

## چگونگی وضعیت ترابری و نگره‌داشت شاخص آلودگی اشرشیاکولی با سطوح شوری مختلف در ستون اشباع

سحر اخوان<sup>۱</sup>

سهیلا ابراهیمی<sup>۲\*</sup>

[sohebrahim@gmail.com](mailto:sohebrahim@gmail.com)

مریم نوایان<sup>۳</sup>

محمود شعبانپور<sup>۴</sup>

علی مجتهدی<sup>۵</sup>

علیرضا موحدی نایینی<sup>۶</sup>

تاریخ پذیرش: ۹۷/۳/۹

تاریخ دریافت: ۹۶/۴/۲۰

### چکیده

**زمینه و هدف:** اشرشیاکولی معمول‌ترین کلیفرم روده‌ای کود گاوی است که به عنوان شاخص آلودگی آب‌های زیرزمینی مورد بررسی قرار می‌گیرد. در این راستا، پژوهش حاضر با هدف مطالعه ترابری ترجیحی و نگره‌داشت باکتری اشرشیاکولی به‌عنوان یک باکتری شاخص آلودگی در شرایط استفاده از آب شور انجام گرفته است.

**روش بررسی:** مطالعات آزمایشگاهی در سیستم جریان ترجیحی با ماکروپورهای مصنوعی با قطر و تیمار شوری مختلف تحت جریان اشباع در سال ۱۳۹۵ انجام یافت. در بررسی اثر سطوح مختلف شوری آب از بیو ردیاب اشرشیاکولی و کلراید استفاده شد. نمونه‌های پساب به‌طور مداوم در طول آزمایش انتقال در فواصل زمانی مشخص جمع‌آوری شدند. در پایان آزمایش از سه عمق نمونه خاک از هر ستون در دو منطقه ماکروپور و ماتریکس برداشت شد. سپس غلظت‌های باکتری و کلراید آنالیز شدند.

**یافته‌ها:** بیشترین غلظت اشرشیاکولی در زهاب جمع‌آوری شده مربوط به کمترین شوری ۱ دسی‌زیمنس بر متر و حداقل مقدار آن در شوری ۴ دسی‌زیمنس بر متر مشاهده گردید. در عمق ۵ سانتی‌متر میزان نگره‌داشت باکتری حداکثر و برابر با  $10^5 \times 1/3$  CFUL<sup>-1</sup> بود.

۱- دانش آموخته دکتری خاکشناسی دانشکده مهندسی آب و خاک دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.

۲- عضو هیئت علمی گروه خاکشناسی دانشکده مهندسی آب و خاک دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. \* (مسئول مکاتبات)

۳- عضو هیئت علمی گروه آب دانشکده کشاورزی دانشگاه گیلان، رشت، ایران.

۴- عضو هیئت علمی گروه خاکشناسی دانشکده کشاورزی دانشگاه گیلان، رشت، ایران.

۵- عضو هیئت علمی گروه میکروبی شناسی، دانشکده پزشکی گیلان، رشت، ایران.

۶- عضو هیئت علمی گروه خاکشناسی دانشکده مهندسی آب و خاک دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.

**بحث و نتیجه‌گیری:** نتایج نشان داد که بیشتر باکتری‌های پالایش شده در لایه‌های سطحی خاک نگه‌داشته شدند و با افزایش عمق خاک میزان آلاینده عبوری از خاک کمتر شد، به طوری که به ازای هر ۵ سانتی متر افزایش عمق، ۱۰٪ میزان ننگه داشت آن کاهش پیدا کرد. هم چنین بالا بودن غلظت باکتری خروجی از ستون‌های خاک تیمار شده با شوری زیاد به علت نقش املاحی مانند نمک در انتقال باکتری است. بنابراین، شوری آب می‌تواند نقش مهمی در کاهش آلودگی منابع آب زیرزمینی داشته باشد.

**واژه‌های کلیدی:** باکتری، جریان ترجیحی، شوری، کلراید، ماکروپور.

## **Transmission and Retention Status of the Contamination Index (Escherichia Coli) with Different Levels of Salinity in the Saturated Column**

Sahar Akhavan<sup>1</sup>

Soheila Ebrahimi<sup>2 \*</sup>  
[sohebrahim@gmail.com](mailto:sohebrahim@gmail.com)

Maryam Navabian<sup>3</sup>

Mahmoud Shabanpour<sup>4</sup>

Ali Mojtahedi<sup>5</sup>

Alireza Movahedi Naeini<sup>6</sup>

Admission Date: May 30, 2018

Date Received: July 11, 2017

### **Abstract**

**Background and Objectives:** Escherichia coli is the most common fecal coliform in the cow manure that is considered as an indicator of groundwater contamination. In this regard, the present study was designed to investigate the preferential transmission and retention of Escherichia coli bacteria as an indicator of pollution in terms of using saline water.

**Material & Methodology:** Laboratory studies were conducted in preferential flow system with synthetic macro-pores with different diameter and salinity treatments under saturation flow in 2016. E. coli and chloride bio-tracer were used for detecting the effect of different water salinity levels. The wastewater samples were collected continuously during the transmission experiment at specific intervals. At the end of the experiment, three depths of soil from each column were sampled in two macro-porous and matrix areas. Then, the concentrations of bacteria and chloride were analyzed.

**Findings:** The highest and the lowest concentration of E. coli in the collected drainage were observed in salinity of  $1\text{dS m}^{-1}$  and  $4\text{dS m}^{-1}$ , respectively. At a depth of 5 cm, the bacterial retention rate was maximal and equal to  $1.3 \times 10^5 \text{CFU}^{-1}$ .

**Discussion and Conclusion:** The results showed that most of the treated bacteria were retained in the surface layers of the soil. Also, the amount of contaminants passing through the soil decreased with soil depth, so that the retention rate was decreased 10% per 5 cm increase in depth. In addition, the high concentration of bacteria exhausting from the soil columns treated with high salinity is due to the

---

1- Ph.D., Soil Physics Department of Soil and Water Engineering, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.

2- Faculty Member of Department of Soil and Water Engineering Gorgan University of Agricultural Science and Natural Resources, Gorgan, Iran. \*(Corresponding Author)

3- Faculty Member of Water Engineering Department, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran.

