بررسی انتقال باکتری *اشرشیاکولی* در ستون‌های خاک اشباع تحت آب‌های با شوری مختلف

سحر اخوان فومنی[۱]، سهیلا ابراهیمی[۱]، مریم نوابیان[۲]، محمود شعبانپور[۲]، علی مجتهدی[۳] و علیرضا موحدی نایینی[۲]
۱-دانشجوی دکتری خاکشناسی دانشکده آب و خاک دانشگاه علوم کشاورزی گرگان، ۲-عضو هیئت علمی خاکشناسی دانشکده آب و خاک دانشگاه علوم کشاورزی گرگان،۳- عضو هیئت علمی دانشکده کشاورزی دانشگاه گیلان، ۴-عضو هیئت علمی دانشکده پزشکی دانشگاه گیلان

چکیده

هدف اصلی این پژوهش بررسی چگونگی وضعیت ترابری شاخص آلودگی در حضور جریان ترجیحی با قطور مختلف منافذ درشت و سطوح مختلف شوری آب در ستون های آزمایشی و پیش‌بینی شمای نگه‌داشت آلاینده میکروبی مورد بررسی در عمق‌های مختلف خاک بود. مطالعات آزمایشگاهی در سیستم جریان ترجیحی با منافذ درشت مصنوعی با قطرهای مختلف (۱ و ۲ سانتی‌متر) و تیمار شوری مختلف آب (۱، ۲ و ۴ دسی‌زیمنس بر متر) تحت جریان اشباع در سال ۱۳۹۵ انجام شد. منحنی رخنه کلرید قبل از باکتری سیر نزولی داشت و سوسپانسیون باکتری فاکتور تاخیر بیشتری را در مقایسه با باکتری دارا بود. نتایج نشان داد بیشینه مقدار اولیه باکتری با غلظت $۴^{-۱۰}$ در ستون‌های با هدایت الکتریکی ۴ دسی‌زیمنس بر متر بسیار سریع بود. به طوری که در عمق پنج سانتی متر، میزان نگه‌داشت باکتری حداکثر و برابر با $۱/۳ \times ۱۰^{۵}$ کلنی بر میلی لیتر بود. به طور کلی شدت آلودگی پساب ستون با قطر منافذ درشت دو سانتی متری، ۱/۲۴ برابر ستون بدون منافذ درشت بود.

واژه های کلیدی: *اشرشیاکولی*، جریان ترجیحی، منافذ درشت، منحنی رخنه.

مقدمه

در کشاورزی برای بهبود حاصل‌خیزی خاک از کودهای گاوی استفاده می‌شود. راه‌یابی آلاینده‌ها به منابع آبی از طریق فعالیت‌های انسانی مانند کودهای دامی می‌تواند منجر به آلودگی آب‌های سطحی و زیرزمینی شود (فرهنگی و همکاران، ۱۳۹۱). هم چنین عملکرد کاربرد آب شور نسبت به شرایط آب غیرشور اختلاف معنی‌داری را نشان می‌دهد، ولی در شرایط اقلیمی کشور که کمبود آب هم‌اکنون یکی از موانع جدی تولید به حساب می‌آید، استفاده از این منابع آبی گریزناپذیر است. (کیانی و کلاته، ۱۳۸۲). عامل اصلی انتقال باکتری در خاک‌های دست‌نخورده، جریان‌های ترجیحی (منافذ درشت) ناشی از پیوسته‌بودن منافذ درشت و درز و ترک‌های موجود در خاک است و بدین‌سان در شرایط جریان اشباع، باکتری بیشتری نسبت به جریان غیراشباع در خاک جابه‌جا می‌شود. انتقال *ای‌کولی* در ستون با وضعیت و طول منافذ درشت مصنوعی مختلف در دو سطح قدرت یونی (۱ و ۲۰ میلی مولار NaCl) نشان‌داد که هدایت هیدرولیکی اشباع با کاهش طول منافذ درشت کاهش یافت (Wang et al., 2014). صفادوست و همکاران (۱۳۹۰) نقش احیا ساختمان خاک با هوازدگی فیزیکی را با آزمایش ستونی برای انتقال *اشرشیاکولی* و برومید بررسی کردند. نتایج آن‌ها نشان‌داد که شکل متعادل و متقارن منحنی رخنه از ستون‌های خاک نشان می‌دهد که عمدتاً آبشویی از طریق جریان پیکره‌ای رخ داده است.

