نشریه علوم آب و خاک
سال بیست و هفتم / شماره اول / بهار ۱۴۰۲ / مقاله علمی- پژوهشی: صفحات ۲۶۱ تا ۲۷۳

تأثیر شوری و اندازه ذرات کود گاوی بر توزیع و انتقال آلودگی باکتریایی در خاک شنی

مهرنوش دهقانیان[1*]، سید حسن طباطبایی[1]، حسین شیرانی[2] و فرزانه نیکوخواه[3]

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۳/۲۶ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۹/۱۶)

چکیده

در کشاورزی پایدار برای بهره‌وری بیشتر از کودهای گاوی که منبع غنی از باکتری بیماری‌زای ایکولای (E-Coli) است، استفاده می‌شود. هدف از این پژوهش بررسی اثر همزمان دانه‌بندی کودگاوی و شوری آب آبیاری، بر نگهداشت باکتری ایکولای در اعماق ستون شن به ارتفاع ۱۰سانتی‌متر تحت جریان اشباع است. برای این منظور چهار دانه‌بندی مختلف از کود گاوی (۲-۱، ۱- ۰/۵، ۰/۵- ۰/۲۵ و کوچکتر از ۰/۲۵< میلی‌متر) به سطح ستون شن به مقیاس ۳۰ تن در هکتار اضافه شد، سپس آبشویی با شوری‌های مختلف (۰، ۰/۵، ۲/۵، ۵ و ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر) تا ۱۰ حجم منفذی انجام گرفت، سپس از اعماق ۰، ۳، ۶ و ۱۲ سانتی‌متری عمق خاک نمونه‌برداری شد. تعداد باکتری‌های موجود در هر نمونه با روش شمارش زنده مشخص شد. نتایج نشان داد اثر تمام منابع تغییر و همچنین اثرات متقابل آنها بر نگهداشت باکتری در خاک در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود. شوری بر نگهداشت باکتری اثر منفی داشت، به‌ترتیب بیشترین و کمترین مقدار غلظت نسبی باکتری(حاصل تقسیم تعداد باکتری در هر عمق خاک به تعداد اولیه باکتری در تیمار کود مورد نظر) در تیمارهای شوری ۰ و ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر بود. همچنین، با کم‌شدن اندازه ذرات کود گاوی، به‌دلیل افزایش آبگریزی و مسدودسازی منافذ ترجیحی، نگهداشت باکتری در تمامی اعماق مورد بررسی خاک کاهش یافت. به‌ترتیب بیشترین و کمترین نگهداشت باکتری در خاک در بزرگترین تیمار دانه‌بندی (۲-۱ میلی‌متر) و کوچکترین دانه‌بندی (کمتر از ۰/۲۵ میلی‌متر) بود. به علاوه بیشترین غلظت نسبی باکتری در خاک مربوط به عمق ۳-۰ سانتی‌متری بود و در سایر اعماق اختلاف معنی‌داری دیده نمی‌شد.

واژه‌های کلیدی: آبگریزی، باکتری ایکولای E-Coli، دانه‌بندی کود گاوی، منحنی نگهداشت باکتری در خاک

۱. گروه مهندسی آب، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد
۲. گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ولی عصر رفسنجان
۳. گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی و علوم زمین، دانشگاه شهرکرد
*: مسئول مکاتبات: پست الکترونیکی: Dehghanian71@gmail.com

مقدمه

استفاده از کود گاوی به‌عنوان بهبود دهنده خاک در کشاورزی یک اقدام معمول بوده که هم مقرون‌به‌صرفه است و هم یک روش مدیریت کارآمد برای بازیافت مواد مغذی از پسماندهای جانوری است (۲۹). در کود گاوی مقادیر بالایی میکروب‌های بیماری‌زا برای انسان وجود دارد، از باکتری‌های بیماری‌زای موجود در فضولات دامی می‌توان به ایکولای (E-Coli)، کلیفرم‌های مدفوعی (Fecal Coliforms)، سالمونلا (Salmonella)، شیگلا (Shigella)، کامپیلوباکتر (Campylobacter) و پرتوزاهای پرخطری مثل کریپتواسپوردیوم (Cryptosporidium) و ژیاردیا (Giardia) اشاره کرد (۴۱). کودهای توزیع شده روی سطح خاک منبع اصلی آلودگی باکتریایی هستند زیرا سلول های باکتری در اثر بارندگی و رویدادهای آبیاری آزاد می‌شوند و وارد آب‌های سطحی و زیرزمینی می‌شوند (۱۲ و ۳۴). باکتری‌های منتشر شده از کود می‌تواند در رواناب به‌صورت سلول آزاد، یا سلول متصل به ذرات خاک و یا سلول متصل به ذرات کود انتقال یابند (۱۵). انتقال ریزجانداران بیماری‌زا از طریق کود در جریان‌های آب زمینی یکی از دلایل مهم آلودگی منابع آب است (۲۲ و ۳۲). آزمایش‌های پایش کیفیت آب به دنبال تعیین وجود ریزجاندارانی است که نشان‌دهنده آلودگی مدفوعی هستند. ایکولای شایع‌ترین این شاخص‌ها است (۴۰). شوری آب آبیاری یکی از عوامل مهمی است که می‌تواند منجر به جذب و پالایش باکتری ایکولای در خاک شود (۳۸). بسیاری از مطالعات نشان داده‌اند که شوری باعث کاهش فعالیت میکروبی، زیست‌توده میکروبی و تغییر ساختار جامعه میکروبی می‌شود (۴ و ۲۴). افزایش شوری باعث افزایش ضریب تأخیر منحنی رخنه باکتری می‌شود. همچنین، با افزایش شوری بیشینه و مقدار باکتری انتقال‌یافته کاهش می‌یابد (۴۱). اندازه ذرات و منافذ، نوع کانی خاک و خصوصیات شیمیایی محلول خاک (اسیدیته و قدرت یونی) از جمله عوامل تأثیرگذار بر جذب و انتقال باکتری در خاک است (۳ و ۴۲). همچنین، آبگریزی سطح ذرات باکتری از عوامل مهم بر حرکت باکتری‌های بیماری‌زا در خاک است (۱۳). آبگریزی سبب نگهداشت بیشتر ذرات کلوییدی با بار منفی در خاک می‌شود. نگهداشت باکتری در خاک به وضوح تحت تأثیر اندازه ذرات کود است (۳۷)، به‌طوری که هر چه اندازه ذرات کود گاوی کوچکتر باشد مقدار نگهداشت باکتری در خاک بیشتر می‌شود (۳۹). به‌طور کلی جریان آب در خاک اثر مهمی بر سرنوشت باکتری‌ها در این محیط متخلخل دارد. به‌طوری که افزایش مقدار آب خاک و سرعت زیاد جریان آب سبب افزایش آبشویی باکتری می‌شود. یافته‌های اخیر نشان می‌دهد که انتقال باکتری در شرایط اشباع نسبت به شرایط غیر اشباع در خاک بیشتر است (۱۱). به‌علاوه باکتری‌های موجود در کود می‌تواند به سطوح کلوییدی کود و خاک جذب شود. این فرایند، انتقال و حرکت باکتری‌ها را به‌دلیل انتقال بهتر و راحت‌تر ذرات کلوییدی، تسهیل می‌کند، البته ذرات کلوییدی ممکن است به‌دلیل مسدودکردن منافذ ریز خاک باعث محبوس‌شدن باکتری‌ها در نیمرخ خاک شود (۹). انتقال باکتری در خاک، به عوامل پیچیده فیزیکی، شیمیایی و زیستی نیز بستگی دارد. از جمله عوامل فیزیکی و شیمیایی، سرعت جریان آب، مقدار رطوبت، توزیع اندازه ذرات و منافذ، نوع کانی خاک و خصوصیات شیمیایی محلول خاک (اسیدیته و قدرت یونی) است (۷ و ۴۲). پژوهش‌های بسیاری برای درک بهتر اثر عوامل فیزیکی، شیمیایی و زیستی که انتقال و سرنوشت باکتری را در منابع آب و خاک کنترل می‌کند، صورت گرفته است (۴۱،۳۷،۳۱ و ۳۰). با وجود این پژوهش‌ها سازوکار و ماهیت به‌هم‌پیوسته این عوامل که نگهداشت و انتقال باکتری را در محیط متخلخل کنترل می‌کند، به‌طور کامل شناخته نشده است. هدف از این پژوهش بررسی اثر شوری در سطوح مختلف و اندازه ذرات کود گاوی بر چگونگی حرکت باکتری ایکولای در خاک و میزان آلودگی اعماق خاک به این آلاینده میکروبی است.

