DOI: 10.22059/ijswr.2021.321673.668932 تحقیقات آب و خاک ایران، دوره ۵۲، شماره ۷، مهر ۱۴۰۰ (ص ۱۹۷۰-۱۹۵۵)
(علمی – پژوهشی)

Assessment of *Escherichia coli* Leaching in two Acidic Soils

ZAHRA RAMEZANI[1], MOHAMMAD BAGHER FARHANGI[1*], NASRIN GHORBANZADEH[1], MAHMOUD SHABANPOUR [1]

1. Department of Soil Science, Faculty of Agriculture Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran.
(Received: Apr. 13, 2021- Revised: May. 26, 2021- Accepted: June. 19, 2021)

ABSTRACT

Manures are used to increase pH and fertility of acidic soils in Gilan province. Although they are useful, but contain coliform bacteria that can reach the groundwater resources and lead contamination. This study aimed to investigate an indicator bacterium; *Escherichia coli* transport in two acidic soils. Two soil samples with pH vlues of 5.88 and 3.99 were taken from Amlash and Lahijan area respectively. For leaching experiment, air dried soil was freely packed in Polyvinyl chloride sylinders (with diameter of 4.8 and height of 14.92 cm). A 0.1 pore volume (PV) of bacteria (1×10^8 CFU mL^{-1}) and bromide (0.008 mol L^{-1}) as a pulse flow was applied on the top of the soil columns after water flow rate reached steady state condition and leaching experiment was followed with distilled water. Leachate sampling was carried out in regular time intervals till 4.5 PV and *E. coli* and bromide concentrations were measured in the leachate. Resident *E. coli* number were also determined in each cutted 3 cm section of soil after leaching experiment endup. C/C_0 peak of *E. coli* in the leachate of Amlash and Lahijan soil columns was observed at 0.7 and 0.9 PV repectively, while the C/C_0 peak of bromide was occurred at 0.8 and 1.8 PV respectively. Early occurance of *E. coli* bacteria rather than bromide in the leachate of both soils was attributed to preferential water flow path which was dominant in the Lahijan soil column due to more clay and organic carbon content. The most resident *E. coli* number was determined in the surface layer of both soils which was greater in Amlash soil and decreased by 0.9 and 1.44 (log unit) in Amlash and Lahijan soil columns respectively. Overall, not only the cumulative number of *E. coli* bacteria was higher in the leachate of Amlash soil column, but also it contained more resident *E. coli* bacteria rather than Lahijan soil column due to greater pH value.

Keywords: Bromide, Filtration Coefficient, Preferential Flow, Relative Adsorption Ratio.

* Coresponding author's Email: m.farhangi@guilan.ac.ir

بررسی آب‌شویی باکتری *ایشریشیا کولای* در دو خاک اسیدی

زهرا رمضانی[۱]، محمدباقر فرهنگی[۱*]، نسرین قربان‌زاده[۱]، محمود شعبانپور[۱]

۱. گروه خاک‌شناسی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران.

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱/۲۴- تاریخ بازنگری: ۱۴۰۰/۳/۵- تاریخ تصویب: ۱۴۰۰/۳/۲۹)

چکیده

برای اصلاح اسیدیته و افزایش حاصل‌خیزی خاک‌های اسیدی کشاورزی در گیلان از کودهای دامی استفاده می‌شود که اگرچه مفیدند اما دارای باکتری‌های کلی‌فرم هستند که می‌توانند به آب‌های زیرزمینی راه یافته و این منابع را آلوده کنند. هدف این پژوهش بررسی انتقال باکتری شاخص *ایشریشیا کولای* در خاک اسیدی بود. دو خاک با pH ۵/۸۸ و ۳/۹۳ از منطقه املش و لاهیجان نمونه‌برداری شد. برای آزمایش آب‌شویی، خاک‌ها پس از هواخشک شدن و الک شدن بدون تراکم در سیلندرهای پلی‌وینیل کلراید (قطر ۴/۸ و ارتفاع ۱۴/۹۲ سانتی‌متر) ریخته شد. پس از برقراری جریان اشباع ماندگار، ۰/۱ حجم منفذی (PV) پالس آلودگی شامل باکتری *ایشریشیا کولای* (10^8 CFU mL^{-1}) و برمید (۰/۰۰۸ M) به سر ستون افزوده شد و آب‌شویی با آب مقطر انجام شد. نمونه‌برداری از زه‌آب خروجی در فواصل زمانی مشخص تا ۴/۵ PV انجام شد. در زه‌آب شمار باکتری *ایشریشیا کولای* و غلظت برمید اندازه‌گیری شد. پس از پایان آب‌شویی، ستون خاک به ۵ لایه ۳ سانتی‌متری بریده شد و تعداد باکتری مانده در هر لایه شمارش شد. در زه‌آب ستون خاک املش و لاهیجان پیک غلظت نسبی باکتری (C/C_0) در ۰/۷ و ۰/۹ PV رخ داد در حالی‌که پیک C/C_0 برمید به ترتیب در ۰/۸ و ۱/۸ PV دیده شد. بیرون آمدن زودهنگام باکتری از ستون خاک نسبت به برمید به مسیرهای جریان ترجیحی نسبت داده می‌شود که در ستون خاک لاهیجان به دلیل داشتن رس و ماده آلی بالاتر، بیشتر بود. بیشترین شمار باکتری مانده در هر دو خاک در لایه ۳-۰ سانتی‌متری به دست آمد که در خاک املش بیشتر بود و با افزایش عمق خاک به ترتیب ۰/۹ و ۱/۴۴ واحد لگاریتمی در خاک املش و لاهیجان کاهش یافت. در کل، نه تنها غلظت تجمعی باکتری در زه‌آب ستون خاک املش بیشتر بود، بلکه تعداد باکتری‌های مانده در این خاک نیز به دلیل pH بالاتر بیشتر از خاک لاهیجان بود.

واژه‌های کلیدی: برمید، جریان ترجیحی، ضریب پالایش، شاخص نسبی جذب.

مقدمه

خاک‌های اسیدی توزیع گسترده‌ای در مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری دارند و تقریبا ۳۹۵۰ میلیون هکتار یعنی در حدود ۳۰ درصد از کل زمین‌های جهان را تشکیل می‌دهند. برآورد شده است که بیش از ۵۰ درصد از زمین‌های قابل کشت بالقوه جهان اسیدی هستند که بیشتر در گروه‌های اُکسی‌سول‌ها، آلفی‌سول‌ها و هیستوسول‌ها طبقه‌بندی می‌شوند (Kochian et al., 2004; Sade et al., 2016; Singh et al., 2017). با توجه به پژوهش انجام شده بر روی ۵۰ هزار نمونه از خاک‌های ایران در ۳۰ استان کشور در فاصله سال‌های ۱۳۸۱ تا ۱۳۹۱ می‌توان گفت که بیش از ۹۷ درصد خاک‌های کشور pH بین ۶/۵-۸/۵ دارند و سهم خاک‌هایی با pH بین ۷/۵-۸/۵ حتی بیشتر بوده و حدود ۸۳ درصد می‌باشد. با توجه به این بررسی بیش از ۹۷ درصد خاک‌های کشور قلیایی (pH بیشتر از ۷) هستند. در این میان استان گیلان با توجه به شرایط خاص آن یک استثناء است که در آن حدود ۴۸ درصد خاک‌ها اسیدی (pH کمتر از ۷) است (Shahbazi & Besharati, 2013). اسیدی شدن خاک یک فرآیند طبیعی است، اما کشاورزی فشرده می‌تواند آن را به مقدار زیادی افزایش دهد. تشکیل خاک از مواد مادری مانند گرانیت و رسوبات اسیدی، کاربرد کودهای اسیدزا مانند سولفات آمونیوم، جذب بیش از اندازه‌ی مواد غذایی از خاک توسط محصولات دانه‌ای و معدنی شدن مواد آلی برخی از دلایل اصلی اسیدی شدن زمین‌های کشاورزی هستند (Rahman et al., 2018).

بر اساس برآورد سازمان ملل متحد در سال ۲۰۱۹، جمعیت جهان به ۷/۷ میلیارد نفر رسیده است و پیش‌بینی می‌شود که در سال ۲۰۵۰ به ۹/۷ میلیارد نفر افزایش یابد. در همیت راستا، بهره‌وری بخش کشاورزی برای تغذیه این تعداد جمعیت باید حداقل به میزان ۶۰ درصد افزایش یابد که رسیدن به آن نقطه کار دشواری است. از سال ۱۹۶۰ تا ۲۰۱۶ زمین‌های کشاورزی

* نویسنده مسئول: m.farhangi@guilan.ac.ir

جهان حدود ۱۰ درصد افزایش یافته است (FAOSTAT, 2019). بسیاری از زمین‌های کشاورزی یا با صنعتی‌سازی از دست رفته‌اند و یا به دلیل آلودگی و یا کشت انبوه غیرمولد شده‌اند. اصلاح این خاک‌ها و بهبود باروری و بهره‌وری آن‌ها می‌تواند به عنوان یک عامل تقویت کننده برای کاهش گرسنگی در جهان باشد (Platteau et al., 2001). از این رو، این امر به روشنی بر اهمیت سلامت و حاصل‌خیزی خاک برای دست‌یابی به پایداری در تولید فرآورده‌های کشاورزی تأکید می‌کند.

از جمله مشکلات رایج در خاک‌های اسیدی می‌توان به pH و سبک بودن بافت اشاره کرد. بودنِ چنین کاستی‌هایی کشت و کار در خاک‌های اسیدی را با چالش‌هایی مانند کاهش فراهمی عناصر ضروری و افزایش جذب فلزهای سمی مانند آلومینیوم و منگنز و ورود این فلزات به منابع آبی روبرو می‌کند. ضمن این‌که سبک بودن بافت انتقال آفت‌کش‌ها، فلزها و باکتری‌ها در این خاک‌ها را تسهیل می‌کند. برای کاهش محدودیت کشت و کار در خاک‌های اسیدی و بهره‌وری از آن‌ها از راه‌های گوناگون اقدام به اصلاح آن‌ها می‌کنند (Rengel, 2003). اسیدیته خاک معمولا با کاربردِ سنگ آهک اصلاح می‌شود. با این حال، شواهدی وجود دارند که نشان می‌دهند باقی‌مانده‌های آلی مانند کودهای سبز و دامی نیز می‌توانند pH خاک‌های اسیدی را افزایش دهند. همچنین این بقایا می‌توانند با تامین مواد غذایی برای تولید محصول، حاصل‌خیزی خاک را نیز بهبود بخشند (Crawford et al., 2008). کودهای دامی حاصل‌خیزی بالقوه خاک را حفظ می کنند. زیرا با کاربرد آن‌ها، برداشت عناصر غذایی خاک که توسط گیاهان در حال رشد جذب شده و از خاک خارج شده‌اند، تا اندازه‌ای جبران می‌شود ضمن این‌که pH خاک نیز افزایش می‌یابد. افزایش pH به مقدار و زمان کاربرد کود دامی بستگی دارد. کاربرد کودهای دامی به عنوان کود تغذیه‌ای و یا اصلاح‌کننده خاک‌های کشاورزی در سراسر جهان رایج است (Ogden et al., 2001).

