مجله دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی
دوره ۸ شماره ۱ بهار ۱۳۸۹ ، صفحات : ۸۰-۶۹

ارزیابی تاثیر سمیت کادمیم و تعیین طیف مقاومت/ تحمل در گونه های باکتریای شناسایی شده طی بررسی بر روی آب و رسوبات رودخانه کر در استان فارس

فرشید کفیل زاده: استادیار، گروه میکروبیولوژی ، دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم، جهرم، ایران
صدیقه ابوالاحرار: کارشناس ارشد، گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم، جهرم، ایران-نویسنده رابط: t_ahrar@yahoo.com
محمد کارگر: استادیار، گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم، جهرم، ایران
مریم قدسی: مربی، گروه آمار و ریاضی، دانشکده ریاضی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم، جهرم، ایران
تاریخ دریافت: ۱۳۸۸/۳/۱۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۹/۲/۲۸

چکیده

زمینه و هدف: افزایش فعالیت های صنعتی و کشاورزی همراه با افزایش جمعیت موجب گسترش طیف وسیعی از آلاینده ها در محیط زیست و پیکر انسان و سایر جانداران گردیده است. کادمیم به عنوان یک فلز سنگین و سمی از راه‌های متعددی به چرخه‌های زیستی وارد و موجب بیماری های گوناگون در جانداران وانسان می گردد. تعیین مقدار کادمیم و عوامل فیزیکی -شیمیایی و زیستی در نمونه های آب و رسوب و سه مرحله غربال گری شامل بررسی ارتباط سمیت زایی این فلز با شمارش باکتری های قابل کشت در نمونه ها و هم چنین تعیین دامنه مقاومت این باکتری های بومی از طریق MIC, MBC در پژوهش حاضر مد نظر بوده است.

روش کار: به دلیل سابقه آلودگی در مسیر رودخانه ی کر، پنج ایستگاه به ترتیب خروجی سد درودزن، پل پتروشیمی، پل خان، پل دوشاخ و ورودی دریاچه بختگان انتخاب گردیدند. براساس روش استاندارد متد، نمونه های آب و رسوب در دو گروه تهیه و بررسی شدند. گروه اول از نظر اندازه گیری مقدار کادمیم توسط اسپکترومتر جذب اتمی و عوامل فیزیکی - شیمیایی و زیستی و گروه دوم به منظور جداسازی و شناسایی باکتری های مقاوم/متحمل به کادمیم و تعیین طیف مقاومت. با تهیه کشت های خالص و اختصاصی، هر باکتری شناسایی و باکتری های منتخب با بکار گیری غلظت های کادمیم ارزیابی گردیدند.

نتایج: آلودگی به کادمیم در ایستگاه های دو و سه به طور معنی داری بیش از سایر ایستگاه ها بود($p<$ ۰/۰۰۱) (هم چنین میزان این فلز در رسوبات تمام ایستگاه ها بیش از آب بوده ($p<$ ۰/۰۰۱)و نسبت به استانداردهای موجود قابل توجه بوده است. کاهش نسبت BOD/COD در دو ایستگاه آخروافزایش فسفات درچهار ایستگاه آخرمشاهده شد. درمقایسه با گروه شاهد، شمارش باکتری ها در حضور یک میلی مولار کادمیم به صورت معنی دارکاهش یافت ($p<$ ۰/۰۰۱). حداکثر مقاومت به کادمیم در *P.aeruginosa* ETsو *Bacillus* ABs مشاهده شد که MIC آن ها به ترتیب شش و چهار و MBCبه ترتیب هفت و پنج میلی مولاربه دست آمد. شمارش باکتری های قابل کشت و مقاوم به کادمیم در ایستگاه سه وپنج بیش ازسایرایستگاه ها می باشد($p<$ ۰/۰۰۱). مقاوم ترین باکتری ها گرم منفی بوده و ازرسوبات شناسایی شدند.

نتیجه گیری: آلودگی به کادمیم خصوصاً در ایستگاه های دو و سه مربوط به فعالیت های انسانی می باشد. هم چنین علیرغم حساس بودن بسیاری از باکتری های این تحقیق به کادمیم، برخی از آن ها طیفی از مقاومت- تحمل را از خود نشان دادند. یافته های تحقیق حاضر نشان می دهد که برخلاف آب که محیطی ناپایداراست، رسوب شرایط مناسبی را برای تشکیل زیست لایه (بیوفیلم) باکتریایی و مقابله با استرس کادمیم فراهم می نماید اگرچه این مساله مورد اتفاق نظر پژوهشگران نمی باشد. مقاوم ترین باکتری ها از آلوده ترین ایستگاه ها شناسایی شدند این مساله می تواند به القاء بیان ژن های مقاومت در حضور کادمیم مرتبط باشد. با توجه به مشکلات ناشی از تخلیه پساب ها به رودخانه، این باکتری های مقاوم برای کاربری در صافی های زیستی و اصلاح زیستی فاضلاب ها حایز اهمیت می باشند.

واژگان کلیدی: باکتری های مقاوم/ متحمل، کادمیم، آب و رسوب، اصلاح زیستی، رودخانه کر

[Downloaded from sjsph.tums.ac.ir on 2024-11-05]

