

ISSN 1029-8940 (Print)
ISSN 2524-230X (Online)
УДК 631.95:628.381.4
<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2019-64-3-338-349>

Поступила в редакцию 21.02.2019
Received 21.02.2019

О. Е. Чезлова, А. А. Волчек

Полесский аграрно-экологический институт НАН Беларуси, Брест, Республика Беларусь

ВЫЖИВАЕМОСТЬ ПАТОГЕННЫХ И УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ ЖИВОТНОВОДЧЕСКИХ СТОКОВ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ СПОСОБАХ ИХ ВНЕСЕНИЯ НА ЛУГОПАСТБИЩНЫЕ ТРАВЫ

Аннотация. Утилизация животноводческих стоков, имеющих высокий инфекционный потенциал, на полях орошения ведет к длительному бактериальному загрязнению природных компонентов, в том числе растительной продукции. В мелкочаечном полевом эксперименте оценена выживаемость санитарно-показательных бактерий в пастбищных травах при нормах полива их стоками свиного комплекса 270, 180 и 90 м³/га. Выявлено, что бактериальное обсеменение растений находится в прямой зависимости от нормы полива сточными водами (СВ). Так, через 21 день после полива наибольшее количество бактерий группы кишечной палочки и энтерококков при норме полива СВ 270 м³/га составило $6,5 \cdot 10^2$ и $1,6 \cdot 10^3$ КОЕ/г; при норме 180 м³/га – 10^2 и $5,5 \cdot 10^2$; при норме 90 м³/га – $5,5 \cdot 10^2$ и $3,5 \cdot 10^2$ КОЕ/г соответственно. Через 10 дней при норме полива СВ 270 м³/га *E. coli* сохранялась в растениях, а при нормах полива 180 и 90 м³/га отсутствовала. Через 21 день данный микроорганизм отсутствовал в растениях во всех вариантах опыта. Для показателей *E. coli*, общего микробного числа (ОМЧ), энтерококков адекватна модель экспоненциального отмирания бактерий в растениях в зависимости от времени после полива СВ. По скорости отмирания микроорганизмы распределились следующим образом (в сторону убывания): *E. coli* ($k = 48$ день⁻¹), ОМЧ ($k = 0,089 - 0,17$ день⁻¹), энтерококки ($k = 0,086 - 0,10$ день⁻¹). Наименьшим время 10-кратного сокращения числа бактерий было у *E. coli* – 4,76 дня; для энтерококков оно варьировалось от 22,91 до 26,69 дня; для ОМЧ – от 13,37 до 25,77 дня. Полученные уравнения множественной регрессии позволили выявить наиболее значимые факторы, влияющие на численность бактерий, а также прогнозировать ее в рамках созданных моделей.

Ключевые слова: санитарно-показательные бактерии, растения, животноводческие сточные воды

Для цитирования: Чезлова, О. Е. Выживаемость патогенных и условно-патогенных бактерий животноводческих стоков при различных способах их внесения на лугопастбищные травы / О. Е. Чезлова, А. А. Волчек // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. биол. наук. – 2019. – Т. 64, № 3. – С. 338–349. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2019-64-3-338-349>

О. Е. Chezlova, A. A. Volchak

Polesie Agrarian Ecological Institute of the National Academy of Sciences of Belarus, Brest, Republic of Belarus

SURVIVAL OF FECAL INDICATOR BACTERIA IN THE GRASS PHILOSPHERE WHEN IRRIGATED WITH LIVESTOCK WASTE WATER

Abstract. In a field experiment, the dying off of sanitary-indicative bacteria in grasses when irrigating them with wastewater of a pig breeding complex was assessed. Watering was carried out with norms of 270, 180 and 90 m³/ha. Bacterial contamination of herbs was directly dependent on the rate of irrigation with wastewater. *E. coli* 10 days after watering with a wastewater norm of 270 m³/ha was preserved in plants, while at a rate of 180 and 90 m³/ha it was absent. After 21 days, this microorganism was absent in plants with all types of irrigation wastewater. For indicators of *E. coli*, the total microbial count (TBC), enterococci is adequate model of the exponential dying of bacteria in plants, depending on the time after watering wastewater. Microorganisms were distributed according to the rate of dying down as follows (in decreasing direction): *E. coli* ($k = 0.48$ day⁻¹), TBC ($k = 0.089 - 0.17$ day⁻¹), enterococci ($k = 0.086 - 0.10$ day⁻¹). The time of a 10-fold reduction in the number of bacteria was smaller for *E. coli* – 4.76 days, for enterococci it varied from 22.91 to 26.69, for TBC – from 13.37 to 25.77 days. The obtained equations of multiple regression allowed to identify the most significant factors influencing the number of bacteria, as well as to predict it within the framework of the models created.

Keywords: sanitari-indicative microflora, livestock wastewater irrigation, plants

For citation: Chezlova O. E., Volchak A. A. Survival of fecal indicator bacteria in the grass phyllosphere when irrigated with livestock waste water. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2019, vol. 64, no. 3, pp. 338–349 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2019-64-3-338-349>

Введение. Жизнеспособность патогенных и условно-патогенных бактерий, попавших в природные и природно-антропогенные экосистемы вследствие внесения навоза и животноводческих сточных вод (СВ), отличается большой вариабельностью [1–7]. Поэтому для оценки фекальных бактерий как возможного звена в передаче возбудителей инфекционных заболеваний необходимо знать сроки их выживания в компонентах окружающей среды. Очевидно, что для предотвращения загрязнения природной среды оросительная норма на сельскохозяйственных полях орошения (ЗПО) должна быть увязана со степенью бактериальной загрязненности животноводческими стоками и временем самоочищения почв, вод и растительной продукции от патогенных микроорганизмов.

Известно, что растениями обычно не обнаруживаются такие патогены человека, как *Salmonella*, *Campylobacter*, *Escherichia coli*, *Listeria* и др. [8]. Однако зоонозные бактерии могут переноситься с почвой, навозом, компостом, поливной водой, а также насекомыми, дикими или домашними животными и др. [9]. Независимо от источника бактериального загрязнения, кишечные бактерии могут относительно быстро прикрепляться к растущим тканям растений, колонизировать их, сосуществовать с автохтонными эпифитными бактериями и сохраняться в течение длительного времени [10]. Исследования смывов с выращиваемых на ЗПО сельскохозяйственных культур показывают увеличение титра бактерий группы кишечной палочки (БГКП) на 3–4 порядка, в результате чего данный показатель может достигать значения 10^{-2} – 10^{-3} мл, титр *E. coli* и энтерококков – 10^{-2} и 10^{-1} мл соответственно. Общее микробное число (ОМЧ) может возрастать на 1–2 порядка и определяться на уровне $(1,3–1,8) \cdot 10^6$ колониеобразующих единиц (КОЕ/мл) [11]. На степень бактериологического загрязнения выращиваемых на ЗПО растений влияет не только способность к выживанию отдельных видов микроорганизмов в полевых условиях, но и режим орошения, а также способ внесения жидких стоков. Установлено, что более интенсивное обсеменение трав наблюдается при поверхностном внесении СВ, чем при дождевании и тем более при внутрипочвенном внесении навоза. ОМЧ их может достигать значения $2 \cdot 10^6$ КОЕ/г, титр БГКП и энтерококков – 10^{-4} и 10^{-3} г соответственно [12–14]. По сути, растения и почва являются единым резервуаром, где растительный организм служит звеном, выносящим бактерии из почвы [15]. Так, например, кишечные иерсинии обнаруживаются не только в почве полей орошения, но и в силосе, приготовленном из растений с этих полей [16].