اگر چه کود دامی می‌تواند مواد غذایی را فراهم کند اما انواع باکتری‌های بیماری‌زای موجود در آن ممکن است در محیط زنده بمانند که به نوبه خود سبب آلودگی محیط زیست شده و به عنوان تهدیدی برای سلامت عمومی عمل کنند (Franz et al., 2008). چراکه این باکتری‌ها می‌توانند توسط آب آبیاری در خاک منتقل شده و به منابع آب‌های زیرزمینی برسند. آب آلوده ابزاری مهم برای گسترش بیماری‌ها است. مردم کشورهای در حال توسعه بیشتر از کشورهای توسعه یافته در معرض بیماری‌های ناشی از آب آلوده قرار دارند (Hamner et al., 2007; Saravanan et al., 2011). زیرا در بیشتر این کشورها منابع آب آشامیدنی به خوبی تصفیه نشده و آب سالم کمتر در دسترس است. بیشتر موارد شیوع بیماری‌های ناشی از آب درنتیجه آلودگی آب آشامیدنی با فضولات حیوانات یا افراد آلوده است (Medema et al., 2003; WHO, 2008; Salem and Metawea, 2013). آب آشامیدنی می‌تواند ناقل ویروس‌ها، باکتری‌های بیماری‌زا و انگل‌ها باشد (Medema et al., 2003). ریزجانداران از اهمیت قابل‌توجهی در بسیاری از جنبه‌های کنترل کیفیت آب برخوردارند. سازمان حفاظت از محیط‌زیست ایالات متحده آمریکا (US EPA[1])، *ایشریشیا کولای*[2] را به عنوان یک عامل شاخص برای غربال‌گری سیستم‌های آب شیرین و یک سنجه‌ی حساس برای آلودگی آب به فضولات انسانی و دامی بیان می‌کند (ISIRI, 2009; Rice et al.,2012). *ایشریشیا کولای* در آب شرب به عنوان شاخص آلودگی آب به فضولات انسانی یا حیوانی و هم‌چنین به عنوان شاخص آلودگی به کلی‌فرم نیز شناخته می‌شود. برخی از گروه‌های شناخته شده از این باکتری ممکن است باعث ایجاد اسهال شدید و گاهی منجر به مرگ شوند (Leclerc et al., 2001).

انتقال باکتری‌ها از یک منبع که در سطح مزرعه پخش می‌شود (مانند کود دامی) به آب‌های سطحی و زیرزمینی توسط آب باران و آب آبیاری انجام می‌شود. با زیاد شدن نرخ آب ورودی به خاک، مقدار بیشتری از باکتری‌ها می‌توانند از راه حفره‌های بزرگ‌تر در داخل پروفیل خاک منتقل شوند. اما زمانی‌که ورودی آب از نرخ نفوذ خاک بیشتر شود، باکتری‌ها بیشتر در روان‌آب سطحی جابجا خواهند شد. در شرایط مزرعه، حرکت باکتری‌ها بیشتر با جریان ثقلی آب که یاخته‌ها در آن پراکنده می‌شوند، رخ می‌دهد (Unc and Goss, 2003). جریان ثقلی در منافذ درشت و پیوسته که در آن آب پتانسیل بیشتری (مکش کمتری) دارد رُخ می‌دهد. آبی که در این منافذ جریان دارد آب پویا[3] نامیده می‌شود و می‌تواند نمک‌ها و ذرات کلوئیدی مانند باکتری‌ها را با خود حمل نماید و از پروفیل خاک خارج کند. با تخلیه نمک‌ها و کلوئیدها از منافذ درشتِ خاک، اگر ورودی نمک یا کلوئید در سطح خاک نباشد، آنها از بخش آب ناپویا[4] که در منافذ بسته به دام افتاده است به آب پویا پخشیده می‌شوند و سپس می‌توانند به اعماق پایینِ پروفیل منتقل گردند (Kirkham, 2014). در این راستا کلوئیدهایی مانند باکتری‌ها که با تاژک توان جابجایی دارند انتشار بیشتری نیز خواهند داشت و در پیِ آن بیشتر منتقل خواهند شد (Unc and Goss, 2003).

زنده‌مانی و جابجایی سلول‌های باکتریایی با منشا کود دامی

۱ United States Environmental Protection Agency
۲ *Escherichia coli*
۳ Mobile water
۴ Immobile

در مزرعه، به ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی و زیستی خاک و همچنین فعالیت زیستی خود باکتری بستگی دارد. از ویژگی‌های فیزیکی موثر خاک می‌توان مواردی مانند رطوبت خاک، اندازه منافذ، مقدار رس و هدایت هیدرولیکی را نام برد و مواردی مانند pH، مقدار ماده آلی، قدرت یونی در گروه ویژگی‌های شیمیایی قرار می‌گیرند (Farrokhian Firouzi et al., 2010). باکتری‌ها با توجه به ویژگی‌هایی مانند بارسطحی، آب‌گریزی، داشتنِ پلی ساکاریدهای سطحی، مژه‌ها و تاژک با درجات گوناگون جذب رویه‌ی ذرات آلی و معدنی در محیط خاک می‌شوند (Unc and Goss, 2003). از آن‌جا که خاک‌های اسیدی معمولاًبه دلیل بافت سبک، نفوذپذیری بالایی دارند و بیشتر در مناطقی پراکنده هستند که سطح آب زیرزمینی نیز بالاست، بنابراین اگر باکتری آلاینده وارد این خاک‌ها شود احتمال انتقال آن به آب زیرزمینی و آلودگی منابع آب بالا می‌رود. آگاهی از چگونگی جابجایی باکتری *ایشریشیا کولای* در این خاک‌ها، ما را در مدیریت استفاده از کودهای حیوانی یاری خواهد کرد. از این رو، این پژوهش با هدف بررسی انتقال باکتری *ایشریشیا کولای* که باکتری شاخص در بررسی آلودگی است، در دو خاک اسیدی انجام شد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری و آزمایش خاک

در این پژوهش از دو خاک اسیدی در املش (با طول و عرض جغرافیایی ´۱۱ °۵۰ و ´۴ °۳۷) و لاهیجان (با طول و عرض جغرافیایی ´ ۵ °۵۰ و ´۱۱ °۳۷) واقع در استان گیلان که به ترتیب زیرکشت درخت صنوبر و چای قرار داشتند نمونه‌برداری شد. پس از هواخشک و الک‌کردن، برخی از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی در این دو خاک اندازه‌گیری شد. از ویژگی‌های فیزیکی توزیع اندازه ذرات به روش هیدرومتری، میانگین وزنی قطر خاک-دانه‌ها به روش الک خشک، چگالی حقیقی (PD[۱]) به روش پیکنومتر و هدایت هیدرولیک اشباع به روش بار ثابت (Klute, 1986) اندازه‌گیری شد. برای محاسبه تخلخل خاک درون ستون، چگالی ظاهری (BD[۲]) در سیلندهای آب‌شویی اندازه‌گیری شد و تخلخل کل نیز با داشتن چگالی ظاهری و حقیقی (P=1-(BD/PD)) محاسبه شد. از ویژگی‌های شیمیایی، pH در کلرید کلسیم ۰/۰۱ مولار (نسبت ۲/۵ به ۱ کلریدکلسیم به خاک)، قابلیت هدایت الکتریکی (EC[۳]) (نسبت ۲/۵ به ۱ آب به خاک) و کربن آلی به روش اکسیداسیون تر (Walkley and Black, 1934) تعیین شد.

باکتری ایشریشیا کولای

در این پژوهش از باکتری *ایشریشیا کولای* مقاوم به آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین که از رسوبات رودخانه‌ای جداسازی شده بود (Shokati et al., 2019) استفاده شد. *ایشریشیا کولای* از خانواده انتروباکتریاسه[۴] بوده و یک باکتری بی‌هوازی اختیاری، گرم-منفی، اکسیداز منفی، کاتالاز مثبت، بدون اسپور، متحرک با تاژک پیرامونی[۵]، میله‌ای شکل با طول یک تا دو میکرومتر و عرض ۰/۲۵ تا یک میکرومتر (Horan, 2003) با انتهای گرد است. بسیاری از یاخته‌های *ایشریشیا کولای* کپسوله یا میکروکپسوله شده‌اند و این کپسول‌ها از پلی‌ساکاریدهای اسیدی تشکیل شده‌اند و در چسبیدن یاخته باکتری به سطوح نقش مهمی دارند. باکتری در محیط کشت نوترینت براث دارای آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین (۸۰ $mg\ L^{-1}$) و در دمای ۳۷°C با هوادهی بر روی شیکر (۱۱۰ rpm) تکثیر شد و در گام پایانی فاز رشد نمایی (۱۶ ساعت) از محیط کشت جداسازی و تا زمان آزمایش در آب مقطر سترون در یخچال نگه‌داری شد (Jiang et al., 2007).

آماده‌سازی ستون آب‌شویی

در این پژوهش پتانسیل انتقال باکتری *ایشریشیا کولای* در دو خاک اسیدی با بافت لوم شنی در ستون آب‌شویی دست‌خورده بررسی شد. حدود ۳۲۰ گرم خاک عبور داده شده از الک ۴ میلی-متری درون لوله‌هایی از جنس پلی‌ونیل کلراید (PVC[۶]) با قطر درونی ۴/۸ و ارتفاع ۱۴/۹۲ سانتی‌متر، به عنوان ستون آب‌شویی ریخته شد. خاک بدون تراکم در ستون‌ها ریخته شد تا نماینده لایه سطحی خاک شخم‌خورده باشد. به منظور جلوگیری از ریزش خاک از ستون، ته آن با یک پارچه تنظیف سترون به وسیله یک بست فلزی بسته شد. جهت هدایت زه‌آب بیرون آمده از ستون به پیمانه نمونه‌برداری، یک قیف در ته ستون گنجانده شد. سپس طبق رابطه ۱ حجم منفذی (PV[۷]) خاک درون ستون محاسبه شد.

$$PV=V \times \theta s \quad \text{(رابطه ۱)}$$

که در این رابطه PV حجم منفذی خاک درون ستون و V حجم خاک درون ستون برحسب cm^3 و θs رطوبت حجمی اشباع برحسب $cm^3\ cm^{-3}$ است. حجم خاک درون ستون (V) با استفاده از رابطه حجم استونه تعیین و θs از رابطه ۲ محاسبه شد.

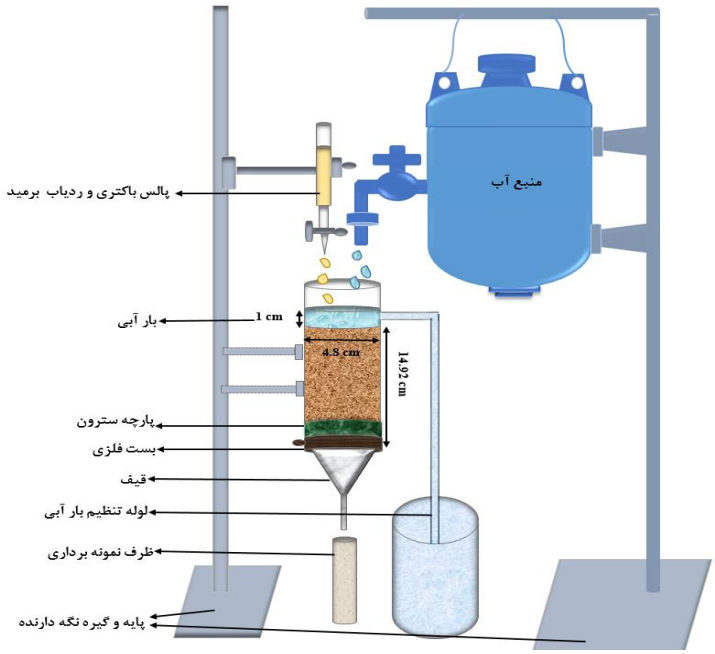
۱ Particle Density
2 Bulk Density
۳ Electrical Conductivity
۴ Enterobacteriaceae
5 Peritrichous
۶ Polyvinyl Chloride
۷ Pore volume

$$\theta s = \theta m \times (BD/PW) \quad \text{(رابطه ۲)}$$

که در این رابطه θm رطوبت جرمی اشباع برحسب $g\,g^{-1}$ و BD چگالی ظاهری خاک و PW چگالی آب هر دو بر حسب $g\,cm^{-3}$ هستند (Ryan et al., 2007).

