نشریه آبیاری و زهکشی ایران
شماره۶، جلد ۱۴، بهمن - اسفند ۱۳۹۹، ص. ۲۲۱۶-۲۲۰۳

Iranian Journal of Irrigation and Drainage
No. 6, Vol. 14, Feb.-Mar. 2021, p. 2203-2216

مقاله پژوهشی

اثر همزمان کم‌آبیاری و جریان ترجیحی بر نگهداشت باکتری *ایشریشیاکولی* در خاک

زینب احمدی مقدم[۱*]، سیدحسن طباطبائی[۲]، و عزیزا... ابراهیمی کهریزسنگی[۳]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۳/۱۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۸/۲۴

چکیده:

آلودگی میکروبی یکی از انواع آلودگی منابع آب است که با سلامت جانداران در ارتباط است. در این پژوهش انتقال باکتری *ایشریشیاکولی* در شرایط کم‌آبیاری و در حضور جریان‌های ترجیحی بررسی شده است. سطوح آبیاری ۱۲۰، ۱۰۰، ۸۰ و ۶۰ درصد ظرفیت زراعی و تعداد دفعات آبیاری ۵ مرتبه انتخاب شدند. یک مجرای جریان ترجیحی از شن ریزدانه در وسط ستون‌های خاک با بافت لوم شنی به صورت مصنوعی ایجاد شد. سویه باکتری استاندارد ATCC-25922 به صورت سوسپانسیون به سطح خاک تزریق شد. تعداد باکتری لایه‌های مختلف خاک به روش شمارش زنده تعیین شد. نتایج نشان داد با کاهش سطح آبیاری، میزان عمق انتقال باکتری کاهش می‌یابد و بیشترین تجمع باکتری در سطح خاک اتفاق می‌افتد به طوری که در تیمار با سطح آبیاری ۶۰ درصد ظرفیت زراعی حدود ۷۰ درصد میزان غلظت باکتری در عمق پنج سانتی‌متری خاک مشاهده شد. از این رو در شرایط کم‌آبیاری برای جلوگیری از انتقال آلودگی باکتریایی به آب‌های سطحی، باید توجه ویژه گردد. سطح ویژه و پتانسیل ماتریک بیش‌تر در اطراف ناحیه جریان ترجیحی، سبب افزایش میزان غلظت باکتری در مرز بین خاک با اطراف ناحیه ترجیحی شد. متوسط میزان غلظت باکتری در لایه سطحی خاک (پنج سانتی‌متری) در سطوح آبیاری ۱۲۰و ۱۰۰ درصد در شرایط جریان ترجیحی در محل نزدیک به جریان ترجیحی حدود ۲۵ و ۱۴ درصد نسبت به تیمار نظیرش در حالت بدون جریان ترجیحی بیش‌تر شد.

واژه‌های کلیدی: آلودگی آب، *ایشریشیاکولی*، کم‌آبیاری، پیکره خاک.

مقدمه

اطلاع از وضعیت حرکت و تجمع آلاینده‌ها در خاک و پیامد انتقال آن‌ها به منابع آب‌های زیرزمینی و چرخه غذایی انسان، از جمله مسائل مهمی است که پژوهش‌های زیادی را در دهه اخیر متوجه خود ساخته است. آلاینده‌های میکروبی از جمله آلودگی‌های است که بر سلامت جانداران اثرگذار است و از طریق پساب و کودهای دامی در کشاورزی به منابع آب وارد شده و با تجمع در سطح خاک سبب انتقال باکتری‌ها به محیط اطراف می‌شوند (Bradford et al., 2014). استفاده از فاضلاب برای آبیاری باید مطابق با استانداردها باشد تا بارآلودگی میکروبی سبب آلودگی‌های آب‌های سطحی و زیرزمینی نشود (Tabatabaei et al., 2020). عامل اصلی بیماری‌های میکروبی در آب پاتوژن‌ها هستند. عمومی‌ترین راه انتقال پاتوژن‌ها به بدن موجودات زنده از طریق آب آشامیدنی است. پاتوژن‌های موجود در فاضلاب‌های خام را می‌توان به سه دسته باکتری‌ها، ویروس‌ها، پروتوزوا وکرم‌های روده‌ای تقسیم کرد (Talon et al., 2005). کلیفرم‌های روده‌ای گروه بزرگی از باکتری‌های بی‌هوازی اختیاری، گرم منفی، بدون اسپور و میله‌ای شکل هستند این دسته از باکتری‌ها ناشی از مدفوع جانوران خونگرم هستند. وجود این باکتری در آب نشان‌دهنده ناکافی بودن فرآیند تصفیه و همچنین آلودگی آب به مدفوع انسان و حیوان هستند. اندازه‌گیری غلظت عوامل بیماری‌زای میکروبی اغلب مشکل است به همین دلیل از ریزجانداران شاخص برای سنجش آن‌ها استفاده می‌شود ریزجانداران شاخص به نحوی انتخاب می‌شوند که اندازه‌گیری آن‌ها آسان است و به وفور در فضولات انسانی و حیوانی وجود دارند و احتمال وجود آن‌ها نشان‌دهنده حضور پاتوژن‌ها است. از جمله مهم‌ترین آن‌ها می‌توان به *ایشریشیاکولی* اشاره کرد.

ویژگی‌های خاک مانند ظرفیت نگهداری رطوبت در خاک، اسیدیته خاک، دما، بافت و ساختمان خاک،رطوبت خاک، اسیدیته خاک و مواد آلی در خاک نقش اساسی در دوام و نگهداشت ریزجانداران هم‌چون باکتری‌ها دارد. هر چه میزان موادآلی در خاک

۱- دانشجوی دکتری، گروه آبیاری و زهکشی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد
۲- دانشیار، گروه مهندسی آب، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد
۳- استادیار، بازنشسته گروه میکروبیولوژی دانشگاه شهرکرد
(*- نویسنده مسئول: Email: Zahmadimoghadam2014@gmail.com)
DOR: 20.1001.1.20087942.2021.14.6.8.9

نسبت به مواد معدنی بیشتر باشد بقای باکتری‌های کلی‌فرم مدفوعی افزایش می‌یابد (Tate, 1978). در خاک‌های دست‌نخورده چون ساختمان خاک حفظ می‌شود میزان انتقال باکتری بیش‌تر از خاک‌های دست‌خورده است (زند سلیمی و همکاران، ۱۳۸۵). دما و اسیدیته خاک از عوامل موثر بر میزان رشد باکتری هستند و نتایج نشان داده‌است که در محیط اسیدی میزان زنده‌مانی باکتری کم‌تر است (Kemp et al., 1992). قرار گرفتن طولانی‌مدت در معرض نور خورشید سبب از بین رفتن عوامل بیماری‌زا، به ویژه در سطح خاک می‌شود. گرمای بیش از حد نور خورشید با اثر روی اسیدهای نوکلئیک ریزجانداران سبب کاهش زنده‌مانی آن‌ها می‌شود (Wiliam, 2012). اثر دما به هدایت حرارتی خاک وابسته است در خاکی که دارای هدایت حرارتی بیش‌تری است نسبت به خاک با هدایت حرارتی کم‌تر سریع‌تر سرد و گرم می‌شود در خاک‌های با بافت سبک این امر مشهودتر است چون خاک‌های با بافت سبک دارای هدایت حرارتی بیش‌تری هستند (Bonan,2002). ترک‌زبان و همکاران (۲۰۰۸) با بررسی اثر میزان رطوبت خاک و شدت جریان‌های مختلف بر نگهداشت باکتری بیان کردند با کاهش میزان محتوای آب میزان احتباس باکتری در خاک افزایش می‌یابد و با افزایش میزان شدت جریان، نگهداشت باکتری در خاک کمتر می‌شود(Torkzaban et al., 2008). نتایج نشان داده‌است که میزان باکتری با گذر زمان در خاک کاهش می‌یابد و تجمع باکتری در لایه سطحی خاک بیش‌تر از اعماق است (Stocker et al., 2015). در شرایط رطوبتی نزدیک به اشباع تعداد باکتری‌ها و میزان زنده‌مانی آن‌ها نسبت به شرایط غیراشباع بیش‌تر است (مقصودی، ۱۳۸۸ و Mubiru et al., 2000).