در این پژوهش با توجه به اهمیت کمّی و کیفی منابع آب، انتقال و نگهداشت باکتری *اشرشیاکولی* به عنوان شاخص آلودگی آب‌های زیرزمینی در شرایط اشباع خاک با در نظرگرفتن اهمیت جریان ترجیحی با استفاده از منافذ درشت مصنوعی و هم‌چنین اثر سطوح مختلف شوری آب بر انتقال باکتری *اشرشیاکولی* بررسی شد. بدین‌سان هدف اصلی این تحقیق بررسی چگونگی وضعیت ترابری شاخص آلودگی (*اشرشیاکولی*) در حضور جریان ترجیحی با قطور مختلف منافذ درشت و سطوح مختلف شوری آب در ستون های آزمایشی و پیش‌بینی شمای نگه‌داشت آلاینده میکروبی مورد بررسی در عمق‌های مختلف خاک بود.

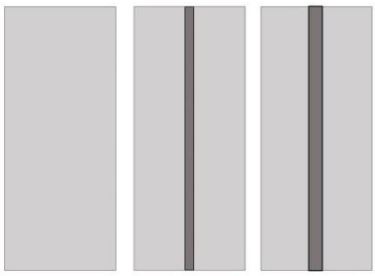
مواد و روش‌ها

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

جدول ۱- ویژگی های اولیه خاک ستون های آزمایشی

نوع خاک	بافت خاک	شن (٪)	سیلت (٪)	رس (٪)	رطوبت وزنی (٪)	چگالی ظاهری ($g\ cm^{-3}$)	pH (1:2)	EC ($dS\ m^{-1}$)
منافذ درشت	شن لومی	۸۰	۱۰	۱۰	۱۵	۱/۶	۷/۱	۷/۰
پیکره خاک	لوم شنی	۷۶	۱۶	۸	۲۰	۱/۴	۷/۱	۷/۶

مراحل انجام کار به شرح زیر بود. آزمایش‌های انتقال ترجیحی در مخازنی از جنس پی وی سی با طول و قطر داخلی مشخص (به ترتیب ۲۰ و ۱۰ سانتی‌متر) انجام شد. سیستم جریان ترجیحی با استفاده از دو اندازه شن شامل شن ریز و شن درشت در ستون به صورت زیر آماده و طراحی شد. ابتدا آب مقطر (اتوکلاوشده) حدود یک سوم ارتفاع ستون را پر و یک لوله پلاستیکی به طول ۳۰ سانتی‌متری با قطر خارجی مورد نظر (۱ و ۲ سانتی متر) در مرکز ستون کارگذاشته شد. شن ریز به تدریج به محیط متخلخل ستون (خارج از لوله پلاستیکی) اضافه شد. سپس آب اضافی در لوله پلاستیکی از کف، زهکش شد. لوله با دقت بدون اختلال در اطراف ساختار شن از ستون بیرون کشیده شد و یک حفره با قطر ۲ سانتی متر در مرکز ستون به‌جای گذاشت. در این مرحله حفره تا ارتفاع بیست سانتی متر با شن درشت با استفاده از یک قیف پر شد، تا ساختار منافذ درشت برای جریان ترجیحی مورد نظر ایجاد شود. لایه نازکی از شن درشت بر سطح ستون خاک برای جلوگیری از تخریب ساختمان خاک قرار داده شد (شکل ۱).



