حرکت باکتری *اشرشیا کولی* (*Escherichia coli*) آزادشده از کود گاوی در خاک غیراشباع مزرعه

محمدباقر فرهنگی[۱]، محمدرضا مصدقی[۲*]، علی‌اکبر صفری سنجانی[۱] و علی‌اکبر محبوبی[۱]

(تاریخ دریافت: ۱۳۸۸/۱۱/۷ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۷/۲۳)

چکیده

در کشاورزی برای بهبود حاصل‌خیزی خاک از کودهای گاوی بهره‌گیری می‌شود. *اشرشیا کولی* معمول‌ترین کلیفرم روده‌ای کود گاوی است، که به عنوان شاخص آلودگی آب‌های زیرزمینی مورد بررسی قرار می‌گیرد. هدف این پژوهش بررسی چگونگی حرکت باکتری *اشرشیا کولی* آزادشده از کود گاوی در شرایط جریان غیراشباع خاک، در مزرعه است. لایسیمترهایی (به قطر درونی ۲۰/۵ و ارتفاع ۵۰cm) در مزرعه‌ای با بافت خاک لوم رسی کار گذاشته شدند. کنترل جریان غیراشباع در پتانسیل ماتریک ۵- cm با دستگاه نفوذسنج مکشی انجام گرفت. پس از برقراری جریان ماندگار، کود گاوی تازه هوا-خشک به میزان $10\ Mg\ ha^{-1}$ (براساس وزن خشک) روی لایسیمترها ریخته شد. نمونه‌گیری با نمونه‌گیرهای پلاستیکی کارگذاشته شده در عمق‌های ۲۰ و ۴۰ cm لایسیمتر و در زمان‌های ۱، ۲، ۴، ۶، ۱۲ و ۲۴ ساعت پس از آغاز آبشویی کود انجام گرفت. فراوانی *اشرشیا کولی* در واحد حجم محلول خروجی از نمونه‌گیرها (C) و آب ورودی (C_0) به روش زنده (شمارش پلیت) شمارش گردید. اثر عمق خاک، زمان نمونه‌برداری و اثر متقابل آنها بر C و C/C_0 معنی‌دار شد (در سطح آماری ۱٪). در همه زمان‌ها شاخص نسبی جذب باکتری (S_R) در مجموع دو لایه کمتر بود و با افزایش عمق خاک میزان پالایش هم بیشتر شد. با تصحیح غلظت ورودی برای لایه دوم دیده شد که S_R در این لایه (۴۰-۲۰ cm) قابل توجه بوده و در زمان‌های ۴ و ۶ ساعت بیشتر از لایه اول به دست آمد. نقش لایهٔ رویین خاک در پالایش باکتری برجسته بود ولی وجود جریان‌های ترجیحی به ویژه در زمان‌های آغازین باعث انتقال باکتری‌ها تا لایه دوم شد. کاهش دما در کاهش آزادشدن باکتری از کود و افزایش گران‌روی آب تأثیرگذار بوده و سبب کاهش شدید غلظت باکتری محلول خاک در زمان ۲۴ h شد. در کل نتایج این پژوهش نشان داد که افزون بر لایه رویین، لایه زیرین خاک با توجه به درصد بیشتر رس و آهک می‌تواند در پالایش باکتری‌ها کارایی ویژه‌ای داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: کود گاوی، *اشرشیا کولی*، جریان غیراشباع، عمق خاک، نفوذسنج مکشی، شرایط مزرعه

۱. به ترتیب دانشجوی دکتری، دانشیار و استاد خاک‌شناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان

۲. دانشیار خاک‌شناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

* : مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: mosaddeghi@cc.iut.ac.ir

www.SID.ir

مقدمه

در کشاورزی برای بهبود حاصل‌خیزی خاک از کودهای دامی بهره‌گیری می‌شود که کود گاوی یکی از مهم‌ترین آنهاست. کود گاوی منبع اصلی سویه‌های بیماری‌زای باکتری *اشرشیا کولی* (*Escherichia coli*) است (۲۰) که به عنوان ریزجاندار شاخص در تعیین پتانسیل آلودگی آب‌های زیرزمینی مورد بررسی قرار می‌گیرد (۱۱). پخش کودهای دامی روی زمین‌های کشاورزی سبب انتقال باکتری‌های موجود در آنها و در نتیجه آلودگی آب‌های سطحی و زیرزمینی می‌شود (۳۰). پژوهش‌های انجام گرفته در مورد جابجایی و انتقال باکتری‌ها در محیط‌های متخلخل، عوامل چندی از جمله ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی محیط، ویژگی‌های باکتری، منبعی که باکتری از آن آزاد می‌شود و هم‌چنین شرایط حاکم بر انتقال را در این زمینه مؤثر می‌دانند (۱۶ و ۳۰). در محیط خاک عوامل گوناگونی بر زنده‌مانی باکتری‌ها کلیفرم (Coliforms) تأثیر می‌گذارند، ولی به طور کلی فراهمی آب اثر دیگر عوامل را می‌پوشاند (۱۲ و ۲۴). پتانسیل یا میزان آب خاک از فاکتورهای مهم و مؤثر بر زنده‌مانی و حرکت باکتری‌ها در محیط متخلخل است (۳۰). موبریو و همکاران (۲۵) گزارش کردند میزان مرگ و میر *E. coli O157* با کاهش رطوبت خاک از حالت اشباع، افزایش می‌یابد. مقصودی با بررسی زمان زنده‌مانی کلیفرم های روده‌ای در رطوبت‌های گوناگون خاک گزارش کرد که فراوانی و زمان زنده‌مانی *اشرشیا کولی* در خاک‌های تیمارشده با کود گاوی و دارای رطوبت اشباع بیشتر از رطوبت غیراشباع است (۳).

شرایط جریان آب در خاک اثر شگرفی بر سرنوشت باکتری‌ها در محیط‌های متخلخل دارد. به گونه‌ای که، افزایش مقدار رطوبت خاک و سرعت زیاد جریان آب، موجب افزایش میزان آبشویی باکتری‌ها می‌شود. امروزه توجه زیادی به حرکت آلاینده‌های خاک از جمله باکتری‌ها در شرایط غیراشباع می‌شود. نتایج پژوهش‌ها نشان می‌دهد که در شرایط جریان اشباع، باکتری بیشتری نسبت به جریان غیراشباع در خاک جابجا می‌شود. در شرایط رطوبتی غیراشباع خاک، باکتری‌های آب‌گریز به سمت هلال‌های آب (Water menisci) پیرامون ذرات خاک کشیده شده و در سطح مشترک آب–هوا (Air-water interface) انباشته می‌شوند (۷). این فرآیند عمدتاً جابجایی باکتری‌ها در خاک‌های غیراشباع را کنترل می‌کند. جِوت و همکاران (۱۷) با بررسی جابجایی باکتری در حالت غیراشباع از درون ستون‌های شن دارای رس بنتونیت در دماهای گوناگون نشان دادند که جابجایی باکتری تابعی از ناهمگنی محیط، سرعت حرکت آب و دمای محیط است.