منافذ بزرگ فضاهای خالی هستند که راه‌ها و معابری برای جریان پیشرو فراهم می‌کنند (Skopp, 1981). خروج آب یا زهکشی از منافذ درشت خاک بسیار سریع‌تر از منافذ با قطر کوچک انجام می‌شود (Ehlers and Goss, 2003). در شرایطی که خاک در حالت اشباع باشد احتمال ایجاد جریان‌های ترجیحی بیشتر است. منافذ درشت می‌توانند در طی فرایندهای فیزیکی و زیستی در خاک ایجاد شوند از فرایندهای فیزیکی می‌توان به انجماد و انبساط آب و از فرایندهای زیستی سوراخ شدن خاک در اثر فعالیت‌های موجودات زیر خاکی و همچنین نفوذ ریشه‌ها در درون خاک اشاره کرد. نقش اساسی جریان‌های ترجیحی این است که می‌توانند حجم زیادی از آب را در پیکره خاک وارد کنند و با حرکت عمیق‌تر، آلاینده را در درون محیط پیستونی شکل در پروفیل خاک انتقال دهند (Ehlers and Goss, 2003). در حضور جریان‌های ترجیحی به دلیل سرعت بیش‌تر میزان انتقال باکتری بیش‌تر است. تغییرات سرعت جریان میان منافذ درشت و پیکره خاک یا میان لایه‌های خاک با هدایت هیدرولیکی متفاوت عامل مهم انتقال آلاینده‌ها در سیستم‌های جریان ترجیحی است (Allaire et al., 2002a and 2002b). جریان ترجیحی اغلب شامل منافذ درشت بوده و دلالت بر جریان در میان منافذ نسبتاً بزرگ شامل: کانال‌ها، شکاف‌ها، فضاهای نیمه‌بزرگ موجود در درون خاک دارد. در این منافذ نیروی نگهداشت آب عمدتاً کمتر از نیروی ثقل است (Ehlers and Goss, 2003). ابوآشور و همکاران انتقال باکتری را در ستون‌های خاک و با ایجاد جریان ترجیحی را بررسی کردندو نتایج نشان داد تعداد باکتری خروجی از ستونی که منافذ درشت داشته، نسبت به ستون دیگر بسیار بیشتر بود (Abu-Ashour et al., 1998). بردفورد و همکاران در پژوهشی انتقال باکتری ایشریشیاکولی را در شرایط اشباع بررسی و بیان کردند وجود منافذ درشت و درز و شکاف‌ها مقدار نگهداشت فیزیکی را کاهش داده و سبب انتقال باکتری به لایه های زیرین می‌گردد (Bradford et al., 2006). احتمال انتقال باکتری در ماکروپورها در خاک‌های مرطوب بیش‌تر است و به همین دلیل باکتری‌های معلق از قطر منافذ بزرگ‌تر عبور خواهند کرد و سبب انتقال باکتری به عمق‌های پایین‌تر در شرایط اشباع نسبت به شرایط غیراشباع می‌گردد (Unc and Goss, Wang et al., 2014; 2003). وانگ و همکاران اثر جریان ترجیحی را در انتقال باکتری تحت شرایط محلول‌هایی با قدرت یونی مختلف بررسی کردند آن‌ها شکاف‌هایی را به صورت مصنوعی برای بررسی جریان ترجیحی ایجاد کردند و نتایج نشان داد که جریان‌های ترجیحی سبب انتقال بیشتر باکتری می‌شوند و با افزایش میزان قدرت یونی میزان نگهداشت باکتری در خاک بیشتر می‌گردد (Wang et al., 2013). اخوان و همکاران (۱۳۹۸) با بررسی اثر ماکروپورهای ایجاد شده در ستون‌های خاک به صورت مصنوعی با قطر متفاوت دریافتند حضور جریان‌های ترجیحی سبب انتقال بیش‌تر باکتری در ستون‌های‌خاک در شرایط اشباع می‌شود. جریان‌های ترجیحی به ساختمان خاک و پیوسته بودن منافذ خاک وابسته است به گونه‌ای که ممکن است خاکی سطوح جذب بالاتری داشته باشد ولی به دلیل ساختمان منسجم آن میزان پالایش باکتری کمتر باشد (زند سلیمی و همکاران، ۱۳۸۵). گلبداغی (۱۳۹۰) دریافتند که گیاهان دارای ریشه‌های طول و قطر بیش‌تر نسبت به گیاهان با ریشه‌های با عمق‌کمتر سبب ایجاد جریان‌های ترجیحی در محیط خاک می‌شوند و عمق انتقال باکتری را در شرایط اشباع و غیراشباع افزایش می‌دهند.

فرایندهای مهم و اثرگذار بر نگهداشت باکتری در خاک جذب (Attachment)، رهاسازی (Detachment) و پالایش فیزیکی (Straining) است. پالایش فیزیکی یکی از مکانیسم‌های مهم بر نگهداشت کلوئیدها و پاتوژن‌ها است و بیش‌تر در مناطق دارای لبه-های تیز و دارای منافذ ریز که قادر به عبور یک یا چندین کلوئید هستند، اتفاق می‌افتد (Sasidharan et al., 2015). در شرایط رطوبتی اشباع و نزدیک به اشباع انتقال باکتری به اعماق بیش‌تر است و پالایش فیزیکی باکتری در شرایط غیراشباع نسبت به شرایط اشباع بیش‌تر است (Powelson and Mills, 2001).

یکی از راهکارهای مدیریتی در مواقع کمبود منابع آب استفاده از روش کم‌آبیاری است. در واقع کم‌آبیاری کاهش میزان آب با پذیرش کاهش مقدار محصول است و استراتژی بهینه‌سازی آب در مرحله حساس رشد است. کم‌آبیاری سبب افزایش کارایی میزان مصرف آب می‌گردد از مزایای دیگر کم‌آبیاری می‌توان کاهش شستشوی ریزمغذی‌ها، افزایش کیفیت محصول، افزایش محصول در واحد سطح، کاهش طول دوره کاشت و سازگاری گیاه با شرایط کم‌آبی را نام برد (Lehmann et al., 2011). روش‌های اعمال کم‌آبیاری به وسیله تغییرات در دور و حجم آبیاری نسبت به آبیاری کامل قابل اعمال است. انتخاب هر کدام از این روش‌ها بستگی به شرایط آب هوایی منطقه، نوع مرحله رشد گیاه، کیفیت آب و خاک دارد. پژوهش‌های کمی در زمینه اثر کم‌آبیاری بر انتقال باکتری انجام شده است. لی و ون (۲۰۱۶) به بررسی اثر مدیریت آبیاری با پساب بر انتقال باکتری درشرایط کشت مختلف پرداخته و دریافتند که با اعمال کم‌آبیاری میزان غلظت باکتری در عمق پنج سانتی‌متری سطح خاک با آبیاری قطره‌ای سطحی افزایش غیرمعنی‌دار می‌یابد و اعلام کردند با اعمال کم‌آبیاری میزان آلودگی باکتری با روش آبیاری قطره‌ای زیر سطحی نسبت به آبیاری سطحی کاهش معنی‌داری دارد (Li and Wen, 2016).

با توجه به کمبود منابع آب، استفاده از روش‌های کم‌آبیاری امروزه در حال توسعه است ولی استفاده از این روش‌ها باید در بررسی انتقال آلاینده نیز مورد ارزیابی قرار گیرد تا آثار آن بر کیفیت خاک و آب لحاظ گردد. جریان‌های ترجیحی نیز به دلایل مختلف در سطح مزرعه ایجاد می‌شوند و با توجه به اهمیت آن‌ها در انتقال آلاینده‌ها نیاز است در شرایط واقعی آبیاری در مزرعه و کم‌آبیاری مورد ارزیابی قرار گیرند. در پژوهش‌هایی که تاکنون انجام شده بیش‌تر انتقال باکتری در شرایط اشباع بررسی شده است و توجهی به شرایط آبیاری واقعی در مزرعه و روش‌های مدیریتی آبیاری صورت نگرفته است لذا در این پژوهش سعی شده است با توجه به اهمیت جریان‌های ترجیحی با اعمال سطوح آبیاری مختلف نگهداشت باکتری در پروفیل خاک و در شرایط جریان ترجیحی بررسی گردد.

مواد و روش‌ها

مشخصات خاک و ستون‌ها

آزمایش‌ها درون ستون‌هایی از جنس (پی وی سی) با قطر ۱۶۰ و طول ۳۰۰ میلی‌متر در فضای باز دانشگاه شهرکرد انجام شدند. برای جلوگیری از جریان‌های جانبی در جداره‌های ستون، دیواره‌های ستون با پارافین مایع آغشته شدند. کف ستون‌ها با توری پوشانده شد و کمی شن با توجه به دانه‌بندی خاک به عنوان زهکش در کف ستون‌ها ریخته شد. خاک با بافت لوم شنی مورد استفاده در این پژوهش از اراضی دانشگاه شهرکرد تهیه شد و ابتدا خاک هوا-خشک گردید و از الک ۲ میلی‌متر عبور داده شد. برخی از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک شامل: بافت خاک با روش هیدرومتری (Gee and Bauder, 1986)، جرم‌مخصوص ظاهری به روش استوانه‌های نمونه‌بردار (Black and Hartge, 1986)، جرم مخصوص حقیقی به روش پیکنومتر، pH به وسیله دستگاه pHسنج، ظرفیت زراعی و رطوبت نقطه پژمردگی دائم با دستگاه صفحات فشاری، ماده آلی با روش اکسیداسیون تر (Walkly and Black, 1983)، قطر ذرات خاک با روش دانه‌بندی، سطح ویژه ذرات با روش BET و هدایت هیدرولیکی اشباع با روش بار ثابت (KLute, 1986) تعیین شدند.

برخی از ویژگی‌های فیزیکی و هیدرولیکی خاک مورد مطالعه در جدول ۱ ارائه شده است. میزان رطوبت ظرفیت‌زراعی و پژمردگی دایم آن به ترتیب ۲۷ و ۱۰ درصد حجمی، تخلخل ۴۳ درصد و میزان هدایت هیدرولیکی ۰/۳۰ سانتی‌متر بر دقیقه به دست آورده شد. میزان ایشریشیاکولی در خاک قبل از انجام آزمایش‌ها اندازه‌گیری شد که خاک فاقد باکتری ایشریشیاکولی بوده است. در جدول ۲ برخی از ویژگی‌های شیمیایی خاک آورده شده است. آب برای آبیاری از آب شرب دانشگاه شهرکرد تأمین شد که منبع آن آب شهری است و دارای میزان هدایت الکتریکی ۰/۳ دسی‌زیمنس بر متر و واکنش ۷/۵ است.

