

زیایی 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

بید کفیل زاده: استادیار، گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم، جهرم، ایران

بنه ابوالاحرار: کارشناس ارشد، گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم، جهرم، ایران-نویسنده رابط: t_ahrar@yahoo.com

مد کارگر: استادیار، گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم، جهرم، ایران

م قدسی: مربی، گروه آمار و ریاضی، دانشکده ریاضی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم، جهرم، ایران

نخ دریافت: ۱۳۸۸/۳/۱۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۹/۲/۲۸

لیده

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

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

آلودگی به کادمیم در ایستگاه های دو و سه به طور معنی داری بیش از سایر ایستگاه ها بود ($p < 0/001$) (هم چنین میزان این فلز در بات تمام ایستگاه ها بیش از آب بوده ($p < 0/001$) و نسبت به استانداردهای موجود قابل توجه بوده است. کاهش نسبت BOD/COD و ایستگاه آخر و افزایش فسفات در چهار ایستگاه آخر مشاهده شد. در مقایسه با گروه شاهد، شمارش باکتری ها در حضور یک میلی مولار یم به صورت معنی دار کاهش یافت ($p < 0/001$). حداکثر مقاومت به کادمیم در *P.aeruginosa* ETs و *Bacillus ABS* مشاهده شد MIC آن ها به ترتیب شش و چهار و MBC به ترتیب هفت و پنج میلی مولار به دست آمد. شمارش باکتری های قابل کشت و مقاوم به یم در ایستگاه سه و پنج بیش از سایر ایستگاه ها می باشد ($p < 0/001$). مقاوم ترین باکتری ها گرم منفی بوده و از رسوبات شناسایی شدند. گیری: آلودگی به کادمیم خصوصاً در ایستگاه های دو و سه مربوط به فعالیت های انسانی می باشد. هم چنین علیرغم حساس بودن ری 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 که برخلاف آب که محیطی ناپایدار است، رسوب شرایط مناسبی را برای تشکیل زیست لایه (بیوفیلم) باکتریایی و مقابله با استرس کادمیم م می نماید اگرچه این مساله مورد اتفاق نظر پژوهشگران نمی باشد. مقاوم ترین باکتری ها از آلوده ترین ایستگاه ها شناسایی شدند این ه می تواند به لقاء بیان زن های مقاومت در حضور کادمیم مرتبط باشد. با توجه به مشکلات ناشی از تخلیه پساب ها به رودخانه، این ی 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

امروزه به دلیل افزایش فعالیت های اقتصادی- صنعتی و کشاورزی همراه با رشد جمعیت متاسفانه مقادیر زیادی از آلاینده ها وارد زیست بوم (اکوسیستم) های طبیعی و به دنبال آن وارد پیکر موجودات زنده می گردد. آلاینده های آلی تا حدودی تجزیه پذیرند و خصوصاً توسط میکروارگانیسم ها غیرسمی می شوند؛ درحالی که فلزات سنگین در اثر واکنش های شیمیایی، حرارت و فعالیت های میکروبی قابل تجزیه نیستند و همگی خصوصاً کادمیم خاصیت تجمع در بافت ها (Bioaccumulation) و بزرگ نمایی زیستی (Biomagnifications) را نیز دارند. (Johansson 2002). فعالیت های شهری، صنعتی و کشاورزی از عوامل اصلی آلودگی در رودخانه کر به شمار می آیند. از جمله این موارد مجتمع صنعتی گوشت فارس، پتروشیمی، مجتمع کارخانجات آزمایش، کارخانه قند، پالایشگاه، کارخانجات کاشی و لعاب، شهرک صنعتی و زهکش های فاضلاب شهر مرودشت را می توان نام برد (Bidokhti and Rakhshandehro 2000; Jahanmiri 1995). کادمیم به عنوان یک فلز سنگین و جزو ده فلز انتخابی (Top ten) در لیست سیاه توافقنامه های حفاظت از محیط زیست و سازمان جهانی بهداشت می باشد (Haq et al. 1999; Sharma et al. 2000). مصارف عمده آن شامل ساخت باتری، رنگدانه های صنعتی، تثبیت کننده ها و تولید لعاب و روکش برای فلزات است. هم چنین کودهای فسفاته، برخی از قارچ کش ها و سموم دفع آفات نباتی نیز دارای مقادیر قابل توجه از این فلز سمی می باشند. حاصل ورود بی رویه کادمیم به محیط زیست و چرخه های زیستی برای انسان، بیماری هایی از قبیل اسفنجی شدن استخوان، اختلالات کبدی و کلیوی، نارسایی ریوی، بیماری های خود ایمنی،