مقدمه

امروزه بـه دلیـل افـزایش فعالیـت هـای اقتـصادی- صنعتی و کشاورزی همراه با رشد جمعیت متاسفانه مقـادیر زیادی از آلاینده ها وارد زیست بوم (اکوسیستم) های طبیعی و به دنبال آن وارد پیکر موجودات زنده مـی گـردد. آلاینـده های آلـی تـا حـدودی تجزیـه پذیرنـد و خـصوصاً توسـط میکروارگانیسم ها غیرسمی می شوند؛ درحـالی کـه فلـزات سنگین دراثر واکنش های شیمیایی، حرارت و فعالیت هـای میکروبی قابـل تجزیـه نیـستند و همگـی خـصوصاً کـادمیم خاصیت تجمع در بافت ها(Bioacumulation) و بـزرگ نمـــایی زیـــستی(Biomagnifications) را نیـــز دارند.(Johansson 2002). فعالیت های شهری، صنعتی و کشاورزی از عوامل اصلی آلودگی در رودخانه کر بـه شـمار می‌آیند. از جمله این موارد مجتمع صنعتی گوشـت فـارس، پتروشـیمی، مجتمـع کارخانجـات آزمـایش، کارخانـه قنـد، پالایشگاه، کارخانجات کاشـی و لعـاب، شـهرک صـنعتی و زهکـش هـای فاضـلاب شـهر مرودشـت را مـی تـوان نـام بـرد(Bidokhti and Rakhshandehro 2000; Jahanmiri 1995). کادمیم به عنوان یـک فلـز سـنگین و جزو ده فلز انتخابی (Top ten) در لیـست سـیاه توافقنامـه های حفاظت از محیط زیست و سازمان جهانی بهداشت می باشـد (Haq et al. 1999; Sharma et al. 2000). مصارف عمـده‌ی آن شـامل سـاخت بـاتری، رنگدانـه‌هـای صنعتی، تثبیت کننده ها و تولید لعاب و روکش برای فلزات است. هم چنین کودهای فسفاته، برخی از قـارچ کـش‌هـا و سموم دفع آفات نباتی نیز دارای مقادیر قابل توجه از این فلز سمی می باشند. حاصل ورود بـی‌رویـه کـادمیم بـه محـیط زیست و چرخه‌های زیستی برای انسان، بیماری‌هایی از قبیل اسفنجی شدن استخوان، اختلالات کبدی و کلیوی، نارسـایی ریوی، بیماری‌های خود ایمنی، تخریب گلبول‌هـای قرمـز و برخـــی از ســـرطان‌هـــا مـــی‌باشـــد(Koplan 1999; Johansson 2002) . طی یک تحقیق در ژاپن بین مقـدار کادمیم در رسوبات رودخانه و میزان آن در گیاه بـرنج و ادرار ساکنان منطقه ارتباط معنی داری نشان داده شد(Ikeda et al. 2006). این موضوع با از کار افتادگی کلیه‌ها و تخریب بافت اسـتخوانی کـاملاً مـرتبط مـی‌باشـد (Jin et al. 2002). در میکروارگانیـسم‌هـایی ماننـد بـاکتری هـا، کـادمیم مـانع از همانندسـازی DNA ، تولیـد پـروتیین و رنـگ دانـه مـی گردد(Hassen et al. 1998). تاکنون در ایران مطالعه ای بر روی باکتری های مقاوم به کادمیم در آب شـیرین و رسـوبات رودخانه ای و تاثیر سمیت این فلز انجام نـشده اسـت. کفیـل زاده در سال۱۳۸۴مقادیرچندین فلز سنگین از جمله کـادمیم را در آب و رسوبات رودخانه کر تعیین نمود. یوسفی و همکاران در سال۱۳۸۵ماکروجلبک های جذب کننده کادمیم را از دریای خزر جداسازی کردنـد.Vullo و همکـاران در سـال ۲۰۰۵دو سویه از باکتری *سـودوموناس* را از رسـوبات رودخانـه ای در آرژانتین جدا و مقاومت آن ها را به نـیم میلـی مـولار کـادمیم بررسی نمودند.امروزه گرایش جهانی به کاربردی کـردن علـوم نوینی مانند فن آوری – زیست فن آوری، زمینـه هـای لازم را برای به کار گیری این علوم در جهت حمایت از محیط زیست و حفظ سلامت انسان فراهم نموده اسـت. اسـتفاده ازبـاکتری های مقاوم در صافی های زیستی بـرای تـصفیه پـساب هـا از جملـه فـن آوری هـای جدیـد و مفیـد در ایـن زمینـه اسـت (Abolahrar and Moghbeli 2006; Cervantes 2006). هدف از پژوهش حاضر تعیین مقدار کادمیم و عوامل فیزیکی – شیمیایی و زیستی در آب و رسوبات رودخانـه کـر در استان فارس و بررسی سمیت این فلز بر روی باکتری های قابل کشت و تعیین طیـف مقاومـت/ تحمـل از طریـق انـدازه گیری حداقل غلظت بازدارنده رشد (MIC) و حداقل غلظـت کشنده باکتری(MBC) و یافتن باکتری‌هایی بـا مقاومـت بـالا می‌باشد. چنین باکتری‌هایی در بیوصافیها برای اصلاح زیـستی پساب ها و حذف کادمیم حایز اهمیت هستند(Kafilzadeh and Abolahrar 2007) . درغربـال گـری سـوم یـافتن باکتری هایی با مقاومت بالا نسبت بـه کـادمیم مـی توانـد بـه

[Downloaded from sjsph.tums.ac.ir on 2024-11-05]

عنوان یک شاخص زیستی و بیان گر آلودگی در محیط تلقی گردد (Hassen et al. 1998).

روش کار

انتخاب ایستگاه ها و نمونه برداری: در بالادست سد درودزن به دلیل شیب زیاد و اکسیژن گیری کافی آب با حداقل آلودگی و کیفیت خوب وارد سد می گردد. تنها منبع آلودگی در این بخش مربوط به استفاده بی رویه از کودهای شیمیایی و سموم آفت کش است.در پایین دست سد تخلیه فاضلاب های خام و تصفیه شده شهری و صنعتی موجب افزایش آلودگی رودخانه شده(Bidokhti and Rakhshandehro 2000) و لذا پنج ایستگاه مورد نظر در این تحقیق از زیر دست سد انتخاب شده اند. مختصات این ایستگاه ها توسط موقعیت سنج ماهواره ای مدل Etrex ساخت چین ثبت گردید. به ترتیب ایستگاه یک پس از سد درودزن ($۳۰^{\circ}۱۲'۱۴۴''N,۵۲^{\circ}۲۶'۸۹۹''E$)، ایستگاه دو پل پتروشیمی ($۲۹^{\circ}۵۱'۴۹۰''N,۵۲^{\circ}۴۵'۸۰۹''E$)، ایستگاه سه پل خان ($۲۹^{\circ}۵۱'۰۱۶''N,۵۲^{\circ}۴۶'۲۵۴''E$)، ایستگاه چهار پل دوشاخ ($۲۹^{\circ}۴۶'۱۱۸''N,۵۳^{\circ}۶۸'۰۱۲''E$)و ایستگاه پنج ورودی بختگان ($۲۸^{\circ}۴۵'۴۱۸''N,۵۳^{\circ}۷۰'۱۰۱''E$)می باشد (عکس۱).از هر ایستگاه دو سری نمونه آب و دوسری نمونه رسوب جمع آوری گردید تا آزمایش های میکروبی و فیزیکی – شیمیایی هم زمان انجام شوند. نمونه‌های آب از عمق پنجاه سانتی‌متری سطح آب و نمونه های رسوب از عمق سه تا چهار سانتی متری سطح رسوبات (منطقه هوازی) و مطابق با استاندارد متدهای 9030,9060A-3010A,B انجام شد(APHA, AWWA, WEF, 2005).