4- Faculty Member of Department of Soil Sciences, Faculty of Agricultural Sciences, Rasht, Iran

5- Faculty Member of Microbiology Department, School of Medicine, Guilan University of Medical Sciences, Rasht, Iran.

6- Faculty Member of Department of Soil and Water Engineering, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.

role of minerals such as salt in the transmission of bacteria. Therefore, water salinity can play an important role in reducing the pollution of groundwater resources.

**Keywords:** Bacteria, Preferential Flow, Salinity, Chloride, Macro Pour.

#### مقدمه

محققان زیادی ارزیابی شده، اگرچه نتایج برخی از یافته‌ها کاملاً با هم متناقض بوده است. به عنوان مثال در تئوری، افزایش قدرت یونی موجب افزایش نگره‌داشت باکتری بر بار منفی رسوبات زیرسطحی می‌شود، زیرا به دلیل فشردگی لایه دوگانه الکتروستاتیک تعادل بین بار سطحی باکتری و رسوب ایجاد می‌شود. با وجود این نتایج متمایز توسط کیم و همکاران (۲۰۰۹) گزارش شد. آن‌ها هیچ گونه تاثیری از قدرت یونی جز در pH های بالا بر نگره‌داشت میکروارگانیسم نیافتند (۷). الکتروولیت با کاتیون دو ظرفیتی می‌تواند نقش یک پل را بازی کند و واکنش با بار سطحی سلول دارد و موجب نسبت نگره‌داشت بیشتر از باکتری در شرایط متخلخل می‌شود؛ اما اثر بارهای منفی یون‌های چند ظرفیتی به انتقال یا نگره‌داشت باکتری یا ویروس در شرایط زیرسطحی متضاد بود. شیمی محلول بر واکنش باکتری با سطح شن به دلیل تغییر بار سطحی و یا خصوصیت هیدروفوبیک مؤثر است (۸). ونگ و همکاران (۲۰۱۴) به توصیف دقیق انتقال اشرشیاکولی در ستون با وضعیت و طول ماکروپورهای مصنوعی مختلف در دو سطح قدرت یونی (۱ و ۲۰ میلی مولار NaCl) پرداختند. نتایج آن‌ها نشان داد که طول ماکروپور مصنوعی تأثیر زیادی در انتقال ترجیحی از اشرشیاکولی، به ویژه در شرایط قدرت یونی بالا دارد. در قدرت یونی پایین انتقال گسترده‌تر در مسیر ترجیحی و زمان زودتر در رسیدن برای اشرشیاکولی نسبت به بروماید به عنوان یک نتیجه از محدودیت اندازه مشاهده شد (۹). در پژوهش دیگری تخمین سرعت مهاجرت باکتری‌ها در پروفیل خاک با فرضیه عبور عمده باکتری‌ها از ماکروپورها مطابقت داشت. سرعت انتقال باکتری سریع‌تر از میانگین سرعت منافذ آب بود. انتقال در ماکروپور احتمالاً در خاک‌های مرطوب اتفاق می‌افتد اما به خاک‌هایی با مقدار آب اولیه زیاد محدود نمی‌شود و باکتری‌های معلق اختصاصاً از قطر منافذ بزرگ‌تر و آب منافذ سریع‌تر عبور می‌کند. تخلخل کل اثر

امروزه آلودگی میکروبی آب‌های سطحی و زیرزمینی مسئله‌ای جدی برای سلامتی انسان به شمار آمده و منجر به ایجاد بیماری‌های خطرناکی می‌گردد. در کشاورزی برای بهبود حاصلخیزی خاک از کودهای گاوی استفاده می‌شود. اشرشیاکولی معمول‌ترین کلیفرم روده‌ای کود گاوی است که به عنوان شاخص آلودگی آب‌های زیرزمینی در پژوهش‌ها مورد بررسی قرار می‌گیرد (۱). مطالعه انتقال میکروب‌ها در خاک از جنبه‌های مختلفی مانند آلودگی آب‌های زیرزمینی و پالایش زیستی خاک و آب زیرزمینی اهمیت دارد (۲). انتقال باکتری‌های شاخص مدفوعی توسط رواناب و نفوذ از مزارع تیمار شده با کود ممکن است باعث آلودگی آب‌های مجاور شود. در مدت نفوذ، حضور ماکروپورها و بیوپورها اجازه می‌دهد تا پساب کود و میکروارگانیسم‌ها به سرعت بخشی از ماتریکس خاک را دور زده و به خاک‌های عمیق‌تر و شاید به سیستم‌های زهکشی زیر سطحی برسد (۳). از سویی دیگر، بخش عمده مساحت ایران از نظر اقلیمی جز مناطق خشک و نیمه خشک محسوب می‌گردد که سبب شده استفاده از آب‌های شور و نامتعارف اهمیت بالایی پیدا کند (۴). امروزه به سبب محدودیت روزافزون منابع آب شیرین و متعاقب آن کاهش کیفیت و حاصلخیزی اراضی، امکان کاربرد منابع جایگزین به ویژه آب‌های نامتعارف مانند زهاب مزارع، آب‌های شور و لب شور سطحی و زیرزمینی بطور جدی مطرح شده و از گزینه‌های پیش رو برای تداوم و ثبات فعالیت‌های کشاورزی می‌باشد، تا زمینه مناسب برای مصرف پایدار آن‌ها فراهم گردد (۵). شوری یکی از عوامل مهم استرس برای میکروارگانیسم‌ها به حساب می‌آید. کاهش کسر تنفسی، کاهش میزان دی‌اکسید کربن، کاهش فعالیت آنزیمی و همچنین کاهش بیومس میکروبی در اثر شوری اتفاق می‌افتد (۶). قدرت یونی، تعادل یون الکتروولیت و شرایط pH محلول سه فاکتور اصلی مؤثر بر واکنش باکتری با سطح شن است و اثر آن‌ها بر نگره‌داشت باکتری به وسیله

منحنی رخنه باکتری و کلراید به منظور بررسی شدت آلودگی زهاب ستون‌های خاک در طول آزمایش آبشویی بر انتقال باکتری اندازه گیری شد.

