



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

ROZPRAWY NR 116

Halina Olszewska

**ASPEKTY HIGIENICZNE
ROLNICZEGO WYKORZYSTANIA
GNOJOWICY**

5/9

ewska, Halina (mikrobi
ekty higieniczne rolnic

BYDGOSZCZ – 2005

639, 9/09



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

ROZPRAWY NR 116

Halina Olszewska

**ASPEKTY HIGIENICZNE
ROLNICZEGO WYKORZYSTANIA
GNOJOWICY**

Biblioteka Główna ATR w Bydgoszczy



000000120771

BYDGOSZCZ – 2005

REDAKTOR NACZELNY
dr hab. Lucyna Drozdowska, prof. nadzw. ATR

OPINIODAWCY
prof. dr hab. Witold Janeczek
prof. dr hab. Leszek Tymczyzna

OPRACOWANIE REDAKCYJNE I TECHNICZNE
mgr Michał Górecki, mgr inż. Daniel Morzyński



87393

© Copyright
Wydawnictwa Uczelniane Akademii Techniczno-Rolniczej
Bydgoszcz 2005

ISSN 0209-0597

Wydawnictwa Uczelniane Akademii Techniczno-Rolniczej
ul. Ks. A. Kordeckiego 20, 85-225 Bydgoszcz, tel. (052) 3749482, 3749426
e-mail: wydawucz@atr.bydgoszcz.pl <http://www.atr.bydgoszcz.pl/~wyd>

Wyd. I. Nakład 120 egz. Ark. aut. 5,9. Ark. druk. 5,5. Zamówienie nr 8/2005
Oddano do druku i druk ukończono w kwietniu 2005 r.
Uczelniany Zakład Małej Poligrafii ATR Bydgoszcz, ul. Ks. A. Kordeckiego 20

6.10.05 / 2005

Spis treści

1. WSTĘP	5
2. CEL BADAŃ.....	10
3. MATERIAŁ I METODY	11
3.1. Gleby	11
3.2. Badania fizykochemiczne gleby	11
3.3. Badania fizykochemiczne gnojowicy	12
3.4. Badania bakteriologiczne.....	12
3.4.1. Izolacja oraz identyfikacja badanych bakterii z gnojowicy dla uzyskania zawiesiny bakteryjnej.....	12
3.4.2. Namnażanie czystych kultur na bulionie wzbogaconym.....	13
3.5. Badanie przeżywalności pałeczek <i>E. coli</i> , Streptokoków grupy D i pałeczek <i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> ser. Dublin w glebach, gnojowicy i wodzie.....	13
3.6. Badanie mikrobiologiczne gleby	13
3.6.1. Oznaczenie ilościowe pałeczek <i>E. coli</i> w glebie	13
3.6.1.1. Hodowla na podłożach płynnych i stałych	13
3.6.1.2. Końcowa identyfikacja pałeczek <i>E. coli</i>	14
3.6.2. Oznaczenie ilościowe Streptokoków grupy D w glebie	14
3.6.2.1. Hodowla na podłożach płynnych i stałych	14
3.6.3. Oznaczenie ilościowe pałeczek <i>Salmonella</i> w glebie.....	15
3.6.3.1. Namnażanie na podłożach płynnych i stałych.....	15
3.7. Szczepy wirusów i hodowle komórkowe.....	15
3.8. Roztwory do elucji wirusów	15
3.9. Ustalenie warunków adsorpcji i elucji wirusów z poszczególnych poziomów genetycznych badanych gleb	15
3.10. Oznaczanie miana wirusów	16
3.11. Oznaczanie przeżywalności enterowirusa bydła w badanych rodzajach gleb z dodatkiem gnojowicy bydlęcej	16
3.12. Obliczenia statystyczne.....	16
4. WYNIKI BADAŃ	18
4.1. Charakterystyka gleb obiektów badawczych.....	18
4.1.1. Wyniki badań składu frakcyjnego gleb	23
4.1.2. Analiza widm w podczerwieni (IR).....	24
4.2. Badania gnojowicy	26
4.3. Wyniki przeżywalności bakterii wskaźnikowych w badanych środowiskach.....	27
4.3.1. Przeżywalność bakterii wskaźnikowych w gnojowicy i wodzie	27
4.3.2. Wyniki badań przeżywalności bakterii wskaźnikowych w glebach.....	33
4.3.2.1. Gleba bielkowa (A1 i A2)	33
4.3.2.2. Czarna ziemia (B3 i B4).....	40
4.3.2.3. Czarna ziemia zbrunatniała (C5, C6, C7).....	46

4.4. Wyniki przeżywalności enterowirusa bydła w badanych środowiskach	56
4.4.1. Stopień elucji enterowirusa bydła z badanych gleb.....	56
4.4.2. Przeżywalność enterowirusa bydła w wodzie i gnojowicy.....	56
4.4.3. Przeżywalność enterowirusa bydła w glebach nawożonych gnojowicą	59
4.4.3.1. Gleba bielkowa (A1 i A2)	59
4.4.3.2. Czarna ziemia (B3 i B4).....	62
4.4.3.3. Czarna ziemia zbrunatniała (C5, C6 i C7).....	63
5. DYSKUSJA	66
5.1. Drobnoustroje wskaźnikowe i metody badawcze	66
5.2. Przeżywalność mikroorganizmów wskaźnikowych badanych w gnojowicy, wodzie i glebach.....	68
6. WNIOSKI	75
LITERATURA	76
STRESZCZENIA	86

1. WSTĘP

Wartość użytkowa gnojowicy dla rolnictwa, ze względu na bogate zasoby nawozowe jest niekwestionowana. Duży udział łatwo dostępnego azotu, fosforu i potasu sprawia, że traktowana jest jako substytut nawozów mineralnych i wykazuje wyraźne oddziaływanie plonotwórcze. Jednym z czynników ograniczających stosowanie gnojowicy jest ryzyko mikrobiologicznego skażenia gleby, wód gruntowych, powierzchniowych, jak również pogorszenie stanu fitosanitarnego roślin w następstwie jej nadmiernego wykorzystania. Gnojowica zawierać może znaczny ładunek mikroorganizmów saprofitycznych, patogennych bakterii, grzybów oraz jaj pasożytów żołądkowo-jelitowych [Strauch 1986, Olszewska i wsp. 1994, Paluszak i wsp. 1994, Kluczek 1995]. Dominującą populację stanowią saprofityczne bakterie jelitowe wśród których najliczniej występują pałeczki grupy coli. Średnio izoluje się ich 10^5 - 10^6 cfu·ml⁻¹ [Stromberg 1984]. Szczególne zagrożenie dla środowiska stanowią mikroorganizmy patogenne zawarte w gnojowicy, a zwłaszcza bakterie z rodzaju: *Salmonella*, *Brucella*, *Mycobacterium*, *Leptospira*, enteropatogenne szczepy *E. coli* i inne [Jones i wsp. 1981, Jones 1982, Markert 1990, Kudva i wsp. 1998]. Jakkolwiek mikroorganizmy patogenne stanowią niewielki odsetek całości populacji występującej w ściekach odzwierzęcych, to jednak z powodu dużej oporności na czynniki środowiskowe i możliwość kontaminacji wód ich udział w szerzeniu wielu chorób może być znaczący. Sprzyjają temu właściwości fizykochemiczne gnojowicy, która nie podlega procesowi samozagrzenia i w przypadku zbyt krótkiego składowania może być źródłem drobnoustrojów patogennych wprowadzonych do gleby [Kibbey i wsp. 1978, Jones 1980]. Spośród patogenów z gnojowicy można izolować pałeczki z rodzaju *Salmonella*, które w środowisku mogą przetrwać od kilku do 270 dni [Bürger 1984, Dinter 1988, Philipp i wsp. 1990]. W gnojowicy bydłowej dominuje *Salmonella* Dublin, rzadziej spotyka się *Salmonella* Typhimurium [Thunegard 1975, Munch i wsp. 1987].

Nawożenie gnojowicą wiązać się może z ryzykiem rozpowszechniania w środowisku bakterii antybiotykoopornych. Szerokie stosowanie terapeutyczne antybiotyków u ludzi i zwierząt oraz profilaktyczne w chowie zwierząt sprzyja powstawaniu szczepów antybiotykoopornych bakterii jelitowych [Schroeder i wsp. 2002]. Odporność bakterii na szereg powszechnie stosowanych antybiotyków z grupy β -laktamów, aminoglikozydów, cefalosporyn oraz na wankomycynę utrudnia zwalczanie chorób powodowanych przez np. enterokoki. Bakterie występujące w odchodach zwierzęcych i ściekach nie podlegających higienizacji, a stosowane jako nawozy mogą być źródłem transmisji antybiotykooporności na inne drobnoustroje. W konsekwencji rozlewanie gnojowicy umożliwia transfer genów oporności na antybiotyki do takich bakterii glebowych jak: *Proteus* spp., czy *Pseudomonas* spp. W wielu krajach europejskich enterokoki odporne na wankomycynę pojawiły się w efekcie wzbogacania pasz w awoporycynę – antybiotyk glikopeptydowy [Corpet 1996, Nijsten i wsp. 1996, Bager i wsp. 1997].

Drobnoustroje fekalne wprowadzone z gnojowicą do gleb podlegają wpływowi różnorodnych czynników. Ich wymagania termiczne [Cools i wsp. 2001] nie pozwalają jednak na stałe zasiedlenie przez nie środowiska glebowego, chociaż w krótkim okresie po aplikacji gnojowicy bakterie te mogą się namnażać w glebie. W końcowym jednak efekcie podlegają procesowi częściowej lub całkowitej eliminacji ze środowiska glebowego [Tate 1978, Möller 1984, Sorber i Moore 1987, Pepper i wsp. 1993].

Spadek liczebności populacji bakterii jelitowych w glebach jest przede wszystkim związany z ich obumieraniem [Althaus i wsp. 1982]. Tempo eliminacji drobnoustrojów w środowisku glebowym jest bardzo zróżnicowane. Z dostępnej literatury wynika, że czas przeżycia bakterii wahać się może od kilku dni do nawet kilku lat [van Donsel i wsp. 1967, Gerba i wsp. 1975]. Baloda i wsp. [2001] podają, iż bakterie z rodzaju *Salmonella* wykrywano w glebach nawożonych gnojowicą do 14 dni, natomiast Strauch i wsp. [1981] obserwował je w ściółce leśnej jeszcze po dwóch latach od aplikacji ścieków odzwierzęcych. Spośród wielu czynników wpływających na inaktywację drobnoustrojów patogennych, szczególną rolę odgrywa: zawartość materii organicznej, odczyn gleby, temperatura i stosunki wilgotnościowe w glebie [Kibbey i wsp. 1978, Chandler i Craven 1980, Storey i Philip 1985, Scheffer i Schachtschabel 1989]. Zwykle dłuższą przeżywalność stwierdza się zimą, jakkolwiek na przemian pojawiające się okresy zamarzania i odwilży sprzyjają szybszej eliminacji mikroorganizmów z gleb [Gerba i wsp. 1975, Kibbey i wsp. 1978, Guan i Holley 2003]. W glebach zasobnych w materię organiczną, gdzie występuje bogata rodzima flora glebowa, drobnoustroje wprowadzone z gnojowicą szybciej obumierają z powodu dużej konkurencji o składniki pokarmowe oraz obecności w środowisku antybiotyków i produktów przemiany materii mikroflory glebowej [Frankenberger 1985]. Z kolei w glebach mało zasobnych bakterie jelitowe mogą podlegać szybkiej eliminacji, ponieważ również nie są w stanie konkurować o składniki pokarmowe z rodzimymi drobnoustrojami glebowymi [Klein i Casida 1967]. Edmonds [1976] podaje, iż wzbogacanie gleby w materię organiczną wpływa zwykle korzystnie na przeżywalność drobnoustrojów allochtonicznych, w wyniku udostępnienia łatwo przyswajalnych składników koniecznych dla ich wzrostu.

Niezwykle istotnym problemem związanym z nawozowym stosowaniem gnojowicy jest możliwość rozprzestrzeniania się chorób inwazyjnych. Występują w niej bowiem formy inwazyjne pasożytów, między innymi: *Eimeria*, *Trichuris*, *Moniezia*, *Fasciola*, *Ascaris* [Bürger i Stoye 1978]. Szczególną rolę spośród pierwotniaków odgrywają: *Giardia* i *Cryptosporidium*, których oocysty są bardzo odporne na procesy oczyszczania ścieków [Cacciò i wsp. 2003]. Gnojowica, zwłaszcza świńska, często skażona jajami *Ascaris* odgrywa istotną rolę w rozprzestrzenianiu nicieni [Muff i wsp. 1984]. Okres aktywności jaj pasożytów w gnojowicy jest bardzo zróżnicowany. W zależności od gatunku pasożyta, rodzaju gnojowicy oraz temperatury środowiska jaja mogą zachowywać inwazyjność od kilku dni do nawet roku [Strauch 1991].

Ze względów epidemicznych, szczególne znaczenie dla ludzi i zwierząt, wydają się mieć występujące w ściekach odzwierzęcych wirusy: pryszczycy, zapalenia żołądka i jelit świń, rotawirusy, wirus choroby pęcherzykowej, cieszyńskiej, Aujeszky i inne [Wekerle 1988, Haas i wsp. 1995, Pejsak i Markowska-Daniel 1996]. Często z gnojowicy izoluje się enterowirusy, których miano zakaźne może wahać się od 10^3 do 10^6 TCID₅₀·ml⁻¹ [Strauch 1988]. Przeżywalność wirusów w gnojowicy jest silnie zróżnicowana. W gnojowicy świńskiej wirus Aujeszky zachowuje patogenność od 3 do 15 tygodni, a wirus choroby Mareka 7 dni. W zależności od typu wirusa i temperatury, przeżywalność wirusów w gnojowicy wahała się od 70 do 112 dni [Haas i wsp. 1995], a nawet do 300 dni [Monteith i Shannon 1986].

Należy zauważyć, że także w środowisku glebowym, do którego zostały przeniesione wirusy wraz z gnojowicą nie ulegają one inaktywacji przez długi okres. Stotsky i wsp. [1980] stwierdzali, że fag T7 *E. coli*, w zależności od temperatury i typu gleby, nie ulega inaktywacji od 1 do 31 tygodni. Larkin i wsp. [1976] w nawożonych ściekami organicznymi glebach izolowali wirusy do 96 dni w okresie zimy. Podobnie Straub i wsp. [1995]

wykrywali wirusy w trzy miesiące po nawożeniu gnojowicą gleby. Wirusy, które wraz z nawozami organicznymi przedostają się do środowiska z jednej strony podlegają inaktywacji, z drugiej zaś – mogą być adsorbowane na cząstkach gleby, a w dalszej kolejności – przenoszone w jej głębsze warstwy [Reddy 1980]. Zachowanie się wirusów w glebie określają trzy procesy: transport, sorpcja lub retencja oraz inaktywacja [Tim i Mostaghimi 1991]. W odróżnieniu od bakterii, wirusy nie podlegają procesowi filtracji, lecz przede wszystkim ulegają wiązaniu na powierzchni cząstek glebowych [Wuhrmann 1977].

Adsorpcję mikroorganizmów na cząstkach gleby ilustruje izoterma Freundlicha, według której koncentracja adsorbowanych mikroorganizmów zależy od liczby drobnoustrojów w zawiesinie, ich rodzaju, a także od typu gleby, zawartości w niej kationów wymiennych, pH, zawartości rozpuszczonej materii organicznej oraz stopnia wysycenia wodą [Vaughn i Landry 1983, Filip i wsp. 1986]. Proces adsorpcji jest wypadkową działania sił masowych, powierzchniowych, molekularnych (van der Waalsa) i elektrostatycznych Coulomba [Althaus i wsp. 1982]. Efektem adsorpcji jest bardzo silna retencja wirusów w powierzchniowych warstwach gleby [Gerba i Goyal 1982]. Niektórzy autorzy [Drewry i Eliassen 1968] są zdania, że zdecydowana ich większość zatrzymywana jest w dwucentymetrowej warstwie gruntu, zaś inni [Wang i wsp. 1981] uważają, że decydujący wpływ na możliwość transportu wirusów wywiera typ gleby.

Procesy adsorpcji zachodzą bardzo szybko. Według Sobseya i wsp. [1980] większość wirusów polio i reowirusów zostaje zaadsorbowana na cząstkach gleby już w 15 minut po ich wprowadzeniu do środowiska. Zdolność adsorpcji wirusów uzależniona jest od wielu czynników, między innymi od: gatunku zarazka, typu gleby, pH, zawartości ilów, kationów wymiennych i materii organicznej [Crane i wsp. 1983, Sorber i Moore 1987]. Źle na cząstkach glebowych adsorbują się wirusy ECHO 1 i 11, wirusy *Coxsackie* B₁, B₄, średnio fag f₁, zaś dobrze wirusy polio 1, ECHO 7, *Coxsackie* B₃, T₂, T₄ [Nasser i Lopez-Piła 1986].

Należy jednak zaznaczyć, że procesowi adsorpcji podlegają także bakterie jelitowe. Zachodzi on znacznie wolniej niż u wirusów [Reddy 1980]. Ustalenie stanu równowagi pomiędzy drobnoustrojami w fazie płynnej, a bakteriami na powierzchni cząstek gleby następuje dla przykładu u *E. coli* po 2 godzinach [Carlson i wsp. 1968]. Łatwiejszej adsorpcji podlegają bakterie Gram-dodatne niż Gram-ujemne [Filip i wsp. 1986].

Proces adsorpcji ułatwia przetrwanie w środowisku glebowym zarówno wirusów, jak i bakterii. Należy przypuszczać, że wszystkie czynniki, które zwiększają adsorpcję mikroorganizmów na cząstkach gleb pośrednio wpływają także na przeżywalność drobnoustrojów allochtonicznych w glebie [Hurst i wsp. 1980]. W przypadku obfitego nawożenia gnojowicą, gdy stężenie wprowadzanych do gleby drobnoustrojów jest duże, dominującą rolę w procesie ograniczania przemieszczania mikroorganizmów w glebie zaczyna pełnić proces filtracji [Althaus i wsp. 1982].

Możliwości adsorpcyjne gleb zwiększają się wraz ze wzrostem zawartości ilów [Gerba i Bitton 1984]. Istotny wpływ wywiera także jej odczyn (pH). Mikroorganizmy, dzięki otoczce proteinowej, są amfoterami [Althaus i wsp. 1982]. Przy niskim pH, poniżej ich punktu izoelektrycznego, zyskują ładunek dodatni i są lepiej wiązane przez cząstki gleby. Nie odgrywa to istotnej roli w adsorpcji bakterii, dla których punkt izoelektryczny waha się w zakresie od 2,5 do 3,4 [Maier i wsp. 2000], bowiem w warunkach naturalnych pH gleby nie spada poniżej tej wartości. W przypadku wirusów charakteryzujących się wyższym punktem izoelektrycznym w porównaniu z bakteriami odczyn gleby jest podstawowym czynnikiem wpływającym na ich adsorpcję. Nie można wykluczyć także wpływu innych czynników środowiska glebowego na proces adsorpcji, jak na przykład

zawartości kationów wymiennych, czy stężenia kwasów huminowych [Gerba i Bitton 1984].

Bardzo ważnym czynnikiem wpływającym na adsorpcję bakterii i wirusów jest obecność w glebie kationów wymiennych, zwłaszcza dwuwartościowych jonów wapnia i magnezu oraz trójwartościowych – żelaza i glinu [Althaus i wsp. 1982, Scheffer i Schachtschabel 1984]. Zwiększają one siłę wiązania drobnoustrojów obniżając podstawowy potencjał cząstek gleby i mikroorganizmów. Należy przyjąć, że nawożenie ściekami poprawia właściwości adsorpcyjne gleb [Wellings i wsp. 1974, Duboise i wsp. 1976]. Gleby wzbogacone w kationy tworzą z zawiesin i zanieczyszczeń zawartych w ściekach warstwę organiczną o dobrych właściwościach adsorpcyjnych. Dowodem tego są duże zdolności retencji mikroorganizmów w glebach humusowych [Althaus i wsp. 1982, Tate 1987]. Gerba i Bitton [1984] zwracają uwagę, że rozpuszczona materia organiczna konkuruje z bakteriami i wirusami o miejsca wymienne w niewielkim stopniu zmniejszając możliwości adsorpcyjne gleb. Prace Moore i wsp. [1981] dowodzą, że w glebie jest dostateczna ilość wymienników, a wirusy zajmują jedynie 1% miejsc wymiennych. Należy podkreślić, że procesy adsorpcji powodują opóźnienie transportu mikroorganizmów w glebie, co można określić współczynnikiem opóźnienia. Proces adsorpcji na cząstkach gleby jest więc bezsprzecznie jedną z ważniejszych przeszkód dla migracji mikroorganizmów w głąb jej warstw genetycznych [Althaus i wsp. 1982].

Szczególnie duże zagrożenie dla środowiska stanowi gnojowica stosowana w nadmiernej ilości do nawożenia, zwłaszcza w przypadku, gdy nie została poddana żadnym zabiegom kondycjonowania [Kluczek i wsp. 1990 a,b, Tachtler 1991]. Może wówczas dochodzić do zaburzenia zdolności samooczyszczania gleby [Olszewska i wsp. 1994, Kluczek 1995].

Zasadniczą rolę w procesie samooczyszczania gleby pełnią jej właściwości fizykochemiczne oraz aktywność biologiczna [Althaus 1983, Pekdeger 1984]. Na proces ten wpływają również czynniki atmosferyczne, między innymi temperatura, opady atmosferyczne i promieniowanie słoneczne [Thunegard 1975, Kibbey i wsp. 1978]. Znany jest dezynfekcyjny wpływ promieniowania słonecznego na eliminację bakterii fekalnych i wirusów nie tylko z powierzchniowych warstw gleby, ale także z wód morskich [Crane i Moore 1986, Hughes 2003]. Na przeżywalność bakterii w glebach wpływa niewątpliwie częstotliwość opadów, jakkolwiek badania Sainia i wsp. [2003] wskazują, iż ich brak nawet przez 16 dni po nawożeniu gnojowicą nie wyklucza możliwości przycięcia w glebie wprowadzonych z gnojowicą pałeczek okrężnicy.

Z przytoczonych danych jasno wynika, że gleba stanowić może ważne ogniwo w łańcuchu epidemicznym. Do zakażeń ludzi i zwierząt może dochodzić wskutek spożycia roślin z pól obficie nawożonych ściekami komunalnymi i odzwierzęcymi [Bondarenko i Grigoriewa 1975, Solomon i wsp. 2002]. Stwierdzano obecność poliovirusów na roślinach i warzywach nawożonych ściekami po upływie 36 dni. Ten sam wirus na sztucznie zakażanej kapuście, pieprzu i pomidorach przeżywał odpowiednio – 4, 12 i 18 dni. Z kolei inne badania [Feachem i wsp. 1978, 1981, Wellings 1981, Natvig i wsp. 2002, Solomon i wsp. 2002] wykazały, że zarówno wirusy, jak i bakterie mogą przenikać do systemów korzeniowych i łodyg roślin, co wskazuje na możliwość wewnętrznego, jak i zewnętrznego skażenia roślin przez drobnoustroje pochodzące ze ścieków. Drobnoustroje z rodzaju *Salmonella* na sztucznie zakażonych pomidorach przeżywały 49 dni, przy czym możliwość skażenia owoców zachodziła nawet wówczas, kiedy inokulacja bakterii miała miejsce w czasie kwitnienia roślin [Guo i wsp. 2001]. Stosowanie nawozów gnojowicy jest także niekiedy przyczyną szerzenia się chorób pasożytniczych. Jaja

Ascaris mogą zachowywać inwazyjność w glebie do 2 lat, zaś na roślinach wykrywano je przez kilka miesięcy, co stwarza realne ryzyko inwazji pasożytniczych [Strauch 1991].

Na skutek obfitych opadów deszczu część drobnoustrojów uprzednio związanych z cząstkami gleby może ulegać desorpcji i szybko przenosić się do wód podskórnych oraz gruntowych [Althaus i wsp. 1982, Althaus 1983, Gerba i Bitton 1984]. W przypadku stosowania dużych dawek płynnego nawozu, pomimo retencji w górnej warstwie gleby znacznej liczby mikroorganizmów, ilość drobnoustrojów wnikaających w głąb profilu glebowego wzrasta, zwiększając ryzyko skażenia wód gruntowych [Hirte 1979]. Na podkreślenie zasługuje fakt, iż Keswick i wsp. [1984] stwierdzali obecność enterowirusów i rotawirusów nawet w próbach uzdatnionej wody pitnej. Dla bezpieczeństwa zdrowia ludzi i zwierząt w pełni uzasadnione wydaje się poddawanie gnojowicy procesom unieszkodliwiania w celu inaktywacji patogennych drobnoustrojów. Jednocześnie bardzo ważne jest ustalenie właściwych metod badawczych, które pozwolą określić efektywność zabiegów kondycjonowania gnojowicy [Lund i wsp. 1996].

W związku z możliwością zagrożenia zdrowia ludzi i zwierząt, jakie niesie intensywne nawożenie gnojowicą niezwykle istotne jest doskonalenie metod badawczych, pozwalających na wykrycie patogenów w glebach i ściekach organicznych. Rolę tę spełniają bakterie wskaźnikowe, których obecność w danym środowisku pozwala wnioskować o ewentualnym jego zagrożeniu innymi bakteriami [Maier i wsp. 2000]. W przypadku wirusów, które podlegają adsorpcji na cząstkach gleby wstępnym etapem badań jest elucja wirusa z materiału badawczego. Wiązanie wirusa z cząstkami gleby powoduje dużą trudność w doborze buforu eluującego. Bufory, odpowiednie dla jednego rodzaju gleby często są nieprzydatne dla pozostałych. Najczęściej do elucji wirusów z gleb stosuje się: ekstrakt wołowy, glicynę oraz surowicę płodową bydła [Landry i wsp. 1980, Soares i wsp. 1992, Jarzabek i wsp. 1995]. Odczyn roztworów używanych do elucji powinien być wysoki, ułatwia to bowiem wypłukiwanie wirusów [Gerba i wsp. 1977, Bitton i wsp. 1979a, Hurst i wsp. 1991].

2. CEL BADAŃ

Gnojowica zawiera pewien ładunek patogennych drobnoustrojów, które mogą stanowić zagrożenie dla zdrowia ludzi oraz zwierząt. Procesy jakim podlegają drobnoustroje allochtoniczne w glebach są złożone i uwarunkowane przez wiele czynników. Celem pracy było poszerzenie wiedzy na temat wpływu zarówno temperatury, jak i różnicowanych warunków glebowych na tempo eliminacji wybranych drobnoustrojów z gleby, gnojowicy i wody. Podjęto próbę określenia przeżywalności wybranych bakterii oraz enterowirusa bydła w środowisku glebowym, do którego zostały wprowadzone wraz z gnojowicą. Przeprowadzone badania stanowią podstawę do opracowania modelowej metody monitoringu środowiska glebowego dla oceny ryzyka sanitarnego związanego z nawozowym stosowaniem gnojowicy. Do badań własnych użyto bakterii *E. coli* i Streptokoków grupy D, które uznane są za drobnoustroje wskaźnikowe [Maier i wsp. 2000]. Z racji możliwości występowania w gnojowicy pałeczek z rodzaju *Salmonella*, jako przedstawiciela patogenów przyjęto w modelu doświadczenia bakterie *Salmonella* Dublin. W badaniach zastosowano także enterowirusy bydła, które w znacznej ilości izolowane są z gnojowicy. Ponadto są one odporne na czynniki środowiskowe i dają wyraźny efekt cytotatyczny [Kopecka i wsp. 1993].

3. MATERIAŁ I METODY

3.1. Gleby

Do badań użyto trzech występujących w rejonie Kujaw gleb*:

A – biellicowej, zlokalizowanej w obiekcie I (okolice wsi Marcinki),

B – czarnej ziemi, pobranej w obiekcie II (rejon wsi Gizewo),

C – czarnej ziemi zbrunatniałej, z obiektu III (okolice Łagiewnik),

Dwie pierwsze zostały uformowane z dwóch warstw genetycznych, trzecia – z trzech oznaczonych jako:

A1 – gleba biellicowa poziom próchniczny,

A2 – gleba biellicowa skała macierzysta,

B3 – czarna ziemia poziom próchniczny,

B4 – czarna ziemia skała macierzysta,

C5 – czarna ziemia zbrunatniała poziom próchniczny,

C6 – czarna ziemia zbrunatniała poziom brunatnienia,

C7 – czarna ziemia zbrunatniała skała macierzysta.

W wybranych obiektach badawczych wykonano odkrywki i pobrano próby do badań z poszczególnych fragmentów genetycznych gleb. W laboratorium, gleby po wysuszeniu w temperaturze pokojowej przesiano przez sito o średnicy oczek 1 mm.

3.2. Badania fizykochemiczne gleby

Pierwszy etap badań obejmował ocenę fizykochemiczną wybranych gleb. W poszczególnych poziomach genetycznych gleb oznaczono ich skład granulometryczny aerometrycznie metodą Bouyoucosa w modyfikacji Casagrande'a i Prószyńskiego [Lityński i wsp. 1976]. Próby gleby o nienaruszonej strukturze, dla zbadania jej gęstości objętościowej, pobierano do cylindrów o objętości 100 cm³ w 4 powtórzeniach z 8 poziomów do głębokości 100 cm. Charakterystyki wodne gleby (krzywe desorpcji wody), zgodnie z metodyką Zawadzkiego [1973], oznaczono w próbach o naturalnej strukturze i zagęszczeniu, przy czym próby do tych analiz pobrano z poszczególnych poziomów genetycznych gleb o wilgotności zbliżonej do polowej pojemności wodnej.

Opierając się na charakterystykach wodnych gleb ustalono rozkład wielkości porów glebowych (porowatość różnicową gleb). Odczyn gleby określono potencjometrycznie w wodzie i roztworze KCl. Popielność gleby oznaczono powszechnie stosowanymi w chemii rolniczej metodami [Lityński i wsp. 1976]. Skład chemiczny gleb badano metodą spektrofotometrii atomowej (AAS). Pojemność wymienną kationów wyliczono w wyciągu 1n CH₃COONH₄, zaś wodór wymienny w 0,5 n BaCl₂ i 0,055 n trietanolaminie (TEA) [Kociołkowski i wsp. 1994].

Do oznaczenia węgla organicznego (TOC) w próbkach stałych zastosowano analityczny TOC Primacs firmy Skalar (Breda, Holandia). Zawartość TOC próbce glebowej

* Badania zrealizowano przy współpracy z Państwowym Zakładem Higieny w Warszawie oraz Institut für Umwelt- und Tierhygiene sowie Tiermedizin mit Tierklinik Universität Hohenheim Stuttgart.

obliczono z różnicy pomiędzy zawartością węgla całkowitego (TC) oraz węgla nieorganicznego (IC). Dla analizowanych gleb wykonano badanie składu frakcyjnego metodą Schnitzera [Schnitzer i Khan 1978], polegającą na jednorazowej ekstrakcji związków próchnicznych 0,5 M NaOH. Stosunek gleby do roztworu przyjęto 1:10, czas ekstrakcji 24 godziny. W pierwszym etapie przeprowadzono dekalcytację prób gleby 0,5 M HCl – w ekstrakcie oznaczono rozpuszczalny węgiel organiczny (RWO). Właściwą ekstrakcję kwasów humusowych przeprowadzono 0,5 M NaOH. Otrzymany ekstrakt zawierał sumę kwasów huminowych i fulwowych ($C_{KH} + C_{KF}$). Oznaczono w nim węgiel organiczny ($TOC_{CKH + CKF}$) za pomocą analizatora TOC Primacs firmy Skalar. Następnie stosując 2 M HCl doprowadzano roztwór do pH 2, wytrącając kwasy huminowe. Wytrącone kwasy huminowe oddzielano przez wirowanie, a w ekstrakcie oznaczano węgiel kwasów fulwowych (C_{KF}). Z różnicy pomiędzy sumą KH (kwasów huminowych) a KF (kwasów fulwowych) ($C_{KH} + C_{KF}$) obliczono zawartość kwasów huminowych (C_{KH}). Wytrącone kwasy huminowe 3-krotnie wytrząsano roztworem HCl+HF, obmywano wodą destylowaną, liofilizowano i rozcierano w moździerzu agatowy. Następnie próby przechowywano w eksykatorze w obecności P_2O_5 . W preparatach oznaczano widma w podczerwieni (IR). Analizę widm w podczerwieni wykonano spektrometrem IR-M80 firmy Carl Zeiss Jena dla pastylek 3 mg kwasów huminowych w 800 mg KBr [Wegner 1999].

3.3. Badania fizykochemiczne gnojowicy

Badania składu chemicznego gnojowicy obejmowały określenie: suchej masy, pozostałości po prażeniu oraz odczynu pH metodami powszechnie stosowanymi w chemii rolniczej [Ostrowska i wsp. 1991]. Zawartość potasu i wapnia zbadano metodą fotopłomieniową, azotu ogólnego metodą Kjeldahla, a fosforu metodą kolorymetryczną. Poziom metali ciężkich określono metodą spektrometrii atomowej i spektrometrii emisyjnej [Ostrowska i wsp. 1991].

3.4. Badania bakteriologiczne

3.4.1. Izolacja oraz identyfikacja badanych bakterii z gnojowicy dla uzyskania zawiesiny bakteryjnej

Dla uzyskania czystych kolonii bakteryjnych *E. coli* pobierano 10 ml gnojowicy bydłowej, którą dodawano do 90 ml bulionu Mac Conkeya (MacConkey-Bouillon, Merck, art. nr 5396). Po inkubacji w temperaturze 37°C przesiano materiał na selektywne podłoże stałe - agar z tergitolem (Tergitol-7-Agar, Merck, art. nr 5471), a następnie na agar odżywczy. Wyrośnięte kolonie testowano przy użyciu zestawu API 20E oraz określono zdolność wytwarzania dekarboksylazy kwasu glutaminowego (punkt 3.6.1.2). Czyste kolonie Streptokoków-D uzyskiwano, dodając 10 ml gnojowicy do 90 ml bulionu z glukozą i azydkiem (Azid-Glucose-Bouillon, Merck, art. nr 1590). Następnie dnia przenoszono materiał na selektywne podłoże stałe z kanamycyną, eskuliną i azydkiem (Kanamycin-Ascullin-Azid-Agar, Merck, art. nr 5222). Po przesianiu na agar zwykły przeprowadzono końcową identyfikację kolonii testem API 20 STREP oraz za pomocą aglutynacji szkiełkowej. Pateczki *Salmonella enterica* subsp. *enterica* ser. Dublin otrzymano z kolekcji Instytutu Medycyny Morskiej i Tropikalnej w Gdyni.

3.4.2. Namnażanie czystych kultur na bulionie wzbogaconym

Do każdej z 3 probówek zawierających 10 ml bulionu odżywczego (Standard I Nahr-Bouillon, Merck art. nr 107882) przenoszono odpowiednio po kilka czystych kolonii bakteryjnych pałeczek *E. coli*, Streptokoków grupy D i pałeczek *Salmonella*, które inkubowano następnie w 37°C przez 24 godziny. Zawartość probówek przenoszono następnego dnia do 3 butelek zawierających 1 litr bulionu odżywczego, które po dokładnym zmieszaniu inkubowano w identycznych warunkach. Po upływie 24 godzin zawiesinę przenoszono do lodówki, gdzie przechowywano ją przez 7 dni.

3.5. Badanie przeżywalności pałeczek *E. coli*, Streptokoków grupy D i pałeczek *Salmonella enterica* subsp. *enterica* ser. Dublin w glebach, gnojowicy i wodzie

Dla przeprowadzenia eksperymentu laboratoryjnego przygotowano 20-gramowe naważki badanych gleb, w których nie stwierdzano obecności pałeczek *Salmonella*. Próby umieszczano w jałowych pojemnikach skażając każdą 3 ml mieszaniny gnojowicy i zawiesiny badanych bakterii w stosunku 1:2. Po dodaniu wody (gleba A 0,4 ml, gleby B i C 1,2 ml) uzyskiwano wysycenie wodą prób w około 60% pojemności wodnej gleb. Pojemniki przechowywano w temperaturze 4 i 20°C. Jednocześnie do 100 ml gnojowicy oraz 100 ml wody dodano po 2 ml zawiesiny badanych bakterii i przechowywano w takich samych warunkach jak próby glebowe. Liczbę bakterii oznaczano po upływie godziny od wprowadzenia zawiesiny bakterii do gleby, wody i gnojowicy (próba zerowa), a następnie w temperaturze 20°C po 3, 6, 9, 12, 15 tygodniach przechowywania prób. Natomiast w temperaturze 4°C badania kontynuowano do 21 tygodnia doświadczenia.

