

AKADEMIA TECHNICZNO-ROLNICZA
IM. JANA I JĘDRZEJA ŚNIADECKICH
W BYDGOSZCZY

Rozprawy
nr 85

ZBIGNIEW PALUSZAK

BADANIA NAD ZACHOWANIEM
I PRZEŻYWALNOŚCIĄ WYBRANYCH
DROBNOUSTROJÓW FEKALNYCH
W GLEBIE NAWOŻONEJ GNOJOWICĄ

1.4

uszek, Zbigniew.
Badania nad zachowaniem i

8.

BYDGOSZCZ - 1998

AKADEMIA TECHNICZNO-ROLNICZA
IM. JANA I JĘDRZEJA ŚNIADECKICH
W BYDGOSZCZY

Rozprawy
nr 85

ZBIGNIEW PALUSZAK

BADANIA NAD ZACHOWANIEM
I PRZEŻYWALNOŚCIĄ WYBRANYCH
DROBNOUSTROJÓW FEKALNYCH
W GLEBIE NAWOŻONEJ GNOJOWICĄ

Biblioteka Główna ATR w Bydgoszczy



000000052835

BYDGOSZCZ - 1998

PRZEWODNICZĄCY KOMITETU REDAKCYJNEGO
prof. dr hab. Ojcumiła Stefaniak

OPINIODAWCY
prof. dr hab. Zbigniew Cieśliński
prof. dr hab. Adam Latała

REDAKTOR NAUKOWY
prof. dr hab. Julian Piotr Kluczek

OPRACOWANIE REDAKCYJNE I TECHNICZNE
mgr Elżbieta Rudzińska, Zbigniew Gackowski



Wydano za zgodą Rektora
Akademii Techniczno-Rolniczej
w Bydgoszczy

ISSN 0209-0597

WYDAWNICTWA UCZELNIANE
AKADEMII TECHNICZNO-ROLNICZEJ W BYDGOSZCZY

Wyd. I. Nakład 150 egz. Ark. aut. 6,00. Ark. druk. 5,75. Papier druk. kl. III.

Oddano do druku i druk ukończono w kwietniu 1998 r.

Uczelniany Zakład Małej Poligrafii ATR Bydgoszcz, ul. Ks. A. Kordeckiego 20
Zamówienie nr 3/98

Spis treści

I. WSTĘP I PRZEGLĄD PIŚMIENICTWA	5
II. MATERIAŁ I METODY	9
1. Charakterystyka poletek doświadczalnych	9
1.1. Warunki klimatyczne w okresie badań	9
2. Uzyskiwanie i namnażanie zawiesiny bakteryjnej	13
2.1. Izolacja i identyfikacja badanych bakterii z gnojowicy	13
2.2. Namnażanie czystych kultur na bulionie wzbogaconym	13
3. Pobieranie prób gleby do badań	14
4. Badanie fizykochemiczne gleby	14
5. Badanie mikrobiologiczne gleby	14
5.1. Oznaczenie ilościowe E. coli w glebie	15
5.1.1. Hodowla na podłożach płynnych i stałych	15
5.1.2. Wykrywanie obecności dekarboksylazy kwasu glutaminowego ...	15
5.1.3. Sprawdzenie wyizolowanych E. coli na fekalne pochodzenie	15
5.2. Oznaczenie ilościowe paciorkowców grupy-D w glebie	16
5.2.1. Hodowla na podłożach płynnych i stałych	16
5.3. Oznaczanie ilościowe pałeczek z rodzaju Salmonella w glebie	16
5.3.1. Namnażanie na podłożach płynnych	16
5.3.2. Hodowla na podłożach stałych	16
6. Obliczenia statystyczne	16
III. WYNIKI BADAŃ WŁASNYCH	18
1. Własności fizykochemiczne badanych gleb	18
1.1. Gleba płowa	18
1.2. Gleba rdzawa	21
1.3. Czarnoziem leśno-łąkowy	22
2. Zachowanie drobnoustrojów fekalnych w glebie płowej	23
2.1. Infiltracja bakterii fekalnych w profilu gleby płowej	23
2.2. Przeżywalność bakterii fekalnych w glebie płowej	31
3. Zachowanie się drobnoustrojów fekalnych w glebie rdzawej	36
3.1. Infiltracja bakterii fekalnych w profilu gleby rdzawej	36
3.2. Przeżywalność bakterii fekalnych w profilu glebowym	43
4. Zachowanie bakterii fekalnych w czarnoziemie leśno-łąkowym	49
4.1. Infiltracja bakterii fekalnych w czarnoziemie leśno-łąkowym	49
4.2. Przeżywalność bakterii fekalnych w czarnoziemie leśno-łąkowym	58
5. Wpływ zróżnicowanych środowisk glebowych na przeżywalność drobnoustrojów fekalnych	63

IV. DYSKUSJA	66
1. Uwagi do badań mikrobiologicznych	66
2. Przeżywalność drobnoustrojów fekalnych w badanych glebach	68
3. Infiltracja badanych drobnoustrojów fekalnych w profile glebowe	73
V. WNIOSKI	77
Literatura	79
Streszczenia	87

I. WSTĘP I PRZEGLĄD PIŚMIENICTWA

Intensyfikacja produkcji zwierzęcej doprowadziła w konsekwencji do nagromadzenia dużej ilości ścieków odzwierzęcych. Stanowią one płynną mieszaninę, głównie kału, moczu i wody, o zróżnicowanym składzie uzależnionym od gatunku zwierząt, wieku, sposobu użytkowania, wydajności i warunków chowu [48, 109].

Racjonalne wykorzystanie ścieków odzwierzęcych stanowi jeden z ważniejszych problemów współczesnej ekologii. Emisja amoniaku, odory, kwaśne deszcze, obciążenie wód gruntowych związkami azotowymi i fosforem, zmiana składu mineralnego gleby, niekorzystne oddziaływanie na jej strukturę to tylko niektóre z negatywnych skutków nadmiernego stosowania gnojowicy [100, 107].

Zwłaszcza w krajach o intensywnej hodowli i niewielkim areale nadmierna ilość gnojowicy wykorzystywanej rolniczo stanowi zagrożenie dla środowiska naturalnego. Prowadzi to do biologicznego skażenia gleb, wód gruntowych, a także do pogorszenia stanu fitosanitarnego uprawianych roślin [48, 49, 50, 56, 77, 78, 112].

Składowanie i wykorzystanie gnojowicy obok trudności technicznych stanowi ważny i niedostatecznie rozpoznany problem natury higienicznej [9, 26, 52, 72, 100, 108]. Gromadzona w dużych ilościach na obszarach o intensywnej hodowli nie podlega samoistnie procesom termicznym (samozagrzaniu), w związku z czym drobnoustroje w niej zawarte zachowują żywotność nawet do kilku miesięcy [106]. Gnojowica może zawierać w 1 ml do 10^9 - 10^{10} bakterii tlenowych lub względnie beztlenowych [31]. Regularnie stwierdza się w niej drobnoustroje z rodziny Enterobacteriaceae i paciorkowce kałowe. Dominują pałeczki grupy coli występujące średnio w ilości 10^5 - 10^6 /ml [110]. Bakterie chorobotwórcze przedostają się do niej z wydzielinami lub wydaliniami pochodzącymi od zwierząt chorych i nosicieli [107]. Stanowią one niewielki odsetek całej populacji bakteryjnej gnojowicy. W zależności od stanu zdrowotnego stada i pochodzenia izoluje się w niej drobnoustroje z rodzaju Salmonella, Leptospira, Treponema, Erysipelothrix, Mycobacterium, Brucella, Bacillus, Riketsje, Chlamydia i inne [10, 41, 65, 70, 73]. Spośród drobnoustrojów patogennych najczęściej występują w gnojowicy pałeczki z rodzaju Salmonella [17, 85]. W przypadku obecności w stadzie zwierząt chorych na salmonelozę, bakterie te występują w gnojowicy zawsze, choć zwykle w niewielkich ilościach. W zależności od temperatury, zawartości suchej masy, pH gnojowicy mogą przeżywać od kilkunastu do 270 dni [8]. Bez wątplenia drobnoustroje te odgrywają rolę szczególną i mogą być traktowane jako modelowe dla innych bakterii patogennych. W gnojowicy bydłowej izoluje się najczęściej Salmonella dublin, rzadziej Salmonella typhimurium [70, 116].

Ponadto zagrożenie epidemiologiczne i epizootyczne stanowią zawarte w gnojowicy wirusy, grzyby i jaja pasożytów. Szczególne znaczenie dla ludzi i zwierząt mają występujące w gnojowicy wirusy pryszczycy, pomoru, choroby pęcherzykowej świń, choroby Aujeszky, choroby cieszyńskiej i inne [61, 62, 100]. Do najbardziej odpornych na czynniki środowiskowe należą parwo- i enterovirusy. W zależności od temperatury zjadliwość ich waha się od kilkunastu godzin do około 300 dni [67].

Ważnym problemem sanitarno-higienicznym jest inwazyjne zanieczyszczenie środowiska przez gnojowicę. Jaja *Moniezia*, *Trichuris*, *Strongyloides*, *Dictyocaulus*, *Ostertagia*, *Cooperia*, oocysty *Eimeria* to tylko niektóre spośród licznie wykrywanych w gnojowicy [7]. Zwłaszcza gnojowica świńska, często skażona jajami *Ascaris*, odgrywa istotną rolę w rozprzestrzenianiu inwazji nicieni [69]. Epidemiologiczne zagrożenie gnojowicą skażoną patogeną florą bakteryjną, grzybami, wirusami i jajami pasożytów nabiera szczególnego znaczenia, gdy nie poddana żadnym zabiegom higienizacyjnym, w nadmiernych ilościach wylewana jest na użytki rolnicze [46, 47, 92, 111]. Wskutek wykształcenia specyficznej agrobiocenozy dochodzić może do zakłóceń zdolności samoczyszczenia biologicznego gleby [51, 74].

Drobnoustroje fekalne wylane wraz z gnojowicą na użytki rolnicze podlegają wpływowi wielu czynników. Ze względu na wymogi pokarmowe i termiczne nie znajdują w glebie warunków umożliwiających im stałe bytowanie. Wprawdzie wskutek dowozu substancji odżywczych mogą się w niej początkowo namnażać [21, 84, 101], jednak po upływie pewnego czasu jako obce dla biotopu glebowego ulegają procesowi eliminacji [2, 68, 88, 113].

Spadek liczebności bakterii fekalnych w glebie polega z jednej strony na ich inaktywacji i obumieraniu, z drugiej zaś podlegają one stałej dyspersji i filtracji [3]. Proces samoczyszczenia gleby z obcych dla środowiska mikroorganizmów przebiega w różnym tempie. Czas przeżycia bakterii wahać się może od kilku dni [19] do nawet kilku lat [28]. Dużą rolę odgrywa tu biologiczna aktywność gleby [83], zwłaszcza antagonistyczne oddziaływanie flory glebowej poprzez wytwarzanie toksycznych produktów przemiany materii, enzymów proteolitycznych i antybiotyków. Konkurencja o substancje pokarmowe oraz pochłanianie ich przez pierwotniaki w znacznym stopniu ogranicza obecność bakterii fekalnych w glebie [24]. Należy również podkreślić znaczący wpływ czynników atmosferycznych, między innymi temperatury, opadów atmosferycznych i promieniowania słonecznego [43, 116].

Na kinetykę obumierania drobnoustrojów fekalnych może wpływać rodzaj podłoża glebowego [11, 97]. Pośród właściwości gleb oddziałujących na zachowanie bakterii allochtonicznych na uwagę zasługuje zawartość substancji organicznej, pH, pojemność wodna gleby i inne. Szczególnie w górnej warstwie gleby negatywnie wpływa na nie wysoka temperatura, niska wilgotność, kwaśne pH, skąpa ilość substancji odżywczych i oddziaływanie uV słońca [43, 44, 104]. Ogólnie należy stwierdzić, że lepsze warunki życiowe dla bakterii fekalnych w glebie występują w okresie łagodnych zim niż latem [28, 39, 40]. Z kolei na przemian występujące okresy odwilży i mrozów wywierają na nie szkodliwy wpływ [43].

Nie bez znaczenia jest sposób nawożenia gnojowicą. W trakcie jej rozlewania notuje się szybszy ubytek bakterii niż w przypadku wprowadzania w powierzchniową warstwę profilu gleby [12, 91]. Ważne są także cechy i właściwości mikroorganizmów, zwłaszcza ich odporność na czynniki środowiskowe [28, 55].

Przemieszczanie drobnoustrojów fekalnych w kierunku wód gruntowych odbywać się może wertykalnie (poprzez wsiąkanie) lub następować poprzez spływ powierzchniowy (horyzontalnie). W procesie formowania wód gruntowych następuje transport wód opadowych z powierzchni w głąb profilu glebowego. Dochodzi wówczas do jej kontaktu z cząstkami gleby, powietrzem glebowym i mikroorganizmami [20]. Obficie nawożona gnojowicą gleba wykorzystywana rolniczo stanowi wówczas potencjalne ryzyko skażenia wód gruntowych bakteriami fekalnymi. Jakkolwiek ryzyko skażenia wód

gruntowych na skutek przemieszczania się drobnoustrojów w profilu glebowym trudno jednoznacznie określić, to jednak najczęściej przyczyną obserwowanych epidemii były zawarte w wodzie pitnej drobnoustroje z rodzaju *Salmonella*, *Shigella*, *Vibrio*, *Yersinia*, *Camphylobacter*, *Leptospira* i inne [14, 17, 34, 95]. Było to najprawdopodobniej wynikiem fekalnego skażenia wód gruntowych. Należy podkreślić, że na efektywność przemieszczania się bakterii wpływa struktura gleby [93, 114]. W trakcie przemieszczania podlegają one procesom filtracji - zwłaszcza w powierzchniowej warstwie gleby, w przypadku gdy zawiera ona duży odsetek cząstek małych [13, 89, 91]. Ponadto ulegają one adsorpcji na cząstkach gleby, przy czym wiązanie ich zależy od zawartości ilów, materii organicznej, pojemności kationowej, pH i wielu innych czynników [25, 57, 117]. Należy zauważyć, że drobnoustroje pod wpływem obfitych opadów deszczu mogą ulegać remobilizacji i powodować skażenie wody gruntowej nawet po kilku tygodniach [28].

Pełne wyjaśnienie uwarunkowań oddziaływania środowiska glebowego na wprowadzone z gnojowicą drobnoustroje fekalne natrafić może na duże trudności ze względu na interdyscyplinarny charakter zjawisk z pogranicza chemii, hydrologii, enzymologii i mikrobiologii. Ponieważ problem skażenia gleby zwłaszcza drobnoustrojami patogennymi w następstwie stosowania ścieków odzwierzęcych nie jest w pełni rozpoznany, podjęto prace mającą na celu określenie zakresu i stopnia adaptacji wybranych bakterii fekalnych do różnych środowisk glebowych. W odróżnieniu od dotychczas przeprowadzonych w kraju badań dokonano kompleksowej oceny fizykochemicznych własności gleby określając ich wpływ na zachowanie wybranych drobnoustrojów fekalnych wylewanych z gnojowicą. Zastosowane nowoczesne metody ilościowego oznaczania liczby bakterii fekalnych w glebie, technika horyzontalnego pobierania prób do badań, jednocześnie wprowadzanie różnej koncentracji badanych drobnoustrojów do gleby, to tylko niektóre elementy pozwalające dokładniej określić zagrożenie epizootologiczne i epidemiologiczne środowiska w następstwie stosowania ścieków odzwierzęcych. Badania miały zwrócić uwagę na potrzebę określenia kryteriów oceny bakteriologicznej gnojowicy pozwalających na bezpieczne jej stosowanie w rolnictwie. Dotyczy to zarówno doboru określonych bakterii charakteryzujących stan sanitarny gnojowicy, jak również określenia na ich podstawie parametrów, którym odpowiadałaby gnojowica nie budząca zastrzeżeń pod względem sanitarno-higienicznym.

Według założonej hipotezy badawczej zachowanie bakterii allochtonicznych w glebie nawożonej gnojowicą uzależnione jest od szeroko pojętych czynników glebowo-klimatycznych, a także od rodzaju i liczby bakterii kałowych w gnojowicy. W obserwacjach własnych uwzględniono przede wszystkim wybrane drobnoustroje z rodziny *Enterobacteriaceae* i rodzaju *Streptococcus*. *E. coli* i paciorkowce grupy-D spełniają większość wymagań stawianych drobnoustrojom wskaźnikowym i wykorzystywane są powszechnie do określania zanieczyszczeń pochodzenia kałowego [65, 98]. Ponadto, ze względu na szczególną rolę i częstotliwość występowania w gnojowicy, przyjęto pałeczki z rodzaju *Salmonella* jako drobnoustroj modelowy dla mikroorganizmów patogennych [105]. Założenia badań opierały się na szczególnej wartości, jaką posiadają doświadczenia polowe, w których zachowuje się naturalne warunki środowiskowe. Szczególny nacisk położono na obserwację zachowania się drobnoustrojów w różnych glebach w odmiennych warunkach pogodowych. Badania skupiały się na strefie nienasyconej gleby znajdującej się bezpośrednio pod wpływem użytkowania rolniczego.

W pracy przedstawiono wyniki badań polowych, których celem było:

- określenie przeżywalności drobnoustrojów *E. coli*, paciorkowców grupy-D i pałeczek *Salmonella* na różnej głębokości w 3 zróżnicowanych glebach typowych dla regionu Kujaw,
- ocena tempa i zakresu przemieszczania się bakterii fekalnych w glebie,
- określenie wpływu wielkości populacji bakterii fekalnych na ich zachowanie się w glebie,
- ocena oddziaływania warunków glebowych i klimatycznych na bakterie,
- określenie ryzyka skażenia gleby w efekcie rolniczego wykorzystania gnojowicy,
- wykazanie konieczności modyfikacji obowiązujących przepisów dotyczących stosowania ścieków odzwierzęcych w celu ograniczenia rozprzestrzeniania drobnoustrojów patogennych w środowisku.

Podjęte badania miały dostarczyć nowych danych dotyczących spornych kwestii związanych z oceną ryzyka sanitarno-epidemiologicznego wynikającego z nawożenia gnojowicą użytków rolniczych w aspekcie ochrony środowiska.

II. MATERIAŁ I METODY

Badania skażenia gleby pod wpływem stosowania gnojowicy bydłowej przeprowadzono w latach 1991-1993. Obiekty badawcze zlokalizowano na typowych dla regionu bydgoskiego 3 zróżnicowanych glebach: w obrębie czarnoziem leśno-łąkowego (miejscowość Lagiewniki), na glebie płowej oraz rdzawej (w okolicach miejscowości Szewno).*

Schemat przebiegu doświadczenia przedstawiał się następująco:

- | | |
|--|--|
| 1. 1991 r. okres zimowy (Z) | czarnoziem leśno-łąkowy |
| 2. 1992 r. okres lata suchego (L ₁) | czarnoziem leśno-łąkowy
gleba płowa
gleba rdzawa |
| 3. 1993 r. okres lata wilgotnego (L ₂) | czarnoziem leśno-łąkowy
gleba płowa
gleba rdzawa |

1. Charakterystyka poletek doświadczalnych

W obrębie badanych gleb wytyczono poletka doświadczalne (D) i kontrolne (K) o powierzchni 24 m², pomiędzy którymi wykopano odkrywki o wymiarach 6 x 2,5 m i głębokości 160 cm. Umożliwiały one pobieranie horyzontalne prób do badań.

W celu dokładnej obserwacji przemieszczania się drobnoustrojów fekalnych w głąb gleby, a także wykazania różnicy w ich zachowaniu się w glebie w zależności od koncentracji - na poletko K i D wylewano gnojowicę o różnej zawartości drobnoustrojów (tab.1). Poletko K nawożono 72 litrami gnojowicy bydłowej. Gnojowica wylewana w tej samej objętości na poletko D zawierała dodatkowo po 1 litrze bulionowej zawiesiny *E. coli*, paciorkowców grupy-D (10^8 - 10^9 bakterii w 1 ml) i pałeczek *Salmonella senftenberg* W₇₇₅ (10^6 - 10^7 bakterii w 1 ml).

1.1. Warunki klimatyczne w okresie badań

Warunki klimatyczne panujące w rejonie prowadzonych badań w poszczególnych okresach były bardzo zróżnicowane. Przebieg warunków meteorologicznych szczegółowo ilustruje tabela 2.

Zima charakteryzowała się dość wysoką jak na ten okres temperaturą powietrza. Jedyne średnia III dekady stycznia wynosiła -3,3°C, natomiast w pozostałych okresach występowały temperatury dodatnie.

*Badania zrealizowano w Katedrze Higieny Zwierząt ATR w Bydgoszczy przy współpracy z Institut für Tierhygiene und Tiermedizin Universität Hohenheim w Stuttgarcie w ramach programu badawczego X085.42

Tabela 1. Liczba badanych bakterii w 1 ml gnojowicy wylewanej na poletka kontrolne (K) i doświadczalne (D)
 Table 1. Number of investigated bacteria in 1ml of slurry spread into control (C) and experimental (E) fields

Okres badań Period	Rodzaj gleby Type of soil	(K) - Gnojowica surowa (C) - Crude slurry			(D) - Gnojowica z zawieszoną bakterii (E)- Slurry with bacteria suspension			Krotność namnożenia Multiplication rate		s.m. Dry matter
		E. coli	Paciorkowce grupy-D Group D streptococci	Salmonella spp.	E. coli	Paciorkowce grupy-D Group D streptococci	Salmonella spp.	E. coli	Paciorkowce grupy-D Group D streptococci	
Zima Winter	Czarnoziem Chernozem	$3,5 \times 10^4$	$4,5 \times 10^4$	-	$4,7 \times 10^7$	$7,0 \times 10^6$	$2,5 \times 10^4$	1343	1555	3,8
	Czarnoziem Chernozem	$1,1 \times 10^3$	$1,5 \times 10^4$	-	$7,0 \times 10^5$	$4,5 \times 10^5$	$9,5 \times 10^3$	636	500	5,1
Lato 1 Summer 1	Gleba płowa Lessive soil	$7,0 \times 10^3$	$1,4 \times 10^4$	-	$7,5 \times 10^6$	$9,5 \times 10^6$	$2,0 \times 10^4$	1071	678	4,3
	Gleba rdzawa Rusty soil									
Lato 2 Summer 2	Czarnoziem Chernozem	$2,5 \times 10^4$	$1,5 \times 10^4$	-	$1,5 \times 10^7$	$6,5 \times 10^7$	$1,1 \times 10^5$	600	433	6,6
	Gleba płowa Lessive soil	$1,5 \times 10^5$	$2,0 \times 10^4$	-	$1,7 \times 10^8$	$9,5 \times 10^6$	$7,5 \times 10^4$	1333	4750	4,9

Tabela 2. Średnie dekadowe temperatury powietrza i gleby (°C), niedosyt wilgotności powietrza (hPa), usłonecznienie (godz.) oraz sumy opadów (mm) w rejonie prowadzonych badań - dane ze stacji meteorologicznej IMUZ w Bydgoszczy

Table 2. Mean decade temperature of air and soil (°C), vapour pressure deficit (hPa), sunshine hours and precipitation sums (mm) - date of weather station IMUZ in Bydgoszcz

Miesiąc Month	Dekada Decade	Temperatura powietrza Air temperature (°C)	Temperatura gleby - Soil temperature (°C)			Niedosyt fizyczny wilgotności powietrza Vapour pressure deficit	Usłone- cznienie Sunshine (godz. hours)	Opad Rainfall (mm)	
			Głębokość - Depth (cm)						
			5	10	20				
XI	1	5,6	4,8	4,9	4,7	6,3	1,9	12,8	9,0
	2	4,6	4,9	5,0	4,7	6,2	1,2	6,4	14,5
	3	3,2	3,6	3,7	3,4	4,6	0,6	4,9	1,8
	x	4,4	4,4	4,6	4,3	5,7	1,2	8,03	25,3
XII	1	-0,9	1,8	2,2	2,0	3,6	0,9	8,4	3,4
	2	0,2	-0,4	-0,2	-0,6	1,0	1,0	3,5	2,4
	3	2,5	1,2	1,3	1,0	1,8	1,3	15,1	21,6
	x	0,6	0,9	1,1	0,8	2,2	1,1	9,0	27,4
I	1	3,8	2,1	2,2	1,9	2,6	1,7	0,6	0,7
	2	1,1	0,8	1,0	0,9	2,1	1,0	1,0	10,1
	3	-3,3	-1,5	-1,3	-1,6	0,2	0,7	1,7	0,1
	x	0,4	0,4	0,6	0,3	1,6	1,1	1,1	10,9
II	1	1,8	-0,1	-0,1	-0,3	0,5	1,1	0,9	8,7
	2	2,9	2,0	2,0	1,8	2,2	1,4	0,9	7,4
	3	3,8	2,5	2,4	2,1	2,5	1,6	1,8	2,8
	x	2,8	1,4	1,4	1,1	1,7	1,3	1,2	18,9

VI		1	20,4	22,3	21,0	20,8	18,8	15,8	11,2	22,0
		2	18,5	20,5	19,7	19,4	18,2	9,8	7,7	9,0
VII		3	20,3	23,0	22,1	21,9	20,3	15,9	10,4	0,0
		x	19,7	21,9	20,9	20,7	19,1	13,8	9,8	31,0
VIII		1	20,5	23,9	22,8	22,5	21,0	16,6	9,1	1,3
		2	20,3	22,4	21,1	21,6	20,5	11,0	7,8	21,1
IX		3	22,3	24,2	23,4	23,3	22,0	16,3	10,2	5,3
		x	21,1	23,5	22,8	22,5	21,2	14,6	9,1	27,7
VI		1	24,6	25,1	24,1	24,0	22,2	19,8	9,2	4,9
		2	18,6	20,5	20,2	20,6	20,6	10,1	5,8	4,8
VII		3	21,1	21,6	20,8	20,9	19,9	11,7	6,8	12,0
		x	21,4	22,4	21,7	21,8	20,9	13,8	7,3	21,7
VIII		1	13,7	15,1	25,2	15,5	15,3	5,1	3,5	17,6
		2	14,0	14,8	14,6	14,8	14,8	5,3	4,1	1,9
IX		3	13,8	14,1	13,8	14,2	14,4	7,0	5,5	0,0
		x	13,8	14,7	14,5	14,8	14,8	5,8	4,4	19,5
VI		1	18,3	21,2	20,4	20,4	18,5	13,7	10,4	0,0
		2	15,9	18,6	18,5	18,6	18,1	6,0	4,5	30,0
VII		3	14,0	16,6	16,3	16,4	16,2	4,8	4,6	33,3
		x	16,1	18,8	18,4	18,4	17,6	8,2	6,5	63,3
VIII		1	17,6	19,0	18,4	18,2	17,5	9,1	7,8	34,5
		2	16,6	18,7	18,1	17,9	17,5	6,6	5,6	27,9
IX		3	17,5	19,4	18,7	18,5	17,9	6,7	7,3	28,8
		x	17,2	19,0	18,4	18,2	17,6	7,4	6,9	91,2
VI		1	18,8	20,4	19,9	19,8	19,3	7,3	5,4	21,7
		2	18,2	19,8	19,1	18,6	18,6	10,8	8,4	9,8
VII		3	13,6	16,0	15,8	16,6	16,6	4,8	8,1	15,3
		x	16,9	18,6	18,2	18,1	18,1	7,5	8,6	46,8
VIII		1	12,4	14,7	14,5	14,9	14,9	3,1	2,5	46,8
		2	11,3	13,0	13,1	13,6	13,6	2,4	2,5	24,2
IX		3	13,0	13,3	13,2	13,7	13,7	4,4	5,7	15,4
		x	12,2	13,7	13,6	14,0	14,0	3,3	3,6	86,4

Średnia miesięczna temperatura grudnia wynosiła $+0,6^{\circ}\text{C}$, stycznia $+0,4^{\circ}\text{C}$, zaś lutego $+2,8^{\circ}\text{C}$. Należy podkreślić, że odbiegała ona od średnich wieloletnich dla tych okolic, które dla grudnia wynoszą $-0,6^{\circ}\text{C}$, stycznia $-2,8^{\circ}\text{C}$, natomiast lutego $-2,1^{\circ}\text{C}$. Miesięczna suma opadów była najniższa w lutym 10,9 mm, najwyższa zaś w grudniu 27,4 mm i nie odbiegała od przeciętnych dla tego regionu.

W okresie lata suchego średnie miesięczne temperatury były wysokie, notowano bowiem w czerwcu $19,7^{\circ}\text{C}$, lipcu $21,1^{\circ}\text{C}$ i w sierpniu $21,4^{\circ}\text{C}$. Przewyższały one średnie wieloletnie o 1,2 do $2,9^{\circ}\text{C}$. Suma opadów w pierwszych trzech miesiącach badań była bardzo niska i wynosiła jedynie 79,8 mm. Były one niższe od przeciętnych wielolecia o prawie 100 mm. Charakterystyczne dla tego okresu było również wysokie usłonecznienie, które w lipcu i sierpniu wynosiło 9,8 i 9,1 godzin.

W trzecim okresie badań przypadającym na lato wilgotne obserwowano obfite opady atmosferyczne. W pierwszych trzech miesiącach cyklu spadło 201,3 mm deszczu, to jest o 35 mm więcej niż przeciętnie dla wielolecia. Temperatura powietrza była zdecydowanie niższa w porównaniu z latem suchym, średnia miesięczna dla czerwca wyniosła $16,1^{\circ}\text{C}$, lipca $17,2^{\circ}\text{C}$, zaś w sierpniu osiągnęła $16,9^{\circ}\text{C}$. Zdecydowanie niższe (o 3,3 godz. w lipcu i o 2,2 godz. w sierpniu) w porównaniu do lata suchego było również usłonecznienie.

2. Uzyskiwanie i namnażanie zawiesiny bakteryjnej

2.1. Izolacja i identyfikacja badanych bakterii z gnojowicy

Dla uzyskania czystych kolonii bakteryjnych *E. coli*, pobierano 10 ml gnojowicy bydłowej, którą dodawano do 90 ml bulionu Mac Conkey'a¹⁾. Po inkubacji w temperaturze 37°C przesiano materiał na selektywne podłoże stałe - agar z tergitolem²⁾, a następnie na agar odżywczy. Wyrośnięte kolonie testowano przy użyciu zestawu API 20E oraz określono zdolność wytwarzania dekarboksylazy kwasu glutaminowego (punkt 5.1.2). Czyste kolonie paciorkowców grupy-D uzyskiwano dodając 10 ml gnojowicy do 90 ml bulionu z glukozą i azydkiem³⁾. Następnego dnia przenoszono materiał na selektywne podłoże stałe z kanamycyną, eskuliną i azydkiem. Po przesianiu na agar zwykły przeprowadzono końcową identyfikację kolonii testem API 20 STREP oraz za pomocą aglutynacji szkiełkowej. *Salmonelle senftenberg 775W* otrzymano z kolekcji Instytutu Higieny Zwierząt Uniwersytetu Hohenheim w Stuttgarcie.

2.2. Namnażanie czystych kultur na bulionie wzbogaconym

Do każdej z 3 probówek zawierających 10 ml bulionu przenoszono odpowiednio po kilka czystych kolonii bakteryjnych *E. coli*, paciorkowców grupy-D i pałeczek z rodzaju *Salmonella*, które inkubowano następnie w 37°C przez 24 godziny. Zawartość probówek przenoszono następnego dnia do 3 butelek zawierających 1 litr bulionu, które po dokładnym zmieszaniu inkubowano w podobnych warunkach. Po upływie 24 godzin zawiesinę przenoszono do lodówki, w której przechowywano ją do okresu 1 tygodnia.

¹⁾ MacConkey-Bouillon, Merck, art.-nr 5396

²⁾ Tergitol-7-Agar, Merck, art.-nr 5471

³⁾ Azid-Glucose-Bouillon, Merck, art.-nr 1590

3. Pobieranie prób gleby do badań

Próby gleb do badań pobierano każdorazowo z obu poletek, z głębokości 12, 25, 43, 70 i 90 cm. Pobierano je przed rozlaniem gnojowicy (próba 0), tydzień po jej rozlaniu, natomiast później 4-krotnie, w odstępach miesięcznych.

W profil glebowy wbijano najpierw horyzontalnie zglębnik pilotujący (długości 35 cm i średnicy 10 cm), a następnie w wykonany otwór wprowadzano zagłębnik właściwy o długości 110 cm i przekroju 6 cm. Odstępy pomiędzy kolejnymi okresowymi miejscami pobierania wynosiły 50 cm. Powstałe w ścianie profilu glebowego ubytki po pobraniu prób każdorazowo uzupełniano glebą. Uzyskane próby gleby transportowano w workach plastikowych do laboratoriów, gdzie poddawano je analizie fizykochemicznej i bakteriologicznej.

4. Badanie fizykochemiczne gleby

Skład granulometryczny poszczególnych poziomów genetycznych gleby oznaczono metodą Bouyoucosa w modyfikacji Casagrandea i Prószyńskiego [59]. Gęstość objętościową gleby oznaczono pobierając próby o nienaruszonej strukturze do cylinderków o objętości 100 cm^3 w 4 powtórzeniach z 8 poziomów do głębokości 100 cm. W tych samych próbach oznaczono wilgotność objętościową gleby na początku okresu wegetacji. W okresach późniejszych dokonywano pomiaru wilgotności wagowej w próbach pobieranych do badań mikrobiologicznych. Charakterystyki wodne sporządzono wg metodyki podanej przez Zawadzkiego [120].

W oparciu o wyznaczone charakterystyki wodne określono porowatość różnicową gleb, czyli rozkład wielkości porów glebowych. Współczynniki filtracji zostały określone metodą laboratoryjną wg Miatkowskiego i Cieślińskiego [66]. Próby do tych oznaczeń pobierano w 4 powtórzeniach z poszczególnych poziomów genetycznych wszystkich odkrywek glebowych do cylinderków o objętości 500 cm^3 . Odczyn gleby określono potencjometrycznie w wodzie i roztworze KCl. W próbach gleby oznaczono również węgiel ogólny wg Tiurina, azot ogólny - metodą Kiejdahla, natomiast zawartość tlenków wapnia, magnezu, fosforu i potasu - powszechnie stosowanymi w chemii rolnej metodami [59].

W rejonie prowadzonych doświadczeń dokonywano również pomiaru temperatury gleby na głębokości 5, 10, 15 i 20 cm oraz kontrolowano warunki klimatyczne. Rejestrowano temperaturę powietrza, jego niedosyt, wilgotność, usłonecznienie, a także mierzone sumę opadów atmosferycznych.

5. Badanie mikrobiologiczne gleby

Każdorazowo do badań pobierano 3 naważki po 10 g gleby, które dodawano do 90 ml bulionów namnażających i 3 naważki po 1g, które umieszczono odpowiednio w 9 ml bulionu. Po dokładnym rozmieszaniu na ultrawytrząsarce, z probówek zawierających 1 g naważki przygotowano dodatkowo 3 rzędy rozcieńczeń od 10^0 do 10^{-7} . Po inkubacji z każdego rozcieńczenia przenoszono badany materiał na podłoża stałe, na których wykonywano też trzy posiewy. Takie postępowanie umożliwiło określenie ilości badanych drobnoustrojów w oparciu o metodę NPL.

Wszystkie wyniki przedstawiono podając ilość drobnoustrojów w przeliczeniu na 100 g badanych prób gleby.

5.1. Oznaczenie ilościowe *E. coli* w glebie

5.1.1. Hodowla na podłożach płynnych i stałych

Przygotowane już wcześniej naważki glebowe dodawano w pierwszym etapie do podłoża płynnego Mac Conkey'a (43°C przez 24 godz.). Do dalszych badań używano rozcieńczeń, w których zachodziła zmiana barwy bulionu z fioletowej na żółtą (rozkład laktozy). Następnie przesiewano materiał na agar z tergitolem z dodatkiem 1% roztworu 2,3,5-TTC⁴⁾ (24 godz. 43°C).