عوامل دما، کلر و pH در محل هر ایستگاه اندازه گیری ونمونه ها بلافاصله با حفظ شرایط ۴ درجه سانتیگراد به آزمایشگاه ارسال گردیدند.

روش های آزمایشگاهی: کلیه آزمایش های زیر بر طبق استاندارد روش مرجع و با سه بار تکرار انجام پذیرفت(APHA, AWWA, WEF, 2005).

اندازه گیری عوامل فیزیکی – شیمیایی: نمونه ها در ظروف پلی اتیلن ذخیره و با حفظ شرایط استاندارد بلافاصله به آزمایشگاه ارسال گردیدند. نمونه های رسوب با اسید فلوئوریدریک و مخلوط یک به سه از اسید کلریدریک و اسید نیتریک هضم وسپس میزان کادمیم در نمونه های آب و رسوب توسط دستگاه اسپکترومتر جذب اتمی مدل CTA3000 ساخت انگلستان اندازه گیری شد. میزان نیترات، نیتریت، فسفات و ازت آمونیاکی نیز از طریق رنگ سنجی و تطابق رنگ و یا با اسپکتروفتومتر اندازه گیری شد. لازم به یادآوری است که کودهای فسفاته خود منبع مهمی برای ورود کادمیم به آب و خاک هستند و اندازه‌گیری میزان فسفات می‌تواند به طور غیرمستقیم این آلودگی را نشان دهد.

اندازه گیری عوامل زیستی: این روش ها شامل اندازه گیری اکسیژن محلول (DO)، اکسیژن مورد نیاز بیولوژیک پنج روزه (BOD5)، اکسیژن مورد نیاز شیمیایی (COD) در نمونه‌های آب و مواد کل آلی (TOM) به روش واکی بلک در نمونه های رسوب می باشد.

روش‌های میکروبی:هدف از انجام این مرحله جداسازی و شناسایی باکتری‌های قابل کشت و مقاوم به کادمیم در نمونه‌های آب و رسوب از پنج ایستگاه است. نمونه ها در ظروف شیشه ای استریل تهیه و با حفظ شرایط استاندارد بلافاصله به آزمایشگاه ارسال شدند. غربال گری اول: ابتدا رقت های $۱۰^{-۵}$– $۱۰^{۰}$ از نمونه های آب و رسوب تهیه شده سپس از هر رقت بر روی محیط کشت نوترینت آگار ساخت مرک آلمان حاوی یک میلی مولار از نمک کلرید کادمیم و در مقابل محیط کنترل فاقد فلز کشت داده

[Downloaded from sjsph.tums.ac.ir on 2024-11-05]

شد. محیط های کشت در دمای $30^{\circ}C$ انکوبه گردیده وپس از ۱۲۰–۴۸ساعت مورد بررسی قرار گرفته و باکتری های مقاوم/متحمل جداسازی شدند. پس از شمارش کلنی ها در گروه شاهد و آزمون، با تهیه کشت خالص از هر باکتری، انجام رنگ آمیزی و تست های افتراقی، هر باکتری در حد جنس و/ یا گونه شناسایی گردید.

غربال گری دوم: به منظور ارزیابی توان رشد هر باکتری و یافتن مقاوم ترین باکتری ها در این مرحله به ازاء هریک از باکتری های خالص سازی شده، پنج سری محیط کشت لوریا- برتانی براث حاوی غلظت های ۰، ۲، ۳، ۴و ۵ میلی مولار از کلرید کادمیم تهیه و مطابق با استاندارد یک مک فارلند، یک میلی لیتر از سوسپانسیون باکتریایی به هر لوله افزوده گردید. پس از ثبت OD_{600} اولیه با دستگاه اسپکتروفتومتر مدل Shimadzu-UV.120 ساخت ژاپن و انکوباسیون به مدت ۷۲ ساعت، OD_{600} ثانویه نیز ثبت شد. غلظت صفر به معنی کنترل و دارای بالاترین مقدار OD_{600} می باشد.

غربال گری سوم: محاسبه حداقل غلظت بازدارنده رشد(MIC) Minimum Inhibitory Concentration و حداقل غلظت کشنده باکتری Minimum Bactericidal (MBC) Concentration روش هایی استاندارد برای تعیین حداکثر مقاومت یک باکتری می باشد(Amoroso *et al.* 2002). برای باکتری های منتخب از غربال گری دوم،MIC و MBC مطابق با پروتوکول National Committee for Clinical (NCCLS) Laboratory Standard با نام جدید(CLSI) Clinical and Laboratory Standard Institute به شماره های M26-A, M7-A5 انجام پذیرفت (CLSI,NCCLS). براساس روش "Macrodilution broth" به ازاء هر باکتری سوسپانسیون باکتریایی معادل با استاندارد یک مک فارلند تهیه و مقدار یک میلی لیتر از آن به لوله‌های حاوی یک میلی لیتر از غلظت‌های مختلف فلز تلقیح شد به صورتی که غلظت نهایی معادل نیم مک فارلند و۵ Mm وغلظت های متناوب از CdCl2 باشد. یک محیط مایع تلقیح نشده به عنوان کنترل منفی و یک محیط مایع تلقیح شده و فاقد کادمیم به عنوان کنترل مثبت در کنار هر سری از رقت‌های فلزی اضافه شد. پس از انکوباسیون شبانه(Overnight incubation) نخستین لوله‌ای که شفاف و فاقد رشد میکروبی بوده به عنوان کمترین غلظت بازدارنده رشد یا MIC محسوب گردید. به دنبال مشخص شدن MIC از همان رقت و رقت‌های بعدی به اندازه ۰/۱ml در محیط جامد کشت شد و پس از انکوباسیون شبانه پلیت‌ها مورد بررسی قرار گرفتند. غلظتی از فلز که هیچ کلنی در آن رشد نکرده یا تعداد کلنی‌ها نسبت به پلیت کنترل ۹۹/۹٪ کاهش یافته بود به عنوان MBC درنظر گرفته شد.

