

انتقال و نگهداشت باکتری در خاک‌های آهکی تحت شرایط جریان غیراشباع

احمد فرخیان فیروزی^۱ - مهدی همایی^{۲*} - اروین کلومپ^۳ - روی کستیل^۴ - مرتضی ستاری^۵

تاریخ دریافت: ۸۸/۶/۲۵

تاریخ پذیرش: ۸۹/۱/۲۲

چکیده

انتقال آلاینده‌های میکروبی به آبهای زیرزمینی از مسائل بسیار مهم زیست‌محیطی است که می‌تواند در سطحی وسیع سبب شیوع بیماری شود. برخی باکتریها می‌توانند از بخش غیراشباع خاک عبور کرده و باعث آلودگی منابع آب زیرزمینی شوند. بنابراین، پیش‌بینی دقیق انتقال باکتریهای بیماری‌زا در خاک غیراشباع برای حفاظت منابع آب ضروری است. هدف از این پژوهش مطالعه کمی انتقال باکتریها در شرایط مختلف رطوبتی غیراشباع در ستون‌های خاک آهکی دست‌نخورده بوده است. بدین منظور، منحنی رخنه باکتری سودوموناس فلورسنس و کلراید اندازه‌گیری شد. پس از پایان آزمایش انتقال باکتری، تعداد باکتری در لایه‌های مختلف خاک شمارش شد. مدل جذب-واجذب سینتیک برنامه HYDRUS-1D برای پیش‌بینی انتقال و جذب باکتری در ستون خاک استفاده شد. این مدل برآورد خوبی از منحنی‌های رخنه باکتری داشت. درحالی‌که تخمینی کمتر از مقدار اندازه‌گیری شده نگهداشت باکتری در نیمرخ خاک داشت. نرخ واجذب باکتری کمتر از ۰/۰۰۱ نرخ جذب آن بود که نشان دهنده جذب غیرقابل برگشت باکتری به خاک است. عمده باکتریها در لایه‌های سطحی خاک نگهداشته شدند و با افزایش عمق مقدار نگهداشت کاهش یافت. نرخ حذف باکتری در خاکها از ۱۰/۱۸-۱۳/۳۴ متغیر بود. نرخ بالای حذف باکتری می‌تواند به دلیل کربنات کلسیم خاک باشد که دارای مکان مناسب برای جذب باکتری است.

واژه‌های کلیدی: انتقال باکتری، سودوموناس فلورسنس، خاک آهکی، جذب باکتری، جریان غیراشباع، واجذب باکتری

مقدمه

مطالعه انتقال میکروبها در خاک از جنبه‌های مختلف زیست‌محیطی مانند آلودگی آبهای زیرزمینی و پالایش زیستی^۶ خاک و آب و کنترل بیولوژیکی بیماری‌های گیاهی اهمیت دارد (۳۴). حدود ۷۰ درصد از بیماری‌های منتقله از طریق آب به دلیل آلودگی آبهای زیرزمینی به میکروب‌های بیماری‌زا است (۱۲). منشأ عمده میکروب‌های بیماری‌زای منتقله از طریق آب (باکتری، ویروس و پروتوزوا) ناشی از استفاده بی‌رویه از کودهای دامی و پساب فاضلابها در اراضی کشاورزی می‌باشد. کودهای دامی و فاضلابها سرشار از میکروب‌های بیماری‌زا هستند. کاربرد وسیع آنها در اراضی کشاورزی به منظور بهبود ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک نگرانی آلودگی

منابع آب را افزایش داده است (۱۰).

بخش غیراشباع^۷ خاک اولین بخشی است که در نتیجه فعالیت‌های انسان در معرض آلودگی میکروبی قرار دارد. این بخش می‌تواند نقش مهمی در به تأخیر انداختن زمان رسیدن میکروب‌های بیماری‌زا به منابع آب و در نتیجه حذف آنها داشته باشد. انتقال باکتری در بخش غیراشباع خاک تحت تأثیر فرآیندها و فعل و انفعالات بسیار پیچیده بوده و پیش‌بینی رفتار میکروبها در این بخش را مشکل می‌سازد (۷). نتایج پژوهش‌ها نشان داده که انتقال باکتری تحت کنترل مکانیزمها و فاکتورهای گوناگونی است. مکانیزم‌های انتقال و بقای باکتری شامل جریان توده‌ای، انتشار، پالایش فیزیکی^۸، تبادل بین فاز جامد و مایع (جذب و واجذب)، غیرفعال شدن باکتری و جذب مشترک آب-هوا می‌باشند. برای مدل‌سازی انتقال باکتری در خاک بایستی هر یک از این مکانیزمها بصورت کمی بیان شوند (۳۴). مرز مشترک آب-هوا پتانسیل زیادی در جذب باکتری دارد به

۱ و ۲- به ترتیب دانشجوی دکتری خاکشناسی و استاد گروه خاکشناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس

* - نویسنده مسئول: (Email: Mhomaee@modares.ac.ir)

۳ و ۴- استادان موسسه ICG-4 مرکز تحقیقات یولیش آلمان

۵- دانشیار گروه باکتری‌شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس

6- Bioremediation

7- Vadose Zone

8- Straining

فوپن واسخایفن (۶) میزان جذب باکتری اشیریشیاکلی به رسوبات شامل ذرات شن کوارتز، ذرات با پوشش گئوتایت و کلسیت (۵ تا ۱۰۰ درصد پوشش) اندازه‌گیری کردند. نتایج نشان داد با افزایش مقدار کانیهای گئوتایت و کلسیت که بار سطحی آنها موافق^۳ برای جذب است، میزان جذب باکتری افزایش می‌یابد.

وجود پوسته‌های کربنات کلسیم (CaCO_3) بر روی ذرات خاک و بلورهای کربنات کلسیم در اندازه‌های شن و سنگریزه از ویژگی‌های خاک‌های مناطق خشک و نیمه‌خشک است. عموماً مواد مادری در این نواحی از کربنات‌ها غنی هستند و آب و هوای گرم و خشک موجب می‌گردد که کربنات‌های حل شده در آب آبیاری و یا بارندگی پیش از آنکه به اعماق نفوذ کنند، با تبخیر به سطح خاک برگردند. طی این فرآیند، کربنات‌ها بر روی ذرات و یا دیواره منافذ خاک رسوب می‌یابند. خاک‌های با بیش از ۵ درصد آهک را اصطلاحاً خاک آهکی گویند (۳۶). بر اساس گزارش فائو (۵) حدود ۶۵ درصد از خاک‌های ایران آهکی می‌باشند. با توجه به وسعت زیاد خاک‌های آهکی در ایران و این که کربنات کلسیم در مقایسه با سایر کانی‌های خاک دارای انرژی جذب متفاوتی برای جذب باکتری‌ها است، مطالعه انتقال باکتری در این خاک‌ها ضروری است.

هدف از این پژوهش مطالعه کمی انتقال و نگهداشت باکتری گرم منفی سودوموناس فلورسنس^۴ در ستون‌های خاک آهکی دست‌نخورده تحت شرایط مختلف جریان غیراشباع بوده است.

مواد و روش‌ها

خاک

به منظور مطالعه کمی جذب و انتقال باکتری در خاک، تعداد ۴ ستون خاک دست‌نخورده از منطقه الشتر نمونه‌برداری شد. خاک‌های آهکی این منطقه در زیر گروه بزرگ Cacixerollic Xerochrepts قرار می‌گیرند. ستون‌های نمونه‌برداری از جنس PVC دارای قطر ۸ سانتی‌متر و ارتفاع ۱۰ سانتی‌متر بودند. قبل از شروع آزمایش انتقال، ستون‌های خاک از ته با محلول ۰/۱ مولار CaCl_2 برای مدت ۲ روز اشباع شدند. در ته ستون خاک صفحه‌ای از جنس Plexiglas و غشایی از جنس پلی‌استایرن قرار داده شد. همچنین پیش از آغاز آزمایش غشای ته ستون خاک مورد آزمایش قرار گرفت که باکتری را کاملاً عبور داده و مانع عبور باکتری نمی‌شود. همچنین لایه نازکی از شن کوارتز درشت دانه بر سطح ستون خاک برای جلوگیری از تخریب ساختمان خاک در نتیجه ضربه قطرات آب به هنگام آبیاری قرار داده شد.

ویژه اینکه این جذب معمولاً برگشت‌ناپذیر^۱ است. با کاهش مقدار رطوبت مقدار جذب باکتری افزایش می‌یابد (۹ و ۳۴). این افزایش جذب باکتری به مرز مشترک آب-هوا نسبت داده شده زیرا با کاهش رطوبت مقدار این مرز افزایش می‌یابد. پالایش فیزیکی زمانی اتفاق می‌افتد که نسبت قطر ذرات کلئید به میانه قطر ذرات محیط متخلخل بیش از ۰/۵ درصد باشد (۲).

فاکتورهای مؤثر بر انتقال و بقای باکتری در خاک شامل ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک، شرایط زیست محیطی خاک و نوع میکروب می‌باشند. از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک می‌توان نوع رس و مقدار آن، توزیع اندازه ذرات، ساختمان خاک، اسیدیته و قدرت یونی محلول خاک را نام برد (۳۵). دمای خاک، مقدار رطوبت و شدت جریان آب در خاک از جمله شرایط زیست محیطی مؤثر بر انتقال و بقای باکتری هستند (۳۲).