شکل ۱- نمای افقی شماتیک طراحی ستون خاک در تیمارهای جریان ترجیحی

برای اندازه‌گیری حجم آب منفذی در شرایط اشباع ابتدا چگالی ظاهری خاک با استفاده از ستون آماده شده در تیمارهای مختلف اندازه گیری شد. سپس رطوبت وزنی خاک با نمونه‌گیری از دو لایه ۱۲/۵-۰ و ۲۰-۱۲/۵ سانتی متر خاک درون سیلندر به روش آون اندازه‌گیری شد و رطوبت حجمی (θ_v) خاک‌ها محاسبه گردید. سپس حجم آب منفذی ستون خاک در شرایط اشباع (PV) از طریق رابطه ۱ محاسبه شد:

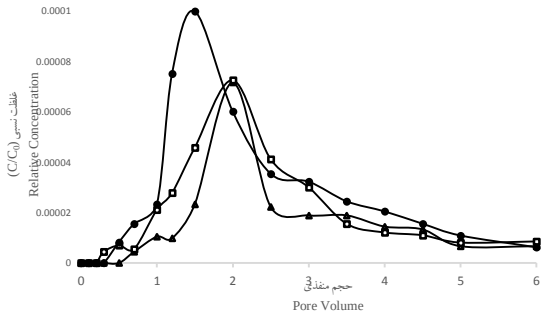
$$PV = \theta_v \times V_t \quad (۱)$$

در بررسی اثر سطوح مختلف شوری آب بر ردیاب بیولوژیکی و شیمیایی در شرایط اشباع ماندگار با جریان ترجیحی، از بیوردیاب *اشرشیاکولی* و کلرید استفاده شد. غلظت اولیه کلراید در خاک اندازه گیری شد که مقدار آن ناچیز بود. ست ستون و آب آزمایش استریل گردید و عاری از باکتری بود. آزمایش آبشویی در دمای ۲۰ درجه سلسیوس در طی چند فاز انجام شد. ستون خاک با شوری سطوح مختلف آبشویی و تا پایان آزمایش به صورت پایدار اشباع گردید. پالس ورودی باکتری با

غلظت نیم مک فارلند در یکباره شروع آزمایش تزریق شد و نمونه‌های پساب به‌طور مداوم در طول آزمایش انتقال در زمان های صفر، ۱، ۲، ۳، ۵، ۷، ۱۰، ۱۲، ۱۵، ۲۰، ۲۵، ۳۵، ۴۰، ۴۵، ۵۰، و ۶۰ دقیقه از پایین ستون جمع آوری شد. در پایان آزمایش از سه عمق نمونه خاک از هر ستون در دو منطقه منافذ درشت و پیکره برداشت شد. سپس غلظت‌های باکتری و کلرید اندازه گیری شدند. سوسپانسیون باکتری ورودی با روش استاندارد کدورت نیم‌مک‌فارلند و غلظت باکتری در محلول رویی به‌دست‌آمده از روش شمارش زنده اندازه گیری شده و با واحد کلنی در میلی‌لیتر ($CFU\ ml^{-1}$) بیان شد. هم چنین شمارش باکتری در نیم‌رخ خاک به‌روش اندازه گیری غلظت باکتری در پساب انجام شد. برای اندازه گیری غلظت کلرید، هدایت الکتریکی هر نمونه پساب خروجی به‌روش تیتراسیون با نیترات نقره اندازه‌گیری شد.

نتایج و بحث

انتقال باکتری در خاک به فاکتورهای پیچیده فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی بستگی دارد. از جمله فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی، سرعت جریان آب، مقدار رطوبت، توزیع اندازه ذرات و منافذ، ساختمان خاک و ویژگی های شیمیایی محلول خاک (اسیدیته و قدرت یونی) هستند. از ویژگی های بیولوژیکی می‌توان وضعیت فیزیولوژیکی سلول باکتری (مرحله رشد و تغذیه) و ویژگی‌های سطح سلول باکتری (بار، آب‌دوست یا آب‌گریز) نام برد (Foppen and Schijven, 2006). منحنی رخنه اندازه‌گیری‌شده باکتری در قطور منافذ درشت مختلف در شکل ۲ نشان داده شده است. همان طور که مشاهده می‌شود در ستون با قطر منافذ درشت ۲ سانتی‌متری به‌دلیل وجود جریان ترجیحی حاکم بر پیکره خاک، باکتری کمتری در خاک نگه داشته می‌شود و به‌همین دلیل نقطه اوج منحنی آن سریع‌تر اتفاق می‌افتد. به طوری که نقطه اوج غلظت نسبی در ستون با قطر منافذ درشت ۲ برابر با $۱۰^{-۴}$ به دست آمد. بنابراین در ستون با قطر یک سانتی‌متر باکتری بیشتری پالایش شده و در جلوگیری از آلودگی آب های زیرزمینی مناطق شور و لب شور می‌تواند موثر باشد.

