

ТРЕТИРАНЕ НА ТОРОВА ПОСТЕЛЯ ОТ МЛЕЧНИ КРАВИ С БАКТЕРИАЛНО-ЕНЗИМЕН БИОАКТИВАТОР

ВАСИЛ ВАСИЛЕВ, ЕВГЕНИ ВИДЕВ, ЖИВКО КРЪСТАНОВ

Земеделски институт – Стара Загора

Управлението на тора и качеството на въздуха в помещението за отглеждане влияе върху поведението, здравния статус и продуктивността на животните. Основна причина за понижаването на качествените параметри са биогазовете, произхождащи от взаимодействието на уринарния азот и микрофлората с фекален произход. Уреята се хидролизира до амоняк (NH_3) и CO_2 , като процесът е по-интензивен при високо рН и температура.

Изпарението на NH_3 от оборския тор е повлияно предимно от концентрациите на нейонизиран NH_3 и йонизиран NH_4^+ в разтвор, ако факторите на околната среда са постоянни. Следователно, рационален начин за намаляване изпарението на NH_3 е намаляването на концентрациите на тези летливи азотни форми. Има пет основни подхода, използвани за редуциране на летливия азот: разделяне на урина и изпражнения, инхибиране на хидролизата на уреята, намаляване на рН, свързване на амония и биоконверсия до нелетливи азотни форми (Ndegwa et al., 2008).

Едно иновативно решение за управление на торовата постеля и качеството на въздуха е прилагането на биологични стимулатори, като целта е да се оптимизира и стабилизира ферментацията на органичната материя чрез модуляция на микрофлората (Cabrini and Brignoli, 2009). Биологичните добавки, които съдържат микроорганизми привличат значително внимание поради лесното им използване и относително ниска цена (Haga, 1996). В много случаи, обаче, не е ясно какви микроорганизми се съдържат в тях, нито механизмите за намаляване на лошите миризми (Kuroda et al., 2004; Sasaki et al., 2006) и са разработени без задълбочено разбиране на микробиологичните процеси, протичащи в животинските отпадъци (McCroary and Hobbs, 2001). Освен това, проучванията са насочени основно към редуциране на летливите мастни киселини, които са основни елементи на лошата миризма от свежи животински фекалии и малко проучвания са фокусирани върху микроорганизми, които редуцират NH_3 и серните съединения (Kuroda et al., 2004).

С прилагането на бактериално-ензимни биоактиватори е постигнато значително намаляване на емисиите на NH_3 от тора. Cabrini and Brignoli (2009) отчитат 60% редукция на NH_3 при бройлери и 80% редукция при кокошки-носачки, като намаляването на NH_3 корелира с подобряването на благосъстоянието и производителността (16% намаляване на смъртността и 3% увеличение

на средното тегло на животно в третираната сграда при бройлерите). Sala et al. (2011) прилагат биоактиватор при свине и установяват, че отчетените концентрации на NH_3 в контролната сграда са били 30 ppm, докато в опитната (третирана) сграда – 5 ppm. Средното тегло на животните от контролната група е било 162.3 kg, а на тези от опитната – 166.3 kg.

Биоактиваторите се прилагат успешно и за оптимизиране на процесите на биоразграждане при компостиране на органични материали с цел подобряване характеристиките на компоста и намаляване загубите на азот от емисия на NH_3 (Maggioni and Brignoli, 2006; Nakasaki and Ohtaki, 2002; Kuroda et al., 2004; Sasaki et al., 2006; Тодорова, 2013) и др.

Целта на изследването бе да се установи ефектът от прилагането на бактериално-ензимен продукт Micropan® Normal при производствени условия върху основни характеристики на торовата постеля от млечни крави.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