معمولاً خاک به عنوان فیلتری کامل برای جلوگیری از ورود باکتری به آب‌های زیرزمینی فرض می‌شود درحالی‌که، خاک محیطی ناهمگن است که دارای منافذ درشت^۲ می‌باشد. این منافذ سبب انتقال سریع باکتری در خاک می‌شوند. تاکنون بیشتر مطالعات انجام شده در زمینه انتقال میکروب‌ها در شرایط اشباع بوده است (۷، ۲۷ و ۳۴). پژوهش‌های اندکی انتقال میکروب‌ها را در شرایط غیراشباع مطالعه کرده‌اند. به‌علاوه این مطالعات در خاک‌های مصنوعی همگن یا رسوبات آبخوان بوده است. از طرفی بیشتر پژوهش‌های انجام شده در زمینه انتقال باکتری در خاک‌های کشاورزی دارای ساختمان، به‌صورت کیفی بوده است که در این مطالعات انتقال سریع میکروب‌های بیماری‌زا از افق خاک گزارش شده است. نتایج این پژوهش‌ها نشان داده وجود منافذ درشت در خاک‌های دارای ساختمان، انتقال باکتری را بطور چشمگیری افزایش می‌دهد (۸، ۱۳ و ۲۵). منافذ درشت خاک می‌تواند ناشی از کانال‌های بجا مانده از ریشه پوسیده شده گیاهان، درز و ترک در خاک رسی، کرم راه‌ها و یا فضای بین خاکدانه‌ها باشد (۲۴). نتایج مطالعه مصدقی و همکاران نشان داد ستون‌های خاک با بافت لوم رسی شنی در مقایسه با شن لومی باکتری *E. coli* بیشتری از خود عبور داده‌اند. این پژوهشگران علت آن را وجود ساختمان بهتر در خاک لوم رسی شنی دانسته‌اند. پایداری ساختمان در خاک لوم رسی شنی انتقال باکتری را تسهیل داده و سبب شده که زودتر در زهاب خروجی مشاهده شود (۲۱).

یکی از فاکتورهای مؤثر بر جذب باکتری نوع کانی خاک است. نتایج آزمایش شول و هاروی (۲۸) نشان داد که جذب باکتری *Arthrobacter sp.* به ذرات کوارتز، مسکویت، سنگ آهک و ذرات کوارتز با پوشش آهن، بستگی به بار سطحی کانی‌ها دارد. همچنین

3- Favourable Charge
4- Pseudomonas fluorescens

1- Irreversible
2- Macropores

خاک در ابتدا با ماده رنگی SYBER^۲ سبز رنگ آمیزی شده سپس با استفاده از میکروسکوپ تصاویر دیجیتالی تهیه، و در نهایت تعداد کل باکتری با استفاده از برنامه کامپیوتری (Carl Zeiss, KS400 (Jena) شمارش می‌شود. این روش بطور مختصر توضیح داده می‌شود. قبل از رنگ آمیزی، باکتری به مدت یک دقیقه در داخل محلول یخ قرار داده شد. با توجه به غلظت باکتری در زهاب خروجی حجم مشخصی از سوسپانسیون باکتری (مثلاً ۱ میلی لیتر) به راکتور رنگ آمیزی FinStar که حاوی ۴ میلی لیتر محلول بافر فسفات با اسیدیت ۷ بود با پیست سترون انتقال داده شد برای فیلتر کردن باکتری از فیلتر واتمن با قطر ۲۵ میلی متر که اندازه منافذ آن ۲ میکرومتر بود، استفاده شد. محلول نمونه با استفاده از پمپ خلاء مکش ۱۳۰ میلی بار تخلیه و ذرات باکتری باقیمانده بر سطح فیلتر دو مرتبه با محلول بافر با اسیدیت ۷ شستشو داده شدند. سپس ۱/۵ میلی لیتر از محلول رنگ SYBER سبز با غلظت ۵ میکرومولار در لیتر به طور یکنواخت به سطح فیلتر حاوی ذرات باکتری ریخته شد. پس از مدت ۱۵ دقیقه محلول رنگ با استفاده از مکش جدا و ذرات باکتری دو مرتبه با محلول بافر شستشو داده شدند. سپس فیلتر حاوی باکتری بر روی اسلاید میکروسکوپ قرار داده و یک قطره روغن بر سطح ورقه شیشه‌ای سطح اسلاید قرار داده شد. در مرحله‌ی بعد با استفاده از میکروسکوپ Nikon ECLIPSE E 1000 با پشتیبانی نرم افزار LUCIA از هر نمونه ۲۰ تصویر بطور تصادفی تهیه شد. میکروسکوپ و تصاویر با نرم افزار Nikon, LUCIA 32 4.11 (Germany) کنترل می‌شد. برای تجزیه و تحلیل تصاویر و همچنین شمارش باکتری از برنامه کامپیوتری ZEISS KS 400 V 3.0 (Carel Zeiss, Germany) استفاده شد (۱۶). به منظور اندازه گیری تعداد باکتری سودوموناس فلورسنس بومی خاک موجود در زهاب خروجی پیش از شروع آزمایش انتقال، غلظت باکتری در زهاب خروجی شمارش شد و در محاسبات انتقال باکتری اعمال گردید.

شمارش باکتری در نیمرخ خاک

برای شمارش باکتری در نیمرخ خاک بلافاصله پس از پایان آزمایش انتقال، ستون خاک به ۱۰ لایه یک سانتی متری برش داده شد. برای این منظور با استفاده از یک پیستون به انتهای خاک داخل سیلندر به آرامی نیرو وارد نموده تا خاک داخل سیلندر یک سانتی متر خارج گردد. سپس با استفاده از یک تیغه تیز خاک برش داده شد. هر لایه خاک بطور کامل مخلوط شده و ۴ گرم از آن با ۴۰ میلی لیتر محلول فسفات بافر با اسیدیت ۷ به لوله سانتریفیوژ ۵۰ میلی لیتری اضافه شد. نمونه به مدت ۱۵ دقیقه در دور ۲۰۰ شیکر شد. سپس برای جداسازی باکتری موجود در فاز مایع از فاز جامد، لوله‌ها در دور

به منظور اندازه گیری ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی نمونه‌های خاک دست‌خورده نیز تهیه شد. نمونه‌ها پس از هوا خشک شدن از الک ۲ میلی متری رد شدند. توزیع اندازه ذرات به روش هیدرومتری، مقدار کربن آلی به روش اکسیداسیون تر و تیتراسیون با فروآمونیم فسفات (۲۲)، مقدار کربنات کلسیم معادل (CCE) به روش آلیسون و مودی اندازه گیری شد (۱). مقدار ظرفیت تبادل کاتیونی خاک (CEC) با جایگزینی کاتیونها با استات سدیم (NaOAc) در اسیدیت ۸/۵ اندازه گیری شد (۳). اسیدیت به گل اشباع و هدایت الکتریکی (کل املاح محلول) در عصاره اشباع تعیین شد.

باکتری

در این پژوهش انتقال و جذب باکتری سودوموناس فلورسنس (DSM 50108 Biotype II) در شرایط غیراشباع مطالعه شد. این باکتری خاکزی بوده و به عنوان مدل ریزجاندار زنده در مطالعات زیادی مورد استفاده قرار گرفته است (۲۳). باکتری سودوموناس فلورسنس متحرک، میله‌ای شکل، با بار سطحی منفی، قطر آن از ۰/۵ تا ۱ میکرون و طول آن از ۱/۵ تا ۴ میکرون با توجه به مرحله رشد و وضعیت غذایی آن متغیر است. باکتری دارای تاژک بوده و با سرعت ۲۰ تا ۶۰ میکرومتر در ثانیه و به طور متوسط ۱۴ سانتی متر در ساعت در آب حرکت می‌کند (۲۴).

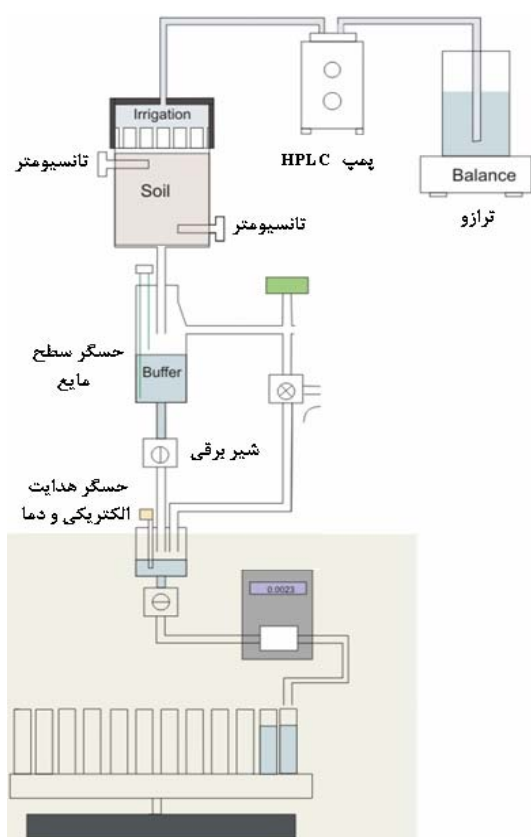
روش تهیه محلول سوسپانسیون باکتری: یک کلونی از سویه باکتری *Pseudomonas fluorescens* در محیط مغذی^۱ به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد رشد داده شد. سپس باکتری با استفاده از سانتریفیوژ در دور ۸۰۰G به مدت ۵ دقیقه از محیط مغذی جدا شد. پس از آن باکتری جدا شده دو مرتبه با محلول کلرید کلسیم (CaCl₂)، ۰/۰۱ مولار شستشو داده شد. محلول سوسپانسیون باکتری با غلظت ۱۰^۸ تا ۱۰^۹ در میلی لیتر ۰/۰۱ مولار کلرید کلسیم بدست آمد. برای شمارش باکتری در سوسپانسیون باکتری از دستگاه شمارنده سلول (Multisizer 3, Coulter Counter, BECKMAN) استفاده شد. این دستگاه تعداد سلول باکتری، توزیع اندازه سلول باکتری و میانگین قطر آن را اندازه می‌گیرد.

شمارش باکتری

شمارش باکتری در زهاب خروجی

برای شمارش باکتری از روش میکروسکوپ و تحلیل تصاویر دیجیتالی باکتری رنگ آمیزی شده با رنگ فلورسنس، استفاده شد (۱۶). در این روش باکتری موجود در سوسپانسیون خروجی از ستون

اندازه‌گیری غلظت کلراید، هدایت الکتریکی^۷ هر نمونه زهاب خروجی بطور خودکار اندازه‌گیری و پس از پایان آزمایش انتقال، غلظت آن با استفاده از منحنی کالیبره محاسبه شد. برای اندازه‌گیری منحنی رخنه کلراید (Cl^{-1})، محلول ۰/۰۱ مولار $CaCl_2$ با محلول ۰/۰۵ مولار $CaCl_2$ برای مدت زمان معین جایگزین شد. همچنین برای اندازه‌گیری منحنی رخنه باکتری سوسپانسیون باکتری با توجه به مدت زمان انجام آزمایش جایگزین محلول زمینه ۰/۰۱ مولار $CaCl_2$ شد. به منظور اندازه‌گیری باکتری در نیمرخ خاک پس از پایان آزمایش انتقال باکتری، ستون خاک به لایه‌های ۱ سانتی‌متری برش داده شد.