برآوردهای آماری در این پژوهش با نرم افزار SPSS نسخه‌ی ۱۶و آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و مقایسه‌های دو به دو به روش دانکن انجام شد.

نتایج

۱- نتایج عوامل فیزیکی - شیمیایی و زیستی: در کلیه ایستگاه ها مقدار کادمیم در رسوبات به طور معنی دار بیش از آب است ($p<$ ۰/۰۰۱). مقدار متوسط به دست آمده از ایستگاه ها در نمودار ۱-۱ گنجانده شده است.هم چنین مقادیر کلیه عوامل زیستی و فیزیکی - شیمیایی در جدول ۱ آورده شده است. به طور متوسط بیشترین آلودگی از نظر میزان کادمیم مربوط به ایستگاه های دو و سه ($p<$ ۰/۰۰۱) و از نظر کلیه فاکتورها ایستگاه های سه و پنج می باشد. کاهش نسبت BOD/COD در دو ایستگاه آخروافزایش فسفات درچهار ایستگاه آخرمشاهده شد.

۲- نتایج روش های میکروبی: غربالگری اول: میانگین شمارش باکتری ها در تمامی ایستگاه ها نشان می دهد

[Downloaded from sjsph.tums.ac.ir on 2024-11-05]

که رسوبات در مقایسه با آب به طور معنی دار($p<$ ۰/۰۰۱)از باکتری های بیشتری برخوردارند(نمودار۲-۱). ازسوی دیگر میانگین شمارش باکتری ها در حضور یک میلی مولار از نمک کادمیم در مقایسه با کنترل فاقد فلز به طور معنی دار($p<$ ۰/۰۰۱) کاهش نشان می‌دهد (نمودار ۲-۲). سومین یافته در این بخش نشان می دهد که شمارش باکتری های مقاوم در ایستگاه های سه و پنج بیش از سایر ایستگاه ها بوده است ($p<$ ۰/۰۰۱). هم چنین فراوان ترین باکتری های ایزوله شده در طی این تحقیق *Pseudomonas* Spp. با شمارش ۶/۸ (log10 cfu/ml) بوده و کمیاب ترین باکتری *Citrobacter* Spp. با شمارش ۲/۱ (log10 cfu/ml) می باشد که تنها در ایستگاه سه مشاهده گردید.

غربال گری دوم:برخی از باکتری های این تحقیق که از پنج ایستگاه ایزوله شده اند به دو تا پنج میلی مولار کادمیم مقاومت نشان داده و بیشترین کدورت و بهترین رشد را پس از ۷۲ ساعت در OD_{600} نشان دادند. بیشترین باکتری های مقاوم، گرم منفی و مربوط به رسوبات می باشند.

غربال گری سوم:پنج باکتری گرم منفی و دو گرم مثبت از نظر حداکثر مقاومت از طریق MIC و MBC بررسی شدند *Pseudomonas aeruginosa* ETs از ایستگاه سه با MIC برابر شش و MBC هفت میلی مولار و *Bacillus* ABs از ایستگاه دو با MIC برابر چهار و MBC پنج میلی مولار حداکثر مقاومت را به کادمیم نشان داده‌اند (منحنی های ۱-۲ تا ۷-۲).

بحث

در بخش‌های مورد مطالعه فعالیت های شهری، صنعتی و کشاورزی از عوامل اصلی آلودگی در رودخانه کر به شمار می آیند. به طور کلی سابقه آلودگی درنواحی زیر دست سد درودزن شایع تر بوده است. از طرفی به دلیل شیب بسیار کم و کاهش چشمگیر سرعت آب در محدوده ایستگاه سه و پنج هم چنین تخلیه ی پساب‌های خام و تصفیه شده شهرمرودشت و نواحی مجاورو پساب های کشاورزی و صنعتی درایستگاه سه، آلودگی در این ایستگاه‌ها قابل توجه است. افزایش معنی دار کادمیم در رسوبات نسبت به آب از رودخانه‌های اوتاوا در کانادا (Titus and Pfister 1984) و رودخانه الچی در نیجریه (Davies et al. 2006) نیز گزارش شده است. این مساله خصوصاً در هنگام طغیان رودخانه حایز اهمیت است؛ زیرا کادمیم بسیار بیش از فلزاتی مانند سرب، تحرک و توانایی بازگشت به فاز آبی را دارد و تا هفته ها پس از طغیان موجب آلودگی شدید آب و به تبع آن محصولات کشاورزی و دامی می گردد (Caetano *et al.* 2003; Korlali and Davies 2005). کادمیم خاصیت انباشتگی زیاد خصوصاً در گیاهانی مانند برنج و سیب زمینی و بافت های جانوری مانند کبد، کلیه را دارد وعلت تخریب استخوان ها نیز می باشد(Johansson 2002). هم چنین استاندارد این فلز برای حیات آبزیان ppb ۰/۰۰۶ تعیین شده که به لحاظ کمی قابل نمایش در نمودار۱-۱ نمی باشد ومتأسفانه در تمام ایستگاه ها مقدار کادمیم به طور معنی دار از این حد تجاوز نموده است. از سوی دیگر کادمیم آستانه آلودگی ندارد ومنظور از حداکثر مجاز برای این فلز، مقدار مطلوب نیست(Jahanmiri 1995). امروزه یکی از مشکلات مهم افزایش ترکیبات آلی تجزیه ناپذیر در محیط زیست است. کاهش نسبت BOD/COD به کمتر از ۰/۳ دلیل بر افزایش بیش از حد چنین ترکیباتی می باشد که در تحقیق حاضر نیز مشاهده شده است (Maier et al. 2002) . در رودخانه گومتی در هند (Chen et al. 2006) این دو فاکتور در تابستان بیش از زمستان و در رودخانه گدیز در ترکیه (Akcay et al. 2003) عکس این وضعیت گزارش شده است. هم چنین بالا بودن مقدار آمونیوم و فسفات در برخی از ایستگاه ها نشان دهنده ورود پساب های صنعتی و کشاورزی و فسفات شاخص غیرمستقیمی برای وجود کادمیم در آب است . این شرایط مشابه با وضعیت رودخانه پرل در چین می باشد (Cheung et al. 2003). کنترل کمی و کیفی

