

وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور - پژوهشکده اکولوژی دریای خزر

عنوان:

**بررسی کمی و کیفی اندیکاتورهای میکروبی
دریاچه پشت سد شهید رجایی -
استان مازندران (ساری)**

مجری:

زهرا یعقوب زاده

شماره ثبت

۴۹۹۰۳

وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور- پژوهشکده اکولوژی دریای خزر

عنوان پروژه : بررسی کمی و کیفی اندیکاتورهای میکروبی دریاچه پشت سد شهید رجایی- استان مازندران
(ساری)

شماره مصوب پروژه : ۹۲۰۰۳-۹۲۵۴-۱۲-۲۶-۱۴

نام و نام خانوادگی نگارنده/ نگارندگان : زهرا یعقوب زاده

نام و نام خانوادگی مجری مسئول (اختصاص به پروژه ها و طرح های ملی و مشترک دارد) :

نام و نام خانوادگی مجری / مجریان : زهرا یعقوب زاده

نام و نام خانوادگی همکار(ان) : محمود رامین ، حسن نصراله زاده ساروی ، رضا پورغلام، آسیه مخلوق، رضا

صفری، مریم قیاسی، شهریار بهروزی، مهدی مقیم، حمیدرمضانی ، محمود قانعی تهرانی، مجید ابراهیم زاده،

علی اکبر عرب احمدی

نام و نام خانوادگی مشاور(ان) : -

نام و نام خانوادگی ناظر(ان) : -

محل اجرا : استان مازندران

تاریخ شروع : ۹۲/۴/۱

مدت اجرا : ۲ سال و ۶ ماه

ناشر : موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور

تاریخ انتشار : سال ۱۳۹۵

حق چاپ برای مؤلف محفوظ است . نقل مطالب ، تصاویر ، جداول ، منحنی ها و نمودارها با ذکر مأخذ
بلامانع است .

«سوابق طرح یا پروژه و مجری مسئول / مجری»

پروژه : بررسی کمی و کیفی اندیکاتورهای میکروبی دریاچه پشت

سد شهید رجایی - استان مازندران (ساری)

کد مصوب : ۹۲۰۰۳-۹۲۵۴-۱۲-۷۶-۱۴

شماره ثبت (فروست) : ۴۹۹۰۳ تاریخ : ۹۵/۵/۹

با مسئولیت اجرایی سرکار خانم زهرا یعقوبزاده دارای مدرک

تحصیلی کارشناس ارشد در رشته میکروبیولوژی می باشد.

پروژه توسط داوران منتخب بخش اکولوژی منابع آبی در تاریخ

۹۵/۳/۵ مورد ارزیابی و بارتبه خوب تأیید گردید.

در زمان اجرای پروژه، مجری در :

ستاد □ پژوهشکده ■ مرکز □ ایستگاه □

با سمت کارشناس ارشد آزمایشگاه پلانکتون در پژوهشکده

اکولوژی دریای خزر مشغول بوده است.

| عنوان | «فهرست مندرجات» | صفحه |
|---|-----------------|------|
| چکیده | | ۱ |
| ۱- مقدمه | | ۲ |
| ۱-۱- شاخص های باکتریایی | | ۲ |
| ۱-۱-۱- کل کلیفرم ها | | ۴ |
| ۱-۱-۲- کلیفرم های گرم پای | | ۴ |
| ۱-۱-۳- استرپتو کوک های مدفوعی | | ۴ |
| ۱-۱-۴- کلستریدیوم پرفرنزنس | | ۶ |
| ۱-۱-۵- روش شمارش کلی باکتریها | | ۶ |
| ۱-۲- محیط کشت های مورد استفاده | | ۸ |
| ۱-۲-۱- محیط کشت پلیت کانت آگار Tc | | ۸ |
| ۱-۲-۲- محیط کشت کروم آگار ECC | | ۸ |
| ۱-۲-۳- محیط کشت KF آگار انتخابی استرپتو کوک | | ۹ |
| ۱-۲-۴- محیط کشت SPS | | ۹ |
| ۱-۳- سد شهید رجایی | | ۹ |
| ۱-۳-۱- رودخانه های منتهی به سد شهید رجایی | | ۱۱ |
| ۱-۳-۲- کاربری سد | | ۱۲ |
| ۱-۳-۳- تاثیر سدها بر اکوسیستم منابع آبی | | ۱۲ |
| ۱-۳-۴- تاثیر سدها در کاهش خود پالایی رودخانه ها | | ۱۳ |
| ۲- پیشینه تحقیق | | ۱۵ |
| ۲-۱- مطالعات انجام شده در داخل کشور | | ۱۵ |
| ۲-۲- مطالعات انجام شده در خارج از کشور | | ۱۵ |
| ۳- مواد و روشها | | ۱۶ |
| ۳-۱- ایستگاههای نمونه برداری | | ۱۶ |
| ۳-۲- آماده سازی نمونه ها | | ۱۷ |
| ۳-۳- آزمایشات باکتریایی | | ۱۸ |
| ۳-۴- روشهای کشت | | ۱۸ |
| ۳-۴-۱- روش پور پلیت | | ۱۸ |

| صفحه | عنوان | «فهرست مندرجات» |
|------|--|-----------------|
| ۱۸ | ۲-۴-۳- روش سطحی | |
| ۱۹ | ۵-۳- آنالیز داده ها | |
| ۲۰ | ۴- نتایج | |
| ۲۰ | ۱-۴- مقایسه شاخص های باکتریایی در ایستگاههای مختلف | |
| ۲۲ | ۲-۴- تغییرات باکتریهای شاخص در ماههای مختلف | |
| ۲۵ | ۵- بحث | |
| ۲۹ | ۶- نتیجه گیری | |
| ۳۰ | منابع | |
| ۳۲ | چکیده انگلیسی | |

چکیده

یکی از سدهای مهم کشور سد مخزنی شهید رجایی، ساری می باشد که در این مطالعه برخی شاخص‌های باکتریایی آب آن مورد ارزیابی قرار گرفت. پارامترهای باکتریایی شامل باکتری‌های کل، کلیفرم کل، کلیفرم مدفوعی، استرپتوکوک مدفوعی و باکتری‌های احیا کننده سولفیت در آب پشت سد شهید رجایی بمدت یک سال در پنج ایستگاه (ورودی شاخه شیرین رود، ورودی شاخه سفید رود، تلاقی شیرین رود و سفیدرود در مخزن، نزدیک به تاج (صفر، ۱۵ و ۳۰) و خروجی مخزن سد) و هفت نمونه طی شش دوره نمونه برداری (خرداد، تیر، مرداد، شهریور، آبان و بهمن) در سال ۱۳۹۲ مورد آزمایش قرار گرفتند. جهت آنالیز باکتریایی نمونه های آب از محیط کشت‌های TC توتال پلیت کانت آگار(شمارش کل باکتری‌ها) ECC کروم آگار (کلیفرم‌های کل و کلیفرم های مدفوعی)، SPS (باکتری‌های احیا کننده سولفیت) و KF (باکتری‌های استرپتوکوک مدفوعی) استفاده شده و کشت نمونه‌ها به روش کشت سطحی انجام گردید. محیط کشت ECC در دو دمای ۳۷ و ۴۴ درجه سانتیگراد Tc، KF و SPS در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴-۷۲ ساعت گرمخانه گذاری شدند. نتایج نشان داد که دامنه تغییرات میانگین لگاریتم کل باکتری‌ها در ماه های مختلف از $0.12 \pm 6/85$ CFU/100ml در شهریور ماه تا $0.15 \pm 4/65$ در بهمن ماه متغیر می باشد، دامنه تغییرات میانگین لگاریتم کلیفرم کل در ماه های مختلف از $0.15 \pm 4/63$ در شهریورماه تا $0.44 \pm 3/27$ CFU/100ml در بهمن ماه متغیر می باشد، دامنه تغییرات میانگین لگاریتم کلستریدیوم پرفرنجنس در ماه‌های مختلف از $0.89 \pm 4/17$ CFU/100ml در شهریور تا $0.13 \pm 3/07$ در بهمن ماه متغیر می باشد و دامنه تغییرات میانگین لگاریتم استرپتوکوک مدفوعی در ماه‌های مختلف از $0.19 \pm 3/59$ در شهریور ماه تا $0.17 \pm 3/10$ CFU/100ml در بهمن ماه متغیر می باشد. نتایج حاصل نشان دادند که بیشترین بار آلودگی شاخص باکتریایی در اکثر ایستگاه‌های این سد در مرداد و شهریور ماه می باشد. مقایسه نتایج این مطالعه و استانداردهای ایران در خصوص آب سطحی حاکی از آن است که تمامی باکتری‌های اندیکاتور مورد بررسی در دامنه استاندارد قرار داشته است. اگر آب پشت سد جهت مصرف آشامیدنی مد نظر باشد نیاز به تیمارهای بیشتر در هنگام تصفیه نهایی آن جهت مصارف آشامیدنی می باشد.

کلمات کلیدی: شاخص‌های باکتریایی آب، رودخانه تجن، سد شهید رجایی، ساری، مازندران

۱- مقدمه

استان مازندران به خاطر رطوبت دریا و ریزش باران یکی از حاصلخیزترین استان‌های کشور می‌باشد. شرایط اقلیمی موجود، رودخانه‌های فراوانی را در این منطقه جاری ساخته و سفره‌های گسترده‌ای از آب‌های زیرزمینی را فراهم ساخته است. بخش عظیمی از رودخانه‌های استان از جمله رودخانه تجن به دریا می‌ریزند و از این راه بخش وسیعی از اراضی از کشت آبی محروم و یا اصلاً مجال کشت نمی‌یابند. نقش حیاتی آب و تاثیر چشمگیر آن در برنامه ریزی زیربنایی کشور ایجاب می‌کند تا منابع آب سطحی و زیرزمینی کنترل کیفی و کمی شده، ذخیره سازی شوند. به همین دلیل مطالعات گسترده‌ای را در زمینه آب‌های سطحی و حفاظت کمی و کیفی منابع آب آغاز شده است و طرح‌های متعددی به مرحله اجرا درآمده تا سدهای گوناگون خاکی و آبی در سطح استان مانند سطح مخزنی کوثر در شرق سد صلاح‌الدین کلا در نوشهر، سد ایالات درنور، سد برنجستانک در قائم شهر و سد انحرافی تجن در شمال شرق ساری به پایان برسد (نودهی و حافظی مقدس، ۱۳۸۶).

سالیانه هزینه‌های هنگفتی به منظور بررسی مستمر سدهای کشور از نظر وجود آلاینده‌های مختلف انجام گرفته و علاوه بر بکارگیری نیروی انسانی، زمان زیادی صرف آزمایش و آنالیز فاکتورهای شیمیایی میگردد. امروزه در اکثر کشورها، اندازه‌گیری کمی و کیفی بیواندیکاتورها جایگزین روشهای شیمیایی گشته است.

۱-۱- شاخص‌های باکتریایی

شاخص‌های بیولوژیک یا بیواندیکاتور^۱ به موجوداتی اطلاق میگردد که در ارتباط مستقیم با تغییرات محیطی بوده و تعداد و نوع آنها تحت تاثیر آلاینده‌های شیمیایی قرار گرفته و تغییرات این ارگانسیم‌ها انعکاسی از شرایط موجود اکوسیستم میباشد. این موجودات دارای خواص شیمیایی و فیزیکی اختصاصی در شرایط اکولوژیکی متفاوت می‌باشند. از موجودات بیواندیکاتور برای تعیین کیفیت آب استفاده می‌شود. این فرآیند روش خاص اکولوژیکی بوده که کیفیت آب را بر مبنای شاخص‌های بیولوژیکی و بیوسنتز تعیین می‌کند. استفاده از بیواندیکارها به دلیل هشدار سریع در مورد آلودگی، باعث شناسایی سریع مناطق بحرانی میگردد (صفری و همکاران، ۱۳۸۶).

شاخص‌های متداول کیفیت باکتریایی آب شامل، کلستریدیوم پرفرنژنس^۲ (کلستریدیوم‌های احیاءکننده سولفیت)، گونه‌های باکتروفاژها^۳ و باکتری‌های هتروتروفیک^۴ می‌باشد. که از این بین کلیفرم‌های کل، کلیفرم‌های مدفوعی و استریپتوکوک‌های مدفوعی در ارزیابی کیفیت آب مخازن و دریاچه‌ها مورد استفاده می‌

^۱ - Bioindicator or Biological Indicator

^۲ - Clostridium perfringens

^۳ - Bacteriophage

^۴ - Heterotrophic Bacteria

گیرند. کلی فرم ها به عنوان شاخص باکتریایی مناسبی برای نشان دادن آلودگی مدفوعی در نمونه های آب مورد استفاده قرار می گیرند.

پراکنش میکروب های اندیکاتور در اکوسیستم های 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 (Environment Agency, 2002). غلظت باکتری اشرشیا کلی به کدورت، مختصات جریان آب و فصول بستگی دارد (Lawrence, 2012). فراوانی کلیفرم کل و کلیفرم مدفوعی بطور معکوس با شوری ارتباط دارد و بطور مستقیم با کدورت در ارتباط است. فراوانی باکتریایی روده به شدت با نیترات در ارتباط بوده و بطور ضعیف با غلظت ارتوفسفات در ارتباط است (Mallin et al, 2000).

