**محور مقاله: آلودگی زیست‌بوم، سلامت انسان و زیست‌پالایی خاک**

# اثر ماده آلی طبیعی خاک بر چسبندگی باکتری *اشریشیا کولی*

ریحانه شوکتی مرزدشتی[۱]، نسرین قربان‌زاده [۲*]، محمد باقر فرهنگی[۲] ، محمود شعبانپور[۳]

[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم خاک دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان

[۲] استادیار گروه علوم خاک دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان

[۳] دانشیار گروه علوم خاک دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان

## چکیده

نگرانی‌ها در مورد آلودگی آب‌های سطحی و زیرزمینی به عوامل بیماری‌زای موجود در کودهای دامی رو به افزایش است. این پژوهش با هدف مقایسه چسبندگی باکتری *اشریشیا کولی* به ذرات خاک و نگه‌داری آن در خاک‌های با سطوح متفاوت مواد آلی طبیعی انجام شد. آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار طراحی شد. فاکتورهای آزمایش شامل ۵ سطح ماده آلی (۱/۱۰، ۲/۷۵، ۳/۴۶، ۴/۷۴ و ۵/۰۱ درصد) و سه سطح زمان تماس (۲، ۱۰ و ۳۰ دقیقه) بودند. تاثیر ماده آلی و زمان تماس بر تعداد باکتری‌های نگه‌داری شده در خاک معنی‌دار بود ($p<۰/۰۱$). ولی بر هم‌کنش آن‌ها معنی‌دار نشد ($P>۰/۰۵$). با افزایش سطح ماده آلی در خاک، درصد باکتری‌های نگه‌داری شده در آن کاهش پیدا کرد. بالاترین تعداد باکتری‌های نگه‌داری شده در خاک با ۱/۱ درصد ماده آلی دیده شد، گرچه تفاوت معنی‌دار با خاک دارای ۲/۷۵ درصد ماده آلی نداشت ($P>۰/۰۵$). کم‌ترین درصد باکتری‌های نگه‌داری شده نیز در خاک با ۵/۰۱ درصد ماده آلی دیده شد. همچنین با افزایش زمان تماس نیز تعداد باکتری‌های نگه‌داری شده در خاک کاهش یافت. بنابراین حضور مواد آلی می‌تواند باکتری *E. coli* را در محیط خاک پویا نموده و حرکت احتمالی آن با ذرات کلوییدی را آسان کند.

**کلمات کلیدی:** انتقال، باکتری‌های بیماری‌زا، زمان تماس، کود دامی

## مقدمه

انتقال ریزجانداران در محیط‌های متخلخلی مانند خاک، سبب آلودگی آب‌های سطحی و زیرزمینی می‌شود. زمین‌های کشاورزی که به عنوان مکانی برای دفع فضولات حیوانی به صورت کود دامی هستند، نگرانی‌هایی درباره‌ی انتقال باکتری‌های موجود در این کودها ایجاد کرده‌اند (Jiang و همکاران ۲۰۰۷). ضمن این‌که استفاده از آب آبیاری آلوده به فاضلاب یا زه‌آب دام‌داری‌ها در کشاورزی نیز سبب آلودگی خاک‌ها می‌شود (Jensen و همکاران ۲۰۱۳). فضولات حیوانی و انسانی دارای تعداد زیادی از موجودات زنده مختلف مانند کلی-فرم‌ها[۱]، *استرپتوکوک‌ها*[۲]، *ژیاردیا*[۳]، *کریپتوسپوریدیوم*[۴] و روتاویروس‌ها[۵] است (Unc و Goss، ۲۰۰۴). باکتری‌های بیماری‌زای کود دامی پس از رسیدن به خاک ممکن است زنده مانده و حتی تکثیر شوند. بنابراین ممکن است خطری جدی برای سلامتی انسان ایجاد کنند (Fongaro و همکاران ۲۰۱۷). ویژگی‌های خاک می‌توانند بر سرنوشت، زنده‌مانی و انتقال زودهنگام باکتری‌های بیماری‌زا تأثیر بگذارند (Obayomi و همکاران ۲۰۱۹). باکتری *اشریشیا کولی*[۶] زمانی‌که در معرض ذرات رس قرار می‌گیرد، می‌تواند برای مدت طولانی زنده بماند (Mosaddeghi و همکاران ۲۰۰۹). علاوه بر این، بافت‌های مناسب برای رشد و زنده‌مانی باکتری‌ها، بافتی است که حاوی مقادیر بیشتری رس باشد که با حفظ منابع برای تغذیه مانند مواد آلی و آب، سبب افزایش میزان رشد، جذب باکتری و زنده‌مانی آن می‌شود (Obayomi و همکاران ۲۰۱۹). به طور کلی میزان زنده‌مانی باکتری در خاک شنی به دلیل کم بودن ظرفیت نگهداری آب و مقدار مواد آلی در مقایسه با خاک لوم یا رس کمتر است (Erickson و همکاران ۲۰۱۴).