В говедовъдна ферма на Земеделски институт – Стара Загора бе проведен опит с третиране на торова постеля (ТП) от млечни крави с бактериално-ензимен продукт Micropan® Normal (производител: Eurovix, Italy), в помещението на група от 30 животни, в периода от 28.10.2014 до 15.12.2014 (общо 49 дни, до вземане на последната проба). Изпитваният продукт се предлага под форма на пудра със светлокафяв цвят и има следните характеристики: рН в разтвор – 7.5 ± 1 ; влажност – $3\% \pm 1.5$; и състав: избрани микроорганизми, ензимни компоненти, активни субстанции на *Fucus laminariae*, минерални соли, богати на микроелементи, агар медиум, водорасли *Lithothamnium calcareum*, минерални соли на морденит и доломия, и растителни екстракти. Животните имаха свободен достъп до помещението и през по-голямата част от деня се хранеха на открита площадка и на пасище в близост до сградата. Помещението има две еднакви по площ торови пътеки, като едната е опитна-третирана, а другата – контролна-нетретирана. Опитната площ бе 50 m^2 и беше третирана с 6 g/m^2 на 1-ия ден, с 8 g/m^2 на 8-ия и 15-ия ден от опита и с 4 g/m^2 (поддържаща фаза) на 22-ия и 36-ия ден от опита. Преди третирането старата торова постеля бе почистена. Не бе добавяна слама или друг материал (допълнителен въглероден източник) като постеля по време на опита. Третирането беше из-

вършвано ръчно, равномерно по цялата повърхност. По време на опита единствен източник на влага в ТП бе урината от животните. Средномесечната температура за първия месец от опита беше 9°C, която до средата на втория месец достигна 7°C.

Проби за анализ бяха взети на 11-, 15-, 18-, 22-, 25-, 29-, 32-, 36-, 39-, 44- и 49-ия ден от опита. За получаване на представителна проба и минимизиране на грешката бе вземан материал (на сравнително еднаква възраст) от най-малко 20 точки от торовата повърхност и след миксиране и раздробяване беше отделена средна проба. Анализирани бяха следните показатели: рН (H₂O) – чрез LaMotte – рН 5 PLUS (LaMotte Company, Chestertown, Maryland 21620 USA); влага (%); амониев азот (NH₄⁺-N, mg/kg) и нитратен азот (NO₃⁻-N, mg/kg) – колориметрично определяне чрез LaMotte – SMART3 Colorimeter (LaMotte Company, Chestertown, Maryland 21620 USA). Количествено определяне на съдържанието на NH₄⁺-N бе извършено след екстракция с разтвор на 2N KCl; общ азот (N, %) и общ въглерод (C, %) – инструментален анализ; и неутрално-детергентни влакнини (NDF, %) – чрез ANKOM²⁰⁰⁰ Automated Fiber Analyzer (ANKOM Technology, Macedon, NY, USA). Изчислени бяха и съотношенията общ C:общ N и NH₄⁺-N:общ N.

Получените от опита резултати бяха статистически обобщени чрез програмен продукт STATISTICA for Windows (StatSoft, Inc., 1995).

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

В табл. 1 са представени основните статистически характеристики на получените резултати. Няма съществени различия при показателя рН на ТП. Средната му стойност за опитните проби (ОП) е 8.96 (мин. 8.78; макс. 9.17), а за контролните (КП) е 8.93 (мин. 8.56; макс. 9.02). рН е важен фактор, който влияе на емисиите от тора, и по-специално на изпарението на NH₃. Според **Petersen and Sommer** (2011) вкисляването (ацидификацията) на тора е ефективна опция за ограничаване на емисиите на NH₃. **Ndegwa et al.** (2011) посочват 15 проучвания, в които емисиите на NH₃ от тор от говеда, свине и птици са успешно ограничени (от 14 до 100% редукция) чрез намаляване на рН на тора със сярна, солна или фосфорна киселина, калциев хлорид, стипца или монокалциев фосфат монохидрат. Тези автори заключават, че силните киселини са по-рентабилни за намаляването на рН на тора от по-слабите киселини или подкисляващите соли. Въпреки това силните киселини са по-опасни и, следователно, подкисляващите соли и по-слабите киселини могат да бъдат по-подходящи за използване във фермите. В нашето проучване намаляването на концентрацията на NH₄⁺-N, и следователно потенциалното ограничаване на производството на NH₃ не се дължи на ацидификация, тъй като не е установен значим ефект върху стойностите на рН на ТП след третирането с бактериално-ензимния биостимулатор Microman® Normal, което означава, че има сходно протичане на процесите.

