

Effect of cow manure's particle size on the distribution of Coliform bacterial contamination in a soil column under grass cultivation

Yashar Jahandideh¹ , Sayyed-Hassan Tabatabaei^{2*} , Zeinab Ahmadimoghadam³ 

¹ Former M.Sc. Student, Department of Water Engineering, Faculty of Agriculture, Shahrekord University, Shahrekord, Iran

² Professor, Department of Water Engineering, Faculty of Agriculture, Shahrekord University, Shahrekord, Iran

³ Former Ph.D. Student, Department of Water Engineering, Faculty of Agriculture, Shahrekord University, Shahrekord, Iran

Extended Abstract

Introduction

The cow manure application is a common way to improve soil properties, however, the uses may cause bacteria contamination in the soil profile as well as the surface water and groundwater. Thus it is crucial to monitor the amount of bacterial transport and retention on the soil surface and deeper under cultivation conditions. The literature review shows that the structure of manure, soil structure, cultivation, soil moisture, soil salinity, and irrigation methods are important in the transport and retention of bacteria in the porous media. The plant's roots cause cracks, creating preferential flow in the soil profile. Preferential flow accelerates pollutant transportation in the soil. Therefore It is essential to survey the transport of bacteria in the presence of plants. In this research, it has been investigated the effect of grass cultivation conditions and the size of the particles on the retention of *Escherichia coli* bacteria in the soil profile.

Materials and Methods

This research was conducted in the greenhouse and column experiments condition with grass cultivation. Cow manure was dried for 72 hours and passed through 0.25, 0.5, 1.0, and 2.0 mm sieves. The grass was prepared and placed uniformly on the surface of the soil columns. Then 14 days were given for the stabilization and settlement of the grass roots into the soil columns. The columns were irrigated once every two days by custom surface method until the soil moisture to the field capacity. The column's height was divided into six equal layers, in which each layer was sampled to measure the remaining *E. coli* bacteria. The live counting method was used to determine the bacteria accumulation on the soil profile. For the measurement, a nine cubic centimeter of distilled water was added to one gr of each soil sample and they were put and kept in a shaker for 30 minutes. After preparing the soil samples' dilutions, 100 μ l of each dilution was cultured on the Eosin Methylene Blue (EMB) culture medium. The plates were retained at 37 °C, the temperature suitable for *E. coli* growth. After 24 hours, the bacteria colonies were counted and reported per ml. Due to the difference in the initial concentration of bacteria in the cow manure samples, the relative concentration index of bacteria was used to compare the concentration of bacteria in the effluent and the soil profile. This is the bacteria concentration ratio to the concentration of input bacteria, at each depth of the soil with the S/C0 parameter, it was shown that C0 and S are the bacteria concentration in the manure columns and the bacterial growth rate in the soil depth respectively.

Results and Discussion

In this research, the distribution of the soil bacteria is studied at the end of the test period. The results show that in treatments without grass cultivation, it can be seen that the maximum S/C0 for all cow's manure sizes in the surface layer was 10 cm. With increasing depth, the relative concentration of the bacteria in all treatments has decreased. In the conditions of grass cultivation on the soil surface, the relative concentration of bacteria for the manure particle size of 0.25 mm at lower depths was more than the treatment with a larger particle size. The smaller size of the manure particles of 0.25 mm due to their transfer to the lower layers has led to the observation of a higher amount of bacteria compared to other sizes at lower depths. In other words, due to their small size, cow manure particles with a diameter of 0.25 were more easily transported to the lower layers of the soil column by flowing through the pores created by the plant roots. The reason for the decrease of the bacteria absorption in the soil surface layer compared to the treatments without cultivation can be attributed to the soil structure. The root growth

causes the creation of macropores and large pores on the soil surface and increases the transfer of bacteria to the lower layers.

Conclusion

The effect of grass cultivation and different sizes of cow manure particle size (2.0, 1.0, 0.5, and 0.25 mm) were evaluated on the distribution of *Escherichia coli* bacteria in the soil profile. It shows that the bacteria retention rate decreases with increasing depth in the soil profile. Manure particles with a size of 0.25 mm cause more contaminant transport to the lower depth of the soil profile. Preferential flow in the conditions of grass cultivation caused the transport of bacteria to the lower depths. Grass cultivation causes bacteria retention at lower depths compared to the conditions without cultivation. The average bacterial retention index was 68% for a manure size of 2.0 mm at a depth of 10 cm and 48% in the treatment with a manure size of 0.25 mm. It concluded that the possibility of deep soil contamination with the application of manure with finer particles and grass cultivation is higher than with coarser particles and without grass cultivation.

Keywords: Cow manure, *Escherichia coli*, Particle size, Preferential flow, Transport of bacteria.

Article Type: Research Article

Acknowledgment

We would like to express our sincere gratitude to Shahrekord University for the financial and logistical support that significantly contributed to the research project.

Conflicts of interest

The authors of this article declared no conflict of interest regarding the authorship or publication of this article.

Data availability statement

The data used in this research will be available (by the corresponding author), upon reasonable request.

Authors' contribution

Yashar Jahandideh: Making setup, doing experiment; **Sayyed-Hassan Tabatabaei:** Analysis of results and editing the article; **Zeinab Ahmadimoghdam:** Statistical analysis and original draft preparation.

*Corresponding Author, E-mail: Tabatabaei@sku.ac.ir

Citation: Jahandideh, Y., Tabatabaei, S.H., & Ahmadimoghdam, Z. (2024). Effect of cow manure's particle size on the distribution of Coliform bacterial contamination in a soil column under grass cultivation. *Water and Soil Management and Modeling*, 4(3), 133-142.