تخریب گلبول های قرمز و برخی از سرطان ها می باشد (Koplan 1999; Johansson 2002). طی یک تحقیق در ژاپن بین مقدار کادمیم در رسوبات رودخانه و میزان آن در گیاه برنج و ادرار ساکنان منطقه ارتباط معنی داری نشان داده شد (Ikeda et al. 2006). این موضوع با از کار افتادگی کلیه ها و تخریب بافت استخوانی کاملاً مرتبط می باشد (Jin et al. 2002). در میکروارگانیسم هایی مانند باکتری ها، کادمیم مانع از همانندسازی DNA، تولید پروتئین و رنگ دانه می گردد (Hassen et al. 1998). تاکنون در ایران مطالعه ای بر روی باکتری های مقاوم به کادمیم در آب شیرین و رسوبات رودخانه ای و تاثیر سمیت این فلز انجام نشده است. کفیل زاده در سال ۱۳۸۴ مقادیر چندین فلز سنگین از جمله کادمیم را در آب و رسوبات رودخانه کر تعیین نمود. یوسفی و همکاران در سال ۱۳۸۵ ماکروجلبک های جذب کننده کادمیم را از دریای خزر جداسازی کردند. Vullo و همکاران در سال ۲۰۰۵ دو سویه از باکتری سودوموناس را از رسوبات رودخانه ای در آرژانتین جدا و مقاومت آن ها را به نیم میلی مولار کادمیم بررسی نمودند. امروزه گرایش جهانی به کاربردی کردن علوم نوینی مانند فن آوری - زیست فن آوری، زمینه های لازم را برای به کار گیری این علوم در جهت حمایت از محیط زیست و حفظ سلامت انسان فراهم نموده است. استفاده از باکتری های مقاوم در صافی های زیستی برای تصفیه پساب ها از جمله فن آوری های جدید و مفید در این زمینه است (Abolahrar and Moghbeli 2006; Cervantes 2006). هدف از پژوهش حاضر تعیین مقدار کادمیم و عوامل فیزیکی - شیمیایی و زیستی در آب و رسوبات رودخانه کر در استان فارس و بررسی سمیت این فلز بر روی باکتری های قابل کشت و تعیین طیف مقاومت/ تحمل از طریق اندازه گیری حداقل غلظت بازدارنده رشد (MIC) و حداقل غلظت کشنده

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 و نمونه 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 فلئوئوریدریک و مخلوط یک به سه از اسید کلریدریک و اسید نیتریک هضم و سپس میزان کادمیم در نمونه های آب و رسوب توسط دستگاه اسپکترومتر جذب اتمی مدل CTA3000 ساخت انگلستان اندازه گیری شد. میزان نیترات، نیتريت، 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 اندازه گیری میزان فسفات می تواند 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 نمونه های آب و مواد کل آلی (TOM) به روش واکی بلک در نمونه های رسوب می باشد.

روش های میکروبی: هدف از انجام این مرحله جداسازی و شناسایی باکتری های قابل کشت و مقاوم به کادمیم در نمونه های 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 گیری اول: ابتدا رقت های 10^{-5} - 10^{-6} از نمونه های

باکتری (MBC) و یافتن باکتری هایی با مقاومت بالا می - باشد. چنین باکتری هایی در بیوصافیها برای اصلاح زیستی پساب ها و حذف کادمیم حایز اهمیت هستند (Kafilzadeh and Abolahrar 2007). در غربال گیری سوم یافتن باکتری هایی با مقاومت بالا نسبت به کادمیم می تواند به عنوان یک شاخص زیستی و بیان گر آلودگی در محیط تلقی گردد (Hassen et al. 1998).

