

## سرنوشت باکتری‌های گرم - منفی آزاد شده از کودهای آلی مختلف در دو خاک استان همدان

ستار زندسلیمی، محمد رضا مصدقی\* و علی اکبر محبوبی<sup>۱</sup>

(تاریخ دریافت: ۱۳۸۶/۴/۱۰؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۷/۲/۲۴)

## چکیده

کودهای آلی منبع ریزجانداران بیماری‌زا می‌باشند که می‌توانند سلامتی انسان را به خطر اندازند. در این پژوهش، اثر نوع خاک و کود بر سرنوشت باکتری‌های آزاد شده از کودهای آلی در حین آبشویی ستون‌های خاک-کود بررسی شد. کودهای گاوی و مرغی و لجن فاضلاب به مقدار ۱۰ تن در هکتار به سطح ستون‌های دست‌نخورده دو خاک با بافت لوم رسی شنی و شن لومی اضافه شد. آبشویی ستون‌های خاک-تیمار شده با کود با شدت جریان غیراشباع و ماندگار ۴/۸ سانتی‌متر در ساعت تا چهار برابر حجم آب منفذی (PV) انجام شد. غلظت باکتری‌های گرم - منفی آب ورودی و زه‌آب ستون‌های خاک در کسرهای مختلف PV اندازه‌گیری شد. غلظت متوسط ورودی، غلظت متوسط خروجی، درصد پالایش نسبی باکتری، درصد باکتری انتقال یافته در طول زمان آبشویی محاسبه شد. در سطح آماری ۵ درصد اختلاف معنی‌داری بین کود مرغی و دو تیمار کودی دیگر از نظر میانگین غلظت باکتری آزاد شده از تیمارهای کودی وجود داشت. ساختمان پایدار و مسیرهای ترجیحی باعث هدایت بیشتر باکتری در ستون‌های خاک لوم رسی شنی شد. به دلیل ساختمان ضعیف و پیوستگی کم منافذ در خاک شن لومی میزان پالایش باکتری ۱/۴۵ برابر خاک لوم رسی شنی بود. کود مرغی آلودگی نسبی بیشتری در زه‌آب ایجاد کرد. قدرت یونی کم سوسپانسیون لجن فاضلاب سبب پالایش کمتر باکتری آزاد شده از این کود شد. بالا بودن کربن آلی محلول در کود گاوی باعث شد تا انتقال باکتری در ستون‌های خاک تیمار شده با آن ۱/۱۲ برابر کود مرغی شود. به طور کلی در استفاده از کودهای دامی، به ویژه کود مرغی خانگی که منبع مهمی از باکتری‌های آلوده کننده محیط زیست هستند، مدیریت کود اهمیت ویژه‌ای دارد. همچنین بافت و ساختمان خاک بر سرنوشت باکتری‌های آزاد شده از کودهای آلی مؤثرند.

واژه‌های کلیدی: انتقال نسبی، پالایش نسبی، ساختمان خاک، کود گاوی، کود مرغی، لجن فاضلاب

## مقدمه

سالمونلا (*Salmonella*)، شیگلا (*Shigella*)، کامپیلوباکتر (*Campylobacter*) و پروتوزوئرهاى خطرناکی همچون کریپتواسپوریدیوم (*Cryptosporidium*) و ژiardیا (*Giardia*) اشاره کرد (۶، ۱۱ و ۲۴). پس از پخش کود دامی در سطح خاک، باکتری‌های بیماری‌زا از سطح ذرات کود آزاد شده، با آبیاری و بارندگی در خاک نفوذ کرده و خود را به آب‌های زیرزمینی می‌رسانند (۲۸).

در کشاورزی فشرده امروزی مقادیر زیادی فضولات دامی تولید می‌شود که در زمین‌های کشاورزی به عنوان کود مصرف می‌گردند. در این فضولات مقادیر زیادی باکتری بیماری‌زا برای انسان وجود دارد. از باکتری‌های بیماری‌زای موجود در فضولات دامی می‌توان به کلیفرم‌های مدفوعی (*Faecal coliforms*) مانند: اشریشیاکولی (*Escherichia coli*).

۱. به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، استادیار و استاد خاک‌شناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان

\*: مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: [mosaddeghi@basu.ac.ir](mailto:mosaddeghi@basu.ac.ir)

در سال‌های اخیر وجود باکتری‌های بیماری‌زا در سیستم آب شهری و به ویژه روستایی به اثبات رسیده است. منشأ بیشتر این آلودگی‌ها، کودهای آلی می‌باشد که توسط کشاورزان روی زمین‌های کشاورزی استفاده می‌شود. هانتز و همکاران (۹) روان‌آب سطحی و زه‌آب یک زمین کود داده شده و یک زمین کود داده نشده را مورد تجزیه میکروبی قرار دادند. نتایج نشان داد که فراوانی باکتری‌های بیماری‌زا در آب سطحی و زه‌آب زمین کود داده شده خیلی بیشتر از زمین کود داده نشده بود.

برخی از پژوهشگران معتقدند که حرکت باکتری‌ها به لایه‌های سطحی خاک محدود می‌باشد در حالی که در برخی شرایط، باکتری‌های بیماری‌زا قادرند به فاصله زیادی انتقال یابند. وجود جریان‌های ترجیحی (Preferential flows) در خاک، مسیر انتقال باکتری‌ها را هموار می‌کند. پژوهش‌ها نشان می‌دهد در خاک‌های دارای مسیرهای جریان ترجیحی، باکتری‌های بیماری‌زا می‌توانند به اعماق نفوذ کنند (۱۱). انتقال باکتری‌های بیماری‌زا به ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی محیط، کود دامی و مشخصه‌های یاخته باکتری بستگی دارد. سرنوشت و بقاء باکتری‌ها در خاک از سه حالت خارج نیست: باکتری‌های بیماری‌زا تحت تأثیر عوامل محیطی، جذب خاک می‌شوند، یا انتقال پیدا می‌کنند و یا این‌که می‌میرند (۲۴).