Средната стойност на съдържание на влага (%) в ОП

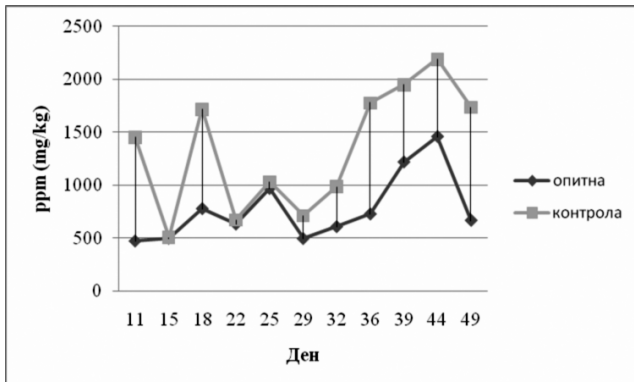
Таблица 1. Основни статистически параметри на получените резултати

Table 1. Basic statistical parameters of the obtained results

Анализирани показатели Analyzed parameters	Проба (n) Sample (n)	Основни статистически параметри Basic statistical parameters			
		x	min - max	SD	CV, %
рН (H ₂ O)	О (11)	8.96	8.78 – 9.17	0.12	1.33
	К (11)	8.93	8.56 – 9.02	0.13	1.45
Влага (%) Moisture (%)	О (11)	62.47	48.6 – 72.5	7.06	11.3
	К (11)	67.46	61.6 – 75	4.53	6.71
NH ₄ ⁺ -N (mg/kg)	О (11)	772.04	470 – 1455	317.45	41.11
	К (11)	1338.4	505 – 2190	579.08	43.26
NO ₃ ⁻ -N (mg/kg)	О (10)	7	1.75 – 22.5	5.79	82.71
	К (10)	6.45	1 – 13.5	4.56	70.69
Общ N (%) Total N (%)	О (11)	1.031	0.782 – 1.344	0.198	19.2
	К (11)	0.92	0.707 – 1.244	0.170	18.47
Общ C (%) Total C (%)	О (11)	10.742	8.952 – 13.034	1.333	12.4
	К (11)	9.831	8.385 – 12.632	1.381	14.04
NDF (%)	О (10)	58.59	57.01 – 59.77	0.78	1.33
	К (10)	58.96	57.69 – 60.67	0.85	1.44
C/N съотношение C/N ratio	О (11)	10.55	9.61 – 12.04	0.91	8.62
	К (11)	10.77	10.15 – 11.99	0.64	5.94
NH ₄ ⁺ -N/Общ N NH ₄ ⁺ -N/Total N ratio	О (11)	0.07	0.04 – 0.16	0.04	57.14
	К (11)	0.15	0.04 – 0.28	0.08	53.33

О = опитна проба (experimental sample); К = контрола (control)

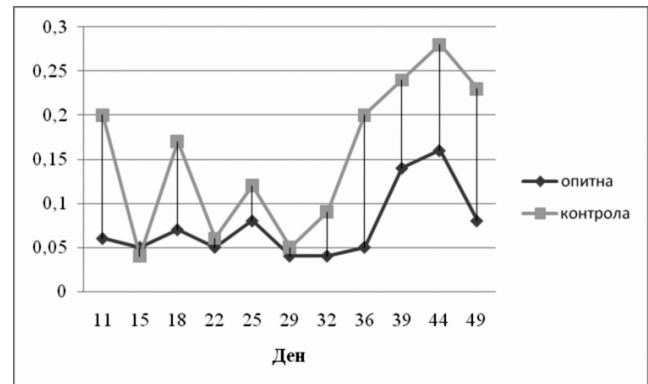
е 62.47 (мин. 48.6; макс. 72.5), и за КП – 67.46 (мин. 61.6; макс. 75). Установеното намаляване на влагата в третираната ТП е със 7.4%, което се потвърждава и от направената субективна сетивна оценка: третираната постеля е по-суха и по-мека на допир, и с почти пълно отсъствие на лоша миризма, което е установено и при изпитване на Micropan® Simplex в птицевъдни ферми (Cabrini and Brignoli, 2009).