شکل ۱- طرح شماتیک نحوه انجام آزمایش‌های انتقال

معادلات حاکم بر انتقال

انتقال عنصر ردیاب کلراید

انتقال املاح غیرواکتشگر^۸ مانند کلراید عموماً با معادله جریان توده‌ای-انتشار (CDE)^۹ بیان می‌شود. برای شرایط جریان پایدار این

۸۰۰G به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند. در صورت نیاز عمل شیکر و سانتریفیوژ چندین بار تکرار شد تا باکتریها تا حد امکان به فاز مایع انتقال یابند. برای تعیین غلظت باکتری در محلول روئین بدست آمده از روش شمارش زنده^۱ استفاده شد. در روش شمارش زنده در ابتدا محلول سوسپانسیون باکتری به میزان لازم رقیق شده و با استفاده از پیپت سترون ۰/۱ میلی‌لیتر از نمونه رقیق شده بر روی محیط کشت S1 کشت داده شد (۱۱). پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در محیط رشد (انکوباتور) در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد قرار داده شد. پس از رشد باکتری، برای شمارش کلنی‌های باکتری از دستگاه دیجیتال شمارنده کلنی^۲ استفاده شد. به منظور اندازه‌گیری تعداد باکتری سودوموناس فلورسنس بومی خاک همانند روش آزمایش، یک ستون خاک شاهد آبشویی گردید و تعداد باکتری در نیمرخ آن شمارش گردید.

آزمایش انتقال

چگونگی انجام آزمایش انتقال باکتری و کلراید^۳ در شکل (۱) ارائه شده است. همان‌طوری که ملاحظه می‌شود آزمایش انتقال به گونه‌ای طراحی شده است که جریان غیراشباع پایدار^۴ با شیب هیدرولیکی واحد در طول ستون خاک برقرار شود. کلیه شرایط آزمایش با برنامه کامپیوتری LabView به‌طور خودکار کنترل می‌شود. محلول ۰/۰۱ مولار $CaCl_2$ به عنوان محلول زمینه^۵ استفاده شد. آبیاری ستون خاک با محلول ۰/۰۱ مولار $CaCl_2$ حداقل یک هفته پیش از انجام آزمایش انتقال شروع شد. آبیاری به وسیله باران‌سازی با ۱۹ نازل که محلول را بطور یکنواخت در سطح ستون توزیع می‌کردند، صورت گرفت. هر یک از محلول‌های کلراید یا سوسپانسیون باکتری با پمپ^۶ از مخزنی به سطح ستون خاک وارد شدند. همان‌طوری که در شکل (۱) مشاهده می‌شود به منظور تنظیم و کنترل شدت بارندگی این مخزن بر روی یک ترازو قرار گرفته است. با تنظیم شدت بارندگی و مکش به ته ستون خاک بار فشار ثابتی (رطوبت یکسان) در طول ستون خاک ایجاد شد. در این حالت تنها عامل جریان آب در ستون خاک نیروی ثقل است. دو تامسیومتر در عمق‌های ۲/۵ و ۷/۵ سانتی‌متری از سطح ستون خاک برای کنترل بارفشار درون خاک قرار داده شدند. مکش اعمال شده به ته ستون‌های مختلف خاک از ۵ تا ۲۰ میلی‌بار بود. با استفاده از دو حسگر الکتریکی سطح مایع، نمونه‌های زهاب خروجی با حجم ۱۵ میلی‌لیتر نمونه‌برداری شد. همچنین برای

- 1- Plate Count
- 2- Digital Colony Counter
- 3- Trace Element
- 4- Steady State Condition
- 5- Background
- 6- Peristaltic Pump

7- Electrical Conductivity (EC)

8- Non-reactive

9- Convection-Dispersion Equation (CDE)

واجذب باکتری از ذرات خاک (T^{-1}) و t زمان می‌باشد. μ_1 و μ_2 به ترتیب غیر فعال شدن باکتری در فاز مایع و جامد می‌باشند. برای برآورد پارامترهای مدل انتقال باکتری در خاک از برنامه کامپیوتری HYDRUS-1D استفاده شد (۲۹). این برنامه برای شبیه‌سازی حرکت آب، گرما و املاح در حالت اشباع و غیراشباع خاک بکار می‌رود. برنامه HYDRUS-1D معادله ریچاردز^۷ را به صورت عددی برای جریان اشباع و غیراشباع آب و معادله جریان توده‌ای-انتشار (CDE) را برای انتقال املاح حل می‌کند. این برنامه امکان برازش همزمان پارامترهای مدل را به منحنی رخنه^۸ و داده‌های نیمرخ خاک با استفاده از روش بهینه‌سازی حداقل مربعات بر اساس الگوریتم لونبرگ-مارگوت فراهم می‌کند.

نتایج و بحث

ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی ستونهای خاک مورد مطالعه در جدول (۱) ارائه شده است. همانطوریکه مشاهده می‌شود بافت ستون‌های خاک مورد مطالعه لوم رسی^۹ بوده و ستون خاک C و D به ترتیب بیشترین و کمترین مقدار آهک فعال را دارند.

انتقال کلراید

در شکل (۲) منحنی‌های رخنه کلراید اندازه‌گیری شده و برآورد شده با مدل CXTFIT برای ستون‌های خاک ارائه شده است. ضریب تبیین (R^2) بین مقادیر اندازه‌گیری شده و برآورد شده ۰/۹۹ است. پارامترهای انتقال تخمین داده شده برای کلراید در جدول (۲) آمده است. پارامترهای انتقال به خوبی ناهمگنی خاک منطقه مطالعاتی را نشان می‌دهند. در این پژوهش تلاش بر آن بوده است که انتقال در شرایط رطوبتی نزدیک به اشباع که منافذ درشت خاک فعال هستند، مورد مطالعه قرار گیرد.

در آزمایش انتقال با تغییر مقدار مکش اعمال شده به ته ستون خاک و همچنین شدت بارندگی جریان غیراشباع پایدار برقرار شد. شرایط آزمایش انتقال برای هر ستون خاک شامل شدت بارندگی و مکش اعمال شده به هر ستون خاک در جدول (۳) ارائه شده است.

انتقال باکتری

در شکل (۳) منحنی رخنه باکتری و کلراید برای هر یک از ستونهای خاک، با غلظت نسبی (نسبت غلظت در زهاب خروجی C به غلظت اولیه ورودی C_0) در مقابل زمان نشان داده شده است.

معادله را می‌توان به شکل زیر نوشت:

$$\frac{\partial C}{\partial t} = -v \frac{\partial C}{\partial z} + D \frac{\partial^2 C}{\partial z^2} \quad (1)$$

که در آن C غلظت نمک در فاز مایع (ML^{-3})، D ضریب انتشار^۱ (L^2T^{-1})، v سرعت متوسط منفذی آب (LT^{-1})، t زمان و z عمق (L) می‌باشد. پارامترهای v و D منحنی رخنه کلراید با استفاده از روش غیرخطی تخمین پارامتر^۲ بر اساس الگوریتم لونبرگ-مارگوت^۳ برآورد شدند (۱۷). بدین منظور از برنامه CXTFIT که به طور تحلیلی معادله CDE را برای شرایط مرزی معین حل می‌نماید، استفاده شد (۳۳). سپس پارامترهای انتقال (v و D) تخمین داده شده و شدت جریان دارسی (q) که در آزمایشگاه اندازه‌گیری شد برای تعیین مقدار رطوبت حجمی ($\theta = \frac{q}{v}$) و ضریب انتشارپذیری ($\lambda = \frac{D}{v}$) استفاده شدند. پارامترهای تخمین داده شده (θ, λ) و شدت جریان اندازه‌گیری شده در شبیه‌سازی انتقال باکتری با استفاده از برنامه HYDRUS-1D مورد استفاده قرار گرفتند (۲۹).

انتقال باکتری

معادله کلی حاکم بر جذب و انتقال باکتری در خاک را می‌توان با مدل جذب-واجذب سینتیک^۴ بیان کرد (۲۶). این مدل فرآیندهای جذب و واجذب را با نرخ سینتیک درجه اول^۵ توصیف می‌نماید. فرآیند جذب سینتیک شامل دو مرحله است. در مرحله اول که اصطلاحاً انتقال جرم گفته می‌شود باکتری از فاز مایع به سطح ذرات خاک انتقال می‌یابد. در مرحله دوم، باکتری در نتیجه برهم‌کنش‌های فیزیکوشیمیایی جذب سطح ذرات خاک می‌گردد. در حالت یک بعدی مدل جذب-واجذب سینتیک انتقال ذرات کلونید، باکتری و ویروس را به شکل زیر بیان می‌کند:

$$\frac{\partial C}{\partial t} + \frac{\rho_b}{\theta} \frac{\partial S}{\partial t} = D \frac{\partial^2 C}{\partial z^2} - v \frac{\partial C}{\partial z} - \mu_1 C \quad (2)$$

$$\frac{\rho_b}{\theta} \frac{\partial S}{\partial t} = k_{att} C - k_{det} \frac{\rho_b}{\theta} S - \mu_S \rho_b S \quad (3)$$

که در آن C غلظت باکتری در فاز مایع (NL^{-3})، D ضریب انتشار^۶ (L^2T^{-1})، v سرعت منفذی آب (LT^{-1})، θ تخلخل کل (L^{-3})، ρ_b جرم ویژه ظاهری خاک (ML^{-3})، S غلظت باکتری جذب شده به خاک (NL^{-3}) می‌باشد. k_{att} و k_{det} به ترتیب نرخ جذب و

