

# Investigation of Gowharrood River Contamination to Antibiotic Resistant Bacteria

F. Saberinia<sup>1</sup>, M. B. Farhangi<sup>2</sup>, N. Yaghmaeian Mahabadi<sup>3</sup>, N. Ghorbanzadeh<sup>3</sup>

1. Former Graduated Student, Soil Science and Engineering Dept., Faculty of Agricultural Science, University of Guilan, Rasht, Iran
2. Assist. Prof., Soil Science and Engineering Dept., Faculty of Agricultural Science, University of Guilan, Rasht, Iran  
(Corresponding Author) [m.farhangi@guilan.ac.ir](mailto:m.farhangi@guilan.ac.ir)
3. Assist. Prof., Soil Science and Engineering Dept., Faculty of Agricultural Science, University of Guilan, Rasht, Iran

(Received July 6, 2019 Accepted May 21, 2020)

#### To cite this article:

Saberinia, F., Farhangi, M. B., Yaghmaeian Mahabadi, N., Ghorbanzadeh, N. 2021. "Investigation of Gowharrood river contamination to antibiotic resistant bacteria" Journal of Water and Wastewater, 31(7), 145-161. Doi: 10.22093/wwj.2020.192608.2897. (In Persian)

## Abstract

Wastewaters and agricultural effluents are among the main sources of antibiotics and antibiotic resistant microorganisms. Rivers as the sink for the effluents may distribute this kind of contamination in the environment. This study aimed to investigate the variation of antibiotic resistant bacteria density in the Gowharrood River. The water and sediment samples were taken at three points along the river (focused on river course in Rasht city), in autumn 2016 and in winter, spring and summer 2017. The number of heterotrophic and coliform bacteria were counted in the Nutrient agar and Eosine-Methylene Blue agar media containing 100 µg/mL of cephalixin, gentamicin, doxycyclin, ciprofloxacin, and trimetoprim antibiotics, respectively. pH and EC were also measured in water samples. Data for bacteria number were analyzed by repeated measures of factorial arrangement in a completely randomized design by SAS software package. As the river passes through the city, pH and EC of water increase. The average EC value of river water in spring and summer seasons was more than 2.5 times its value in autumn and winter seasons. The number of heterotrophic and coliform bacteria in both water body and sediment increased as the river passed through the city. The average density of antibiotic resistant heterotrophic and coliform bacteria in the river water was 3.74 and 2.79 (Log CFU/mL) respectively, and the average density of antibiotic resistant heterotrophic and coliform bacteria in sediment samples was 5.74 and 5.37 (Log CFU/g) respectively. Resistance pattern of both heterotrophic and coliform bacteria to antibiotics in both sediment and water samples was as follows: cephalixin > gentamicin > ciprofloxacin > doxycyclin > trimetoprim. Seasonal variation patterns for river water and sediment coliforms and sediment heterotrophic bacteria were as follows: winter > autumn > summer > spring. According to the results of this study, Gowharrood river is contaminated with antibiotic resistant, especially cephalixin resistant, bacteria and if the water of this river is used in aquaculture and irrigation of downstream agriculture fields, the antibiotic resistant bacteria and their antibiotic resistance genes may be spread in the other ecosystems and finally may enter the human food chain.

**Keywords:** Heterotrophic Bacteria, Cephalixin, Coliforms, Electrical Conductivity.



مجله آب و فاضلاب، دوره 31، شماره 7، صفحه: 145-161

## بررسی آلودگی رودخانه گوهررود به باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک

فاطمه صابری نیا<sup>۱</sup>، محمدباقر فرهنگی<sup>۲</sup>، نفیسه یغمائیان مهابادی<sup>۳</sup>، نسرين قربان‌زاده<sup>۳</sup>

- ۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران  
 ۲- استادیار، گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران  
 (نویسنده مسئول) [m.farhangi@guilan.ac.ir](mailto:m.farhangi@guilan.ac.ir)  
 ۳- استادیار، گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

(دریافت ۹۸/۴/۱۵ پذیرش ۹۹/۳/۱)

برای ارجاع به این مقاله به صورت زیر اقدام فرمایید:

صابری نیا، ف.، فرهنگی، م. ب.، یغمائیان مهابادی، ن.، قربان‌زاده، ن.، "بررسی آلودگی رودخانه گوهررود به باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک"

مجله آب و فاضلاب، ۳۱(۷)، ۱۶۱-۱۴۵. Doi: 10.22093/wwj.2020.192608.2897

### چکیده

فاضلاب‌های شهری و پساب‌های کشاورزی مهم‌ترین منبع آنتی‌بیوتیک‌ها و ریزجانداران مقاوم به آنها هستند و رودخانه‌ها به‌عنوان محل ورود اینها از مهم‌ترین مسیرهای پخش این آلودگی‌ها به‌شمار می‌روند. هدف این پژوهش بررسی تغییرات جمعیت باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف در رودخانه گوهررود بود. از آب و رسوب کف رودخانه در سه نقطه در طول رودخانه با تمرکز بر شهر رشت و در پاییز و زمستان ۱۳۹۵ و بهار و تابستان ۱۳۹۶ نمونه‌برداری شد. تعداد باکتری‌های هتروتروف و کلیفرم در محیط کشت‌های نوترینت آگار و آنوزین متیلن‌بلو آگار دارای  $10^4$   $\mu\text{g/mL}$  از آنتی‌بیوتیک‌های سفالکسین، جنتامایسین، داکسی‌سایکلین، سیپروفلوکساسین و تری‌متوپریم، به‌روش پلیت کانت شمارش شدند. از ویژگی‌های شیمیایی آب نیز pH و EC اندازه‌گیری شدند. داده‌های مربوط به تعداد باکتری‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS به روش اندازه‌های تکرار شده با آرایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی آنالیز شدند. با عبور رودخانه از شهر، pH و EC آب افزایش یافت. میانگین EC در فصل بهار و تابستان بیش از ۲/۵ برابر میانگین آن در فصل پاییز و زمستان بود. تعداد باکتری‌های هتروتروف و کلیفرم آب و رسوب با عبور رودخانه از شهر افزایش یافت. میانگین تعداد هتروتروف‌ها و کلیفرم‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک در آب به‌ترتیب Log CFU/mL ۳/۷۴ و ۲/۷۹ و میانگین تعداد هتروتروف‌ها و کلیفرم‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک در رسوب به‌ترتیب Log CFU/g ۵/۷۴ و ۵/۳۷ بود. روند مقاومت باکتری‌های هتروتروف و کلیفرم آب و رسوب در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها به‌صورت سفالکسین > جنتامایسین > سیپروفلوکساسین > داکسی‌سایکلین > تری‌متوپریم بود. روند میانگین تعداد کلیفرم‌های آب و رسوب و تعداد باکتری‌های هتروتروف رسوب در فصول مختلف به‌صورت زمستان > پاییز > تابستان > بهار بود. با توجه به یافته‌های این پژوهش آب رودخانه گوهررود آلوده به باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک و به‌ویژه باکتری‌های مقاوم به سفالکسین بوده و اگر از آب رودخانه در آبی‌پروری و آبیاری کشت‌زارهای پایین‌دست در کشاورزی استفاده شود، ممکن است باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک و ژن‌های مقاومت در آنها در اکوسیستم‌های دیگر پخش شده و وارد زنجیره غذایی انسان شوند.