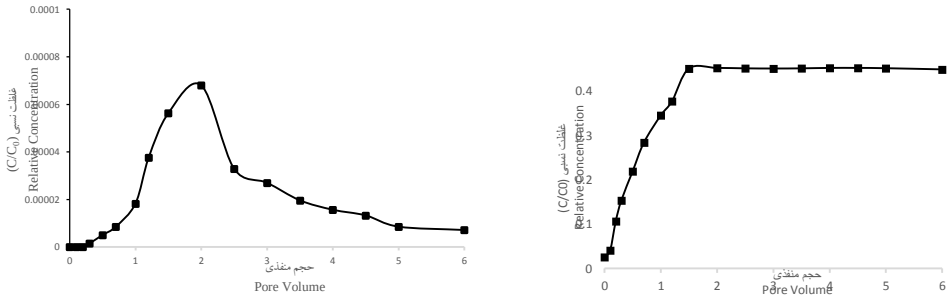


شکل ۲- منحنی رخنه اندازه گیری‌شده باکتری *اشرشیاکولی* در منافذ درشت با ابعاد مختلف (—●— قطر دو سانتی متر ، —□— قطر یک سانتی متر و —▽— بدون قطر)

نتایج این پژوهش نشان داد که ساختمان خاک و جریان‌های ترجیحی (در اثر وجود منافذ درشت)، در انتقال باکتری *اشریشیاکولی* از اهمیت ویژه‌ای برخوردارند به طوری که افزایش یک سانتی متر در قطر منافذ درشت میزان پالایش را حدود ۰/۰۱ درصد کاهش می دهد. نتایج پژوهش‌های Unc and Goss (2004) در دو بافت خاک لوم شنی و لوم سیلتی نیز نشان داد که میانگین سرعت حرکت باکتری در خاک لوم سیلتی به‌دلیل وجود جریان‌های ترجیحی بیشتر بود. نتایج فوق با گزارش زندسلیمی و همکاران (۱۳۸۶) هم‌خوانی داشت. نتایج آن ها نشان داد که جریان ترجیحی در انتقال باکتری نقش موثری داشته است به طوری که می تواند اثر بافت و مکان های جذبی خاک بر فرآیند انتقال باکتری را کاهش دهد.

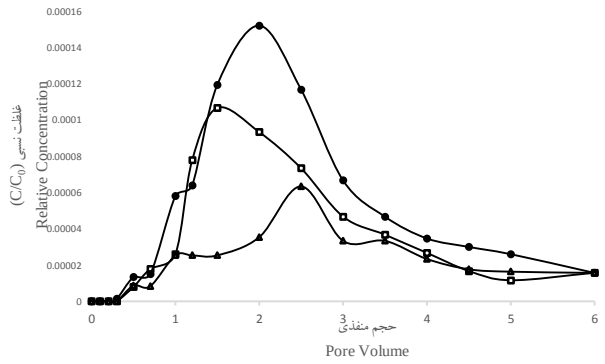
مقایسه انتقال باکتری با املاح غیرواکنش‌گر مانند کلرید به‌درک بهتر مکانیزم‌ها و فاکتورهای حاکم بر انتقال باکتری در خاک کمک می‌نماید. منحنی رخنه باکتری و کلرید برای هر یک از ستون‌های خاک در شکل ۳ آمده است. در این منحنی ها غلظت نسبی (نسبت غلظت در پساب خروجی C به غلظت اولیه ورودی C_0) در برابر زمان نشان داده است. مقایسه منحنی‌های رخنه باکتری با کلرید به خوبی تفاوت بین آن دو را نشان می‌دهد. همان‌طوری که ملاحظه می‌شود جریان انتقال ردیاب کلرید در ستون به طور پیوسته در طول آزمایش ادامه داشت. کلرید قبل از باکتری در پساب خروجی مشاهده شده و پس از پایان