جدول ۱- برخی از ویژگی‌های فیزیکی و هیدرولیکی خاک و شن مورد مطالعه

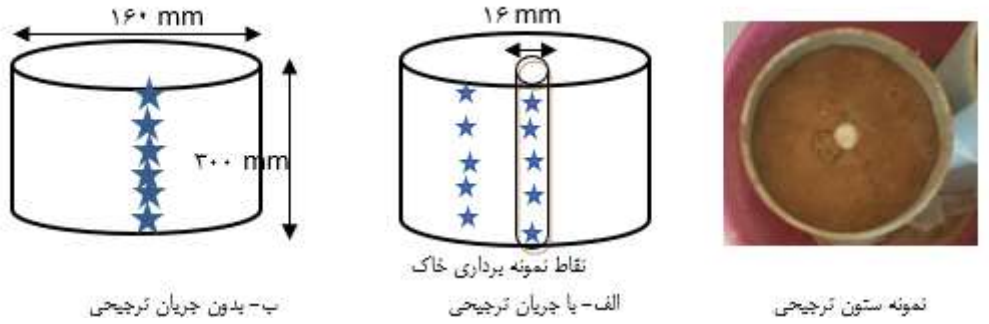
مکان استفاده	بافت خاک	ظرفیت زراعی	رطوبت در نقطه پژمردگی دایم	چگالی ظاهری	هدایت هیدرولیکی	موادآلی	سطح ویژه	قطر متوسط ذرات	تخلخل
	–	درصد حجمی	درصد حجمی	g/cm^3	$cm.min^{-1}$	%	$m^2.g^{-1}$	میلی متر	درصد
پیکره خاک	لوم شنی	۲۷	۱۰	۱/۵	۰/۳۰	۲/۱	۶/۲	۰/۱۲	۴۳/۲
ناحیه ترجیحی	شنی	۱۸	۵	۱/۸	۴	۰	–	۱	۳۰/۷

جدول ۲- ویژگی‌های شیمیایی خاک مورد مطالعه

pH	هدایت الکتریکی	$Mg^{2+}+Ca^{2+}$	Cl^-	Na^+	SAR
-	dS/m	meq. L^{-1}	meq. L^{-1}	meq. L^{-1}	
۶/۹۷	۰/۲۳	۰/۸	۰/۲	۱/۰۸	۱/۷

برقراری جریان ترجیحی

چون بررسی و تحلیل شرایط جریان ترجیحی در شرایط واقعی سخت و خیلی پیچیده است مکان‌های جریان ترجیحی به صورت مصنوعی ایجاد می‌شوند ازجمله می‌توان به پژوهش خالد و همکاران(۲۰۱۸)، وانگ و همکاران (۲۰۱۳) اشاره کرد در این پژوهش نیز جریان‌های ترجیحی به صورت مصنوعی ایجاد شدند. برای برقراری جریان ترجیحی ستون‌ها از کف در ظرف آبی قرار داده شدند و لوله به قطر ۱۶ میلی‌متر و ارتفاع ۳۰۰ میلی‌متر در وسط ستون جای گذاری گردید و خاک لوم شنی در لوله خارجی با قطر ۱۶۰ میلی‌متر ریخته شد. خاک در ستون‌ها به صورت لایه لایه ریخته شد که برای هر لایه پنج‌سانتی‌متری با توجه به میزان جرم مخصوص ظاهری خاک، جرم خاک برای پرکردن پنج سانتی‌متری ستون محاسبه گردید و پس از تعیین جرم خاک مورد نیاز، دقیقاً همان مقدار خاک به وسیله ترازو توزین و داخل استوانه ریخته شد و پس از پهن کردن خاک در کف ستون، به سطح خاک به وسیله کوبه‌ای ضربه زده شد، تا سطح خاک فقط به اندازه ۵ سانتی‌متر از کف بالا آمده باشد پس ستون‌ها از داخل آب برداشته می‌شود و بعد از خارج شدن آب اضافه از انتهای ستون و تثبیت خاک در لوله با قطر ۱۶۰ میلی متر، لوله ۱۶ میلی‌متر به ارتفاع ۳۰۰ میلی‌متر به آرامی بیرون کشیده می‌شود تا خاک اطراف آن ریزش پیدا نکند و سپس با شن ریزدانه با کمک یک قیف پر گردید (Wang et al., 2013) (شکل ۱-الف). ستون‌ها در محیط قرار داده شدند تا میزان رطوبت اولیه آن‌ها به رطوبت سهل‌الوصول برسد. در ستون‌هایی هم بدون شرایط جریان ترجیحی از خاک به صورت لایه لایه پر شدند (شکل۱-ب) و رطوبت اولیه این ستون‌ها به رطوبت مرز پایین رطوبت سهل‌الوصول رسانده شد.



شکل ۱- نمایی از ستون‌های آزمایش

سطوح آبیاری

سطوح آبیاری T120، T100، T80 و T60 انتخاب شدند و با برقراری جریان با دبی ثابت در واحد سطح آبیاری شدند. تیمار ۱۰۰ درصد تیمار شاهد بود که به اندازه رطوبت ظرفیت زراعی آبیاری شدند و در تیمار ۱۲۰ درصد ۲۰ درصد بیش‌تر از تیمار T100 و تیمارهای ۶۰ و ۸۰ درصد نیز به ترتیب ۴۰ و ۲۰ درصد کمتر از تیمار T100 آبیاری شدند. رطوبت اولیه ستون‌ها در آبیاری اول برابر با مرز پایین رطوبت سهل‌الوصول در تیمار ۱۰۰ درصد بود. برای سنجش رطوبت خاک از دستگاه رطوبت سنج SM300 استفاده شد که دارای میزان دقت مطلوبی در مقایسه اندازه‌گیری با رطوبت به روش وزنی بود. ستون‌ها پنج مرتبه آبیاری شدند و مبنای زمان آبیاری بر اساس رطوبت اولیه تیمار سطح آبیاری ۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه بود. زمانی که متوسط رطوبت آن به مرز پایین رطوبت سهل‌الوصول نزدیک بود آبیاری بعدی انجام می‌شد. تاریخ تزریق باکتری و اعمال آبیاری‌ها ۱۷ شهریور، ۲۱ شهریور، ۲۵ شهریور، ۲۹ شهریور و ۲ مهر سال ۱۳۹۸ در فضای باز دانشگاه شهرکرد انجام شد.

سوسپانسیون باکتری

برای تهیه سوسپانسیون باکتری ایشریشیاکولی از سویه بی خطر ATCC-25922 با قطر متوسط ۳ میکرومتر و طول حدود ۱۰ میکرومتر استفاده شد و ابتدا روی محیط کشت نوترینت‌آگار تزریق شد و این محیط کشت‌ها در دمای ۳۷ درجه سلسیوس داخل انکوباتور به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفتند و سپس کلنی‌های رشد کرده برداشته و داخل محلول ۱۰ میلی‌مولار کلرید سدیم ریخته شدن. بعد از تهیه سوسپانسیون اولیه با دستگاه اسپکتوفتومتر طول موج ماکزیمم برای غلظت باکتری ایشریشیاکولی در محلول سوسپانسیون تعیین شد و با

تکرار سوسپانسیونی تهیه شد که میزان اولیه باکتری‌ها در هر میلی‌لیتر آن دارای غلظت متوسط ۱×۱۰^{۸} سلول باشد و به ازای این سوسپانسیون میزان چگالی نوری (Optical Density, OD) آن با دستگاه اسپکتوفتومتر (Unico UV-1200) قرائت شد تا برای هر مرحله تهیه سوسپانسیون نمونه‌ای از آن داخل دستگاه اسپکتوفتومتر قرار داده شود و اگر به میزان مورد نظر رسید تزریق باکتری به خاک انجام می‌شد. پالس ورودی باکتری به میزان ۶۰ سی‌سی (۱۰ درصد حجم بیشترین سطح آبیاری) و قبل از هر آبیاری روی سطح خاک به صورت یکنواخت ریخته شد (Sepehrnia et al., 2018).

بعد از آبیاری‌ها با تقسیم ارتفاع ستون به شش لایه مساوی، از هر لایه برای شمارش باکتری‌های ایشریشیاکولی باقیمانده نمونه‌برداری گردید. نمونه‌برداری از ستون‌های جریان ترجیحی در دو مکان داخل پیکره خاک و نزدیک به موقعیت جریان ترجیحی انجام شد (شکل ۱) و در ستون‌های بدون جریان ترجیحی فقط نمونه از پیکره خاک در اعماق مختلف گرفته شد. اعماق نمونه‌برداری ۲/۵، ۷/۵، ۱۲/۵، ۱۷/۵، ۲۲/۵ و ۲۷/۵ سانتی‌متر انتخاب شدند و در صورت زه‌آب خروجی میزان غلظت باکتری در زه آب نیز سنجیده شد. برای تعیین جمعیت باکتری در نیمرخ خاک، از روش شمارش زنده استفاده گردید. بدین منظور یک گرم خاک از نمونه ها برداشته و به آن‌ها ۹ سی‌سی آب مقطر اضافه شد و هر نمونه به مدت ۳۰ دقیقه در شیکر قرار داده شد (Guber., 2005). بعد از تهیه سری‌های رقت از نمونه‌های خاک، ۱۰۰ میکرولیتر از رقت‌های مختلف روی محیط کشت آئوزین متیلین بلو (EMB) کشت شد. پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفتند و سپس تعداد کلنی‌های باکتری شمارش و ثبت شد (Connie et al., 2011).

سنجش بیلان جرم باکتری در پروفیل خاک

برای مقایسه بهتر نتایج از نسبت S/C0 استفاده شد که S میزان نگهداشت باکتری (کلنی در میلی‌لیتر) در هر عمق و C0 میزان غلظت اولیه باکتری ورودی است. برای مقایسه میزان نگهداشت[1] در اعماق مختلف پروفیل خاک در تیمارهای مختلف میزان کل باکتری در تیمارهای بدون جریان ترجیحی (چون فقط شامل یک منحنی توزیع باکتری در پروفیل خاک هستند) با محاسبه مساحت زیر منحنی محاسبه گردید و با نسبت گرفتن میزان نگهداشت در هر عمق (S) به میزان کل باکتری ورودی در خاک، شاخص نگهداشت باکتری در هر عمق محاسبه گردید:

$$SI_z = \frac{S_z}{C_0} \qquad (۱)$$

در این رابطه S_z سطح زیر منحنی نگهداشت باکتری در عمق z (کلنیCFU) و C0 کل باکتری ورودی به ستون خاک است.