* ایمیل نویسنده مسئول: nasrin.ghorbanzadeh@gmail.com

[1] coliforms
[2] *Streptococci*
[3] *Giardia*
[4] *Cryptosporidium*
[5] Rotaviruses
[6] *Escherichia coli*

به عنوان مثال، *اشریشیا کولی*، می‌تواند تا ۲۵ هفته در خاک رس و لوم، اما فقط برای ۸ هفته در خاک شنی، زنده بماند (Obayomi و همکاران ۲۰۱۹). عوامل شیمیایی، زیستی و فیزیکی متفاوتی بر میزان چسبندگی و انتقال باکتری‌ها در محیط‌های متخلخل نقش دارند. قدرت یونی، واکنش خاک (pH) و مواد آلی از مهم‌ترین عوامل شیمیایی و اندازه یاخته باکتری، ویژگی‌های سطح آن، تحرک، رشد، زنده‌مانی و غلظت باکتری از مهم‌ترین ویژگی‌های زیستی و همچنین اندازه ذرات، دما و شدت جریان از مهم‌ترین فاکتورهای فیزیکی موثر در چسبندگی باکتری‌ها به ذرات خاک و انتقال آن‌ها به آب‌های زیرزمینی هستند (Foppen و Schijven ۲۰۰۶). بافت خاک، ویژگی‌های خروج آب و در نتیجه توانایی حفظ رطوبت را کنترل می‌کند و مواد آلی خاک تاثیر چشم‌گیری بر شرایط نگه‌داری جوامع میکروبی در خاک دارد (Alegbeleye و همکاران ۲۰۱۸). بنابراین توزیع میکروب‌ها در محیط زیرزمینی می‌تواند تحت تاثیر مواد آلی طبیعی[1] قرار گیرد.

مواد آلی طبیعی خاک، مخلوط پیچیده‌ای از مواد آلی با منشاء گیاهی و جانوری هستند (Yang و همکاران ۲۰۱۲). واژه عمومی ماده آلی که تمام اجزای آلی خاک را در بر می‌گیرد شامل: زیست توده زنده (بافت‌های دست نخورده حیوانات و ریزجانداران)، ریشه مرده و سایر پس‌مانده‌های قابل تشخیص و همچنین مخلوطی از مواد پیچیده آلی عمدتاً کلوییدی بی‌شکل است که دیگر به‌صورت اندام گیاهی قابل تشخیص نیست. فقط دسته سوم ماده آلی اختصاصاً هوموس نامیده می‌شوند. هوموس به دو بخش مواد غیرهومیکی و مواد هومیکی تقسیم می‌شود که اجزای مواد هومیکی شامل اسید فولویک، اسید هیومیک و هومین است. سطح هوموس در واحد جرم بسیار بالا بوده و معمولاً از رس‌های سیلیکاتی نیز بیشتر است. سطح کلوییدی هوموس به سبب جدا شدن $H^+$ از گروه‌های کربوکسیل (-COOH) وفنولی (-OH) دارای بار منفی است (Brady و Weil، ۱۹۲۰). مواد آلی طبیعی شامل انواع مختلفی از ترکیب‌های آلی مانند اسیدهای آب‌دوست، اسیدهای آمینه، لیپیدها، پروتئین‌ها و مواد هیومیکی است (Yang و همکاران ۲۰۱۲). مقدار ۸۰-۷۰ درصد ماده آلی موجود در خاک می‌تواند از مواد هیومیکی باشد (Brady و Weil، ۱۹۲۰). بنابراین سطوح ماده آلی در جذب و نگه‌داری باکتری‌ها نقش مهم‌تری نسبت به رس‌های سیلیکاتی دارند. بسیاری از پژوهش‌ها نشان داده‌اند که حضور اسید هیومیک یا اسید فولویک که اجزای اصلی مواد آلی هستند می‌تواند به طور قابل توجهی بر چسبندگی ریزجانداران به سطح ذرات خاک تاثیر بگذارد (Yang و همکاران ۲۰۱۲). زبری سطح یکی دیگر از دلایل چسبندگی باکتری به سطوح ماده آلی است. مقایسه چسبندگی باکتری *اشریشیا کولی* روی سطوح کلسیت، گئوتیت و کربن آلی نشان داد که زبری سطح کربن آلی به علت وجود یک شبکه دارای منافذ نامنظم نسبت به کلسیت و گئوتیت توانایی جذب بیشتری برای باکتری‌ها فراهم می‌کند (Foppen و Schijven، ۲۰۰۵). ماده آلی می‌تواند به ذرات خاک متصل شده و سبب افزایش گنجایش تبادل کاتیونی شود و شرایط را برای اتصال باکتری به سطوح تغییر دهد (Foppen و همکاران ۲۰۰۸).