مواد روش‌ها

مشخصات خاک و ستون‌ها

این پژوهش به‌صورت آزمایشگاهی داخل ستون در آزمایشگاه آبیاری دانشکده کشاورزی دانشگاه شهرکرد در سال ۱۴۰۰-۱۳۹۹ اجرا شد. خاک مورد استفاده خاکی با بافت شنی و مواد آلی ناچیز بود که پس از هواخشک‌شدن، از الک ۲ میلی‌متری عبور داده و برای میکروب‌زدایی در اتوکلاو گذاشته شد. ستون آزمایش قسمتی از لوله پلی‌اتیلن با قطر داخلی ۵۰ میلی‌متر و ارتفاع ۱۲۰ میلی‌متر بود (۳۷) که با اسید کلریدریک رقیق میکروب‌زدایی و برای جلوگیری از ایجاد جریان‌های ترجیحی سطح داخلی ستون با پارافین مایع روغن‌کاری شد. ستون‌های خاک به مدت دو روز از کف اشباع شد (۳۷). برخی از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مانند: بافت خاک به روش هیدرومتری (۵)، جرم مخصوص ظاهری به روش استوانه‌های نمونه بردار (۶)، جرم مخصوص حقیقی به روش پیکنومتر (۶)، اسیدیته به کمک دستگاه pHسنج، هدایت هیدرولیکی اشباع به روش بار ثابت (۲۳) اندازه‌گیری شد که در جدول ۱ آمده است.

طرح آماری پژوهش

این آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شد. فاکتورها شامل شوری آب آبیاری در پنج سطح و اندازه ذرات کود گاوی در چهار سطح بود. تیمارهای شوری آب شامل ۰، ۰/۵، ۲/۵، ۵ و ۱۰ دسی‌زیمنس‌برمتر بوده که از آب شور طبیعی (تهیه شده از منابع آب شور طبیعی استان اصفهان با شوری بالا) استفاده شد. به‌منظور تنظیم شوری مورد نظر آب شور طبیعی با آب مقطر مخلوط شد و با دستگاه ECمتر، شوری مورد نظر قرائت شد.

آماده‌سازی تیمارهای کود و شوری

در این پژوهش از کود گاوی تازه به میزان ۳۰ تن در هکتار (بر اساس وزن خشک) به‌عنوان منبع باکتری استفاده شد (۳۷). کود گاوی مورد استفاده به‌صورت تازه تهیه شد و در دمای اتاق به مدت ۷۲ ساعت قرار گرفت تا به رطوبت ۲۰ تا ۳۰ درصد وزنی رسید، سپس کود خشک شده از الک‌های شماره ۱۰، ۱۸، ۳۵ و ۶۰ عبور داده شد و تیمارهای دانه‌بندی مورد نظر (<۰/۲۵، ۰/۵-۰/۲۵، ۱-۰/۵ و ۲-۱ میلی‌متر) به‌دست آمد (۳۹). برای جلوگیری از خشک‌شدن و تغییر جمعیت میکروبی کود، برای هر نوبت آزمایش کود مورد نظر از یک منبع مشخص جمع‌آوری و به‌صورت روزانه عملیات خشک‌شدن و دانه‌بندی کود انجام می‌گرفت. سپس وزن کود مورد نیاز برای هر تیمار با توجه به نسبت سطح ستون‌های آزمایش به یک هکتار و در مقیاس ۳۰ تن در هکتار (بر اساس وزن خشک) آماده و به ستون سطح ستون آزمایش اضافه شد. جدول ۲ تیمارهای پژوهش را به صورت خلاصه نشان می‌دهد. در این جدول S نشان‌دهنده تیمار شوری و D نشان‌دهنده تیمار دانه‌بندی است. تعداد کل تیمارهای مورد بررسی ۲۰ تیمار است که برای هر تیمار ۳ تکرار در نظر گرفته شد. در مجموع تعداد ۶۰ ستون خاک شنی برای این پژوهش استفاده شد. سپس تیمار دانه‌بندی مورد نظر به مقیاس مشخص (۳۰ تن در هکتار) به سطح ستون آزمایش اضافه شد.

برقراری جریان اشباع ماندگار و اجرای آزمایش

خاک مورد آزمایش دارای بافت شنی بود. برای برقراری جریان اشباع و ماندگار بار آبی به اندازه ۵ میلی‌متر روی سطح خاک قرار گرفت. برای این منظور کناره ستون خاک شکافی با فاصله ۵ میلی‌متر بالاتر از سطح خاک روی ستون ایجاد شد و با اتصالات سرم پزشکی به‌طور کامل میکروب‌زدایی شده جریان آب با شوری مورد نظر به‌صورت ماندگار و یکنواخت برقرار شد. سپس آبشویی هر ستون با تیمار شوری مربوطه به اندازه ۱۰ حجم منفذی انجام شد، بعد از اتمام فرایند آبشویی ستون مورد نظر روی سطح افقی به آرامی تخلیه شد و از اعماق ۰، ۳، ۶ و ۱۲ سانتی‌متری سطح خاک نمونه‌برداری صورت گرفت به این ترتیب که از عمق مورد نظر از مرکز و چهار طرف ستون

جدول ۱. برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد مطالعه

ویژگی	pH	شوری EC ($dS.m^{-1}$)	هدایت هیدرولیکی اشباع ($cm.h^{-1}$)	وزن مخصوص ظاهری ($g.cm^{-3}$)	وزن مخصوص حقیقی ($g.cm^{-3}$)	درصد ماده آلی	درصد کربنات کلسیم معادل
مقدار	۷/۸	۰/۹۷	۲/۵۳	۱/۲۷	۲/۲۸	۰/۴۵	۹/۸

جدول ۲. تیمارهای پژوهش

دانه‌بندی کودگاوی (mm)	نام‌گذاری دانه‌بندی	تیمارهای شوری($dS.m^{-1}$)				
		۰	۰/۵	۲/۵	۵	۱۰
۱-۲	D4	D4-S0	D4-S0.5	D4-S2.5	D4-S5	D4-S10
۰/۵-۱	D3	D3-S0	D3-S0.5	D3-S2.5	D3-S5	D3-S10
۰/۲۵-۰/۵	D2	D2-S0	D2-S0.5	D2-S2.5	D2-S5	D2-S10
<۰/۲۵	D1	D1-S0	D1-S0.5	D1-S2.5	D1-5	D1-S10

هر کدام یک نمونه یک گرمی برداشته و با هم مخلوط شد. سپس ۱ گرم از مخلوط آماده شده برداشته شد و کشت باکتری انجام گرفت.