واژه‌های کلیدی: باکتری‌های هتروتروف، سفالکسین، کلی‌فرم، هدایت الکتریکی



## ۱- مقدمه

آب یک ماده اساسی برای زندگی است. آب‌های شیرین ۳ درصد کل آب‌های جهان را شامل می‌شوند. تنها درصد کمی (۱ درصد) از این آب شیرین برای استفاده انسان در دسترس است (Xu et al., 2016). متأسفانه حتی این بخش کوچک آب شیرین به‌علت رشد سریع جمعیت، شهرنشینی و مصرف بی‌رویه در صنعت و کشاورزی، تحت فشار شدیدی قرار دارد (Mojaradi et al., 2018). بر اساس گزارش سازمان ملل متحد، جمعیت جهان به‌صورت نمایی افزایش می‌یابد. در حالی که هم‌اکنون نیز دسترسی به آب شیرین کم شده است. بسیاری از کشورها در آفریقا، خاورمیانه و آسیای جنوبی در دو دهه آینده مشکلات جدی در مورد کمبود آب خواهند داشت. در کشورهای در حال توسعه این مشکل به‌دلیل فقدان مدیریت مناسب، عدم دسترسی به افراد حرفه‌ای و محدودیت مالی تشدید شده است (PCRWR, 2005). طبق استاندارد سازمان بهداشت جهانی<sup>۱</sup> برای آب آشامیدنی عمومی، هیچ نوع کلیفرم مدفوعی نباید در ۱۰۰ میلی‌لیتر نمونه آب وجود داشته باشد (WHO, 1993). آلودگی منابع آب به کلیفرم‌های مدفوعی یکی از مشکلات مهم و اساسی بهداشت آب است و برای جلوگیری و پیشگیری از همه‌گیر شدن بیماری‌های میکروبی گوارشی و شناسایی آنها اهمیت دارد (Arian et al., 2003).

در حال حاضر برای کنترل کیفی آب، افزون بر پارامترهای فیزیکی و شیمیایی، آب را از نظر آلودگی میکروبی با توجه به شاخص‌های موجود (همه باکتری‌های مدفوعی، کلیفرم‌ها و اشریشیا کلای) آنالیز و بررسی می‌شوند (Naderi et al., 2002).

از آنتی‌بیوتیک‌ها در دامپروری با هدف پیشگیری و درمان بیماری‌ها و همچنین به‌عنوان محرک رشد حیوان استفاده می‌شود (Cromwell, 2002). بنابراین در فضولات دام‌ها آنتی‌بیوتیک و باکتری‌های مقاوم به آنها دیده می‌شوند. در کشاورزی از فضولات دام‌ها به‌عنوان کود دامی استفاده می‌شود. آنتی‌بیوتیک‌های موجود در خاک‌های زراعی، کودهای دامی یا لجن فاضلاب‌ها به‌دلیل بارندگی، آبیاری و سایر فعالیت‌های انسانی وارد آب‌های زیرزمینی می‌شوند (Hu et al., 2010, Sui et al., 2015). یک پژوهش انجام شده در مورد آب‌های زیرزمینی در اروپا گزارش کرد که

آنتی‌بیوتیک سولفونامید در ۲۴ درصد از نمونه‌ها با بیشینه غلظت ۳۸ و میانگین غلظت ۲ نانوگرم در لیتر یافت شد (Loos et al., 2010).

آب‌های زیرزمینی اسپانیا بیشترین غلظت سولفونامید (۳/۴ میلی‌گرم در لیتر) را داشتند (García-Galán et al., 2010). سالانه چیزی حدود ۱۰۰ تا ۲۰۰ هزار تن آنتی‌بیوتیک در جهان استفاده می‌شود (Zhang et al., 2010). به‌طور کلی ۱۵ درصد از سرانه مصرف دارو مربوط به آنتی‌بیوتیک‌ها است (Kulik et al., 2008) و ایران یکی از پر مصرف‌ترین کشورها از نظر تجویز و مصرف آنتی‌بیوتیک است. مصرف آنتی‌بیوتیک در ایران ۱۶ برابر استاندارد جهانی است. بقایای آنتی‌بیوتیک‌ها از راه زباله‌های بیمارستانی، صنایع داروسازی، فضولات دام‌ها، فاضلاب شهری و پساب‌های کشاورزی وارد طبیعت می‌شوند (Babakhani et al., 2015, Elmolla and Chaudhuri, 2011).

ورود مداوم آنتی‌بیوتیک‌ها و انباشت آنها در محیط خطر بالقوای را برای زیست‌بوم‌های آبی و جانوران موجود به دنبال دارد (Elmolla and Chaudhuri, 2010). آنتی‌بیوتیک‌ها و ژن‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک در آب تصفیه شده و سیستم توزیع، دیده شده‌اند. وجود ژن‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک به واسطه انتقال ژن مقاوم به باکتری‌ها باعث ایجاد آسیب‌های بهداشتی برای انسان می‌شود (Martinez, 2009). برای نمونه ژن‌های مقاومت به آمپی‌سیلین، استرپتوماکسین و تراسایکلین قابل انتقال به سایر باکتری‌ها هستند. پژوهش‌ها نشان دادند که برخی ریزجانداران مقاوم به آنتی‌بیوتیک می‌توانند پس از کلر زنی آب زنده بمانند و در نهایت وارد سیستم آب آشامیدنی شوند. سودوموناس ائروجینوزا از جمله باکتری‌هایی است که پس از کلر زنی زنده می‌ماند و تقریباً نسبت به بیشتر آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم شده است (Mojica and Aga, 2011).

هادی و همکاران در پژوهشی با عنوان مقاومت آنتی‌بیوتیکی باکتری‌های جداسازی شده از فاضلاب‌های شهری و بیمارستانی در شهر همدان به این نتیجه رسیدند که باکتری کلبسیلا نومونیا بیشترین مقاومت را در مقایسه با باکتری اشریشیا کلای و سودوموناس ائروجینوزا نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها داشت. همچنین مشخص شد که مقدار بروز مقاومت دارویی در فاضلاب

<sup>1</sup> World Health Organization (WHO)



نهایت به قسمت پایین دست مناطق کشاورزی و روستایی و تالاب انزلی که محل نهایی تخلیه این رودخانه‌ها است، می‌ریزد و موجب آلودگی محیط‌زیست آن می‌شود (Nourani Masouleh et al., 2013).

منابع عمده آلاینده رودخانه گوهررود شامل فاضلاب شهری (Abbaspour, 1992)، پساب صنعتی (Bagherzadeh et al., 2009) زهاب کشاورزی (Ghodrati et al., 2007) و همچنین فاضلاب بیمارستانی (Ghavidel and Moatar, 2009) است.