DOI: 10.22098/mmws.2023.12654.1259

Received: 06 April 2023, Received in revised form: 06 May 2023, Accepted: 08 May 2023, Published online: 08 May 2023
Water and Soil Management and Modeling, Year 2024, Vol. 4, No. 3, pp. 133-142

Publisher: University of Mohaghegh Ardabili

© Author(s)





اثر اندازه ذرات کود گاوی بر توزیع آلاینده کلیرم در ستون خاک تحت کشت چمن

یاشار جهان دیده^۱، سید حسن طباطبائی^{۲*}، زینب احمدی مقدم^۳

^۱ دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه مهندسی آب، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

^۲ استاد، گروه مهندسی آب، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

^۳ دانش آموخته دکتری، گروه مهندسی آب، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

چکیده

کاربرد کودهای دامی سبب بهبود ویژگی‌های فیزیکی خاک و عملکرد محصول می‌شود، ولی در کودهای دامی باکتری‌های بیماری‌زا وجود دارد. لذا نیاز است توزیع باکتری در پروفیل خاک با کاربرد کود ارزیابی شود. از این رو، انتقال و نگهداشت باکتری سطح خاک در این شرایط اهمیت پیدا می‌کند. یکی از باکتری‌های شاخص برای میزان سنجش آلودگی باکتری ایشریشیاکولی است. هدف از این پژوهش بررسی اثر اندازه ذرات کود و کشت چمن بر انتقال و نگهداشت باکتری است. پژوهش در گلخانه پژوهشی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهرکرد انجام شد. تیمارهای کود گاوی با چهار قطر ۰/۲۵، ۰/۵۰، ۱/۰ و ۲/۰ میلی‌متر انتخاب (به میزان ۳۶ تن بر هکتار روی سطح خاک) و اثر اندازه ذرات کود در شرایط وجود و بدون کشت چمن بر انتقال باکتری بررسی شد. برای انجام آزمایش‌ها ستون‌های PVC به ارتفاع ۳۵۰ و قطر ۱۶۰ میلی‌متر انتخاب و با خاک با بافت لومی پر شدند. چمن با ارتفاع پنج سانتی‌متری روی سطح ستون‌های خاک قرار گرفت. ستون‌ها هر دو روز (هفت مرتبه) تا حد ظرفیت زراعی آبیاری شدند و پس از هفت آبیاری آب‌شویی ستون‌ها انجام شد و میزان باکتری به روش شمارش زنده در عمق‌های مختلف اندازه‌گیری شد. نتایج پژوهش نشان داد بیش‌ترین نگهداشت میزان باکتری صرف نظر از شرایط کشت چمن، در عمق ۱۰ سانتی‌متری سطح خاک است و رابطه معکوس بین افزایش عمق و نگهداشت باکتری در خاک وجود دارد. جریان‌های ترجیحی در شرایط کشت چمن سبب انتقال باکتری به اعماق پایین‌تر شد و نگهداشت باکتری در اعماق پایین‌تر نسبت به شرایط بدون کشت بیش‌تر شد. متوسط شاخص نگهداشت باکتری برای اندازه ذرات کود دو میلی‌متر در عمق ۱۰ سانتی‌متر، ۶۸ درصد و در تیمار با اندازه ذرات کود ۰/۲۵ میلی‌متر، ۴۸ درصد شد. به ازای ذرات کوچک‌تر کود میزان نگهداشت باکتری در پروفیل خاک در عمق‌های پایین‌تر از ۱۰ سانتی‌متر بیش‌تر شد. لذا، توصیه می‌شود در مناطقی که کشت چمن انجام می‌شود برای جلوگیری از آلودگی باکتریایی سطح خاک که در تماس با انسان است از کود گاوی با ذرات ریزتر مانند ۰/۵ و یک میلی‌متر استفاده شود.

واژه‌های کلیدی: ایشریشیاکولی، اندازه ذرات، انتقال باکتری، جریان ترجیحی، کود دامی

نوع مقاله: پژوهشی

*مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: Tabatabaei@sku.ac.ir

استناد: جهان دیده، یاشار، طباطبائی، سیدحسن، و احمدی مقدم، زینب (۱۴۰۳). اثر اندازه ذرات کود گاوی بر توزیع آلاینده کلیرم در ستون خاک تحت

کشت چمن. *مدل سازی و مدیریت آب و خاک*، ۴(۳)، ۱۳۳-۱۴۲.

DOI: 10.22098/mmws.2023.12654.1259

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۱/۱۷، تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲/۰۲/۱۶، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۲/۱۸، تاریخ انتشار: ۱۴۰۲/۰۲/۱۸

مدل سازی و مدیریت آب و خاک، سال ۱۴۰۳، دوره ۴، شماره ۳، صفحه ۱۳۳ تا ۱۴۲

© نویسندگان

ناشر: دانشگاه محقق اردبیلی



۱- مقدمه

آلودگی‌های به وجود آمده از طریق کشاورزی به‌طور مستقیم و غیرمستقیم بر سلامت انسان اثرگذار است. در کشاورزی برای بهبود حاصل‌خیزی خاک از کودهای آلی و شیمیایی استفاده می‌کنند. کودهای آلی مانند کودهای دامی، ترکیبات آلی هستند که منشأ زنده و آلی دارند. این ترکیبات آلی غنی از عناصر غذایی و مواد آلی بوده و می‌توانند علاوه بر حاصل‌خیزی شیمیایی خاک، ویژگی‌های فیزیکی خاک را نیز بهبود بخشند. یکی از ارکان اصلی در کشاورزی پایدار استفاده از کودهای آلی در سیستم‌های کشت با هدف حذف یا کاهش مصرف نهاده‌های شیمیایی است (Wortman et al., 2017). کود دامی منبع مهمی از مواد آلی، ریزجانداران مفید و مواد مغذی گیاهی است. مواد آلی خاک سبب پایداری خاکدانه‌ها، افزایش ظرفیت نگهداری آب و افزایش فعالیت میکروبی می‌شود (Diacono and Francesco, 2010). به دلیل هزینه‌های زیاد کودهای شیمیایی (Ebrahimipak et al., 2023) استفاده تلفیقی از کود دامی و کودهای شیمیایی را پیشنهاد دادند. زیرا سبب افزایش میزان عملکرد گیاهان، کیفیت خصوصیات خاک، افزایش ماده آلی در خاک و کاهش مصرف کود شیمیایی می‌شود. فضولات دامی علاوه بر ریزجانداران سودمند، دارای ریزجانداران بیماری‌زا هستند که می‌توانند سلامتی انسان و جانداران را تهدید کنند. پس از پخش کود دامی در سطح خاک، باکتری‌های موجود در کود وارد محلول خاک می‌شوند و در زمان آبیاری و بارندگی آلودگی باکتریایی در خاک نفوذ می‌کنند و سبب انتقال آلودگی به آب‌های زیرزمینی می‌شوند. مصرف آب‌های آلوده اولین راه انتقال باکتری‌های بیماری‌زا به انسان است. حد بحرانی کلیفرم روده‌ای برای آب نوشیدنی ۲۰۰۰ کلونی در لیتر است. در هر گرم کود دامی ۱۰^{۱۰} باکتری وجود دارد که تنها ۱۰^۵ عدد آن‌ها سودمند است (Warnemuende et al., 2002). بنابراین، مدیریت کاربرد کود دامی و روش‌های زراعی برای به حداقل رساندن آب‌شویی باکتری‌ها و آلودگی آب‌های زیرزمینی ضروری است. ایشریشیاکولی گروه بزرگی از باسیل‌های گرم منفی بدون اسپور به نام آنتروباکتریاسه (Enterobacteriaceae) هستند که در روده انسان و حیوان زندگی می‌کند. ایشریشیاکولی باکتری‌های میله‌ای شکل با عرض ۱/۵-۱/۱ میکرومتر و طول دو تا شش میکرومتر بی‌هوازی اختیاری هستند. عفونت بیماری‌زا ایشریشیاکولی (E. Coli) معمولاً سبب اسهال شدید می‌شود (Desmarchelier and Fegan, 2002).