کشت و شمارش باکتری

برای شناسایی باکتری ایکولای از محیط کشت EMB (Eosin Methylene Blue) آگار استفاده شد. ابتدا یک گرم از نمونه خاک را با ۹ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی استریل موجود در لوله آزمایش خوب مخلوط کرده و به این ترتیب رقت ۰/۱ به‌دست آمد و غلظت‌های مورد نظر بر حسب نمونه تهیه شد. برای یکنواختی بیشتر هر نمونه به مدت ۳۰ دقیقه در شیکر گذاشته شد (۱۴). در مرحله بعد ۰/۱ میلی‌لیتر از نمونه روی محیط EMB (پلیت) مربوط ریخته و باکتری به محیط کشت تلقیح شد. پس از بسته‌شدن محیط کشت، پلیت برگردانده و برای مدت زمان ۱۸ تا ۲۴ ساعت در محیط رشد (انکوباتور) با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد، پس از طی این مدت کلنی‌های ایجاد شده روی محیط کشت به روش شمارش مستقیم، شمارش شد، سپس تعداد کلونی‌های شمارش شده در هر پلیپ در عکس رقت ضرب شد و تعداد باکتری در تیمار مورد نظر به‌دست آمد (۲۶). در این مطالعه برای شمارش باکتری از روش شمارش زنده استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS و SPSS انجام گرفت. مقدار باکتری در اعماق مختلف خاک از کمیت غلظت نسبی که عبارت است از حاصل تقسیم تعداد باکتری در اعماق مختلف خاک بر تعداد باکتری در نمونه اولیه کود در همان دانه‌بندی، استفاده شد (۱).

$$C^*=C/C_0$$

C^*: غلظت نسبی باکتری در عمق مورد نظر (بدون واحد)

C: غلظت باکتری در عمق خاک ($CFU.mL^{-1}$)

C_0: غلظت اولیه باکتری در تیمار دانه‌بندی کود ($CFU.mL^{-1}$)

آزمایش آبگریزی

روش‌های مختلفی تشخیص کمّی و کیفی آبگریزی وجود دارد، از جمله آنها می‌توان به آزمون زمان نفوذ قطره آب (Water Drop Penetration Time (WDPT)) (۱۰)، اندازه‌گیری زاویه تماس آب با آزمون مولاریته اتانول (Molarity of Ethanol) Droplet (MED) (۳۵)، روش صعود

موئینگی ((Capillary Rise Method (CRM)) (۲۵) و روش قطره ثابت ((Sessile Drop Method (SDM)) اشاره کرد. پرکاربردترین روش در بررسی کمّیت و کیفیت آبگریزی خاک، آزمون زمان نفوذ قطره آب است. در آزمون زمان نفوذ قطره آب ابتدا قطره به‌آرامی روی سطح خاک قرار می‌گیرد و زمان نفوذ و یا زمان جذب قطره آب اندازه‌گیری می‌شود (۱۰). اگر خاک آبگریز باشد، قطره آب در خاک نفوذ نمی‌کند و مدت زمان مشخصی روی سطح خاک می‌ماند. این مدت زمان، زمان نفوذ قطره آب به خاک نام دارد. این روش شاخص کیفی بررسی آبگریزی سطوح است. جدول ۳ حد آبگریزی سطوح را بر اساس زمان نفوذ قطره آب نشان می‌دهد.

تحلیل داده‌ها

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS و SPSS انجام گرفت. تحلیل آماری بر داده‌های آزمایش شامل آنالیز واریانس و پس از آن آزمون مقایسه میانگین از روش، (Lowest Significant Deficit یا LSD) انجام شد.

نتایج و بحث

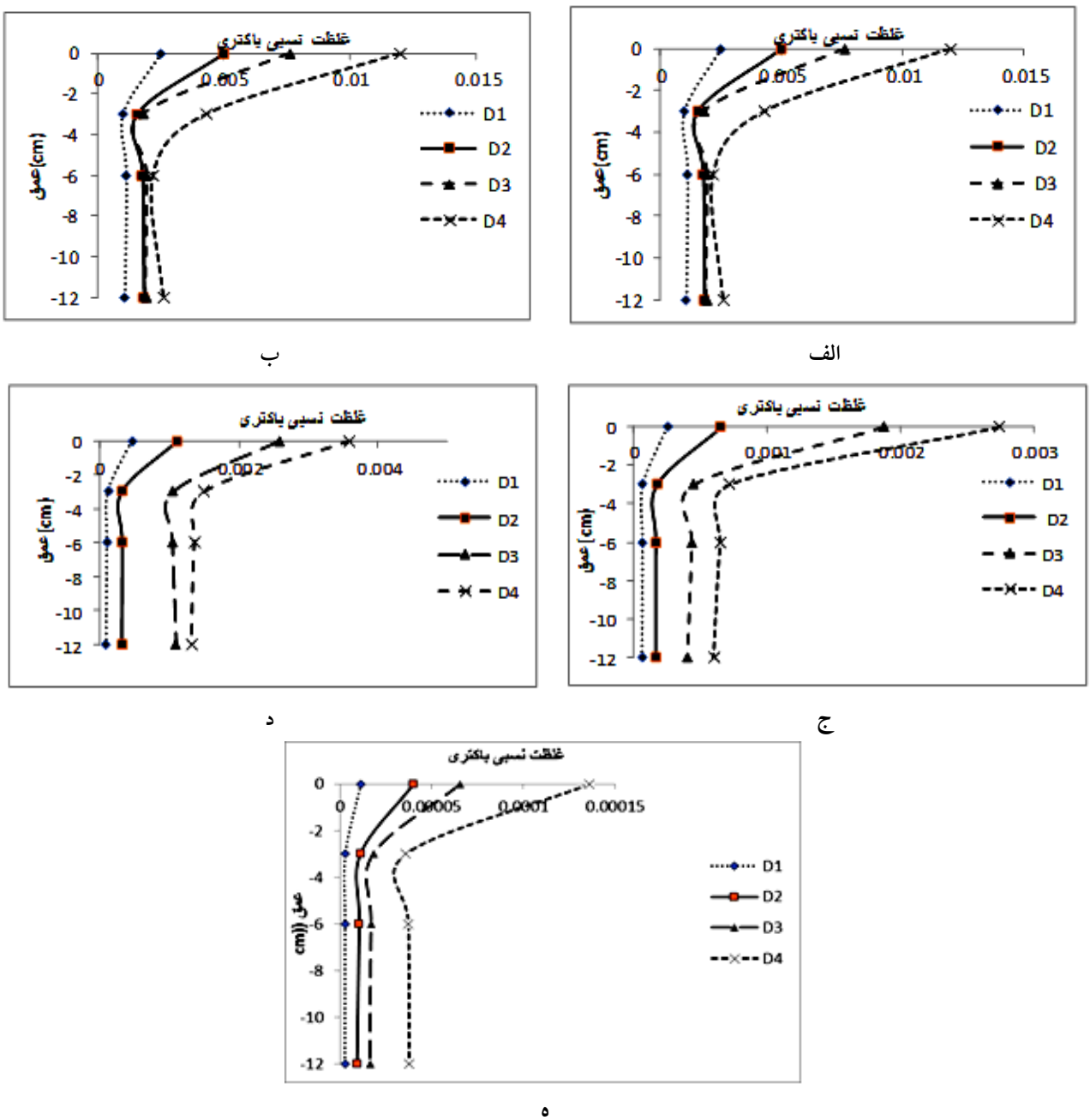
نتایج تحقیق نشان داد که دانه‌بندی کود گاوی، عمق خاک، شوری آب و اثرات متقابل آنها دارای اثر معنی‌دار در سطح ۵ درصد بود.