ش کار

انتخاب ایستگاه ها و نمونه برداری: آلودست سد درودزن به دلیل شیب زیاد و اکسیژن گیری آب با حداقل آلودگی و کیفیت خوب وارد سد می د. تنها منبع آلودگی در این بخش مربوط به استفاده بی از کودهای شیمیایی و سموم آفت کش است. در پایین ت سد تخلیه فاضلاب های خام و تصفیه شده شهری و تی موجب افزایش آلودگی رودخانه شده (Bidokhti and Rakhshandehro 2002) و لذا پنج ایستگاه مورد در این تحقیق از زیر دست سد انتخاب شده اند. صات این ایستگاه ها توسط موقعیت سنج ماهواره ای Etrex ساخت چین ثبت گردید. به ترتیب ایستگاه یک ن از سد درودزن ($30^{\circ}12'144''N, 52^{\circ}26'899''E$)، ایستگاه دو پتروشیمی ($29^{\circ}51'49''N, 52^{\circ}45'809''E$)، ایستگاه سه پل خان ($29^{\circ}51'016''N, 52^{\circ}46'254''E$)، ایستگاه چهار پل ناخ ($29^{\circ}46'118''N, 53^{\circ}68'012''E$) و ایستگاه پنج دی بختگان ($28^{\circ}45'418''N, 53^{\circ}70'101''E$) می . (عکس ۱). از هر ایستگاه دو سری نمونه آب و دوسری نه رسوب جمع آوری گردید تا آزمایش های میکروبی و کی - شیمیایی هم زمان انجام شوند. نمونه های آب از ، پنجاه سانتی متری سطح آب و نمونه های رسوب از

"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 و 5 Mm و غلظت‌های 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 0.1 ml 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 99/9٪ کاهش یافته بود به عنوان MBC در نظر گرفته شد. برآوردهای آماری در این پژوهش با نرم افزار SPSS نسخه‌ی 16 و آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و مقایسه‌های دو به دو به روش دانکن انجام شد.

نتایج

1- نتایج عوامل فیزیکی - شیمیایی و زیستی: در کلیه ایستگاه‌ها مقدار کادمیم در رسوبات به طور معنی‌دار بیش از آب است ($p < 0/001$). مقدار متوسط به دست آمده از ایستگاه‌ها در نمودار 1-1 گنجانده شده است. هم‌چنین مقادیر کلیه عوامل زیستی و فیزیکی - شیمیایی در جدول 1 آورده شده است. به طور متوسط بیشترین آلودگی از نظر میزان کادمیم مربوط به ایستگاه‌های دو و سه ($p < 0/001$) و از نظر کلیه فاکتورها BOD/COD ایستگاه‌های سه و پنج می‌باشد. کاهش نسبت

و رسوب تهیه شده سپس از هر رقت بر روی محیط ت‌نوترینت آگار ساخت مرک آلمان حاوی یک میلی از از نمک کلرید کادمیم و در مقابل محیط کنترل فاقد فلز ت داده شد. محیط‌های کشت در دمای $30^{\circ}C$ انکوبه یده و پس از 120-48 ساعت مورد بررسی قرار گرفته و ی‌های مقاوم/متحمل جداسازی شدند. پس از شمارش ها در گروه شاهد و آزمون، با تهیه کشت خالص از هر ی، انجام رنگ آمیزی و تست‌های افتراقی، هر باکتری حد جنس و/یا گونه شناسایی گردید. غربال‌گری دوم: به منظور ارزیابی توان رشد هر ی و یافتن مقاوم‌ترین باکتری‌ها در این مرحله به ازاء ک از باکتری‌های خالص سازی شده، پنج سری محیط ت لوریا- براتی حاوی غلظت‌های 0، 2، 3، 4 و 5 ، مولار از کلرید کادمیم تهیه و مطابق با استاندارد یک مک د، یک میلی لیتر از سوسپانسیون باکتریایی به هر لوله وده گردید. پس از ثبت OD₆₀₀ اولیه با دستگاه کتروفوتومتر مدل Shimadzu-UV.120 ساخت ژاپن و باسیون به مدت 72 ساعت، OD₆₀₀ ثانویه نیز ثبت شد. ت صفر به معنی کنترل و دارای بالاترین مقدار OD₆₀₀ باشد.