باکتری‌ها پس از چسبیدن به کربن آلی خاک یا رس‌ها ممکن است پویاتر شده و در محیط خاک به آسانی با جریان آب جابجا شوند (Guber و همکاران، ۲۰۰۷). بنابراین کربن آلی محلول، ماندگاری و استقرار باکتری‌ها در محیط خاک را کم می‌کند (Ginn و همکاران ۲۰۰۲). با توجه به گزارش‌های زیاد درباره‌ی آلودگی آب‌های سطحی و زیرزمینی به باکتری‌های بیماری‌زای کود دامی و نقش مهم ماده آلی در حرکت باکتری‌ها به سمت آب‌های زیرزمینی، این پژوهش با هدف بررسی چسبیدن باکتری *اشریشیا کولی*، به عنوان باکتری شاخص در آلودگی آب‌ها، به مواد آلی طبیعی خاک و نقش آن در ماندگاری و پویایی باکتری‌ها در خاک انجام شده است.

## مواد و روش

### تهیه نمونه‌های خاک

۵ خاک لوم رسی با ماده آلی طبیعی متفاوت از لایه سطحی (۰-۲۵ سانتی‌متر) زمین‌های کشاورزی شرق استان گیلان، شهرستان املش نمونه‌برداری شد. نمونه‌های خاک پس از انتقال به آزمایشگاه هوا خشک شده و پس از کوبیده شدن از الک ۲ میلی‌متری عبور داده شدند. ویژگی‌های شیمیایی آن‌ها مانند واکنش خاک با پی‌اچ متر دیجیتالی مدل 420A و قابلیت هدایت الکتریکی با هدایت‌سنج نوع دیجیتالی مدل 4510، در نسبت‌های ۱ به ۵ خاک به آب اندازه‌گیری شد. مقدار کربنات کلسیم معادل (ECC) به روش تیتراسیون برگشتی و کربن آلی نیز به روش اکسیداسیون تر اندازه‌گیری شد (Carter و Gregorich، ۲۰۰۷). از ویژگی‌های فیزیکی نیز دانه‌بندی خاک یعنی درصد شن، سیلت و رس به روش هیدرومتری اندازه‌گیری شد. نتایج مربوط به برخی از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک‌ها در جدول ۱ ارائه شده است.