رستمی (۱) اثر مقادیر متفاوت نمک‌های کربنات و سولفات کلسیم را بر جذب و پالایش باکتری *سودوموناس فلورسنس* (*Pseudomonas fluorescens*) در ستون‌های شنی تحت شرایط جریان غیراشباع بررسی کرد. نیم‌رخ غلظت باکتری باقی‌مانده در خاک و ضریب پالایش به خوبی توان پالایش خاک را نشان دادند. وی عواملی مانند پالایش فیزیکی، اعوجاج منافذ و کاهش سرعت ظاهری آب منفذی در تیمارهای کربنات و سولفات کلسیم را از عوامل مهم در پالایش باکتری در شرایط رطوبتی غیراشباع یاد کرد. پاولسون و میلز (۲۸) حرکت باکتری *اشرشیا کولی* از ستون‌های شنی با مقادیر ثابت و متغیر رطوبت در شرایط جریان اشباع و غیراشباع را بررسی کردند. نتایج آنها نشان داد که در شرایط جریان غیراشباع، نسبت به شرایط جریان اشباع، باکتری کمتری از ستون‌های خاک عبور می‌کند. وجود منافذ پیوسته در خاک دارای ساختمان سبب ایجاد جریان ترجیحی و هموارنمودن راه حرکت باکتری‌ها می‌شود. بودن جریان ترجیحی در شرایط غیراشباع (۴) و در خاک طبیعی مزرعه (۳۱) به اثبات رسیده است. زندسلیمی و همکاران (۲) اثر نوع خاک و کود بر سرنوشت باکتری‌های آزادشده از کودهای آلی در شرایط غیراشباع را بررسی نموده و مشاهده کردند که ساختمان پایدار و مسیرهای ترجیحی باعث هدایت بیشتر باکتری در ستون‌های خاک لوم رسی شنی نسبت به ستون‌های خاک شن لومی شد. بیشتر پژوهش‌های انجام‌شده در مورد جابجایی و حرکت باکتری در خاک، در شرایط

www.SID.ir

آزمایشگاهی بوده است. بهره‌گیری از یافته‌های آزمایشگاهی برای بررسی حرکت باکتری در شرایط مزرعه به در نظر گرفتن عوامل بیشتری نیاز دارد. از جملهٔ این عوامل می‌توان ناهمگنی زیاد خاک در شرایط مزرعه، تأثیر باکتری‌های بومی خاک بر باکتری انتقالی، سه- بعدی‌بودن جریان در شرایط مزرعه و تغییرهای زودگذر وابسته به نوسان‌های طبیعی دما را نام برد (۱۴). آنک و گاس (۳۱) جابجایی کلیفرم‌های آزادشده از کود دامی را در شرایط مزرعه بررسی کردند. آنها نتیجه گرفتند که جریان ترجیحی در شرایط مزرعه دارای اهمیت زیادی بوده و بر حرکت باکتری‌ها بسیار تأثیرگذار است. با توجه به نقش مهم ویژگی‌های خاک طبیعی در حرکت باکتری‌ها به سمت آب‌های زیرزمینی، این پژوهش با هدف بررسی چگونگی حرکت باکتری *اشرشیا کولی* آزادشده از کود گاوی در شرایط جریان غیراشباع خاک و در مزرعه انجام شده است.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در مزرعه پژوهشی مرکز تحقیقات کشاورزی همدان واقع در طول و عرض جغرافیایی ′۳۲ °۴۸ و ′۵۱ °۳۴ انجام شد. خاک مزرعه براساس طبقه‌بندی USDA در زیرگروه Typic Haploxerepts رده‌بندی شد که دارای بافت لوم رسی بود. ستون‌های لایسیمتری کوچک در خاک مزرعه مستقر شده و آزمایش‌های آبشویی پس از برقراری جریان ماندگار توسط دستگاه نفوذسنج دیسکی یا مکشی (Disk/Tension infiltrometer)، در شرایط جریان غیراشباع انجام گرفت.

اندازه‌گیری ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک

نمونه‌های کوچک دست‌نخورده خاک (سیلندرهایی به قطر ۵ و ارتفاع ۷/۵ سانتی‌متر) برای اندازه‌گیری چگالی ظاهری و تخلخل کل و نمونه‌های خاک دست‌خورده برای اندازه‌گیری ویژگی‌های شیمیایی و برخی ویژگی‌های فیزیکی مورد استفاده قرار گرفت. نمونه‌برداری از میانه دو لایهٔ ۲۰-۰ و ۴۰-۲۰ سانتی‌متری نیم‌رخ خاک انجام گرفت. درصد ذرات اولیه (شن، سیلت و رس) به روش هیدرومتر، بافت خاک به کمک مثلث بافت خاک وزارت کشاورزی ایالات متحده (USDA)، چگالی حقیقی به روش پیکنومتر و چگالی ظاهری با روش استوانه‌های نمونه‌برداری اندازه‌گیری و تخلخل کل با داشتن چگالی‌های ظاهری و حقیقی خاک محاسبه شد. میانگین وزنی قطر خاکدانه‌ها (mm ۸ >) به روش الک تر و هدایت هیدرولیکی اشباع خاک به روش بار ثابت (Constant-head method) اندازه‌گیری شد (۲۱). اسیدیته و رسانایی الکتریکی در عصاره اشباع خاک، مقدار کربن آلی (OC) به روش اکسیداسیون تر (۳۳) و گنجایش تبادل کاتیونی خاک به روش استات آمونیوم اندازه‌گیری شد (۲۶). رطوبت حجمی ستون‌های خاک با روش وزنی به وسیله استوانه‌های دست‌نخورده پس از برقراری شرایط ماندگار در مکش ماتریک cm ۵، تعیین شد.

دستگاه نفوذسنج مکشی

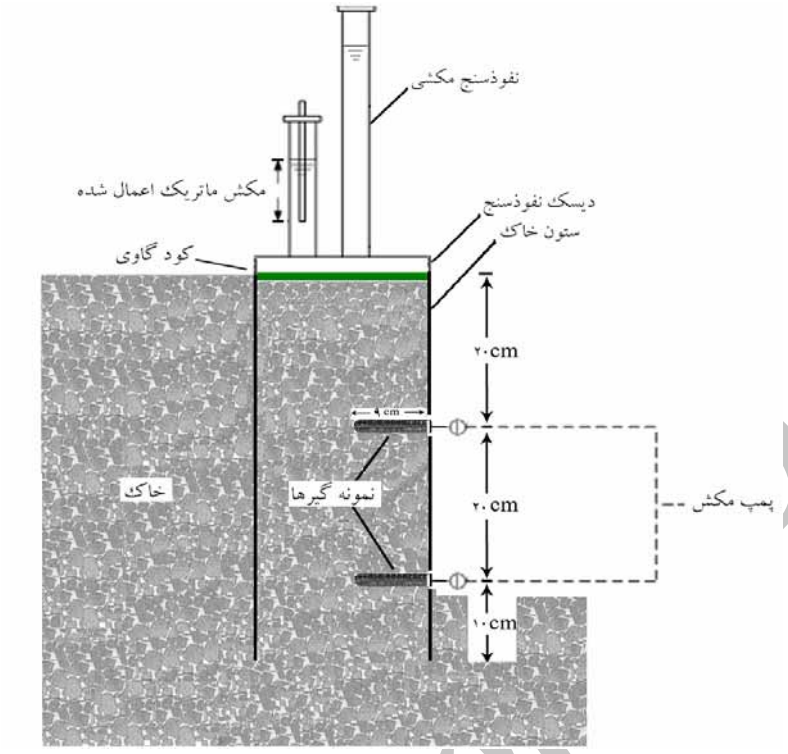
در آزمایش‌های آبشویی و بررسی حرکت باکتری، معمولاً از لوله ماریوت و باران‌سازهای مصنوعی برای کنترل شدت جریان بهره‌گیری می‌شد. به دلیل کنترل دشوار مکش ماتریک و شدت جریان در روش‌های ذکرشده، می‌توان از نفوذسنج دیسکی یا مکشی در شرایط اشباع و نزدیک اشباع بهره‌گیری کرد. با این دستگاه می‌توان تا پتانسیل ماتریک cm ۲۰- (kPa ۲-) را بر سطح خاک به کار برده و در طول آزمایش مکش ماتریک مرز ورودی را کنترل کرد (۶).