[Downloaded from sjsph.tums.ac.ir on 2024-11-05]

انواع آلاینده ها و پساب ها از مسائل مهم و مورد توجه در دنیای امروز است و در این راستا برتری روش های زیستی بر روش های فیزیکی و شیمیایی امری بدیهی به شمار می آید (Low et al. 2000). در تحقیقی که بر روی رودخانه اوتاوا صورت گرفته *Bacillus* Spp. فراوان ترین باکتری در آب و رسوب و *pseudomonas* Spp. مقاوم ترین باکتری به کادمیم معرفی شده اند (Titus and Pfister 1984). حال آن که در پژوهش حاضر *Pseudomonas* Spp. نه تنها از تمامی ایستگاه ها جداسازی شده اند، بلکه به عنوان یکی از مقاوم ترین باکتری ها به کادمیم نیز می-باشند. غربال گری اولیه در این تحقیق مطابق با مطالعات Sharma و همکاران نشان می دهد که شمارش باکتری ها در حضور کادمیم به طور معنی دار کاهش می یابد که خود بیان گر سمیت زیاد این فلز می‌باشد. در غربال گری دوم و سوم اکثریت باکتری ها گرم منفی بوده و از رسوبات جدا شده اند. علت بالا بودن معنی دار تعداد باکتری‌ها در رسوب نسبت به آب و هم چنین یافت شدن اکثریت باکتری‌های مقاوم/ متحمل به کادمیم در بین رسوبات را می‌توان به دلیل پایدار بودن محیط رسوب نسبت داد که در آن میکروارگانیسم ها به صورت لایه های مقاوم و زیست لایه مستقر می‌شوند. در واقع تشکیل زیست لایه به عنوان یک راهکار توسط باکتری ها و برای مقابله با حضور مواد سمی و فلزات سنگین در محیط است که عامل مهمی در بقای آنان به شمار می آید (Teitzel and Parsek 2003)؛ اگرچه در برخی از تحقیقات عکس این قضیه گزارش شده است(Harrison et al. 2004) . علاوه بر این در تحقیق حاضر به نظر می رسد باکتری های گرم منفی به دلیل فرم کشیده و بار منفی سطحی LPSو ساختار ؛ در جذب کادمیم بهتر عمل می نمایند این موضوع با برخی از تحقیقات دیگر نیز تطابق دارد (Maier et al. 2000). غربال گری سوم بر روی باکتری های منتخب نتایج با ارزشی را نشان می دهد که قابل مقایسه با سایر تحقیقات اخیر می باشد. برای باکتری *P.aeroginosa* در پژوهش های Hassen و همکاران (1998)، Harrison و همکاران (2004) و Raja و همکاران (2006) مقدار MIC برای کادمیم به ترتیب ۱/۵، ۴/۶ و ۲/۷ میلی مولار به دست آمده است که در مقایسه، باکتری ETs *P.aeroginosa* در تحقیق حاضر با MIC برابر ۶ و MBC معادل ۷ کارآمدی بهتری را ارایه نموده است. هم چنین Hassen و همکاران (1998) MIC را برای باکتری *Bacillus* برابر ۱/۲ و Richards و همکاران (2002) کمتر از ۰/۱ میلی مولار به دست آورده اند که *Bacillus* ABs با MIC ۴ و MBC ۵، باکتری باارزشی محسوب می‌گردد. به ویژه آن که این باکتری ها بومی بوده و عدم نیاز به دست ورزی‌های ژنتیکی از مزایای آن‌ها می‌باشد زیرا سازمان جهانی حفاظت از محیط زیست (EPA) و بسیاری از پژوهشگران ورود باکتری های دست ورزی شده را به محیط غیرمجاز و نامطلوب می دانند (Davison 2005). علاوه بر این وجود چنین باکتری هایی می‌تواند به عنوان یک شاخص زیستی و بیانگر آلودگی در محیط تلقی گردد(Hassen et al.1998; Ron 2007).

نتیجه گیری

شیوع آلودگی های زیست محیطی، کمبود منابع آب شیرین (قابل شرب یا کشاورزی) و توجه ویژه به اصلاح الگوی مصرف، ما را بر آن می دارد تا وضعیت رودخانه کر و دریاچه بختگان در استان فارس را بیش از گذشته مد نظر قرار دهیم. به همین منظوردر تحقیق حاظر بررسی رودخانه از نظر عوامل فیزیکی - شیمیایی و زیستی و تعیین کیفیت آب در ایستگاه های پرخطرانجام شد. به دلیل متغیر بودن وضعیت رودخانه و تصادفی بودن زمان نمونه برداری، تکرار این تحقیق در زمان های مختلف و ایستگاه های بیشتر پیشنهاد می گردد. هم چنین با توجه به مشکلات ناشی از تخلیه پساب ها به رودخانه، باکتری های مقاوم/ متحمل در این پژوهش برای کاربری در

[Downloaded from sjsph.tums.ac.ir on 2024-11-05]

صافیهای زیستی و اصلاح زیستی فاضلاب ها حایز اهمیت می باشند.