#### روش بررسی

در پژوهش حاضر، به منظور بررسی انتقال و نگاهداشت باکتری اشرشیاکولی، در سیستم جریان ترجیحی با ماکروپوره‌های مصنوعی با قطرهای مختلف (صفر، ۱ و ۲ سانتی متر) و تیمار شوری آب مختلف (هدایت الکتریکی ۱، ۲ و ۴ دسی زیمنس بر متر) با سه تکرار تحت جریان اشباع در نیمه اول سال ۹۵ انجام یافت. ویژگی های اولیه خاک ستون های آزمایشی در جدول ۱ آورده شده است.

معنی‌داری در افزایش انتقال باکتری‌های مدفوعی ندارد. پتانسیل باکتری‌های مدفوعی در عمق خاک با مقدار آب کود همبستگی دارد (۱۰). به طور کلی استفاده از کود دامی در خاک می‌تواند به آسانی منجر به آلودگی آب‌های زیرزمینی با باکتری‌های مدفوعی به ویژه در شرایط مرطوب شود و نقش ماکروپورها در انتقال بسیار مهم است (۱۱). در پژوهش حاضر با توجه به اهمیت کمی و کیفی منابع آب، اثر سطوح مختلف شوری آب بر انتقال باکتری اشرشیاکولی به عنوان شاخص آلودگی آب‌های زیرزمینی در شرایط اشباع خاک بررسی شد. این شاخص با در نظر گرفتن اهمیت جریان ترجیحی با استفاده از ماکروپوره‌های مصنوعی مورد پژوهش قرار گرفت. هم‌چنین

#### جدول ۱- ویژگی های اولیه خاک ستون های آزمایشی

Table 1. The primary characteristics of the soil column test

EC(dsm <sup>-1</sup> )	pH(1:2)	جرم مخصوص ظاهری	رطوبت وزنی(%)	رس(%)	سیلت(%)	شن(%)	بافت خاک	نوع خاک
۰/۷	۷/۱	۱/۶	۱۵	۱۰	۱۰	۸۰	شن لومی	ماکروپور
۰/۷۶	۷/۱	۱/۴	۲۰	۸	۱۶	۷۶	لومی شنی	ماتریکس

مورد نظر ایجاد شود. لایه نازکی از شن درشت بر سطح ستون خاک برای جلوگیری از تخریب ساختمان خاک قرار داده شد. در پایان ستون با آب از پایین اشباع شد تا فشار مرزپایین در صفر سانتی‌متر کنترل شود. محلول‌های مورد نظر که به تفصیل در بند ۲ توضیح داده شده‌اند از مرز بالای ستون ناهمگن با سرعت جریان ثابت اضافه شدند (۱۲). ستون در طول آزمایش با حفظ عمق سطحی (کمتر از پنج سانتی‌متر) در مرزبالا اشباع گردید.

#### آزمایش آبشویی

در این مطالعه برای بررسی اثر سطوح مختلف شوری آب، ردیاب بیولوژیکی (اشرشیاکولی) و شیمیایی (کلراید) در شرایط اشباع پایدار با جریان ترجیحی به صورت زیر مورد استفاده قرار گرفت.

ابتدا قبل از شروع آزمایش انتقال میکروبی، دو حجم منفذی (PVS) محلول NaCl (تیمار شوری) انتخاب (۱۳) و به ستون استریل با استفاده از سرم فیزیولوژی استریل اضافه شد و به

مراحل انجام کار به شرح زیر می‌باشد:

#### آماده‌سازی ستون و تیمارها

آزمایش‌های انتقال ترجیحی در مخازنی از جنس پی وی سی با طول و قطر داخلی مشخص (به ترتیب ۲۰ و ۱۰ سانتی‌متر) انجام یافت. سیستم جریان ترجیحی با استفاده از دو اندازه شن شامل شن ریز و شن درشت در ستون به صورت زیر آماده و طراحی شد. ابتدا با آب مقطر (اتوکلاو شده) حدود یک سوم ارتفاع ستون را پر و یک لوله پلاستیکی به طول ۳۰ سانتی‌متری با قطر خارجی مورد نظر (۱ و ۲ سانتی متر) در مرکز ستون کار گذاشته شد. شن ریز به تدریج به ماتریکس ستون (خارج از لوله پلاستیکی) اضافه شد. سپس آب اضافی در لوله پلاستیکی از کف، زهکش شد. لوله با دقت بدون اختلال در اطراف ساختار شن از ستون بیرون کشیده شد و یک حفره با قطر ۲ سانتی متر در مرکز ستون به جای گذاشت. در این مرحله حفره تا ارتفاع بیست سانتی متر با شن درشت با استفاده از یک قیف پر شد، تا ساختار ماکروپور جریان ترجیحی

و با واحد کلنی در میلی‌لیتر ( $\text{CFU ml}^{-1}$ ) بیان شد. هم‌چنین شمارش باکتری در نیم‌رخ خاک به‌روش اندازه‌گیری غلظت باکتری در پساب انجام یافت. برای اندازه‌گیری غلظت کلراید، هدایت الکتریکی هر نمونه پساب خروجی به‌روش تیتراسیون با نیترات نقره اندازه‌گیری شد (۱۵).

در این پژوهش طرح آزمایشی مورد استفاده، طرح فاکتوریل دو فاکتوره در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار بود. سطوح شوری (هدایت الکتریکی ۱، ۲ و ۴ دسی زیمنس بر متر) به عنوان فاکتور یا تیمار اول و قطر ماکروپورها به عنوان فاکتور یا تیمار دوم (بدون قطر، ۱ و ۲ سانتی متر) در نظر گرفته شد. متغیرهای مورد بررسی غلظت خروجی (C) اشرشیاکولی در حجم‌های آب منفذی ۱، ۲، ۳، ۴، ۵ و ۶ برابر PV بود. داده‌های به دست آمده توسط نرم افزار SAS<sup>۱</sup> تجزیه و تحلیل شده و مقایسه میانگین‌ها به روش LSD انجام گرفت. هم‌چنین منحنی‌های رخنه<sup>۲</sup> (BTC) به صورت غلظت خروجی باکتری و کلراید به صورت غلظت خروجی (C)، و هم‌چنین غلظت ورودی ( $C_0$ ) بر حسب  $\text{CFUml}^{-1}$  در برابر حجم آب منفذی (PV) برای تیمارهای خاک با استفاده از نرم‌افزار Excel رسم گردید و روند آلودگی زهاب ستون‌های خاک تیمار شده با باکتری اشرشیاکولی و توانایی خاک‌ها در پالایش آب آلوده، بحث و بررسی شد.