اثر دانه‌بندی کودگاوی بر نگهداشت باکتری در خاک

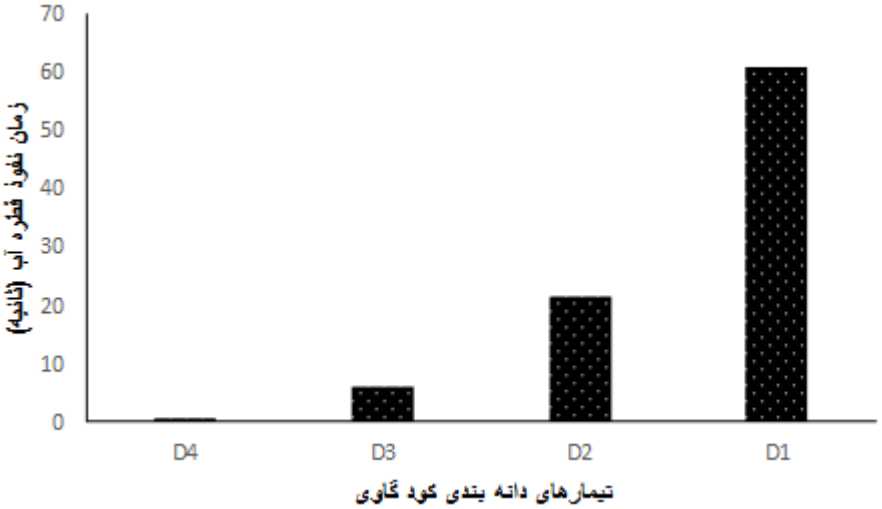
شکل۱ اثر دانه‌بندی ذرات کود گاوی بر نگهداشت باکتری در اعماق ۰، ۳، ۶ و ۱۲ سانتی‌متری سطح خاک نشان می‌دهد. در تمام شوری‌های مورد بررسی در عمق ۰ سانتی‌متری یا همان سطح خاک، به‌ترتیب بیشترین و کمترین مقدار غلظت نسبی باکتری، مربوط به تیمار دانه‌بندی D4 و D1 است. مقدار غلظت نسبی باکتری در سطح خاک به‌ترتیب D4>D3>D2>D1 است. به بیان دیگر با افزایش اندازه ذرات کود مقدار غلظت نسبی باکتری در سطح خاک افزایش می‌یابد .سایر نتایجی این شکل نشان می‌دهد که با بزرگ‌شدن اندازه دانه‌بندی کود، مقدار انتقال باکتری در اعماق مختلف خاک کاهش می‌یابد. به نظر می‌رسد که در دانه‌بندی‌های بزرگتر به‌دلیل کاهش آبگریزی آزادسازی باکتری از سطح کود بیشتر و در زمان کوتاه‌تری صورت می‌گیرد. به همین دلیل مقدار غلظت نسبی باکتری دردانه‌بندی درشت‌تر در تمام اعماق خاک نسبت به دانه‌بندی ریزتر بیشتر است. همین امر سبب می‌شود که آبشویی باکتری از سطح ذرات ریز کود که آبگریزی بیشتری دارند، کمتر شود و تعداد باکتری‌های کمتری از سطح ذرات کود آبشویی می‌شود در نتیجه با ریزترشدن ذرات کود مقدار باکتری انتقال‌یافته به اعماق خاک کاهش می‌یابد .با توجه به نتایج آزمایشات آبگریزی (شکل ۲) می‌توان دریافت که با کاهش اندازه ذرات کود گاوی آبگریزی افزایش می‌یابد و چون در خاک‌های آبگریز به‌دلیل ناپایداری جبهه رطوبتی (۱۷)، مقدار آب کمتری آن هم از طریق مسیرهای ترجیحی با سرعت بیشتر عبور می‌کند (۸)، در نتیجه مقدار باکتری کمتری نسبت به تیمارهایی که آبگریزی کمتری دارند را از خود عبور می‌دهد و درنهایت این امر سبب کاهش مقدار باکتری انتقال یافته چه به‌صورت باکتری آزادشده از ذرات کود و یا باکتری انتقال یافته به همراه ذرات کود می‌شد. علاوه بر آن آبگریزی سبب کاهش نفوذ آب (۱۱) و کاهش ذخیره آب و کاهش جریان‌های موئینگی در نیمرخ خاک (۳۶) می‌شود که این امر می‌تواند منجر به کاهش نفوذ آب به درون منبع باکتری (لایه کود سطح خاک) می‌شود و به‌علاوه انتقال باکتری از طریق حرکت توده‌ای را کاهش می‌دهد. همچنین، با ریزشدن ذرات کود انتقال آنها توسط جریان آب راحت‌تر و بیشتر صورت گرفته، در نتیجه ذرات کوچکتر با واردشدن با خلل و فرج ریز خاک سبب بسته‌شدن آنها می‌شود و تا حدود زیادی مسیرهای ترجیحی خاک که مسدود می‌کنند، به همین علت انتقال باکتری در تیمارهای ریزدانه نسبت به تیمارهای درشت دانه کمتر است (۳۷).

جدول ۳. سطوح مختلف آبگریزی بر اساس روش زمان نفوذ قطره آب (WDP) (۱۰).

درجه آبگریزی	بدون آبگریزی	آبگریزی جزیی	آبگریزی زیاد	آبگریزی شدید	آبگریزی خیلی شدید
زمان نفوذ قطره آب (WDPT) (ثانیه)	<۵	۵–۶۰	۶۰–۶۰۰	۶۰۰–۳۶۰۰	>۳۶۰۰



شکل ۱. اثر دانه‌بندی بر نگهداشت باکتری در خاک در شوری ثابت. تیمارهای دانه‌بندی عبارتند از **D1**: قطر ذرات کود کوچکتر از ۰/۲۵ میلی‌متر، **D2** : قطر ذرات کود، **D3**: قطر ذرات کود بین ۱–۰/۵ میلی‌متر و **D4**: قطر ذرات کود بین ۱ تا ۲ میلی‌متر. الف) شوری ۰ دسی زیمنس برمتر، ب) شوری ۰/۵ دسی زیمنس بر متر، ج) شوری ۲/۵ دسی زیمنس بر متر، د) شوری ۱۰ دسی زیمنس بر متر و ه) شوری ۱۰ دسی زیمنس بر متر. (رنگی در نسخه الکترونیکی)



شکل ۲. اثر اندازه ذرات کود گاوی بر آبگریزی تیمارهای دانه‌بندی عبارتند از: D1: قطر ذرات کود کوچکتر از۰/۲۵ میلی‌متر، D2: قطر ذرات کود بین ۰/۵-۰/۲۵ میلی‌متر، D3: قطر ذرات کود بین ۱-۰/۵ میلی‌متر و D4: قطر ذرات کود بین ۱ تا ۲ میلی‌متر

اثر دانه‌بندی ذرات بر آبگریزی کود گاوی

نتایج آنالیز واریانس نشان می‌دهد که اثر دانه‌بندی کود گاوی بر آبگریزی ذرات این کود در سطح ۵٪ معنی‌دار است. شکل ۱ نشان می‌دهد که هر چه ذرات کود گاوی کوچکتر می‌شود، آبگریزی آنها هم افزایش می‌یابد. با توجه به جدول ۴ بیشترین آبگریزی مربوط به تیمار دانه‌بندی D1 (قطر ذرات کود گاوی کوچکتر از ۰/۲۵ میلی‌متر) و کمترین آبگریزی مربوط به تیمار D4 (قطر ذرات کود بین ۱تا ۲ میلی‌متر) است. آزمایش‌های آبگریزی بر خاک مورد بررسی نشان داد که خاک بدون آبگریزی است.