ویژگی هایی که باعث شده این گروه از باکتری ها به عنوان شاخص باکتریایی برای نشان دادن آلودگی مدفوعی آب مورد استفاده قرار گیرند این است که زیستگاه طبیعی آن ها در دستگاه گوارشی حیوانات خون-گرم است لذا در مدفوع به تعداد زیاد حضور دارند. و دوام آن ها در آب بیش از باکتری های بیماریزای روده ای است که این باعث می شود هر گاه باکتری های بیماریزای روده ای در آب حضور دارند کلیفرم ها هم وجود داشته باشند. در آب تکثیر قابل توجهی ندارند زیرا زیستگاه طبیعی آن ها آب نیست بنابراین تعداد نسبی آن ها در نمونه های مختلف آب ، نشان داده می شود. کشت، شمارش و جداسازی آن ها در آزمایشگاه ساده تر از باکتری های بیماریزای روده ای است.

با این وجود با گذشت زمان مشخص شد که همه باکتری هایی که در گروه کلیفرم ها قرار می گیرند منشأ مدفوعی ندارند بلکه برخی منشأیی غیر از مدفوع مثلاً از خاک دارند. بنابراین زیرگروهی در گروه کلیفرم ها تعریف شد که با توجه به اینکه منشأ آن ها از مدفوع بود و نه از زیستگاه های دیگر به آن ها کلیفرم های مدفوعی^۵ می گویند. به کل کلیفرم ها (شامل مدفوعی و غیرمدفوعی) نیز توتال کلیفرم^۶ می گویند (Anderson, 2000; Environment Agency, 2002). کلیفرم های مدفوعی یا همان فکال کلیفرم ها باکتری هایی ترموتولرانت (مقاوم به گرما) یا اصطلاحاً گرماپای می باشند بدین معنی که قادرند تخمیر لاکتوز را با همان شرایطی که برای توتال کلیفرم ها ذکر شد انجام دهند ولی می توانند این فعالیت را در دمای ۴۴/۵ درجه سانتیگراد نیز انجام دهند. بنابراین در روش های آزمایشگاهی شمارش توتال کلیفرم ها و فکال کلیفرم ها توانایی تخمیر لاکتوز با تولید اسید و گاز به ترتیب در دمای ۳۵ درجه و ۴۴/۵ درجه مورد نظر قرار می گیرد (Anderson, 2000; Environment Agency, 2002).

⁵ - fecal coliform

⁶ - total coliform

۱-۱-۱- کل کلیفرم ها

عبارتند از باکتری های میله ای شکل ، هوازی و بی هوازی اختیاری ، گرم منفی، غیر اسپورزا که لاکتوز را با تولید گاز طی مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۵ درجه سانتیگراد تخمیر می کنند. این گروه شامل اشرشیاکلی ، انتروباکتر ، کلبسیلا و سیتروباکتر است. این ارگانسیم ها در مقایسه با ویروس ها و کیست های تک یاخته ای نسبت به گندزدایی مقاومت کمتری دارند، بنابراین شاخص مناسبی برای آلودگی ویروسی و تک یاخته ای نمی باشند. همچنین در تصفیه خانه های آب ، کل کلیفرم ها یکی از بهترین شاخص ها جهت تعیین کارایی واحدهای تصفیه است. بعضی از اعضای این گروه مانند کلبسیلا گاهی تحت شرایط مساعد محیطی در مواد زائد صنعتی و کشاورزی یافت می شود که این مسئله یک محدودیت برای این شاخص بشمار می رود (Anderson, 2000; Environment Agency, 2002).

۱-۱-۲- کلیفرم های گرمای

کلیفرم های مدفوعی یا کلیفرم های گرمای شامل همه کلیفرم هایی است که می توانند لاکتوز را در دمای ۴۴/۵ درجه سانتیگراد تخمیر کنند. در گروه کلیفرم مدفوعی، باکتری هایی نظیر اشرشیاکلی و کلبسیلا پنومونیه را نمی توان در آلودگی های انسانی و حیوانی به این وسیله از یکدیگر تشخیص داد. این ارگانسیم ها در مقایسه با ویروس ها و کیست های تک یاخته ای نسبت به گندزدایی مقاومت کمتری دارند. رشد مجدد این باکتری ها در شبکه های توزیع آبی که در آنها آب حاوی مواد آلی (BOD بیشتر از ۱۰ میلی گرم بر لیتر) و فاقد باقی مانده گندزدا جریان داشته و دما نیز از ۱۵ درجه سانتیگراد بیشتر بوده ، مشاهده شده است (Anderson, 2000; Environment Agency, 2002).

۱-۱-۳- استرپتو کوک های مدفوعی

انتروکوک ها کوکسی های گرم مثبت، بدون اسپور ، اکسیداز منفی ، کاتالاز منفی و جزء گروه D لانسفیلد بوده و عمدتاً " بصورت دوتایی و یا زنجیره ای وجود دارند. این باکتری ها بصورت هوازی و بیهوازی در حضور نمک های صفاوی و آزید سدیم (مهار کننده رشد کلی فرم ها و اکثر باکتری های گرم منفی) رشد می یابند. انتروکوک ها از اعضای مهم اجتماع روده ای در بسیاری از حیوانات هستند (Byappanahalli et al, 2015) این گروه شامل استرپتو کوکوس فکالیس^۷، استرپتو کوکوس بویس^۸، استرپتو کوکوس اکوئینوس^۹ و استرپتو کوکوس آویوم^{۱۰} است. دلیل استفاده از این باکتری ها تایید آلودگی مدفوعی آب در حضور و یا عدم حضور باکتری های گروه کلی فرم و اشریشیا کلی می باشد. از اینرو به این باکتری ها اندیکاتورهای ثانویه

⁷ - Enterococcus faecalis or Streptococcus faecalis

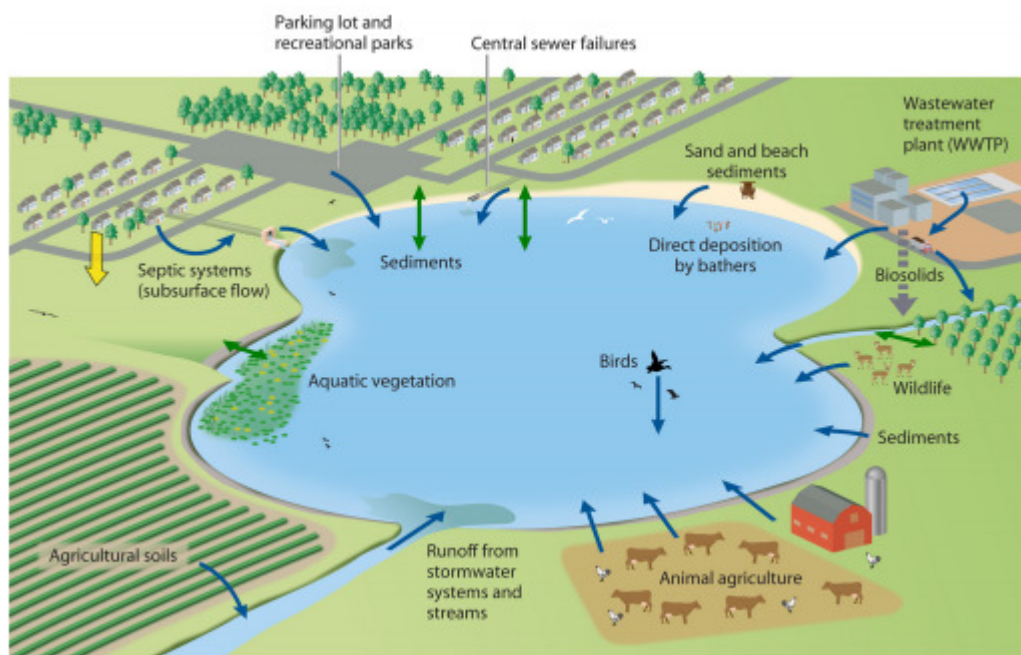
⁸ - Streptococcus bovis

⁹ - Streptococcus equinus

¹⁰ - Streptococcus avium

آلودگی مدفوعی آب اطلاق میشود. در هر گرم از مدفوع انسان تعداد 10^9 عدد از این باکتری‌ها وجود داشته در حالیکه در مدفوع حیوانات خونگرم، تعداد این باکتری‌ها بمراتب بیشتر از اشریشیا کلی می باشد. انتروکوکها بندرت در آب تکثیر یافته و نسبت به استرسهای محیطی دارای مقاومت بیشتری هستند. بطور کلی انتروکوکهای موجود در آب آلوده به دو گروه عمده تقسیم میشوند. گروه اول شامل فکالیس، فیسوم و دورانس و گروه دوم شامل بویس، اکوینوس و آویوم بوده که بطور طبیعی در مدفوع انسان وجود نداشته و جزء فلور طبیعی پستانداران خونگرم میباشند. از آنجائیکه این میکروارگانیسم‌ها معمولاً در دستگاه گوارش انسان و سایر حیوانات خون گرم زندگی می کنند، از آنها بعنوان شاخص آلودگی مدفوعی آب استفاده می شود. نسبت کلیفرم مدفوعی به استرپتوکوک های مدفوعی (FC/FS) شاخصی برای تشخیص منشأ آلودگی آب‌های سطحی می باشد. نسبت ۴ و یا بیشتر نشانگر آلودگی با منشأ انسانی و نسبت زیر ۰/۷ نشانگر آلودگی با منشأ حیوانی است. این میکروارگانیسم‌ها عموماً در دستگاه گوارش انسان و حیوانات زندگی می کنند و به ندرت در آب تکثیر یافته و همچنین مقاومتر از اشریشیا کلی و سایر کلیفرم‌ها هستند (Anderson, 2000; Environment Agency, 2002).

آلودگی مدفوعی آب آشامیدنی باعث شیوع تعداد زیادی از بیماری‌ها می گردد. از آنجا که خطرات ناشی از شیوع بیماری با بروز آلودگی مدفوعی مرتبط است، باکتری‌های مدفوعی به عنوان شاخص آلودگی مدفوعی هستند (Tallon et al, 2005).



شکل ۱: منابع انتروکوک در آب (فلش آبی) و همچنین فرو رفتن انتروکوک که در آن بی حرکت هستند (فلش زرد) و مناطق جریان یافتن، که در آن انتروکوک می تواند از یک مخزن به ستون آب و بالعکس انتقال یابد (فلش سبز) انتقال. جریانهایی که عمل می کند به عنوان منابع ثانویه و یا ته نشینی با توجه به شرایط.

۴-۱-۱- کلستریدیوم پرفرنزنس

جنس کلستریدیوم دارای بیش از ۱۰۰ گونه می باشد. این گروه از باکتری‌ها جزء باکتری‌های گرم مثبت، اسپوردار و بیهوازی اجباری بوده و سولفیت را به سولفید احیاء می کنند. بطور کلی کلستریدیوم‌ها باکتری‌های محیطی و ساپروفیت بوده و در خاک، آب و بافت‌های گیاهی و حیوانی قابل تجزیه وجود دارند. کلستریدیوم پرفرنجنس گونه کلیدی باکتری‌های احیاء کننده سولفیت بوده و علاوه بر این توانایی تخمیر لاکتوز، احیای نترات و ذوب ژلاتین را دارا می‌باشد. این باکتری در مدفوع انسان و حیوانات وجود دارد. این باکتری، حدود ۰/۵ درصد میکروفلور مدفوعی را تشکیل می دهد و در روده بزرگ وجود دارد. مقاومت زیاد اسپورهای آن در مقابل شرایط نامساعد محیطی و عوامل گندزدا باعث شده که بعنوان یک شاخص میکروبی مناسب شناخته شود. کلستریدیوم پرفرنزنس بعنوان یک شاخص مناسب برای ویروس‌ها و کیست‌های تک یاخته ای (از جمله کیست کریپتوسپوریدیوم پاووم) در تصفیه خانه های آب پس از گندزدایی با مخلوطی از اکسیدان‌ها پیشنهاد شده است. این میکروارگانیسم شاخصی از آلودگی‌های قدیمی آب نیز می باشد. همچنین شاخص معتبری برای تشخیص آلودگی مدفوعی در محیط‌های دریایی می باشد (Anderson, 2000; Environment Agency, 2002). اسپور کلستریدیوم‌های احیاء کننده سولفیت، بطور وسیعی در محیط پراکنده هستند، و در مدفوع انسان، حیوان، فاضلاب و خاک یافت می‌شوند. آن‌ها برخلاف کلیفرمها و اشریشیاکلی به مدت طولانی در آب باقی می‌مانند، و نسبت به مواد شیمیایی و عوامل فیزیکی از اشکال رویشی مقاوم‌ترند و می‌توانند نشانه وجود نقص در فرآیند تصفیه آب در تصفیه خانه‌ها محسوب شوند، و به عنوان شاخص آلودگی متناوب معرفی شوند (استاندارد ملی ایران ۵۳۵۳).

۵-۱-۱- روش شمارش کلی باکتریها^{۱۱}

از جمله متدها و روش‌های بررسی میزان کلیفرم‌ها در آب میتوان به روش چند لوله ای^{۱۲}، شمارش بشقابی^{۱۳}، فیلتر غشایی^{۱۴} و پورپلیت^{۱۵} اشاره کرد و محیط مک کانکی آگار^{۱۶}، محیط کشت مناسب برای رشد آن‌ها می باشد که با رنگ آمیزی های کریستال ویوله^{۱۷} و نوترال رد^{۱۸} می توان آنها را مشاهده کرد.