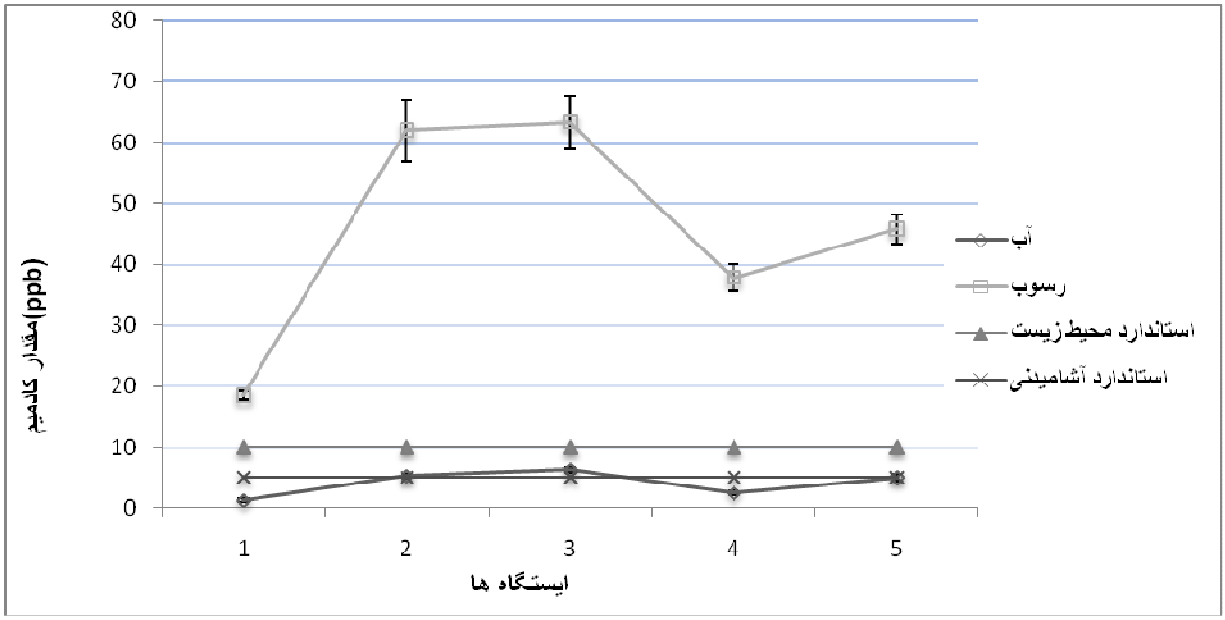
تشکر و قدردانی

نظر به همکاری های بیدریغ و شایان توجه، از کلیه پرسنل محترم اداره حفاظت از محیط زیست استان فارس خصوصا بخش پژوهش در به انجام رساندن این طرح سپاسگزاری و قدردانی می گردد.

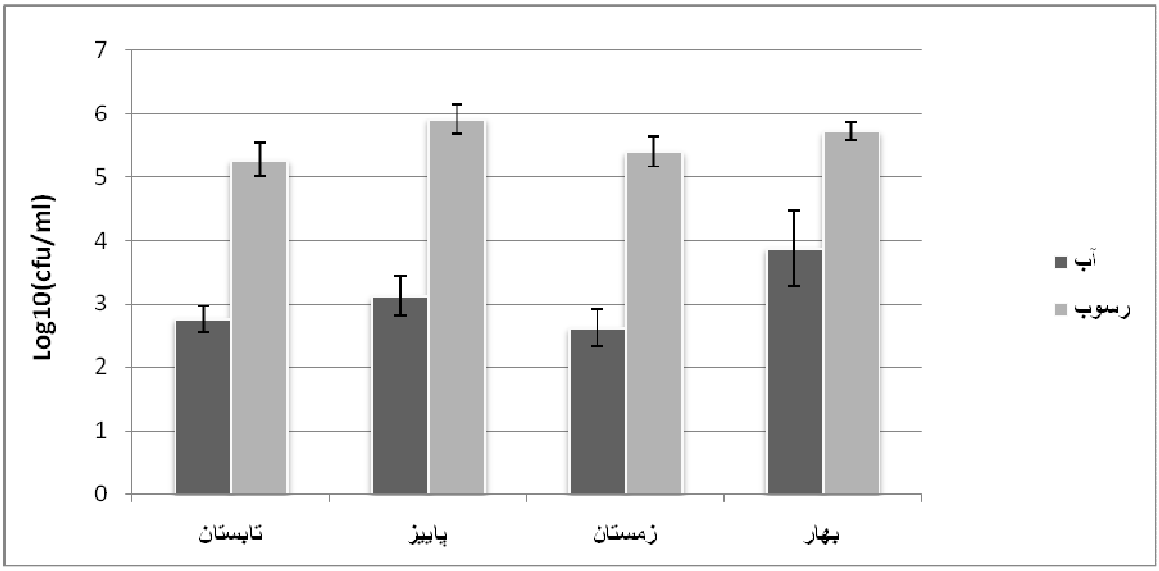
جدول ۱-۱: نتایج میانگین اندازه گیری فاکتورهای فیزیکوشیمیایی و زیستی

پارامترها	ایستگاه های نمونه برداری					
	۱	۲	۳	٤	٥	
pH	۷/۹	۸/۰	۷/۹	۸/۱	۷/۸	نمونه آب
$T(c^{\circ})$	۲۲/۰	۲۲/۰	۲۳/۰	۲۲/۰	۲۱/٥	
$Ec(\mu mohs/cm)$	٤۹۲	۸۹٥	۲٤۹۰	۳۳٦۰	۳۸٦۰	
$NO_3^- (mg/L)$	۳/۰	۱۲/۰	۱٦/۰	۱٤/۰	۱٥/۰	
$NO_2^- (mg/L)$	۰/۰۲٥	۰/۰٥٥	۰/۰۷	۱/۲	۱/٤	
$Cl^- (mg/L)$	٦۰/۰	۱٤۹/۰	٤٤۸/۰	۸۱۸/۰	۱٥٤٤/۰	
$PO_4^{3-} (mg/L)$	۰/۰۰٥	۰/۱۹	۰/۲٤	۰/۸	۰/٤	
$NH_4^+ (mg/L)$	۰/۰۲	۰/۰	۰/۲٥	۰/۲٦	۰/۳۷	
$BOD_5 (mg/L)$	۰/۸	۲/۸	۱۲/٤	۱۳/٦	۱٦/۲	
$COD (mg/L)$	۱/٥	۳/۹	۳٦	۷٦	۸۱	
$DO (mg/L)$	۹/۲	۸/۷	٥/۱	٥/۰	٤/۹	
$Cd\ (ppb)$	۱	٥	٥	۲	٦	
$Cd\ (ppb)$	۱۹	٦٦	۷۰	۳۸	٤۷	نمونه رسوب
$TOM\ (\%)$	٥/٤	۷/٥	۱۹/۰	۲۲/٥	۲۲/۰	