Филлосфера растений не является благоприятной средой для выживания кишечных бактерий. На поверхность листьев воздействуют такие факторы, как ультрафиолетовый свет, перепады температуры и относительная влажность, доступность влаги [17]. Так, установлено, что адгезия болезнетворных микроорганизмов к поверхности растений менее интенсивна при более низких температурах [9]. На выживание бактерий в филлосфере помимо климатических и физических влияют биологические факторы. Так, целый ряд эпифитных микробов препятствует способности кишечных бактерий колонизировать поверхность листьев. А кроме того, на их выживание и рост влияет наличие источников углерода и азота [17]. Одна из стратегий выживания бактериальных клеток на растительной поверхности – образование биопленок. В таком виде существуют от 30 до 80 % эпифитных бактерий. Микроорганизмы, встроенные в матрицу внеклеточных полисахаридов, защищены от высыхания и воздействия антимикробных соединений [18]. Еще одним механизмом защиты от неблагоприятных условий окружающей среды является способность некоторых бактерий проникать внутрь растительных тканей. Она выявлена у многих микроорганизмов семейства Enterobacteriaceae (иерсиний, клебсиелл, энтеробактеров, серраций и кишечной палочки) [19–22]. Сальмонеллы разных сероваров, источником которых считаются животные, могут размножаться и в растениях [6, 23]. Бактерии получают доступ к внутренним областям листа через устьица, повреждения, действие фитопатогенов и через корневую систему [17]. Непатогенные бактерии (например, *Pantoea agglomerans*) используют преимущественно эпифитный механизм колонизации растений [8].

На данный момент вопросы жизнеспособности патогенных и условно-патогенных микроорганизмов в филлосфере растений, выращиваемых на ЗПО, изучены недостаточно. Игнорирование экологического подхода к утилизации животноводческих стоков, отличающихся высоким

инфекционным потенциалом, ведет к снижению качества продукции растениеводства, опасному биологическому загрязнению экосистем, росту заболеваемости животных и населения [24].

Цель данной работы – оценка бактериологической обсемененности санитарно-показательной микрофлорой многолетних трав при поливе их сточными водами свиноводческого комплекса, а также выявление влияющих на нее факторов.

Объекты и методы исследования. Объектом исследований являлась растениеводческая продукция, полученная на ЗПО ОАО СГЦ «Западный»: многолетние лугопастбищные травы и их микроорганизмы.

ОАО СГЦ «Западный», являющийся крупным свиноводческим комплексом Брестского района, рассчитанным на выращивание до 90 тыс. голов свиней в год, дает около 400 тыс. м³ стоков.

Исследование проводили в июле–августе 2016 г. Для установления зависимости бактериального загрязнения растений от дозы вносимых стоков был заложен мелкоделяночный полевой опыт. Размер делянки 1 м². Сообщество многолетних трав включало овсяницу тростниковую, ежу сборную, клевер луговой. Почва опытного участка дерново-подзолистая глееватая, на связном песке. Используемые поливные нормы СВ – 90, 180 и 270 м³/га. Контролем служила площадь, где полив СВ не производился. Внесение стоков проводили в июле после второго укоса трав. Пробы растений отбирали до полива, а также через 5, 10 и 21 день после полива СВ. Опыты проводили в двукратной повторности.

Для оценки погодно-климатических факторов использовали данные Брестского областного центра по гидрометеорологии и мониторингу окружающей среды (табл. 1).

Т а б л и ц а 1. Среднесуточная температура воздуха и атмосферные осадки за предшествующие 3 дня перед отбором растительных образцов

Table 1. Average daily air temperature and precipitation over the previous 3 days before sampling of plant samples

Показатель	21.07.2016	26.07.2016	02.08.2016	09.08.2016
Температура, °C	19,0	18,8	22,1	20,5
Осадки, мм	48,3	6,4	4,3	19,2

Содержание бактерий в СВ (КОЕ/100 мл): общие колиформные бактерии – $6,2 \cdot 10^3$, термотолерантные колиформные бактерии – $2,4 \cdot 10^2$, энтерококки – 10^5 ; ОМЧ – $1,5 \cdot 10^5$ КОЕ/мл. В поливной воде обнаружены следующие виды бактерий сем. Enterobacteriaceae: *E. coli*, *Citr. freundii*, *Pr. vulgaris* (в титрах 0,001; 0,01; 0,1 мл соответственно).

Для микробиологического анализа в сухую погоду (в утренние часы, после высыхания росы) в стерильные полиэтиленовые пакеты отбирали репрезентативные растительные пробы в количестве 200–500 г, не допуская контаминации их посторонней микрофлорой. В течение 2 ч пробы доставляли в лабораторию и до начала исследования хранили в холодильнике. Срок хранения – не более суток. В дальнейшем исследуемый материал тщательно перемешивали, используя стерильный инструмент, и измельчали на кусочки длиной около 1 см, навеску ($10 \pm 0,01$ г) гомогенизировали, переносили в колбу, добавляли 90 мл стерильного физиологического раствора и обрабатывали на встряхивателе в течение 5 мин. Из полученной таким образом исходной суспензии готовили серии десятичных разведений для посева на питательные среды. Бактериологический анализ осуществляли по стандартным методикам.

БГКП определяли методом прямого посева суспензий на поверхность среды Эндо. Чашки с посевами инкубировали 18–24 ч при температуре среды 37 ± 1 °C. При росте колоний (окрашивание в малиновый цвет с металлическим блеском или без него, а также в красный или розовый) проводили микроскопию колоний с последующей постановкой оксидазного теста. При обнаружении грамотрицательных оксидазоотрицательных палочек по 2–3 колонии каждого типа засеивали полужидкую среду с лактозой для подтверждения ферментации лактозы при температуре 37 ± 1 °C. Для выявления термотолерантных форм БГКП дополнительно термостатировали посева при 44 ± 1 °C. Через 18 ч инкубации проводили учет. Наличие кислоты и газа свидетель-

ствовало о присутствии бактерий группы кишечной палочки. При наличии только кислоты пробирки оставляли в термостате еще на 24 ч, после чего при отсутствии газообразования результат учитывали как отрицательный.

Определение видового состава условно-патогенных бактерий семейства Enterobacteriaceae проводили традиционным методом бактериологического анализа. Выросшие на плотных питательных средах энтеробактерии отсеивали на комбинированную среду Клиглер (по 3–5 одноклеточных колоний) для первичной дифференциации и накопления культуры. На заключительном этапе осуществляли окончательную дифференциацию по комплексу биохимических признаков [25].

Для определения наличия энтерококков делали прямой посев суспензий на плотную селективную среду (энтерококкагар). Чашки инкубировали 44–48 ч при температуре 37 ± 1 °C. При отсутствии роста микрофлоры посеы считали отрицательными. При росте культуры для подтверждения наличия энтерококков делали каталазный тест и микроскопию окрашенных по Граму мазков.

Метод определения ОМЧ основан на выявлении и количественном подсчете всех выросших колоний микроорганизмов на мясопептонном агаре (МПА), при культивировании посевов в аэробных условиях при температуре 37 °C в течение 24 ч и пересчете их количества на 1 г зеленой массы растений.