در سال‌های اخیر آلودگی میکروبی سدها، یک مسئله و مشکل جدی برای برخی از کشورها به شمار می رود که منجر به ایجاد بیماری‌های خطرناک می شود. آب سدها مهمترین منابع تامین آب شرب در دنیاست که بدلیل ورود آلوده کننده‌های فاضلاب، باعث آلودگی‌های شدید میکروبی می شود و چه بسا اتفاق می افتد که باید

¹¹ - Total count bacteria method

¹² - Multiple tube method

¹³ - Plate count

¹⁴ - membrane filtration

¹⁵ - pour plate

¹⁶ - Macconkey agar

¹⁷ - Crystal violet

¹⁸ - Neutral red

برای مصرف مجدد، متحمل هزینه‌های گزافی گردیم. زیرا آلودگی آب سرمنشاء بروز بیماری‌های روده‌ای و عفونی است که در فصل تابستان بسیار شایع است. گزارشات پزشکی حاکی است بیماری‌های روده‌ای مانند اسهال و حتی وبا نیز ارتباط مستقیمی با آب آشامیدنی ناسالم و غیر بهداشتی دارد.

تحقیقات صورت گرفته در دهه اخیر نشان می‌دهد که آب سدهای مخزنی یا دریاچه‌ها بدلیل عدم آلودگی و یا آلودگی بسیار کم مستقیماً برای مصرف عموم بکار می‌رود. برای استفاده از هر آبی لازم است قبل از برداشت، مطالعه دقیقی در مواقع مختلف سال روی آن انجام گیرد. ترکیب آب بویژه از نظر عوامل میکروبی باید بدقت مورد بررسی قرار گیرد. کلیفرم‌ها گونه‌هایی از باکتری‌ها هستند که در داخل روده حیوانات خونگرم و یا بطور طبیعی در خاک، گیاهان و آب وجود دارند این باکتری‌ها بطور معمول در آب‌های آلوده به مدفوع یافت می‌شوند و حضور آنها اغلب با شیوع بیماری‌ها مرتبط است. اگرچه این باکتری‌ها معمولاً خودشان بیماری‌زا نیستند، لیکن وجود آنها در آب آشامیدنی نشان‌دهنده احتمال حضور باکتری‌های بیماری‌زا است. ایکلای^{۱۹} یک گونه از گروه کلیفرم‌ها است که همیشه در مدفوع یافت می‌شود و بنابراین مهمترین اندیکاتور آلودگی آب با منشا مدفوعی بوده و معرف احتمال حضور پاتوژن‌های روده‌ای است بعلاوه بعضی از سویه‌های ایکلای بیماری‌زا هستند.

انتروکوک‌های مدفوعی برخلاف سایر باکتری‌های انتروکوک در حضور نمک‌های صفرای و محلول‌های آزید سدیم قادر به رشد می‌باشند. آنتروکوک‌ها در مدفوع انسان و حیوانات خونگرم وجود دارند. 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. تعداد این گروه از باکتری‌ها در هر گرم از مدفوع^۶ ۱۰ عدد می‌باشد. مقاومت این گروه از باکتری‌ها نسبت به ایکلای و کلیفرم‌ها نسبت به استرس‌های محیطی و کلرزی بیشتر می‌باشد (Anderson, 2000; Environment Agency, 2002).

کلستریدیوم پرفرنژنس^{۲۰} یک باکتری بی‌هوازی اختیاری است که به طور وسیع در خاک و آب انتشار دارند به عنوان باکتری‌های ساپروفیت محسوب می‌شوند کلستریدیوم پرفرنژنس ساکن طبیعی روده بوده و علیرغم تعداد کمتر نسبت به ایکلای، چون اسپور آن می‌تواند برای مدت طولانی در آب باقی بماند حتی زمانی که تمام باکتری‌های مدفوعی از بین رفته اند در آب باقی می‌ماند. چنانچه کلیفرم‌های دیگر به جز کلیفرم‌های مدفوعی در آب حضور داشته باشند آزمایش تعیین کلستریدیوم پرفرنژنس را در آب انجام می‌دهند تا کاملاً آلودگی مدفوعی را مشخص کنند. معمولاً نشان‌دهنده آلودگی قدیمی آب است (Anderson, 2000; Environment Agency, 2002). باکتری کلیدی در بین باکتری‌های احیاء کننده سولفیت کلستریدیوم پرفرنژنس میباشد. این باکتری به لحاظ داشتن اسپور قادر به زنده ماندن در آب و یا محیط‌های آلوده نسبت به سایر باکتری‌های

¹⁹ - E.coli

²⁰ - Clostridium perfringens

اندیکاتور می‌باشد. باکتری این گروه با استفاده از لخته سازی و یا فیلتراسیون از آب جدا شده ولی روش کلرزنی تاثیری بر اسپور این باکتری‌ها ندارد. ولی با این وجود اهمیت این باکتری‌ها در مقایسه با سایر باکتری‌های اندیکاتور کمتر می‌باشد. مطالعات میکروب‌های اندیکاتور در خارج از کشور فراوان انجام گرفته در ایران هم مطالعات فراوانی در نقاط مختلف انجام شده است ولی تاکنون مطالعه‌ای از این موضوع در دریاچه پشت سد شهید رجایی استان مازندران صورت نگرفت.

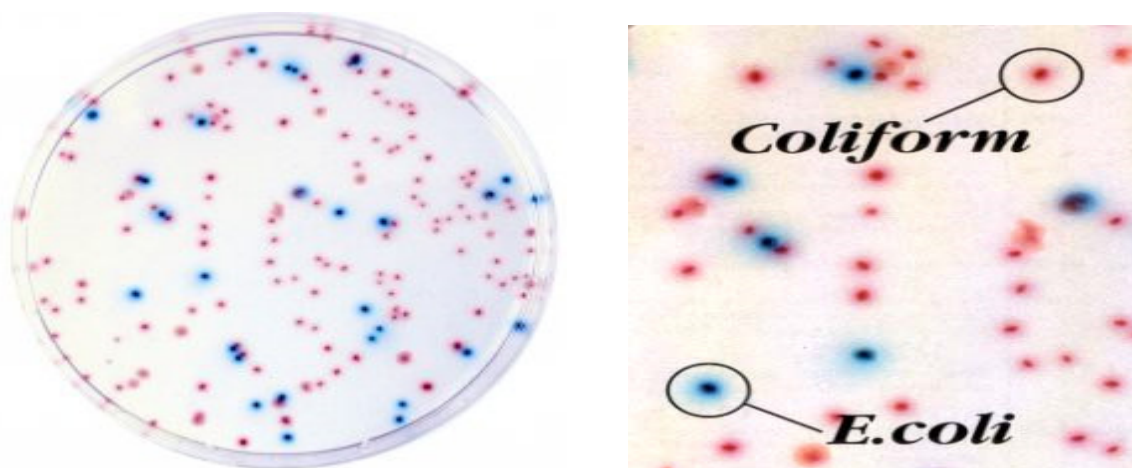
۱-۲- محیط کشت‌های استفاده شده

۱-۲-۱- محیط کشت پلیت کانت آگار Tc

محیطی عمومی برای رشد انواع میکروارگانیسم هاست.

۱-۲-۲- محیط کشت کروم آگار ECC^۱:

از این محیط کشت در مواردی استفاده می‌شود که جداسازی و تشخیص و شمارش کلنی‌های اشرشیا کلی و کلیفرم‌ها در نمونه آب و مواد غذایی به طور هم‌زمان اهمیت داشته باشد. تمایز و تشخیص کلنی‌ها با بهره‌گیری از فن آوری واکنش سوبسترای کروموژنیک و آنزیم اختصاصی ممکن گردیده است زمان تشخیص با استفاده از این محیط بصورت مستقیم از نمونه بوده و زمان کشت به ۱۸-۲۴ ساعت تقلیل می‌یابد. در این محیط کشت باکتری اشرشیا کلی به رنگ آبی و باکتری کلی فرم به رنگ صورتی دیده می‌شود.



شکل ۲: باکتری اشرشیا کلی و کلی فرم بر روی محیط کشت ECC کروم آگار

۳-۲-۱- محیط کشت KF آگار انتخابی استرپتوکوک:

این محیط، تغییر یافته محیط آگار خون‌دار بوده و حاوی کریستال ویوله، تری‌متوپریم سولفامتو کسازول و کولیستین با غلظت مناسب جهت ممانعت از رشد اغلب استرپتوکوک‌ها به غیر از استرپتوکوک پیوژنز و استرپتوکوک آگالاکتیه می‌باشد. همولیز بتا بروی این محیط به آسانی قابل مشاهده است.

۴-۲-۱- محیط کشت ^{۲۲}SPS

این محیط برای شناسایی کلستریدیوم پرفرنزنس از مواد غذایی استفاده می‌شود. این محیط شامل طیف وسیعی از مواد مغذی است. سولفیت توسط اکثر کلستریدیوم‌ها (همانند پرفرنزنس) به سولفید احیا می‌شود که با سیترات آهن موجود در محیط واکنش نشان داده و تولید کلنی‌های سیاه می‌کند. دیگر میکروارگانسیم‌های که می‌تواند سولفیت را احیا کنند توسط پلی میکسین سولفادیازین (سولفاپریمیدین) موجود در محیط رشدشان متوقف می‌شود. کازئین پپتون منبع نیتروژن بوده و محیط حاوی ویتامین‌ها و اسیدهای آمینه و عصاره مخمر بوده که غنی از ویتامین است و برای رشد باکتری‌ها ضروری است سیترات فریک و سولفیت سدیم اندیکاتورهای ایجاد سولفید هیدروژن H₂S هستند. کلستریدیوم پرفرنزنس سولفیت را به سولفید احیا می‌کند و در نتیجه کلنی سیاه ایجاد می‌شود. میکروارگانسیم‌های کمی همانند کلستریدیوم پرفرنزنس می‌تواند در این محیط رشد کنند که بارنگ آمیزی گرم واسپور می‌توان آنها را تفکیک کرد. کلستریدیوم پرفرنزنس می‌تواند شاخص مناسبی برای پایش کیفیت آب در کشورهای در حال توسعه که آب شبکه توزیع بطور مستقیم و بدون تصفیه مصرف می‌گردد، باشد. آزمایش برای اسپورهای این باکتری می‌تواند حاشیه ایمن بالاتری از سلامت را برای پیشگویی کیفیت میکروبی آب آشامیدنی فراهم نماید.

۳-۱- سد شهید رجایی

سد شهید رجایی (سد سلیمان تنگه) در ۴۵ کیلومتری جنوب غربی ساری واقع در نزدیکی روستای افراچال (بخش دودانگه) در منطقه‌ای کوهستانی و سرسبز واقع شده است. مطالعات ساخت این سد که در سال ۱۳۳۶ شروع شد با شروع عملیات اجرایی آن در شهریور سال ۱۳۷۰ ادامه پیدا کرده و در سال ۱۳۷۵ نیز به پایان رسید. این نیروگاه مخزنی که در تیرماه سال ۱۳۸۸ وارد مدار شده با ظرفیت ۵/۱۳ مگاوات می‌تواند سالانه ۳۱ میلیون کیلووات ساعت انرژی تولید کند (نودهی و حافظی مقدس، ۱۳۸۶).

جدول ۱-۱: اطلاعات کلی سد

| نوع سد | بتنی دو قوسی با سرریز آزاد |
|-----------------|----------------------------|
| ارتفاع از پی | ۱۳۸ متر |
| طول تاج | ۴۲۷ متر |
| عرض در پی | ۲۷ متر |
| عرض تاج | ۷ متر |
| تاریخ آغاز ساخت | ۱۳۷۰ هجری خورشیدی |
| تاریخ ساخت | ۱۳۷۵ هجری خورشیدی |
| حجم مخزن | ۱۶۰ میلیون مترمکعب |
| مساحت دریاچه | ۵۲۰ هکتار |
| طول دریاچه | ۸۵۰۰ متر |

سد شهید رجایی (تنگه سلیمان) بر روی رودخانه دودانگه از سرشاخه‌های رودخانه تجن مازندران و در دامنه‌های شمالی سلسله جبال البرز و در محل تنگه آهکی موسوم به سلیمان تنگه در میان روستاهای افراچال (دربالادست) و لولت (در پایین دست) احداث شده و فاصله این محل از دهانه تجن در کناره دریای خزر ۷۰ کیلومتر می‌باشد. شاخه دودانگه رودخانه تجن مازندران از ارتفاعات کوه‌های سیاه کوه و تروا سرچشمه گرفته و پس از تلاقی با تعدادی از شاخه‌ها فرعی به نام سفید رود، لنگر رود از جنوب شرقی به شمال غربی جریان و در نهایت پس از عبور از محل تنگه سلیمان و پیوستن شاخه‌های فرعی دیگر به نام لاجیم و چهاردانگه به دریای مازندران در محل کردخیل تخلیه می‌شود (نودهی و حافظی مقدس، ۱۳۸۶).



شکل ۳: موقعیت جغرافیایی سد شهید رجایی



شکل ۴: سد شهید رجایی

۱-۳-۱- رودخانه های منتهی به سد شهید رجایی

۱-۳-۱-۱- رودخانه تجن

رودخانه تجن در شهرستان ساری قرار دارد. این منطقه از ۵ دهستان و ۷۷ آبادی تشکیل شده که این روستاها اکثراً دارای تپ کوهستانی هستند. دهستان ها شامل بنافت، فریم و بندرج در بخش دودانگه شهرستان ساری با ۴۰ آبادی و دهستان سورتچی در بخش چهاردانگه ساری با ۲۳ آبادی و دهستان پشت کوه از توابع شهرستان شه میرزاد از استان سمنان با ۱۴ آبادی می باشد مهمترین شاخه های اصلی تجن، شاخه چهاردانگه، شاخه دودانگه، شاخه لاجیم و شاخه زارم رود (ظالم رود یا گرم رود) است رودخانه تجن پس از دریافت آب سرشاخه های اصلی و فرعی خود وارد دشت تجن شده و پس از طی مسافتی حدود ۳۰ تا ۳۵ کیلومتر از جنوب به شمال (۱۷۰ تا ۱۸۰ کیلومتر) از ابتدای حوضه در محلی به نام فرح آباد به دریای خزر می ریزد. منابع آلوده کننده رودخانه تجن شامل فاضلاب شهری و روستایی، آلودگی کشاورزی و آلودگی صنعتی و معدن هستند (نودهی و حافظی مقدس، ۱۳۸۶).