ورود محلول سوسپانسیون باکتری به سطح ستون خاک، منحنی رخنه کلرید قبل از باکتری سیر نزولی داشته است. انتقال سریع تر املاح واکنش‌گر مانند کلرید نسبت به باکتری، به‌خاطر بر هم کنش های ذرات خاک با بار الکتریکی منفی در پلی‌ساکاریدهای موجود در باکتری است، که باعث کند شدن حرکت باکتری می‌گردد. از طرف دیگر می‌توان به مسیرهای متفاوت انتقال باکتری و کلرید نسبت داد و به‌دلیل ناپیوستگی منافذ و وجود منافذ انتها-بسته در خاک، باعث اختلال در حرکت باکتری در خاک می‌شود. درحالی‌که باکتری وارد کنش برگشت‌پذیر شد و مقداری زیادی از آن جذب ذرات خاک گردید. بر اساس پژوهش های قدرتی و لی (۱۹۹۵)، منحنی‌های رخنه زمانی‌که هیچ‌گونه منافذ درشت در خاک وجود ندارد، به‌صورت متقارن است و هیچ‌گونه دنباله‌ای مشاهده نمی‌شود که بیان‌گر یکنواخت بودن ستون‌ها بوده و در این شرایط هیچ‌گونه جریان ترجیحی اتفاق نمی‌افتد. زمانی که یک منفذ درشت در ستون‌خاک ایجاد شد که منحنی تفاوت چندانی بدون حضور منافذ درشت ندارد. لی و همکاران چنین استنباد کردند که یک منفذ درشت به‌تنهایی در انتقال از مسیرهای جریان ترجیحی در همان ستون خاک و همان شدت جریان دخالتی ندارد. در این شرایط باکتری از سراسر ستون خاک منتقل می‌شود. زمانی‌که جریان ها افزایش یابد، شکل منحنی‌های رخنه متفاوت می‌شود. اکثریت آلاینده قبل از رسیدن به یک حجم منفذی از ستون خارج می‌شود که بیان‌گر این است که قسمت زیادی از باکتری از میان منافذ درشت حرکت می‌کند و به‌سرعت توسط منافذ درشت منتقل می‌شود، بعد از یک حجم منفذی به جای اینکه منحنی‌ها به صفر برسند. یک نقطه اوج دیگر را می‌سازد که حصول چنین نتیجه‌ای نشان‌دهنده این است که بیشتر املاح از طریق منافذ درشت منتقل می‌شوند و باقی‌مانده باکتری از میان پیکره خاک منتقل می‌گردد.



شکل ۳- منحنی رخنه اندازه گیری شده کلرید و باکتری *اشرشیاکولی*(EC=4 ، EC=2 و EC=1 دسی زیمنس بر متر)