[1] Natural Organic Matter

جدول ۱. برخی از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک‌های مورد استفاده

| نوع خاک | بافت خاک | Sand | Silt | Clay | OC | OM* | ECC | pH | EC |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | (g.100g$^{-1}$) | | | | | | | dS.m$^{-1}$) (1 |
| ۱ | لوم رسی | ۲۳ | ۳۴ | ۴۳ | ۰/۶۴ | ۱/۱ | ۱/۵ | ۷/۸۶ | ۰/۵۱ |
| ۲ | لوم رسی | ۲۶ | ۴۲ | ۳۲ | ۱/۶ | ۲/۷۵ | ۱/۵ | ۷/۶۲ | ۰/۳۹ |
| ۳ | لوم رسی | ۳۸ | ۳۰ | ۳۲ | ۲/۰۱ | ۳/۴۶ | ۰/۸۳ | ۶/۷۸ | ۰/۳۶ |
| ۴ | لوم رسی | ۳۴ | ۳۰ | ۳۶ | ۲/۷۵ | ۴/۷۴ | ۰/۶۶ | ۶/۶۱ | ۰/۳۳ |
| ۵ | لوم رسی | ۲۴ | ۳۷ | ۳۹ | ۲/۹۱ | ۵/۰۱ | ۰/۳۳ | ۶/۳۸ | ۰/۱۹ |

شن (۲- ۰/۰۵)، سیلت (۰/۰۵- ۰/۰۰۲)، رس (۰/۰۰۲>) میلی‌متر، OC: درصد کربن آلی، OM: درصد ماده آلی (OM=1.724×OC*)، ECC: کربنات کلسیم معادل، EC: قابلیت هدایت الکتریکی، pH: اسیدیته.

### جداسازی باکتری *اشریشیا کولی* مقاوم به آنتی‌بیوتیک

باکتری *اشریشیا کولی* مقاوم به آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین از رسوبات رودخانه زرجوب واقع در شهر رشت جداسازی شد. برای جداسازی باکتری *اشریشیا کولی* از سایر باکتری‌های هم‌خانواده، از محیط کشت ائوزین متیلن بلو آگار (EMB) در دمای ۳۷°C استفاده شد و باکتری سبز با جلای فلزی به عنوان *اشریشیا کولی* شناسایی شد. سپس مقاومت باکتری جدا شده در برابر چند آنتی‌بیوتیک در محیط کشت مولر هینتون آگار[1] به روش پخشیدگی قرص ارزیابی شد (CLSI، ۲۰۱۵) و با بررسی قطر ناحیه بازدارندگی[2] آنتی‌بیوتیکی مشخص شد که باکتری جدا شده در برابر آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین مقاوم است. با بازکشت باکتری در محیط کشت EMB دارای ۸۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین، مقاومت باکتری به این آنتی‌بیوتیک تائید شد. سپس باکتری به محیط کشت نوترینت براث (NB)، دارای آنتی‌بیوتیک منتقل و در دمای ۳۷°C با هوادهی دائمی بر روی شیکر (۱۱۰ دور در دقیقه) تا زمان رسیدن باکتری به مرحله انتهایی فاز رشد نمایی به مدت ۱۶ ساعت قرار گرفت. سپس باکتری از محیط کشت جداسازی و تا زمان آزمایش در یخچال (دمای ۴°C) نگه‌داری شد (Jiang و همکاران ۲۰۰۷).