همچنین، در پژوهشی برای کاهش آبگریزی خاک دو گروه بیوچار با اندازه ذرات درشت و اندازه ذرات ریز به خاک اضافه شد، نتایج نشان داد که ذرات ریزتر باعث کاهش بیشتر آبگریزی شد، علت این امر افزایش سطح جذب آب توسط بیوچار ریزتر عنوان شد (۱۶). بیشترین شدت آبگریزی مربوط به کوچکترین دانه‌بندی خاک است (۲۷). به علاوه بررسی‌هایی در زمینه مقایسه آبگریزی در سه خاک مختلف مزرعه ذرت، علفزار و جنگل در چهار دانه‌بندی ۱-۲، ۰/۵-۱، ۰/۲۵-۰/۵ و ۰/۲۵-۰/۰۵ میلی‌متر نشان می‌دهد که بیشترین مقدار آبگریزی در کوچکترین دانه‌بندی مشاهده شد (۳۳).

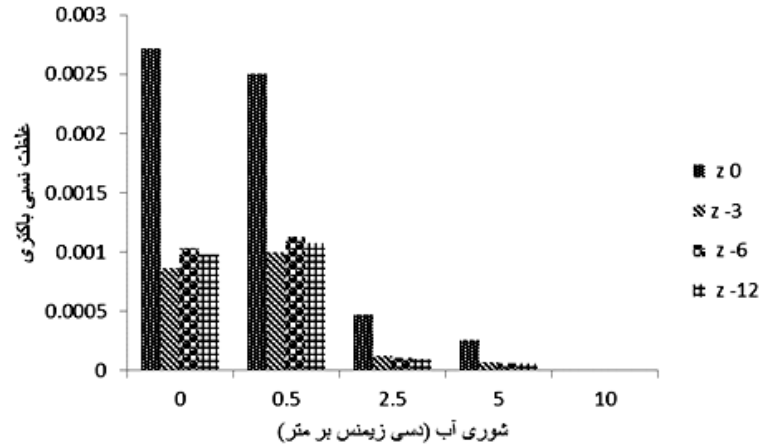
اثر شوری بر نگهداشت باکتری در خاک

شکل ۳ غلظت نسبی باکتری در نیمرخ خاک در یک دانه‌بندی مشخص در شوری‌های متفاوت نشان می‌دهد. با توجه به شکل در یک دانه‌بندی ثابت با افزایش شوری میزان غلظت نسبی باکتری کاهش می‌یابد. با توجه به نتایج جدول آنالیز واریانس و غلظت نسبی باکتری در شوری ۰/۰ و ۰/۵ دسی‌زیمنس بر متر اختلاف معنی‌داری ندارند و تقریباً مشابه هستند اما در سایر سطوح شوری اختلاف معنی‌داری مشاهده می‌شود. به‌ترتیب بیشترین و کمترین غلظت نسبی در تمامی تیمارهای دانه‌بندی مربوط به تیمار شوری ۰ و ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر بود. به‌عبارتی افزایش شوری سبب کاهش غلظت نسبی باکتری در یک دانه تیمار دانه‌بندی کود گاوی در تمامی اعماق مورد بررسی می‌شود. شوری آب آبیاری یکی از عوامل مهم در جذب و پالایش باکتری در خاک است. شوری به‌صورت معنی‌داری سبب کاهش غلظت باکتری در زه‌آب خروجی از خاک آلوده با کود دامی می‌شود (۳۸). شوری زیاد اثر منفی بر غلظت باکتری E-Coli دارد و باعث از بین رفتن این باکتری می‌شود. همچنین، شوری زیاد باعث بالارفتن قدرت یونی محلول خاک می‌شود، این فرایند سبب نزدیک‌شدن باکتری‌ها به سطح ذرات خاک و غلبه نیروهای

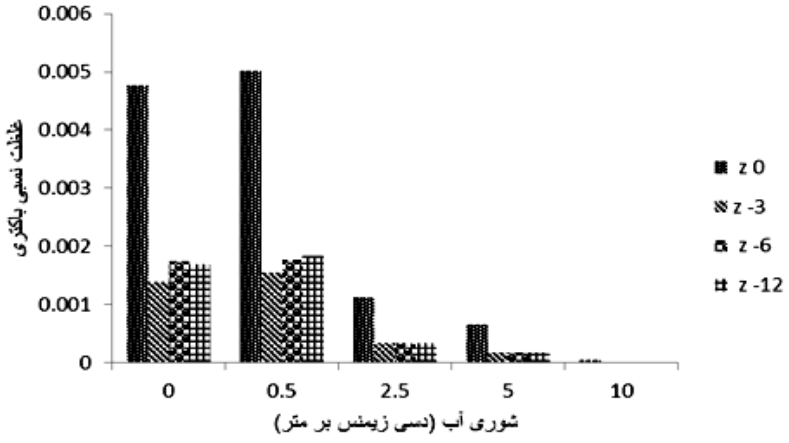
جدول ۴. آنالیز واریانس عوامل مورد آزمایش

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات	F
عمق	۳	$۸/۴۳۲\times۱۰^{-۵}$	۴۶۱۶/۴۱۵**
شوری	۴	۰/۰۰۰	۶۲۲۹/۴۱۷**
دانه‌بندی	۳	$۵/۰۶۳\times۱۰^{-۵}$	۲۷۷۴/۷۴۲**
عمق × شوری	۱۲	$۱/۵۸۷\times۱۰^{-۵}$	۸۶۹/۹۰۳**
عمق × دانه‌بندی	۹	$۱/۰۱۳\times۱۰^{-۵}$	۵۵۵/۰۸۴**
شوری × دانه‌بندی	۱۲	$۸/۰۱۹۰\times۱۰^{-۶}$	۴۳۹/۴۹۶**
عمق × شوری × دانه‌بندی	۳۶	$۲/۱۲۱\times۱۰^{-۶}$	۱۱۶/۲۶۸**