## ۲-۲- نمونه برداری

نمونه برداری از رودخانه گوهررود در سه نقطه و در چهار فصل در سال ۱۳۹۵ و ۱۳۹۶ انجام شد. در شکل ۱ نقشه رودخانه گوهررود و همچنین نقاط نمونه برداری نشان داده شده است. برای بررسی منشأ احتمالی آلودگی و نقش پساب شهری در آن، نقاط نمونه برداری از رودخانه به این صورت انتخاب شدند که یک نقطه با مختصات جغرافیایی "۵، ۳۵ و ۴۹ شرقی و ۳۶، ۱۲ و ۳۷ شمالی" پیش از ورود رودخانه به شهر باشد (نقطه ورودی). یک نقطه در وسط شهر با مختصات جغرافیایی "۳، ۳۵ و ۴۹ شرقی و ۵۷، ۱۵ و ۳۷ شمالی" باشد که پارک قدس انتخاب شد (نقطه وسط شهر) و یک نقطه با مختصات جغرافیایی "۲۷، ۳۳ و ۴۹ شرقی و ۱۶، ۱۷ و ۳۷ شمالی" نیز پس از خروج رودخانه از شهر (نقطه خروجی) انتخاب شد. لازم به ذکر است که تقریباً در همه مسیر عبور رودخانه از شهر پساب‌ها و فاضلاب‌ها درون رودخانه می‌ریزند، اما از آنجا که در نزدیکی پارک قدس چند بیمارستان وجود دارد، نمونه برداری از این نقطه به منظور مشخص کردن آلودگی احتمالی ناشی از فاضلاب‌های بیمارستانی انجام شد. برای بررسی نوسان‌های فصلی بار میکربی رودخانه هم نمونه برداری در چهار فصل پاییز، زمستان، بهار و تابستان و در ماه‌های میانی هر فصل یعنی ۷ آبان و ۵ بهمن ۱۳۹۵ و ۱۳ اردیبهشت و ۶ مرداد ۱۳۹۶ انجام شد. دلیل نامنظم بودن روزها به دلیل فاصله گرفتن از بارندگی‌ها بود، تا بارندگی بر دبی رودخانه تأثیر زیادی نداشته باشد. نمونه برداری در هر فصل در سه تکرار و از همان نقاط انجام شد. فاصله نقطه ورودی تا مرکز شهر ۵ کیلومتر و نقطه خروجی تا مرکز شهر ۶/۵ کیلومتر بود. نمونه‌های آب از سطح آب جاری و نمونه‌های رسوب از رسوبات کنار رودخانه در ظروف سترون

بیمارستانی از فاضلاب‌های شهری بیشتر است (Hadi et al., 2011).

خطیب حقیقی و قانع برای بررسی مقدار آلودگی کلیفرمی در رودخانه حویق در غرب استان گیلان در چهار فصل یک سال از آب سطحی و رسوب نمونه برداری کردند. در مجموع، بیشترین میانگین آلودگی کلیفرم کل و کلیفرم مدفوعی در فصل تابستان، در لایه سطحی آب، به ترتیب به تعداد ۸۵/۸۳ و ۲۱/۶۶ در ۱۰۰ میلی‌لیتر و در رسوب به ترتیب به تعداد ۱۰۶/۸۳ و ۳۵/۸۳ در ۱۰۰ میلی‌لیتر (در سوسپانسیون ۱ به ۱۰ رسوب) ثبت شد. در این فصل با افزایش درجه حرارت محیط و افزایش رشد و تکثیر باکتری‌ها، دریافت مواد غذایی و رقابت نیز بیشتر می‌شود. در مناطق مصبی به دلیل جریان آرام آب رودخانه و ورود ضایعات مراکز شهری و کشاورزی به آنها، آلودگی آب رودخانه نسبت به ایستگاه‌های دارای دبی زیاد، افزایش یافت (Khatib Haghghi and Ghane, 2017).

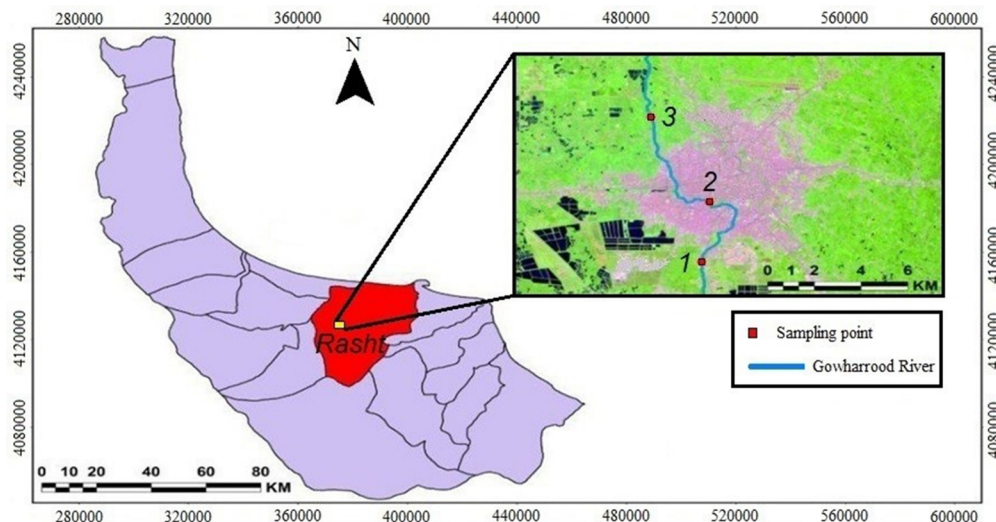
از آنجایی که رودخانه گوهررود به تالاب انزلی می‌ریزد و اکوسیستم تالاب را تحت تأثیر قرار می‌دهد و همچنین باتوجه به بار زیاد باکتریایی گزارش شده در رودخانه کناری آن یعنی زرچوب، به نظر می‌رسد بار باکتریایی در این رودخانه نیز زیاد باشد. بنابراین این پژوهش با این پرسش که آیا رودخانه گوهررود دارای بار باکتریایی زیاد است یا خیر و آیا باکتری‌های آن به آنتی بیوتیک‌ها مقاوم شده‌اند یا خیر، انجام شد. از آنجا که مقدار جمعیت باکتری‌ها در رودخانه در طول سال در حال تغییر است، بررسی فصلی مقدار آلودگی میکربی و باکتری‌های مقاوم به آنتی بیوتیک نیز در این رودخانه انجام شد.