از عوامل مؤثر بر انتقال باکتری می‌توان به ساختار کود، ساختمان خاک، نوع کشت، شرایط آبیاری و رطوبت خاک اشاره کرد. هر چه اندازه کود درشت‌تر باشد، باکتری بیش‌تری در زه آب خروجی ستون خاک مشاهده می‌شود و هر چه اندازه ذره کود

کوچک‌تر باشد باکتری‌های بیش‌تری درون خاک محبوس می‌شود و انتقال آن به تأخیر می‌افتد. جابه‌جایی و انتقال باکتری‌ها در خاک، رابطه مستقیم با اندازه ذرات محیط متخلخل خاک دارد. در درون ذرات ریزتر جابه‌جایی و انتقال باکتری‌ها کندتر از ذرات درشت‌تر است جریان‌های ترجیحی و انتقال توده‌ای باکتری در حضور ذرات درشت‌تر بیش‌تر است که دلیل آن حبس و جذب باکتری‌ها در اندازه‌های کوچک‌تر است (Tabatabaei et al., 2022). در پژوهشی، Aalipour Shehni et al. (2015) به بررسی حرکت باکتری E. Coli موجود در کودهای دامی در شرایط جریان اشباع و در بافت‌های مختلف پرداختند و نشان دادند که وجود منافذ درشت در خاک‌هایی با بافت درشت سبب انتقال بیش‌تر باکتری می‌شود. نتایج بررسی اثر سطوح مختلف آبیاری توسط Ahmadimoghadam et al. (2021) نشان داد که بیش‌ترین میزان تجمع باکتری در لایه سطحی خاک است و انتقال باکتری در اثر جریان توده‌ای با افزایش سطح آبیاری بیش‌تر می‌شود. در رابطه با ستون‌های خاک بدون کشت گیاه نیز Alipour Shehni et al. (2015) بیان کردند در شرایط بدون کشت گیاه، حضور ریشه گیاه و حضور ریشه پوسیده شده گیاه مقدار باکتری مشاهده شده در زه آب خروجی به ترتیب ۲/۹، ۹/۷۵ و ۷۹/۱۳ درصد بود که در شرایط وجود کشت میزان آب‌شویی باکتری در ستون خاک بیش‌تر مشاهده شد.

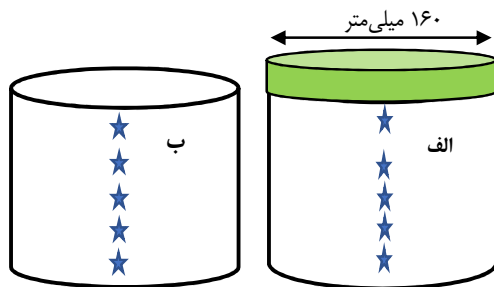
استفاده از کودهای دامی و فاضلاب‌ها در اراضی کشاورزی به‌منظور افزایش حاصل‌خیزی خاک و بهبود ویژگی‌های فیزیکی آن، افزایش یافته است. کاربرد نادرست آن‌ها از طریق آلودگی میکروبی و شیمیایی، سبب کاهش کیفیت آب سطحی و زیرزمینی شده و در نتیجه سلامت عمومی و محیط زیستی را به خطر انداخته است. بنابراین، با توجه به اهمیت محیط زیستی حرکت باکتری E. Coli به‌عنوان یک پاتوژن در خاک، بررسی آن در محیط متخلخل اهمیت دارد. عمده مطالعات در زمینه انتقال باکتری در خاک بدون حضور گیاه انجام شده است، در حالی که کود در فصل زراعی و در شرایط کشت گیاه برای افزایش حاصل‌خیزی خاک و عملکرد کیفی و کمی گیاه استفاده می‌شود. لذا، لازم است کاربرد اندازه ذرات کود و اثر آن بر انتقال باکتری در حضور گیاه بررسی شود. بنابراین، هدف پژوهش حاضر بررسی اثر اندازه ذرات کود در حضور کشت گیاه بر انتقال باکتری در خاک است.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- محل آزمایش

این پژوهش در گلخانه پژوهشی دانشگاه شهرکرد انجام شد. نمونه خاک از محوطه اطراف دانشکده کشاورزی جمع‌آوری شد. بافت خاک با اندازه‌گیری درصد سیلت، رس و شن (به روش هیدرومتری)

رقیق سازی نمونه‌ها یک سه مرتبه انجام شد و بعد از رقیق سازی ۱۰۰ میکرولیتر از نمونه درون پلیت با محیط آنوزین متیلن بلو (EMB^۲) به منظور شناسایی باکتری ایشریشیاکولی ریخته شد و به صورت وارونه به مدت ۲۴ ساعت درون انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت (Connie et al., 2011). باکتری‌های E.Coli در این محیط به صورت سبز رنگ با جلای فلزی قابل شمارش هستند. به دلیل تفاوت در غلظت باکتری نمونه‌های کود از شاخص غلظت نسبی باکتری که بدون بعد است برای مقایسه میزان غلظت باکتری پروفیل خاک استفاده شد. شاخص غلظت نسبی باکتری از نسبت میزان غلظت باکتری در هر عمق خاک بر میزان غلظت باکتری ورودی محاسبه شد که این شاخص با پارامتر S/C₀ در متن اشاره شده است. S و C₀ به ترتیب میزان غلظت باکتری در کود تیمارها و میزان غلظت باکتری در عمق خاک است.