استقرار ستون‌های لایسیمتری در خاک و نصب نمونه‌گیرها

مکان قرار گرفتن لایسیمترها در مزرعه، چند بار آبیاری شد تا استقرار لایسیمترها در خاک آسان انجام شود. دو عدد لوله (به ضخامت ۰/۰۳، قطر ۲۰/۵ و ارتفاع cm ۵۰) تهیه گردید و در عمق ۲۰ و cm ۴۰ جدار این لوله‌ها سوراخ‌هایی به قطر ۲cm ایجاد شد. در شکل ۱ نمای شماتیکی ستون لایسیمتری نصب‌شده در خاک و نفوذسنج دیسکی روی آن در هنگام انجام آزمایش آبشویی نشان داده شده است. پس از گذاشتن

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۱. نمای شماتیکی ستون لایسیمتری نصب‌شده در خاک و نفوذسنج دیسکی قرارگرفته روی آن

لوله، خاک مجاور لوله در سمت درون گودال کنار زده شد و نمونه‌گیرهای پلاستیکی به قطر ۱/۹ و طول ۹ cm درون سوراخ‌ها قرار گرفته و پیرامون آنها آب‌بندی شد. نمونه‌گیرهای به کار رفته در آزمایش از ابزارهای پلاستیکی تهیه شدند تا امکان جذب و نگه‌داری باکتری توسط آنها اندک باشد.

تیمار کودی و انتخاب باکتری بیماری‌زا

در این آزمایش از کود گاوی تازه (که از الک ۲ میلی‌متری عبور داده شده بود) به میزان $Mg\ ha^{-1}$ ۱۰ (بر پایه وزن خشک) به عنوان منبع باکتری بهره‌گیری شد. باکتری *اشرشیا کولی* به عنوان باکتری شاخص آلوده‌کننده آب‌های سطحی و زیرزمینی انتخاب شد. علت گزینش *اشرشیا کولی* این است که در آب‌های سطحی و زیرزمینی آلوده به فضولات دامی و جانوری دیده شده و شناسایی آن ساده می‌باشد (۱۱). *اشرشیا کولی* باکتری میله‌ای شکل، گرم-منفی و بی‌هوازی اختیاری با ابعاد ۶/۰μm × ۲/۰ می‌باشد که بیشتر به شکل دوتایی دیده می‌شود. این باکتری از نظر رده‌بندی شاخص‌ترین عضو خانواده انتروباکتریاسه (*Entrobacteriaceae*) است (۵).

شمارش باکتری *اشرشیا کولی* در محیط کشت VRB آگار

در این پژوهش از روش شمارش پلیت (Plate count) یا شمارش زنده بهره‌گیری شد. برای کشت از محیط VRB آگار (Violet red bile agar) استفاده شد. محیط کشت VRB آگار یک محیط انتخابی برای شناسایی باکتری‌های روده‌ای، به ویژه گروه‌های تخمیرکننده مانند گونه‌های *اشرشیا کولی* در آب، شیر و سایر فرآورده‌های دامی است.

آزمایش آبشویی

پس از استقرار ستون‌ها در خاک، نصب نمونه‌گیرها و برقراری شرایط جریان ماندگار، کودگاوی به صورت یکنواخت روی

www.SID.ir

ستون‌ها پخش شده و آزمایش آبشویی کود انجام شد. برای برقراری جریان غیراشباع، دستگاه نفوذسنج مکشی در مکش ۵ cm تنظیم شد و شدت جریان ورودی ماندگار برابر $cm\,h^{-1}$ ۰/۵ برقرار گردید. پیش از پخش کود روی ستون خاک، دستگاه نفوذسنج روی ستون خاک قرار گرفت و در مکش مورد نظر تنظیم گردید تا آبشویی خاک برای گرفتن نمونه شاهد و هم‌چنین آزمون کارکردن درست نمونه‌گیرها انجام شود. ضمن این که در این مدت، شدت جریان ورودی به خاک به شرایط ماندگار رسید. پس از برداشت نمونه شاهد، به مدت چند لحظه دیسک از روی ستون خاک برداشته شد و کود روی سطح ستون خاک پخش شد. سپس دوباره دیسک روی ستون خاک قرار داده شد. از این لحظه به بعد آزمایش آبشویی آغاز گردید و یک ساعت بعد نخستین نمونه گرفته شد. نمونه‌گیری در زمان‌های ۱، ۲، ۴، ۶، ۱۲ و ۲۴ ساعت پس از پخش کود روی ستون خاک و به کمک پمپ مکش (Vacuum pump) انجام گرفت.

غلظت باکتری (C) در نمونه‌های خروجی از عمق‌های ۲۰ و ۴۰ cm لایسیمتر با واحد $CFU\ ml^{-1}$ بیان شد. برای اندازه‌گیری غلظت باکتری ورودی (C_0) به ستون‌های خاک، آبشویی کود به گونه مستقل انجام شد و در زمان‌های یکسان از آب آبشویی نمونه‌گیری شد. زمان‌بندی آزمایش به گونه‌ای بود که در ساعت ۱۳ به وقت محلی نخستین نمونه برداشته شد. بنابراین به علت توالی زمانی، در ساعت ۲۴ نیز نمونه‌برداری انجام شد. با توجه به نوسانات دمایی در طول شبانه‌روز، امکان دارد که تغییر دما بر شرایط رشد باکتری، حرکت آن و هم‌چنین گران‌روی آب تأثیرگذار باشد. از این رو در کل دورهٔ آزمایش داده‌های دمای خاک از مرکز هواشناسی استان همدان (واقع در ۵۰۰ متری مکان انجام آزمایش) به دست آمد.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها و ارائه نتایج

طرح آماری به‌کار رفته، کرت‌های خردشده در زمان بود که در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو تکرار اجرا شد. عمق خاک به عنوان فاکتور اصلی (۲ سطح) و زمان به عنوان فاکتور فرعی در نظر گرفته شد. متغیرهای مورد بررسی غلظت *اشرشیا کولی* در محلول خاک (C) و غلظت نسبی (C/C_0) آن بود. داده‌های به دست آمده توسط نرم‌افزار SAS (Statistical Analysis System) تجزیه و تحلیل شد. برای بررسی بهتر تغییرات، نیم‌رخ تغییر غلظت باکتری (به صورت لگاریتمی) با عمق رسم شد. تفاوت غلظت باکتری ورودی به سطح خاک و غلظت خروجی از لایه‌های نمونه‌گیری‌شده (پس از کم‌کردن مقدار باکتری بومی خاک پیش از افزودن کود) بیان‌گر میزان باکتری است که در خاک تحت تأثیر فرآیندهای جذب و گیر افتادن قرار گرفته است. در این فرآیند میزان رشد و مرگ و میر باکتری‌ها مشخص نیست اما انتظار می‌رود با رعایت شرایط یکسان در زمان اجرای آزمایش، میزان مرگ و میر نسبتاً یکسان باشد.

برای بررسی میزان پالایش باکتری در هر لایه، غلظت‌های به دست آمده در هر عمق به عنوان غلظت جریان (Flux concentration) در نظر گرفته شد (۳۲) و از شاخص نسبی جذب (S_R) برای بیان درصد پالایش بهره‌گیری شد (۲۲). به گونه‌ای که این شاخص یک بار با توجه به غلظت آزادشده باکتری از کود در سطح خاک و یک بار با توجه به غلظت به دست آمده از عمق اول به عنوان غلظت باکتری در مرز ورودی لایه دوم محاسبه شد. برای محاسبه شاخص نسبی جذب باکتری از رابطه زیر بهره‌گیری شد:

$$S_R = \frac{\int_0^{V_{max}} \left[C_0 - (C - C_b)\right] dV}{\int_0^{V_{max}} C_0 dV} \qquad [۱]$$

که در این رابطه: S_R شاخص نسبی جذب باکتری، V_{max} حجم تجمعی آب خروجی در طول آزمایش آبشویی (m1)، C_0 میانگین غلظت ورودی باکتری به سطح یا لایه خاک ($CFU\ ml^{-1}$)، C میانگین غلظت باکتری در محلول خاک در عمق‌های نمونه‌برداری‌شده ($CFU\ ml^{-1}$) و C_b میانگین غلظت باکتری بومی خاک پیش از افزودن کود گاوی ($CFU\ ml^{-1}$) هستند. با توجه به ناچیز بودن غلظت باکتری بومی خاک (C_b=۰)، سطح بین منحنی ورودی (C_0) و منحنی رخنه (C) در هر دامنه زمانی

Archive of SID

www.SID.ir

متوالی که نمونه‌گیری انجام شده بود، بر سطح زیر منحنی ورودی در همان دامنه زمانی تقسیم شد. برای اندازه‌گیری سطح زیر منحنی‌های مذکور از روش عددی مستطیلی (Rectangle method) در برنامه Matlab بهره‌گیری شد. برای رسم منحنی‌ها هم از نرم‌افزار Excel بهره‌گیری شد.