Статистическую обработку данных проводили по стандартным методикам [26].

Для аппроксимации 1-го порядка ординаты концентраций бактерий преобразованы в натуральные логарифмы и подобраны как функция линейной регрессии от времени в соответствии с уравнением отмирания 1-го порядка [27, 28]:

$$N_{\tau} = N_0 \exp(-k\tau), \quad (1)$$

где N_{τ} – количество бактерий в момент времени τ ; N_0 – количество бактерий в начальный момент времени; k – константа отмирания 1-го порядка (день⁻¹); τ – ордината времени (день).

В дальнейшем для выявления факторов, влияющих на изменение числа бактерий в зеленой массе растений, был проведен множественный корреляционно-регрессионный анализ. Принятая модель множественной регрессии оценивалась как

$$\hat{Y} = a + b_1x_1 + b_2x_2 + \dots + b_nx_n, \quad (2)$$

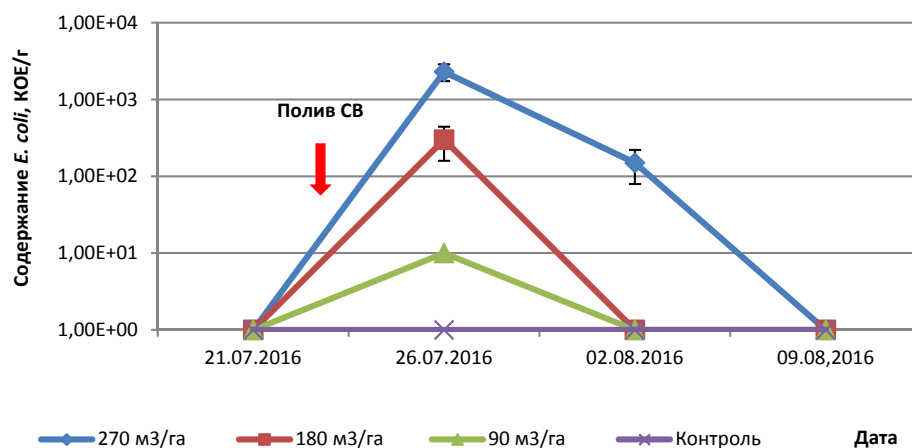
где \hat{Y} – предсказанное значение численности бактерий; a – отрезок, отсекаемый на оси y ; x_1, x_2, x_n – независимые факторы; b_1, b_2, b_n – частные коэффициенты регрессии [26].

Для множественной регрессии данные численности бактерий N были трансформированы в $\lg N$ (массивы данных, в составе которых присутствовали нулевые значения, трансформировались в $\lg(N + 1)$). На следующем этапе оценивали взаимосвязь независимых факторов с результирующей переменной (численность бактерий) с помощью корреляционной матрицы. При наличии коллинеарных факторов для дальнейшей работы использовали тот, который имел наименьшие коэффициенты корреляции с другими регрессорами. В уравнении множественной регрессии оставляли независимые переменные, константы при которых были статистически значимыми.

Результаты и их обсуждение. До полива стоками БГКП в растениях не обнаруживались (<10 КОЕ/г). Общее количество сапрофитов (ОМЧ) определялось на уровне от $2,50 \cdot 10^5$ до $3,85 \cdot 10^5$ КОЕ/г, энтерококков – от 10^2 до $4 \cdot 10^2$ КОЕ/г, лактозоотрицательных энтеробактерий – от $2,05 \cdot 10^4$ до $3,45 \cdot 10^4$ КОЕ/г. Следует отметить, что до полива СВ в растениях обнаруживался только один представитель энтеробактерий – *Pantoea agglomerans*, который, по всей видимости, является типичным для эпифитной микрофлоры многолетних трав данного участка.

После внесения стоков травы всех политых СВ участков содержали *E. coli* (рис. 1). Выделенные штаммы обнаруживали термотолерантные свойства (способность к росту и ферментации лактозы при 44 °C), что согласовалось с качеством стоков для полива, так как в них данный микроорганизм встречался до титра 0,001 мл и также обладал термотолерантностью.

Через 5 дней после полива СВ содержание *E. coli* в зеленой массе растений (КОЕ/г) возросло при норме 270 м³/га до $2,3 \cdot 10^3$, при норме 180 м³/га – до $3 \cdot 10^2$, при норме 90 м³/га – до 10.

Рис. 1. Содержание *E. coli* в зеленой массе растений после полива СВFig. 1. The content of *E. coli* in the green mass of plants after irrigation with wastewater

Через 10 сут данный вид энтеробактерий не обнаруживался в растениях при нормах 180 и 90 м³/га, а при норме 270 м³/га оставался на уровне $1,5 \cdot 10^2$ КОЕ/г. К 21-му дню после полива СВ данный вид был полностью элиминирован из зеленой массы растений при всех нормах полива. Этот факт необходимо учитывать при назначении карантинного срока перед скармливанием животным зеленого корма.

Динамика БГКП во многом была обусловлена динамикой *E. coli* (рис. 2). Так, через 5 дней наблюдался скачок количества микроорганизмов данной группы: при норме полива СВ 270 м³/га значение показателя увеличилось на 3 порядка и достигло значения $2,3 \cdot 10^3$ КОЕ/г, при норме полива 180 м³/га – на 2 порядка и составило $3 \cdot 10^2$ КОЕ/г, при норме полива 90 м³/га – на 2 порядка и достигло значения $1,1 \cdot 10^2$ КОЕ/г. Выделенные лактозоположительные энтеробактерии в основном были представлены видом *E. coli*. При использовании нормы 90 м³/га также был выделен *Citrobacter spp.*

Через 10 дней наблюдался спад количества бактерий данной группы. Так, количество БГКП при нормах 180 и 90 м³/га снизилось в 55 и 18 раз соответственно, приблизившись к значению в контроле (<10 КОЕ/г). При норме 270 м³/га снижение произошло в 4,6 раза. Однако количество данных бактерий оставалось достаточно высоким – $5 \cdot 10^2$ КОЕ/г. БГКП сохраняли термотолерантные свойства. Через 21 день наблюдался вторичный рост БГКП в зеленой массе трав по всем опытным делянкам: при норме 270 м³/га – до $6,5 \cdot 10^2$ КОЕ/г, при норме 180 м³/га – до 10^2 , при норме 90 м³/га – до 55 КОЕ/г. Однако к данному сроку *E. coli* в растениях отсутствовали, обнаруживались только *Citrobacter spp.* Рост показателя БГКП, возможно, обусловлен трансформацией

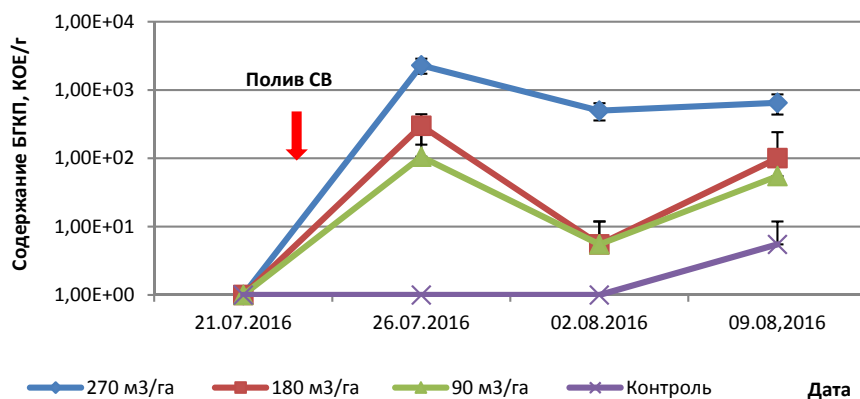


Рис. 2. Содержание БГКП в зеленой массе растений после полива СВ

Fig. 2. The content of coliform bacteria in the green mass of plants after watering wastewater