#### نتایج و بحث

##### مقایسه منحنی رخنه انتقال باکتری و کلراید

در شکل ۱ و ۲ منحنی‌های رخنه باکتری اشرشیاکولی و کلراید برای تیمار شوری آورده شده است. مقایسه انتقال باکتری با املاح غیرواکنش‌گر مانند کلراید به‌درک بهتر مکانیزم‌ها و فاکتورهای حاکم بر انتقال باکتری در خاک کمک می‌نماید. در این منحنی‌ها غلظت نسبی (نسبت غلظت در پساب خروجی C به غلظت اولیه ورودی  $C_0$ ) در مقابل زمان نشان داده است. همان‌طوری که ملاحظه می‌شود کلراید قبل از باکتری در حجم منفذی ۱/۵ در پساب خروجی مشاهده شده و

شن اجازه داده شد تا با محلول به‌تعداد برسد (فاز صفر). آزمایش‌های انتقال میکروبی در دو فاز با شرایط مرزی و سرعت جریان مشابه فاز صفر انجام یافت. به این صورت که ابتدا یک پالس سوسپانسیون میکروبی به ستون با سرعت ثابت اضافه شد (فاز ۱). سپس محلول NaCl در ستون با سرعت جریان و قدرت یونی مشابه فاز ۱ تا زمانی که غلظت میکروب پساب به مقدار اولیه برگردد اضافه شد (فاز ۲).

سوسپانسیون اشرشیاکولی به طوریکه‌خواست در سطح بالایی ستون خاک استریل در کنار شعله با استفاده از سرنگ استریل اسپری شد. آزمایش آبشویی تا شش برابر حجم منفذی (۶۰ دقیقه) ادامه یافت. آزمایش آبشویی با ۳ تکرار برای هر تیمار انجام گرفت. در حجم‌های آب منفذی ۱PV، ۲PV، ۳PV، ۴PV، ۵PV، ۶PV از زهاب ستون‌های خاک نمونه‌گیری شد. سپس غلظت‌های باکتری و کلر آنالیز شد. سوسپانسیون باکتری ورودی با روش استاندارد کدورت نیم‌مک‌فارلند از طریق افزودن کلرید هیدرات باریم ۱/۱۷۵٪ ( $0.048M$ ) به ۹۹/۵ میلی‌لیتر اسیدسولفوریک ۱٪ ( $0.36N$ ) تهیه شد. حجم نمونه‌گیری در هر بار ۵ میلی‌لیتر بود. به‌منظور اندازه‌گیری باکتری در نیم‌رخ خاک پس از پایان آزمایش انتقال باکتری، ستون خاک به ۳ لایه تقسیم و برش زده شد. نمونه‌ها از ۳ عمق و در هر عمق از ۲ منطقه ماکروپور و ماتریکس برداشته شد. یک گرم از هر نمونه با ۹ میلی‌لیتر محلول کالگون (هگزا متافسفات سدیم) ۰/۲٪ به لوله سانتریفیوژ ۱۵ میلی‌متری اضافه شد. برای جداسازی باکتری موجود در فاز مایع از فاز جامد هر نمونه در دستگاه میکسر ورتکس به مدت ۱۵ دقیقه به‌هم زده شد. برای تعیین غلظت باکتری در محلول رویی به‌دست‌آمده از روش شمارش زنده استفاده شد (۱۴).

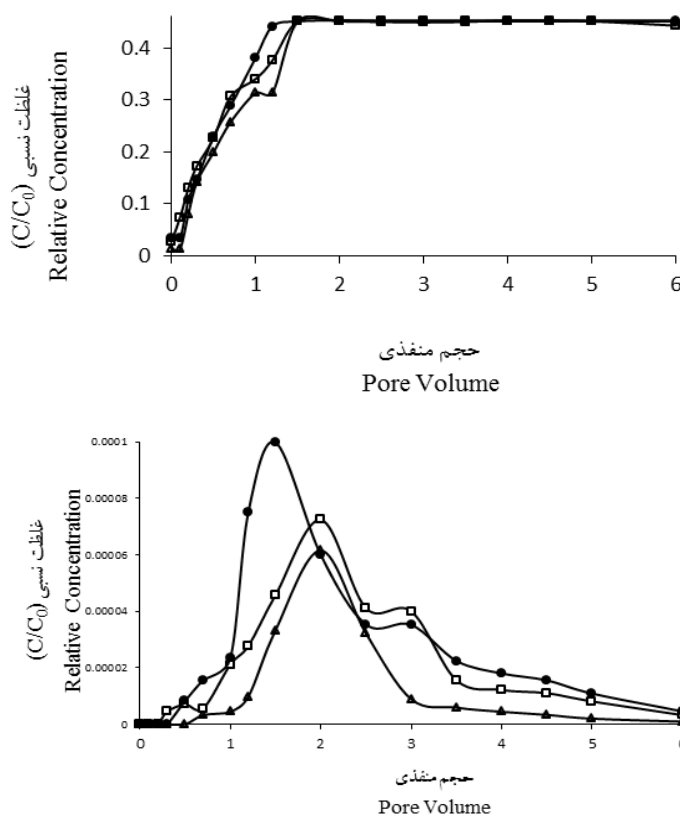
##### مطالعات آزمایشگاهی

سوسپانسیون باکتری خروجی با رقت‌های  $10^{-1}$ ،  $10^{-2}$  و  $10^{-3}$  تهیه شد. پس از رقیق کردن نمونه‌ها، ۰/۱ میلی‌لیتر از محلول رقیق شده درون پلیت‌های دارای محیط کشت EMB کشت شد. غلظت‌های باکتری در پساب با شمارش پلیت‌ای‌کولی در آگار EMB بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه تخمین زده شد و سپس غلظت باکتری در آب خروجی محاسبه

1- Statistical Analysis System  
2- Breakthrough curves

متفاوت می‌شود. اکثریت قبل از رسیدن به حجم منفذی ۲ از ستون خارج می‌شوند که بیان‌گر این است که قسمت زیادی از باکتری از میان ماکروپورها حرکت می‌کند و به‌سرعت توسط ماکروپورها منتقل می‌شود. منحنی‌ها ستون‌های حاوی تیمار ماکروپور بعد از حجم منفذی ۳، به جای به صفر برسند، یک پیک کوچک دیگر را می‌سازند که نشان‌دهنده این است که بیشتر باکتری‌ها از طریق ماکروپورها منتقل می‌شوند و باقی‌مانده باکتری از میان ماتریکس خاک منتقل می‌گردد. نتایج یاد شده با گزارش یونک و گوس (۲۰۰۳) و لی و همکاران (۲۰۱۳) مطابقت دارد (۹) و (۱۶).