نتایج و بحث

الف) ویژگی‌های فیزیکی و هیدرولیکی خاک مورد بررسی

ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد بررسی در جدول ۱ آمده است. لایه رویین (۳۰-۰ cm) لایه شخم (A_P) با ساختمان بلوکی، و لایه دوم (۷۵-۳۰ cm) افق B با ۵ تا ۱۰ درصد سخت‌دانه‌های آهکی ثانویه و ساختمان مکعبی گوشه‌دار قوی بود. در هر دو لایه ریشه‌های مویین گیاه و منافذ متوسط، ریز و خیلی ریز دیده شد.

ب) نتایج آزمایش آبشویی

در جدول ۲ تجزیه واریانس اثر تیمارهای عمق خاک و زمان نمونه‌گیری و هم‌چنین اثر متقابل آنها بر غلظت باکتری *اشرشیاکولی* در محلول خاک (C) و غلظت نسبی (C/C_0) آن در ستون‌های خاک آورده شده است. عمق و زمان نمونه‌گیری در سطح آماری یک درصد اثر معنی‌داری بر C و C/C_0 داشتند ($P<0/01$). برای بررسی بهتر، اثر پارامترها بر غلظت نسبی (C/C_0) نیز تجزیه آماری شد. با بررسی غلظت نسبی، اثر غلظت ورودی باکتری (C_0) حذف می‌شود. به دلیل وابستگی پارامتر غلظت نسبی به غلظت باکتری، معنی‌داری اثر تیمارها بر این پارامتر مانند معنی‌داری اثر آنها بر پارامتر غلظت باکتری است.

ب-۱) نیم‌رخ غلظت باکتری *اشرشیا کولی* در طول زمان آب‌شویی

در شکل ۲، تغییر غلظت باکتری با عمق خاک آورده شده است. غلظت در عمق صفر (سطح خاک) برابر غلظت باکتری آزادشده از کود می‌باشد که هنوز وارد خاک نشده است. در شکل ۲ دیده می‌شود که در عمق اول، بیشترین کاهش غلظت در زمان ۲۴ h ساعت بوده که بیشترین میزان C_0 را هم داشته است و کمترین میزان کاهش غلظت برای زمان ۱۲ h رخ داده است. برای عمق دوم، کاهش غلظت به گونهٔ دیگری است و برای زمان ۴ h بیشتر از همهٔ زمان‌ها بود. در زمان ۴ h، کمترین C_0 دیده شد. به عبارت دیگر پالایش در عمق‌های اول و دوم انجام گرفته و غلظت بسیار کمی از باکتری در محلول خاک عمق دوم به‌دست آمده است. کمترین کاهش غلظت باکتری در عمق دوم، در زمان ۲۴ h ساعت بوده است که در عمق اول مقدار زیادی از باکتری‌ها در این زمان آبشویی، پالایش شده بود.

در زمان ۱ h، جهت تغییرات غلظت در عمق دوم وارونه شده است، یعنی در عمق دوم غلظت بیش از عمق اول است. در واقع، خاک نه تنها باکتری را در خود نگه نداشته بلکه با توجه به غلظت ورودی به لایهٔ دوم، باعث افزایش تعداد باکتری‌ها نیز شده است. چون زمان ۱ h اولین زمان آبشویی بوده و پیش‌تر باکتری زیادی به خاک وارد نشده است، بنابراین خاک در زمان‌های ابتدایی آبشویی نمی‌تواند به عنوان منبع تولید باکتری عمل کند. چون جریان انگشت‌مانند با ورود اولین جبههٔ آلودگی در این دامنهٔ زمانی رخ خواهد داد، پس می‌توان انتظار داشت که در دورهٔ آبشویی کمتر از یک ساعت، باکتری‌های بیشتری به عمق دوم رسیده‌اند و در پایان یک ساعت که نمونه‌گیری انجام گرفته است، غلظت زیاد خود را در نمونه گرفته شده، نشان داده‌اند.

اسمیت و همکارن (۳۰) دریافتند که مهم‌ترین مسیر انتقال باکتری‌ها در خاک‌های دست‌نخوردهٔ ساختمان‌دار، مسیرهای جریان ترجیحی است. در واقع با گذشت زمان آبشویی، جبههٔ آلودگی حرکت کرده و نقش جریان ترجیحی اولیه کم می‌شود. جیانگ و همکاران (۱۸ و ۱۹) نیز حرکت ترجیحی باکتری *باسیلوس سابتیلیس* (*Bacillus subtilis*) و *اشرشیاکولی* نسبت به ردیاب برمید را در زمان‌های اولیه آبشویی گزارش کرده‌اند.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۱. ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد بررسی

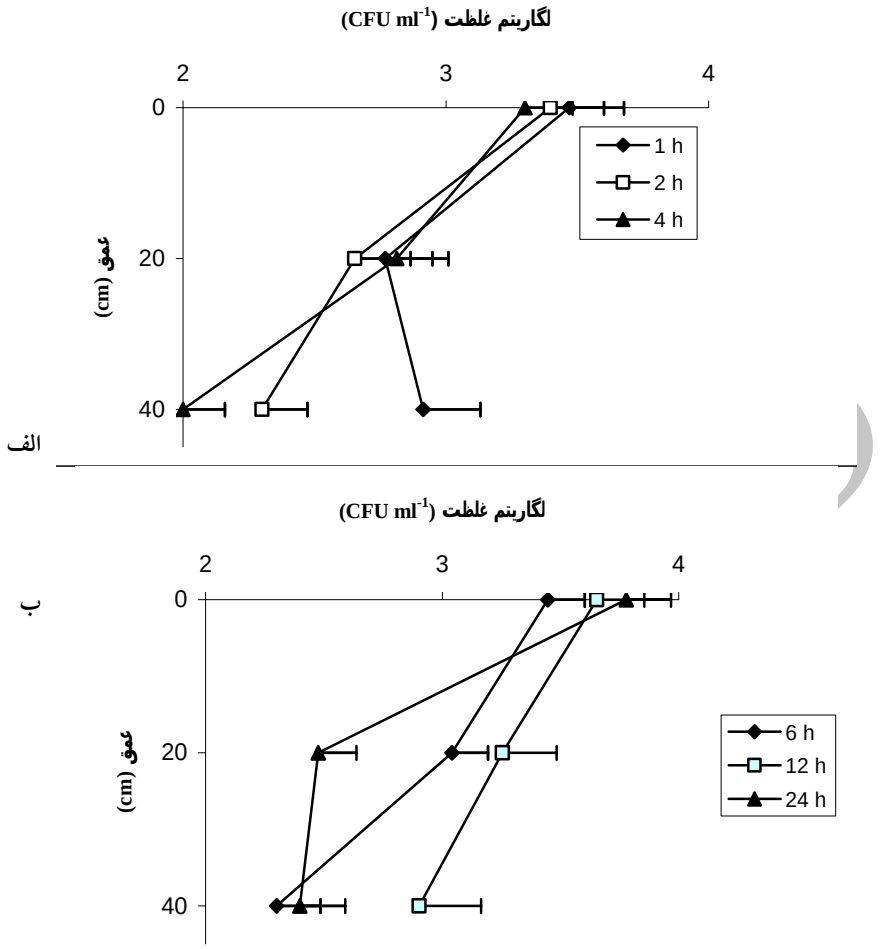
لایه خاک	شن	سیلت	رس	OC	BD	PD	TP	θ_v	θ_s	MWD	K_s	EC_e	pH_e	CEC
(cm)	-----g $100g^{-1}$-----				--Mg m^{-3}--		------cm^3 cm^{-3}-----			(mm)	($cm\ h^{-1}$)	($dS\ m^{-1}$)		($cmol_c\ kg^{-1}$)
۰–۰	۳۷/۶	۳۷/۶	۲۸/۴	۰/۵	۱/۶	۲/۷	۰/۴	۰/۳	۰/۴	۱/۱	۱/۳	۱/۱۰	۷/۸	۱۱/۳
۲۰–۴۰	۳۱/۶	۳۱/۶	۳۴/۴	۰/۴	۱/۶	۲/۷	۰/۴	۰/۳	۰/۴	۱/۲	۱/۳	۰/۷۵	۷/۹	۱۰/۹