ضریب پالایش باکتری

میزان فیلتر شدن باکتری در خاک (در صورت وجود زه‌آب خروجی) با محاسبه ضریب پالایش سنجید که رابطه آن به شکل زیر است. که در این رابطه C0 میزان غلظت باکتری ورودی و C میزان غلظت باکتری در زه‌آب خروجی در عمق Z است (ماتس و همکاران، ۱۹۸۸).

$$\gamma_f = Ln(\frac{C_0}{C})\frac{1}{z} \qquad (۲)$$

نتایج و بحث

تغییرات رطوبتی در ستون‌های آزمایش و دمایی در محیط آزمایش

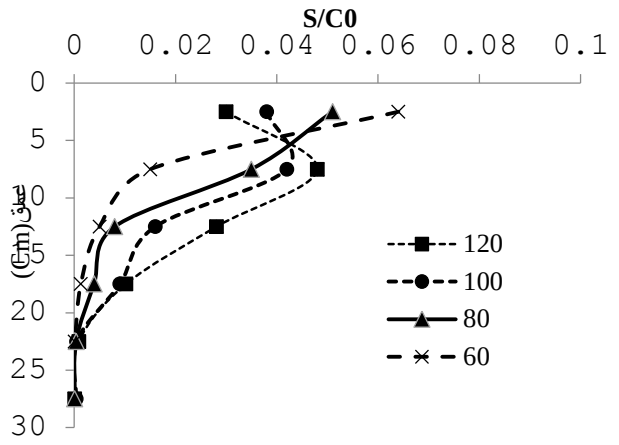
متوسط ماکزیمم دما، متوسط دما و متوسط حداقل دما در محل انجام آزمایش در طول دوره پنج آبیاری ۳۲/۲، ۱۹/۲ و ۶ درجه سلسیوس بود. متوسط رطوبت خاک قبل از آبیاری در تیمارهای T60، T80، T100 و T120 ۱۵، ۱۷/۰، ۱۷/۸ و ۱۹/۲ و بعد آبیاری در تیمارهای ۶۰، ۸۰، ۱۰۰ و ۱۲۰ به ترتیب ۲۲/۰۷، ۲۵/۸۲، ۲۸/۰۳ و ۳۱/۵ درصد حجمی بود.

انتقال باکتری (بدون جریان ترجیحی) بعد از آبیاری اول

شکل ۲ میزان نگهداشت باکتری در پیکره خاک و در ستون‌های بدون جریان ترجیحی را نشان می‌دهد. با توجه به شکل میزان غلظت باکتری *ایشرشیاکولی* با افزایش عمق کاهش یافته و این کاهش در تیمارهای کم‌آبیاری T80 و T60 قابل توجه است. بیش‌ترین تجمع باکتری در تمامی تیمارها در لایه سطحی خاک اتفاق افتاده است. میزان نسبت S/C0 در عمق ۲/۵ سانتی‌متری در تیمار T60 نسبت به تیمار آبیاری T120، T100 و T80 به ترتیب ۲/۱۱، ۱/۶۸ و ۱/۲۵ برابر بیش‌تر بود. متوسط میزان نگهداشت باکتری در لایه آخر در تیمارهای T120 و T100 بیش‌تر از تیمارهای کم‌آبیاری است چون در این تیمارها حجم آبیاری بیش‌تر بوده و سبب انتقال بیش‌تر باکتری نسبت به دو تیمار دیگر شده است. نتایج نشان می‌دهد که در عمق ۲۲/۵ سانتی‌متری خاک نسبت S/C0 در تیمار T120 در ستون‌ها به ترتیب ۱۱/۲۵، ۲/۸ و ۱/۹ برابر نسبت به تیمارهای T60، T80و T100 افزایش نشان داد.

خالد و همکاران دریافتند در شرایط جریان غیراشباع میزان نگهداشت باکتری در خاک بیش‌تر است و تجمع باکتری‌ها در لایه سطحی خاک بیش‌تر از اعماق خاک است که با نتایج این پژوهش هم‌خوانی دارد (Khaled et al., 2017).

1- retention



شکل ۲- میزان نگهداشت باکتری در پیکره خاک با سطوح آبیاری مختلف در شرایط بدون جریان ترجیحی

بین افزایش عمق و میزان نگهداشت باکتری رابطه معکوسی وجود دارد و علت غیریکنواختی در توزیع نگهداشت باکتری در خاک نیز به دلیل پالایش فیزیکی است که تابعی از اندازه ذرات و نیروهای هیدرودینامیکی است میزان پالایش فیزیکی باکتری ایشرشیاکولی با کاهش اندازه ذرات محیط متخلخل (افزایش منافذ ریز در خاک) و کاهش سرعت جریان افزایش می‌یابد و (Bradford et al., 2006). می‌توان بیان کرد در شرایط غیراشباع و در تیمارهای کم‌آبیاری به دلیل کاهش میزان سرعت جریان آب در پیکره خاک، احتمال پالایش فیزیکی نسبت به تیمارهای دیگر بیش‌تر است و هر چه میزان رطوبت به شرایط اشباع نزدیک‌تر باشد، حرکت باکتری آسان‌تر شده و میزان نگهداشت باکتری در طول پروفیل خاک کاهش می‌یابد (Powelson and Mills, 2001). از آنجائی که مکانیسم انتقال باکتری بیشتر بر مبنای انتقال توده‌ای (Advection) تا انتقال پخشیدگی است لذا آب نقش بسیار مهمی در انتقال بر عهده دارد و کمبود آب می‌تواند شدت انتقال را کاهش دهد که نتایج این پژوهش نیز حاکی از آن است که بیشترین انتقال باکتری توسط تیمار T120 و کمترین انتقال باکتری توسط تیمار T60 انجام شده است. لی و ون دریافتند اعمال کم‌آبیاری سبب می‌شود میزان غلظت باکتری در عمق پنج سانتی‌متری سطح خاک با آبیاری قطره‌ای سطحی افزایش غیرمعنی‌داری یابد (Li and Wen, 2016). فرخیان فیروزی و همکاران بیان کردند در شرایط غیراشباع عمده باکتری‌ها در سطح خاک نگهداشته و با افزایش عمق مقدار نگهداشت باکتری کاهش می‌یابد (Farrokhian Firouzi, 2015). در رطوبت‌های نزدیک به اشباع انتقال باکتری سریع‌تر صورت می‌گیرد و جذب باکتری در خاک درشت‌بافت کاهش می‌یابد ولی به دلیل پالایش فیزیکی تجمع و نگهداشت باکتری در سطح خاک بیش‌تر است (Powelson and Mills., 2001, Jiang et al., 2005).

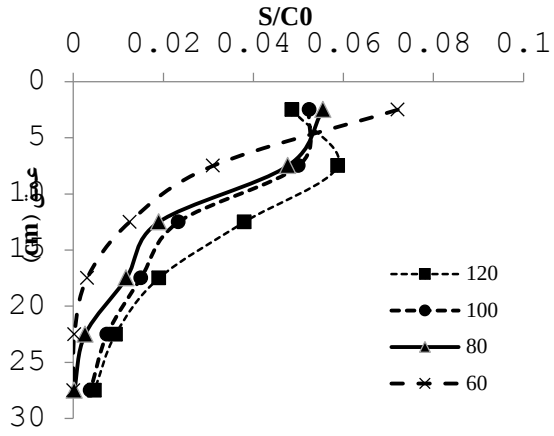
نگهداشت باکتری در شرایط وجود جریان ترجیحی بعد از آبیاری اول

شکل ۳ میزان نگهداشت باکتری در نزدیک جریان ترجیحی را نشان می‌دهد. متوسط میزان نگهداشت باکتری در عمق ۲/۵ سانتی‌متری در تیمار T60 نسبت به تیمارهای T120، T100 و T80 به ترتیب ۱/۴۸، ۱/۳۷ و ۱/۳۰ برابر بیش‌تر گردید و نتایج نشان می‌دهد در شرایط جریان ترجیحی انتقال باکتری در سطح خاک بیش‌تر صورت گرفته است. نسبت میزان نگهداشت باکتری در تیمار T60 در ناحیه نزدیک به جریان ترجیحی نسبت به همین تیمار در ستون بدون جریان ترجیحی ۱۳ درصد بیش‌تر است. در ستون‌های با شرایط جریان ترجیحی میزان نگهداشت باکتری در عمق ۲۲/۵ سانتی‌متری در تیمار T120به ترتیب ۳۹/۵، ۳/۵۷و ۱/۲۵ برابر نسبت به تیمارهای T60، T80و T100 گردید که بیان‌گر این است که با کاهش سطح آبیاری میزان انتقال باکتری به لایه‌های پایین‌تر در ستون خاک کاهش می‌یابد. در واقع می‌توان بیان کرد اثر جریان‌های ترجیحی در تیمارهای با سطح آبیاری بالاتر بیش‌تر است زیرا حجم زیادی از آب را در پیکره خاک وارد می‌کنند و با حرکت پیستونی شکل سبب انتقال آلودگی به عمق بیش‌تر می‌شود (and Goss, Ehlers 2003). انصاری و همکاران (۱۳۹۸) و احمدی‌مقدم و همکاران (۱۳۹۷) بیان کردند میزان هدایت هیدرولیکی اشباع تأثیر زیادی بر انتقال املاح در خاک و بر منحنی رخنه دارد.

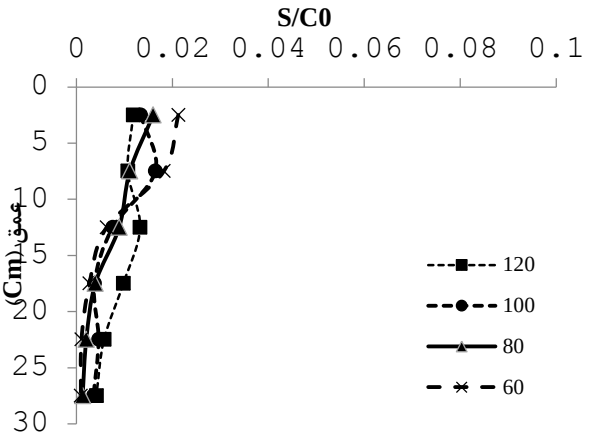
شکل ۴ میزان نگهداشت باکتری داخل ناحیه جریان ترجیحی را در اعماق مختلف خاک نشان می‌دهد. بر اساس شکل میزان جذب

در ناحیه جریان ترجیحی ناچیز است به دلیل بالا بودن میزان هدایت هیدرولیکی درون ناحیه جریان ترجیحی شدت جریان بیش‌تر است و سبب حرکت آب و آلاینده به سمت پیکره خاک شده است. بر اساس شکل ۴ نیز میزان انتقال باکتری در تیمارهای با سطح آبیاری بالاتر، بیش‌تر از تیمارهای کم‌آبیاری است به طوری که میزان نگهداشت باکتری در عمق ۲۷/۵ سانتی‌متری در تیمار T120نسبت به تیمارهای T100، T80 وT60 به ترتیب ۸/۲۵، ۲/۱ و ۴/۵ برابر بیش‌تر گردید. وانگ و همکاران و اخوان و همکاران نیز با بررسی اثر جریان ترجیحی بر انتقال باکتری دریافتند میزان نگهداشت باکتری در ناحیه مصنوعی ایجاد شده جریان ترجیحی، ناچیز است (Wang et al., 2013, Akhavan et al., 2018).