۱-۳-۱-۲- شیرین رود

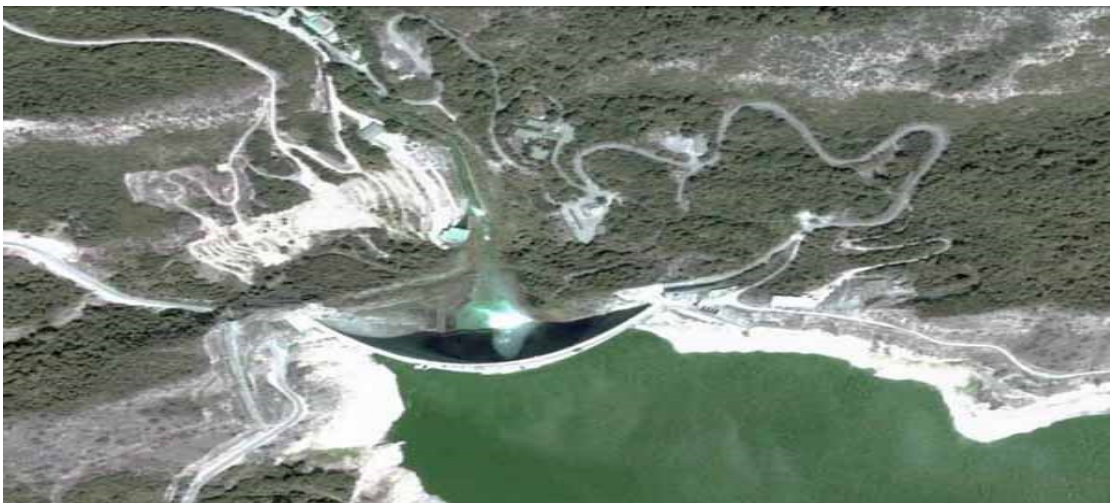
شیرین رود به عنوان یکی از سرچشمه های رودخانه تجن می باشد که در روستای خرم آباد منطقه دودانگه از توابع شهرستان ساری در استان مازندران می باشد و فاصله آن تا ساری حدود ۷۵ کیلومتر است. آب این رودخانه از رشته کوه های البرز مرکزی و خط الراس خرونرو که به عنوان آلپ ایران نیز شناخته می شود، سرچشمه می گیرد. آب این رود بسیار خنک و دمایی حدود ۱۰ تا ۱۵ درجه بالای صفر را دارد که شنا در آن بسیار جذاب و آرم بخش است.

۳-۱-۳-۱- سفید رود

در دودانگه سفیدرود با گذشتن از "اروت، نرگس زمین، ورتنی، استارشش، کربا" در نزدیکی روستای افراچال با شیرین رود که خود از حوالی مناطق "توم، تلاجیم، فینسک" سرچشمه می‌گیرد، به هم می‌پیوندند و وارد سد شهید رجایی می‌شوند و در ادامه با یکی شدن با رود تجن و گذشتن از ساری به دریای خزر می‌رسد.

۴-۱- کاربری سد

کاربری اصلی این سد تامین آب کشاورزی زمین‌های اطراف و تامین آب آشامیدنی است. علاوه بر آن نیروگاهی هم برای تولید برق در سد تعبیه شده است. کاربری دیگر این سد، جاذبه گردشگری آن است. هدف از احداث این سد تامین منبع آب در محدوده شهرستان ساری، افزایش پتانسیل آب زیرزمینی، تامین قسمتی از آب شرب شهرستان ساری و تولید ۱۳/۵ مگاوات برق، کنترل طغیان و کاهش سیلاب به منظور جلوگیری از خسارات سیل، تامین آب کشاورزی اراضی دشت تجن، تامین محل تفرج منطقه ای از دیگر اهداف اجرای سد مذکور می‌باشد (پیرستانی و شفقتی، ۱۳۸۸).



شکل ۵: تصویر ماهواره ای سد

۱-۴-۱- تاثیر سدها بر اکوسیستم منابع آبی

در فاز ساختمانی، افزایش فرسایش و رسوب‌گذاری در پایین دست محل سد به وجود می‌آید که با بالا رفتن ذرات آب و رسوب آنها، جانوران کف زی از بین می‌روند و این حالت موجب حذف مواد غذایی تعدادی از گونه‌های محیط‌های آبی شده و تعادل اکولوژیک این محیط‌ها را برهم می‌زند (کمالی و کوچک زاده، ۱۳۸۶). در ابتدا تجزیه موجودات زنده در دوره ای کوتاه باعث افزایش مواد غذایی در آب می‌شود، بنابراین اکسیژن خواهی بیولوژیک^{۳۳} آب افزایش یافته و یک محیط تجزیه بی‌هوایی به کمک لایه‌های ساکن در اعماق مخازن

تشکیل می گردد که این باعث ایجاد تیرگی رنگ و بدبویی در دریاچه می شود. بنابراین افزایش بیش از حد فیتوپلانکتون ها، مشاهده می شود. (Sait Tahmicioglu et al., 2007). علاوه بر گیاهانی که سطح آب را به صورت لایه ای وسیع به رنگ سبز تیره می پوشانند، موجودات گیاهی بزرگ^{۲۴} بر سطح آب رشد می کنند. این اتفاق می تواند هم برای حیات دریاچه و هم برای ماهیگیری مردم و قایقرانی و حتی برای دریچه های سد و پروانه های توربین خطرناک باشد. گاهی این ماکروفلورا ها مانند منبع ناقل بیماری عمل می کنند، ضمن اینکه افزایش گیاهان آبی باعث افزایش تبخیر و تعرق غیرطبیعی می شود (Sait Tahmicioglu et al., 2007).

سدها موانعی برای حرکت ماهی ها از بالادست رودخانه به طرف پایین دست آن به حساب می آیند. بنابراین وجود سد یعنی مرگ گونه های رود کوچک که بخشی از زندگی خود را در چشمه ها و یا طغیان آب ها و بخش دیگر آن را در محل تقاطع رودها و دریا می گذرانند. با توجه به اینکه برخی از ماهی های دریایی برای تخم گذاری به سوی آب های شیرین و دریاچه ها آمده و پس از آن با ماهی های جوان به دریا باز می گردند، وجود سد مانع این حرکت شده و باعث مختل شدن این چرخه و انقراض این ماهی ها می شود. گاهی برای این منظور جریان های گذرگاهی فرعی ساخته می شود (ظفرنژاد، ۱۳۸۶؛ Sait Tahmicioglu et al., 2007).



شکل ۶: امکانات گردشگری سد شهید رجایی

۲-۴-۱- تاثیر سدها در کاهش خود پالایی رودخانه ها

از مسائل مهم قابل بحث در رابطه با رودخانه های منتهی به سد، تخلیه زباله و فاضلاب های خانگی و صنعتی و هرز آب کشاورزی می باشد. در حالت عادی رودخانه خاصیت خود پالایی دارد و می تواند به مرور زمان در طول حرکت بار آلودگی خود را از طریق گرفتن اکسیژن کم کند. سدها باعث می شوند که سرعت رودخانه

کاهش یابد تا به حالت سکون در پشت سدها برسد و این موجب می‌شود که فرآیند خود پالایی رودخانه‌ها کاهش یابد و به مرور زمان با تجمع مواد آلوده کنند در پشت سدها باعث آلودگی جانداران ساکن در دریاچه سدها و نیز آلودگی خاک‌های اطراف سدها گردد و علاوه بر این چون از آب پشت سدها برای مصارف گوناگون استفاده می‌گردد می‌تواند باعث انتقال این آلودگی‌ها به انسان و سایر موجوداتی که در اکوسیستم اطراف سدها زندگی می‌کنند گردد (خضرای، ۱۳۸۷).

۲- پیشینه تحقیق

۲-۱- مطالعات انجام شده در داخل کشور

مطالعات میکروبهای اندیکاتور در خارج از کشور فراوان انجام گرفته در ایران هم مطالعات فراوانی در سدهای مختلف داشتیم ولی تاکنون مطالعه ای از کمی و کیفی اندیکاتورهای میکروبی در دریاچه پشت سد شهید رجایی استان مازندران صورت نگرفت.

۲-۲- مطالعات انجام شده در خارج از کشور

امروزه در اکثر کشورها، اندازه گیری کمی و کیفی بیواندیکاتورها جایگزین روشهای مرسوم شیمیایی گشته علت انتخاب هر یک از موجودات شامل متفاوت بودن مقاومت آنها به مقدار و نوع ماده آلاینده، آسان بودن نمونه برداری، جداسازی و تشخیص آنها، داشتن تنوع گونه ای و پاسخ سریع به تغییرات محیطی بوده و در نهایت میتوان اذعان نمود که تغییرات آنها تابع شرایط محیطی میباشد. علاوه بر این، تغییرات بیواندیکاتورها مانند تغییرات شیمیایی فاقد نوسان شدید بوده و در نتیجه نیاز به آنالیز در فواصل زمانی کوتاه نمی باشد. بنابراین استفاده از بیواندیکاتورها به لحاظ هزینه بسیار پائین، عدم نیاز به نیروی انسانی زیاد و صرفه جویی در زمان، نسبت به آنالیزهای متداول دارای ارجحیت میباشد (Anderson et al, 1994 ; Battarbee et al, 1997 ; Bell et al, 1995). (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 (Environment Agency, 2002). غلظت باکتری اشرشیا کلی به کدورت، مختصات جریان آب و فصول بستگی دارد (Lawrence, 2012).

فراوانی توتال کلی فرم و کلی فرم مدفوعی بطور معکوس با شوری ارتباط دارد و بطور مستقیم با کدورت در ارتباط است. فراوانی باکتریایی روده به شدت با نترات در ارتباط بوده و بطور ضعیف با غلظت ارتوفسفات در ارتباط است (Mallin et al, 2000).

این مطالعه با هدف بررسی شاخص های باکتریایی آب دریاچه پشت سد شهید رجایی استان مازندران (ساری) انجام شده است.

۳- مواد و روش‌ها

۳-۱- ایستگاه‌های نمونه برداری

در این مطالعه، نمونه برداری در طی ۶ ماه (خرداد، تیر، مرداد، شهریور، آبان و بهمن) (این ماه‌ها براساس تقاضای کارفرما انتخاب شد) در فصل تابستان بخاطر گرم شدن هوا و افزایش رشد و تکثیر باکتری‌ها هر سه ماه نمونه برداری انجام شد) در سال ۱۳۹۲ در ۵ ایستگاه (۷ نمونه با سه تکرار) شامل ورودی شیرین رود، ورودی سفید رود، تلاقی دو رودخانه، تاج سد و خروجی سد از نظر وجود باکتری‌های کل^{۲۵} کلiform کل^{۲۶}، کلiform مدفوعی^{۲۷}، باکتری‌های احیا کننده سولفیت^{۲۸} و استرپتوکوک مدفوعی^{۲۹} مورد ارزیابی قرار گرفت. مشخصات هر ایستگاه در جدول ۲ آمده است. همچنین نمونه برداری در ایستگاه تاج سد با عمق ۸۰ متر در ۳ لایه صفر، ۱۵ و ۳۰ متر با استفاده از شیشه‌های در سباده ای استریل انجام شد.

جدول ۲: موقعیت جغرافیایی ایستگاه‌های نمونه برداری

| عرض جغرافیایی | طول جغرافیایی | ایستگاه |
|---------------|---------------|-----------------------------------|
| ۵۳،۱۷،۱۲ | ۳۶،۱۳،۳۱ | ورودی شیرین رود به مخزن |
| ۵۳،۱۸،۱۷ | ۳۶،۱۴،۵۲ | ورودی سفید رود به مخزن |
| ۵۳،۱۶،۱۱ | ۳۶،۱۴،۲۸ | تلاقی سفیدرود و شیرین رود در مخزن |
| ۵۳،۱۴،۱۴ | ۳۶،۱۴،۳۹ | نزدیک به تاج سد |
| ۵۷،۱۳،۴۱ | ۳۶،۱۵،۱۱ | خروجی سد |



شکل ۲: خروجی سد شهید رجایی

²⁵ - Total count bacteria

²⁶ - Coliforms Total

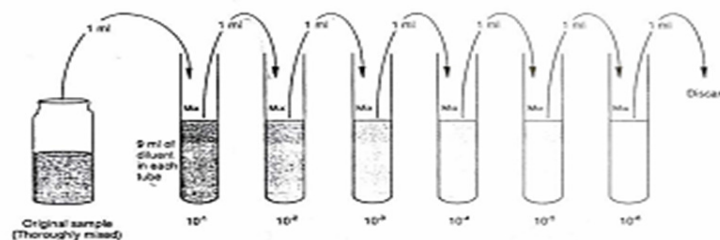
²⁷ - Coliforms fecal

²⁸ - Sulphite- reducing Bacteria (SRB)

²⁹ - Fecal streptococcus

۲-۳- آماده سازی نمونه ها

نمونه برداری با استفاده از شیشه های در سمباده ای استریل انجام شد (مجموعاً ۶ دوره نمونه برداری). ابتدا ظروف نمونه برداری استریل شده را داخل آب فرو برده در شیشه را باز کرده و پس از پرسیدن در شیشه در زیر آب گذاشته شد سپس نمونه ها در کوتاهترین زمان (در ماه های گرم در کنار یخ) به آزمایشگاه میکروبیولوژی پژوهشکده اکولوژی دریای خزر انتقال یافت (استاندارد ملی ایران ۴۲۰۸). پس از آن با استفاده از سرم فیزیولوژی رقت 10^{-2} (Clesceri et al., 1998) (استاندارد ملی ایران ۳۵۶) تهیه کرده سپس با سمپلر بر روی محیط کشت های ^{30}TC (شمارش کلی باکتری ها)، Ecc کروم آگار^{۳۱} (کلیرم کل و کلیرم مدفوعی)، محیط کشت sps (باکتری های احیا کننده سولفیت) و Kf (باکتری های استرپتوکوک مدفوعی) بصورت سطحی^{۳۲} کشت داده شد Ecc در ۲ دمای ۳۷ و ۴۴ درجه سانتیگراد، Kf و sps در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۷۲-۲۴ ساعت در انکوباتور قرار داده سپس بررسی شد (استاندارد ملی ایران ۳۵۶) (Clesceri et al., 1998). سه روش عمده برای تعیین باکتری های اندیکاتور در آب وجود دارد (روش کشت پورپلیت، روش کشت سطحی و روش صافی غشایی) که در این پروژه ما از روش کشت سطحی استفاده کردیم (استاندارد ملی ایران ۴۲۰۷).



