

## *Bacterial Bioindicators in Shiroad River in Mazandaran Province*

Reza Safari,  
Zahra Yaghoobzadeh

Department of Microbiology, Caspian Sea Ecology Research Center, Sari, Iran

(Received November 11, 2012 ; Accepted Jan 23, 2012)

### *Abstract*

**Background and purpose:** Bioindicators are microorganisms directly associated with environmental changes which their numbers are affected by chemical pollutants.

**Materials and methods:** Sampling was done from four stations in Shiroad River in depth of 20 cm of water surface and transferred to laboratory in less than 24 hr. KF medium, SPS, ECC Chrome agar, Plate count agar were used for isolation of fecal streptococci, sulfate-reducing bacteria, E. coli, coliform and heterotrophic bacteria, respectively.

**Results:** The mean count of TVC, fecal streptococci, coliform, E. coli, sulfate-reducing bacteria, in four stations in shiroad river were  $6.78 \times 10^5$ ,  $9.7 \times 10^4$ ,  $1.07 \times 10^6$ ,  $1.27 \times 10^6$  (cfu/1ml);  $6 \times 10^1$ ,  $3.65 \times 10^2$ ,  $5.83 \times 10^2$ ,  $1.6 \times 10^2$  (fecal streptococci);  $3.58 \times 10^3$ ,  $3.54 \times 10^3$ ,  $2.11 \times 10^3$ ,  $4.42 \times 10^3$  (coliform);  $2.51 \times 10^2$ ,  $6.81 \times 10^2$ ,  $1.95 \times 10^2$ ,  $3.62 \times 10^2$  (E. coli);  $3.21 \times 10^2$ ,  $2.62 \times 10^2$ ,  $2.25 \times 10^2$ ,  $2.04 \times 10^1$  (sulfate-reducing bacteria).

**Conclusion:** The results of this study showed that the rate of pollution in the studied stations was higher than the standard limits. Other studies also indicate that distribution of some bacterial bioindicators such as coliform and fecal coli forms is very high in site of effluent of domestic and urban sewage.

**Keywords:** Bioindicator, bacteria, Shiroad River

J Mazand Univ Med Sci 2013; 23(98): 289-299 (Persian).

## ارزیابی بیواندیکاتورهای میکروبی رودخانه شیروود در استان مازندران

رضا صفری

زهرا یعقوب زاده

### چکیده

**سابقه و هدف:** بیواندیکاتور به موجوداتی اطلاق می‌گردد که در ارتباط مستقیم با تغییرات محیطی بوده و تعداد و نوع آن‌ها تحت تأثیر آلاینده‌های شیمیایی قرار می‌گیرد.

**مواد و روش‌ها:** برای آنالیز میکروبی، نمونه‌گیری از عمق ۲۰ سانتی‌متر زیر آب انجام گرفته و نمونه‌ها در کمتر از ۲۴ ساعت مورد آزمایش قرار گرفتند. برای جداسازی و شمارش باکتری‌ها، از محیط‌های اختصاصی KF (برای انتروکوک‌ها)، SPS (برای باکتری‌های احیاکننده سولفیت)، ECC کروم آگار (برای کلی فرم‌ها و اشیشیا کلی) و پلیت کانت آگار (برای باکتری‌های هتروتروف) استفاده شده و پس از انکوباسیون در دمای ۳۰ درجه به مدت ۴۸ تا ۷۲ ساعت، شناسایی و شمارش شدند.

**یافته‌ها:** میانگین شمارش کلی باکتری‌ها، انتروکوک‌ها، کلی فرم‌ها، اشیشیا کلی و باکتری‌های احیاء کننده سولفیت در چهار ایستگاه رودخانه شیروود به ترتیب  $۶/۷۸ \times 10^5$ ،  $۹/۷ \times 10^4$ ،  $۱/۰۷ \times 10^6$  و  $۱/۲۷ \times 10^6$  عدد باکتری در یک میلی‌لیتر (cfu/1ml)،  $۶ \times 10^1$ ،  $۳/۶۵ \times 10^2$ ،  $۵/۸۳ \times 10^2$ ،  $۱/۶ \times 10^2$  (انتروکوک‌ها)،  $۳/۵۸ \times 10^3$ ،  $۳/۵۴ \times 10^3$ ،  $۲/۱۱ \times 10^3$ ،  $۴/۴۲ \times 10^3$  (کلی فرم‌ها)،  $۲/۵۱ \times 10^2$ ،  $۶/۸۱ \times 10^2$ ،  $۱/۹۵ \times 10^2$ ،  $۳/۶۲ \times 10^2$  (اشیشیا کلی) و  $۲/۲۵ \times 10^2$ ،  $۲/۶۲ \times 10^2$ ،  $۳/۲۱ \times 10^2$  (باکتری‌های احیاء کننده سولفیت) بوده است.

**استنتاج:** نتایج تعداد باکتری‌های اندیکاتور در مقایسه با استانداردهای بین‌المللی نشان‌دهنده آن است که اکثر ایستگاه‌های مورد بررسی در رودخانه شیروود جزء مناطق آلوده محسوب می‌گردند. مطالعات انجام گرفته نشان می‌دهد که پراکنش باکتری‌های اندیکاتور از گروه کلی فرم‌ها و کلی فرم‌های مدفوعی در محل‌های تخلیه فاضلاب‌های خانگی و شهری به رودخانه بسیار بالا بوده و تعداد این گروه در مناطق آلوده خارج از دامنه استاندارد بوده است.