E. coli rosły w postaci żółtych kolonii, wokół których nastąpiło rozjaśnienie podłoża. W przypadkach wątpliwych przenoszono materiał na agar zwykły⁵⁾, celem uzyskania czystych kolonii (37°C przez 24 godz.).

5.1.2. Wykrywanie obecności dekarboksylazy kwasu glutaminowego

Test pozwalał na szybkie odróżnienie *E. coli* od innych pałeczek grupy coli znajdujących się w glebie. Wykorzystano w nim właściwości wytwarzania 1+ dekarboksylazy kwasu glutaminowego przez *E. coli* [96]. Próby wykonywano w 3 powtórzeniach. Do serologicznych probówek zawierających 0,2 ml toluenu przenoszono kolonie, które budziły wątpliwości w dotychczas przeprowadzonym cyklu identyfikacyjnym. Dokładnie wcierano je w ścianki probówki, tuż nad warstwą toluenu. Próby wstrząsano, odwirowywano, usuwano toluen, a do osadu zawierającego rozartą masę bakteryjną dodawano kwaśnej wody destylowanej (pH 4,9), a następnie krążki bibulowe⁶⁾ wysycone kwasem glutaminowym. Próby dokładnie mieszano, inkubowano przez 30 minut w temperaturze 37°C, a następnie dodawano indykatora zieleni bromokrezolowej. W przypadku obecności *E. coli* następowała zmiana zabarwienia na niebieskie lub zielonawoniebieskie. Negatywne próby przyjmowały kolor żółty lub zielonożółty. Każdorazowo nastawiano jednocześnie 3 próby kontrolne pozytywne (z koloniami *E. coli*) i 3 próby negatywne (bez masy bakteryjnej).

5.1.3. Sprawdzenie wyizolowanych *E. coli* na fekalne pochodzenie

W końcowym etapie badań sprawdzono zdolność rozkładu laktozy przez wyhodowane *E. coli* do kwasu z wydzieleniem gazu (44°C przez 48 godz.). Pozytywna reakcja charakteryzowała się zmianą zabarwienia bulionu laktozowego⁷⁾ na kolor żółty oraz obecnością gazu w rurce Durhama.

⁴⁾ 2,3,5-Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC). Merck, art.-nr 8380

⁵⁾ Standard I-Nähragar Merck, art.- 7881

⁶⁾ Krążki bibulowe Becton-Dickinson, art.-nr 095354

⁷⁾ DE:V-Lactose-Bouillon Merck, art.-nr 10689

5.2. Oznaczenie ilościowe paciorkowców grupy-D w glebie

5.2.1. Hodowla na podłożach płynnych i stałych

Naważki gleby do badań i rzędy rozcieńczeń przygotowano analogicznie jak w przypadku oznaczania *E. coli*. Jako podłoża płynnego dla selektywnego wzrostu enterokoków użyto bulionu z glukozą i azydkiem. Po 48 godzinach inkubacji w 37°C pojawiające się zmętnienie nasuwało podejrzenie występowania paciorkowców kałowych w badanej próbce. Brak zmętnienia świadczył jednoznacznie o wyniku negatywnym. Z prób pozytywnych przenoszono materiał na podłoże stałe, tj. agar z eskuliną i azydkiem⁸⁾ (37°C przez 48 godzin). Paciorkowce kałowe rosły w postaci charakterystycznych drobnych kolonii, wokół których pojawiało się ciemno zabarwione podłoże. Końcowa identyfikacja paciorkowców grupy-D polegała na zastosowaniu wobec wyhodowanych czystych kultur bakteryjnych testu serologicznego (Phadabac-test⁹⁾).

5.3. Oznaczanie ilościowe pałeczek z rodzaju *Salmonella* w glebie

5.3.1. Namnażanie na podłożach płynnych

W procesie izolacji drobnoustrojów z rodzaju *Salmonella* zastosowano dwa podłoża namnażające. W pierwszej fazie naważki glebowe umieszczono w 1% wodzie peptonowej¹⁰⁾ (24 godz. w 37°C), następnie przenoszono z każdej próbki 0,1 ml materiału do rzędu próbek zawierających 10 ml selektywnie namnażającego podłoża płynnego wg Rappaporta¹¹⁾ (43°C przez 24 i 48 godz.).

5.3.2. Hodowla na podłożach stałych

W dalszej kolejności materiał przesiewano na selektywne podłoże agarowe BPLA wg Kaufmanna¹²⁾ (24 godziny 37°C).

Drobnoustroje rosły w postaci bładoróżowych kolonii, wokół których następowało charakterystyczne zabarwienie agaru na różowo. Końcowa identyfikacja polegała na zastosowaniu testów serologicznych - surowicy poliwalentnej Hm.

6. Obliczenia statystyczne

Uzyskane wyniki zweryfikowano i poddano analizie statystycznej. Przeprowadzono podstawowe analizy oparte o zmiany ilości badanych w glebie bakterii w czasie. Wzór opisujący te zmiany miał postać:

$$\ln(N) = ax + b$$

N - liczba bakterii w danym czasie w glebie (na poszczególnej głębokości lub w całości profilu glebowego),

⁸⁾ Kanamycin-Asculin-Azid-Agar, Merck, art.-nr 5222

⁹⁾ Phadabact Strep D Test Karo Bio Diagnostics AB, Huddinge Sweden

¹⁰⁾ Pepton-Wasser (gepuffert), Merck, art.-nr 7228

¹¹⁾ Salmonella-Anreicherungsbouillon nach Rappaport, Merck, art.-nr 10236

¹²⁾ BPL-Agar nach Kaufmann, Merck, art.-nr 7236

- x - czas w tygodniach (lub głębokość w cm),
- a - współczynnik kierunkowy odpowiadający średniej zmianie liczby bakterii w postaci \ln na jeden tydzień (lub na 1 cm głębokości profilu glebowego),
- b - wyraz wolny odpowiadający teoretycznie \ln liczby bakterii w czasie 0 zaangażowanych w dany proces.

Za czas przeżycia bakterii w glebie przyjęto parametr x_0 określający okres, po którym liczba bakterii w glebie osiągnie poziom 1 bakterii. Przeprowadzona analiza dotyczyła związków pomiędzy parametrami a, b, x_0 w różnych układach (różne bakterie, sezony, gleby) oraz wpływu poszczególnych parametrów badanych gleb na wartość tych współczynników. Ocenie podlegały tylko współczynniki tych równań, w których korelacja liniowa $y=ax+b$ jest istotna przy $p_0 < 0,05$.

III. WYNIKI BADAŃ WŁASNYCH

1. Własności fizykochemiczne badanych gleb

1.1. Gleba płowa

Użytkowana była jako grunt orny, na którym uprawiano trawy z lucerną. Poziom próchniczny A_p o barwie ciemnoszarej wytworzony został z piasku gliniastego lekkiego i sięgał do głębokości 25 cm. W powierzchniowej warstwie struktura gruzelkowata była słabo wykształcona o układzie pulchno zbitym, głębiej zbitym. Na głębokości od 25 do 40 cm występował poziom przemywania (A_3) o barwie jasnożółtej i ziarnistej strukturze. Występujące silne przejaśnienia (barwa jasnoszara) świadczyły o okresowym nadmiernym uwilgotnieniu spowodowanym powolnym przesiąkaniem wody. Poziom wymywania (Bt) sięgał od 40 do 70 cm i wytworzony został z gliny średniej. Należy podkreślić, że występowały w nim liczne pionowe kanaliki po dżdżownicach o średnicy od 3 do 5 mm oraz o średnicy < 1 mm, poprzez które mogło odbywać się przemieszczanie bakterii fekalnych w tej warstwie gleby. Skąła macierzysta (C) - glina średnia o barwie żółtobrunatnej i strukturze orzechowo-pryzmatycznej znajdowała się na głębokości > 70 cm (tab.3). Gęstość objętościowa kształtowała się w granicach $1,76-1,69$ g/cm³ w poziomach A i A_3 i wraz ze wzrostem głębokości malała do $1,68$ g/cm³ w warstwie C (tab.4). Jak wynika z tabeli 5, zawartość C i N w badanej glebie zmniejsza się na ogół ze wzrostem głębokości, a więc w głębszych poziomach genetycznych bywa niższa (210 mg C i 23 mg N/100g) niż w powierzchniowych (1026 mg C i 98 mg N/100g), przy czym stosunek C:N waha się w granicach 6,76 - 10,47. Ponadto we wszystkich badanych profilach glebowych stwierdzono, że najwyższą wartość Ca i K mają poziomy Bt i C, odpowiednio: CaO - 30,20 i 37,00 mg/100 g, K₂O - 8,30 i 9,11 mg/100 g, a najniższe A_p i A_3 (odpowiednio: CaO - 16,40 i 25,12 mg/100 g, K₂O - 6,60 i 2,50 mg/100 g). Rozmieszczenie Ca w poszczególnych poziomach genetycznych wpływa na odczyn gleby, aczkolwiek poziom Bt cechował się najniższym pH (5,8) w porównaniu pozostałymi poziomami, przyjmującymi różne wartości pH (6,2-6,6). Znacznie niższe wartości w poziomach genetycznych wykazuje P₂O₅, który waha się w granicach 1,84 - 4,60 mg/100g. Objętość makroporów ważnych dla przemieszczania się bakterii w głąb gleby była niewielka zarówno w warstwie próchnicznej oraz wymycia i wahała się od 8,2 do 10,1%, zaś w poziomach leżących najgłębiej wynosiła od 3,9 do 4,2% (tab.6). W przypadku współczynnika filtracji K₁₀ charakteryzującego właściwości drenażowe gleby obserwuje się wyraźne zróżnicowanie, ponieważ najwyższe wartości (0,56 i 0,53 m/d) przyjmował poziom A_p i Bt, nieco niższą wartość (0,36 m/d) poziom A_3 , a najniższą (0,017 m/d) wykazał poziom C (tab.7). Niewielka zawartość makroporów oraz niska wartość współczynnika filtracji w głębszych warstwach gleby wywierać mogły negatywny wpływ na przemieszczanie się w nich badanych drobnoustrojów.

Tabela 3. Skład granulometryczny gleb

Table 3. Soil texture

Poziom genetyczny Geneti level	Warstwa Layer (cm)	Zawartość frakcji o średnicy w mm (%) The contents of the fraction with the diameter in mm (%)						Grupa granulometryczna Texture Group
		1,0-0,1	0,1-0,05	0,05-0,002	0,02-0,002	<0,002	<0,02	
Czarnoziem leśno-łąkowy - Forest meadow chernozem								
Ap	0-30	54	16	8	12	10	22	gp
(B)	30-50	48	17	8	9	18	27	gl
C	70-100	42	17	9	16	16	32	glp
Gleba płowa - Lessive soil								
Ap	0-25	69	12	6	9	4	13	pgl
A3	(1) 25-40	65	17	6	8	4	12	pgl
A3	(2) 25-40	61	16	6	9	8	17	pgm
Bt	(1) 40-70	37	11	6	17	29	46	gs
Bt	(2) 40-70	41	15	7	12	25	37	gs
C	90-100	45	12	7	14	22	36	gs
Gleba rdzawa - Rusty soil								
Ap	0-25	75	11	6	4	4	8	ps
C	25-100	89	11	0	0	0	0	pl

- p - glina piaszczyste - sandy loam
 gl - glina lekka - light loam
 gs - glina średnia - medium loam
 ps - piasek słabo gliniasty - light loamy sand
 glp - glina lekka pylista - silty light loam
 pgl - piaski gliniaste lekkie - light loamy sand
 pgm - piaski gliniaste mocne - strong loamy sand
 pl - piaski luźne - loamy sand

Uogólniając można sądzić, iż badana gleba płowa odznacza się w poziomie genetycznym podobnymi właściwościami fizycznymi, zwłaszcza gęstością objętościową, porowatością i stosunkiem C:N, natomiast różni się znacznie budową profilów, odczynem i zasobnością w przyswajalny wapń, potas i magnez. Pod względem własności drenazowych i warunków życia, dla drobnoustrojów gleba ta stanowiła środowisko umiarkowane w stosunku do dwóch pozostałych typów gleb.

Tabela 4. Gęstość objętościowa gleb

Table 4. Bulk density of soils

Warstwa - Layer (cm)	Gęstość - density (g/cm ³)
Czarnoziem leśno-łąkowy Forest meadow chernozem	
0 - 10	1.69
10 - 20	1.70
20 - 30	1,64
30 - 40	1,70
40 - 50	1,74
50 - 60	1,72
70 - 80	1,76
90 - 100	1,79
Gleba płowa - Lessive soil	
0 - 10	1,75
10 - 25	1,69
25 - 40	1,76
40 - 50	1,78
70 - 70	1,70
90 - 100	1,68
Gleba rdzawa - Ruty soil	
0 - 10	1,67
10 - 25	1,65
25 - 40	1,65
60 - 70	1,59

Tabela 5. Skład chemiczny badanych gleb

Table 5. Chemical composition of investigated soils

Głębokość Depth (cm)	pH		C mg/100g	N mg/100g	C/N	Zawartość ogółem Total content			
	H ₂ O	KCl				CaO mg/100g	K ₂ O mg/100g	P ₂ O ₅ mg/100g	MgO mg/100g
Czarnoziem leśno-łąkowy - Forest meadow chernozem									
0-25	7,6	7,3	1298	109	11,91	42,2	24,32	20,01	10,67
25-50	8,0	7,3	385	54	6,63	23,6	5,64	8,28	7,70
90-100	8,2	7,4	170	28	6,07	123,6	2,61	2,76	9,40
Gleba płowa - Lessive soil									
0-25	6,9	6,6	1026	98	10,47	16,40	6,60	4,60	4,40
25-40	6,9	6,4	142	21	6,76	25,12	2,50	2,80	4,90
40-70	6,9	5,8	226	30	7,53	30,20	8,30	2,80	no
70-100	6,9	6,2	210	23	9,13	37,00	9,11	1,84	no
Gleba rdzawa - Rusty soil									
0-25	6,7	6,3	748	59	12,68	19,50	7,56	7,32	3,5
25-40	6,4	6,1	108	28	3,85	31,30	1,55	2,75	2,5
40-70	6,5	6,4	95	14	6,78	27,70	no	2,29	3,7
70-100	6,8	5,0	no	no	no	no	no	no	no

no - nie oznaczono - not determined

1.2. Gleba rdzawa

W profilu gleby rdzawej wyróżniono dwa poziomy genetyczne (tab.3). Poziom próchniczny Ap wytworzony z piasku słabo gliniastego sięgał do głębokości 25 cm. Posiadał strukturę ziarnistą, w powierzchniowej warstwie gruzelkową, słabo wykształconą, nietrwałą. Poniżej poziomu próchnicznego na głębokości od 25 do 100 cm znajdowała się skała macierzysta (C). Stanowił ją piasek luźny barwy żółtej o wyraźnej strukturze ziarnistej. Gęstość badanej gleby wahała się od 1,67 w warstwie górnej do 1,59 g/cm³ na głębokości 60-70 cm (tab.4). Warto zauważyć, że w glebie rdzawej obserwowano wyraźne różnice w zawartości materii organicznej pomiędzy poszczególnymi poziomami genetycznymi (tab.5). Najwięcej węgla występowało w poziomie Ap, tj. 748 mg/100g gleby, a najmniej w warstwie C - tylko 95 mg/100g. Zawartość azotu była również stosunkowo niska i wahała się od 59 mg/100 g w warstwie próchnicznej do 14 mg/100 g w głębiej leżącej warstwie piasku. Odpowiednio do tego stosunek węgla do azotu kształtował się od 12,68 do 6,78. Analiza chemiczna wykazała niską zawartość potasu K₂O (od 7,56 do 1,55 mg/100 g) i magnezu (od 2,5 do 3,7 mg/100 g). Natomiast pH gleby było we wszystkich warstwach wyrównane (od 6,4 do 6,8), mimo że rozmieszczenie CaO było dość nierównomierne. Ze względu na lekki skład granulometryczny (tab.3) i dużą zawartość makropor (tab.6) gleba ta charakteryzowała się najlepszymi właściwościami drenażowymi, co powodować mogło łatwiejsze przemieszczanie się bakterii fekalnych w głąb profilu glebowego.

Tabela 6. Rozkład wielkości porów glebowych

Table 6. Soils pores size distribution

Głębokość warstwy Layer depth (cm)	Objętość % porów o średnicy równoważnej % volume of pores with diameter equal (µm)					
	Makropory Macropores		Mezopory Mesopores		Mikropory Micropores	<5
	>300	300-30	30-5	5-0,2	<300	
Czarnoziem leśno-łąkowy -Forest meadow chernozem						
0-10	2,9	5,2	3,5	13,0	10,9	23,9
10-20	5,0	6,0	4,9	10,1	10,0	20,1
40-50	4,0	5,0	3,9	9,1	13,0	22,1
70-80	3,5	6,0	4,0	10,0	10,0	20,0
90-100	2,8	4,1	3,4	8,5	14,2	22,7
Gleba płowa - Lessive soil						
0-25	2,3	8,2	6,9	11,0	5,7	16,7
(1) 25-40	2,7	10,1	7,2	8,9	2,2	11,1
(2) 25-40	2,2	10,0	7,4	9,0	5,4	14,4
40-50	3,2	6,4	3,9	10,2	7,3	17,5
70-80	2,7	3,9	2,3	7,0	19,8	26,8
90-100	3,0	4,2	3,1	9,0	19,5	28,5
Gleba rdzawa - Rusty soil						
0-25	1,9	14,8	9,5	6,3	5,2	11,5
25-100	3,3	18,9	10,2	2,2	1,2	3,4

Współczynnik filtracji dla poziomu Ap wynosił 1,50 m/d, a dla warstwy C 2,97 m/d i był najwyższy spośród wszystkich badanych gleb (tab.7).

Tabela 7. Współczynniki filtracji gleb

Table 7. Filtration coefficient of soils

Poziom genetyczny Genetic level	Warstwa Layer (cm)	Współczynnik filtracji Filtration coefficient K 10 [m/d]
Czarnoziem leśno-łąkowy - Forest meadow chernozem		
Ap	0 - 30	0,27
(B)	30 - 50	0,39
C	70 - 90	0,027
C	90 - 110	0,014
Gleba płowa - Lessive soil		
Ap	0 - 25	0,56
A3	25 - 40	0,36
Bt	40 - 70	0,53
C	80 - 100	0,017
Gleba rdzawa - Rusty soil		
Ap	0 - 25	1,50
C	25 - 100	2,97

K 10 - współczynnik filtracji w 10°C - filtration coefficient in 10°C

Mając na uwadze wyniki analizy należy przypuszczać, że środowisko glebowe mało stwarzać mogło korzystne warunki bytowania dla drobnoustrojów fekalnych. Jednocześnie przy odpowiednich warunkach wilgotnościowych pod względem przesiąkania profil ten charakteryzował się najlepszymi właściwościami.

1.3. Czarnoziem leśno-łąkowy

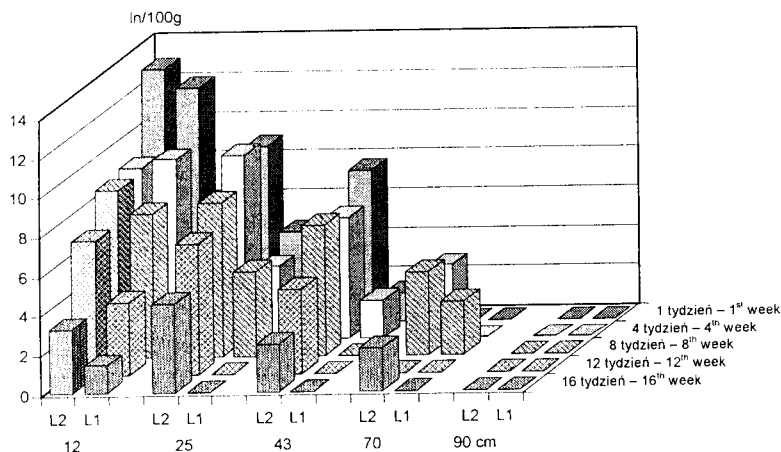
Gleba ta powstała z utworów o składzie granulometrycznym gliny piaszczystej na podłożu gliny lekkiej. W profilu glebowym dawały się wyróżnić 3 warstwy (tab.3). Poziom próchniczny (Ap) sięgał głębokości 30 cm i powstał z gliny piaszczystej. Był on częściowo zerodowany i posiadał strukturę gruzelkową, stanowił układ pulchny, a w głębszych warstwach układ pulchnozbity. Charakteryzowała go mała ilość pionowych ciągłych makroporów i kanalików. Poziom brunatnienia wytworzony z gliny lekkiej o słabo wykształconej strukturze orzechowej sięgał od 30 do 65 cm. Nadto zawierał dużą ilość pionowych kanalików po dżdżownicach, wypełnionych częściowo odchodami lub wymytą glebą z poziomu Ap, które mogły ułatwiać migracje bakterii fekalnych w głąb gleby. Skalę macierzystą (poziom C) stanowiła lekka glina pylasta o szarobrunatnej barwie z naciekami CaCO₃. Zawierała ona małą ilość kanalików po dżdżownicach oraz znaczną ilość drobnych kanalików (<1 mm) tworzących na ogół gęstą siatkę. Jak wynika z tabeli 5 ilość węgla w poziomie Ap wynosi 1298 mg/100 g, w pozostałych zaś w miarę wzrostu głębokości maleje do 385 mg/100 g w poziomie B i 170 mg/100 g w obrębie skały macierzystej. Zawartość azotu jest znacznie niższa i wynosi od 109 mg/100 g w powierzchniowych warstwach gleby do 28 mg/100 g

w poziomie C. Stosunek węgla do azotu jest dość wysoki i wynosi dla poziomu Ap: 11,91; poziomu B: 6,63 i dla poziomu C: 6,07. Ponadto analiza chemiczna wykazała, że w poziomie próchnicznym występowało najwięcej K_2O , P_2O_5 i MgO . Wyjątek stanowił CaO , który wyplukiwany był do głębszych warstw. Największą jego ilość obserwowano w obrębie skały macierzystej. Z kolei wpływało to na wysokie pH badanej gleby, zwłaszcza jej poziomu C. Gęstość objętościowa tej gleby wahała się w granicach 1,64 do 1,79 g/cm^3 (tab.4). Na uwagę zasługuje stosunkowo duże zagęszczenie gleby w poziomie próchnicznym. Zostało ono wywołane przejazdami maszyn rolniczych i ciągników oraz brakiem zabiegów rozluźniających. Efektem tego jest niewielka zawartość makroporów w poziomie próchnicznym (tab.6). Współczynnik filtracji (K10) w obu górnych warstwach wahał się w granicach od 0,27 do 0,39 m/d, natomiast w obrębie skały macierzystej zmniejszał się 10-krotnie, co powodować mogło z kolei utrudnienie infiltracji w głębsze warstwy gleby (tab.7). Uogólniając należy stwierdzić, że środowisko czarnoziemiu leśno-łąkowego stanowiło stosunkowo najlepsze warunki życiowe dla drobnoustrojów fekalnych, w porównaniu z glebą płową i rdzawą przy jednocześnie umiarkowanych warunkach drenażowych w warstwach 0 - 50 cm i słabych na głębokości 70 - 100 cm.

2. Zachowanie drobnoustrojów fekalnych w glebie płowej

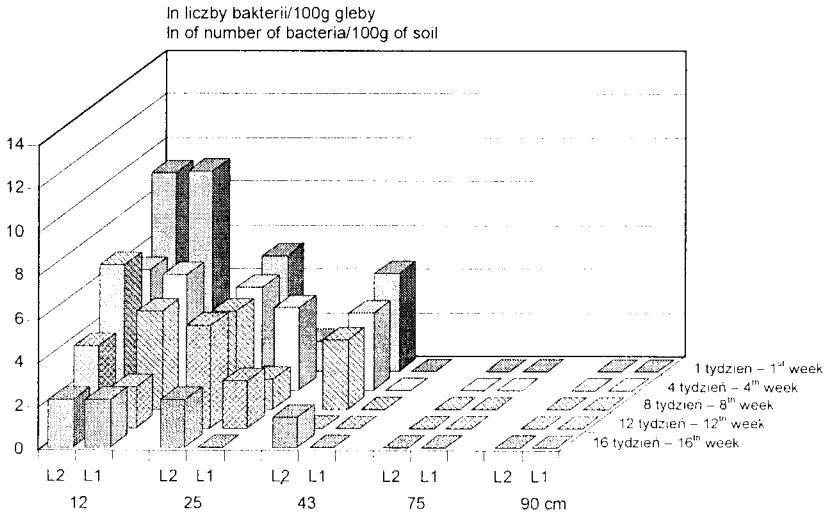
2.1. Infiltracja bakterii fekalnych w profilu gleby płowej

Zachowanie drobnoustrojów fekalnych w glebie płowej nawożonej gnojowicą bydłą przedstawiają rys.1-5.



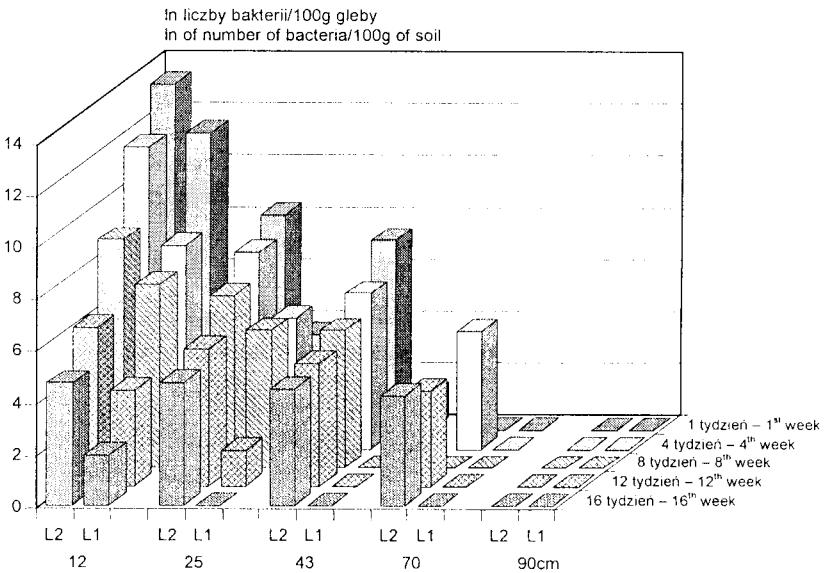
Ryc.1. Liczba *E. coli* wyrażona w ln/100g gleby płowej na różnych głębokościach w okresie lata suchego (L₁) i wilgotnego (L₂) - poletka D

Fig.1. Number of *E. coli* expressed in ln/100g lessive soil on different depth during dry summer (L₁) and moist summer (L₂) - fields E



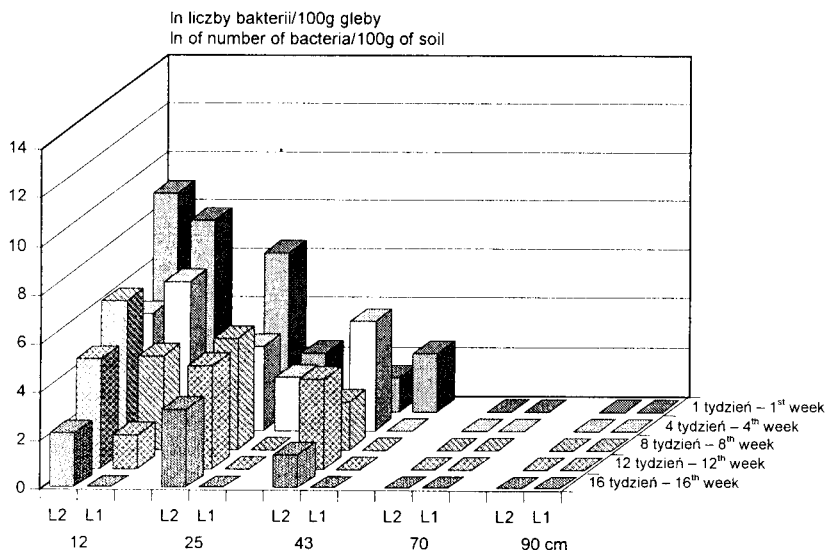
Ryc.2. Liczba *E. coli* wyrażona w ln/100 g gleby pólowej na różnych głębokościach w okresie lata suchego (L_1) i wilgotnego (L_2) - polećka K

Fig.2. Number of *E. coli* expressed in ln/100 g lessive soil on different depth during dry summer (L_1) and moist summer (L_2) - fields C



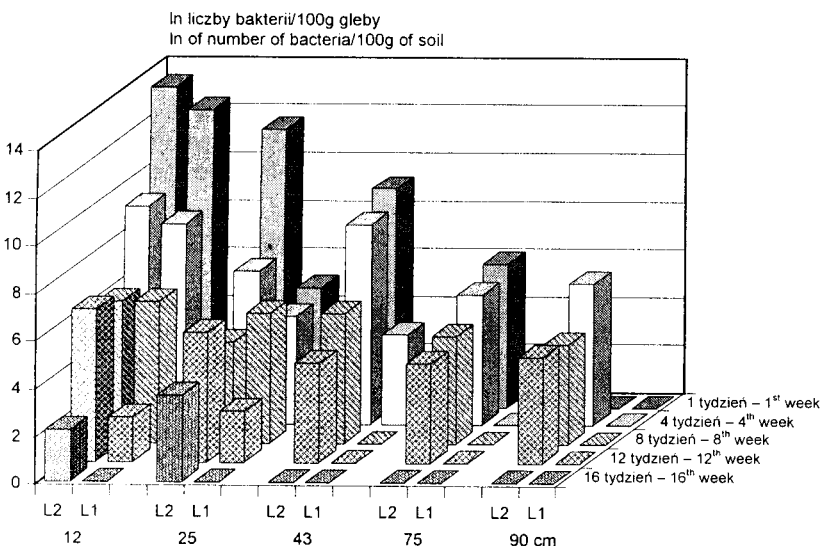
Ryc.3. Liczba paciorkowców grupy-D wyrażona w ln/100 g gleby pólowej na różnych głębokościach w okresie lata suchego (L_1) i wilgotnego (L_2) - polećka D

Fig.3. Number of group D streptococci expressed in ln/100 g lessive soil on different depth during dry summer (L_1) and moist summer (L_2) - fields E



Ryc.4. Liczba paciorkowców grupy-D wyrażona w ln/100 g gleby płowej na różnych głębokościach w okresie lata suchego (L_1) i wilgotnego (L_2) - poletka K

Fig.4. Number of group D streptococci expressed in ln/100 g lessive soil on different depth during dry summer (L_1) and moist summer (L_2) - fields C



Ryc.5. Liczba pałeczek Salmonella spp. wyrażona w ln/100 g gleby płowej na różnych głębokościach w okresie lata suchego (L_1) i wilgotnego (L_2)

Fig.5. Number of Salmonella spp. expressed in ln/100 g lessive soil on different depth during dr summer (L_1) and moist summer (L_2)

Badania przeprowadzono w dwóch okresach letnich. Pierwszy charakteryzowała wyjątkowa susza, duże usłonecznienie oraz bardzo wysoka temperatura. Natomiast podczas drugiego doświadczenia warunki klimatyczne były łagodniejsze. Istotne znaczenie dla badań wydawały się mieć niższa temperatura powietrza i wysokie opady atmosferyczne (tab.2).

W obu okresach badawczych w powierzchniowych warstwach gleby na poletkach doświadczalnych (D) i kontrolnych (K) obserwowano niewielką ilość drobnoustrojów *E. coli* i paciorkowców grupy-D przed rozlaniem gnojowicy, nie przekraczała ona bowiem zwykle kilkunastu komórek bakteryjnych w 100 g gleby.

Dalsze badania wykazały, że bez względu na rodzaj podłoża glebowego przed rozpoczęciem doświadczenia notowano nieznaczne jego skażenie bakteriami *E. coli* i paciorkowcami kałowymi niemalże na wszystkich objętych kontrolą poletkach. W żadnym przypadku nie stwierdzono obecności pałeczek z rodzaju *Salmonella*.

Gwałtowny wzrost populacji drobnoustrojów fekalnych w glebie nastąpił po rozlaniu gnojowicy bydłowej oraz gnojowicy z dodatkiem zawiesiny drobnoustrojów wskaźnikowych. Zjawisko to wystąpiło w bardzo dużym nasileniu w glebie poletek D, jakkolwiek wyraźny ich wzrost wystąpił również w obrębie poletek K. Dotyczyło ono szczególnie górnej 12 centymetrowej warstwy profilu glebowego.

Po 7 dniach od wylania gnojowicy obserwowano w I letnim okresie doświadczenia na poletkach D $1,5 \times 10^5$ * komórek *E. coli* (rys.1) i $9,5 \times 10^4$ kolonii paciorkowców kałowych (rys.3), zaś na poletkach kontrolnych – odpowiednio: $9,5 \times 10^3$ pałeczek *E. coli* (rys.2) i $2,5 \times 10^3$ enterokoków w 100 g gleby (rys.4). Nieco więcej drobnoustrojów, zwłaszcza paciorkowców grupy-D w analogicznym czasie izolowano w II okresie badawczym, przypadającym na chłodne, deszczowe lato. W 100 g gleby z poletka D izolowano bowiem $4,0 \times 10^5$ bakterii *E. coli* i $6,0 \times 10^5$ kolonii enterokoków. W głębszych warstwach profilu glebowego liczba bakterii w pierwszym tygodniu badań była znacznie mniejsza. Ponadto w obu okresach przedstawiała się ona odmiennie. W trakcie suchego lata przyrost drobnoustrojów na głębokości 27 cm był niewielki, liczba paciorkowców kałowych nie przekraczała bowiem $4,0 \times 10^1$, zaś *E. coli* $9,5 \times 10^1$ komórek na 100 g gleby na poletkach D. Sporadycznie obserwowano je na głębokości 43 cm i w warstwach głębszych. Bakterie te występowały tam w ilościach zbliżonych do granicy czułości metody.

W przeciwieństwie do tego, w drugim wilgotnym lecie penetracja drobnoustrojów po upływie tygodnia była o wiele skuteczniejsza.

W warstwie gleby odległej o 27 cm od powierzchni znajdowano $7,5 \times 10^3$ pałeczek *E. coli* i $4,0 \times 10^3$ komórek enterokoków (poletko D) i odpowiednio $2,0 \times 10^2$ *E. coli* i $6,5 \times 10^2$ enterokoków w 100 g gleby na poletku K. Również pewne ilości drobnoustrojów docierały na głębokość 43 cm - do $2,0 \times 10^3$ bakterii *E. coli* i $1,5 \times 10^3$ kolonii paciorkowców kałowych (poletko D) oraz 9×10^1 drobnoustrojów *E. coli* i 4×10^0 kolonii paciorkowców kałowych w 100 g gleby (poletko K).

Podobne zjawisko zaobserwowano analizując zachowanie się pałeczek z rodzaju *Salmonella* w glebie (rys.5). Migracja bakterii w głąb profilu glebowego była wyraźnie ograniczona w okresie suszy (I okres badań). Można je było izolować w niewielkiej ilości (do 75 komórek w 100 g gleby) z prób pobranych do głębokości 27 cm. W warstwach

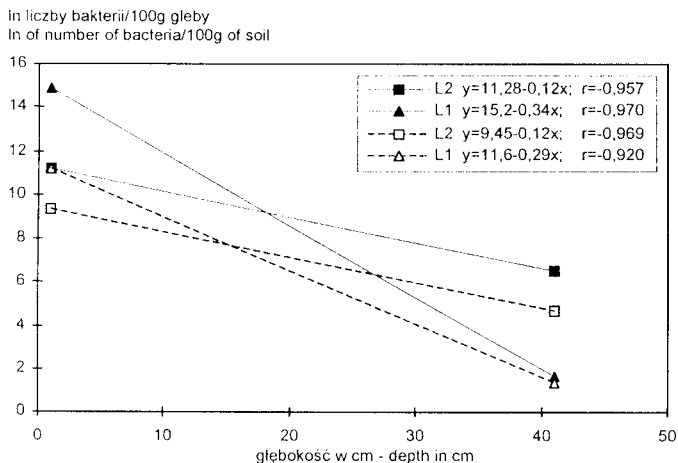
*Liczebność bakterii wyrażoną w postaci ln przedstawiają rys.1-5 natomiast szczegółowa dokumentacja dotycząca liczby drobnoustrojów znajduje się w Katedrze Higieny Zwierząt i Środowiska Wiejskiego ATR w Bydgoszczy

głębszych zaś nie występowała. W drugim wilgotnym okresie na 3 górnych poziomach profilu izolowano pałeczki Salmonella w znacznie większej ilości. Na głębokości 12 cm wykrywano $7,5 \times 10^1$ komórek bakteryjnych w 100 g gleby, zaś na poziomie 43 cm ilość ich ustalono na $9,5 \times 10^2$ bakterii w 100 g gleby.