پس از پایان ورود محلول سوسپانسیون باکتری به سطح ستون خاک، منحنی رخنه کلراید قبل از باکتری سیر نزولی داشته‌است. انتقال سریع تر املاح غیرواکنش‌گر مانند کلراید نسبت به باکتری، به‌خاطر بر هم کنش‌های ذرات خاک با بار الکتریکی منفی در پلی‌ساکاریدهای موجود در باکتری است، که باعث کند شدن حرکت باکتری می‌گردد و بخشی از آنها جذب خاک می‌شوند. با توجه به نتایج شکل ۵ (ب) مشاهده می‌شود که منحنی‌های رخنه باکتری زمانی که هیچ‌گونه ماکروپوری در خاک وجود ندارد، متقارن است و در این شرایط باکتری به طور یکواخت و همگن از سراسر ستون خاک منتقل می‌شود. البته یک ماکروپور به‌تنهایی در انتقال از مسیرهای جریان ترجیحی در همان ستون خاک و همان شدت جریان دخالتی ندارد، زمانی که جریان‌ات افزایش پیدا می‌کند، شکل منحنی‌های رخنه



شکل ۲- منحنی رخنه اندازه‌گیری شده کلراید (الف) و باکتری اشرشیاکولی (ب) در سطوح شوری مختلف (●-EC=4، □-EC=2، ▲-EC=1 دسی زیمنس بر متر)

Figure2. Breakthrough Curve of Chloride (a) and E.coli bacteria (b) in different salinity levels (●-EC=4, □-EC=2, ▲-EC=1 dScm<sup>-1</sup>)

## آنالیز آماری انتقال باکتری

اثر متقابل کمی بر یکدیگر داشتند، به گونه ای که اثر متقابل قطر و شوری تنها در حجم های آب منفذی ۲PV، ۳PV شدت آلودگی زهاب به اشرشیاکولی را در سطح احتمال پنج درصد تحت تاثیر قرار داد. بنابراین می توان گفت که با گذشت زمان پس از آغاز آزمایش های آبشویی، اثر تیمارهای مختلف بر جا به جایی و نگه داری باکتری در خاک قابل توجه و معنی دار شد. در مراحل نهایی آبشویی (۶PV) به علت آبشویی زیاد ستون خاک و کاهش غلظت ورودی باکتری، اثر تیمار شوری و اثر متقابل قطر و شوری بر میزان آلودگی آب زهاب کاهش یافت.

در جدول ۲ تجزیه واریانس اثر تیمار شوری و قطر ماکروپور و همچنین اثر متقابل شوری و قطر ماکروپور بر در حجم های آب منفذی ۱PV، ۲PV، ۳PV، ۴PV، ۵PV، ۶PV آورده شده است. تیمار شوری در همه حجم های آب منفذی بر غلظت اشرشیاکولی زهاب در سطح احتمال پنج درصد تاثیر معنی داری داشت، تیمار قطر ماکروپور نیز در حجم های آب منفذی ۲PV، ۳PV در سطح احتمال یک درصد و در سایر حجم های منفذی (۱PV، ۴PV، ۵PV، ۶PV) در سطح احتمال پنج درصد بر غلظت اشرشیاکولی زهاب در سطح احتمال پنج درصد تاثیر معنی داری داشت که بیانگر اثر قابل توجه جریان ترجیحی بر میزان آلودگی زهاب است. تیمارهای قطر و شوری

## جدول ۲- منابع تغییر و اثر آن ها بر غلظت خروجی اشرشیاکولی در حجم های آب خروجی مختلف

Table2- Resource changes and their effect on output concentration of Escherichia coli in different volumes of water

میانگین مربعات					
4PV	3PV	2PV	1PV	درجه آزادی	منبع تغییر
* ۱۸/۳۸	** ۲۵/۶۵	** ۰/۲۵	* ۱/۰۵	۲	شوری
* ۲/۳۹	* ۵۵/۳۳	* ۳۴/۹۱	* ۲/۰۵	۲	قطر ماکروپور
۰/۱۰	* ۲۸/۳۱	* ۰/۲۸	۲/۰۶	۴	شوری × قطر ماکروپور
۵/۲۱	۲/۱۲	۰/۰۴	۱/۰۲	۱۸	خطا
۰/۷۱	۰/۰۴	۰/۶۳	۰/۰۸	۰/۷۱	ضریب تغییرات (%)

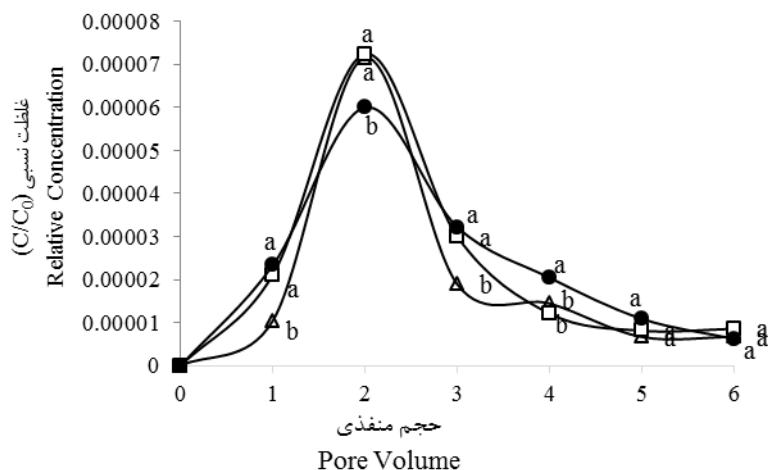
ns، \* و \*\* به ترتیب نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح یک درصد، پنج درصد و اختلاف غیرمعنی دار است.