**واژه‌های کلیدی:** بیواندیکاتور، میکروب، رودخانه شیروود

### مقدمه

شیلاتی برخوردارند از مواردی است که همواره باید مدنظر قرار گیرد. هر یک از رودخانه‌های مجاور دریای خزر به نوعی تحت تأثیر آلاینده‌های مختلف زیست محیطی قرار گرفته و اکوسیستم آن‌ها دائماً در حال تغییر می‌باشد. از مهم‌ترین رودخانه‌های مجاور دریای خزر

بستر رودخانه‌ها مکان مناسبی برای تخم‌ریزی و زیستگاه اولیه بسیاری از گونه‌های ماهیان با ارزش بومی و غیربومی به شمار می‌روند. بنابراین، پی‌بردن به ویژگی‌های زیستی و اکولوژیکی هر یک از رودخانه‌ها به ویژه آن دسته از رودخانه‌هایی که از اهمیت خاص

E-mail: yaghoub@yahoo.com

**مؤلف مسئول:** زهرا یعقوب زاده - ساری: پژوهشکده اکولوژی آبریان دریای خزر ساری

گروه میکروبیولوژی، پژوهشکده اکولوژی آبریان دریای خزر، ساری، ایران

تاریخ تصویب: ۱۳۹۱/۱۲/۱۹

تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۱/۹/۲۹

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۵/۲۵

می توان به رودخانه شیرود اشاره نمود (۳-۱).

رودخانه فوق روزگاری زیستگاه دائمی به منظور مهاجرت و تکثیر ماهیان خاویاری و سفید بوده ولی امروزه به دلیل افزایش آلودگی‌ها، فقط مهاجرت اندک ماهی سفید به این رودخانه‌ها انجام گرفته است آلودگی‌های مذکور علاوه بر به جا گذاشتن مشکلات و معضلات زیست-محیطی و بهداشتی، بر پراکندگی و جمعیت زئوپلانکتون‌ها و بنتوزها تأثیر گذاشته و به نوعی زنجیره غذایی موجودات را تحت تأثیر قرار داده و باعث به هم زدن اکوسیستم رودخانه می‌شوند (۳-۱). باکتری‌ها به دو گروه اندیکاتور و پاتوژن دسته بندی شده که از باکتری‌های اندیکاتور می‌توان به کلی فرم‌ها، اشریشیا کلی، انتروکوک‌ها، احیاء کننده سولفیت، باکتری‌های هتروتروف و از میکروب‌های پاتوژن به سالمونلا، شیگلا، اشریشیا سوش ۰۱۵۷، کمپیلوباکتر، ویریو، یرسینیا و برخی از جنس‌های هتروتروف اشاره نمود (۴-۶). پراکنش میکروب‌های اندیکاتور در اکوسیستم‌های آبی به عوامل مختلفی از جمله بار مواد آلی آب، درجه حرارت، واکنش اسیدی، مقدار اکسیژن محلول، املاح، نور، فون بنتیک و سایر موجودات تک سلولی بستگی دارد (۵،۶).

باکتری‌های گروه کلی فرم به خانواده انتروباکتریاسه تعلق داشته و دارای اختصاصات مشابهی می‌باشند. جنس‌های که در این گروه قرار دارند شامل سیتروباکتر، انتروباکتر، اشریشیا، هافنیا، کلبسیلا، سراشیا و یرسینیا می‌باشند (۵،۶).

این باکتری‌ها گرم منفی، بدون اسپور و به صورت میله‌ای بوده و به صورت هوازی و بیهوازی اختیاری قادر به رشد هستند. از ویژگی‌های اصلی این گروه تخمیر لاکتوز در ۳۷ درجه پس از ۴۸ ساعت، اکسیداز منفی و تولید آنزیم بتا گالاکتوزیداز است. کلی فرم‌های مدفوعی علاوه بر داشتن خواص ذکر شده توانایی تخمیر لاکتوز در دمای ۴۴ درجه را نیز دارا می‌باشند (۵،۶). باکتری‌های گروه کلی فرم به طور گسترده در آب و

خاک وجود داشته و در آب غنی از مواد غذایی و بیوفیل به سرعت می‌کنند. برای هریک از باکتری‌های گروه کلی فرم استاندارد خاصی تعریف شده و اگر تعداد این باکتری‌ها در آب خارج از این دامنه باشد نشان از آلودگی مدفوعی آب و وجود میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا بوده که از منابع مختلف نظیر فاضلاب‌های شهری و خانگی وارد رودخانه می‌شود (۵،۶). اشریشیا کلی به عنوان باکتری شاخص (از ۱۰۰ سال پیش تاکنون) به منظور ارزیابی کیفیت میکروبی آب مورد استفاده قرار گرفته است. این باکتری به عنوان اندیکاتور اولیه آلودگی مدفوعی در آب تصفیه شده و یا تصفیه نشده مورد استفاده قرار می‌گیرد. اشریشیا کلی در مدفوع تمامی پستانداران وجود داشته و تعداد آن در هر گرم از مدفوع در حدود ۱۰۹ گزارش شده است. ویژگی‌های بقاء و حساسیت این باکتری به انواع مواد ضد عفونی کننده مشابه سالمونلا و شیگلا (عوامل بیماری‌های حصبه و اسهال خونی) بوده و مانند این باکتری‌ها قادر به تکثیر و ازدیاد در آب‌های تصفیه شده نمی‌باشد. هرچند که این باکتری در برخی موارد قادر به نشان دادن آلودگی‌های خاص آب نمی‌باشد (مانند آلودگی آب به کریپتوسپوریدیوم) ولی کماکان به عنوان بهترین اندیکاتور میکروبی مدنظر می‌باشد (۵،۶).