- 1- Dispersion coefficient
- 2- Non-linear parameter optimization
- 3- the Levenberg-Marquardt iteration method
- 4- Kinetic Attachment-Detachment
- 5- First-order kinetic process
- 6- Dispersion coefficient

7- Richards' Equation
8- Breakthrough Curve
9- Clay loam

جدول ۱- ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی ستون‌های خاک مورد آزمایش

ستون خاک	رس (%)	سیلت (%)	جرم ویژه ظاهری (gcm ⁻³)	اسیدیته	EC (dSm ⁻¹)	OC (%)	CEC (cmol kg ⁻¹)	ACC (%)
A	۴۱	۳۵/۲	۱/۲۱	۷/۶۲	۱/۰۵	۱/۲۷	۱۶/۵	۲۲/۴
B	۴۰/۵	۳۳/۹	۱/۱۵	۷/۶	۱/۱	۱/۶۲	۱۶	۲۴/۷
C	۳۹/۲	۳۰/۴	۱/۲۵	۷/۷	۰/۹۴	۱/۳۴	۱۵/۲	۲۶/۵
D	۳۸/۸	۳۱/۵	۱/۱۹	۷/۵۵	۰/۸۸	۱/۵۳	۱۴/۹	۱۸/۲

EC=هدایت الکتریکی، OC=کربن آلی، CEC=ظرفیت تبادل کاتیونی، ACC=کربنات کلسیم فعال

جدول ۲- پارامترهای انتقال عنصر کلراید در ستون‌های خاک آهکی مورد مطالعه

ستون خاک	ν (cmh ⁻¹)	D (cm ² h ⁻¹)	R^2	q (cmh ⁻¹)	λ (cm)	θ (cm ³ cm ³)
A	۱/۴۴	۲/۴۹	۰/۹۹	۰/۵۸	۱/۲۹	۰/۴۰
B	۱/۵۲	۳/۲۵	۰/۹۹	۰/۶۰	۲/۱۴	۰/۳۹
C	۱/۴۱	۱/۶	۰/۹۹	۰/۵۱	۱/۱۳۵	۰/۳۶
D	۰/۹۶	۳/۱۶	۰/۹۹	۰/۴۴	۳/۲۹	۰/۴۶

جدول ۳- شرایط آزمایش برای ستون‌های خاک مختلف

ستون خاک	شدت بارندگی (cmh ⁻¹)	مکش اعمال شده به ته ستون خاک (cm)
A	۰/۵۸	۱۰
B	۰/۶۰	۵
C	۰/۵۱	۲۰
D	۰/۴۴	۵

خاک بسیار کمتر بوده است که توانایی بالای خاک آهکی مورد مطالعه را در پالایش ذرات باکتری به خوبی نشان می‌دهد. بر اساس محاسبات تعادل جرم (جدول ۶) مقدار باکتری خروجی از ستون‌های خاک از ۲ درصد تا ۳/۴ درصد بوده است یا به عبارتی خاک‌های مورد مطالعه بیش از ۹۶ درصد باکتری را پالایش کرده‌اند.

برای تخمین منحنی رخنه و نگهداشت باکتری در نیمرخ خاک از برنامه HYDRUS-1D استفاده شد. پارامترهای مدل انتقال باکتری با استفاده از این برنامه به روش حل معکوس^۳ برآورد شدند. پارامترهای برآورد شده مدل جذب و جذب سینتیک باکتری در جدول (۴) ارائه شده است. مقدار نرخ جذب باکتری در این خاکها از ۰/۵۰۶ تا ۰/۶۱ متغیر است که نرخ جذب نسبتاً بالایی است. دلیل جذب بالای باکتری در شرایط غیراشباع حاکم بر ستون‌های خاک مورد مطالعه علاوه بر پالایش فیزیکی و جذب مرز مشترک آب-هوا را می‌توان در نقش کانی‌های خاک جستجو کرد. خاک‌های مورد مطالعه دارای مقدار زیادی کانی کربنات کلسیم می‌باشند. نتایج پژوهش‌ها نشان می‌دهد مقدار pH_{PZC} کانی کربنات کلسیم بین ۹/۵ تا ۱۰/۸ متغیر است (۶ و ۳۱). از طرفی مقدار اسیدیته خاک‌های مورد مطالعه

مقایسه منحنی رخنه باکتری با کلراید تفاوت چشمگیری را بین آن دو نشان می‌دهد. همانطوریکه ملاحظه می‌شود در تمامی ستون‌های خاک باکتری قبل از کلراید در زهاب خروجی مشاهده شده و به نقطه اوج رسیده است و پس از پایان آبیاری منحنی رخنه باکتری قبل از کلراید افت شدید داشته است.

این نوع رفتار باکتری توسط گوهر و همکاران در سال ۲۰۰۵ که انتقال باکتری را در ستون‌های دست‌نخورده در حالت اشباع مطالعه کرده‌اند، مشاهده شده است (۱۳). همچنین یونک و گوس مشاهده کردند که انتقال باکتری در خاک‌های با بافت لوم سیلتی^۱ و لوم شنی^۲ ۳۵ مرتبه بیشتر از سرعت انتقال آب در خاک است. انتقال سریعتر باکتری در مقایسه با املاح غیرواکنشگر مانند کلراید می‌تواند به مسیرهای متفاوت انتقال باکتری و کلراید نسبت داد. زیرا باکتری برخلاف کلراید توانایی عبور از منافذ ریز را ندارد و تنها از منافذ درشت خاک حرکت می‌کند لذا زودتر از کلراید در زهاب خروجی مشاهده می‌شود (۳۵).

غلظت نسبی باکتری در مقایسه با کلراید در تمامی ستون‌های

1- Silty loam

2- sandy loam

3- Inverse Solution

است. با اینکه آزمایش‌های انتقال باکتری در شرایط پایدار انجام شده است وجود نقاط اوج مختلف در منحنی رخنه باکتری و پراکندگی داده‌ها نشان دهنده وجود ناهمگنی فیزیکی و شیمیایی خاک است. زیرا خاک از کانی‌های مختلف تشکیل شده که توانایی جذب و دفع متفاوتی دارند. همچنین می‌تواند بیان کننده مسیرهای جریان متفاوت برای انتقال باکتری باشد. منحنی رخنه باکتری دارای دنباله با شیب اندک است که نشان دهنده ناچیز بودن مقدار واجذب باکتری در خاکهای مورد مطالعه است.

نرخ حذف باکتری با پارامتر $\log(C_{\max}/C_0 m^{-1})$ بیان می‌شود. در جدول (۵) نرخ حذف^۳ باکتری برای هر ستون خاک آمده است. در خاکهای مورد مطالعه مقدار این پارامتر از ۱۰/۱۸ تا $\log m$ (۱) ۱۳/۳۴ متغیر است. مقدار زیاد نرخ حذف نشان دهنده توان بالای این خاکها در پالایش باکتری است. نتایج پژوهش‌های مک‌لئود و همکاران (۱۹ و ۲۰) نشان داد که نرخ حذف باکتریهای رودهای در خاکهای سوئیس با بافت و ساختمان متفاوت از ۰/۱۲ تا ۱۷/۴۶ متغیر است. همچنین نتایج پژوهش‌های دیگر نشان داده است که نرخ حذف باکتری در خاکهای با بافت لوم رس سیلتی^۴ ۴/۹۳ تا $\log m^{-1}$ (۳/۵) لوم شنی^۵ ۰/۰۹۳۲ تا $\log m^{-1}$ (۱/۸۴۴) و لوم سیلتی^۶ ۱/۹۳ تا ۴/۷ بوده است (۱۴).

بنابراین می‌توان نتیجه گرفت در حالی که شدت جریان آب نقش مهمی در انتقال باکتری در خاک داشته است، کانی‌های خاک با انرژی جذب و دفع متفاوت بر جذب و واجذب باکتری یا به عبارتی تبادل جرم بین فاز مایع و جامد تأثیر داشته‌اند.

نگهداشت باکتری در خاک

منحنی اندازه‌گیری شده و برآورد شده نگهداشت باکتری در نیمرخ خاک در شکل (۶) ارائه شده است. همان‌طوری که ملاحظه می‌شود به جزء در ستون خاک B، منحنی نگهداشت اندازه‌گیری شده شکل نمایی^۷ کامل ندارد و بیشتر باکتری‌ها در لایه‌های سطحی خاک نگهداشته شده‌اند و با افزایش عمق مقدار نگهداشت کاهش می‌یابد و این کاهش در لایه‌های زیرین تقریباً حالت یکنواخت^۸ پیدا کرده است. در لایه اول ستونهای خاک A، B، C و D به ترتیب ۱۹/۸، ۲۲/۱، ۲۴/۱ و ۱۹ درصد جرم کل باکتری شمارش شده را نگه داشته‌اند.

۷/۵۵ تا ۷/۷ می‌باشد. لذا در این شرایط بارسطحی کانی کربنات کلسیم در خاک مورد مطالعه مثبت است. زیرا این کانی pH_{PZC} بیشتر از pH محلول خاک دارد. بنابراین با افزایش مقدار کربنات کلسیم که دارای بار موافق برای جذب باکتری با بار منفی است، شرایط بهتری برای جذب بیشتر باکتری گرم منفی *Pseudomonas fluorescens* فراهم شده است. شایان ذکر است که نقش مرز مشترک آب-هوا در پالایش باکتری در شرایط غیر اشباع خاک بسیار قوی است. اما از آنجائیکه در این پژوهش انتقال باکتری در شرایط نزدیک به رطوبت اشباع بررسی شد لذا نقش مرز مشترک آب-هوا در جذب باکتری چندان زیاد نمی‌باشد. همانطوریکه در جدول (۵) ملاحظه می‌شود مقدار k_{att} بیش از ۱۰۰۰ برابر k_{det} می‌باشد که نشان دهنده این است که جذب باکتری به خاکهای آهکی مورد مطالعه تقریباً^۹ غیر قابل برگشت است.