غربال‌گری سوم: محاسبه حداقل غلظت

بازدارنده رشد (MIC) Minimum Inhibitory Concentration و حداقل غلظت کشنده باکتری (MBC) Minimum Bactericidal Concentration روش‌هایی استاندارد برای تعیین حداکثر مقاومت یک باکتری می‌باشد (Amoroso et al. 2002). برای باکتری‌های منتخب از غربال‌گری دوم، MIC و MBC مطابق با پروتوکول National Committee for Clinical Laboratory Standard (NCCLS) با نام جدید (CLSI) Laboratory Standard Clinical and Laboratory Standard Institute به شماره‌های M26-A، M7-A5 انجام پذیرفت (CLSI, NCCLS). براساس روش

به شمار می آیند. به طور کلی سابقه آلودگی در نواحی 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 پساب های خام و تصفیه شده شهرمرو دشت و نواحی مجاور و پساب های کشاورزی و صنعتی در ایستگاه سه، آلودگی در این ایستگاه ها قابل توجه است. افزایش معنی دار کادمیم در رسوبات نسبت به آب از رودخانه های اوتاوا در کانادا (Titus and Pfister 1984) و رودخانه الجی 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 و علت تخریب استخوان ها نیز می باشد (Johansson 2002). هم چنین استاندارد این فلز برای حیات آبریان 0.06 ppb تعیین شده که به لحاظ کمی قابل نمایش در نمودار ۱-۱ نمی باشد و متأسفانه در تمام ایستگاه ها مقدار کادمیم به طور معنی دار از این حد تجاوز نموده است. از سوی دیگر کادمیم آستانه آلودگی ندارد و منظور 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 0.3 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

و ایستگاه آخر و افزایش فسفات در چهار ایستگاه مشاهده شد.

نتایج روش های میکروبی: غربالگری اول: گین شمارش باکتری ها در تمامی ایستگاه ها نشان می که رسوبات در مقایسه با آب به طور معنی دار (0.001) از باکتری های بیشتری برخوردارند (نمودار ۲-۱). از سوی ر میانگین شمارش باکتری ها در حضور یک میلی مولار مک کادمیم در مقایسه با کنترل فاقد فلز به طور معنی ($p < 0.001$) کاهش نشان می دهد (نمودار ۲-۲). سومین در این بخش نشان می دهد که شمارش باکتری های م در ایستگاه های سه و پنج بیش از سایر ایستگاه ها بوده است ($p < 0.001$). هم چنین فراوان ترین باکتری های ایزوله در طی این تحقیق *Pseudomonas Spp.* با شمارش $(\log_{10} \text{ cfu/ml})$ بوده و کمیاب ترین باکتری *Citrobacter S* با شمارش $2/1 (\log_{10} \text{ cfu/ml})$ باشد که تنها در ایستگاه سه مشاهده گردید.

ل گری دوم: برخی از باکتری های این تحقیق که از پنج گاه ایزوله شده اند به دو تا پنج میلی مولار کادمیم مت نشان داده و بیشترین کدورت و بهترین رشد را پس ۷ ساعت در OD_{600} نشان دادند. بیشترین باکتری های م، گرم منفی و مربوط به رسوبات می باشند. ل گری سوم: پنج باکتری گرم منفی و دو گرم مثبت از نظر کثر مقاومت از طریق MIC و MBC بررسی شدند *Pseudomonas aeruginosa* E M برابر شش و MBC هفت میلی مولار و *Bacillus* A از ایستگاه دو با MIC برابر چهار و MBC پنج میلی ز حداکثر مقاومت را به کادمیم نشان داده اند (منحنی های ۲-۷ تا ۲-۸).