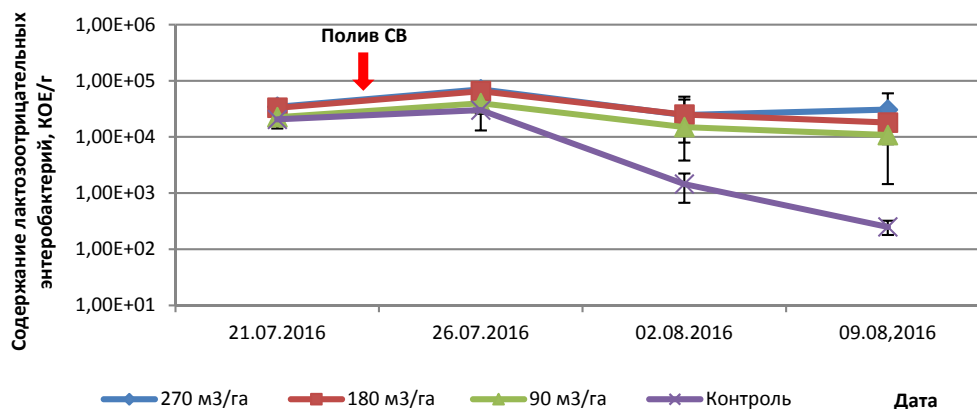


Рис. 3. Содержание лактозоотрицательных энтеробактерий в зеленой массе растений после полива СВ

Fig 3. The content of lactose-negative enterobacteria in the green mass of plants after watering wastewater

ферментативных свойств бактерий стоков в условиях полей (в частности, *E. coli*), на что указывают некоторые ученые [29], а также развитием автохтонных лактозоположительных колиформ. Для выяснения данного предположения необходимо привлечение молекулярно-генетических методов исследования. В сравнении с контролем к 21-му дню после внесения стоков наблюдался рост показателя в 118, 18 и 10 раз при нормах 270, 180, 90 м³/га соответственно.

Присутствие в стоках значительного количества лактозоотрицательных энтеробактерий обусловило исследование их динамики в травах. Через 5 дней после полива СВ данные микроорганизмы демонстрировали увеличение количества в сравнении с контролем: при норме 270 м³/га – в 2,35 раза, при норме 180 м³/га – в 2,18, при норме 90 м³/га – в 1,33 раза (рис. 3). К 11-му дню после полива СВ количество лактозоотрицательных представителей сем. Enterobacteriaceae в растительных пробах снизилось при всех вариантах полива СВ от 1,4 до 2,2 раза, приблизившись к значениям показателя до полива. К 21-му дню количество данных бактерий в растениях политых делянок менялось незначительно, оставаясь ниже, чем до полива СВ, в 1,1–2,08 раза. Тем временем в контрольных растениях отмечалось снижение в 82 раза. К 21-му дню после внесения СВ содержание энтеробактерий в филлосфере трав со внесенными стоками превышало их значение в контроле в 43–123 раза. Данная группа была представлена только одним видом – *Pantoea agglomerans*.

По всей видимости, поступление питательных веществ со стоками вызвало рост аборигенных представителей данного вида. Характерные для СВ лактозоотрицательные энтеробактерии рода *Proteus* отсутствовали.

Показатель ОМЧ через 5 дней после полива стоками составил $2,35 \cdot 10^6$ (при норме 270 м³/га), $1,85 \cdot 10^6$ (при норме 180 м³/га) и $5,3 \cdot 10^5$ КОЕ/г (при норме 90 м³/га), что превышало его значение в контроле в 5,7; 4,5; 1,3 раза соответственно (рис. 4).

Количество сапрофитов при нормах 270, 180 м³/га к 11-му дню после полива СВ в растениях сократилось в 3–3,6 раза. При норме 90 м³/га оно сохранялось на том же уровне. К 21-му дню после полива значение ОМЧ в растениях при норме полива СВ 270 м³/га оставалось повышенным в сравнении с периодом до полива в 1,6 раза, при нормах 180 и 90 м³/га снизилось в 3,3 и 1,9 раза соответственно. В сравнении с контролем количество сапрофитов было выше в 11; 2,6; 3 раза при нормах полива 270, 180 и 90 м³/га соответственно.

Через 5 дней количество энтерококков в зеленой массе растений при нормах полива 270, 180 и 90 м³/га увеличилось в 22; 7,7; 3,6 раза соответственно, достигнув значений $7,55 \cdot 10^3$, $2,7 \cdot 10^3$, $1,25 \cdot 10^3$ КОЕ/г (рис. 5).

На 11-й день произошло снижение количества энтерококков в 4,9 (при норме 270 м³/га), 3 (при норме 180 м³/га) и 1,4 раза (при норме 90 м³/га), что превышало значение показателя в контроле в 3,9; 3,3; 2,2 раза соответственно. Однако в травах контрольных делянок данный показатель также возрос и обнаруживался на уровне $4 \cdot 10^2$ КОЕ/г, что связано, по-видимому, со снижением иммунитета растений после укоса.

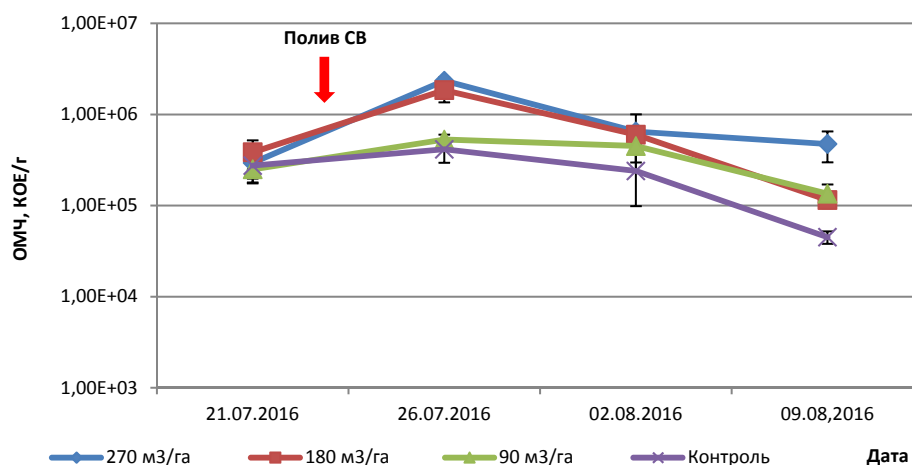


Рис. 4. ОМЧ зеленой массы растений после полива СВ

Fig. 4. Total bacterial count of green mass of plants after watering wastewater

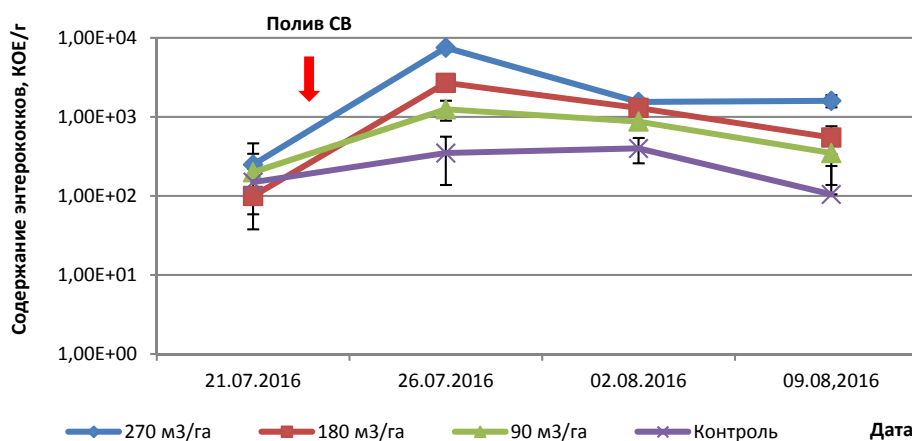


Рис. 5. Содержание энтерококков в зеленой массе растений после полива СВ

Fig. 5. The content of enterococci in the green mass of plants after watering wastewater