همچنین منحنی رخنه باکتری اندازه‌گیری شده و برآورد شده با مدل جذب-واجذب سینتیک در شکل (۴) نشان داده شده است. همانطور که ملاحظه می‌شود این مدل تخمینی بسیار خوب از منحنی رخنه انتقال باکتری داشته است. ضریب تبیین بین مقادیر اندازه‌گیری شده و برآورد شده ۰/۹۱ تا ۰/۹۴ می‌باشد. همچنین به منظور بررسی بهتر دقت مدل جذب-واجذب در برآورد دنباله^۱ منحنی رخنه، در شکل (۵) منحنی‌های رخنه باکتری در مقیاس لگاریتمی ارائه شده است. این منحنی‌ها به‌خوبی نشان می‌دهند که به جز ستون D، این مدل برآوردی خوب از دنباله منحنی رخنه نیز داشته است.

مقایسه حداکثر غلظت نسبی باکتری (C_{\max}/C_0) منحنی‌های رخنه مختلف در جدول (۵) نشان می‌دهد که بیشترین مقدار غلظت نسبی مربوط به ستون خاک B بوده (۹ درصد) و پس از آن به ترتیب ستونهای A، C و D به ترتیب با مقادیر ۶/۶، ۵/۳ و ۴/۶ درصد قرار دارند. مقایسه غلظت‌های نسبی با شدت جریان ستونهای خاک (جدول ۲) نشان می‌دهد که ستون B با بیشترین مقدار شدت جریان، حداکثر غلظت نسبی باکتری را در زهاب خروجی داشته است. این در حالی است که ستون D کمترین شدت جریان و کمترین مقدار غلظت نسبی C_{\max}/C_0 در زهاب خروجی داشته است. این نتایج نشان می‌دهند در خاک با شدت جریان بیشتر مقدار پالایش باکتری کمتر بوده است. زیرا بنابر قانون پوازی^۲ مقدار زیادی از کل جریان از منافذ درشت عبور نموده و در نتیجه مقدار بیشتری باکتری از خاک انتقال یافته است.

منحنی‌ها رخنه اندازه‌گیری شده باکتری در شکل (۴) به خوبی نشان می‌دهند که غلظت باکتری در زهاب خروجی به سرعت با نقطه اوج رسیده و پس از آن دارای نوسانات و نقاط اوج و افت بسیار است که دلیل آن وجود مکانهای با انرژی جذب و دفع متفاوت در خاک

3- Removal Rate
4- Silty Clay Loam
5- Sandy Loam
6- Loam Silty
7- Exponential
8- Monotic

1- Tailing
2- Poiseuille's Law

جدول ۴- پارامترهای مدل جذب و واجذب برازش داده شده بر منحنی رخنه باکتری

پارامتر	ستون A	ستون B	ستون C	ستون D
$(h^{-1}) k_{att}$	$6/1 * 10^{-1}$	$5/94 * 10^{-1}$	$6/1 * 10^{-1}$	$5/06 * 10^{-1}$
$(h^{-1}) k_{det}$	$(6/58 * 10^{-3})$	$(1/4 * 10^{-3})$	$(1/5 * 10^{-3})$	$(1/65 * 10^{-3})$
μ_s	$1/04 * 10^{-3}$	$1/48 * 10^{-3}$	$5/59 * 10^{-4}$	$1/36 * 10^{-3}$
μ_l	$(1/59 * 10^{-4})$	$(6/39 * 10^{-4})$	$(6/38 * 10^{-4})$	$(5/22 * 10^{-4})$
R^2	$2/03 * 10^{-2}$	$1/07 * 10^{-2}$	$2/01 * 10^{-2}$	$8/5 * 10^{-3}$
	$(1/75 * 10^{-3})$	$(5/02 * 10^{-3})$	$(4/1 * 10^{-3})$	$(1/1 * 10^{-4})$
	$5/94 * 10^{-6}$	$1/82 * 10^{-5}$	$6/35 * 10^{-5}$	$8/8 * 10^{-5}$
	$(1/42 * 10^{-5})$	$(3/24 * 10^{-6})$	$(2/4 * 10^{-6})$	$(2/2 * 10^{-6})$
	0/94	0/91	0/91	0/92

*- عدد داخل پرانتز ضریب انحراف معیار هر پارامتر را نشان می‌دهد.

جدول ۵- حداکثر غلظت نسبی (C_{max}/C_0)، نرخ حذف باکتری و k_{det}/k_{att} در خاکهای مورد مطالعه

ستون خاک	حداکثر غلظت نسبی	نرخ حذف باکتری	k_{det}/k_{att}
A	0/066	10/18	$1/69 * 10^{-3}$
B	0/090	10/40	$2/49 * 10^{-3}$
C	0/053	12/70	$9/15 * 10^{-4}$
D	0/046	13/34	$1/92 * 10^{-3}$

مشاهده شده در زهاب خروجی ستونهای خاک از مقدار ۲ درصد تا ۳/۴ درصد بوده است. مقدار باکتری اندازه‌گیری شده در نیمرخ خاک از ۷۰ درصد تا ۷۷ درصد بوده است، یعنی حدود ۲۳ تا ۳۰ درصد از باکتری‌های جذب خاک شده قابل اندازه‌گیری نبوده‌اند که می‌تواند به دلایل زیر باشد: ۱- از روش شمارش زنده برای اندازه‌گیری باکتری‌های نگهداشته شده در نیمرخ خاک استفاده شده لذا باکتری‌های غیرفعال یا مرده قابل شمارش نبوده‌اند. ۲- از نسبت ضریب واجذب به جذب باکتری می‌توان نتیجه‌گیری کرد جذب باکتری به خاکهای آهکی مورد مطالعه تقریباً غیر قابل برگشت بوده است و با اینکه عمل شیکر و سانتریفیوژ برای جداسازی باکتریها از خاک چندین بار تکرار شد اما درصد زیادی همچنان جذب خاک باقی مانده و قابل شمارش نبوده‌اند. لذا روش‌های دیگر مانند نشاندار کردن باکتری با رادیویزوتوپ‌ها برای شمارش باکتری نگهداشته شده در ستون خاک توصیه می‌شود.

نتایج حاصل از محاسبات تعادل جرم برای مقادیر برآورد شده به‌وسیله مدل جذب-واجذب سینتیک در جدول (۶) نشان می‌دهد هرچند این مدل برآوردی خیلی خوب از تعداد باکتری در زهاب خروجی داشته است اما تخمین این مدل از نگهداشت باکتری در نیمرخ خاک کمتر از مقدار اندازه‌گیری شده بوده است.

نگهداشت و جذب باکتری در خاک غیراشباع می‌تواند در نتیجه مکانیزم‌های مختلفی مانند جذب سطح ذرات خاک، پالایش فیزیکی و جذب مرز مشترک آب-هوا باشد. پالایش فیزیکی زمانی اتفاق می‌افتد که نسبت قطر کلئید به میانگین قطر ذرات خاک بیش از ۰/۵ درصد باشد (۲). وقتی که این نسبت به بیش از ۸ درصد برسد مقدار پالایش بسیار چشمگیر خواهد بود (۱۸). این مقادیر برای محیط‌های متخلخل همگن فاقد ساختمان ارائه شده‌اند. منافذ درشت ایجاد شده در خاک دارای ساختمان امکان انتقال باکتری را با حداقل پالایش فیزیکی فراهم می‌کند. بنابراین اثر ساختمان خاک و منافذ درشت بر پالایش فیزیکی هنوز شناخته نشده است. لذا تعیین نقش این فرآیند در نگهداشت باکتری در خاک مورد مطالعه امکان‌پذیر نمی‌باشد.

با استفاده از مدل جذب-واجذب سینتیک HYDRUS-1D بطور همزمان منحنی رخنه و نگهداشت باکتری در نیمرخ برآورد شدند. مقایسه مقادیر اندازه‌گیری شده باکتری در نیمرخ خاک و برآورد شده با مدل نشان می‌دهد که مدل جذب-واجذب سینتیک به جز در ستون خاک B در بقیه خاک‌ها برآوردی کمتر از مقدار اندازه‌گیری شده داشته است.

تعادل جرم^۱ در آزمایش انتقال باکتری

همانطوری که در جدول (۶) مشاهده می‌شود مقدار باکتری

جدول ۶- تعادل جرم باکتری اندازه‌گیری شده و برآورد شده در زهاب خروجی و نگهداشته شده در نیمرخ خاک

ستون خاک	اندازه‌گیری شده		برآورد شده با مدل	
	زهاب خروجی	نیمرخ خاک	زهاب خروجی	نیمرخ خاک
A	۰/۰۲۹۵	۰/۷۰۰	۰/۰۲۹۵	۰/۴۶۵
B	۰/۰۳۴	۰/۷۶۲	۰/۰۳۸	۰/۶۳۵
C	۰/۰۳۰	۰/۷۳۷	۰/۰۲۹۹	۰/۵۲۶
D	۰/۰۲۰	۰/۷۷۰	۰/۰۲۲۲	۰/۴۸۶

نتیجه‌گیری و پیشنهادات

مدلسازی جذب و انتقال باکتری در خاک طبیعی به درک بهتر مکانیزم‌های حاکم بر انتقال و همچنین تخمین خطر آلودگی منابع آب کمک می‌نماید. از جمله مزایای دیگر مطالعه کمی انتقال باکتری این است که نتایج حاصل از مدل‌های انتقال باکتری در شرایط مشابه قابل استفاده بوده و همچنین اطلاعات بدست آمده به مدیریت بهتر کاربری اراضی و ارزیابی خطر آلودگی منابع آب کمک می‌نماید.

هدف از این پژوهش مطالعه کمی انتقال و نگهداشت باکتری سودوموناس فلورسنس در خاک آهکی دست‌نخورده تحت شرایط غیراشباع بود. لذا آزمایش‌های انتقال باکتری در شدت جریان‌ها و مکش‌های مختلف تحت شرایط رطوبت غیراشباع پایدار انجام شد.