†: شن (۲ mm–۰/۰۵)، سیلت (۰/۰۵ mm–۰/۰۰۲)، رس (۰/۰۰۲ mm>)، BD= چگالی ظاهری، PD= چگالی حقیقی، TP= تخلخل کل، θ_v= مقدار رطوبت حجمی غیراشباع (در مکش ماتریک cm ۵)، θ_s= مقدار رطوبت حجمی اشباع، MWD= میانگین وزنی قطر خاکدانه‌ها، K_s= هدایت هیدرولیکی اشباع، EC_e= رسانایی الکتریکی عصاره اشباع، pH= اسیدیته گل اشباع ، OC= درصد کربن آلی و CEC= گنجایش تبادل کاتیونی

جدول ۲. منابع تغییر و اثر آنها بر غلظت محلول خاک (C) و غلظت نسبی (C/C_0) باکتری در ستون‌های خاک

منبع تغییر	درجه آزادی	نسبت F	
		C	C/C_0
عمق D	۱	۵۷۱/۰**	۵۷۵/۴**
زمان (T)	۵	۳۱۸/۴**	۱۴۷/۱**
D×T	۵	۱۲۷/۶**	۱۲۰/۳**

www.SID.ir
Archive of SID



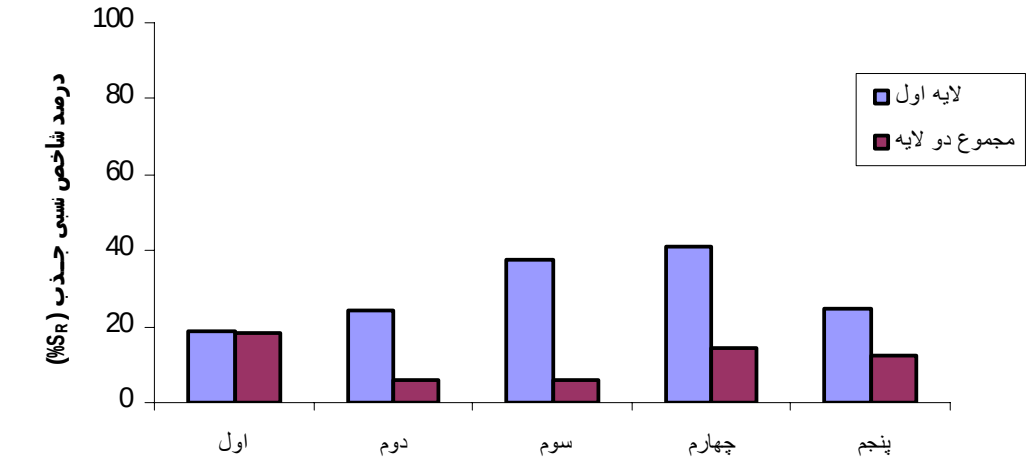
شکل ۲. نیم‌رخ غلظت باکتری *اشرشیا کولی* برای زمان‌های ابتدایی (الف) و زمان‌های انتهایی (ب) آبشویی

ب-۲) درصد پالایش باکتری *اشرشیاکولی*

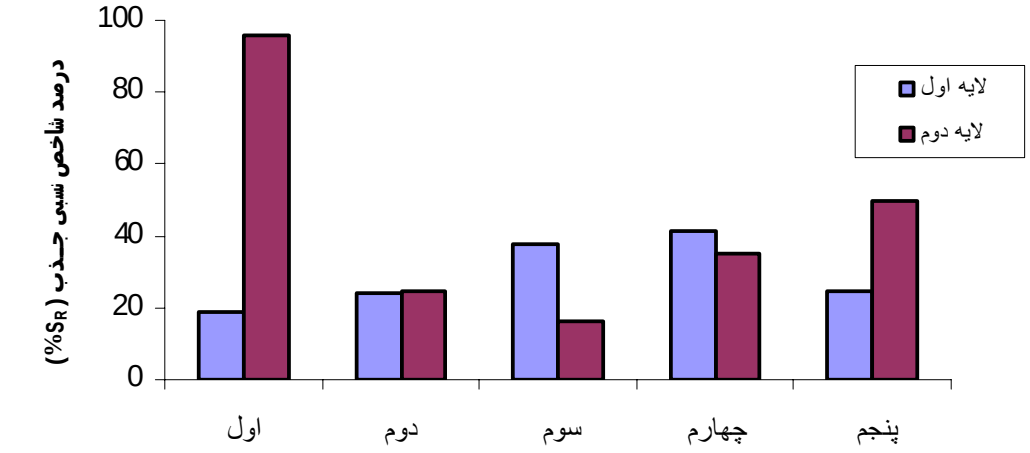
نمودار پالایش باکتری براساس شاخص نسبی جذب (S_R) در شکل ۳ آمده است. برای بررسی دقیق شاخص نسبی جذب، محاسبات در هر دامنه زمانی به طور جداگانه انجام شد. هم‌چنین برای در نظر گرفتن اثر لایه زیرین خاک در پالایش باکتری، یک بار غلظت آزادشده باکتری از کود (در سطح خاک) به عنوان غلظت ورودی برای هر دو لایه (شکل ۳- الف) و یک بار غلظت به دست آمده از عمق اول به عنوان غلظت ورودی برای لایه دوم (شکل ۳- ب) در نظر گرفته شد. مقدار پالایش باکتری براساس شاخص نسبی جذب (S_R) در برابر زمان نمونه‌گیری رسم شد. کم‌بودن درصد S_R بیان‌گر جذب و پالایش فیزیکی و شیمیایی زیاد در دامنه زمانی مورد بررسی است.

با در نظر گرفتن غلظت باکتری آزادشده از کود در سطح خاک به عنوان غلظت ورودی به هر دو لایه، در همه زمان‌ها درصد S_R در مجموع دو لایه کمتر است (شکل ۳-الف). یعنی این‌که پالایش نسبی باکتری در ۴۰ سانتی‌متر خاک بیشتر از ۲۰ سانتی‌متر آن می‌باشد که امری طبیعی است. در واقع با افزایش عمق خاک، میزان پالایش هم بیشتر می‌شود. اما این نتیجه با نتایج و جیانگ و همکاران (۱۸ و ۱۹) ناهماهنگ است. جیانگ و همکاران (۱۸ و ۱۹) گزارش کردند که *باسیلوس سابتیلیس*

www.SID.ir



الف



ب

شکل ۳. درصد شاخص نسبی جذب (S_R) باکتری *اشرشیا کولی* در برابر فواصل زمانی نمونه‌گیری با در نظر گرفتن غلظت ورودی باکتری در سطح خاک برای هر دو لایه خاک (الف) و یا غلظت ورودی جداگانه برای هر لایه خاک (ب). فواصل زمانی اول تا پنجم به ترتیب بیانگر زمان آبشویی ۱ تا ۲، ۲ تا ۴، ۴ تا ۶، ۶ تا ۱۲ و ۱۲ تا ۲۴ ساعت است.