آزمایش آب‌شویی

در شکل (۱) شماتیک چگونگی انجام آزمایش آب‌شویی آمده است. منبع آلودگی در این آزمایش سوسپانسیون باکتری شاخص *ایشریشیا کولای* مقاوم به سیپروفلوکساسین در کنار ردیاب برمید بود. پیش از آغاز آزمایش آب‌شویی، ستون‌های خاک به مدت ۲۴ ساعت در ظرف آب مقطر قرار گرفته و اشباع شدند. برای بیرون آمدن بهتر هوای محبوس از خاک و اشباع کامل، فرایند اشباع شدن به آهستگی از پایین به بالا انجام شد (Carter and Gregorich, 2007). پس از برقراری جریان اشباع ماندگار، ۰/۱PV پالس آلودگی شامل باکتری *ایشریشیا کولای* با غلظت حدود 10^8 سلول در میلی‌لیتر و ۰/۰۰۸ مول یون برمید در لیتر (از نمک برمید پتاسیم با غلظت برابر با ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر) به سر ستون افزوده شد (McLeod et al., 2003) و سپس آب‌شویی ستون با آب سترون ادامه یافت. در هر ستون ارتفاع ۲ سانتی‌متری بالای سطح خاک، برای برقراری بار آبی خالی ماند و مجرای خروجی برای بیرون آمدن آب اضافی و تنظیم بار آبی تعبیه شد. بنابراین، در طول مدت آزمایش آب‌شویی، بار آبی ثابت روی خاک وجود داشت. برای جلوگیری از خروج آلاینده از مجرای خروجی، در زمان اعمال پالس آلاینده وقفه کوتاه ایجاد شد تا سطح بار آبی از مجرای خروجی فاصله بگیرد و همه آلاینده در خاک نفوذ کند. سپس دوباره بار آبی تنظیم شد. در فواصل زمانی صفر، ۰/۱، ۰/۲، ۰/۴، ۰/۶، ۰/۷، ۰/۸، ۰/۹، ۱/۲، ۱/۴، ۱/۸، ۲/۲، ۲/۷، ۳/۱، ۳/۶، ۴ و ۴/۴ برابر PV پس از ریختن پالس آلوده به سر ستون، زه‌آب از انتهای ستون در پیمانه‌های سترون جمع‌آوری شد. در زه‌آب خروجی غلظت باکتری *ایشریشیا کولای* و آنیون برمید اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری غلظت باکتری‌ها، نمونه‌های برداشت شده در صورت لزوم رقیق شده و مقدار ۰/۱ میلی لیتر از آن‌ها روی محیط کشت اختصاصی ائوزین متیلن بلو آگار (EMB[1]) همراه با سیپروفلوکساسین ($80\ mg\ L^{-1}$) مایه‌زنی شد. کشت به روش پخش در پلیت انجام شد و تعداد کلنی باکتری‌های رشد کرده روی محیط کشت پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ °C شمارش و بر پایه $CFU\ mL^{-1}$ گزارش شد (Safari-Sinegani et al., 2011). برای اندازه‌گیری آنیون برمید از روش یون کروماتوگرافی (Ion chromograph SKYAM) استفاده شد. در زه‌آب ستون‌ها همچنین pH (با دستگاه pH متر دیجیتالی مدل 420A) و EC (با دستگاه EC متر دیجیتالی مدل 4510) نیز اندازه‌گیری شدند.



شکل ۱- نمای شماتیک چگونگی انجام آزمایش آب‌شویی

بررسی باکتری‌های به دام افتاده در ستون آب‌شویی

پس از پایان فرایند آب‌شویی، خاک درون ستون به آرامی بیرون آورده شده تا باکتری‌های به دام افتاده در نیم‌رخ ستون تعیین شوند. برای این کار ستون خاک در اندازه‌های ۳ سانتی‌متری برش

1 Eosin methylene-blue agar

داده شد (شکل ۲). به منظور شمارش باکتری *ایشریشیا کولای* سوسپانسیونی با نسبت ۱۰ به ۱ از نمک سدیم پیروفسفات ۰/۱۸ درصد و خاک ساخته شد. در صورت لزوم سوسپانسیون رقیق-سازی شد. شمارش باکتری همانند بخش پیشین انجام شد و شمار باکتری‌ها بر پایه واحد سازنده‌ی کلنی در واحد وزن خشک خاک ($CFU\ g^{-1}$) گزارش شد.

شکل ۲- ستون خاک برش یافته به قطعات ۳ سانتی‌متری پس از پایان آب-شویی

بررسی شاخص‌های جذب و انتقال باکتری

پس از آزمایش آب‌شویی و اندازه‌گیری غلظت باکتری *ایشریشیا کولای* و برمید در زه‌آب (C) و با توجه به غلظت ورودی آن‌ها (C_0)، منحنی‌های تغییرات غلظت نسبی باکتری و برمید (C/C_0) در برابر حجم منفذی (PV) رسم شد. پارامترها و شاخص‌های مربوط به پالایش و انتقال باکتری *ایشریشیا کولای* در زه‌آب شامل غلظت تجمعی (C_{cum})، غلظت میانگین (C_{av})، غلظت نسبی میانگین (C_{av}/C_0)، بالاترین غلظت نسبی $[(C/C_0)_{max}]$، حجم منفذی مربوط به بالاترین غلظت نسبی $[PV\ (C/C_0)_{max}]$، ضریب پالایش (λ_f)، عمق بیشینه انتقال (Z_{max})، شاخص نسبی جذب (S_R) و درصد بازیابی باکتری *ایشریشیا کولای* نسبت به برمید در زه‌آب ستون‌ها (RB) محاسبه شد.

ضریب پالایش (λ_f) نشان‌دهنده‌ی توان پالایش خاک در واحد عمق آن است و نشان می‌دهد که به ازای هر واحد افزایش عمق، به طور میانگین چه اندازه از باکتری وارد شده به خاک پالایش یافته است. معادله زیر برای محاسبه λ_f ستفاده شد (Mathess et al., 1988):

$$\lambda_f = \ln\left(\frac{C_{0(av)}}{C_{av}-C_{b(av)}}\right)\times\frac{1}{Z} \qquad \text{(رابطه ۳)}$$

که در آن λ_f ضریب پالایش باکتری *ایشریشیا کولای* (cm^{-1})، $C_{0(av)}$ و C_{av} به ترتیب میانگین غلظت‌های باکتری *ایشریشیا کولای* ورودی به ستون و خروجی از آن ($CFU\ mL^{-1}$)، $C_{b(av)}$ میانگین غلظت زمینه باکتری *ایشریشیا کولای* مقاوم به سیپروفلوکساسین در زه‌آب ($CFU\ mL^{-1}$) و Z عمق (ارتفاع) خاک (cm) است. برای محاسبه $C_{0(av)}$ و C_{av} سطوح زیر نمودار C_0 و منحنی رخنه به ترتیب به حجم پالس و زه‌آب در طول زمان آب‌شویی تقسیم شدند و از آن‌جا که باکتری *ایشریشیا کولای* مقاوم به سیپروفلوکساسین پیش از انجام آزمایش آب‌شویی در زه‌آب شناسایی نشد، غلظت زمینه صفر در نظر گرفته شد. عمق بیشینه انتقال (Z_{max}) باکتری *ایشریشیا کولای* که نسبتِ وارونه با ضریب پالایش آن دارد از رابطه ۴ محاسبه شد.

$$Z_{max} = \ln\left(C_{0(av)}\right)\times\frac{1}{\lambda_f} \qquad \text{(رابطه ۴)}$$

شاخص نسبی جذب (S_R) تفاوت در غلظت همه‌ی باکتری وارد شده به خاک و مجموع غلظت آن در زه‌آب در طول آزمایش آب‌شویی نشان‌دهنده اندازه‌ی باکتری‌هایی است که در خاک جذب شیمیایی و فیزیکی شده‌اند. S_R از رابطه ۵ محاسبه شد:

$$S_R = \frac{\int_0^{V\max}[(C_0-(C-C_b)]\,dV}{\int_0^{V\max}C_0\,dV} \qquad \text{(رابطه ۵)}$$

که در آن V حجم زه‌آب و V_{max} حجم تجمعی آن (mL) در طی آزمایش آب‌شویی می‌باشد. سایر نمادها نیز پیش‌تر تعریف شد. نسبت بازیابی (RB) باکتری *ایشریشیا کولای* در برابر برمید در زه‌آب بیرون آمده از ستون از رابطه ۶ محاسبه شد (Elimelech et al., 1995).

$$RB = \frac{\int_0^{V\max}\left(\frac{C}{C_0}\right)_{E.\ coli}dV}{\int_0^{V\max}\left(\frac{C}{C_0}\right)_{Br}dV} \qquad \text{(رابطه ۶)}$$

رو و زیر کسر در این رابطه به ترتیب نشان‌دهنده اندازه‌ی تجمعی غلظت نسبی *ایشریشیا کولای* و برمید در زه‌آب در طول زمان آب‌شویی می‌باشند.

آنالیز آماری

برای هر خاک آزمایش آب‌شویی در دو تکرار انجام شد. داده‌های به دست‌آمده در زه‌آب ستون‌ها به روش اندازه‌های تکرار شده در زمان آنالیز شدند که فاکتور اصلی آزمایش نوع خاک در دو سطح (املش و لاهیجان) و فاکتور فرعی PVهای نمونه‌برداری در ۱۸ سطح (صفر، ۰/۱، ۰/۲، ۰/۴، ۰/۶، ۰/۷، ۰/۸، ۰/۹، ۱/۲، ۱/۴، ۱/۸، ۲/۲، ۲/۷، ۳/۱، ۳/۶، ۴ و ۴/۴) بود. داده‌های مربوط به باکتری‌های گیر کرده در ستون در قالب طرح کاملاً تصادفی با آرایش فاکتوریل آنالیز شدند که در اینجا فاکتور نخست همان نوع خاک و فاکتور دوم لایه نمونه‌برداری از ستون در ۵ سطح (۳-۰، ۶-۳، ۹-۶، ۱۲-۹ و ۱۵-۱۲ سانتی‌متر) بود. در ضمن میانگین داده‌های مربوط به پارامترهای محاسبه شده پالایش و انتقال باکتری *ایشریشیا کولای* در زه‌آب ستون با آزمون t مقایسه شدند. آنایزهای آماری با نرم‌افزار SAS انجام شد.