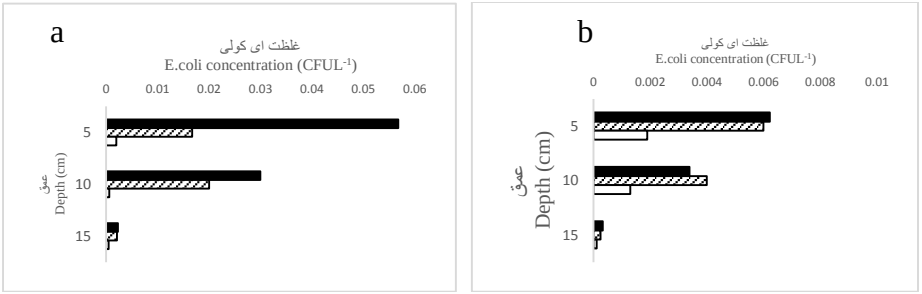
نقطه اوج منحنی رخنه در شوری زیاد، سریع‌تر اتفاق افتاد که مؤید انتقال سریع‌تر باکتری‌ها در خاک‌های شور است. اولین نقطه اوج آن درغلظت $۱۰^{-۴}$ اتفاق افتاد که سطح منحنی بالاتری نسبت به سطح شوری کمتر داشت. نقطه اوج اولیه باکتری در ستون‌های با هدایت الکتریکی ۴ دسی‌زیمنس بر متر سریع بود. اما آبشویی های بعدی ممکن است از میان منافذ درشت حرکت رو به پایینی داشته باشد و در نتیجه سبب شود که باکتری به درون پیکره پخشیده شود. در ستون‌های بدون منافذ درشت، تجمع آب رخ داده و در نتیجه مقدار زیادی آبشویی شده است (شکل ۴).



شکل ۴- منحنی رخنه اندازه گیری شده باکتری *اشرشیاکولی* خروجی در سطوح شوری مختلف (EC=4 ، EC=2 و EC=1 دسی زیمنس بر متر)

قدرت یونی، ترکیب محلول خاک، بافت و توزیع اندازه ذرات، هدایت هیدرولیکی بر جذب و حرکت باکتری‌ها مؤثرند. یکی از راه‌کارهای ممانعت از حرکت باکتری ها در خاک، جذب آن‌ها روی سطح ذرات و به دام افتادن آن‌ها در منافذ خاک است. بنابراین براساس نتایج مشاهده‌شده می توان اظهارداشت که اگر چه انتقال باکتری در شوری زیاد تسهیل می‌شود و آلودگی آب‌های زیرزمینی را به دنبال دارد اما می توان با کنترل و مدیریت آبیاری، شوری را در هدایت الکتریکی ۲ دسی‌زیمنس بر متر کنترل کرد تا حداقل انتقال صورت گرفته و شرایط برای استفاده از منابع آب نامتعارف نیز ایجاد شود بدون این‌که مشکل زیست‌محیطی خطر آلودگی آب زیرزمینی را تهدید نماید.

در شکل ۵ تغییرات غلظت باکتری با عمق ستون خاک آورده شده‌است. با توجه به شکل در عمق ۵ سانتی‌متر میزان نگه‌داشت باکتری بیشینه و برابر با $۱/۳ \times ۱۰^{۵}$ بود. نتایج نشان داد که بیشتر باکتری‌های پالایش شده در لایه‌های سطحی خاک نگه‌داشته شدند و با افزایش عمق مقدار نگه‌داشت کاهش یافت. نتایج فوق با گزارش صفادوست و همکاران، ۱۳۹۰ مطابقت داشت. نقش لایهٔ رویین خاک در پالایش باکتری برجسته بود ولی وجود جریان های ترجیحی به‌ویژه در زمان‌های آغازین باعث انتقال باکتری‌ها تا لایه دوم شد. هم‌چنین این میزان نگه‌داشت در پیکره خاک بیشتر از منافذ درشت ستون خاک بود.



شکل ۵- نیم‌رخ باکتری *اشرشیاکولی* در سطوح شوری مختلف (EC=4 ، EC=2 و EC=1 دسی زیمنس بر متر) در الف) ماتریکس و ب) منافذ ماکرو