К 21-му дню после полива СВ при норме полива 270 м³/га количество энтерококков практически осталось на том же уровне ($1,6 \cdot 10^3$ КОЕ/г), превышая их количество до полива в 6,4 раза. При нормах полива 180 и 90 м³/га произошло снижение показателя до $5,5 \cdot 10^2$ и $3,5 \cdot 10^2$ КОЕ/г соответственно, что превышало количество энтерококков до полива в 5,5 и 1,75 раза. В сравнении с контролем количество энтерококков было выше в 15, 5 и 3 раза при нормах 270, 180 и 90 м³/га соответственно.

Аппроксимация 1-го порядка позволила оценить скорость отмирания исследуемой микрофлоры растений и рассчитать время 10-кратного сокращения их численности (так называемое *D*-значение). *D*-значение, или «время десятичного сокращения», – это время, необходимое для достижения гибели 90 % (или 1 lg) бактерий при определенном наборе условий [30]. Модель экспоненциального отмирания во времени оказалась адекватной для показателей *E. coli*, энтерококков и ОМЧ, но не для БГКП и лактозоотрицательных энтеробактерий, у которых наблюдался повторный рост (см. рис. 2, 3). Параметры полученных моделей в соответствии с формулой (1) и расчеты на их основе отражены в табл. 2.

Для выявления факторов, влияющих на изменение числа санитарно-показательных бактерий в зеленой массе растений, проведен множественный корреляционно-регрессионный анализ и получены уравнения регрессии в соответствии с формулой (2). Независимые факторы, значения которых использовали для построения моделей, приведены в табл. 3.

В табл. 4 приведены полученные уравнения зависимости.

Таблица 2. Коэффициенты скорости отмирания (k) и D -значения *E. coli*, энтерококков и ОМЧTable 2. Die-off rate coefficients and D -values *E. coli*, enterococci and TBC

Норма полива СВ, м ³ /га	N_0 , КОЕ/г	k , день ⁻¹	R^2	Значимость F -критерия	D -значения, дни
<i>E. coli</i>					
270	26 800	0,48	0,99	0,00001	4,76
Энтерококки					
270	7748	0,087	0,60	0,07*	26,43
180	4226	0,010	0,92	0,002	22,91
90	2014	0,086	0,77	0,02	26,69
ОМЧ					
270	2 767 016	0,094	0,66	0,05	24,40
180	4 152 163	0,17	0,98	0,0001	13,37
90	932 104	0,089	0,82	0,012	25,77

Примечание. * – превышение заданного уровня $\alpha = 0,05$.

Таблица 3. Независимые факторы, используемые при построении регрессионных моделей

Table 3. Independent factors used in the construction of regression models

Независимый фактор	Обозначение в уравнении множественной регрессии
Объем внесенных стоков, м ³ /га	$V_{\text{ст}}$
Среднесуточная температура воздуха за предыдущие 3 дня, °С	t
Среднесуточные атмосферные осадки за предыдущие 3 дня, мм	p
Время после полива, дни	τ

Таблица 4. Модели показателей бактериальной обсемененности растений

Table 4. Models of indicators of bacterial contamination of plants

Показатель	Уравнение регрессии	Коэффициент детерминации	Значимость F -критерия
<i>E. coli</i>	$N_{E. coli} = 10^{0,009V_{\text{ст}} - 0,052\tau}$	0,66	0,0006
	$N_{E. coli} = 10^{0,008V_{\text{ст}} - 0,03\tau^2}$	0,69	0,0003
БГКП	$N_{\text{БГКП}} = 10^{0,01V_{\text{ст}}}$	0,90	1,4E-08
Энтеробактерии лактозоотрицательные	$N_{\text{ЭБлак-}} = 10^{4,37 + 0,004V_{\text{ст}} - 0,06\tau}$	0,67	0,0007
ОМЧ	$N_{\text{ОМЧ}} = 10^{4,02 + 0,003V_{\text{ст}} + 0,08t - 0,04\tau}$	0,91	1,08E-06
Энтерококки	$N_{\text{энт}} = 10^{0,004V_{\text{ст}} + 0,13t - 0,015\tau}$	0,998	2,75E-16

Для показателя *E. coli* лучшим приближением аналитических данных была модель экспоненциального отмирания бактерий со временем (см. табл. 2). Для нормы полива СВ 270 м³/га получено уравнение с высоким качеством аппроксимации ($R^2 = 0,99$, значимость F -критерия Фишера – 0,00001). При меньших нормах полива число определяемых бактерий было очень малым (на границе чувствительности метода), что затрудняло построение моделей. Однако аналогичный характер динамики кишечной палочки в растениях при применении всех норм позволял считать модель, полученную при норме полива СВ 270 м³/га, репрезентативной для меньших норм. Исходя из полученного уравнения, коэффициент отмирания k равен 0,48 день⁻¹, а для 90 %-ной элиминации бактерий требовалось 4,76 дня. Таким образом, ограниченное количество питательных элементов, воздействие инсоляции способствовали достаточно быстрому отмиранию *E. coli* в растительных образцах.

Уравнение множественной линейной регрессии описывало динамику *E. coli* со средним качеством – 66 % вариации показателя объяснялось с помощью уравнения регрессионной зависимости. Наиболее значимым фактором, исходя из оценки *t*-статистики его коэффициента в уравнении регрессии, являлось внесение стоков. Из модели следует, что в каждый момент времени увеличение объема внесенных стоков на 1 м³/га приведет к повышению содержания *E. coli* в растительной продукции на 0,009 lg (1,021) КОЕ/г. Градиент уменьшения количества данных бактерий со временем составил 0,052 lg (1,127) КОЕ/г в день (при фиксированной норме полива СВ). Использование в уравнении регрессии переменной времени t более высокого порядка (t^2), позволяющее отразить нелинейность исследуемой связи, дало возможность получить уравнение с большим коэффициентом детерминации R^2 (0,69), однако качество полученной зависимости уступало качеству экспоненциальной модели (табл. 4).

Уравнение множественной регрессии для БГКП содержало только один значимый параметр – объем внесенных стоков (табл. 4). Коэффициент детерминации (R^2) полученной зависимости был высоким – 0,91. Исходя из данной модели, увеличение поливной нормы на 1 м³/га приведет к возрастанию показателя на 0,01 lg КОЕ/г (т. е. увеличение нормы полива СВ на 100 м³/га в рамках исследуемой модели приведет к возрастанию в 10 раз количества БГКП в растительной продукции).