## اثر جریان ترجیحی بر انتقال باکتری

حداکثر رسیده و سپس کاهش می یابد. نتایج نشان داد که میزان آلودگی ایجاد شده در قطر ۲ سانتی متر بیشتر از تیمار های دیگر بوده است. به نظر می رسد دفع باکتری از سطوح جذب و آزاد شده باکتری های گیر افتاده در منافذ این تیمار بیشتر شده و باکتری بیشتری وارد زهاب شد و آلودگی آن را افزایش داد.

در شکل ۳ روند آلودگی زهاب در طول زمان آبشویی آورده شده است. شدت آلودگی زهاب در ابتدای آبشویی به علت آن که هنوز جبهه آلودگی به انتهای ستون های خاک نرسیده بود، پایین بود. خروج زود هنگام باکتری (۱PV) در ستون خاک با قطر ۲ سانتی متر بیانگر نقش جریان ترجیحی در انتقال باکتری است. با ادامه آبشویی در ۲PV شدت آلودگی زهاب به





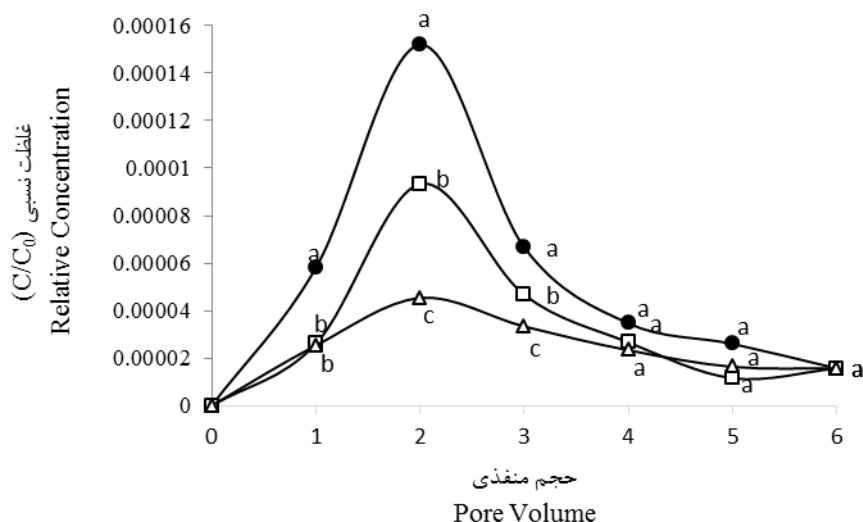
شکل ۳- اثر تیمار قطر ماکروپور (● قطر دو سانتی متر، □ قطر یک سانتی متر و △ بدون قطر) بر غلظت خروجی اشرشیاکولی در حجم های آب خروجی مختلف

Figure3. The effect of macroporous diameter treatment (● 2 cm diameter □ 1 cm diameter and △ no diameter) on the concentration of E.coli in different volumes of water

#### اثر شوری بر انتقال باکتری

باکتری  $(C/C_0)$  افزوده شده به ستون های خاک نشان داد که روند غلظت باکتری در حجم منفذی های مختلف در دو شوری کم و زیاد روند تغییرات متفاوت داشت به گونه ای که بیشترین غلظت اشرشیاکولی در زهاب جمع آوری شده مربوط به کمترین شوری ۱ دسی زیمنس بر متر و حداقل مقدار آن در شوری ۴ دسی زیمنس بر متر مشاهده گردید. شوری زیاد باعث از بین رفتن باکتری می شود. هم چنین افزایش شوری، باعث بالا رفتن قدرت یونی محلول خاک و فشرده شدن لایه دوگانه پخشیده (DDL) می شود. این عمل سبب نزدیک شدن باکتری ها به سطح ذرات خاک و غلبه نیروهای واندروالس برای جذب باکتری روی سطح ذرات خاک می گردد (۱۷)، لذا با افزایش غلظت محلول، انتقال و آبشویی باکتری ها در خاک کم می شود. این مطلب می تواند مؤید انتقال سریع تر باکتری ها در خاک های نسبتاً شور باشد. نتایج فوق با گزارش شیرانی و همکاران مطابقت دارد (۱۸).

نتایج مقایسه میانگین شکل ۴ نشان داد که تاثیر کاربرد شوری آب یک دسی زیمنس بر متر (کمترین شوری)، بر میزان غلظت باکتری اشرشیاکولی جمع آوری شده از ستون های خاک در ابتدای آبشویی بسیار زیاد بوده است. اما با افزایش میزان آبشویی، غلظت باکتری در زهاب جمع آوری شده کاهش یافته است. در شوری ۲ دسی زیمنس بر متر که تقریباً شوری متوسطی است، در ابتدای آبشویی غلظت باکتری جمع آوری شده در زهاب ستون های خاک زیاد بوده و با ادامه آبشویی تا ۱/۵ حجم منفذی غلظت باکتری به حد کمتر مقدار خود ( $10^{-4}$  دسی زیمنس بر متر) رسید و سپس کاهش یافته است. در شوری زیاد یعنی ۴ دسی زیمنس بر متر در ابتدای آبشویی، غلظت باکتری اشرشیاکولی روند صعودی داشت، اما با افزایش آبشویی و بعد از پیک حجم منفذی ۲ غلظت اشرشیاکولی روند کاهشی نشان داد، تا جایی که در ۶ منفذی غلظت تقریباً به صفر رسید. هم چنین منحنی نسبت غلظت باکتری خروجی در زهاب جمع آوری شده به غلظت اولیه