3.6. Badanie mikrobiologiczne gleby

Próby do badań stanowiły trzy 10-gramowe naważki glebowe, które dodawano do 90 ml bulionów namnażających oraz 3 naważki po 1 g, które umieszczono w 9 ml bulionu. Próby mieszano na ultrawytrząsarce, a następnie z 1-gramowych naważek sporządzano rzędy rozcieńczeń od 10^0 do 10^{-9} . Po 24-godzinnej inkubacji z każdego rozcieńczenia przesiewano badany materiał na podłoża stałe. Liczbę bakterii oznaczano w układzie trzyprobówkowym opierając się na metodzie NPL.

Wyniki badań bakteriologicznych przedstawiono podając najbardziej prawdopodobną liczbę drobnoustrojów w 1 g badanych prób gleby.

3.6.1. Oznaczenie ilościowe pałeczek *E. coli* w glebie

3.6.1.1. Hodowla na podłożach płynnych i stałych

Naważki glebowe (10 i 1 g) dodawano w pierwszym etapie do podłoża płynnego Mac Conkeya (Mac Conkey-Bouillon, Merck, art. nr 5396) i inkubowano w temperaturze 43°C przez 24 godziny. Do dalszych badań używano rozcieńczeń, w których stwierdzano rozkład laktozy, co potwierdzała zmiana barwy bulionu z fioletowej na żółtą. W kolejnym etapie przesiewano materiał na agar z tergitolem (Tergitol-7-Agar, Merck, art. nr 5471) z dodatkiem 1% roztworu 2,3,5-TTC (2,3,5-triphenyltetrazoliumchlorid, Merck, art. nr 8380), poddając podłożo stałe ponownej inkubacji przez 24 godziny

w temperaturze 43°C. Wzrost bakterii *E. coli* zachodził w postaci żółtych kolonii wokół których nastąpiło rozjaśnienie podłoża. W przypadkach wątpliwych przenoszono materiał na agar zwykły (Standard I-Nahragar Merck, art. nr 7881), celem uzyskania czystych kolonii (37°C przez 24 godziny).

3.6.1.2. Końcowa identyfikacja pałeczek *E. coli*

W celu końcowej diagnostyki i potwierdzenia obecności pałeczek *E. coli* wykonywano test polegający na wykrywaniu obecności dekarboksylazy kwasu glutaminowego.

W badaniu wykorzystano zdolność wytwarzania 1+dekarboksylazy kwasu glutaminowego przez *E. coli* [Schubert i wsp. 1988]. Każdorazowo próby wykonywano w 3 powtórzeniach. Do serologicznych probówek, zawierających 0,2 ml toluenu przenoszono czyste kultury kolonii bakteryjnych nie w pełni zidentyfikowanych w dotychczasowych badaniach. Dokładnie wcierano je w ścianki probówki, tuż nad warstwą toluenu. Próby wstrząsano, odwirowywano i odciągano supernatant. Natomiast do osadu zawierającego rozartą masę bakteryjną dodawano zakwaszonej wody destylowanej (pH 4,9) i wysycone kwasem glutaminowym krążki bibułowe (krążki bibułowe Becton-Dickinson, art. nr 095354). Próby po zmieszaniu inkubowano przez 30 minut w temperaturze 37°C, a następnie dodawano indykator zieleń bromokrezolową. Obecność *E. coli* była potwierdzana zmianą barwy na niebieską lub zielonkawoniebieską. Negatywne próby przyjmowały kolor żółty lub zielonożółty. Jednocześnie przygotowywano 3 próby kontrolne pozytywne (z koloniami *E. coli*) i 3 próby negatywne (bez masy bakteryjnej).

Ostatnim etapem cyklu identyfikacji było potwierdzenie fekalnego pochodzenia pałeczek *E. coli*. W tym celu badano zdolność rozkładu laktozy przez wyhodowane *E. coli* do kwasu z wydzieleniem gazu (44°C przez 48 godzin). Pozytywna reakcja polegała na zmianie zabarwienia bulionu laktozowego (DEV-Lactose-Bouillon Merck, art. nr 10689) na kolor żółty oraz obecności gazu w rurce Durhama.

3.6.2. Oznaczenie ilościowe Streptokoków grupy D w glebie

3.6.2.1. Hodowla na podłożach płynnych i stałych

Naważki gleby do badań i rzędy rozcieńczeń przygotowano analogicznie jak w przypadku oznaczania *E. coli*. Dla selektywnego wzrostu fekalnych streptokoków wykorzystano podłoże płynne z glukozą i azydkiem (Azid-Glucose-Bouillon, Merck, art. nr 1590). Próby inkubowano przez 48 godzin w temperaturze 37°C. Na obecność badanych bakterii wskazywało zmętnienie podłoża, natomiast jego brak był wynikiem negatywnym. Z prób pozytywnych przesiewano materiał na podłoże stałe, tj. agar z kanamycyną, eskuliną i azydkiem (Kanamycin-Asculin-Azid-Agar, Merck, art. nr 5222) i poddawano inkubacji (37°C przez 48 godzin). Streptokoki kałowe rosły w postaci drobnych kolonii wokół których pojawiało się ciemno zabarwione podłoże. Do końcowej identyfikacji Streptokoków grupy D zastosowano test serologiczny (Phadebact Strep D Test Karo Bio Diagnostics AB, Huddinge, Sweden), przeprowadzając na czystych kulturach odczyn aglutynacji.

3.6.3. Oznaczanie ilościowe pałeczek *Salmonella* w glebie

3.6.3.1. Namnażanie na podłożach płynnych i stałych

W procesie izolacji drobnoustrojów z rodzaju *Salmonella* wykorzystano w wymienionej kolejności następujące podłoża namnażające: 1% woda peptonowa (Pepton-Wasser (gepuffert), Merck, art. nr 7228) (inkubacja 24 godziny w 37°C) oraz selektywne namnażające podłoże płynne według Rappaporta (*Salmonella* – Anreicherungs-bouillon nach Rappaport, Merck, art. nr 10236), na które przenoszono z każdej próbówki 0,1 ml materiału z pierwszego podłoża (43°C przez 24 i 48 godzin).

W dalszej kolejności materiał przesiewano na selektywne podłoże agarowe BPLA według Kaufmanna (BPL-Agar nach Kaufmann, Merck, art. nr 7236) (24 godziny 37°C).

Drobnoustroje rosły w postaci bladorożowych kolonii wokół których następowało charakterystyczne zabarwienie agaru na różowo. Końcowa identyfikacja polegała na zastosowaniu testów serologicznych – surowicy poliwalentnej HM.

3.7. Szczepy wirusów i hodowle komórkowe

Do badań użyto wirusa z rodziny *Enteroviridae* – enterowirusa bydląt szczepu LCR-4 (z kolekcji Instytutu Higieny Zwierząt Uniwersytetu Hohenheim – Niemcy). Enterowirus bydląt namnażano na linii komórkowej MDBK (Madin and Darby Bovin Kidney), stosując płyn utrzymujący Eagle'a bez surowicy z dodatkiem antybiotyków (penicylina, streptomycyna, mykostatyna). Komórki linii MDBK, namnożone w butelkach Roux, zakażano szczepem LCR-4 w dawce 2-4 TCID₅₀ na jedną komórkę. Po 3-krotnym zamrażaniu i rozmrażaniu hodowli, a następnie wirowaniu, uzyskano pułę wirusa o mianie około 10^{7,0} TCID₅₀·l ml⁻¹. Przygotowane wirusy przechowywano w zamrożeniu (temperaturze około -20°C) i użyto jako szczepów wyjściowych do badań.

3.8. Roztwory do elucji wirusów

Opierając się na wynikach badań Hursta i Gerby [1979] oraz Jarzábka i wsp. [1995] w badaniach własnych do elucji wirusów wykorzystano 10% surowicę płodową bydląt (firmy Sigma) o pH 10,5.

3.9. Ustalenie warunków adsorpcji i elucji wirusów z poszczególnych poziomów genetycznych badanych gleb

Enterowirus bydląt (miano 10^{7,0} TCID₅₀·ml⁻¹) rozcieńczono w stosunku 1:2 w wodzie bidestylowanej i gnojowicy. W celu zaadsorbowania wirusów na cząstkach stałych rozcieńczalników próby inkubowano przez godzinę w temperaturze pokojowej. Następnie tak przygotowaną zawiesinę wirusów wprowadzono do plastikowych szczelnie zamykanych naczynek zawierających 5 g wysuszonych prób gleb. Do prób gleby czarnej ziemi (B3, B4) i czarnej ziemi zbrunatniałej (C5, C6, C7) wprowadzono po 1,2 ml zawiesiny wirusów, a do prób gleby bielicowej (A1 i A2) – po 0,85 ml. Pozwoliło to na uzyskiwanie 60% wysycenia pojemności wodnej badanych gleb. Dawka wirusa szczepu LCR-4 w przeliczeniu na 1 g gleby wynosiła około 1,2 · 10^{6,0} TCID₅₀. Przygotowano

także próby kontrolne: 1,2 lub 0,85 ml odpowiednio rozcieńczonego wirusa uzupełniano wodą bidestylowaną i gnojowicą do objętości 5 ml.

Próby zamrażano (-70°C) po jednogodzinnej inkubacji w temperaturze 4°C . Po rozmrożeniu poddano je działaniu roztworów eluujących (objętość 20 ml), natomiast w próbach kontrolnych użyto 20 ml wody bidestylowanej. W celu elucji wirusów próby wytrząsano przez 10 minut, a następnie wirowano przez 10 minut (3000 obrotów na minutę). Supernatant przenoszono do probówek, doprowadzono do pH 7 i zamrożono do czasu oznaczenia miana wirusów w HK.

Jednocześnie przeprowadzono badania mające na celu określenie wpływu czynników doświadczalnych (gnojowicy i eluatów glebowych) na obecność czynników replikujących w stosunku do używanych linii komórkowych, a także na wywoływanie przez te czynniki efektu cytotoksycznego.

3.10. Oznaczanie miana wirusów

Badania miana wirusów wykonano na liniach komórkowych MDBK metodą mikropłytkową. Zawiesiny szczepów w roztworze eluującym rozcieńczano w płynie utrzymującym Eagle'a w postępie logarytmicznym (od 10^{-4} do 10^{-8}). Do 4 dołków w mikropłytkach dodawano po 0,05 ml odpowiednio rozcieńczonej zawiesiny wirusa, po 0,05 ml płynu utrzymującego oraz po 0,1 ml zawiesiny komórek MDBK do oznaczenia miana szczepu LCR-4 (8000 komórek w 0,1 ml). Mikropłytki inkubowano w cieplarni CO_2 w 37°C . Zakażone hodowle oglądano 4. i 5. dnia w mikroskopie odwróconym. Miana obliczono metodą Kärbera i przedstawiono jako $\text{TCID}_{50} \cdot \text{ml}^{-1}$ końcowej objętości roztworów eluujących [WHO EPI., 1990].

3.11. Oznaczanie przeżywalności enterowirusa bydła w badanych rodzajach gleb z dodatkiem gnojowicy bydłowej

W szczelnie zamykanych plastikowych pojemnikach umieszczano, uprzednio wysuszone i przesiane przez sito naważki badanych gleb (5 g). Następnie, w zależności od typu gleby, dodawano 1,2 ml lub 0,85 ml zawiesiny wirusów w gnojowicy, uzyskując 60% zawartość wody w próbkach gleby. Zamknięte pojemniki przechowywano w temperaturze 4°C i 20°C . Miano enterowirusa bydła w próbce przechowywanej w 20°C badano w dniach „0” oraz 7, 21, 35, 49, natomiast w 4°C w czasie „0” i po 7, 21, 42, 70, 135 dniach. Wirus eluowano z gleby 10% surowicą płodową, a eluaty do chwili oznaczania miana zamrażano w temperaturze -70°C . Technika oznaczania miana wirusa przebiegała identycznie jak w punkcie 3.10.

3.12. Obliczenia statystyczne

Wyniki badań przeżywalności enterowirusów, bakterii wskaźnikowych w glebach i poszczególnych nośnikach poddano analizie statystycznej. Przeprowadzono podstawowe analizy oparte na zmianach w czasie ilości badanych drobnoustrojów w glebie, gnojowicy, wodzie. Wzór opisujący te zmiany miał postać:

$$\log(N) = a \cdot t + b$$

gdzie:

- N – liczba mikroorganizmów w danym czasie w próbie gleby, wody, gnojowicy,
- t – czas w tygodniach,
- a – współczynnik kierunkowy odpowiadający średniej zmianie liczby wirusów, bakterii wskaźnikowych w postaci log na jeden tydzień,
- b – wyraz wolny odpowiadający teoretycznej wartości liczby wirusów, bakterii wskaźnikowych odzyskiwanych z danego układu w czasie „zero”.

Parametr $\log(N)$ określał czas, po którym liczba badanych drobnoustrojów w analizowanym środowisku osiągnie poziom 1.

Na podstawie przebiegu prostych regresji ustalono teoretyczny czas przeżycia wirusów bakterii wskaźnikowych w wodzie, gnojowicy i poszczególnych glebach, biorąc pod uwagę teoretyczną wartość miana drobnoustrojów odzyskiwanych w czasie „0” oraz tygodniowe tempo inaktywacji w danym układzie. Znamienność różnic czasu przeżycia enterowirusów w poszczególnych środowiskach określono testem t-Studenta przy poziomie istotności $p < 0,05$. Obliczono ponadto współczynniki korelacji dla wszystkich równań oraz odchylenie standardowe wyniku pomiarów od prostej przedstawiającej równanie korelacji.

4. WYNIKI BADAŃ

4.1. Charakterystyka gleb obiektów badawczych

Obiekt I (gleba A1 i A2)

W I obiekcie badawczym występowały gleby bielcowe przekształcone uprawą polową (profil A). Położenie odkrywki, z której pobrano próby było płaskie na niewielkim wzniesieniu. Grunt ten stanowił łąkę, ale wcześniej był użytkowany jako grunt orny. W obrębie tej gleby wyróżniono dwie warstwy:

- **poziom próchniczny (A1)** – w warstwie powierzchniowej (0-5 cm) wytworzony z piasku luźnego o barwie jasnobrunatnej, układ pulchny, struktura gruzelkowata słabo wykształcona do ziarnistej. Poziom próchniczny 5-30 cm wytworzony uprawą mechaniczną, barwy jasnobrunatnej, o ziarnistej strukturze,
- **skała macierzysta (A2)** – poniżej 30 cm zbudowana z piasku luźnego, barwy jasnożółtej z pionowymi rdzawymi zaciekami oraz ziarnistej strukturze.

Była to gleba jednorodna pod względem składu granulometrycznego i wytworzona z piasków luźnych. Zawartość frakcji spławialnych (< 0,02 mm) wahała się w zakresie od 4 do 5% (tab. 1). Profil gleby zbudowany był głównie z piasków kwarcowych i pyłu grubego o bardzo niskich zdolnościach sorpcyjnych, bowiem pojemność sorpcyjna kationów w poziomie próchnicznym (A1) wynosiła $7 \text{ me} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$, a poniżej tylko $2,92 \text{ me} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ (tab. 2). Cechą charakterystyczną gleby bielcowej była bardzo mała zawartość materii organicznej – 1,7%. Poziom próchniczny posiadał odczyn lekko kwaśny, głębiej kwaśny (tab. 1). Zarówno w warstwie próchnicznej, jak i skale macierzystej obserwowano niską zawartość makro- i mikroelementów (tab. 3). Gęstość objętościowa gleby bielcowej w warstwie próchnicznej wynosiła $1,52 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$. Był więc to profil gleby lekkiej o dobrych właściwościach drenażowych ze względu na dużą ilość makroporów (tab. 4).

Obiekt II (gleba B3 i B4)

W II obiekcie badawczym występowały gleby zaliczane do czarnych ziem (gleba B). Odkrywka, z której pobrano glebę do badań położona była płasko w nieznacznym obniżeniu, a grunt użytkowano jako pastwisko. Podobnie, jak w glebie bielcowej, w czarnej ziemi występowały dwie warstwy genetyczne:

- **poziom próchniczny (B3)** – w warstwie powierzchniowej (0-5 cm) wytworzony z piasku gliniastego lekkiego. Barwa czarna, struktura gruzelkowata, układ luźny. W warstwie nieco głębszej próchnicy (5-45 cm) stwierdzano podobną barwę i znaczną zawartość materii organicznej, jednak układ gleby był zbity, struktura masywna, porowatość zbliżona do teksturalnej, nieliczne pionowe ciągłe makropory,
- **skała macierzysta (B4)** – poniżej 45 cm glina średnia, barwa szara, oglejenie świadczące o okresowym wysokim poziomie wody gruntowej. Struktura masywna lub orzechowata słabo wykształcona, układ zwięzły. Dość liczne pionowe kanaliki po dżdżownicach i liczne kanaliki o średnicy < 1 mm po korzeniach.

Tabela 1. Skład granulometryczny, pH, popielność i zawartość węglanów w glebach obiektów badawczych
 Table 1. Soil texture, pH, ash and carbonates content in the investigated soils

Poziom genetyczny Genetic layer	Warstwa Layer (cm)	Zawartość frakcji o średnicy w mm (%) Content of fraction of the diameter in mm (%)				Grupa granulometryczna Textural group	pH		Zawartość CaCO ₃ Content of CaCO ₃ (%)	Materia organiczna Organic matter (%)		
		1,0-0,1	0,1-0,05	0,05-0,02	0,02-0,002		<0,002	H ₂ O			KCl	
Obiekt I – profil glebowy A, Subject I – soil profile A												
poziom próchniczny humus layer	0-30	74	18	3	4	1	5	pl	6,8	6,7	<0,02	1,7
skała macierzysta parent rock	>30	71	24	1	2	2	4	pl	5,5	4,4	<0,02	-
Obiekt II – profil glebowy B, Subject II - soil profile B												
poziom próchniczny humus layer	0-45	68	12	7	8	5	13	pgl	7,8	7,6	5,73	7,9
skała macierzysta parent rock	>45	45	10	8	16	21	37	gs	8,5	8,2	19,94	-
Obiekt III – profil glebowy C, Subject III – soil profile C												
poziom próchniczny humus layer	0-40	50	14	10	14	12	26	gl	7,6	7,2	<0,02	3,5
poziom brunatnia browning horizon	40-60	44	12	9	16	19	35	gl	8,3	7,7	7,21	-
skała macierzysta parent rock	>60	43	12	8	18	19	37	gs	8,3	7,8	9,09	-

Objaśnienia, Explanation: pl – piaski lekkie, light sand; pgl – piasek gliniasty lekki, light loamy sand; gs – glina średnia, medium loam; gl – glina lekka, light loam

Tabela 2. Pojemność wymienna względem (dla) kationów
Table 2. Cation exchange capacity in soils

Poziom genetyczny Genetic layer	Wymiana kationów (me:100 g ⁻¹) Exchangeable cations (me:100 g ⁻¹)					Hw	Suma kationów zasadowych Sum of alcaic cation (me:100 g ⁻¹)	PWKc (me:100 g ⁻¹)	Wysycenie zasadowe (%) Base saturation of soils (%)
	Caw	Mgw	Kw	Naw	Mnw				
Obiekt I – profil glebowy A, Subject I – soil profile A									
poziom próchniczny humus layer	3,49	0,25	0,26	0,09	0,001	2,92	4,08	7,00	58,29
skała macierzysta parent rock	1,00	0,17	0,18	0,13	0,000	1,45	1,47	2,92	50,34
Obiekt II – profil glebowy B, Subject II – soil profile B									
poziom próchniczny humus layer	22,7	2,85	0,73	0,0	-	-	26,28	26,28	100
skała macierzysta parent rock	24,6	5,04	0,95	0,05	-	-	30,64	30,64	100
Obiekt III – profil glebowy C, Subject III – soil profile C									
poziom próchniczny humus layer	13,97	0,82	0,36	0,13	0,001	1,10	15,28	16,38	93,28
poziom brunatnienia browning horizon	26,2	1,15	0,21	0,00	-	-	27,56	27,56	100
skała macierzysta parent rock	31,0	1,71	0,14	0,00	-	-	32,85	32,85	100

Objaśnienia, Explanation: PWKc – całkowita pojemność wymienna kationów, total cation exchange capacity.

Tabela 3. Skład chemiczny gleb
Table 3. Chemical composition of soils

Poziom genetyczny Genetic layer	Zawartość ogólna w % a.s.m. Total content in % a.d.m.										ppm	
	K	Na	Cu	Mg	Fe	P	Mn	Zn				
Obiekt I – profil glebowy A, Subject I – soil profile A												
poziom próchniczny humus layer	0,04	0,005	0,05	0,04	0,23	0,04	71	10,5				
skała macierzysta parent rock	0,05	0,005	0,03	0,04	0,26	0,03	24	8,5				
Obiekt II – profil glebowy B, Subject II – soil profile B												
poziom próchniczny humus layer	0,16	0,01	1,53	0,23	0,37	0,06	89	14,2				
skała macierzysta parent rock	0,52	0,05	5,04	1,26	1,19	0,04	179	29,2				
Obiekt III – profil glebowy C, Subject III – soil profile C												
poziom próchniczny humus layer	0,43	0,03	0,21	0,27	1,23	0,05	254	32,4				
poziom brunatnienia browning horizon	0,55	0,03	1,48	0,51	1,11	0,04	246	34,4				
skała macierzysta parent rock	0,41	0,04	6,57	0,76	1,31	0,05	187	27,3				

Tabela 4. Porowatość, rozkład wielkości porów i gęstość objętościowa gleb
 Table 4. Porosity, pore-size distribution and bulk density of soils

Głębokość warstwy Layer depth (cm)	Porowatość Porosity (%)	Procent objętości porów o średnicy równoważnej (mm) % volume of pores of the equivalent diameter (mm)				Gęstość objętościowa Bulk density (g·cm ⁻³)	
		makropory macropores		mezopory mesopores			
		> 300	300-30	30-5	5-0,2		mikropory micropores
Obiekt I – profil glebowy A, Subject I – soil profile A							
0-30	44,0	3,3	25,3	6,8	6,3	2,3	1,52
> 30	42,6	4,1	27,5	5,5	3,7	1,8	1,58
Obiekt II – profil glebowy B, Subject II – soil profile B							
5-10	46,2	3,8	12,1	9,4	8,0	12,9	1,42
10-45	43,6	3,6	10,8	8,8	9,2	11,2	1,47
> 45	37,8	3,4	4,6	3,7	4,2	21,9	1,66
Obiekt III – profil glebowy C, Subject III – soil profile C							
0-40	36,2	3,7	7,7	3,8	8,4	10,5	1,70
40-60	35,5	4,1	4,9	4,5	9,0	13,0	1,71
> 60	33,4	4,1	5,0	5,0	9,3	10,0	1,75

Była to gleba o składzie granulometrycznym piasku gliniastego mocnego na podłożu gliny średniej. Poziom próchniczny zawierał 13% frakcji splawialnych i 5% frakcji koloidalnych ($< 0,002$ mm) (tab. 1). Gleba ta cechowała się znaczną zawartością materii organicznej (7,9%). Stąd posiadała wysoką pojemność wymienną kationów $26,28 \text{ me} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ gleby w warstwie próchnicznej i $30,64 \text{ me} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ głębiej (tab. 2). Odczyn (w KCl) badanej gleby w poziomie próchnicznym wynosił 7,6, zaś głębiej stwierdzono odczyn zasadowy w związku z występowaniem dużej ilości węglanów (tab. 1). W porównaniu z glebą biellicową czarna ziemia zawierała znacznie więcej makro- i mikroelementów (tab. 3). Zwłaszcza w skale macierzystej stwierdzono dużą obecność wapnia (5,04% a.s.m.), magnezu (1,26% a.s.m.) oraz żelaza (1,19% a.s.m.). Gęstość objętościowa wzrastała wraz z głębokością pobierania prób i wahała się w zakresie od 1,42 do $1,66 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$ (tab. 4). Gleba ta zawierała znacznie mniej makroporów w porównaniu z biellicową (tab. 4), co znacznie pogarszało warunki drenażowe.

Obiekt III (C5, C6 i C7)

W III obiekcie badawczym występowały gleby zaliczane do czarnych ziem zdegradowanych zbrunatniałych (czarne ziemie kujawskie) – profil C. Użytkowane jako łąka, położone były płasko. Czarna ziemia zbrunatniała obejmowała trzy warstwy genetyczne:

- **poziom próchniczny (C5)** – o miąższości od 0 do 40 cm, wytworzony był z gliny lekkiej, barwa ciemno-szara, cechował się gruzelkową, słabo wykształconą strukturą, tworzył układ pulchno-zbity z małą ilością pionowych ciągłych makroporów,
- **poziom brunatnienia (C6)** – mieszczący się w zakresie głębokości od 40 do 60 cm, wytworzony z gliny lekkiej na granicy ze średnią, o barwie brunatnej, orzechowatej słabo wykształconej strukturze z dość licznymi pionowymi kanaliki po dżdżownicach i korzeniach roślin,
- **skała macierzysta (C7)** – poniżej 60 cm glina średnia, barwa szaro-żółtobrunatna z naciekami CaCO_3 liczne drobne < 1 mm średnicy kanaliki po korzeniach.

Była to gleba o składzie granulometrycznym gliny lekkiej na podłożu gliny średniej. Poziom próchniczny zawierał 26% frakcji splawialnych i 12% koloidalnych (tab. 1). Pojemność wymienna kationów w tym poziomie była pośrednia (w porównaniu z wcześniej omówionymi glebami) i wynosiła $16,38 \text{ me} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ (tab. 2). Podobnie było z zawartością materii organicznej kształtującą się na poziomie 3,5%. Wartość odczynu w warstwie próchnicznej (w KCl) wynosiła 7,2, głębiej odczyn zasadowy (tab. 1). Skład chemiczny poszczególnych poziomów genetycznych czarnej ziemi zbrunatniałej był zróżnicowany i zdecydowanie odbiegał od gleby biellicowej (tab. 3).

Gęstość objętościowa wahała się w zakresie $1,70$ - $1,75 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$ i była wyższa w porównaniu z dotychczas omawianymi glebami. Niewątpliwie niska zawartość makroporów (tab. 4) w czarnej ziemi mogła ograniczyć warunki drenażowe.

4.1.1. Wyniki badań składu frakcyjnego gleb

Wyniki badań składu frakcyjnego gleb przedstawiono w tabeli 5. Zawartość rozpuszczalnego węgla organicznego (RWO) w analizowanych próbkach gleb wahała się od 6,40% (czarna ziemia) do 8,13% (gleba biellicowa). Materia organiczna gleby biellicowej była bogatsza we frakcję rozpuszczalną w porównaniu z materią organiczną czarnej ziemi i czarnej ziemi zbrunatniałej. Zawartość węgla kwasów huminowych oraz fulwowych mieściła się w zakresie od 39,01 do 58,71%, przy czym wartość najniższa dotyczyła gleby biellicowej, zaś najwyższa czarnej ziemi. Z kolei w czarnej ziemi zbrunatniałej suma wspomnianych kwasów wynosiła 54,60%.

Tabela 5. Skład frakcyjny gleb doświadczalnych
Table 5. Fractions composition of investigated soils

Typ gleby Type of soil	Calkowity węgiel orga- niczny Total organic carbon (TOC)	Roz- puszczalny węgiel orga- niczny Soluble organic carbon (RWO)	Węgiel kwasów huminyowych i fulwowych Carbon of humic and fulvic acids ($C_{KH} + C_{KF}$)	Węgiel kwasów fulwowych Carbon of fulvic acids (C_{KF})	Węgiel kwasów huminyowych Carbon of humic acids (C_{KH})	$C_{KH}/$ C_{KF}
	$g \cdot kg^{-1}$	% TOC	% TOC	% TOC	% TOC	
Gleba bielnicowa Podzolic soil (A1)	3,6	8,13	39,01	20,20	18,80	0,93
Czarna ziemia Black earth (B3)	84,7	6,40	58,71	16,77	41,94	2,50
Czarna ziemia zbrunatniała Browned black earth (C5)	19,7	7,28	54,60	24,04	30,56	1,27

Najwyższą zawartość węgla kwasów huminowych oznaczano w próbce KH (kwasów huminowych) czarnej ziemi, najniższą w glebie bielnicowej 18,8%, natomiast zawartość kwasów fulwowych była najniższa w KH czarnej ziemi. Zróżnicowane wartości C_{KH} i C_{KF} oznaczeń poszczególnych gleb determinowały wartość stosunku węgla kwasów huminowych do kwasów fulwowych (C_{KH}/C_{KF}) od 0,93 dla gleby bielnicowej do 2,50 dla czarnej ziemi. Wskazuje to, iż materia organiczna czarnej ziemi jest bogatsza w kwasy huminowe w porównaniu z pozostałymi glebami (tab. 5).

4.1.2. Analiza widm w podczerwieni (IR)

Widma w podczerwieni kwasów huminowych przedstawiono na rysunkach 1-3. Obserwowano szereg różnic, które przejawiały się w występowaniu oraz intensywności pasm absorpcyjnych. Analizowano następujące charakterystyczne pasma:

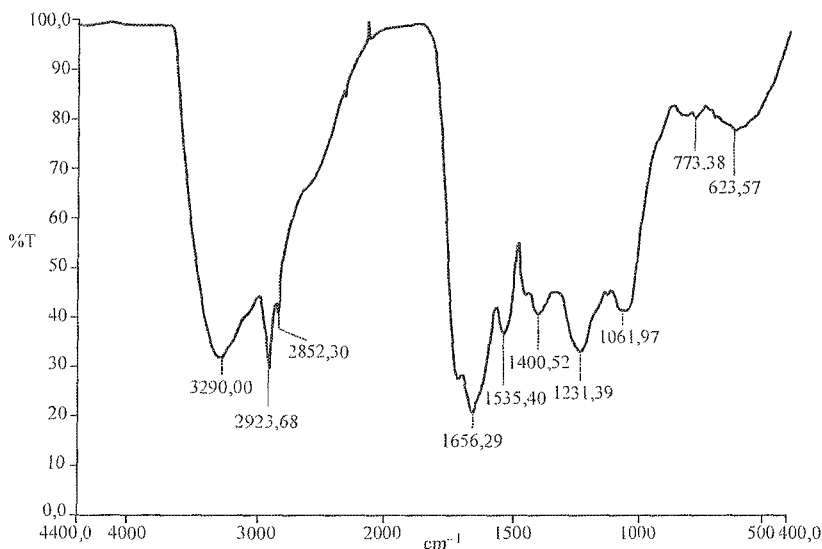
3600-3200 cm^{-1} – to szerokie pasmo odpowiadające drganiom grup ($-OH$) w alkoholach, fenolach, kwasach. We wszystkich preparatach KH badanych gleb stwierdzono występowanie tego pasma (rys. 1-3),

2960-2920 cm^{-1} – w zakresie tych liczb falowych występuje pasmo uwarunkowane obecnością węglowodorów alifatycznych i pochodzącym od drgań wiązań $C-H$ (grup metylowych $-CH_3$ i metylenowych $=CH_2$). Pasma to traktowane jest także jako miara alifatyczności kwasów huminowych. W tym zakresie falowym najbardziej intensywne pasmo stwierdzono dla preparatów KH z gleby bielnicowej (rys. 1), zaś najmniej intensywne dla prób KH czarnej ziemi (rys. 2),

1720-1710 cm^{-1} – strefa adsorpcji w tym zakresie spowodowana jest obecnością grup karboksylowych w kwasach i ketonach. W tym zakresie falowym najbardziej intensywne pasmo stwierdzono dla KH z czarnej ziemi (rys. 2), mniejsze zaś w pozostałych glebach (rys. 1 i 3),

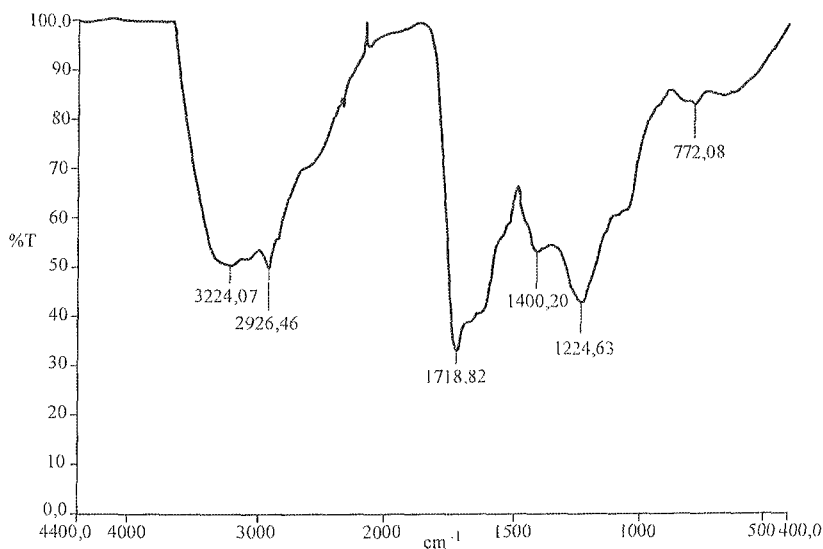
1670-1600 cm^{-1} – złożone pasmo związane zarówno z występowaniem w aminach I-rzędowych drgań $C=O$ (1630-1680), jak i $-NH$ (1610-1650). W tym zakresie falowym najmniej intensywne pasmo stwierdzono dla KH z czarnej ziemi (rys. 2), w pozostałych glebach były do siebie zbliżone (rys. 1 i 3),

1510 cm^{-1} – pasmo to determinowane obecnością drgań wiązań C=C w pierścieniu aromatycznym było najbardziej intensywne w KH z czarnej ziemi (rys. 2), zaś w pozostałych miało podobną intensywność (rys. 1 i 3).



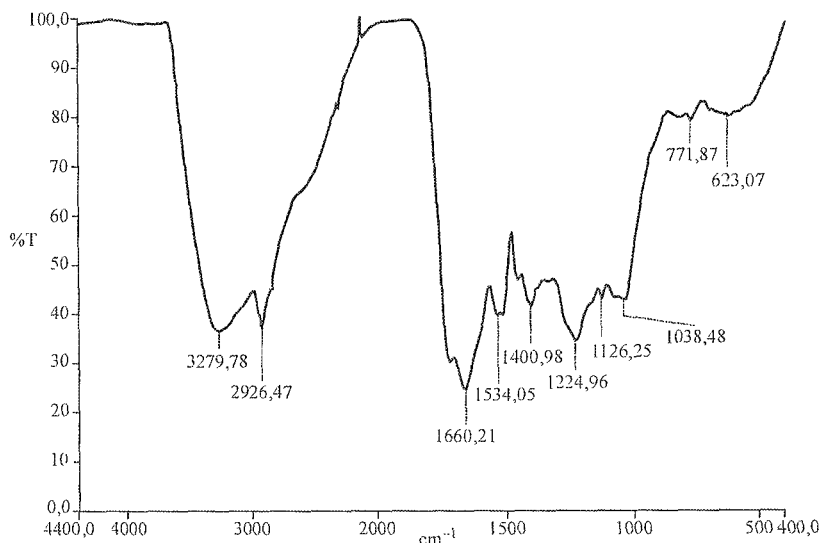
Rys. 1. Widma w podczerwieni kwasów huminowych w próbach gleby bielicznej

Fig. 1. Infrared spectra of humic acids in samples of podzolic soil



Rys. 2. Widma w podczerwieni kwasów huminowych w próbach czarnej ziemi

Fig. 2. Infrared spectra of humic acids in samples of black earth



Rys. 3. Widma w podczerwieni kwasów huminowych w próbach czarnej ziemi zbrunatniałej
 Fig. 3. Infrared spectra of humic acids in samples of browned black earth

4.2. Badania gnojowicy

W przeprowadzonych badaniach nośnikiem bakterii wskaźnikowych oraz enterowirusa była gnojowica bydłeca. Średni skład chemiczny ścieków zwierzęcych przedstawiono w tabeli 6. Badana gnojowica zawierała 61332 mg suchej masy w dm^3 oraz 6232 mg azotu organicznego w dm^3 . Z kolei zawartość fosforu i potasu wynosiła odpowiednio: 2171 i 1772 $\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$. W badanej gnojowicy nie wykryto kadmu, natomiast ilość pozostałych badanych metali była niewielka. Odczyn wynosił 7,1 (tab. 6).