ش

در بخش های مورد مطالعه فعالیت های شهری، نری و کشاورزی از عوامل اصلی آلودگی در رودخانه کر

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.aeruginosa* 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 *P.aeruginosa* ETs در تحقیق حاضر با MIC برابر ۶ و MBC معادل ۷ کارآمدی بهتری را ارائه 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 می گردد. به ویژه آن که این باکتری ها بومی بوده و عدم نیاز به دست ورزی های ژنتیکی از مزایای آنها می باشد 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 می تواند 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 منظور در تحقیق حاضر بررسی رودخانه از نظر عوامل فیزیکی - شیمیایی و زیستی و تعیین کیفیت آب در ایستگاه های پرخطر انجام شد. به دلیل متغیر بودن وضعیت رودخانه و تصادفی بودن زمان نمونه برداری، تکرار این تحقیق در زمان

ی از ایستگاه ها نشان دهنده ورود پساب های صنعتی و اورزی و فسفات شاخص غیرمستقیمی برای وجود بیم در آب است. این شرایط مشابه با وضعیت رودخانه در چین می باشد (Cheung et al. 2003). کنترل ، و کیفی انواع آلاینده ها و پساب ها از مسائل مهم و د توجه در دنیای امروز است و در این راستا برتری ن های زیستی بر روش های فیزیکی و شیمیایی امری می به شمار می آید (Low et al. 2000). در تحقیقی بر روی رودخانه اوتاوا صورت گرفته *Bacillus* Spp. ان ترین باکتری در آب و رسوب و *pseudomonas* Spp. مقاوم ترین باکتری به کادمیم معرفی شده اند (Titus and Pfister 198۱). حال آن که در پژوهش بر *Pseudomonas* Spp. نه تنها از تمامی ایستگاه ها سازی شده اند، بلکه به عنوان یکی از مقاوم ترین ری ها به کادمیم نیز می باشند. غربال گری اولیه در این یق مطابق با مطالعات Sharma و همکاران نشان می که شمارش باکتری ها در حضور کادمیم به طور معنی کاهش می یابد که خود بیان گر سمیت زیاد این فلز می - . در غربال گری دوم و سوم اکثریت باکتری ها گرم بوده و از رسوبات جدا شده اند. علت بالا بودن معنی تعداد باکتری ها در رسوب نسبت به آب و هم چنین ن شدن اکثریت باکتری های مقاوم/ متحمل به کادمیم در رسوبات را می توان به دلیل پایدار بودن محیط رسوب ت داد که در آن میکروارگانیسم ها به صورت لایه های م. و زیست لایه مستقر می شوند. در واقع تشکیل زیست به عنوان یک راهکار توسط باکتری ها و برای مقابله با ور مواد سمی و فلزات سنگین در محیط است که عامل ی در بقای آنان به شمار می آید (Teitzel and Parsek 20۰۰)؛ اگرچه در برخی از تحقیقات عکس این یه گزارش شده است (Harrison et al. 2004). ره بر این در تحقیق حاضر به نظر می رسد باکتری های منفی به دلیل فرم کشیده و بار منفی سطحی LPS و

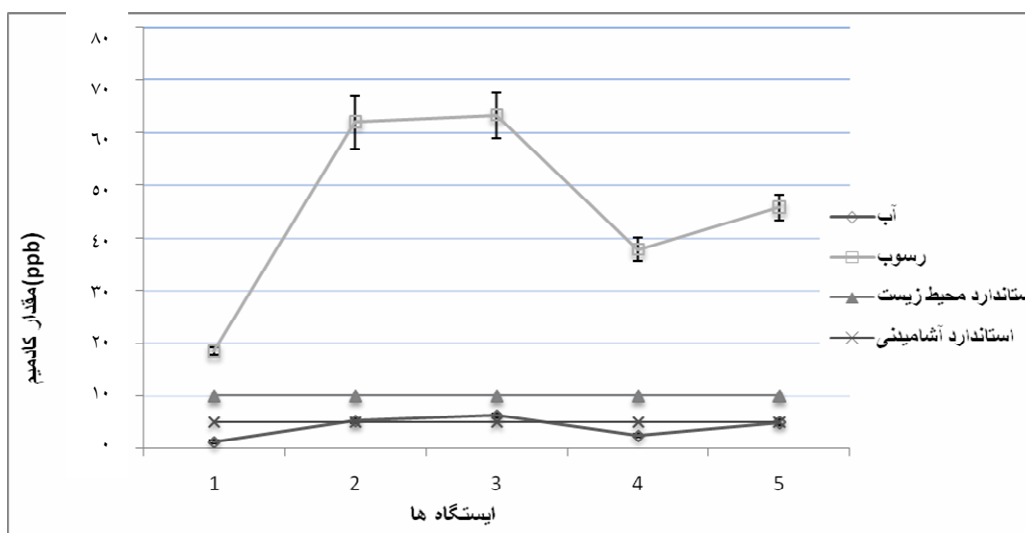
مختلف و ایستگاه های بیشتر پیشنهاد می گردد. هم
ن با توجه به مشکلات ناشی از تخلیه پساب ها به
خانه، باکتری های مقاوم/ متحمل در این پژوهش برای
ری در صافیهای زیستی و اصلاح زیستی فاضلاب ها
ز اهمیت می باشند.