Rozmieszczenie drobnoustrojów w glebie płowej w dalszych tygodniach badań w obu okresach było nadal odmienne. Uogólniając należy stwierdzić, że w okresie suszy w całym cyklu badawczym bakterie występowały przede wszystkim na głębokości 12 cm, niewielką ich liczbę wykryto na głębokości 25 cm ($7,5 \times 10^1$ pałeczek *E. coli* i $2,0 \times 10^2$ kolonii paciorkowców kałowych w 100 g) i śladowe ilości na głębokości 43 cm (rys.1,3,5). W okresie zwiększonych opadów drobnoustroje docierały głębiej. Zarówno *E. coli*, jak paciorkowców grupy-D występowały w ilościach nie przekraczających $9,5 \times 10^2$ komórek w 100 g gleby, nawet na głębokości 75 cm. Nie zaobserwowano natomiast bakterii fekalnych w próbach gleby pobranych z głębszych partii odkrywek.

Wydaje się, że poziom skały macierzystej gleby płowej posiadający bardzo małą przepuszczalność (współczynnik filtracji 0,017 m/d) skutecznie mógł zapobiegać przenikaniu bakterii. Na poletkach K (rys.2,4) bakterie migrowały płycej. W pierwszym okresie docierały do głębokości 27 cm, w drugim zaś - do 43 cm.

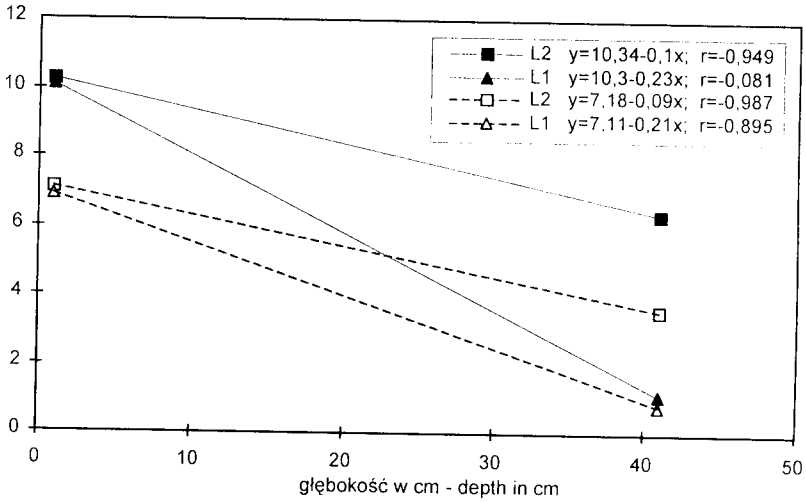
Zróznicowane rozmieszczenie bakterii fekalnych w glebie w określonym czasie w obu cyklach badawczych ilustrują wyniki analizy statystycznej. Zjawisko to charakteryzują zależności pomiędzy ln liczby bakterii w 100 g gleby, a głębokością, na której je izolowano. Wyliczone współczynniki regresji wyraźnie wskazują, że wraz ze wzrostem głębokości spadek liczby *E. coli*, paciorkowców kałowych i pałeczek *Salmonella* wyrażonej w postaci ln był wyraźnie szybszy po 1, 4 i 8 tygodniach badań w okresie I w porównaniu do okresu II (rys.6-12).



Ryc.6. Proste regresji infiltracji *E. coli* w glebie płowej w okresie lata suchego (L_1) i wilgotnego (L_2) po upływie 1 tygodnia poletka K -----
poletka D _____

Fig.6. Regression lines for infiltration of *E. coli* in lessive soil during dry summer (L_1) and moist summer (L_2) after 1 week fields C-----
fields E _____

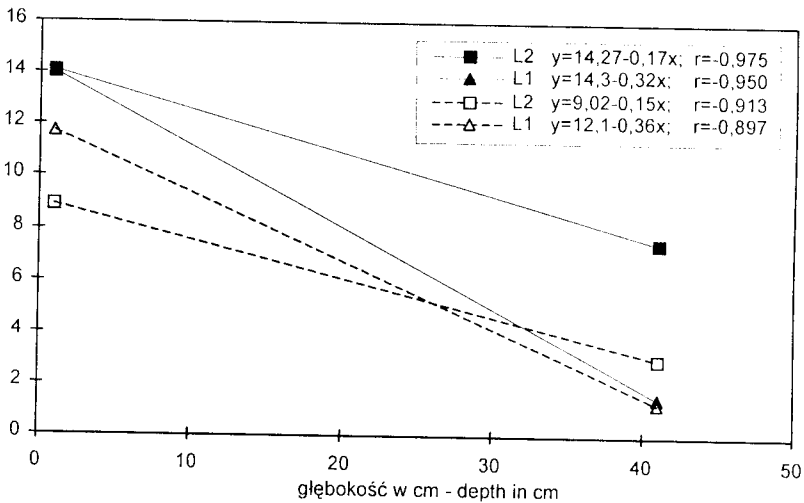
In liczby bakterii/100g gleby
In of number of bacteria/100g of soil



Ryc.7. Proste regresji infiltracji *E. coli* w glebie pługowej w okresie lata suchego (L_1) i wilgotnego (L_2) po upływie 8 tygodni. Oznaczenia jak w rys.6

Fig.7. Regression lines for infiltration of *E. coli* in lessive soil during dry summer (L_1) and moist summer (L_2) after 8 weeks. Details as in fig.6

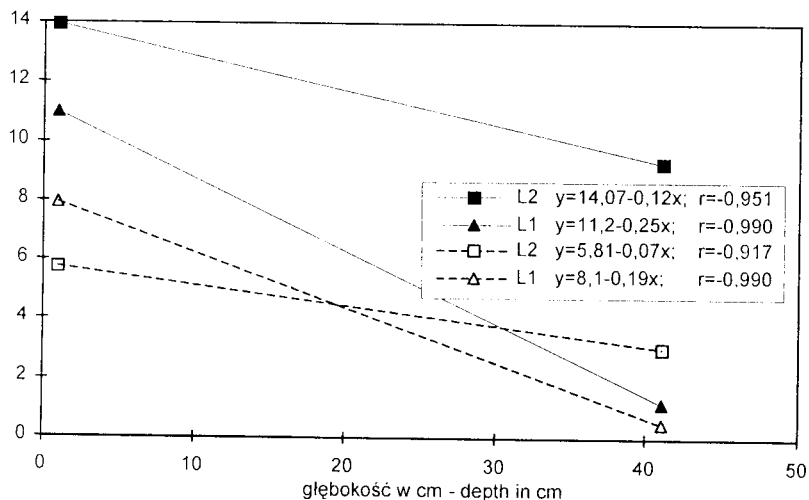
In liczby bakterii/100g gleby
In of number of bacteria/100g of soil



Ryc.8. Proste regresji infiltracji paciorkowców grupy-D w glebie pługowej w okresie lata suchego (L_1) i wilgotnego (L_2) po upływie 1 tygodnia. Oznaczenia jak w rys.6

Fig.8. Regression lines for infiltration of group D streptococci in lessive soil during dry summer (L_1) and moist summer (L_2) after 1 week. Details as in fig.6

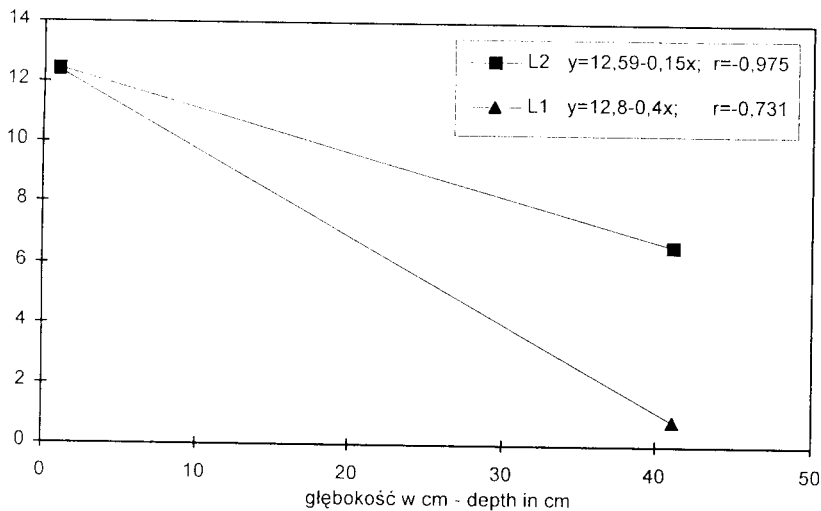
In liczby bakterii/100g gleby
In of number of bacteria/100g of soil



Ryc.9. Proste regresji infiltracji paciorkowców grupy-D w glebie płowej w okresie lata suchego (L_1) i wilgotnego (L_2) po upływie 4 tygodni. Oznaczenia jak w rys.6

Fig.9. Regression lines for infiltration of group D streptococci in lessive soil during dry summer (L_1) and 1st summer (L_2) after 4 weeks. Details as in fig.6

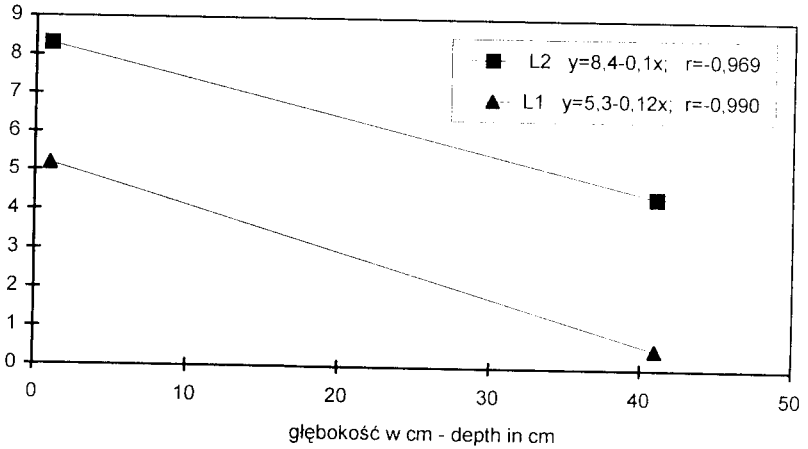
In liczby bakterii/100g gleby
In of number of bacteria/100g of soil



Ryc.10. Proste regresji infiltracji pałeczek Salmonella spp. w glebie płowej w okresie lata suchego (L_1) i wilgotnego (L_2) po upływie 1 tygodnia

Fig.10. Regression lines for infiltration of Salmonella spp. in lessive soil during dry summer (L_1) and moist summer (L_2) after 1 week

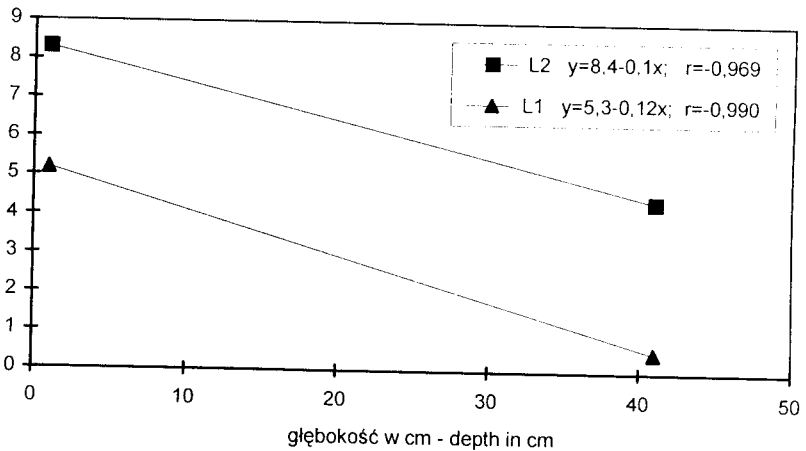
In liczby bakterii/100g gleby
ln of number of bacteria/100g of soil



Ryc.11. Proste regresji infiltracji pałeczek Salmonella spp. w glebie pługowej w okresie lata suchego (L_1) i wilgotnego (L_2) po upływie 4 tygodni

Fig.11. Regression lines for infiltration of Salmonella spp.in lessive soil during dry summer (L_1) and moist summer (L_2) after 4 weeks

In liczby bakterii/100g gleby
ln of number of bacteria/100g of soil



Ryc.12. Proste regresji infiltracji pałeczek Salmonella spp. w glebie pługowej w okresie lata suchego (L_1) wilgotnego (L_2) po upływie 8 tygodni

Fig.12. Regression lines for infiltration of Salmonella spp. in lessive soil during dry summer (L_1) and moist summer (L_2) after 8 weeks

Prawidłowość ta wystąpiła w obiektach doświadczalnych i kontrolnych. Świadczyło to o możliwości mniejszej dyfuzji bakterii fekalnych w głąb badanej gleby w okresie suszy. Zaobserwowano również wystąpienie zależności pomiędzy ilością wprowadzonych drobnoustrojów *E. coli* i paciorkowców grupy-D na poletkach D i K, a ich koncentracją na określonym poziomie profilu glebowego (tab.8).

Tabela 8. Zależności pomiędzy ilością wprowadzonych drobnoustrojów fekalnych na poletka kontrolne (K) i doświadczalne (D) a ich koncentracją na poszczególnej głębokości profilu gleby płowej

Table 8. Relationship between number of fecal microorganisms put into control (C) and experimental (E) fields, and their concentration on the particular profile depth of lessive soil

Rodzaj drobnoustrojów Specified microorganisms	Poletka Fields	Okresy Periods	Równania Equations
<i>E. coli</i>	D (E)	I, II	$y = -0,014 h + 1,17 (0,02)$ $r = -0,989$
	K (C)	I, II	$y = -0,016 h + 1,16 (0,12)$ $r = -0,973$
Paciorkowce grupy-D Group D streptococci	D (E)	I, II	$y = -0,012 h + 1,18 (0,02)$ $r = -0,983$
	K(C)	I, II	$y = -0,007 h + 1,19 (0,12)$ $r = -0,991$

Z wyliczeń statystycznych wynika, że korelacje pomiędzy liczbą wprowadzonych bakterii do gleby, a ich rozmieszczeniem na określonym poziomie profilu różniły się znacznie jedynie w odniesieniu do paciorkowców grupy-D. Mniejsza ilość tych bakterii na poletku K była widocznie lepiej wiązana przez glebę i spadek koncentracji komórek w miarę przenikania w głębsze warstwy gleby był słabszy.

2.2. Przeżywalność bakterii fekalnych w glebie płowej

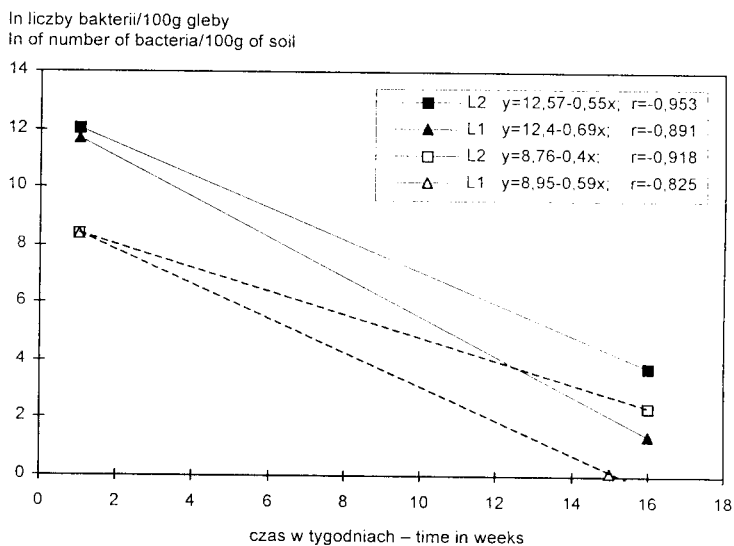
W trakcie badań zaobserwowano proces eliminacji bakterii fekalnych w glebie płowej. Dotyczył on wszystkich 3 gatunków obserwowanych bakterii fekalnych. Zjawisko eliminacji zachodziło we wszystkich warstwach profili glebowych, najwyraźniej jednak w górnej ich części (rys.1-5). Wydaje się, iż mimo lepszego dostępu do składników pokarmowych w górnych warstwach gleby, konkurencja drobnoustrojów autochtonicznych stanowiła skuteczną przeciwwagę dla nieprzystosowanych do życia w glebie bakterii fekalnych. Należy podkreślić, że szybkość eliminacji drobnoustrojów z gleby była zróżnicowana w obu okresach badań.

Śledząc tempo eliminacji bakterii fekalnych w poszczególnych miesiącach badań należy stwierdzić, że proces ten przebiegał z jednakowym nasileniem przez cały czas trwania obserwacji w pierwszym okresie (lato suche). Na poletku D na głębokości 12 cm liczba *E. coli* spadła z $1,5 \times 10^5$ do $4,0 \times 10^0$ zaś paciorkowców kałowych z $9,5 \times 10^4$ do $7,0 \times 10^0$ kolonii/100g gleby. W drugim okresie (lato wilgotne) przebiegał on w dwóch fazach. Szybki spadek następował w pierwszych 8 tygodniach, a następnie liczba bakterii w glebie podlegała wyraźnej stabilizacji. W końcowej fazie doświadczenia - w okresie II było

ich wyraźnie więcej w glebie na poletkach D w stosunku do okresu I. Na poletkach K w I okresie nie wykrywano bakterii fekalnych w glebie w 16 tygodniu badań, gdy tymczasem w trakcie wilgotnego lata izolowano od 4 do 25 kolonii paciorkowców kałowych i od 4 do 11 kolonii *E. coli* w 100 g gleby.

Na podstawie przeprowadzonych analiz wyznaczono proste regresji (rys.13-18), które wskazują na zmiany ilości bakterii w czasie na poszczególnych głębokościach oraz w całym profilu glebowym.

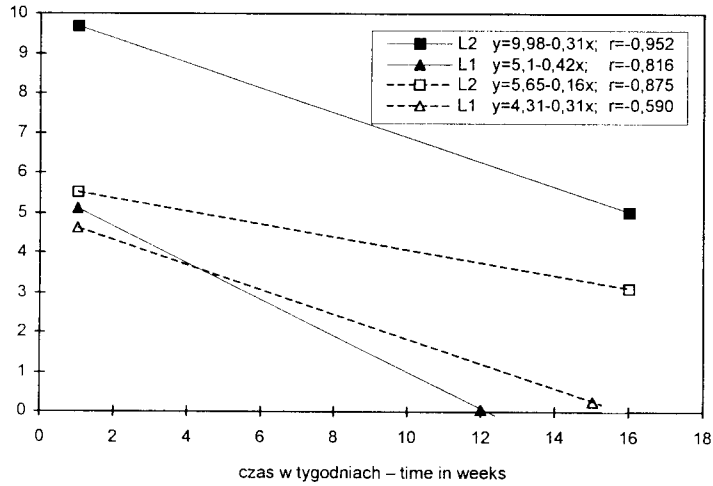
Zdecydowanie gorsze warunki życiowe dla bakterii fekalnych stwarzała gleba płowa w I okresie badawczym. Stopień eliminacji drobnoustrojów fekalnych był w tym czasie wyraźnie wyższy w porównaniu do okresu drugiego. Prawidłowość ta była szczególnie widoczna na poletku D i dotyczyła zwłaszcza *E. coli* i enterokoków. Biorąc pod uwagę zachowanie się bakterii średnio w całym profilu glebowym (tab.9) należy podkreślić, że dość nieoczekiwanie najszybciej eliminowane były z gleby płowej bakterie *E. coli* - o 0,70 ln w ciągu tygodnia dla poletka D i o 0,43 ln dla poletka K. Czas przeżywalności drobnoustrojów na obu poletkach wyliczony na podstawie przebiegu prostej regresji wynosił odpowiednio 17,7 tyg. i 19,5 tyg. Wyrównane wartości współczynników regresji charakteryzujących tygodniowy spadek liczby bakterii na poletkach D w postaci ln wystąpiły dla pozostałych dwóch obserwowanych rodzajów bakterii; -0,61 dla paciorkowców kałowych i -0,60 dla pałeczek z rodzaju *Salmonella*. Czas przeżycia enterokoków wahał się od 18,7 tyg. na poletku D do 21,1 tyg. na poletku K, zaś pałeczek *Salmonella* wynosił tylko 14,1 tyg.



Ryc.13. Proste regresji przeżywalności *E. coli* w glebie płowej na głębokości 12 cm w okresie lata suchego (L_1) i wilgotnego (L_2) poletka D _____
poletka K-----

Fig.13. Regression lines for survival of *E. coli* in lessive soils on the depth 12 cm during dry summer (L_1) and moist summer (L_2) fields E _____
fields C-----

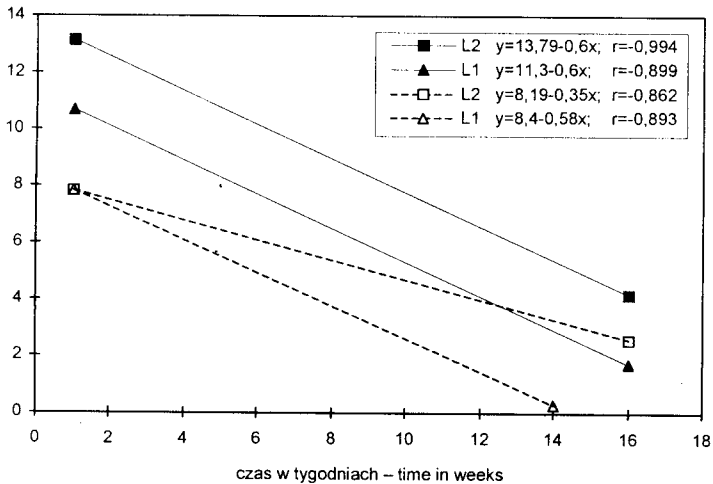
In liczby bakterii/100g gleby
In of number of bacteria/100g of soil



Ryc.14. Proste regresji przeżywalności *E. coli* w glebie płowej na głębokości 25 cm w okresie lata suchego (L_1) i wilgotnego (L_2). Oznaczenia jak na rys.13

Fig.14. Regression lines for survival of *E. coli* in lessive soils on the depth 25 cm during dry summer (L_1) and moist summer (L_2). Details as in fig.13

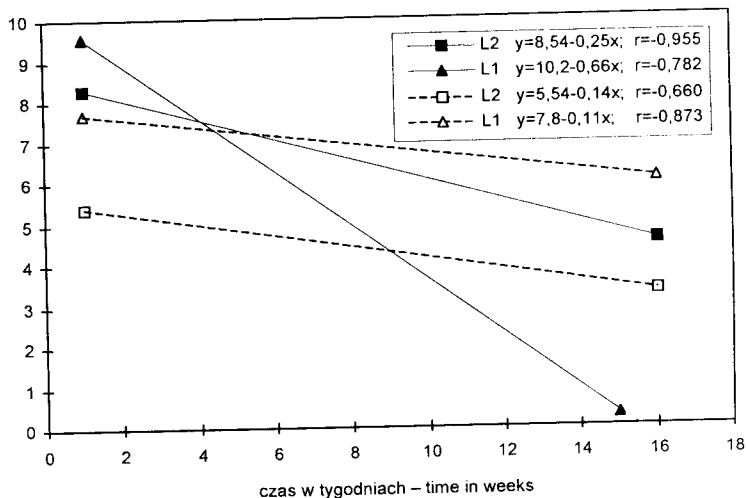
In liczby bakterii/100g gleby
In of number of bacteria/100g of soil



Ryc.15. Proste regresji przeżywalności paciorkowców grupy-D w glebie płowej na głębokości 12 cm w okresie lata suchego (L_1) i wilgotnego (L_2). Oznaczenia jak na rys.13

Fig.15. Regression lines for survival of group D streptococci in lessive soils on the depth 12 cm during dry summer (L_1) and moist summer (L_2). Details as in fig.13

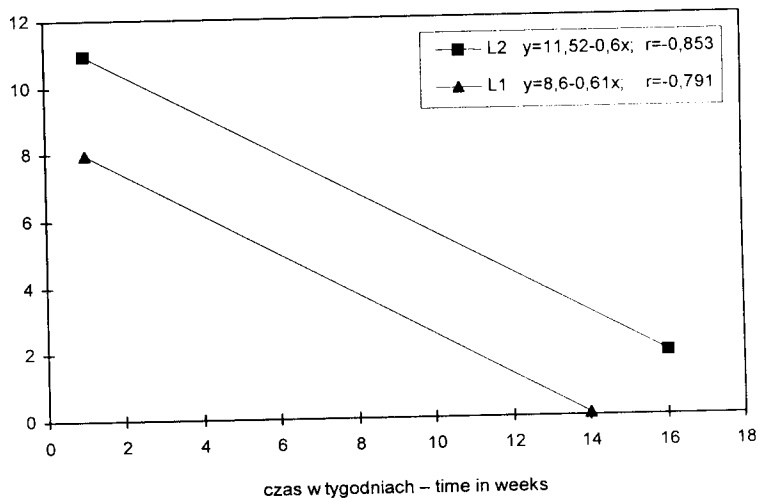
In liczby bakterii/100g gleby
ln of number of bacteria/100g of soil



Ryc.16. Proste regresji przeżywalności paciorkowców grupy-D w glebie pólowej na głębokości 25 cm w okresie lata suchego (L_1) i wilgotnego (L_2). Oznaczenia jak na rys.13

Fig.16. Regression lines for survival of group D streptococci in lessive soils on the depth 25 cm during dry summer (L_1) and moist summer (L_2). Details as in fig.13

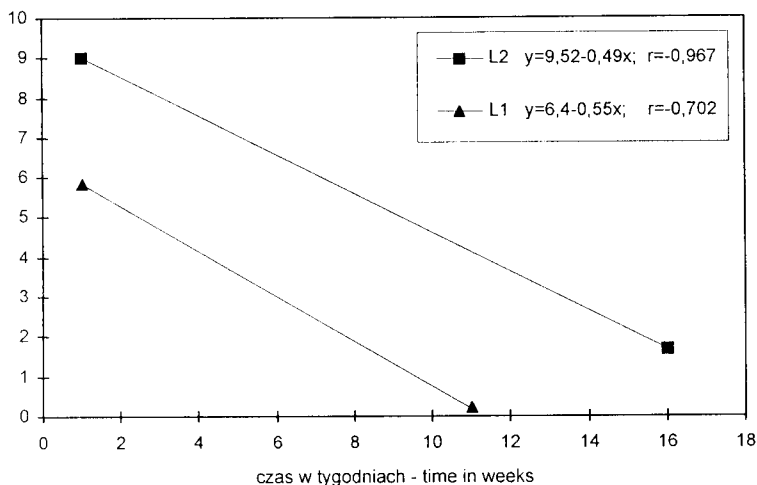
In liczby bakterii/100ggleby
ln of number of bacteria/100g of soil



Ryc.17. Proste regresji przeżywalności pączek Salmonella spp. w glebie pólowej na głębokości 12 cm w okresie lata suchego (L_1) i wilgotnego (L_2)

Fig.17. Regression lines for survival of Salmonella spp. in lessive soils on the depth 12 cm during dry summer (L_1) and moist summer (L_2)

ln liczby bakterii/100g gleby
ln of number of bacteria/100g of soil



Ryc.18. Proste regresji przeżywalności pałeczek *Salmonella* spp. w glebie płowej na głębokości 25 cm w okresie lata suchego (L_1) i wilgotnego (L_2)

Fig. 18. Regression lines for survival of *Salmonella* spp. in lessive soils on the depth 25 cm during dry summer (L_1) and moist summer (L_2)

Tabela 9. Proste regresji ($\ln(N)=ax+b$) charakteryzujące przeżywalność badanych bakterii średnio w całym profilu gleby płowej w okresie lata suchego L_1 i wilgotnego L_2 (poletka K i D)

Table 9. Regression lines ($\ln(N)=ax+b$) for mean survival of investigated bacteria in the whole profile of lessive soil during dry summer L_1 and moist summer L_2 (fields C and E)

Sezon Period	Poletka Fields	<i>E. coli</i>	Paciorkowce grupy-D Group D streptococci	<i>Salmonella</i> spp.
L_1	D (E)	$-0,70x + 12,41$ $r = -0,842$	$-0,61x + 11,4$ $r = -0,893$	$-0,60x + 8,69$ $r = -0,894$
	K (C)	$-0,43x + 8,40$ $r = -0,891$	$-0,37x + 7,81$ $r = -0,893$	n.b.
L_2	D (E)	$-0,47x + 12,57$ $r = -0,975$	$-0,51x + 13,20$ $r = -0,944$	$-0,61x + 19,6$ $r = -0,812$
	K (C)	$-0,34x + 8,78$ $r = -0,916$	$-0,28x + 7,66$ $r = -735$	n.b.

W II okresie najszybciej z całego profilu glebowego eliminowane były pałeczki *Salmonella* (o 0,61 ln/tydzień), wolniej zaś *E. coli* (o 0,47 ln dla poletka D i o 0,34 ln dla poletka K) i paciorkowce kałowe (o 0,51 ln dla D i o 0,28 ln dla K). Czas przeżycia wydłużył się dla *E. coli* z 17,7 tyg. do 26,7 tyg., dla paciorkowców grupy-D z 18,7 do 25,9, zaś dla pałeczek *Salmonella* z 14,1 do 19,9 tyg. W odniesieniu do całego profilu

glebowego należy podkreślić, że środowisko glebowe w okresie II oddziaływało znacznie łagodniej na obserwowane bakterie fekalne. Na poletkach K eliminacja bakterii była również szybsza w okresie lata suchego w porównaniu z obserwowaną w lecie wilgotnym. W czasie suszy średnio w całym profilu populacja *E. coli* zmniejszała się o 0,43 ln na tydzień, zaś paciorkowców kałowych o 0,37 ln, natomiast w lecie wilgotnym odpowiednio o 0,34 ln i 0,28 ln na tydzień. Spadek liczby bakterii na poletkach K następował zwykle wolniej niż na poletkach D, przy czym w nieco szybszym tempie eliminowane były bakterie *E. coli* w porównaniu z enterokokami.

Przeprowadzona analiza wykazała związek pomiędzy głębokością, na której badano funkcję przeżycia bakterii, a współczynnikiem regresji opisującym proces ich eliminacji w czasie. W warunkach doświadczalnych dla 1 i 2 roku doświadczenia dla *E. coli* i paciorkowców grupy-D krzywa ta miała postać:

$$a = -0,018 \text{ h} (\pm 0,002) + 1,2 (\pm 0,06)$$

$$r = 0,99 \quad P < 0,065.$$

3. Zachowanie się drobnoustrojów fekalnych w glebie rdzawej

3.1. Infiltracja bakterii fekalnych w profilu gleby rdzawej

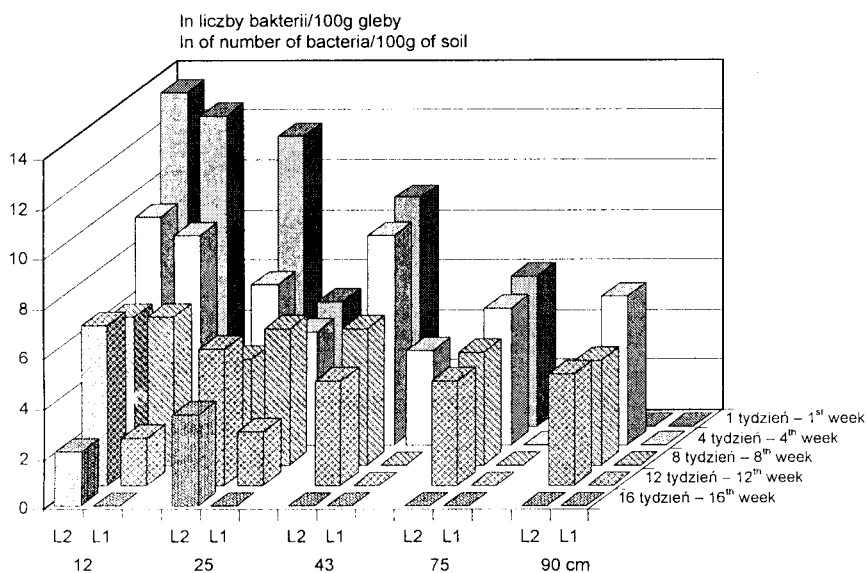
Zasiedlenie oraz rozprzestrzenianie się drobnoustrojów fekalnych w glebie rdzawej na skutek nawożenia gnojowicą bydłą ilustrują rys.19-23.

Całość doświadczeń polowych na glebie rdzawej przeprowadzono w analogicznych porach roku i takich samych warunkach klimatycznych jak w przypadku gleby płowej. Analizując uzyskane wyniki należy stwierdzić występowanie dużej ilości badanych drobnoustrojów fekalnych zarówno w powierzchniowej 12 cm warstwie gleby, jak i w warstwach leżących głębiej. Największy wzrost populacji bakterii fekalnych dawał się zauważyć już po 7 dniach od rozlania gnojowicy na poletka badawcze. W pierwszym okresie (susza) na głębokości 12 cm na poletku doświadczalnym izolowano $2,5 \times 10^5$ kolonii *E. coli*, $9,5 \times 10^5$ kolonii enterokoków oraz $2,5 \times 10^4$ kolonii pałeczek *Salmonella* w 100 g gleby, w drugim zaś - odpowiednio $6,5 \times 10^5$ kolonii *E. coli*, $4,5 \times 10^5$ kolonii paciorkowców kałowych oraz $9,5 \times 10^4$ pałeczek *Salmonella* w 100 g gleby (rys.19 i 21). Również na poletkach kontrolnych odnotowano wzrost liczebności bakterii fekalnych w glebie, jakkolwiek był on zdecydowanie niższy (rys.20 i 22).

Zasiedlenie głębszych warstw gleby przez bakterie fekalne po upływie 1 tygodnia od rozlania gnojowicy przedstawiało się odmiennie w obu okresach badawczych. W porze długotrwałej suszy izolowano drobnoustroje fekalne z warstw gleby położonej do głębokości 27 cm w ilości nie przekraczającej 4×10^2 kolonii paciorkowców grupy-D, $1,5 \times 10^2$ kolonii *E. coli* oraz $4,5 \times 10^1$ kolonii pałeczek *Salmonella* w 100 g próbki. Mimo dobrych własności drenażowych i wysokiego współczynnika filtracji badanej gleby (tab.7) wskutek braku wody w makroporach migracja drobnoustrojów w głąb profilu była w tym okresie ograniczona. Na poletkach K odnotowano w tym czasie $2,5 \times 10^1$ *E. coli* i $2,5 \times 10^2$ paciorkowców kałowych w 100 g gleby.

