, Тамара Я. Ашихмина проанализировали данные, написали рукопись. Все авторы в равной степени несут ответственность при обнаружении плагиата, самоплагиата или других неэтических проблем.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Larisa V. Pilip collected soil samples. Ekaterina P. Kolevatykh conducted microbiological studies. Larisa V. Pilip and Nadezhda V. Syrchina conducted chemical studies of the soil. Larisa V. Pilip, Nadezhda V. Syrchina and Tamara Ya. Ashikhmina analyzed the data and wrote the article. All authors are equally responsible for plagiarism, self-plagiarism and other ethical transgressions.

NO CONFLICT OF INTEREST DECLARATION

The authors declare no conflict of interest

ORCID

Лариса В. Пилип / Larisa V. Pilip <https://orcid.org/0000-0001-9695-7146>
Надежда В. Сырчина / Nadezhda V. Syrchina <https://orcid.org/0000-0001-8049-6760>
Тамара Я. Ашихмина / Tamara Ya. Ashikhmina <https://orcid.org/0000-0003-4919-0047>
Екатерина П. Колеватых / Ekaterina P. Kolevatykh <https://orcid.org/0000-0001-6147-3555>