Tabela 6. Skład chemiczny gnojowicy (wartości średnie)

Table 6. Chemical composition of slurry (mean values)

Lp. Ordinal number	Cechy Traits	Jednostki Units	Gnojowica Slurry
1	2	3	4
1	Zawartość suchej masy, Dry matter content	$\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$	61332
2	Pozostałość po prażeniu Residue after roasting	$\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$	8740
3	Straty po prażeniu, Losses after roasting	$\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$	52592
4	Zawartość azotu (N_{org}), Nitrogen content	$\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$	6232
5	Zawartość fosforu, Phosphorus content	$\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$	2171
6	Zawartość potasu, Potassium content	$\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$	1772
7	Zawartość wapnia, Calcium content	$\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$	912

cd. tabeli 6

Table 6 continued

1	2	3	4
8	Zawartość metali, Metals content: – Kadmu Cd, Cadmium Cd – Ołowiu Pb, Lead Pb – Cynku Zn, Zinc Zn – Miedzi Cu, Copper Cu	mg·dm ⁻³	0,0 0,44 0,50 0,11
9	Odczyn pH, Reaction pH		7,1

4.3. Wyniki przeżywalności bakterii wskaźnikowych w badanych środowiskach

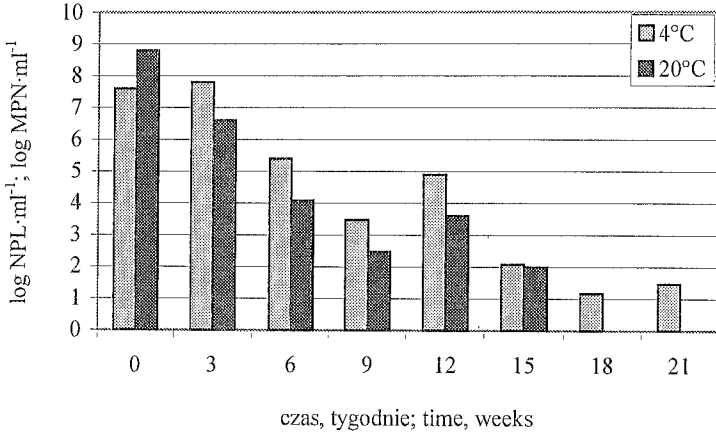
4.3.1. Przeżywalność bakterii wskaźnikowych w gnojowicy i wodzie

Wyniki badań zmian ilościowych paciorkowców grupy D, pałeczek *E. coli* i pałeczek *Salmonella* Dublin w gnojowicy i wodzie w temperaturze 4 i 20°C przedstawiono na rysunkach 4-12. Wyniki analizy statystycznej zawiera natomiast tabela 7.

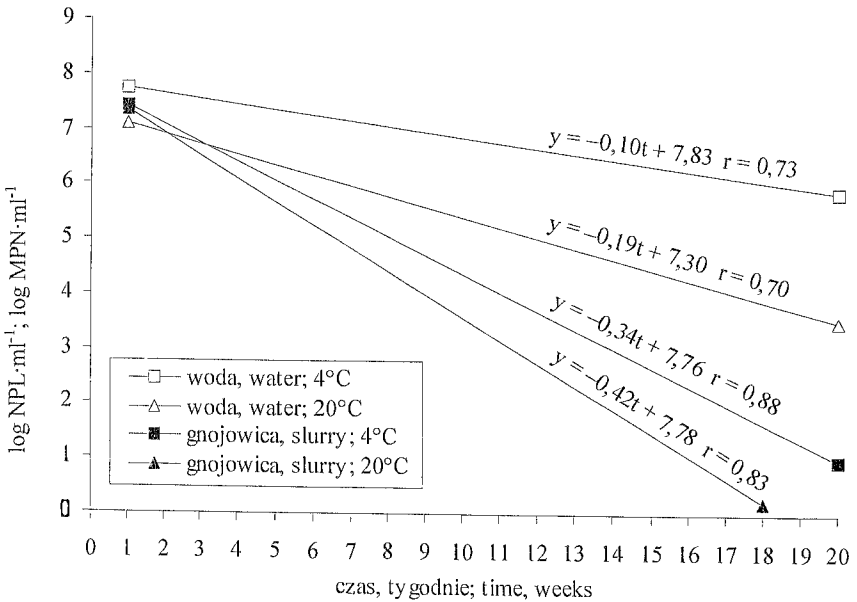
W temperaturze 4°C miano początkowe paciorkowców grupy D wynosiło $4,0 \cdot 10^7$ NPL·ml⁻¹ gnojowicy i obniżało się do poziomu $3,0 \cdot 10^1$ NPL·ml⁻¹ w 21. tygodniu doświadczenia (rys. 4). Tempo eliminacji enterokoków w gnojowicy wynosiło według prostych regresji 0,34 log na tydzień (rys. 5). Wyliczony teoretyczny czas przeżycia paciorkowców w gnojowicy (4°C) ustalono na 23 tygodnie (tab. 7).

W temperaturze 20°C po dodaniu do gnojowicy zawiesiny paciorkowców grupy D ich liczba wynosiła $6,3 \cdot 10^8$ NPL·ml⁻¹ (rys. 4). Liczba bakterii izolowanych w trakcie doświadczenia stopniowo obniżała się, podlegając niewielkim wahaniom wynosząc w 15. tygodniu badań $1,0 \cdot 10^2$ NPL·ml⁻¹. Analiza regresji wykazała, iż tempo eliminacji było wyższe w porównaniu z eliminacją w temperaturze 4°C i wynosiło 0,42 log/ tydzień, zaś teoretyczny czas przeżycia bakterii w gnojowicy wyliczono na 18 tygodni (rys. 5, tab. 7).

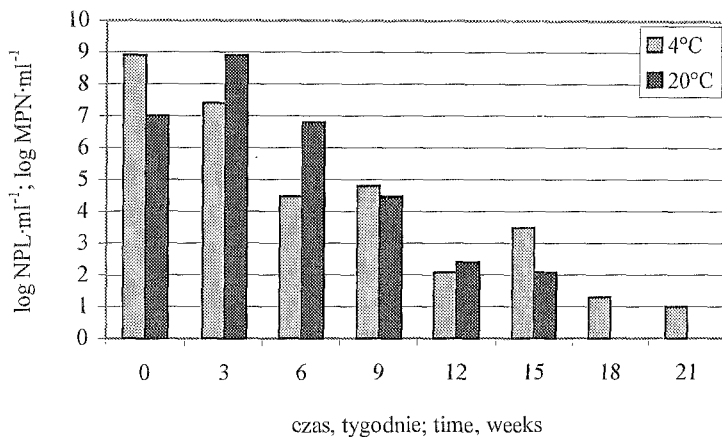
Wyniki badań pałeczek *Escherichia coli* ilustruje rysunek 6 i tabela 7. W badaniu zerowym i w trzecim tygodniu doświadczenia ilość ich pozostawała prawie na nie zmienionym poziomie (rys. 6). Następnie stwierdzano stopniową eliminację bakterii *E. coli*. W temperaturze 4°C w 15. tygodniu doświadczenia wykrywano w gnojowicy $3,0 \cdot 10^3$ NPL·ml⁻¹ pałeczek okrężnicy, zaś w 21. tygodniu ich liczba obniżała się do poziomu $1,0 \cdot 10^1$ NPL·ml⁻¹ (rys. 6). Z kolei w próbach przechowywanych w temperaturze 20°C w ostatnim oznaczeniu (15 tydzień) izolowano pałeczki *E. coli* w ilości $1,2 \cdot 10^2$ NPL·ml⁻¹. Tygodniowe tempo eliminacji pałeczek okrężnicy było nieznacznie wyższe w porównaniu z eliminacją paciorkowców grupy D i wynosiło w temperaturze 4 i 20°C odpowiednio 0,36 i 0,44 log (rys. 7). Teoretyczny czas przeżycia, wyliczony na podstawie prostych regresji wynosił 19 i 22 tygodnie (tab. 7).



Rys. 4. Liczba paciorkowców grupy D w badanej gnojowicy wyrażona w log NPL·ml⁻¹ w temperaturze 4 i 20°C w czasie trwania doświadczenia
 Fig. 4. Number of group D streptococci in investigated slurry expressed in log MPN·ml⁻¹ at the temperature of 4 and 20°C during the experiment

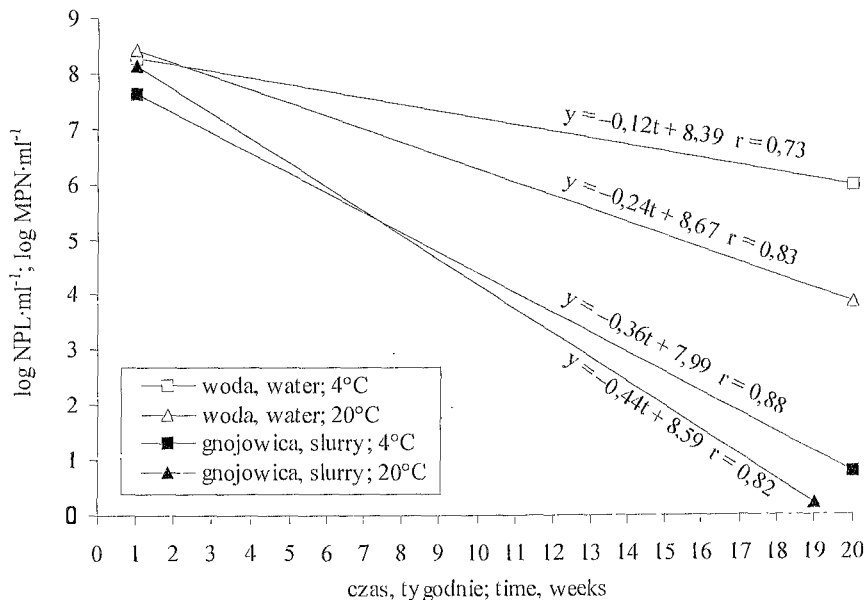


Rys. 5. Proste regresji przeżywalności paciorkowców grupy D w wodzie i gnojowicy w temperaturze 4 i 20°C
 Fig. 5. Regression lines for survival of group D streptococci in water and slurry at the temperature of 4 and 20°C



Rys. 6. Liczba pałeczek *E. coli* w badanej gnojowicy wyrażona w log NPL·ml⁻¹ w temperaturze 4 i 20°C w czasie trwania doświadczenia

Fig. 6. Number of *E. coli* in investigated slurry expressed in log MPN·ml⁻¹ at the temperature of 4 and 20°C during the experiment

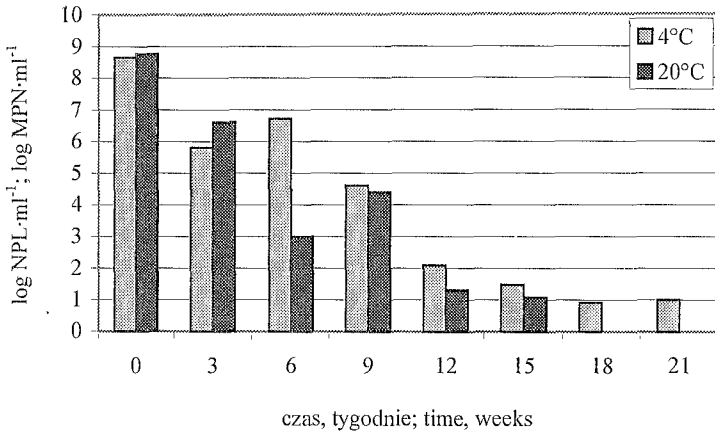


Rys. 7. Proste regresji przeżywalności pałeczek *E. coli* w wodzie i gnojowicy w temperaturze 4 i 20°C

Fig. 7. Regression lines for survival of *E. coli* in water and slurry at the temperature of 4 and 20°C

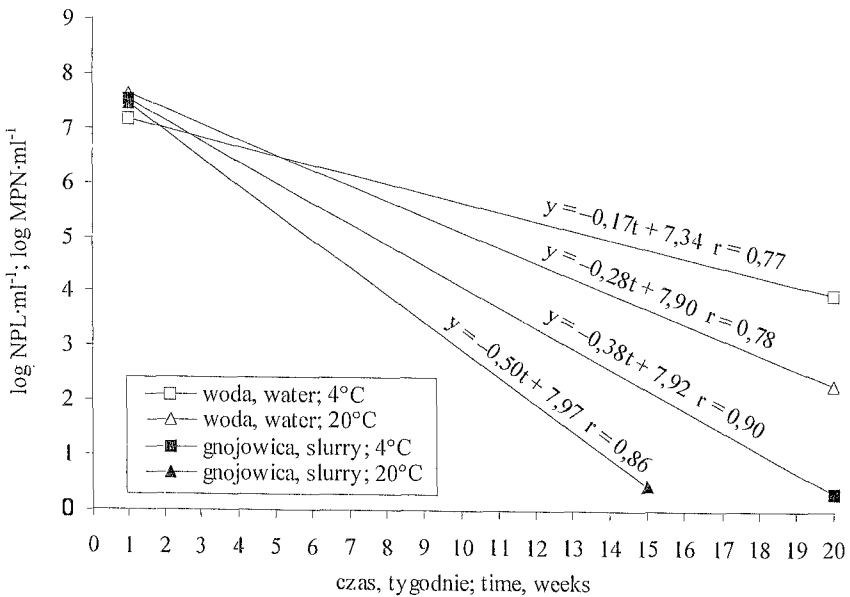
Najszybciej z badanej gnojowicy eliminowane były pałeczki *Salmonella* Dublin. W próbach utrzymywanych w temperaturze 4, jak i 20°C już w trzecim tygodniu doświadczenia stwierdzono zdecydowany spadek liczby tych bakterii (rys. 8). W ostatnim pobraniu izolowano $1,0 \cdot 10^1$ NPL·ml⁻¹ w temperaturze 4°C i $1,2 \cdot 10^1$ NPL·ml⁻¹ w tem-

peraturze 20°C. Analiza statystyczna wykazała, że w ciągu każdego tygodnia populacja pałeczek *Salmonella* maleje o 0,38 log w temperaturze 4°C i 0,50 log w temperaturze 20°C (rys. 9). Stąd też teoretyczny czas przeżycia bakterii wyliczony z analizy statystycznej wynosił odpowiednio 16 i 21 tygodni (tab. 7).



Rys. 8. Liczba pałeczek *Salmonella* Dublin w badanej gnojowicy wyrażona w log NPL·ml⁻¹ w temperaturze 4 i 20°C w czasie trwania doświadczenia

Fig. 8. Number of *Salmonella* Dublin in investigated slurry expressed in log MPN·ml⁻¹ at the temperature of 4 and 20°C during the experiment



Rys. 9. Proste regresji przeżywalności pałeczek *Salmonella* Dublin w wodzie i gnojowicy w temperaturze 4 i 20°C

Fig. 9. Regression lines for survival of *Salmonella* Dublin in water and slurry at the temperature of 4 and 20°C

Tabela 7. Współczynnik regresji charakteryzujący dynamikę inaktywacji bakterii wskaźnikowych w wodzie i gnojowicy w temperaturze 4°C i 20°C

Table 7. Regression coefficient of the inactivation rate of indicator bacteria in water and slurry at the temperature of 4°C and 20°C

Środowisko Medium	Temperatura Temperature (°C)	Współczynnik A* Coefficient A	Współczynnik B** Coefficient B	Maksymalny czas przeżycia w tygodniach Maximum time of survival in weeks
<i>Paciorkowce grupy D</i>				
Woda Water	20	-0,19±0,05	7,30±0,47	38
	4	-0,10±0,02	7,83±0,30	78
Gnojowica Slurry	20	-0,42±0,10	7,78±0,87	18
	4	-0,34±0,05	7,76±0,62	23
<i>Escherichia coli</i>				
Woda Water	20	-0,24±0,05	8,67±0,48	36
	4	-0,12±0,03	8,39±0,39	70
Gnojowica Slurry	20	-0,44±0,10	8,59±0,94	19
	4	-0,36±0,05	7,99±0,68	22
<i>Salmonella Dublin</i>				
Woda Water	20	-0,28±0,07	7,90±0,66	28
	4	-0,17±0,04	7,34±0,46	43
Gnojowica Slurry	20	-0,50±0,09	7,97±0,90	16
	4	-0,38±0,05	7,92±0,64	21

* współczynnik regresji odpowiadający średniemu spadkowi liczby bakterii (w log) w okresie jednego tygodnia,
regression coefficient corresponding with mean drop of bacteria number (in log) during one week,

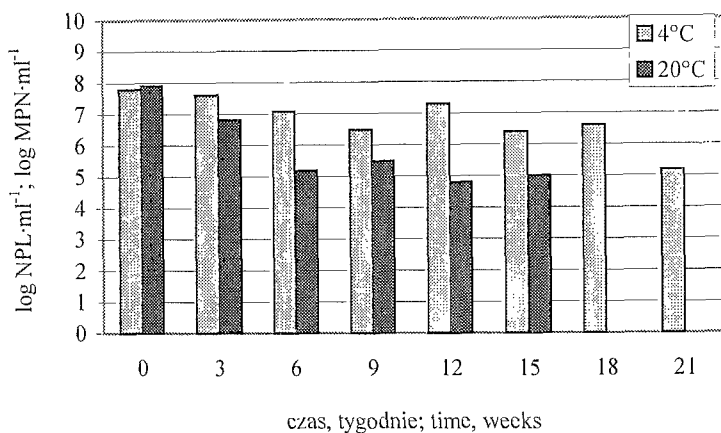
** teoretyczna liczba bakterii odzyskiwanych z danego układu w czasie „0”,
theoretical number of bacteria recovered from a given system in „0” time.

Prześledzono także zachowanie bakterii wskaźnikowych w wodzie (rys. 10-12). Środowisko to zdecydowanie bardziej sprzyjało bytowaniu badanych bakterii w porównaniu z gnojowicą.

W temperaturze 4°C liczba enterokoków obniżała się bardzo wolno i w 21. tygodniu doświadczenia izolowano je w ilości $1,5 \cdot 10^5$ NPL·ml⁻¹ (rys. 10). Z kolei w temperaturze 20°C spadek ich był szybszy, bowiem już w 15. tygodniu badań izolowano je w ilości $1,0 \cdot 10^5$ NPL·ml⁻¹. Tygodniowe tempo eliminacji ustalone na podstawie prostych regresji wynosiło 0,10 log (4°C) i 0,19 log (20°C) (rys. 5). Stąd teoretyczny czas przeżycia paciorkowców grupy D w wodzie, ustalony na podstawie analizy regresji, był długi i wynosił odpowiednio 78 i 38 tygodni (tab. 7).

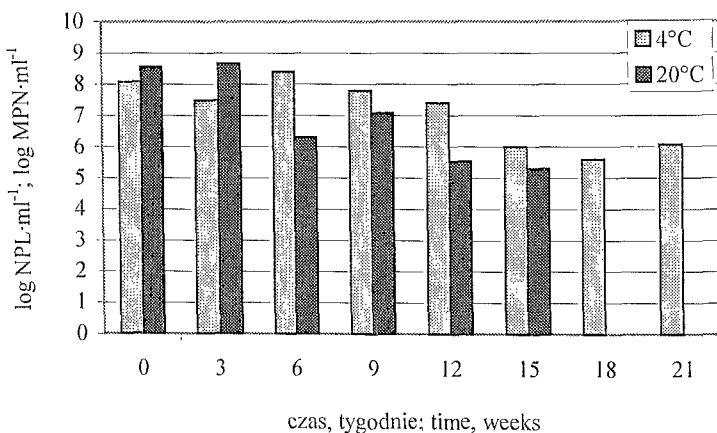
Równie wolno następowało zmniejszanie populacji pałeczek *E. coli* w wodzie skażonej zawiesiną bakterii. Obserwowano spadek liczby pałeczek z $1,2 \cdot 10^8$ do $1,2 \cdot 10^6$ NPL·ml⁻¹ (w temperaturze 4°C) w 21. tygodniu doświadczenia i do $2,0 \cdot 10^5$ NPL·ml⁻¹

(w temperaturze 20°C) w 15. tygodniu badań (rys. 11). Analiza regresji wykazała, że w ciągu tygodnia liczba *E. coli* obniżała się o 0,12 log (4°C) i 0,24 log (20°C) (rys. 7). Wyliczony z prostych regresji teoretyczny czas przeżycia *E. coli* w wodzie wynosił odpowiednio około 70 oraz 36 tygodni i był krótszy w porównaniu z przeżywalnością paciorkowców w wodzie (tab. 7).



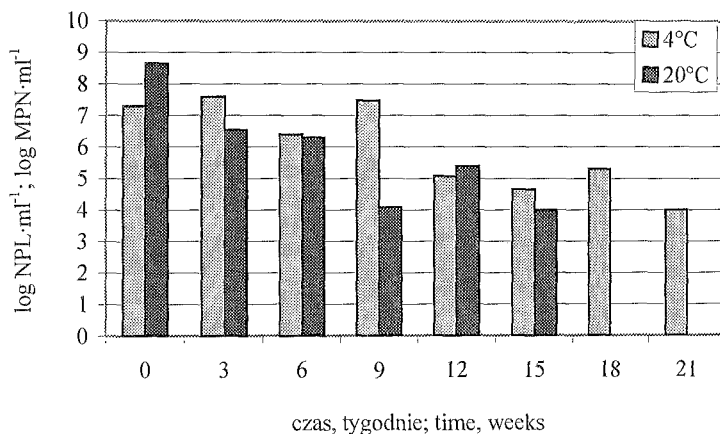
Rys. 10. Liczba paciorkowców grupy D w badanej wodzie wyrażona w log NPL· ml⁻¹ w temperaturze 4 i 20°C w czasie trwania doświadczenia

Fig. 10. Number of group D streptococci in investigated water expressed in log MPN· ml⁻¹ at the temperature of 4 and 20°C during the experiment



Rys. 11. Liczba pałeczek *E. coli* w badanej wodzie wyrażona w log NPL·ml⁻¹ w temperaturze 4 i 20°C w czasie trwania doświadczenia

Fig. 11. Number of *E. coli* in investigated water expressed in log MPN·ml⁻¹ at the temperature of 4 and 20°C during the experiment



Rys. 12. Liczba pałeczek *Salmonella* Dublin w badanej wodzie wyrażona w log NPL·ml⁻¹ w temperaturze 4 i 20°C w czasie trwania doświadczenia

Fig. 12. Number of *Salmonella* Dublin in investigated water expressed in log MPN·ml⁻¹ at the temperature of 4 and 20°C during the experiment

Badania kinetyki inaktywacji pałeczek *Salmonella* Dublin wykazały, że podobnie jak w gnojowicy, również w wodzie podlegały one najszybszej eliminacji (rys. 12). W temperaturze 4°C dopiero od 12 tygodnia doświadczenia nastąpił systematyczny, szybki spadek liczby bakterii do wartości $1,0 \cdot 10^4$ NPL·ml⁻¹ wody w ostatnim tygodniu badań (21 tydzień). Tygodniowe tempo redukcji liczby bakterii przyjmowało wartość 0,17 log, zaś teoretyczny czas przeżycia *S. Dublin* wynosił około 43 tygodnie (tab. 7 i rys. 9). Z kolei w temperaturze 20°C już w trzecim tygodniu doświadczenia stwierdzono wyraźne obniżenie liczby bakterii w porównaniu z pobraniem zerowym (rys. 12). Natomiast w ostatnim badaniu (15 tydzień) izolowano $1,0 \cdot 10^4$ NPL·ml⁻¹ pałeczek *Salmonella*. Z analizy prostych regresji wynika, że tygodniowe tempo eliminacji badanych bakterii w wodzie wynosiło 0,28 log, a teoretyczny czas przeżycia około 28 tygodni (tab. 7).

4.3.2. Wyniki badań przeżywalności bakterii wskaźnikowych w glebach

4.3.2.1. Gleba bielcowa (A1 i A2)

Wyniki zmian ilościowych oraz tempa eliminacji badanych bakterii wskaźnikowych w warstwie próchnicznej i skale macierzystej gleby bielcowej przedstawiono w tabeli 8 i na rysunkach 13-21.

W warstwie próchnicznej gleby bielcowej (A1), przechowywanej w temperaturze 4°C, liczba paciorkowców grupy D wynosiła początkowo $3,0 \cdot 10^7$ NPL·g⁻¹ gleby (rys. 13). W kolejnych badaniach (po 3 i 6 tygodniach) liczba bakterii nieco wzrastała, a następnie stopniowo się obniżała do wartości $3,2 \cdot 10^5$ NPL·g⁻¹ gleby. Według analizy regresji liczba paciorkowców grupy D wyrażona w log malała w ciągu tygodnia o 0,16 log (rys. 14), a wyliczony teoretyczny czas przeżycia (przy zachowaniu niezmiennych warunków) wynosił około 50 tygodni (tab. 8). W temperaturze 20°C obserwowano nieznacznie szybszy spadek liczby badanych bakterii, począwszy od trzeciego tygodnia doświadczenia (rys. 13). Z prostej regresji wynika, że tygodniowe tempo eliminacji

wynosiło 0,28 log (rys. 14), zaś wyliczony teoretyczny czas przeżycia paciorkowców grupy D w badanej glebie około 29 tygodni (tab. 8).

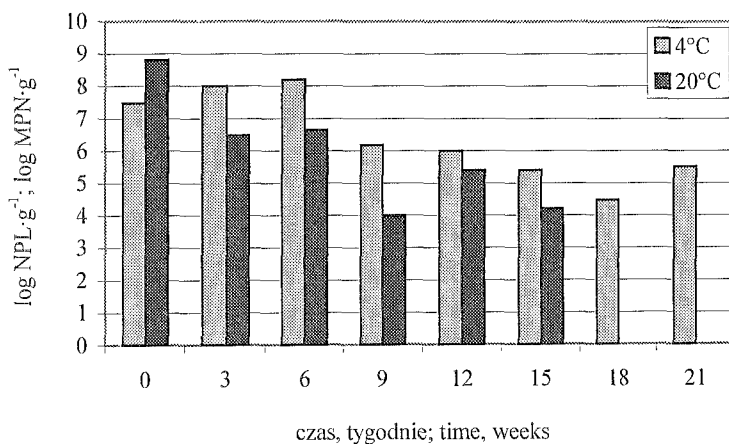
Tabela 8. Współczynnik regresji charakteryzujący dynamikę inaktywacji bakterii wskaźnikowych w glebie bielcowej i czarnej ziemi w temperaturze 4 i 20°C

Table 8. Regression coefficient of the inactivation rate of indicator bacteria in podzolic soil and black earth at the temperature of 4 and 20°C

Środowisko Medium	Temperatura Temperature (°C)	Współczynnik A* Coefficient A	Współczynnik B** Coefficient B	Maksymalny czas przeżycia w tygodniach Maximum time of survival in weeks
<i>Paciorkowce grupy D</i>				
Gleba A1 i gnojowica Soil A1 and slurry	20	-0,28±0,08	7,99±0,74	29
	4	-0,16±0,04	8,07±0,47	50
Gleba A2 i gnojowica Soil A2 and slurry	20	-0,33±0,08	8,35±0,77	25
	4	-0,22±0,04	7,77±0,49	35
Gleba B3 i gnojowica Soil B3 and slurry	20	-0,23±0,05	8,80±0,47	38
	4	-0,11±0,01	8,80±0,22	80
Gleba B4 i gnojowica Soil B4 and slurry	20	-0,27±0,06	8,78±0,59	33
	4	-0,16±0,04	8,23±0,51	51
<i>Escherichia coli</i>				
Gleba A1 i gnojowica Soil A1 and slurry	20	-0,31±0,08	7,28±0,71	23
	4	-0,20±0,05	8,25±0,56	41
Gleba A2 i gnojowica Soil A2 and slurry	20	-0,35±0,04	7,33±0,38	21
	4	-0,23±0,04	8,64±0,50	38
Gleba B3 i gnojowica Soil B3 and slurry	20	-0,28±0,07	7,84±0,64	28
	4	-0,16±0,04	7,84±0,48	49
Gleba B4 i gnojowica Soil B4 and slurry	20	-0,33±0,01	7,11±0,10	22
	4	-0,20±0,03	7,54±0,44	38
<i>Salmonella Dublin</i>				
Gleba A1 i gnojowica Soil A1 and slurry	20	-0,37±0,08	7,56±0,69	21
	4	-0,26±0,04	8,37±0,57	32
Gleba A2 i gnojowica Soil A2 and slurry	20	-0,37±0,07	7,72±0,68	21
	4	-0,30±0,04	8,48±0,45	28
Gleba B3 i gnojowica Soil B3 and slurry	20	-0,33±0,08	7,59±0,68	23
	4	-0,23±0,04	7,59±0,49	33
Gleba B4 i gnojowica Soil B4 and slurry	20	-0,38±0,06	8,21±0,50	22
	4	-0,28±0,06	8,40±0,70	30

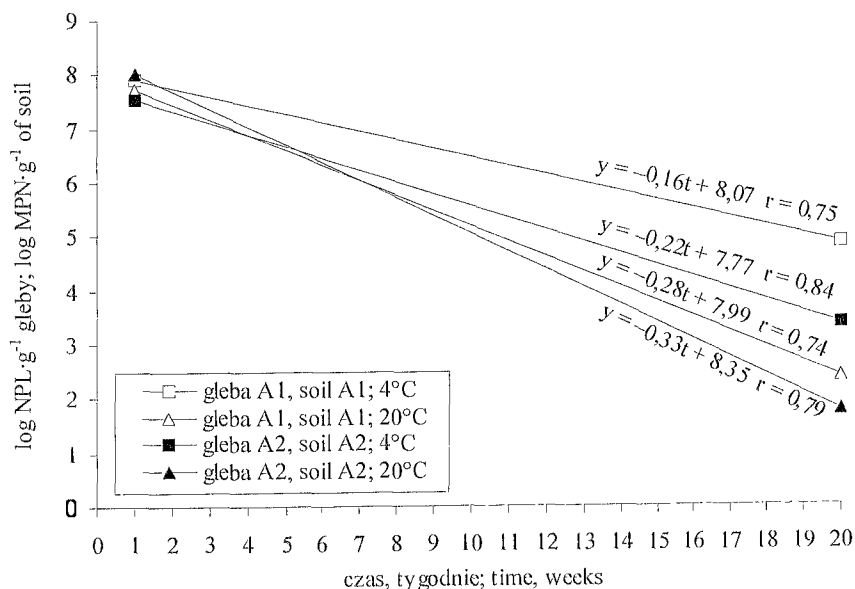
* współczynnik regresji odpowiadający średniemu spadkowi liczby bakterii (w log) w ciągu jednego tygodnia,
regression coefficient corresponding with mean drop of bacteria number (in log) during one week,

** teoretyczna liczba bakterii odzyskiwanych z danego układu w czasie „0”,
theoretical number of bacteria recovered from a given system in „0” time.



Rys. 13. Liczba paciorkowców grupy D wyrażona w $\log \text{NPL} \cdot \text{g}^{-1}$ gleby w próbach z warstwy próchnicznej gleby bielcowej przechowywanych w temperaturze 4 i 20°C w czasie trwania doświadczenia

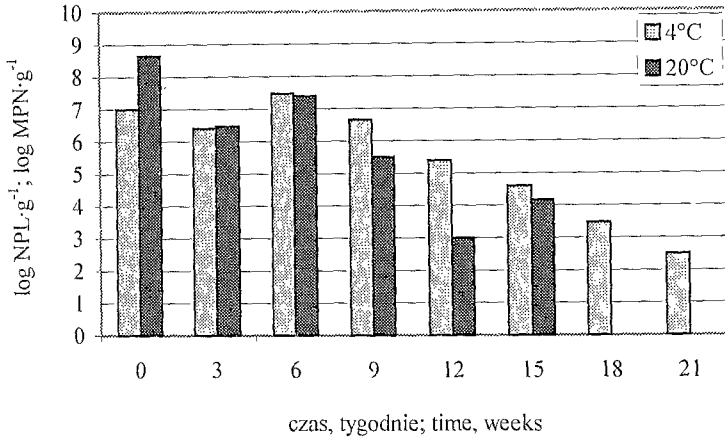
Fig. 13. Number of group D streptococci expressed in $\log \text{MPN} \cdot \text{g}^{-1}$ of soil in samples from humus layer of podzolic soil stored at the temperature of 4 and 20°C during the experiment



Rys. 14. Proste regresji przeżywalności paciorkowców grupy D w próbach gleby z warstwy próchnicznej i skały macierzystej gleby bielcowej przechowywanych w temperaturze 4 i 20°C

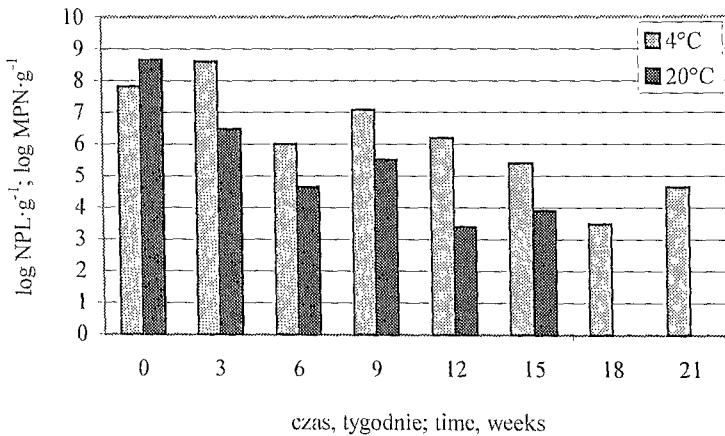
Fig. 14. Regression lines for survival of group D streptococci in soil samples from humus layer and parent rock of podzolic soil stored at the temperature of 4 and 20°C

W skale macierzystej gleby biellicowej liczba omawianych bakterii wykazywała w trakcie badań tendencję spadkową, jakkolwiek obserwowano nieznaczny wzrost ich liczby w 6. tygodniu badań zarówno w temperaturze 4, jak i 20°C (rys. 15). Tygodniowy ubytek liczby obserwowanej populacji wynosił 0,22 log (4°C) oraz 0,33 log (20°C) (rys. 14). Z kolei wyliczony z analizy statystycznej teoretyczny czas przeżycia tych bakterii w skale macierzystej gleby biellicowej ustalono na około 35 i 25 tygodni (tab. 8).