شدت آلودگی منابع آب به توانایی باکتری‌ها برای زنده ماندن در محیط نیز بستگی دارد. جذب و نگه‌داری باکتری‌ها در خاک به ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک، مشخصه‌های الکتروشیمیایی سطح یاخته باکتری، شکل ظاهری آنها و ویژگی‌های کود بستگی دارد (۲۴). زنده‌مانی باکتری‌ها در خاک به روش افزودن کود به خاک، نوع کود (مایع یا جامد)، فعالیت‌های بیولوژیک خاک، دمای محیط، مقدار یا پتانسیل آب در خاک و فراهمی عناصر غذایی در محیط بستگی دارد (۲۴). یکی از راه‌کارهای ممانعت از حرکت باکتری‌ها در خاک، جذب آنها روی سطح ذرات و به دام افتادن آنها در منافذ خاک است (۱۵، ۲۰ و ۲۱). اسیدیته، مقدار آب، مقدار مواد آلی، قدرت یونی، ترکیب محلول خاک، بافت و توزیع اندازه ذرات،

نفوذپذیری، دما، هدایت هیدرولیکی و نوع کانی‌های خاک بر جذب و حرکت باکتری‌ها مؤثرند (۲۸). علاوه بر این، جذب باکتری‌ها روی سطح ذرات خاک به ویژگی‌های یاخته باکتری مانند بار سطحی آن، وجود پلی‌ساکاریدها در سطح یاخته، سطح ویژه یاخته و وجود پرز و تاژک بستگی دارد (۲۵).

باکتری‌ها به خاطر وجود پلی‌ساکاریدها در سطح خود دارای بار الکتریکی منفی هستند که می‌توانند روی ذرات با بار مثبت جذب یا این‌که توسط ذرات با بار منفی دفع شوند. برهم‌کنش بین باکتری و ذرات خاک به واسطه نیروهای واندروال و الکترواستاتیک صورت می‌گیرد. این نیروها در انتقال و جذب باکتری‌ها نقش زیادی دارند (۱۷). از طرف دیگر به دلیل ناپیوستگی منافذ و وجود منافذ انتها- بسته (Dead-end pores) در خاک، باکتری‌ها می‌توانند در منافذ خاک حبس شده و انتقال پیدا نکنند. حبس و به دام افتادن باکتری‌ها که پالایش فیزیکی (Physical filtering) نام دارد، به اندازه منافذ، بافت خاک، سرعت جریان آب و اندازه یاخته باکتری بستگی دارد (۲۰). در صورتی که میانگین اندازه یاخته باکتری‌ها، حداقل ۵ درصد بزرگتر از اندازه ذرات خاک باشد، منافذ خاک می‌توانند در حبس و نگه‌داری باکتری‌ها و کاهش آبشویی آنها نقش مهمی داشته باشند (۲۸).

سرنوشت باکتری‌های بیماری‌زای موجود در کودهای دامی یک مسأله بسیار پیچیده می‌باشد به طوری که در مورد آن پژوهش‌های اندکی انجام شده است (۱۱). لاندی و ولف (۱۳) گزارش کردند که نتایج گوناگون پژوهش‌های انجام شده در مورد سرنوشت باکتری‌های بیماری‌زای موجود در فضولات دامی باعث شده است که هنوز روش‌های مدیریت جامعی در مورد به کارگیری آنها توصیه و اعمال نشود.

در ایران موارد متعددی از آلوده شدن آب‌های زیرزمینی و آب‌های شرب به باکتری‌های بیماری‌زای کودهای دامی مشاهده شده است. در تیرماه سال ۱۳۸۳ آلوده شدن آب‌های زیرزمینی یک روستا در استان چهارمحال و بختیاری سبب شد تا اکثر ساکنین آن روستا بیمار شوند. تجزیه آب چاه‌های آن منطقه

جدول ۱. ویژگی‌های فیزیکی خاک‌های مورد بررسی\*

لايه خاک (cm)	BD (Mg m <sup>-3</sup> )	Micro P ..... (% v/v).....	Macro P	MWD (mm)	K <sub>s</sub> ..... (cm h <sup>-1</sup> ).....
.....خاک لوم رسی شنی.....					
۰ - ۲۵	۱/۱۲	۱۶/۵	۴۱/۵	۳/۸۷	۳۹/۵
۲۵ - ۵۰	۱/۱۴	۱۵/۵	۴۰/۵	۳/۶۷	۳۹/۵
.....خاک شن لومی.....					
۰ - ۲۵	۱/۴۷	۱۴/۵	۲۷/۵	۲/۵۳	۷۰/۶
۲۵ - ۵۰	۱/۴۴	۱۴/۰	۳۲/۰	۲/۱۳	۷۰/۶

\* BD = چگالی ظاهری، Macro P = تخلخل درشت، Micro P = تخلخل ریز، MWD = میانگین وزنی قطر خاکدانه‌ها و K<sub>s</sub> = ضریب آبگذری اشباع

برداشت شدند (به طوری که لایه‌های رویین و زیرین خاک را شامل می‌شدند). نمونه‌برداری به صورت دست‌نخورده و دست‌خورده جهت اندازه‌گیری ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک از لایه‌های ۰-۲۵ و ۲۵-۵۰ سانتی‌متری نیز انجام شد. برای برداشت نمونه‌های دست‌نخورده از سیلندرهایی به قطر داخلی ۵۰ میلی‌متر و ارتفاع ۷۵ میلی‌متر استفاده شد.

چگالی ظاهری خاک به روش استوانه‌های نمونه‌برداری (۴)، چگالی حقیقی خاک به روش پیکنومتر و تخلخل کل خاک با داشتن چگالی ظاهری و چگالی حقیقی خاک محاسبه شد. بخش‌بندی منافذ به دو بخش ریز (Microporosity) و درشت (Macroporosity) با فرض اندازه منفذی ۳۰ μm به عنوان حد بین اندازه منافذ درشت و ریز انجام شد. میانگین وزنی قطر (MWD) خاکدانه‌ها با روش الک تر (Wet sieving) (۲۶) و ضریب آبگذری اشباع خاک به روش بار ثابت اندازه‌گیری گردید. در جدول ۱ برخی از ویژگی‌های فیزیکی خاک‌های مورد آزمایش آورده شده است.

ویژگی‌های شیمیایی خاک شامل pH به وسیله دستگاه pH متر در گل اشباع (۲۲)، رسانایی الکتریکی (EC) با رسانایی سنج الکتریکی در نسبت ۱ به ۵ خاک به آب، درصد مواد خنثی شونده به روش اکسیداسیون برگشتی (۱۶)، درصد کربن آلی و درصد کربن آلی محلول به روش اکسیداسیون تر (۲۷)،

نشان داد که آب‌ها به باکتری اشریشیاکولی آلوده بوده و دلیل بیماری عفونت شدید روده و مجرای دفع ادرار، مصرف آب آلوده به این باکتری گزارش شد. در ایران پژوهشی در رابطه با حرکت باکتری‌های بیماری‌زای حاصل از کودهای آلی و عوامل مؤثر بر آن انجام نشده است. از این رو پژوهش حاضر با هدف بررسی اثر نوع خاک (بافت و ساختمان) و کود بر سرنوشت باکتری‌ها در ستون‌های خاک دست‌نخورده تحت شرایط جریان غیراشباع ماندگار در همدان انجام شد.