شکل ۸: شمایی از تهیه رقت سریالی از نمونه آب سد شهید رجایی

در این مطالعه تمام کلنی های رشد کرده در سطح محیط کشت را شمارش می کنیم. برای محاسبه کلنی ها نتایج بصورت تعداد واحدهای تشکیل دهنده کلنی^{۳۳} در حجم معینی از نمونه (معمولاً ۱۰۰ ml یا ۱ ml) با استفاده از فرمول زیر بدست می آوریم (استاندارد ملی ایران ۴۲۰۷).

$$C_s = \frac{Z}{V_{tot}} \times V_s$$

که در آن:

C_s تخمین تعداد cfu در حجم مرجع V_s است.

Z جمع کلنی های شمارش شده روی پلیت های بدست آمده از رقت هاست.

³⁰ - Plate count agar

³¹ - Chrom agar Ecc

³² - Spread Plate Method

³³ -

V_s حجم نمونه انتخاب شده برای بیان غلظت میکروارگانسیم‌ها در نمونه
 V_{tot} کل حجم نمونه محاسبه شده نمونه اصلی شامل پلیت‌های شمارش شده

۳-۳- آزمایشات باکتریایی

برای جداسازی و شمارش باکتری‌ها، ابتدا از نمونه‌های اخذ شده رقت‌های متوالی (رقت‌های 10^{-1} ، 10^{-2} ، 10^{-3}) (استاندارد شماره ۳۵۶ ایران) تهیه کرده، سپس نمونه‌ها در محیط‌های اختصاصی KF (محصول شرکت مرک-آلمان)، SPS (محصول شرکت مرک-آلمان)، ECC کروم آگار (محصول شرکت کروم آگار-فرانسه) و استاندارد پلیت کانت آگار (محصول شرکت مرک-آلمان) کشت داده شدند و پس از گرمخانه‌گذاری در دمای 30°C درجه بمدت ۴۸ تا ۷۲ ساعت، شناسایی و شمارش گردیدند (Standard Methods, 2005). اندازه‌گیری کلیفرم‌های مدفوعی با استفاده از روش استاندارد مهندسی آب وزارت نیرو شماره ۱۸۹-الف و استاندارد شماره ۴۳۷ موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران بوده است. در این مرجع از روش چندلوله‌ای در محیط کشت جامد ECC کروم آگار برای سنجش کلیفرم استفاده شده است.

۳-۴- روش‌های کشت

۳-۴-۱- روش پور پلیت^{۳۴}

در این روش ۱ میلی‌لیتر از رقت استاندارد تهیه شده نمونه را با ۱۰ میلی‌لیتر محلول محیط کشت تهیه شده در پلیت استریل مخلوط نموده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای 37°C درجه گرمخانه‌گذاری می‌شود (استاندارد ملی ایران ۴۲۰۷).

۳-۴-۲- روش سطحی^{۳۵}

نمونه را بطور مستقیم روی سطح محیط، کشت داده، و بمدت ۲۴ ساعت در 37°C درجه نگهداری گردید (استاندارد ملی ایران ۴۲۰۷). در این مطالعه از روش کشت سطحی استفاده شده است. تحقیقات صورت گرفته نشان می‌دهد که آب سدهای مخزنی یا دریاچه‌ها بدلیل عدم آلودگی ویا آلودگی بسیار کم مستقیماً برای مصرف عموم بکار می‌رود. برای استفاده از هر آبی لازم است قبل از برداشت، مطالعه دقیقی در مواقع مختلف سال روی آن انجام گیرد. ترکیب آب بویژه از نظر عوامل میکروبی باید بدقت مورد بررسی قرار گیرد. این مطالعه با هدف بررسی شاخص‌های باکتریایی آب دریاچه پشت سد شهید رجایی استان مازندران (ساری) انجام شده است.

³⁴ - Pour plate Method

³⁵ - Spread Plate Method

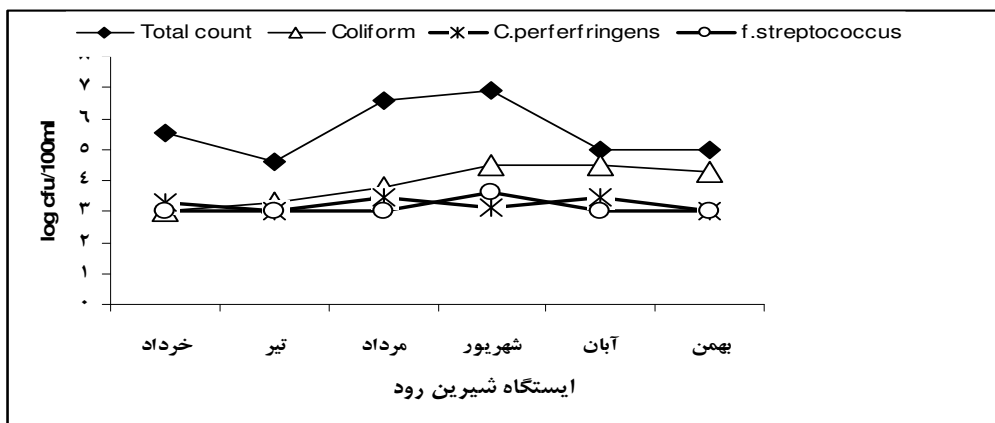
۵-۳- آنالیز داده ها

جهت ثبت اطلاعات و کلاسه بندی داده ها از نرم افزار Excel, 2010, 2003 و برای تجزیه و تحلیل داده ها از برنامه های آماری SPSS با نسخه ۱۶ استفاده گردید. بعد از نرمال نمودن داده ها جهت مقایسه میانگین ها از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه جهت تعیین تفاوت بین داده ها از آزمون دانکن استفاده گردید. در ضمن تمام میانگین ها به همراه خطای استاندارد (Mean±SE) آورده شده است. تعیین ارزش P با ضریب اطمینان ۹۵ درصد و در سطح معنی دار ۰/۰۵ مورد ارزیابی قرار گرفت (Bluman, 1998).

۴- نتایج

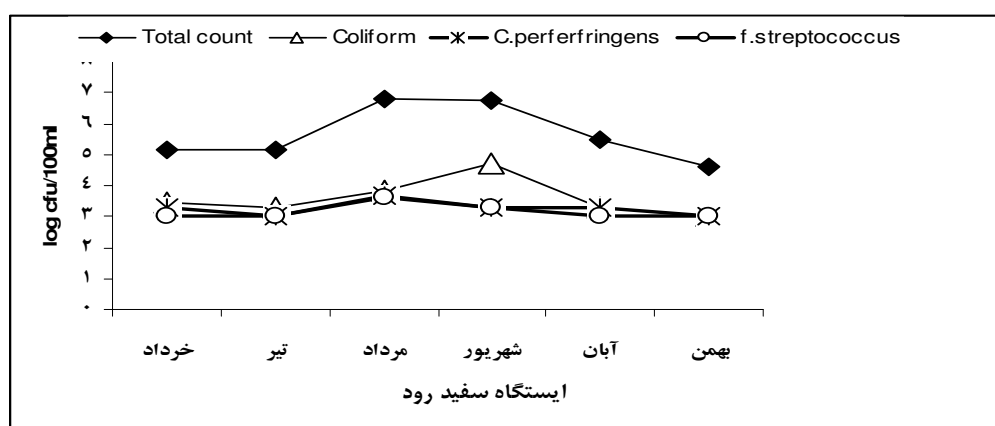
۴-۱- مقایسه شاخص‌های باکتریایی در ایستگاه‌های مختلف

اطلاعات بدست آمده از نمونه برداری آب دریاچه سد رجائی در ایستگاه شیرین رود نشان داد که حداکثر لگاریتم باکتری‌های کل، باکتری‌های کلیفرم، کلوستریدیوم پرفرنژنس و استرپتوکوک مدفوعی بترتیب ۶/۹۰ CFU/100ml در ماه شهریور، ۴/۴۷ CFU /100ml در ماه‌های شهریور و آبان، ۳/۴۷ CFU /100ml در ماه‌های مرداد و آبان و ۳/۶۰ CFU /100ml در ماه شهریور ثبت شد (نمودار ۱).



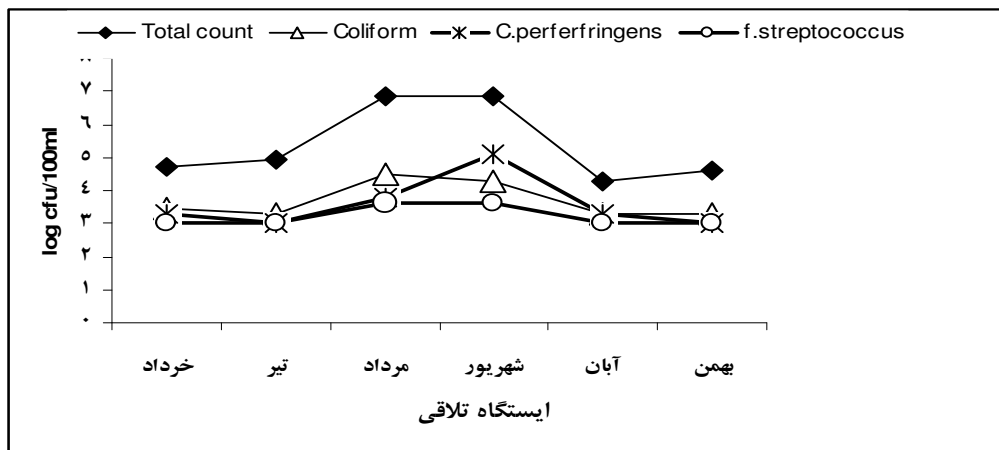
نمودار ۱- تغییرات لگاریتم شاخص‌های باکتریایی در ایستگاه شیرین رود دریاچه پشت سد شهید رجائی

اطلاعات بدست آمده از نمونه برداری آب دریاچه سد رجائی در ایستگاه سفید رود نشان داد که حداکثر لگاریتم باکتری‌های کل، باکتری‌های کلیفرم، کلوستریدیوم پرفرنژنس و استرپتوکوک مدفوعی بترتیب ۶/۷۷ CFU/100ml در ماه مرداد، ۴/۶۹ CFU/100ml در ماه شهریور، ۳/۶۹ CFU/100ml در ماه مرداد و ۳/۶۰ CFU/100ml در ماه مرداد ثبت شد (نمودار ۲).



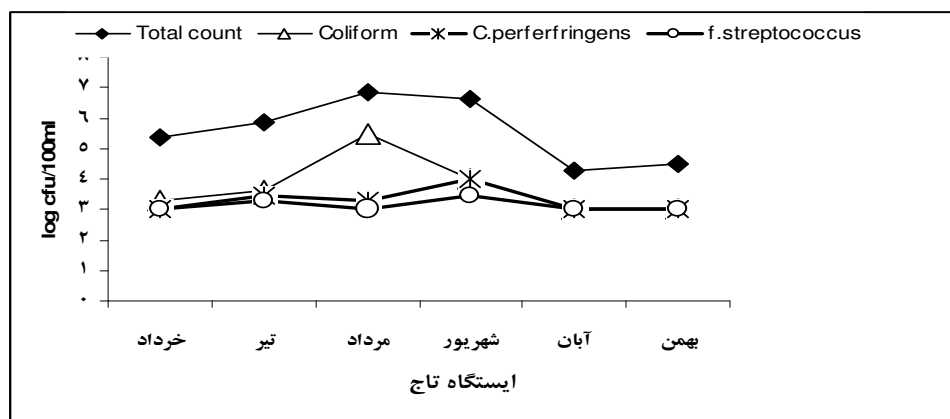
نمودار ۲- تغییرات میانگین شاخص‌های باکتریایی در ایستگاه سفید رود دریاچه پشت سد شهید رجائی

اطلاعات بدست آمده از نمونه برداری آب دریاچه سد رجایی در ایستگاه تلاقی نشان داد که حداکثر لگاریتم باکتری‌های کل، باکتری‌های کلیفرم، کلوستریدیوم پرفرنزنس و استرپتوکوک مدفوعی بترتیب CFU /100ml ۶/۸۷ در ماه مرداد، CFU/100ml ۴/۴۷ در ماه مرداد، CFU /100ml ۵/۰۷ در ماه شهریور و CFU /100ml ۳/۶۰ در ماه‌های مرداد و شهریور ثبت شد (نمودار ۳).