### بررسی چسبندگی باکتری‌های *اشریشیا کولی* به ذرات خاک

برای بررسی چسبندگی باکتری به خاک از روش Muirhead و همکاران (۲۰۰۵) پیروی شد. به این صورت که یک گرم خاک عبور داده شده از الک ۲ میلی‌متر در لوله فالکون سترون ریخته شد و به آن ۵ میلی‌لیتر آب مقطر سترون که دارای $10^6$ یاخته باکتری *اشریشیا کولی* در هر میلی‌لیتر بود، افزوده شد. سپس لوله‌ها به مدت ۲، ۱۰ و ۳۰ دقیقه بر روی شیکر رفت و برگشتی (۱۲۰ دور در دقیقه) در دمای آزمایشگاه (حدود ۲۵ درجه سلسیوس) تکان داده شدند تا واکنش‌های جذب و چسبندگی به تعادل برسد. این زمان‌ها برای این انتخاب شدند که کوتاه‌تر از زمان تقسیم باکتری در شرایط آزمایشگاه باشند و همین‌طور شبیه‌ساز زمان بارندگی‌های کوتاه مدت باشند که در آن باکتری آلاینده‌ای مانند *E. coli* وارد شده به محیط خاک ممکن است به ذرات آلی یا معدنی چسبیده و در محلول خاک با آنها شناور شود. پس از زمان تعادل، سوپرناتانت رویین با سانتریفیوژ (۱۰۰۰ دور در دقیقه و برای یک دقیقه؛ طبق Guber و همکاران (۲۰۰۷)) جدا و غلظت باکتری‌ها در آن شمارش شد. سانتریفیوژ سوسپانسیون در این شرایط تنها برای ته‌نشینی ذرات درشت خاک و خاک‌دانه‌هاست و بنابراین باکتری‌های آزادو باکتری‌های چسبیده به ذرات آلی و معدنی کلوییدی شناور می‌مانند. طبق تفاوت تعداد باکتری‌ها در بخش رویین (سوپرناتانت) در برابر تعداد آغازین آن‌ها، نشان‌دهنده تعداد باکتری‌های نگه‌داری شده در بخش غیرکلوییدی خاک است. برای شمارش تعداد باکتری‌های آزاد یا چسبیده شده به ذرات کلوییدی خاک شناور، از سوپرناتانت به مقدار یک میلی‌لیتر برای تهیه سری رقت برداشته و پس از تهیه سری رقت، ۰/۱ میلی‌لیتر از رقت مناسب در محیط کشت EMB دارای ۸۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین مایه‌زنی شد. کشت به روش پخش در پلیت انجام شد و تعداد کلنی باکتری‌های رشد کرده پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷°C شمارش شد و بر حسب CFU ml$^{-1}$ بیان شد (صفری سنجانی و همکاران، ۱۳۹۰).

[1] Mueller-Hinton Agar
[2] Zone of inhibition

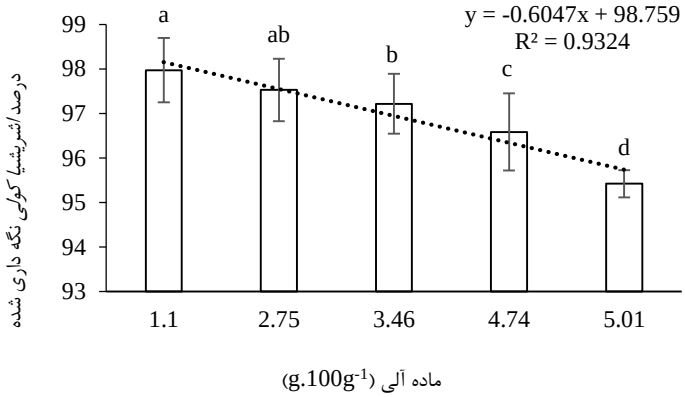
آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی با آرایش فاکتوریل با سه تکرار انجام شد. فاکتورهای آزمایش شامل ۵ سطح ماده آلی (۱/۱، ۲/۷۵، ۳/۴۶، ۴/۷۴ و ۵/۰۱ درصد) و سه سطح زمان تماس (۲، ۱۰ و ۳۰ دقیقه) بودند. داده‌های به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار SAS آنالیز شدند و مقایسه میانگین آن‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد. برای رسم نمودارها نیز از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

## نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس پیامد ماده آلی، زمان و برهم‌کنش آن‌ها بر تعداد باکتری‌های نگه‌داری شده در خاک نشان داد که پیامد ماده آلی و زمان بر غلظت باکتری‌های نگه‌داری شده در خاک معنی‌دار شد ($p$<۰/۰۱) ولی بر هم‌کنش آن‌ها بر این فاکتور معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵). بنابراین به نظر می‌رسد پیامد هردو عامل بر تعداد باکتری‌های نگه‌داری شده در خاک هم‌راستا باشد.