نتایج و بحث

ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک‌ها

ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک‌های مورد بررسی در جدول

(۱) آورده شده است. بافت هر دو خاک لوم شنی بود اما درصد رس در خاک لاهیجان ۸ درصد بیشتر و درصد شن ۱۵ درصد کمتر از خاک املش بود. با توجه به pH اندازه‌گیری شده، خاک املش و لاهیجان به ترتیب در گروه خاک‌های اسیدی متوسط (pH بین ۵/۶ تا ۶) و شدیداً اسیدی (pH بین ۳/۵ تا ۴/۴) طبقه‌بندی می‌شوند (USDA, 2017). مقدار کربن آلی در خاک املش و لاهیجان به ترتیب ۳/۱۲ و ۴/۲۹ درصد بود. اندازه‌ی کربن آلی خاک با pH رابطه‌ای وارونه دارد یعنی اینکه با کم شدن pH، کربن آلی در خاک افزایش پیدا می‌کند (Zeraatpisheh and Khormali, 2011). نتایج پژوهش‌ها نشان می‌دهد که خاک‌های رسی نسبت به خاک‌های شنی از ماده آلی بیشتری برخوردار هستند و به طور معمول بین ماده آلی و اندازه‌ی رس در خاک رابطه‌ای نزدیک وجود دارد (Mikutta et al., 2006). هدایت هیدرولیک اشباع خاک‌ها نیز در خاک املش و لاهیجان به ترتیب ۳۳/۳۴ و ۲۸/۵۸ سانتی‌متر بر ساعت و میانگین وزنی قطر خاکدانه‌ها برای خاک املش و لاهیجان به ترتیب برابر با ۰/۵۸ و ۰/۶۵ میلی‌متر به دست آمد و به نظر می‌رسد مقادیر هدایت هیدرولیک بالاتر در خاک املش بیشتر وابسته به شن بالا در این خاک باشد تا میانگین وزنی قطر خاکدانه‌ها.

جدول ۱- برخی از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک‌های مورد بررسی

ویژگی‌های خاک	pH (in $CaCl_2$)	EC	BD*	PD	TP*	θ_S	K_S	PV	MWD	OC	Clay	Silt	Sand	Texture
	-	dS m^{-1}	--- g cm^{-3}---	--- cm^3 cm^{-3}---	cm h^{-1}	cm^3	mm	----------g 100g^{-1}----------						
املش	۵/۸۸	۰/۱۰	۱/۱۵	۲/۴۶	۰/۵۷	۰/۳۳	۳۳/۳۴	۱۳۴/۱۴	۰/۵۸	۳/۱۲	۱۰	۲۱/۴	۶۸/۶	Sandy loam
لاهیجان	۳/۹۳	۰/۱۰	۱/۲۵	۲/۵۳	۰/۵۲	۰/۴۸	۲۸/۵۸	۱۳۰/۳۵	۰/۶۴	۴/۲۹	۱۸	۲۸/۴	۵۳/۶	Sandy loam

pH: اسیدیته، EC: قابلیت هدایت الکتریکی، BD: چگالی ظاهری، چگالی حقیقی، TP: تخلخل کل، θ_s: اندازه رطوبت حجمی اشباع، K_s: هدایت هیدرولیک اشباع، PV: حجم منفذی ستون خاک، MWD: میانگین وزنی قطر خاکدانه‌ها، OC: کربن آلی، Clay: رس، Silt: سیلت، Sand: شن، Texture: بافت.
*** چگالی ظاهری و تخلخل در ستون آب‌شویی محاسبه شده است.**

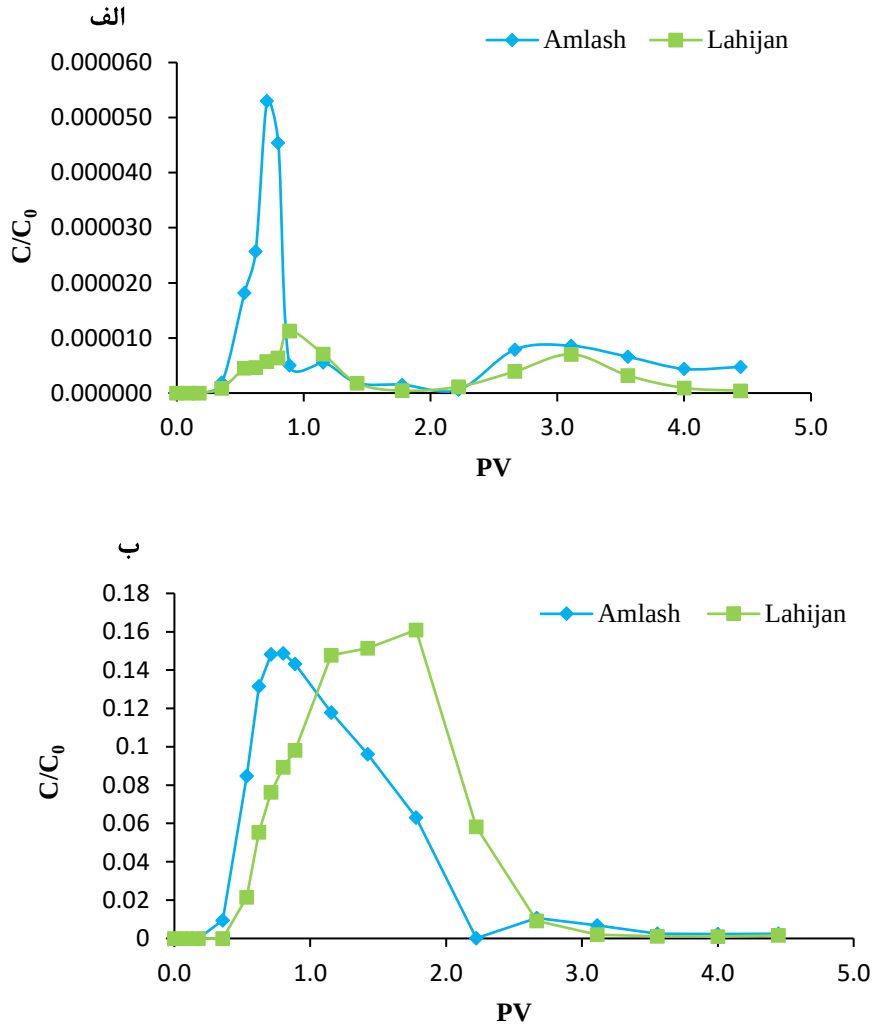
یافته‌های آزمایش آب‌شویی باکتری ایشریشیا کولای

نتایج تجزیه واریانس پیامد نوع خاک، حجم منفذی و برهم‌کنش آن‌ها بر غلظت نسبی باکتری در ستون خاک، pH و EC در زه‌آب نشان داد که پیامد نوع خاک، حجم منفذی و برهم‌کنش آن‌ها بر غلظت نسبی باکتری *ایشریشیا کولای* معنی‌دار شد (p<۰/۰۱). پیامد نوع خاک و حجم منفذی بر pH زه‌آب نیز معنی‌دار شد (p<۰/۰۵) اما EC زه‌آب تنها تحت تاثیر حجم منفذی قرار گرفت (p<۰/۰۱). معنی‌دار نبودن برهم‌کنش فاکتورها بر pH زه‌آب احتمالا به دلیل هم‌سو بودن تاثیر آن‌ها بر این پارامتر در خاک‌ها است (جدول ۱).

در شکل (۳) منحنی رخنه غلظت نسبی باکتری *ایشریشیا کولای* و برمید در دو خاک اسیدی املش و لاهیجان نشان داده شده است. در هر دو خاک بیرون آمدن باکتری از ستون از حجم آب منفذی ۰/۴ به بعد آغاز شده اما روند یکسانی را به خود نگرفته است. به گونه‌ای که در ستون خاک املش پیک غلظت نسبی باکتری در حجم منفذی ۰/۷ و در ستون مربوط به خاک لاهیجان پیک غلظت نسبی باکتری در حجم منفذی ۰/۹ رخ داده است (شکل ۳-الف). در سوی دیگر، غلظت نسبی برمید در زه‌آب نشان داد که بیرون آمدن این ردیاب از ستون در دو خاک متفاوت بود به طوری‌که در خاک املش و لاهیجان به ترتیب در حجم آب منفذی ۰/۸ و ۱/۸ رخ داد (شکل ۳-ب). انتقال سریع‌تر باکتری در مقایسه با آنیون‌های غیرواکنش‌گر مانند کلرید و برمید را می‌توان بـه مسیرهای متفاوت انتقال نسبت داد. زیرا باکتری‌ها برخلاف آنیون‌ها وارد منافذ ریز در خاک نشده و تنها در منافذ درشت خاک جابجا می‌شوند بنابراین، زودتر از آن‌ها در زه‌آب خروجی دیده می‌شود (Jiang et al., 2007).

بیرون آمدن زودهنگام باکتری از ستون خاک نسبت به آنیون ردیاب به جریان ترجیحی نسبت داده می‌شود. دو شرط اصلی برای رُخ‌دادن جریان ترجیحی عبارت‌اند از: منافذ درشتِ (ماکروپورها) به هم پیوسته‌ی مناسب و مقدار زیاد آب اولیه در خاک (Zehe and Fluhler, 2001). تشکیل ماکروپورها به محتوای رس و خاک‌دانه‌های پایدار بستگی دارد (Iversen et al., 2012; Ghafoor et al., 2013)، البته کمترین اندازه‌ی رس باید ۱۰-۸ درصد باشد (Jarvis et al., 2013; 2016). بنابراین هرچه مقدار رس در خاک بیشتر باشد مقدار ماکروپورهای تشکیل یافته نیز افزایش یافته و احتمال رُخ دادنِ جریان ترجیحی نیز بیشتر می‌شود. هم‌چنین یکی از عوامل دیگر موثر بر جریان ترجیحی ماده آلی است (Dexter et al., 2008). ماده آلی ساختار و ویژگی‌های

فیزیکی خاک را بهبود می‌بخشد. این امر تشکیل ماکروپورهای خاک را آسان می‌کند، بنابراین نفوذپذیری خاک را افزایش می‌دهد. با این تفاسیر در خاک لاهیجان به دلیل برخورداری از رس و ماده آلی بیشتر (جدول ۱)، احتمال ایجاد جریان ترجیحی بیشتر است و وجود جریان‌های ماکروپوری بیشتر، موجب انتقال بیشتر باکتری در خاک لاهیجان شده است. سرعت انتقال زیاد باکتری در زمان‌های آغازین آب‌شویی (خروج زودهنگام) در ستون خاک لاهیجان، بودن جریان ترجیحی در این خاک را تائید می‌کند. این نتایج با یافته‌های Shokati et al (2019)، Safadoust et al (2011) و Farhangi et al (2011) هماهنگی داشت.