Rys. 15. Liczba paciorkowców grupy D wyrażona w log NPL·g⁻¹ gleby w próbkach ze skały macierzystej gleby biellicowej przechowywanych w temperaturze 4 i 20°C w czasie trwania doświadczenia

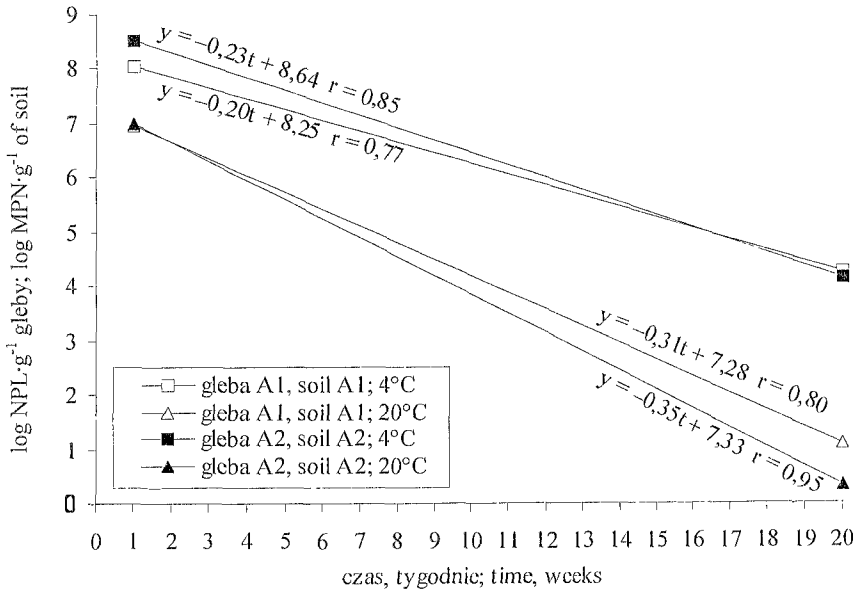
Fig. 15. Number of group D streptococci expressed in log MPN·g⁻¹ of soil in samples from parent rock of podzolic soil stored at the temperature of 4 and 20°C during the experiment



Rys. 16. Liczba pałeczek *E. coli* wyrażona w log NPL·g⁻¹ gleby w próbkach z warstwy próchnicznej gleby biellicowej przechowywanych w temperaturze 4 i 20°C w czasie trwania doświadczenia

Fig. 16. Number of *E. coli* expressed in log MPN·g⁻¹ of soil in samples from humus layer of podzolic soil stored at the temperature of 4 and 20°C during the experiment

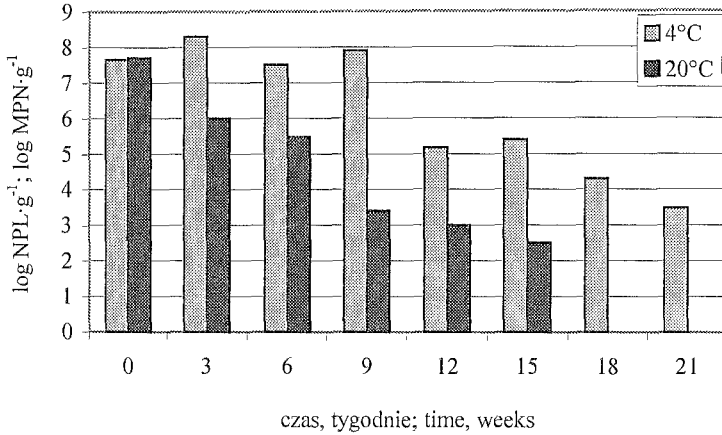
Z przeprowadzonych badań wynika, że redukcja liczby *E. coli* z gleby bielcowej następowała nieco szybciej niż paciorkowców grupy D (rys. 16). W warstwie próchnicznej w temperaturze 4°C miano początkowe (po dodaniu do gleby zawiesiny bakterii wskaźnikowej) przyjmowało wartość $6,5 \cdot 10^7$ NPL·g⁻¹ gleby i obniżało się do poziomu $4,5 \cdot 10^4$ NPL·g⁻¹ gleby w 21. tygodniu doświadczenia. Tygodniowe tempo eliminacji *E. coli* z warstwy próchnicznej gleby bielcowej wynosiło 0,20 log (rys. 17) i było nieco wyższe w porównaniu z wyliczonym dla paciorkowców grupy D. Z prostej regresji wynika, że pałeczki okrężnicy, przy utrzymaniu warunków doświadczalnych, zachowałyby żywotność populacji przez 41 tygodni (tab. 8). W temperaturze 20°C tendencja spadkowa *E. coli* zaznaczyła się już w 3. tygodniu doświadczenia (rys. 16), zaś w 15. tygodniu badań izolowano z 1 g gleby $8,0 \cdot 10^3$ NPL pałeczek okrężnicy. Analiza statystyczna wykazała, iż tygodniowe tempo redukcji liczby tych bakterii wynosi 0,31 log (rys. 17), zaś teoretyczny czas przeżycia około 23 tygodnie (tab. 8).



Rys. 17. Proste regresji przeżywalności pałeczek *E. coli* w próbach gleby z warstwy próchnicznej i skały macierzystej gleby bielcowej przechowywanych w temperaturze 4 i 20°C

Fig. 17. Regression lines for survival of *E. coli* in soil samples from humus layer and parent rock of podzolic soil stored at the temperature of 4 and 20°C

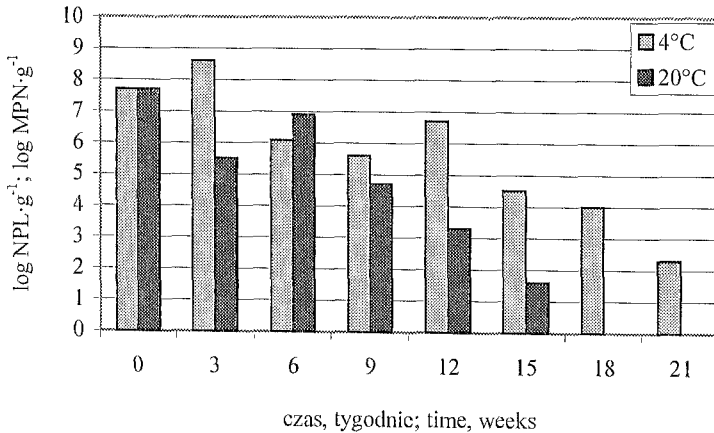
Podobnie jak paciorkowce grupy D, również pałeczki okrężnicy podlegały szybszej eliminacji w próbach gleby pochodzących ze skały macierzystej (rys. 18). W temperaturze 4°C wykrywano pałeczki okrężnicy w liczbie $3,0 \cdot 10^3$ NPL·g⁻¹ gleby w 21. tygodniu badań, zaś w temperaturze 20°C już w 15. tygodniu izolowano $3,2 \cdot 10^2$ NPL·g⁻¹ gleby. Tygodniowe tempo redukcji liczby pałeczek *E. coli* wynosiło w temperaturze 4°C i 20°C odpowiednio 0,23 log i 0,35 log (rys. 17), zaś teoretyczny czas przeżycia bakterii w badanym środowisku ustalono na okres 38 i 21 tygodni (tab. 8).



Rys. 18. Liczba pałeczek *E. coli* wyrażona w log NPL·g⁻¹ gleby w próbach ze skały macierzystej gleby bielcowej przechowywanych w temperaturze 4 i 20°C w czasie trwania doświadczenia

Fig. 18. Number of *E. coli* expressed in log MPN·g⁻¹ of soil in samples from parent rock of podzolic soil stored at the temperature of 4 and 20°C during the experiment

Badania wykazały, że w obu warstwach gleby bielcowej najszybciej eliminacji podlegały pałeczki *Salmonella* Dublin. W warstwie próchnicznej liczba pałeczek *Salmonella* w temperaturze 4°C obniżała się z $5,0 \cdot 10^7$ NPL·g⁻¹ gleby (próba zerowa) do $2,0 \cdot 10^2$ NPL·g⁻¹ gleby w 21. tygodniu badania (rys. 19).

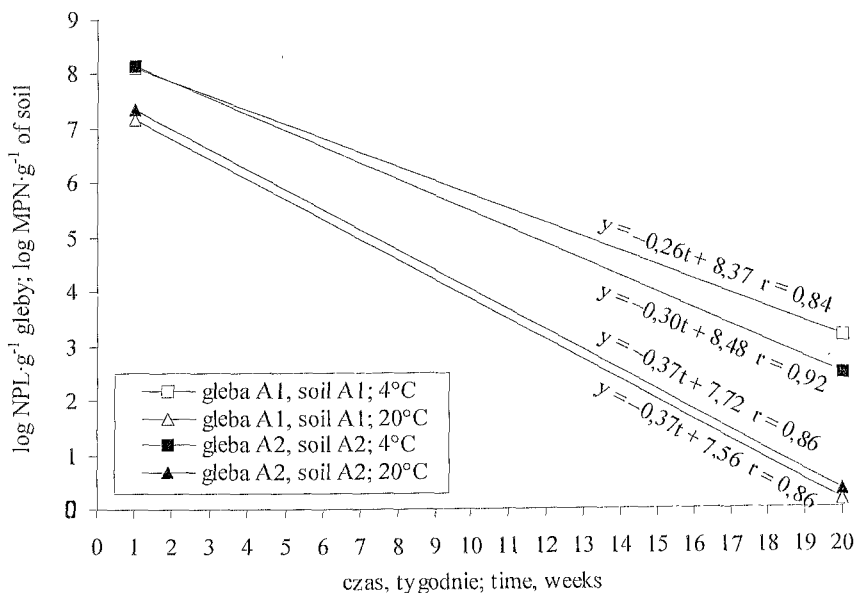


Rys. 19. Liczba pałeczek *Salmonella* Dublin wyrażona w log NPL·g⁻¹ gleby w próbach z warstwy próchnicznej gleby bielcowej przechowywanych w temperaturze 4 i 20°C w czasie trwania doświadczenia

Fig. 19. Number of *Salmonella* Dublin expressed in log MPN·g⁻¹ of soil in samples from humus layer of podzolic soil stored at the temperature of 4 and 20°C during the experiment

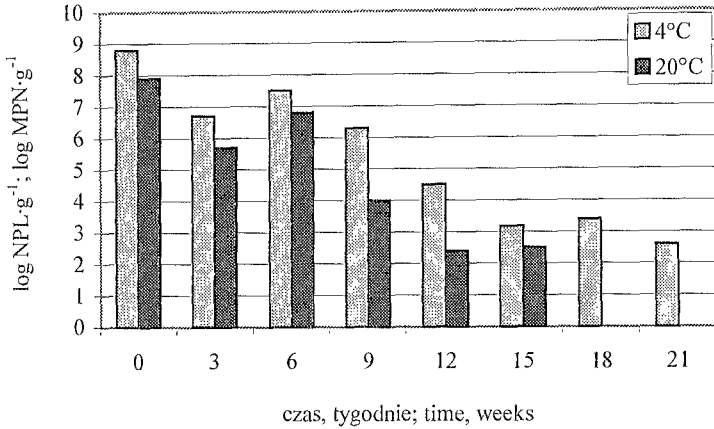
Ubytek populacji pałeczek *Salmonella*, według analizy regresji, wyniósł w ciągu tygodnia 0,26 log (rys. 20), zaś wyliczony teoretyczny czas przeżycia ustalono na 32 tygodnie (tab. 8). W temperaturze 20°C już w 15. tygodniu badań liczba pałeczek *Salmonella* Dublin przyjmowała wartość $4,0 \cdot 10^1$ NPL·g⁻¹ gleby, przy zbliżonej wartości początkowej do notowanej w glebach przechowywanych w temperaturze 4°C. Tygodniowa redukcja liczby badanych bakterii wynosiła 0,37 log (rys. 20), zaś wyliczony z prostej regresji teoretyczny czas przeżycia ustalono na 21 tygodni (tab. 8).

W skale macierzystej pałeczki *Salmonella* Dublin zachowywały się nieco inaczej niż pozostałe bakterie wskaźnikowe (rys. 21). W temperaturze 20°C obserwowano identyczne tempo eliminacji (0,37 log/tydzień) jak w warstwie próchnicznej (rys. 20), natomiast w temperaturze 4°C ich populacja, podobnie jak pozostałych badanych bakterii, szybciej się zmniejszała w próbach gleby skały macierzystej. Tygodniowe tempo eliminacji bakterii z rodzaju *Salmonella* wynosiło 0,30 log, zaś teoretyczny czas przeżycia wyliczono na około 28 tygodni (tab. 8).



Rys. 20. Proste regresji przeżywalności pałeczek *Salmonella* Dublin w próbach gleby z warstwy próchnicznej i skały macierzystej gleby bielcowej przechowywanych w temperaturze 4 i 20°C

Fig. 20. Regression lines for survival of *Salmonella* Dublin in soil samples from humus layer and parent rock of podzolic soil stored at the temperature of 4 and 20°C

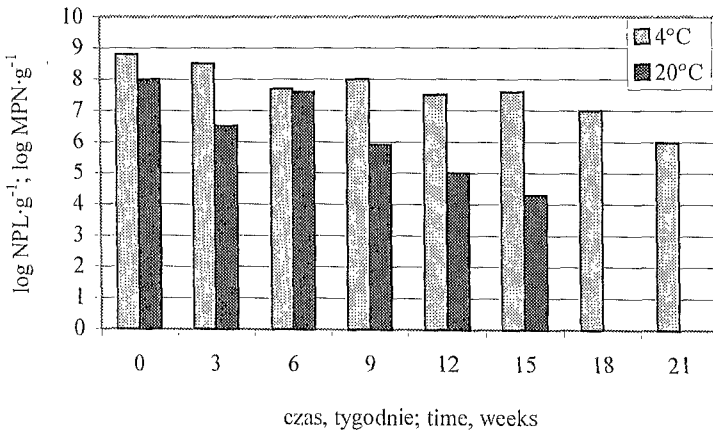


Rys. 21. Liczba pałeczek *Salmonella* Dublin wyrażona w log NPL·g⁻¹ gleby w próbach ze skały macierzystej gleby biellicowej przechowywanych w temperaturze 4 i 20°C w czasie trwania doświadczenia

Fig. 21. Number of *Salmonella* Dublin expressed in log MPN·g⁻¹ of soil in samples from parent rock of podzolic soil stored at the temperature of 4 and 20°C during the experiment

4.3.2.2. Czarna ziemia (B3 i B4)

Wyniki badań przeżywalności badanych bakterii w obu warstwach genetycznych czarnej ziemi oraz analizy regresji przedstawiono na rysunkach 22-30 i w tabeli 8.

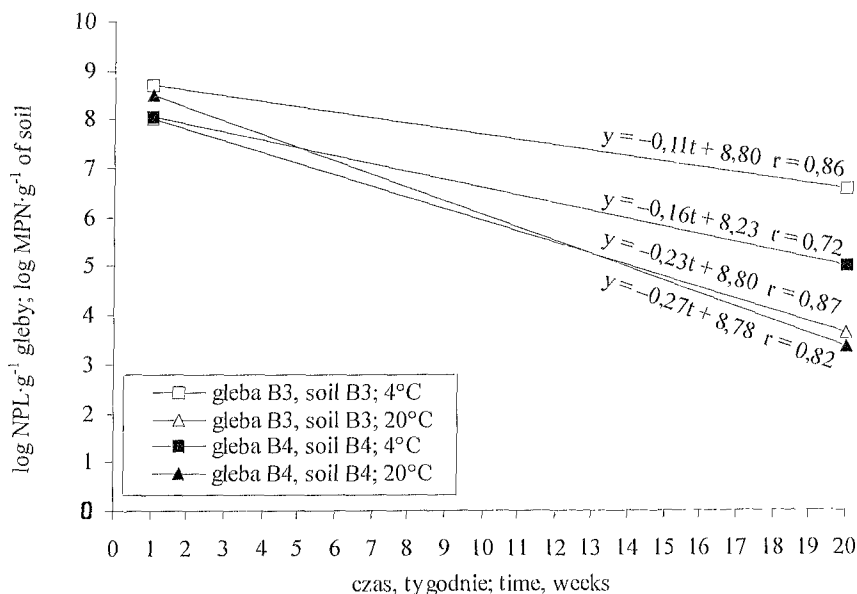


Rys. 22. Liczba paciorkowców grupy D wyrażona w log NPL·g⁻¹ gleby w próbach z warstwy próchnicznej czarnej ziemi przechowywanych w temperaturze 4 i 20°C w czasie trwania doświadczenia

Fig. 22. Number of group D streptococci expressed in log MPN·g⁻¹ of soil in samples from humus layer of black earth stored at the temperature of 4 and 20°C during the experiment

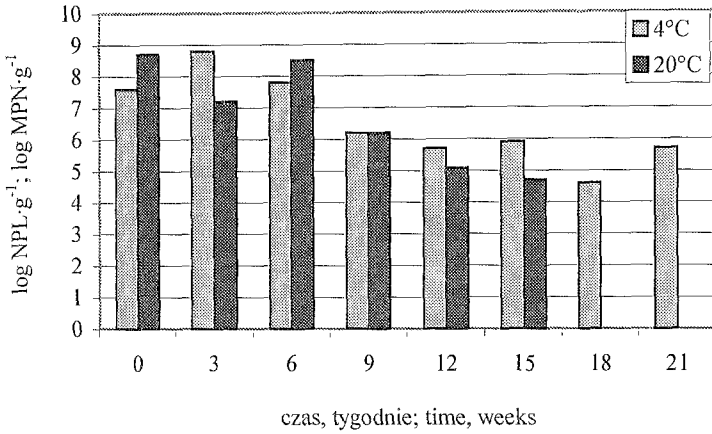
W warstwie próchnicznej czarnej ziemi zarówno w temperaturze 4, jak i 20°C stwierdzono najwolniejszy spadek liczby bakterii w całym okresie doświadczenia. Liczba paciorkowców grupy D w tej glebie w temperaturze 4°C była stabilna, bowiem po 21 tygodniach spadła o 2,8 log i wynosiła $1,0 \cdot 10^6$ NPL·g⁻¹ gleby. Z kolei w temperaturze 20°C redukcja liczby paciorkowców następowała nieco szybciej (rys. 22). Odzwierciedlają to wyniki analizy statystycznej, zaś tygodniowe tempo eliminacji w temperaturze 4 i 20°C było najwolniejsze ze wszystkich badanych prób i wynosiło odpowiednio 0,11 i 0,23 log (rys. 23), a czas przeżycia paciorkowców grupy D w warstwie próchnicznej czarnej ziemi był najdłuższy – około 80 (4°C) i 38 tygodni (20°C) (tab. 8).

Podobną tendencję zaobserwowano w próbach gleby ze skały macierzystej czarnej ziemi, jakkolwiek redukcja liczby bakterii była nieco szybsza w porównaniu z warstwą próchniczną (rys. 24). Liczba paciorkowców grupy D w temperaturze 4°C obniżała się do wartości $5,0 \cdot 10^5$ NPL·g⁻¹ gleby w 21. tygodniu doświadczenia, a tygodniowy spadek przedstawiony w postaci logarytmicznej wynosił 0,16 log (rys. 23). Teoretyczny czas przeżycia bakterii wyznaczono na 51 tygodni (tab. 8). W temperaturze 20°C tygodniowe tempo eliminacji przyjmowało wartość 0,27 log, a teoretyczny czas obecności bakterii w próbach wyliczono na około 33 tygodnie (tab. 8).



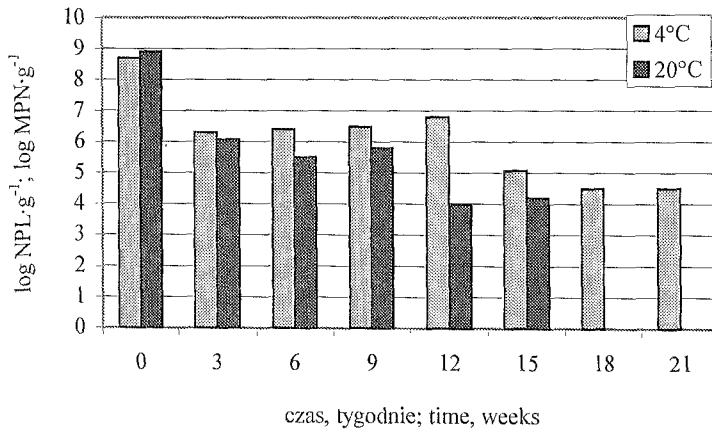
Rys. 23. Proste regresji przeżywalności paciorkowców grupy D próbach gleby z warstwy próchnicznej i skały macierzystej czarnej ziemi przechowywanych w temperaturze 4 i 20°C

Fig. 23. Regression lines for survival of group D streptococci in soil samples from humus layer and parent rock of black earth stored at the temperature of 4 and 20°C



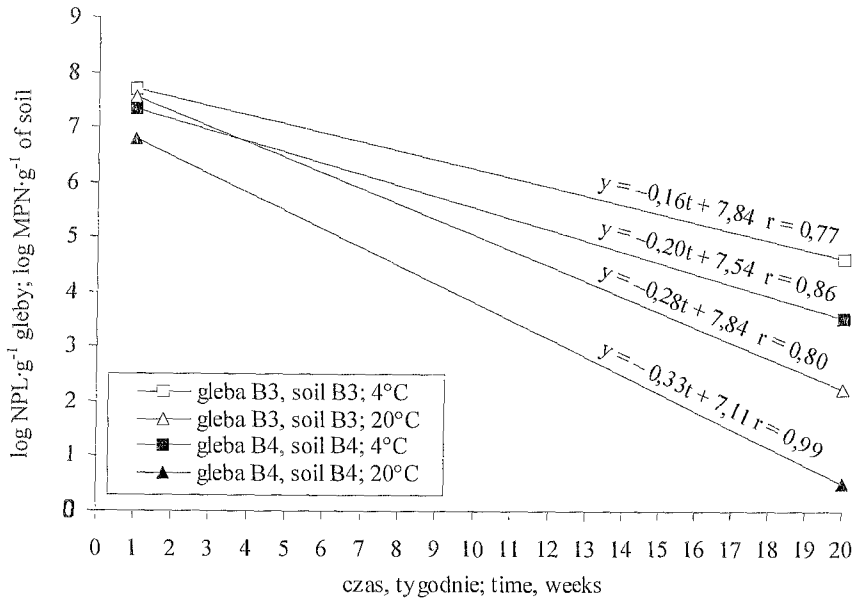
Rys. 24. Liczba paciorkowców grupy D wyrażona w log NPL·g⁻¹ gleby w próbkach ze skały macierzystej czarnej ziemi przechowywanych w temperaturze 4 i 20°C w czasie trwania doświadczenia

Fig. 24. Number of group D streptococci expressed in log MPN·g⁻¹ of soil in samples from parent rock of black earth stored at the temperature of 4 and 20°C during the experiment



Rys. 25. Liczba pałeczek *E. coli* wyrażona w log NPL·g⁻¹ gleby w próbkach z warstwy próchnicznej czarnej ziemi przechowywanych w temperaturze 4 i 20°C w czasie trwania doświadczenia

Fig. 25. Number of *E. coli* expressed in log MPN·g⁻¹ of soil in samples from humus layer of black earth stored at the temperature of 4 and 20°C during the experiment



Rys. 26. Proste regresji przeżywalności pałeczek *E. coli* w próbach gleby z warstwy próchnicznej i skały macierzystej czarnej ziemi przechowywanych w temperaturze 4 i 20°C

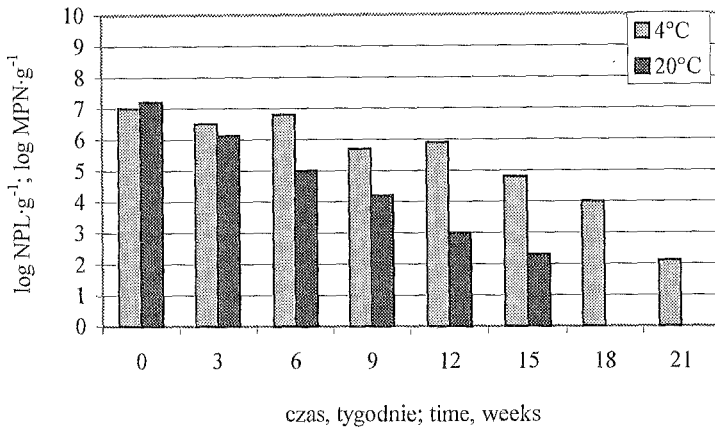
Fig. 26. Regression lines for survival of *E. coli* in soil samples from humus layer and parent rock of black earth stored at the temperature of 4 and 20°C

Znacznie wolniej, w porównaniu z glebą biellicową, eliminowane były z czarnej ziemi, podobnie jak paciorkowce, pałeczki *E. coli*. W temperaturze 4°C liczba pałeczek okrężnicy wynosiła w początkowym okresie badań $5,0 \cdot 10^8$ NPL·g⁻¹ gleby. W trzecim tygodniu izolowano $2,0 \cdot 10^6$ NPL·g⁻¹ gleby i na tym poziomie obserwowano je jeszcze w 12. tygodniu doświadczenia (rys. 25). Według analizy regresji liczba *E. coli* obniżała się o 0,16 log na tydzień (rys. 26). Wyliczony z prostej regresji teoretyczny czas przeżycia *E. coli* w omawianej glebie był stosunkowo długi i wynosił około 49 tygodni (tab. 8). Zdecydowanie szybciej, podobnie jak w innych glebach, przebiegała redukcja liczby pałeczek okrężnicy w temperaturze 20°C. Tygodniowe tempo eliminacji przyjmowało wartość 0,28 log, zaś teoretyczny czas przeżycia tych bakterii w warstwie próchnicznej czarnej ziemi wyliczono na około 28 tygodni (tab. 8).

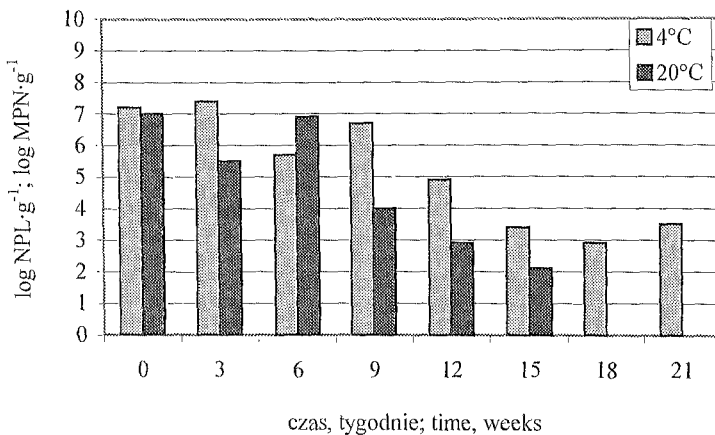
W skałe macierzystej czarnej ziemi pałeczki *E. coli* podlegały także szybszej redukcji w porównaniu z paciorkowcami. Zaobserwowano również, że i w tej warstwie czarnej ziemi spadek liczby pałeczek okrężnicy był wolniejszy w porównaniu z glebą biellicową. W temperaturze 4°C liczba pałeczek okrężnicy obniżała się z $1,0 \cdot 10^7$ NPL·g⁻¹ gleby do poziomu $1,3 \cdot 10^2$ NPL·g⁻¹ gleby w 21. tygodniu badania, gdy tymczasem w temperaturze 20°C wartość $2,0 \cdot 10^2$ NPL·g⁻¹ gleby stwierdzono już w 15. tygodniu doświadczenia (rys. 27). Określono tygodniowe tempo eliminacji bakterii na 0,20 log (4°C) i 0,33 log (20°C) (rys. 26). Natomiast teoretyczny czas przeżycia tych bakterii w glebie ustalono na 38 i 22 tygodnie (tab. 8).

Podobnie jak w glebie biellicowej, także w obu warstwach czarnej ziemi, najszybszej eliminacji spośród badanych bakterii podlegały pałeczki *Salmonella* Dublin. W próbach z warstwy próchnicznej izolowano w temperaturze 4°C w 21. tygodniu

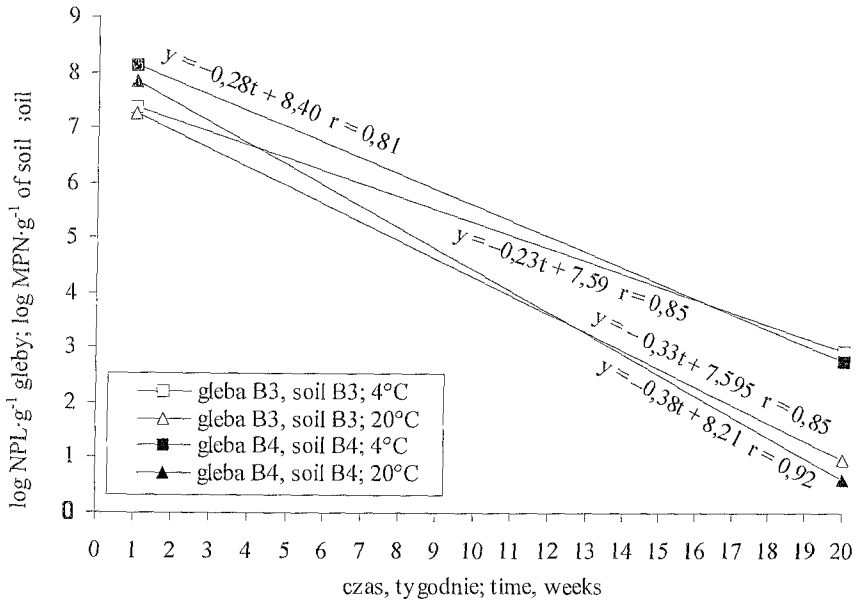
badania w ilości $3,2 \cdot 10^3$ NPL·g⁻¹ gleby, zaś w temperaturze 20°C wykrywano tylko $1,3 \cdot 10^2$ NPL·g⁻¹ gleby (15 tygodni) (rys. 28). Z prostych regresji wynika, że w ciągu tygodnia liczba pałeczek *Salmonella* Dublin w poziomie próchnicznym w temperaturze 4 i 20°C malała odpowiednio o 0,23 i 0,33 log (rys. 29). Teoretyczny czas przeżycia tych bakterii wyliczony z analizy statystycznej wynosił 33 (4°C) i 23 (20°C) tygodnie (tab. 8). W skale macierzystej czarnej ziemi bakterie *Salmonella* podlegały najszybszej redukcji, jakkolwiek początkowy ich ubytek był powolny (rys. 30). Tygodniowe tempo eliminacji według prostych regresji wynosiło w temperaturze 4°C 0,28 log i w temperaturze 20°C 0,38 log (rys. 29). Wyliczony z analizy statystycznej teoretyczny czas przeżycia pałeczek *Salmonella* wynosił odpowiednio 30 i 22 tygodnie (tab. 8).



Rys. 27. Liczba pałeczek *E. coli* wyrażona w log NPL·g⁻¹ gleby w próbach ze skały macierzystej czarnej ziemi przechowywanych w temperaturze 4 i 20°C w czasie trwania doświadczenia
 Fig. 27. Number of *E. coli* expressed in log MPN·g⁻¹ of soil in samples from parent rock of black earth stored at the temperature of 4 and 20°C during the experiment

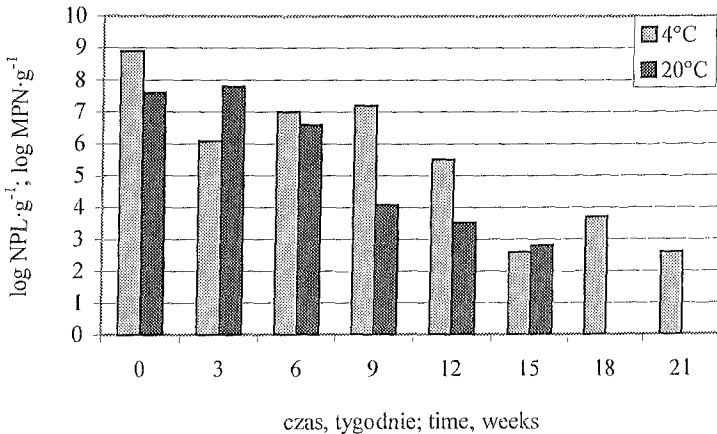


Rys. 28. Liczba pałeczek *Salmonella* Dublin wyrażona w log NPL·g⁻¹ gleby w próbach z warstwy próchnicznej czarnej ziemi przechowywanych w temperaturze 4 i 20°C w czasie trwania doświadczenia
 Fig. 28. Number of *Salmonella* Dublin expressed in log MPN·g⁻¹ of soil in samples from humus layer of black earth stored at the temperature of 4 and 20°C during the experiment



Rys. 29. Proste regresji przeżywalności pałeczek *Salmonella* Dublin w próbach gleby z warstwy próchnicznej i skały macierzystej czarnej ziemi przechowywanych w temperaturze 4 i 20°C

Fig. 29. Regression lines for survival of *Salmonella* Dublin in soil samples from humus layer and parent rock of black earth stored at the temperature of 4 and 20°C



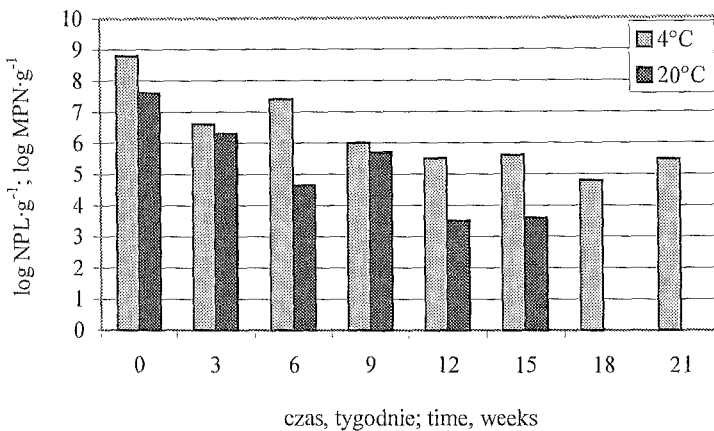
Rys. 30. Liczba pałeczek *Salmonella* Dublin wyrażona w log NPL·g⁻¹ gleby w próbach ze skały macierzystej czarnej ziemi przechowywanych w temperaturze 4 i 20°C w czasie trwania doświadczenia

Fig. 30. Number of *Salmonella* Dublin expressed in log MPN·g⁻¹ of soil in samples from parent rock of black earth stored at the temperature of 4 and 20°C during the experiment

4.3.2.3. Czarna ziemia zbrunatniała (C5, C6, C7)

Wyniki badań przeżywalności bakterii wskaźnikowych w złożonej z trzech poziomów genetycznych czarnej ziemi zbrunatniałej przedstawiono w tabeli 9 i na rysunkach 31-45.

W warstwie próchnicznej czarnej ziemi zbrunatniałej w temperaturze 4°C liczba paciorkowców grupy D obniżyła się z $6,3 \cdot 10^8$ NPL·g⁻¹ gleby (badanie zerowe) do poziomu $3,0 \cdot 10^5$ NPL·g⁻¹ gleby w 21. tygodniu badań (rys. 31). Analiza regresji wykazała, iż tygodniowe tempo eliminacji wynosiło 0,15 log (rys. 32) i było wyższe w porównaniu z czarną ziemią i minimalnie wolniejsze w odniesieniu do gleby biellicowej (rys. 14 i 23).

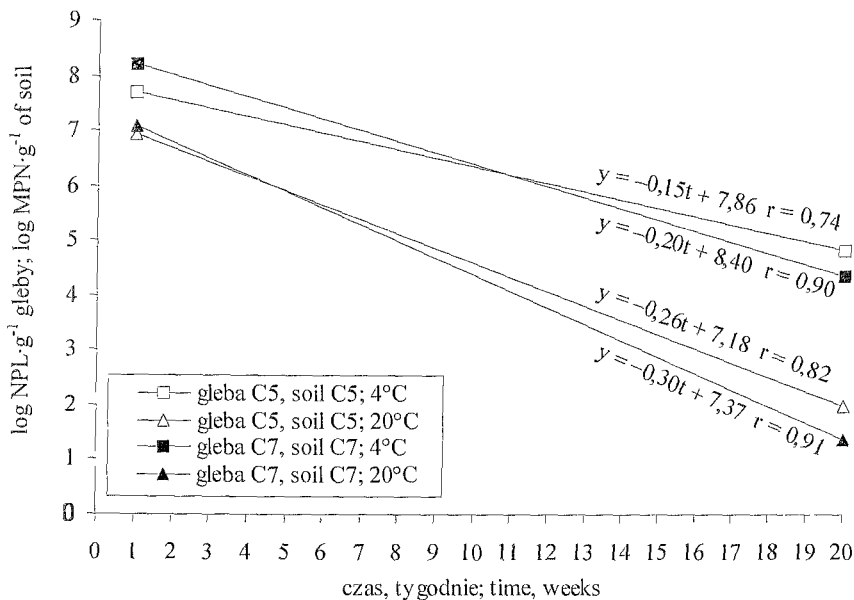


Rys. 31. Liczba paciorkowców grupy D wyrażona w log NPL·g⁻¹ gleby w próbach z warstwy próchnicznej czarnej ziemi zbrunatniałej przechowywanych w temperaturze 4 i 20°C w czasie trwania doświadczenia

Fig. 31. Number of group D streptococci expressed in log MPN·g⁻¹ of soil in samples from humus layer of browned black earth stored at the temperature of 4 and 20°C during the experiment

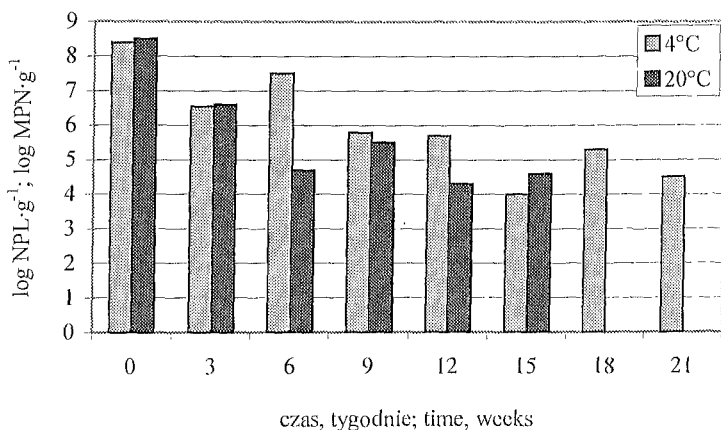
Obliczony z analizy regresji teoretyczny czas przeżycia paciorkowców grupy D w warstwie próchnicznej czarnej ziemi zbrunatniałej określono na około 52 tygodnie (tab. 9). Podobnie jak w pozostałych glebach liczba ich malała szybciej w temperaturze 20°C (rys. 31). W ciągu tygodnia odnotowano spadek o 0,26 log (rys. 32), zaś teoretyczny czas przeżycia wyliczono na około 28 tygodni (tab. 9).