در ۱۰ سانتی‌متر ابتدایی ستون پالایش می‌شود و طول ستون (۲۲ در برابر ۴۴ سانتی‌متر) اثر روشن و معنی‌دار بر غلظت باکتری *اشرشیا کولی* ندارد (۱۹). آنک و گاس (۳۱) انباشتگی باکتری‌های کلیفرم آزادشده از کودهای گاوی و خوکی جامد و مایع را در خاک لوم قرار گرفته روی لوم شنی و لوم سیلتی در شرایط مزرعه بررسی کرده و نشان دادند که اگرچه باکتری‌ها به اعماق انتقال می‌یابند اما پالایش زیاد تنها در ۵ سانتی‌متر ابتدایی خاک رخ می‌دهد. در مجموع دو لایه بیشترین میزان جذب باکتری در زمان سوم یعنی ۴ تا ۶ ساعت و کمترین میزان آن در زمان اول آبشویی (۱ تا ۲ ساعت) انجام گرفته است. در زمان

www.SID.ir

اول آبشویی بیشتر جریان از نوع ترجیحی و انگشت‌مانند است. گذر زودهنگام باکتری از خاک و پالایش کم آن در این پژوهش با نتایج پژوهش‌گران (۸، ۱۸، ۱۹ و ۲۹) هماهنگ است. وجود جریان‌های ترجیحی در خاک‌های دست‌نخورده و ساختمان‌دار عامل اصلی انتقال باکتری‌ها و نمک‌ها است که توسط جربا و بیتون (۱۳)، فونتس و همکاران (۱۰)، ابو- آشور و همکاران (۴)، مک‌میوری و همکاران (۲۳) و زندسلیمی (۲) گزارش شده است.

بیشترین میزان جذب باکتری‌ها در مجموع دو لایه در زمان سوم رخ داده است (شکل ۳-الف). در این زمان آبشویی، درصد شاخص جذب در لایه اول هم زیاد بود. بنابراین روشن نیست که چه مقدار از جذب باکتری‌ها در مجموع دو لایه، در لایه اول رخ داده است. روند شاخص جذب برای لایه اول بیان‌گر این است که ابتدا جذب زیاد بوده، سپس کم شده و دوباره افزایش یافته است. لایه اول در زمان‌های آغازین آبشویی، باکتری بیشتری را در خود جذب کرده و با گذشت زمان و پرشدن مکان‌های جذب و نگهداری، از میزان جذب در این لایه کاسته شده است. جذب سریع باکتری‌ها به روی ذرات خاک در منابع گزارش شده است (۱۵). علت افزایش جذب در زمان‌های پایانی آبشویی به بسته‌شدن منافذ در اثر حرکت ذرات کود و گردهم‌آمدن باکتری‌ها و تشکیل خوشه‌های باکتریایی (Clusters) نسبت داده می‌شود که با نتایج دانسموره و همکاران (۹) و زندسلیمی (۲) هماهنگ است. از طرفی لایهٔ اول ساختمان ناپایدار (MWD کمتر) داشت (جدول ۱) که در کاهش انتقال باکتری‌ها نقش دارد. در شرایط جریان غیراشباع، آب از منافذ ریز خاک گذر کرده و در نتیجه به میزان بیشتری در اصطکاک با ذرات خاک است. به همین دلیل جریان در حالت غیراشباع، بسته به درجه خشکی خاک، کند و اندک می‌باشد (۳۱). بنابراین با گذر آهسته جبههٔ آلودگی، زمان کافی برای واردشدن باکتری‌ها به واکنش‌های جذب و پالایش شیمیایی و هم‌چنین گردهم‌آمدن، تشکیل خوشه‌ها و پالایش فیزیکی وجود داشته است.

با تصحیح غلظت ورودی برای لایه دوم دیده شد که میزان پالایش نسبی در این لایه (cm ۴۰-۲۰) قابل توجه بوده و در زمان سوم و چهارم بیشتر از لایه اول هم می‌باشد (شکل ۳-ب). اثر لایه‌های زیرین خاک در جذب و پالایش باکتری‌ها زیاد مورد بررسی قرار نگرفته و در مواردی هم که مورد توجه بوده اثر چشم‌گیری در پالایش نداشته است (۱۸، ۱۹ و ۳۱). خاک از لایه‌های متفاوت تشکیل شده و لایه دوم خاک در سیر تکاملی خاک‌ها اهمیت دارد. وجود افق آهکی و گچی و هم‌چنین اکسیدهای آهن و آلومینیوم و رس شسته‌شده از افق بالایی در جذب و پالایش باکتری‌ها نقش دارند. جذب و گنجایش پالایش زیاد ترکیباتی مانند آهک می‌تواند از انتقال باکتری‌ها و آلودگی سفره‌های زیرزمینی بکاهد. رستمی (۱) گزارش کرد تیمار آهک در شرایط غیراشباع به گونه معنی‌داری ($P<0/01$) غلظت باکتری زه‌آب را در حجم‌های آب خروجی ۰/۲۵، ۰/۵، ۱ و ۲/۵ و ۵ برابر حجم منفذی تحت تأثیر قرار داد. البته در این پژوهش EC به دست آمده در لایه اول بیشتر بود (جدول ۱) که احتمالاً به دلیل آبیاری‌نشدن مزرعه در زمان انجام پژوهش می‌باشد.

نکته جالب توجهی که در لایه دوم دیده شد کاهش بسیار شدید شاخص نسبی جذب در زمان اول آبشویی است (شکل ۳- ب). درصد S_R حدود ۴ برابر کمتر از لایه اول در این زمان آبشویی است که افزون بر تأیید زیادبودن جذب در لایه اول در این زمان آبشویی، نشان از حرکت تند جبهه آلودگی و رسیدن آن به عمق ۴۰ سانتی‌متر خاک دارد. در واقع حدود ۹۷ درصد باکتری‌هایی که در زمان اول آبشویی وارد این لایه شده‌اند، از آن خارج گردیده‌اند که قابل توجه است. در مورد گذر تند جبهه آلودگی از لایه اول شاید بتوان گفت که در زمان کمتر از یک ساعت اتفاق افتاده که نمونه‌گیری و شناسایی نشده است.

ب-۳) تغییرات دمایی

شرایط محیطی بر زنده‌مانی و مرگ و میر باکتری‌ها مؤثر بوده و

www.SID.ir

جدول ۳. میانگین دما (°C) در عمق‌های گوناگون خاک مورد بررسی در زمان آزمایش آبشویی

زمان اندازه‌گیری به	عمق خاک (cm)					
وقت محلی	۵	۱۰	۲۰	۳۰	۵۰	۱۰۰
۶:۳۰′	۶/۸	۸/۷	۱۳/۲	۱۷/۲	۱۸/۹	۱۹/۸
۱۲:۳۰′	۲۲/۴	۱۹/۴	۱۵/۴	۱۶/۸	۱۸/۹	۲۰/۰
۱۸:۳۰′	۱۹/۸	۲۰/۴	۱۸/۰	۱۷/۷	۱۸/۸	۱۹/۹

در پالایش آنها دارای اهمیت است. دما یکی از فاکتورهای محیطی بسیار مهم است. جیانگ و همکاران (۱۸ و ۱۹) به ترتیب برای بررسی حرکت *اشرشیا کولی* و *باسیلوس سابتیلیس*، آزمایش‌ها را در اتاق تاریک و دمای ثابت انجام دادند تا شرایط نور و دما یکسان باشد. در این آزمایش تنها میزان رطوبت خاک در کنترل بود و با توجه به این که آزمایش در شرایط مزرعه انجام گرفت، بنابراین دما بر آزادسازی باکتری از کود و مرگ و میر آن در خاک مؤثر بود. میانگین دمای خاک در عمق‌های گوناگون در جدول ۳ آورده شده است. کاهش دما باعث کاهش آزادسازی باکتری‌های خانوادهٔ *انتروباکتریاسه* از کود شد.