نتایج نشان داد که نگهداشت باکتری در تمامی ستون‌های خاک بسیار بیشتر از مقدار انتقال یافته بود. مقدار باکتری مشاهده شده در زهاب خروجی از ۲ تا ۳/۴ درصد بود. به عبارت دیگر بیش از ۹۶ درصد باکتری‌ها در ستون خاک نگهداشته شدند که نشان دهنده توان بالای خاک‌های آهکی مورد مطالعه در پالایش باکتری است. توانایی خاک در حذف میکروب‌های بیماری‌زای در فرآیند گندزدایی و پالایش فاضلابها اهمیتی زیاد دارد. عدم توانایی خاک در حذف میکروب خطر آلودگی منابع آب را افزایش می‌دهد. مقدار نرخ حذف باکتری $\log(C_{\max}/C_0 m^{-1})$ در این خاکها بسیار بالا بود. نرخ حذف باکتری در خاک‌ها مورد مطالعه از ۱۰/۱۸ تا ۱۳/۳۴ ($\log m^{-1}$) بود. این ویژگی خاک‌های آهکی مورد مطالعه می‌تواند در مدیریت دفن زباله و فاضلاب‌های آلوده مورد توجه قرار گیرد.

همچنین نتایج نشان داد که با افزایش شدت بارندگی مقدار انتقال باکتری از نیمرخ خاک افزایش می‌یابد. این نتیجه ما را در مدیریت بهتر زمان افزودن فاضلاب یا کود دامی به خاک کمک می‌نماید. زیرا در مناطق با سطح آب زیرزمینی بالا، آبیاری شدید پس از کاربرد فاضلاب امکان انتقال آلاینده را به عمق خاک و آلودگی منابع آب

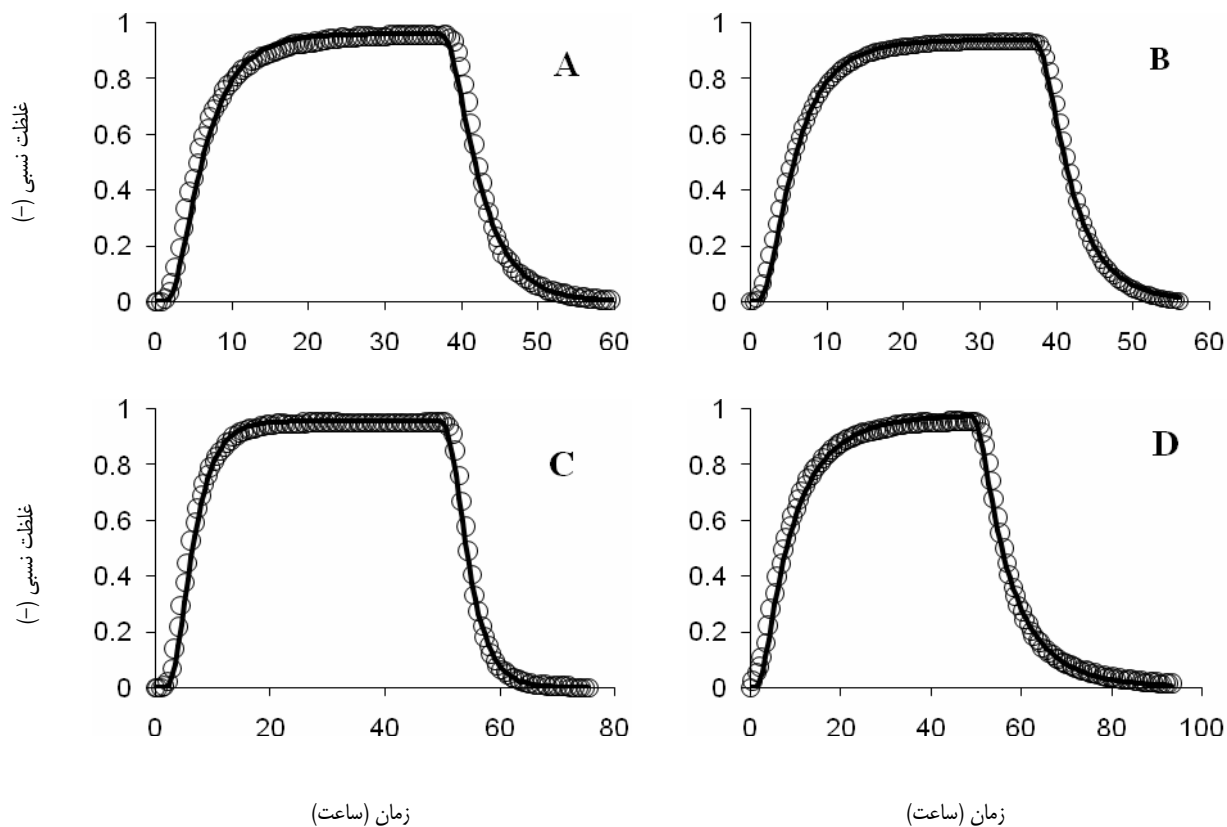
افزایش می‌دهد. لذا می‌توان توصیه نمود پس از افزودن کود دامی یا فاضلاب به اراضی کشاورزی که عمده باکتری‌های آن زنده می‌باشند بلافاصله آبیاری شدید صورت نگیرد.

همچنین نتایج نشان داد که ویژگی‌های هیدرولیکی خاک مانند شدت جریان نقش مهمی در انتقال باکتری در خاک دارند درحالی‌که کانی‌های خاک نقش مهمی در تبادل باکتری بین فاز جامد و مایع (جذب و واجذب) دارند. وجود نوسانات و نقاط اوج و افت بسیار در منحنی رخنه باکتری خاک‌های مورد مطالعه نشان دهنده وجود کانی‌های با انرژی جذب و دفع متفاوت است. مقدار واجذب باکتری در خاکهای آهکی مورد مطالعه بسیار ناچیز بود که می‌تواند نشان دهنده نقش کانی کربنات کلسیم در جذب برگشت‌ناپذیر باکتری باشد.

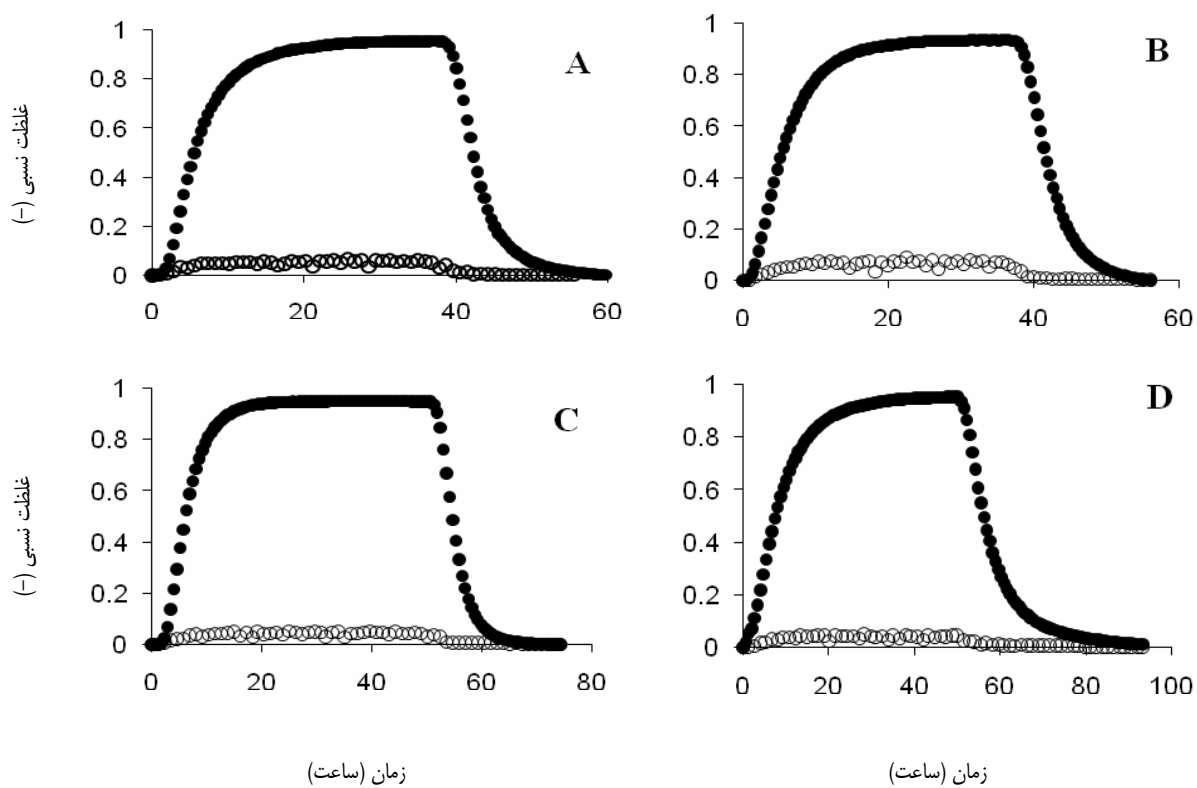
در این پژوهش مدل جذب-واجذب سینتیک برنامه HYDRUS-ID توانست منحنی رخنه باکتری را به خوبی برآورد نماید در حالی‌که برآوردی کمتر از مقدار اندازه‌گیری شده باکتری در نیمرخ خاک داشت. منحنی نگهداشت باکتری در ستون خاک دارای شکل تقریباً نمایی و در لایه‌های پایینی حالت خطی داشت. در حالی‌که منحنی برآورد شده با مدل جذب-واجذب سینتیک کاملاً نمایی بود.

تاکنون مطالعات بسیار اندکی انتقال باکتری در خاک دارای ساختمان را به صورت کمی مطالعه کرده‌اند. هنوز اطلاعات کافی در زمینه مکانیزم‌های پالایش باکتری در خاک طبیعی وجود ندارد. لذا مطالعات بیشتری به منظور درک بهتر مکانیزم‌های پالایش و فاکتورهای شیمیایی و فیزیکی خاک مؤثر بر جذب و انتقال باکتری ضروری است.