[Downloaded from sjsph.tums.ac.ir on 2024-11-05]

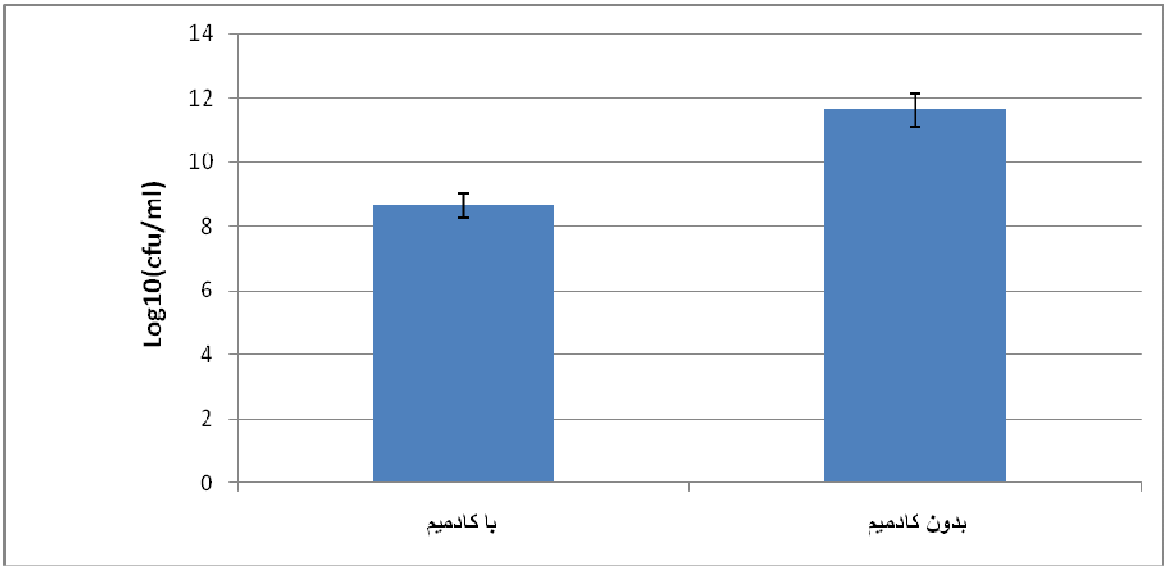


نمودار ۱-۱: میانگین مقدار کادمیم در آب و رسوب طی چهار فصل (تعداد= ۳)

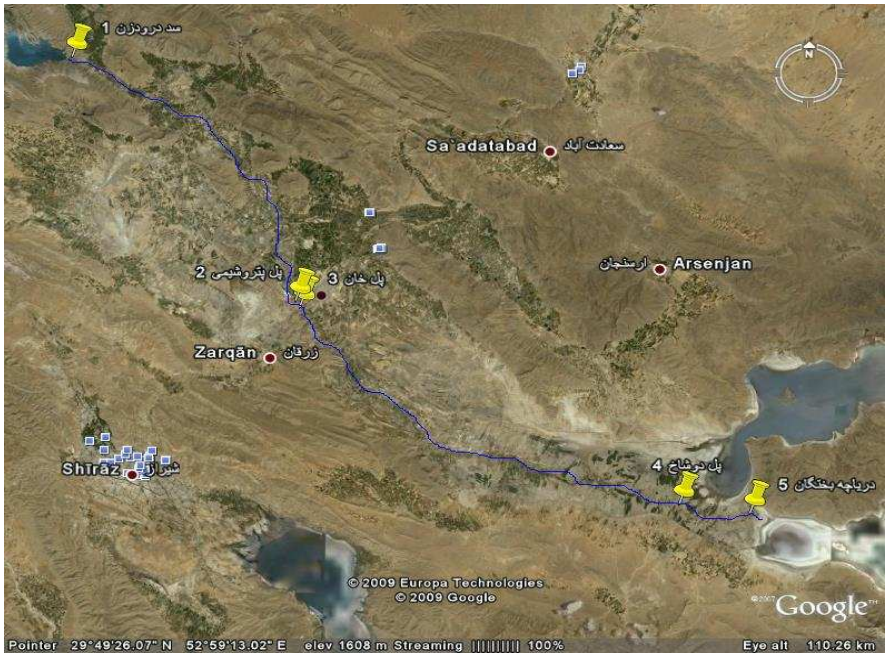


نمودار۲-۱: میانگین شمارش باکتری ها در آب و رسوب طی چهار فصل (تعداد= ۳)

[Downloaded from sjsph.tums.ac.ir on 2024-11-05]



نمودار۲-۲: میانگین شمارش باکتری ها تحت تاثیر کادمیم (تعداد= ۳)



عکس ۱: محدوده مطالعاتی و ایستگاه های نمونه برداری

[Downloaded from sjsph.tums.ac.ir on 2024-11-05]

Refrences

Abolahrar, S. and Moghbeli. M., 2006. Biofilter in remediation of waste water with organic matters, The 9th National Congress on Environmental Health, Isfahan University of Medical Science, Iran, pp.153-154.

Akcay, H., Oguz, A. and Karapire, C., 2003. Study of heavy metal pollution and speciation in Buyak Menderes and Gediz river sediments, Water Research. 37, pp.813-822.

Amoroso, M. J., Oliver, G. and Castro, G. R., 2002. Estimation of growth inhibition by copper and cadmium in heavy metal tolerant *actinomycetes*, Basic Microbiol., 42, No.4, pp.231-237.

APHA, AWWA, WEF., 2005. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 21st Edition.

Bidokhti,N. and Rakhshandero, Gh., 2000. Monitoring of pollutants in the Kor and Sivand Rivers, Iran Department of Environment and Shiraz University.