باکتری‌ها در منافذ ریز خاک لوم شنی به‌صورت فیزیکی حبس شده و گیر می‌افتند. با افزایش عمق خاک غلظت آلاینده نیز کمتر شد که نشان‌دهنده اثر خاک در پالایش آلاینده‌های میکروبی به‌عنوان یک فیلتر طبیعی است. از آنجایی که شدت جریان آب عامل اصلی در انتقال آلاینده‌هاست، در مناطق مرطوب و پرباران مصرف کودها باید با تدابیر ویژه‌ای انجام شود. هم‌چنین نتایج نشان داد که عمق خاک در فرآیند پالایش باکتری اثرگذار است. با افزایش عمق خاک میزان آلاینده عبوری از خاک کمتر شد. عمدتاً باکتری‌ها به خاطر نیاز تهویه و آب‌دوست بودن در لایه‌های سطحی خاک نگه داشته می‌شوند و با افزایش عمق خاک، مقدار نگه‌داشت کاهش می‌یابد. هم‌چنین با افزایش عمق غلظت آلاینده کم می‌شود که نشان‌دهنده اثر خاک در پالایش آلاینده‌های میکروبی به عنوان یک فیلتر طبیعی است؛ بنابراین منابع آب زیرزمینی کم عمق بسیار حساس به آلودگی باکتریایی هستند، به گونه ای که مصرف جزیی کودها در این مناطق، دشواری‌های زیادی را ایجاد خواهد کرد

منابع

زندسلیمی، س. مصدقی، م. و محبوبی، ع.ا. ۱۳۸۷. سرنوشت باکتری‌های گرم-منفی آزادشده از کودهای آلی مختلف در دو خاک استان همدان. مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی، علوم آب و خاک، جلد ۱۲ صفحه های ۶۹۳ تا ۷۰۴.

صفادوست، آ. محبوبی، ع.ا. مصدقی، م. خداکرمیان، غ. و حیدری، ع. ۱۳۹۰. حرکت باکتری *اشریشیا کولی* در ستون‌های خاک تحت شرایط جریان و دمای متفاوت. مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی، علوم آب و خاک، جلد ۱۵، صفحه های ۱۸۳ تا ۱۹۷.

فرهنگی، م. مصدقی، م. سنجانی، ع.ا. و محبوبی، ع.ا. ۱۳۹۱. حرکت باکتری *اشرشیا کولی* (*Escherichia coli*) آزادشده از کود گاوی در خاک غیراشباع مزرعه. مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی، علوم آب و خاک، جلد ۱۶, صفحه های ۱۲۷ تا ۱۴۰.

کیانی، ع. و کلاته، م. ۱۳۸۲. تاثیر آب شور در آبیاری تکمیلی جو در منطقه گرگان. مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی، جلد ۱۰، شماره ۴، صفحه های ۳۵ تا ۴۳.

Foppen, J., and Schijven, J. 2006. Evaluation of data from the literature on the transport and survival of *Escherichia coli* and thermotolerant coliforms in aquifers under saturated conditions. Water Research, 40(3): 401–426.

Unc, A., and Goss, M.J. 2003. Movement of faecal bacteria through the vadose zone. Water, Air and Soil Pollution 149(1-4): 327–337.

Wang, Y., Bradford, S.A., Šimůnek, J. 2014. Estimation and upscaling of dual-permeability model parameters for the transport of *E. coli* D21g in soils with preferential flow. Journal of Contaminant Hydrology, 159: 57–66.

E. coli transport in saturated soil columns under different water salinities

Abstract

The main aim of this study was to investigate the transmission status of the pollution index in the presence of a preferential flow with a different diameter of macro-pores and different levels of water salinity in the experimental columns, as well as to predict retention scheme of this microbial contamination at different depths of the soil. Laboratory studies were conducted on preferential flow with synthetic macro-pores of different diameters (1 and 2 cm) and different water salinity treatments (1, 2 and 4 dsm^{-1}) under saturated flow in 1395. The chloride penetration curve had a downward trend prior to the bacteria chloride and the suspension of the bacterial factor had a higher delay compared to the bacteria. The results showed that the highest initial counts of the bacteria with a value of 4^{-10} in the columns with an electrical conductivity of 4 dsm^{-1} were very fast. So that, at a depth of 5 cm, the bacterial retention rate was at a maximum of 1.3×10^5 colony/ml. In general, the pollution intensity of the column effluent with macro-pores' diameter of about 2 cm was 1.24 times the column without macro-pores.

Keywords: *E. coli*, preferential flow, Macropores, Breakthrough curve.