Фиг. 1. Динамика в концентрацията на NH₄⁺-N
Fig. 1. Dynamics in the concentration of NH₄⁺-N

Средната стойност на концентрация на амониев азот (NH₄⁺-N) за ОП е 772.04 mg/kg (мин. 470; макс. 1455 mg/kg), а за КП – 1338.4 mg/kg (мин. 505; макс. 2190 mg/kg). Динамиката на този показател за опитния период е представена на фиг. 1. Установеното намаляване на концентрацията на NH₄⁺-N в третираната постеля е с 42.3% спрямо контролата, което може да се дължи на комплексни причини:

1) Поради наличието в продукта на активни микроорганизми, селектирани в процес на контролирана ферментация с преобладаване на *Bacillus* spp. (Sala et al., 2011) и въвеждането на големи популации, които започват да действат веднага, е възможна допълнителна асимилация и имобилизация на летливия N. Съобщено е, че щамове *Bacillus* имат висока способност за асимилация на амоняк чрез преобразуването му в техните собствени клетки и/или в екстрацелуларни продукти като поли-γ-глутаминова киселина (ПГК) като временни депа за амоний (Putter et al., 2001; Hoppensack et al., 2003; Kuroda et al., 2004). Тъй като ПГК е подчертано устойчива на протеолитична атака, разграждането на този полимер от неадаптирана микрофлора протича много бавно (Putter et al., 2001). Последните автори определят съотношението 13.8 C:N за оптимално за растеж и производство на ПГК, като влияние има и използваният въглероден източник, добавен към течния тор. Hanajima et al. (2009) използват съотношението NH₄⁺-N:Общ N за оценка на степента на асимилация на амония, като намаляването на съотношението частично се дължи на фиксация на NH₄⁺-N от *Bacillus* spp., докато повишаването му е вероятно причинено от NH₄⁺-N образуван от загиващи бактериални клетки и/или други N-съдържащи органични съединения. В нашето проучване съотношението NH₄⁺-N:Общ N в третираната ТП намалява с 53.3% средно за опитния период (фиг. 2).



Фиг. 2. Съотношение NH₄⁺-N/Общ N
Fig. 2. NH₄⁺-N/Total N ratio

2) Редица изследвания са насочени към изолиране на функционални микроорганизми за контрол на NH₃ и миризмите от тора и са идентифицирали *Bacillus* spp. като едни от най-ефективните за тази цел (Kuroda et al., 2004; Sasaki et al., 2004, 2009; Shimaya and Hashimoto, 2011). Проучвания с птичи тор (Borowski and Gutarowska, 2008; Gutarowska et al., 2014) сочат род *Bacillus* с най-висока ефективност за отстраняване на летливите съединения и обезмирисването на тора, с възможност за намаляване на NH₄⁺-N и сулфидите с около 60-70%. При използването им като добавка (основно в процеса на компостиране на животински тор), те преобладават в бактериалното съобщество, което е от съществено значение за тяхната ефективност (Kuroda et al., 2004; Hanajima et al., 2009; Shimaya and Hashimoto, 2011; Li et al., 2012; Тодорова, 2013). Установено е, че щамове *Bacillus* произвеждат бактериоцини подобни субстанции, които имат силно изразена антимикробна активност срещу широк кръг микроорганизми (Lim et al., 2011; Todorova and Kozhuharova, 2010; Sumi et al., 2015; Abdel-Mohsein et al., 2011; Guo et al., 2012), включително и срещу амонифициращите бактерии в изпражненията, като по този начин се намалява отделянето на NH₃ (Lisboa et al., 2006). Следователно, намаляването на концентрацията на амонифициращите бактерии е ключов аспект за редуциране емисията на NH₃ (Kim et al., 2014);

3) Поради наличие на протеази в продукта (Sala et al., 2011), както и произвежданите от *Bacillus* spp. екстрацелуларни ензими като металопротеази и протеази, които могат да подобрят разграждането на фекалния органичен азот и така да редуцират производството на NH₃ (Kim et al., 2014);

4) Поради наличие на растителни екстракти, водорасли и някои активни субстанции (Sala et al., 2011) е възможно свързване на амония, тъй като някои от тези съставки могат да проявяват висок афинитет за свързване на амониевите катиони и така да редуцират изпарението на NH₃ чрез намаляване на концентрацията на свободни NH₄⁺ (Ndegwa et al., 2008);