Оценка качества уравнения множественной регрессии для лактозоотрицательных энтеробактерий позволила сделать вывод о меньшей его зависимости от выбранных независимых факторов. Исходя из уравнения, увеличение объема внесенных стоков на 1 м³/га приведет к увеличению содержания лактозонегативных форм энтеробактерий в растительной продукции на 0,001 lg (1,002) КОЕ/г (при неизменном времени). Наблюдалась положительная коррелятивная связь с фактором времени – по мере удаления от момента полива СВ количество данных бактерий увеличивалось. В отсутствии полива СВ количество энтеробактерий, не ферментирующих лактозу, составит 4,37 lg (2,34·10⁴) КОЕ/г, о чем свидетельствует наличие свободного члена в уравнении. Достоверные связи со среднесуточной температурой воздуха и атмосферными осадками за предшествующие 3 дня отсутствовали (табл. 4).

Характер динамики сапрофитов (показатель ОМЧ) (рис. 4) позволял описать ее с помощью модели линейной регрессионной зависимости от времени. Исходя из полученного уравнения, скорость отмирания мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов (МАФАНМ) варьировалась от 0,089 до 0,17 день⁻¹, причем большей она оказалась при норме полива СВ 180 м³/га. Количество дней, необходимых для 10-кратного снижения численности данной группы бактерий, находилось в диапазоне от 13,37 до 25,77 дней (см. табл. 2). С помощью множественного регрессионного анализа получено уравнение, в число независимых факторов которого помимо таких показателей, как объем внесенных стоков и время после полива СВ, вошел фактор температуры за предыдущие 3 дня (табл. 4). Исходя из полученной зависимости, увеличение объема полива на 1 м³/га приведет к увеличению содержания сапрофитов в растительной продукции на 0,003 lg (1,007) КОЕ/г (при неизменных времени и температуре). Фактор температуры за предыдущие 3 дня имел положительную коррелятивную связь с результирующей переменной – увеличение температуры на 1 °С приводило к возрастанию показателя ОМЧ на 0,08 lg (1,202) КОЕ/г в рамках модели. С фактором времени наблюдалась отрицательная корреляционная связь – с каждым днем после полива происходило снижение показателя на 0,04 lg (1,096) КОЕ/г.

С помощью аппроксимации 1-го порядка в отношении энтерококков получены уравнения зависимости со средней и высокой точностью приближения ($R^2 = 0,60–0,92$). Скорость отмирания данного фекального индикатора варьировалась от 0,086 до 0,10 день⁻¹, а количество дней для 10-кратного снижения числа бактерий – от 22,91 до 26,69 (см. табл. 2). Проведенный множественный регрессионный анализ позволил увеличить точность аппроксимации: полученное трехфакторное уравнение регрессии выражало 99,8 % вариации зависимой переменной, а значимость *F*-критерия Фишера была значительно ниже заданного уровня значимости $\alpha = 0,05–2,75 \cdot 10^{-16}$. В данном уравнении также помимо связи с факторами внесения стоков и времени имела достоверная связь с положительным знаком фактора средней температуры за предшествующие 3 дня.

Таким образом, при неизменности других факторов увеличение объема полива СВ на 1 м³/га приводило к увеличению содержания энтерококков в растительной продукции на 0,004 lg (1,009) КОЕ/г; увеличение температуры на 1 °С – к возрастанию количества энтерококков на 0,08 lg (1,202) КОЕ/г; увеличение времени после полива на 1-й день – к уменьшению показателя на 0,015 lg (1,035) КОЕ/г в рамках созданной модели (табл. 4).

Выводы

1. Количество санитарно-показательной микрофлоры трав после полива стоками свиного комплекса находится в прямой зависимости от нормы СВ. Так, через 21 день количество бактерий при нормах полива СВ 270, 180, 90 м³/га в сравнении с контролем возрастало для показателя БГКП в 118, 18 и 10 раз, для энтерококков – в 15, 5 и 3 раза, для ОМЧ – в 11; 2,6; 3 раза соответственно. *E. coli* через 10 дней после полива СВ при норме 270 м³/га сохранялась в растениях на уровне 1,5·10² КОЕ/г, а при нормах 180 и 90 м³/га отсутствовала. Через 21 день данный микроорганизм отсутствовал в растениях при всех вариантах полива СВ. Этот факт необходимо учитывать при назначении карантинного срока перед стравливанием животным зеленого корма.

2. Для *E. coli*, ОМЧ, энтерококков адекватна модель экспоненциального отмирания бактерий в растениях после полива СВ. По скорости отмирания микроорганизмы распределились следующим образом (в сторону убывания): *E. coli* ($k = 0,48$ день⁻¹), МАФАНМ ($k = 0,089–0,17$ день⁻¹), энтерококки ($k = 0,086–0,10$ день⁻¹). Время 10-кратного сокращения числа бактерий было меньше у *E. coli* – 4,76 дня, для энтерококков оно варьировалось от 22,91 до 26,69 для ОМЧ – от 13,37 до 25,77 дня.

3. Созданные стохастические регрессионные модели динамики санитарно-показательной микрофлоры в зеленой массе многолетних трав после полива СВ свиноводческого комплекса позволили выявить наиболее значимые факторы, влияющие на численность бактерий, а также прогнозировать ее в рамках созданных моделей.

Список использованных источников

1. Гончарук, Е. И. Санитарно-бактериологическая оценка почвенной очистки сточных вод свиноводческого комплекса / Е. И. Гончарук, Г. А. Багдасарян, А. К. Баубинас // Гигиена и санитария. – 1980. – № 10. – С. 86–88.
2. Microbial pathogen survival study in a high plains feedyard playa / C. W. Purdy [et al.] // Texas J. Sci. – 2001. – Vol. 53, N 3. – P. 247–266.
3. Duffy, G. Verocytotoxigenic *Escherichia coli* in animal faeces, manures and slurries / G. Duffy // J. Appl. Microbiol. – 2003. – Vol. 94, N s1. – P. 94–103. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.94.s1.11.x>
4. Estimating the stability of *Escherichia coli* O157: H7 survival in manure-amended soils with different management histories / A. V. Semenov [et al.] // Environ. Microbiol. – 2008. – Vol. 10, N 6. – P. 1450–1459. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2007.01558.x>
5. A glimpse of *Escherichia coli* O157:H7 survival in soils from eastern China / H. Wang [et al.] // Sci. Total Environ. – 2014. – Vol. 476–477. – P. 49–56. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.01.004>
6. An outbreak of Salmonella saint-paul infection associated with bean sprouts / M. J. O'Mahony [et al.] // Epidemiol. Infection. – 1990. – Vol. 104, N 2. – P. 229–235. <https://doi.org/10.1017/s0950268800059392>
7. Berg, G. The rhizosphere as a reservoir for opportunistic human pathogenic bacteria / G. Berg, L. Eberl, A. Hartmann // Environ. Microbiol. – 2005. – Vol. 7, N 11. – P. 1673–1685. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2005.00891.x>
8. Хуснетдинова, К. А. Структура сообществ эпифитных бактерий культурных и сорных растений : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 03.02.03 / К. А. Хуснетдинова ; Моск. гос. ун-т. – М., 2017. – 27 с.
9. Yaron, S. Biofilm formation by enteric pathogens and its role in plant colonization and persistence / S. Yaron, U. Römling // Microb. Biotechnol. – 2014. – Vol. 7, no. 6. – P. 496–516. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.12186>
10. Solomon, E. B. Microbial attachment and limitations of decontamination methodologies / E. B. Solomon, M. Sharma // Produce contamination problem: causes and solutions / ed. : E. B. Slomon, G. M. Sapers K. R. Matthews. – Amsterdam ; Boston, 2009. – P. 21–45.
11. Суржко, О. А. Обоснование методологии экологически безопасной подготовки и утилизации жидких отходов предприятий агропромышленного комплекса : дис. ... д-ра техн. наук : 25.00.26 / О. А. Суржко. – Новочеркасск, 2003. – 390 с.
12. Захарова, О. А. Орошение серых лесных почв сточными водами свиного комплекса : автореф. дис. ... канд. с.-х. наук : 06.01.02 / О. А. Захарова ; Ряз. гос. сельхоз. акад. – Рязань, 1998. – 21 с.
13. Максимовский, Н. С. Очистка сточных вод / Н. С. Максимовский. – М. : Изд-во М-ва коммун. хоз-ва РСФСР, 1961. – 352 с.