**معنی‌داری در سطح ۵٪

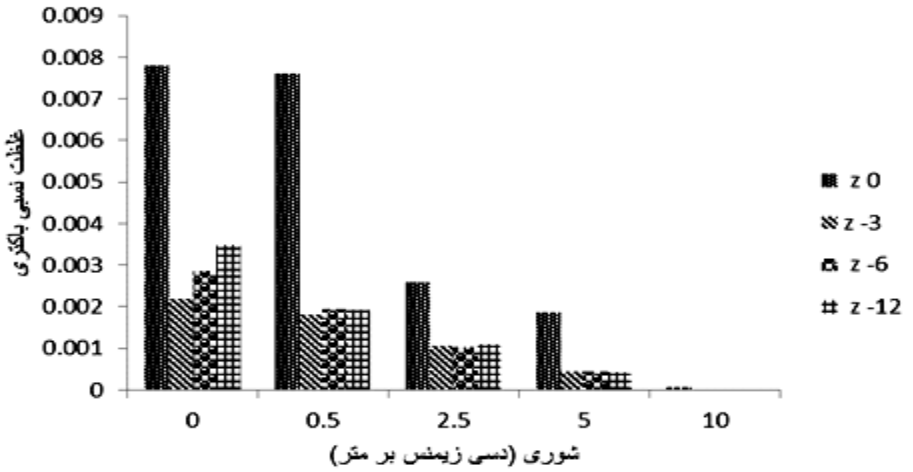


الف

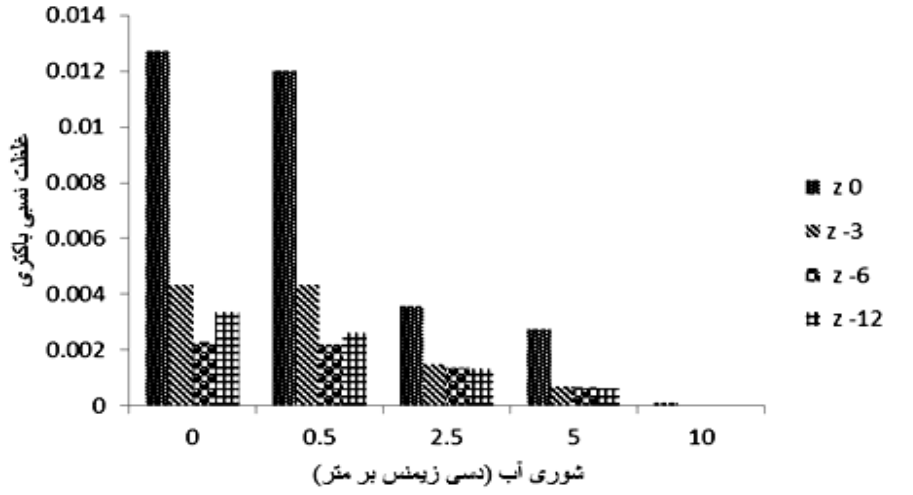


ب

شکل ۳. نمودار نگهداشت باکتری در نیمرخ خاک برای تیمارهای دانه‌بندی تیمارهای دانه‌بندی عبارتند از: D1: قطر ذرات کود کوچکتر از ۰/۲۵ میلی‌متر، D2: قطر ذرات کود بین ۲۵/۵–۰/۰ میلی‌متر،D3: قطر ذرات کود بین ۱– ۰/۵ میلی‌متر و :D4 قطر ذرات کود بین ۱ تا ۲ میلی‌متر.



ج



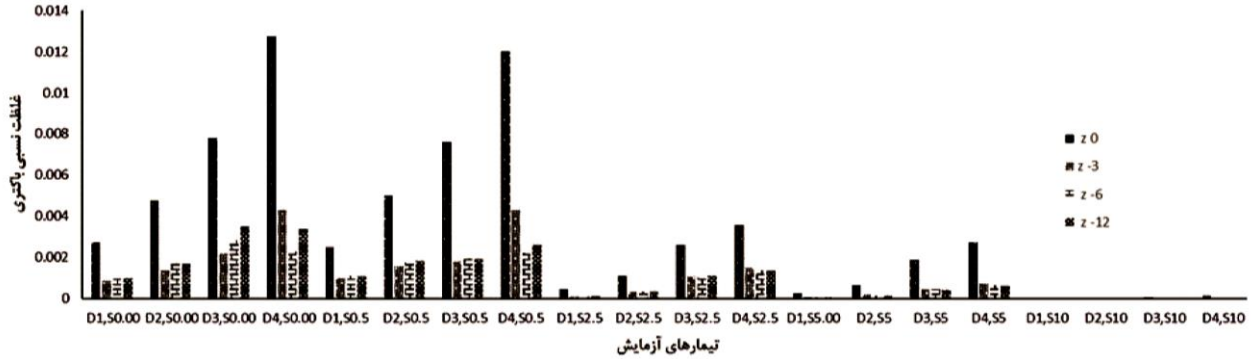
د

ادامه شکل ۳

واندروالسی برای جذب باکتری روی سطح ذرات خاک می‌شود (۱۸)، بنابراین، با افزایش غلظت محلول (افزایش غلظت آلاینده‌ها از جمله نمک‌ها)، انتقال و آبشویی باکتری‌ها در خاک کاهش می‌یابد (۲۸).

اثر عمق بر نگهداشت باکتری در خاک

شکل۴ نگهداشت باکتری در خاک را در اعماق ۰، ۳، ۶ و ۱۲ سانتی‌متری سطح خاک نشان می‌دهد. با توجه به شکل بیشترین مقدار غلظت نسبی باکتری در تمامی تیمارها عمق ۰ سانتی‌متری یا در سطح خاک مشاهده می‌شود. عمده نگه‌داشت باکتری در خاک در لایه‌های سطحی اتفاق می‌افتد و با کاهش عمق، این مقدار به‌صورت چشمگیری کاهش می‌یابد و درنهایت به‌صورت یکنواخت و با شیب بسیار کم روند کاهشی خود را ادامه می‌دهد. کاهش محسوس غلظت نسبی باکتری در لایه ۳ سانتی‌متری سطح خاک، نشان می‌دهد که بیشترین پالایش در این لایه صورت گرفته است. پژوهش‌های انجام‌شده بر انتقال باکتری ایکولای از کودهای گاوی و خوکی در خاک شنی‌لومی و سیلتی‌لومی در شرایط مزرعه نشان می‌دهد که قسمت عمده پالایش باکتری در ۵ سانتی‌متری سطح خاک روی می‌دهد (۴۱). اما برخی مطالعات نشان می‌دهند که با افزایش عمق خاک،



شکل ۴. نگهداشت باکتری در اعماق ۰، ۳، ۶ و ۱۲ سانتی‌متری سطح خاک در تمام تیمارهای شوری و دانه‌بندی

مقدار پالایش باکتری ایکولای آزادشده در خاک لومی‌رسی، به‌صورت معناداری افزایش می‌یابد (۲۱) و (۳۰). برخی مشاهدات در مورد انتقال و پالایش باکتری در خاک درشت بافت باسیلیوس سابتیلیس (Bacillius Subtilis) نشان می‌دهد که عمده پالایش باکتری در ۱۰ سانتی‌متر ابتدایی ستون خاک اتفاق می‌افتد و طول ستون خاک اثر معنی‌داری روی پالایش باکتری ندارد (۱۹) و (۲۰). این در حالی است که بیشترین کاهش غلظت نسبی باکتری ایکولای در خاک‌های لومی‌شنی و شنی در ۱۰ سانتی‌متر اول ستون خاک اتفاق می‌افتد و در اعماق پایین‌تر، شیب کاهش غلظت به‌طور قابل ملاحظه‌ایی کمتر است (۲). به نظر می‌رسد که در مطالعات بیشتری با درنظرگرفتن اعماق پایین‌تر خاک و در بازه زمانی طولانی‌تری بایستی انجام گیرد. در بررسی‌های صورت‌گرفته مشاهده شد که عمده نگهداشت باکتری در لایه‌های سطحی خاک صورت می‌گیرد و در اعماق پایین‌تر عملاً نگهداشت باکتری به‌صورت کاهشی و با شیب بسیار اندک است. این امر نشان می‌دهد آلودگی باکتریایی در سطح خاک به‌صورت معنی‌داری بیشتر از اعماق زیرین خاک است. درنهایت می‌توان دریافت که با مدیریت صحیح آب شور در اراضی که آلودگی باکتریایی دارند، می‌توان سبب کاهش انتقال آلودگی به منابع آب و اعماق خاک شد.