شکل ۳- منحنی غلظت نسبی باکتری *ایشریشیا کولای* (الف) و برمید (ب) در خاک املش و لاهیجان

به هر روی، پیک بیرون آمدن برمید در خاک لاهیجان بسیار متفاوت از باکتری بود به گونه‌ای که بالاترین غلظت نسبی برمید در حجم آب منفذی ۱/۸ دیده شد. یکی از روش‌های مورد استفاده برای بررسی حرکت باکتری‌ها در خاک استفاده از برخی یون‌ها (نمک‌ها) به عنوان ردیاب می‌باشد. این یون‌ها در دو گروه کُنش‌وَر و ناکُنش‌وَر طبقه‌بندی می‌شوند. یون‌های کُنش‌وَر در واکنش‌های برگشت‌پذیر با رس‌ها و اجزای آلی خاک شرکت می‌کنند درحالی‌که یون‌های ناکُنش‌وَر درگیر واکنش‌های برگشت‌پذیر نمی‌شوند. برمید به عنوان ردیابی ناکُنش‌وَر در بررسی حرکت آب و آلاینده‌ها در محیط‌های متخلخل شناخته شده است چراکه جذب و نگه‌داشت آن در خاک بسیار کم است، دست‌خوشِ دگرگونی (واکنش‌های جذب و نگه‌داری زیستی) میکروبی قرار نمی‌گیرد، در بیشتر خاک‌ها از غلظت زمینه‌ای کمی برخوردار است و سبب آلودگی خاک نیز نمی‌شود (Moradi et al., 2019). به هر روی، رفتار این آنیون در خاک‌های اسیدی بسته به بارهای سطحی مثبت در رس‌ها (بارهای وابسته به pH)، می‌تواند متفاوت باشد. pH خاک لاهیجان حدود دو واحد کمتر از خاک املش بود (جدول ۱) و به نظر می‌رسد ذرات دارای بار مثبت

در خاک با برمید بیشتر از *ایشریشیا کولای* برهم‌کنش داشته و تا اندازه‌ای آن را جذب کرده باشند. البته بار سطحی باکتری‌ها هم منفی است اما برمید به عنوان گونه محلول فرصت ورود به همه منافذ ماتریکس خاک و واکنش با اجزای خاک را دارد. بار سطحی کانی‌های رسی بیشتر منفی و ناشی از جای‌گزینی هم‌شکل است اما لبه‌ی این کانی‌ها دارای مقداری بار وابسته به pH است (Xi, 2006). با توجه به فراوانی این کانی‌ها در خاک، بار هر چند اندک لبه آن‌ها نقش مهمی در جذب سطحی آنیون‌هایی مانند برمید ایفا می‌کند. بنابراین بیشتر بودن درصد رس در خاک لاهیجان نسبت به املش در این زمینه نقش داشته است. در پژوهشی (Yousefi et al., 2014) حرکت دو ردیاب برمید و لیتیم، در شرایط جریان غیراشباع در دو خاک با بافت لوم رسی و لوم شنی زیرکشت یونجه و گندم با pH خنثی (۷/۲ و ۷/۶) را مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این پژوهش‌گران بیرون آمدنِ زودتر برمید نسبت به لیتیم از ستون‌های خاک را نشان داد. آن‌ها دلیل بیرون آمدنِ زودتر برمید را به دفع آنیونی[1] نسبت دادند. چرا که آنیون برمید توسط بارهای منفی رس دفع شده و پس از قرار گرفتن در مرکز منافذ انتقال‌دهنده‌ی آب، تندتر از لیتیم جابجا می‌شود (Yousefi et al., 2014).

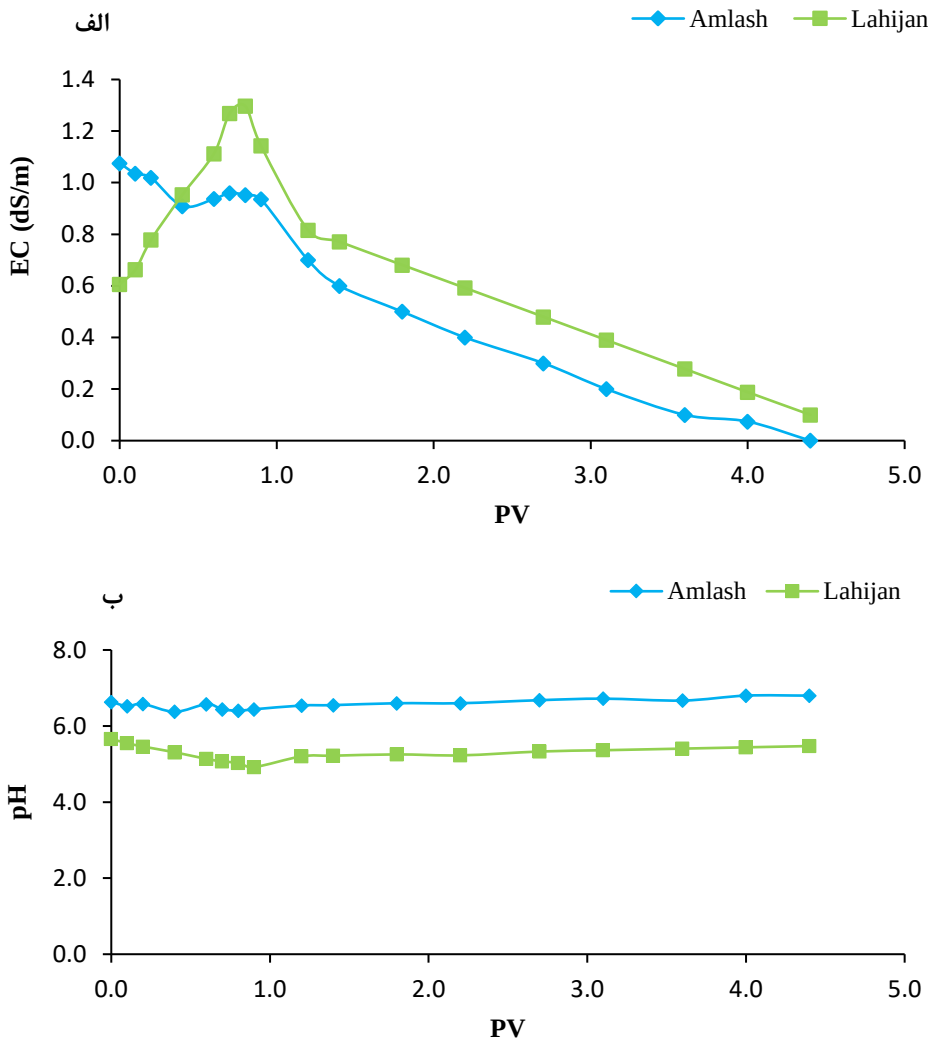
نوسان‌ها و افت و خیز منحنی رخنه (شکل ۳) احتمالاً به دلیل بودنِ مکان‌هایی با انرژی جذب و دفع متفاوت در خاک است که به ناهمگنی فیزیکی و شیمیایی در آن اشاره دارد و نیز بیانگر مسیرهای جریان متفاوت برای انتقال باکتری می‌باشد. به طور کلی، غلظت تجمعی و میانگین غلظت باکتری در زه‌آب خروجی در خاک املش با تفاوت معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) بیشتر از خاک لاهیجان بود (جدول ۲) که این امر توانایی کم خاک املش در پالایش باکتری را نشان می‌دهد. توانایی خاک‌های دارای منافذ درشت (تخلخل کل) (جدول ۱) در پالایش باکتری‌ها به علت آسانیِ عبور ریزجانداران از منافذ بزرگ، کم است که این امر روشن‌گر غلظت نسبی بالای باکتری در زه‌آب خاک املش می‌باشد (جدول ۲). نتایج پژوهش‌های انجام شده در این راستا بیانگر این است که بودن منافذ درشت در خاک‌های شنی، انتقال باکتری را تا اندازه‌ی چشم‌گیری افزایش می‌دهد (Frazierl et al., 2002; Shelton et al., 2003; Guber et al., 2005).

در شکل (۴) تغییرات قابلیت هدایت الکتریکی و pH در زه‌آب خروجی از ستون‌های خاک نشان داده شده است. در زه‌آب خاک لاهیجان با گذشتِ زمان آب‌شویی (تا ۰/۸ PV)، EC افزایش یافته و سپس روند کاهشی نشان داده است. در حالی‌که روند تغییرات EC در زه‌آب خاک املش پس از خیز کوتاه و پیک در ۰/۷ PV، روند کاهشی داشته است. در کل، در هر دو خاک شیب روند کاهش EC در مراحل ابتدایی آب‌شویی (تا ۲ PV) بیشتر بود. مقدار نمک‌های بیرون آمده از ستون خاک لاهیجان بیشتر از املش بود. مقدار نمک‌های بیرون آمده از خاک وابسته وابسته به غلظت اولیه نمک در خاک، غلظت نمک ردیاب (برمید پتاسیم) افزوده شده به ستون، محتوای رس و مواد آلی و همچنین مقدار رطوبت اولیه خاک و آب عبور کرده از واحد سطح در واحد زمان از هر خاک است. از آن‌جا که غلظت اولیه نمک در هر دو خاک نزدیک به هم بود (جدول ۱) و تا ۰/۲ PV هم برمید در زه‌آب خاک املش دیده نشد (شکل ۳-ب)، بنابراین احتمالاً عامل تفاوت در تغییرات EC زه‌آب خاک‌ها تحت تاثیر فاکتورهای دیگر مانند درصد اشباع اسیدی (به ویژه آلومینیوم تبادلی)، دیگر کاتیون‌ها و آنیون‌های تبادلی و نسبت اشباع با آب بوده است (Choo et al., 2016). تا زمان پدیدار شدن نمک ردیاب در زه‌آب یعنی ۰/۴ و ۰/۵ PV به ترتیب برای خاک املش و لاهیجان (شکل ۳-ب)، مقدار EC در زه‌آب خاک لاهیجان پایین‌تر از املش بود. به نظر می‌رسد مهم‌ترین دلیل این امر بالا بودن درصد رس و ماده آلی در خاک لاهیجان باشد (جدول ۱) که کاتیون‌هایی مانند آلومینیوم و آنیون‌ها را در مکان‌های تبادلی نگه‌داشته و اجازه شسته شدن آسان آنها را نداده است. چراکه سطح رس دارای بار منفی است و در مقایسه با خاک شنی می‌تواند یون‌های بیشتری را جذب کند (Sonmez et al., 2008). قابلیت هدایت الکتریکی بیشتر وابسته به رسانایی الکتریکی ناشی از بار اضافی در نزدیکی سطوح جامد با بار منفی سیلیکا، رس‌ها و مواد آلی است (Brovelli et al., 2005). درباره نقش ماده آلی در نگه‌داری نمک-ها در خاک Davatgar et al (2015) بیان کردند که مواد آلی با ایجاد ترکیب‌ها و ماکرو مولکول‌های دارای بار الکتریکی می‌توانند یون‌ها را نگه‌داری کرده و در قابلیت هدایت الکتریکی خاک‌ها نقش داشته باشند. همچنین طبق بررسی‌های انجام شده هرچه مقدار pH خاک کمتر باشد قدرت یونی خاک بیشتر شده و در نتیجه یون‌ها در نزدیکی سطوح رس گرد آمده و EC خاک افزایش پیدا می‌کند (Miller and Kissel, 2010; Minasny et al., 2011). به هر روی، پس از پدیدار شدن نمک ردیاب در زه‌آب، مقدار EC در زه‌آب خاک لاهیجان بیشتر از املش شد. به نظر می‌رسد در این‌جا نیز بالا بودن رس و مواد آلی در خاک لاهیجان که دارای بار منفی هستند سبب دفع بیشتر برمید از خاک شده و بر مقدار EC زه‌آب تاثیر گذاشته باشند. ضمن این‌که هرچه pH پایین‌تر باشد (خاک لاهیجان در مقایسه با املش) آلومینیوم

---

۱ Anion exclusion

تبادلی در خاک بیشتر است که تنها با اثر غلظت (نمک ردیاب) قابل شسته شدن از خاک است (Brady and Weil, 2008).