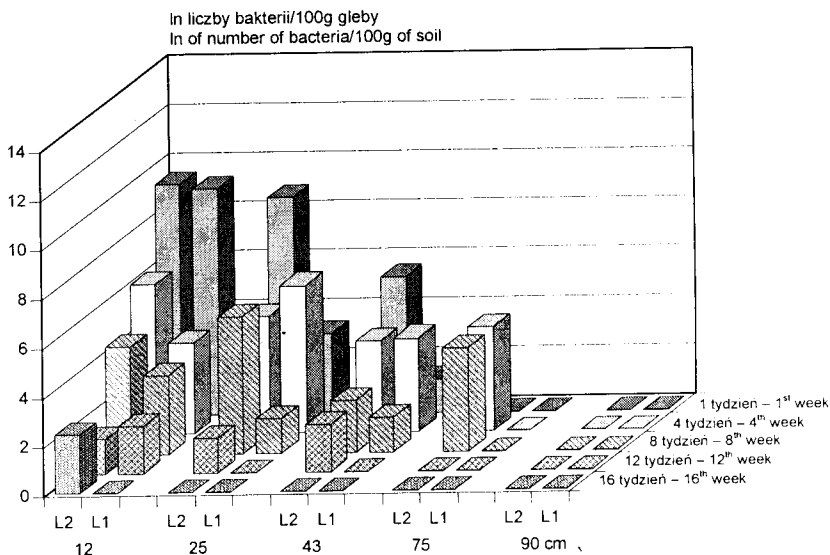
W okresie II rozprzestrzenianie się drobnoustrojów w obrębie gleby rdzawej po upływie 1 tygodnia było o wiele łatwiejsze. Drobnoustroje docierały w znacznej ilości do głą-

bokości 43 cm ($9,5 \times 10^3$ kolonii *E. coli* i $9,5 \times 10^3$ kolonii enterokoków oraz $1,5 \times 10^2$ pałeczek *Salmonella* na 100 g), niewielką ilość kolonii izolowano nawet z warstwy głębiej leżącej. Zróżnicowane prawidłowości w zakresie infiltracji drobnoustrojów w obu okresach utrzymywały się przez cały czas prowadzonych badań. Rozmieszczenie bakterii w całym profilu gleby było inne niż w przypadku gleby płowej. Skutkiem zwiększonej przepuszczalności gleby bakterie fekalne penetrowały w głębsze pokłady profilu glebowego. W II okresie obserwowano je nawet na głębokości 90 cm ($1,4 - 2,0 \times 10^2$ kolonii paciorkowców grupy-D i $9,0 \times 10^1 - 4,0 \times 10^2$ bakterii *E. coli* oraz $2,7 \times 10^1$ pałeczek *Salmonella* w 100 g). Należy podkreślić również występowanie głębokiej migracji bakterii fekalnych w tym okresie na poletkach kontrolnych (rys.20 i 22). Pałeczki *coli* docierały do głębokości 75 cm w ilości $6,5 - 7,5 \times 10^1$ bakterii /100 g, zaś enterokoki izolowano z prób gleby pobranych z głębokości 43 cm ($4,0 \times 10^0 - 2,0 \times 10^2$ drobnoustrojów w 100 g).



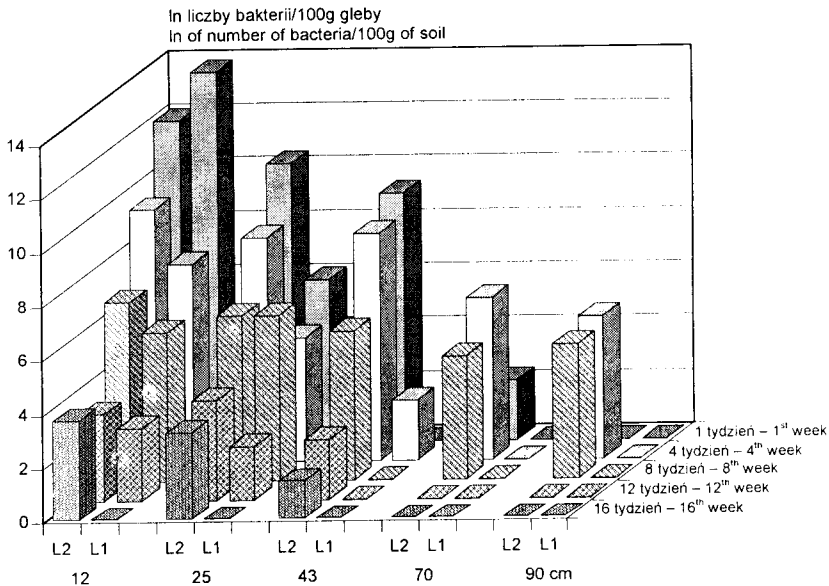
Ryc.19. Liczba *E. coli* wyrażona w ln/100 g gleby rdzawej na różnych głębokościach w okresie lata suchego (L_1) i wilgotnego (L_2) - poletka D

Fig.19. Number of *E.coli* expressed in ln/100 g rusty soil on different depth during dry summer (L_1) and moist summer (L_2) - fields E



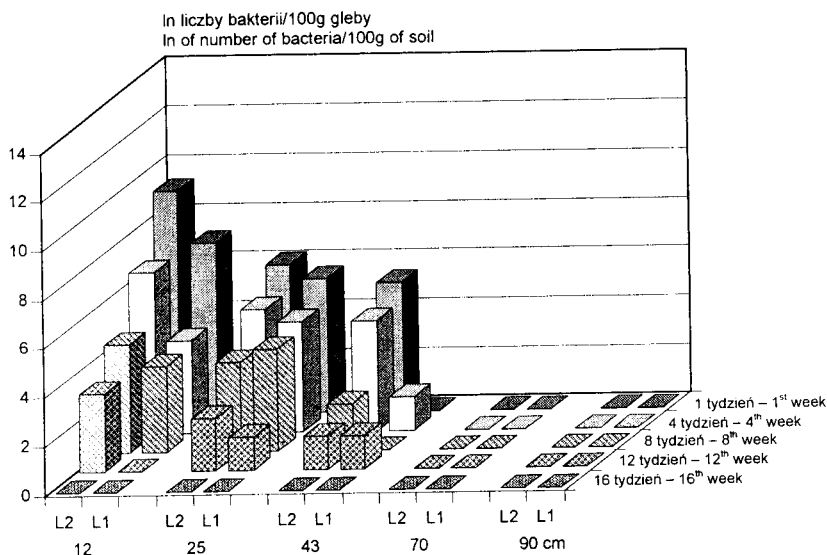
Ryc.20. Liczba *E. coli* wyrażona w ln/100 g gleby rdzawej na różnych głębokościach w okresie lata suchego (L_1) i wilgotnego (L_2) - polećka K

Fig.20. Number of *E. coli* expressed in ln/100 g rusty soil on different depth during dry summer (L_1) and moist summer (L_2) - fields C



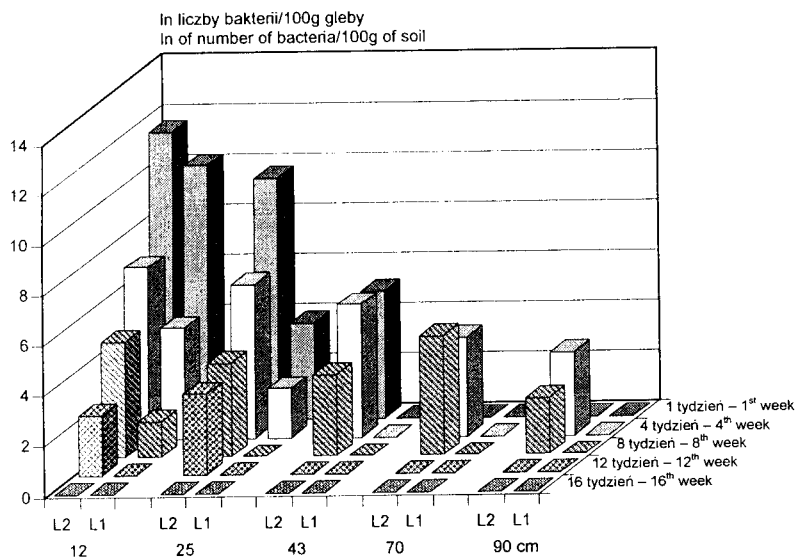
Ryc.21. Liczba paciorkowców grupy-D wyrażona w ln/100 g gleby rdzawej na różnych głębokościach w okresie lata suchego (L_1) i wilgotnego (L_2) - polećka D

Fig.21. Number of group D streptococci expressed in ln/100 g rusty soil on different depth during dry summer (L_1) and moist summer (L_2) - fields E



Ryc.22. Liczba paciorkowców grupy-D wyrażona w ln/100 g gleby rdzawej na różnych głębokościach w okresie lata suchego (L₁) i wilgotnego (L₂) - polećka K

Fig.22. Number of group D streptococci expressed in ln/100 g rusty soil on different depth during dry summer (L₁) and moist summer (L₂) - fields C



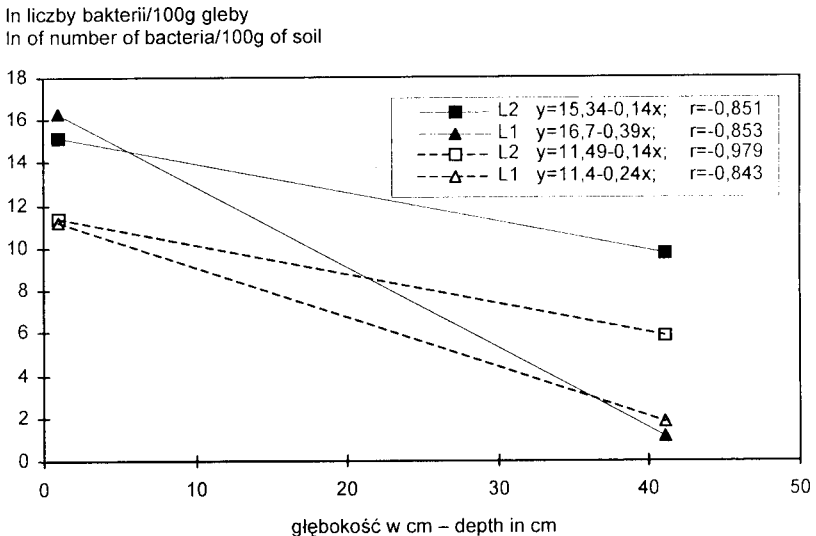
Ryc.23. Liczba pałeczek Salmonella spp. wyrażona w ln/100 g gleby rdzawej na różnych głębokościach w okresie lata suchego (L₁) i wilgotnego (L₂)

Fig.23. Number of Salmonella spp. expressed in ln/100 g rusty soil on different depth during dry summer (L₁) and moist summer (L₂)

Dla odmiany w pierwszym okresie przez cały czas badań poza sporadycznymi przypadkami drobnoustroje fekalne występowały przede wszystkim w górnej 27 centymetrowej warstwie gleby.

Zależności te znalazły odzwierciedlenie w obliczeniach statystycznych. Wyliczone współczynniki regresji charakteryzujące tempo spadku liczby bakterii fekalnych, wyrażonej logarytmem, wraz ze wzrostem głębokości wyraźnie wskazują, że procesy przemieszczania bakterii fekalnych występowały zdecydowanie szybciej w okresie I w porównaniu z II. Tendencja ta dotyczyła większości poletek zlokalizowanych na glebie rdzawej zarówno kontrolnych, jak i doświadczalnych (rys.24-29).

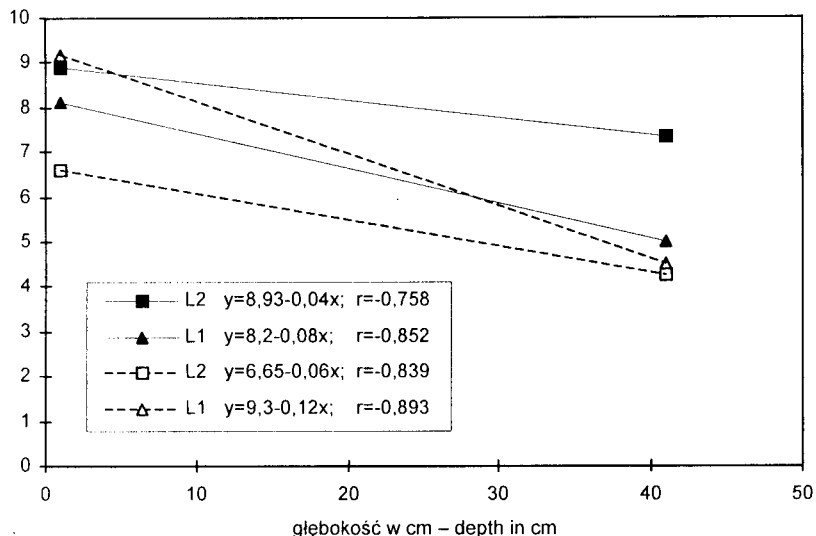
Możliwość przemieszczania się drobnoustrojów fekalnych na dużą głębokość była związana ze słabymi właściwościami filtracyjnymi gleby. Profil glebowy posiadał najłżejszy spośród badanych skład granulometryczny (tab.3) i najwięcej makropor (tab.6), co przy właściwych stosunkach wilgotnościowych mogło skutkować stosunkowo dużym przemieszczaniem drobnoustrojów. Migracja bakterii fekalnych występowała tu najłatwiej i najgłębiej spośród wszystkich przebadanych profili glebowych. Zaobserwowano także wystąpienie zależności pomiędzy ilością wprowadzanych drobnoustrojów fekalnych *E. coli* i enterokoków a ich koncentracją na danej głębokości profilu glebowego (tab.10). I w tym przypadku środowisko gleby rdzawej oddziaływało na badane populacje bakteryjne w sposób odmienny niż gleba płowa. W miarę przenikania drobnoustrojów fekalnych w głąb profilu glebowego spadek liczby bakterii następował szybciej w przypadku mniej licznych populacji badanych bakterii. Wskazywało to na słabe wiązania drobnoustrojów przez cząstki glebowe, co można wiązać z niskimi własnościami absorbcyjnymi badanej gleby. Charakteryzowała się ona niewielką ilością cząstek ilastych, które obok materii organicznej odgrywa podstawową rolę w procesie wiązania bakterii.



Ryc.24. Proste regresji infiltracji *E. coli* w glebie rdzawej po upływie 1 tygodnia w okresie lata suchego (L_1) i wilgotnego (L_2). Oznaczenia jak na rys.6

Fig.24. Regression lines for infiltration of *E. coli* in rusty soil during dry summer (L_1) and moist summer (L_2) after 1 week. Details as in fig.6

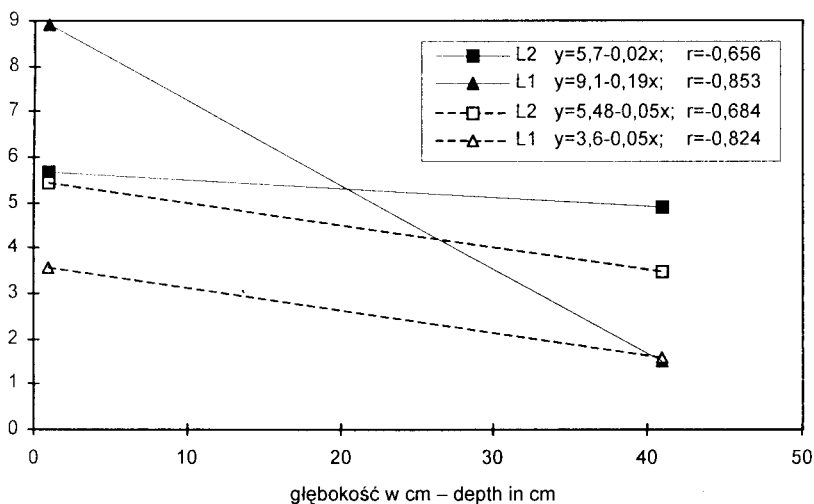
In liczby bakterii/100g gleby
In of number of bacteria/100g of soil



Ryc.25. Proste regresji infiltracji E. coli w glebie rdzawej po upływie 4 tygodni w okresie lata suchego (L₁) i wilgotnego (L₂). Oznaczenia jak na rys.6

Fig.25. Regression lines for infiltration of E. coli in rusty soil during dry summer (L₁) and moist summer (L₂) after 4 weeks. Details as in fig.6

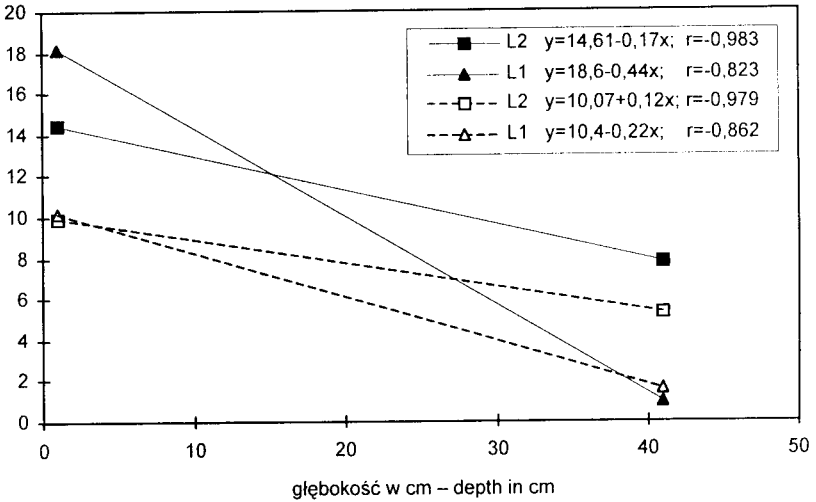
In liczby bakterii/100g gleby
In of number of bacteria/100g of soil



Ryc.26. Proste regresji infiltracji E. coli w glebie rdzawej po upływie 8 tygodni w okresie lata suchego (L₁) i wilgotnego (L₂). Oznaczenia jak na rys.6

Fig.26. Regression lines for infiltration of E. coli in rusty soil during dry summer (L₁) and moist summer (L₂) after 8 weeks. Details as in fig.6

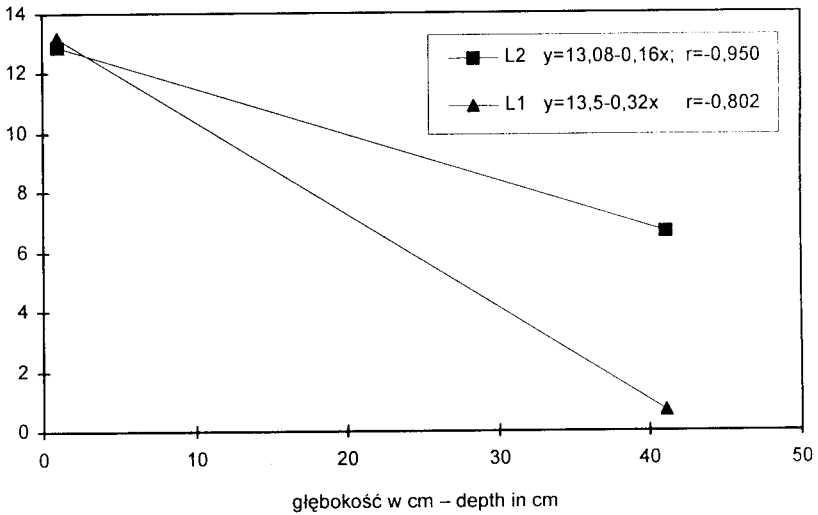
In liczby bakterii/100g gleby
In of number of bacteria/100g of soil



Ryc.27. Proste regresji infiltracji paciorkowców grupy-D w glebie rdzawej po upływie 1 tygodnia w okresie lata suchego (L₁) i wilgotnego (L₂). Oznaczenia jak na rys.6

Fig.27. Regression lines for infiltration of group D strptococci in rusty soil during dry summer (L₁) and moist summer (L₂) after 1 week. Details as in fig.6

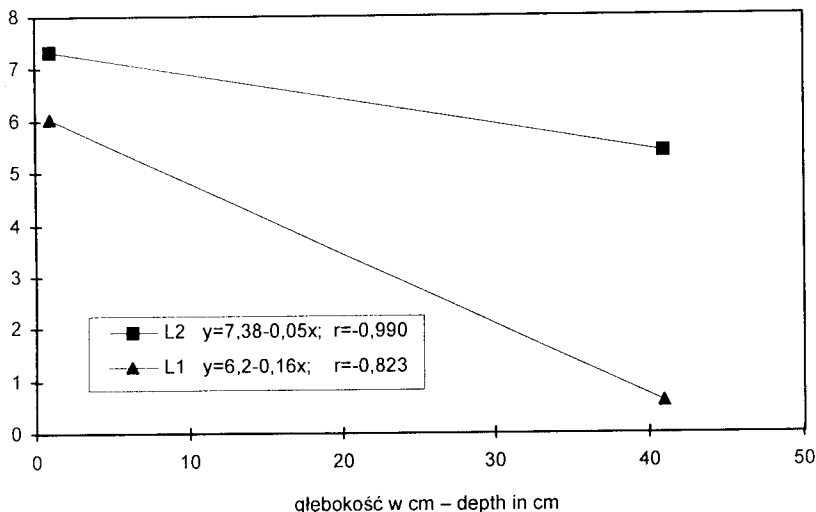
In liczby bakterii/100g gleby
In of number of bacteria/100g of soil



Ryc.28. Proste regresji infiltracji pałeczek Salmonella spp. w glebie rdzawej po upływie 1 tygodnia w okresie lata suchego (L₁) i wilgotnego (L₂)

Fig.28. Regression lines for infiltration of Salmonella spp. in rusty soil during dry summer (L₁) and moist summer (L₂) after 1 week

In liczby bakterii/100g gleby
In of number of bacteria/100g of soil



Ryc.29. Proste regresji infiltracji pałeczek Salmonella spp. w glebie rdzawej po upływie 4 tygodni w okresie lata suchego (L₁) i wilgotnego (L₂)

Fig.29. Regression lines for infiltration of Salmonella spp. in rusty soil during dry summer (L₁) and moist summer (L₂) after 4 weeks

Tabela 10. Zależności pomiędzy ilością wprowadzonych drobnoustrojów fekalnych na poletka kontrolne (K) i doświadczalne (D) a ich koncentracją na poszczególnej głębokości profilu gleby rdzawej

Table 10. Relationship between number of fecal microorganisms put into control (C) and experimental (E) fields, and their concentration on the particular profile depth of rusty soil

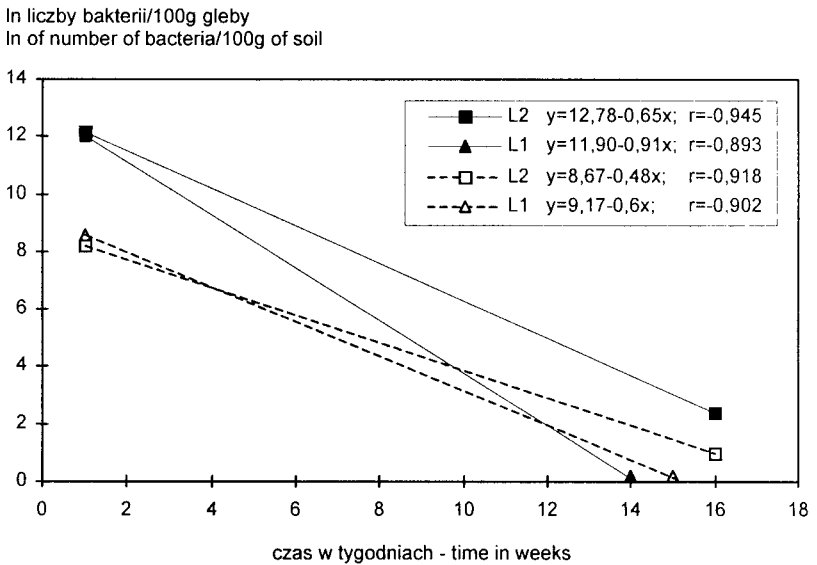
Rodzaj drobnoustrojów Specified microorganism	Poletka Fields	Okresy Periods	Równania Equations
E. coli	D (E)	I, II	$y = - 0,006h + 1,05 (\pm 0,21)$ $r = - 0,945$
	K (C)	I, II	$y = - 0,014h + 1,20 (\pm 0,06)$ $r = - 0,839$
Paciorkowce grupy-D Group D streptococci	D (E)	I, II	$y = - 0,005h + 1,01 (\pm 0,05)$ $r = - 0,911$
	K (C)	I, II	$r = - 0,008h + 1,04 (\pm 0,006)$ $r = - 0,851$

3.2. Przeżywalność bakterii fekalnych w profilu glebowym

Przeprowadzono również obliczenia mające na celu określenie tempa eliminacji drobnoustrojów w poszczególnych warstwach oraz w całości profili gleby rdzawej, np.: 30,31,32,33,34,35,36,37. Uzyskane wyniki wskazują na wyraźny proces eliminacji drob-

noustrojów fekalnych ze wszystkich warstw środowiska glebowego. Najszybszy spadek liczby bakterii w obrębie badanych populacji następował w powierzchniowych warstwach gleby. Na poletkach doświadczalnych na głębokości 12 cm w I okresie badań liczba *E. coli* spadała o 0,91 ln/tydzień (rys.30), zaś enterokoków o 0,92 ln (rys.33). W warstwie 27 cm eliminacja bakterii była wolniejsza i wynosiła odpowiednio o 0,69 ln (rys.31) oraz o 0,38 ln (rys.34) na każdy tydzień prowadzenia obserwacji.

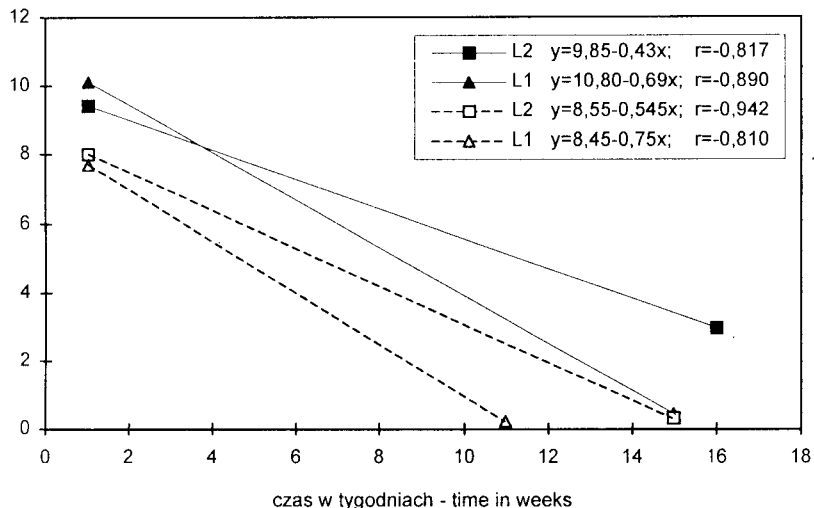
Podobna tendencja charakteryzowała w przeważającym stopniu zachowanie pałeczek *Salmonella* w I okresie badań. Na głębokości 12 cm jej populacja zmniejszała się najszybciej spośród wszystkich obserwowanych w czasie badań - tygodniowo o 1,21 ln, (rys.36), zaś na głębokości 27 cm, o 0,54 ln (rys.37). Należy sądzić, że na ilość drobnoustrojów w poszczególnych warstwach gleby wpływała z jednej strony zdolność przeżywania bakterii allochtonicznych, z drugiej zaś w tym typie gleby następować mógł proces ciągłego wymywania ich w warstwy głębiej leżące. Ponieważ w pierwszym okresie migracja drobnoustrojów w głąb gleby była niewielka, stąd należy przypuszczać, że główną rolę w ich szybkiej eliminacji odgrywało naturalne obumieranie komórek, w drugim zaś udział poszczególnych czynników wyraźnie się na siebie nakładał. Śledząc wyniki badań należy bowiem zauważyć, zróżnicowane oddziaływanie środowiska glebowego na bakterie fekalne w obu okresach badawczych. Dostrzegano to szczególnie w powierzchniowej warstwie gleby, jakkolwiek odnosiło się również do średnich wartości uzyskiwanych dla całego profilu glebowego.



Ryc.30. Proste regresji przeżywalności *E. coli* w glebie rdzawej na głębokości 12 cm w okresie lata suchego (L_1) i wilgotnego (L_2). Oznaczenia jak na rys.13

Fig.30. Regression lines for survival of *E. coli* in rusty soil on the depth 12 cm during dry summer (L_1) and moist summer (L_2). Details as in fig.13

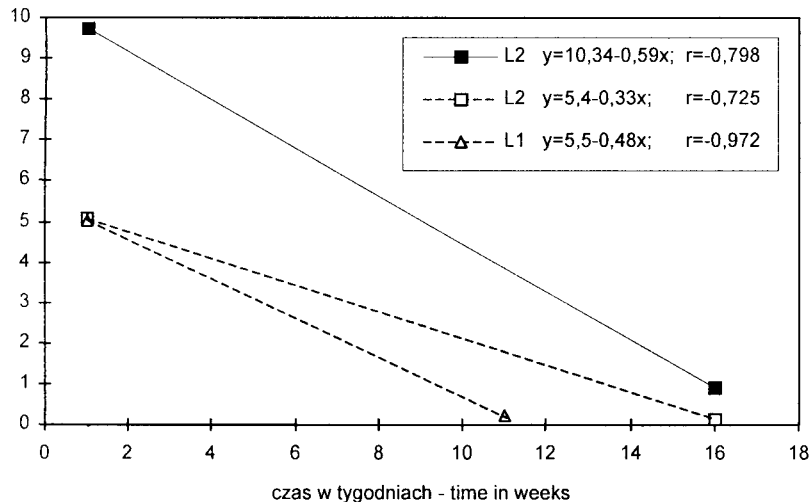
In liczby bakterii/100g gleby
In of number of bacteria/100g of soil



Ryc.31. Proste regresji przeżywalności *E. coli* w glebie rdzawej na głębokości 25 cm w okresie lata suchego (L_1) i wilgotnego (L_2). Oznaczenia jak na rys.13

Fig.31. Regression lines for survival of *E. coli* in rusty soil on the depth 25 cm during dry summer (L_1) and moist summer (L_2). Details as in fig.13

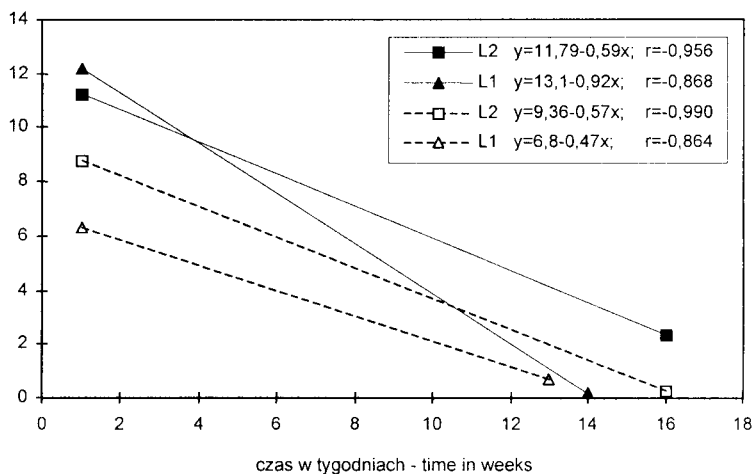
In liczby bakterii/100g gleby
In of number of bacteria/100g of soil



Ryc.32. Proste regresji przeżywalności *E. coli* w glebie rdzawej na głębokości 43 cm w okresie lata suchego (L_1) i wilgotnego (L_2). Oznaczenia jak na rys.13

Fig.32. Regression lines for survival of *E. coli* in rusty soil on the depth 43 cm during dry summer (L_1) and moist summer (L_2). Details as in fig.13

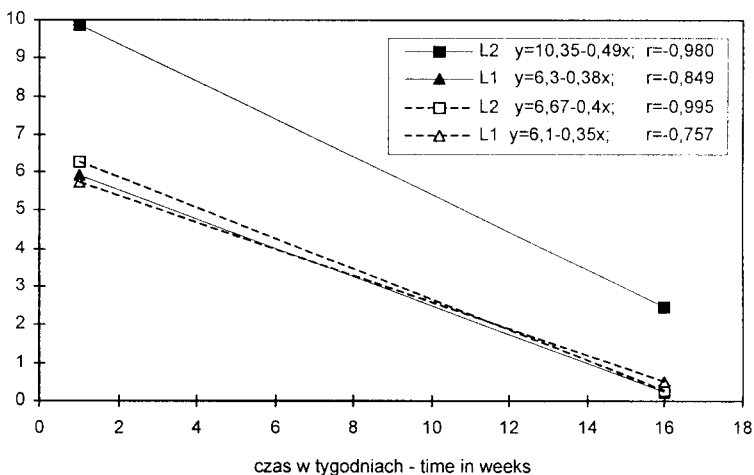
In liczby bakterii/100g gleby
In of number of bacteria/100g of soil



Ryc.33. Proste regresji przeżywalności paciorkowców grupy-D w glebie rdzawej na głębokości 12 cm w okresie lata suchego (L_1) i wilgotnego (L_2). Oznaczenia jak na rys.13

Fig.33. Regression lines for survival of group D streptococci in rusty soil on the depth 12 cm during dry summer (L_1) and moist summer (L_2). Details as in fig.13

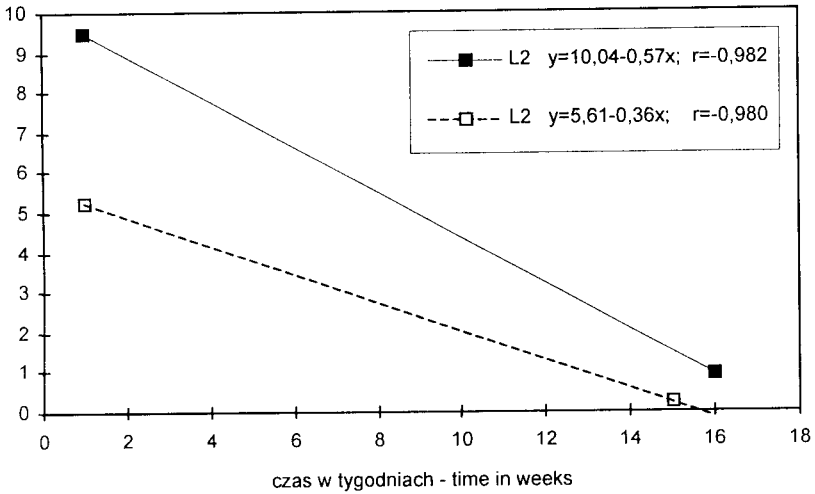
In liczby bakterii/100g gleby
In of number of bacteria/100g of soil



Ryc.34. Proste regresji przeżywalności paciorkowców grupy-D w glebie rdzawej na głębokości 25 cm w okresie lata suchego (L_1) i wilgotnego (L_2). Oznaczenia jak na rys.13

Fig.34. Regression lines for survival of group D streptococci in rusty soil on the depth 25 cm during dry summer (L_1) and moist summer (L_2). Details as in fig.13

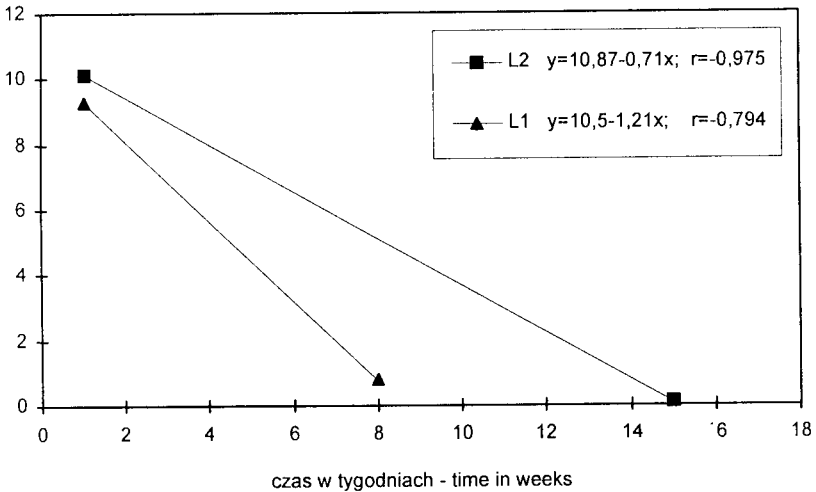
In liczby bakterii/100g gleby
In of number of bacteria/100g of soil



Ryc.35. Proste regresji przeżywalności paciorkowców grupy-D w glebie rdzawej na głębokości 43 cm w okresie lata suchego (L_1) i wilgotnego (L_2). Oznaczenia jak na rys.13

Fig.35. Regression lines for survival of group D streptococci in rusty soil on the depth 43 cm during dry summer (L_1) and moist summer (L_2). Details as in fig.13

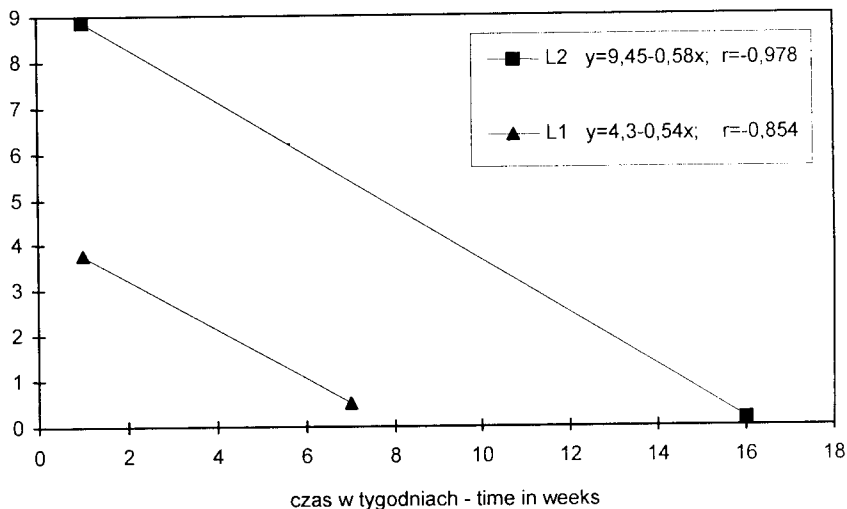
In liczby bakterii/100g gleby
In of number of bacteria/100g of soil



Ryc.36. Proste regresji przeżywalności pałeczek Salmonella spp. w glebie rdzawej na głębokości 12 cm w okresie lata suchego (L_1) i wilgotnego (L_2)

Fig.36. Regression lines for survival of Salmonella spp. in rusty soil on the depth 12 cm during dry summer (L_1) and moist summer (L_2)

ln liczby bakterii/100g gleby
ln of number of bacteria/100g of soil



Ryc.37. Proste regresji przeżywalności pałeczek *Salmonella* spp. w glebie rdzawej na głębokości 25 cm w okresie lata suchego (L_1) i wilgotnego (L_2)

Fig.37. Regression lines for survival of *Salmonella* spp. in rusty soil on the depth 25 cm during dry summer (L_1) and moist summer (L_2)

W okresie wilgotnym współczynniki regresji charakteryzujące tempo eliminacji drobnoustrojów *E. coli* na poletkach D na głębokości 12 cm były o 0,26 ln, enterokoków o 0,33ln a dla pałeczek *Salmonella* o 0,50 ln/tydzień, niższe w porównaniu z okresem pierwszym (rys.30,33,36). Znalazło to odzwierciedlenie w skróceniu czasu, w którym bakterie dawały się wyizolować w I okresie w glebie rdzawej (tab.11).