W drugim poziomie genetycznym omawianej gleby (poziom brunatnienia) w temperaturze 4°C odnotowano gorsze warunki bytowania dla paciorkowców grupy D. W 21. tygodniu doświadczenia izolowano w badanych próbach $3,2 \cdot 10^4$ NPL·g⁻¹ gleby (badanie zerowe $2,5 \cdot 10^8$ NPL·g⁻¹ gleby) (rys. 33). Liczba paciorkowców grupy D zmniejszała się tygodniowo o 0,17 log (rys. 34), zaś teoretyczny czas ich przeżycia wynosił około 46 tygodni (tab. 9). W poziomie brunatnienia w temperaturze 20°C paciorkowce obumierały nieco wolniej w porównaniu z ich eliminacją z warstwy próchnicznej, bowiem tygodniowa redukcja wynosiła 0,24 log (rys. 34), a teoretyczny czas przeżycia bakterii nie przekraczał 31 tygodni (tab. 9).



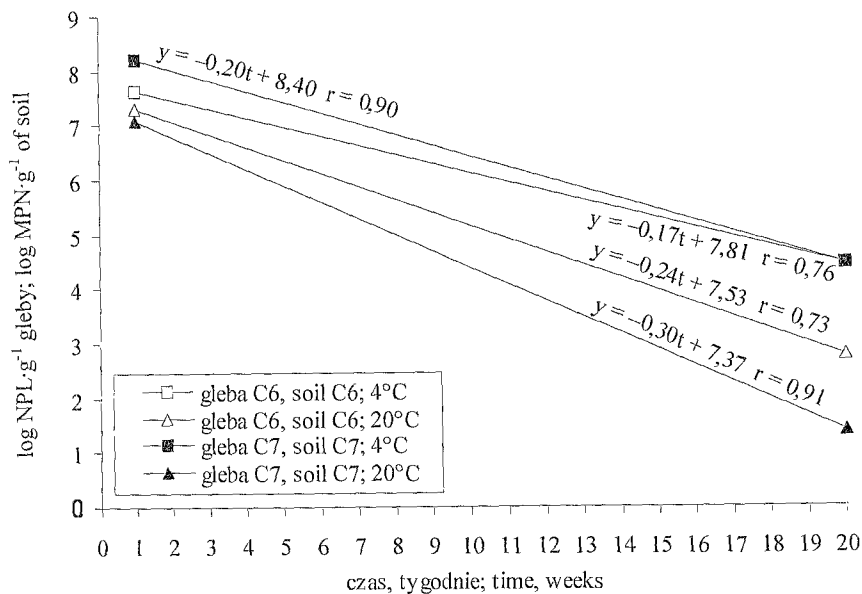
Rys. 32. Proste regresji przeżywalności paciorkowców grupy D próbach gleby z warstwy próchnicznej i skały macierzystej czarnej ziemi zbrunatniałej przechowywanych w temperaturze 4 i 20°C

Fig. 32. Regression lines for survival of group D streptococci in soil samples from humus layer and parent rock of browned black earth stored at the temperature of 4 and 20°C



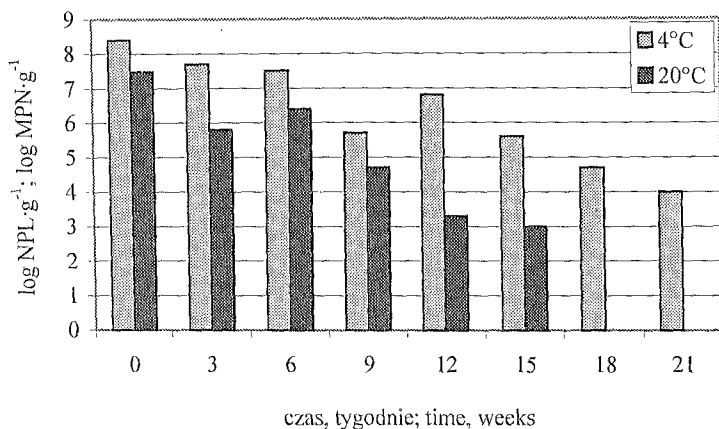
Rys. 33. Liczba paciorkowców grupy D wyrażona w log NPL·g⁻¹ gleby w próbach z poziomu brunatnienia czarnej ziemi zbrunatniałej przechowywanych w temperaturze 4 i 20°C w czasie trwania doświadczenia

Fig. 33. Number of group D streptococci expressed in log MPN·g⁻¹ of soil in samples from browning horizon of browned black earth stored at the temperature of 4 and 20°C during the experiment



Rys. 34. Proste regresji przeżywalności paciorkowców grupy D próbach gleby z poziomu brunatnienia i skały macierzystej czarnej ziemi zbrunatniałej przechowywanych w temperaturze 4 i 20°C

Fig. 34. Regression lines for survival of group D streptococci in soil samples from brownning horizon and parent rock of browned black earth stored at the temperature of 4 and 20°C



Rys. 35. Liczba paciorkowców grupy D wyrażona w log NPL·g⁻¹ gleby w próbach ze skały macierzystej czarnej ziemi zbrunatniałej przechowywanych w temperaturze 4 i 20°C w czasie trwania doświadczenia

Fig. 35. Number of group D streptococci expressed in log MPN·g⁻¹ of soil in samples from parent rock of browned black earth stored the temperature of 4 and 20°C during the experiment

Na podstawie przeprowadzonych badań zaobserwowano, że podobnie jak w obu poprzednich glebach, paciorkowce grupy D najszybciej obumierały w skale macierzystej czarnej ziemi zbrunatniałej. W temperaturze 4°C liczba tych bakterii zmniejszała się z $2,5 \cdot 10^8$ NPL·g⁻¹ gleby w badaniu zerowym do $1,0 \cdot 10^4$ NPL·g⁻¹ gleby w 21. tygodniu doświadczenia (rys. 35). Z kolei w temperaturze 20°C już w 15. tygodniu izolowano $1,0 \cdot 10^3$ NPL·g⁻¹ gleby paciorkowców grupy D (poziom wyjściowy $3,0 \cdot 10^7$ NPL·g⁻¹ gleby) (rys. 35). Z obliczeń statystycznych wynika, iż populacja bakterii zmniejszała się w ciągu tygodnia o 0,20 (4°C) i 0,30 log (20°C) (rys. 32), a wyliczony teoretyczny czas przeżycia bakterii wynosił odpowiednio około 42 i 25 tygodni (tab. 9).

Tabela 9. Współczynnik regresji charakteryzujący dynamikę inaktywacji bakterii wskaźnikowych w czarnej ziemi zbrunatniałej w temperaturze 4 i 20°C

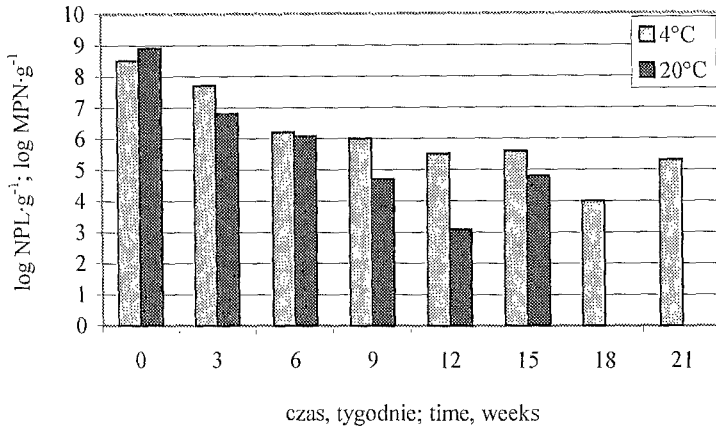
Table 9. Regression coefficient of inactivation rate of indicator bacteria in browned black earth at the temperature of 4 and 20°C

Środowisko Medium	Temperatura Temperature (°C)	Współczynnik A* Coefficient A	Współczynnik B** Coefficient B	Maksymalny czas przeżycia w tygodniach Maximum time of survival in weeks
<i>Paciorkowce grupy D</i>				
Gleba C5 i gnojowica Soil C5 and slurry	20	-0,26±0,06	7,18±0,54	28
	4	-0,15±0,04	7,86±0,46	52
Gleba C6 i gnojowica Soil C6 and slurry	20	-0,24±0,07	7,53±0,69	31
	4	-0,17±0,04	7,81±0,50	46
Gleba C7 i gnojowica Soil C7 and slurry	20	-0,30±0,05	7,37±0,42	25
	4	-0,20±0,03	8,40±0,34	42
<i>Escherichia coli</i>				
Gleba C5 i gnojowica Soil C5 and slurry	20	-0,31±0,09	8,09±0,78	26
	4	-0,17±0,04	7,90±0,45	46
Gleba C6 i gnojowica Soil C6 and slurry	20	-0,35±0,09	8,40±0,75	24
	4	-0,19±0,03	8,49±0,36	45
Gleba C7 i gnojowica Soil C7 and slurry	20	-0,36±0,08	7,49±0,69	21
	4	-0,22±0,02	8,33±0,27	38
<i>Salmonella</i> Dublin				
Gleba C5 i gnojowica Soil C5 and slurry	20	-0,34±0,08	7,85±0,61	23
	4	-0,24±0,03	7,55±0,38	31
Gleba C6 i gnojowica Soil C6 and slurry	20	-0,37±0,06	8,13±0,56	22
	4	-0,27±0,03	7,98±0,41	30
Gleba C7 i gnojowica Soil C7 and slurry	20	-0,38±0,06	8,16±0,58	21
	4	-0,28±0,04	8,46±0,55	30

* współczynnik regresji odpowiadający średniemu spadkowi liczby bakterii (w log) w ciągu jednego tygodnia,
regression coefficient corresponding with mean drop of bacteria number (in log) during one week.

** teoretyczna liczba bakterii odzyskiwanych z danego układu w czasie „0”,
theoretical number of bacteria recovered from a given system in „0” time.

Badania wykazały, że eliminacja pałeczek *E. coli* ze wszystkich warstw czarnej ziemi zbrunatniałej następowała nieco szybciej w porównaniu z paciorkowcami grupy D (rys. 36, 38 i 40). W poziomie próchnicznym w pobraniu zerowym izolowano pałeczki *E. coli* w temperaturze 4°C w liczbie $3,2 \cdot 10^8$ NPL·g⁻¹ gleby i w 20°C $8,0 \cdot 10^8$ NPL·g⁻¹ gleby. W ostatnim oznaczeniu, tj. w 21. tygodniu (4°C) wykrywano $2,0 \cdot 10^5$ NPL *E. coli* w g gleby, natomiast w 15. tygodniu (20°C) $6,3 \cdot 10^4$ NPL·g⁻¹ gleby (rys. 36). Tygodniowe tempo eliminacji wynosiło odpowiednio 0,17 i 0,31 log (rys. 37), zaś teoretyczny czas przeżycia pałeczek okrężnicy określono na około 46 i 26 tygodni (tab. 9).

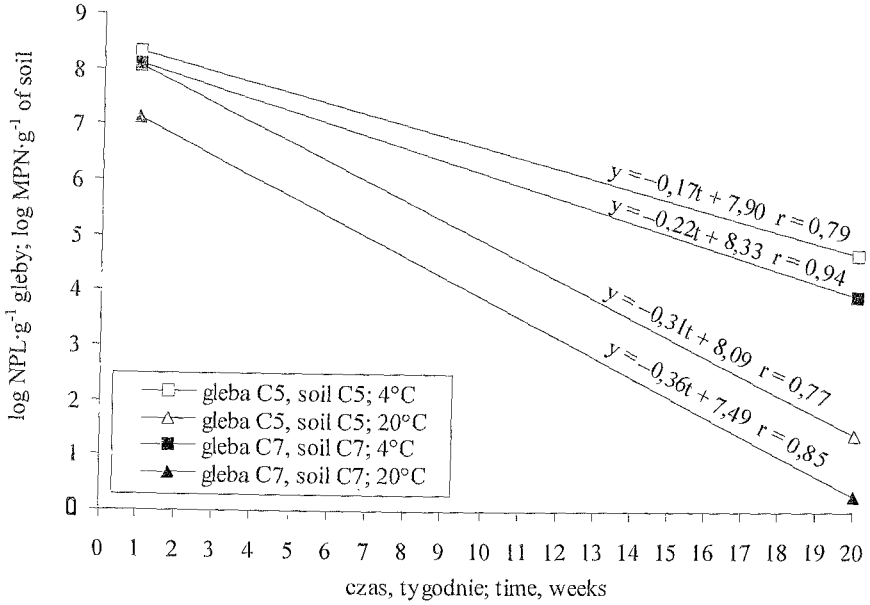


Rys. 36. Liczba pałeczek *E. coli* wyrażona w log NPL·g⁻¹ gleby w próbach z warstwy próchnicznej czarnej ziemi zbrunatniałej przechowywanych w temperaturze 4 i 20°C w czasie trwania doświadczenia

Fig. 36. Number of *E. coli* expressed log MPN·g⁻¹ of soil in samples from humus layer of browned black earth stored at the temperature of 4 and 20°C during the experiment

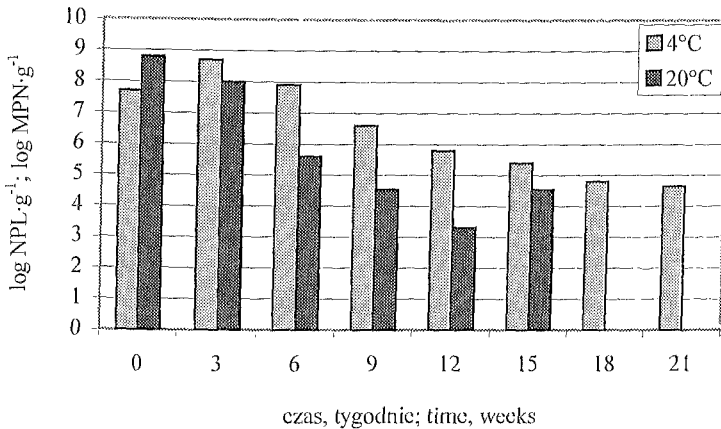
W poziomie brunatnienia liczba *E. coli* po 3 tygodniach przechowywania prób nie wykazywała tendencji spadkowej (rys. 38). Dopiero w 6. tygodniu badań zaobserwowano ubytek liczby tych bakterii w obu zakresach temperatury. W ciągu tygodnia zgodnie z analizą regresji następowało zmniejszenie liczby pałeczek okrężnicy w poziomie brunatnienia o 0,19 log (4°C) i 0,35 log (20°C) (rys. 39). Wyliczony z prostych regresji teoretyczny czas przeżycia bakterii *E. coli* wynosił odpowiednio około 45 i 24 tygodnie (tab. 9).

Jeszcze szybciej malała liczba *E. coli* w skale macierzystej czarnej ziemi zbrunatniałej zarówno w temperaturze 4°C, jak i 20°C (rys. 40). Tygodniowy stopień redukcji pałeczek okrężnicy wynosił 0,22 log (4°C) i 0,36 log (20°C) (rys. 37) i był zbliżony do wyników uzyskanych w próbach ze skały macierzystej gleby bielcowej (rys. 17). Wyliczony teoretyczny czas przeżycia *E. coli* w skale macierzystej czarnej ziemi zbrunatniałej wynosił odpowiednio 38 i 21 tygodni (tab. 9).



Rys. 37. Proste regresji przeżywalności pałeczek *E. coli* w próbach gleby z warstwy próchnicznej i skały macierzystej czarnej ziemi zbrunatniałej przechowywanych w temperaturze 4 i 20°C

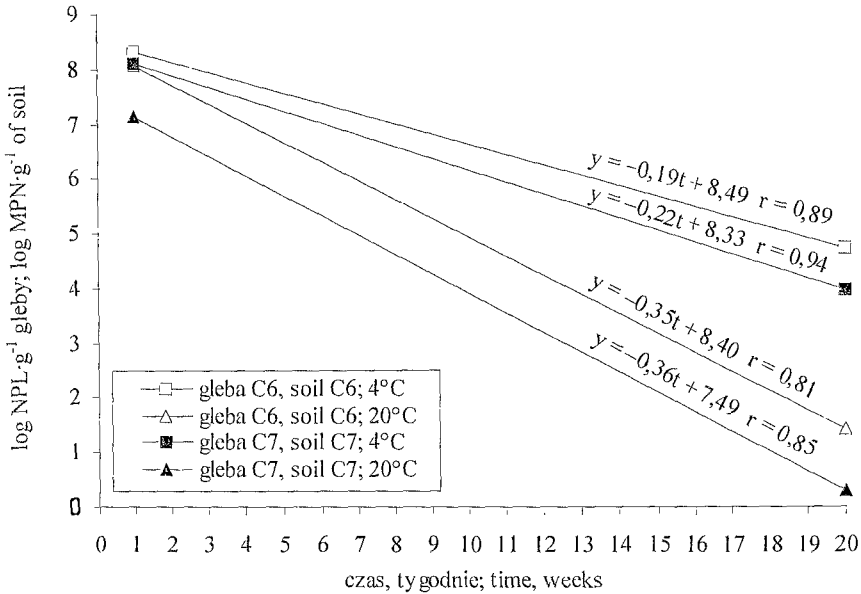
Fig. 37. Regression lines for survival of *E. coli* in soil samples from humus layer and parent rock of browned black earth stored at the temperature of 4 and 20°C



Rys. 38. Liczba pałeczek *E. coli* wyrażona w log NPL·g⁻¹ gleby w próbach z poziomu brunatnienia czarnej ziemi zbrunatniałej przechowywanych w temperaturze 4 i 20°C w czasie trwania doświadczenia

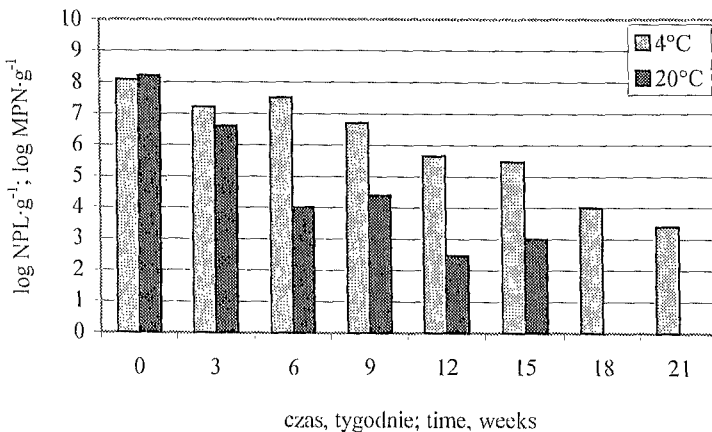
Fig. 38. Number of *E. coli* expressed in log MPN·g⁻¹ of soil in samples from browned black earth stored at the temperature of 4 and 20°C during the experiment





Rys. 39. Proste regresji przeżywalności pałeczek *E. coli* w próbach gleby z poziomu brunatnienia i skały macierzystej czarnej ziemi zbrunatniałej przechowywanych w temperaturze 4 i 20°C

Fig. 39. Regression lines for survival of *E. coli* in soil samples from browning horizon and parent rock of browned black earth stored at the temperature of 4 and 20°C



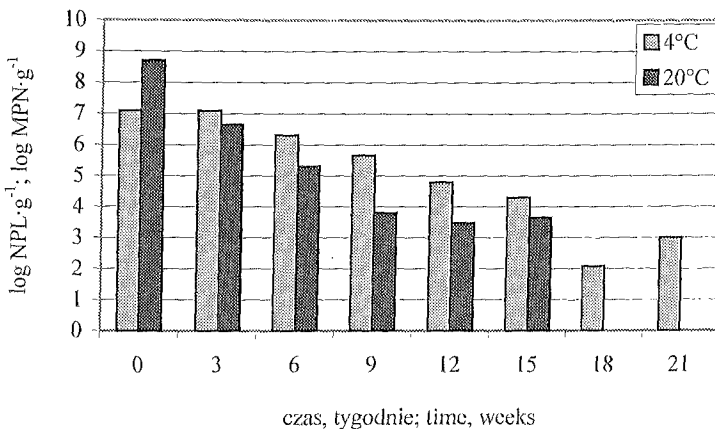
Rys. 40. Liczba pałeczek *E. coli* wyrażona w log NPL·g⁻¹ gleby w próbach ze skały macierzystej czarnej ziemi zbrunatniałej przechowywanych w temperaturze 4 i 20°C w czasie trwania doświadczenia

Fig. 40. Number of *E. coli* expressed in log MPN·g⁻¹ of soil in samples from parent rock of browned black earth stored at the temperature of 4 and 20°C during the experiment

W czarnej ziemi zbrunatniałej pałeczki *Salmonella* Dublin podlegały najszybszej eliminacji w porównaniu z bakteriami *E coli* i paciorkowcami grupy D. W warstwie próchnicznej czarnej ziemi zbrunatniałej w temperaturze 4°C spadek liczby pałeczek *Salmonella* następował od 6 tygodnia badań osiągając wartość $1,0 \cdot 10^3$ NPL·g⁻¹ gleby w 21. tygodniu doświadczenia (rys. 41). W temperaturze 20°C liczba bakterii obniżała się systematycznie osiągając poziom $4,5 \cdot 10^3$ NPL·g⁻¹ gleby w 15. tygodniu badań. Analiza regresji wykazała, iż tygodniowe tempo eliminacji wynosiło odpowiednio 0,24 (4°C) i 0,34 log (20°C) (rys. 42), zaś teoretyczny obliczony czas przeżycia tych bakterii odpowiednio 31 i 23 tygodnie (tab. 9).

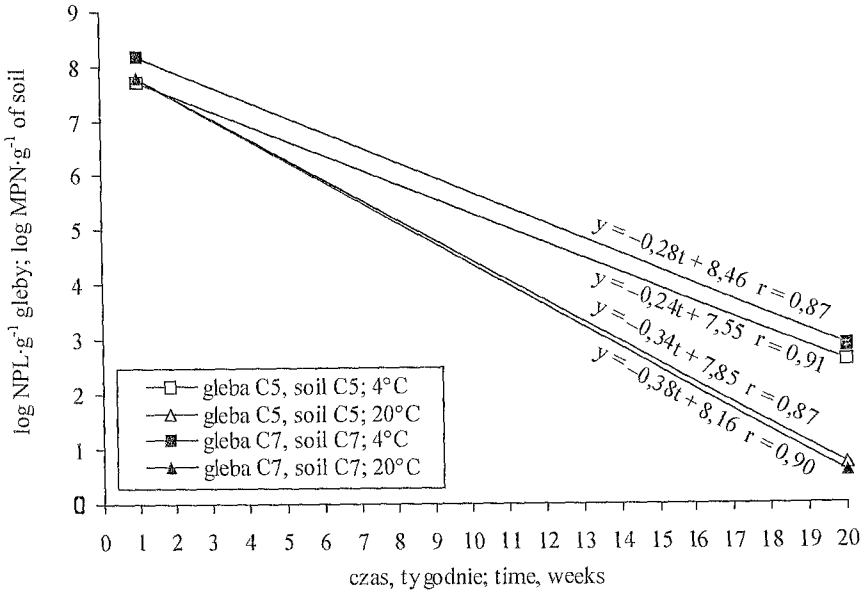
W poziomie brunatnienia pałeczki *Salmonella* Dublin, podobnie jak pozostałe bakterie wskaźnikowe, obumierały nieco szybciej niż w warstwie próchnicznej. W temperaturze 4°C w badaniu zerowym izolowano pałeczki *Salmonella* w ilości $1,2 \cdot 10^7$ NPL·g⁻¹ gleby, zaś w 21. tygodniu badań $1,0 \cdot 10^2$ NPL·g⁻¹ gleby (rys. 43). W ciągu tygodnia liczba tych bakterii obniżała się według analizy regresji o 0,27 log (rys. 44), a teoretyczny czas przeżycia bakterii wynosił około 30 tygodni (tab. 9). W temperaturze 20°C spadek był szybszy, bowiem w ciągu tygodnia liczba drobnoustrojów zmniejszała się o 0,37 log (rys. 44). Teoretyczny czas przeżycia tych bakterii w poziomie brunatnienia omawianej gleby wynosił około 22 tygodni (tab. 9).

Podobnie przebiegała eliminacja pałeczek *Salmonella* w skale macierzystej czarnej ziemi zbrunatniałej (rys. 45). Wyniki analizy statystycznej są bardzo zbliżone do wartości uzyskanych w poziomie brunatnienia. Tygodniowe tempo eliminacji bakterii *Salmonella* wynosiło bowiem dla temperatury 4°C 0,28 log i dla temperatury 20°C 0,38 log (rys. 44). Obliczony teoretyczny czas obecności bakterii w badanych próbach przyjmował wartości odpowiednio 30 i 21 tygodni (tab. 9).



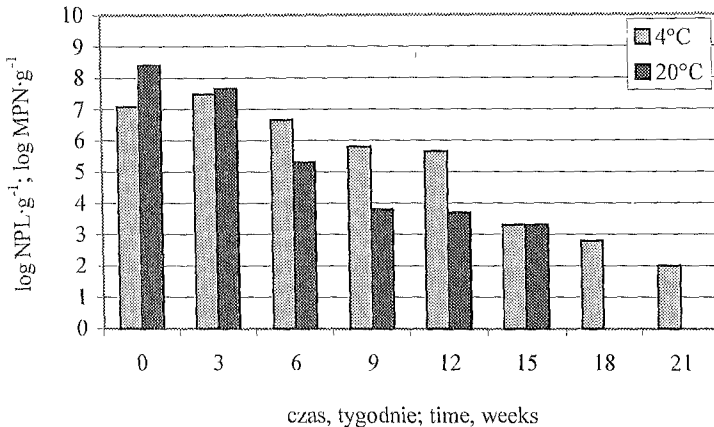
Rys. 41. Liczba pałeczek *Salmonella* Dublin wyrażona w log NPL·g⁻¹ gleby w próbach z warstwy próchnicznej czarnej ziemi zbrunatniałej przechowywanych w temperaturze 4 i 20°C w czasie trwania doświadczenia

Fig. 41. Number of *Salmonella* Dublin expressed in log MPN·g⁻¹ of soil in samples from humus layer of browned black earth stored the temperature of 4 and 20°C during the experiment



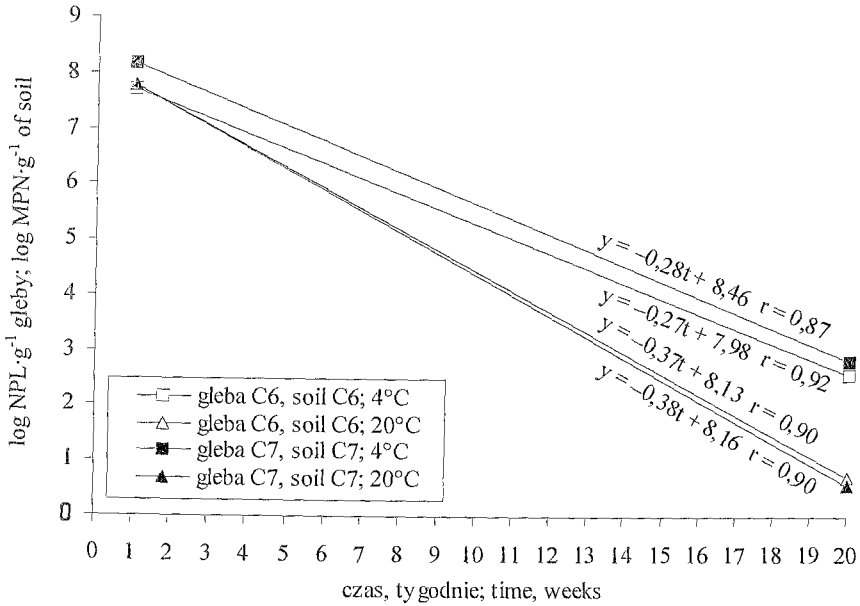
Rys. 42. Proste regresji przeżywalności pałeczek *Salmonella* Dublin w próbach gleby z warstwy próchnicznej i skały macierzystej czarnej ziemi zbrunatniałej przechowywanych w temperaturze 4 i 20°C

Fig. 42. Regression lines for survival of *Salmonella* Dublin in soil samples from humus layer and parent rock of browned black earth stored at the temperature of 4 and 20°C



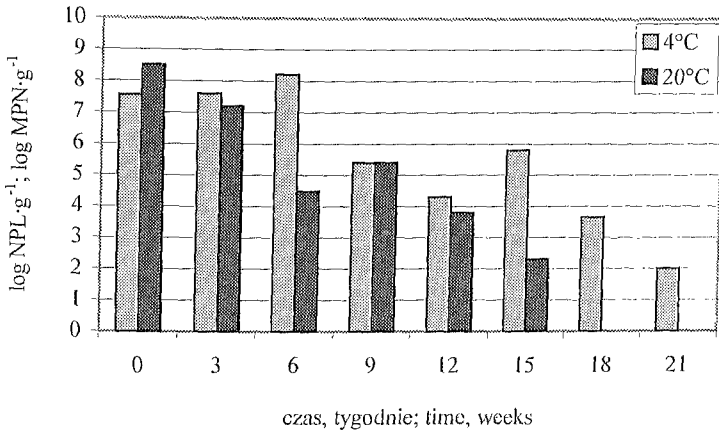
Rys. 43. Liczba pałeczek *Salmonella* Dublin wyrażona w log NPL.g⁻¹ gleby w próbach z poziomu brunatnienia czarnej ziemi zbrunatniałej przechowywanych w temperaturze 4 i 20°C w czasie trwania doświadczenia

Fig. 43. Number of *Salmonella* Dublin expressed in log MPN.g⁻¹ of soil in samples from browned horizon of browned black earth stored at the temperature of 4 and 20°C during the experiment



Rys. 44. Proste regresji przeżywalności pałeczek *Salmonella* Dublin w próbach gleby z poziomu brunatnienia i skały macierzystej czarnej ziemi zbrunatniałej przechowywanych w temperaturze 4 i 20°C

Fig. 44. Regression lines for survival of *Salmonella* Dublin in soil samples from browning horizon and parent rock of browned black earth stored at the temperature of 4 and 20°C



Rys. 45. Liczba pałeczek *Salmonella* Dublin wyrażona w log NPL·g⁻¹ gleby w próbach ze skały macierzystej czarnej ziemi zbrunatniałej przechowywanych w temperaturze 4 i 20°C w czasie trwania doświadczenia

Fig. 45. Number of *Salmonella* Dublin expressed in log MPN·g⁻¹ of soil in samples from parent rock of browned black earth stored at the temperature of 4 and 20°C during the experiment

Reasumując można stwierdzić, że czarna ziemia zbrunatniała, zwłaszcza poziom próchniczny, stwarzała korzystniejsze warunki dla przeżycia bakterii wskaźnikowych w porównaniu z czarną ziemią.

4.4. Wyniki przeżywalności enterowirusa bydła w badanych środowiskach

4.4.1. Stopień elucji enterowirusa bydła z badanych gleb

W zależności od typu gleby stopień elucji enterowirusa bydła wahał się w zakresie od 10 do 100% (tab. 10).

Tabela 10. Miano enterowirusa bydła (w log TCID₅₀·ml⁻¹) zawieszono w wodzie, gnojowicy i eluowanego z różnych rodzajów gleb w 1 ml roztworu eluującego po trzydniowej inkubacji w temperaturze 4°C

Table 10. The titer of bovine enterovirus (in log TCID₅₀·ml⁻¹) suspended in water, slurry and eluated from different types of soils in 1 ml of elution medium after three-day incubation at the temperature of 4°C

Nośnik wirusa Virus carrier	10% surowica płodowa bydła 10% fetal bovine serum
Woda, Water	5,30±0,50 (100 %)**
Gnojowica, Slurry	5,05±0,00* (100%)**
Gleba, Soil A1	5,05 (100 %)**
Gleba, Soil A2	4,8 (56 %)**
Gleba, Soil B3	4,05 (10 %)**
Gleba, Soil B4	4,30 (18 %)**
Gleba, Soil C5	4,05 (10 %)**
Gleba, Soil C6	4,30 (18 %)**
Gleba, Soil C7	4,55 (33 %)**

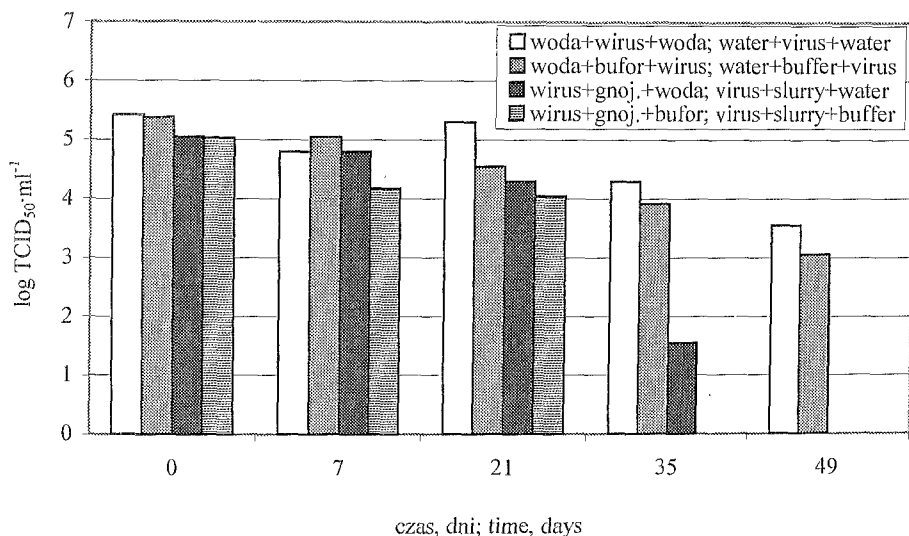
* odchylenie standardowe, standard deviation,

** odsetek odzyskiwanego wirusa w stosunku do próby kontrolnej (wirus zawieszony w wodzie), percentage of virus recovery in comparison with the control sample (virus suspended in water).

4.4.2. Przeżywalność enterowirusa bydła w wodzie i gnojowicy

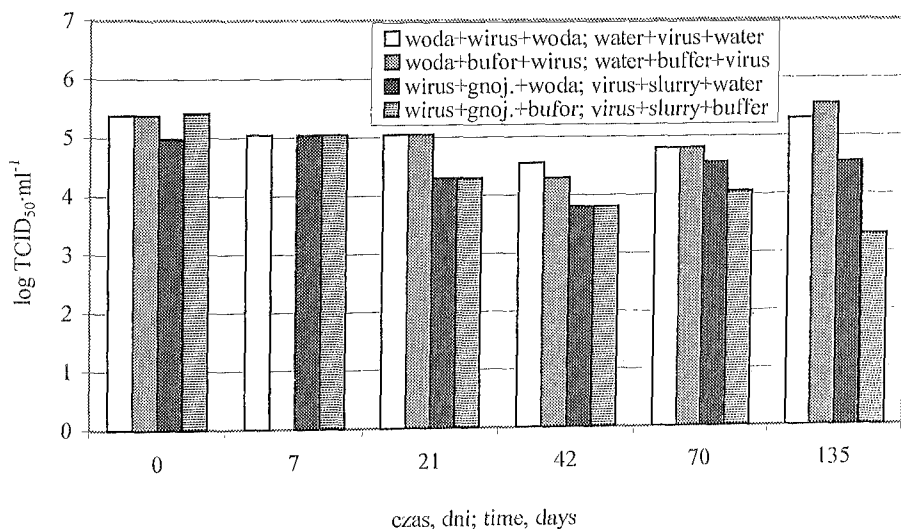
W badanej gnojowicy i eluatach glebowych nie stwierdzono obecności czynników replikujących się w hodowli komórkowej MDBK. Nieznaczny efekt cytopatyczny występował jedynie po dodaniu nierozcieńczonych eluatów gnojowicy i gleb, jednakże mógł być on różnicowany zależnie od efektu cytopatycznego, który wywołany został przez wirus.