مقایسه شکل‌های ۳ و ۴ نیز نشان می‌دهد میزان نگهداشت باکتری در تمامی اعماق در داخل ناحیه ترجیحی کمتر از میزان نگهداشت در پیکره خاک است به طوری که در عمق ۷/۵ سانتی‌متری میزان نگهداشت باکتری در ناحیه پیکره خاک در تیمارهای T120،T100، T80 و T60 به ترتیب ۵/۲، ۳، ۴/۳ و ۱/۹ برابر نسبت به تیمار نظیرشان در داخل ناحیه جریان ترجیحی است و بیانگر انتقال بیش‌تر و جذب کمتر باکتری‌ها در داخل ناحیه جریان ترجیحی است.



شکل ۳- نگهداشت باکتری نزدیک به ناحیه جریان ترجیحی



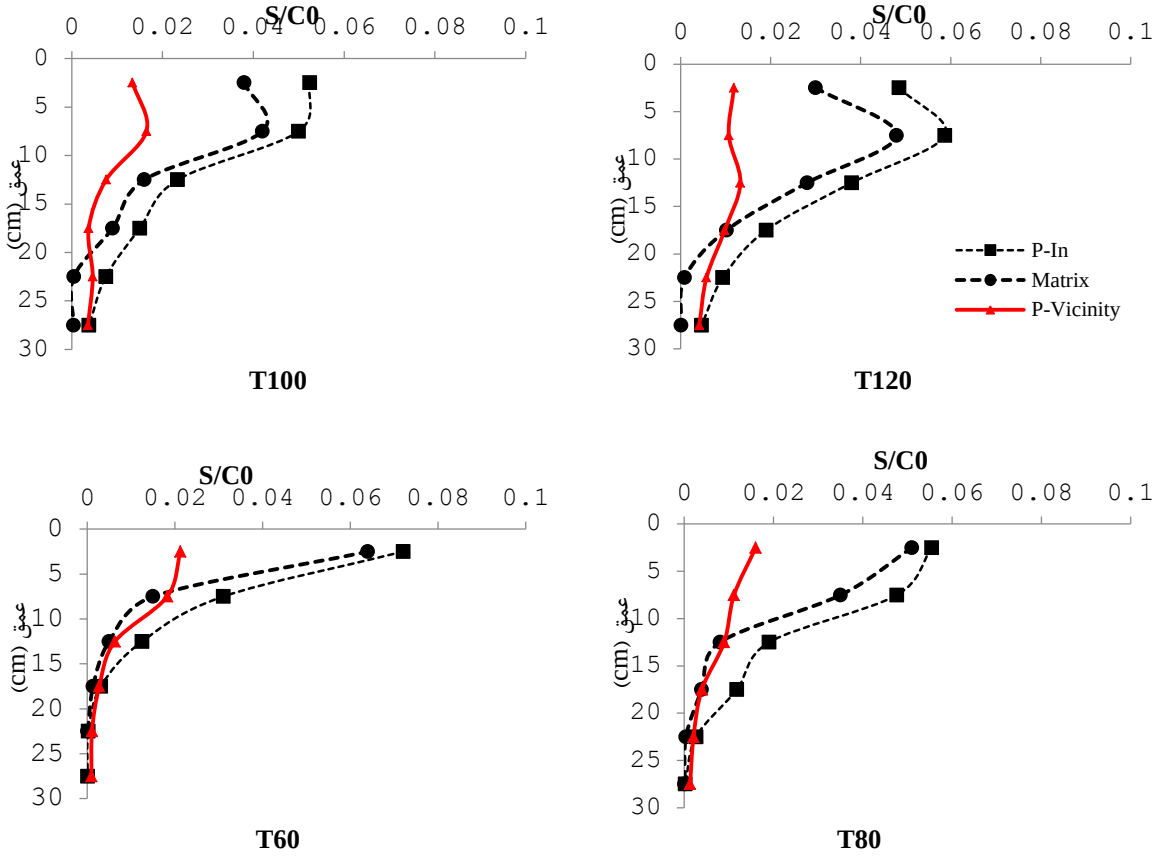
شکل ٤- نگهداشت باکتری در داخل ناحیه جریان ترجیحی

به دلیل عدم وجود بار منفی ذرات و هیچ‌گونه ماده آلی در ناحیه جریان ترجیحی، میزان باکتری در این ناحیه در اثر نگهداشت فیزیکی است. بردفورد و همکاران بیان کردند اگر نسبت اندازه ذرات کلوئید به اندازه ذرات خاک بزرگتر از ۰/۲ درصد گردد احتمال پالایش فیزیکی افزایش می‌یابد. قطر متوسط ذرات شن در داخل ناحیه جریان ترجیحی این پژوهش ۱/۰ میلی‌متر و قطر ذرات باکتری سویه مورد بررسی ۳ میکرومتر است و نسبت آن‌ها ۰/۲۵ درصد می‌گردد لذا نگهداشت فیزیکی می‌تواند نقشی در نگهداشت باکتری در این ناحیه داشته باشد (Bradford et al., 2003).

نگهداشت باکتری در شرایط حضور و عدم حضور جریان ترجیحی بعد از آبیاری اول

در شکل ۵ میزان نگهداشت باکتری را در پیکره خاک (بدون جریان ترجیحی Matrix)، در نزدیک ناحیه جریان ترجیحی (P-vicinity) و داخل ناحیه ترجیحی (P-In) مقایسه می‌کند. بر اساس شکل میزان نگهداشت باکتری در نزدیک جریان ترجیحی بیش‌تر از ستون‌های بدون جریان ترجیحی شده و این میزان در تیمارهایی با سطح آبیاری بیش‌تر مشهودتر است. علت افزایش بیش‌تر نگهداشت باکتری در مجاورت ناحیه جریان ترجیحی نشان دهنده انتقال جرم از سمت ناحیه جریان ترجیحی به پیکره خاک است (Wang et al., 2013) که شاید علت این امر به دلیل پتانسیل ماتریک بیش‌تر خاک در اطراف ناحیه جریان ترجیحی و بالاتر بودن میزان سطح ویژه خاک با بافت لوم‌شنی نسبت به خاک شنی دانست. همچنین بر اساس نتایج پژوهش‌های انجام شده انتقال باکتری در منافذ ماکرو زمانی صورت می‌گیرد که شرایط محیط متخلخل مرطوب باشد و باکتری‌ها معلق در این حالت از منافذ ماکرو عبور می‌کنند به همین دلیل میزان انتقال باکتری در شرایط اشباع نسبت به حالت غیراشباع بیش‌تر است (Unc and Goss, 2003). بر اساس شکل ۵، میزان انتقال باکتری در نزدیک جریان‌های ترجیحی به اعماق خاک بیش‌تر شده است به طوری که میزان نگهداشت باکتری در عمق ۲۷/۵ سانتی‌متری خاک تیمارها با سطح آبیاری T120، T100 و T80 به ترتیب ۱۱، ۱۵/۹ و ۷/۳ برابر نسبت به تیمارهای نظیرشان در شرایط بدون جریان

ترجیحی شده است. در تیمار T60 در ستون بدون جریان ترجیحی میزان نگهداشت باکتری در عمق ۲۷/۵ سانتی‌متری خاک صفر بود در حالی که در حالت جریان ترجیحی ۲۱۰۰ کلنی باکتری مشاهده شد. بر اساس شکل در داخل ناحیه جریان ترجیحی در تمامی تیمارها میزان نگهداشت باکتری در پروفیل خاک دارای روند تغییرات کمتری نسبت به پیکره خاک در حالت بدون جریان ترجیحی و در نزدیک به ناحیه جریان ترجیحی است. گلبداغی (۱۳۹۰) نیز بیان کرد در شرایط وجود جریان ترجیحی انتقال باکتری به اعماق پروفیل خاک بیش‌تر است. زند سلیمی و همکاران (۱۳۸۵) نیز دریافتند در خاک‌های دست نخورده به دلیل حفظ ساختمان خاک و حضور جریان‌های ترجیحی میزان انتقال باکتری به عمق نسبت به خاک دست‌خورده بیش‌تر است.



شکل ۵- مقایسه تغییرات نگهداشت باکتری بعد از آبیاری اول

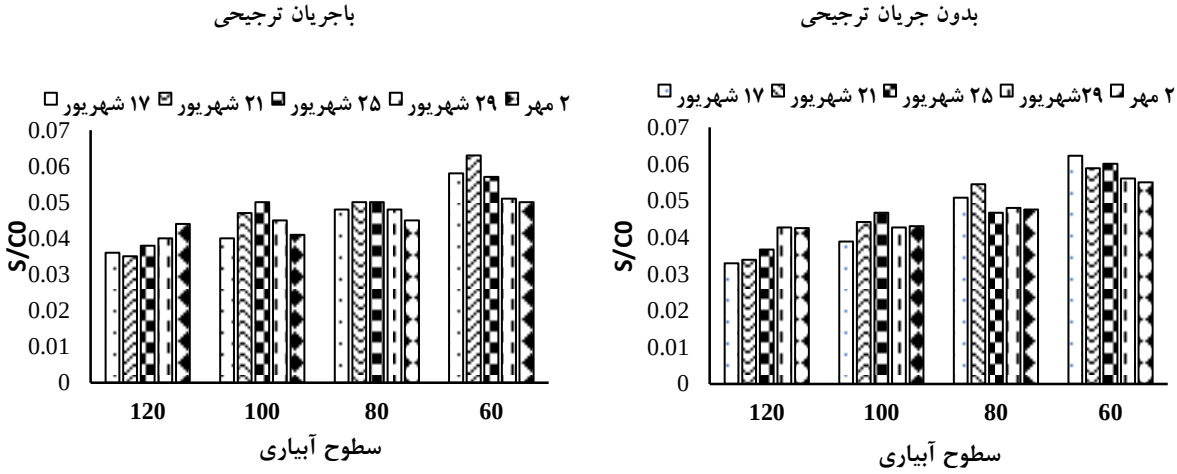
در پیکره خاک (Matrix)، نزدیک به ناحیه جریان ترجیحی (P-Vicinity) و درون ناحیه جریان ترجیحی (P-In)