Tabela 11. Proste regresji ($\ln(N)=ax+b$) charakteryzujące przeżywalność badanych bakterii średnio w całym profilu gleby rdzawej w okresie lata suchego L_1 i wilgotnego L_2 (poletka D i K)

Table 11. Regression lines ($\ln(N)=ax+b$) for mean survival of investigated bacteria in the whole profile of rusty soil during dry summer L_1 and moist summer L_2 (fields E and C)

Sezon Period	Poletka Fields	<i>E. coli</i>	Paciorkowce grupy-D Group D streptococci	<i>Salmonella</i> spp.
L_1	D (E)	$-0.84x + 12,80$ $r = -0,893$	$-0,87x + 13,10$ $r = -0,861$	$-1,22x + 10,6$ $r = -0,792$
	K (C)	$-0,65x + 9,30$ $r = -0,881$	$-0,42x + 7,40$ $r = -0,884$	n.b.
L_2	D (E)	$-0,57x + 12,88$ $r = -0,939$	$-0,56x + 12,21$ $r = -0,971$	$-0,71x + 11,3$ $r = -0,972$
	K (E)	$-0,49x + 9,40$ $r = -0,958$	$-0,57x + 9,62$ $r = -0,987$	n.b.

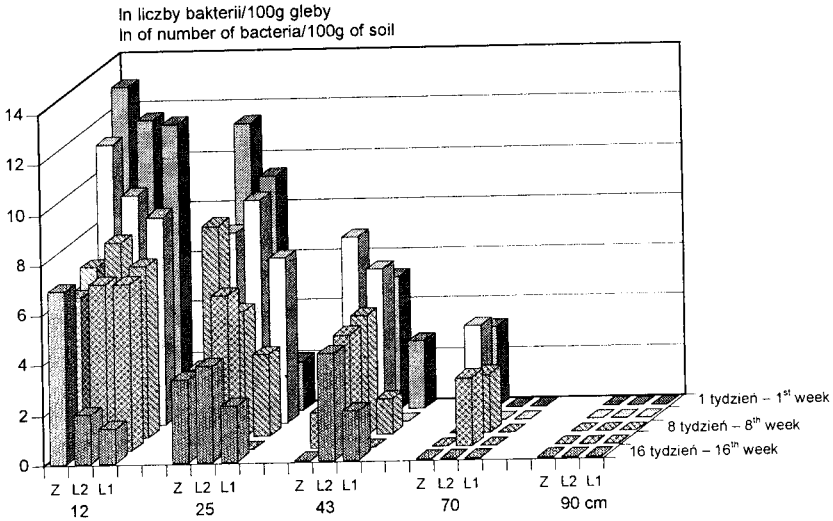
W czasie upalnego lata pałeczki *E. coli* występowały średnio w całym profilu do 15,2 tygodnia, enterokoki do 15,1 zaś pałeczki *Salmonella* były eliminowane na poletkach D już po 8,7 tygodnia. Wydaje się, że w okresie długotrwałej suszy gleba rdzawa posiadająca najwięcej makropor pozbawiona była wilgoci w największym stopniu, co miało bezsprzecznie wpływ na negatywne oddziaływanie środowiska glebowego na procesy życiowe bakterii fekalnych. Ponadto utrudniona w okresie suszy migracja bakterii i duża ich koncentracja w powierzchniowej warstwie gleby mogła doprowadzić do szybszego wykorzystania rezerw pokarmowych. Należy podkreślić, że gleba ta była najmniej zasobna w składniki odżywcze. W efekcie skutkowało to gwałtownym obniżeniem okresu przeżywalności bakterii fekalnych w I okresie badań. W okresie II drobno-ustroje fekalne dawały się izolować z badanej gleby w czasie znacznie dłuższym. Przeżywalność *E. coli* średnio w całym profilu glebowym na poletkach D określono na 22,6 tygodni, pałeczek *Salmonella* na 15,9 tygodni, zaś paciorkowców kałowych na 21,8 tyg. Zdecydowanie wolniej w powierzchniowych warstwach gleby następowała eliminacja bakterii fekalnych na poletkach kontrolnych, zwłaszcza w okresie suszy. Tygodniowy spadek populacji *E. coli* na głębokości 12 cm był o 0,31 ln, a paciorkowców grupy-D o 0,45 ln (rys.30,33) wolniejszy w porównaniu z poletkami D. Przeciętna eliminacja *E. coli* na poletku K była wolniejsza w okresie drugim (0,49 ln/tydzień) w stosunku do pierwszego (0,65 ln/tydzień), zaś w przypadku enterokoków wystąpiła tendencja odwrotna. Nieoczekiwanie spadek populacji paciorkowców kałowych w lecie wilgotnym był o 0,15 ln/tydzień szybszy w porównaniu z obserwowanym w czasie suszy (tab.11). Ponieważ populacja bakterii fekalnych na poletkach kontrolnych była wielokrotnie mniej liczna niż na poletkach doświadczalnych, dlatego też izolowano na nich *E. coli* w krótszym okresie: średnio przez 19,2 tygodnia, zaś enterokoki przez 16,9 tygodnia.

4. Zachowanie bakterii fekalnych w czarnoziemie leśno-łąkowym

4.1. Infiltracja bakterii fekalnych w czarnoziemie leśno-łąkowym

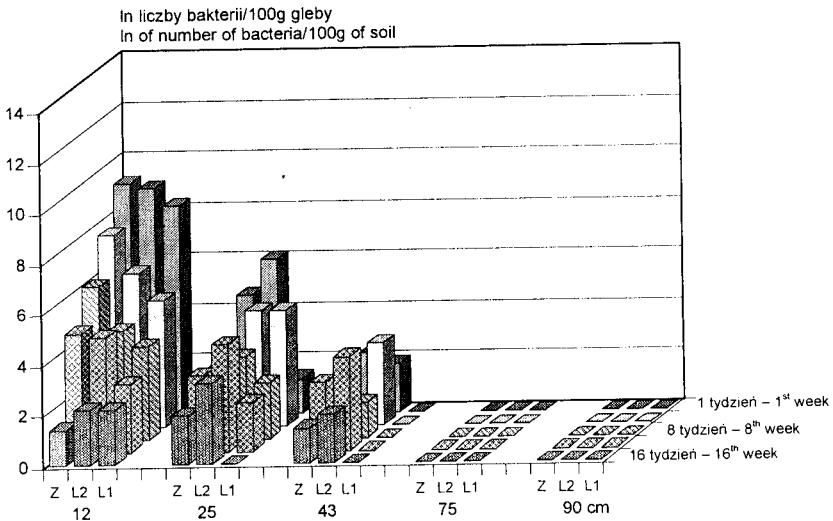
W odróżnieniu od dwóch pozostałych gleb w czarnoziemie prześlędzono zachowanie bakterii kałowych w 3 okresach. Pierwszy obejmował łagodną zimą, drugi suche upalne lato, trzeci zaś - lato wilgotne ze średnimi temperaturami powietrza (tab.2).

Rozmieszczenie badanych drobnoustrojów w postaci ln/100 g gleby w poszczególnych okresach badań ilustrują rys.38-42. Najwięcej drobnoustrojów podobnie jak w dwóch poprzednich profilach glebowych obserwowano na poletkach D w górnej 12 centymetrowej warstwie gruntu. Po upływie 7 dni od wylania gnojowicy w pobranych 100 gramowych próbkach gleby występowało od $9,5 \times 10^4$ bakterii *E. coli* w czasie lata suchego do $4,5 \times 10^5$ kolonii *E. coli* w okresie zimowym (rys.38). Liczba izolowanych enterokoków wahała się od $4,5 \times 10^4$ kolonii/100 g w czasie suchego lata do $6,5 \times 10^5$ komórek/100g gleby w lecie wilgotnym (rys.40).



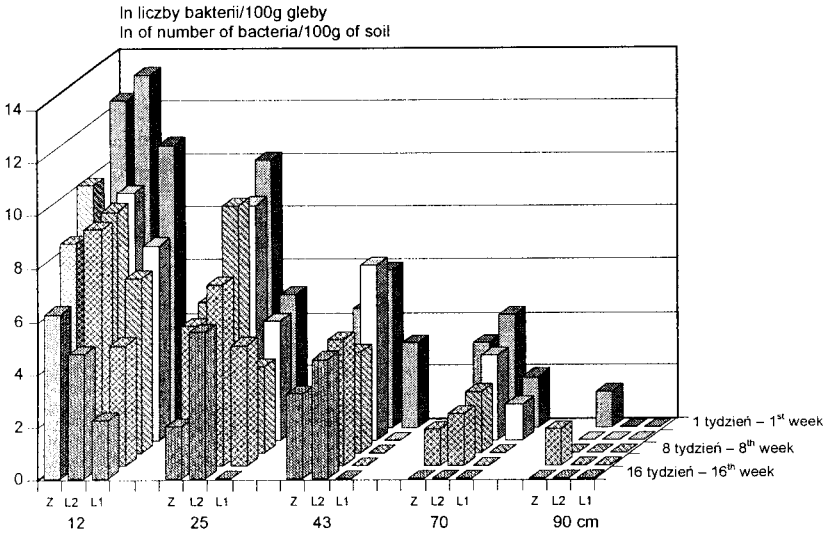
Rys.38. Liczba *E. coli* wyrażona w ln/100 g czarnoziemiu leśno-łąkowego na różnej głębokości w okresie zimy (Z), lata suchego (L_1) i wilgotnego (L_2) - poletka D

Fig.38. Number of *E. coli* expressed in ln/100 g forest meadow chernozem on different depth during winter (Z), dry summer (L_1) and moist summer (L_2) - fields E



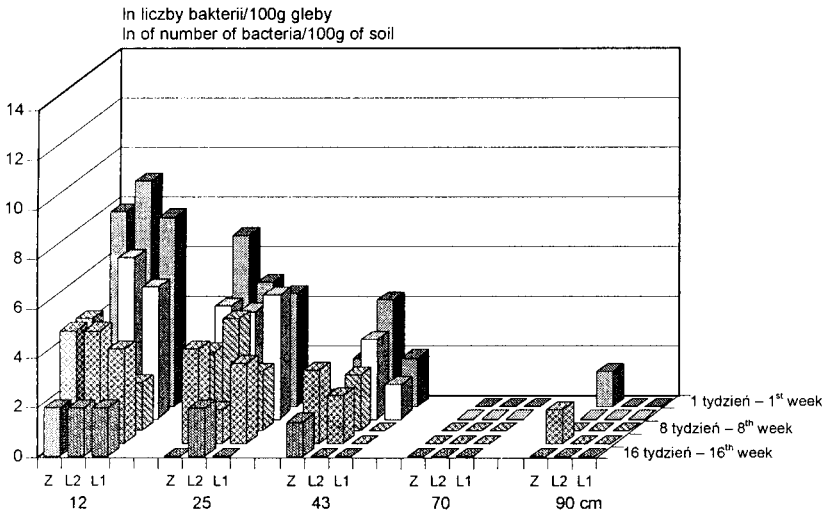
Rys.39. Liczba *E. coli* wyrażona w ln/100 g czarnoziemiu leśno-łąkowego na różnej głębokości w okresie zimy (Z), lata suchego (L_1) i wilgotnego (L_2) - poletka K

Fig.39. Number of *E. coli* expressed in ln/100 g forest meadow chernozem on different depth during winter (Z), dry summer (L_1) and moist summer (L_2) - fields C



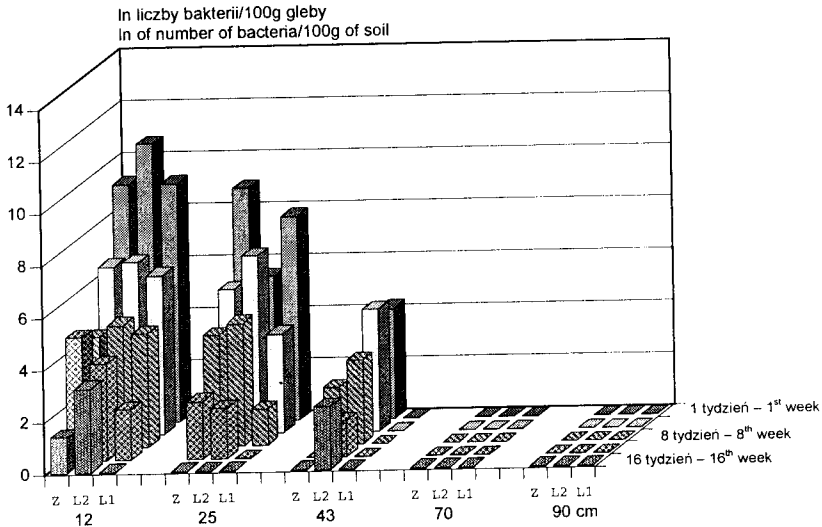
Rys.40. Liczba paciorkowców grupy-D wyrażona w ln/100 g czarnoziemu leśno-łąkowego na różnej głębokości w okresie zimy (Z), lata suchego (L₁) i wilgotnego (L₂) - poletka D

Fig.40. Number of group D streptococci expressed in ln/100 g forest meadow chernozem on different depth during winter (Z), dry summer (L₁) and moist summer (L₂) - fields E



Rys.41. Liczba paciorkowców grupy-D wyrażona w ln/100 g czarnoziemu leśno-łąkowego na różnej głębokości w okresie zimy (Z), lata suchego (L₁) i wilgotnego (L₂) - poletka K

Fig.41. Number of group D streptococci in expressed ln/100 g forest meadow chernozem on different depth during winter (Z), dry summer (L₁) and moist summer (L₂) - fields C



Rys.42. Liczba pałeczek *Salmonella* spp. wyrażona w ln/100 g czarnoziemiu leśno-łąkowego na różnej głębokości w okresie zimy (Z), lata suchego (L_1) i wilgotnego (L_2) - poletka D

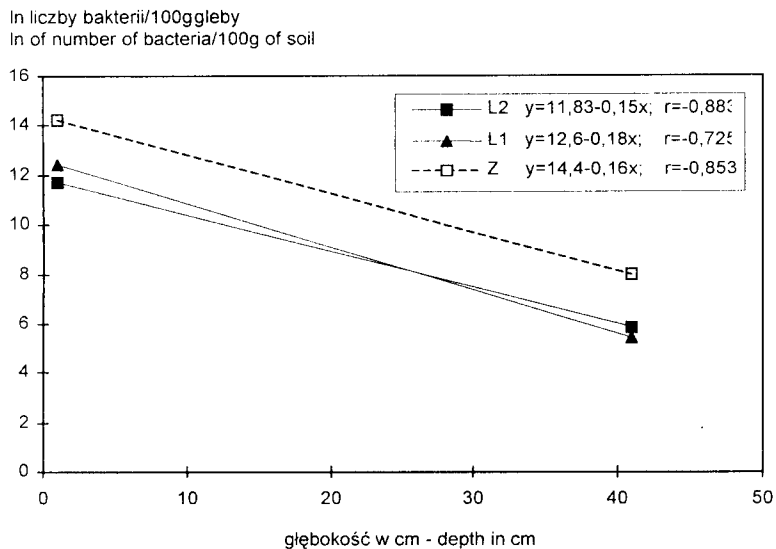
Fig.42. Number of *Salmonella* spp. expressed in ln/100 g forest meadow chernozem on different depth during winter (Z) dry summer (L_1) and moist summer (L_2) - fields E

Najkorzystniejsze warunki dla przemieszczania się drobnoustrojów w początkowym okresie trwania doświadczenia wystąpiły podczas mokrego lata i zimy. Po upływie 1 tygodnia obserwowano na poletkach D na głębokości 43 cm od $9,5 \times 10^1$ do $4,0 \times 10^2$ kolonii paciorkowców kałowych i od $7,5 \times 10^1$ do $2,0 \times 10^2$ kolonii *E. coli*/100 g gleby. W okresie suszy migracja bakterii była wyraźnie ograniczona i drobnoustroje, a zwłaszcza *E. coli*, w minimalnych ilościach przedostawały się w głębsze warstwy gleby.

Oceniając zachowanie bakterii w 4-miesięcznych cyklach badawczych należy podkreślić stosunkowo dużą stabilność obserwowanych zmian. Poza ilościowymi zmianami w górnych poziomach gleby nie zaobserwowano znacznych przesunięć populacji bakterii fekalnych w głąb profilu glebowego. Sporadycznie i w niewielkich ilościach przedostawały się one poza warstwę 43 cm w okresach wilgotnych i poza 23 cm w okresie suszy. Wydaje się, że głównie ze względu na własności fizykochemiczne głębszych warstw gleby warunkujące jej przepuszczalność, pomimo korzystnych w pewnych okresach warunków wilgotnościowych, nie stwierdzono głębszej migracji badanych bakterii. Na podkreślenie zasługuje bardzo niska wartość współczynnika filtracji warstw głębiej leżących, który był 10-krotnie niższy w porównaniu z warstwami powierzchniowymi. Stanowiło to wyraźny czynnik hamujący ruch bakterii fekalnych w glebie (tab.7).

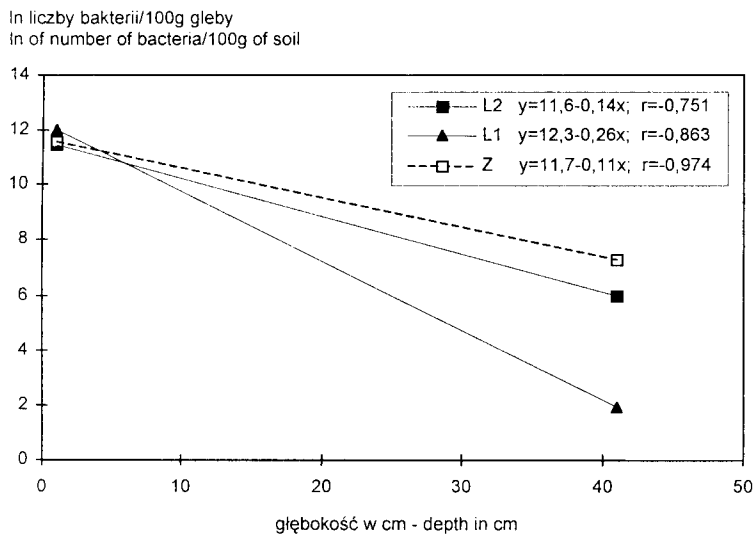
Kinetykę przemieszczania się drobnoustrojów kałowych w głąb gleby ilustrują wyliczone proste regresji (rys.43-50). Przedstawiają one spadek liczby bakterii w postaci ln wraz z głębokością dla poszczególnych okresów badań oraz dla całych cykli. Najniższe ujemne wartości współczynników regresji, a zatem najintensywniejszy spadek liczby bakterii, występowały w okresie suszy. Znacznie wyższe współczynniki charakteryzują pozo-

stałe okresy badań. Szczególnie widoczne różnice wystąpiły w 4 tygodniu trwania poszczególnych cykli badawczych.



Rys.43. Proste regresji infiltracji *E. coli* w czarnoziemie leśno-łąkowym po upływie 1 tygodnia w okresie zimy (Z), lata suchego (L_1) i wilgotnego (L_2) - poletka D

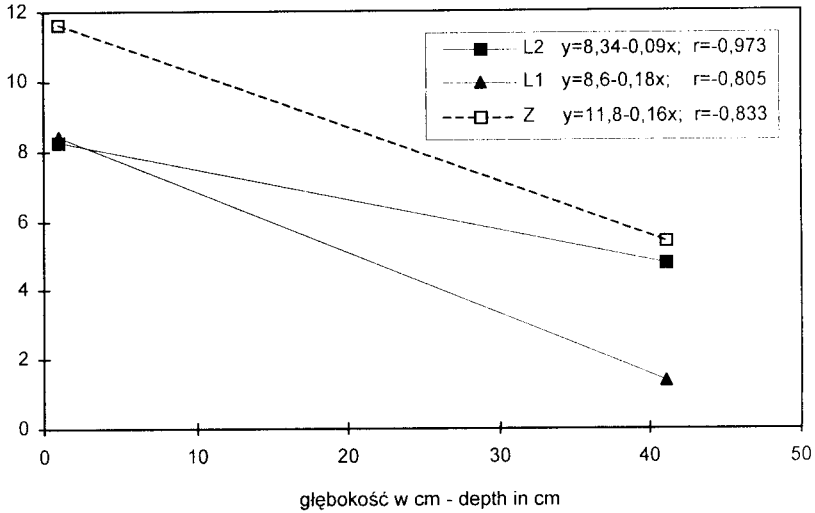
Fig.43. Regression lines for infiltration of *E. coli* in forest meadow chernozem during winter (Z) dry summer (L_1) and moist summer (L_2) after 1 week - fields E



Rys.44. Proste regresji infiltracji *E. coli* w czarnoziemie leśno-łąkowym po upływie 4 tygodni w okresie zimy (Z), lata suchego (L_1) i wilgotnego (L_2) - poletka D

Fig.44. Regression lines for infiltration of *E. coli* in forest meadow chernozem during winter (Z), dry summer (L_1) and moist summer (L_2) after 4 weeks - fields E

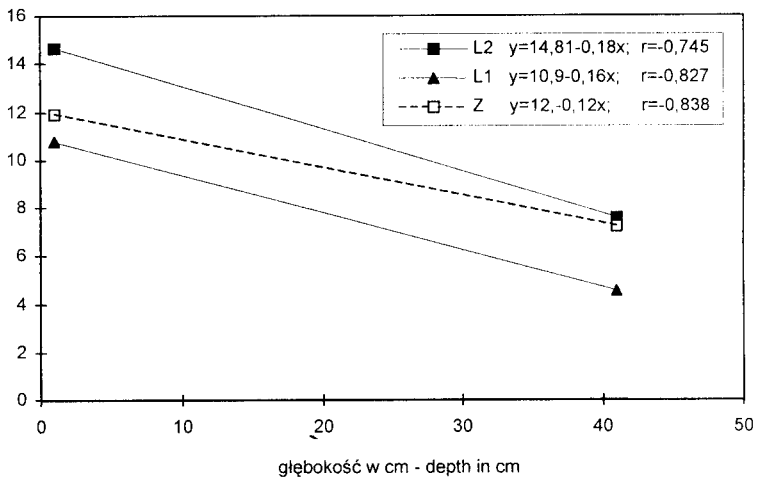
In liczby bakterii/100g gleby
In of number of bacteria/100g of soil



Rys.45. Proste regresji infiltracji E. coli w czarnoziemie leśno-łąkowym po upływie 8 tygodni w okresie zimy (Z), lata suchego (L₁) i wilgotnego (L₂) - poletka D

Fig.45. Regression lines for infiltration of E. coli in forest meadow chernozem during winter (Z), dry summer (L₁) and moist summer (L₂) after 8 weeks - fields E

In liczby bakterii/100g gleby
In of number of bacteria/100g of soil

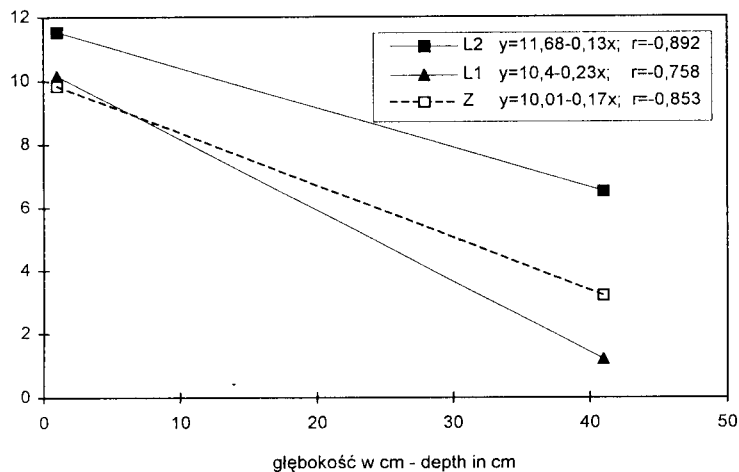


Rys.46. Proste regresji infiltracji paciorkowców grupy-D w czarnoziemie leśno-łąkowym po upływie 1 tygodnia w okresie zimy (Z), lata suchego (L₁) i wilgotnego (L₂) - poletka D

Fig.46. Regression lines for infiltration of group D streptococci in forest meadow chernozem during winter (Z), dry summer (L₁) and moist summer (L₂) after 1 week - fields E

In liczby bakterii/100ggleby

In of number of bacteria/100g of soil

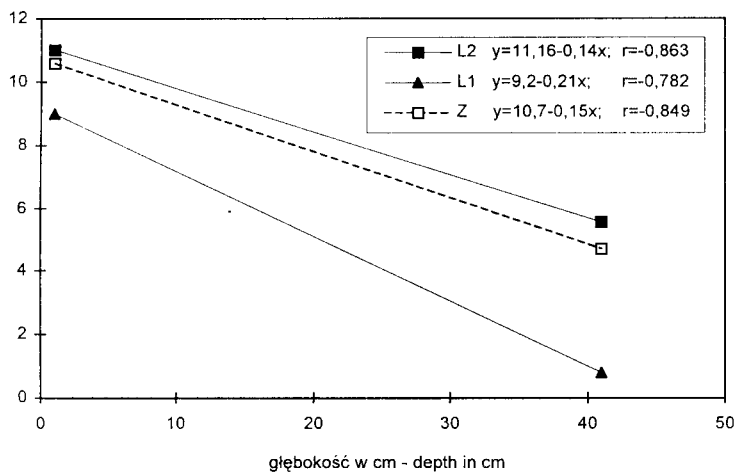


Rys.47. Proste regresji infiltracji paciorkowców grupy-D w czarnoziemie leśno-łąkowym po upływie 4 tygodni w okresie zimy (Z), lata suchego (L₁) i wilgotnego (L₂) - poletka D

Fig.47. Regression lines for infiltration of group D streptococci in forest meadow chernozem during winter (Z), dry summer (L₁) and moist summer (L₂) after 4 weeks - fields E

In liczby bakterii/100g gleby

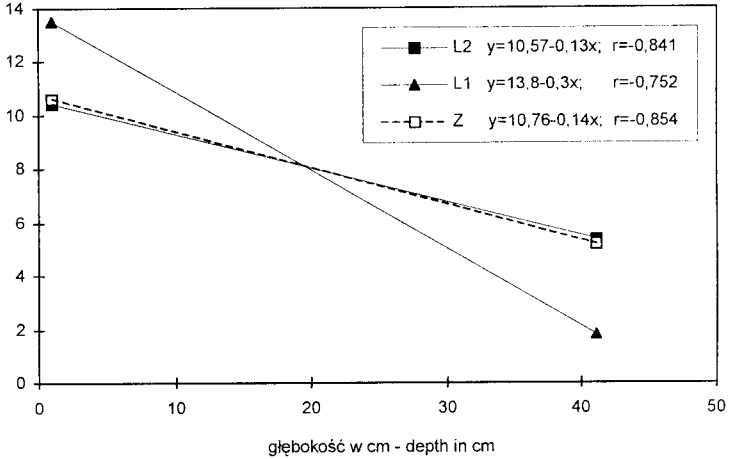
In of number of bacteria/100g of soil



Rys.48. Proste regresji infiltracji paciorkowców grupy-D w czarnoziemie leśno-łąkowym po upływie 8 tygodnia w okresie zimy (Z), lata suchego (L₁) i wilgotnego (L₂) - poletka D

Fig.48. Regression lines for infiltration of group D streptococci in forest meadow chernozem during winter (Z), dry summer (L₁) and moist summer (L₂) after 8 weeks - fields E

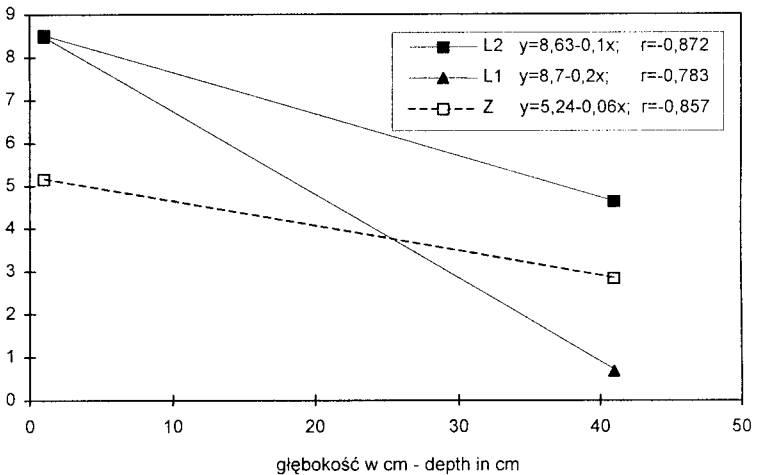
In liczby bakterii/100g gleby
In of number of bacteria/100g of soil



Rys.49. Proste regresji infiltracji pałeczek Salmonella spp. w czarnoziemie leśno-łąkowym po upływie 1 tygodnia w okresie zimy (Z), lata suchego (L₁) i wilgotnego (L₂) - poletka D

Fig.49. Regression lines for infiltration of Salmonella spp. in forest meadow chernozem during winter (Z), dry summer (L₁) and moist summer (L₂) after 1 week - fields E

In liczby bakterii/100g gleby
In of number of bacteria/100g of soil



Rys.50. Proste regresji infiltracji pałeczek Salmonella spp. w czarnoziemie leśno-łąkowym po upływie 4 tygodni w okresie zimy (Z), lata suchego (L₁) i wilgotnego (L₂) - poletka D

Fig.50. Regression lines for infiltration of Salmonella spp. in forest meadow chernozem during winter (Z), dry summer (L₁) and moist summer (L₂) after 4 weeks - fields E

W lecie suchym na poletku D z każdym centymetrem głębokości gleby koncentracja *E. coli* zmniejszała się o 0,26 ln, w czasie lata wilgotnego o 0,14 ln i o 0,11 ln w okresie zimy (rys.44). Podobnie liczba enterokoków (rys.47) wraz z głębokością malała najszybciej w lecie suchym (o 0,23 ln), zdecydowanie wolniej w lecie wilgotnym (o 0,13 ln) i pośrednio zimą (o 0,17 ln). W przypadku pałeczek *Salmonella* wyraźne różnice wystąpiły pomiędzy latem suchym (o 0,30 ln), mokrym (o 0,13 ln) i zimą (o 0,14 ln) w 1 tygodniu trwania doświadczeń (rys.49), a także po upływie 1 miesiąca odpowiednio w poszczególnych porach roku - o 0,20 ln; 0,10 ln i 0,06 ln (rys.50).

Uzyskane dane wyraźnie wskazują, że proces wsiąkania i migracji drobnoustrojów w profil glebowy najtrudniej przebiegał w okresie suszy; łatwiej zaś w okresie zimy i wilgotnego lata. W początkowych okresach badań najtrudniej w czarnoziemie leśno-łąkowym następowała migracja pałeczek *Salmonella*. W 1 tygodniu badań spadek jej liczby na każdy centymetr głębokości wynosił 0,30 ln (rys.49), zaś w przypadku *E. coli* i paciorkowców kałowych tylko 0,18 i 0,16 ln (rys.43 i 46). W okresie wilgotnego lata i zimy rozmieszczenie badanych bakterii po upływie 1 tygodnia było podobne. W ósmym tygodniu trwania doświadczeń (rys.45 i 48) w okresie suszy (L_1) obserwowano łatwiejsze przemieszczanie się *E. coli* (spadek o 0,09 ln/cm) w stosunku do pozostałych gatunków bakterii (spadek o 0,14 ln/cm).

Na poletkach kontrolnych występowały podobne tendencje. Zarówno w 1, 4, jak i 8 tygodniu badań, dla których przeprowadzono analizy statystyczne, współczynniki regresji charakteryzujące tempo spadku liczby bakterii fekalnych wraz z głębokością były wyraźnie niższe w okresie lata suchego - L_1 w porównaniu z latem wilgotnym - L_2 i zimą - Z (tab.12).

Tabela 12. Proste regresji infiltracji badanych bakterii w czarnoziemie leśno-łąkowym po upływie 1,4 i 8 tygodni w okresie lata suchego L_1 , wilgotnego L_2 i zimy Z (poletka K)

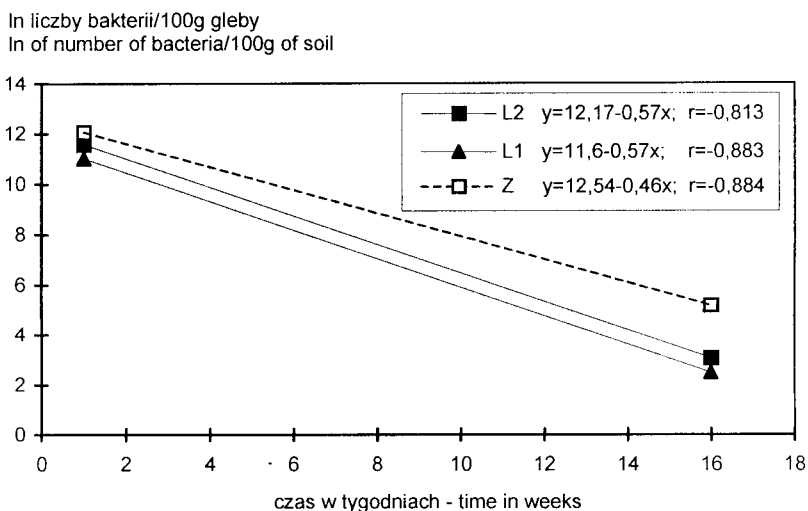
Table 12. Regression lines for infiltration of investigated bacteria in forest meadow chernozem after 1,4, and 8 weeks during dry summer L_1 , moist summer L_2 and winter Z (fields C)

Czas Time	Sezon Period	<i>E. coli</i>	Paciorkowce grupy-D Group D streptococci
1 tydzień week	L_1	$-0,37x + 7,44$	$-0,33x + 7,40$
	L_2	$-0,11x + 8,97$	$-0,11x + 9,23$
	Z	$-0,14x + 9,50$	$-0,13x + 9,40$
4 tydzień week	L_1	$-0,35x + 5,65$	$-0,39x + 6,60$
	L_2	$-0,08x + 6,85$	$-0,08x + 6,89$
	Z	-	-
8 tydzień week	L_1	-	$-0,28x + 2,40$
	L_2	$-0,06x + 4,59$	$-0,05x + 4,74$
	Z	$-0,13x + 7,20$	$-0,13x + 7,10$

W okresie suszy na poletkach kontrolnych spadek liczby badanych bakterii wraz ze wzrostem głębokości następował szybciej w porównaniu z poletkami doświadczalnymi. Dotyczyło to większości badanych układów. Natomiast w okresie lata wilgotnego i zimy występowały tendencje odwrotne.