### مواد و روش‌ها

این پژوهش روی نمونه‌های دست‌نخورده دو نوع خاک با بافت لوم رسی شنی (درصد شن، سیلت و رس به ترتیب ۵۶، ۲۱ و ۲۳) و خاک شن لومی (درصد شن، سیلت و رس به ترتیب ۸۳/۵، ۸ و ۸/۵) در سه تکرار انجام شد.

### نمونه‌برداری خاک و استقرار ستون‌های آبشویی

نمونه‌گیری خاک دست‌نخورده با استفاده از سیلندرهای فلزی از جنس آهن گالوانیزه به قطر داخلی ۱۶ سانتی‌متر و ارتفاع ۳۲ سانتی‌متر صورت گرفت. قبل از نمونه‌گیری محل نمونه‌برداری چندین بار آبیاری شد. نمونه‌ها شامل ستون‌های خاک به ارتفاع ۲۵ سانتی‌متر بوده که از لایه ۱۵ تا ۴۵ سانتی‌متری خاک

جدول ۲. ویژگی‌های شیمیایی خاک‌های مورد بررسی\*

Ca <sup>++</sup>	Mg <sup>++</sup>	Na <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	CEC	DOC	OC	TNV	SAR	pH	EC	I	لایه خاک
..... (mg l <sup>-1</sup> ).....				(cmol kg <sup>-1</sup> )	..... (% w/w).....					(dSm <sup>-1</sup> )	(mmol l <sup>-1</sup> )	(cm)
..... خاک لوم رسی شنی .....												
۷۲	۲۸/۸	۹/۸	۱۰/۵	۱۸/۱	۰/۰۹	۰/۸۹	۱۹/۵	۰/۲۵	۷/۵	۰/۱۸	۱۱/۷	۰ - ۲۵
۴۸	۱۴/۴	۱۲/۱	۲۲/۸	۱۶/۳۸	۰/۰۹	۱/۰۷	۲۲/۵	۰/۴	۷/۵	۰/۱۷	۱۱/۱	۲۵ - ۵۰
..... خاک شن لومی .....												
۴۸	۱۴/۴	۳/۸	۶	۱۲/۰۷	۰/۳۶	۰/۸۲	۴/۰	۰/۱۳	۷/۴	۰/۱۱	۷/۱۵	۰ - ۲۵
۴۸	۲۸/۸	۴/۲	۶/۵	۸/۵۷	۰/۳۶	۰/۷۹	۴/۰	۰/۱۲	۷/۶	۰/۱۳	۸/۴۵	۲۵ - ۵۰

\* I = قدرت یونی محلول (I=0.013 EC<sub>(1:1)</sub>)، EC = رسانایی الکتریکی، pH = اسیدیته گل اشباع، SAR = نسبت جذب سدیم، TNV = مواد خنثی شونده (آهک)، OC = کربن آلی، DOC = کربن آلی محلول، CEC = گنجایش تبادل کاتیونی، K<sup>+</sup>، Na<sup>+</sup>، Mg<sup>++</sup> و Ca<sup>++</sup> = کاتیون‌های محلول.

جدول ۳. ویژگی‌های فیزیکی خاک‌ها در شرایط جریان غیراشباع ماندگار\*

PV (cm <sup>3</sup> )	V <sub>t</sub> (cm <sup>3</sup> )	$\bar{v}$ (cm h <sup>-1</sup> )	q (cm h <sup>-1</sup> )	$\tau$ (kPa)	$\Theta_v$ (% v/v)	خاک
۱۷۲۰	۵۰۲۵	۰/۱۴	۴/۸	۶	۳۴/۲	لوم رسی شنی
۱۵۵۷	۵۰۲۵	۰/۱۵	۴/۸	۴	۳۱/۱	شن لومی

\*  $\Theta_v$  = رطوبت حجمی،  $\tau$  = مکش لازم در انتهای ستون خاک برای ایجاد شرایط جریان غیراشباع ماندگار، q = شدت جریان آب در ستون‌های خاک، V<sub>t</sub> = حجم ستون‌های خاک،  $\bar{v}$  = سرعت ظاهری منفذی (سرعت نیوتنی) که برابر  $\frac{q}{\theta}$  می‌باشد و PV = حجم آب منفذی

جریان غیراشباع ماندگار اعمال شده بر ستون‌های خاک آورده شده است.

#### تیمارهای کودی

کودهای آلی مورد استفاده در این پژوهش شامل کود گاوی، کود مرغی و لجن فاضلاب بود که به میزان ۱۰ تن در هکتار بر اساس وزن خشک، روی سطح ستون‌های خاک پخش گردید. کود گاوی از دامداری‌های سنتی، کود مرغی از فضولات مرغ‌های خانگی و لجن فاضلاب از تصفیه‌خانه فاضلاب شهرستان قروه تهیه شد. تصفیه فاضلاب در این تصفیه‌خانه، به روش ته‌نشینی با استفاده از حوضچه‌های متوالی انجام شده و هیچ‌گونه عمل کلرزنی و تثبیت در آن صورت نمی‌گیرد.

گنجایش تبادل کاتیونی به روش استات آمونیوم، پتاسیم و سدیم محلول خاک در نسبت ۱ به ۵ خاک به آب به وسیله دستگاه فلیم فتومتر (۱۶) و کلسیم و منیزیم محلول در نسبت ۱ به ۵ خاک به آب به وسیله تیتراسیون با EDTA (۱۶) اندازه‌گیری گردید. در جدول ۲ برخی ویژگی‌های شیمیایی خاک‌ها نشان شده است.