شکل ۱- موقعیت نمونه‌گیری از ستون‌های خاک (موقعیت نمونه‌برداری خاک)- با کشت چمن (الف) و بدون کشت چمن (ب)
Figure 1- Sampling position of soil columns (soil sampling position) - with grass cultivation (a) and without grass cultivation (b)

برای مقایسه میزان نگهداشت باکتری در عمق‌های مختلف نیم‌رخ خاک در تیمارهای مختلف، مساحت زیرمنحنی، غلظت نسبی باکتری در لایه‌های مختلف (محور افقی غلظت نسبی (S/C₀) و محور عمودی عمق خاک) محاسبه شد. از نسبت مساحت زیرمنحنی در هر عمق به میزان غلظت باکتری کل در خاک، شاخص نگهداشت باکتری در هر عمق محاسبه شد (رابطه ۲). در این رابطه، S_Z مساحت زیرمنحنی نگهداشت باکتری (میلی‌گرم بر لیتر) در عمق Z (متر) و C₀ کل غلظت باکتری ستون خاک (میلی‌گرم بر لیتر) است.

$$SI = \frac{\sum S}{C_0} \quad (2)$$

۴-۲- تحلیل داده‌ها

برای تحلیل آماری از نرم‌افزار SAS و برای مقایسه میانگین‌ها و بررسی اثر متقابل تیمارها با نرم‌افزار MSTATC استفاده شد.

و با استفاده از مثلث بافت خاک تعیین شد (Beretta et al., 2014). هدایت هیدرولیکی اشباع خاک با روش بار ثابت (Klute and Dirkson 1986)، pH (با pH متر) (Sims, 1996)، EC (با EC متر) (Rhoades, 1996)، کلسیم، منیزیم (به روش تیتراسیون)، سدیم (با روش شعله‌سنجی) و کربن آلی (Walkly and Blake, 1934) اندازه‌گیری شدند.

در این پژوهش مقدار کود به میزان ۳۶ تن بر هکتار (برحسب وزن خشک ۵۲ گرم) به سطح ستون‌های خاک اضافه شد (Ghanbari et al., 2015). کود گاوی مورد نظر به صورت تازه از فضولات مجموعه دامپروری دانشگاه شهرکرد، جمع‌آوری و سپس به مدت ۷۲ ساعت در دمای اتاق خشک و از الک‌های ۰/۲۵، ۰/۵، یک و دو میلی‌متر عبور داده شد. بخش اول پژوهش حاضر با موضوع بررسی اثر اندازه ذرات بر زهاب (Effluent) و منحنی رخنه قبل بررسی و چاپ شده است (Jahandideh et al., 2023). لذا موارد مربوط به ساخت ستون‌ها و نحوه اعمال تیمارها به آن ارجاع داده می‌شود. این پژوهش در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. تیمارها شامل کشت چمن در دو سطح (بدون کشت و با کشت چمن) و اندازه ذرات کود دامی در چهار سطح انتخاب شدند.

۲-۲- آبیاری

ستون‌ها مطابق با برنامه معمول آبیاری به روش سطحی تا رسیدن به رطوبت ظرفیت زراعی آبیاری شدند. میزان رطوبت قبل از هر آبیاری با دستگاه SM300 اندازه‌گیری شد و ستون‌ها هر دو روز آبیاری شدند. حجم آبیاری هر تیمار با استفاده از رابطه (۱) محاسبه شد:

$$V = (\theta_{fc} - \theta_i) \times Z \times A \quad (1)$$

در رابطه بالا، θ_{fc} و θ_i به ترتیب رطوبت قبل از آبیاری و رطوبت ظرفیت زراعی (سانتی‌مترمکعب بر سانتی‌مترمکعب)، V حجم آبیاری (سانتی‌مترمکعب)، Z عمق ستون خاک (سانتی‌متر) و A سطح مقطع ستون خاک (سانتی‌مترمربع) است. پس از هفت آبیاری، آزمایش آب‌شویی باکتری تا زمان خروج هفت برابر حجم آب منفذی (PV)^۱ انجام شد (Tabatabaei et al., 2022). از هر لایه پنج سانتی‌متری ستون خاک (پنج، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵ و ۳۰) نمونه‌برداری و میزان باکتری اندازه‌گیری شد. موقعیت نمونه‌گیری در شکل ۱ با علامت ستاره آورده شده است.

۳-۲- اندازه‌گیری جمعیت باکتری در نیم‌رخ خاک

برای اندازه‌گیری میزان باکتری در کود و خاک، مقدار یک گرم کود گاوی و خاک در یک ظرف حاوی آب مقطر (نه سی سی) ریخته و به مدت ۳۰ دقیقه در دستگاه همزن یا شیکر قرار گرفتند.

² Eosin methylene blue (EMB)

¹ Pore volume (PV)

۳- نتایج و بحث

میزان غلظت باکتری در کود $3/2 \times 10^5$ (واحد تشکیل کلونی بر میلی لیتر) بود. نمونه‌های خاک فاقد باکتری ایشیریشیاکولی بودند. در بخش اول نتایج پژوهش نگهداشت باکتری در خاک بدون کشت چمن و در بخش دوم نگهداشت باکتری در خاک با وجود کشت چمن ارائه می‌شود

ویژگی‌های فیزیکی خاک مورد مطالعه در جدول ۱ آورده شده است. بافت خاک مورد استفاده در آزمایش لوم بود. ویژگی‌های شیمیایی کود و خاک در جدول ۲ ارائه شده است. میزان غلظت باکتری ایشیریشیاکولی در کود با روش شمارش زنده تعیین شد و متوسط

جدول ۱- ویژگی‌های فیزیکی خاک کاربردی

Table 1- Physical characteristics of applied soil

بافت خاک	ظرفیت زراعی (درصد)	چگالی ظاهری (گرم بر سانتی‌مترمکعب)	چگالی حقیقی (گرم بر سانتی‌مترمکعب)
لوم	0.35	1.32	2.35

جدول ۲- ویژگی‌های شیمیایی خاک و کود

Table 2- Chemical characteristics of soil and fertilizer

تیمار	EC	pH	Na ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	کربن آلی	متوسط میزان E.coli
	دسی زیمنس بر متر	-	میلی اکی والان بر لیتر	میلی اکی والان بر لیتر	میلی اکی والان بر لیتر	درصد	-
خاک	0.65	7.71	10.12	4	5	0.08	0
کود	13.75	8.5	24.34	12.5	30.1	3.58	3.2×10^5

میلی‌متر از عمق ۱۵ تا ۳۰ سانتی‌متر تقریباً مشابه بود و مقدار نگهداشت باکتری در این دو تیمار بیش‌تر از تیمار با اندازه ذرات کود دو میلی‌متر شد. ریزتر بودن ذرات کود $0/25$ میلی‌متر به دلیل کندی آب‌شویی باکتری به اعماق پایین‌تر، سبب شد که در لایه‌های پایین‌تر میزان نگهداشت باکتری در مقایسه با دیگر اندازه‌های کود بیش‌تر باشد. به عبارت دیگر جریان توده‌ای سبب تسهیل انتقال باکتری به ازای ذرات درشت‌تر کود و آب‌شویی باکتری‌ها شد (Jahandideh et al., 2023) و به ازای ذرات کود با اندازه $0/25$ میلی‌متر میزان آب‌شویی باکتری‌ها کم‌تر و نگهداشت باکتری در پروفیل خاک بیش‌تر شد. از این‌رو، کودهایی با قطر کم‌تر از دو میلی‌متر در عمق‌های پایین خاک یعنی ۲۰ و ۲۵ سانتی‌متری پالایش فیزیکی بیش‌تری در مقایسه با دیگر اندازه‌های کود داشتند.