## ۲- مواد و روش‌ها

### ۲-۱- منطقه مورد مطالعه

رودخانه گوهررود یکی از رودخانه‌های مهم رشت محسوب می‌شود که از ارتفاعات ۷۰۰ متری کوه‌های سراوان سرچشمه می‌گیرد و پس از عبور از روستای لاکان، از ضلع غربی شهر رشت می‌گذرد. این رودخانه در منطقه پیربازار رشت با زرچوب تلاقی پیدا می‌کند و با نام رودخانه پیربازار وارد تالاب انزلی می‌شود. طول رودخانه در شهر رشت حدود ۴۰ کیلومتر است. از طرفی ۸۰ درصد از آب مصرفی سرانه در شهر رشت به صورت فاضلاب دفع می‌شود که در





**Fig. 1.** Map of Gowharrood river in Gilan province and sampling points locations. 1, 2, and 3 denote sampling points locations along the river; river entrance, middle of the city and river exit from the city, respectively

شکل ۱- موقعیت رودخانه گوهررود در استان گیلان و نقاط نمونه برداری شده از آن. شماره‌های ۱، ۲ و ۳ به ترتیب نشان دهنده نقاط نمونه برداری ورودی شهر، مرکز شهر و خروجی شهر در طول رودخانه هستند

کلیفرم‌ها، مایه زنی هم‌زمان از رقت مناسب از نمونه‌های آب و رسوب به ترتیب در محیط‌های کشت‌های NA و EMB بدون آنتی‌بیوتیک و دارای آنتی‌بیوتیک‌های سفالکسین، جنتامایسین، داکسی‌سایکلین، سیپروفلوکساسین و تری‌متوپریم هر کدام به‌طور جداگانه و با غلظت ۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر محیط کشت انجام شد (Van den Bogaard et al., 2000).

پس از انکوباسیون و رشد باکتری‌ها، تعداد کلنی‌های رشد کرده شمارش شدند و تعداد باکتری‌ها بر پایه واحد سازنده کلنی<sup>۳</sup> در میلی‌لیتر نمونه آب و گرم وزن خشک رسوب بیان شد.

#### ۲-۵- اندازه‌گیری ویژگی‌های شیمیایی آب

از ویژگی‌های شیمیایی آب، pH و هدایت الکتریکی<sup>۴</sup> آب در هر چهار فصل اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری pH آب به روش پتانسیومتری انجام شد.

برای اندازه‌گیری EC الکتروود دستگاه EC سنج مدل JENWAY 4510 مستقیماً در نمونه‌های آب قرار گرفت و EC آنها خوانده شد (APHA, 2005).

برداشته شد و بلافاصله به آزمایشگاه منتقل شدند.

#### ۲-۳- کشت و شمارش باکتری‌ها

در این پژوهش، از روش شمارش کلنی برای شمارش باکتری‌های هتروتروف و کلیفرم استفاده شد. امروزه باکتری‌های هتروتروف به‌صورت شاخص شمارش پلیت هتروتروف به‌عنوان مکمل کلیفرم‌ها در کنترل کیفی آب مورد توجه قرار گرفتند (Mosaferi et al., 2010).

برای کشت کلیفرم‌ها از محیط کشت اختصاصی اتوزین متیلن‌بلو<sup>۱</sup> استفاده شد و کلنی‌های رشد کرده روی آن پس از ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس شمارش شدند. برای شمارش باکتری‌های هتروتروف از محیط نوترینت آگار<sup>۲</sup> استفاده شد و کلنی‌های رشد کرده روی محیط پس از ۴۸ ساعت در دمای ۲۷ درجه سلسیوس شمارش شدند (Safari Sanjani et al., 2011).

#### ۲-۴- شمارش باکتری‌ها و بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی

برای بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی باکتری‌های هتروتروف و

<sup>3</sup> Colony Forming Unit (CFU)

<sup>4</sup> Electrical Conductivity (EC)

<sup>1</sup> Eosin Methylene Blue (EMB)

<sup>2</sup> Nutrient Agar (NA)



## ۶-۲- آنالیز آماری

نمونه‌برداری بر pH و EC آب ( $p < 0.01$ ) در ادامه به مقایسه میانگین پیامد برهم‌کنش فاکتورها بر این دو پارامتر پرداخته شده است. مقایسه میانگین برهم‌کنش پیامد مکان در زمان نمونه‌برداری بر pH آب رودخانه گوهررود در شکل ۲ نشان داده شده است، با عبور رودخانه از شهر pH آب رودخانه افزایش یافت، به طوری که میانگین pH آب رودخانه در نقطه ورودی ۶/۷۱ و در نقطه خروجی ۶/۸۸ بود. بیشترین اندازه pH، ۷/۱۳ در فصل زمستان و در نقطه خروجی به دست آمد که البته تفاوت آن با مقدار pH، ۶/۹۹ در فصل زمستان و نقطه نمونه‌برداری مرکز شهر و همین طور فصل بهار و نقطه نمونه‌برداری ورودی شهر، ۶/۹۷ از نظر آماری معنی‌دار نبود ( $P < 0.05$ ). کمترین مقدار pH، ۶/۱۲ نیز در نقطه ورودی شهر و فصل پاییز به دست آمد که تفاوت آن با دیگر تیمارها از نظر آماری معنی‌دار بود ( $p < 0.05$ ). میانگین pH رودخانه در چهار فصل نشان داد که کمترین مقدار pH در فصل پاییز، ۶/۴۳ و بیشترین مقدار آن در فصل زمستان، ۷ بود (شکل ۲).

دامنه تغییرات pH یک واحد و تقریباً در همه موارد کمتر از ۷ بود. pH آب‌های شیرین اگر از سازند آهکی عبور نکنند معمولاً خنثی یا کمتر از ۷ خواهد بود. به نظر می‌رسد pH این رودخانه بیشتر تحت تأثیر آب باران و تجزیه مواد آلی است که در مورد اول یعنی تحت تأثیر آب باران pH معمولاً کمتر از ۶ است و در مورد دوم یعنی تجزیه مواد آلی به تولید اسیدهای آلی منجر می‌شود که pH را پایین می‌آورند. ثبت کمترین اندازه pH در فصل پاییز

داده‌های مربوط به تعداد باکتری‌ها به روش اندازه‌های تکرار شده با آرایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و در دو تکرار آنالیز شد. فاکتورهای آزمایش شامل مکان یا نقاط نمونه‌برداری در سه سطح ورودی، میانه و خروجی شهر و سطوح آنتی‌بیوتیک در پنج سطح سفالکسین، جنتامایسین، داکسی‌سایکلین، سیپروفلوکساسین و تری متوپریم به عنوان واحد اصلی بودند. زمان نمونه‌برداری در چهار سطح پاییز، زمستان، بهار، تابستان نیز به عنوان فاکتور فرعی در نظر گرفته شد.