دما در عمق cm ۵ خاک با تغییر زمان، نوسان زیادی داشت ولی در عمق پایین‌تر از cm ۳۰ نوسان دمایی کم شد. دمای نیم‌رخ خاک با تأخیر زمانی نسبت به دمای سطح خاک افزایش یا کاهش یافت. برای نمونه در ساعت ۶:۳۰′ دما در سطح خاک کم و با افزایش عمق بیشتر شد. بنابراین لایه رویین خاک سرد و لایه زیرین گرم بود. دمای کم محیط بر گران‌روی آب تأثیر گذاشته و از سرعت حرکت آن می‌کاهد. کاهش دما از ۲۲/۴ به ۶/۸ درجه سانتی‌گراد سبب افزایش گران‌روی دینامیکی آب به میزان ۱/۵ برابر می‌شود. افزایش گران‌روی آب سبب کاهش جریان آن می‌شود (۲۷). به نظر می‌رسد دلیل کاهش شدید غلظت باکتری‌ها در زمان h ۲۴ (شکل ۲) مرگ و میر باکتری‌ها باشد چراکه با توجه به زمان‌های نمونه‌گیری، نمونه h ۱۲ در اواخر شب و نمونه h ۲۴ در میانه روز گرفته می‌شد که تفاوت دمایی سطح خاک در این فاصله زیاد بود. وارنموند و کانوار (۳۴) اثر زمان کاربرد (بهاره و پاییزه) و مقادیر متفاوت کود خوک را در ستون‌های خاک دست‌نخورده بررسی کردند. غلظت کلیفرم‌های روده‌ای و *اشرشیا کولی* زه‌آب ستون‌ها اندازه‌گیری شد. شدت آلودگی زه‌آب ستون‌های بهاره نسبت به ستون‌های پاییزه بیشتر بود. آنها به این نتیجه رسیدند که دلیل کاهش غلظت باکتری در ستون‌های پاییزه، دمای کم خاک است که موجب افزایش مرگ و میر باکتری‌ها می‌شود.

نتیجه‌گیری

۱. در این پژوهش حرکت باکتری *اشرشیا کولی* آزادشده از کود گاوی در شرایط جریان غیراشباع خاک، در مزرعه مورد بررسی قرار گرفت. اثر عمق خاک و زمان نمونه‌گیری بر غلظت و غلظت نسبی باکتری در محلول خاک معنی‌دار شد. در واقع انتقال باکتری در نیم‌رخ خاک تحت تأثیر عمق خاک و زمان آبشویی قرار گرفت. ۲. در تمامی زمان‌ها (۱، ۲، ۴، ۶، ۱۲ و ۲۴ ساعت پس از آغاز آبشویی) به جز زمان اول، غلظت باکتری در عمق اول بیشتر از عمق دوم بود. وجود جریان‌های انگشت مانند سبب انتقال زیاد باکتری در زمان h ۱ و افزایش غلظت در عمق دوم نسبت به عمق اول شد. در زمان h ۲۴ غلظت در هر دو عمق به هم نزدیک شد. به نظر می‌رسد با گذشت زمان آبشویی ذرات کود حرکت کرده و منافذ را می‌بندند که مانعی برای گذر باکتری‌ها از خاک است. ۳. درصد پالایش نسبی باکتری (S_R) در مجموع دو لایه کمتر از لایه اول بود. با تصحیح غلظت باکتری ورودی به لایه دوم، میزان نگه‌داشت باکتری در این لایه قابل توجه شد. بنابراین لایه زیرین خاک با مقدار آهک و درصد رس بیشتر از لایه رویین در پالایش

Archive of SID

www.SID.ir

باکتری‌ها نقش داشت. ۴. کاهش دمای خاک در مدت آبشویی سبب کاهش آزادسازی باکتری از کود و کاهش شدید غلظت باکتری در محلول خاک شد. به نظر می‌رسد کاربرد کود دامی در فصول سرد در کاهش توان آلایندگی میکروبی آنها مؤثر باشد اما رخداد بیشتر بارندگی‌ها در این فصول مانع بزرگی برای پالایش باکتری‌ها در خاک است. ۵. با توجه به نتایج این پژوهش دیده شد که لایه‌های زیرین خاک هم در پالایش باکتری‌ها نقش قابل توجه دارند و می‌توان با اعمال تیمارهایی مانند ایجاد دست‌خوردگی و یا بررسی اثر لایه‌های سخت‌شده مانند افق انباشتگی رس، پتروکلسیک و پتروجیپسیک (در صورت وجود این لایه‌ها)، به نقش آنها در پالایش باکتری‌ها پرداخت. در این زمینه به پژوهش‌های بیشتری نیاز است.

سپاسگزاری

بر خود لازم می‌دانیم از گروه خاک‌شناسی دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی‌سینا همدان و مرکز تحقیقات کشاورزی همدان به خاطر همکاری بی‌دریغشان در انجام این پژوهش و دست‌اندرکاران صندوق حمایت از پژوهش‌گران کشور (طرح شماره ۱۸۴۱۴۷) به دلیل تأمین هزینه این پژوهش سپاسگزاری کنیم.

منابع مورد استفاده

۱. رستمی، ک. ۱۳۸۵. بررسی اثر سطوح مختلف آهک و گچ بر انتقال و پالایش باکتری *سودوموناس فلورسنس* در ستون‌های شنی تحت شرایط رطوبتی اشباع و غیراشباع. پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان.

۲. زند سلیمی، س. ۱۳۸۵. بررسی اثر ویژگی‌های فیزیکی خاک و کودهای آلی بر حرکت باکتری‌های آلوده کننده آب‌های زیرزمینی در ستون‌های خاک دست نخورده. پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان.

3. مقصودی، ج. ۱۳۸۸. اثر وضعیت رطوبت خاک بر زنده مانی کلیفرم‌های روده‌ای در یک خاک تیمار شده با کودهای دامی و لجن فاضلاب. پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان.

4. Abu-Ashour, J., D.M. Joy, H. Lee, H.R. Whiteley and S. Zelin. 1998. Movement of bacteria in unsaturated soil columns with macropores. Trans. ASAE 41: 1043–1050.

5. Bergey, D.H., J.H. Holt and N.R. Krieg. 1984. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Williams and Wilkins, Baltimore, USA.

6. Clothier, B.E. 2004. Soil pores. PP. 693-699. *In:* Chesworth, W., (Ed). Encyclopedia of Soil Science. Springer, Dordrecht, The Netherlands.

7. Darnault, C.J.G., T.S. Steenhuis, P. Garnier, Y.J. Kim, M.B. Jenkins, W.C. Ghiorse, P.C. Baveye and J.Y. Parlange. 2004. Preferential flow and transport of *Cryptosporidium parvuum* oocytes through the vadose zone: experiments and modeling. Vadose Zone J. 3: 262–270.

8. Dong, H., R. Rothmel, T.C. Onstott, M.E. Fuller, M.F. Deflaun, S.H. Streger, R. Dunlap and M. Fletcher. 2002. Simultaneous transport of two bacterial strain in intact cores from Oyster, Virginia: Biological effects and numerical modeling. Appl. Environ. Microbiol. 68(5): 2120–2132.

9. Dunsmore, B.C., C.J. Bass and H.M. Lappin-Scott. 2004. A novel approach to investigate biofilm accumulation and bacterial transport in porous matrices. J. Environ. Microbiol. 6(2): 183–187.

10. Fontes, D.E., G.M. Mills, G.M. Hornberger and J.S. Herman. 1991. Physical and chemical factors influencing transport of microorganisms through porous media. Appl. Environ. Microbiol. 57: 2473–2481.