۳-۲- نگهداشت باکتری در خاک با کشت چمن

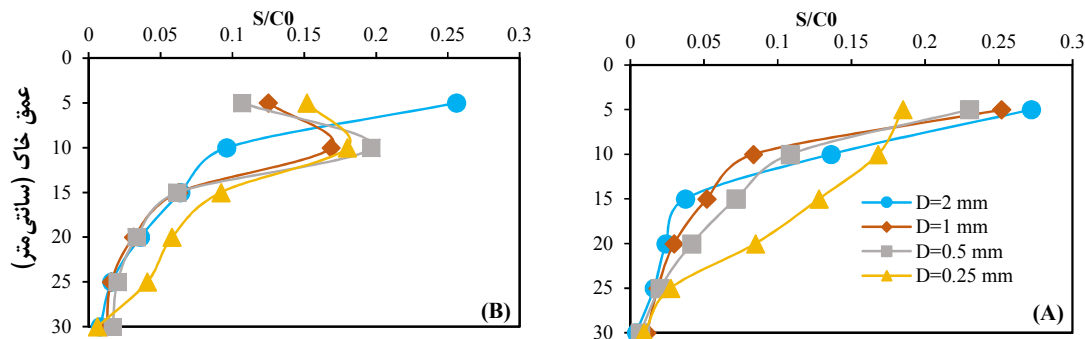
شکل ۲-ب، توزیع باکتری خاک در شرایط کشت چمن به ازای اندازه ذرات متفاوت کود را نشان می‌دهد. در تیمارهای با کشت چمن، مشاهده می‌شود که حداکثر S/C0 برای اندازه کود دو میلی‌متر در لایه سطحی، یعنی عمق پنج سانتی‌متر اتفاق افتاده و از آن پس با افزایش عمق، غلظت نسبی باکتری نیز روند کاهشی داشته است. کود با اندازه ذرات دو میلی‌متر بیش‌ترین و کود $0/25$ میلی‌متر کم‌ترین S/C0 را در عمق پنج سانتی‌متری داشتند. در عمق ۱۰ سانتی‌متر غلظت نسبی باکتری برای اندازه کود یک و $0/5$ و $0/25$ میلی‌متر نسبت به کود دو میلی‌متر به ترتیب $1/75$ ، $1/98$ و $1/9$ برابر بیش‌تر شد. در شرایط کشت چمن، ریشه گیاه با ایجاد منافذ درشت سبب انتقال سریع‌تر املاح به عمق خاک شده است به همین دلیل تجمع باکتری در عمق ۱۰ سانتی‌متری

۳-۱- نگهداشت باکتری در خاک بدون کشت چمن

شکل ۲-الف، توزیع باکتری خاک در شرایط بدون کشت را نشان می‌دهد. در تیمارهای بدون کشت چمن مشاهده می‌شود که حداکثر S/C0 برای همه اندازه‌های کود در ۱۰ سانتی‌متر لایه سطحی خاک بود و با افزایش عمق، غلظت نسبی باکتری در تیمارها روند کاهشی داشته است. بررسی نگهداشت باکتری در ستون‌های آب‌شویی شده با اندازه ذرات کود مختلف توسط Tabatabaei et al. (2022) نشان داده شد که صرف‌نظر از اندازه ذرات کود بیش‌ترین نگهداشت باکتری در لایه سطحی خاک مشاهده شد. در پژوهشی Ahmadimoghadam et al. (2021) بیان کردند بیش‌ترین میزان تجمع باکتری در سطح‌های مختلف آبیاری در لایه سطحی خاک است و با افزایش عمق میزان نگهداشت باکتری کاهش می‌یابد. بررسی انتقال باکتری در زمین‌های با کاربری زراعی و شهری نشان داد که تجمع باکتری‌ها در لایه سطحی خاک بیش‌تر از اعماق خاک است که با نتایج این پژوهش هم‌خوانی دارد (Khaled et al., 2017). نتایج پژوهش‌ها نشان داد که تجمع باکتری در نزدیکی منبع آلودگی بیش‌تر از سایر نقاط پروفیل خاک است. به‌طور مثال در روش آبیاری زیرسطحی بیش‌ترین نگهداشت باکتری بعد از آبیاری در نزدیک قطره چکان‌ها مشاهده شد و با افزایش عمق میزان نگهداشت باکتری کاهش یافت (Abbasi et al., 2023). دلیل غیریکنواختی توزیع نگهداشت باکتری در پروفیل خاک پالایش فیزیکی است که تابعی از اندازه ذرات و نیروهای هیدرودینامیکی است. با کاهش اندازه ذرات محیط متخلخل (افزایش منافذ ریز در خاک) میزان پالایش فیزیکی باکتری E.Coli افزایش می‌یابد (Bradford et al., 2006). تجمع و نگهداشت باکتری در سطح خاک به دلیل پالایش فیزیکی بیش‌تر است (Jiang et al., 2000). مقدار S/C0 برای اندازه کود یک و $0/5$

میلی متر سبب انتقال کُندتر و آب‌شویی کم‌تر باکتری شد و در تیمارهایی با کشت چمن نیز مشابه شرایط بدون کشت چمن نگهداشت باکتری به ازای ذرات ریزتر به عمق خاک بیشتر مشاهده شد.