برای مقایسه بار باکتریایی آب و رسوب یعنی تعداد باکتری‌های هتروتروف و کلیفرم بدون آنتی‌بیوتیک نیز آنالیز داده‌ها با همین روش انجام شد. با این تفاوت که به جای سطوح آنتی‌بیوتیک مکان نمونه‌گیری از آب و رسوب رودخانه قرار داده شد. داده‌های مربوط به ویژگی‌های شیمیایی آب نیز به روش اندازه‌های تکرار شده در مکان در سه سطح به عنوان واحد اصلی و زمان در ۴ سطح به عنوان واحد فرعی آنالیز شدند. آنالیز داده‌ها با نرم‌افزار SAS 9.4 و مقایسه میانگین آنها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد. برای رسم نمودارها نیز از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

## ۳- نتایج و بحث

## ۱-۳- تغییرات pH و EC آب رودخانه

با توجه به معنی‌دار بودن برهم‌کنش پیامد مکان و زمان

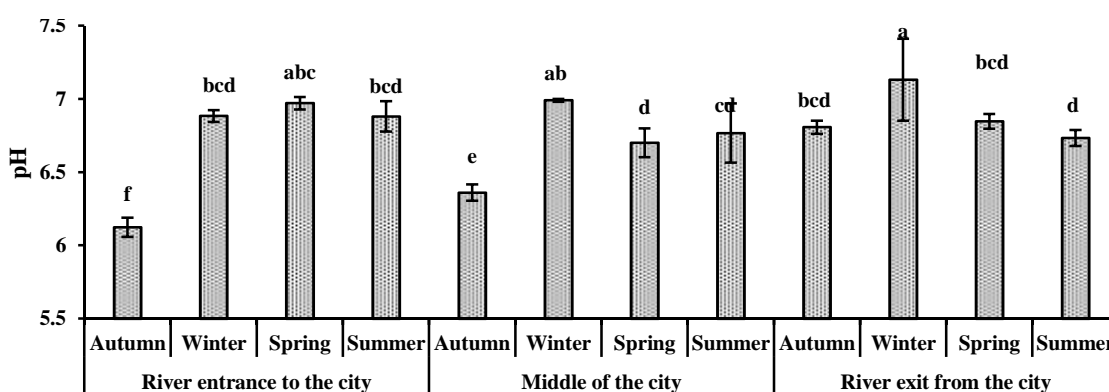


Fig. 2. Mean comparisons for the effect of the sampling location and sampling time interactions on the water pH. Different letters on the columns indicate significant differences at  $p < 0.05$

شکل ۲- مقایسه میانگین پیامد برهم‌کنش مکان نمونه‌برداری در زمان نمونه‌برداری بر pH آب. حروف همانند

در روی ستون‌ها نشان‌دهنده نبودن تفاوت آماری معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح ۵ درصد است



مقدار EC نقطه ورودی شهر در فصل بهار از نظر آماری معنی‌دار نبود ( $P > 0.05$ ). کمترین اندازه EC،  $0.35$  dS/m نیز در نقطه ورودی شهر و در فصل پاییز به دست آمد که البته تفاوت آن با مقدار EC در نقطه وسط شهر و فصل زمستان از نظر آماری معنی‌دار نبود ( $P > 0.05$ ). با گذشت رودخانه از شهر EC آب آن افزایش یافت، به طوری که میانگین EC در هر چهار فصل در نقطه ورودی، وسط و خروجی شهر به ترتیب  $0.83$ ،  $0.95$  و  $0.98$  dS/m بود. تغییرات فصلی EC آب رودخانه نیز نشان داد که میانگین EC آب رودخانه در هر سه نقطه نمونه برداری شده در فصل تابستان بیشترین مقدار  $1.35$  dS/m و در فصل زمستان کمترین مقدار  $0.36$  dS/m بود (شکل ۳).

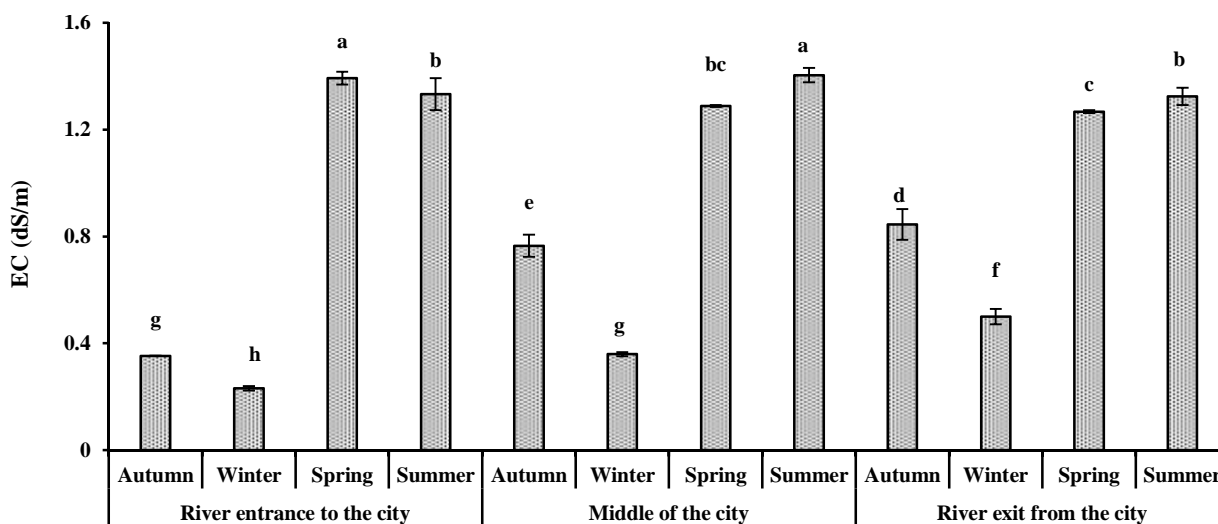
میانگین EC در آب رودخانه در فصل بهار و تابستان بیش از  $2/5$  برابر میانگین آن در فصل پاییز و زمستان بود که احتمالاً به دلیل کم شدن دبی آب رودخانه در فصول بهار و تابستان در مقایسه با فصول بارانی پاییز و زمستان است. طبق گزارش اداره آب و فاضلاب میانگین دبی رودخانه در ماه‌های نمونه برداری شده آبان و بهمن  $1395$  و اردیبهشت و مرداد  $1395$  به ترتیب  $0.79$ ،  $0.81$ ،  $0.31$  و  $0.03$  مترمکعب در ثانیه بود. بنابراین گزارش رودخانه گوهررود در ماه بهمن بیشترین دبی و در مرداد ماه

به‌ویژه در نقطه ورودی، تا اندازه زیادی تحت تأثیر بودن آن از تجزیه بقایای آلی کشاورزی که در بالادست وارد رودخانه می‌شوند را تأیید می‌کند.

پاداشی و همکاران مقدار EC و pH را در سه ایستگاه در طول رودخانه گوهررود رشت اندازه‌گیری کردند. نتایج نشان داد که مقدار EC و pH در ایستگاه بیرون شهر (سیاه اسطوخ) نسبت به مرکز شهر (پارک شهر) و ابتدای شهر (شهرک قدس) بیشتر است و برای کشاورزی مناسب نیست (Padashi et al., 2011).

بهاری چهارده و حق نظر با نمونه برداری از آب و رسوب رودخانه زرجوب رشت در ۵ نقطه در طول رودخانه گزارش کردند که اندازه pH در پنج ایستگاه نمونه برداری شده از  $7.42$  تا  $7.77$  متغیر بود. در این پژوهش نیز pH آب رودخانه با گذر رودخانه از شهر افزایش یافت اما اندازه آن فقط در نقطه خروجی شهر و در فصل زمستان بیش از  $7$  بود که تفاوت آن در مقایسه با pH رودخانه زرجوب کم نیست (Bahari Chahardeh and Haghazhar, 2016).