4.2. Przeżywalność bakterii fekalnych w czarnoziemie leśno-łąkowym

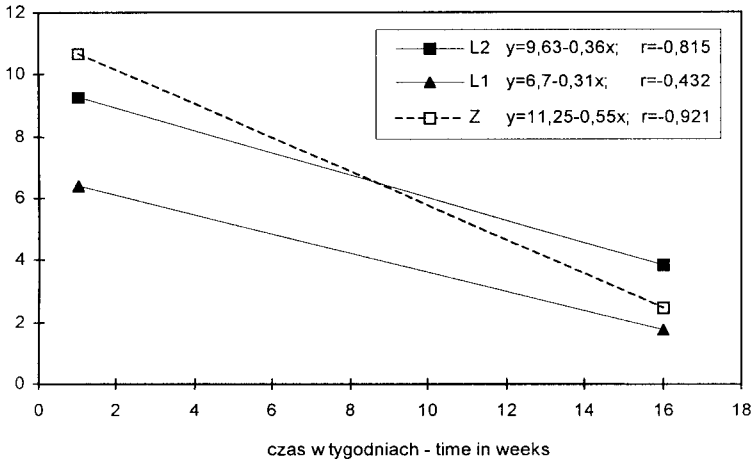
W trakcie badań obserwowano proces eliminacji wprowadzanych do gleby bakterii. Przebiegał on z różnym nasileniem i uzależniony był zarówno od głębokości, sezonu badawczego, jak i rodzaju bakterii (rys.51 i 56). Ponieważ w większości układów obserwowano występowanie bakterii fekalnych w końcowym okresie badań, przeżywalność ich wyznaczano również na podstawie wyliczonych prostych regresji. W powierzchniowej warstwie czarnoziemiu najwolniejszy tygodniowy spadek liczby *E. coli* na poletkach D - o 0,46 ln/tydzień występował w okresie zimy (rys.51). Przeżywalność bakterii wynosiła wówczas 27,3 tygodnia. Niespodziewanie w okresie suszy i mokrego lata była ona dość wyrównana i wahała się od 20,3 do 21,3 tyg. W głębszych warstwach gleby wystąpiła tendencja odmienna. Tygodniowy spadek liczby *E. coli* na poletkach D był najwyższy zimą (o 0,55 ln), niższy zaś w okresie L₁ (o 0,31 ln) i L₂ (o 0,36 ln) (rys.52). Jednak pomimo tego średnio w całym profilu glebowym najdłużej przeżywały *E. coli* zimą (32,5 tyg.), najkrócej zaś w suchym lecie (23,1 tyg.) (tab.12). Podobnie zachowywały się paciorkowce grupy-D w okresie prowadzonych badań.



Rys.51. Proste regresji przeżywalności *E. coli* w czarnoziemie leśno-łąkowym na głębokości 12 cm w okresie zimy (Z), lata suchego (L₁) i wilgotnego (L₂) - poletka D

Fig.51. Regression lines for survival of *E. coli* in forest meadow chernozem on the depth 12 cm during winter (Z), dry summer (L₁) and moist summer (L₂) - fields E

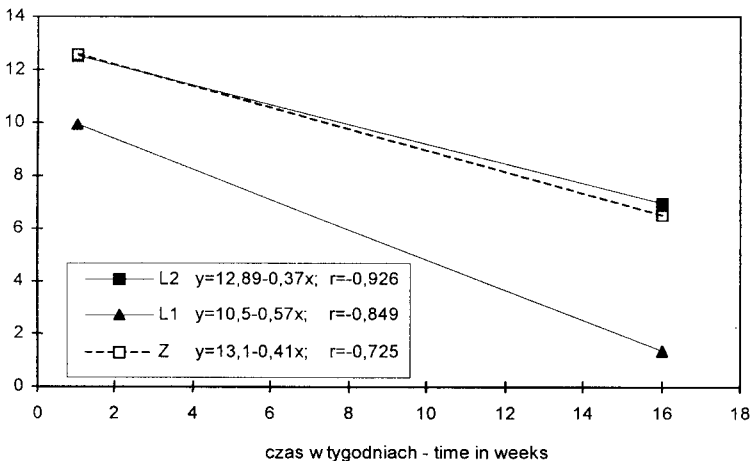
In liczby bakterii/100ggleby
In of number of bacteria/100g of soil



Rys.52. Proste regresji przeżywalności *E. coli* w czarnoziemie leśno-łąkowym na głębokości 25 cm w okresie zimy (Z), lata suchego (L_1) i wilgotnego (L_2) - poletka D

Fig.52. Regression lines for survival of *E. coli* in forest meadow chernozem on the depth 25 cm during winter (Z), dry summer (L_1) and moist summer (L_2) - fields E

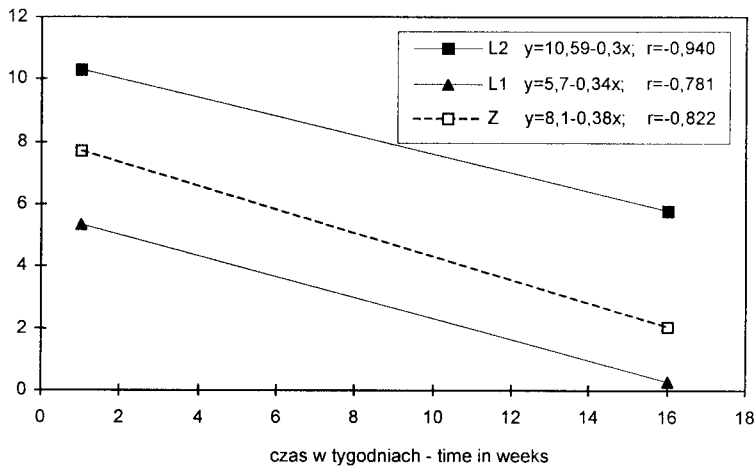
In liczby bakterii/100ggleby
In of number of bacteria/100g of soil



Rys.53. Proste regresji przeżywalności paciorkowców grupy-D w czarnoziemie leśno-łąkowym na głębokości 12 cm w okresie zimy (Z), lata suchego (L_1) i wilgotnego (L_2) - poletka D

Fig.53. Regression lines for survival of group D streptococci in forest meadow chernozem on the depth 12 cm during winter (Z), dry summer (L_1) and moist summer (L_2) - fields E

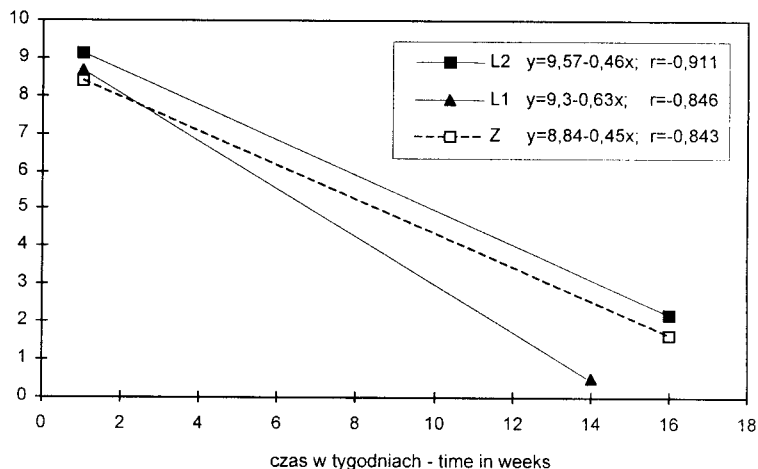
In liczby bakterii/100g gleby
In of number of bacteria/100g of soil



Rys.54. Proste regresji przeżywalności paciorkowców grupy-D w czarnozemie leśno-łąkowym na głębokości 27 cm w okresie zimy (Z), lata suchego (L₁) i wilgotnego (L₂) - poletka D

Fig.54. Regression lines for survival of group D streptococci in forest meadow chernozem on the depth 27 cm during winter (Z), dry summer (L₁) and moist summer (L₂) - fields E

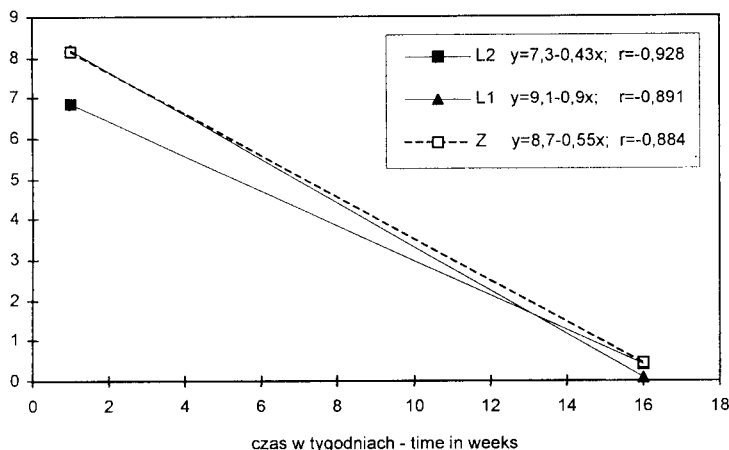
In liczby bakterii/100g gleby
In of number of bacteria/100g of soil



Rys.55. Proste regresji przeżywalności pałeczek Salmonella spp. w czarnozemie leśno-łąkowym na głębokości 12 cm w okresie zimy (Z), lata suchego (L₁) i wilgotnego (L₂).

Fig.55. Regression lines for survival of Salmonella spp. in forest meadow chernozem on the depth 12 cm during winter (Z), dry summer (L₁) and moist summer (L₂)

In liczby bakterii/100g gleby
ln of number of bacteria/100g of soil



Rys.56. Proste regresji przeżywalności pałeczek *Salmonella* spp. w czarzoziemiu leśno-łąkowym na głębokości 27 cm w okresie zimy (Z), lata suchego (L_1) i wilgotnego (L_2) - poletka D

Fig.56. Regression lines for survival of *Salmonella* spp. in forest meadow chernozem on the depth 27 cm during winter (Z), dry summer (L_1) and moist summer (L_2) - fields E

Ubytek ich populacji, średni w całym profilu glebowym, następował najszybciej w czasie suszy (o 0,48 ln/tydzień), zaś wolniej w lecie wilgotnym (o 0,31 ln/tydz.) i zimą (o 0,38 ln/tydzień) (tab.13). Prawidłowość ta wystąpiła także w odniesieniu do pałeczek *Salmonella*. Na głębokości 12 i 27 cm (rys.55 i 56) oraz średnio dla całego profilu glebowego (tab.13) najszybsza redukcja ich liczby występowała w lecie suchym w porównaniu z pozostałymi sezonami badań. Przeżywalność ich wahała się średnio dla całego profilu od 14,6 tygodni w okresie suszy do 21,8 tygodni w czasie wilgotnego lata.

Na poletkach K obserwowano inne zależności. Średnio dla całej gleby najszybszy tygodniowy spadek *E. coli* wystąpił w okresie zimy (o 0,42 ln), najwolniejszy zaś w czasie wilgotnego lata (o 0,30 ln). Paciorkowce kałowe w obu okresach letnich zachowywały się podobnie i przeżywalność ich wynosiła od 20,5 tygodni (susza) do 22,4 tygodnia w okresie wilgotnym.

Tempo obumierania bakterii fekalnych w glebie często malało w głębszych jej partiach. W okresie wilgotnego lata tygodniowy ubytek liczebności bakterii *Salmonella* wynosił: na głębokości 12 cm 0,46 ln (rys.55); w warstwie 27 cm 0,43 ln (rys.56), zaś na głębokości 43 cm tylko 0,19 ln. Dla enterokoków na poletkach D wartości tygodniowego spadku na tej samej głębokości wynosiły odpowiednio: 0,37 ln, 0,30 ln i 0,13 ln. Zjawisko to obserwowano niejednokrotnie również w okresie suszy. Na głębokości 12 cm liczba *E. coli* w ciągu tygodnia malała o 0,57 ln (rys.51), a w warstwie 27 cm o 0,31 ln (rys.52). W przypadku paciorkowców grupy-D odpowiednio: o 0,57 i 0,34 ln (rys.53 i 54).

Tabela 13. Proste regresji ($\ln(N)=ax+b$) charakteryzujące przeżywalność badanych bakterii w czarnoziemie leśno-łąkowym średnio w całym profilu w okresie lata suchego L_1 , wilgotnego L_2 i zimy Z (poletka K i D)

Table 13. Regression lines ($\ln(N)=ax+b$) for mean survival of investigated bacteria in the whole profile of forest meadow chernozem during dry summer L_1 , moist summer L_2 and winter Z (fields C and E)

Sezon Period	Poletka Fields	E. coli	Paciorkowce grupy-D Group D Streptococci	Salmonella spp.
L_1	D (E)	$-0,49x + 11,30$ $r = -0,831$	$-0,48x + 10,50$ $r = -0,874$	$-0,65x + 9,52$ $r = -0,851$
	K (C)	$-0,38x + 7,70$ $r = -0,853$	$-0,37x + 7,60$ $r = -0,893$	-
L_2	D (E)	$-0,43x + 11,87$ $r = -0,891$	$-0,31x + 12,98$ $r = -0,990$	$-0,46x + 10,04$ $r = -0,781$
	K (C)	$-0,30x + 8,21$ $r = -0,897$	$-0,39x + 8,73$ $r = -0,961$	-
Z	D (E)	$-0,40x + 12,98$ $r = -0,956$	$-0,38x + 13,0$ $r = -0,725$	$-0,49x + 9,55$ $r = -0,863$
	K(C)	$-0,42x + 9,63$ $r = -0,893$	$-0,49x + 11,30$ $r = -0,851$	-

Środowisko glebowe oddziaływało na poszczególne drobnoustroje fekalne w sposób zróżnicowany. Z jednej strony wpływ ten uzależniony był od pory roku, z drugiej zaś - od głębokości. W powierzchniowej warstwie gleby poletek doświadczalnych (D) najwolniej eliminowane były enterokoki, zwłaszcza w lecie mokrym i zimą. Nie zaobserwowano znacznych różnic w zachowaniu pomiędzy badanymi bakteriami w okresie suszy. Na uwagę zasługuje zwłaszcza wysoki i wyrównany stopień eliminacji E. coli w obu sezonach letnich. Należy zauważyć, że tygodniowe tempo eliminacji E. coli zimą (o 0,46 ln) i w lecie wilgotnym (o 0,57 ln) było nawet wyższe niż Salmonelli w tych samych okresach (odpowiednio o 0,45 i 0,46 ln/tydzień). Z kolei pałeczki Salmonella wyjątkowo szybko zanikały w glebie w czasie suszy (o 0,63 ln/tydzień). W głębszych warstwach środowisko glebowe najkorzystniej oddziaływało na enterokoki i E. coli we wszystkich sezonach badawczych, zaś najmniej korzystnie na pałeczki z rodzaju Salmonella.

Mając jednak na uwadze cały profil glebowy należy zaznaczyć, że najwyższy stopień eliminacji we wszystkich cyklach badawczych charakteryzował pałeczki Salmonella, zaś poza okresem wilgotnym wyrównana przeżywalność cechowała E. coli i paciorkowce grupy-D (tab.13).

Kinetyka zmian ilościowych wyraźnie różniła się w poszczególnych sezonach badawczych. W okresie zimy i wilgotnego lata w końcowej fazie cykli proces obumierania bakterii fekalnych przebiegał wolniej niż w okresie suszy. Zwykle notowano do kilkuset drobnoustrojów w 100 g gleby jeszcze w 16 tygodniu trwania doświadczenia. Podczas suszy natomiast następował radykalny spadek liczby bakterii fekalnych przez cały okres,

skutkiem czego w końcowej fazie cykli nie wykrywano ich w glebie lub występowały w ilości zbliżonej do czułości metody.

5. Wpływ zróżnicowanych środowisk glebowych na przeżywalność drobnoustrojów fekalnych

Przeżywalność badanych bakterii była uzależniona w znacznym stopniu od rodzaju podłoża glebowego. Zależności te były szczególnie widoczne na poletkach doświadczalnych. W okresie suszy w powierzchniowej warstwie gruntu (tab.14) badane bakterie fekalne charakteryzowały się najkrótszą przeżywalnością w glebie rdzawej.

Tabela 14. Proste regresji ($\ln(N)=ax+b$) charakteryzujące przeżywalność badanych bakterii w powierzchniowych warstwach badanych gleb w okresie L₁ (poletka D)

Table 14. Regression lines ($\ln(N)=ax+b$) for mean survival of investigated bacteria in the surface layers of tested soils during dry summer L₁ (fields E)

Typ gleby Soil type	E. coli	Paciorkowce grupy-D Group D streptococci	Salmonella spp.
Płowa Lessive	$-0,69x + 12,42$ $r = -0,891$	$-0,60x + 11,32$ $r = -0,899$	$-0,60x + 8,60$ $r = -0,893$
Rdzawa Rusty	$-0,91x + 11,90$ $r = -0,893$	$-0,92x + 13,10$ $r = -0,868$	$-1,21x + 10,51$ $r = -0,794$
Czarnoziem Chernozem	$-0,57x + 11,60$ $r = -0,883$	$-0,57x + 10,50$ $r = -0,849$	$-0,63x + 9,30$ $r = -0,846$

Wynosiła ona dla E. coli 13,1 tygodnia, enterokoków 14,2 i pałeczek Salmonella 8,7 tygodnia. Nie stwierdzono wyraźnych różnic pomiędzy przeżywalnością paciorkowców kałowych i pałeczek Salmonella w powierzchniowych warstwach czarnoziemiu i gleby płowej. Wahala się ona od 18,4 tygodnia w czarnoziemiu do 18,8 tygodnia w glebie płowej dla paciorkowców kałowych i odpowiednio, od 14,1 do 14,8 tygodnia dla pałeczek Salmonella. Jedynie bakterie E. coli zamierały szybciej w glebie płowej (po 18 tygodniach) w porównaniu z czarnoziemem (po 20,3 tygodnia). Należy zaznaczyć, że średnio w całości profili glebowych, w których stwierdzono obecność bakterii fekalnych najkorzystniejsze warunki bytowania wyliczone na podstawie analizy prostych regresji (tab.15) dla E. coli (23,1 tygodnia) i enterokoków (21,9 tygodnia) występowały w czarnoziemiu, pośrednie w glebie płowej, a najłabsze w glebie rdzawej - odpowiednio 15,2 i 15 tygodni. Drobnoustroje z rodzaju Salmonella ginęły w podobnym czasie w glebie płowej i czarnoziemiu (od 14,4 do 14,6 tygodnia) najszybciej zaś w glebie rdzawej (8,7 tygodnia).

W okresie lata wilgotnego przeżywalność wszystkich bakterii była ogólnie zdecydowanie dłuższa. Oddziaływanie gleby płowej i czarnoziemiu na populację E. coli w odniesieniu do całego profilu było podobne, bowiem występowały one w glebie odpowiednio od 26,7 do 27,6 tygodnia. Nieco szybciej, bo po 22,6 tygodnia obumierały bakterie

E. coli w glebie rdzawej. Inaczej natomiast zachowywały się paciorkowce kałowe. Prawie dwukrotnie dłużej przeżywały one w czarnoziemiu (41,9 tygodnia) w porównaniu do gleby rdzawej (21,8 tygodnia). W glebie płowej okres ten wynosił 25,9 tygodnia. Pałeczki Salmonella zaś izolowano średnio do 16 tygodni w glebie rdzawej i 21 tygodni w czarnoziemiu leśno-łąkowym.

Tabela 15. Proste regresji ($\ln(N)=ax+b$) charakteryzujące przeżywalność badanych bakterii średnio w całym profilu gleby płowej, rdzawej i czarnoziemiu leśno-łąkowego w okresie lata wilgotnego L_2 i suchego L_1 (poletka D)

Table 15. Regression lines ($\ln(N)=ax+b$) for mean survival of investigated bacteria in the whole profile of lessive, rusty and forest meadow chernozem during moist summer L_2 and dry summer L_1 (fields E)

Sezon Period	Typ gleby Soil type	E. coli	Paciorkowce grupy-D Group D streptococci	Salmonella spp.
L_2	Płowa Lessive	$-0,47x + 12,75$ $r = -0,975$	$-0,51x + 13,2$ $r = -0,944$	$-0,61x + 19,6$ $r = -0,812$
	Rdzawa Rusty	$-0,57x + 12,88$ $r = -0,939$	$-0,56x + 12,27$ $r = -0,971$	$-0,71x + 11,33$ $r = -0,982$
	Czarnoziem Chernozem	$-0,43x + 11,87$ $r = -0,791$	$-0,31x + 12,98$ $r = -0,990$	$-0,46x + 10,04$ $r = -0,781$
L_1	Płowa Lessive	$-0,70x + 12,41$ $r = -0,842$	$-0,61x + 11,40$ $r = -0,893$	$-0,60x + 8,69$ $r = -0,894$
	Rdzawa Rusty	$-0,84x + 12,80$ $r = -0,893$	$-0,87x + 13,10$ $r = -0,861$	$-1,22x + 10,60$ $r = -0,792$
	Czarnoziem Chernozem	$-0,49x + 11,30$ $r = -0,831$	$-0,48x + 10,50$ $r = -0,874$	$-0,65x + 9,52$ $r = -0,851$

Na czas przeżycia E. coli i enterokoków w badanych glebach poletek kontrolnych i doświadczalnych istotny wpływ miała ich temperatura. Spadek czasu przeżycia bakterii przy wzroście temperatury wyraża się następującym wzorem:

$$z = \frac{xt_1}{xt_2} = -0,013T[\pm 0,0004T] + 4,5[\pm 1,1]$$

$$r = -0,80 \quad P < 0,02,$$

gdzie:

- z - stosunek czasów przeżycia przy temperaturze t_1 i t_2 , przy czym $t_1 > t_2$,
- T - temperatura w stopniach Kelwina,
- t_1, t_2 - średnie temperatury w glebie w okresie każdego okresu badawczego.

Przy wzroście temperatury o 1°K stosunek czasu przeżycia zmniejszył się o 0,013 tyg.

Na szybkość przeżycia bakterii w glebie istotny wpływ miały różnice w średniej wilgotności gleb [%]

$$a_r = -0,02W(\pm 0,008) + 0,78(\pm 0,1)$$

$$r = -0,63 \quad P < 0,03,$$

gdzie:

a_r - współczynnik regresji przy danej glebie,

W - średnia wilgotność danej gleby [%].

Dla eksperymentów doświadczalnych w odniesieniu do paciorkowców grupy-D i *E. coli* stwierdzono wpływ pH (KCl) na współczynnik „a” równania określającego zmianę ilości bakterii w czasie

$$|a| = -0,28 \text{ pH}(\pm 0,03) + 2,54(\pm 0,19)$$

$$r = -0,98 \quad P < 0,001,$$

co wskazuje na obniżenie o około 1/4 szybkości eliminacji bakterii w czasie przy podwyższonym pH o jedną jednostkę. Podobny, ale nieznaczny wpływ obserwowano w eksperymentach kontrolnych z tymi samymi bakteriami.

Przeprowadzona analiza wykazała również związek pomiędzy głębokością, na której badano funkcje przeżycia bakterii w poszczególnych glebach, a współczynnikiem (a) charakteryzującym tempo spadku tego procesu. Spadek tempa eliminacji badanych drobnoustrojów wraz z głębokością charakteryzowały następujące równania:

a) w czarnoziemie leśno-łąkowym na poletkach D dla *E. coli* i paciorkowców kałowych:

$$a = -0,026h + 1,32 (\pm 0,09)$$

$$r = -0,97 \quad p < 0,03,$$

b) w glebie rdzawej na poletkach D w II roku doświadczenia dla *E. coli*

$$a = -0,004h + 1,04 (\pm 0,02)$$

$$r = -0,99 \quad p < 0,02,$$

c) w glebie płowej dla *E. coli* i paciorkowców kałowych

$$a = -0,018h + 1,2 (\pm 0,06)$$

$$r = -0,99 \quad p < 0,005.$$

Zależności te wykazują, że różnice w szybkości obumierania bakterii pomiędzy górnymi a dolnymi warstwami gleby były największe w czarnoziemie, zaś najmniejsze w glebie rdzawej. Wpływ na to zjawisko wywierały mniej lub bardziej zróżnicowane właściwości fizykochemiczne poszczególnych warstw badanych gleb, które mogły oddziaływać na procesy życiowe bakterii fekalnych.

IV. DYSKUSJA

1. Uwagi do badań mikrobiologicznych

W ostatnich latach obserwuje się bardzo dynamiczny rozwój metod i technik izolowania drobnoustrojów z gleby [4, 37, 58, 76]. Zastosowane w badaniach metody ilościowego oznaczania bakterii jelitowych w glebie były dwustopniowe. Miały one dwie podstawowe zalety. W okresie namnażania w podłożach płynnych następował rozpad konglomeratów glebowych na małe cząstki, co powodowało lepszy i stosunkowo długi kontakt drobnoustrojów z podłożem w porównaniu z innymi tradycyjnie stosowanymi metodami [119]. Ponadto charakteryzowały się one bardzo dużą czułością. Granica wykrywalności wynosiła 4 drobnoustroje w 100 g gleby [71]. Istniała możliwość podwyższenia czułości metody poprzez zwiększenie nawazek glebowych. Wymagałoby to jednak przeprowadzenia wielu badań wstępnych w celu doboru odpowiedniej proporcji wagowej gleby i bulionów. W badaniach własnych przyjęto więc proporcje stosowane w podobnych analizach przez autorów niemieckich [5, 18, 119], tj. 10 g gleby i 90 ml bulionów namnażających. Jednocześnie należy zauważyć, że technika obliczania metodą NPL obarczona jest błędem rzędu 10^1 [16].

Spośród drobnoustrojów fekalnych do badań wybrano *E. coli*, enterokoki i pałeczki z rodzaju *Salmonella*. Dla oznaczenia *E. coli* w drugiej fazie użyto agaru z tergitolem. Jest to wysoce selektywne podłoże stałe nie zawierające soli żółciowych. Dodawany TTC (chlorek trójfenylotetrazoliny) pozwalał na szybką identyfikację *E. coli* i odróżnienie ich od innych bakterii grupy coli, które rozkładały dodawany związek do czerwono zabarwionego formozanu. Nadto podwyższenie temperatury identyfikacji pozwoliło zawęzić spektrum oznaczanych bakterii. Następnym tego było rzadkie pojawienie się na podłożach innych drobnoustrojów. Metodą odwoławczą w przypadkach wątpliwych był prosty w wykonaniu i szybki test płytkowy [96] oparty na wykrywaniu typowej dla *E. coli* dekarboksylazy kwasu glutaminowego.

Stosowane podłoża dla oznaczania paciorkowców grupy-D (bulion z dodatkiem azydku oraz agar z eskuliną i kanamycyną) stanowiły bardzo dobre warunki dla wzrostu drobnoustrojów *Streptococcus faecium*, *Streptococcus faecalis* i *Streptococcus bovis* występujących w dużych ilościach w gnojowicy bydłowej. Pozostałe drobnoustroje z rodzaju *Streptococcus* (*Str. equinus*, *Str. gallinarum*, *Str. avium*), które występują głównie w kale innych zwierząt domowych, wydawały się nie mieć znaczenia dla prowadzonych badań [23]. Jakkolwiek izolowano również paciorkowce występujące w normalnych warunkach w środowisku glebowym przed rozlaniem gnojowicy, należące do grupy serologicznej D, to jednak liczba ich była zwykle bardzo mała i nie miała wpływu na uzyskiwane wyniki. Nietypowy wzrost drobnoustrojów każdorazowo sprawdzano serologicznie, co pozwalało na potwierdzenie ich przynależności do grupy D wg kryterium Lancefield.

Oznaczenie liczby pałeczek z rodzaju *Salmonella* w glebie przebiegało przy zastosowaniu dwóch podłoży płynnych. Nieselektywnie namnażającą była 1% woda pepto-

nowa. Celem jej było między innymi reaktywowanie subtelnie uszkodzonych Salmonelli. Jako namnażające selektywnie zastosowano podłoże Rappaporta, które w stosunku do innych charakteryzuje się dobrymi właściwościami izolującymi drobnoustrojów z rodzaju Salmonella [85]. Pozwalało ono na łatwe namnażanie Salmonelli występującej w glebie przy jednoczesnym hamowaniu wzrostu towarzyszącej jej flory jelitowej zawartej w gnojowicy przez zieleń malachitową i chlorek magnezu. Sprzyjała temu również podwyższona do 43°C temperatura i inkubacja prób. Również podłoże stałe (BPLA) zawierające między innymi zieleń brylantową skutecznie hamowało wzrost drobnoustrojów gramdodatnich. Także w tym przypadku dla uzyskania pewności odczytu wyrosnięte kolonie (po uzyskaniu czystej kultury) sprawdzano testami serologicznymi.

W przeprowadzonych badaniach zastosowano gnojowicę naturalną oraz gnojowicę wzbogaconą w zawiesinę wybranych bakterii jelitowych. Po dodaniu zawiesiny liczba bakterii fekalnych w gnojowicy gwałtownie wzrosła, mieściła się jednak zawsze w górnych granicach ilości obserwowanej w odchodach zwierząt. Ilość bakterii grupy coli w kale bydłęcym może się wahać bowiem od 10^5 do 10^7 drobnoustrojów, natomiast enterokoków od 10^4 do 10^8 bakterii w 1 g [12].

Zastosowanie dwóch wariantów wylewanej gnojowicy pozwoliło z jednej strony na dokładniejszą obserwację zachowania się bakterii fekalnych w glebie, z drugiej zaś na określenie różnic w oddziaływaniu środowiska glebowego na drobnoustroje allochtoniczne przedostające się do niego w różnych koncentracjach. Należy podkreślić, że liczba bakterii w gnojowicy w warunkach normalnych ulega bardzo znacznym wahaniom [82]. Zastosowanie w doświadczeniu gnojowicy wzbogaconej w bakterie fekalne miało również pewne wady. Obecność w bulionach dużej koncentracji substancji odżywczych, które wraz z namnożonymi hodowlami bakterii przedostawały się do gnojowicy mogła dodatkowo wpłynąć na przeżywalność bakterii w glebie [39]. Należy jednak w tym miejscu wyraźnie podkreślić, że w badaniach własnych koncentracja drobnoustrojów była tak wysoka, iż można przypuszczać, że większość substancji pokarmowych została już w początkowym okresie w znacznym stopniu wyczerpana.

Technika pobierania prób do badań polegała na horyzontalnym wprowadzaniu zgłębników w profile glebowe z wcześniej wykonanych wykopów. Ściany boczne wykopów wzmacniano każdorazowo konstrukcją drewnianą, która ściśle przylegając do gleby chroniła ją przed nadmiernym wysychaniem. Dla uniknięcia skażenia ścian wykopu gnojowicą, w odległości kilkunastu cm od jego krawędzi mocowano specjalne zabezpieczenia z plastiku. W porównaniu z metodami pozyskiwania prób opartymi o stosowanie zgłębników wbijanych pionowo w glebę nawożoną gnojowicą, które zwykle prowadzą do przeniesienia mikroorganizmów z powierzchni w głębsze warstwy gleby [5, 119] metody przyjęte w badaniach własnych miały pewne zalety. Pozwalały one z jednej strony na pobieranie prób spod większych obszarów poletek badawczych, z drugiej zaś na uniknięcie błędu wynikającego z ewentualnego ich wtórnego skażenia. Początkowo wbijano zgłębnik w warstwy najgłębsze, potem zaś kolejno w płytsze. Każdorazowo resztki gleby pozostałe na zgłębniku opłukiwano wodą, zgłębnik zaś opalano lampą lutowniczą i chłodzono.

2. Przeżywalność drobnoustrojów fekalnych w badanych glebach

Podstawową formą wykorzystywania gnojowicy jest zagospodarowywanie jej w rolnictwie w charakterze nawozu. Ze względów sanitarno-epidemiologicznych powinna być ona poddana obróbce wstępnej w celu obniżenia jej aktywności mikrobiologicznej, zwłaszcza zaś liczby drobnoustrojów patogennych. Problem ten nabiera szczególnego znaczenia, gdy stosowana jest na obszarach o płytkich warstwach wodonośnych. Pomimo licznych opracowań naukowych i technicznych obróbka wstępna (napowietrzanie, fermentacja beztlenowa kofermentacja, oligoliza, metody fizykalne, chemiczne i inne) z braku środków finansowych i urządzeń w praktyce nie jest stosowana lub pozostaje w fazie projektów pilotażowych [32, 102]. Gnojowica bez jakiegokolwiek kontroli mikrobiologicznej, często zbyt krótko składowana, skażona drobnoustrojami patogennymi, wylewana jest w dużych ilościach na użytki rolnicze.

Środowisko glebowe ze względu na niewielką zawartość substancji odżywczych, obecność specyficznej flory bakteryjnej, niską temperaturę i szereg innych czynników nie stwarza korzystnych warunków bytowych dla bakterii jelitowych. W związku z tym w różnym stopniu podlegają one w glebie procesowi ciągłej eliminacji [3, 68, 113].

Na uwagę zasługują dwa aspekty zjawiska. Pierwszym z nich jest kinetyka obumierania drobnoustrojów kałowych w jednostce czasu, drugim zaś - czasokres całkowitej ich eliminacji z profilu glebowego. Dynamikę opisanego zjawiska ilustrują proste regresji wyliczone dla większości układów doświadczalnych (rys.13-18, 30-37, 51-56). W tym celu konieczne było zlogarytmowanie uzyskanych wyników obrazujących liczbę izolowanych bakterii fekalnych w poszczególnych próbach gleby. Ponieważ w niektórych przypadkach w końcowych fazach obserwacji notowano jeszcze występowanie drobnoustrojów wprowadzonych do gleby, teoretyczny czas przeżycia poszczególnych gatunków bakterii wyliczono na podstawie analizy przebiegu prostych regresji.

Wyniki własnych badań dowodzą, że najwyższe tempo eliminacji bakterii jelitowych wystąpiło w górnych warstwach profili glebowych, tj. na głębokości 12 cm. Zjawisko to odnotowano wyraźnie na poletkach doświadczalnych i kontrolnych niemalże we wszystkich cyklach badawczych (rys.13,15,17,30,33,36,52,54,56). Wyliczone dla tej warstwy współczynniki regresji charakteryzujące tygodniowy spadek liczby bakterii w postaci logarytmu naturalnego były najniższe. Należy przypuszczać, że wpływ na szybki proces obumierania bakterii w tej warstwie mogła wywierać jej biologiczna aktywność. Hirte [39, 40] uważa ją za jeden z najsilniej oddziałujących czynników na bakterie fekalne w glebie. Zwłaszcza autochtoniczna mikroflora glebowa zasiedlająca przede wszystkim warstwę próchniczną, z jednej strony staje się konkurentem o substancje odżywcze, z drugiej zaś może wydalać substancje o charakterze antybiotyków, które unieszkodliwiają bakterie fekalne. Tezę tę potwierdzają doświadczenia Kleina i Casidy [44] oraz Ungera i Wagnera [118], którzy obserwowali po uprzednim autoklawowaniu gleby wyraźne wydłużenie przeżywalności wprowadzonych do niej bakterii fekalnych. Likwidacja flory autochtonicznej z jednej strony i poprawienie panujących warunków odżywiania poprzez rozpad dużych molekuł na mniejsze, łatwiej przyswajalne - z drugiej powodowały nawet krótkotrwałe namnażanie się bakterii fekalnych w glebie. Znaczną rolę w procesie eliminacji bakterii fekalnych odgrywają również znajdujące się w warstwie próchnicznej pierwotniaki i nicienie. Ahmed i Müller [1] podają, że pierwotniaki fagocytykujące drobnoustroje jelitowe w glebie są w stanie rozróżnić nawet ich poszczególne rodzaje.