14. Тимченко, И. И. Использование сточных вод животноводческих комплексов на орошение / И. И. Тимченко, В. А. Калачиков // Охрана воды от загрязнения ядохимикатами и удобрениями : тез. докл. всесоюз. науч.-техн. совещания «Охрана воды от загрязнения ядохимикатами и удобрениями», 28–30 сент. 1976 г. – Краснодар ; Москва, 1976. – С. 103–105.
15. Литвин, В. Ю. Патогенные бактерии общие для человека и растений: проблема и факты / В. Ю. Литвин, Е. Н. Емельяненко, В. И. Пушкарева // Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. – 1996. – № 2. – С. 101–104.
16. Гордейко, В. А. Пути циркуляции и эпидемиологическое значение иерсиний в агроценозе : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.00.30 / В. А. Гордейко ; НИИ эпидемиологии и микробиологии. – М., 1990. – 22 с.
17. Matthews, K. R. Leafy vegetables / K. R. Matthews // Produce contamination problem: causes and solutions / ed. : E. B. Slomon, G. M. Sapers K. R. Matthews. – Amsterdam ; Boston, 2009. – P. 165–187.
18. Biofilms in fresh fruit and vegetables / B. A. Annous [et al.] // Biofilms in the Food and Beverage Industries / ed. : P. M. Fratamico, B. A. Annous, N. W. Guenther. – Boca Raton, 2009. – P. 517–535.
19. Бирюкова, О. В. Эндофитная ризобактерия *Klebsiella planticola*, взаимодействие с растением и ценозом микромицетов в фитоплане и ризосфере : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 03.00.07 / О. В. Бирюкова ; Моск. с.-х. акад. – М., 2001. – 22 с.
20. Гордейко, В. А. Цепь циркуляции иерсиний в агроценозе и эпидемиологическое ее проявление // Потенциально патогенные бактерии в природе : сб. науч. тр. / редкол. : В. Ю. Литвин (отв. ред.) [и др.]. – М., 1991. – С. 75–85.
21. Люлин, С. Ю. Микробные сообщества городских почв и влияние поллютантов на популяцию *Escherichia coli* в системе почва – растение : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 03.00.07 / С. Ю. Люлин ; Рос. гос. аграр. ун-т – МСХА им. К. А. Тимирязева. – М., 2001. – 24 с.
22. Маркова, Ю. А. Растения как экологическая ниша патогенных для человека бактерий / Ю. А. Маркова, А. Л. Турская // Политем. сетевой электрон. науч. журн. Кубан. гос. аграр. ун-та, 2012. – № 84. – С. 87–101.
23. Asplund, K. The growth of salmonellae in tomatoes / K. Asplund, E. Nurmi // Int. J. Food Microbiol. – 1991. – Vol. 13, N 2. – P. 177–182. [https://doi.org/10.1016/0168-1605\(91\)90059-x](https://doi.org/10.1016/0168-1605(91)90059-x)
24. Тарасов, С. И. Актуальные направления исследований По экологически безопасному использованию бесподстилочного навоза. Сообщение I. Актуальные вопросы нормативного регулирования обращения с бесподстилочным навозом / С. И. Тарасов, Г. Е. Мерзлая, А. С. Максимова // Плодородие. – 2018. – № 5. – С. 39–41.
25. Инструкция по применению № 026–0309 Микробиологическая диагностика заболеваний, вызываемых энтеробактериями : утв. Гл. гос. санитар. врачом Респ. Беларусь 08.05.2009 г. – Минск, 2009. – 103 с.
26. Статистические методы в природопользовании : учеб. пособие / В. Е. Валуев [и др.]. – Брест : Брест. политехн. ин-т, 1999. – 251 с.
27. Crane, S. R. Modeling enteric bacterial die-off: A review / S. R. Crane, J. A. Moore // Water Air Soil Poll. – 1986. – Vol. 27, N 3–4. – P. 411–439. <https://doi.org/10.1007/BF00649422>
28. Gene expression during survival of *Escherichia coli* O157:H7 in soil and water / A. D. Duffitt [et al.] // Int. J. Microbiol. – 2011. – Vol. 2011. – Art. ID 340506. <https://doi.org/10.1155/2011/340506>
29. Wang, L. Survival of fecal bacteria in dairy cow manure / L. Wang, K. R. Mankin, G. L. Marchin // Trans. ASAE. – 2004. – Vol. 47, N 4. – P. 1239–1246. <https://doi.org/10.13031/2013.16574>
30. Mazzola, P. Determination of decimal reduction time (D value) of chemical agents used in hospitals for disinfection purposes / P. Mazzola, T. C. V. Penna, A. M. da S. Martins // BMC infectious diseases. – 2003. – Vol. 3, N 1. – P. 3–24. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-3-24>

References

1. Goncharuk E. I., Bagdasaryan G. A., Baubinas A. K. Sanitary and bacteriological assessment of soil wastewater treatment of a pig-breeding complex. *Gigiena i sanitariya* [Hygiene and sanitation], 1980, no. 10, pp. 86–88 (in Russian).
2. Purdy C. W., Straus D. C., Harp J. A., Mock T. J. S. R. Microbial pathogen survival study in a high plains feedyard playa. *Texas Journal of Science*, 2001, vol. 53, no. 3, pp. 247–266.
3. Duffy G. Verocytotoxic *Escherichia coli* in animal faeces, manures and slurries. *Journal of Applied Microbiology*, 2003, vol. 94, no. s1, pp. 94–103. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.94.s1.11.x>
4. Semenov A. V., Franz E., van Overbeek L., Aad J., Termorshuizen A. J., van Bruggen A. H. C. Estimating the stability of *Escherichia coli* O157: H7 survival in manure-amended soils with different management histories. *Environmental Microbiology*, 2008, vol. 10, iss. 6, pp. 1450–1459. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2007.01558.x>
5. Wang H., Ibekwe A. M., Ma J., Wu L., Lou J., Wu Z., Liu R., Xu J., Yates S. R.. A glimpse of *Escherichia coli* O157:H7 survival in soils from eastern China. *Science of the Total Environment*, 2014, vol. 476–477, pp. 49–56. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.01.004>
6. O'Mahony M., Cowden J., Smyth B., Lynch D., Hall M., Rowe B. [et al.]. An outbreak of *Salmonella saint-paul* infection associated with bean sprouts. *Epidemiology and Infection*, 1990, vol. 104, no. 2, pp. 229–235. <https://doi.org/10.1017/s0950268800059392>
7. Berg G., Eberl L., Hartmann A. The rhizosphere as a reservoir for opportunistic human pathogenic bacteria. *Environmental Microbiology*, 2005, vol. 7, no. 11, pp. 1673–1685. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2005.00891.x>
8. Khusnetdinova K. A. *The structure of communities of epiphytic bacteria of cultivated and weed plants*. Abstract of Ph. D. diss. Moscow, 2017. 27 p. (in Russian).