انتروکوک‌ها، جزء باکتری‌های اندیکاتوری می‌باشند که توانایی رشد در حضور نمک‌های صفراوی و آزید سدیم (مهارکننده رشد کلی فرم‌ها و اکثر باکتری‌های گرم منفی) را دارا می‌باشند. در این گروه گونه‌های مختلفی نظیر فکالیس، فیسوم، بویس و اکوینوس وجود دارند. دلیل استفاده از این باکتری‌ها تأیید آلودگی مدفوعی آب در حضور و یا عدم حضور باکتری‌های گروه کلی فرم و اشریشیا کلی می‌باشد. این رو به این باکتری‌ها اندیکاتورهای ثانویه آلودگی مدفوعی آب اطلاق می‌شود. در هر گرم از مدفوع انسان تعداد ۱۰۹ عدد از این باکتری‌ها وجود داشته در حالی که در مدفوع حیوانات خونگرم، تعداد این باکتری‌ها به

مراتب بیشتر از اشیشیا کلی می‌باشد. انتروکوک‌ها به ندرت در آب تکثیر یافته و نسبت به استرس‌های محیطی دارای مقاومت بیشتری هستند. به طور کلی انتروکوک‌های موجود در آب آلوده به دو گروه عمده تقسیم می‌شوند. گروه اول شامل فکالینس، فیسوم و دورانس و گروه دوم شامل بویس، اکوینوس و آویوم بوده که به طور طبیعی در مدفوع انسان وجود نداشته و جزء فلور طبیعی پستانداران خونگرم می‌باشند. اگر نسبت کلی فرم مدفوعی به استرپتوکوک‌های مدفوعی (FC/FS) بالاتر از ۴ باشد نشان دهنده آلودگی آب به مدفوع انسانی بوده و اگر این نسبت زیر یک باشد حاکی از آلودگی آب به مدفوع حیوانات خونگرم می‌باشد (۶،۵). هدف از آنالیز این رده از باکتری‌ها دستیابی به اطلاعات بیشتر از وضعیت آلودگی مدفوعی آب می‌باشد.

در حقیقت این گروه از باکتری‌ها جزء اندیکاتورهای ثانویه آلودگی مدفوعی می‌باشند. مقاومت این گروه از باکتری‌ها نسبت به ایکلای و کلی فرم‌ها نسبت به استرس‌های محیطی و کلرزنی بیشتر می‌باشد. مهم‌ترین باکتری در گروه احیاء کننده سولفیت کلستریدیوم‌ها می‌باشد. کلستریدیوم دارای بیش از ۱۰۰ گونه بوده و جزء باکتری‌های گرم مثبت، اسپوردار و بیهوازی اجباری می‌باشد. این جنس توانایی احیاء سولفیت به سولفید را دارا می‌باشد.

به طور کلی کلستریدیوم‌ها باکتری‌های محیطی و ساپروفیت بوده و در خاک، آب و بافت‌های گیاهی و حیوانی قابل تجزیه وجود دارند این باکتری در مدفوع انسان و حیوانات وجود داشته و به لحاظ داشتن اسپور، مقاومت بسیار بالایی نسبت به شرایط نامساعد محیطی دارد. از آنجایی که تعداد پرفرنجنس در مدفوع در مقایسه با اشیشیا کلی و انتروکوک‌ها کمتر می‌باشد به همین دلیل از اهمیت کمتری برخوردار می‌باشد (۶،۵).

گروه هتروتروف هم جزء گروه پاتوژن و هم جزء گروه اندیکاتور قرار می‌گیرند. میکروب‌های مختلفی

که در این گروه قرار دارند شامل باکتری‌ها (بیشتر باکتری‌های محیطی بوده که از خاک و پساب به آب وارد می‌شوند ولی برخی از میکروب‌های بیماری‌زا مثل سالمونلا، کلبسیلا پنومونیه نیز در این گروه قرار دارند)، کپک‌ها (مخمرها (تورولوپسیس، رودتورولا، کاندیدا)، کپک‌ها (آلترناریا، فوزاریوم، آسپرژیلوس، پنی سیلیوم و فوما) بوده که به سه گروه عمده تقسیم می‌شوند (فلور طبیعی، میکروب‌های آلاینده و میکروب‌های بیماری‌زا) (۵،۶). از گروه اول می‌توان به فلاوو باکتریوم، آلتروموناس گونه‌های غیر بیماری‌زا و پیریو، گونه‌های مختلف سودوموناس و مخمر تورولوپسیس، از گروه دوم، سودوموناس آئروجینوزا، آئروموناس‌ها، باسیل‌ها، کلستریدیوم‌ها، کلی فرم‌ها، گونه‌های مختلف آسپرژیلوس و از گروه سوم لاجونلا پنوموفیلا، کلبسیلا پنومونیه، مایکروباکتریوم‌های غیر سلولی، کاندیدا آلبيکنس اشاره نمود.

میکروب‌های این گروه بیماری‌های مختلفی از جمله عفونت زخمی، گاستروآنتریت و عوارض گوارشی ایجاد می‌کنند (۶،۵). هدف از ارزیابی بیواندیکاتورهای میکروبی، تفسیر نتایج آن، ارائه راهکارهای مدیریتی جهت بهینه‌سازی و کاهش آلاینده‌های مختلف در رودخانه شیروود می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

### منطقه مورد مطالعه

رودخانه شیروود یکی از رودخانه‌های مهم شهرستان تنکابن استان مازندران می‌باشد رودخانه‌های تنکابن عموماً از دامنه کوه‌های البرز که در سمت جنوبی تنکابن واقع شده‌اند سرچشمه گرفته که پس از طی مسیر خود به دریای خزر می‌ریزند.

رودخانه شیروود (تیرم) به طول ۳۶ کیلومتر در ۷ کیلومتری غرب شهر تنکابن جریان داشته و موقعیت جغرافیایی آن  $49^{\circ} 50' - 48^{\circ} 50'$  و  $36^{\circ} 51' - 44^{\circ}$  می‌باشد. منبع تأمین کننده آب این رودخانه برف

ایستگاه شماره ۴: رودخانه پس از عبور از روستاهای لزرین، کندسر، کشکو، کیود کلا و آخوند محله وارد دریا می‌شود. ایستگاه نهایی در دهانه (مصب) رودخانه قرار دارد که از چند جنبه دارای اهمیت زیادی بوده و از ایستگاه‌های مهم و کلیدی در طرح محسوب می‌گردد.