نتیجه‌گیری

در این پژوهش آلودگی میکروبی خاک که در قالب نگهداشت باکتری ایکولای آزادشده از کود گاوی در چهار دانه‌بندی مختلف در اثر آبشویی با آب شور در چهار سطح شوری ۰، ۰/۵ ، ۲/۵، ۵ و ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر تحت جریان اشباع و در ستون شن و در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت. با تغییر دانه‌بندی و کاهش اندازه ذرات کودگاوی درجه آبگریزی ذرات بیشتر شد و همین امر موجب کاهش نفوذ آب به داخل خاک و در نتیجه کاهش مقدار باکتری انتقال یافته چه به‌صورت سلول آزاد و چه به‌صورت متصل به ذرات کود شد. به‌ترتیب بیشترین و کمترین مقدار آبگریزی مربوط به تیمار D1 و D4 بود و در نتیجه آن بیشترین مقدار نگهداشت باکتری در خاک به‌دلیل آزادشدن باکتری بیشتر از تیماری که آبگریزی کمتری داشت (D4) و کمترین نگهداشت باکتری مربوط به تیماری که بیشترین آبگریزی را داشت (D1) بود. به‌علاوه ذرات ریزتر می‌توانند مسیرهای حرکت ترجیحی آب را مسدود نمایند. اعمال تیمار آبشویی با آب شور سبب کاهش غلظت نسبی باکتری در تمامی اعماق خاک و در تمامی دانه‌بندی‌های مورد بررسی شد، با افزایش شوری به‌صورت معنی‌داری مقدار نگهداشت باکتری در خاک در تمامی اعماق کاهش یافت. به‌ترتیب بیشترین و کمترین نگهداشت باکتری در خاک در تیمارهای شوری ۰/۰ و ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر مشاهده شد. این امر نشان می‌دهد که آبیاری با آب شور می‌تواند سبب پالایش باکتری در خاک‌های آلوده شود. می‌توان نتیجه گرفت که پالایش باکتری توسط خاک برای کودهای گاوی ریزدانه و مؤثرتر واقع می‌شود و سبب کاهش انتقال باکتری ایکولای به اعماق خاک و درنهایت کاهش آلودگی آب‌های زیرزمینی

می‌شود. به نظر می‌رسد که مطالعات بیشتری با در نظر گرفتن اعماق پایین‌تر خاک و در بازه زمانی طولانی‌تری باید انجام گیرد. همچنین، بهتر است مطالعات بیشتری در مورد اثر بافت و خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک بر انتقال باکتری انجام شود. در بررسی‌های صورت گرفته مشاهده شد که عمده نگهداشت باکتری در لایه‌های سطحی خاک صورت می‌گیرد و در اعماق پایین‌تر درعمل نگهداشت باکتری به‌صورت کاهشی و با شیب بسیار اندک است. این امر نشان می‌دهد آلودگی باکتریایی در سطح خاک به‌صورت معنی‌داری بیشتر از اعماق زیرین خاک است. درنهایت می‌توان دریافت که با مدیریت صحیح آب شور در اراضی که آلودگی باکتریایی دارد، می‌توان سبب کاهش انتقال آلودگی به منابع آب و اعماق خاک شد.

منابع مورد استفاده

1. Abbasi, F.2007. Advanced Soil Physics, Tehran University Press, Tehran (In Farsi).
2. Ahmadimoghadam, Z., S. Tabatabaei and H. Ebrahimi. 2021 A. Simultaneous effects of deficit irrigation and preferential flow on E. coli retention in soil. *Iranian Journal of Irrigation and Drainage* 14(6): 2203-2216.
3. Amato, M. and J. N. Ladd. 1994. Application of the ninhydrin-reactive N assay for microbial biomass in acid soils. *Soil Biology and Biochemistry* 26(9): 1109-1115.
4. Andronov, E. E., S. N. Petrova, A. G. Pinaev, E. V. Pershina, S. Z. Rakhimgalieva, K. M. Akhmedenov and N. K. Sergaliev. 2012. Analysis of the structure of microbial community in soils with different degrees of salinization using T-RFLP and real-time PCR techniques. *Eurasian Soil Science* 45(2): 147-156.
5. Beretta, A. N., A. V. Silbermann, Paladino, L., Torres, D., Kassahun, D., Musselli, R. and A. G. Lamohte. 2014. Soil texture analyses using a hydrometer: modification of the Bouyoucos method. *Ciencia e Investigación Agraria: Revista Latinoamericana de Ciencias de la Agricultura* 41(2): 263-271.
6. Black, G. R. 1986. Bulk density. A. Methods of soil analysis. Part I. Physical and mineralogical methodS. *Soil Science Society of America. Agronomy Monograph*. 9(1): 374-380.
7. Bicudo, J. R. and Goyal, S. M. 2003. Pathogens and manure management systems: a review. *Environmental technology* 24(1): 115-130.
8. Chau, H. W., A., Biswas, V. Vujanovic and B. C. Si. 2014. Relationship between the severity, persistence of soil water repellency and the critical soil water content in water repellent soils. *Geoderma* 2(21): 113-120.
9. Darnault, C. J., T. S. Steenhuis, P. Garnier, Y. J. Kim, M. B. Jenkins, W. C. Ghiorse and J. Y. Parlange. 2004. Preferential flow and transport of cryptosporidium parvum oocysts through the vadose zone experiments and modeling. *Vadose Zone Journal* 3(1): 262-270.
10. Dekker, L. W and C. J. Ritsema 1996. Uneven moisture patterns in water repellent soils. *Geoderma* 1(70): 87-99.
11. Farhangi, M. B, M. R. Mossadeghi and A. S. Safari Sanjani. 2012. Movement of Escherichia coli bacteria released from cattle manure in unsaturated field soil. *Water and Soil Science* 16 (59): 127-140.
12. Font-Palma, C. 2019. Methods for the treatment of cattle manure- a review. C. *Jornal of Carbo Research* 155(2):27.
13. Gargiulo, G., S. A. Bradford, J., P. SimunekUstohal, H. Vereecken and E. Klumpp. 2008. Bacteria transport and deposition under unsaturated flow conditions: The role of water content and bacteria surface hydrophobicity. *Vadose Zone Journal* 7(2): 406-419.
14. Guber, A. K., Y. A. Pachepsky, D. R. Shelton and O. Yu. 2007. Effect of bovine manure on fecal coliform attachment to soil and soil particles of different sizes. *Applied and Environmental Microbiology* 73(10): 3363-3370.
15. Guber, A. K., D. R. Shelton and Y. A. Pachepsky. 2005. Transport and retention of manure-borne coliforms in soil. *Vadose Zone Journal* 4(3): 828-837.
16. Hallin, I. L., P. Douglas, S. H. Doerr and R. Bryant. 2015. The effect of addition of a wettable biochar on soil water repellency. *European Journal of Soil Science* 66(6): 1063-1073.
17. Hendrickx, J. M. H., L. W. Dekker and O. H. Boersma. 1993. Unstable wetting fronts in water-repellent field soils. *Journal Of Environmental Quality* 22(1):109-118.
18. Jewett, D. G., T. A. Hilbert, B. E. Logan, R. G., Arnold and R. C. Bales. 1995. Bacterial transport in laboratory columns and filters: influence of ionic strength and pH on collision efficiency. *Water Research* 29(7): 1673-1680.
19. Jiang, G., M. J. Noonan and T. J. Ratecliffe. 2006. Effects of soil matric suction on retention and percolation of Bacillus subtilis in intact soil cores. *Water, Air, and Soil Pollution* 177(1): 211-226.
20. Jiang, G., M. J. Noonan, G. D. Buchan and N. Smith. 2007. Transport of Escherichia coli through variably saturated sand columns and modeling approaches. *Journal of Contaminant Hydrology* 93(1-4): 2-20.
21. Karathanasis, A. D., T. G. Mueller, B., Boone and Y. L. Thompson. 2006. Effect of soil depth and texture on fecal