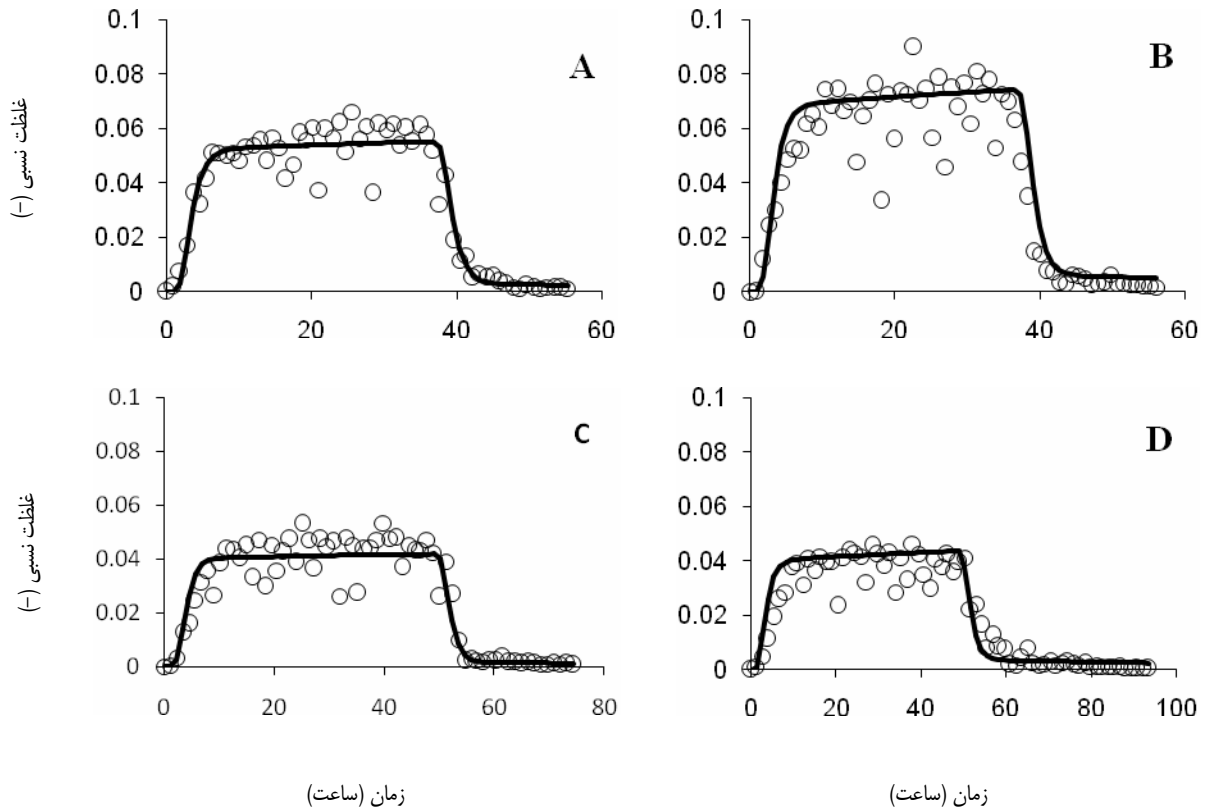
در این پژوهش انتقال باکتری در مکش‌های نزدیک به رطوبت اشباع مطالعه شد. با توجه به نقش قوی مرز مشترک آب-هوا در پالایش باکتری انجام مطالعات بیشتر در ستون‌های خاک دست‌نخورده ناهمگن با اعمال مکش‌های بیشتر پیشنهاد می‌گردد.



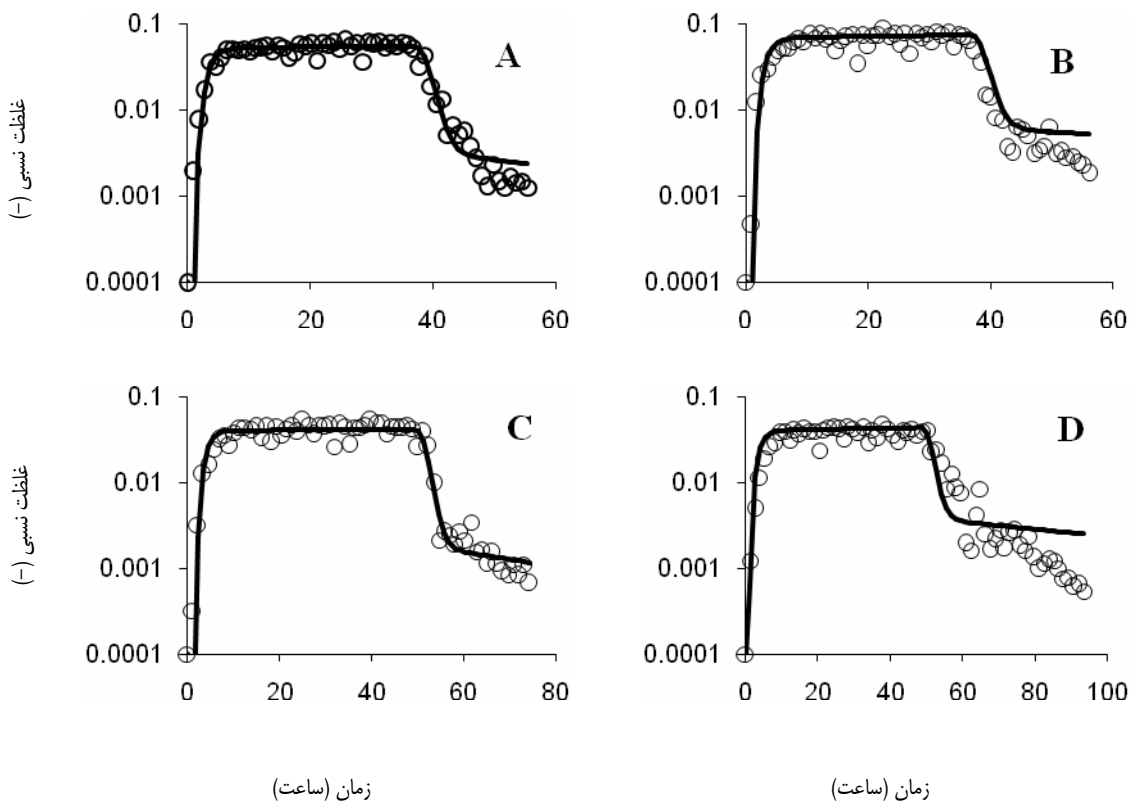
شکل ۲- منحنی رخنه کلراید اندازه گیری شده (دایره) و برازش داده شده با مدل CXTFIT (-)



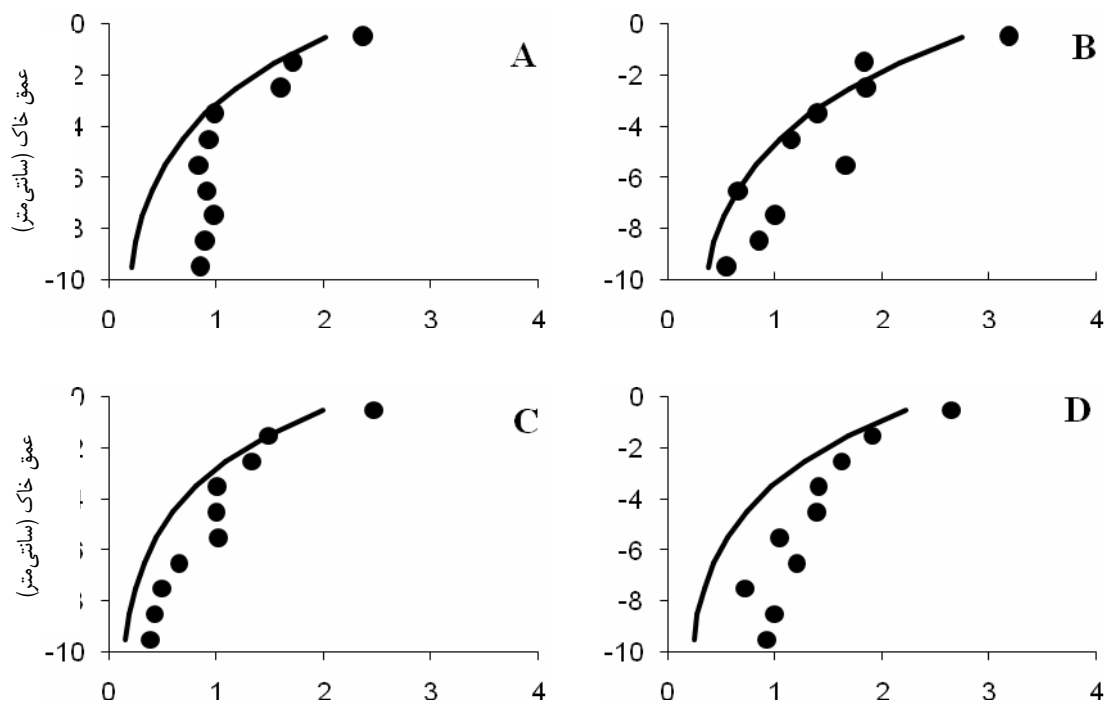
شکل ۳- منحنی رخنه کلراید (دایره توپر) و باکتری اندازه گیری شده (دایره تو خالی) در خاک های مورد مطالعه



شکل ۴- منحنی رخنه باکتری اندازه‌گیری شده (دایره تو خالی) و برآورد شده با مدل جذب-واجذب سینتیک (-)



شکل ۵- منحنی رخنه انتقال باکتری اندازه‌گیری شده (دایره تو خالی) و برآورد شده (-)، در مقیاس لگاریتمی



غلظت نسبی باکتری در گرم خاک

غلظت نسبی باکتری در گرم خاک

شکل ۶- مقدار باکتری اندازه‌گیری شده (نقطه) و برآورد شده (-) در نیمرخ خاک

سپاسگزاری

آقای پرفسور Harry Vereeken که در انجام این پژوهش ما را یاری نمودند تشکر و قدردانی می‌گردد.