Ponadto wyższa temperatura i dostęp większej ilości substancji odżywczych sprzyjają rozwojowi flory glebowej. W głębszych zaś warstwach gleby, wskutek gorszych warunków tlenowych, niższej temperatury i mniejszej ilości łatwo przyswajalnych substancji, drobnoustrojów autochtonicznych jest zdecydowanie mniej. Stwarzać to może lepsze warunki życiowe dla wypłukiwanych w głębsze warstwy gleby drobnoustrojów jelitowych.

Bezspornie na zachowanie się drobnoustrojów jelitowych w glebie wpłynęły warunki atmosferyczne oraz właściwości fizykochemiczne badanych środowisk glebowych. Świadczą o tym dobitnie wyniki badań uzyskane w tych samych profilach glebowych w różnych okresach badawczych (rys.1-5, 19-23, 38-42). Pierwszy okres badań miał miejsce zimą, drugi w okresie wyjątkowo suchego i upalnego lata, trzeci zaś przypadał na okres letni o średniej temperaturze i wysokich opadach atmosferycznych. Zdecydowanie najgorsze warunki życiowe dla bakterii fekalnych w badanych cyklach występowały w okresie suchego, upalnego lata.

Współczynniki regresji charakteryzujące kinetykę inaktywacji drobnoustrojów w glebie wskazują, że obumieranie ich w tym okresie następowało o wiele szybciej niż w dwóch pozostałych okresach badań. Szczególnie odnosiło się to do *E. coli* i paciorkowców grupy-D w glebie rdzawej i płowej oraz pałeczek z rodzaju *Salmonella* w glebie rdzawej (tab.10,11,13). W okresie tym obserwowano radykalny spadek liczby drobnoustrojów w badanych glebach przez cały okres prowadzenia mikrobiologicznych analiz. Pałeczki *E. coli*, enterokoki oraz drobnoustroje z rodzaju *Salmonella* były całkowicie eliminowane z profili glebowych w 3 lub 4 miesiącu cyklu lub też występowały w nich w ilościach minimalnych, zbliżonych do granicy czułości metody. Proces ten występował wyraźnie zwłaszcza w górnych częściach profili glebowych. Wydaje się, że bezpośredni wpływ na szybsze obumieranie badanych drobnoustrojów wywierały ekstremalne warunki pogodowe, tj. wysoka temperatura powietrza oraz wyjątkowo niska wilgotność gleb będąca konsekwencją braku opadów atmosferycznych (tab.2).

Aktualnie przeważa pogląd, że wysoka temperatura nie sprzyja zachowaniu żywo-ności bakterii fekalnych w glebie. Klein i Casida [44] badając zachowanie się *E. coli* w temperaturze 10, 26 i 37°C obserwowali wzrastającą wraz z temperaturą obumieralność drobnoustrojów. Kibbey i wsp. [43] zauważyli, że bez względu na panujące warunki wilgotnościowe w glebach wystąpił niższy stopień obumieralności *Streptococcus faecalis*, w zakresach temperatur 4 i 10°C w porównaniu z 25 i 37°C. Reddy i wsp. [90] natomiast twierdzą, że w zakresie temperatur od 5 do 30°C wraz z jej wzrostem o każde 10°C obumieralność drobnoustrojów fekalnych gleby wzrastała podwójnie.

Poza wysoką temperaturą negatywnie na bakterie jelitowe oddziałują bardzo niska wilgotność gleby. W okresie tym na terenie, na którym zlokalizowano odkrywy glebowe wystąpiły niewielkie opady deszczu stanowiące około 1/4 notowanych w innych latach. Wilgotność gleb w obrębie powierzchniowych warstw osiągała nawet wartości odpowiadające $pF=4.2$. W badaniach własnych dotyczyło to zwłaszcza gleby rdzawej najbardziej podatnej na wysychanie. Wyjątkowo duże nasłonecznienie mogło ponadto wpłynąć negatywnie na drobnoustroje fekalne znajdujące się na powierzchni gleby nawożonej gnojowicą. Następstwem tego były znacznie mniejsze ilości bakterii fekalnych izolowanych w czasie suszy, zwłaszcza w obrębie gleby płowej i czarnoziemiu w porównaniu z pozostałymi okresami badań (rys.1-5, 38-42). Jedyne dużą koncentrację bakterii stwierdzano w 1 tygodniu badań w glebie rdzawej na głębokości 12 cm (rys.19-21). Wydaje się, że szybsze wsiąkanie płynnej części gnojowicy i zawieszonych

w niej bakterii w tym typie gleby skracać mogło wydatnie oddziaływanie na nie promieniowania słonecznego. Jak podaje Gerba i wsp. [27] promienie uV oddziałują negatywnie na bakterie jelitowe znajdujące się na powierzchni gleby. W momencie płytkiego wsiąkania w środowisko glebowe Dott i wsp. [20] nie obserwowali już wyraźnego wpływu promieni słonecznych na procesy życiowe bakterii fekalnych. Ogólnie wydaje się, że wilgotne gleby stwarzają lepsze warunki bytowania dla drobnoustrojów jelitowych [28]. Hirte [39, 40] obserwował w glebach o pojemności wodnej wysyczonej w 70% zdecydowanie dłuższą przeżywalność bakterii fekalnych w porównaniu z glebami suchymi. Podobne tendencje obserwowano w badaniach własnych. Dotyczyły one większości obserwowanych populacji bakteryjnych zarówno na poletkach kontrolnych, jak i doświadczalnych.

Zdecydowanie lepsze warunki bytowania dla bakterii fekalnych wystąpiły w badanych glebach w okresie drugiego cyklu letniego. Charakteryzowały go stosunkowo obfite opady oraz niższa temperatura powietrza. Efektem tego były korzystniejsze stosunki wodne badanych gleb. Proces obumierania bakterii fekalnych przebiegał dwuetapowo. W pierwszych 8 tygodniach badań na poletkach doświadczalnych był on bardzo intensywny. Po nim następowała faza łagodnego spadku liczby drobnoustrojów w glebie. Do końca okresu obserwacji (4 miesiące) liczba ich była dość wyrównana i w górnej warstwie profilu glebowego wahała się od kilkudziesięciu do kilkuset drobnoustrojów w 100 g gleby. Zjawisko to występowało też wyraźnie w okresie zimy w czarnoziemiu leśno-łąkowym. Liczba izolowanych enterokoków i *E. coli* w 2, 3 i 4 miesiącu badań wahała się dość nieznacznie i pozostała praktycznie na nie zmienionym poziomie. Świadczy to o możliwości dość długiego przeżywania nieznacznej liczby drobnoustrojów w przypadku ustalenia się pewnej równowagi pomiędzy drobnoustrojami auto- i allochtonicznymi.

Na zjawisko szybkiego tempa obumierania bakterii fekalnych w glebie w pierwszym okresie po wylaniu gnojowicy zwraca uwagę kilku autorów. Gwałtowny zanik bakterii obserwowany był z reguły wcześniej niż w badaniach własnych. Bell i Bole [6] już w okresie pierwszych dwóch dni odnotowali spadek liczby drobnoustrojów, zaś Liu i Kwaśniewska [60] podkreślają występowanie silnej redukcji bakterii *E. coli* w dwóch pierwszych tygodniach badań. Pomimo iż w badaniach własnych druga faza eliminacji przebiegała wolniej, jednak należy wyraźnie stwierdzić, że bakterie fekalne nie potrafią się na stałe zaadaptować do środowiska glebowego.

W badaniach własnych odnotowano wyraźny różnicowany wpływ poszczególnych typów gleb na zachowanie się w nich bakterii fekalnych. Wyniki badań odnoszące się dla profili jako integralnej całości wskazują, że w okresie suchego lata zarówno *E. coli*, jak i paciorkowce kałowe najszybciej eliminowane były z gleby rdzawej, wolniej z gleby płowej, zaś najdłużej izolowano je w czarnoziemiu leśno-łąkowym (tab.15). Podobnie w glebie rdzawej zachowywały się drobnoustroje z rodzaju *Salmonella*. W odróżnieniu od *E. coli* i enterokoków kinetyka obumierania pałeczek *Salmonella* była dość wyrównana w obrębie gleby płowej i czarnoziemiu. Należy podkreślić, że ta ostanta prawidłowość wystąpiła dość wyraźnie również w okresie wilgotnego lata. Można przypuszczać, że różnicowane oddziaływanie poszczególnych środowisk glebowych było ściśle uwarunkowane ich właściwościami fizykochemicznymi. Ogólnie panuje pogląd, że obecność materii organicznej wpływa korzystnie na bakterie allochtoniczne. Pewna ilość substancji odżywczych, zwłaszcza łatwo przyswajalnych związków azotowych i węglowodanów jest niezbędna dla procesów życiowych bakterii allochtonicznych.

Spośród trzech przebadanych gleb najbardziej ubogą w związki węgla i azotu była gleba rdzawa (tab.5). Stąd też w pierwszym rzędzie bakterie jelitowe były eliminowane z tego typu gleby. Bakterie fekalne nie potrafią zmniejszyć bowiem tempa przemiany materii w stopniu umożliwiającym im dostosowanie się do warunków, w których znajduje się mało substancji odżywczych [44]. Jakkolwiek wzbogacenie gleby w materię organiczną wydłuża przeżywalność bakterii allochtonicznych [21], to jednocześnie należy pamiętać, że wpływa ono także korzystnie na wzrost aktywności flory macierzystej [39]. Szybszej eliminacji bakterii fekalnych w glebie rdzawej mogła sprzyjać również jej struktura granulometryczna (tab.3). Ułatwiała ona wysychanie gleby, a także warunkowała jej niewielką pojemność wodną. Nadto znikoma zawartość frakcji ilastych mogła utrudniać nawet miejscową koncentrację substancji odżywczych. Wyniki badań własnych są częściowo zbieżne z obserwacjami innych autorów [21, 64, 108]. Edmunds [21] stwierdza, że drobnoustroje fekalne znacznie dłużej przeżywają w glebach gliniastych w porównaniu z piaszczystymi. Platz [87] podobne zjawiska obserwował w glebach zawierających ility, przy czym za główną ich przyczynę przyjmował lepsze warunki odżywcze gleb gliniastych. Do podobnych wniosków doszedł Makawi [64].

W ocenie oddziaływania zróżnicowanych środowisk glebowych na bakterie fekalne należy brać pod uwagę z jednej strony czynniki wpływające na nie w sposób antagoniczny, z drugiej zaś kompleks fizykochemicznych właściwości gleb oddziałujących pozytywnie.

Spośród badanych drobnoustrojów fekalnych szczególnie niebezpieczeństwo ze względów epidemio- i epizootycznych stanowią pałeczki *Salmonella*. Zwłaszcza w krajach wysoko rozwiniętych przy rosnącej koncentracji hodowli zwierząt środowisko glebowe może być często nimi skażone. Gnojowica zawierająca pałeczki z rodzaju *Salmonella* wylewana na użytki zielone może być przyczyną zachorowań wypasanych na nich zwierząt, jakkolwiek zjawisko to nie występuje często i ryzyko powstania choroby jest trudne do oszacowania [116]. Do wybuchu salmonelozy u ludzi może dojść w przypadku wylewania gnojowicy na uprawy warzyw, które następnie spożywane są na surowo [100]. Stąd zachowanie jej w glebie ma szczególne znaczenie. Spośród trzech obserwowanych gatunków drobnoustrojów jelitowych pałeczki *Salmonella* były najszybciej eliminowane ze środowiska glebowego. Tendencja ta nastąpiła najwyraźniej w glebie rdzawej, zwłaszcza w okresie suchego lata. Wyliczona średnia przeżywalności drobnoustrojów dla całego profilu glebowego wynosiła w tym czasie tylko 8,7 tygodnia, gdy tymczasem *E. coli* i enterokoki izolowano w glebie jeszcze po 15 tygodniach badań. Podobnie zachował się badany gatunek drobnoustroju w tym okresie na czarnoziemiu leśno-łąkowym. Przeżywalność pałeczek *Salmonella* wynosiła 14,7 tygodnia, *E. coli* 23 tygodnie, zaś paciorkowców kałowych 21 tygodni. Wbrew oczekiwaniom bardzo szybko zredukowane były z gleby drobnoustroje z rodzaju *Salmonella* w okresie zimowym. Izolowano je z gleby tylko przez 7,5 tygodnia, gdy tymczasem *E. coli* udawało się wykryć do 28 tygodnia, zaś enterokoki nawet do 33,8 tygodnia badań.

Należy zaznaczyć, że zachowanie się dwóch pozostałych gatunków bakterii jelitowych w glebie w czasie eksperymentu było podobne. W całym okresie badań, poza nielicznymi wyjątkami, paciorkowce grupy-D łatwiej przystosowywały się do warunków środowiska glebowego, co znalazło wyraz w ich nieco dłuższym przeżywaniu. Jedynie w czarnoziemiu leśno-łąkowym w okresie zimy enterokoki przeżywały zdecydowanie dłużej (o 6 tygodni) w porównaniu z *E. coli*. Zróżnicowaną dynamikę eliminacji poszczególnych drobnoustrojów jelitowych w glebie odnotowano również w pracach in-

nych autorów. Dazzo i wsp. [15] stwierdzili wyraźnie szybsze obumieranie *Senteritidis* w glebie w porównaniu z innymi bakteriami kałowymi. Przyczynę tego zjawiska upatruje się w tym, że *Salmonella* dodawana w postaci zawiesiny do gnojowicy, prawdopodobnie stanowiła bardzo wyrównaną populację, gdy chodzi o wrażliwość na bodźce środowiskowe. *E. coli* i paciorkowce kałowe tworzyły z pewnością bardziej zróżnicowane populacje genotypowe, z których część mogła posiadać lepsze właściwości adaptacji do niekorzystnych warunków.

Wyniki badań własnych częściowo potwierdzają spostrzeżenia Crane i Moore [14], którzy obserwowali dłuższą przeżywalność enterokoków w glebie w porównaniu do *E. coli*. Należy zaznaczyć, że różnice te nie były jednak tak znaczne, jak wskazywałyby na to prace obu autorów. Do zupełnie odmiennych wniosków doszedł Dominik [18] i van Donsel i wsp. [19]. Obaj zauważyli, że w okresie lata warunki glebowe stwarzają lepsze warunki życiowe dla *E. coli*.

Dane literaturowe określające przeżywalność drobnoustrojów jelitowych w glebie zwłaszcza pałeczek z rodzaju *Salmonella* są ekstremalnie różne [99, 103]. Thunegard [116] określa przeżywalność *Salmonelli* na okres od 6 do 64 tygodni. Pioch i Bräuing [86] obserwowali eliminację bakterii już po 6 dniach, natomiast Hess i wsp. [38] wykrywali je w glebie nawet po 500 dniach. W badaniach własnych pałeczki *Salmonella* w zależności od rodzaju gleby i warunków atmosferycznych przeżywały od 7,2 do 14,9 tygodnia.

Brak również jednolitych poglądów dotyczących zachowania się *E. coli* i enterokoków w glebie nawożonej gnojowicą [13, 21, 29, 39, 64]. Hirte [39] w zależności od koncentracji wyjściowej określa ich przeżywalność na czas od 20 do 56 dni. Glathe i wsp. [29] obserwowali nawet krótkotrwały okres namnażania się *E. coli* w glebie. Był on szczególnie intensywny przy zawartości 10^2 komórek w 1 ml wylewanej gnojowicy. Crane i Moore [13], uzależniając zachowanie się bakterii kałowych od pH i temperatury, określają ich przeżywalność na okres od 3 do 50 dni. Znacznie dłużej izolował *E. coli* z nawożonej gnojowicą gleby Edmonds [21]. Na obszarach leśnych, na które wylewano osady ściekowe, wykazywał pałeczki *E. coli* po 477 dniach, przy czym znamienne jest, że koncentracja ich w glebie nie była stała. W okresie zimy liczba ich spadała poniżej czułości stosowanych metod, w okresie wiosny wyraźnie zaś wzrastała. Makawi [40] uważa, że czas przeżycia *E. coli* w glebie może się wydłużyć przy sprzyjających warunkach nawet do 7 miesięcy. W badaniach własnych w zależności od typu gleby i pory roku *E. coli* przeżywały od 15,2 do 28,1 tygodnia, zaś enterokoki od 13,0 do 33,8 tygodnia. Najdłużej wykrywano je w okresie wilgotnego lata w glebie płowej i czarnoziemie leśno-łąkowym.

Należy podkreślić, że porównanie wyników badań własnych z pracami innych autorów jest niesłychanie trudne. Większość badaczy nie podaje bowiem ani czułości stosowanych metod bakteriologicznych, ani też koncentracji początkowej drobnoustrojów w użytej do doświadczenia gnojowicy. Uniemożliwia to praktycznie porównanie kinetyki obumierania bakterii, a także czasu bezwzględnego ich wyeliminowania z profili glebowych.

Ważnym czynnikiem oddziaływującym na bakterie kałowe jest kwasowość środowiska. W przeprowadzonych badaniach pH analizowanych gleb wahało się od 6,4 do 8,2 (tab.5). Obliczenia statystyczne oparte o dane dla wszystkich trzech typów gleb wyraźnie wskazują, że wzrost odczynu gleby korzystnie wpływał na przeżywalność bakterii fekalnych. Dowodzi to pozytywnego wpływu neutralnego środowiska na procesy ży-

ciowe bakterii [12]. Negatywnie oddziałują na florę bakterii kałowych pH gleb kwaśnych. Gerba i Bitton [28] obserwowali skrócenie czasu przeżycia bakterii fekalnych w glebie o pH 3-5. Nie brakuje jednak poglądów, że w pewnych sytuacjach środowisko gleb kwaśnych, poprzez częściowe niszczenie flory autochtonicznej, może stwarzać szansę dłuższego przeżycia dla bakterii *E. coli* [40].

Bez względu na koncentrację początkową drobnoustrojów w gnojowicy całkowity czas ich występowania, wyliczony na podstawie prostych regresji, zarówno w glebach poletek doświadczalnych, jak i kontrolnych był dość wyrównany. Mimo że tygodniowe tempo eliminacji drobnoustrojów kałowych było o wiele wyższe na poletkach doświadczalnych, efekt ten był w znacznym stopniu niwelowany poprzez obecność na nich większej populacji bakterii fekalnych. W rezultacie ich całkowita eliminacja następowała niejednokrotnie wolniej na poletkach doświadczalnych niż kontrolnych. Na większości poletek doświadczalnych, zwłaszcza w początkowej fazie doświadczenia, ilość ich gwałtownie malała. Wyniki są zbieżne z obserwacjami Sorber i Moore [101], którzy zebrali i porównali dane dotyczące przeżywalności bakterii kałowych w glebie w postaci T_{90} - czasu niezbędnego do eliminacji 90% populacji bakterii jelitowych użytych do doświadczeń glebowych. Według ich danych w powierzchniowej warstwie gleby po upływie miesiąca należy się liczyć z 10-krotnym spadkiem liczby bakterii, zaś po 2 miesiącach ze 100-krotnym jej spadkiem.

3. Infiltracja badanych drobnoustrojów fekalnych w profile glebowe

Drobnoustroje fekalne wylane z gnojowicą na poletka doświadczalne i kontrolne w miarę upływu czasu w różnym stopniu przemieszczały się w głąb profilu glebowego. Proces ten był wyraźnie uzależniony z jednej strony od warunków klimatycznych, zwłaszcza opadów atmosferycznych, z drugiej zaś - od rodzaju podłoża glebowego. Na uwagę zasługuje fakt szybkiego przemieszczania się drobnoustrojów już w początkowym okresie doświadczenia, tj. po 7 dniach od rozlania gnojowicy. Zjawisko to wystąpiło w różnym nasileniu we wszystkich okresach badań. W czasie suszy wykrywano je zwykle jeszcze w glebie pobranej z głębokości 25 cm, wyjątkowo zaś z warstw głębiej leżących. Intensywniejsza migracja bakterii fekalnych wystąpiła w okresie mokrego lata. Szczególnie dotyczyło to gleby rdzawej (rys.19,23). Na głębokości 43 cm ustalono w tym czasie $9,5 \times 10^3$ bakterii *E. coli* i enterokoków w 100 g gleby. Niewielka ich część docierała nawet do głębokości 75 cm. W glebie płowej i czarnoziemie obserwowano je w płytszych warstwach profilu (43 cm). Obecność bakterii po tak krótkim czasie w głębszych warstwach gleby spowodowana mogła być jedynie na skutek ich transportu poprzez mega- i makropory glebowe. Jak wykazały badania struktury gleb zwłaszcza w czarnoziemie występowało dużo megapor. Były to między innymi kanaliki wytworzone przez dżdżownice i korzenie roślin. Często struktury te w nie naruszonej postaci pochodziły sprzed wielu lat. Niejednokrotnie sięgały do głębokości 1 m.

Przemieszczenie bakterii poprzez megapory do strefy korzeniowej roślin może nastąpić po kilku godzinach, a w niektórych wypadkach nawet po kilku minutach [115]. Sprzyjają temu zjawisku silne opady, gwałtowne roztopy oraz obfite „deszczowanie” gnojowicą. Według Koop [53] transport drobnoustrojów tą drogą może nastąpić również w profilach glebowych o niepełnym wysyceniu pojemności wodnej. Ważna w tym przypadku jest przede wszystkim odpowiednia średnica megapor. W badaniach włas-

nych w okresie suszy, pomimo występowania licznych powierzchniowych pęknięć gleby, które umożliwiały przenoszenie rozlanych z gnojowicą bakterii w głębsze warstwy profilu glebowego, nie izolowano tam licznych drobnoustrojów fekalnych.

Natomiast dość zaskakujące jest znaczne przemieszczanie bakterii w okresie suszy w glebie piaszczystej już po upływie 1 tygodnia. Megapory ze względu na jej strukturę granulometryczną charakteryzowały się małą trwałością i szybko ulegały w niej zniszczeniu. Migrację w głąb gleby mogły ułatwiać jedynie nieliczne korzenie wsianej lucerny, której system palowy sięgał do 1m głębokości.

Poza szybkim transportem drobnoustrojów poprzez mega i makropory należy również brać pod uwagę powolne przemieszczanie się drobnoustrojów w głąb profilu glebowego [36]. Ma ono miejsce zwłaszcza wtedy, gdy gleba jest dostatecznie nawilgociona. Należy zaznaczyć, że woda stanowi podstawowy nośnik w procesie transportu bakterii fekalnych w glebie. Jej ruch zaś w znacznym stopniu uzależniony jest od cech fizycznych gleby. W warunkach polowych jest on wypadkową potencjału grawitacyjnego powodującego jej przemieszczanie ku dołowi oraz sił działających na nią we wszystkich pozostałych kierunkach. Te z kolei powstają na skutek różnicy siły ssącej warstw wilgotnych i suchych w profilu glebowym [33, 35, 94].

Wsiąkanie wody, a wraz z nią przemieszczanie części populacji bakterii fekalnych następuje dopiero po przekroczeniu pojemności wodnej gleby. Po ustaniu opadów atmosferycznych zachodzi perkolacja dopóki nie dojdzie do wyrównania ciśnienia hydrostatycznego w glebie. Powolne przemieszczanie bakterii jelitowych w profilu glebowym odbywa się na zasadzie dyfuzji. W odróżnieniu od szybkiego ruchu bakterii poprzez mega- i makropory, w którym wpływ środowiska glebowego jest znikomy, w tym przypadku drobnoustroje stykają się bezpośrednio z drobinami gleby. Tym samym podlegają wpływom wielu czynników glebowych. Szczególnie istotnym wydaje się być proces adsorpcji bakterii na cząstkach glebowych, zwłaszcza ilach. Występowanie i zakres tego właśnie zjawiska uzależniony jest między innymi od typu gleby, ilości substancji organicznej, zawartości kationów, liczby i rodzajów bakterii oraz wielu innych czynników [57, 64]. Przybiera on na sile, gdy wskutek słabego nawilgocenia gleby infiltracja drobnoustrojów w głąb profilu jest powolna [28]. Wydaje się, że zwiększona adsorpcja bakterii była jednym z głównych czynników ograniczających migrację bakterii fekalnych w głąb profili glebowych w okresie suszy. Wskazują na to wyliczone współczynniki regresji, obrazujące rozmieszczenie bakterii fekalnych na poszczególnych poziomach badanych gleb (tab.11). Świadczą one, że wraz ze wzrostem głębokości spadek liczby *E. coli*, pałeczek *Salmonella* i enterokoków po upływie 1, 4 i 8 tygodni w okresie tym był najmniejszy. W glebie rdzawej paciorkowce kałowe, *E. coli* i pałeczki *Salmonella* docierały w okresie 4-miesięcznej obserwacji do głębokości 27 cm. W okresie tym adsorbowane bakterie na cząstkach gleby nie podlegały procesom desorpcji, w wyniku czego nie wystąpiło ich późne przemieszczenie. Stąd rzadko obserwowano ich znikomą liczbę w głębszych partiach gleby.

Inaczej zachowywały się bakterie w badanych glebach w okresie zwiększonych opadów atmosferycznych. Między 4 a 8 tygodniem od rozlania gnojowicy w glebie rdzawej docierały one do głębokości 90 cm ($1,4 \times 10^2$ - $2,0 \times 10^2$ komórek enterokoków/100 g i $9,0 \times 10^1$ - $4,0 \times 10^2$ komórek *E. coli*/100 g gleby). Natomiast w glebie płowej izolowano je w partiach gleby pobieranych z głębokości 75 cm ($4,0$ - $9,5 \times 10^2$ komórek enterokoków i $9,0 \times 10^0$ - $7,0 \times 10^2$ komórek *E. coli*/100 g gleby). Podobnie zachowywały się drobnoustroje z rodzaju *Salmonella*. Izolowano je w glebie rdzawej w próbach pobranych

z głębokości 90 cm, zaś w obu pozostałych glebach docierały do głębokości 43 cm. Pod wpływem opadów atmosferycznych drobnoustroje uprzednio związane z cząstkami gleby mogły podlegać remobilizacji i na zasadzie dyfuzji przenikać w głąb gleby. Zjawisko takie obserwuje się to szczególnie często pod wpływem bardzo obfitych opadów [68].

Na podkreślenie zasługuje wyraźne oddziaływanie struktury granulometrycznej gleby na przemieszczanie się bakterii fekalnych w głąb badanych profili. Gleby zawierające znaczny odsetek dużych cząstek zawierają także dużo makroporów warunkujących ich przepuszczalność. Znajduje to odbicie we wzroście współczynnika filtracji gleb. W badaniach własnych najlepsze własności drenażowe posiadała gleba rdzawa. Zwłaszcza jej głębsze warstwy charakteryzowały się dużym współczynnikiem filtracji (tab.7). Stwarzała ona najlepsze warunki dla migracji bakterii. Warto pamiętać, że pory glebowe o średnicy do 0,2 μm są dla bakterii fekalnych nieprzepuszczalne, zaś o średnicy od 0,2 do 10 μm przepuszczają je lub nie w zależności od wielkości drobnoustrojów. Gleba rdzawa stanowiła najłagodniejszy filtr spośród wszystkich gleb, czego efektem była najlepsza penetracja drobnoustrojów fekalnych. Znacznie gorsze warunki dla pasażu bakterii stanowiły dwa pozostałe typy gleb. Współczynniki filtracji zwłaszcza w ich dolnych partiach były bardzo niskie. Wiązało się to z dużą zawartością małych cząstek glebowych i mniejszą zawartością makroporów. Jednocześnie występowało dużo porów glebowych o średnicy mniejszej niż wielkość badanych bakterii. Należy przyjąć, że w glebach ciężkich ilość porów zbyt małych dla transportu bakterii może wahać się od 30 do 70% [3]. Badania na kolumnach glebowych dowodzą, że filtr utworzony przez gleby piaszczyste zmniejsza w przesączu liczbę bakterii 100 krotnie, zaś gleby zawierające dużą ilość ilów są dla bakterii fekalnych nieprzepuszczalne [57]. Zdolności filtracyjne są odwrotnie proporcjonalne do wielkości cząstek glebowych, a także do wielkości przemieszczających się bakterii [16]. Jak wynika z przytoczonych danych infiltracji drobnoustrojów w głąb gleby podlega wielu mechanizmom. Znaczenie i rola poszczególnych dróg transportu może się zmieniać i zależy od szeroko przyjętego kompleksu glebowo-klimatycznego.

Poza fizykalnymi czynnikami wpływającymi na transport bakterii pewną rolę odgrywają również czynniki natury biologicznej. W glebach o wyższej aktywności biologicznej przenikanie bakterii mogło być utrudnione wskutek gromadzenia się w wolnych przestrzeniach koloidów wytwarzanych przez bakterie glebowe [42].

Ze względu na ryzyko przedostania się bakterii fekalnych do wód gruntowych określenie maksymalnej głębokości, na którą mogą się przemieszczać bakterie kałowe znajdujące się w rozlewanej gnojowicy jest bardzo ważne. Poglądy dotyczące maksymalnego przemieszczania się bakterii fekalnych w nawożonych gnojowicą glebach są zróżnicowane [30, 36]. Parrakova i Mayer [80, 81] izolowali bakterie nawet w glebie pobranej z głębokości 3 m, Pepper i wsp. [84] obserwowali je na głębokości 1,5-2 m, zaś Ahmed i Müller [1] po intensywnym „deszczowaniu” izolowali je na głębokości 130 cm. Należy zaznaczyć, że w przytoczonych badaniach próby gleb pobierano stosując zgłębnik wbijany pionowo, co mogło doprowadzić do zawlekania bakterii z warstw płytszych w warstwy gleby głębiej leżące. Szereg autorów prezentuje poglądy całkiem odmienne. Edmonds [21] podaje, że bakterie fekalne wnikają najczęściej do kilku cm w głąb gleby, zaś Krannich [55] rzadko i w niewielkich ilościach izolował bakterie z głębokości 40 cm. W powyższych badaniach stosowano niższe koncentracje wyjściowe populacji bakteryjnych oraz mniej czułe metody bakteriologiczne, co nie pozostało bez wpływu na uzyskane wyniki.

W badaniach własnych w zależności od typu gleby i warunków atmosferycznych drobnoustroje fekalne izolowano na różnych głębokościach. Najgłębiej bakterie *E. coli* i *Salmonelle* migrowały w okresie mokrego lata w glebie rdzawej. Płycej izolowano je w glebie płowej i czarnoziemie, docierały one w niewielkich ilościach do warstwy gleby leżącej na głębokości 75 cm. Wydaje się, że na migrację drobnoustrojów fekalnych wywierała wpływ liczebność populacji bakterii wylanych z gnojowicą na poletka. W glebie rdzawej, płowej i czarnoziemie na poletkach kontrolnych bakterie migrowały z reguły płycej. Uogólniając należy jednak stwierdzić, że zdecydowana większość populacji bakterii kałowych zatrzymywana była w górnej części profilu glebowego, tj. na głębokości 12 i 27 cm. W dostępnej literaturze liczne prace obrazują filtracyjne działanie gleby w odniesieniu do bakterii fekalnych. Spadek koncentracji bakterii kałowych o 2 do 3 log po przejściu przez warstwę gleby o grubości 15-25 cm obserwował Faust [22]. Również badania Krannich [55] dowiodły wyrównania zróżnicowanej koncentracji bakterii w profilu glebowym wskutek, deszczowania, ściekami miejskimi. Ahmed i Müller [1] po rozlaniu ścieków komunalnych obserwowali spadek liczby bakterii fekalnych o 1 log na każde 20 cm głębokości gleby. Innego zdania są Reddy i wsp. [90] oraz Liu i Kwaśniewska [60], którzy uważają, że ponad 90% bakterii fekalnych zatrzymywanych zostaje w górnej kilkucentymetrowej warstwie gleby. Na podstawie przytoczonych danych należy przyjąć, że zdolności filtracyjne gleby są wypadkową wielu czynników i jak widać mogą podlegać dużym wahaniom.

Uzyskane w badaniach własnych wyniki wyraźnie wskazują na wyjątkową złożoność czynników oddziaływujących na zachowanie się bakterii fekalnych w glebie. Jakkolwiek większość populacji bakterii fekalnych wylewanych z gnojowicą podlega retencji w górnych warstwach profili glebowych, to jednak pewna ich część w krótkim czasie może być przemieszczona na znaczną głębokość, przede wszystkim makro- i megaporamami, zwłaszcza w wilgotnych porach roku. Wprawdzie w czasie prowadzenia badań nie wystąpiły ekstremalnie warunki wilgotnościowe, jednak należy przypuszczać, że w przypadku bardzo obfitych opadów burzowych i występowania strukturalnych zmian w glebie istnieje realne niebezpieczeństwo przeniesienia ich do warstw wodonośnych, które stanowić mogą wówczas ważne ogniwo w łańcuchu epidemilogicznym. Nakłada to konieczność przedsięwzięcia środków mających na celu zminimalizowanie potencjalnego źródła zakażenia, dla ludzi i zwierząt jakie stanowić mogą ścieki odzwierzęce, poprzez stworzenie szczegółowych zaleceń bezpiecznego ich stosowania w rolnictwie.

W przypadku braku obróbki wstępnej gnojowicy konieczność jej odpowiednio długiego składowania (od 1 do 6 m-cy), zakaz wylewania w okresie odnowy warstw wodonośnych, zakaz stosowania na uprawy przeznaczone do konsumpcji dla ludzi, zachowanie okresu karencji dla zwierząt wypasanych na łąkach i pastwiskach, - nawożonych gnojowicą, każdorazowe określenie niezbędnej grubości warstw ochronnych dla wód gruntowych na obszarach intensywnie nawożonych organicznie, ustalenie klarownych kryteriów mikrobiologicznych dopuszczających jej stosowanie (brak *Salmonelli*, do 1000 kolonii bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* w 1 ml) to tylko niektóre pilne do szczegółowych uregulowań kwestie, zmniejszające ryzyko sanitarno-epidemiologiczne wynikające ze stosowania ścieków odzwierzęcych. Dopóki nie jest ono ostatecznie zdefiniowane problem ten traktować należy ze szczególną uwagą.