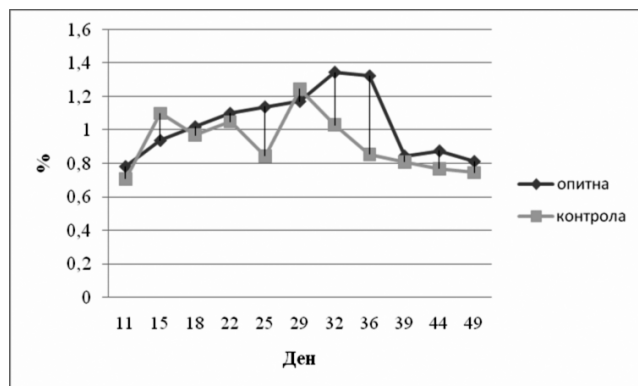
5) Поради намаляването на влажността на ТП вследствие прилагането на продукта е възможно частично редуциране на хидролизата на уреята и пикочната киселина до NH₄⁺ чрез понижаване активността на уреазата, и/или

някои от съставките на продукта могат да действат като уреазни инхибитори. За да се установи това, е необходимо изследване на уреазната активност в тора. В изследвания на ензимната активност в почви е установено, че с редуциране на почвената влага се наблюдава намаляване на уреазната активност (Sardans and Penuelas, 2005; Hagavane et al., 2014; Sahrawat, 1984; Zhang and Wang, 2006).

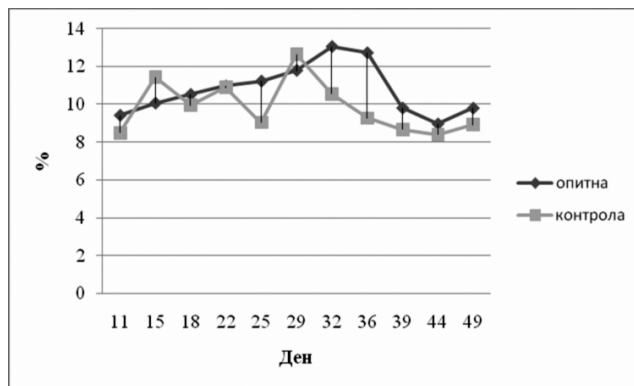
Наблюдаваното увеличаване на концентрацията на $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ от 32-ия до 44-ия ден от опита вероятно е свързано с повишена концентрация на урея в ТП, тъй като в този период валежите са чести, животните прекарват повече време в обора и депозират на повече урина е предпоставка за повишена амонификация. Концентрацията на $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ нараства от 605 mg/kg на 32-ия ден до 1455 mg/kg на 44-ия ден за ОП, и от 985 mg/kg на 32-ия ден до 2190 mg/kg на 44-ия ден за КП. Съответно и влагата се увеличава от 48.6% на 32-ия ден до 62.5% на 44-ия ден за ОП, и от 62.1% на 32-ия ден до 71.5% на 44-ия ден за КП.

Съдържанието на нитратен азот ($\text{NO}_3^- \text{-N}$) е пренебрежимо ниско за всички проби. Средната стойност за ОП е 7 mg/kg (мин. 1.75; макс. 22.5 mg/kg), и за КП – 6.45 mg/kg (мин. 1.0; макс. 13.5 mg/kg). Tiquia and Tam (2000) съобщават, че микробното окисление на амоняка и нитритите започва след продължителен период (35 дни) при компостиране на микс от птичи тор. Следователно, в ранните етапи на компостиране асимилацията на амоняка от хетеротрофите е по-важна от нитрификацията от автотрофите.

Общият азот (%) (фиг. 3) е с повишена стойност за ОП – средно 1.031 (мин. 0.782; макс. 1.344), докато за КП е средно 0.92 (мин. 0.707; макс. 1.244). Това може да се обясни с нарастването на процента на органичен N, тъй като с използването на микробни добавки има значително повишаване на броя на микроорганизмите (Тодорова, 2013; Kuroda et al., 2004). Вероятно на това се дължи и отчетеното повишаване на процента на общия въглерод (%) (фиг. 4), като средната му стойност за ОП е 10.742 (мин. 8.952; макс. 13.034), а за КП – 9.831 (мин. 8.385; макс. 12.632). Съотношението C:N е аналогично за ОП и КП (10.55 и 10.77, съответно). Приемайки, че общите загуби на N и C от контролата са 100%, загубите от третираната ТП са с 10.8 и 8.9%, съответно по-малки.