نمودار ۳- تغییرات میانگین شاخص های باکتریایی در ایستگاه تلاقی دریاچه پشت سد شهید رجایی

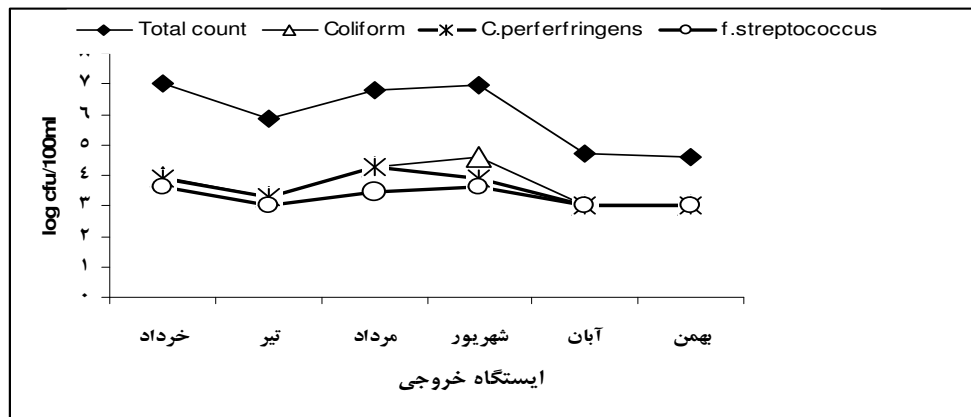
اطلاعات بدست آمده از نمونه برداری آب دریاچه سد رجایی در ایستگاه تاج نشان داد که حداکثر لگاریتم باکتری‌های کل، باکتری‌های کلیفرم، کلوستریدیوم پرفرنزنس و استرپتوکوک مدفوعی بترتیب CFU /100ml ۶/۸۷ در ماه مرداد، CFU /100ml ۵/۴۷ در ماه مرداد، CFU /100ml ۴ در ماه شهریور و CFU /100ml ۳/۴۷ در ماه شهریور ثبت شد (نمودار ۴).



نمودار ۴- تغییرات میانگین شاخص های باکتریایی در ایستگاه تاج دریاچه پشت سد شهید رجایی

اطلاعات بدست آمده از نمونه برداری آب دریاچه سد رجایی در ایستگاه خروجی نشان داد که حداکثر لگاریتم باکتری‌های کل، باکتری‌های کلیفرم، کلوستریدیوم پرفرنزنس و استرپتوکوک مدفوعی بترتیب CFU

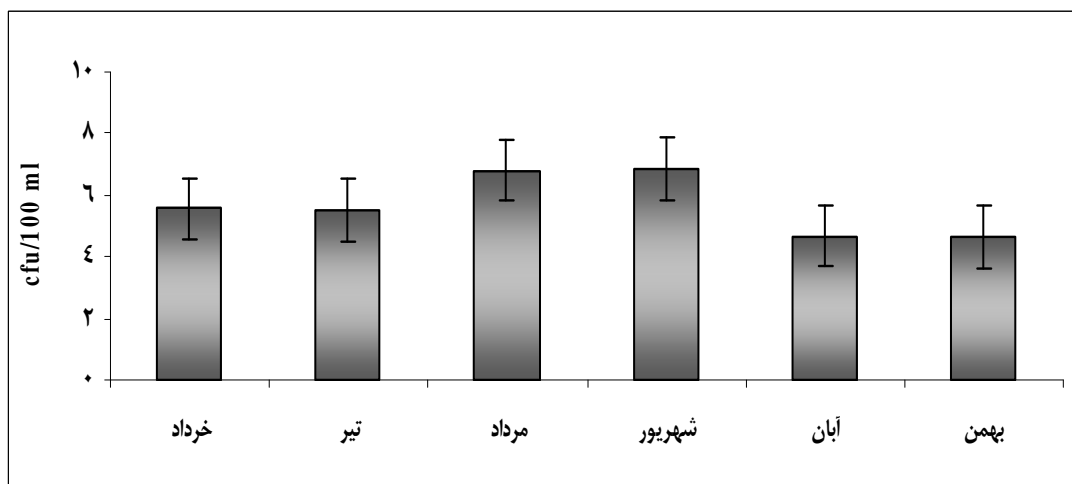
CFU /100ml در ماه مرداد و ۴/۳ CFU /100ml در ماه شهریور، ۶/۹۵ /100ml در ماه شهریور، ۴/۶۰ CFU /100ml در ماه شهریور، ۳/۶۰ در ماه‌های خرداد و شهریور ثبت شد (نمودار ۵). ارتباط معنی داری بین ایستگاه‌ها وجود نداشت ($P > 0.05$).



نمودار ۵- تغییرات میانگین شاخص های باکتریایی در ایستگاه خروجی دریاچه پشت سد شهید رجایی

۲-۴- تغییرات باکتری‌های شاخص در ماه‌های مختلف

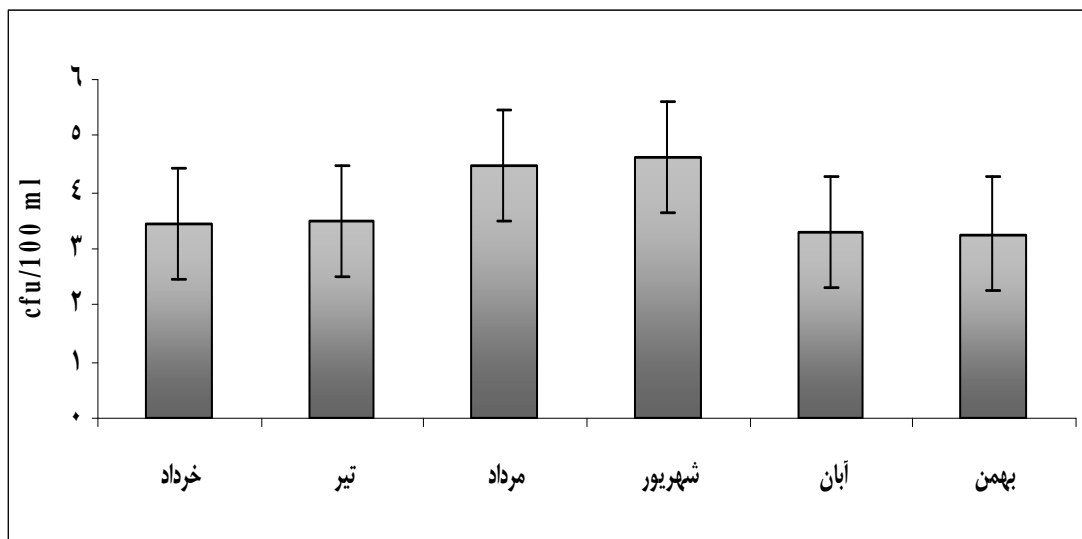
آنالیزهای ماهانه نشان داد که دامنه تغییرات میانگین لگاریتم کل باکتری‌ها در ماه‌های مختلف از ۶/۸۵ ± ۰/۱۲ CFU/100ml در شهریور ماه تا ۴/۶۵ ± ۰/۱۵ CFU/100ml در بهمن ماه متغیر می باشد (نمودار ۶). بر اساس محاسبه های آماری آب دریاچه پشت سد شهید رجایی به کمک آزمون‌های آنالیز واریانس و دانکن در سطح ۹۵٪ میانگین لگاریتم تعداد کل باکتری‌ها در بین ۵ ایستگاه نمونه برداری و بین ماه‌ها تفاوت معنی داری وجود دارد ($P < 0.05$).



نمودار ۶- تغییرات میانگین لگاریتم کل باکتری‌ها در ماه‌های مختلف نمونه برداری سال ۱۳۹۲

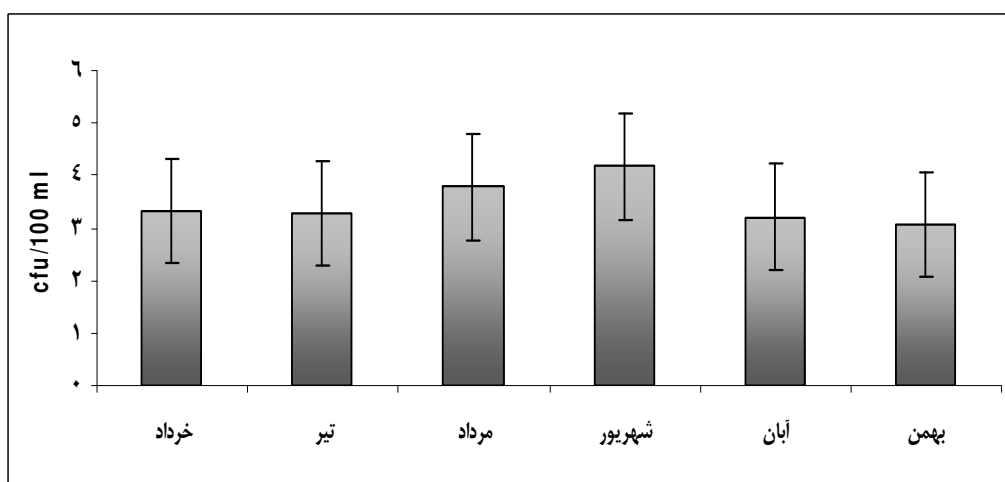
اطلاعات بدست آمده از نمونه برداری آب پشت سد شهید رجایی نشان داد دامنه تغییرات میانگین لگاریتم کلیفرم کل در ماه‌های مختلف از ۴/۶۳ ± ۰/۱۵ CFU/100ml در شهریور ماه تا ۳/۲۷ ± ۰/۴۴ CFU/100ml در

بهمن ماه متغیر می باشد (نمودار ۷). بر اساس محاسبه های آماری آبهای دریاچه پشت سد شهید رجایی به کمک آزمونهای آنالیز واریانس و دانکن در سطح ۰.۹۵٪ میانگین لگاریتم تعداد کل کلیفرم ها در بین ۵ ایستگاه نمونه برداری و بین ماهها تفاوت معنی داری وجود دارد ($P < 0/05$).



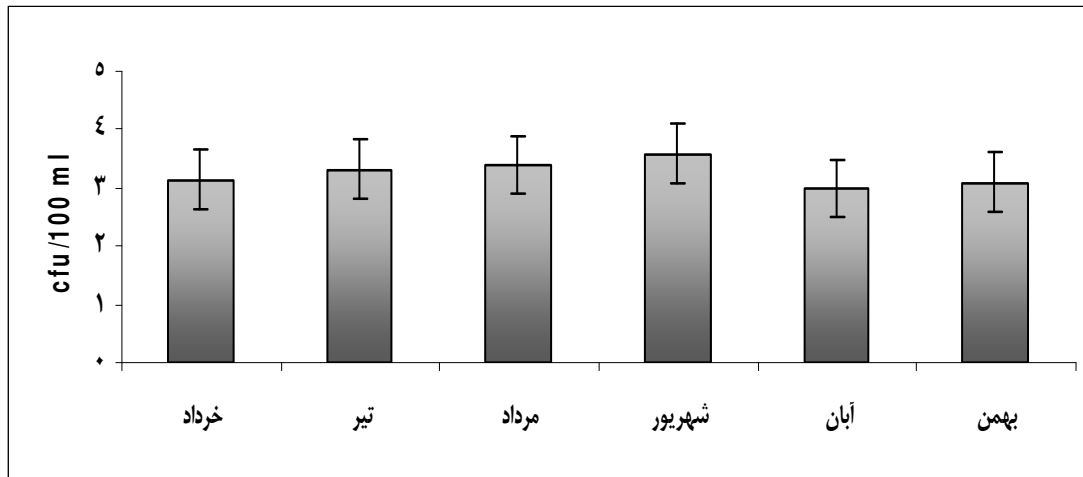
نمودار ۷- تغییرات میانگین لگاریتم کلیفرم ها کل در ماه های مختلف نمونه برداری سال ۱۳۹۲

آنالیزهای ماهانه نشان داد که دامنه تغییرات میانگین لگاریتم کلستریدیوم پرفرنجنس در ماه های مختلف از $4/17 \pm 0/89$ CFU/100ml در شهریور تا $3/07 \pm 0/13$ CFU/100ml در بهمن ماه متغیر می باشد (نمودار ۸). بر اساس محاسبه های آماری آبهای دریاچه پشت سد شهید رجایی به کمک آزمونهای آنالیز واریانس و دانکن در سطح ۰.۹۵٪ میانگین لگاریتم تعداد کلستریدیوم پرفرنجنس ها در بین ۵ ایستگاه نمونه برداری و بین ماهها تفاوت معنی داری وجود دارد ($P < 0/05$).



نمودار ۸- تغییرات میانگین لگاریتم کلستریدیوم پرفرنجنس در ماه های مختلف نمونه برداری سال ۱۳۹۲

دامنه تغییرات میانگین لگاریتم استرپتوکوک مدفوعی در ماه‌های مختلف از $0/19 \text{CFU}/100\text{ml} \pm 3/59$ در شهریور ماه $0/17 \text{CFU}/100\text{ml} \pm 3/10$ در بهمن ماه متغیر می باشد (نمودار ۹). نتایج حاصل نشان دادند که بیشترین بار آلودگی میکروبی در این سددر شهریور ماه می باشد. بر اساس محاسبه های آماری آبهای دریاچه پشت سد شهید رجایی به کمک آزمونهای آنالیز واریانس و دانکن در سطح ۰/۰۵٪ میانگین لگاریتم تعداد استرپتوکوک مدفوعی در بین ۵ ایستگاه نمونه برداری و بین ماه‌ها تفاوت معنی داری وجود دارد ($P < 0/05$).