#### نمونه برداری از ایستگاه‌ها

نمونه برداری تابع پارامترهای تأثیرگذار نظیر ماه‌های سال، فصول کشاورزی، کم‌آبی یا پرآبی، خصوصیات مصب رودخانه و ... بوده و نمونه برداری در طول یک سال به طور ماهانه از ۴ ایستگاه در رودخانه شیروود انجام گرفته و با احتساب ۳ تکرار برای هر نمونه، مجموعاً ۲۸۸ نمونه مورد بررسی و آزمایش قرار گرفت. برای آنالیز میکروبی، نمونه‌گیری با استفاده از شیشه‌های کدر درب سمباده‌ای استریل از عمق ۲۰ سانتی‌متر زیر آب انجام گرفته و نمونه‌ها در کنار زنجیره سرد به آزمایشگاه میکروبیولوژی پژوهشکده اکولوژی دریای خزر منتقل شده و در کمتر از ۲۴ ساعت مورد آزمایش قرار گرفتند. برای جداسازی و شمارش باکتری‌ها، ابتدا از نمونه‌های اخذ شده، رقت‌های سریال تهیه شده، سپس

بارانی با چشمه‌های متعدد می‌باشد. شیب متوسط رودخانه در مناطق کوهستانی ۱۲ درصد و در منطقه جلگه‌ای ۱ درصد بوده و بستر رودخانه در نواحی بالا دست تخته سنگ و قله سنگ‌های بزرگ و در ناحیه مصب رودخانه، قله سنگ و سنگ ریزه می‌باشد متوسط دبی سالانه ۳/۹۴ میلیون متر مکعب و کم‌ترین و بیشترین دبی رودخانه در یک دوره ۵ ساله به ترتیب ۲/۸ و ۶/۸ متر مکعب بر ثانیه بوده است (۷،۶) (تصویر شماره ۱).

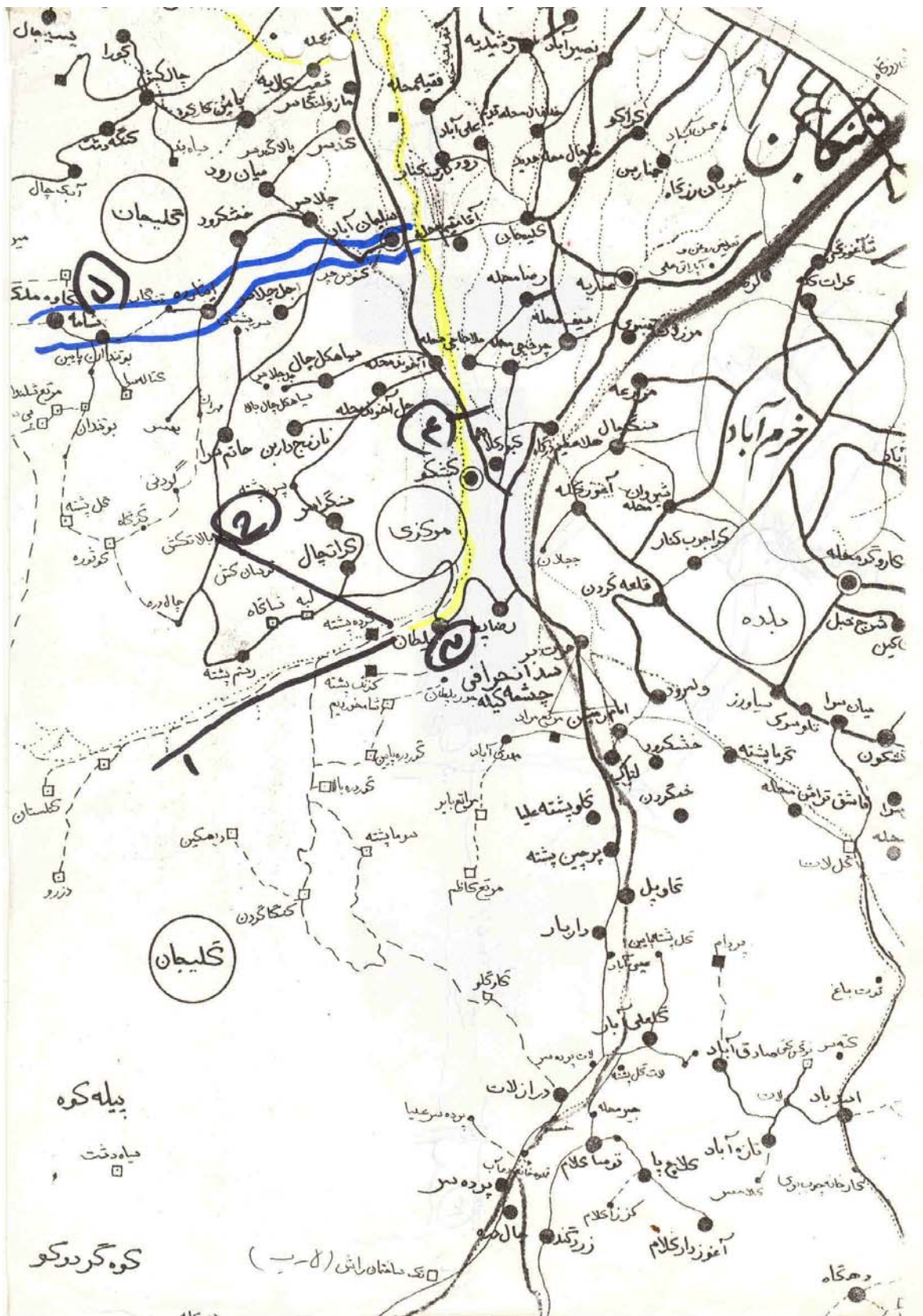
ایستگاه شماره ۱: این ایستگاه در سرشاخه کوهستانی و محله‌ای به نام پلطان که پس از برخورد دو سر شاخه رودخانه انتخاب گردید.