بیش‌تر از عمق پنج سانتی‌متری شد (Alipour Shehni et al., 2015; Golbadaghi, 2018). مقدار غلظت نسبی باکتری برای اندازه ذرات کود ۰/۲۵ میلی‌متر در عمق‌های پایین، بیش‌تر از تیمار با اندازه ذرات کود درشت‌تر شد. ریزتر بودن ذرات کود ۰/۲۵



شکل ۲- توزیع باکتری در عمق‌های مختلف خاک، بدون کشت چمن (الف)، با کشت چمن (ب)
Figure 2- Distribution of bacteria in different soil depths, without grass cultivation (a), with grass cultivation (b)

پالایش فیزیکی را کاهش می‌دهد (Akhavan et al., 2019). شاخص نگهداشت باکتری برای عمق‌های مختلف ستون‌های خاک در جدول ۴، آورده شده است. رشد ریشه‌های سطحی چمن با ایجاد مسیرهای جریان ترجیحی انتقال باکتری را در خاک به‌وسیله جریان توده‌ای را تسهیل می‌کند. از این‌رو، در عمق ۱۰ سانتی‌متری تیمارهای دارای کشت چمن باکتری بیش‌تری نسبت به تیمارهای بدون کشت داشتند و غلظت باکتری در پنج سانتی‌متری لایه سطحی در مقایسه با تیمارهای نظیرشان در حالت بدون کشت کم‌تر بود. شاخص نگهداشت باکتری برای اندازه کود دو میلی‌متر در ۱۰ سانتی‌متر لایه سطحی خاک سانتی‌متر ۶۵ درصد و در حالت بدون کشت ۷۱ درصد بود و بیان‌گر حرکت بیش‌تر باکتری در حالت وجود کشت چمن است. در صورتی‌که در تیمار با اندازه کود ۰/۲۵ میلی‌متر میزان شاخص نگهداشت باکتری در در ۱۰ سانتی‌متر لایه سطحی خاک در شرایط کشت چمن ۵۰ درصد و در حالت بدون کشت ۴۷ درصد شد. به ازای ذرات کوچک‌تر کود میزان نگهداشت باکتری در پروفیل خاک در عمق‌های پایین‌تر از ۱۰ سانتی‌متر بیش‌تر شد به‌طوری‌که میزان شاخص نگهداشت باکتری در لایه ۳۰-۲۵ سانتی‌متری به ازای ذرات کود ۰/۲۵ میلی‌متر دو برابر شاخص نگهداشت در همین لایه به ازای ذرات کود دو میلی‌متر شد. دلیل کاهش میزان نگهداشت باکتری در لایه سطحی خاک در مقایسه با تیمارهای بدون کشت را می‌توان به ساختمان خاک نسبت داد که رشد ریشه سبب ایجاد منافذ درشت در سطح خاک شده و انتقال باکتری به لایه‌های پایین‌تر را افزایش داده است. در پژوهشی، Alipour Shehni et al. (2015) به مسیرهای حاصل از شکاف‌های رشد گیاهان که سبب انتقال سریع میکروب‌های بیماری‌زا به لایه‌های زیرین می‌شوند، اشاره کردند.

۳-۳- تحلیل آماری داده‌ها

در جدول ۳ نتایج تحلیل واریانس داده‌ها آورده شده است. بر اساس نتایج جدول، اثر عمق و اثر متقابل عمق و کشت به‌ترتیب در سطوح اطمینان ۹۹ و ۹۵ درصد بر نگهداشت باکتری معنادار شد. شکل ۳ مقایسه میانگین اثر متقابل کشت و عمق خاک بر نگهداشت باکتری را نشان می‌دهد. بر اساس شکل بیش‌ترین نگهداشت باکتری در عمق پنج سانتی‌متری خاک در حالت بدون کشت بوده است که با میزان نگهداشت باکتری در حالت حضور کشت چمن در همین عمق اختلاف معنادار داشت. میزان نگهداشت باکتری در عمق پنج و ۱۰ سانتی‌متری اختلاف معناداری را در شرایط بدون کشت و حضور کشت چمن نداشتند. علت افزایش غیرمعنادار میزان نگهداشت باکتری در عمق ۱۰ سانتی‌متری وجود جریان ترجیحی را می‌توان اشاره کرد که سبب انتقال باکتری از عمق پنج سانتی‌متری لایه سطحی خاک به عمق ۱۰ سانتی‌متری شده است. در سایر اعماق اختلاف معناداری بین نگهداشت باکتری و کشت چمن وجود نداشت.

۳-۴- مقایسه نگهداشت باکتری در دو حالت

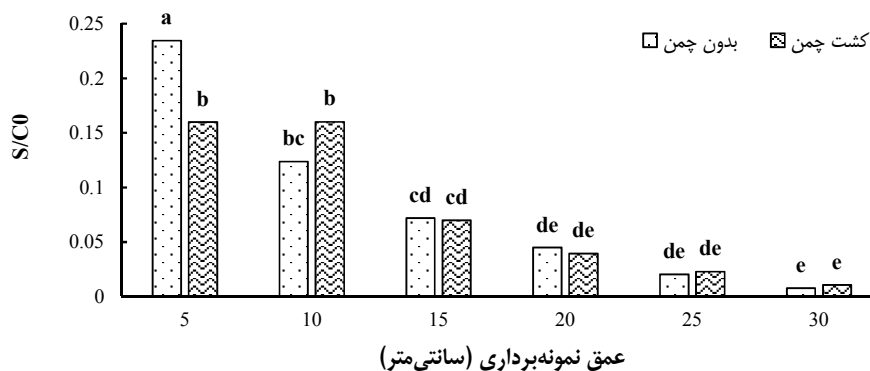
با توجه به شکل ۴، به ازای ذرات کود دو میلی‌متر در دو حالت کشت چمن و فاقد کشت چمن میزان غلظت باکتری اختلاف قابل‌توجهی نداشتند. ولی غلظت نسبی باکتری در تیمارهای با اندازه ذرات کود کم‌تر از دو میلی‌متر در عمق‌های پایین خاک در تیمارهای دارای کشت چمن بیش‌تر از تیمارهای بدون کشت چمن بود. این مسأله مؤید آن است که کاشت چمن سبب تسهیل انتقال باکتری زیرین شده است و علت آن ایجاد جریان‌های ترجیحی حاصل از رشد ریشه‌های گیاه و ایجاد منافذ در خاک است و وجود منافذ مقدار

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس اثر کشت و اندازه ذرات بر میزان باکتری در عمق خاک

Table 3- The results of the analysis of variance of the effect of cultivation and particle size on the amount of bacteria in the soil depth