نمودار ۹- تغییرات میانگین لگاریتم استرپتوکوک مدفوعی در ماه های مختلف نمونه برداری سال ۱۳۹۲

۵- بحث

دریاچه‌ها و مخازن همواره به عنوان منابع مهم تامین آب آشامیدنی، کشاورزی و صنعتی مورد توجه جوامع انسانی قرار گرفته‌اند، در این خصوص به منظور استفاده بهینه از این منابع آبی نیازمند روش‌های مناسبی جهت پایش و تعیین کیفیت این منابع آبی می‌باشیم. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که بیشترین بار آلودگی آب (شاخص‌های اندیکاتور کلیفرم‌های کل، کلستریدیوم پرفرنجنس، استرپتوکوک مدفوعی و شمارش کل باکتری‌ها) در این سد در شهریور ماه می باشد. با گرم شدن هوا و استفاده مسافران از رودخانه‌ها بار آلودگی میکروبی در این فصل افزایش می‌یابد و با شروع فصل زمستان و کاهش دما و کم شدن ازدحام جمعیت در کنار رودخانه‌ها بار آلودگی کم می‌شود بطوری‌که مقدار کلیفرم کل و باکتری‌های کل در فصل سرد به حداقل می‌رسد.

مطالعات نظیر سد مخزنی Tehri در هند ماکزیمم شمارش کلیفرم کل در فصل تابستان و فصول بارندگی (دما °C ۲۶) و مینیمم آن در فصل زمستان (دما °C ۷) بوده است که از نظر دمایی مشابه فصول ایران می‌باشد (Agarwal & Rajwar, 2010).

در مطالعات سد مخزنی شوریجه استان خراسان رضوی یکی از علل افزایش بار آلودگی سد شوریجه، جریان‌های سطحی در فصول بارندگی بوده که معمولاً توام با فرسایش و حمل رسوبات بوده و موجب انباشته شدن رسوبات حمل شده و ته‌نشست آنها در مخزن سد می‌گردد را بیان کرد (دهقان و همکاران، ۱۳۸۶).

در مورد سد شهید رجایی نتایج مشابه نیز وجود دارد. در فصل گرم و بارندگی (بهار)، بار میکروبی افزایش یافته و در فصول سرد هر چند بارندگی وجود دارد ولی به علت کاهش شدید دمای آب، جمعیت این باکتری‌ها کاهش می‌یابد. بارندگی و جاری شدن سیل باعث شسته شدن سنگ‌ها و حمل رسوبات شده که علاوه بر رسوب در دریاچه باعث حمل میکروب‌های مختلف از جمله باکتری‌های اندیکاتور می‌شوند. در طی مدت بررسی شاخص‌های باکتریایی مورد بررسی در این سد در ماه‌های مرداد و شهریور بیشتر از سایر ماه‌ها بود.

در مطالعات مربوط به سد Three Gorges در شرق دریای چین در سال ۲۰۰۳ در شمارش باکتری‌های کل نسبت به سال ۲۰۰۲ کاهش نشان داد که این می‌تواند مربوط به زیاد شدن شکوفایی فیتوپلانکتون باشد و به احتمال زیاد مربوط به کم شدن کربن آلی که برای ذخیره سازی آب سد توسط رودخانه حمل شده است (Jiao et al, 2007).

تحقیقات Kim و همکاران (۲۰۰۵) نشان داد که افزایش پساب کشاورزی با افزایش میزان کلیفرم در آب همبستگی بالایی دارد (Kim et al, 2005). کیفیت میکروبیولوژیکی آب با آنالیز کلیفرم‌ها سنجیده می‌شود. میزان ارگانسیم‌های شاخص در آب، مدفوع حیوانات خونگرم مخصوصاً انسان برخی از حیوانات خونسرد رسوبات و سوبه‌های آزادزی هستند بنابراین منبع آلودگی مدفوعی اغلب مبهم است (Sivaraja and Nagarajan, 2014). موسسه استاندارد ایران و تحقیقات صنعتی اعلام کرده است که آب آشامیدنی باید عاری از هرگونه کلیفرم

مدفوعی باشد و کلیفرم کل آن تا 10^4 CFU / 100 ml مجاز است. برای آب‌های سطحی کلیفرم کل 10^4 / 100 ml و کلیفرم مدفوعی 10^4 CFU / 100 ml می‌باشد.

بر اساس 36 NOAELs برای کیفیت آب پیشنهاد می‌شود: 1000 کلیفرم کل، 100 اشرشیاکلی، 25 اتروکوک روده، 10 کلی فاژ، یا 10 کلستریدیوم پرفرنزنس در هر 100 میلی لیتر است (Wiedenmann, 2006).

بر اساس مطالعات North و همکاران در سال 2014 استانداردهای کیفیت آب برای مصارف کشاورزی کلیفرم-های کل 10^4 CFU / 100 ml و کلیفرم‌های مدفوعی 10^4 CFU / 100 ml می‌باشد. آنها همچنین بیان کردند که ارتباط بین شاخص‌های باکتریایی در رسوبات و ارتفاع آب وجود دارد که با بارگذاری رسوب باکتری‌های بیشتری محبوس می‌شوند. با بالا رفتن درجه حرارت آب، فعالیت‌های میکروبی بالاتر می‌رود طوریکه بزرگترین عامل فراوانی شاخص‌های باکتریایی درجه حرارت آب می‌باشد. پیش‌بینی آنها این است که استانداردهای کیفیت آب با گرم شدن آب و هوا بیشتر خواهد شد (North et al, 2014).

مطالعات Gannon و همکاران در سال 1983 نشان داد که یکی از عوامل مهم در کاهش کلیفرم‌های کل رسوب گذاری در انتهای فوقانی دریاچه می‌باشد و سطح تابش نور در طول روز عامل مهم دیگر کاهش کلیفرم‌های کل می‌باشد (Gannon et al, 1983).

مطالعات سهرابی و همکاران در بررسی کیفیت آب مخزنی سد تهم استان زنجان بیان کردند که از نظر میکروبی کلیفرم کل و کلیفرم مدفوعی رودخانه‌های ورودی به مخزن سد آلوده و بحرانی می‌باشند. فاضلاب‌های روستایی و کشاورزی که به رودخانه‌های گلرود، خشکه رود و تهمرود تخلیه می‌شوند باعث آلودگی آب این رودخانه‌ها می‌باشند. از آنجا که طول رودخانه‌ها کوتاه و دبی آنها پایین می‌باشد این رودخانه‌ها توانایی چندانی برای خودپالایی ندارند و باعث آلودگی آب سد می‌گردند (سهرابی و همکاران، 1392).

اگر غلظت مواد آلاینده در حد متناسب با حجم آب رودخانه باشد، رودخانه با سرعت و دبی زیاد خود قدرت خودپالایی داشته و تا حدود زیادی از آثار این مواد آلاینده می‌کاهد ولی در نتیجه احداث سد و ایجاد مخزن، رودخانه در محدوده مخزن و پائین دست، سرعت و دبی خود را تا حدود زیادی از دست داده در نتیجه قدرت خودپالایی آن نیز تا حد قابل توجهی از بین خواهد رفت (دهقان و همکاران، 1386). در اثر انباشت مواد آلاینده در کف مخزن و رودخانه، در نتیجه فعالیت باکتری‌های بی‌هوازی، کیفیت آب پایین می‌آید، چراکه در اعماق دریاچه که در معرض لایه بندی حرارتی و غلظتی قرار دارد، تجزیه مواد آلی در شرایط غیرهوازی انجام می‌شود. مقدار اکسیژن محلول به صفر نزدیک شده و به جای آن گاز هیدروژن سولفور، متان و آمونیاک در این لایه به حداکثر خود می‌رسد. در این حالت کیفیت و ظرفیت خودپالایی دریاچه کاهش یافته و شرایط برای فرایند مغذی شدن آب دریاچه فراهم می‌گردد (دهقان و همکاران، 1386).

کدورت آب ارتباط مستقیم با فراوانی باکتری‌های روده ای دارد و این فراوانی بشدت در ارتباط با نیترات است (Mallin et al, 2000). در بررسی‌های تجرشی و همکاران در مورد وضعیت کیفی آب مخزن سد لتیان مشخص

شد که این سد به سمت مغذی شدن پیش می رود (تجرشی و همکاران، ۱۳۸۷).

افزایش غلظت مواد مغذی منجر به کاهش اکسیژن محلول آب شده علاوه بر این موجب افزایش کلیفرم، استرپتوکوک مدفوعی، به خصوص سویه‌های مختلف استرپتوکوک می شود (Geldreich, 2005). بسیاری از مطالعات مزوکوزوم‌ها به اثر میکروبی کشتی نور خورشید روی انتروکوک‌ها اشاره داشته اند مکانیسم اصلی آسیب نور خورشید بر روی میکروارگانیسم‌ها، شامل جذب مستقیم اشعه UV توسط DNA است که موجب دژنره شدن ساختار DNA و از بین رفتن میکروارگانیسم می شود (Byappanahalli et al, 2012).

در مطالعات مقایسه اشرشیا کلی، آنتروکوک و کلیفرم‌های مدفوعی در آب بیان شد که شاخص‌های اندیکاتور در ارتباط با ذرات معلق و رسوبات ته دریاچه هستند این اندیکاتورها به ذرات معلق چسبیده و ته نشین می گردند. این رسوبات بعنوان یک مخزن برای بقا طولانی ارگانیسم شاخص عمل می کند (Guang et al, 2004). آلودگی میکروبی مشاهده شده، ناشی از ورود پساب مراکز مسکونی و همچنین حضور دام‌عشایر و راه‌یابی پساب و فاضلاب‌های دامی بخصوص موقع بارندگی به آب می باشد. (فتائی، ۱۳۹۰).

به نظر می رسد که علت پایین بودن بار باکتری‌های گروه کلیفرم و باکتری‌های احیا کننده سولفیت و ویژگی خودپالایی سد شهید رجایی در ایستگاه‌های مختلف بوده که در برخی از مناطق بیشتر بوده و باعث کاهش شمارش توتال کانت، آلودگی کلیفرمی و باکتری‌های احیاء کننده سولفیت سد شده است. تغییرات فصلی و فعالیت‌های انسان در مورد وضعیت آلودگی آب و تعداد باکتری‌ها بسیار موثر است. معمولاً در اولین بارندگی پس از فصل خشک تعداد باکتری‌ها در بسیاری از چاه‌ها، چشمه‌ها و رودخانه‌ها و بالطبع سد بالا می‌رود ولی در دراز مدت، تعداد این باکتری‌ها به تعادل رسیده و کاهش می یابد. آب سد پس از گذراندن زمان ماند معین از سد خارج می‌شود. با توجه به اینکه قسمت اعظم آب سد شهید رجایی جهت مصرف کشاورزی مورد بهره برداری قرار می گیرد بنابراین استاندارد تعریف شده در خصوص آبهای سطحی بایستی مورد توجه قرار گیرد. مقایسه نتایج این مطالعه و استانداردهای ایران در خصوص آب سطحی حاکی از آن است که تمامی باکتری‌های اندیکاتور مورد بررسی در دامنه استاندارد قرار داشته هر چند که تغییرات میکروبی در ماه‌های مختلف دیده شده است. با افزایش دما جمعیت باکتری‌های اندیکاتور افزایش یافته که این امر بر شمارش کلی باکتری‌ها نیز تاثیر خواهد گذاشت. آلودگی نسبی مشاهده شده در این تحقیق از منابع مختلف حاصل میشود.

۱- باکتری‌های اندیکاتور در طبیعت وجود داشته که با شسته شدن خاک و بروز سیلاب، باکتری‌های مذکور از طریق گل و لای وارد دریاچه می‌شوند. ۲- اکثر باکتری‌های اندیکاتور جزء فلور طبیعی دستگاه گوارش انواع حیوانات اهلی و وحشی بوده که با آلودگی مدفوعی آب دریاچه، باکتری‌های ذکر شده وارد آب می‌شوند. ۳- باکتری‌های اندیکاتور با جمعیت هر چند کم در آب دریاچه وجود داشته که با آلودگی ثانویه آب به انواع

پساب‌ها و یا فاضلاب‌ها، مواد مغذی افزایش یافته و منبع کربن و ازت در اختیار این میکروب‌ها قرار گرفته و جمعیت آن‌ها به سرعت رشد و تکثیر می‌یابد.

یکی از عوامل نوسانات بار آلودگی در ماه‌های مختلف، تغییرات دمایی می‌باشد. میکروب‌های اندیکاتور دارای دمای مینیمم، ماکزیمم و اپتیمم رشد بوده و در دمای اپتیمم، بهترین رشد را از خود نشان می‌دهند. هر چه دمای آب به دمای اپتیمم نزدیک تر باشد شرایط رشد باکتری‌های اندیکاتور نیز بهتر خواهد بود. در فصول گرم، دمای آب به دمای اپتیمم رشد باکتری‌ها نزدیک تر بوده و از اینرو جمعیت این باکتری‌ها به سرعت افزایش می‌یابد. افزایش بار آلودگی باکتری‌های اندیکاتور احتمال وجود باکتری‌های بیماریزا را افزایش داده و در گذشته از طریق باکتری‌های اندیکاتور، به وجود باکتری‌هایی نظیر سالمونلا و شیگلا پی می‌بردند. اگر آب پشت سد جهت مصرف آشامیدنی مد نظر باشد از نظر وجود کلستریدیوم و انتروکوک خارج از دامنه استاندارد می‌باشد. کاهش کیفیت آب و مغایرت آن با استانداردهای تعریف شده در خصوص آب آشامیدنی، مصرف آن را تحت تاثیر قرار داده و نیاز به تیمارهای بیشتر در هنگام تصفیه نهایی آن جهت مصارف آشامیدنی می‌باشد.