تشکر و قدردانی

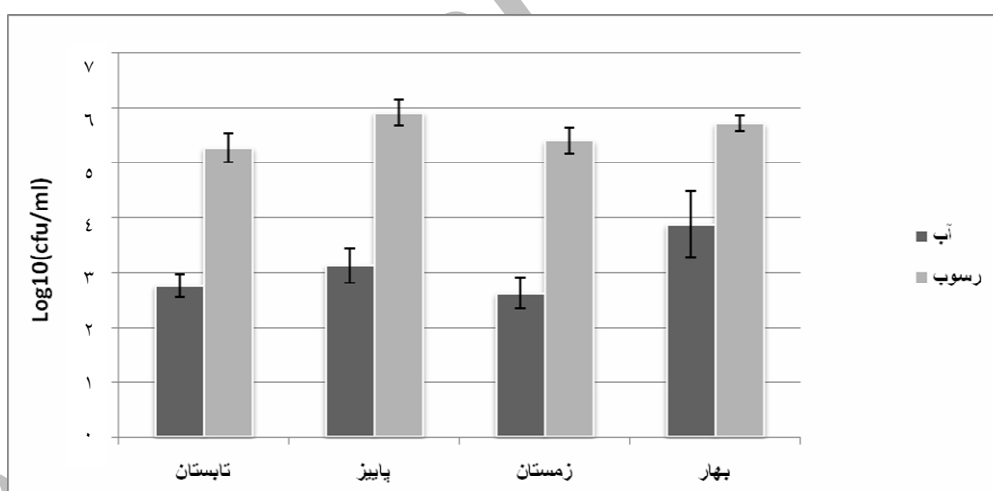
نظر به همکاری های بیدریغ و شایان توجه، از کلیه
پرسنل محترم اداره حفاظت از محیط زیست استان فارس
خصوصا بخش پژوهش در به انجام رساندن این طرح
سپاسگزاری و قدردانی می گردد.