ایستگاه شماره ۲: این ایستگاه در ارتفاعات بالا، منطقه کوهستانی، در سرشاخه غربی رودخانه شیروود و در داخل جنگل (روستای نسامه) واقع گردیده است.

ایستگاه شماره ۳: این ایستگاه بعد از گذر رودخانه از مناطق روستایی و جنگل نشینان حواشی رودخانه و نزدیکی محل تقاطع شاخه شرقی در محله‌ای به نام سلیمان آباد واقع گردیده است.

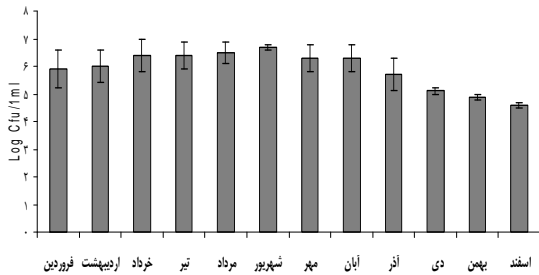


تصویر شماره ۱: موقعیت جغرافیایی رودخانه شیروود در حوزه جنوبی دریای خزر

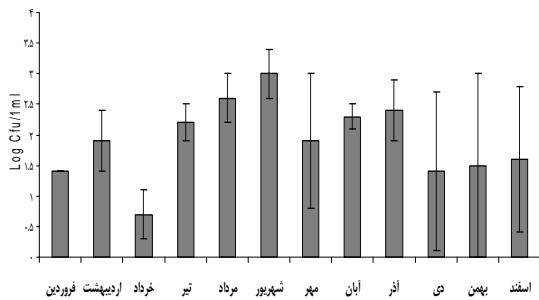


تصویر شماره ۲: ایستگاههای انتخاب شده در رودخانه شیروان

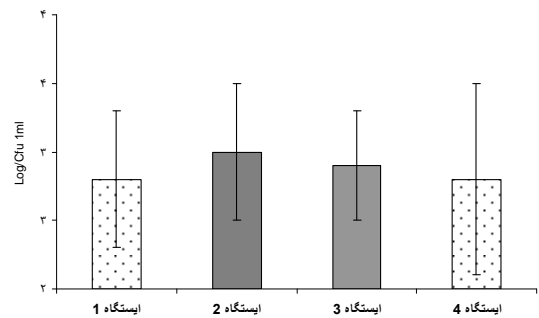
دامنه تغییرات لگاریتم میانگین اشرشیا کلی در طول سال از  $2/8 \text{ Log Cfu/1ml}$  در ایستگاه ۱ تا  $2/5 \text{ Log Cfu/ml}$  در ایستگاه ۳ متغیر می‌باشد (نمودار شماره ۴) نتایج حاصل نشان دادند که بیشترین لگاریتم میانگین اشرشیا کلی در این رودخانه در ایستگاه ۳ می‌باشد.



نمودار شماره ۱: تغییرات لگاریتم میانگین کل باکتری ها (Total count) از آب رودخانه شیروود در ماه های مختلف نمونه برداری



نمودار شماره ۲: تغییرات لگاریتم میانگین آنتروکوک ها از آب رودخانه شیروود در ماه های مختلف نمونه برداری



نمودار شماره ۳: تغییرات لگاریتم میانگین کلی فرم ها از آب رودخانه شیروود در طول یک سال

نمونه‌ها در محیط‌های اختصاصی KF<sup>۱</sup> (برای آنتروکوک‌ها)، SPS agar<sup>۲</sup> (برای کلاستریدیوم پرفرنجنس)، ECC<sup>۳</sup> کروم آگار (برای کلی فرم‌ها و اشریشیاکلی) و TC<sup>۴</sup> (برای باکتری‌های هتروتروف) کشت داده شده و پس از انکوباسیون در دمای ۳۰ درجه به مدت ۴۸ تا ۷۲ ساعت، شناسایی و شمارش شدند (۷). به منظور تجزیه و تحلیل نتایج از نرم افزار SPSS استفاده شده و میانگین و انحراف معیار داده‌های کمی محاسبه شد و به منظور آنالیز نتایج از تست‌های Mann-whitney ، Kriskal ، Wallis و Anova استفاده شده و در نهایت ضریب اطمینان و ارزش P آن‌ها محاسبه گردید.

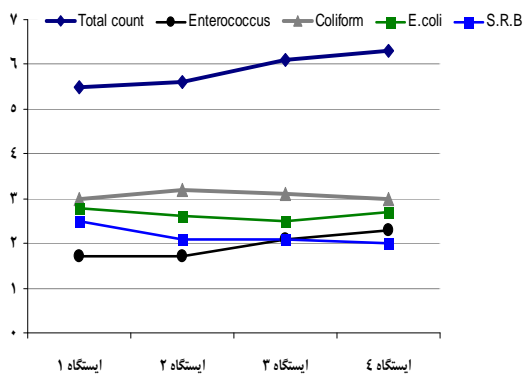
## یافته‌ها

دامنه تغییرات لگاریتم میانگین کل باکتری‌ها (Total count) در ماه‌های مختلف سال از  $4/7 \text{ Log Cfu/1ml}$  در اسفند ماه تا  $6/7 \text{ Log Cfu/1ml}$  در شهریور ماه متغیر می‌باشد (نمودار شماره ۱) نتایج حاصل نشان دادند که بیشترین لگاریتم میانگین کل باکتری‌ها در این رودخانه در شهریور ماه می‌باشد.