آزمایش‌های آبخوبی در شرایط جریان غیراشباع ماندگار انجام شد. ستون‌های خاک با شدت جریان ۴/۸ cm h<sup>-1</sup> (برابر ۰/۱۲ ضریب آبگذری اشباع خاک ریزبافت)، با آب شهر آبیاری گردید. برای جلوگیری از اشباع شدن ته ستون‌های خاک و ایجاد جریان ماندگار، به کمک پمپ خلاء، مکشی به انتهای ستون‌های خاک اعمال شد. در جدول ۳ ویژگی‌های

جدول ۴. ویژگی‌های کودهای مورد استفاده

تیمار کود	I (mmol l <sup>-1</sup> )	EC (dSm <sup>-1</sup> )	pH	SAR	Θ <sub>m</sub>	OM (% w/w)	DOC	K <sup>+</sup>	Na <sup>+</sup>	Mg <sup>++</sup>	Ca <sup>++</sup>
کود گاوی	۷۸۰	۳/۰	۸/۴	۲/۵	۸/۱	۷۷/۷	۵/۴	۴۰۰۰	۱۴۴/۶	۵۷/۶	۱۶۸
کود مرغی	۵۴۶	۲/۱	۷/۰	۱/۲۶	۷/۷	۷۶/۴	۳/۶	۱۹۵۰	۱۲۸/۹	۴۳/۲	۷۲۰
لجن فاضلاب	۶۷/۶	۰/۲۶	۷/۷	۰/۰۷	۶/۸	۲۴/۶	۰/۷۲	۷/۸	۴/۳۶	۱۰۰/۸	۹۶

شده برای ۱۸ تا ۲۴ ساعت در محیط رشد (انکوباتور) با دمای °C ۳۷ قرار داده شد. سپس غلظت باکتری‌های گرم منفی (C) در آب خروجی محاسبه و با واحد CFU ml<sup>-1</sup> (Colony Forming Unit) بیان شد.

جهت اندازه‌گیری غلظت باکتری‌های ورودی (C<sub>0</sub>) به ستون‌های خاک، آبشویی کود به طور مستقل انجام شد. در حجم‌های آب منفذی مشابه، از عصاره خروجی کود نمونه‌گیری شده و به روش یاد شده غلظت کل باکتری‌های ورودی (C<sub>0</sub>) نیز بر حسب CFU ml<sup>-1</sup> محاسبه شد.

در این پژوهش از روش شمارش پلیت (Plate count) یا شمارش زنده برای اندازه‌گیری غلظت باکتری‌ها استفاده شد (۱). با تهیه غلظت‌های مناسبی از سوسپانسیون باکتری و پخش آن روی محیط EMB، تعداد کلونی‌های پدید آمده روی محیط کشت را پس از ۲۴ ساعت نگه‌داری در محیط رشد (دمای °C ۳۷) شمارش و تعداد یاخته‌های زنده محلول مشخص شد.

#### تجزیه و تحلیل داده‌ها

در این پژوهش طرح آزمایش طرح فاکتوریل در قالب بلوک‌های کامل تصادفی با ۳ تکرار بود (۲). متغیرهای مورد بررسی میانگین‌های غلظت و ورودی (C<sub>0av</sub>) و خروجی (C<sub>av</sub>)، درصد پالایش نسبی باکتری (S<sub>R</sub>) و درصد نسبی باکتری‌های انتقال یافته (Tr) بود. داده‌های به‌دست آمده بوسیله نرم افزار آماری SAS تجزیه شده، و مقایسه‌های میانگین به روش LSD صورت گرفت.

نمونه‌های کود پس از هوا-خشک شدن، از الک ۵ میلی‌متری عبور داده شدند تا نمونه یک‌نواختی از آنها تهیه گردد. برای جلوگیری از خشک شدن و تغییر جمعیت میکروبی، کودها در یک ظرف در پوشیده قرار گرفته و در یخچال نگه‌داری شدند. در جدول ۴ برخی ویژگی‌های شیمیایی کودها آورده شده است. به جز ماده آلی که به روش کوره اندازه‌گیری گردید بقیه ویژگی‌های شیمیایی تیمارهای کود شبیه به خاک اندازه‌گیری شد، با این تفاوت که از نسبت ۱ به ۲۰ کود به آب استفاده گردید.

#### آزمایش‌های آبشویی

پس از حاکم شدن شرایط جریان غیراشباع ماندگار، تیمارهای کودی به سطح ستون‌های خاک اضافه شده و بلافاصله آزمایش‌های آبشویی شروع شد. عمل شستشوی ستون‌های خاک تیمار شده با کود تا حجم آب خروجی برابر با چهار حجم آب منفذی (PV) ادامه یافت. حجم آب منفذی عبارت است از حجمی از منافذ خاک که به وسیله آب پر شده است (۱۲). نمونه‌گیری (۵ میلی‌لیتر) از زه‌آب ستون‌های خاک به وسیله سرنگ استریل در مسیر جریان آب انجام شد. نمونه‌گیری در کسرهای ۰/۱، ۰/۲، ۰/۳، ۰/۴، ۰/۶، ۰/۸، ۱/۰، ۱/۳، ۱/۶، ۱/۹، ۲/۲، ۳/۰، ۳/۵ و ۴ حجم آب منفذی انجام گرفت. ۰/۱ میلی‌لیتر از محلول رقیق شده درون پلیت‌های دارای محیط کشت EMB (Eozin Methylene Blue) کشت گردید. روی این محیط تنها باکتری‌های گرم منفی رشد می‌کنند. پلیت کشت

جدول ۵. منابع تغییر و اثر آنها بر میانگین غلظت ورودی ( $C_{0av}$ )، میانگین غلظت خروجی ( $C_{av}$ )، درصد پالایش باکتری ( $S_R$ ) و درصد انتقال باکتری ( $T_R$ ) در ستون‌های خاک

نسبت F				درجه آزادی	منبع تغییر
$T_R$	$S_R$	$C_{av}$	$C_{0av}$		
۳۸۳/۰۴**	۳۸۳/۰۴**	۳۱۷/۶۴**	-	۲	خاک (S)
۲/۶۷	۲/۶۷	۱۰۰/۶۹**	۵۳/۳۹**	۴	کود (M)
۰/۱۴۱۴	۰/۱۴۱۴	۲۲۸/۲**	-	۴	S×M

\*\* نشان دهنده اثر معنی‌دار در سطح آماری ۱ درصد می‌باشد.