Фиг. 3. Динамика на общия N
Fig. 3. Dynamics of total N



Фиг. 4. Динамика на общия C
Fig. 4. Dynamics of total C

Въпреки че в продукта присъстват целулази и хемилцулаза (Sala et al., 2011), третирането с него няма значим ефект върху съдържанието на неутрално-детергентни влакнини (NDF, %). Отчетеното намаление на стойността на този показател е с едва 0.6%. Средната стойност за ОП е 58.59 (мин. 57.01; макс. 59.77), а за КП – 58.96 (мин. 57.69; макс. 60.67). Според Andersen et al. (2014) целта на осигуряването на ензими е специфично насочена към разграждане на някои компоненти на тора, като целулоза, които обикновено са по-трудно разградими. В много отношения тези ензими са сходни концептуално с използваните в заводите за производство на етанол от целулоза. Въпреки това има някои различия: оборският тор е по-разнообразен материал, не толкова еднороден по състав, и в него естествено присъства широк асортимент от микроби. Това може да повлияе ензимната ефективност, тъй като често ензимите оперират на изключително специфични материали.

ИЗВОДИ

Третирането на торовата постеля от млечни крави с бактериално-ензимен продукт Microran® Normal води до намаляване на влагата със 7.4%, което се потвърждава и от направената субективна сетивна оценка: третираната постеля е по-суха и по-мека на допир, с почти пълно отсъствие на лоша миризма.

Концентрацията на $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ и съотношението $\text{NH}_4^+ \text{-N}$: Общ N в третираната торова постеля намаляват с 42.3 и 53.3% съответно, което най-вероятно е вследствие на повишена асимилация и имобилизация на N, и/или антимикробна активност спрямо амонифициращите бактерии.

Общите потенциални загуби на N и C от третираната торова постеля са с 10.8 и 8.9% съответно по-малки.

Възможно е постигане на по-добри резултати и оптимизиране на процеса чрез манипулиране на съотношението C:N и дозирането на продукта, както и изследване на показатели като общ брой микроорганизми, концентрация на урея, уреазна активност и др., което би помогнало при интерпретацията на резултатите.