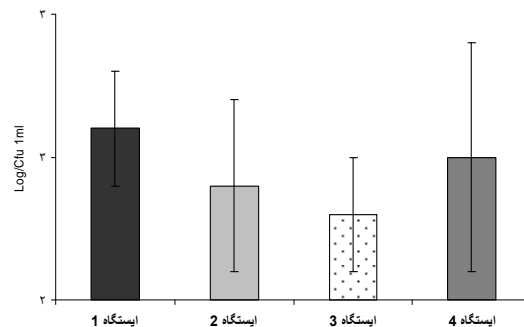
دامنه تغییرات لگاریتم میانگین آنتروکوک‌ها در ماه‌های مختلف سال از  $0/7 \text{ Log Cfu/1ml}$  در خرداد ماه تا  $2/6 \text{ Log Cfu/ml}$  در مرداد ماه متغیر می‌باشد (نمودار شماره ۲) نتایج حاصل نشان دادند که بیشترین لگاریتم میانگین آنتروکوک‌ها در این رودخانه در مرداد ماه می‌باشد.

دامنه تغییرات لگاریتم میانگین کلی فرم‌ها در طول سال از  $3/2 \text{ Log Cfu/1ml}$  در ایستگاه ۲ تا  $3 \text{ Log Cfu/ml}$  در ایستگاه ۱ متغیر می‌باشد (نمودار شماره ۳) نتایج حاصل نشان دادند که بیشترین لگاریتم میانگین کلی فرم‌ها در این رودخانه در ایستگاه ۲ می‌باشد.

1. KF Streptococcus Agar8-
2. Sulfite Polymyxin Sulfadiazine Agar
3. Chromagar liquid Ecc
4. Plate count agar



نمودار شماره ۴: مقایسه تغییرات شاخص‌ها باکتریایی در ایستگاه‌های مورد مطالعه در رودخانه شیروود در کل دوره بررسی



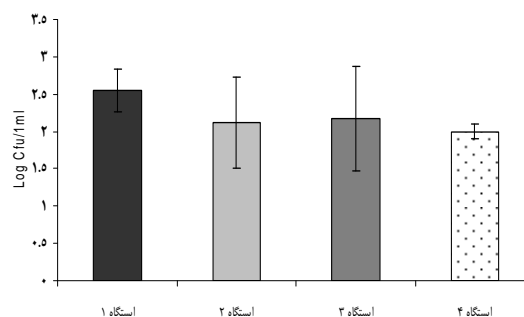
نمودار شماره ۵: تغییرات لگاریتم میانگین باکتری‌های اسیا کننده رودخانه شیروود در طول یک سال

## بحث

نتایج حاصل نشان دادند که بیش‌ترین لگاریتم میانگین کل باکتری‌ها در رودخانه شیروود در شهریور ماه می‌باشد. و بیش‌ترین آلودگی  $6/3 \text{ Log CfU/ml}$  مربوط به ایستگاه ۴ می‌باشد و کم‌ترین مقدار آلودگی  $\text{Log CfU/ml}$   $5/5$  مربوط به ایستگاه ۱ می‌باشد و استاندارد وجود دارد که در ارتباط با باکتری‌های هتروتروف وجود دارد حداکثر  $50000$  در  $100$  میلی‌لیتر می‌باشد که آب رودخانه شیروود از نظر کل باکتری‌ها آلوده می‌باشد. آب ایستگاه ۴ از روستاهای مختلف می‌گذرد و بالا بودن آلودگی میکروبی به علت تخلیه فاضلاب‌های شهری و خانگی که به صورت روزانه انجام می‌گیرد. کل باکتری‌ها بیش‌ترین مقدار را در فصل تابستان و کم‌ترین مقدار را در فصل زمستان داشت. از دیگر عواملی که باعث افزایش بار آلودگی میکروبی در این رودخانه می‌شود ازدحام مسافران در کنار رودخانه در این فصل و افزایش فعالیت رستوران‌های اطراف می‌باشد که باعث شده آلودگی در این فصل در مقایسه با سایر فصول به مراتب بیش‌تر باشد (۱۰، ۱۱). تغییرات کل باکتری‌ها در ایستگاه‌های مختلف دارای ارتباط معنی‌دار بوده است ( $p < 0/05$ ).

مطالعات آژانس حفاظت از محیط زیست آمریکا<sup>۱</sup> EPA نشان می‌دهد که بهترین اندیکاتورها در آب‌های

دامنه تغییرات لگاریتم میانگین باکتری‌های احیاء کننده سولفیت در طول سال از  $2/5 \text{ Log CfU/ml}$  در ایستگاه ۱ تا  $2 \text{ Log CfU/ml}$  در ایستگاه ۴ متغییر می‌باشد (نمودار شماره ۵) نتایج حاصل نشان دادند که بیش‌ترین لگاریتم میانگین اشرشیا کلی در این رودخانه در ایستگاه ۱ می‌باشد.



نمودار شماره ۶: تغییرات لگاریتم میانگین باکتری‌های اسیا کننده سولفیت از آب رودخانه شیروود در طول یک سال

نتایج بررسی نشان داد که در تمامی ماه‌های مورد مطالعه مقدار بار آلودگی میکروبی لگاریتم میانگین کل باکتری‌ها، آنتروکوک‌ها در ایستگاه‌های پایین دست بیش‌تر از ایستگاه‌های بالا دست رودخانه می‌باشد و بار آلودگی کلی فرم، ایکلای و باکتری‌های احیاء کننده سولفیت تغییرات چندانی نداشتند (نمودار شماره ۶).

1. Environmental protection Agency



شیرین، ایکلای و آنتروکوک‌ها بوده و در آب‌های شور، آنتروکوک‌ها می‌باشند (۱۳-۱۵).