درصد باکتری انتقال یافته ( $T_R$ ) عبارت است از درصدی از باکتری‌ها که در طول آزمایش آیشویی از ستون‌های خاک خارج و وارد زه‌آب می‌شوند. برای محاسبه  $T_R$ ، سطح زیر منحنی‌های رخنه ( $C-C_b$ ) به سطح زیر منحنی ورودی باکتری تقسیم گردید:

$$T_R = \frac{\int_0^{V_{max}} (C - C_b) dV}{\int_0^{V_{max}} C_0 dV} \times 100 \quad [۴]$$

### نتایج و بحث

در جدول ۵ تجزیه واریانس اثر تیمارهای خاک و کود و هم‌چنین اثر متقابل خاک × کود بر متوسط غلظت ورودی ( $C_{av0}$ ) و خروجی ( $C_{av}$ )، درصد پالایش باکتری ( $S_R$ ) و درصد انتقال باکتری ( $T_R$ ) در ستون‌های خاک آورده شده است. نوع کود در سطح آماری یک درصد اثر معنی‌داری بر غلظت متوسط ورودی باکتری داشت. غلظت متوسط خروجی باکتری تحت تأثیر تمام تیمارهای مورد بررسی قرار گرفت ( $P < 0/01$ ). تنها تیمار مؤثر بر درصد انتقال و پالایش باکتری نوع خاک بود، که بیانگر اثر قابل توجه نوع خاک بر پالایش و انتقال باکتری است. به نظر می‌رسد پالایش و انتقال باکتری در ستون‌های خاک مستقل از ویژگی‌های منبع باکتری است.

### غلظت متوسط باکتری ورودی

غلظت باکتری در کود دامی به مقدار زیادی بستگی به نوع

برای محاسبه میانگین غلظت ورودی ( $C_{0av}$ ) به سطح خاک، سطح زیر منحنی غلظت ورودی (منحنی  $C_0$  در برابر حجم آب خروجی) اندازه‌گیری و بر کل حجم آب خروجی تقسیم گردید:

$$C_{0av} = \frac{\int_0^{V_{max}} (C_0) dV}{V_{max}} \quad [۱]$$

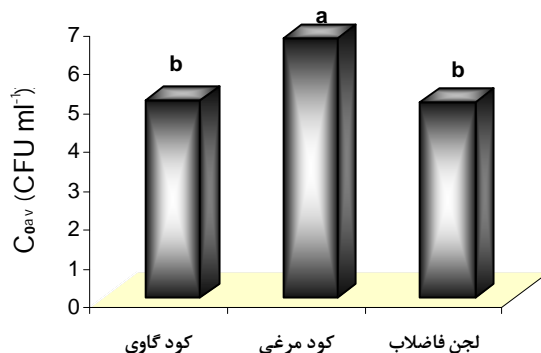
میانگین غلظت خروجی ( $C_{av}$ ) از ستون خاک، از طریق محاسبه اختلاف بین سطح زیر منحنی رخنه ( Breakthrough curve) و سطح زیر منحنی تیمار شاهد (ستون خاک بدون کود) و تقسیم حاصل آن بر کل حجم آب خروجی به دست آمد:

$$C_{av} = \frac{\int_0^{V_{max}} (C - C_b) dV}{V_{max}} \quad [۲]$$

که در این معادله‌ها  $V_{max}$  کل حجم آب خروجی در طول آزمایش آیشویی بر حسب ml و  $C_b$  میانگین غلظت باکتری در زه‌آب تیمار شاهد (ستون خاک بدون کود) می‌باشند.

اختلاف بین میانگین غلظت باکتری ورودی به سطح خاک و میانگین غلظت باکتری خروجی ( $C-C_b$ ) از ستون خاک، برابر مقدار باکتری است که در خاک تحت تأثیر فرایندهای جذب و گیر افتادن قرار گرفته است. سطح بین منحنی ورودی ( $C_0$ ) و منحنی رخنه ( $C-C_b$ ) بر سطح زیر منحنی ورودی تقسیم شد تا درصد باکتری پالایش یافته ( $S_R$ ) در طول ستون خاک محاسبه شود:

$$S_R = \frac{\int_0^{V_{max}} [C_0 - (C - C_b)] dV}{\int_0^{V_{max}} C_0 dV} \times 100 \quad [۳]$$



شکل ۱. لگاریتم میانگین غلظت (C<sub>0av</sub>) باکتری‌های آزاد شده از کودهای آلی مورد بررسی

جدول ۶. مقایسه میانگین اثر تیمارهای خاک و کود بر میانگین غلظت خروجی (C<sub>av</sub>) باکتری (CFU ml<sup>-1</sup> × ۱۰<sup>۳</sup>) از ستون‌های خاک

$\bar{X}$	لجن فاضلاب	کود مرغی	کود گاوی	کود	
				لوم رسی شنی	شکل ۱
۱۰۴۷	۵۹/۴۷	۳۰۰۱	۸۰/۳۲	لوم رسی شنی	
۵۶۵/۲	۶۴/۱۱	۱۵۸۲	۴۹/۸۸	شکل لومی	
	۶۱/۷۹	۲۲۹۱	۶۵/۱۰		$\bar{X}$
	۱۴۹/۲ = S × M	۷۱۱/۷ = (M) کود	۲۰۵/۴ = (S) خاک		LSD (۰/۰۵)

ترکیبات کربن آلی قابل تجزیه در فضولات مرغ می‌تواند در رشد و تکثیر باکتری‌ها مؤثر باشد. در کود گاوی مقادیر زیادی کاه و کلش با ترکیبات غیرقابل تجزیه مانند لیگنین و سلولز وجود دارد که مکان مناسبی برای فعالیت باکتری‌ها نمی‌باشد. همچنین لجن فاضلاب ماده آبی، رقیق و بی‌هوازی است، که محیط مناسبی برای رشد و تکثیر باکتری‌های گرم - منفی هوازی نمی‌باشد.

#### غلظت متوسط باکتری خروجی

اثر تیمارهای خاک و کود و اثر متقابل خاک × کود بر غلظت متوسط باکتری خروجی از ستون‌های خاک معنی‌دار بود (P < ۰/۰۱). در سطح آماری ۵ درصد اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای خاک از نظر میانگین غلظت باکتری خروجی دیده شد (جدول ۶). میانگین غلظت باکتری در زه‌آب ستون خاک لوم رسی شنی و شن لومی به ترتیب ۱۰۴۷ و ۵۶۵/۲ باکتری در یک هزارم میلی‌لیتر زه‌آب بود (جدول ۶).