Spadek miano enterowirusa bydła w wodzie przedstawiono na rysunkach 46 i 47. Miano początkowe w temperaturze 20°C wynosiło średnio 5,42 log TCID₅₀·ml⁻¹ (wahania 5,3-5,55 log TCID₅₀·ml⁻¹), a w 49. dniu badań wynosiło 3,55 log TCID₅₀·ml⁻¹. W temperaturze 4°C średnie miano wyjściowe 5,38 log TCID₅₀·ml⁻¹ w 135. dniu badania obniżało się minimalnie do poziomu 5,3 log TCID₅₀·ml⁻¹. Tygodniowe tempo eliminacji enterowirusa bydła dla temperatury 20°C i 4°C wynosiło 0,32 log i 0,07 log (rys. 48). Wyliczony na podstawie prostej regresji maksymalny czas przeżycia enterowirusa bydła w wodzie powinien wynosić 17 tygodni w 20°C i 75 tygodni w 4°C (tab. 11).



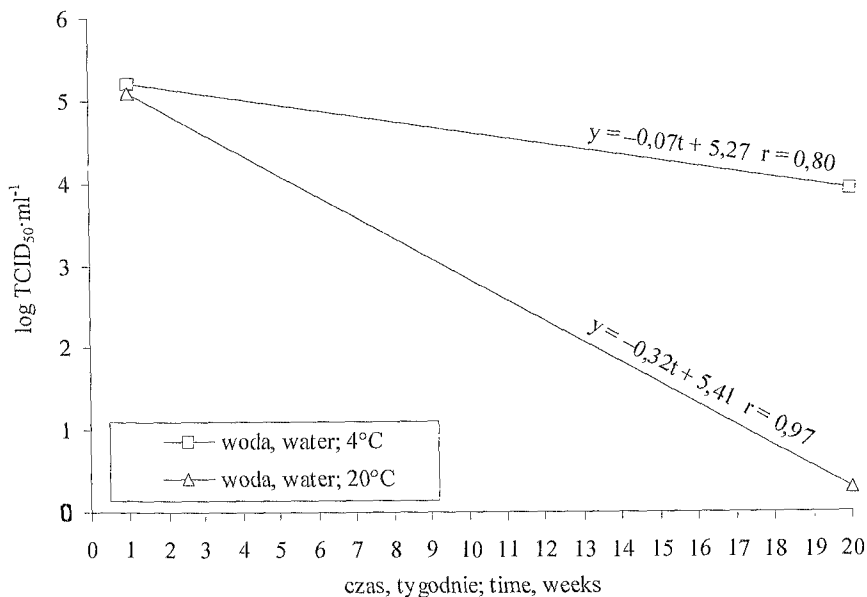
Rys. 46. Dynamika zmian ilościowych enterowirusa bydła w wodzie i gnojowicy w temperaturze 20°C w czasie trwania doświadczenia

Fig. 46. Dynamics of quantitative changes of the bovine enterovirus in water and slurry at the temperature of 20°C during the experiment



Rys. 47. Dynamika zmian ilościowych enterowirusa bydła w wodzie i gnojowicy w temperaturze 4°C w czasie trwania doświadczenia

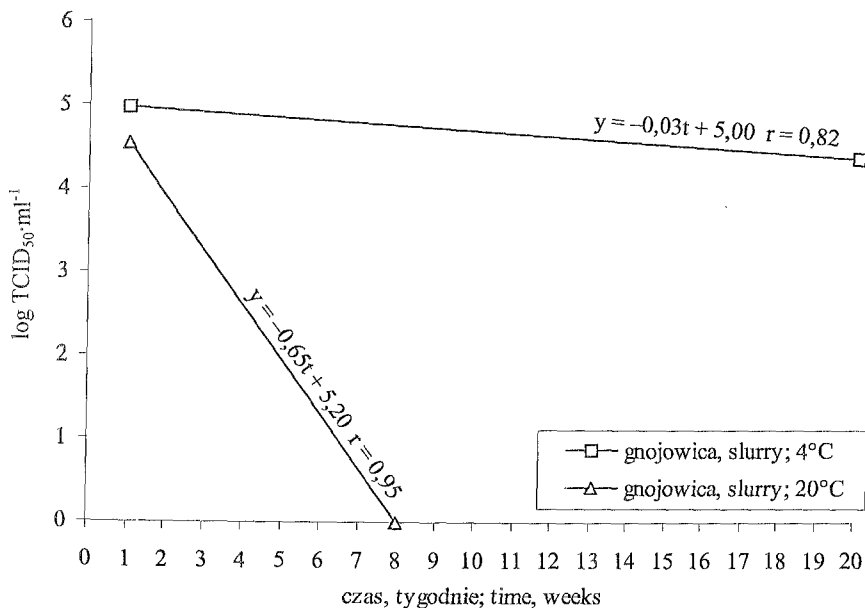
Fig. 47. Dynamics of quantitative changes of the bovine enterovirus in water and slurry at the temperature of 4°C during the experiment



Rys. 48. Proste regresji przeżywalności enterowirusa bydła w wodzie w temperaturze 4 i 20°C
 Fig. 48. Regression lines for survival of the bovine enterovirus in water at the temperature of 4 and 20°C

Dodatek buforu eluującego do zawiesiny wirusa w wodzie oraz w gnojowicy nie wywierał toksycznego wpływu, bowiem nie wpłynął znacząco na jego przeżywalność (rys. 46 i 47). Z kolei wprowadzenie wirusa do gnojowicy spowodowało w temperaturze 20°C szybki spadek miana z wartości wyjściowej 5,05 log TCID₅₀·ml⁻¹ do poziomu poniżej granicy czułości metody (1,05 log TCID₅₀·ml⁻¹) w 49. dniu badania (rys. 46). Natomiast w temperaturze 4°C obserwowano stopniowy spadek miana wirusa z początkowego (w czasie „0”) do 4,97 log TCID₅₀·ml⁻¹ do 3,8 log TCID₅₀·ml⁻¹ w 42. dniu doświadczenia. W 135. dniu doświadczenia stwierdzono niewielki wzrost miana enterowirusa bydła w gnojowicy do poziomu 4,55 log TCID₅₀·ml⁻¹ (rys. 47). Analiza regresji wykazała, że tempo eliminacji wirusa w temperaturze 20°C wyniosło 0,65 log w tygodniu, zaś w temperaturze 4°C 0,03 log w ciągu tygodnia (rys. 49).

Na podstawie prostej regresji określono teoretyczny czas przeżycia enterowirusa bydła w gnojowicy na 8 tygodni w temperaturze 20°C i 167 tygodni w temperaturze 4°C (tab. 11).



Rys. 49. Proste regresji przeżywalności enterowirusa bydła w gnojowicy w temperaturze 4 i 20°C
 Fig. 49. Regression lines for survival of the bovine enterovirus in slurry at the temperature of 4 and 20°C

4.4.3. Przeżywalność enterowirusa bydła w glebach nawożonych gnojowicą

4.4.3.1. Gleba biellicowa (A1 i A2)

Po dodaniu do warstwy próchnicznej gleby biellicowej (A1) zawiesiny enterowirusa bydła i gnojowicy jego średnie miano (czas „0”) w temperaturze 20°C wynosiło 5,14 log TCID₅₀·g⁻¹ gleby (wahania od 5,02 do 5,25 log TCID₅₀·g⁻¹ gleby). W miarę upływu czasu przechowywania prób rejestrowano stopniowy spadek miana wirusa (rys. 50). Natomiast w temperaturze 4°C zaobserwowano, iż miano wyjściowe przyjmujące średnią wartość 5,02 log TCID₅₀·g⁻¹ gleby po 7 dniach wzrastało do 5,52 log TCID₅₀·g⁻¹ gleby (rys. 51). Jednak już w kolejnych dniach doświadczenia następował systematyczny spadek miana enterowirusa bydła, bowiem w 135. dniu eksperymentu wynosiło ono 3,77 log TCID₅₀·g⁻¹ gleby.

Dynamika inaktywacji enterowirusa bydła w warstwie próchnicznej gleby biellicowej w temperaturze 20°C wyniosła 0,43 log w ciągu tygodnia (rys. 52). Była ona zatem znacznie niższa (o 0,22 log) w porównaniu z inaktywacją w gnojowicy (rys. 49).

Na podstawie analizy prostej regresji ustalono teoretyczny czas przeżycia enterowirusa bydła na 11 tygodni (tab. 11). Z kolei w temperaturze 4°C inaktywacja wirusa następowała szybciej w poziomie próchnicznym gleby biellicowej w odniesieniu do wirusa zawieszzonego w gnojowicy. Tygodniowe tempo eliminacji wynosiło bowiem 0,09 log (rys. 52), co pozwoliło określić teoretyczny czas przeżycia wirusa w glebie na 54 tygodnie (tab. 11).

Tabela 11. Współczynnik regresji charakteryzujący dynamikę inaktywacji enterowirusa bydła w wodzie, gnojowicy i glebach w temperaturze 4 i 20°C

Table 11. Regression coefficient of the inactivation rate of the bovine enterovirus in water, slurry and soils at the temperature of 4 and 20°C

Środowisko Medium	Temperatura Temperature (°C)	Współczynnik A* Coefficient A	Współczynnik B** Coefficient B	Maksymalny czas przeżycia w tygodniach Maximum time of survival in weeks
Kontrola woda Control water	20	-0,32±0,03	5,41±0,13	17
	4	-0,07±0,02	5,27±0,02	75
Kontrola gnojowica Control slurry	20	-0,65±0,08	5,20±0,25	8
	4	-0,03±0,007	5,0±0,07	167
Gleba A1 i gnojowica Soil A1 and slurry	20	-0,43±0,04	4,80±0,15	11
	4	-0,09±0,02	4,82±0,17	54
Gleba A2 i gnojowica Soil A2 and slurry	20	-0,42±0,04	4,79±0,19	11
	4	-0,10±0,01	5,03±0,13	50
Gleba B3 i gnojowica Soil B3 and slurry	20	-0,61±0,10	4,36±0,27	7
	4	-0,11±0,02	4,23±0,21	39
Gleba B4 i gnojowica Soil B4 and slurry	20	-0,69±0,08	4,29±0,22	6
	4	-0,08±0,02	4,22±0,20	53
Gleba C5 i gnojowica Soil C5 and slurry	20	-0,31±0,06	3,25±0,21	10
	4	-0,08±0,02	3,85±0,30	48
Gleba C6 i gnojowica Soil C6 and slurry	20	-0,39±0,06	3,71±0,25	10
	4	-0,12±0,02	4,29±0,15	36
Gleba C7 i gnojowica Soil C7 and slurry	20	-0,31±0,06	4,28±0,22	14
	4	-0,07±0,02	4,36±0,26	62

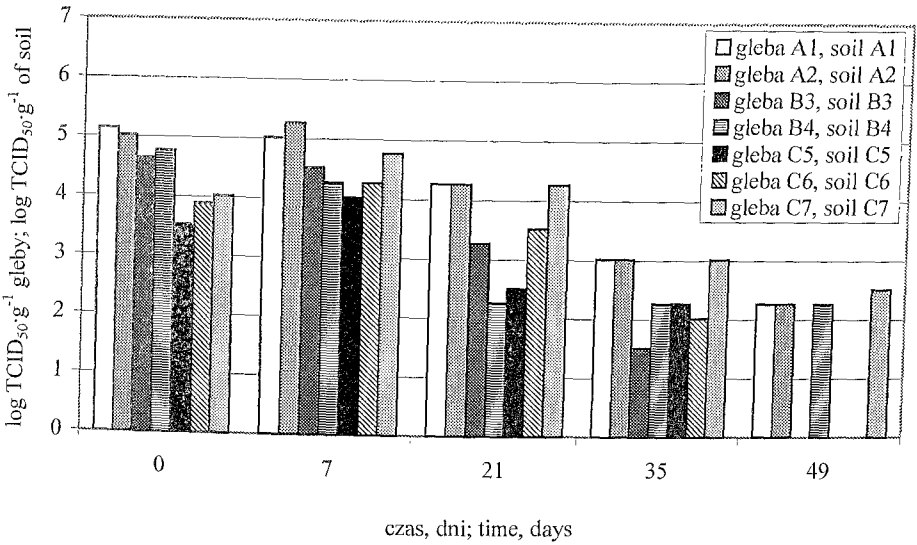
* współczynnik regresji odpowiadający średniemu spadkowi miana wirusa (w log) w ciągu jednego tygodnia,

regression coefficient corresponding with mean drop of virus titer (in log) during one week,

** teoretyczna wartość wirusa odzyskiwanego z danego układu w czasie „0”,

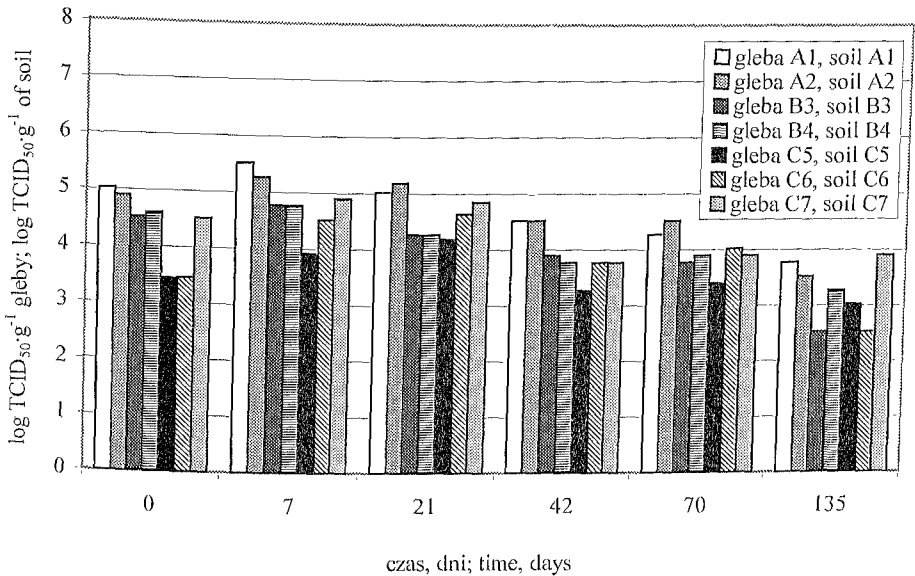
theoretical value of virus recovered from a given system in „0” time.

Skala macierzysta (A2) stanowiła drugi poziom gleby biellicowej. W temperaturze 20°C po tygodniu badań nastąpił wzrost miana enterowirusa bydła do wartości 5,27 log TCID₅₀·g⁻¹ (poziom wyjściowy – 5,02 log TCID₅₀·g⁻¹ gleby) (rys. 50). W kolejnych dniach doświadczenia stwierdzano stopniowy spadek miana wirusa do 2,27 log TCID₅₀·g⁻¹ gleby w 49. dniu badania. Podobną dynamikę zmian obserwowano w próbach przechowywanych w temperaturze 4°C, jednak redukcja miana następowała znacznie wolniej (rys. 51). Wyniki analizy regresji wykazały, że tempo eliminacji enterowirusa bydła w warstwie próchnicznej i skale macierzystej gleby biellicowej było zbliżone (rys. 52).



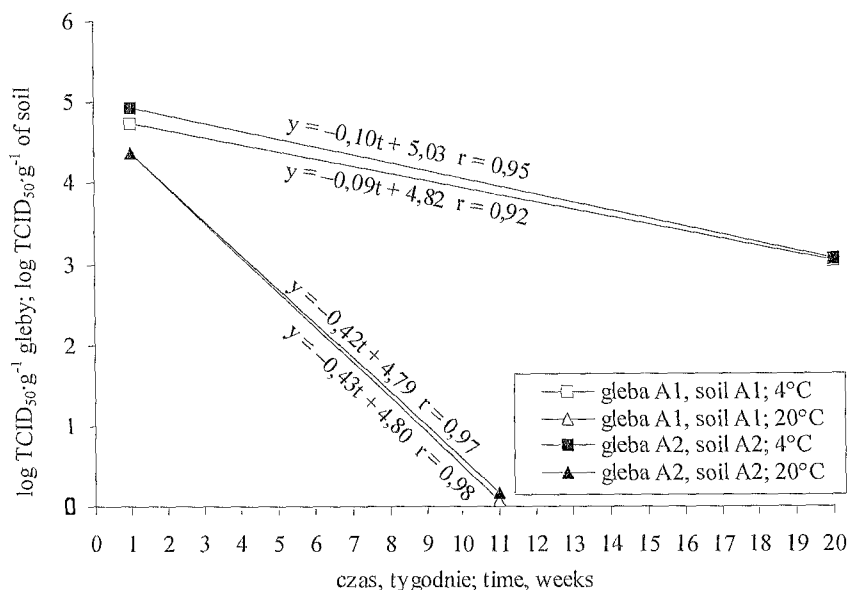
Rys. 50. Dynamika zmian ilościowych enterowirusa bydła w badanych glebach w temperaturze 20°C w czasie trwania doświadczenia

Fig. 50. Dynamics of quantitative changes of the bovine enterovirus in investigated soils at the temperature of 20°C during the experiment



Rys. 51. Dynamika zmian ilościowych enterowirusa bydła w badanych glebach w temperaturze 4°C w czasie trwania doświadczenia

Fig. 51. Dynamics of quantitative changes of the bovine enterovirus in investigated soils at the temperature of 4°C during the experiment



Rys. 52. Proste regresji przeżywalności enterowirusa bydła w próbach gleby z warstwy próchnicznej i skały macierzystej gleby biellicowej przechowywanych w temperaturze 4 i 20°C

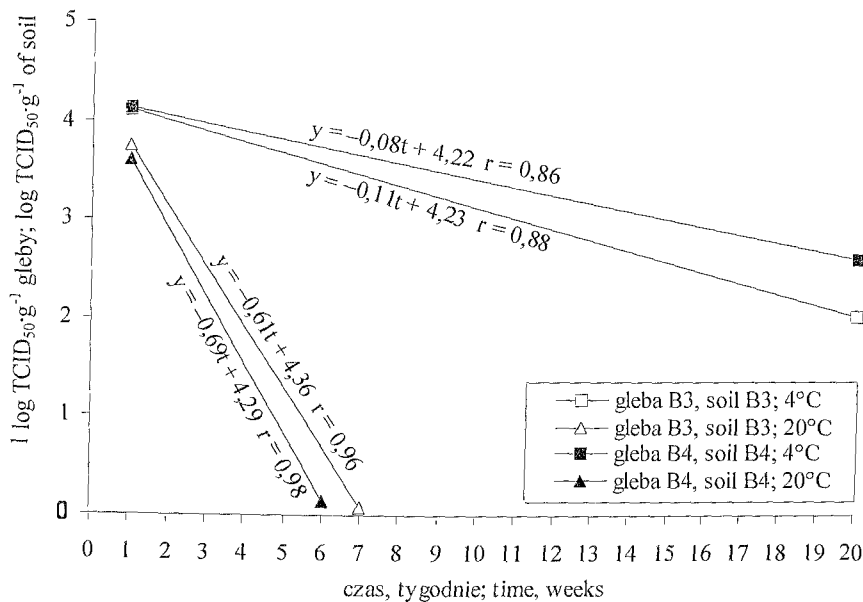
Fig. 52. Regression lines for survival of the bovine enterovirus in soil samples from humus layer and parent rock of podzolic soil stored at the temperature of 4 and 20°C

4.4.3.2. Czarna ziemia (B3 i B4)

Miano enterowirusa bydła w warstwie próchnicznej czarnej ziemi w temperaturze 20°C wahało się od 4,27 do 5,02 log TCID₅₀·g⁻¹ gleby (średnio 4,64 log TCID₅₀·g⁻¹ gleby). W 35. dniu badań obniżyło się ono do granicy czułości metody (1,05 log TCID₅₀·g⁻¹), zaś w 49. dniu doświadczenia nie wykrywano wirusa (rys. 50). Zdecydowanie wolniej następowała eliminacja enterowirusa bydła z czarnej ziemi w próbach przechowywanych w temperaturze 4°C. Stwierdzono bowiem w 7. dniu doświadczenia nieznaczny wzrost miana (4,77 log TCID₅₀·g⁻¹ gleby) w porównaniu ze stanem wyjściowym (4,52 log TCID₅₀·g⁻¹ gleby). Natomiast w 135. dniu badań wykrywano wirusa na poziomie 2,52 log TCID₅₀·g⁻¹ gleby (rys. 51). Wirus w czarnej ziemi podlegał znacznie szybszej redukcji w porównaniu z glebą biellicową. Tygodniowe tempo eliminacji wyniosło 0,61 log w temperaturze 20°C i 0,11 log w temperaturze 4°C (rys. 53). Maksymalny teoretyczny czas przeżycia ustalany na podstawie prostej regresji enterowirusa bydła w warstwie próchnicznej czarnej ziemi (B3) wynosił 7 tygodni (20°C) i 39 tygodni (4°C) (tab. 11).

W próbach pobranych ze skały macierzystej czarnej ziemi (B4) w temperaturze 20°C spadek miana wirusa do wartości 2,27 log TCID₅₀·g⁻¹ gleby rejestrowano już w 21. dniu doświadczenia (rys. 50), natomiast w temperaturze 4°C stwierdzono znacznie wolniejsze tempo eliminacji tego zarazka w badanym poziomie gleby. W 135. dniu doświadczenia miano wykrywanego wirusa wynosiło 3,27 log TCID₅₀·g⁻¹ gleby

(rys. 51). W ciągu tygodnia miano enterowirusa bydła obniżało się w tej warstwie gleby o 0,69 log w temperaturze 20°C i o 0,08 log w temperaturze 4°C (rys. 53). Z prostej regresji wynika, że czas przeżycia enterowirusa bydła w skałe macierzystej czarnej ziemi wynosił 6 tygodni w temperaturze 20°C i 53 tygodnie w temperaturze 4°C (tab. 11).



Rys. 53. Proste regresji przeżywalności enterowirusa bydła w próbach gleby z warstwy próchnicznej i skały macierzystej czarnej ziemi przechowywanych w temperaturze 4 i 20°C

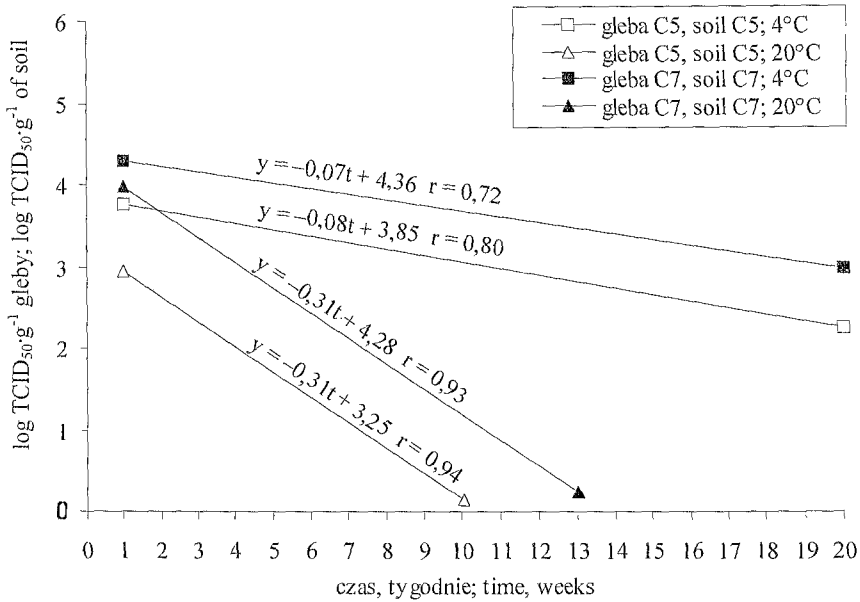
Fig. 53. Regression lines for survival of the bovine enterovirus in soil samples from humus layer and parent rock of black earth stored at the temperature of 4 and 20°C

Zwraca uwagę fakt, że w skałe macierzystej czarnej ziemi proces inaktywacji enterowirusa bydła następował szybciej w porównaniu z eliminacją z gnojowicy. Tendencja ta dotyczyła obu analizowanych zakresów temperatury (tab. 11).

4.4.3.3. Czarna ziemia zbrunatniała (C5, C6 i C7)

Miano enterowirusa bydła w warstwie próchnicznej czarnej ziemi zbrunatniałej (C5) w temperaturze 20°C wyniosło początkowo 3,52 log TCID₅₀·g⁻¹ gleby. Po tygodniu badań zanotowano pewien wzrost ilości eluowanego wirusa, jednak w kolejnych próbach następował szybki spadek jego miana (rys. 50). W 49. dniu doświadczenia w temperaturze 20°C w warstwie C5 nie wykrywano wirusa, bowiem jego miano spadło poniżej granicy czułości metody. Tygodniowe tempo redukcji wirusa wyniosło 0,31 log (rys. 54) i było niższe w porównaniu z szybkością inaktywacji wirusa w gnojowicy o 0,34 log (rys. 49). Maksymalny teoretyczny czas przeżywalności wirusa określono na podstawie prostej regresji na 10 tygodni (tab. 11). Podobnie, jak w omawianych dotychczas glebach, także w warstwie próchnicznej czarnej ziemi zbrunatniałej w temperaturze 4°C miano enterowirusa bydła spadało zdecydowanie wolniej (rys. 51), ponieważ w czasie „0” ważyło się ono od 3,27 do 3,52 log TCID₅₀·g⁻¹ gleby, zaś w 135. dniu

wynosiło 3,02 log TCID₅₀·g⁻¹ gleby. Stąd też teoretyczny maksymalny czas przeżycia określono na 48 tygodni przy tygodniowym tempie eliminacji 0,08 log (rys. 54).

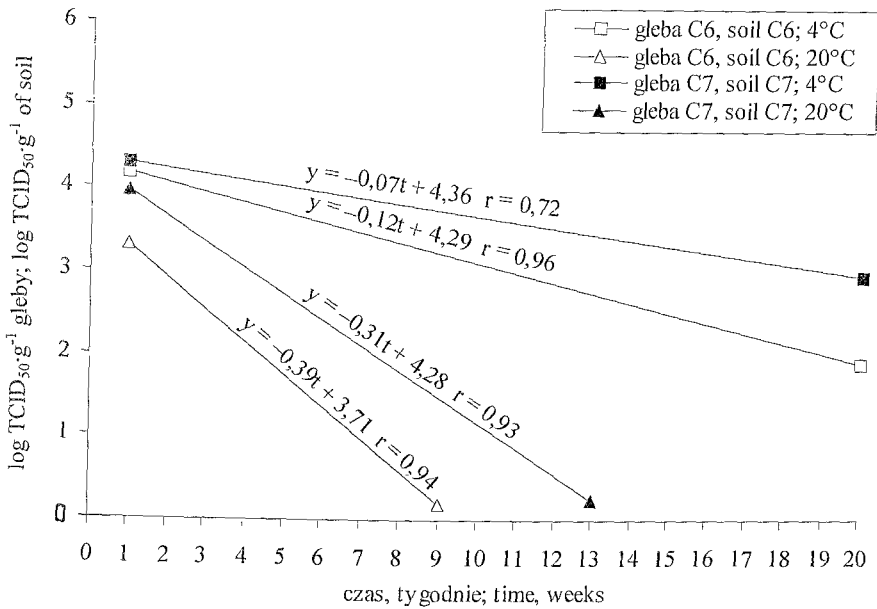


Rys. 54. Proste regresji przeżywalności enterowirusa bydła w próbach gleby z warstwy próchnicznej i skały macierzystej czarnej ziemi zbrunatniałej przechowywanych w temperaturze 4 i 20°C

Fig. 54. Regression lines for survival of the bovine enterovirus in soil samples from humus layer and parent rock of browned black earth stored at the temperature of 4 and 20°C

W drugim poziomie genetycznym czarnej ziemi zbrunatniałej (C6), enterowirus bydła w temperaturze 20°C podlegał szybkiej eliminacji, by w 49. dniu doświadczeń znaleźć się na poziomie niższym od granicy czułości metody (rys. 50). Temperatura 4°C działała stabilizująco na wirusa, ponieważ dopiero w 135. dniu doświadczenia miano spadało do poziomu 2,52 log TCID₅₀·g⁻¹ gleby (rys. 51). W ciągu tygodnia następowała, jak wskazuje prosta regresji, redukcja miana w temperaturze 4°C o 0,12 i w temperaturze 20°C o 39 log (rys. 55).

Należy zaznaczyć, że w glebie pobranej z poziomu brunatnienia czarnej ziemi zbrunatniałej (C6) stwierdzono w temperaturze 4°C najkrótszy czas przeżycia enterowirusa bydła (36 tygodni) w porównaniu z pozostałymi glebami. Inaktywacja przebiegała o 0,09 log szybciej w odniesieniu do tempa eliminacji w gnojowicy (rys. 49 i 55).



Rys. 55. Proste regresji przeżywalności enterowirusa bydła w próbach gleby z poziomu brunatnienia i skały macierzystej czarnej ziemi zbrunatniałej przechowywanych w temperaturze 4 i 20°C

Fig. 55. Regression lines for survival of the bovine enterovirus in soil samples from browning horizon and parent rock of browned black earth stored at the temperature of 4 and 20°C

W próbach gleby pochodzących ze skały macierzystej czarnej ziemi zbrunatniałej (C7) były nieco lepsze warunki przeżywalności enterowirusa bydła w temperaturze 20°C. Zarówno w temperaturze 4°C, jak i 20°C stwierdzano stopniową eliminację wirusa (rys. 50 i 51). Tygodniowe tempo inaktywacji wyniosło w temperaturze 20°C 0,31 log i było o 0,34 log niższe w porównaniu z inaktywacją wirusa w gnojowicy (rys. 49 i 55). Na 14 tygodni określono teoretyczny czas przeżycia. Natomiast w temperaturze 4°C analizą regresji ustalono, że tempo redukcji wynosi 0,07 log w tygodniu, zaś czas przeżycia 62 tygodnie (tab. 11).

Reasumując należy stwierdzić, że w glebach nawożonych gnojowicą, które przechowywano w temperaturze 20°C obserwowano wolniejsze tempo inaktywacji badanego wirusa w porównaniu z przebiegiem tego procesu w gnojowicy. Jedyńc w czarnej ziemi (B3, B4) enterowirus bydła ulegał szybszej inaktywacji (tab. 11). Enterowirus bydła zachowywał najdłużej infekcyjność w skałe macierzystej czarnej ziemi zbrunatniałej (C7) i glebie bielcowej (A1, A2).

5. DYSKUSJA

5.1. Drobnoustroje wskaźnikowe i metody badawcze

Nawozowe wykorzystanie ścieków odzwierzęcych, komunalnych i osadów ściekowych stanowi, z racji dużej zawartości w nich mikroorganizmów patogennych, znaczne zagrożenie dla środowiska naturalnego. Badanie obecności poszczególnych drobnoustrojów w próbach środowiskowych (gleby, gnojowicy, ścieków, osadów ściekowych) jest trudne i czasochłonne, dlatego ryzyko skażenia mikrobiologicznego określa się wykorzystując obecność drobnoustrojów wskaźnikowych. Ich wykrycie z dużym prawdopodobieństwem informuje o możliwości wystąpienia w środowisku także mikroorganizmów patogennych [Maier i wsp. 2000]. Przyjęty w badaniach własnych model oceny mikrobiologicznego skażenia gleby oparty był na przeżywalności dwóch bakterii wskaźnikowych. Spośród bakterii grupy coli (*Escherichia* spp., *Citrobacter* spp., *Enterobacter* spp., *Klebsiella* spp.) izolowano pałeczki *E. coli*, które stosunkowo łatwo identyfikować, a których wrażliwość w środowisku jest porównywalna z większością patogenów [Maier i wsp. 2000]. Z kolei paciorkowce kałowe grupy D (*Enterococcus faecalis*, *E. faecium*, *Streptococcus bovis* i *S. equinus*) charakteryzują się dużą tolerancją na czynniki środowiska [Gleeson i Gray 1997]. Występowanie tych drobnoustrojów, uważanych za indykatory ryzyka wystąpienia zaburzeń żołądkowo-jelitowych, często wskazywać może na równoczesną obecność enterowirusów w środowisku [Cabelli 1989, Maier i wsp. 2000]. Jako przedstawiciela patogenów wybrano do badań pałeczki *Salmonella* Dublin, które najczęściej występują w gnojowicy bydłowej. Bakterie z rodzaju *Salmonella* często izolowane w ściekach odzwierzęcych i wprowadzone do środowiska mogą stać się przyczyną zachorowań żołądkowo-jelitowych [Strauch 1991]. Zastosowanie podłoża płynnych (wody peptonowej, podłoża Rappaporta), stałych (BPL-agar) i surowicy HM pozwalało na stosunkowo łatwą identyfikację badanych bakterii, nawet w przypadku niewielkiej ich liczby w materiale badawczym. Dobre efekty w reizolowaniu pałeczek *Salmonella*, zwłaszcza z wody, ścieków, osadów ściekowych, uzyskuje się stosując podłoże według Rappaporta-Vasilidadisa. Pozwala ono bowiem na wzrost większości serotypów bakterii z rodzaju *Salmonella*, a jednocześnie skutecznie hamuje wzrost mikroorganizmów towarzyszących w porównaniu z innymi podłożami [Rhodes i Quesnel 1986, Morinigo i wsp. 1993]. We wszystkich badaniach bakteriologicznych zastosowano analizę dwuetapową: podłoża płynne, a następnie stałe, co zwiększało czułość metody badawczej [Wagner 1993]. Należy podkreślić, że ustalana metodą NPL liczba bakterii obarczona była błędem rzędu 10^1 [De Man 1983].

Spośród wirusów do badań modelowych wybrano enterowirus bydła LCR-4. Jest on dość oporny na czynniki środowiskowe, daje wyraźny efekt cytopatyczny, jest względnie bezpieczny i dlatego spełnia wymogi stawiane mikroorganizmom wskaźnikowym [Kopecka i wsp. 1993, Köhler 1993]. W najnowszej literaturze [Ley i wsp. 2002] potwierdza się celowość wyboru enterowirusów bydłowych jako mikroorganizmów wskaźnikowych, jakkolwiek pojawiają się także informacje o dużej przydatności

niektórych bakteriofagów (colifagi, fagi infekujące *Bacteroides fragialis* i inne) z racji ich większej oporności na działanie temperatury [Mocé-Llivina i wsp. 2003].

Do elucji wirusów z badanych gleb użyto 10% surowicę płodową bydła o pH 10,5. Eluat dobrano na podstawie badań Hursta i Gerby [1979] oraz Jarząbka i wsp. [1995]. Wysoki odczyn eluatów zwiększa siły powodujące odpychanie cząstek wirusa od cząstek gleby, co znacznie ułatwia desorpcję i wypłukiwanie wirusów [Landry i wsp. 1980, Sobsey i Glass 1980]. W wyborze eluatu kierowano się możliwością dużego odzysku wirusów z wszystkich badanych warstw gleb. Sobsey i Glass [1980] informują o trudnościach w doborze jednego roztworu eluującego dla gleb o bardzo różnych cechach fizykochemicznych. Jakkolwiek dość dobre efekty odzysku wirusa z osadów ściekowych gwarantuje metoda podana przez Bermiana i wsp. [1981] i zmodyfikowana przez Gehringa [1987], to jednak ze względów technicznych w badaniach własnych jej nie zastosowano. Badania Jarząbka i wsp. [1995] oraz wyniki badań własnych (tab. 10) dowodzą, iż 10% surowica płodowa pozwala na stosunkowo dobry stopień elucji wirusa ze wszystkich badanych gleb wykorzystanych w doświadczeniu w niniejszej pracy. Z kolei Hurst i Gerba [1979] uzyskiwali dobre rezultaty elucji, stosując glicynę z dodatkiem EDTA oraz ekstrakt wołowy. Należy podkreślić, że zasadniczy wpływ na odzysk wirusów z gleby wywierały jej właściwości fizykochemiczne, a zwłaszcza zawartość ilów. Z danych literaturowych wynika, że przy małej zawartości ilów (3-4%) eluowano od 97 do 100% wirusów polio, zaś przy 54% ilów odzysk spadał do 65% [Hurst i Gerba 1979]. Podobne wyniki uzyskano w badaniach własnych, bowiem przy zawartości ilów 4-5% (gleba bielnicowa) wypłukiwano od 56 do 100% wirusów. Z kolei z gleb ciężkich, które zawierały ility w zakresie 13-37%, eluowano od 10 do 33% wirusa (tab. 1 i 10). Należy nadmienić, że stopień elucji zależy od ilości cząstek drobnych w glebach oraz innych czynników warunkujących procesy adsorpcji. Oznaczenia miana wirusów dokonano każdorazowo w 5-gramowych uśrednionych nawązkach gleb, dzięki czemu unikano błędów mogącego wynikać z braku reprezentatywności prób.