تغییرات نگهداشت باکتری در لایه سطحی خاک

در شکل ۶ میزان نگهداشت باکتری به غلظت ورودی باکتری (S/C0) در عمق ۵ سانتی‌متری سطح خاک در چهار سطح آبیاری را در ماتریکس ستون‌های بدون جریان ترجیحی و جریان ترجیحی را نشان می‌دهند. چون مواد آلی در تیمارها ثابت بود اختلاف میزان باکتری‌ها در تیمارها بیش‌تر تحت تأثیر شرایط رطوبتی قرار گرفته است. بر اساس شکل اوج غلظت باکتری در آبیاری سوم در تیمارهای T120 و T100 مشاهده می‌شود که بعد از گذشت ۸ روز از شروع اولین آبیاری است. در تیمارهای با سطح آبیاری بالاتر غلظت باکتری در سطح خاک با افزایش تعداد آبیاری بیش‌تر از تیمارهای کم‌آبیاری شده است که بیانگر اهمیت میزان رطوبت خاک بر حفظ و بقای باکتری‌ها است. در تیمار T60 و T80 میزان باکتری در آبیاری‌های مختلف تغییرات قابل توجهی را بعد از آبیاری دوم به بعد ندارد زیرا در این تیمار به دلیل حجم آب کمتر سطح خاک دارای رطوبت نسبتاً کمتری از تیمارهای دیگر بودند و به دلیل رطوبت کمتر باکتری‌ها بقای کمتری را داشتند. افزایش دمای بالای ۲۰ درجه سلسیوس سبب افزایش میزان مرگ و میر باکتری می‌شود (Taylor and Burrows, 1971, McFeters & Stuart., 1972) و باکتری‌ها در دمای پایین‌تر

از ۱۵ درجه سلسیوس دارای رشد بهتری است (Kemp et al., 1992). در طول دوره آزمایش این پژوهش حداکثر دمای تمامی روزها بالاتر از ۳۰ درجه سلسیوس و متوسط دمای روزانه ۱۹ درجه سلسیوس بود. به دلیل بالابودن دمای محیط و افزایش تبخیر نگهداشت باکتری‌ها در سطح خاک در تیمارهای کم‌آبیاری افزایش قابل‌توجهی را نداشته است. گرمای بیش از حد نور خورشید با اثر روی اسیدهای نوکلئیک ریزجانداران سبب کاهش زنده‌مانی آن‌ها می‌شود به ویژه در خاک‌های بابافت سبک که دارای هدایت حرارتی بالاتری هستند (Brown, 2001).

میزان نگهداشت باکتری در عمق ۵ سانتی‌متری خاک در تیمارهای با سطح آبیاری T120، T100 بعد از آبیاری پنجم در حالت بدون جریان ترجیحی نسبت به آبیاری اول به ترتیب ۲۹/۵ و ۱۰/۸ درصد افزایش داشت ولی در تیمار T60 و T80 به ترتیب ۱۱/۶ و ۶/۳۱ درصد کاهش داشتند. میزان نگهداشت باکتری در عمق ۵ سانتی‌متری خاک در تیمارهای T120، T100 بعد از آبیاری پنجم ۲۲/۲ و ۲ درصد افزایش داشتند ولی در تیمار T60 و T80 به ترتیب ۱۴ و ۸ درصد کاهش داشت. بعد از آبیاری سوم در هر دو حالت میزان باکتری در تیمار T100 کاهش یافته است و در تیمار T120 روند افزایشی غیرمعنی‌داری دیده می‌شود. استوکر و همکاران بیان کردند که میزان بقای باکتری در لایه سطحی خاک با گذر زمان (بلند مدت) در خاک کاهش می‌یابد و تجمع باکتری در لایه سطحی خاک بیش‌تر از اعماق است (Stocker et al., 2015).

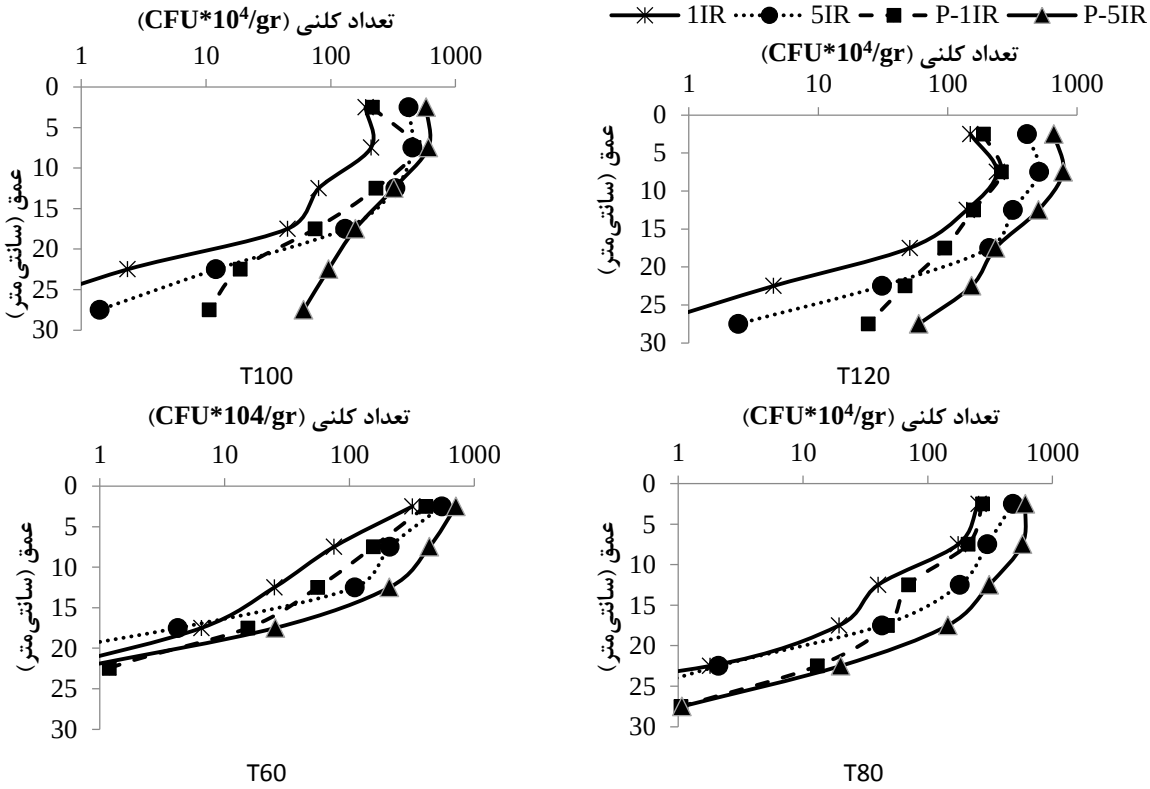


شکل ٦- روند تغییرات نگهداشت باکتری بعد از هر آبیاری در سطح خاک در سطوح مختلف آبیاری

تغییرات نگهداشت باکتری در پروفیل خاک بعد از آبیاری پنجم

شکل ۷ توزیع باکتری در عمق های مختلف خاک در سطوح آبیاری مختلف بعد از آبیاری اول و بعد از آبیاری پنجم در دو ناحیه نزدیک به جریان ترجیحی (ستون‌های دارای شرایط جریان ترجیحی) و ناحیه پیکره خاک (بدون جریان ترجیحی) آورده شده است. بر اساس این شکل‌ها نگهداشت باکتری در تیمارهای T60 و T80 به ترتیب در عمق بیش‌تر از ۱۷/۵سانتی‌متری خاک نسبت به دو تیمار دیگر در دو حالت کم‌ترگردید. از دلایل آن می‌توان به حجم کمتر آبیاری (آبشویی) و نفوذ کم‌تر آب و آلاینده به لایه‌های پایینی خاک اشاره کرد و همچنین میزان رطوبت اولیه این دو تیمار در آبیاری‌های دوم به بعد کم‌تر از تیمارهای T120 و T100 بوده و کاهش رطوبت این تیمارها سبب مرگ‌و میر بیشتر باکتری‌ها و کاهش انتقال باکتری در عمق نسبت به دو تیمار دیگر شده است. منحنی‌های نگهداشت باکتری بعد از آبیاری پنجم در شرایط جریان ترجیحی مشابه آبیاری اول بیانگر این است که بعد از آبیاری پنجم میزان انتقال باکتری بیش‌تر از ستون‌های بدون جریان ترجیحی در نزدیک به ناحیه جریان ترجیحی اتفاق افتاده است. بعد از آبیاری پنجم در تیمارهای T120 و T100 در عمق‌هایی مختلف در هر دو شرایط بدون و با جریان ترجیحی نگهداشت باکتری افزایش یافته است و می‌توان علت آن را بقای باکتری به دلیل شرایط رطوبتی بهتر نسبت به تیمارهای کم‌آبیاری بیان کرد. زنده ماندن باکتری ایشریشیاکولی تابع دما، شرایط رطوبتی و میزان مواد غذایی است. اگر شرایط مناسب باشند باکتری‌ها به رشد خود ادامه می‌دهند (Byappanahalli and Fujioka, 1998; Gagliardi and Karns, 2000). در این پژوهش تغییر شرایط رطوبتی خاک به ویژه در تیمارهای کم آبیاری و شرایط دمایی زنده‌ماندن باکتری‌ها را تحت تأثیر قرار داده است. عدم سازگاری متابولیسم باکتری‌ها با کمبود مواد غذایی در خاک سبب کاهش طول عمر آن‌ها می‌شود که این مورد برای باکتری *ایشریشیاکولی* نیز صادق است (Klein and Caida, 1967). مایسنر و همکاران نیز بیان کردند که نوسانات رطوبت خاک سبب ایجاد

رویدادهای خشک و مرطوب می‌شود و بر فعالیت ریزجانداران اثر گذار است (Meisner et al., 2017). در جدول ۳ میزان شاخص نگهداشت باکتری در اعماق مختلف خاک در ستون بدون جریان ترجیحی (پیکره خاک) بعد از آبیاری اول و آبیاری پنجم آورده شده است. بر اساس جدول ۳ میزان شاخص نگهداشت در عمق‌های ۵-۰ و ۱۰-۵ بیش‌ترین مقادیر را در تمامی تیمارها بعد از آبیاری اول و پنجم دارد و نشان‌دهنده میزان پالایش بالا در عمق سطحی ده سانتی‌متری خاک است.