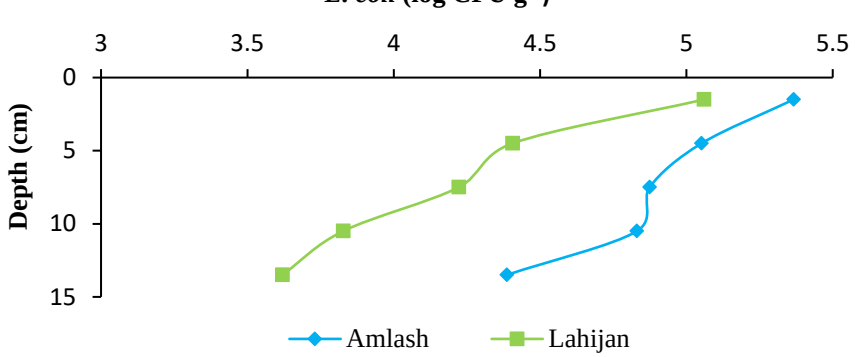


شکل ۴- تغییرات رسانندگی الکتریکی (الف) و pH (ب) در زه‌آب بیرون آمده از ستون‌های آب‌شویی

در شکل (۴- ب)، pH در زه‌آب خروجی ستون‌های خاک املش و لاهیجان نشان داده شده است. در همه PVها اندازه‌ی pH در زه‌آب خاک لاهیجان کمتر از املش بود که تابعی از مقادیر pH اولیه خاک‌هاست. در خاک لاهیجان اندازه pH حدود دو واحد کمتر از املش بود (جدول ۱). روند تغییرات pH در زه‌آب خاک املش تقریبا خطی بود و نزدیک به ۰/۴ واحد نوسان داشت. اما در زه‌آب خاک لاهیجان تا PV ۰/۹ روند کاهشی داشت و حدود ۰/۸ واحد کم شد و سپس دوباره افزایش یافته و تا پایان آب‌شویی به مقدار اولیه رسید. با توجه به تناظر منفی اُفت pH با پیک منحنی رخنه و دیده شدن آن تنها در زه‌آب خاک لاهیجان، به نظر می‌رسد دلیل افت pH در زه‌آب شسته شدن یون هیدروژن از خاک تحت تاثیر نمک ردیاب ورودی باشد. افزوده شدن نمک KBr می‌تواند سبب تغییر pH شود. در یک سو، پتاسیم وارد شده می‌تواند از راه واکنش‌های تبادلی جانشین هیدروژن و آلومینیوم تبادلی شده و منجر به آزاد شدن H^+ و در سوی دیگر هیدرولیز آنیونی نیز می‌تواند غلظت یون‌های H^+ محلول خاک را افزایش دهد که هر دوی این فرایندها سبب پایین آمدن pH زه‌آب می‌شوند (Korom, 2000). پس از اینکه جبهه ورودی نمک ردیاب کل ستون را طی کرد و از آن خارج شد، دوباره pH در زه‌آب افزایش یافته است. برای تاثیر این فرایندها یعنی تبادل کاتیونی یون‌ها و خروج و دیده شدن H^+ در زه‌آب نیاز به سطوح نگه‌دارنده مانند رس‌ها و مواد آلی در خاک است و به نظر می‌رسد بالاتر بودن این اجزا در خاک لاهیجان نسبت به خاک املش، در تغییرات pH در زه‌آب این خاک بی‌تاثیر نباشند.

باکتری *ایشریشیا کولای* مانده در خاک

پیامد نوع خاک و عمق ستون (لایه‌ها) بر شمار باکتری *ایشریشیا کولای* بازیابی شده (به دام افتاده) معنی‌دار نشد. در شکل (۵) شمار باکتری *ایشریشیا کولای* بازیابی شده (به دام افتاده) در ستون خاک املش و لاهیجان نشان داده شده است. با افزایش عمق خاک، شمار باکتری *ایشریشیا کولای* در خاک املش به ترتیب از ۵/۳۷ به ۴/۳۸ واحد لگاریتمی و در خاک لاهیجان از ۵/۰۶ به ۳/۶۲ واحد لگاریتمی در گرم خاک کاهش یافت. روند کلی توزیع باکتری *ایشریشیا کولای* در هر دو خاک تقریبا همسان بود و با افزایش عمق، مقدار نگه‌داشت آن در خاک به طور پیوسته کاهش یافت. به طوری‌که بیشترین شمار باکتری *ایشریشیا کولای* نگه‌داری شده در هر دو خاک در لایه ۳-۰ سانتی‌متری (لایه رویین) و کمترین شمار آن در لایه ۱۵-۱۲ سانتی‌متری (لایه زیرین) به دست آمد. این نتایج با یافته‌های بسیاری از پژوهش‌ها (Bradford et al., 2004; Bradford and Bettahar, 2006; Tong et al., 2005; Gargiulo et al., 2008) هم‌سو است که در آن‌ها نشان داده شده که نگه‌داشت باکتری‌ها در نیم‌رخِ خاک به عمق وابستگی زیادی دارد. دلیل بالا بودن نگه‌داشت باکتری‌ها در لایه سطحی خاک را می‌توان به مواردی هم‌چون زیادتر بودن مواد آلی در سطح خاک، محدود شدن جریان آب به لایه‌های پایین‌تر و کاهش انتقال باکتری‌های همراه جریان آب، انباشت ذرات معلق و باکتری در سطح خاک که خود به عنوان فیلتر عمل می‌کند، نسبت داد. یافته‌های Gargiulo et al (2008) بیانگر این امر است که بیشترین مقدار رسوب باکتری‌های وارد شده با آب در ورودی ستون خاک رخ می‌دهد و با افزایش عمق خاک، مقدار رسوب باکتری کاهش می‌یابد و شمار باکتری *ایشریشیا کولای* در آبِ خاک کم می‌شود که این امر می‌تواند بیانگر جذب باکتری روی سطوح فعال و به دام افتادن آن‌ها در منافذ ریز خاک باشد.



شکل ۵- تغییرات شمار باکتری *ایشریشیا کولای* با عمق در ستون آب‌شویی

یافته‌های شاخص‌های جذب و انتقال

ضرایب مربوط به شاخص‌های جذب و انتقال در جدول (۲) آورده شده است. در طول دوره آب‌شویی غلظت تجمعی (C_{cum}) و متوسط (C_{av}) باکتری *ایشریشیا کولای* در زه‌آب خاک املش با تفاوت آماری معنی‌داری (آزمون t) بیشتر از خاک لاهیجان بود. این امر نشانه‌ی آب‌شویی بیشتر باکتری در خاک املش می‌باشد که می‌توان آن را به ویژگی‌های فیزیکی (شن بیشتر) و K_S خاک (هدایت هیدرولیک بیشتر) (جدول ۱) نسبت داد. به هر روی، تفاوت C_{av}/C_0، $(C/C_0)_{max}$ و زمان پیک نسبی یعنی $PV((C/C_0)_{max})$ دو خاک معنی‌دار نبود، اگرچه مقدار دو پارامتر نخست در خاک املش و زمان پیک نسبی در خاک لاهیجان بیشتر بود. یعنی این‌که جبهه آلودگی شدیدتر و زودتر در خاک املش رخ داده است. پارامترهایی مانند ماده آلی، مقدار آب و مقدار رس نقش مهمی در تخلیه و نگه‌داری باکتری‌ها در خاک برعهده دارند (Pang et al., 2008; Jiang et al., 2010).

جدول ۲- شاخص‌های جذب و پالایش باکتری در خاک

ویژگی‌های تیمار	C_{cum} × ۱۰^{۵}	C_{av} × ۱۰^{۳}	RBD × ۱۰^{۷}	C_{av}/C_0 × ۱۰$^{-۵}$	$(C/C_0)_{max}$ × ۱۰$^{-۵}$	PV $(C/C_0$ max)	λ	Z_{max}	SR	RB
	CFU	CFU mL^{-1}	CFU	-	-	-	cm^{-1}	cm	-	-
املش	^{a}۲۱	^{a}۳/۸	^{a}۵۴/۸	^{a}۳/۸	^{a}۵/۳	^{a}۰/۷	^{a}۰/۶۸	^{a}۲۷	^{b}۰/۹۹۶	^{a}۰/۱۱
لاهیجان	^{b}۷/۴	^{b}۱/۶	^{a}۴۵	^{b}۱/۶	^{a}۱/۱	^{a}۰/۹	^{a}۰/۷۴	^{a}۲۴	^{a}۰/۹۹۸	^{b}۰/۰۴

C_{cum}: غلظت تجمعی، C_{av}: غلظت متوسط، RBD: غلظت تفاضلی نگه‌داری شده در ستون، C_{av}/C_0: میانگین غلظت نسبی، (C/C_0) max: بیشینه غلظت نسبی، PV$(C/C_0$ max): حجم منفذی مربوط به بیشینه غلظت نسبی، λ: ضریب پالایش، Z max: عمق بیشینه انتقال، S_R: شاخص نسبی جذب، RB: درصد بازیابی

برمید.

همان‌گونه که در پژوهشی (Pang et al., 2008) پیشنهاد شده است، توانایی آب‌شویی میکروب‌ها در آب‌های سطحی (کم عمق) می‌تواند در خاک‌های رسی بیشتر باشد. اگر باکتری شاخص بررسی شده نماینده آلودگی ناشی از کود دامی یا فاضلاب رها شده در روی این خاک درنظر گرفته شود، یافته‌های به دست آمده اهمیت مدیریت آلودگی آب‌های زیرزمینی این خاک در بارندگی‌ها یا آبیاری‌های شدید را یادآور می‌شود.

ضریب پالایش ($f\lambda$) و شاخص نسبی جذب (SR) باکتری در خاک لاهیجان بیشتر از املش بود اگرچه تفاوت میانگین آن‌ها معنی‌دار نبود (جدول ۲). ضریب پالایش بیانگر میانگین پالایش باکتری در واحد عمق خاک بوده و تنها برآوردی از توان پالایش خاک با توجه به آزمایش انجام شده است. اما شاخص نسبی جذب بیانگر توانایی محیط متخلخل کنونی خاک در جذب شیمیایی باکتری‌ها روی سطوح ذرات و گیرانداختن آن‌ها در منافذ خاک است. خاک لاهیجان به دلیل دارا بودن ذرات ریز (رس) و جریان آهسته آب حامل باکتری‌ها تمایل به حفظ باکتری بیشتری دارد. میزان بالای پالایش باکتری در ستون‌های خاک را می‌توان به توزیع اندازه منافذ و پیوسته نبودن آن‌ها و زمان تماس بیشتر بین باکتری‌ها و ذرات خاک نسبت داد. در واقع وجود منافذ درشت‌تر و پیوستگی بیشتر آن‌ها در خاک املش، نقش این خاک را در پالایش باکتری کم کرده و سبب کم شدن ضریب پالایش شده است. در نتیجه عمق بیشینه انتقال (Z_{max}) باکتری در این خاک زیادتر از لاهیجان است (جدول ۲). یعنی این‌که اگر جبهه آلودگی با میانگین غلظت ورودی 10^8 CFU mL^{-1} باکتری *ایشریشیا کولای* وارد این خاک شود، می‌تواند تا ۲۷ سانتی‌متر در خاک املش منتقل شود که عمق زیادی نیست. چراکه آزمایش در شرایط دست‌خورده انجام شده و در این حالت در مقایسه با حالت دست‌نخورده باکتری‌ها در معرض پالایش بیشتر خواهند بود. عمق انتقال باکتری‌ها در خاک‌های مختلف متفاوت است. در بررسی‌های انجام شده عمق انتقال باکتری‌ها در خاک را از یک تا ۸۳ متر گزارش کرده‌اند که وابسته به پارامترهایی هم‌چون نفوذپذیری و درجه اشباع خاک و نیز طول زمان آب‌شویی می‌باشد (Bitton and Harvey , 1992). در پژوهش صورت گرفته توسط Mosaddeghi et al., (2009) حرکت باکتری *ایشریشیا کولای* در ستون‌های دست نخورده دو خاک شن لومی و لوم رسی شنی مورد ارزیابی قرار گرفت و نتایج نشان داد که در خاک لوم رسی شنی به دلیل بودن رس بیشتر که سبب توسعه ساختمان خاک می‌شود، غلظت باکتری در زه‌آب و همین‌طور سرعت انتقال آن بیشتر بود.