11. Foppen, J.W.A. and J.F. Schijven. 2006. Evaluation of data from the literature on the transport and survival of *Escherichia coli* and thermotolerant coliforms in aquifer under saturated conditions. Water Res. 40: 401–426.

12. Gardner, W.R. 1958. Some steady-state solutions of the unsaturated moisture flow equation with applications to evaporation a water table. Soil Sci. 85: 228–232.

www.SID.ir

13. Gerba, C.P. and G. Bitton. 1984. Microbial pollutants: Their survival and transport pattern to groundwater. *In:* Bitton, G. and C.P. Gerba. (Eds.) Groundwater Pollution Microbiology. John Wiley & Sons, New York.
14. Ginn, T.R., B.D. Wood, K.E. Nelson, T.D. Scheibe, E.M. Murphy and T.P. Clement. 2002. Processes in microbial transport in the natural subsurface. Adv. Water Res. 25: 1017–1042.
15. Huysman, F. and W. Verstraete. 1993a. Water-facilitated transport of bacteria in unsaturated soil columns: influence of cell surface hydrophobicity and soil properties. Soil Biol. Biochem. 25: 83–90.
16. Jamieson, R.C., R.J. Gorden, K.E. Sharples, G.W. Stratton and A. Madani. 2002. Movement and persistence of fecal bacteria in agricultural soils and subsurface drainage water: A review. Can. Biosys. Eng. 44: 1.1–1.9.
17. Jewett, D.G., B.E. Logan, R.G. Arnold and R.C. Bales. 1995. Transport of *Pseudomonas fluorescens* strain P17 through quartz sand columns as a function of water content. J. Contamin. Hydrol. 36: 73–89.
18. Jiang, G., M. J. Nanoon, G. D. Buchan and T.J. Ratecliffe. 2006. Effects of soil matric suction on retention and percolation of *Bacillus subtilis* in intact soil cores. Water Air Soil Pollut. 177: 211–226.
19. Jiang, G., M. J. Nanoon, G. D. Buchan and N. Smith. 2007. Transport of *Escherichia coli* through variably saturated sand columns and modeling approaches. J. Contamin. Hydrol. 93: 2–20.
20. Jones, D.L. 1999. Potential health risks associated with the persistence of *Escherichia coli O157* in agricultural environments. Soil Use Manage. 15: 76–83.
21. Klute, A. 1986. Water retention: laboratory methods. PP. 635–662. *In:* Klute, A. (Ed.) Method of Soil Analysis. Part 1: Physical and Mineralogical Methods. 2nd ed., ASA/SSSA. Monograph 9.
22. Mathess, G., A. Pekdegger and J. Schroefer. 1988. Persistence and transport of bacteria and viruses in groundwater e a conceptual evaluation. J. Contamin. Hydrol. 2: 171–188.
23. McMurry, S.W., M.S. Coyne and E. Perfect. 1998. Fecal coliform transport through intact soil blocks amended with poultry manure. J. Environ. Qual. 27: 86–92.
24. Mosaddeghi, M.R., A.A. Mahboubi, S. Zandsalimi and A. Unc. 2009. Influence of waste type and soil structure on the bacterial filtration rates in unsaturated intact soil columns. J. Environ. Manage. 90: 730–739.
25. Mubiru, D.N., M.S. Coyne and J.H. Grove. 2000. Mortality of *Escherichia coli O157:H7* in two soils with different physical and chemical properties. J. Environ. Qual. 29: 1821–1825.
26. Page, A.L., R.H. Miller, D.R. Keeney. 1992. Methods of Soil Analysis. Part 2. Chemical and Microbiological Methods Soil Sci. Soc. Am. Agron. Monograph, 2nd ed., vol. 9, pp. 325–340.
27. Or, D., B.F. Smets, J.M. Wraith, A. Dechesne and S.P. Friedman. 2007. Physical constraints affecting bacterial habitats and activity in unsaturated porous media-A review. Adv. Water Resour. 30: 1505–1527.
28. Powelson, D.K. and A.L. Mills. 2001. Transport of *Escherichia coli* in sand columns with constant and changing water contents. J. Environ. Qual. 30: 238–245.
29. Sinton, L.W., M.J. Noonan, R.K. Finlay, L. Pang and M.E. Close. 2000. Transport and attenuation of bacteria and bacteriophages in an alluvial gravel aquifer. New Zealand J. Marine Freshwater Res. 34: 175–186.
30. Smith, M.S., G.W. Thomas, R.E. White, D. and Ritonga. 1985. Transport of *Escherichia coli* through intact and disturbed soil columns. J. Environ. Qual. 14: 87–91.
31. Unc, A. and M.J. Goss. 2003. Movement of faecal bacteria through the vadose zone. Water Air Soil Pollut. 149: 327–337.
32. Unc A. and M.J. Goss. 2004. Transport of bacteria from manure and protection of water resources. Appl. Soil Ecol. 25: 1–18.
33. Walkly, A. and I.A. Black. 1934. An examination of digestion method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration. Soil Sci. 37: 29–38.
34. Warnemuende, E.A. and R.S. Kanwar. 2000. T he effect of swine manure application on bacterial quality of leachate from intact soil columns. Trans. ASAE 45 (6):1849-1857.

Archive of SID

www.SID.ir

Unsaturated Transport of Cow Manure-Borne *Escherichia Coli* Through the Field Soil

M. B. Farhangi[1], M. R. Mosaddeghi[2]*, A. A. Safari Sinegani[1] and A. A. Mahboubi[1]

(Received : Jan. 26-2010 ; Accepted : Oct. 14-2011)

Abstract

In agriculture, cow manures are used to enhance soil fertility and productivity. *Escherichia coli* is the most common fecal coliform in cow manure and considered as an index for microbial contamination of groundwater resources. The objective of this study was to investigate the transport of *Escherichia coli* (released from cow manure) through the field soil. Lysimeters (with internal diameter of 20.5 and height of 50 cm) were inserted into an *in situ* clay loam soil. Unsaturated soil water flow was controlled at an inlet matric potential of –5 cm using a tension infiltrometer. When the steady-state flow was established, air-dried fresh cow manure was applied on the lysimeters at a rate of 10 Mg ha^{-1} (dry basis) and the soil-manure leaching started. Soil solution was sampled at 1, 2, 4, 6, 12 and 24 h after leaching initiation using plastic samplers installed at depths of 20 and 40 cm. Concentrations of *Escherichia coli* in the soil solution (C) and the influent (C_0) were measured using the plate count method. Impacts of soil depth, sampling time, and their interaction on C and C/C_0 were significant ($P<0.01$). In all leaching times, relative adsorption index (S_R) was lower when both soil layers were considered and the filtration increased with soil depth. When the concentration was corrected for the second layer (i.e. 20–40 cm), the S_R values in this layer were considerable and greater than those in the first layer at 4 and 6 h. The influence of surface layer was substantial in bacterial filtration; however, the preferential flows especially in the initial leaching times resulted in bacterial movement towards the second layer. Temperature drop reduced bacteria release from the manure, increased viscosity of the flowing water, and consequently diminished significantly the bacteria concentration in the soil solution at 24 h. Overall, it was found that similar to surface layer, subsurface layer might have great role in bacterial filtration due to its higher clay and carbonate contents.

Archive of SID

Keywords: Cow manure, *Escherichia coli*, Unsaturated flow, Soil depth, Tension infiltrometer, Field condition.

1. PhD. Student, Assoc. Prof. and Prof. of Soil Sci., College of Agric., Bu-Ali Sina Univ., Hamadan, Iran.

2. Assoc. Prof. of Soil Sci., College of Agric., Isf. Univ. Technol., Isfahan, Iran.

*: Corresponding Author, Email: mosaddeghi@cc.iut.ac.ir

www.SID.ir