شکل ۷- مقایسه تغییرات نگهداشت باکتری بعد از آبیاری اول و پنجم در پروفیل ستون‌های خاک با سطوح آبیاری مختلف(IR1 و IR5 در پیکره خاک بدون جریان ترجیحی بعد از آبیاری اول و آبیاری پنجم، P-IR1 و P-IR5 نزدیک به جریان ترجیحی بعد از آبیاری اول و پنجم)

جدول ۳- میزان شاخص نگهداشت باکتری بر حسب درصد در عمق‌ها و سطوح آبیاری مختلف (در پیکره خاک)

سطح آبیاری	۱۲۰		۱۰۰		۸۰		۶۰	
عمق خاک	IR1	IR5	IR1	IR5	IR1	IR5	IR1	IR5
۵-۰	۲۲/۴	۲۲/۶	۳۳	۲۳/۱۸	۴۹/۶۷	۲۶/۵	۶۸,۳۷	۳۰/۳۵
۱۰-۵	۶۰/۵۸	۱۶/۹	۴۰	۱۶	۳۵/۹	۱۴/۳	۱۶	۱۳/۹۸
۱۵-۱۰	۱۵/۹۶۶	۱۵/۳	۱۶/۵	۱۴/۳	۸/۲	۸/۸	۵/۳۷	۵/۹
۲۰-۱۵	۰/۸۳	۹/۷۵	۸/۵	۸/۴	۴	۴/۱	۱/۴	۲/۱
۲۵-۲۰	۰/۴	۴/۴۵	۰/۵	۲/۶	۰/۴	۰/۸	۰/۰۹	۰/۰۸
۳۰-۲۵	۰/۰۷۳	۰/۶۲	۰/۰۵	۰/۲۵	۰/۰۱	۰/۰۴	۰/۰	۰/۰
مجموع	۱۰۰	۶۹/۷	۹۸	۶۴/۸۶	۹۸	۵۴/۶۵	۹۱/۴	۵۲/۵

متوسط میزان شاخص نگهداشت باکتری در دو آبیاری ده سانتی‌متر عمق سطحی خاک در تیمارهای T60، T80، T100 و T120 به ترتیب به ترتیب ۴۴/۹، ۵۷، ۶۳ و ۶۴/۴۲ درصد گردید. بعد از آبیاری پنجم در تیمارهای T80 و T60 میزان نگهداشت باکتری این لایه نسبت به آبیاری اول کاسته شده و در این دو تیمار نسبت به تیمارهای T120 و T100 میزان انتقال باکتری به لایه‌های پایین‌تر از ۱۵ سانتی‌متری محدود شده است. از عمق ۱۵ سانتی‌متری تا ۳۰ سانتی‌متری در این دو تیمار میزان نگهداشت باکتری نسبت به آبیاری

اول به دلیل آبشویی کمتر، برخلاف تیمارهای T100 و T120 کاسته شده است.

غلظت باکتری زه‌آب خروجی

بیش ترین سطح آبیاری ستون ها ۱۲۰ درصد نسبت به ظرفیت مزرعه بوده و رطوبت خاک‌ها به حد اشباع نرسیدند و زه‌آب خروجی در تیمارها حتی در شرایط جریان ترجیحی مشاهده نشد و تنها در تیمار ۱۲۰ درصد ظرفیت مزرعه زه‌آب خروجی بعد از یک آبیاری رخ داد و بیانگر این است که در شرایط آبیاری واقعی میزان پالایش فیزیکی در خاک نسبت به شرایط اشباع بیش‌تر است و انتقال باکتری به اعماق پایین‌تر کاهش می‌یابد. در آبیاری سوم در تیمار ۱۲۰ درصد با جریان ترجیحی حدود ۱۰۵ سی‌سی خروجی داشت. میزان غلظت باکتری در زه‌آب خروجی در آبیاری سوم ۴۵۰ کلنی در میلی‌لیتر شد و سهم عمده جریان آب و آلاینده در ناحیه جریان ترجیحی به سمت پیکره خاک اتفاق افتاده است. ضریب نگهداشت رابطه دوبرابر ۳۹درصد محاسبه شد که نشان‌دهنده بالا بودن میزان فیلتراسیون باکتری در خاک مورد مطالعه است.

نتیجه‌گیری

بر اساس این پژوهش، یافته‌های زیر به دست آمد:

- میزان نگهداشت باکتری با افزایش عمق خاک کاهش می‌یابد. این موضوع نشان دهنده این است که خاک همانند یک فیلتر طبیعی در پالایش آلاینده‌های میکروبی عمل می‌کند. با افزایش میزان سطح آبیاری میزان نگهداشت باکتری در اعماق پایین‌تر خاک بیش‌تر می‌شود به طوری‌که در تیمار T120 میزان نگهداشت باکتری در عمق ۲۷/۵ سانتی‌متری در حالت بدون جریان ترجیحی ۱۱ برابر بیش‌تر از تیمار T60 گردید و در ناحیه جریان ترجیحی میزان نگهداشت باکتری در عمق ۲۷/۵ سانتی‌متری در تیمار T120حدود ۴/۵ برابر بیش‌تر از تیمار T60 در همین عمق بود.
- با اعمال کم‌آبیاری در ستون‌هایی با رطوبت اولیه یکسان، انتقال باکتری کاهش و تجمع بیش‌تر باکتری‌ها در سطح خاک اتفاق می‌افتد به طوری که در تیمار با سطح آبیاری ۶۰ درصد (T60) متوسط میزان تجمع باکتری در نزدیک به ناحیه ترجیحی ۱/۲۸و در ستون بدون جریان ترجیحی ۱/۸ برابر نسبت به میزان نگهداشت باکتری در سطح آبیاری ۱۲۰ درصد شد. تجمع بیش از حد باکتری در سطح خاک احتمال ورود آلاینده به آب‌های سطحی و آلوده شده محصولات کشاورزی را افزایش می‌دهد.
- در جریان غیراشباع و شرایط کم‌آبیاری بیش‌تر بودن هدایت هیدرولیکی جریان در ناحیه جریان ترجیحی و همچنین بالابودن میزان پتانسیل ماتریک خاک اطراف ناحیه جریان ترجیحی و سطح ویژه آن، سبب افزایش غلظت آلاینده در مرز بین ناحیه جریان ترجیحی و پیکره خاک می‌شود. در تیمار با سطح آبیاری ۱۲۰ و ۱۰۰ درصد متوسط میزان نگهداشت باکتری در لایه سطحی خاک (پنج سانتی‌متری) در محل نزدیک به جریان ترجیحی حدود ۲۵ و ۱۴ درصد نسبت به تیمار نظیرش در حالت بدون جریان ترجیحی بیش‌تر شد. این مسئله نشان می‌دهد وجود جریان‌های ترجیحی در پیکره خاک در مناطقی با حجم بارندگی زیاد (که احتمال اشباع شدن خاک وجود دارد) اهمیت دارد و احتمال انتقال آلاینده به اعماق خاک را افزایش می‌دهد. بالعکس در مناطق با بارندگی کم، نقش جریانات ترجیحی در انتقال آلودگی به اعماق بسیار کم‌رنگ می‌شود و در عوض در نواحی نزدیک به جریانات ترجیحی تجمع باکتری وجود خواهد داشت.
- به دلیل کاهش رطوبت در سطح خاک به ویژه در تیمارهای کم‌آبیاری T60 و T80 انتقال آلاینده و جریان آب به اعماق پایین‌تر از ۱۷/۵ و ۲۲/۵ سانتی‌متر محدود می‌گردد و سبب تجمع باکتری بیش‌تر در سطح خاک می‌گردد به طوری که تجمع باکتری در تیمار T60 حدود ۷۰ دصد و در تیمار T80 در حدود ۵۰ درصد در عمق پنج سانتی‌متری خاک شد.

منابع

احمدی‌مقدم، ز. و طباطبائی، س.ح. تعیین دقت دو مدل CDE وMIM با استفاده از روش حل معکوس در انتقال آلودگی تری‌کلرواتیلن (TCE) در یک محیط متخلخل کربناته، نشریه مهندسی نشریه مهندسی عمران امیرکبیر، ۵۲(۱): ۱۱-۱.

اخوان، س.، ابراهیمی، س.، نوابیان، م.، مجتهدی، ع.، شعبانپور، م. و موحدی نایینی، ع. ۱۳۹۸. بررسی شاخص‌های جذبو پالایش ترابری باکتری ای‌کولای در سیستم‌جریان ترجیحی، مجله علمی کشاورزی مهندسی زراعی.۴۲(۱): ۱-۱۱.

انصاری، ف.، طباطبائی، س.ح.، عباسی، ف، و علایی، ا. ۱۳۹۸. آنالیز حساسیت پارامترهای هیدرولیکی محیط متخلخل در حل معکوس انتقال برومید، نشریه علوم آب و خاک(علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی)، ۲۳ (۳): ۳۶۶-۳۵۵.

زند سلیمی، س.، محبوبی، ع.ا.، مصدقی، م.ر.، رشیدیان، م، و فیروز منش، م. ۱۳۸۵. بررسی اثر تیمارهای خاک بر منحنی رخنه باکتری اشریشیاکولی آزاد شده از کودهای آلی مختلف، مجله آب و فاضلاب.۵۹: ۶۳-۷۴.

گلبداغی، ن. ۱۳۹۰. حرکت باکتری اشریشیاکولی در ستون‌های دست نخورده خاک‌های با بافت و مدیریت کشت متفاوت، پایان نامه ارشد رشته مهندسی کشاورزی خاکشناسی گرایش فیزیک و حفاظت خاک، دانشگاه بوعلی سینا همدان.