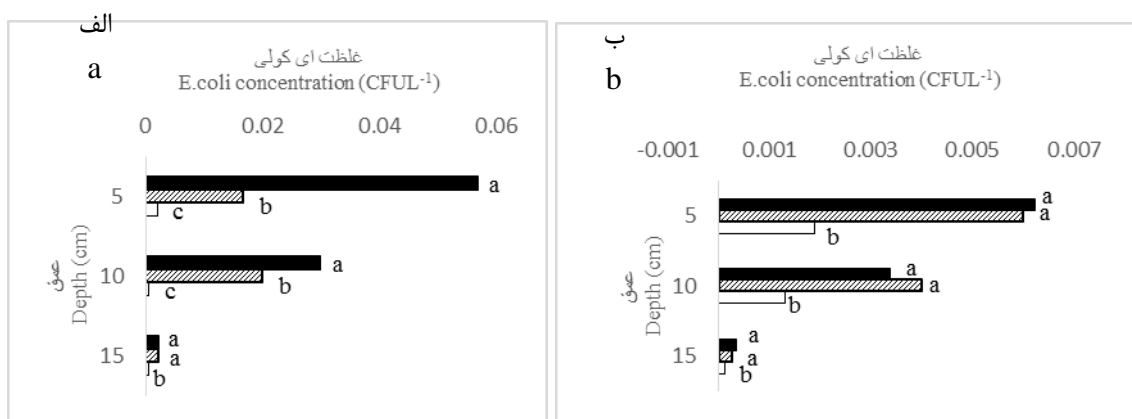
شکل ۴- اثر تیمار شوری (EC=1-●، EC=2-□، EC=4-△) دسی زمینس بر متر) بر غلظت خروجی اشرشیاکولی در حجم های آب خروجی مختلف

Figure 4. The effect of salinity treatment on the concentration of E.coli in different volumes of water

#### اثر شوری بر نگه-داشت باکتری

برای سطح شوری ۲ دسی زمینس بر متر کاهش پیدا کرده است. همچنین نتایج نشان داد که در ستونهای خاکی که با آب دارای شوری کم و متوسط آبخوبی شده بودند، باکتری اشرشیاکولی در عمق‌های مختلف وجود داشت. اما در اعماق مختلف ستون‌هایی که با آب با شوری زیاد آبخوبی شده بودند، به خصوص در منافذ ماکرو باکتری وجود نداشت. نتایج صفادوست و همکاران (۲۰۱۱) هم موید این مطلب است که عمق خاک در فرآیند پالایش باکتری تاثیرگذار است (۲۰، ۱۹). عمدتاً باکتری‌ها به خاطر نیاز تهویه و آب‌دوست بودن در لایه‌های سطحی خاک نگه داشته می‌شوند و با افزایش عمق خاک، مقدار نگه‌داشت کاهش می‌یابد (۲۱، ۲۲). هم‌چنین با افزایش عمق غلظت آلاینده کم می‌شود (۲۳) که نشان‌دهنده اثر خاک در پالایش آلاینده‌های میکروبی به عنوان یک فیلتر طبیعی است؛ بنابراین منابع آب زیرزمینی کم عمق بسیار حساس به آلودگی باکتریایی هستند، به گونه ای که مصرف جزئی کودها در این مناطق، دشواری‌های زیادی را ایجاد خواهد کرد.

در شکل ۵ نتایج مقایسه میانگین غلظت باکتری با عمق ستون خاک آورده شده است. با توجه به شکل ۵ در عمق پنج سانتی‌متر میزان نگه‌داشت باکتری حداکثر و برابر با  $10^5 \times 1/3$  بود. نتایج نشان داد که بیشتر باکتری‌های پالایش شده در لایه‌های سطحی خاک نگه‌داشته شدند و با افزایش عمق خاک میزان آلاینده عبوری از خاک کمتر شد، به طوری که به ازای هر ۵ سانتی متر افزایش عمق ۱۰ درصد نگه‌داشت کاهش پیدا کرد. نقش لایهٔ رویین خاک در پالایش باکتری برجسته بود ولی وجود جریان‌های ترجیحی به‌ویژه در زمان‌های آغازین باعث انتقال باکتری‌ها تا لایه دوم شد. هم‌چنین میزان نگه‌داشت در ماتریکس خاک ۱۲ برابر منافذ ماکروپور ستون خاک بود. به علاوه نتایج نشان داد که در عمق ۱۰ سانتی متر باکتری بیشتری در سطح شوری ۲ نسبت به ۱ دسی زمینس بر متر نگهداری شده است. علت آن می‌تواند به علت تفاوت نگه‌داشت در منافذ ماکرو و ماتریکس خاک باشد. به عبارت دیگر باکتری بیشتری از منافذ ماتریکس در عمق ۱۰ سانتی متر نگه‌داشت شده و میزان نگه‌داشت آن در ماکرو



شکل ۵- نیمرخ باکتری اشرشیاکولی در ماتریکس (الف) و ماکروپور (ب) در سطوح شوری مختلف (■ EC=4، ▨ EC=2 و □ EC=1 دسی زیمنس بر متر)

Figure 5. E. coli bacteria profile (a) matrix and (b) Macropore in different levels of salinity profiles (▨, EC=4, ▨- EC=2, ▨- EC=1 dcm<sup>-1</sup>)

#### بحث و نتیجه گیری

آلودگی منابع آب زیرزمینی داشته باشد. اگر چه انتقال باکتری در شوری تسهیل می‌شود، اما نتایج پژوهش حاضر نشان داد که افزایش قدرت یونی محلول خاک، باعث افزایش میزان پالایش باکتری شده است که این امر می‌تواند در کنترل آلودگی آب زیرزمینی با مدیریت آبیاری شور موثر باشد، به گونه ای که حداقل انتقال صورت گرفته و شرایط برای استفاده از منابع آب نامتعارف نیز ایجاد شود، بدون این که مشکل زیست محیطی خطر آلودگی آب زیرزمینی را تهدید نماید.

#### Reference

1. Farhangi, M.B., Mosdeghi, M.R., Safari, A. A., and Mahboubi, A. A. 2012. E. coli bacteria from cattle manure in the soil released the unsaturated farm. Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural.
2. FarrokhianFirouzi, A., Homaeae, M., Klumpp, E., Kasteel, R. and W. Tappe. 2015. Bacteria Transport and Retention in intact calcareous soil columns under saturated Flow conditions. J. Hydrol. Hydromech., 63 (2): 102–109.
3. Guzman, J. A., G. A. Fox, R. W. Malone, and R. Kanwar. 2010. Escherichia coli