شاخص نسبی جذب، درصد نسبی باکتری‌هایی است که در خاک تحت تأثیر فرایندهای جذب شیمیایی روی سطوح، گیر افتادن در منافذ یا مرگ و میر قرار گرفته است و نقش این فرایندها در این شاخص جداگانه بررسی نمی‌شود. به محض ورود باکتری‌ها به خاک انتقال/جذب آنها به نیروی نگه‌دارنده‌ی و توان شناور شدن دوباره باکتری‌ها در حفره‌های خاک بستگی دارد (Unc et al., 2012). قطر حفره‌های موجود در خاک به اندازه منافذ و خاک‌دانه‌های ریز وابسته است.پایداری بالای خاک‌دانه‌ها در خاک لاهیجان نسبت به خاک املش سبب ورود آب حامل باکتری‌ها (جبهه آلودگی) به فضای بین خاک‌دانه‌ای و منافذ ریز در ماتریکس خاک می‌شود (Guber et al., 2009). اما، با گذشت زمان و عبور جبهه آلودگی، امکان انتشار این باکتری‌ها از این منافذ بسته‌ی دارای آب ناپویا به منافذ دارای آب پویا کم و کم‌تر می‌شود. چراکه در این منافذ باکتری‌ها گیر افتاده و با بستن مسیر، جلوی حرکت باکتری‌های دیگر را نیز می‌گیرند و در نتیجه باکتری بیشتری پالایش می‌شود. هرچه خاک‌دانه‌ها پایدارتر و دانه‌بندی خاک بهتر باشد مسیرهای پرپیچ و خم در خاک بیشتر شده و مقدار آب ناپویا و در پی آن فرایندهایی که منجر به پالایش و گیر افتادن فیزیکی باکتری‌ها می‌شود، بیشتر خواهد شد (Unc et al., 2015؛ Kirkham, 2014). ضمن این‌که در این منافذ باکتری‌ها در کنار رس‌ها قرار گرفته و امکان جذب شیمیایی آن‌ها بیشتر می‌شود. پژوهش‌های صورت گرفته روی نمونه‌های دست-خورده خاک نشان داد که با افزایش درصد رس خاک، میزان پالایش باکتری بیشتر شده و انتقال باکتری نیز کاهش یافته است (Lo et al., 2002). Mosaddeghi et al., (2009) گزارش کردند که شاخص نسبی جذب باکتری *E. coli* رهاشده از کود مرغی در خاک به دلیل تشکیل کمپلکس‌های ماده آلی-باکتری و درشت شدن قطر ذرات انتقالی در مقایسه با تیمارهای دیگر (کود گاوی و فاضلاب) به ترتیب ۱۲۹ و ۳۰۶ درصد افزایش یافت. در سوی دیگر pH نقش بسیار مهم در جذب و مرگ و میر باکتری‌ها دارد. نتایج حاصل از بررسی‌ها نشان داده است که کاهش pH پیامد زیان‌باری بر زنده‌مانی باکتری *ایشریشیا کولای* دارد (Foppen and Schijven, 2006). درهمین راستا در شکل (۴-ب) دیده شد که در زه‌آب خروجی خاک لاهیجان که دارای pH بین ۶-۴/۵ بود، نسبت به خاک املش که pH در زه‌آب خروجی آن بین ۷-۶ بود، غلظت تجمعی باکتری به دلیل قرار گرفتن pH در محدوده بهینه کمتر است. درباره زنده‌مانی باکتری *ایشریشیا کولای* این-گونه گزارش شده است که در خاک‌هایی با بافت و محتوای مواد

آلی همانند، این باکتری در pH خنثی تا قلیایی نسبت به pH اسیدی بیشتر زنده ماند (Yao et al., 2013).

درصد بازیابی باکتری نسبت به برمید در خاک املش با تفاوت آماری معنی‌داری بیشتر از خاک لاهیجان بود (جدول ۲) که می‌تواند به دلیل سرعت بالای آب منفذی در ماکروپورها و مسیرهای جریان ترجیحی بیشتر در ستون خاک املش مربوط باشد. Moradi et al (2019) در آزمایشی اثر دفع آب ناشی از نفت خام بر انتقال *ایشریشیا کولای* و برمید در ستون‌های خاک پس از هوادیدگی فیزیکی را مورد ارزیابی قرار دادند و درصد بازیابی بالاتر باکتری در خاک لوم رسی نسبت به خاک لوم شنی را به سرعت بالای آب منفذی و دفع آب و منافذ بزرگ‌تر و پیوسته‌تر و مسیرهای ترجیحی بیشتر در این ستون‌های خاک نسبت دادند.

با توجه به غلظت تجمعی باکتری در زه‌آب و غلظت کل باکتری ورودی به هر ستون، غلظت تفاضلی باکتری‌ها (RBD) محاسبه شد که در ستون املش بیشتر بود (جدول ۲). همچنین با توجه به غلظت باقیمانده باکتری‌ها (بازیابی شده به روش شمارش کلنی) و عمق و وزن خشک خاک در هر لایه (شکل ۵)، مجموع غلظت کل باکتری باقی‌مانده نیز برای ستون املش و لاهیجان به ترتیب ۳/۷ و ۲/۷ ($CFU \times 10^7$) به دست آمد. بنابراین روش تفاضلی نشان می‌دهد که در خاک املش باکتری‌های بیش‌تری باید گیر کرده باشند در صورتی‌که شاخص‌های جذب و پالایش در خاک لاهیجان بیشتر بود. روی‌هم‌رفته، غلظت نه تنها تجمعی باکتری *E. coli* آب‌شویی شده از خاک املش بالاتر از لاهیجان بود بلکه غلظت باکتری بازیابی شده در آن نیز بیشتر بود. بنابراین، پتانسیل آلودگی آب زیرزمینی در خاک املش بالاتر از خاک لاهیجان است. ضمن اینکه غلظت متوسط باکتری در زه‌آب هر دو خاک بسیار بیشتر از مقدار استاندارد سازمان محیط زیست ایران جهت مصارف آب سطحی در کشاورزی برای آبیاری (۴ $CFU\ mL^{-1}$) است (Ministry of Energy, 2010). بنابراین آب بارندگی اگر از چنین خاکی که دارای باکتری کلی‌فرم باشد عبور کند، آلوده خواهد شد و برای آبیاری در پایین دست مناسب نیست.

نتیجه‌گیری

آب‌شویی باکتری شاخص *ایشریشیا کولای* به عنوان نماینده باکتری‌های کلی‌فرم آلاینده آب‌های زیرزمینی در دو خاک اسیدی املش و لاهیجان بررسی شد. اگرچه در هر دو خاک باکتری زودتر از ردیاب برمید از ستون بیرون آمد، اما پیک خروج آن در زه‌آب خاک املش زودتر از لاهیجان رخ داد که به دلیل شن بیشتر، پایداری کمتر خاک‌دانه‌ها و در نتیجه جریان ترجیحی بیشتر در این خاک است. خاک لاهیجان به دلیل دارا بودن، رس و ماده آلی بیشتر و همچنین pH کمتر توانست باکتری بیشتری را پالایش کند و غلظت تجمعی باکتری کمتر، ضریب پالایش و شاخص نسبی جذب بیشتری از خاک املش داشته باشد. با وجود پالایش بیشتر باکتری در این خاک، بازیابی باکتری در نیم‌رخ خاک نشان داد که شمار باکتری‌های زنده در خاک لاهیجان بسیار کمتر از خاک املش است که اهمیت pH پایین خاک در پالایش و حذف باکتری *ایشریشیا کولای* را نشان می‌دهد. اگرچه همچنان سطوح آب زیرزمینی بالاتر در معرض خطر می‌باشد. بنابراین به نظر می‌رسد در مدیریت مصرف کودهای دامی در خاک‌های اسیدی درشت بافت نیاز به دقت کافی می‌باشد.

"هیچ‌گونه تعارض منافع بین نویسندگان وجود ندارد"

REFRENCES

Bitton, G. and Harvey R. W. (1992). Transport of pathogens through soils and aquifers. PP: 103-124. In: R. Mitchell, (Ed.) Environmental Microbiology. Wiley-Liss, New York.

Bradford, S.A. and Bettahar, M. (2006). Concentration dependent colloid transport in saturated porous media. Journal of Contaminant Hydrology, 82, 99-117.

Bradford, S.A., Bettahar, M., Simunek, J., Genuchten, M. T. V. (2004). Straining and attachment of colloids in physically heterogeneous porous media. Vadose Zone Journal, 3, 384-394.

Brady, N.C. and Weil, R.R., (2008). The Nature and Properties of Soils. Upper Saddle River, NJ: Prentice hall.

Brovelli, A., Cassiani, G., Dalla, E., Bergamini, F., Pitea, D., Binley A. M. (2005). Electrical properties of partially saturated sandstones: Novel computational approach with hydrogeophysical applications, Water Resources Research, 41(8), 853-858.

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

Choo, H., Kim, J., Lee, W., Lee, C. (2016). Relationship between hydraulic conductivity and formation factor of coarse-grained soils as a function of particle size. *Journal* of *Applied Geophysics*, 127, 91–101.

Crawford, T. W., Singh, U. J., Breman, H. (2008). Solving Agricultural Problems Related to Soil Acidity in Central Africa's Great Lakes Region. International Center for Soil Fertility and Agricultural Development, Muscle Shoals, Alabama, U.S.A.

Davatgar, N., Zare, A., Shakoori Katigari, M., Rezaei, L., Kavousi, M., Sheikhalaslam, H., Shahnazari, M., Kohneh, E., Shirinfekr, A., Bonyadi, I., Adibi, SH., Moshirtalesh, I., Khodashenas, A., Shokri

Vahed, H., Darygh Speech, F., Rahimi Moghadam, A., Ajili Lahiji, A. (2015). Investigation of fertility status of paddy soils in Guilan province. Journal of Land Management, 3(1), 1-13. (In Persian)

Dexter, A.R., Richard, G., Arrouays, D., Czy, EA., Jolivet, C., Duval, O. (2008). Complexed organic matter controls soil physical properties. Geoderma, 144(3-4), 620-627.

Elimelech, M., Gregory J., Jia, X., Williams, R.A. (1995). Particle Deposition and Aggregation. Measurement, Modelling and Simulation. Butterworth-Heinemann: Woburn.

FAOSTAT. Database collection of the Food and Agriculture Organization of the United Nations; (2019). Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome, Italy: FAO.

Farhangi, M. B., M. R. Mosaddeghi, M, R., Safari-Sinegani, A. A., Mahboubi, A. A. (2011). Unsaturated transport of cow manure-borne *Escherichia Coli* through the field soil. Journal of Water and Soil Science, 16(59), 127-140. (In Persian)

Farrokhian Firouzi, A., Homaei, M., Clumpp, E., Kasteel, R., Satari, M. (2010). Bacteria transport and deposition in calcareous soils under saturated flow condition. Journal of Water and Soil (Agricultural Science and Technology), 24(3), 439-459. (In Persian)

Foppen, J. 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(3), 401-426.

Franz, E., Semenov, A.V., Termorshuizen, A.J., De Vos, O. J., Bokhorst, J.G. (2008). Manure-amended soil characteristics affecting the survival of *E. coli* O157:H7 in 36 Dutch soils. Environmental Microbiology, 10(2), 313-327.