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

Allaire, S.E., Gupta, S.C., Nieber, J., and Moncrief, J.F. 2002b. Role of macropore continuity and tortuosity on solute transport in soils: 1. Effects of initial and boundary conditions. Journal of Contaminant Hydrology 58(3-4):299-321.

Abu-Ashour, J., Joy, D.M., Lee, H., Whiteley, H.R., and Zelin, S. 1994. Transport of microorganisms through soil. Water Air Soil Pollution 75:141–158.

Akhavan, S., Ebrahimi, S., Mojtahedi, A., Navabian, M., Shabanpour, Ma., and Movahedi Naeini, A.2019. Simulation of columnar transfer and retention of Escherichia coli bio-pollutant index in a saline saturated soil. International Journal of Engineering and Technology 10(4):1067-1075.

Bradford, S.A., Simunek, J., and Walker, S.L. 2006. Transport and straining of Ecoli O157: H7 in saturated porous media. Water Resources Research 42(12).

Bradford, S.A., Wang, Y., Kim, H., Torkzaban, S., and Šimůnek, J. 2014. Modeling microorganism transport and survival in the subsurface. Journal of Environmental Quality 43 (2): 421–440

Blake, G.R., and Hartge, K.H. 1986. Bulk density. In: Klute, A., Ed., Methods of Soil Analysis, Part 1— Physical and Mineralogical Methods, 2nd Edition, Agronomy Monograph 9, American Society of Agronomy-Soil Science Society of America, Madison, 363-382.

Byappanahalli, M., and Fujioka, R. 1998. Evidence that tropical soil environment can support the growth of Escherichia coli. Water Science Technolgy 38:171–174.

Connie, R., Mahon, Donald C., Lehman, George Manuselis. Textbook of diagnostic microbiology, 2011.Chapter 1, page 14.

Ehlers, W., and Goss, M. 2003. Water Dynamics in Plant Production. CABI Publishing., PP288.

Farrokhian Firouzi, A., Homaee, M., Klumpp, E., Kasteel, R., and Tappe, W. 2015. Bacteria transport and retention in intact calcareous soil columns under saturated flow conditions. J. Hydrol. Hydromech., 63(2):102–109.

Gee, G.W., and Bauder, J.W. 1986. Particle-size analysys, hydrometer method. PP. 404-408. In: A. Klute et al., (Eds). Methods of Soil Analysis. Part III, 3rd Ed. American Society of Agronomy, Madison, WI.

Gagliardi, J.V., and Kams, J.S. 2000. Leaching of Escherichia coli O157:H7 in diverse soils under various agricultural management practices. Appl Env Microbiol., 66: 877-883.

Guber, A.K., Shelton, D.R., and Pachepsky, Y.A. 2005. Transport and retention of manure-borne coliforms in soil. Vadose Zone J. 4, 828–837.

Jiang, S., Pang, L., Buchan, G.D., Simunek, J., Noonan, M.J., and Close, M.E. 2010. Modeling water flow and bacterial transport in undisturbed lysimeters under irrigations of dairy shed effluent and water using HYDRUS-1D. Water Research (Oxford)., 44(4): 1050-1061.

Khaled, S. 2017. Modeling fecal bacteria transport and retention in agricultural and urban soil under saturated and unsaturated flow conditions. Water Research 110:313-320.

Klute, A. 1986. Water retention: laboratory methods. PP. 635 – 662. In: Klute, A. (Ed.) Method of Soil Analysis. Part 1: Physical and Mineralogical Methods. 2nd ed., ASA/SSSA Monograph.

Klein, D.A. and Caida, L.E. 1967. Escherichia coli die out from normal soil as related to nutrient availability and the indigenous microflora Can. J. Microboial., 13:1461-1470.

Kemp, J.S., Paterson, E., Gammack, S.M., Cresser, M.S., and Kiliham, K. 1992. Leaching of genetically modified Pseudomonas fluorescens through organic soils: Influence of temperature, soil pH, and roots. Biol Fertil Soils., 13:218-224.

Lehmann, J., Rillig, M.C., Thies, J., Masiello, C.A., Hockaday, W.C., and Crowley, D. 2011. Biochar effects on soil biota — a review. Soil Biol. Biochem. 43: 1812–1836.

Li, J., and Wen, J. 2016. Effects of water managements on transport of E. coli in soil-plant system for drip irrigation applying secondary sewage effluent. Agricultural Water Management 178 12–20.

Mathess, G., Peckdegger, A., and Schroefer, J. 1988. Persistence and transport of bacteria and viruses in groundwater-a conceptual evaluation. Journal of Contaminant Hydrology 2: 171-188.

Meisner, A., Leizeaga, A., Rousk, J., and Baath, E. 2017. Partial drying accelerates bacterial growth recovery to rewetting. Soil Biology & Biochemistry 112:269-276.

Mcfeters, G.A., and Stuart, D.G. 1972. Survival of coliform bacteria in natural waters. Field and

Escherichia coli and Salmonella Dublin in slurry on pasture and the infectivity of S. Dublin for grazing calves. Br. Vet. J., 127: 536-543.

Tate, R.L. 1978. Cultural and encvironmental factors affecting the longevity of Escherichia coli in histosols. Applied and Environmental Microbiology 35: 925-929.

Torkzaban, S., Bradford, S.A., van Genuchten, M.T. and Walker, S.L. 2008. Colloid transport in unsaturated porous media: The role of water content and ionic strength on particle straining. Journal of Contaminant Hydrology 96: 113–127.

Unc, A., and Goss, M.J. 2003. Movement of faecal bacteria through the vadose zone. Water, Air, and Soil Pollution 149: 327-337.

Tabatabaei, S.H., Nourmahnad, N., Golestani Kermani , So., Tabatabaei S.A., Heidarpour, M. and Najafi, P. 2020. Urban wastewater reuse in agriculture for irrigation in arid and semi-arid regions - A review. International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture 9: 193- 220

Wang, Y., Scott, A. and Simunek, J. 2013. Transport and fate of microorganisms in soils with preferential flow under different solution chemistry conditions. Journal Water Resource Research 49: 2424–2436.

Walkly, A., and Black, I.A. 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.

Wiliam M.M. 2012. Effects of Temperature and Soil Organic Content on the Growth and Survival of E. coli in Sandy Soil. Thesis Master of Science in Environmental Engineering. The American University in Cairo. The American University in Cairo School of Sciences and Engineering.

laboratory studies with membrane filter chambers. Appl. Microbiol. 24:805-811.

Mubiru DN., Coyne, MS. and Grove, JH. 2000 Mortality of Escherichia coli O157:H7 in two soils with different physical and chemical properties. J Environ Qual 29: 1821–1825.

Powelson, D.K. and Mills, A.L. 2001. Transport of Escherichia coli in sand columns with constant and changing water contents. Journal of Environmental Quality, 30: 238–245.

Skopp, J. 1981. Comment on ‘Micro-meso and macroporosity of soil. Soil Science Society of America Journal 45:1244–1246.

Stocker, M.D., Pachepsky, Y.A., Hill, R.L., and Shelton, D.R. 2015. Depth-dependent survival of Escherichia coli and enterococci in soil after manure application and simulated rainfall. Appl. Environ. Microbiol. 81:4801–4808.

Sasidharan, S., Torkzaban, S., Bradford, S.A., Kookana, R., Page, D., and Cook, P.G. 2016. Transport and retention of bacteria and viruses in biochar-amended sand. Science of the Total Environment. 548–549:100–109.

Sepehrniaa, N., Bachmann, J., Hajabbasia, M.A., Afyunia, M., and Horn, M.A. 2018. Modeling Escherichia coli and Rhodococcus erythropolis transport through wettable and water-repellent porous media. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 172: 280–287.

Soil Temperature. In G. 2002. Bonan, Ecological Climatology: Concepts and Applications (pp. 185-191). Cambridge University Press.

Tallon, P., Magajana, B., Lofranco, C., and Leung, K. 2005. Microbial indicator of fecal contamination in water: a current perspective. Water Air and Soil Pollution 166: 139-166.

Taylor, R.J., and Burrows, M.R. 1971. The survival of

Iranian Journal of Irrigation and Drainage
No. 6, Vol. 14, Feb.-Mar. 2021, p. 2203-2216

نشریه آبیاری و زهکشی ایران
شماره۶، جلد ۱۴، بهمن - اسفند ۱۳۹۹، ص. ۲۲۱۶-۲۲۰۳

Simultaneous Effects of Deficit Irrigation and Preferential Flow on *Escherichia coli* Retention in Soil

Z. Ahmadimoghadam[1*], S.H. Tabatabaei[2], A. Ebrahimi[3]
Recived: Jun.02, 2020 Accepted: Nov.14, 2020

Abstract

Microbial contamination is one of the most important type of water resources contamination as associated with the health of animal and human. In this study, *E. coli* retention under deficit irrigation conditions and presence of preferential flow was investigated using a column study. The irrigation levels were 120, 100, 80, and 60% of soil field capacity (named T120, T100, T80, and T60, respectively) and the number of irrigation event were five. One preferential pathway was artificially created in the middle of the soil columns. Cells were injected from top of the soil surface. The number of bacteria after irrigation in different layers was monitored. The results showed that by reducing the irrigation level from T120 to T60, bacterial transport decreased within the soil profile. The highest accumulation of bacteria was observed on the soil surface. In the T60, about 70% of the retention was at a depth of 5 cm. Therefore, deficit irrigation, could limit bacteria movement within the soil profile so that may potentially result the surface water contamination. Preferential flow, caused greater retention of bacteria in the vicinity of matrix as compared to the control columns. The bacterial retention in the vicinity of preferential pathway in the 0-5 cm layer irrigation level T120 and T100 was about 25% and 15% higher than the treatment similar to them in the non-preferential flow state.

Keywords: *Escherichia coli*, Matrix, soil Profile, Water pollution

1- Ph.D. Student in Department of Water Engineering, Shahrekord University, Shahrekord
2- Associate Professor, Department of Water Engineering, Shahrekord University, Shahrekord
3- Assistant Professor, Retired of Department of Microbiology, Shahrekord University, Shahrekord
(*- Corresponding Author Email: Zahmadimoghadam2014@gmail.com)