دامنه تغییرات لگاریتم میانگین آنتروکوک‌ها در ماه‌های مختلف سال از  $0.7 \text{ Log CfU/ml}$  در خرداد ماه تا  $2.6 \text{ Log CfU/ml}$  در مرداد ماه متغیر می‌باشد نتایج حاصل نشان دادند که بیش‌ترین لگاریتم میانگین آنتروکوک‌ها در رودخانه شیروود در مرداد ماه می‌باشد و بیش‌ترین آلودگی آنتروکوک‌ها  $2.3 \text{ Log CfU/ml}$  مربوط به ایستگاه ۴ می‌باشد و کم‌ترین آلودگی آنتروکوک‌ها  $1.7 \text{ Log CfU/ml}$  مربوط به ایستگاه ۱ می‌باشد تغییرات آنتروکوک‌ها در ایستگاه‌های مختلف دارای ارتباط معنی‌دار بوده است ( $p < 0.05$ ).

یکی دیگر از عوامل تعیین کننده کیفیت میکروبی محیط‌های آبی، مقدار کلیفرم می‌باشد که مقدار این عامل در ایستگاه‌های مختلف و ماه‌های مختلف نوسان زیادی دارد و بیش‌ترین مقدار آن در فصل بهار و کم‌ترین مقدار در فصل تابستان می‌باشد. بیش‌ترین آلودگی کلیفرمی  $3.2 \text{ Log CfU/ml}$  مربوط به ایستگاه ۲ و کم‌ترین مقدار کلیفرمی  $3.0 \text{ Log CfU/ml}$  مربوط به ایستگاه ۱ بود. بیش‌ترین آلودگی مربوط به فصل تابستان  $3.2 \text{ Log CfU/ml}$  و کم‌ترین آلودگی مربوط به فصل زمستان  $2.7 \text{ Log CfU/ml}$  بوده است به نظر می‌رسد که با شروع فصل تابستان و افزایش فعالیت‌های تفریحی مردم در حاشیه رودخانه‌ها و گرم شدن هوا رشد و تکثیر باکتری‌های کلیفرمی افزایش می‌یابد. و با آغاز فصل زمستان و کاهش دما و کم شدن ازدحام جمعیت در کنار رودخانه‌ها، بار آلودگی میکروبی رودخانه‌ها کاهش می‌یابد تغییرات کلیفرمی در ایستگاه‌ها و فصول مختلف دارای ارتباط معنی‌دار بوده است ( $p < 0.05$ ). تغییرات شاخص‌های میکروبیولوژی مورد بررسی رودخانه شیروود در طول ایستگاه‌ها و در طی ماه‌های مختلف بسیار گسترده است. یکی از این شاخص‌های مورد بررسی Ecoli می‌باشد که در این بررسی بیش‌ترین مقدار این شاخص در ایستگاه ۱ و کم‌ترین مقدار آن در

ایستگاه ۳ دیده شد. و بیش‌ترین مقدار Ecoli در ماه مهر  $3.1 \text{ Log CfU/ml}$  و کم‌ترین مقدار آن در بهمن ماه بوده است. تحقیقات Buckalew و همکاران (۲۰۰۶) نشان داد که مقدار E.coli در ماه‌های سرد کاهش می‌یابد (۱۲).

باکتری کلیدی در بین باکتری‌های احیاء کننده سولفیت کلستریدیوم پرفرنجنس می‌باشد. این باکتری به لحاظ داشتن اسپور قادر به زنده ماندن در آب و یا محیط‌های آلوده نسبت به سایر باکتری‌های اندیکاتور می‌باشد با این وجود اهمیت این باکتری‌ها در مقایسه با سایر باکتری‌های اندیکاتور کمتر می‌باشد (۱۶). نتایج حاصل نشان می‌دهد که بیش‌ترین آلودگی کلستریدیومی مربوط به ایستگاه ۱  $2.5 \text{ Log CfU/ml}$  و کم‌ترین آلودگی کلستریدیومی مربوط به ایستگاه ۲  $2.1 \text{ Log CfU/ml}$  بوده است و بیش‌ترین آلودگی مربوط به فصل پاییز  $2.4 \text{ Log CfU/ml}$  و کم‌ترین آلودگی مربوط به فصل بهار  $1.6 \text{ Log CfU/ml}$  می‌باشد.

نتایج تعداد باکتری‌های اندیکاتور در مقایسه با استانداردهای بین‌المللی و دستورالعمل پایش کیفیت آب‌های سطحی (جاری) نشان دهنده آن است که اکثر ایستگاه‌های مورد بررسی در رودخانه شیروود جزء مناطق آلوده محسوب می‌گردند. استاندارد می‌باشد که در ارتباط با اندیس‌های میکروبی وجود دارد شامل کلی فرم (حداکثر ۱۰۰۰ عدد در ۱۰۰ میلی لیتر)، کلی فرم مدفوعی (حداکثر ۴۰۰ در ۱۰۰ میلی لیتر) و باکتری‌های هتروتروف (حداکثر ۵۰۰۰۰ در ۱۰۰ میلی لیتر) می‌باشد. بالا بودن آلودگی میکروبی به دلیل تخلیه فاضلاب‌های شهری و خانگی، زباله‌ها، نخاله‌های ساختمانی و... در مجاورت رودخانه که این کار به صورت روزانه انجام می‌گیرد. در رودخانه شیروود، عمده آلودگی موجود ناشی از تخلیه پساب کارگاه‌های شن و ماسه بوده که باعث گل آلودگی رودخانه شده و کیفیت آب را به‌طور چشمگیری کاهش می‌دهد. بایستی توجه نمود که وجود میکروبی‌های اندیکاتور در آب رودخانه،