ЛИТЕРАТУРА

1. **Тодорова, С.**, 2013. Компостиране на органични отпадъци чрез използването на бактериална добавка. Научни трудове на Русенския университет, том 52, серия 10.2, стр. 239-245.
2. **Abdel-Mohsein, H. S., T. Sasaki, C. Tada, Y. Nakai**, 2011. Characterization and partial purification of a bacteriocin-like substance produced by thermophilic *Bacillus licheniformis* H1 isolated from cow manure compost. *Anim. Sci. J.* 82(2):340-51.
3. **Andersen, D. S., J. D. Harmon, S. J. Hoff, A. Rieck-Hinz**, 2014. Manure storage and handling – Manure additives overview. AMPAT 18. Iowa State University Extension and Outreach.
4. **Borowski, S., B. Gutarowska**, 2008. Odor removal from the environment through the action of microorganisms. Proceeding of the International Symposium “New research in biotechnology” USAMV Bucharest, Romania.
5. **Cabrini, L., P. Brignoli**, 2009. Improvement of environmental quality and animal welfare in poultry farms by application of biological promoters. VIII European Symposium on Poultry Welfare – Cervia, Italy, 18-22 May.
6. **Guo, Y., Z. Yu, J. Xie, R. Zhang**, 2012. Identification of a new *Bacillus licheniformis* strain producing a bacteriocin-like substance. *J. Microbiol.* 50(3):452-8.
7. **Gutarowska, B., K. Matusiak, S. Borowski, A. Rajkowska, B. Brycki**, 2014. Removal of odorous compounds from poultry manure by microorganisms on perlite – bentonite carrier. *Journal of Environmental Management* 141, 70-76.
8. **Haga, K.**, 1996. Various additives for treatment of animal waste. In “Manure Management” (in Japanese), ed. Haga, K., Dairyman, Sapporo, Japan, pp. 51-57.
9. **Hagavane, S. R., R. D. Chaudhari, R. S. Thakare**, 2014. Influence of soil moisture regimes and sources of organic manures on urease activities in Inceptisols. *American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci.*, 14 (7): 589-593.
10. **Hanajima, D., S. Haruta, T. Hori, M. Ishii, K. Haga, Y. Igarashi**, 2009. Bacterial community dynamics during reduction of odorous compounds in aerated pig manure slurry. *Journal of Applied Microbiology* 106, 118-129.
11. **Hoppensack, A., F. B. Oppermann-Sanio, A. Steinbüchel**, 2003. Conversion of the nitrogen content in liquid manure into biomass and polyglutamic acid by a newly isolated strain of *Bacillus licheniformis*. *FEMS Microbiol. Lett.* 218(1): 39-45.
12. **Kim, Y-J., S. T. Ahmed, Md. M. Islam, C-J. Yang**, 2014. Evaluation of *Bacillus amyloliquefaciens* as manure additive for control of odorous gas emissions from pig slurry. *African Journal of Microbiology Research*, Vol. 8(26), pp. 2540-2546.
13. **Kuroda, K., D. Hanajima, Y. Fukumoto, K. Suzuki, S. Kawamoto, J. Shima, K. Haga**, 2004. Isolation of thermophilic ammonium-tolerant bacterium and its application to reduce ammonia emission during composting of animal wastes. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 68:2, 286-292.
14. **Li, H-t, X-h. Xu, J. Liu**, 2012. Effect of microbiological additive on the diversity of microbial community and the dynamic distribution during high-temperature composting process. *Applied Mechanics and Materials*, Vol. 214, pp. 366-369.
15. **Lim, J. H., H. Y. Jeong, S. D. Kim**, 2011. Characterization of the Bacteriocin J4 produced by *Bacillus amyloliquefaciens* J4 isolated from Korean traditional fermented soybean paste. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* 54:468-474.
16. **Lisboa, M. P., D. Bonatto, D. Bizani, J. A. P. Henriques, A. Brandelli**, 2006. Characterization of a bacteriocin-like substance produced by *Bacillus amyloliquefaciens* isolated from the Brazilian Atlantic forest. *Int. Microbiol.* 9:111-118.
17. **Maggioni, P., P. Brignoli**, 2006. Use of biological promoters in biological composting and stabilization processes of organic materials to improve the efficiency and reduce environmental impact. *RS N.* 5/2006.
18. **McCrary, D. F., P. J. Hobbs**, 2001. Additives to reduce ammonia and odor emissions from livestock wastes: a review. *Journal of Environmental Quality* 30(2): 345-355.
19. **Nakasaki, K., A. Ohtaki**, 2002. Waste treatment technologies. Effect of seeding on the reduction of ammonia emissions during composting. *Kagaku Kogaku Ronbunshu*, ISSN:0386-216X, Vol. 28, No. 5, 606-611.
20. **Ndegwa, P. M., A. N. Hristov, J. Arogo, R. E. Sheffield**, 2008. A review of ammonia emission mitigation techniques for concentrated animal feeding operations. *Biosystems Engineering* 100: 453-469.
21. **Ndegwa, P. M., A. N. Hristov, J. A. Ogejo**, 2011. Ammonia emission from animal manure: Mechanisms and mitigation techniques. In Z. He, ed. *Environmental Chemistry of Animal Manure*, pp. 107-151. Hauppauge, NY, Nova Science Publishers.
22. **Petersen, S. O., S. G. Sommer**, 2011. Ammonia and nitrous oxide interactions: Roles of manure organic matter management. *Anim. Feed Sci. Technol.* 166-167: 503-513.
23. **Pötter, M., F. B. Oppermann-Sanio, A. Steinbüchel**, 2001. Cultivation of bacteria producing polyamino acids with liquid manure as carbon and nitrogen source. *Appl. Environ. Microbiol.* 67, 617-622.
24. **Sahrawat, K. L.**, 1984. Effects of temperature and moisture on urease activity in semi-arid tropical soils. *International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics (ICRISAT), Plant and Soil*, 78: 401-408.
25. **Sala, V., C. Gusmara, F. Ostanello, P. Brignoli**, 2011. Improvement of environmental quality in intensive pig farming through an integrated bioactivation program for the control and prevention of swine mycoplasma pneumonia. *Journal of Central European Agriculture*, 12(1), 35-43.
26. **Sardans, J., J. Penuelas**, 2005. Drought decreases soil enzyme activity in a Mediterranean *Quercus ilex* L. forest. *Soil Biol. Biochem.* 37: 455-461.
27. **Sasaki, H., J. Nonaka, K. Otawa, O. Kitazume, R. Asano, T. Sasaki, Y. Nakai**, 2009. Analysis of the structure of the bacterial community in the livestock manure-based composting process. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.*, Vol. 22, No. 1, 113-118.
28. **Sasaki, H., O. Kitazume, J. Nonaka, K. Hikosaka, K. Otawa, K. Itoh, Y. Nakai**, 2006. Effect of a commercial