مقایسه میانگین برهم‌کنش مکان در زمان نمونه برداری و EC در شکل ۳ آمده است. بیشترین اندازه EC،  $1.40$  dS/m در فصل تابستان و در نقطه وسط شهر به دست آمد که تفاوت آن با

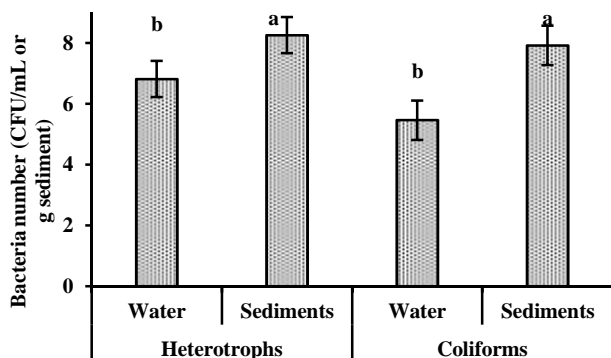


**Fig. 3.** Mean comparisons for the effect of the sampling location and sampling time interactions on the water EC. Different letters on the columns indicate significant differences at  $p < 0.05$

شکل ۳- مقایسه میانگین پیامد برهم‌کنش مکان نمونه برداری در زمان نمونه برداری بر EC آب. حروف همانند در روی

ستون‌ها نشان‌دهنده نبودن تفاوت آماری معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح ۵ درصد است





**Fig. 4.** Mean comparisons for bacteria load (heterotrophs and coliforms) in water and sediment of Gowharrood River. For each group of bacteria different letters on the columns indicate significant differences at  $p < 0.05$

شکل ۴- مقایسه میانگین بار باکتریایی (هتروتروف‌ها و کلیفرم‌ها) در آب و رسوب رودخانه گوه‌رود. حروف همانند در روی ستون‌ها در هر گروه باکتریایی نشان‌دهنده نبودن تفاوت آماری معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح ۵ درصد است

آنتی‌بیوتیک، زمان نمونه‌برداری و برهم‌کنش آنها ( $A \times T$ ) بر این پارامترها معنی‌دار شد ( $p < 0.01$ ). پیامد برهم‌کنش مکان در زمان نمونه‌برداری ( $L \times T$ ) تنها بر تعداد هتروتروف‌های آب و پیامد برهم‌کنش سه‌تایی مکان در نوع آنتی‌بیوتیک در زمان نمونه‌برداری ( $L \times A \times T$ ) تنها بر تعداد هتروتروف‌های رسوب معنی‌دار بودند ( $p < 0.01$ ). دلیل معنی‌دار نبودن پیامد مکان نمونه‌برداری ممکن است دوری زیاد نقاط نمونه‌برداری و تعداد کم آنها باشد. در این پژوهش تنها از سه نقطه در طول رودخانه نمونه‌برداری انجام شد که فاصله نقطه نمونه‌برداری بیرون شهر از مرکز شهر ۵ کیلومتر و فاصله آن از نقطه نمونه‌برداری بیرون شهر ۶/۵ کیلومتر بود. اما با وارد شدن زمان نمونه‌برداری برهم‌کنش آنها بر تعداد باکتری‌های هتروتروف آب معنی‌دار شد که نشان از اهمیت زمان و تغییرپذیری باکتری‌های هتروتروف آب دارد. به هر حال، معنی‌دار شدن برهم‌کنش سه‌تایی در باکتری‌های هتروتروف آب هم می‌تواند تأییدی بر این نکته باشد که بهتر است تغییرات زمانی و مکانی مقاومت آنتی‌بیوتیکی باکتری‌ها در رسوب که شرایط پایدارتری از آب رودخانه دارد، بررسی شود.

#### ۳-۴- تعداد باکتری‌های آب

مقایسه میانگین پیامد برهم‌کنش مکان در زمان نمونه‌برداری

کمترین دبی را داشته است. با تغییر دبی غلظت مواد محلول در آب تغییر می‌کند به طوری که با افزایش دبی EC کاهش می‌یابد. (Karami Moghadam and Mashhadi, 2006, Shokohiyafar and Izadpanah, 2013)

بنابراین، به نظر می‌رسد زیادتر بودن EC رودخانه گوه‌رود در فصل تابستان نسبت به دیگر فصول به دلیل کاهش دبی رودخانه ناشی از کمبود بارندگی‌ها و بهره‌برداری زیاد باشد. میانگین دبی آب رودخانه گوه‌رود در ماه مرداد نسبت به ماه‌های اردیبهشت، بهمن و آبان به ترتیب ۱۰، ۲۶ و ۲۷ برابر کاهش یافته است. گرجی در بررسی علل شوری رودخانه آجی‌چای بیان کرد که بهتر است برای بهره‌برداری از آب رودخانه در ماه‌های پر آب آن یعنی فروردین و اردیبهشت اقدام شود که آب رودخانه در کیفیت مناسبی قرار دارد. (Gorgy, 1993)

#### ۳-۲- بار باکتریایی رودخانه

بار باکتریایی رودخانه یعنی غلظت یا همان تراکم باکتری‌های هتروتروف و کلیفرم در آب و رسوب در شکل ۴ نشان داده شده است. بار باکتریایی رودخانه نشان داد که در کل تعداد هتروتروف‌ها بیش از کلیفرم‌ها و تعداد باکتری‌های هتروتروف و کلیفرم در رسوب با تفاوت آماری معنی‌داری ( $p < 0.05$ ) بیشتر از آب بود و این تفاوت در کلیفرم‌ها بیشتر هم بود. رسوبات زیستگاه امن‌تری از آب جاری بوده و پیش‌بینی می‌شود که تعداد باکتری‌ها در آن بیشتر باشد. در سوی دیگر تأثیر آلودگی‌های گاه‌به‌گاه (ورود یک‌باره آلودگی باکتریایی) خود را در آب جاری رودخانه نشان می‌دهد اما غلظت زیاد باکتری‌های غیربومی مانند کلیفرم‌ها در رسوب نشان از آلودگی‌های پیوسته و پایدار دارد. زیاد بودن غلظت باکتری‌ها در رسوب در پژوهش‌های دیگر نیز نشان داده شده است. (Khatib Haghghi and Ghane, 2017, Bahari Chahardeh and Haghazar, 2016)

#### ۳-۳- پیامد تیمارها بر تعداد باکتری‌ها

در این بخش پیامد مکان نمونه‌برداری، نوع آنتی‌بیوتیک و زمان نمونه‌برداری بر لگاریتم تعداد باکتری‌های هتروتروف و کلیفرم آب و رسوب نشان داده شده است (جدول ۱). پیامد مکان نمونه‌برداری و برهم‌کنش آن با نوع آنتی‌بیوتیک بر تعداد باکتری‌های هتروتروف و کلیفرم آب و رسوب معنی‌دار نبود ( $P > 0.05$ ), اما پیامد نوع





جدول ۱- تجزیه واریانس پیامد مکان نمونه برداری، نوع آنتی بیوتیک، زمان نمونه برداری و برهم کنش آنها بر لگاریتم تعداد باکتری های هتروتروف و کلیفرم آب و رسوب