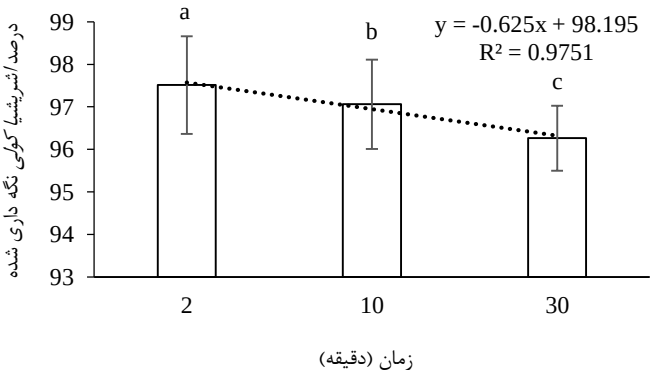
در شکل ۱ مقایسه میانگین پیامد ماده آلی خاک بر باکتری *اشریشیا کولی* نگه‌داری شده در آن نشان داده شده است. با افزایش ماده آلی در خاک، درصد باکتری‌های نگه‌داری شده در آن کم شد. به طوری‌که بالاترین اندازه باکتری‌های نگه‌داری شده در خاک، در خاک با ۱/۱ درصد ماده آلی دیده شد که البته درصد باکتری‌های نگه‌داری شده در آن تفاوت معنی‌دار با خاک دارای ۲/۷۵ درصد ماده آلی نداشت (P>۰/۰۵). کم‌ترین درصد باکتری‌های نگه‌داری شده نیز در خاک دارای ۵/۰۱ درصد ماده آلی دیده شد و مقدار باکتری‌های نگه‌داری شده در این خاک تفاوت آماری معنی‌داری با سایر خاک‌ها داشت ($p$<۰/۰۵). چسبندگی باکتری‌ها به عوامل فیزیکی و شیمیایی خاک بستگی دارد. تقابل خاک و باکتری بیشتر به مقدار رس و ماده آلی خاک بستگی دارد. در خاک‌های ریز بافت درصد ذرات رس بیشتر بوده و جایگاه‌های جذب برای سلول باکتری در مقایسه با خاک‌هایی با بافت درشت بیشتر است (Mosaddeghi و همکاران ۲۰۰۹). لازم به یادآوری است که در این آزمایش اگرچه مقدار رس نیز به عنوان ماده کلوییدی همانند مواد آلی در شناور شدن باکتری نقش دارد، اما از آنجا که در خاک با رس بالا (خاک ۱-جدول ۱)، شناور شدن باکتری‌ها کمتر بوده است، به نظر می‌رسد ماده آلی در شناور کردن باکتری *E. coli* در مقایسه با رس نقش بیش‌تری داشته است.

Wu و همکاران (۲۰۱۱) نیز گزارش کردند که ماده آلی خاک نقش بازدارنده‌ای در چسبندگی باکتری‌ها به ذرات خاک دارد و سبب شناور شدن آنها می‌شود. این پژوهش‌گران گزارش کردند که در خاک‌هایی که درصد رس بیشتری وجود داشته باشد، این خاک‌ها توانایی بالایی برای جذب باکتری بر روی سطوح خود دارند و رس خود به عنوان یک جاذب برای ماده آلی و باکتری عمل می‌کند. Foppen و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند که بخش اسید هیومیک ماده آلی طبیعی خاک با پوشاندن سطوح ذرات و رقابت با باکتری برای جایگاه‌های جذب، سبب کاهش جذب باکتری *اشریشیا کولی* به سطح ذرات خاک می‌شود. این پژوهش‌گران همچنین گزارش کردند که از آن‌جا که فاضلاب‌ها و کودهای حیوانی اضافه شده به خاک که حاوی باکتری *اشریشیا کولی* هستند، به مقدار زیادی نیز ماده آلی دارند، بنابراین ماده آلی زودتر جذب سطح ذرات خاک شده و مانع جذب باکتری به سطوح می‌شود. Guber و همکاران (۲۰۰۷) نیز با بررسی چسبندگی باکتری‌های کلیفرم به ذرات خاک در حضور کود گاوی گزارش کردند که حضور ذرات کلوییدی کود در سوسپانسیون، چسبندگی باکتری‌ها به اجزای سیلت و رس خاک را کم کرد و نتیجه گرفتند که حضور اجزای کلوییدی کود گاوی ممکن است سبب افزایش انتقال باکتری‌ها به صورت آزاد (غیر چسبیده) در روان‌آب شود.