Caetano, M., Madureira, M.J. and Vale, C., 2003. Metal romobilisation during resuspension of anoxic contaminated sediment: Short-term laboratory study, Water, Air, and Soil Pollution, 143, pp.23-40.

Cervantes, C., Espino-Saldana, A.E., Acevedo-Aquilar, f. and Leon-Rodriquez, I.L., 2006. microbial iteractions with heavy metals, Rev Latinoam Microbiology. **48**(2), pp.203-210

Chen, L., Jin, T., Huang, B. and Nordberg, G., 2006. Critical exposure level of cadmium for elevated urinary metallothionein: An occupational population study in China, Toxicology and applied pharmacology. 215, pp.93-99.

Cheung, K.C., Poon, B.H., Lan, C.Y. and Wong, M.H., 2003, Assessment of metal and nutrient concentration in river water and sediment collected from the cities in the Pearl river delta, south China, Chemosphere. **52**(9), pp.1431-1440.

Clinical and Laboratory Standard Institute., 1999. M26-A: Methods for determining bactericidal activity of antimicrobial agents. Wayne, PA: CLSI.

Davies, O.A., Allison, M.E. and Uyi, H.S., 2006. Bioaccumulation of heavy metals in water, sediment and periwinkle (*Tympanotonus fuscatus var radula*) from the Elechi Creek, Niger Delta, African Journal of Biotechnology, **5**(10), pp.968-973.

Davison, J., 2005. Risk mitigation of genetically modified bacteria and plants designed for bioremediation, Journal of

[Downloaded from sjsph.tums.ac.ir on 2024-11-05]

Industrial Microbiology Biotechnology, 32, pp.639-650.

Haq, R., Zaidi, S.K. and Shakoori, I.R., 1999. Cadmium resistant *Enterobacter cloacae* and *Klebsiella sp*. isolated from industrial effluents and their possible role in cadmium detoxification, Word Journal of Microbiology and Biotechnology. 15, pp.283-290.

Harrison, J.J, Ceri, H., Stremick, C.A. and Turner, R.J., 2004, Biofilm susceptibility to metal toxicity, Environmental Microbiology, **6**(12), pp.1220-1227.

Hassen, A., saidi, N., cherif, M. and Boudabous, A., 1998. Effects of heavy metals on *Pseudomonas aeruginosa* and *Bacillus Thuringiensis*, Bioresource Technology. 65, pp.73-82.

Ikeda, M., Shimbo, S., Watanabe, T. and Yamagami, T., 2006. Correlation among cadmium levels in river sediment, in rice, in daily foods and in urine of residents in 11 prefectures in Japan, Arch occupation environmental health. 79, pp.365-370.

Jahanmiri, A., 1995, Study of heavy metals in the Kor River, Iran Department on Environment and Shiraz University.

Jin, T., Nordberg, M., Frech, W. and Dumont, X., 2002. Cadmium biomonitoring and renal dysfunction among a population environmentally exposed to cadmium from smelting in China (ChinaCad), BioMetals, 15, pp.397-410.

Johansson, M., 2002. A review of risks associated to Arsenic, Cadmium, Lead, Mercury and Zinc, Published by Kalmer University Sweden, Department of Biology and Environmental Science, 162P.

Kafilzadeh, F. and Abolahrar, S., 2007. Isolation of microorganisms with Cd, Hg and Cr remediation activities in the Kor River, Iran Department of Environment.

Koplan, J.P., 1999, Toxicological profile for cadmium, Published by ATSDR, U.S. department of health and human services.

Korlali, S.I. and Davies, B.E., 2005, Seasonal variations of trace metal chemical forms in bed sediments of Karstic River in Lebanon: implication for self-purification, Environmental Geochemistry and Health, 27, pp.885-895.

Low, K.S., Lee, C.K. and Liew, S.C., 2000. Sorption of cadmium and lead from aqueous solutions by spent grain, Process biochemistry, 36, pp.59-64.

Maier, R.M., Pepper, I.L. and Gerba, C.P., 2000. Environmental Microbiology, Academic press: San Diego, 585P.

National Committee for Clinical and Laboratory Standard., 1997. M7-A4: Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow

[Downloaded from sjsph.tums.ac.ir on 2024-11-05]

Aerobically, 4th ed. Approved standard M7-A4. Villanova, PA: NCCLS.

Raja, C.E., Anbazhagan, K. and Selvam, G.S., 2006. Isolation and characterization of a metal-resistant *Pseudomonas aeruginosa* strain, World Journal of Microbiology and Technology, 22, pp.577-585.

Richards, J.W., Krumholz, G.D., Chval, M.S. and Tisa, L.S., 2002, Heavy metal resistance patterns of *Frankia* strains, Applied and Environmental Microbiology. **68**(2), pp.923-927.

Ron, E.Z., 2007. Biosensing environmental pollution, Current Opinion in Biotechnology. 18, pp.252-256.

Sharma, P. K., Balkwill, D. L., Frenkel, A. and Vairavamurthy, M. A., 2000. A new *Klebsiella planticola* strain (Cd-1) grows Anaerobically at high cadmium concentration and precipitates cadmium sulfide, Applied and Environmental microbiology. **66**(7), pp.3083-3087.

Teitzel, G.M. and Parsek, M.R., 2003. Heavy metal resistance of biofilm and planktonic *Pseudomonas aeruginosa*, Applied and Environmental Microbiology. **69**(4), pp.2313-2320.

Titus, J. A. and Pfister, R. M., 1984. Bacteria and cadmium interaction in natural and laboratory model aquatic systems, Arch. Environ. Contam. Toxicol. 13, pp. 271-277.

Vullo, D., Ceretti, H.M., Hughes, E.A. and Ramirez, S., 2005, Indigenous heavy metal multiresistant microbiota of Las Catonas stream, Environmental Monitoring and Assessment, 105, pp. 81-97.

Yousefi, Z., Akbarpour, S. and Ibrahimi, P., 2006. Evaluation of Cd and Cu absorption by macro algae from Caspian sea, The 9th National Congress on Environmental Health, Isfahan University of medical Science, Iran. Pp.143-144.

[Downloaded from sjsph.tums.ac.ir on 2024-11-05]