نتایج نشان داد که شدت آلودگی پساب ستون با قطر ماکروپور دو سانتی متری، برابر ستون با قطر بدون ماکروپور بوده است. حضور زود هنگام باکتری در پساب خروجی، به دلیل وجود جریان‌های ترجیحی و بالا بودن سرعت انتقال آلودگی در ستون های تیمار شده می‌باشد، به طوری که افزایش یک سانتی متر در قطر منافذ درشت میزان پالایش را حدود ۰/۱٪ کاهش می دهد. همچنین نتایج نشان داد که با افزایش عمق خاک میزان آلاینده عبوری از خاک کمتر شد، در نتیجه عمق خاک در فرایند پالایش باکتری اثرگذار است و منابع آب زیرزمینی کم عمق بسیار حساس به آلودگی باکتریایی هستند. بیشترین غلظت باکتری اشرشیاکالی در زهاب جمع‌آوری شده مربوط به کمترین شوری یعنی ۱ دسی زیمنس بر متر و حداقل مقدار آن در شوری ۴ دسی زیمنس بر متر مشاهده گردید. بالا بودن غلظت باکتری خروجی از ستون‌های خاک تیمار شده با شوری زیاد به علت نقش املاحی مانند نمک در انتقال باکتری است. از طرفی به علت سرعت کمتر آب در منافذ ریز و تجمع باکتری ها سبب گیرافتادن آنها در منافذ می شود و همین امر سبب بسته شدن مسیر حرکت باکتری های دیگر می شود که در نتیجه باکتری بیشتری پالایش می گردد. بنابراین، شوری آب می تواند نقش مهمی در کاهش

- in saturated porous media of soil. *Journal of Water and Soil Conservation*. 20(3): 227-240.
12. Taghdisi, R., Ebrahimi, S. and Zakerinia, M., 2020. Behavior of Water through Soil Columns Containing Montmorillonite Clay Layers. *Journal of Environmental Science and Technology*, 22(3), pp.110-117.
  13. Wang, Y., Bradford, S.A., Šimůnek, J. 2013 Transport and fate of microorganisms in soils with preferential flow under different solution chemistry conditions. *Water resources research* 49, 2424-2436.
  14. Connie R., Mahon, Donald C., Lehman, George Manuselis. 2011 .Textbook of diagnostic microbiology, Chapter 1, page 14.
  15. Ehyayi, M. 1997. Description of Soil Chemical Analysis Methods, Vol. 2, No. 1024, Water and Soil Research Institute. (In Persian)
  16. Li, Q., Yang, Z.-h., Chai, L.-y., Wang, B., Xiong, S., Liao, Y.-p., Zhang, S.-j. (2013) Optimization of Cr (VI) bioremediation in contaminated soil using indigenous bacteria. *Journal of Central South University* 20, 480-487.
  17. Akhavan, S., Ebrahimi, S., Navabian, M., Shabanpour, M., Mojtahedi, A, and Movahedi Naeini, A. 2018. Significance of physicochemical factors in the transmission of *Escherichia coli* and chloride. *Environ. Health eng. manag.*; 5 (2):115-122.
  18. Shirani, H., Shirvani, S., Sayyad, Gh. Jafarzadeh, AS. 2011. Effect of different salinity of water on leaching and bacterial movement in soil. Third National Conference on Irrigation and Drainage Management. Ahvaz Chamran martyr of Ahvaz University. (In Persian)
  - transport from surface-applied manure to subsurface drains through artificial biopores. *J. Environ. Qual.* 38(6): 2412-2421.
  4. Hassanpour Darvishi, H, 2010. Investigating the effect of saline water on quantitative and qualitative traits of seeds in the medicinal plant. *Journal of Agronomy and Plant Breeding*. 6 (2): 13-20. (In Persian)
  5. Abyar, N and Kiani, A.S. 2008. An Investigation on the Economic Application of Saline Water in Golestan Province Milking Fields. *Journal of Economics and Agriculture*. 1 (3): 12-1. (In Persian)
  6. Heidarnejad, S. And rancor, uh 2015. Effect of salinity stress on some growth characteristics and ion accumulation in Ashanan plant. *Journal of Ecosystem of the Desert*. 3 (4): 1-10. (In Persian)
  7. Kim, k. Owens and G. Nasido, R. 2009. Heavy metal distribution, bioaccessibility, and phytoavailability in long-term contaminated soils from Lake Macquarie, Australia. 47(2):115-129.
  8. Wang, Y., Bradford, S.A., Šimůnek, J. (2013) Transport and fate of microorganisms in soils with preferential flow under different solution chemistry conditions. *Water resources research* 49, 2424-2436..
  9. Wang, Y., Bradford, S. A., and Šimůnek, J. 2014. Physicochemical Factors Influencing the Preferential Transport of *Escherichia coli* in Soils. *Gsvadzone*. 13:1-10.
  10. Unc, A., and Goss, M. J. 2003. Movement of faecal bacteria through the vadose zone. *Water, Air, and Soil Pollution* 149:1-4. 327-337.
  11. Fallah, M., S. Ebrahimi, and M. Shabanpour. 2013. Hydrocarbon pollution emission in the pilot and pulse condition

- and Water Resources Conservation, 5(1), pp.55-66.
22. Akhavan, S., Ebrahimi, S., Navabian, M., Shabanpour, M., Movahedi, A. and Mojtahedi, A. 2019. Investigating the adsorption and filtration indices of bacterial coli transport in the preferential flow system. Journal of Agricultural Engineering Soil Science and Agricultural Mechanization, (Scientific Journal of Agriculture), 42(1), 1-12.
23. Fallah, M., Shabanpor, M., Zakerinia, M. and Ebrahimi, S., 2015. Risk assessment of gas oil and kerosene contamination on some properties of silty clay soil. Environmental monitoring and assessment, 187(7), pp.1-13.
19. Safadost, A., Mahbubi, A.A., Mossadeghi, M.R., Khodkarmajian, Gh., Heydari, AS. 2012. Movement of Escherichia coli bacteria in soil columns under different flow conditions and temperatures. Journal of Water and Soil Science, Science and Technology of Agriculture and Natural Resources 15, 183-197. (In Persian)
20. Kaboli, A., Ebrahimi, S. and Davari, M. 2019. Pilot study of soil electrical conductivity, acidity, N and Ni parameters in AQ-Qala landfill leachate in soil columns with different texture, J. of Water and Soil Conservation, Vol. 26(1), 255-260. DOI: 10.22069/jwsc.2019.11939.264.
21. Fazlali, S., Ebrahimi, S., Zakerinia, M. and Movahedi Naeini, S. A., 2015. Monitoring of the Transfer of Kerosene and Water through the Light Soil Contains Montmorillonite Nanoclay. Journal of Soil