حیوان، روش نگهداری کود و میزان تجزیه آن پیش از افزودن به خاک دارد (۱۱). در شکل ۱ میانگین غلظت باکتری آزاد شده از تیمارهای کودی آورده شده است. در سطح آماری ۵ درصد اختلاف معنی‌داری بین کود مرغی و دو تیمار کودی دیگر از نظر میانگین غلظت باکتری آزاد شده از تیمارهای کودی مشاهده شد (LSD (۰/۰۵) = ۱۳۱۲/۰). ولی بین کود گاوی و لجن فاضلاب اختلاف معنی‌داری دیده نشد. غلظت متوسط باکتری آزاد شده از کود مرغی، کود گاوی و لجن فاضلاب در طول زمان آیشویی به ترتیب ۴۳۴۲، ۱۲۴/۴ و ۱۰۴/۳ باکتری در یک هزارم میلی‌لیتر سوسپانسیون خروجی از کود بود (شکل ۱). میزان باکتری آزاد شده از کود مرغی ۴۱/۷ برابر لجن فاضلاب و ۳۵ برابر کود گاوی بود که با نتایج پژوهش‌های کران و همکاران (۵) و یونک (۲۳) هم‌آهنگی داشت. این پژوهش‌گران میزان کلیفرم مدفوعی بیشتری در یک گرم کود مرغی نسبت به کود گاوی و لجن فاضلاب اندازه گرفتند. به نظر می‌رسد کود مرغی مکان مناسبی برای رشد و تکثیر باکتری‌ها باشد. وجود مقادیر زیاد

جدول ۷: مقایسه میانگین اثر تیمارهای خاک و کود بر درصد پالایش باکتری ( $S_R$ ) و درصد انتقال باکتری ( $T_R$ ) در ستون‌های خاک

کود خاک	کود گاوی	کود مرغی	لجن فاضلاب	$\bar{X}$
..... $S_R$ .....				
لوم رسی شنی	۴۱/۰	۴۳/۹	۳۸/۲	۴۱/۰
شن لومی	۵۵/۷	۵۲/۶	۴۳/۰	۵۰/۴
$\bar{X}$	۴۸/۳۵	۴۸/۲۵	۴۰/۶	
..... $T_R$ .....				
لوم رسی شنی	۵۹/۰	۵۶/۱	۶۱/۸	۵۹/۰
شن لومی	۴۴/۳	۴۷/۴	۵۷/۰	۴۹/۶
$\bar{X}$	۵۱/۶۵	۵۱/۷۵	۵۹/۴	
LSD (۰/۰۵)	خاک (S)=۵/۵	کود (M)=۲/۲	S × M=۳/۴۵	

خروجی مشاهده شد ( $LSD(0/05)=711/7$ ). ولی بین کود گاوی و لجن فاضلاب این اختلاف معنی‌دار نشد. بالا بودن غلظت متوسط باکتری خروجی از ستون‌های خاک تیمار شده با کود مرغی احتمالاً به خاطر میزان زیاد باکتری آزاد شده از این کود است.

#### درصد پالایش و انتقال باکتری

سرنوشت باکتری‌ها پس از وارد شدن به خاک از دو حالت خارج نیست. با فرض برابر بودن میزان مرگ و میر و تکثیر باکتری‌ها، باکتری‌ها ممکن است تحت تأثیر سطوح جذب و منافذ ریز قرار گرفته پالایش شوند و یا این‌که در محلول خاک باقی مانده همراه جریان آب در خاک نفوذ کرده و خود را به آب‌های زیرزمینی برسانند. در جدول ۷ مقایسه میانگین اثر تیمارهای خاک و کود بر درصد پالایش و انتقال باکتری‌های آزاد شده از تیمارهای کود در ستون‌های خاک آورده شده است. با وجود این‌که میزان سطوح جذب (درصد رس و ماده آلی) در خاک لوم رسی شنی نسبت به خاک شن لومی بیشتر بود (جدول ۲) ولی باکتری کمتری در این خاک پالایش شدند. به طور میانگین در خاک لوم رسی شنی ۴۱/۰۱ درصد کل باکتری‌های آزاد شده از کود در خاک گیر افتاده و پالایش شده و ۵۸/۹۹ درصد آنها در خاک انتقال یافته و

شدت آلودگی زه‌آب در خاک لوم رسی شنی ۱/۸۵ برابر خاک شن لومی بود. وجود منافذ درشت و پیوستگی این منافذ در خاک لوم رسی شنی حرکت باکتری را سرعت بخشیده و آلودگی زه‌آب را افزایش داده است. بالا بودن غلظت متوسط باکتری خروجی در خاک لوم رسی شنی را می‌توان به وجود درز و ترک و منافذ درشت‌تر در این خاک نسبت داد که معمولاً بر اثر تر و خشک شدن و یخ زدگی و آب شدن متوالی در فرایند ساختمان‌سازی به وجود می‌آیند. پژوهش‌ها نشان داده است که عامل اصلی انتقال باکتری‌ها وجود منافذ درشت با پیوستگی زیاد می‌باشد (۱۱). نتایج این پژوهش وجود جریان ماکروپوری (جریان ترجیحی) با توجه به بالا بودن درصد منافذ درشت در خاک لوم رسی شنی را نشان داد (جدول ۱).

نوع کود نیز مانند نوع خاک تأثیر معنی‌داری بر غلظت متوسط باکتری زه‌آب داشت ( $P < 0/01$ ). نسبت میانگین غلظت باکتری خروجی از ستون‌های خاک تیمار شده با کود مرغی، کود گاوی و لجن فاضلاب به ترتیب ۳۷/۱:۱/۰۵:۱ بود. یعنی میزان آلودگی ناشی از کود مرغی ۳۷/۱ برابر لجن فاضلاب و ۳۵/۲ برابر کود گاوی بود (جدول ۶). کود مرغی اثر بیشتری بر آلودگی زه‌آب داشت. به طوری که اختلاف معنی‌داری بین کود مرغی و دو تیمار کودی دیگر از نظر میانگین غلظت باکتری



زه‌کشی دو خاک لوم شنی و لوم سیلتی (تیمار شده با کود گاوی) را در مزرعه بررسی کردند. نتایج نشان داد که میزان آلودگی آب زه‌کشی خاک لوم سیلتی (با وجود درصد رس بیشتر) زیادتر از خاک لوم شنی بود.