**Table 1.** Analysis of variance for sampling points, antibiotics, sampling times, and their interactions on heterotrophic and coliform bacteria (log number) in water and sediment

Source of variations	Df	Mean squares			
		Water		Sediment	
		Heterotrophic bacteria	Coliforms	Heterotrophic bacteria	Coliforms
Location (L)	2	0.62 <sup>ns</sup>	0.65 <sup>ns</sup>	0.33 <sup>ns</sup>	1.36 <sup>ns</sup>
Antibiotic (A)	5	44.32 <sup>**</sup>	33.83 <sup>**</sup>	43.60 <sup>**</sup>	39.11 <sup>**</sup>
L×A	10	0.08 <sup>ns</sup>	0.10 <sup>ns</sup>	0.37 <sup>ns</sup>	0.21 <sup>ns</sup>
R×(L×A)	18	0.55 <sup>**</sup>	0.42 <sup>**</sup>	0.94 <sup>**</sup>	0.77 <sup>**</sup>
Time (T)	3	7.52 <sup>**</sup>	0.28.70 <sup>**</sup>	1.64 <sup>**</sup>	2.61 <sup>**</sup>
L×T	6	0.23 <sup>**</sup>	0.06 <sup>ns</sup>	0.29 <sup>ns</sup>	0.10 <sup>ns</sup>
A×T	15	8.28 <sup>**</sup>	2.92 <sup>**</sup>	11.62 <sup>**</sup>	11.87 <sup>**</sup>
L×A×T	30	0.09 <sup>ns</sup>	0.06 <sup>ns</sup>	0.43 <sup>**</sup>	0.19 <sup>ns</sup>
Error	54	0.09	0.13	0.18	0.22

\* and \*\* are significant at 5% and 1% level of probability level respectively, and <sup>ns</sup> are not significant at 5% level of probability

است. بار باکتریایی رودخانه در دو فصل بهار و تابستان هم در خروجی شهر بیشتر از ورودی بوده، اما در نقطه نمونه برداری وسط شهر در این دو فصل بار باکتریایی کمتر از ورودی شده است که البته این کاهش در فصل تابستان بیشتر بود. بار باکتریایی زیاد در نقطه خروجی شهر نسبت به ورودی احتمالاً به دلیل ورود فاضلاب به رودخانه در بالادست است که توسط بهاری چهارده و حق نظر در رودخانه زرجوب نشان داده شده است. آنها با اندازه گیری BOD در ۵ ایستگاه رودخانه زرجوب نشان دادند که در همه ایستگاه ها این پارامترها بیش از اندازه استاندارد آب های ایران ۳ میلی گرم در لیتر بود که ناشی از ورود فاضلاب به رودخانه است (Bahari, Chahardeh and Haghazar, 2016)

همچنین افزایش بیش از ۲۵ برابری دبی آب در دو فصل پاییز و زمستان در مقایسه با تابستان می تواند سبب بالا آمدن آب رودخانه و حل کردن بقایای کنار رودخانه و باکتری های ساکن در آن به ویژه در طول مسیر داخل شهر باشد که ممکن است در فصول گرم سال و با پایین رفتن سطح آب به جایی برای زندگی و تجمع ریزجانداران تبدیل شده باشد. اما در سوی دیگر، دلیل کمتر بودن بار باکتریایی آب رودخانه در نقطه نمونه برداری وسط شهر نسبت به ورودی که در فصول بهار و تابستان رخ داده است روشن نیست. کم شدن دبی آب رودخانه در دو فصل تابستان و بهار و همچنین وجود موانع زیاد به دلیل ریخته شدن زباله و ضایعات جامد در مسیر جریان آب در درون شهر به ویژه در نزدیکی پارک شهر که

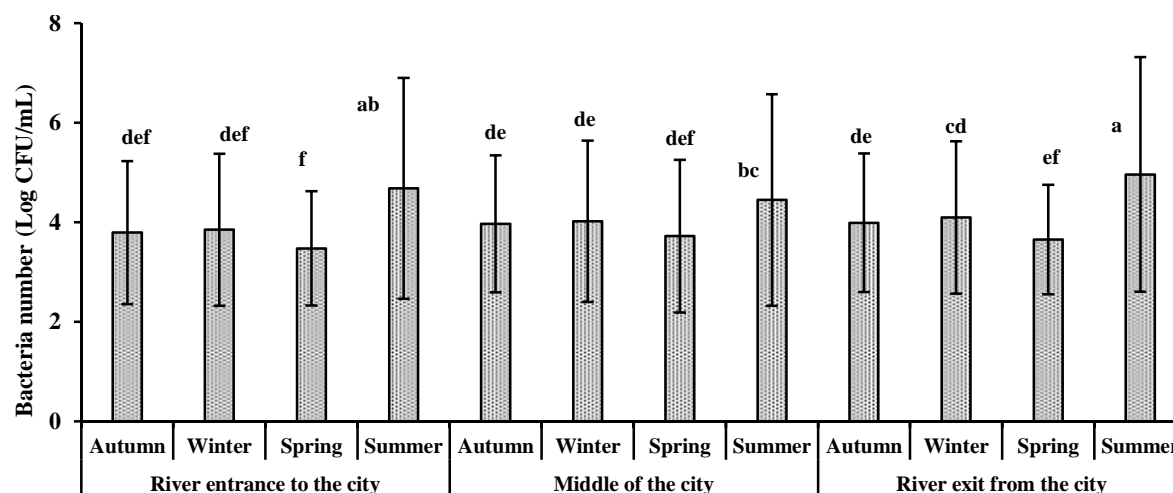
(L×T) بر لگاریتم تعداد باکتری های هتروتروف آب در شکل ۵ نشان داده شده است. بیشترین تعداد باکتری های هتروتروف در نقطه خروجی از شهر در فصل تابستان بود که البته تفاوت آماری معنی دار با نقطه ورودی شهر در همین فصل نداشت ( $P > 0.05$ ). بنابراین به نظر می رسد فصل تابستان کنترل کننده این اندازه زیاد باکتری ها بوده است. در سوی دیگر، کمترین تعداد باکتری های هتروتروف آب نیز در نقطه ورودی رودخانه به شهر و در فصل بهار بود که با نقاط دیگر در همین فصل و همچنین نقطه ورودی زمستان و پاییز تفاوت آماری معنی داری نداشت ( $P > 0.05$ ).

اقلیم با اجزایی مانند دما و بارش بر تعداد باکتری های آب تأثیر می گذارد. ضمن این که غلظت باکتری ها در آب های سطحی مانند جوی ها و رودخانه ها تحت تأثیر فاضلاب شهری و پساب های صنعتی قرار می گیرد و توسط آب باران ممکن است این آلودگی ها رقیق شوند.

تریپاتی و شارما تغییرات فصلی کلیفرم های مقاوم به آنتی بیوتیک را در منابع آب سطحی و زیرزمینی بررسی کردند. آنها مشاهده کردند که نمونه های آب گرفته شده از آب ها در تابستان بیشترین درصد آلودگی به کلیفرم های مدفوعی ۷۵ درصد را داشتند و پس از آن نمونه های فصل پاییز ۵۸/۳ درصد و زمستان ۵۰ درصد بودند (Tripathi and Sharma, 2011).