bacteria removal from septic effluents. *Journal of Water and Health 4*(3): 395-404.
22. Khaleel, R., K. R. Reddy and M. R. Overcash. 1980. Transport of potential pollutants in runoff water from land areas receiving animal wastes: a review. *Water Research* 14(5): 421-436.
23. Klute, A. 1986. Methods of soil analysis: part 1 physical and mineralogical methodS. PP. 635-662. *In:* V. T. Holliday (Ed.), Methods of soil analysis, Agronomy monographs, Soil Science Society of America, Madison, Wisconsin.
24. Ladeiro, B. 2012. Saline agriculture in the 21st century: using salt contaminated resources to cope food requirements. *Journal of Botan* 20(1): 125-137.
25. Leelamanie, D. A. L., J. Karube and A. Yoshida. 2008. Characterizing water repellency indices: Contact angle and water drop penetration time of hydrophobized sand. *Soil Science and Plant Nutrition* 54(2): 179-187.
26. Leininger, D. J., J. R. Roberson and F. Elvinger. 2001. Use of eosin methylene blue agar to differentiate Escherichia coli from other gram-negative mastitis pathogens. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 13(3): 273-275.
27. Mataix-Solera, J. and S. H. Doerr. 2004. Hydrophobicity and aggregate stability in calcareous topsoils from fire-affected pine forests in southeastern Spain. *Geoderma* 118(1-2): 77-88.
28. McMurry, S. W., M. S. Coyne and E. Perfect. 1998. Fecal coliform transport through intact soil blocks amended with poultry manure. *Journal Of Environmental Quality* 27(1):86-92.
29. Miller, J. J., B. W. Beasley, C. F. Drury, F. J. Larney and X. Hao. 2015. Influence of long-term manure application on mineral composition of irrigated barley silage. *Canadian Journal of Plant Science* 95(4): 759-77
30. Mosaddeghi, M. R., A. A. Mahboubi, S. Zandsalimi and A. Unc. 2009. Influence of organic waste type and soil structure on the bacterial filtration rates in unsaturated intact soil columns. *Journal of Environmental Management* 90(2): 730-739.
31. Norouzi, H., S. H. Tabatabai, N. Nourmehnad and H. Shirani. 2021. The effect of bovine manure particle size on the transmission of bacterial contamination using adsorption-desorption model in soil under saturated flow. *Iranian Journal of Irrigation and Drainage* 15(6): 1382-1393.
32. Ramos, M. C., J. N. Quinton and S. F. Tyrrel. 2006. Effects of cattle manure on erosion rates and runoff water pollution by fecal coliforms. *Journal of Environmental Management* 78(1): 97-101.
33. Rodríguez-Alleres, M., E. de Blas and E. Benito. 2007. Estimation of soil water repellency of different particle size fractions in relation with carbon content by different methodS. *Science of the Total Environment* 378(1-2): 147-150.
34. Rodríguez-Tapia, L. and J. A. Morales Novelo. 2017. Bacterial pollution in river waters and gastrointestinal diseases. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 14(5): 479-489.
35. Roy, J. L. and W. B. McGill. 2002. Assessing soil water repellency using the molarity of ethanol droplet (MED) test. *Soil Science* 167(2): 83-97.
36. Rye, C. and K. Smettem. 2017. The effect of water repellent soil surface layers on preferential flow and bare soil evaporation. *Geoderma* 289(1): 142-149.
37. Sepehrnia, N., S. H. Tabatabaei, H. Norouzi, M., Gorakifard, H. Shirani and F. Rezanezhad. 2021. Particle fractionation controls Escherichia coli release from solid manure. *Heliyon* 7(5): e07038.
38. Shirani, H. Shiravani, S. and M. Moradi. 2018. Effect of irrigation water salinity and manure on leaching of free Escherichia coli in damaged soil columns. *Water and Soil Sciences Agricultural Science and Technology and Natural Resources* 22 (2): 333-343.
39. Tabatabaei, S. H., N. Sepehrnia, H. Norouzi, H. Shirani and F. Rezanezhad. 2022. Effects of solid manure particle fractionation on transport, retention, and release of Escherichia coli. *Environmental Technology Innovation* 25(1): 102086.
40. Topp, E., M. Welsh, Y. C. Tien, A. Dang, G. Lazarovits, K. Conn and H. Zhu. 2003. Strain-dependent variability in growth and survival of Escherichia coli in agricultural soil. *FEMS Microbiology Ecology* 44(3): 303-308.
41. Unc, A. and M. J. Goss. 2003. Movement of faecal bacteria through the vadose zone. *Water, Air, and Soil Pollution* 149(1): 327-337.
42. Warnemuende, E. A. and R. S. Kanwar. 2002. Effects of swine manure application on bacterial quality of leachate from intact soil columns. *Transactions of the ASA* 5(6): 1849.

Journal of Water and Soil Science
Vol. 27, No. 1, Spring 2023, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran.

Effect of Salinity and Fractionation Size of Cattle Manure on the Distribution and Transport of Bacterial Contamination in Sandy Soil

M. Dehghanian[1*], S. H. Tabatabaee[1], H. Shirani[2] and F. Nikookhah[3]

(Received: June 16-2022 ; Accepted: December 7-2022)

Abstract

In sustainable agriculture, cow manure is used for greater productivity, a rich source of E-Coli pathogenic bacteria. The objective of this research was to investigate the simultaneous effect of the fractionation size of cattle manure and irrigation water salinity on the retention of E-Coli bacteria in the depths of the sand column with a height of 10 cm under saturated flow. Four different particle fractions of cow manure (1-2, 0.5-1, 0.25-0.5, and smaller than 0.25 mm) were added to the surface of the sand column at the scale of 30 tons per hectare, then leaching was done with different salinities (0, 0.5, 2.5, 5, and 10 dS/m) up to 10 pore volumes, then samples were taken from the depths of 0, 3, 6, and 12 cm. The number of bacteria in each sample was determined by the live counting method. The results showed that the effect of all sources of change and their interaction effects on the retention of bacteria in the soil is significant at the level of 5%. Salinity had a negative effect on the retention of bacteria, and the highest and lowest values of the relative concentration of bacteria (the result of dividing the number of bacteria in each soil depth by the initial number of bacteria in the desired manure treatment) were in 0 dS/m and 10 dS/m salinity of leaching water, respectively. By decreasing the size of cow manure particles due to the increase in hydrophobicity and blocking of preferential pores, the retention of bacteria decreased in all investigated soil depths. The highest and lowest retention of bacteria in the soil were investigated in the largest cow manure particle size (1-2 mm) and the smallest cow manure particle size (less than 0.25 mm), respectively. In addition, the highest relative concentration of bacteria in the soil was seen in the depth of 0-3 cm, and no significant difference was seen in other soil depths.

Keywords: Hydrophobicity, E-Coli bacteria, Cow manure granulation, Bacteria retention curve in soil

1. Department of Water Engineering, Faculty of Agriculture, University of Shahrekord, Shahrekord, Iran.
2. Soil Sciences and Engineering Department, Faculty of Agriculture, Vali-e-Asr University of Rafsanjan, Rafsanjan, Iran.
3. Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources and Earth Sciences, Shahrekord University, Shahrekord, Iran.
*: Corresponding author, Email: Dehghanian71@gmail.com