V. WNIOSKI

Na podstawie przeprowadzonych badań sformułowano następujące wnioski:

1. Badania dowiodły, że nawożenie gnojowicą bydłą zawierającą drobnoustroje patogenne przyczynia się do mikrobiologicznego skażenia gleby.
2. Bakterie fekalne jako mikroorganizmy allochtoniczne wprowadzone z gnojowicą do środowiska glebowego w miarę upływu czasu podlegają w różnym stopniu procesowi eliminacji.
3. Przeżywalność drobnoustrojów fekalnych w glebie jest zróżnicowana i zależy od gatunku bakterii, ich liczebności, typu gleby i warunków atmosferycznych.
4. Najmniejszą odporność na działanie środowiska glebowego wykazywały pałeczki Salmonelli, znacznie większą zaś E. coli i paciorkowca grupy-D.
5. Proces obumierania bakterii zachodził najintensywniej w powierzchniowych warstwach gleby, w głębszych zaś przeżywalność ich wzrastała.
6. Spośród 3 zróżnicowanych środowisk glebowych najgorsze warunki bytowania stwarzała bakteriom jelitowym gleba rdzawa w porównaniu z płową i czarnoziemem.
7. Przeżywalność bakterii fekalnych w glebie była najkrótsza w okresie suszy w porównaniu z latem wilgotnym i zimą.
8. Pomimo zdecydowanie wolniejszego tempa obumierania bakterii kałowych na poletkach kontrolnych, izolowano je niejednokrotnie dłużej na poletkach doświadczalnych, wskutek wprowadzenia na nie znacznie większej liczebności badanych mikroorganizmów.
9. Zdecydowana większość bakterii fekalnych występujących w gnojowicy podlegała retencji w górnych warstwach profili glebowych.
10. Bakterie fekalne podlegały w różnym stopniu procesowi infiltracji w głąb gleby. Decydujący wpływ na jego efektywność wywierał rodzaj podłoża glebowego, ilość opadów, a także wielkość populacji występującej w gnojowicy.
11. W glebach nawożonych gnojowicą następował szybki transport części populacji drobnoustrojów fekalnych na znaczne głębokości poprzez makro- i megapory glebowe.
12. Powolny transport drobnoustrojów najskuteczniej przebiegał w glebie piaszczystej w okresie wilgotnego lata. Drobnoustroje patogenne docierały do głębokości 90 cm.
13. W ekstremalnych warunkach pogodowych (intensywne opady burzowe), przy jednoczesnym występowaniu zaburzeń strukturalnych gleby, nie można wykluczyć ry-

zyka skażenia wód gruntowych drobnoustrojami patogennymi w następstwie stosowania gnojowicy.

14. Na obszarach o płytkich warstwach wodonośnych nie należy stosować gnojowicy w okresach odnowy wód gruntowych.
15. W przypadku stwierdzenia drobnoustrojów patogennych w gnojowicy w celu zminimalizowania ryzyka sanitarno-epidemiologicznego powinna być ona bezwzględnie poddana procesom higienizacyjnym przed rozlaniem jej na użytki rolnicze.



LITERATURA

- [1] Ahmed R.E., Müller H.G., 1984: Die Verteilung der Enterobakterien im Boden nach Abwasserverregnung. Zbl. Bakt. Hyg. I. Abt. Orig. B, 179, s.248-258.
- [2] Alexander M., 1971: Introduction to soil microbiology 2. Ed. John-Wiley & Sons, New York, Chirchester, Brisbane, Toronto.
- [3] Althaus H., Jung K.D., Matthess G., Pekdeger A., 1982: Lebensdauer von Bakterien und Viren in Grundwasserleitern. UBA, Forschungsbericht 10202202, E. Schmidt-Verlag, Berlin.
- [4] Bakken L.R., Lindahl V., 1995: Recovery of bacterial cells from soil. In: Nucleic acids in the environment: Methods and applications (van Elsas, J.D., J.T. Trevors, Eds.), Springer, Berlin-Heidelberg-New York-Tokyo, s.9-27.
- [5] Beier R., 1993: Mikrobiologische Untersuchungen nach Gülledüngung von Ackerböden im Kraichgau am Beispiel Silomais. Diplomarbeit, Institut für Umwelt und Tierhygiene sowie Tiermedizin mit Tierklinik, Universität Hohenheim.
- [6] Bell R.G., Bole J.B., 1978: Elimination of fecal coliform bacteria from soil irrigated with municipal sewage lagoon effluent. J. Environ. Qual. 7, s.193-196.
- [7] Böhm R., 1993: Verhalten ausgewählter Salmonellen in der Umwelt. Deutsche Tierärztl. Wochen. 7, s. 275-27.
- [8] Bürger H. J., 1984: Parasitenstadien in Fest - und Flüssigmist - Abschätzung des seuchenhygienischen Risikos. In: Proc. 12th Seminar. Environmental Hygiene. WHO Collaborating Centre for Research and Training in Vet. Public. Health, Hannover.
- [9] Chandler D.S., Craven J.A., 1978: Bacterial studies of land disposal of piggery effluent. Proc. Austr. Soc. Anim. Prod. 12, s.158.
- [10] Chandler D.S., Craven J.A., 1980: Persistence and distribution of Erysipelothrix rhusiopathiae and bacterial indicator organisms on land used for disposal of piggery effluent. J. appl. Bact. 48, s.367-375.
- [11] Chandler D.S., Craven J.A., 1980: Relationship of soil moisture to survival of Escherichia coli and Salmonella typhimurium in soils. Aust. J. Agric. Res. 31, s. 547-555.
- [12] Crane S.R., Moore J.A., Grismer M.E., Miner J.R., 1983: Bacterial pollution from agricultural sources: A review. Transaction of the ASAE (American Society of Agricultural Engineers). 26, s.858-872.
- [13] Crane S.R., Moore J.A., 1984: Bacterial pollution of groundwater: A review. Water, Air and Soil Pollution. 22, s.67-83.
- [14] Crane S.R., Moore J.A., 1986: Modeling enteritic bacterial die-off: A review. Water, Air and Soil Pollution. 27, s.411-439.
- [15] Dazzo F., Smith P., Hubbell D., 1973: The influence of manure slurry irrigation on the survival of fecal organisms in scanton fine sand. J. Environ. Qual. 2, s.470-473.

- [16] De Man J.C., 1983: MPN - tabels, corrected. *Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 17, s.301-305.
- [17] Dinter S.P., 1988: Hygiene von humusreichen und anderen Böden. Literaturstudie für die Arbeitsgruppe Donauried, UAG 1 (Seuchenhygiene), erstellt im Auftrag des Instituts für Umwelt-und Tierhygiene sowie Tiermedizin mit Tierklinik, Universität Hohenheim.
- [18] Dominik H.P., Horrichs H.T., Munch J.C., 1992: Tenazität und Tiefenverlagerung von Güllekeimen in Ackerböden des Langenauer Donaurieds. Bericht an das Ministerium für Ländlichen Raum, Ernährung, Landwirtschaft und Forsten Baden-Württemberg, Arbeitsgruppe Donauried, Teilprojekt: Verlagerung von Fäkalkeimen nach Gülleausbringung.
- [19] Donsel D.J. van, Geldreich E.E., Clarke N.A., 1967: Seasonal variations in survival of indicator bacteria in soil and their contribution to storm water pollution. *Appl. Microbiol.* 15, s.1361-1370.
- [20] Dott W., Frank C., Kämpfer P., Tuschewitzki G.J., Wernicke F., 1986: Mikrobiologie des Grund- und Trinkwassers. *Zbl. Bakt. Hyg. B.*, 182, s.449-477.
- [21] Edmonds R.L., 1976: Survival of coliform bacteria in sewage sludge applied to a forest clearcut and potential movement into groundwater. *Appl. Environ. Microbiol.* 32, s.537-546.
- [22] Faust M.A., 1982: Relationship between land use practices and fecal bacteria in soils. *J. Environ. Qual.* 11, s.141-146.
- [23] Filip Z., 1988: Fäkalstreptokokken - ihr Vorkommen, Bedeutung und Nachweis in Wasserproben. *Forum Städte - Hygiene.* 39, s.90-93.
- [24] Frankenberger W.T., 1985: Fate of wastewater constituents in soil and groundwater. In: Pettygrove, G. S., Asano T. (eds.): *Irrigation with reclaimed municipal wastewater - a guidance manual*, s.1-25.
- [25] Gannon J.T., Manilal V.B., Alexander M., 1991: Relationship between cell surface properties and transport of bacteria through soil. *Appl. Environ. Microbiol.* 57, s.190-193.
- [26] Geldreich E.E., Huft C.B., Bordner R.H., Kabler P.W., Clark H.F., 1962: The faecal coli-aerogenes flora of soils from various geographical areas. *J. Appl. Bact.* 25, s.87-93.
- [27] Gerba, C.P., Bitton G., 1984: Microbial Pollutants: Their Survival and Transport Pattern to Groundwater. In: Bitton G., Gerba C. P.(eds.): *Groundwater pollution microbiology*. Wiley Interscience, New York, s.64-88.
- [28] Gerba C.P., Wallis C., Melnick J.L., 1975: Fate of wastewater bacteria and virus in soil. I. *Irrig. Drain. Div., ASCE*, 101, s.157-174.
- [29] Glathe H., Knoll K.H., Makawi A.A., 1963a: Die Lebensfähigkeit von *Escherichia coli* in verschiedenen Bodenarten. *Z. Pflanzenähr und Düng. Bodenk.* 100, s.142-150.
- [30] Glathe H., Knoll K.H., Makawi A.A., 1963b: Das Verhalten von Salmonellen in verschiedenen Bodenarten. *Z. Pflanzenähr. und Düng. Bodenk.* 100, s.224-233.

- [31] Gresser R., 1989: Hygienische Untersuchungen der Mikroflora in Wirtschaftsdüngern von Rindern und Schweinen. Diplomarbeit, Institut für Umwelt und Tierhygiene sowie Tiermedizin mit Tierklinik, Universität Hohenheim.
- [32] Grunwald R., 1995: Hygienisch - mikrobiologische Untersuchungen zur gemeinsamen anaeroben Fermentation von Gülle und Speiseabfällen in Biogasanlagen. Diplomarbeit, Institut für Umwelt und Tierhygiene sowie Tiermedizin mit Tierklinik, Universität Hohenheim.
- [33] Hagedorn C., 1984: Microbiological aspects of groundwater pollution due to septic tanks In: Bitton G., Gerba C. P. (eds.) Groundwater pollution microbiology. Wiley Interscience, New York, s.181-196.
- [34] Harris J.R., 1986: Clinical and epidemiological characteristics of common infections diseases and chemical poisonings caused by ingestion of contaminated drinking water. In: Craun G. F.(eds): Waterborne Diseases in the United States, CRC Press, Boca Raton, Florida, s.11-22.
- [35] Hartge K.H., Horn R., 1991: Einführung in die Bodenphysik. Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart.
- [36] Hekman W.E., Heijnen C.E., Burgers S.L.G.E., van Veen J.A., van Elsas J.D., 1995: Transport of bacterial inoculants through intact cores of two different soils as affected by water percolation and the presence of wheat plants, FEMS Microbiology Ecology. 16, s.143-158.
- [37] Herron P.R., Wellington E.M.H., 1990: New method for extraction of streptomycete spores from soil and application to the study of lysogeny in sterile amended and nonsterile soil. Appl. Environ. Microbiol. 56, s.1406-1412.
- [38] Hess E., Lott G., Breer C., 1974: Klärschlamm und Freilandbiologie von Salmonellen. Zbl. Bakt. Hyg. I. Abt. Orig. B. 158, s.446-455.
- [39] Hirte W.F., 1977: Zur Lebensfähigkeit und Überlebensfähigkeit allochthoner und autochthoner Bakterien im Boden nach einer Superinfektion. Zbl. Bakt. Abt. II. 132, s.434-451.
- [40] Hirte W.F., 1979: Hygienisch-bakteriologische Aspekte der Grundwasserbeeinflussung bei der landwirtschaftlichen Verwertung von kommunalem Abwässern und Gülle. In: Bodenhygiene und Abproduktnutzung, VEB, Leipzig, s.113-131.
- [41] Høgh P., 1981: Survival of *Clostridium perfringens* type C and *Treponema hyodysenteriae* in slurry. In: Errebo Larsen, Munch H., B. (eds.), Disease and environmental problems in relation to slurry management, Kobenhawen, 7.55-8, cyt. Munch B., poz. 70.
- [42] Huisman L., van Haaren F.W.J., 1966: Treatment of water before infiltration and modification of water quality during its passage through underground. In: 7th Int. Cong. on Water Supply Assoc., Barcelona, G 1 - G 26
- [43] Kibbey H.J., Hagedorn C., McCoy E.L., 1978: Use of fecal streptococci as indicators of pollution in soil. Appl. Environ. Microbiol. 35, s.711-717.
- [44] Klein D.A., Casida L.E., 1967: *Escherichia coli* die-out from normal soil as related to nutrient availability and the indigenous mikroflora. Can. J. Mikrobiol. 13, s.1461-1470.

- [45] Kluczek J.P., 1989: Ekologiczne zagrożenie środowiska naturalnego. Mat. z Symp. Międzyn. nt. "Zagospodarowanie ścieków miejskich i wiejskich w aspekcie higieny". red. nauk. J.P. Kluczek Bydgoszcz, 2, s.281-306.
- [46] Kluczek J.P., Kluczek B., Skinder Z., 1990: Gnojowica a ryzyko skażenia środowiska rolniczego . I. Flora bakteryjna gleby i roślin pastewnych. Pr. Kom. Nauk Rol. i Biol. PWN, Warsz-Poz. 28, s. 145-186.
- [47] Kluczek J.P., Kluczek B., Skinder Z., 1990: Gnojowica a ryzyko skażenia środowiska rolniczego. II. Flora grzybowa gleby i roślin pastewnych. Pr. Kom. Nauk Rol. i Biol. PWN, Warsz-Poz. 28, s. 187-225.
- [48] Kluczek J.P., 1994: Ścieki odzwierzęce a ryzyko mikologicznego skażenia roślin pastewnych .VIII Międz. Symp. Mykol. PTD, Bydgoszcz, s.30-31.
- [49] Kluczek J.P., Kamińska A., 1994: Fungi flora contamination of breeding environment at sheep shed farms. In: „Environmental and management systems for total animal health care in agriculture”. 8th. Int. Cong. Anim. Hyg. St. Paul, Minnesota USA, s.39-42.
- [50] Kluczek J.P., Skinder Z., Sadowski C., 1994: The microflora of short rotation ryegrass and westerwolths ryegrass fertilised with cattle slurry. Int. Conf. Harmful and Beneficial Microorganisms in Grassland, Pastures and Turf. eds. Krohn K., Paul V.H., Thomas J., Bulletin OILB srop, Padenborn, 17, s. 147-153.
- [51] Kluczek J.P., 1995: Problemy mikologicznego skażenia gleby. Pr. Kom. Nauk Roln. i Biol. BTN, Bydgoszcz 1995, ser.B, 43, 31, s.5-27.
- [52] Kluczek J.P., 1996: Skażenie mikrobiologiczne gleby w następstwie stosowania płynnych odchodów zwierzęcych (gnojowica). Mikol.Lek. 3, (3), s.181-187.
- [53] Kopp E., 1965: Die Permeabilität durchlässiger Böden, die Gliederung des Makroporenraumes und die Beziehung zwischen Permeabilität und Bodentypen. Zeitschrift für Kulturtechnik und Flurbereinigung, 6, s.65-90
- [54] Kowacs F., 1975: Przemysłowa produkcja zwierzęca a ochrona środowiska. Międzyn. Czas. Roln. 2, s.73-77.
- [55] Krannich K., 1990: Zum Verhalten von Fäkalcoliformen, Enterokokken und Salmonellen bei der landwirtschaftlichen Verwertung von Klärschlamm. Zentralbl. Mikrobiol. 145, s.145-156.
- [56] Krishnaswami S. K., 1971: Health aspect of land disposal of municipal wastewater effluents. Canad. J. publ. Hlth. 62, s.36-41.
- [57] Lance J.C., 1977: Fate of pathogens in saturated and unsaturated soils. In: National Conference on Composting of Municipal Residues and Sludges. Silver Spring, 23 - 25 August, s.135-141.
- [58] Lindahl V., Bakken R., 1995: Evaluation of methods for extraction of bacteria from soil. FEMS Microbiology Ecology. 16, s.135-142.
- [59] Lityński T., Jurkowska H., Górlach E., 1976: Analiza chemiczno-rolnicza. PWN, Warszawa.
- [60] Liu D., Kwaśniewska K., 1980: Movement of sewage microorganisms in soils. Trace substances in environmental Health - XIV - Columbia, Missouri, USA; Univ. of Missouri-Columbia, s.464-469.

- [61] Lund E., Nissen D., 1983: The survival of Enteroviruses in aerated and unaerated cattle and pig slurry. *Agr. Wastes*. 7, s. 221-223.
- [62] Lund B., Jensen V., Have P., Achring B., 1996: Inactivation of virus during anaerobic digestion of manure in laboratory scale biogas reactors. *Antonie van Leeuwenhoek*. 69, s. 25-31.
- [63] Łoginow W., 1987: Rolnicze zagospodarowanie gnojowicy w świetle ochrony środowiska. *Mat. Sem. Nauk. nt.* "Rolnicze wykorzystanie ścieków, a ochrona środowiska" pod red. J.P. Kluczka, Bydgoszcz, s.11-15.
- [64] Makawi A.A.-K.M., 1962: Zu dem Problem der Anwendung des Klärschlammes im Boden. Dissertation, Justus - Liebig - Universität Gießen.
- [65] Matthess G., 1986: Aktuelle Probleme der Grundwasserforschung. *Naturwissenschaften*. 73, s.538-542.
- [66] Miatkowski Z., Cieśliński Z., 1990: Konstrukcja aparatu do oznaczania współczynnika filtracji metodą laboratoryjną. Referaty i doniesienia naukowe na sympozjum poświęcone podsumowaniu badań i wdrożeń w CPBR - 10.8., Falenty, s.209-211.
- [67] Monteith H. D., Shannon E. E. 1986: The inactivation of a bovine Enterovirus and a bovine Parvovirus in cattle manure by anaerobic digestion, heat treatment gamma irradiation ensilage and composting. *J. Hyg. (Camb)*. 97, s. 175-184.
- [68] Möller F., 1984: Die Selbstreinigung fäkal kontaminierter Böden. Dissertation, Universität Jena.
- [69] Muff F., Koch W., Wolff K. 1984: Zur Epizootologie des Ascaridenbefalls beim Schwein. *Schweiz. Arch. Tierheilk.* 126, s. 409-428.
- [70] Munch B., Errebo Larsen H., Aalbaek B., 1987: Experimental studies on the survival of pathogenic and indicator bacteria in aerated and non-aerated cattle and pig slurry. *Biol. Wastes*. 22, s.49-65.
- [71] Näveke R., Tepper K.P., 1979: Einführung in die mikrobiologischen Arbeitsmethoden mit Praktikumsaufgaben. Verlag G. Fischer, Stuttgart.
- [72] Nowak M., 1986: Problemy nawożenia gnojowicą w świetle VIII narady w Gumpenstein. *Post. Nauk. Roln.* 4, s.123-129.
- [73] Nørrung V., Munch B., Errebo Larsen H., 1987: Occurrence, isolation and serotyping of *Erysipelothrix rhusiopathiae* in cattle and pig slurry. *Acta vet. scand.* 28, s.9-14.
- [74] Olszewska H., Paluszak Z., Kluczek J.P., 1994: *Escherichia coli* in profiles of different soils fertilized with cattle slurry in summer - autumn period. In: „Environmental and management systems for total animal health care in agriculture”. 8th. Int. Cong. Anim. Hyg. St. Paul, Minnesota USA, s.32-34.
- [75] Olszewska H., Paluszak Z., 1996: Zachowanie się wirusa polio w glebie nawozonej ściekami komunalnymi X. Kong. PTNW, Wrocław, s.373.
- [76] Page S., Burns R.G., 1991: Flow cytometry as a means of enumerating bacteria introduced into soil. *Soil Biol. Biochem.* 23, s.1025-1028.
- [77] Paluszak Z., Olszewska H., Kluczek J.P., 1994: Observation of *Streptococci-D* in degraded forest - meadow chernozem fertilized with cattle slurry in winter and

- summer period. In: „Environmental and management systems for total animal health care in agriculture”. 8th. Int. Cong. Anim. Hyg. St. Paul, Minnesota USA, s.44-47.
- [78] Paluszak Z., Olszewska H., Kluczek J.P., 1995: Skazenie mikrobiologiczne gleby w następstwie stosowania gnojowicy bydłowej .W: „Skazenie mikrobiologiczne środowiska wiejskiego ze szczególnym uwzględnieniem gleby”. Pr.Wydz.Nauk Przyrod. BTN, Bydgoszcz ser.B, 43, s.35-49.
- [79] Paluszak Z., Olszewska H., 1996: Dynamika zmian ilościowych bakterii fekalnych w glebie nawożonej gnojowicą. X Kong. PTNW, Wrocław, s.376.
- [80] Parrákova E., Mayer J., 1971a: Vergleichende mikrobiologische Untersuchungen verunreinigter Böden. I. Teil: Quantitative Veränderungen der Mikroorganismen. Zbl. Bakt. Hyg. Abt. II., 126, s.521-529.
- [81] Parrákova E., Mayer J., 1971b: Vergleichende mikrobiologische Untersuchungen verunreinigter Böden. II. Teil: Veränderung des Artenspektrums der Mikroorganismen. Zbl. Bakt. Hyg. Abt. II., 126, s.746-757.
- [82] Patni N.K., Toxopeus R., Tennant A.D., Hore F.R., 1984: Bacterial quality of tile drainage water from manured and fertilized cropland. Water Res. 18, s.127-132.
- [83] Pekdeger A., 1984: Pathogenic bacteria and viruses in the unsaturated zone. In: Yaron B., Dagan G., Goldschmid J.: Pollutants in Porous Media. Springer Verlag, Berlin, s.195-207.
- [84] Pepper I. L., Josephson K.L., Bailey R.C., Burr M.D., Gerba C.P., 1993: Survival of indicator organisms in sonoran desert soil amended with sewage sludge. J. Environ. Sci. Health, 28, s.1287-1302.
- [85] Philipp W., Gresser R., Michels E., Strauch D., 1990: Vorkommen von Salmonellen in Gülle, Jauche und Stallmist landwirtschaftlicher Betriebe in einem Wasserschutzgebiet. Forum Städte-Hygiene. 41, s.209-212.
- [86] Pioch G., Bräunig I., 1989: Die Tenazität der Salmonellen in Umweltmedien und ihre Verbreitung mit Abprodukten. Z. ges. Hyg. 35, s.645-649.
- [87] Platz S., 1980: Experimentelle Untersuchungen zur Persistenz von Salmonella typhimurium in verschiedenen Kulturböden. Zbl Bakt. Hyg. I. Abt. Orig. B 171, s.256-268.
- [88] Popp L., 1967: Bakteriologische und virologische Untersuchungen in Abwasser-
verwertungsgebieten Niedersachsens. Schr. Reihe WaBoLu, s.43-80.
- [89] Reddy G.B., Cheng C.N., Dunn S.J., 1983: Survival of Rhizobium japonicum in soil-sludge environment. Soil Biol. Biochem. 15, s.343-345.
- [90] Reddy K.R., Haleel R., Overcash M.R., 1981: Behaviour and transport of microbial pathogenes and indicator organisms in soil treated with organic wastes. J. Environ. Qual. 10, s.255-266.
- [91] Reddy K.R., 1980: Land areas receiving organic wastes: Transformations and transport in relation to nonpoint source pollution. In: Overcash M.R., Davidson J.M.(eds): Environmental impact of nonpoint source pollution. Ann.Arbor Sci. Michigan. s.243-274.

- [92] Robinson R.A., 1970: Salmonella infection: diagnosis and control. N. Z. vet. J. 18, s.259.
- [93] Rück F., Stasch D., Stahr K., 1992: Abschlußbericht zum Forschungsprojekt „Standortsspezifische N-Mineralisierungspotentiale und - Auswaschungsrisiken in Böden des WSG Donauried“ im Auftrag des Ministeriums für Ländlichen Raum, Landwirtschaft und Forsten Baden-Württemberg., Institut für Bodenkunde und Standortlehre, Universität Hohenheim.
- [94] Scheffer F., Schachtschabel P., 1989: Lehrbuch der Bodenkunde 12. Auflage Ferdinand Enke Verlag Stuttgart.
- [95] Schindler P.R., 1984: Nachweis von *Yersinia enterocolitica* aus Trinkwasserversorgungsanlagen in Südbayern. Zbl. Bakt. Hyg. I. Abt. Orig. B.180, s.76-84.
- [96] Schubert R.H.W., Esanu J.G., Schäfer V., 1988: Der Glutaminsäuredecarboxylase - Plättchentest; Ein Ansatz zur Vereinfachung und Beschleunigung des *E. coli* - Nachweises. Zbl. Bakt. Hyg. B. 187, s.107-111.
- [97] Skinner F.A., 1986: The potential for microbial manipulation of soil structure. J. Appl. Bact. Suppl. s.59-66.
- [98] Smith M.S., Thomas G.W., White R.E., 1983: Movement of Bacteria through Macropores in Groundwater. Kentucky University Lexington Water Resource Research Institut, Research Report No 139.
- [99] Smith M.S., Thomas G.W., White R.E., Ritonga D., 1985: Transport of *Escherichia coli* through intact and disturbed soil columns. J. Environ.Qual. 14, s.87-91.
- [100] Soldierer W., 1991: Experimentelle Untersuchungen zum Einfluß einer thermischen Desinfektion von Flüssigmist auf die Vermehrungsfähigkeit ausgewählter Mikroorganismen. Dissertation, Justus-Liebig-Universität Gießen.
- [101] Sorber C.A., Moore B.E., 1987: Survival and transport of pathogenes in sludge amended soil, a critical literature review. Report EPA/600/2-87/028 of Water Res. Lab., Office of Res. Develop. Cincinnati, Ohio.
- [102] Spindler E.M., 1990: Hygienische Untersuchung des Güllebehandlungsverfahrens „Oligolyse“ unter Praxisbedingungen. Dissertation, Universität Hohenheim.
- [103] Stenström T.A., Hoffner S., 1982: Reduction of enteric microorganisms in soil infiltration systems. In: Eikum A. S., Scabloom R. W. (eds.): Alternative Wastewater Treatment, s.169-181.
- [104] Storey G.W., Phillip R.A., 1985: The survival of parasite eggs throughout the soil profile. Parasitology. 91, s.585-590.
- [105] Strauch D., 1988: Krankheitserreger in Fäkalien und ihre epidemiologische Bedeutung. Tierärztl. Praxis Suppl. 3, s.21-27.
- [106] Strauch D., 1990a: Dünger aus der Tierhaltung - ein Umweltproblem. Forum Städte-Hygiene. 41, s.126-132.
- [107] Strauch D., 1990b: Zur Problematik der Gülleausbringung in Wasserschutzgebieten. Forum Städte-Hygiene. 41, s.206-208.
- [108] Strauch D., Ballarini G. 1994: Hygienic aspects of the production and agricultural use of animal wastes. J. Vet. Med. 41, s.176-228.

- [109] Strauch D., Philipp W., Moosmüller A., Kändler U., 1985: Zum Vorkommen von Salmonellen in organischen Düngern. *Tierärztl. Praxis*. 13, s.281-289.
- [110] Stromberg A., 1984: Mesophiler aerober bzw. fakultativ anaerober Keimbesatz von Frischgülle und Faulschlamm der Biogasgewinnung. Dissertation, Universität München.
- [111] Tachtler J., 1991: Untersuchungen zum Verhalten von Güllekeimen im Bodeneinfluß der ausgebrachten Güllemenge und der Probenahmetechnik. Diplomarbeit, Institut für Umwelt-und Tierhygiene sowie Tiermedizin mit Tierklinik, Universität Hohenheim.
- [112] Tamasi G., 1981: Factor influencing the survival of pathogenic bacteria in soils. *Acta Vet. Acad. Sci. Hung.* 29 (2), s.119-126.
- [113] Tate R.L., 1978: Cultural and environmental factors affecting the survival of *Escherichia coli* in organic soil. *ASM Abstracts*. 94, s.177.
- [114] Thater M., 1990: Genese und Klassifikation schwarzerdeähnlicher Böden im württembergischen Donauried. Diplomarbeit, Institut für Bodenkunde und Standortslehre, Universität Hohenheim.
- [115] Thomas G.W., Phillips R.E., 1979: Consequences of water movement in macropores. *J. Environ. Qual.* 8, s.149-152.
- [116] Thunegard E., 1975: On the persistence of bacteria in manure. *Acta vet. scand suppl.* 56, s.1-86.
- [117] Tobin R.S., Smith D.K., 1988: Criteria the microbiological quality of well water in Canada. *Water Qual. Bull.* 14, s.175-182.
- [118] Unger H., Wagner M., 1965: Das Verhalten von enteropathogenen Serotypen von *Escherichia coli* in zwei verschiedenen Böden. *Zentrabl. Bakt. Parasitk. Infekt. Hyg. II. Abt.*, 119, s.474-489.
- [119] Wagner J.-A., 1993: Untersuchungen zur Tenazität und zum Infiltrationsverhalten von Salmonellen und Güllekeimen in Standardböden und in verschiedenen Böden des Wasserschutzgebietes Donauried. Dissertation, Universität Hohenheim.
- [120] Zawadzki S., 1973: Laboratoryjne oznaczenie zdolności retencyjnych utworów glebowych. *Wiad. IMUZ.* 11, 2, s.11-31.

BADANIA NAD ZACHOWANIEM I PRZEŻYWALNOŚCIĄ WYBRANYCH DROBNOUSTROJÓW FEKALNYCH W GLEBIE NAWOŻONEJ GNOJOWICĄ

Streszczenie

Celem pracy była ocena przeżywalności oraz tempa i zakresu przemieszczania się bakterii fekalnych w glebach nawożonych gnojowicą bydłą. Ponadto prześledzono wpływ zróżnicowanych warunków glebowo-klimatycznych na zachowanie się wybranych bakterii kałowych w glebie oraz ryzyko skażenia nimi wód gruntowych. Na poletka badawcze zlokalizowane na glebie płowej, rdzawej i czarnoziemie leśno-łąkowym wylewano w różnych sezonach gnojowicę bydłą w ilości 3 l/m² (poletka K). Gnojowica wylewana w tej samej ilości na poletka D zawierała po 1 litrze zawiesiny namnożonych w bulionie *E. coli*, paciorkowców grupy-D (10^8 - 10^9 bakterii w 1 ml) i pałeczek *Salmonella* (10^6 - 10^7 bakterii w 1 ml). Próby gleby pobierano przed rozlaniem gnojowicy (0), tydzień po jej rozlaniu, a następnie 4-krotnie w odstępach miesięcznych. Były one pobierane każdorazowo z obu poletek z głębokości 12, 25, 43, 75 i 90 cm. Badania fizykochemiczne gleb obejmowały ich skład granulometryczny, gęstość i wilgotność objętościową, porowatość różnicową, współczynnik filtracji, odczyn a także zawartość węgla, azotu, tlenków potasu, magnezu, wapnia i fosforu. Prowadzono także pomiary temperatury gleby na różnych głębokościach oraz kontrolowano warunki klimatyczne. Badania mikrobiologiczne gleby obejmowały ilościowe oznaczanie *E. coli*, paciorkowców grupy-D i pałeczek *Salmonella* przy użyciu metody (NPL).

Badania wykazały, że tempo eliminacji bakterii fekalnych w glebie jest zróżnicowane i zależy zarówno od gatunku bakterii, ich liczebności, typu gleby, jak i warunków atmosferycznych. Przeżywalność bakterii była najkrótsza w powierzchniowej warstwie gleby rdzawej w okresie suszy. Wynosiła ona dla *E. coli* 13,1 tygodnia, paciorkowców grupy-D 14,1, zaś pałeczek *Salmonella* 8,7 tygodnia. Najkorzystniejsze warunki bytowania w obu okresach letnich wystąpiły w czarnoziemie leśno-łąkowym. Przeżywalność *E. coli* wynosiła 23,1 tygodnia w lecie suchym i 27,6 tygodnia w lecie wilgotnym paciorkowców grupy-D odpowiednio 21,9 i 41,9 tygodnia, natomiast pałeczek *Salmonella* 14,6 i 21 tygodni. Najmniej korzystnie oddziaływała na badane bakterie gleba rdzawa. W okresie suszy przeżywalność wynosiła dla *E. coli* 15,2 tygodnia, paciorkowców grupy-D 15,0 tygodni zaś pałeczek *Salmonella* 8,7 tygodni. W okresie wilgotnym wydłużyła się dla poszczególnych gatunków bakterii odpowiednio do: 22,6; 21,8 i 16 tygodni. Pomimo że tempo eliminacji było wyższe na poletkach doświadczalnych, to jednak wskutek wprowadzenia liczniejszych populacji bakteryjnych, wykazywany bezwzględny czas ich występowania na obu poletkach był podobny. Zdecydowana większość bakterii jelitowych podlegała retencji w górnej części profili glebowych. Decydujący wpływ na infiltrację drobnoustrojów fekalnych wywierał rodzaj podłoża glebowego, ilość opadów, a także wielkość populacji występujących w gnojowicy. Część populacji drobnoustrojów podlegała szybkiemu transportowi poprzez mega- i makropory glebowe. Bakterie

fekalne najgłębiej migrowały w obrębie gleby piaszczystej w wilgotnej porze roku (do 90 cm), zaś w okresie suszy migrowały znacznie płycej. Dla zminimalizowania ryzyka sanitarno-epidemiologicznego gnojowicę przed rozlaniem na użytki rolnicze należy poddać procesom higienizacyjnym, ponieważ w ekstremalnych warunkach pogodowych nie można wykluczyć skażenia wód gruntowych drobnoustrojami. Istnieje pilna konieczność modyfikacji przepisów określających warunki rolniczego wykorzystania ścieków odzwierzęcych.

THE INVESTIGATIONS ON BEHAVIOUR AND SURVIVAL OF SELECTED FECAL BACTERIA IN SOILS FERTILIZED WITH SLURRY

Summary

The aim of study was to estimate survival, the rate and the range of dislocation of fecal bacteria in soils fertilized with bovine slurry. Influence of different soil environments and climate conditions on the behaviour of selected fecal bacteria in soil as well as the risk of contamination of underground water have also been observed. Cattle slurry in dose of 31/m² was spread out on plots located on lessive soil, rusty soil and forest-meadow chernozem at different times of the year (plots C). Slurry spread in the same dose on experimental plots (E) contained additionally suspension of *E. coli*, group D streptococci (10⁸-10⁹ bacteria in 1 ml) and *Salmonella* (10⁶-10⁷ bacteria in 1 ml) multiplied in bouillon - 1 litre each. Samples of soils were taken before using slurry (E), a week after spreading and then, 4 times at monthly intervals. They were taken out from plots everytime from depth 12, 25, 43, 75 and 90 cm. Physical and chemical analysis of soils included their granulometric division, density and volumetric humidity, differential porosity, filtration coefficient, reaction and the content of carbon, nitrogen, potassium dioxide, calcium dioxide and phosphorus dioxide were evaluated. Soil temperature on different depths were also conducted, and climate conditions were controlled. Microbiological research of soil included quantitative determination of *E. coli*, group D streptococci and *Salmonella* spp. using the MPN method was conducted.

The research showed that elimination rate of fecal bacteria in soil varied strongly and depended on species and amount of bacteria, the type of soil and weather conditions. The survival time of bacteria was the shortest in the surface layers of rusty soil under dry conditions and was estimated on 13,1 weeks for *E. coli*, 14,1 weeks for group D streptococci and 8,7 weeks for *Salmonella* spp. The most beneficial conditions for existence of fecal bacteria in investigated periods occurred in forest-meadow chernozem. The survival rate of *E. coli* lasted for 23,1 weeks and 27,6 weeks for group D streptococci 21,9 and 41,9 weeks, while for *Salmonella* 14,6 and 21 weeks in dry and moist summer respectively.

Rusty soil created less beneficial conditions for tested bacteria. In the course of dry weather, the survival rate was 15,2 weeks for *E. coli*, 15,0 weeks for group D streptococci and 8,7 weeks for *Salmonella* spp. In moist period survival time for particular species of bacteria was accordingly to 22,6, 21,8 and 16 weeks respectively. Although the elimination rate of investigated bacteria on experimental plots was higher, the time of bacteria occurring on both plots was similar, due to introducing their larger populations. A great majority of fecal bacteria were subjected to retention in the higher parts of soil profiles. The type of subsoil, the precipitation and the bacterial population present in slurry were the most important factors influencing infiltration of fecal microorganisms. Some microorganisms were quickly transported in deeper layer of soil profile through mega and macropores. Fecal bacteria migrated the most deeply in sandy soil in

moist season (to 90 cm deep). During dry weather they migrated much more superficially. To minimize the risk of epidemic slurry should be subjected to hygienic processes before use on arable land. However the contamination of underground water with microorganisms under extremal weather conditions can not be excluded. It is necessary to modify the implemented regulations for agricultural use of animal slurry.



Biblioteka Główna ATR
w Bydgoszczy

81227