Frazier C. S., Graham R. C., Shouse P. J., Yates M. V., Anderson, M. A. (2002). A field study of water flow and virus transport in weathered granitic bedrock. Vadose Zone Journal, 1(1), 113–124.

Gargiulo, G., Bradford, S., Šimunek, J., Ustohal, P., Vereecken, H., Klumpp, E. (2008). Bacteria transport and deposition under unsaturated flow conditions: The role of water content and bacteria surface hydrophobicity. Vadose Zone Journal, 7, 406-419.

Ghafoor, A., Koestel, J., Larsbo, M., Moeys, J., Jarvis, N. (2013). Soil properties and susceptibility to preferential solute transport in tilled topsoil at the catchment scale. Journal of Hydrology, 492, 190-199.

Guber, A. K., Shelton, D. R., Yakirevich, A.M., Pachepsky, Y.A. (2005). Transport and retention of manure-borne coliforms in undisturbed soil columns. Vadose Zone Journal, 4, 828-837.

Guber, A.K., Pachepsky, Y.A., Shelton, D.R., and Yu, O. (2009). Association of fecal coliforms with soil aggregates: Effect of water content and bovine manure application. Soil science, 174(10), 543-548.

Hamner, S., Broadaway, S. C., Mishra, V. B., Tripathi, A., Mishra, R. K., Pulcini, E., Pyle, B. H., Ford, T. E. (2007). Isolation of potentially pathogenic *Escherichia coli* O157:H7 from the Ganges River. Journal of Applied and Environmental Microbiology, 73 (7), 2369-2372.

Horan, N. J. 2003. Faecal Indicator Organisms. The Handbook of Water and Wastewater Microbiology. 105-112.

Institute of Standards and Industrial Research of Iran (ISIRI) (2009) Detection and enumeration of coliform organisms in water by multiple tube method. ISIRI NUMBER 3759. (In Persian)

Iversen, B.V., Lamandé, M., Torp, S. B., Greve, M. H., Heckrath, G., De Jonge, L. W., Moldrup, P., Jacobsen, O. H. (2012). Macropores and macropore transport: relating basic soil properties to macropore density and soil hydraulic properties. Soil Science 177(9), 535-542.

Jarvis, N., Koestel, J., Larsbo, M. (2016). Understanding preferential flow in the vadose zone: recent advances and future prospects. Vadose Zone Journal, 15(12), 1-11.

Jarvis, N., Koestel, J., Messing, I., Moeys, J., Lindahl, A. (2013). Influence of soil, land use and climatic factors on the hydraulic conductivity of soil. Hydrology and Earth System Sciences, 17(12), 5185-5195.

Jiang, G., Noonan, M.J., Buchan, G.D., Smith, N. (2007). Transport of *Escherichia coli* through variably saturated sand columns and modeling approaches. Journal of Contaminant Hydrology, 93(1-4), 2 -20.

Jiang, S., Pang, L., Buchan, G. D., Šimunek, 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.

Kirkham, M. B. (2014). Principles of Soil and Plant Water Relations. Academic Press.

Klute, A., 1986. Methods of Soil Analysis. Part I. Physical and mineralogical methods. Soil Science Society of America, Inc. Publisher, Madison, WI.

Kochian, L.V., Hoekenga, O.A., Piñeros, M.A. (2004). How do crop plants tolerate acid soils? Mechanisms of aluminum tolerance and phosphorous efficiency. Annual Review of Plant Biology, 55, 459–493.

Korom, S.F. (2000). An adsorption isotherm for bromide. Water Resources Research, 36, 1969-1974.

Leclerc, H., Mossel, D.A., Edberg, S.C., Struijk, C.B. (2001). Advances in the bacteriology of the coliform group: their suitability as markers of microbial water safety. Annual Review Microbiology, 55, 201–234.

Lo, K. W., Jin, Y. C., Viraraghavan, T. (2002). Transport of bacteria in heterogeneous media under leaching conditions. Environmental Engineering Science, 1, 383-395.

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

McLeod, M., Aislabie, J., Ryburn, J., McGill, A., Taylor, M. (2003). Microbial and chemical tracer movement through two Southland soils, New Zealand. Soil Research, 41(6), 1163–1169.

Medema, G. J., Payment, P., Dufour, A., Robertson, W., Waite, M., Hunter, P., Kirby, R., Andersson, Y. (2003). Safe Drinking Water: an ongoing challenge. In: Microbial Safety of Drinking Water: Improving Approaches and Methods (Dufour, A., Snozzi, M., Koster, W., Bartram, J., Ronchi, E., Fewtrell, L. (eds). WHO & OECD, IWA Publishing, London, UK, pp. 11–45.

Mikutta, R., Kleber, M., Torn, M. S., Jhan, R. (2006). Stabilization of soil organic matter: association with minerals or chemical recalcitrance?. Biogeochemistry, 77, 25-56.

Miller, R. O., and Kissel, D. E. (2010). Comparison of Soil pH Methods on Soils of North America. Soil Science Society of America Journal,74(1), 310-316.

Minasny, B., McBratney, A.B., Brough, D.M., Jacquier, D. (2011). Models relating soil pH measurements in water and calcium chloride that incorporate electrolyte concentration. European Journal of Soil Science, 62, 728–732.

Moradi, A., Mosaddeghi, M.R., Chavoshi, E., Safadoust, A., Soleimani, M. (2019). Effect of crude oil-induced water repellency on transport of *Escherichia coli* and bromide through repacked and physically-weathered soil columns. Environmental Pollution, 255(2).

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

Ogden, I. D., Fenlon, D. R., Vinten, A. J. A., Lewis, D. (2001). The fate of *Escherichia coli* O157 in soil and its potential to contaminate drinking water. International Journal Food Microbiology, 66, 111-117.

Pang, L., McLeod, M., Aislabie, J., Šimůnek, J., Close, M., Hector, R. (2008). Modeling transport of microbes in ten undisturbed soils under effluent irrigation. Vadose Zone Journal, 7(1), 97-111.

Platteau, J.P., de Janvry, A., Sadoulet, E., Gordillo, G. (2001) Access to Land, Rural Poverty, and Public Action. Clarendon, Oxford.

Rahman, M, d., Lee, S.H., Ji, H., Kabir, A., Jones, C., Lee, K.W. (2018). importance of mineral nutrition for mitigating aluminum toxicity in plants on acidic soils: Current status and opportunities. International Journal of Molecular Sciences, 19, 3073.

Rengel, Z. (2003). Handbook of soil acidity. Marcel Dekker, New York.

Rice, E. W., Baird, R. B., Eaton, A. D., Clustery, L. S. (2012). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 22nd edn. American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation, U.S.A, pp. 185–214.

Ryan, J., Estefan, G., Rashid, A. (2007). Soil and Plant Analysis Laboratory Manual. ICARDA.

Sade, H., Meriga, B., Surapu, V., Gadi, J., Sunita, M.S.L., Suravajhala, P., Kavi Kishor, P.B. (2016). Toxicity and tolerance of aluminum in plants: tailoring plants to suit to acid soils. BioMetals Journal, 29, 187–210.

Safadoust, A., Mahboubi, A. A., Mosaddeghi, M. R., Gharabaghi, B., Voroney, P., Unc, A., Khodakaramian, Gh. (2011). Significance of physical weathering of two-texturally different soils for the saturated transport of *Escherichia coli* and bromide. Journal Environmental Management, 107, 147-158.

Safari-Sinegani, A.A., Sharifi, Z., Safari-Sinegani, M. (2011). Laboratory methods in soil microbiology. First Edition. Bu-Ali Sina University press, Hamadan, Iran (p. 457). (In Persian)

Salem, L. M. A. and Metawea, Y. F. (2013). Detection of some water borne zoonotic pathogens in untreated ground water and its impact on human and animal health in Kalyoubia Province (rural areas). Global Veterinaria, 10 (6), 669-675.

Saravanan, V. S., Mollinga, P. P., Bogardi, J. J. (2011). Global change, wastewater and health in fast growing economies. Current Opinion Environmental Sustainability, 3(6), 461-466.

Shahbazi, K. and Besharati, H. (2013). Overview of the fertility status of Iranian agricultural soils. Land Management Journal, 1(1), 1-15. (In Persian)

Shelton, D. R., Pachepsky, Y. A., Sadeghi, A. M., Stout, W. L., Karns, J. S., Gburek, W. J. (2003). Release rates of manure-borne coliform bacteria from data on leaching through stony soil. Vadose Zone Journal, 2(1), 34-39.

Shokati, R., Ghorbanzadeh, N., Farhangi, M.B., Shabanpour, M. (2019). The effect of calcium carbonate bioprecipitation on *Escherichia coli* leaching in sand column. Journal of Ecohydrology and Hydrobiology, 50(10), 2619-2631.

Singh, S., Tripathi, D.K., Singh, S., Sharma, S., Dubey, N.K., Chauhan, D.K., Vaculík, M. (2017). Toxicity of aluminium on various levels of plant cells and organism: A review. Environmental and Experimental Botany, 137, 177–193.

Sonmez, S., Buyuktas, D., Okturen, F., Citak, S. (2008). Assessment of different soil to water ratios (1:1, 1:2.5, 1:5) in soil salinity studies. Geoderma, 144, 361–369.

Ministry of Energy (2010) Environmental regulation for reuse and recycling of waste water, Bulletin No. 535, Deputy Director of Strategic Control,

Ministry of Energy, Iran (In Persian).

Tong, M., Li, X., Brow, C.N., Johnson, W.P. (2005). Detachment-influenced transport of an adhension-deficient bacterial strain within water-reactive porous media. Environmental Science and Technology. 39, 2500-2508.

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

Unc, A., Goss, M.J., Cook, S., Li, X., Atwill, E.R., and Harter, T. (2012). Analysis of matrix effects critical to microbial transport in organic waste-affected soils across laboratory and field scales. Water resources research, 48(6), 1-17.

Unc, A., Niemi, J., and Goss, M.J. (2015). Soil and waste matrix affects spatial heterogeneity of bacteria filtration during unsaturated flow. Water, 7(3), 836-854.

USDA (United State Department of Agriculture). (2017). Soil Survey Manual, Soil Science Division Staff, Agriculture Handbook No. 18.

Walkley, 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 Science, 37: 29–38.

World Health Organization (WHO). (2008). Guidelines for Drinkingwater Quality, incorporating 1st and 2nd Addenda, Volume 1, Recommendations, 3rd edn. WHO, Geneva, Switzerland.

Xi, Y. (2006). Synthesis, Characterisation and Application of Organoclays. Doctoral dissertation, Queensland University of Technology.

Yao, Z. Y., Wei, G., Wang, H. Z., Wu, L. S., Wu, J. J., Xu, J. M. (2013) Survival of *Escherichia coli* O157:H7 in soils from vegetable fields with different cultivation patterns. Applied and Environmental Microbiology, 79, 1755–1756.

Yousefi, G., A. Safadousta, A., Mahboubib, A. A., Gharabaghib, B., Mosaddeghic, M.R., Ahrensd, B., Shirani, H. (2014). Bromide and lithium transport in soils under long-term cultivation ofalfalfa and wheat. Agriculture, Ecosystems and Environment, 188, 221-228

Zeraatpisheh, M., and Khormali, F. (2011). Investigation of the origin and evolution of loess soils in a climatic gradient, Case study: East of Golestan province. Journal of Soil and Water Conservation Research, 18 (2), 45-64. (In Persian)

Zehe, E., Fluhler, H. (2001). Preferential transport of isoproturon at a plot scale and a field scale tile-drained site. Journal of Hydrology, 247(1-2) ,100-115.