نشان دهنده کیفیت پایین آب و وجود احتمالی باکتری‌های بیماری‌زا از جمله سالمونلا (عامل حصبه)، ویروس کلرا (عامل وبا)، شیگلا (عامل اسهال خونی)، انواع پروتوزوئرها (آنتامبا، زیاردیا)، ویروس‌ها (نور واک و انواع ویروس‌های عامل اسهال) و قارچ‌ها (کریپتوکوکوس) می‌باشد. مطالعات انجام گرفته نشان می‌دهد که نتایج این تحقیق نشان داد که ایستگاه‌های پایین دست رودخانه دارای بار آلودگی بیش تری در مقایسه با ایستگاه‌های بالا دست رودخانه بودند و پراکنش باکتری‌های اندیکاتور از گروه کلی فرم‌ها و کلی فرم‌های مدفوعی در محل‌های تخلیه فاضلاب‌های خانگی و شهری به رودخانه بسیار بالا بوده و تعداد این گروه در زون‌های آلوده خارج از دامنه استاندارد بوده است (۱۴، ۱۷). مطابق دستورالعمل پایش کیفیت آب‌های سطحی (جاری) با توجه به مقادیر به دست آمده برای شاخص‌های اندیکاتور به خصوص ایکلای و توتال کلیفرم و مقادیر مجاز اعلام شده آب رودخانه شیروود جهت آشامیدن انسان و استفاده‌های تفریحی مثل شنا، شیرجه و ورزش‌های آبی ... در هیچ یک از ماه‌های

مورد مطالعه مناسب نیست (۱۷).

در پایان می‌توان نتیجه‌گیری کرد که نتایج تعداد باکتری‌های اندیکاتور در مقایسه با استانداردهای بین‌المللی نشان دهنده آن است که اکثر ایستگاه‌های مورد بررسی در رودخانه شیروود جزء مناطق آلوده محسوب می‌گردند. مطالعات انجام گرفته نشان می‌دهد که پراکنش باکتری‌های اندیکاتور از گروه کلی فرم‌ها و کلی فرم‌های مدفوعی در محل‌های تخلیه فاضلاب‌های خانگی و شهری به رودخانه بسیار بالا بوده و تعداد این گروه در مناطق آلوده خارج از دامنه استاندارد بوده است.

### سپاسگزاری

بدین وسیله از دکتر رضا پور غلام رئیس پژوهشکده اکولوژی دریای خزر که هماهنگی‌های لازم را جهت انجام این پروژه انجام داده‌اند، تشکر و قدردانی می‌گردد این پروژه توسط اداره کل حفاظت محیط زیست استان مازندران و پژوهشکده اکولوژی دریای خزر حمایت شده است.

### References

1. Ayaz GH. Identify and assess pollution sources Tajan River (Sari-Marndran), Islamic Azad University, 1995; p172 (Persian).
2. Roshantabari M. The role of human activities on Tajan river ecosystem degradation, fisheries research center, 1991; p14 (Persian).
3. Roshantabari M. Rivers of the province and its impact aquatic resources. University 1997; (Persian).
4. Caspian Consulting Engineers Water. Tajan river study and engineering design, water quality and environmental impacts, Mazandaran and Golestan Regional Water Corporation. 1998.
5. Chang, SKDetermination of toxic pollutants in water using a marine phytoplankton *Dunaliella bioculata* and Doppler laser velocimetry". *Chen.Ecol.*1995;10, 37-95.
6. Environment Agency the Microbiology of Drinking water part 1 – Water Quality and Public Health. 2002;p 9-28.
7. American Public Health Association (APHA), American Water Works Association (AWWA) & Water Environment Federation (WEF). Standard methods for the examination of water and wastewater. 2005; 22th.
8. Abuu M. Hydrology and hydrobiology of Shirud river. Final report .Iranian fisheries research organization, 1994;65p. (Persian).

9. National geographical organization Publication, 2003. The gazetteer of rivers in the I.R. of Iran, Iss. 978-600-92021-1-9. Vol. 2. 341p.
10. Banat I.M, Hassan E.S, ElShahawi M S, Abu-Hilal A.H. Post – Gulf- war Assessment of nutrients, heavy metal ions, hydrocarbons and bacterial pollution levels in the United Arab Emirates coastal waters. Pergamon Environment International, 1998;24: 109-116
11. Palamuleni L.G. Effect of sanitation facilities, domestic solid waste disposal and hygiene practices on water quality in Malawi\_ s urban poor areas: a case study of south Lunzu Township in the city of Blantyre. Physics and Chemistry of the Earth. 2002; 27: 845-850.
12. Buckalew D.W, Hartman L.J, Grimsley G.A, Martin A.E, Register K.M. A long- term study comparing membrane filtration with Colilert defined substrates in detection fecal coli forms and Escherichia coli in natural waters. Journal of Environmental Management . 2006; 80:191-197.
13. Jin G, Jeng H.W, Bradford H, Englande A.J. "Comparison of E. coli, enterococci, and fecal coliform as indicators for brackish water quality assessment". 2004; *Water Environ. Res.* 76 (3): 245–55.
14. Li R, Dong M, Zhao Y, Zhang L, Cui Q, He W. Assessment of Water Quality and Identification of Pollution Sources of Plateau Lakes in Yunnan (China). Journal of Environmental Quality. 2007; Vol. 36 No. 1, p. 291-297.
15. Paruch A.M. Maehlum T. Specific features of *Escherichia coli* that distinguish it from coliform and thermotolerant coliform bacteria and define it as the most accurate indicator of faecal contamination in the environment .2012; Ecological Indicators Volume 23, Pages 140–142.
16. Chen J. N, Zhang T.Z, Du P.F. Assessment of water pollution control strategies: a case study for the Dianchi Lake. Journal Article. 2002; Volume 14, Number 1.
17. Islamic Republic of Iran .Vice Presidency For Strategic Planning and Supervision .Instruction For Surface Water Quality Monitoring. 2011. 522 No.