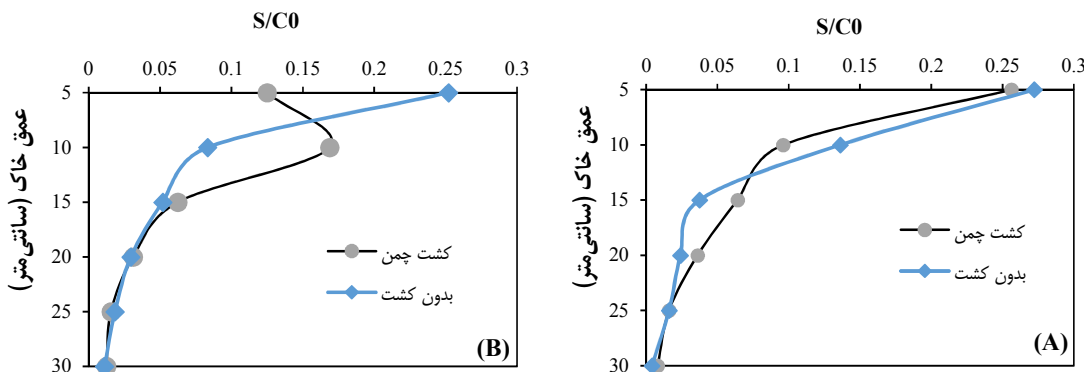
منبع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات	pr>F
اندازه ذرات	3	0.001	0.289 ^{n.s}
عمق	5	0.044	<0.001 ^{**}
کشت	1	0.0005	0.433 ^{n.s}
اثر متقابل کشت و عمق	5	0.0027	0.035 [*]
اثر متقابل عمق و اندازه ذرات کود	15	0.0014	0.177 ^{n.s}
اثر متقابل اندازه ذرات کود و کشت	3	0.0005	0.978 ^{n.s}
خطا	47	0.0123	

** معناداری در سطح یک درصد، * معناداری در سطح پنج درصد و ^{n.s} اختلاف معنادار وجود ندارد.



شکل ۳- نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل کشت و عمق بر توزیع باکتری

Figure 3- Mean comparison and the interaction effect of cultivation and soil depth on the bacterial distribution



شکل ۴- مقایسه توزیع باکتری در عمق‌های مختلف خاک بدون کشت چمن و با کشت چمن، ذرات کود دو میلی‌متری (الف)، ذرات کود ۰/۵ میلی‌متری (ب)

Figure 4- Comparison of bacteria distribution in different soil depths without grass cultivation and with grass cultivation, 2 mm manure particles (a) and 0.5 mm manure particles (b)

جدول ۴- شاخص نگهداشت باکتری بر حسب درصد در عمق‌های نمونه‌برداری برای تیمارهای مختلف*

Table 4- Bacteria retention index in percentage at sampling depths for different treatments*

با کشت چمن				بدون کشت چمن				عمق نمونه‌برداری (سانتی‌متر)
D _{0.25}	D _{0.5}	D ₁	D ₂	D _{0.25}	D _{0.5}	D ₁	D ₂	
15.36	14.76	15.72	27.55	20.28	25.31	29.81	29.34	0-5
31.24	34.60	35.69	37.07	28.76	35.10	37.37	41.05	5-10
25.59	29.47	28.09	16.85	24.13	18.67	15.07	17.42	10-15
14.11	10.84	11.39	10.53	17.35	11.76	9.08	6.16	15-20
9.30	6.08	5.69	5.48	9.13	6.40	5.37	4.02	20-25
4.40	4.18	3.42	2.53	2.97	2.77	3.30	2.01	25-30
100	100	100	100	100	100	100	100	مجموع

* D_{0.25}, D_{0.5}, D₁ و D₂ به ترتیب تیمار دارای اندازه ذرات کود ۰/۲۵، ۰/۵، یک و دو میلی‌متر

۴- نتیجه گیری

در این پژوهش اثر اندازه ذرات کود و وجود کشت چمن بر انتقال باکتری اشریشیاکولی در پروفیل خاک بررسی شد. نتایج پژوهش نشان داد حضور چمن در سطح خاک به دلیل ایجاد جریان‌های ترجیحی به‌وسیله ریشه چمن، سبب تسهیل انتقال باکتری در پروفیل خاک می‌شود. صرف نظر از شرایط کشت و اندازه ذرات کود، بیش‌ترین نگهداشت باکتری در لایه ۱۰ سانتی‌متری سطحی خاک است و با افزایش عمق تیمارها میزان نگهداشت باکتری کاهش می‌یابد. کاربرد کود با اندازه ذرات ۰/۲۵ میلی‌متر، سبب افزایش نگهداشت باکتری در پروفیل خاک می‌شود لذا در صورت استفاده از کودهایی با ذرات ریز در مناطق با عمق سطح ایستایی کم احتمال انتقال آلودگی آب‌های زیرزمینی کم‌تر است. اندازه ذرات کود کوچک‌تر از یک میلی‌متر سبب افزایش میزان فاکتور تأخیر شد و بیان‌گر میزان جذب بیشتر باکتری در پروفیل خاک در این تیمارها است.

سیاسگزاری

بدین‌وسیله از حمایت‌های معنوی دانشگاه شهرکرد در انجام پژوهش قدردانی می‌شود.

تضاد منافع نویسندگان

نویسندگان این مقاله اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تضاد منافی در خصوص نگارش و انتشار مطالب و نتایج این پژوهش وجود ندارند.

دسترسی به داده‌ها

داده‌ها و نتایج استفاده شده در این پژوهش از طریق مکاتبه با نویسنده مسئول در اختیار قرار خواهد گرفت.

مشارکت نویسندگان

یاشار جهاننیده: انجام آزمایش‌ها؛ سیدحسن طباطبائی: تحلیل نتایج و ویرایش مقاله؛ زینب احمدی مقدم: تحلیل داده‌ها و تهیه نسخه اولیه مقاله.

منابع

- احمدی‌مقدم، زینب، طباطبائی، سیدحسن، و ابراهیمی کهریزسنگی، عزیزاله (۱۳۹۹). اثر همزمان کم‌آبیری و جریان ترجیحی بر نگهداشت باکتری اشریشیاکولی در خاک. *آبیاری و زهکشی*، ۲۲۰۳-۲۲۱۶، ۱۴۶، doi:20.1001.1.20087942.2021.14.6.8.9
- ابراهیمی پاک، نیازعلی، امیدواری، شهرام، و عبدی، صمد (۱۴۰۲). تأثیر کود آلی و سطوح نیتروژن بر برخی صفات رشدی گیاه در تناوب گندم-ذرت. *مدل‌سازی و مدیریت آب و خاک*، ۱۱۹-۱۰۸، ۱۳۹، doi:10.22098/mmws.2022.11540.1139
- جهاننیده، یاشار، طباطبائی، سیدحسن، و دهقانیان، مریم (۱۴۰۲). تحلیل منحنی رخنه آلاینده باکتریایی در شرایط کشت چمن در ستون خاک با اندازه کود گاوی مختلف. *مدل‌سازی و مدیریت آب و خاک*، ۷۵-۸۸، ۲۰۲۳، doi:10.22098/mmws.2023.12529.1247
- عالی‌پور شهینی، مولود، فرخیان فیروزی، احمد، معتمدی، حسین، و کرابی، علی (۱۳۹۳). نقش رشد و پوسیدگی ریشه گیاه ذرت در انتقال باکتری اشریشیاکولی در خاک تحت شرایط جریان اشباع. *علوم آب و خاک*، ۱۹(۷)، ۱۶۳-۱۷۷، doi:10.18869/acadpub.jstnar.19.71.163
- قنبری، سارا، مرادی تلاوت، محمدرضا، و سیادت سیدعطاله (۱۳۹۴). اثر مصرف کود دامی بر عملکرد و کیفیت علوفه جو (*Hordeum vulgare L.*) و شنبليله (*Trigonella foenum* -) *graecum L.* در کشت مخلوط. *علوم زراعی ایران*، ۱۷(۴)، ۳۱۵-۳۲۸، doi:20.1001.1.15625540.1394.17.4.5.3
- گلبداغی، نورالدین (۱۳۹۰). حرکت باکتری اشریشیاکولی در ستون‌های دست نخورده خاک‌های با بافت و مدیریت کشت متفاوت. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه بوعلی سینا همدان.