Miano eluowanych wirusów z gnojowicy i gleb podlegało w okresie badań dość znacznym wahaniom (rys. 47, 50, 51). Zdarzało się, iż było ono nieco wyższe w miarę upływu czasu doświadczenia w porównaniu z wartościami obserwowanymi w początkowym jego okresie. Ponieważ w próbach glebowych i gnojowicy wiriony mogą występować jako agregaty lub aglomeraty, nie można wykluczyć, iż w tak dynamicznym ekosystemie jakim jest gleba, następuje częściowe uwalnianie wirionów do środowiska, na skutek różnych zmian chemicznych. Podobne obserwacje poczyniła Köhler [1993].

Dla pełniejszego zrozumienia procesów adsorpcyjnych zachodzących w glebie oznaczono w badanych próbach zawartość kwasów fulwowych i huminowych. Dokonano także analizy widm w podczerwieni kwasów huminowych. Metodę spektroskopii w podczerwieni wykorzystuje się do badań struktury substancji humusowych i identyfikacji poszczególnych substancji. Jest to możliwe, gdyż widmo podczerwieni jest charakterystyczną dla danego związku właściwością [Skłodowski 1974, Bailly 1976, Przygocki 1990]. W badaniach własnych stwierdzono, że widma w podczerwieni kwasów huminowych (KH) gleb doświadczalnych są zbliżone do wyników analizy widm KH gleb przedstawionych przez Trojanowskiego [1973].

5.2. Przeżywalność mikroorganizmów wskaźnikowych badanych w gnojowicy, wodzie i glebach

Wykorzystywany do nawożenia gleb obornik, ze względu na wzrost temperatury zachodzący w trakcie kompostowania, nie stwarza zagrożenia sanitarno-higienicznego dla środowiska. Ścieki odzwierzęce stosowane do celów nawozowych nie podlegają procesom samozagrzania, dlatego mogą zawierać liczne drobnoustroje patogenne, niosąc ryzyko skażenia środowiska, w przypadku ich rolniczego wykorzystania [Jones 1980].

W niniejszej pracy określano tempo eliminacji drobnoustrojów wskaźnikowych z gnojowicy, wody i wybranych typów gleb w warunkach laboratoryjnych. Próby te przechowywano w temperaturze 4 i 20°C. Uzyskane w badaniach własnych wyniki wskazują na zdecydowany wpływ temperatury oraz gatunku bakterii na tempo eliminacji drobnoustrojów z badanego środowiska. W gnojowicy najwolniej obumierały paciorkowce grupy D, których liczba w ciągu tygodnia zmniejszała się w temperaturze 20°C o 0,42 log i w temperaturze 4°C o 0,34 log (tab. 7). Nieco szybciej spadała liczba pałeczek *E. coli* w gnojowicy, bowiem tygodniowe tempo redukcji wynosiło odpowiednio 0,44 i 0,36 log. Najbardziej wrażliwe na działanie ścieku odzwierzęcego były pałeczki *Salmonella* Dublin, dla których tempo eliminacji wynosiło 0,50 (20°C) i 0,38 (4°C) log/tydzień (tab. 7). Uzyskane w badaniach własnych wyniki przeżywalności bakterii wskaźnikowych w gnojowicy są zbieżne z doniesieniami innych autorów. Badacze podkreślają zdecydowany wpływ temperatury, a także składu gnojowicy (zawartości suchej masy) na przebieg procesu eliminacji bakterii fekalnych z gnojowicy [Jones 1976]. W piśmiennictwie znajdują się doniesienia o przeżywalności pałeczek *Salmonella* od 13 dni do nawet roku [Jones 1978, Strauch 1978]. Według Himathongkhama i wsp. [1999] w gnojowicy *Salmonella enterica* Typhimurium w temperaturze 37°C była wykrywana do 19 dni, natomiast w temperaturze 4 i 20°C do 60 dni. Czas niezbędny do 90% redukcji liczby *E. coli* 0157:H7 wynosi 21,5 dnia (4°C) i 14,8 dni (20°C), zaś w przypadku pałeczek *Salmonella* jest nieco krótszy – 16,4 dnia w temperaturze 4°C i 12,7 dnia w temperaturze 20°C [Himathongkham i wsp. 1999]. Z kolei Kudva i wsp. [1998] izolowali w nawozie owczym, w zmiennych warunkach środowiskowych, *E. coli* 0157:H7 przez ponad rok. Badania własne dowiodły także większej wrażliwości pałeczek *Salmonella* na warunki środowiskowe w obu zakresach temperatury w porównaniu z innymi bakteriami jelitowymi. Teoretyczny czas przeżycia *Salmonella* Dublin w doświadczeniu własnym wynosił 21 tygodni w temperaturze 4°C i 16 tygodni w temperaturze 20°C. Zbliżone wyniki uzyskał Findlay [1972], który izolował *S. Dublin* z gnojowicy bydłowej przez 31-33 tygodnie zimą oraz 18-19 tygodni latem, zaś Ekesho [1979] określił przeżywalność tych bakterii w temperaturze 5°C na 13 tygodni.

Odmienne środowisko stanowiła dla bakterii wskaźnikowych woda. Rezultaty badań własnych wskazują wyraźnie na dłuższą przeżywalność bakterii w wodzie w porównaniu z gnojowicą. Wynikać to może między innymi z mniejszej liczby autochtonicznych mikroorganizmów, a co za tym idzie słabiej wyrażonej konkurencji o składniki pokarmowe. Wskazują na to wyniki badań Santo Domingo i wsp. [2000], którzy obserwowali szybszą redukcję pałeczek *Salmonella* w wodzie nieuzdatnianej w porównaniu z wodą uzdatnioną. Badania własne potwierdzają i w tym przypadku wpływ temperatury na inaktywację bakterii wskaźnikowych w wodzie. Tygodniowe tempo eliminacji *E. coli* wynosiło 0,12 log (4°C) i 0,24 log (20°C). Nieco wolniej obumierały paciorkowce kałowe, których liczba w ciągu tygodnia malała w zależności

od temperatury o 0,10 i 0,19 log, natomiast najszybciej z wody eliminowane były pałeczki *Salmonella* (tab. 7). Z obserwacji Wang i Doyle [1998] wynika, iż przeżywalność *E. coli* 0157:H7 w wodzie wyraźnie zależy od temperatury i wynosi 91 dni w temperaturze 4°C, natomiast w temperaturze 21°C jest krótsza, ponieważ bakterie nie były izolowane z badanych prób pomiędzy 45 i 84 dniem badań. W naturalnym środowisku Mitscherlich i Marth [1984] stwierdzili, że pałeczki *Salmonella* przeżywają w wodzie 152 dni (temperatura 18-20°C).

Badania własne dowiodły, że również wirusy mogą być izolowane z gnojowicy przez długi okres. W temperaturze 20°C wirus LCR-4 wykrywano w gnojowicy według analizy prostej regresji przez 8 tygodni, natomiast w temperaturze 4°C tempo inaktywacji wirusa było niezwykle wolne i wynosiło 0,03 log na tydzień (tab. 11). Powolne tempo eliminacji wirusa z gnojowicy potwierdzają także badania innych autorów [Winter i wsp. 1995]. Pesaro i wsp. [1995] ustalili tempo inaktywacji faga *E. coli* f2 w gnojowicy na 0,05 log na dobę zimą, zaś latem 0,14 log. Pekdeger i Matthess [1983] obserwowali spadek miana zakaźnego wirusów o 7 log dopiero po okresie 583 dni. Na czas przeżywalności wirusów w gnojowicy wydaje się wpłynął jej skład chemiczny (tab. 6). Wyższa zawartość suchej masy (ok. 5%) i jonów dwuwartościowych sprzyja zachowaniu infekcyjności wirusów [Burge i Enkiri 1978, Lance i Gerba 1984, Pancorbo i wsp. 1988]. Zwraca uwagę fakt bardzo powolnej eliminacji enterowirusów z wody. W badaniach własnych teoretyczny czas przeżycia enterowirusa była w wodzie wynosił od 17 do 75 tygodni (tab. 11). W niektórych doświadczeniach wirusy izolowano z wody po 200, a nawet 260 dniach, co można wiązać z małą aktywnością biologiczną wody [Matthess i Pekdeger 1981, Dizer i wsp. 1984, Keswick i wsp. 1984].

Z przeprowadzonych badań wynika, że gleba może stanowić ważne ogniwo w łańcuchu epidemicznym i epizootycznym. Nie ulega wątpliwości, iż drobnoustroje wprowadzone w następstwie nawożenia do gleb zachowują w nich infekcyjność przez długi okres, chociaż nie są przystosowane do długiego bytowania w tym środowisku [Mims i wsp. 1993]. W badaniach własnych obserwacje prowadzono do 15. i 21. tygodnia (w zależności od temperatury przechowywania prób) i we wszystkich próbach glebach wykrywano badane bakterie. Wyliczony z prostych regresji teoretyczny czas przeżycia bakterii wskaźnikowych był bardzo długi i wahał się dla *E. coli* od 21 do 49 tygodni, paciorkowców grupy D od 25 do 80 tygodni i pałeczek *Salmonella* od 21 do 33 tygodni (tab. 8 i 9).

Niezależnie od typu gleby bakterie wskaźnikowe szybciej były inaktywowane w temperaturze 20°C w porównaniu z próbami przechowywanymi w 4°C. Wykazaną zależność potwierdziły wyniki badań innych autorów, według których obumieralność bakterii fekalnych może wzrastać nawet dwukrotnie w temperaturze od 5 do 30°C [Klein i Casida 1967, Kibbey i wsp. 1978, Reddy i wsp. 1981, Cools i wsp. 2001]. Warto podkreślić, że we wszystkich badanych glebach zarówno w warstwie próchnicznej, jak i skale macierzystej najszybszej eliminacji podlegały pałeczki *Salmonella*, następnie *E. coli*, a najdłużej wykrywano paciorkowce grupy D, co świadczy o mniejszej wrażliwości paciorkowców kałowych na warunki środowiska [Wilson i wsp. 1983, Crane i Moore 1986, Mims i wsp. 1993].

Należy zauważyć, że przyczyną redukcji populacji bakterii jelitowych w glebach może także być: stosunkowo mała zasobność gleb w składniki pokarmowe, słabsza konkurencja z rodzimą mikroflorą glebową, odczyn gleb, ich wilgotność i wiele innych [Tate 1978, Reddy i wsp. 1981, Althaus i wsp. 1982, Möller 1984].

W zależności od przyjętego modelu doświadczenia, gęstości użytej zawiesiny bakterii i sposobu aplikacji gnojowicy do gleby, dane charakteryzujące zachowanie drobnoustrojów allochtonicznych w glebach są bardzo zróżnicowane i wahają się w zakresie od kilku godzin do kilku miesięcy. Według piśmiennictwa można wykrywać pałeczki *Salmonella* w glebie przez okres od 6 do 64 tygodni [Hess i wsp. 1974, Thunegard 1975], zaś bakterie *E. coli* od 8 do 14 tygodni [Bolton i wsp. 1999, Mubiru i wsp. 2000]. Z kolei Paluszak [1998] izolował ze skażonych zawiesiną bakterii gleb pałeczki okrężnicy do 28 tygodni, paciorkowce kałowe do 34 tygodni i pałeczki *Salmonella* do 15 tygodni. Należy przyjąć, że zwykle okres 2-3 miesięcy jest wystarczający dla redukcji liczby patogenów do poziomu, który jest mało istotny ze względów sanitarno-epidemiologicznych [Gerba i wsp. 1975], ponieważ w ciągu miesiąca liczba bakterii fekalnych obniża się 10-krotnie [Sorber i Moore 1987].

Przeżywalność wirusów w glebie podlega wielorakim wpływowi, jednak ich miano po wprowadzeniu do gleby wraz z nawozami organicznymi stopniowo spada. Decydującą rolę w procesie inaktywacji wirusa odgrywają: temperatura, adsorpcja do cząstek glebowych, właściwości fizykochemiczne gleby oraz cechy samego wirusa.

Köhler [1993] stwierdziła, iż enterowirusy byłą w zróżnicowanych warunkach glebowych w temperaturze 20°C przeżywały 24-28 tygodni, zaś w temperaturze 4°C od 52 do 60 tygodni. W badaniach własnych uzyskano podobne wyniki. Teoretyczny czas przeżycia enterowirusów byłą w temperaturze 20°C był nieco krótszy, wynosił bowiem od 6 do 14 tygodni, zaś w temperaturze 4°C od 36 do 62 tygodni (tab. 11). Na przeżywalność enterowirusa byłą LCR-4 wyraźny wpływ wywarła temperatura gleby. We wszystkich poziomach genetycznych gleb enterowirusy byłą przeżywały zdecydowanie dłużej w temperaturze 4°C w porównaniu z temperaturą 20°C. Na podstawie przebiegu prostej regresji wykazano, że największe różnice czasu przeżycia wirusa w temperaturach 4 i 20°C wystąpiły w skale macierzystej czarnej ziemi zbrunatniałej (C7) około 48 tygodni, skale macierzystej czarnej ziemi (B4) 47 tygodni oraz w warstwie próchnicznej gleby biellicowej (A1) 43 tygodnie (tab. 11). Podobne wyniki uzyskali także inni autorzy [Bagdasaryan 1964, Duboise i wsp. 1976, Sobsey i Shields 1987]. Przyjmuje się, że temperatura jest najistotniejszym czynnikiem środowiskowym wpływającym na przeżywalność wirusów w glebie [Hurst i wsp. 1980, Sobsey i Shields 1987, Snowdon i wsp. 1989]. Dowodzą tego prace Tierneya i wsp. [1977], którzy stwierdzali, że w glebach nawożonych ściekami miano wirusa polio 1 w ciągu 20 dni obniżało się zimą o 1 log, zaś latem w tym samym czasie o 1,5 log.

Obok temperatury na przeżywalność drobnoustrojów allochtonicznych w glebach wpływa także wilgotność. Wielu autorów [Gerba i wsp. 1975, Hirte 1977, 1979] wskazuje na dłuższą przeżywalność bakterii jelitowych w glebach o wyższej zawartości wody. Bez względu na temperaturę przy 100% wysyceniu gleb wodą zarówno paciorkowce kałowe, jak i *E. coli* przeżywają znacznie dłużej niż w glebach o 60 i 80% wilgotności [Cools i wsp. 2001]. W badaniach własnych teoretyczny czas przeżycia bakterii jelitowych w temperaturze 20°C przy wilgotności 60% wahał się od 21 do 38 tygodni. Należy podkreślić, że zarówno zbyt niska, jak i wysoka wilgotność gleb przyspiesza tempo inaktywacji wirusów [Yeager i O'Brien 1979b]. Parowanie wody z gleb zdecydowanie ogranicza czas przeżywalności w nich wirusów [Straub i wsp. 1992]. Wpływ wilgotności może polegać także na zwiększaniu stopnia adsorpcji wirusów na cząstkach gleby w okresie suszy, czego odzwierciedleniem jest spadek miana eluowanych w tym okresie ze środowiska glebowego wirusów [Hurst i wsp. 1980]. Przy niskiej wilgotności gleb zaobserwowano szybką inaktywację wirusa polio i *Coxsackie B*

[Yeager i O'Brien 1979a, Bitton i wsp. 1980]. W badaniach własnych wpływ wilgotności gleb na przeżywalność zarówno wirusów, jak i badanych bakterii był ograniczony, bowiem próby utrzymywano w zamkniętych pojemnikach. Gleby były nasycone wodą w 60%, a możliwości parowania były minimalne.

Wyniki dotychczasowych badań wskazują, że obok warunków termiczno-wilgotnościowych duży wpływ na warunki życia bakterii fekalnych i wirusów w glebach wywiera typ gleby i związane z tym jej właściwości fizykochemiczne.

Istotną rolę odgrywa odczyn gleby. Zarówno środowisko kwaśne, jak i zasadowe gleb wpływa niekorzystnie na większość znajdujących się w glebach bakterii. Obumieranie ich jest szybsze w glebach kwaśnych, chociaż Hirte [1979] stwierdził, że niskie pH gleby, w wyniku niszczenia autochtonicznej mikroflory glebowej, może niekiedy stwarzać lepsze warunki dla bytowania pałeczek coli. W niniejszej pracy wykazano, że bakterie jelitowe podlegały najszybszej eliminacji w próbach gleby ze skały macierzystej gleby biellicowej przy pH 5,5 (tab. 1 i 8). Jednocześnie zaobserwowano szybszą redukcję populacji badanych bakterii w glebach o odczynie zasadowym. W skałe macierzystej czarnej ziemi (pH 8,5) oraz poziomie brunatnienia i skałe macierzystej czarnej ziemi zbrunatniałej (pH 8,3), w większości przypadków badane drobnoustroje obumierały szybciej niż w poziomie próchnicznym tych gleb o nieco niższym odczynie (tab. 1, 8 i 9). Wydaje się, że odczyn obojętny (pH 7,0) sprzyja wzrostowi enterobakterii [Crane i wsp. 1983, Crane i Moore 1984]. Należy podkreślić, iż pH środowiska nie jest najważniejszym czynnikiem decydującym o przeżywalności bakterii jelitowych wprowadzonych do gleby z gnojowicą, bowiem w poziomie próchnicznym gleby biellicowej, mimo iż odczyn był bliski obojętnego (pH 6,8), to jednak bakterie jelitowe przeżywały krócej niż w analogicznej warstwie czarnej ziemi o pH 7,8 (tab. 1 i 8). Mogło to wynikać ze zróżnicowanej zawartości materii organicznej w badanych profilach genetycznych [Gerba i Bitton 1984]. Dla enterobakterii źródłem węgla jest materia organiczna zawarta w glebach, bądź dostarczona do nich z gnojowicą, stąd obecność zwiększonej ilości materii organicznej wpływa korzystnie na florę allochtoniczną. Bakterie fekalne ze względu na stosunkowo szybkie tempo przemiany materii nie są w stanie dostosować się przez dłuższy czas do warunków niskiej zawartości związków pokarmowych [Klein i Casida 1967]. Jednocześnie nie są one zdolne do skutecznego konkurowania z rodzimą florą glebową o dostępne składniki pokarmowe [Gerba i wsp. 1975]. Badania Paluszaka [1998] dowodzą, że bakterie jelitowe najszybciej obumierają w ubogiej w materię organiczną glebie rdzawej, zdecydowanie natomiast wolniej w glebach bardziej zasobnych. Wyniki badań własnych również potwierdziły tę zależność. W ubogiej w materię organiczną glebie biellicowej teoretyczny czas przeżycia bakterii *E. coli* i pałeczek *Salmonella* był najkrótszy i wynosił odpowiednio 23 i 21 tygodni (tab. 8), zaś paciorkowców 29 tygodni i był zbliżony do wyników przeżywalności bakterii uzyskanych w czarnej ziemi zbrunatniałej. Najdłużej badane bakterie izolowano z prób czarnej ziemi, a więc z gleby najbardziej bogatej w materię organiczną (tab. 1 i 8). Ważną rolę odgrywa autochtoniczna mikroflora glebowa, która poprzez konkurencję o składniki pokarmowe i wydzielanie substancji antybiotycznych niejednokrotnie może przyspieszać tempo eliminacji drobnoustrojów fekalnych, również w glebach zasobnych w materię organiczną [Gerba i wsp. 1975, Ahmed i Müller 1984, Jiang i wsp. 2002].

Na przeżywalność wirusów w glebach w znacznie większym stopniu niż w przypadku bakterii istotny wpływ wywierają procesy adsorpcji. Wirusy zaadsorbowane na cząstkach gleby przeżywają o wiele dłużej w porównaniu z wirusami niezwiązanymi z glebą [Merklí 1974, Bitton i wsp. 1979b, Foster i wsp. 1980]. Wyniki licznych badań

[Hurst i wsp. 1980, Sobsey i wsp. 1980] wskazują na krótszą przeżywalność wirusów w glebach o słabych właściwościach adsorpcyjnych. Przyjmuje się na ogół dość zgodnie, że większość czynników wpływających na adsorpcję, to jest: pH gleby, pojemność wymienna kationów, zawartość materii organicznej, skład granulometryczny, a zwłaszcza zawartość ilów, pośrednio oddziałuje także na przeżywalność wirusów w glebach. Można przypuszczać, że chronią one wirusy przed działaniem czynników środowiskowych.

Gleby będące przedmiotem badań zdecydowanie różniły się od siebie właściwościami fizykochemicznymi. Najwyższy kompleks sorpcyjny ($32,85 \text{ me} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$) oraz zawartość ilów (37%) charakteryzowały skałę macierzystą czarnej ziemi zbrunatniałej (tab. 1 i 2). Jednocześnie w tej warstwie badanych gleb stwierdzono najwolniejsze tempo inaktywacji enterowirusa bydła, bowiem tygodniowe tempo eliminacji wynosiło w temperaturze 20 i 4°C odpowiednio: 0,31 i 0,07 log w ciągu tygodnia (tab. 11). Stosunkowo wolno enterowirus bydła był także eliminowany z warstwy brunatnienia czarnej ziemi zbrunatniałej, która zawierała 35% ilów, a wartość kompleksu sorpcyjnego wynosiła $27,56 \text{ me} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$. Tygodniowe tempo eliminacji w zależności od temperatury wynosiło 0,39 i 0,12 log (tab. 11).

Na uwagę zasługują wyniki przeżywalności enterowirusa bydła w glebie bielcowej i czarnej ziemi (tab. 11). Analiza gleb wykazała, że skała macierzysta gleby bielcowej cechowała się bardzo niskim kompleksem sorpcyjnym i zawartością ilów. Mimo to, zwłaszcza w temperaturze 4°C, tygodniowe tempo eliminacji enterowirusa było niskie (0,10 log – tab. 11). Można przypuszczać, iż istotną rolę w procesie adsorpcji w tej warstwie odgrywał odczyn gleby (pH 5,5). Z licznych doniesień wynika, iż przy odczynie kwaśnym wirusy zachowując się jak kationy silniej wiążą się z cząstkami gleby, zaś punkt izoelektryczny dla enterowirusów jest przy pH bliskim 5 [Mandel 1971, Gerba i wsp. 1975, Landry i wsp. 1979]. Badania Dizera [1988] wskazują, że zwłaszcza w glebach piaszczystych odczyn gleby wpływa na proces adsorpcji w znacznie większym zakresie niż w innych glebach, a najsilniej procesy te zachodzą przy pH 5,1. O lepszej adsorpcji enterowirusa bydła w skałe macierzystej gleby bielcowej świadczy też niższy procent elucji wirusa w porównaniu z warstwą próchniczną tej gleby (tab. 10). Mimo niskiej adsorpcji (elucja 100%) tempo eliminacji enterowirusa bydła w warstwie próchnicznej gleby bielcowej było niemal identyczne jak w skałe macierzystej (tab. 11). Można to wiązać z wzbogaceniem gleby w kationy w wyniku nawożenia gnojowicą zwłaszcza, że skład chemiczny gleb wskazuje na małą zawartość związków wapnia, magnezu i żelaza (tab. 3), pełniących istotną rolę w procesach adsorpcji [Gerba i wsp. 1975]. Niektórzy autorzy [Wellings i wsp. 1974, Duboise i wsp. 1976] podkreślają korzystny wpływ nawożenia organicznego gleb lekkich na ich zdolności adsorpcyjne. Natomiast w obu warstwach czarnej ziemi, mimo wysokiego kompleksu sorpcyjnego ($26, 28$ i $30,64 \text{ me} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ – tab. 2) enterowirus bydła w temperaturze 20°C podlegał najszybszej inaktywacji w porównaniu z pozostałymi glebami (tab. 11). Co prawda warstwa próchniczna tej gleby zawierała stosunkowo mało ilów (13%), to jednak w skałe macierzystej najwięcej (37%) było cząstek drobnych o średnicy $< 0,02 \text{ mm}$ (tab. 1). Wydaje się więc, że na proces eliminacji enterowirusów ze środowiska glebowego wpływa także bardzo wiele czynników trudnych do określenia, a adsorpcja jest tylko jednym z nich. Podobnie jak w przypadku bakterii na przeżywalność wirusów w środowisku glebowym wywiera wpływ obecność mikroflory glebowej, co potwierdzają liczne badania [Cliver i Hermann 1972, Hurst i wsp. 1979, Cheo 1980, Althaus i wsp. 1982]. W glebach jałowych wirusy podlegają znacznie wolniejszej eli-

minacji w porównaniu z niesterylnymi [Hurst 1988]. W glebach piaszczystych, do których należała będąca przedmiotem badań własnych gleba biellicowa, zawartość mikroorganizmów glebowych jest niska, co może sprzyjać wolniejszej eliminacji wirusów z tego typu gleb. Wrażliwość wirusa polio na działanie enzymów proteolitycznych niektórych drobnoustrojów stwierdzili Deng i Cliver [1992]. Potwierdzony jest ujemny wpływ na wirusy bakterii *Pseudomonas aeruginosa* [Cliver i Herman 1972].

Kolejnym czynnikiem warunkującym przeżywalność wirusów w glebach jest zawartość materii organicznej, jakkolwiek mechanizm oddziaływania na wirusy różni się w zasadniczy sposób od wpływu na bakterie. Poglądy badaczy na ten temat są bardzo zróżnicowane. Według niektórych autorów [Althaus i wsp. 1982, Tate 1987] obecność materii organicznej poprawia właściwości adsorpcyjne gleb i tym samym sprzyja przeżywalności wirusów. Nie brak jednak i informacji o konkurencji rozpuszczalnej materii organicznej z wirusami o miejsca wymienne w glebie [Sobsey i Hickey 1985, Powelson i wsp. 1991]. W niniejszych badaniach dłuższą przeżywalność enterowirusa była obserwowano w glebie biellicowej, która zawierała mało materii organicznej, jednakże frakcja węgla rozpuszczalnego była w niej najwyższa w porównaniu z pozostałymi glebami (tab. 5). Zdaniem Asmar i wsp. [1994] dodanie obornika czy gnojowicy do gleb lekkich wyraźnie podnosi w nich zawartość rozpuszczalnej w wodzie materii organicznej. Obserwacje Sobsey i Hickey [1985], którzy stwierdzali niższy stopień adsorpcji wirusa na filtrach membranowych w obecności rozpuszczalnej materii organicznej zdają się potwierdzać konkurowanie jej z wirusami o miejsca wymienne w glebie. Jednak Cookson [1969] uważa, że wiązanie wirusa z węglem zachodzi za pośrednictwem grup karboksylowych. W badaniach własnych ich źródłem mógł być jedynie węgiel rozpuszczalny, bowiem pasmo widma dla tych grup z analizy podczerwieni kwasów huminowych było niskie w glebie biellicowej (rys. 1).

Być może wyjaśnienia zachowania wirusów w glebach należy także szukać w zawartości kwasów fulwowych i huminowych w badanych glebach. Najwyższą zawartość tych kwasów notowano w warstwie próchnicznej czarnej ziemi (58,71% TOC), zaś najniższą w poziomie próchnicznym gleby biellicowej – 39,01% TOC (tab. 5). Teoretyczny czas przeżycia enterowirusa w tych warstwach gleb wynosił odpowiednio 7 i 11 tygodni w temperaturze 20°C oraz 39 i 54 tygodnie w temperaturze 4°C (tab. 11). Bixby i O'Brien [1979] stwierdzili, że kwasy fulwowe tworząc kompleksy z bakteriofagami MS-2 obniżają ich adsorpcję na cząstkach glebowych. Nie można wykluczyć, że zachodzi to podobnie jak w przypadku rozpuszczalnej frakcji węgla z udziałem grup karboksylowych, wchodzących w skład kwasów fulwowych. Należy zaznaczyć, że fagi związane z kwasami fulwowymi nie tracą infekcyjności i mogą być eluowane ekstraktem wołowym o pH 9,5. Mniejsza adsorpcja fagów do cząstek glebowych w obecności kwasów fulwowych jest efektem blokowania przez te kwasy miejsc wymiennych w glebie [Bixby i O'Brien 1979]. Kwasy huminowe, choć nie wchodzą w kompleksy z wirusami również obniżają właściwości adsorpcyjne gleb [Guttman-Bass i Catalano-Sherman 1986]. Zhuang i Jin [2003] stwierdzili, że kwasy huminowe konkurują z wirusami o miejsca wymienne w glebie. Uzyskane w badaniach własnych wyniki najniższej przeżywalności enterowirusa była w czarnej ziemi (tab. 11), zawierającej najwięcej kwasów huminowych zdają się potwierdzać tę tezę. Jeżeli uznać za słuszną teorię Cooksona [1969] o wiązaniu grup aminowych wirusa z grupami karboksylowymi materii organicznej można sądzić, że proces ten zachodził wyraźnie w glebach użytych w badaniach własnych. Analiza widm podczerwieni kwasów huminowych wykazała bowiem, że

najintensywniejsze pasmo (1710-1720 cm^{-1}) spowodowane obecnością grup karboksylowych wystąpiło w czarnej ziemi (rys. 2).

Wirusy mogą zachowywać się często nietypowo w glebie, bowiem spotyka się doniesienia o niskiej adsorpcji wirusów w glebach o dobrych właściwościach sorpcyjnych, jak również o nieoczekiwanie dobrej adsorpcji w glebach o niskim kompleksie sorpcyjnym [Drewry i Eliassen 1968, Burge i Enkiri 1978]. Rola materii organicznej w procesach adsorpcyjnych zależy znacząco od jej właściwości, jak również typu wirusa. Stwierdzano wpływ kwasów huminowych na mniejszą adsorpcję faga M2, podczas gdy ich oddziaływanie na adsorpcję faga X174 było znikome [Zhuang i Jin 2003].

Reasumując uzyskane w badaniach własnych wyniki należy stwierdzić, że mikroorganizmy wprowadzone do gleby wraz z gnojowicą podlegały działaniu wielu czynników środowiskowych. Niewątpliwie na tempo ich eliminacji ze środowiska glebowego wywierała wpływ temperatura oraz właściwości fizykochemiczne gleb. Zachodzące w glebie procesy są bardzo złożone i trudno jednoznacznie ocenić, który z czynników glebowych odgrywa zasadniczą rolę w procesie redukcji populacji wprowadzonych do gleby mikroorganizmów. Stąd dla zminimalizowania ryzyka sanitarnego konieczne jest poddawanie gnojowicy procesom kondycjonowania przed jej nawozowym wykorzystaniem. Zasadne jest także opracowanie metod systematycznego monitoringu gleb pod względem ryzyka skażenia bakteriologicznego, wirusologicznego zwłaszcza na terenach, gdzie intensywnie rozlewana jest gnojowica.

6. WNIOSKI

Na podstawie przeprowadzonych badań sformułowano następujące wnioski:

1. Przyjęty układ doświadczenia pozwolił na śledzenie dynamiki inaktywacji bakterii i wirusów w gnojowicy i glebie.
2. Bakterie fekalne podlegały stopniowej eliminacji w badanych glebach, wodzie i gnojowicy.
3. Inaktywacja enterowirusa była zachodziła zdecydowanie wolniej w porównaniu z bakteriami jelitowymi zwłaszcza w temperaturze 4°C.
4. Niska temperatura 4°C działała stabilizująco zarówno na bakterie, jak i badane enterowirusy, co powodowało wydłużenie czasu przeżywalności badanych drobnoustrojów.
5. Mikroorganizmy przeżywały dłużej w próbach gleb z warstw próchnicznych, w porównaniu z ubogimi w składniki pokarmowe skałami macierzystymi. Najkorzystniejsze warunki bytowania dla bakterii fekalnych stwarzała bogata w materię organiczną czarna ziemia, zaś najgorsze gleba bielnicowa.
6. Najmniejszą oporność na działanie czynników środowiskowych wykazywały pałeczki *Salmonella* Dublin, znacznie mniej wrażliwe były pałeczki *E. coli* oraz paciorkowce grupy D.
7. Stwierdzono wpływ typu gleby na tempo inaktywacji badanego enterowirusa. Najmniej korzystne warunki dla jego przeżywalności stwarzała czarna ziemia, bogata w materię organiczną, a zwłaszcza w kwasy huminowe.
8. Długotrwała obecność wszystkich badanych mikroorganizmów w środowisku glebowym wskazuje na konieczność bakteriologicznego i wirusologicznego monitoringu gleb nawożonych gnojowicą.



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, 248-258.
- [2] Althaus H., 1983. Hygienische Bedeutung der Lebensdauer von Bakterien und Viren in Grundwasserleitern im Zusammenhang mit den Grundwassergewinnungsanlagen. Forum Mikroorganismen und Viren in Grundwasserleitern, DVGW-Schriftenreihe Wasser 35, Eschborn, ZfGW-Verlag, Frankfurt a. M.
- [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] Asmar F., Eiland F., Nielsen N.E., 1994. Effect of extracellular-enzyme activities on solubilization rate of soil organic nitrogen. Biol. Fert. Soils. 17, 32-38.
- [5] Bagdasaryan G.A., 1964. Survival of viruses of the enterovirus group (*Poliomyelitis*, *ECHO*, *Coxsackie*) in soil and vegetables. J. Hyg. Epidemiol. Microbiol. Immunol. 8, 497-505.
- [6] Bager F., Madsen M., Christensen J., Aarestrup F.M., 1997. Avoparacin used as a growth promoter in associated with the occurrence of vankomycin-resistant *Enterococcus faecium* on Danish poultry and pig farms. Prev. Vet. Med. 31, 95-112.
- [7] Bailly J.R., 1976. Spectroscopie infra-rouge de quelques fractions d'acides humiques obtenues sur sephadex. Plant and Soil 45, 95-11.
- [8] Baloda S.B., Christensen L., Trajcevska S., 2001. Persistence of *Salmonella enterica serovar* Typhimurium DT12 clone in a piggery and in agricultural soil amended with Salmonella-contaminated slurry. Appl. Environ. Microbiol. 67, 2859-2862.
- [9] Berman D., Berg G., Safferman R.S., 1981. A method for recovering viruses from sludges. J. Virolog. Meth. 3, 283-291.
- [10] Bitton G.B., Charles M.J., Farrah S.F., 1979a. Virus detection in soils: a comparison of four recovery methods. Can. J. Microbiol. 25, 874-880.
- [11] Bitton G.B., Farrah S.R., Pancorbo O.C., Davidson J.M., 1980. Fate of viruses following land application of sewage sludge. I. Survival and transport patterns in core studies under natural conditions. [In:] Viruses and Wastewater Treatment (eds. M.Goddard, M. Butler), Pergamon Press New York, 133-136.
- [12] Bitton G.B., Fraxedas R., Gifford G.E., 1979b. Effect of solar radiation on poliovirus: preliminary experiments. Water Res. 13, 225-228.
- [13] Bixby R.L., O'Brien D.J., 1979. Influence of fulvic acid on bacteriophage adsorption and complexation in soil. Appl. Environ. Microbiol. 38, 840-845.
- [14] Bolton D.J., Byrne C.M., Sheridan J.J., McDowell D.A., Blair I.S., Hegarty T., 1999. The survival characteristics of a non-pathogenic strain of *Escherichia coli* 0157:H7. [In:] Verocytotoxicigenic *E. coli* in Europe. 2. Survival and growth of verocytotoxicigenic *E. coli* (eds. G. Duffy, P. Garvey, J. Coia, Y. Wasteson, D.A. McDowell), Teagasc, The National Food Centre, Dublin, Ireland, 28-36.
- [15] Bondarenko V.I., Grigorieva L.V., 1975. The isolation of enteroviruses from the surface of fruits and vegetables. Microbiol. Zh. 37, 244.