microbiological additive on beef manure compost in the composting process. *Animal Science Journal* 77, 545-548.

29. Sasaki, H., O. Kitazume, T. Sasaki, Y. Nakai, 2004. Ammonia-assimilating microbes in microbial community in a lagoon for wastewater from paddock of dairy cattle. *Animal Science Journal*, 75:79-84.

30. Shimaya, C., T. Hashimoto, 2011. Isolation and characterization of novel thermophilic nitrifying *Bacillus* sp. from compost. *Soil Science and Plant Nutrition*, 57:1, 150-156.

31. StatSoft, Inc., 1995. STATISTICA for Windows. Tulsa, OK, USA.

32. Sumi, C. D., B. W. Yang, I-C. Yeo, Y. T. Hahm,

2015. Antimicrobial peptides of the genus *Bacillus*: a new era for antibiotics. *Can. J. Microbiol.* 61: 93-103.

33. Tiquia, S. M., N. F. Y. Tam, 2000. Fate of nitrogen during composting of chicken litter. *Environ. Pollut.* 110, 535-541.

34. Todorova, S., L. Kozhuharova, 2010. Characteristics and antimicrobial activity of *Bacillus subtilis* strains isolated from soil. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 26/7, 1207-1216.

35. Zhang, Y-L., Y-S. Wang, 2006. Soil enzyme activities with greenhouse subsurface irrigation. *Soil Science Society of China Pedosphere*, 16 (4): 512-518.

TREATMENT OF DAIRY MANURE LITTER WITH BACTERIAL-ENZYMATIC BIOACTIVATOR

V. Vasilev, E. Videv, J. Krustanov
Agricultural institute – Stara Zagora

SUMMARY

The aim of this study was to establish the values of pH, moisture, nitrogen (NH_4^+ -N; NO_3^- -N; and total N), total carbon and neutral detergent fibers in the dairy manure litter (DML), treated by bacterial-enzymatic product Micropan® Normal (Eurovix, Italy). The study has been carried out at the dairy farm of the Agricultural institute – Stara Zagora for a period of 49 days, when the last sample was taken. The treatment was done at the days 1, 8, 15, 22 and 36 of the experiment. The composite samples for the purposes of laboratory analysis were taken at days 11, 15, 18, 22, 25, 29, 32, 36, 39, 44 and 49 of the experiment. It was established that there were no significant differences between the experimental samples (ES) and control samples (CS) average values of the pH (8.96 and 8.93, respectively). The moisture of the ES decreased by 7.4% in comparison with CS, which was confirmed by the subjective sensitive assessment: the treated DML was dryer and softer with no presence of malodor. The NH_4^+ -N concentrations and the NH_4^+ -N/total N ratio in the treated DML decreased by 42.3 and 53.3%, respectively, whereas the NO_3^- -N concentrations were extremely low for all samples. The total potential loss of N and C from the treated DML was respectively 10.8 and 8.9% less than control one. The C:N ratio was 10.55 and 10.77 for ES and CS, respectively. Treatment had no significant effect on the NDF content as the decrease was 0.6%.

Key words: *dairy cows, manure litter, treatment, bacterial-enzymatic bioactivator.*