از عوامل دیگری که بر میزان پالایش باکتری مؤثر می‌باشد، ویژگی‌های منبع باکتری است. کودهای آلی دارای ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی متفاوتی هستند، از این رو اثر آنها بر ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مؤثر بر جذب و انتقال باکتری چشم‌گیر است. میانگین درصد جذب و پالایش باکتری ستون‌های خاک تیمار شده با کود گاوی < کود مرغی < لجن فاضلاب برابر  $48/35 < 48/25 < 40/59$  درصد بود (جدول ۷). ولی در سطح آماری ۵ درصد، بین تیمارهای کودی از نظر میانگین پالایش و انتقال باکتری در ستون‌های خاک اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. میزان پالایش باکتری در ستون‌های خاک تیمار شده با کود گاوی و کود مرغی، نسبت به لجن فاضلاب بیشتر بود. در سوسپانسیون کود گاوی و کود مرغی نسبت به لجن فاضلاب، مواد آلی (OM) و کربن آلی محلول (DOC) بیشتری اندازه‌گیری شد (جدول ۴). سطح این ذرات مکان‌های مناسبی برای جذب باکتری بوده پالایش آن را آسان‌تر می‌کند (۷). از جمله ویژگی‌های کود که تأثیر زیادی بر پالایش و انتقال باکتری دارد، قدرت یونی سوسپانسیون کود است. افزودن الکترولیتی مانند سوسپانسیون کود به خاک سبب افزایش قدرت یونی محلول خاک و فشرده شدن لایه پخشیده دوگانه (Diffuse double layer, DDL) اطراف ذرات خاک می‌شود. این عمل سبب نزدیک شدن میکروپ به سطح ذرات و غلبه نیروهای واندروال برای جذب باکتری می‌شود (۱۴). بنابراین انتظار می‌رود که با افزایش قدرت یونی سوسپانسیون کود، میزان پالایش باکتری در خاک افزایش یابد. قدرت یونی بالاتر سوسپانسیون کودهای گاوی و مرغی نسبت به لجن فاضلاب سبب پالایش بیشتر باکتری در ستون‌های خاک تیمار شده با کودهای گاوی و مرغی شده است. به طوری که میزان باکتری کمتری در این ستون‌های خاک نسبت به ستون‌های

وارد زه‌آب شدند. درصد پالایش باکتری در خاک شن لومی نسبت به خاک لوم رسی شنی بیشتر بود. به طوری که در طول آزمایش آبشویی حدود  $50/44$  درصد از کل باکتری‌های وارد شده به سطح خاک شن لومی، پالایش شده و تنها  $49/56$  درصد آن وارد زه‌آب شده است. میزان پالایش باکتری در خاک شن لومی  $1/23$  برابر خاک لوم رسی شنی بود که در سطح آماری ۵ درصد این اختلاف معنی‌دار بود ( $LSD (0/05) = 5/6$ ). نتایج پژوهش‌های هاگدورن و همکاران (۸)، بنگسون و همکاران (۳)، تان و همکاران (۲۱)، هایسمن و ورس‌تریت (۱۰) و لو و همکاران (۱۵) در مقایسه با این پژوهش متفاوت بود. این دانشمندان با پژوهش روی نمونه‌های خاک دست‌خورده دریافتند که با افزایش درصد رس خاک، میزان پالایش باکتری بیشتر شده و باکتری کمتری انتقال یافت. شاید هماهنگ نبودن نتایج پژوهش‌های مذکور با نتایج این پژوهش به دلیل تفاوت بین ویژگی‌های ساختمانی و پیوستگی منافذ بین دو خاک دست‌نخورده و دست‌خورده باشد. اسمیت و همکاران (۱۹) گزارش کردند که در خاک‌های دست‌نخورده و ساختمان‌دار، عامل اصلی انتقال باکتری وجود جریان‌های ترجیحی در اثر پیوستگی منافذ درشت است. بالا بودن درصد رس و آهک، مواد آلی، رسانایی الکتریکی و غلظت کاتیون‌های محلول در خاک لوم رسی شنی نسبت به خاک شن لومی (جدول ۲)، خاکدانه‌سازی و پایداری ساختمان آن را افزایش داده است. به همین دلیل درصد منافذ درشت خاک لوم رسی شنی بیشتر بود (جدول ۱). احتمالاً در این خاک، درز و ترک‌های بین واحدهای ساختمانی، پایدار و پیوستگی زیادی دارند که سبب ایجاد جریان‌های ترجیحی در طول ستون‌های آن شده است.

در خاک شن لومی، پایداری ساختمان (MWD) کمتر بوده (جدول ۱)، که در نتیجه آن منافذ درشت خاک پیوستگی کمتری دارند. به عبارت دیگر اعوجاج منافذ (Pore tortuosity) در این خاک بیشتر است. این امر سبب تأخیر در جابه‌جایی باکتری شده و انتقال آن را کاهش داده است که با نتایج پژوهش‌های یونک و گوس (۲۵) هم‌آهنگی داشت. این پژوهشگران شدت آلودگی آب

شن لومی بود. حضور منافذ درشت و پیوستگی این منافذ و در نهایت وجود جریان‌های ترجیحی در ستون‌های خاک لوم رسی شنی حرکت باکتری را سرعت بخشیده و آلودگی زه‌آب را افزایش داده است.

۳. درصد پالایش باکتری در ستون‌های خاک تیمار شده با کود مرغی و گاوی، به علت تراکم بیشتر باکتری در ورودی و بسته شدن منافذ خاک، بیشتر بود. در حالی که درصد باکتری انتقال یافته در ستون‌های خاک تیمار شده با لجن فاضلاب، به علت قدرت یونی پایین سوسپانسیون باکتری، بیشتر بود.

### سپاسگزاری

بر خود لازم می‌دانیم از گروه خاکشناسی دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی‌سینا همدان و گروه میکروبیولوژی و بهداشت محیط دانشگاه علوم پزشکی کردستان به خاطر همکاری بی‌دریغشان در انجام این پژوهش و دست‌اندرکاران صندوق حمایت از پژوهشگران کشور (طرح شماره ۱۸۴۱۴۷) به دلیل تأمین هزینه این پژوهش تشکر کنیم.

تیمار شده با لجن فاضلاب انتقال یافت. پایین بودن قدرت یونی سوسپانسیون لجن فاضلاب و تراکم کم باکتری در آن سبب می‌شود تا سرعت جریان سوسپانسیون باکتری در ستون‌های خاک تیمار شده با لجن فاضلاب افزایش یافته، باکتری بیشتری انتقال یابد و درصد باکتری کمتری پالایش شود. این نتایج با یافته‌های تان و همکاران (۲۱) هم‌آهنگی داشت. نتایج پژوهش‌های این محقق روی ستون‌های شن با استفاده از سوسپانسیون باکتری با قدرت یونی متفاوت نشان داد که انتقال باکتری در ستون‌های شن به میزان زیادی رابطه عکس با قدرت یونی سوسپانسیون باکتری دارد به طوری که با افزایش قدرت یونی سوسپانسیون باکتری، میزان باکتری کمتری انتقال یافت.