شکل۱. پیامد سطوح متفاوت ماده آلی بر درصد باکتری *اشریشیا کولی* نگه‌داری شده در خاک. وجود حروف مشترک بر روی ستون‌ها نشان دهنده نبود تفاوت آماری معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد است. نوارهای خطا (Error Bars) انحراف از معیار است (n=3).

شکل ۲ پیامد زمان تماس بر تعداد باکتری *اشریشیا کولی* نگه‌داری شده در خاک را نشان می‌دهد. در هر سه سطح تماس اختلاف آماری معنی‌داری در تعداد باکتری *اشریشیا کولی* نگه‌داری شده در خاک وجود دارد ($p<۰/۰۱$). بیشترین میزان نگه‌داری باکتری در خاک، در زمان ۲ دقیقه رخ داده است و با افزایش زمان تکان دادن، مقدار باکتری‌های شناور افزایش پیدا کرده است. Six و همکاران (۲۰۰۰) گزارش کردند که اگرچه ماده آلی از طریق پیوند با ذرات معدنی خاک تاثیر مثبتی بر استحکام مکانیکی خاکدانه‌ها و مقاومت آن‌ها دارد اما با طولانی شدن زمان تکان دادن و تخریب مکانیکی خاکدانه‌ها، باکتری‌های جذب شده بر روی سطوح ذرات خاک جدا می‌شوند.




شکل ۲. پیامد سطوح متفاوت زمان تماس بر درصد باکتری *اشریشیا کولی* نگه‌داری شده در خاک. وجود حروف مشترک بر روی ستون‌ها نشان دهنده نبود تفاوت آماری معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد است. نوارهای خطا (Error Bars) انحراف از معیار است (n=3).

## نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج بدست آمده و یکسان بودن بافت در خاک‌های مورد آزمایش، کاهش چسبندگی باکتری‌ها به ذرات خاک تابع سطح ماده آلی متفاوت است. با افزایش درصد ماده آلی طبیعی خاک میزان باکتری *اشریشیا کولی* نگه‌داری شده در آن کاهش یافته است. بنابراین افزودن کودهای دامی به خاک می‌تواند با کاهش چسبندگی باکتری‌ها به ذرات خاک سبب شناور شدن آن‌ها در محلول خاک شده و انتقال عمودی باکتری‌ها در آب‌شویی و انتقال افقی آنها در روان‌آب را آسان‌تر کرده و خطر آلودگی منابع آب سطحی و زیرزمینی را افزایش دهد.

**منابع**

صفری سنجانی، ع. ا.، ز. شریفی، م. صفری سنجانی. ۱۳۹۰. روش‌های آزمایشگاهی در میکروبیولوژی خاک. چاپ اول. انتشارات دانشگاه بوعلی سینا همدان، صفحه ۴۵۷.

Alegbeleye, O.O., Singleton, I. and Sant'Ana, A.S., 2018. Sources and contamination routes of microbial pathogens to fresh produce during field cultivation: a review. Food Microbiology, 73, 177–208.

Brady, N. C. and Weil, R. R. (1920). The Nature and Properties of Soil. Soil Organic Matter, P, 462-463

Carter, M. R. and Gregorich, E. G. (2007). Soil Sampling and Methods of Analysis. CRC press.

CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard—Eleventh Edition. CLSI document M02-A11. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2012.

Erickson, M.C., Habteselassie, M.Y., Liao, J., Webb, C.C., Mantripragada, V., Davey, L.E. and Doyle, M.P. (2014). Examination of factors for use as potential predictors of human enteric pathogen survival in soil. Journal of Applied Microbiology, 116, 335–349.

Fongaro, G., García-González, M.C., Hernández, M., Kunz, A., Barardi, C.R.M. and RodríguezLázaro, D. (2017). Different behavior of enteric bacteria and viruses in clay and sandy soils after biofertilization with swine digestate. Front Microbiology, 8, 1–9.

Foppen, J.W.A. and Schijven, J.F. (2005). Transport of E. coli in columns of geochemically heterogeneous sediment. Water Research, 39, 3082–3088.

Foppen, J.W.A. and Schijven, J.F. (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, 401–426.