این پژوهش در موسسه Agrosphere (ICG-4) مرکز تحقیقات یولیش آلمان انجام شد. بدین‌وسیله از مدیر محترم این موسسه جناب

منابع

- Allison L. E. and Moodie C. D. 1965. Carbonates. In: Black, A. (Ed.), Methods of Soil Analysis: Part 2. Am. Soc. Agron, Madison, pp. 1379-1396.
- Bradford S. A., Bettahar M., Šimůnek J. and van Genuchten M. Th. 2004. Straining and attachment of colloids in physically heterogeneous porous media. Vadose Zone J., 3: 384-394.
- Chapman H. D. 1965. Cation exchange capacity. In: Black, C.A. (Ed.), Methods of Soil Analysis: Part 2. Monogr. Ser., vol. 9. American Society of Agronomy, Madison, WI, pp. 891-900.
- Chu Y., Jin Y. and Yates M. V. 2000. Virus transport through saturated sand columns as affected by different buffer solutions. J Environ Qual., 29: 1103-10.
- FAO/UNDP. 1972. Calcareous soils. Report of the regional seminar on reclamation and management of calcareous soils. 27 Nov.-2 Dec. Cairo, Egypt.
- Foppen J. W. A. and Schijven J. F. 2005. Transport of E. coli in columns of geochemically heterogeneous sediment. Water Resources, 39: 3082-3088.
- Foppen J. W. A. and J. F. Schijven. 2006. Evaluation of data from the literature on the transport and survival of Escherichia coli and thermotolerant coliforms in aquifers under saturated conditions. Water Research, 40: 401-426.
- Frazier C. S., Graham R. C., Shouse P. J., Yates M. V. and Anderson M. A. 2002. A field study of water flow and virus transport in weathered granitic bedrock. Vadose Zone J., 1: 113-124.
- Gargiulo G., Bradford S. A., Simunek J., Ustohal P., Vereecken H. and Klumpp E. 2008. Bacteria Transport and Deposition under Unsaturated Flow Conditions: The Role of Water Content and Bacteria Surface Hydrophobicity. Vadose Zone J., 7(2): 406-419.
- Gerba C. P. and Smith J. E. 2005. Sources of pathogenic microorganisms and their fate during land application of

- wastes. *Journal of Environmental Quality*, 34: 42–48.
- 11- Gould W. D., Hagedorn C., Bradinelli T. R. and Zablotticz R. M. 1985. New Selective Media for Enumeration and Recovery of Fluorescent Pseudomonads from Various Habitats. *Applied and Environmental Microbiology*, 49(1): 28-32.
 - 12- Graun G. F. 1991. Causes of waterborne outbreaks in the United States. *Water Science Technology*, 24: 17–20.
 - 13- Guber A. K., Shelton D. R. and Ya. A. Pachepsky. 2005. Transport and retention of manure-borne coliforms in undisturbed soil columns. *Vadose Zone J.*, 4: 828–837.
 - 14- Ho G. E., R. A. Gibbs, K. Mathew and W. F. Parker. 1992. Groundwater Recharge of Sewage Effluent through amended sand. *Water Res.*, 26 (3): 285-293.
 - 15- Jiang G., Mike Noonan J., Graeme Buchan D. and Smith N. 2007. Transport of *Escherichia coli* through variably saturated sand columns and modeling approaches. *Journal of Contaminant Hydrology*, Dio: 10.1016/j. j. conhyd.2007.01.010.
 - 16- Klauth P., Wilhelm R., Klumpp E., Poschen L. and Groeneweg J. 2004. Enumeration of soil bacteria with the green fluorescent nucleic acid dye Sytox green in the presence of soil particles. *Journal of Microbiological Methods*, 59: 189– 198.
 - 17- Marquardt D. W. 1963. An algorithm for least-squares estimation of nonlinear parameters. *SIAM J. Appl. Math.*, 11: 431–441.
 - 18- McDowell-Boyer L. M., Hunt J. R. and Sitar N. 1986. Particle transport through porous media. *Water Resour. Res.*, 22: 1901–1921.
 - 19- McLeod M., Aislabie J., Ryburn J. and McGill A. 2004. Microbial and chemical tracer movement through granular, ultic, and recent soils. *N.Z. J. Agric. Res.*, 47: 557–563.
 - 20- McLeod M., Aislabie J., Ryburn J., McGill A. and Taylor M. 2003. Microbial and chemical tracer movement through two Southland soils, New Zealand. *Aust. J. Soil Res.*, 41: 1163–1169.
 - 21- Mosaddeghi M. R., A. A. Mahboubi, S. Zandsalimi and A. Unc. 2009. Influence of organic waste type and soil structure on the bacterial filtration rates in unsaturated intact soil columns. *Journal of Environmental Management*, 90: 730-739.
 - 22- Nelson, R. E. 1982. Carbonate and gypsum. In: Page, A.L. (Ed.), *Methods of Soil Analysis: Part American Society of Agronomy*, Madison, WI, pp. 181–199.
 - 23- Rockhold M. L., Yarwood R. R., Niemet M. R., Bottomley P. J. and Selker J. S. 2002. Consideration for modeling bacteria-induced changes in hydraulic properties of variably saturated porous media. *Advances in Water Reseach*, 25: 477-496.
 - 24- Schlegel H. G. 1992. *Allgemeine Mikrobiologie*. Stuttgart-New York, Georg Thieme Verlag.
 - 25- Shelton D. R., Pachepsky Y. A., Sadeghi A. M., Stout W. L., Karns J. S. and Gburek W. J. 2003. Release rates of manure-borne coliform bacteria from data on leaching through stony soil. *Vadose Zone J.*, 2: 34-39.
 - 26- Schijven J. F., Hoogenboezem W., Hassanzadeh S. M. and Peters J. H. 1999. Modeling removal of bacteriophages MS2 and PRD1 by dune recharge at Castricum, The Netherlands. *Water Resour. Res.*, 35: 1101–1111.
 - 27- Schijven J. and Šimůnek J. 2002. Kinetic modeling of virus transport at field scale. *Journal of Contaminat Hydrology*, 55 (1–2): 113–135.
 - 28- Scholl, M. A. and R. W. Harvey. 1992. Laboratory investigations on the role of sediment surface and groundwater chemistry in transport of bacteria through a contaminated sandy aquifer. *Environment Science Technology*, 26 (7): 1410–1417.
 - 29- Simunek J., Sejna M., Saito H., Sakai M. and van Genuchten M. Th. 2008. The HYDRUS-1D software package for simulating the one-dimensional movement of water, heat, and multiple solutes in variably-saturated media, Version 4.0x, *Hydrus Series 3*, Department of Environmental Sciences, University of California Riverside, Riverside, CA, USA.
 - 30- Smith M. S., Thomas G. W., White R. E. and Ritonga D. 1985. Transport of *Escherichia coli* through intact and disturbed soil columns. *J. Environ. Qual.*, 14: 87–91.
 - 31- Somasundaran, P. and G. E. Agar. 1967. The zero point of charge of calcite. *J. Colloid Interface Sci.*, 24: 433–440.
 - 32- Tawfik A., Klapwijk B., Buuren J. V., Gohary F. E. and Lettinga G. 2004. Physico-chemical factors affecting the *E. coli* removal in a rotating biological contactor (RBC) treating UASB effluent. *Water Research*, 38: 1081-1088.
 - 33- Toride N., Leij F. J. and van Genuchten M. Th. 1999. The CXTFIT Code for Estimating Transport Parameters from Laboratory or Field Tracer Experiments Version 2.1. Research Report, vol. 137. U.S. Salinity Laboratory, Riverside, CA.
 - 34- Tufenkji N. 2007. Modeling microbial transport in porous media: Traditional approaches and recent developments. *Advances in Water Resources*, 30: 1455–1469.
 - 35- Unc A. and Goss M. J. 2003. Movement of faecal bacteria through the vadose zone. *Water, Air, and Soil Pollution*, 149: 327-337.
 - 36- USDA Natural Resources Conservation Service. 1999. Soil taxonomy. A basic system of soil classification for making and interpreting soil surveys. 2nd. Ed. USDA. S.C.S. Agric. U. SW. Gov. Print office, Washington, DC.

Bacteria Transport and Deposition in Calcareous Soils Under Unsaturated Flow Conditions

A. Farrokhian Firouzi¹- M. Homaei^{2*}- E. Klumpp³- R. Kasteel⁴ - M. Sattari⁵

Abstract

Microbial contaminants transport to groundwater is a serious environmental problem that can result in large outbreaks of waterborne diseases. Some of bacteria can travel from vadose zone and cause contamination of groundwater resources. Thus, an accurate prediction of transport and fate of pathogenic microorganisms in unsaturated soil is needed to protect groundwater resources. The main objectives of this research were quantitative study of bacterial transport and deposition under unsaturated conditions in calcareous soils. A series of column leaching experiment with well-controlled suction and flow rate was conducted. Breakthrough curves (BTCs) of *Pseudomonas fluorescens* and Cl were measured. After the leaching experiment the bacteria was measured in difference layers of the soil columns. The HYDRUS-1D kinetic attachment-detachment model (AD) was used to evaluate the transport and deposition of bacteria in soil columns. The breakthrough curves in soils were described well by attachment-detachment model. Whereas the model fit underestimate the amount of bacteria retention in the soil columns. The detachment rate was less than 0.001 of the attachment rate, indicating irreversible attachment of bacteria. Most of the cells were retained close to the soil column inlet, and the rate of deposition decreased with depth. Microbial reduction rate for the soil was 10.18-13.34 log m⁻¹. High reduction rate of bacteria was attributed to soil calcium carbonate that has favorable attachment site for bacteria.

Keywords: Bacteria transport, *Pseudomonas fluorescens*, Calcareous soil, Bacteria Attachment, Unsaturated flow, Bacteria Detachment

1,2- PhD student and Prof. of soil sci., College of Agric., Tarbiat Modares Univ., Tehran, Iran
(*-Corresponding author, Email: Mhomaei@modares.ac.ir)

3,4- Prof. of Agrosphere, ICG-4, Forschungszentrum Jülich GmbH, Leo-Brandt Str., 52425, Jülich, Germany

5- Assoc. of Prof. Bacteriology, College of Medical Sci., Tarbiat Modares Univ., Tehran, Iran