9. Yaron S., Römling U. Biofilm formation by enteric pathogens and its role in plant colonization and persistence. *Microbial Biotechnology*, 2014, vol. 7, no. 6, pp. 496–516. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.12186>
10. Solomon E. B., Sharma M. Microbial attachment and limitations of decontamination methodologies. *Produce contamination problem: causes and solutions*. Amsterdam, Boston, 2009, pp. 21–45.
11. Surzhko O. A. *Justification of the methodology for the environmentally safe preparation and disposal of liquid waste from enterprises of the agro-industrial complex*. Ph. D. Thesis. Novocherkassk, 2003. 390 p. (in Russian).
12. Zakharova O. A. *Irrigation of gray forest soils with wastewater of pig farms*. Abstract of Ph. D. diss. Ryazan, 1998. 21 p. (in Russian).
13. Maksimovskii N. S. *Wastewater treatment*. Moscow, Publishing House of the Ministry of Public Utilities of the RSFSR, 1961. 352 p. (in Russian).
14. Timchenko I. I., Kalachikov V. A. *Wastewater use of livestock farms for irrigation. Okhrana vody ot zagryazneniya yadokhimikatami i udobreniyami: tezisy dokladov vsesoyuznogo nauchno-tekhnicheskogo soveshchaniya (28–30 sentyabrya 1976 goda, Krasnodar)* [Protection of water from pollution by pesticides and fertilizers: theses of reports of the All-Union scientific and technical conference (September 28–30, 1976, Krasnodar)]. Krasnodar, Moscow, 1976, pp. 103–105 (in Russian).
15. Litvin V. Yu., Emel'yanenko E. N., Pushkareva V. I. Pathogenic bacteria common to humans and plants: the problem and the facts. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii = Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology*, 1996, no. 2, pp. 101–104 (in Russian).
16. Gordeiko V. A. *Circulation paths and the epidemiological significance of Yersinia in the agrocenosis*. Abstract of Ph.D. diss. Moscow, 1990. 22 p. (in Russian).
17. Matthews K. Leafy vegetables. *Produce contamination problem: causes and solutions*. Amsterdam, Boston, 2009, pp. 165–187.
18. Annous B. A., Smith J. L., Fratamico P. M., Solomon E. B. Biofilms in fresh fruit and vegetables. *Biofilms in the Food and Beverage Industries*. Boca Raton, 2009, pp. 517–535.
19. Biryukova O. V. *Endophytic rhizobacteria Klebsiella planticola, interaction with plant and micromycete cenosis in phytoflora and rhizosphere*. Abstract of Ph. D. diss. Moscow, 2001. 22 p. (in Russian).
20. Gordeiko V. A. The chain of circulation of Yersinia in the agrocenosis and its epidemiological manifestation. *Potentsial'no patogennyye bakterii v prirode: sbornik nauchnykh trudov* [Potentially pathogenic bacteria in nature: a collection of scientific papers]. Moscow, 1991, pp. 75–85 (in Russian).
21. Lyulin S. Yu. *Microbial communities of urban soils and the influence of pollutants on the population of Escherichia coli in the system soil – plant*. Abstract of Ph. D. diss. Moscow, 2001. 24 p. (in Russian).
22. Markova Yu. A., Turskaya A. L. Plants as an ecological niche of human pathogenic bacteria. *Politematicheskii setevoy elektronnyi nauchnyi zhurnal Kubanskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta* [Polythematic network electronic scientific journal of the Kuban State Agrarian University], 2012, no. 84, pp. 87–101 (in Russian).
23. Asplund K., Nurmi E. The growth of salmonellae in tomatoes. *International Journal of Food Microbiology*, 1991, vol. 13, no. 2, pp. 177–182. [https://doi.org/10.1016/0168-1605\(91\)90059-x](https://doi.org/10.1016/0168-1605(91)90059-x)
24. Tarasov S. I., Merzlaya G. E., Maksimova A. S. Current research directions on the environmentally sound use of manure-free manure. Report 1. Current issues of regulatory management of manure disposal. *Plodorodiye* [Fertility], 2018, no. 5, pp. 39–41 (in Russian).
25. *Application Instructions No. 026–0309 Microbiological diagnosis of diseases caused by enterobacteria. Approved by the Chief Sanitary State Sanitary Doctor of the Republic of Belarus 08.05.2009*. Minsk, 2009. 103 p. (in Russian).
26. Valuev V. E., Volchek A. A., Poita P. S., Shvedovskii P. V. *Statistical methods in environmental management: studies. manual*. Brest, Publishing house of the Brest Polytechnic Institute, 1999. 251 p. (in Russian).
27. Crane S. R., Moore J. A. Modeling enteric bacterial die-off: a review. *Water Air and Soil Pollution*, 1986, vol. 27, no. 3–4, pp. 411–439. <https://doi.org/10.1007/BF00649422>
28. Duffitt A. D., Reber R. T., Whipple A., Chauret C. Gene expression during survival of *Escherichia coli* O157:H7 in soil and water. *International Journal of Microbiology*, 2011, vol. 2011, art. ID 340506. <https://doi.org/10.1155/2011/340506>
29. Wang L., Mankin K. R., Marchin G. L. Survival of fecal bacteria in dairy cow manure. *Transactions of the ASAE*, 2004, vol. 47, no. 4, pp. 1239–1246. <https://doi.org/10.13031/2013.16574>
30. Mazzola P., Penna T. C. V., da S. Martins A. M. Determination of decimal reduction time (D value) of chemical agents used in hospitals for disinfection purposes. *BMC Infectious Diseases*, 2003, vol. 3, no. 1, pp. 3–24. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-3-24>

Інфармацыя аб аўтарах

Чезлова Ольга Евгеньевна – науч. сотрудник. Полесский аграрно-экологический институт НАН Беларуси (ул. Московская, 204/1-1, 224020, г. Брест, Республика Беларусь). E-mail: olgachezlova@tut.by

Волчек Александр Александрович – д-р геогр. наук, профессор, вед. науч. сотрудник. Полесский аграрно-экологический институт НАН Беларуси (ул. Московская, 204/1-1, 224020, г. Брест, Республика Беларусь). E-mail: Volchak@tut.by

Information about the authors

Olga E. Chezlova – Polesie Agrarian Ecological Institute of the National Academy of Sciences of Belarus (204/1-1, Moskovskaya Str., 224020, Brest, Republic of Belarus). E-mail: olgachezlova@tut.by

Alexandr A. Volchak – D. Sc. (Geogr.), Professor, Leading researcher. Polesie Agrarian Ecological Institute of the National Academy of Sciences of Belarus (204/1-1, Moskovskaya Str., 224020, Brest, Republic of Belarus). E-mail: Volchak@tut.by