Foppen, J.W.A., Liemb, Y. and Schijven, J. (2008). Effect of humic acid on the attachment of Escherichia coli in columns of goethite-coated sand. Water Research, 42, 211–219.

Ginn, T. R., Wood, B. D., Nelson, K. E., Scheibe, T. D., Murphy, E. M. and Clement, T. P. (2002). Processes in microbial transport in the natural subsurface. Advances in Water Resources, 25, 1017–42.

Guber, A.K., Pachepsky, Y.A., Shelton, D.R., and Yu, O. (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.

Jensen, A.N., Storm, C., Forslund, A., Baggesen, D.L. and Dalsgaard, A. (2013). Escherichia coli contamination of lettuce grown in soils amended with animal slurry. Journal of Food Protection. 76, 1137−1144.

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, 2–20.

Mosaddeghi, M.R., Mahboubi, A.A., Zandsalimi, S., and Unc, A. (2009). Influence of organic waste type and soil structure on the bacterial filtration rates in unsaturated intact soil columns. Journal of Environmental Management, 90, 730–739.

Muirhead, R.W., Collins, R.P., and Bremer, P.J. (2005). Erosion and Subsequent Transport State of *Escherichia coli* from Cowpats. Applied and Environmental Microbiology, 71 (6), 2875-2879.

Obayomi, l., Bernstein, N., Edelstein, M., Vonshak, A., Ghazayarn, L., Ben-Hur, M., Tebbe, C. C. and Gillor, O. (2019). Importance of soil texture to the fate of pathogens introduced by irrigation with treated wastewater. Science of the Total Environment, 653, 886–896.

Six, J., Elliott, E.T. and Paustian, K. (2000). Soil structure and soil organic matter: II. A normalized stability index and the effect of mineralogy. Soil Science Society of America Journal, 64, 1042–1049.

Unc, A. and Goss, M.J. (2004). Transport of bacteria from manure and protection of water resources. Applied Soil Ecology, 25, 1–18.

Wu, H., Jiang, D., Cai, P., Rong, X., Dai, K., Liang, W. and Huang, Q. (2012). Adsorption of Pseudomonas putida on soil particle size fractions: effects of solution chemistry and organic matter. Journal of Soils and Sediments, 12, 143–149.

Yang, H., Kim, H. and Tong, M. (2012). Influence of humic acid on the transport behavior of bacteria in quartz sand. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 91, 122–129.

**Topic for submission: Ecosystem Pollution, Human Health and Bioremediation**

# Effect of soil natural organic matter on attachment of *Escherichia coli*

R., Shokati Marzdashti[1], N., Ghorbanzadeh[2*], M.B., Farhangi[2], M., Shabanpour[3]

[1] M. Sc. Student, Soil Science Department, Faculty of Agriculture University of Guilan, Iran
[2] Assistant Prof., Soil Science Department, Faculty of Agriculture University of Guilan, Iran
[3]Associate Prof., Soil Science Department, Faculty of Agriculture University of Guilan, Iran

## Abstract

There is growing concern regarding the surface and ground water contamination by manure-borne pathogens. The objective of this study was to compare *Escherichia coli* attachment to soil particles and its retention in the soil environment, in soils with different levels of natural organic matter. A multi-level factorial batch experiment with complete randomized design was employed in three replications. Experimental factors include organic matter (1.10, 2.75, 3.46, 4.74, and 5.01 g/100 g soil) and contact times (2, 10, and 30 minutes). The effect of OM and contact time on the number of attached bacteria to soil particles was significant ($p$ <0.01) but their interaction was not significant on this factor (P>0.05). The number of retained bacteria in soil reduced with increasing the level of OM. The highest amount of retained bacteria was observed in soil with 1.1% OM, but their difference was not significant with soil containing 2.75% OM (P>0.05). The lowest percentage of retained bacteria was observed in soil with 5.01% OM. The number of retained bacteria in soils reduced with contact time increase. Therefore, the presence of organic matter in soil environment may induce *E. coli* bacteria mobility and facilitate their colloidal transport.

**Key word**: manure, pathogenic bacteria, contact time, transport

* Corresponding author, Email: nasrin.ghorbanzadeh@gmail.com