### نتیجه‌گیری

۱. میانگین غلظت ورودی به ستون‌های خاک در تیمار کود مرغی به علت وجود مقادیر زیاد ترکیبات کربن آلی قابل تجزیه، نسبت به تیمارهای کودی دیگر زیاد بوده و اثر آن در آلودگی زه‌آب ستون‌های خاک بیشتر بود.
۲. شدت آلودگی زه‌آب خاک لوم رسی شنی بیشتر از خاک

### منابع مورد استفاده

۱. نوروزی، ج. ۱۳۸۲. روش‌های کاربردی در شناسایی باکتری‌ها. چاپ اول، مؤسسه فرهنگی انتشاراتی حیان، تهران.
۲. ولی‌زاده، م. و م. مقدم. ۱۳۸۰. طرح‌های آزمایشی در کشاورزی. چاپ ششم، انتشارات پریور، تبریز.
3. Bengtsson, G., R. Lindqvist and M. D. Piwoni. 1993. Sorption of trace organics to colloidal clays, polymers, and bacteria. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 57: 1261-1270.
4. Black, G. R. 1986. Bulk density. PP. 374-380. In: Klute, A. (Ed.), *Methods of Soil Analysis. Part 1. Physical and Mineralogical Methods*. ASA/SSSA, Madison WI.
5. Crane, S. R., J. A. Moore, M. E. Grismer and J. R. Miner. 1983. Bacterial pollution from agricultural sources: A review. *Trans. ASAE* 26: 858-866.
6. Collure, S., R. Comtie, A. Robertson, C. Rose and N. Shadbolt. 2002. Human health risks associated with manure. [http://wvlc.uwaterloo.ca/Biology447/Assignment3 Submissions/44702ass3/topic9/example1.htm](http://wvlc.uwaterloo.ca/Biology447/Assignment3%20Submissions/44702ass3/topic9/example1.htm).
7. Guber, A. K., Y. A. Pachepsky, E. V. Shein, D. R. Shelton, L. M. Polyanskaya and B. A. Devin. 2004. Facilitated manure bacteria transport in soil columns. *Geophys. Res. Abst.* Vol. 6, 05042.
8. Hagedorn, C., D. T. Hansen and G. H. Simonson. 1978. Survival and movement of fecal indicator bacteria in soil under conditions of saturated flow. *J. Environ. Qual.* 7: 55-59.
9. Hunter, C., J. Perkins, J. Tranter and P. Hardwick. 2000. Fecal bacteria in the waters of an upland area in Derbyshire, England: The influence of agricultural land use. *J. Environ. Qual.* 29: 1253-1261.
10. Huysman, F. and W. Verstraete. 1992. Water-facilitated transport of bacteria in unsaturated soil columns: Influence of inoculation and irrigation methods. *Soil Biol. Biochem.* 25: 91-97.
11. 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.
12. Kirkham, M. B. 2005. *Principles of Soil and Plant Water Relations*. Elsevier Academic Press., USA.
  13. Landry, M. S. and M. L. Wolfe. 1999. Fecal bacteria contamination of surface waters associated with land application of animal waste. ASAE Paper No. 994024, St. Joseph, MI.
  14. Lindqvist, R. and G. Bengtsson. 1991. Dispersal dynamics of groundwater bacteria. *Microbiol. Ecol.* 21: 49-72.
  15. Lo, K. W., Y. C. Jin and T. Viraraghavan. 2002. Transport of bacteria in heterogeneous media under leaching conditions. *Environ. Eng. Sci.* 1: 383-395.
  16. Marshall, K. C. 1985. Mechanisms of bacterial adhesion at solid-water interfaces. PP. 133-162. *In: Savage, D. C. and M. Fletcher. (Eds.) Bacterial Adhesion: Mechanisms and Physiological Significance*. Plenum Press, NY.
  17. Reddy, K. R., R. Khaleel and M. R. Overcash. 1981. Behavior and transport of microbial pathogens and indicator organisms in soils treated with organic wastes. *J. Environ. Qual.* 10: 255-266.
  18. Schafer, A., P. Ustohal, H. Harms, F. Stauffer, T. Dracos and A. J. Zehnder. 1995. Transport of bacteria in unsaturated porous media. *J. Contamin. Hydrol.* 33: 149-169.
  19. Smith, M. S., G. W. Thomas, R. E. White and D. Ritonga. 1985. Transport of *Escherichia coli* through intact and disturbed soil columns. *J. Environ. Qual.* 14: 87-91.
  20. Stevik, T. K., G. Auslend, J. Hanssen and P. D. Jenssen. 1999. The influence of physical and chemical factors on the transport of *E. coli* through biological filters for wastewater purification. *Water Res.* 18: 3701-3706.
  21. Tan, Y., W. J. Bond and D. M. Griffin. 1992. Transport of bacteria during unsteady unsaturated soil water flow. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 56: 1331-1340.
  22. Thomas, G. W. 1996. Soil pH and soil acidity. PP. 475-490. *In: Sparks, D. L. (Ed.), Methods of Soil Analysis. Part 3, Chemical Methods*. Madison, Wisconsin, USA.
  23. Unc, A. 1999. Transport of faecal bacteria from manure through the vadose zone. MSc. Thesis, University of Guelph, Guelph, Ont., Canada.
  24. Unc, A. and M. J. Goss. 2003. Movement of faecal bacteria through the vadose zone. *Water Air Soil Pollut.* 149: 327-337.
  25. Unc A. and M. J. Goss. 2004. Transport of bacteria from manure and protection of water resources. *Appl. Soil Ecol.* 25: 1-18.
  26. Yoder, R. E. 1936. A direct method of aggregate analysis and study of physical nature of erosion losses. *J. Am. Soc. Agron.* 28: 337-351.
  27. 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.
  28. Wasserman, E. and A. R. Felmy. 1998. Computation of the electrical double layer properties of semipermeable membranes in multicomponent electrolytes. *Appl. Environ. Microbiol.* 64: 2295-2300.