References

- Aalipour Shehni, M., Farrokhian Firouzi, A., Motamedi, H., & Koraei, A. (2015). Effects of growing and decaying corn plant roots on Escherichia Coli transport in soil under saturated condition. *Journal of Water & Soil Science*, 19(7), 163-177. doi:10.18869/acadpub.jstnar.19.71.163 [In Persian]
- Abbasi, F., Ghobadnia, M., Abbasi, F., Hallett, D.B., & Sepehrnia, N. (2023). Biochar and flow interruption control spatio-temporal dynamics of fecal coliform retention under subsurface drip irrigation. *Journal of Contaminant Hydrology*, 253, 1-13. doi:10.1016/j.jconhyd.2022.104128
- Ahmadimoghadam, Z., Tabatabaei, S.H., & Ebrahimi, E. (2021). Simultaneous effects of deficit irrigation and preferential flow on escherichia coli retention in soil. *Iranian Journal of Irrigation & Drainage*, 6(14), 2203-2216. doi:20.1001.1.20087942.2021.14.6.8.9 [In Persian]
- Akhavan, S., Ebrahimi, S., Mojtahedi, A., Navabian, M., Shabanpour, M., & 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 & Technology*, 10(4), 1067-1075. doi:10.21817/ijet/2018/v10i4/181004217
- Beretta, A.N., Silbermann, A.V., Paladino, L., Torres, D., Kassahun, D., Musselli, R., & Lamohte, A.

- G. (2014). Soil texture analyses using a hydrometer: modification of the Bouyoucos method. *Ciencia e Investigación Agrarian*, 41(2), 263-271. doi:10.4067/S0718-16202014000200013
- Bradford, S.A., Simunek, J., & Walker, S.L. (2006). Transport and straining of E. coli O157: H7 in saturated porous media. *Water Resources Research*, 42(12), 1-12. doi:10.1029/2005WR004805
- Connie, R, Mahon Donald, C., & Lehman, GM. (2011) Textbook of diagnostic microbiology, Chapter 1, page 14.
- Diacono, M., & Francesco, M. (2010). Long-term effects of organic amendments on soil fertility: A Review. *Agronomy for Sustainable Development*, 30(2), 401-22. doi:10.1051/agro/2009040
- Desmarchelier, P., & Fegan, N. (2002). Escherichia Coli. *Encyclopedia of Dairy Sciences*. 948-954. doi:10.1016/B978-0-12-374407-4.00393-9
- Ebrahimipak, N., Omidvari, Sh., & Abdi, S. (2023). Effect of organic fertilizer and nitrogen levels on plant growth characteristics in Wheat-Corn rotation. *Water & Soil Management & Modeling*, 3(3), 108-119. doi:10.22098/mmws.2022.11540.1139 [In Persian]
- Ghanbari, S., MoradiTelavat, M.R., & Siadat, A. (2015). Effect of manure application on forage yield and quality of barley (*Hordeum vulgare* L.) and fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) in intercropping. *Iranian Journal of Crop Sciences*, 17(4), 315-328. doi:10.1001.1.15625540.1394.17.4.5.3. [In Persian]
- Golbadaghi, N. (2018). The movement of Escherichia coli bacteria in the intact columns of soils with different texture and cultivation management, Master's Thesis, Boali Sina University, Hamedan, Iran. [In Persian]
- Jahandideh, Y., Tabatabaei, S., Dehghanian, M. (2023). Analysis of the bacterial pollution breakthrough curve in the conditions of grass cultivation in the soil column with different sizes of cattle manure. *Water & Soil Management & Modelling*, 4(2), 75-88. doi:10.22098/mmws.2023.12529.1247 [In Persian]
- Jiang, S., Pang, L., Buchan, G.D., Simunek, J., Noonan, M.J., & 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*, 44(4), 1050-1061. doi:10.1016/j.watres.2009.08.039.
- 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. doi:10.1016/j.watres.2016.12.023
- Klute, A., & Dirksen, C. (1986). Hydraulic conductivity and diffusivity: Laboratory methods. *Methods of soil analysis: Part 1 physical and mineralogical methods*, 5, 687-734. doi:10.2136/sssabookser5.1.2ed.c28
- Rhoades, J.D. (1996). Salinity electrical conductivity and total dissolved solid. In: Page, A.L., Sommer, C.E., Nelson, P.W. (Eds.), *Methods of Soil Analysis. In Part 3. Chemical Methods*. ASA/SSSA, Madison, Wisconsin, USA, pp. 417-436.
- Sims, J.T. (1996). Lime requirement. In: Page, A.L., Sommer, C.E., Nelson, P.W. (Eds.), *Methods of soil analysis. In Part 3. Chemical Methods*. ASA/SSSA, Madison, Wisconsin, USA, p. 491. 491.
- Tabatabaei, SH., Sepehrnia, N., Norouzi, H., Shirani, H., & Rezanezhad, F. (2022). Effects of solid manure particle fractionation on transport, retention, and release of Escherichia coli. *Environmental Technology & Innovation*, 25, 1-9. doi:10.1016/j.eti.2021.102086
- Walkly, A., & Black, I.A. (1934). An examination of digestion method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration. *Soil Science*, 37, 29-38.
- Wortman, E., Ashley A., Elizabeth, M., Kaelyn, K., & Cameron, M. (2017). First-season crop yield response to organic soil amendments. *Agronomy Journal*, 109(4), 1210-1217. doi:10.2134/agronj2016.10.0627
- Warnemuende, E.A., & Kanwar, R.S. (2002). Effects of swine manure application on bacterial quality of leachate from intact soil columns. *Transactions of the ASAE*, 45(6), 1849-1857. doi:10.13031/2013.11436