۶- نتیجه گیری

منابع احتمالی آلوده کننده سد شهید رجایی شامل آلودگی روستایی و کشاورزی می باشد همجواری اکثر قریب به اتفاق روستاها با رودخانه ها و منابع آب های جاری موجب گردیده است تا متأسفانه این مجاری با ارزش به کانون های اصلی دفع فاضلاب های انسانی و محل تخلیه زباله های خانگی و کشاورزی تبدیل شوند. مقایسه نتایج این مطالعه و استانداردهای ایران در خصوص آب سطحی حاکی از آن است که تمامی باکتریهای اندیکاتور مورد بررسی در دامنه استاندارد قرار داشته هر چند که تغییرات میکروبی در ماه های مختلف دیده شده است. اگر آب پشت سد جهت مصرف آشامیدنی مد نظر باشد از نظر وجود کلستریدیوم و اتروکوک خارج از دامنه استاندارد می باشد. کاهش کیفیت آب و مغایرت آن با استانداردهای تعریف شده در خصوص آب آشامیدنی، مصرف آن را تحت تاثیر قرار داده و نیاز به تیمارهای بیشتر در هنگام تصفیه نهایی آن جهت مصارف آشامیدنی می باشد.

منابع

- استاندارد مهندسی آب وزارت نیرو. ۱۳۷۶. اندازه‌گیری کلیفرم‌های مدفوعی، استاندارد شماره ۱۸۹-الف.
- پیرستانی، محمد رضا و مهدی شفقتی. ۱۳۸۸. بررسی اثرات زیست محیطی احداث سد. سال اول، شماره سوم. خضرای، میلاد. ۱۳۸۷. سد و اثرات مخرب آن بر محیط زیست. دانشجوی کارشناسی مهندسی مکانیک
- دانشگاه صنعتی خوجه نصیرالدین طوسی.
- تجرشی، مسعود، احمد ابریشم‌چی، سیاوش عیسی‌زاده و مهدی احمدی. ۱۳۸۷. وضعیت آب مخزن سد لثیان و ارزیابی گزینه‌ها برای بهبود کیفیت آن.
- دهقان، پوریا، حمد غفوری و غلامحسین رضایی ولیسه. ۱۳۸۶. بررسی عوامل موثر در آلودگی آب سد مخزنی شوریجه. پنجمین همایش زمین‌شناسی مهندسی و محیط زیست ایران.
- سهرابی، رسول، جلال ولی‌الهی و عباسعلی زمانی. ۱۳۹۲. بررسی کیفیت آب مخزنی سد تهم و شناسایی منابع آلاینده آن. شانزدهمین همایش ملی بهداشت محیط ایران.
- شهسواری پور، ناهید و عباس اسماعیلی ساری. ۱۳۹۰. بررسی آلودگی میکروبی رودخانه هراز و تعیین کاربری‌های مجاز آب رودخانه با توجه به استانداردهای جهانی. علوم و تکنولوژی محیط زیست، دوره ۱۳، شماره ۴.
- صفری، رضا و همکاران. ۱۳۸۶. تعیین و برآورد عملکرد بیواندیکاتورهای موجود در رودخانه‌های تجن و شیروود با هدف جایگزینی با برخی از روشهای متداول شیمیایی. گزارش نهایی اداره کل حفاظت محیط زیست استان مازندران. ۱۹۱ صفحه.
- ظفرنژاد، فاطمه. ۱۳۸۶. رودخانه‌های خاموش پیامدهای زیست محیطی سدهای بزرگ. نشریه انجمن صنفی مهندسان معمار و شهرساز.
- فتایی، ابراهیم. ۱۳۹۰. بررسی مقادیر پارامترهای کیفی کانال‌های آبرسانی شهرستان پارس آباد. فصلنامه علمی محیط زیست شماره ۵۰.
- کمالی، م و کوچک زاده، م. ۱۳۸۶. تاثیر عوامل زیست محیطی در برنامه ریزی توسعه منابع آب. مطالعه موردی سد کلکان. اولین کارگاه تخصصی سد و محیط زیست.
- موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران. ۱۳۷۶. اندازه‌گیری کلیفرم‌های مدفوعی، استاندارد شماره ۴۳۷ ایران.
- موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران. ۱۳۷۶. کیفیت آب- نمونه برداری از آب برای آزمون‌های میکروبیولوژی آیین کار، استاندارد شماره ۴۲۰۸ ایران.

- موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران. ۱۳۷۶. میکروبیولوژی - تهیه سوسپانسیون اولیه ورقتهای اعشاری برای آزمایشهای میکروبیولوژی، استاندارد شماره ۳۵۶ ایران.
- موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران. ۱۳۷۶. ویژگی آب آشامیدنی، استاندارد شماره ۱۰۵۳ ایران.
- نودهی، سلیمه و ناصر حافظی مقدس. ۱۳۸۶. بررسی اثرات سد شهید رجایی بر آبخوان دشت ساری - نکا. پنجمین کنفرانس زمین شناسی مهندسی و محیط زیست ایران.
- Agarwal, A.K. and G.S. Rajwar. 2010. Physico-chemical and microbiological study of Tehri dam reservoir, Garhwal Himalaya, India. Journal of American Science, jofamericanscience.org
- Anderson, K.A., 2000. Drinking water & Recreational water quality: Microbiological Criteria.
- APHA. 2005. Standard methods for the examination of water and wastewater. Washington DC, USA: American publication Health Association.
- Battarbee, R.W., Flower, R.J., Juggins, s., Patrick, S.T. and Sterenson, A.C. 1997. The relationship between diatoms and surface water quality in the Hoeylandet area of North - Troendelag, Norway. Hydrobiologia, 348, 69 - 80. F (Fresh water).
- Bell, P.R.F. and Elmetri, 1. 1995. Ecological indicators of large - scale eutrophication in the Great Barrier Reef lagoon. Ambio, 24, 208 - 215. M (Marine).
- Bluman, A.G. 1998. Elementary Statistics: A Step by Step Approach. USA. Tom casson publisher. 3rd edition.
- Byappanahalli, M. N., M.B. Nevers, A. Korajkic, Z.R. Staley. and V.J. Harwood. 2015. Enterococci in the Environment. Microbiology and Molecular Biology Reviews. Volume 76 Number 4. p. 685-706.
- Clesceri, L., A.Greenberg, A.Eaton. 1998. Standard methods for the xamination of water and wastewater. American Public Health Association. United Book Press, Inc: Baltimore, MD.
- Environment Agency. (2002)The Microbiology of Drinking water part 1 - Water Quality and Public Health p 9-28
- Gannon, J.J. M.K. Busse and J.E. Schillinger 1983. Fecal coliform disappearance in a river impoundment. Water research vol.17. No II. pp 1595 1601.
- Geldreich, E.E. 2005. Bacteriology of water. Wiley Online Library.
- Guang, J., Englande, A.J., Bradford, H. and Jeng, H.W., 2004. Comparison of E.Coli, Enterococci, and Fecal Coliform as Indicators for Brackish Water Quality Assessment. Water Environment Research. Volume 76, Number 3. pp. 245-255 (11).
- <http://www.chromagar.com/food-water-chromagar-liquid-ecc-focus-on-e-coli-and-coliforms-40.html>.
- Jiao, N. Y. Zhang, Y. Zeng, W.D. Gardner. A.V. Mishonov. M.J. Richardson. N. Hong. D. Pan. X.H. Yan. Y.H. Jo. C.T. Chen. P. Wang. Y. Chen. H. Hong. Y. Bai. X. Chen. B. Huang. H. Deng. Y. Shi. D. Yang. 2007. Ecological anomalies in the East China Sea: Impacts of the Three Gorges Dam? Water Research. Volume 41, Issue 6, Pages 1287-1293.
- Kim, G.T. E. Choi, and D. Lee. 2005. Diffuse and point pollution impacts on the pathogen indicator organism level in the Geum River, Korea Science of the Total Environment 350: 94- 105.
- Lawrence, S. J., 2012. Escherichia coli Bacteria Density in Relation to Turbidity, Streamflow Characteristics, and Season in the Chattahoochee River near Atlanta, Georgia, October 2000 through September 2008— Description, Statistical Analysis, and Predictive Modeling. Scientific-Investigations Report 2012-5037.
- Mallin, M.A., K.E. Williams, E.C. Esham, R.P. Lowe. 2000. Effect of human development on bacteriological water quality in coastal watersheds. - Ecological Applications, 10:1047-1056.
- North, R.L., N.H. Khan, M. Ahsan. C. Prestie. D.R. Korber. J.R. Lawrence. and J.J. Hudson. 2014. Relationship between water quality parameters and bacterial indicators in a large prairie reservoir: Lake Diefenbaker, Saskatchewan, Canada. Canadian Journal of Microbiology.
- Sivaraja, R. and K. Nagarajan. 2014. Levels of Indicator Microorganisms (Total and Fecal Coliforms) in Surface waters of rivers Cauvery and Bhavani for Circuitously predicting the Pollution load and Pathogenic risks. International Journal of PharmTech Research. Vol.6, No.2, pp 455-461.
- Tallon, P., B. Magajna, C. Lofranco. K.T. Leung. 2005. Microbial indicators of faecal contamination in water: a current perspective. Water, Air, and Soil Pollution, Springer

Abstract

One of the country's dams is dam Shahid Rajaei Sari. In this study it was evaluated some bacterial indices. Some bacterial parameters including total bacteria, total coliform, fecal coliform, fecal streptococci, Sulphite-reducing Bacteria (SRB) in the water behind the dam Shahid Rjaee for one year at five stations (the entrance Shireenrood branches, input branch of the Sefidrood, cross the river and sweet Sefidrood in the tank, close to the Taj (zero, 15 and 30) and the output reservoir) and seven samples collected during six periods (June, July, August, September, November and February) were tested in 1391.

Analysis of water samples for bacterial plate count agar medium (total bacteria count) ECC were inoculated (total coliforms and fecal), SPS (sulfite reducing bacteria) and KF (bacteria Inserts fecal streptococci) was performed using the culture surface culture method. ECC in both 37 and 44 ° C medium temperature Tc, KF and SPS at 37 ° C for 72-24 hours were incubated. The results showed that the mean log of bacteria in different months of CFU / 100ml $12 / 0 \pm 85/6$ In September months to CFU100ml $15 / 0 \pm 65/4$ is variable in February, the mean total coliform Log in of the CFU / 100ml $15 / 0 \pm 63/4$ in September to CFU / 100ml $44 / 0 \pm 27/3$ in February are variable, the mean log Clostridium Clostridium CFU / 100ml $89 / 0 \pm 17 / 4$ in September to CFU / 100ml $13 / 0 \pm 07/3$ in February is variable, ranging from the mean log reduction in fecal streptococci in different months CFU / 100ml $19 / 0 \pm 59/3$ in September CFU / 100ml $17 / 0 \pm 10 / 3$ in February is variable.

The results showed that bacterial indicator pollution load of the dam in more stations in August and September months. . Compare the results of the surface water standards indicate that indicator bacteria have been studied in the standard range. If the water behind the dam is intended to be used for drinking, it has need for more treatments during the final purification for drinking purposes

Keywords: water bacterial indicator, Tajan River, Shahid Rajaei Dam, Sari, Mazandaran

**Ministry of Jihad – e – Agriculture
AGRICULTURAL RESEARCH, EDUCATION & EXTENSION ORGANIZATION
Iranian Fisheries Science Research Institute – Caspian Sea Ecology Research Center**

Project Title : Evaluation of quantitative and qualitative of microbial indicator the lake behind Shahid Rajaei dam of Mazandaran province (sari)

Approved Number: 14-76-12-9254-92003

Author: : Zahra Yaghobzadeh

Project Researcher : : Zahra Yaghobzadeh

Collaborator(s) : Nasrollahzadeh Saravi, H., Pourgholam, R., Mahklogh, A., Safari, R., Ghiyasi, M., Behrouzi, Sh., Moghim, M., Ramzani, H., Ghanei Tehrani, M., Ebrahimzade, E., Arab Ahmadi, A.A., Mahmood Ramin

Advisor(s): -

Supervisor: -

Location of execution : Mazandaran province

Date of Beginning : 2013

Period of execution : 2 Years & 6 Months

Publisher : Iranian Fisheries Science Research Institute

Date of publishing : 2016

All Right Reserved . No Part of this Publication May be Reproduced or Transmitted without indicating the Original Reference

**MINISTRY OF JIHAD - E - AGRICULTURE
AGRICULTURAL RESEARCH, EDUCATION & EXTENSION ORGANIZATION
Iranian Fisheries Science Research Institute -Caspian Sea Ecology Research Center**

Project Title :

**Evaluation of quantitative and qualitative of microbial
indicator the lake behind Shahid Rajaee dam of
Mazandaran province (sari)**

Project Researcher :

Zahra Yaghobzadeh

Register NO.

49903