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

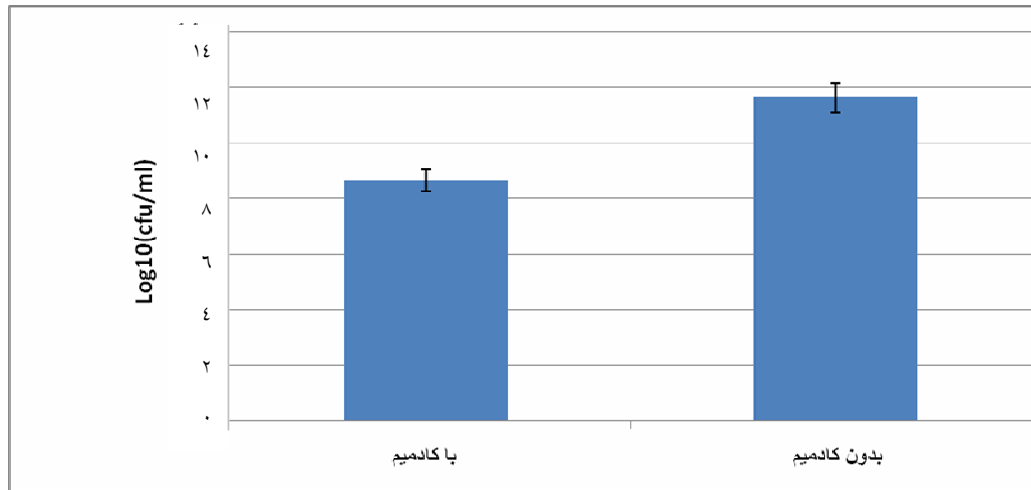
پارامترها	ایستگاه های نمونه برداری				
	۱	۲	۳	۴	۵
pH	۷/۹	۸/۰	۷/۹	۸/۱	۷/۸
$T(^{\circ}C)$	۲۲/۰	۲۲/۰	۲۳/۰	۲۲/۰	۲۱/۵
$Ec(\mu mhos/cm)$	۴۹۲	۸۹۵	۲۴۹۰	۳۳۶۰	۳۸۶۰
$NO_3^{-}(mg/L)$	۳/۰	۱۲/۰	۱۶/۰	۱۴/۰	۱۵/۰
$NO_2^{-}(mg/L)$	۰/۰۲۵	۰/۰۵۵	۰/۰۷	۱/۲	۱/۴
$Cl^{-}(mg/L)$	۶۰/۰	۱۴۹/۰	۴۴۸/۰	۸۱۸/۰	۱۵۴۴/۰
$PO_4^{3-}(mg/L)$	۰/۰۰۵	۰/۱۹	۰/۲۴	۰/۸	۰/۴
$NH_4^{+}(mg/L)$	۰/۰۲	۰/۰	۰/۲۵	۰/۲۶	۰/۳۷
$BOD_5(mg/L)$	۰/۸	۲/۸	۱۲/۴	۱۳/۶	۱۶/۲
$COD(mg/L)$	۱/۵	۳/۹	۳۶/۰	۷۶/۰	۸۱/۰
$DO(mg/L)$	۹/۲	۸/۷	۵/۱	۵/۰	۴/۹
$Cd(ppb)$	۱/۰	۵/۰	۵/۰	۲/۰	۶/۰
$Cd(ppb)$	۱۹/۰	۶۶/۰	۷۰/۰	۳۸/۰	۴۷/۰
$TOM(\%)$	۵/۴	۷/۵	۱۹/۰	۲۲/۵	۲۲/۰



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



نمودار ۲-۱: میانگین شمارش باکتری ها در آب و رسوب طی چهار فصل (تعداد= ۳)



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



عکس ۱: محدوده مطالعاتی و ایستگاه های نمونه برداری

References

- 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 mobilisation 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-Rodriguez, I.L., 2006. microbial interactions 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 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. 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(1) pp.968-973.
- Davison, J., 2005. Risk mitigation genetically modified bacteria and plants designed for bioremediation, Journal Industrial Microbiology Biotechnology 32, pp.639-650.
- Haq, R., Zaidi, S.K. and Shakoori, I. 1999. Cadmium resistant *Enterobacter cloacae* and *Klebsiella sp.* isolated from industrial effluents and their possible role in cadmium detoxification, World Journal of Microbiology and Biotechnology. 17 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*, Bioresources 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, Archives of environmental health. 79, pp.365-370.
- Jahanmiri, A., 1995, Study of heavy metals in the Kor River, Iran Department of 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 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 Microbiology and Technology*, 1, pp.577-585.
- Richards, J.W., Krumholz, G.D., Chv M.S. and Tisa, L.S., 2002, Heavy metal resistance patterns of *Frankia* strain Applied and Environmental Microbiology. 68(2), pp.923-927.
- Ron, E.Z., 2007. Biosensing environmental pollution, *Current Opinion Biotechnology*. 18, pp.252-256.
- Sharma, P. K., Balkwill, D. L., Frenkel, 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., 2001. 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., 1991. 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 I Catonas stream, *Environmental Monitoring and Assessment*, 105, pp. 89-97.
- Yousefi, Z., Akbarpour, S. and Ibrahim P., 2006. Evaluation of Cd and Pb absorption by macro algae from Caspian sea, The 9th National Congress Environmental Health, Isfahan University of medical Science, Iran. Pp.143-144.