- [16] Bürger H.J., 1984. Parasitenstadien in Fest – und Flüssigmist – Abschätzung des seuchenhygienischen Risikos. [In:] Proc. 12th Seminar. Environmental Hygiene. WHO Colab. Ctr. Res. Train. Vet. Public. Health, Hannover.
- [17] Bürger H.J., Stoye M., 1978. Parasitological problems associated with recycling of animal excretions. [In:] Animal and human health hazards associated with the utilization of animal effluents (eds. W.R. Kelly), Offic. Publ. Europ. Comm., Luxemburg, 24-34.
- [18] Burge W.D., Enkiri N.K., 1978. Virus adsorption by five soils. J. Environ. Qual. 7, 73-76.
- [19] Cabelli V.J., 1989. Swimming-associated illness and recreational water quality criteria. Water Sci. Technol. 21, 13-21.
- [20] Cacciò S.M., De Giacomo M., Aulicino F.A., Pozio E., 2003. *Giardia* cysts in wastewater treatment plants in Italy. Appl. Environ. Microbiol. 69, 3393-3398.
- [21] Carlson G.F., Woodward F.E., Wentworth D.F., Sporoul O.J., 1968. Virus inactivation on clay particles in natural waters. J. Water Poll. Contr. Fed. 40, 89-106.
- [22] 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, 547-555.
- [23] Cheo P.C., 1980. Antiviral factors in soil. Soil Sci. Soc. Am. J. 44, 62-67.
- [24] Cliver D.O., Hermann J.E., 1972. Proteolytic and microbial inactivation of enteroviruses. Water Res. 6, 797-805.
- [25] Cookson J.P., 1969. Mechanism of virus adsorption on activated carbon. J. Am. Wat. Wks. Ass. 61, 52-56.
- [26] Cools D., Merckx A., Vlassak K., Verhaegen J., 2001. Survival of *E. coli* and *Enterococcus* spp. derived from pig slurry in soil of different texture. Appl. Soil Ecology 17, 53-62.
- [27] Corpet D.E., 1996. Microbiological hazards from humans of antimicrobial growth promoter use in animal production. Rev. Med. Vet. 147, 851-862.
- [28] Crane S.R., Moore J.A., 1984. Bacterial pollution of groundwater: A review. Water, Air and Soil Pollution 22, 67-83.
- [29] Crane S.R., Moore J.A., 1986. Modelling enteric bacterial die-off: A review. Water, Air and Soil Pollution 27, 411-439.
- [30] Crane S.R., Moore J.A., Grismer M.E., Miner J.R., 1983. Bacterial pollution from agricultural sources. A review. Transactions of the ASAE 26, 858-866.
- [31] De Man J.C., 1983. MPN – tables, corrected. Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol. 17, 301-305.
- [32] Deng Y.M., Cliver D.O., 1992. Inactivation of poliovirus type 1 in mixed human and swine wastes and by bacteria from swine manure. Appl. Environ. Microbiol. 58, 2016-2021.
- [33] 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.
- [34] Dizer H., 1988. Adsorptions – und Transportverhalten von Viren bei Sandfiltration. Schr.-Reihe Verein WaBoLu 78, Gustav Fischer Verlag Stuttgart, 89-105.
- [35] Dizer H., Nasser A., Lopez J.M., 1984. Penetration of different human pathogenic viruses into sand columns percolated with distilled water, groundwater or wastewater. Appl. Environ. Microbiol. 47, 409-415.

- [36] 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, 1361-1370.
- [37] Drewry W.A., Eliassen R., 1968. Virus movement in groundwater. *J. Water Poll. Control. Fed.* 40, 257-271.
- [38] Duboise S.M., Moore B.E., Sagik B.P., 1976. Poliovirus survival and movement in a sandy forest soil. *Appl. Environ. Microbiol.* 31, 536-543.
- [39] 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, 537-546.
- [40] Ekesbo L., 1979. A study of methods for handling and composting cattle and swine manure and urine from the point of view of hygiene. *Agricultural Wastes* 1, 205-221.
- [41] Feachem R.G., Bradley D.J., Garelick H., Mara D.D., 1978. Health aspects of excreta and wastewater management. Part 1. The World Bank, Washington DC, USA.
- [42] Feachem R.G., Bradley D.J., Garelick H., Mara D.D., 1981. Appropriate technology for water supply and sanitation. Vol. 3. The World Bank, Washington DC, USA.
- [43] Filip Z., Dizer H., Kaddu-Mulindwa D., Kiper M., Lopez-Pila J.M., Milde G., Nasser A., Seidel K., 1986. Untersuchungen über das Verhalten pathogener und anderer Mikroorganismen und Viren im Grundwasser im Hinblick auf die Bemessung von Wasserschutzzonen. *Schr.-Reihe WaBoLu*, Gustav Fischer Verlag Stuttgart.
- [44] Findlay C.R., 1972. The persistence of *Salmonella* Dublin in slurry in tanks and on pasture. *Veterinary Record* 91, 233-235.
- [45] Foster D.M., Emerson M.A., Buck C.F., Walsh D.S., Sproul O.J., 1980. Ozone inactivation of cell- and fecal-associated viruses and bacteria. *J. Water Pollut. Control Fed.* 52, 2174-2184.
- [46] Frankenberger W.T., 1985. Fate of wastewater constituents in soil and groundwater. [In:] *Irrigation with reclaimed municipal wastewater – a guidance manual* (eds. G.S. Pettygrove, T. Asano), 1-25.
- [47] Gehring H., 1987. Vorkommen und Tenazität von Enteroviren in Schlämmen aus Kläranlagen ohne und mit Entseuchungsverfahren. *Agrarwiss. Diss.*, Universität Hohenheim.
- [48] Gerba C.P., Bitton G., 1984. Microbial pollutants: their survival and transport pattern to groundwater. [In:] *Groundwater pollution microbiology* (eds. B. Bitton, C. Gerba), Wiley and Sons Inc. New York, 65-88.
- [49] Gerba C.P., Goyal S.M., 1982. *Methods in environmental virology*. Marcel Dekker Inc. New York and Basel.
- [50] Gerba C.P., Smith E.M., Melnick J.L., 1977. Development of quantitative method for the detecting of enteroviruses in estuarine sediments. *Appl. Environ. Microbiol.* 34, 158-163.
- [51] Gerba C.P., Wallis C., Melnick J.L., 1975. Fate of wastewater bacteria and viruses in soil. *J. Irrig. Drain. Div.* 101, 157-174.
- [52] Gleeson C., Gray N., 1997. *The coliform index and waterborne disease*. E and FN Spon London.
- [53] Guan T.Y., Holley R., 2003. Pathogen survival in swine manure environments and transmission of human enteric illness – a review. *J. Environ. Qual.* 32, 383-392.

- [54] Guo X., Chen J., Brackett R.E., Beuchat L.R., 2001. Survival of *Salmonellae* on and in tomato plants from the time of inoculation at flowering and early stages of fruit development through fruit ripening. *Appl. Environ. Microbiol.* 67, 4760-4764.
- [55] Guttman-Bass N., Catalano-Sherman J., 1986. Humic acid interference with virus recovery by electropositive microporous filters. *Appl. Environ. Microbiol.* 52, 556-561.
- [56] Haas B., Ahl R., Böhm R., Strauch D., 1995. Inactivation of viruses in liquid manure. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* 14(2), 435-445.
- [57] Hess E., Lott G., Breer C., 1974. Klärschlamm und Freilandbiologie von *Salmonellen*. *Zbl. Bakt. Hyg. I. Abt. Orig. B.* 158, 446-455.
- [58] Himathongkham S., Bahari S., Riemann H., Cliver D., 1999. Survival of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella typhimurium* in cow manure and cow manure slurry. *FEMS Microbiol. Lett.* 17, 251-257.
- [59] Hirte W.F., 1977. Zur Lebensfähigkeit und Überlebensfähigkeit allochthoner und autochthoner Bakterien im Boden nach einer Superinfektion. *Zbl. Bakt. Abt. II.* 132, 434-451.
- [60] Hirte W., 1979. Hygienisch-bakteriologische Aspekte der Grundwasser-beeinflussung bei der landwirtschaftlichen Verwertung von kommunalen Abwässern und Gülle. [In:] *Bodenhigiene und Abproduktnutzung*. VEB Leipzig, 113-131.
- [61] Hughes K.A., 2003. Influence of seasonal environmental variables on the distribution of presumptive fecal coliforms around an Antarctic research station. *Appl. Environ. Microbiol.* 69, 4884-4891.
- [62] Hurst C.J., 1988. Influence of aerobic microorganisms upon virus survival in soil. *Can. J. Microbiol.* 34, 696-699.
- [63] Hurst C.J., Gerba C.P., 1979. Development of a quantitative method for the detection of enteroviruses in soil. *Appl. Environ. Microbiol.* 37, 626-632.
- [64] Hurst C.J., Gerba C.P., Cech I., 1980. Effects of environmental variables and soil characteristics on virus survival in soil. *Appl. Environ. Microbiol.* 40, 1067-1079.
- [65] Hurst C.J., Gerba C.P., Lance J.C., 1979. Effect of environmental conditions on enterovirus survival in soil. *Abstr. Ann. Meet. Am. Soc. Microbiol., Los Angeles*, 227.
- [66] Hurst C.J., Schaub S.A., Sobsey M.D., Farrah S.R., Gerba C.P., Rose J.B., Goyal S.M., Larkin E.P., Sullivan R., Tierney J.T., O'Brien R.T., Safferman R.S., Morris M.E., Wellings F.M., Lewis A.L., Berg G., Britton P.W., Winter J.A., 1991. Multi-laboratory evaluation of methods for detecting enteric viruses in soils. *Appl. Environ. Microbiol.* 57, 395-401.
- [67] Jarzabek Z., Olszewska H., Paluszak Z., Kluczek J.P., Szczepaniak Z., Gut W., 1995. Określenie w warunkach laboratoryjnych stopnia elucji aktywnego poliovirusu typu I z różnych rodzajów gleb. *Prace Kom. Nauk Rol. i Biol. B1N, ser. B* 43, 185-191.
- [68] Jiang X., Morgan J., Doyle M.P., 2002. Fate of *Escherichia coli* O157:H7 in manure-amended soil. *Appl. Environ. Microbiol.* 68, 2605-2609.
- [69] Jones P.W., 1976. The effect of temperature, solids content and pH on the survival of salmonellas in cattle slurry. *Br. Vet. J.* 132, 284-293.
- [70] Jones P.W., 1978. Health hazards associated with the handling of animal wastes. [In:] *Animal and Human Health Hazards Associated with the Utilization of Animal Extrema* (ed. W.R. Kelly), *Offic. Publ. Europ. Comm., Luxemburg*, 1-23.

- [71] Jones P.W., 1980. Animal health today – problems of large livestock units. Disease hazards associated with slurry disposal. *Br. Vet. J.* 136, 529-542.
- [72] Jones P.W., 1982. Waste and animal health. *Publ. Health Engineer.* 10, 35-39.
- [73] Jones P.W., Rennison L., Matthews P.R.J., Collins P., Brown A., 1981. The occurrence and significance to animal health of *Leptospira*, *Mycobacterium*, *E. coli*, *B. abortus* and *B. anthracis* in sewage and sewage sludges. *J. Hyg. Camb.* 86, 129-137.
- [74] Keswick B.H., Gerba C.P., DuPont H.L., Rose J.B., 1984. Detection of enteric viruses in treated drinking water. *Appl. Environ. Microbiol.* 47, 1290-1294.
- [75] Kibbey H.J., Hagedorn C., McCoy E.L., 1978. Use of fecal streptococci as indicators of pollution in soil. *Appl. Environ. Microbiol.* 35, 711-717.
- [76] Klein D.A., Casida L.E., 1967. *Escherichia coli* die-out from normal soil as related to nutrient availability and the indigenous microflora. *Can. J. Microbiol.* 13, 1461-1470.
- [77] Kluczek J.P., 1995. Problemy mikrobiologicznego skażenia gleby. *Prace Kom. Nauk Roln. i Biol. BTN, ser. B* 43, 5-27.
- [78] Kluczek J.P., Kluczek B., Skinder Z., 1990a. Gnojowica a ryzyko skażenia środowiska rolniczego. I. Flora bakteryjna gleby i roślin pastewnych. *Prace Kom. Nauk Rol. i Biol. BTN, ser. B.* 28, 145-186.
- [79] Kluczek J.P., Kluczek B., Skinder Z., 1990b. Gnojowica a ryzyko skażenia środowiska rolniczego. II. Flora grzybowa gleby i roślin pastewnych. *Prace Kom. Nauk Rol. i Biol. BTN, ser. B.* 28, 187-225.
- [80] Kociołkowski W.Z., Pokojska U., Sapek B., 1994. Przewodnik metodyczny do oznaczania sorpcyjności gleb. *PTG Kom. Chemii, Zespół fizykochemii gleb, Warszawa.*
- [81] Kopecka H., Dubrou S., Prevot J., Marechal J., López-Pila J.M., 1993. Detection of naturally occurring enteroviruses in waters by reverse transcription, polymerase chain reaction and hybridization. *Appl. Environ. Microbiol.* 59, 1213-1219.
- [82] Köhler E.M., 1993. Untersuchungen zur Tenazität und Versickerung animaler Viren in Standardböden und unterschiedlichen Böden der Wasserschutzzone II des Donaurieds. *Agrarwiss. Diss., Universität Hohenheim, Stuttgart.*
- [83] Kudva I.T., Blanch K., Hovde C.J., 1998. Analysis of *Escherichia coli* O157:H7 survival in ovine or bovine manure and manure slurry. *Appl. Environ. Microbiol.* 64, 3166-3174.
- [84] Lance J.C., Gerba C.P., 1984. Effect of ionic composition of suspending solution on virus adsorption by a soil column. *Appl. Environ. Microbiol.* 47, 484-488.
- [85] Landry E.F., Vaughn J.M., Penello W.F., 1980. Poliovirus retention in 75 cm soil cores after sewage and rainwater application. *Appl. Environ. Microbiol.* 40, 1032-1038.
- [86] Landry E.F., Vaughn J.M., Thomas M.Z., Beckwith C.A., 1979. Adsorption of enteroviruses to soil cores and their subsequent elution by artificial rainwater. *Appl. Environ. Microbiol.* 38, 680-687.
- [87] Larkin E.P., Tierney J.T., Sullivan R., 1976. Persistence of poliovirus in soil and on vegetables irrigated with sewage wastes: potential problems. [In:] *Virus aspects of applying municipal waste to land* (eds. L.B. Baldwin, M.J. Davidson, J.F. Gerber), University of Florida, Gainesville, 119-130.
- [88] Ley V., Higgins J., Fayer R., 2002. Bovine enteroviruses as indicator of fecal contamination. *Appl. Environ. Microbiol.* 68, 3455-3461.

- [89] Lityński T., Jurkowska H., Gorlach E., 1976. Analiza chemiczno-rolnicza. PWN Warszawa.
- [90] Lund B., Jensen V.F., Have P., Ahring B., 1996. Inactivation of virus during anaerobic digestion of manure in laboratory scale biogas reactors. *Antonie van Leeuwenhoek*, Kluwer Academic Publishers, Netherlands, 69, 25-31.
- [91] Maier R., Pepper I., Gerba Ch., 2000. *Environmental microbiology*. Academic Press New York.
- [92] Mandel B., 1971. Characterization of type 1 poliovirus by electrophoretic analysis. *Virology* 44, 554-568.
- [93] Markert T., 1990. Möglichkeiten zur chemischen Desinfektion von *Salmonellen* in Schweineflüssigmist und die Auswirkungen der anschliessenden Ausbringung auf Grünland. *Vet. Med. Diss. Univ. Giessen*.
- [94] Matthess G., Pekdeger A., 1981. Concepts of survival and transport model of pathogenic bacteria and viruses in groundwater. *Sci. Total Environ.* 21, 149-159.
- [95] Merkli B., 1974. Untersuchungen über die Mechanismen und Kinetik der Elimination von Bakterien und Viren im Grundwasser. *Diss. ETH Zürich*.
- [96] Mims C.A., Playfair J.H.L., Roitt I.M., Anderson R.M., 1993. *Medical microbiology*. Mosby, Sant Louis, 1-30 (Chapter 25).
- [97] Mitscherlich E., Marth E.H., 1984. *Microbial survival in the environment: Bacteria and rickettsiae important in human and animal health*. Springer-Verlag Berlin and New York.
- [99] Mocé-Llivina L., Muniesa M., Pimenta-Vale H., Lucena F., Jofre J., 2003. Survival of bacterial indicator species and bacteriophages after thermal treatment of sludge and sewage. *Appl. Environ. Microbiol.* 69, 1452-1456.
- [99] 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, 175-184.
- [100] Moore R.S., Taylor D.H., Sturman L.S., Reddy M.M., Fuhs G.W., 1981. Poliovirus adsorption by 34 minerals and soils. *Appl. Environ. Microbiol.* 42, 963-975.
- [101] Morinigo M., Martinez-Manzanares E., Munoz Z., Sanchez J.M., Borrego J.J., 1993. Laboratory study of several enrichment broths for the detection of *Salmonella* spp. particularly in relation to water samples. *J. Appl. Bacteriol.* 74, 330-335.
- [102] Möller F., 1984. Die Selbstreinigung fäkal kontaminierter Böden. *Dissertation, Universität Jena*.
- [103] Mubiru D.N., Coyne M.S., Grove J.H., 2000. Mortality of *Escherichia coli* O157:H7 in two soils with different physical and chemical properties. *J. Environ. Qual.* 29, 1821-1825.
- [104] Muff F., Koch W., Wolff K., 1984. Zur Epizootologie des Ascaridenbefalls beim Schwein. *Schweiz. Arch. Tierheilk.* 126, 409-428.
- [105] 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, 49-65.
- [106] Nasser A., Lopez-Pila J.M., 1986. Fortschritte zum Grundwasserkonzept: Verhalten von Viren im Untergrund. *Schr.-Reihe WaBoLu* 64, 193-202.
- [107] Natvig E.F., Ingham S.C., Ingham B.H., Cooperband L.R., Roper T.R., 2002. *Salmonella enterica serovar* Typhimurium and *Escherichia coli* contamination of root and vegetables grown in soil with incorporated bovine manure. *Appl. Environ. Microbiol.* 68, 2737-2744.

- [108] Nijsten R., London N., Van den Bogaard A., Stobberingh E., 1996. Antibiotic resistance among *Escherichia coli* isolated from fecal samples of pig farmers and pigs. *J. Antimicrob. Chemother.* 37, 1131-1140.
- [109] 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, 32-34.
- [110] Ostrowska A., Gawliński S., Szczubińska Z., 1991. Metody analizy i oceny właściwości gleb i roślin. IOŚ Warszawa.
- [111] Paluszak Z., 1998. Badania nad zachowaniem i przeżywalnością wybranych drobnoustrojów fekalnych w glebie nawożonej gnojowicą. *Rozprawy 85*, Wyd. Uczeln. ATR Bydgoszcz.
- [112] 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, 44-47.
- [113] Pancorbo O.C., Bitton G., Farrah S.R., Gifford G.E., Overman A.R., 1988. Poliovirus retention in soil columns after application of chemical and polyelectrolyte-conditioned dewatered sludges. *Appl. Environ. Microbiol.* 54, 118-123.
- [114] Pejsak Z., Markowska-Daniel J., 1996. Immunoprofilaktyka w zapobieganiu rotawirusowym biegunkom prosiąt. *Med. Wet.* 52, 298-302.
- [115] Pekdeger A., 1984. Pathogenic bacteria and viruses in the unsaturated zone. [In:] *Pollutants in Porous Media* (eds. B. Yaron, G. Dagan, J. Goldschmid), Springer Verlag Berlin, 195-207.
- [116] Pekdeger A., Matthess G., 1983. Modellhafte Erfassung des Transportverhaltens von Bakterien und Viren in Grundwasser. *Forum Mikroorganismen und Viren in Grundwasserleitern*, DVGW-Schriftenreihe Nr. 35, Eschborn, ZfGW-Verlag, Frankfurt a. M.
- [117] 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, 1287-1302.
- [118] Pesaro F., Sorg I., Metzler A., 1995. In situ inactivation of animal viruses and a coliphage in nonaerated liquid and semiliquid animal wastes. *Appl. Environ. Microbiol.* 61, 92-97.
- [119] 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, 209-212.
- [120] Powelson D.K., Simpson J.R., Gerba C.P., 1991. Effects of organic matter on virus transport in unsaturated flow. *Appl. Environ. Microbiol.* 57, 2192-2196.
- [121] Przygocki W., 1990. *Metody fizyczne badań polimerów*. PWN Warszawa.
- [122] Reddy K.R., 1980. Land areas receiving organic wastes: Transformations and transport in relation to nonpoint source pollution. [In:] *Environmental impact nonpoint source pollution* (eds. M.R. Overcash, J.M. Davidson), *Ann. Arbor Sci., Michigan*, 243-274.
- [123] Reddy K.R., Khaleel R., Overcash M.R., 1981. Behavior and transport of microbial pathogens and indicator organisms in soil treated with organic wastes. *J. Environ. Qual.* 10, 255-266.

- [124] Rhodes P., Quesnel L.B., 1986. Comparison of Muller-Kauffmann tetrathionate broth with Rappaport-Vassiliadis (RV) medium for the isolation of salmonellas from sewage sludge. *J. Appl. Bacteriol.* 60, 161-167.
- [125] Saini R., Halverson L.J., Lorimor J.C., 2003. Rainfall timing and frequency influence on leaching of *Escherichia coli* RS2G through soil following manure application. *J. Environ. Qual.* 32, 1865-1872.
- [126] Santo Domingo J.W., Harmon S., Bennett J., 2000. Survival of *Salmonella* species in river water. *Curr. Microbiol.* 40, 409-417.
- [127] Scheffer R., Schachtschabel P., 1984. *Lehrbuch der Bodenkunde*. 11 Aufl., F. Enke-Verlag Stuttgart.
- [128] Scheffer F., Schachtschabel P., 1989. *Lehrbuch der Bodenkunde*. 12 Aufl., F. Enke-Verlag Stuttgart.
- [129] Schnitzer M., Khan S.U., 1978. *Soil organic matter*. Elsevier Sci. Publ. Co. Amsterdam.
- [130] Schroeder C.M., Zhao C., DebRoy Ch., Torcolini J., Zhao S., White D.G., Wagner D.D., McDermott P.F., Walker R.D., Meng J., 2002. Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* 0157 isolated from humans, cattle, swine and food. *Appl. Environ. Microbiol.* 68, 576-581.
- [131] Schubert R.H.W., Esanu J.G., Schäfer V., 1988. Der Glutaminsäure-decarboxylase – Plättchentest; Ein Ansatz zur Vereinfachung und Beschleunigung des *E. coli* – Nachweises. *Zbl. Bakt. Hyg. B.* 187, 107-111.
- [132] Skłodowski P., 1974. Badania chemiczne i fizykochemiczne związków próchnicznych i ich połączeń z metalami w glebach bielcowych wytworzonych w różnych strefach klimatycznych. *Wyd. Politechniki Warszawskiej*.
- [133] Snowdon J.A., Cliver D.O., Converse J.C., 1989. Inactivation of poliovirus 1, as a function of temperature, in mixed human and dairy animal wastes. *Waste Management Res.* 7, 135-142.
- [134] Soares A.C., Pepper I.L., Gerba C.P., 1992. Recovery of poliovirus from sludge-amanded soils. *J. Environ. Sci. Health A* 27, 999-1005.
- [135] Sobsey M.D., Dean C.H., Knuckles M.E., Wagner R.A., 1980. Interactions and survival of enteric viruses in soil materials. *Appl. Environ. Microbiol.* 40, 92-101.
- [136] Sobsey M.D., Glass J.S., 1980. Poliovirus concentration from tap water with electropositive adsorbent filters. *Appl. Environ. Microbiol.* 40, 201-210.
- [137] Sobsey M.D., Hickey A.R., 1985. Effects of humic and fluvic acids on poliovirus concentration from water by microporous filtration. *Appl. Environ. Microbiol.* 49, 259-264.
- [138] Sobsey M.D., Shields P.A., 1987. Survival and transport of viruses in soils: Field studies. [In:] *Human viruses in sediments, sludges and soils* (eds. V.C. Rao, J.L. Melnick), CRC Press Inc., Boca Raton, Florida.
- [139] Solomon E.B., Yaron S., Matthews K.R., 2002. Transmission of *Escherichia coli* 0157:H7 from contaminated manure and irrigation water to lettuce plant tissue and its subsequent internalization. *Appl. Environ. Microbiol.* 68, 397-400.
- [140] Sorber C.A., Moore B.E., 1987. Survival and transport of pathogens in sludge amended soil. A critical literature review. Report EPA 600/2-87/028 of Water Res. Lab. Office of Res. Develop. U.S. Environmental Protection Agency, Cincinnati, Ohio.
- [141] Storey G.W., Phillip R.A., 1985. The survival of parasite eggs throughout the soil profile. *Parasitology* 91, 585-590.

- [142] Stotsky G., Schiffenbauer M., Lipson S.M., Yu B.H., 1980. Surface interactions between viruses and clay minerals and microbes: mechanisms and implications. Int. Symp. on Viruses and Wastewater Treatment, University of Surrey, Guildford, UK.
- [143] Straub T.M., Pepper I.L., Gerba C.P., 1992. Persistence of viruses in desert soils amended with anaerobically digested sewage sludge. *Appl. Environ. Microbiol.* 58, 636-641.
- [144] Straub T.M., Pepper I.L., Gerba C.P., 1995. Comparison of PRC and cell culture for detection of enteroviruses in sludge-amended field soils and determination of their transport. *Appl. Environ. Microbiol.* 61, 2066-2068.
- [145] Strauch D., 1978. Identifying the priority contaminants: microbiological agents. [In:] *Animal and human health hazards associated with the utilization of animal effluents* (ed. W.R.Kelly), Offic. Publ. Europ. Comm., Luxemburg, 1-23.
- [146] Strauch D., 1986. Hygienische Grundsätze. Erfordernisse und Kontrollmöglichkeiten der Klärschlammreinigung. [In:] *Bericht des 1. Hohenheimer Seminars: Entseuchung-von Klärschlamm* Dt (hrsg. D. Strauch), *Vet. Med. Ges. Giessen* 42-73.
- [147] Strauch D., 1988. Krankheitserreger in Fäkalien und ihre epidemiologische Bedeutung. *Tierärztl. Praxis.* 3, 21-27.
- [148] Strauch D., 1991. Survival of pathogenic microorganisms and parasites in excreta, manure and sewage sludge. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* 10, 813-846.
- [149] Strauch D., König W., Philipp W., Evers F.H., 1981. Untersuchungen über die Tenazität von *Salmonellen* und Askarideneiern bei der Ausbringung von Klärschlamm in Waldbeständen. *Zentralbl. Bakteriol. Mikrobiol. Hyg. B.* 174, 461-470.
- [150] Stromberg A., 1984. Mesophiler aerober bzw. fakultativ anaerober Kembeatz von Frischgülle und faulschlamm der Biogasgewinnung. Dissertation, Universität München.
- [151] Tachtler J., 1991. Untersuchungen zum Verhalten von Güllekeimen im Boden-Einfluß der ausgebrachten Güllemenge und der Probenahmetechnik. Diplomarbeit, Institut für Umwelt-und Tierhygiene sowie Tiermedizin mit Tierklinik, Universität Hohenheim.
- [152] Tate R.L., 1978. Cultural and environmental factors affecting the survival of *Escherichia coli* in organic soil. *ASM Abstracts* 94, 177.
- [153] Tate R.L., 1987. *Soil organic matter – biological and ecological effects*. Wiley Interscience New York.
- [154] Thunegard E., 1975. On the persistence of bacteria in manure. *Acta Vet. Scand. Suppl.* 56, 1-86.
- [155] Tierney J.T., Sullivan R., Larkin E.P., 1977. Persistence of poliovirus 1 in soil and on vegetables grown in soil previously flooded with inoculated sewage sludge or effluent. *Appl. Environ. Microbiol.* 33, 109-113.
- [156] Tim U.S., Mostaghimi S., 1991. Model for predicting virus movement through soils. *Groundwater* 29, 251-259.
- [157] Trojanowski J., 1973. Przemiany substancji organicznej w glebie. PWRiL Warszawa.
- [158] Vaughn J.M., Landry E.F., 1983. Viruses in soils and groundwaters. [In:] *Viral pollution of the environment* (ed. G. Berg), CRC Press Inc., Boca Raton, Florida, 164-210.

- [159] 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.
- [160] Wang, G., Doyle M.P., 1998. Survival of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in water. *J. Food Prot.* 61, 662-667.
- [161] Wang D., Gerba C.P., Lance J.C., 1981. Effect of soil permeability on virus removal through soil columns. *Appl. Environ. Microbiol.* 42, 83-88.
- [162] Wegner K., 1999. Przygotowanie preparatów kwasów humusowych do analizy w podczerwieni. [W:] Przewodnik metodyczny do badań materii organicznej gleb, pod red. H. Dziadowiec i S. Goneta, Pr. Kom. Nauk. PTG Warszawa 120, 80.
- [163] Wekerle J., 1988. Viren in Flüssig- und Festmist sowie im Abwasser von Schlachttanlagen. *Schr.-Reihe Verein WaBoLu* 78, Gustav Fischer Verlag Stuttgart.
- [164] Wellings F.M., 1981. Virus survival in wastewater treated soils. [In:] *Viruses and wastewater treatment* (eds. M. Goddard, M. Butler), Pergamon Press Oxford, UK, 117-131.
- [165] Wellings F.M., Lewis A.L., Mountain C.W., 1974. Virus survival following wastewater spray irrigation of sandy soils. [In:] *Virus survival in water and wastewater systems* (eds. J.F. Malina, B.P. Sagik), Center for Research in Water Resources, University of Texas, Austin, 253-260.
- [166] WHO, EPI, 1990. Manual for the virological investigation of poliomyelitis, WHO/EPI/CDS/Polio/90.1, 29-107.
- [167] Wilson G., Miles A., Parker M., 1983. Principles of bacteriology, virology and immunity. Vol. 3. Topley's and Wilson's London.
- [168] Winter D., Martens W., Weber A., Böhm R., 1995. Inaktivierungskinetik von ECBO-Virus in verschiedenen Prozeßstufen moderner Gülleaufarbeitungsanlagen: Untersuchungen mit der Filtersandwich-Keimträgermethode. [In:] *Znanstveni Skup. Dezinfekcija, Dezinsekcija i Deratizacija u zastiti zdravlja životinja i očuvanju okoliša*, Zagreb, 91-98.
- [169] Wuhmann K., 1977. Chemische und biologische Beeinflussung der Grundwasserqualität. *Gas, Wasser, Abwasser.* 57, 633- 641.
- [170] Yeager J.G., O'Brien R.T., 1979a. Enterovirus inactivation in soil. *Appl. Environ. Microbiol.* 38, 694-701.
- [171] Yeager J.G., O'Brien R.T., 1979b. Structural changes associated with poliovirus inactivation in soil. *Appl. Environ. Microbiol.* 38, 702-709.
- [172] Zawadzki S., 1973. Laboratoryjne oznaczanie zdolności retencyjnych utworów glebowych. *Wiad. IMUZ* 11 (2), 11-31.
- [173] Zhuang J., Jin Y., 2003. Virus retention and transport as influenced by different forms of soil organic matter. *J. Environ. Qual.* 32, 816-823.

ASPEKTY HIGIENICZNE ROLNICZEGO WYKORZYSTANIA GNOJOWICY

Streszczenie

Badano w warunkach laboratoryjnych przeżywalność bakterii wskaźnikowych (*E. coli* i paciorkowce grupy D), pałeczek *Salmonella* Dublin i enterowirusa bydła szczepu LCR-4 w trzech typach gleb. Tempo eliminacji bakterii i wirusa oceniano w próbach gleb z warstwy próchnicznej i skały macierzystej, a także w wodzie i gnojowicy w temperaturze 4 i 20°C. Gleby skażano zawiesiną badanych bakterii lub wirusa i gnojowicą, zaś do wody i gnojowicy dodawano zawiesinę bakterii względnie enterowirusa bydła. Dokonano analizy fizykochemicznej gleb określając między innymi: zawartość materii organicznej, w tym zawartości kwasów fulwowych i huminowych z analizą widm podczerwieni kwasów huminowych, odczyn gleby, skład granulometryczny oraz zawartość kationów wymiennych.

Zarówno bakterie jelitowe, jak i enterowirus bydła podlegały stopniowej eliminacji z badanych środowisk. Niska temperatura (4°C) działała stabilizująco na badane drobnoustroje, zaś wysoka (20°C) przyspieszała ich inaktywację. Spośród badanych bakterii największą wrażliwość na warunki środowiskowe wykazały pałeczki *Salmonella* Dublin, natomiast najmniejszą paciorkowce grupy D. Analiza statystyczna wykazała, że teoretyczny czas przeżycia pałeczek *E. coli* w badanych glebach wahał się od 21 do 49 tygodni, paciorkowców grupy D od 25 do 80 tygodni i pałeczek *Salmonella* od 21 do 33 tygodni. Na tempo eliminacji badanych bakterii wpływał typ gleby, przy czym najkorzystniejsze warunki stwarzała bogata w materię organiczną czarna ziemia. Ponadto bakterie fekalne przeżywały krócej w próbach pochodzących ze skały macierzystej analizowanych gleb.

Z kolei enterowirus bydła według analizy statystycznej zachowywał bardzo długo infekcyjność w gnojowicy i wodzie przy temperaturze 4°C. W środowisku glebowym, w zależności od typu gleby, teoretyczny czas przeżycia wirusa określono w zakresie od 6 do 62 tygodni. Enterowirus bydła najszybciej był eliminowany z prób czarnej ziemi, zdecydowanie zaś wolniej z pozostałych gleb. W próbach pochodzących z warstw próchnicznych gleb teoretyczny czas przeżycia wirusa był krótszy w porównaniu z czasem przeżycia w skałe macierzystej. Niewątpliwie tempo inaktywacji wirusa zależało od odczynu gleby, zawartości ilów, kationów wymiennych oraz materii organicznej.

W związku z długą przeżywalnością badanych mikroorganizmów w środowisku glebowym istnieje konieczność opracowania i przyjęcia metod monitoringu gleb nawożonych gnojowicą, która przed jej rolniczym wykorzystaniem powinna także podlegać procesom higienizacji.

HYGIENIC ASPECTS OF AGRICULTURAL UTILIZATION OF SLURRY

Abstract

The survival rate of indicatory bacteria (*E. coli* and D-group streptococci), *Salmonella* Dublin bacilli, and the bovine enterovirus of the strain LCR-4 in three types of soil was investigated in laboratory conditions. The elimination rate of the bacteria and the virus was estimated in soil samples from the humus layer and the soil matrix, as well as in water and slurry in 4°C and 20°C. The soils were infected with the suspensions of bacteria or the bovine enterovirus. Physical and chemical soil analysis was carried out to determine the content of organic matter, including fulvic and humic acids, with the analysis of the infrared spectrum of humic acids, as well as pH value of soils, grain composition, and the content of exchangeable cations.

Both enteric bacteria and the bovine enterovirus underwent gradual elimination from investigated habitats. Low temperature (4°C) stabilized the examined microorganisms, while high (20°C) hastened their inactivation. *Salmonella* Dublin showed the biggest sensitivity to environmental conditions, while D-group streptococci were least sensitive of the studied bacteria. Statistic analysis indicated that the theoretical time of survival in investigated soils ranged from 21 to 49 weeks for *E. coli*, from 25 to 80 weeks for streptococci D group, and from 21 to 33 weeks for *Salmonella*. The type of soil appeared to have an impact on the elimination rate of the bacteria, and black earth rich with organic matter created the most favorable conditions. Faecal bacteria survived for a shorter time in samples coming from the soil matrix of the examined soils.

The bovine enterovirus, in turn, according to the statistic analysis maintained its infectiousness for a very long time in slurry and water at the temperature of 4°C. In soil, depending on the soil type, the theoretical time of survival of the virus ranged from 6 to 62 weeks. Cattle enterovirus was most quickly eliminated from the samples of black earth, and remarkably slower from the other soils. In the samples coming from the humus layers the theoretical time of survival of the virus was shorter than in soil matrix. The inactivation rate of the virus undoubtedly depended on the pH value of a soil, the content of clays, exchangeable cations, and organic matter.

Due to the long survival time of the studied microorganisms in soil methods of monitoring of soils fertilized with slurry should be worked out and accepted. Slurry should also be hygienized before using for agricultural purposes.

425:86

Wszystkie publikacje
Wydawnictw Uczelnianych
Akademii Techniczno-Rolniczej w Bydgoszczy
można nabywać w

Dziale Udostępniania
Biblioteki Głównej ATR

ul. Prof. S. Kaliskiego 7, 85-796 Bydgoszcz

tel. (0-52) 340-80-78, fax (0-52) 340-80-63

<http://ksiegarnia.atr.bydgoszcz.pl/>

Biblioteka Główna ATR w Bydgoszczy

87393



ISSN 0209-0597