با توجه به نمودار شکل ۵ مشاهده می شود که بار باکتریایی رودخانه در فصل پاییز و زمستان با عبور از شهر افزایش یافته





**Fig. 5.** Mean comparisons for the effect of the sampling point and sampling time interactions on the heterotrophic bacteria in water (log number). Different letters on the columns indicate significant differences at  $p < 0.05$

شکل ۵- مقایسه میانگین پیامد برهم‌کنش مکان نمونه‌برداری در زمان نمونه‌برداری بر لگاریتم تعداد باکتری‌های هتروتروف آب.

حروف همانند در روی ستون‌ها نشان‌دهنده نبودن تفاوت آماری معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح ۵ درصد است

نداشت ( $P > 0.05$ ). در واقع زمانی که نمونه آب رودخانه گرفته شده در فصل پاییز در پتری دارای آنتی‌بیوتیک داکسی‌سایکلین مایه‌زنی شد، تعداد هتروتروف‌ها در مقایسه با شاهد حدود ۴/۳۳ واحد لگاریتمی کاهش یافت. ضمن اینکه در مقایسه با شاهد، تعداد هتروتروف‌های مقاوم به داکسی‌سایکلین در زمستان کمتر هم شدند، اما در بهار دوباره افزایش یافته و در تابستان بسیار زیاد شدند. با توجه به جدول دیده می‌شود که از پاییز به تابستان تعداد کلی هتروتروف‌ها حدود یک واحد لگاریتمی کم شده است. اما تعداد باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها در تابستان در مقایسه با پاییز زیاد شده و بیشترین تفاوت مربوط به هتروتروف‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک داکسی‌سایکلین بود که از پاییز به تابستان ۲/۶۴ واحد لگاریتمی افزایش یافت. در حضور سایر آنتی‌بیوتیک‌ها نیز اگرچه بیشترین تعداد باکتری‌ها در نمونه‌های فصل تابستان بود، اما کمترین تعداد باکتری‌های مقاوم در حضور آنها در فصل بهار به دست آمد. بنابراین می‌شود گفت که در فصل تابستان اگرچه غلظت باکتری‌ها کم شده اما غلظت باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک در آب رودخانه بیشتر شده است و باکتری‌های مقاوم به داکسی‌سایکلین بیشترین تأثیر را از این فصل گرفتند. بیشترین تعداد کلیفرم‌های آب در پتری بدون آنتی‌بیوتیک نمونه پاییز به دست آمد که با سایر نمونه‌ها تفاوت آماری معنی‌داری

نقطه نمونه‌برداری وسط شهر قرار گرفته بود می‌تواند تا اندازه‌ای این کاهش بار باکتریایی آب را توجیه کند. به دلیل اینکه در آب آرام ذرات ته‌نشین شده و باکتری‌ها نیز از فاز آب سطحی به فاز رسوب می‌روند. به این امر در پژوهش خطیب حقیقی و قانع که آلودگی رودخانه حویق به کلیفرم‌ها را بررسی کردند نیز اشاره شده است. آنها دلیل کم شدن بار باکتریایی آب را به جریان آرام رودخانه نسبت دادند. ضمن این که تغییر تنوع باکتری‌ها و کم شدن باکتری‌های قابل‌کشت در این نقطه نسبت به نقطه ورودی هم محتمل است (Khatib Haghghi and Ghane, 2017). به هر حال، انتخاب نقاط نمونه‌برداری زیاد و نزدیک به هم در درون شهر و بررسی شیب رودخانه و همین‌طور بررسی دقیق تنوع باکتری‌ها در کنار باکتری‌های قابل‌کشت شواهد بیشتری را در این زمینه آشکار خواهد کرد.

در جدول ۲ مقایسه میانگین پیامد برهم‌کنش نوع آنتی‌بیوتیک در زمان نمونه‌برداری بر لگاریتم تعداد باکتری‌های هتروتروف و کلیفرم آب آمده است. بیشترین تعداد باکتری‌های هتروتروف در پتری بدون آنتی‌بیوتیک نمونه زمستان به دست آمد که با نمونه پاییز تفاوت آماری معنی‌داری نداشت ( $P > 0.05$ ). کمترین تعداد باکتری‌های هتروتروف هم در پتری دارای داکسی‌سایکلین نمونه پاییز به دست آمد که با بسیاری از تیمارها تفاوت آماری معنی‌دار



جدول ۲- مقایسه میانگین پیامد برهم‌کنش نوع آنتی‌بیوتیک در زمان نمونه‌برداری بر لگاریتم تعداد باکتری‌های هتروتروف و کلیفرم در آب

**Table 2.** Mean comparisons for the effect of antibiotic and sampling time interactions on the heterotrophic and coliform bacteria in water (log number)

Antibiotic	Season	Heterotrophic bacteria		Coliforms	
		Mean	STDEV (n=2)	Mean	STDEV (n=2)
Without antibiotic	Autumn	7.19 <sup>a</sup>	0.80	7.28 <sup>a</sup>	0.71
	Winter	7.79 <sup>a</sup>	0.37	6.50 <sup>b</sup>	0.66
	Spring	6.16 <sup>b</sup>	0.80	5.33 <sup>c</sup>	0.76
	Summer	6.11 <sup>b</sup>	0.42	2.73 <sup>f-i</sup>	0.46
Cephalexin	Autumn	3.71 <sup>de</sup>	0.37	3.34 <sup>de</sup>	0.39
	Winter	3.76 <sup>d</sup>	0.38	3.53 <sup>d</sup>	0.70
	Spring	3.39 <sup>d-g</sup>	0.36	3.24 <sup>def</sup>	0.41
	Summer	5.43 <sup>c</sup>	0.72	2.43 <sup>hi</sup>	0.49
Gentamicin	Autumn	3.42 <sup>d-g</sup>	0.35	3.08 <sup>d-g</sup>	0.12
	Winter	3.48 <sup>d-f</sup>	0.48	3.20 <sup>d-g</sup>	0.40
	Spring	3.27 <sup>d-g</sup>	0.32	2.95 <sup>d-h</sup>	0.64
	Summer	5.59 <sup>c</sup>	0.43	2.15 <sup>ij</sup>	0.53
Doxycyclin	Autumn	2.86 <sup>g</sup>	0.17	2.78 <sup>e-h</sup>	0.22
	Winter	3.03 <sup>fg</sup>	0.42	2.81 <sup>e-h</sup>	0.64
	Spring	2.99 <sup>fg</sup>	0.42	2.62 <sup>ghi</sup>	0.64
	Summer	5.50 <sup>c</sup>	0.40	1.83 <sup>j</sup>	0.73
Ciprofloxacin	Autumn	3.24 <sup>d-g</sup>	0.44	2.70 <sup>f-i</sup>	0.53
	Winter	3.11 <sup>e-g</sup>	0.51	2.78 <sup>e-h</sup>	0.47
	Spring	2.94 <sup>fg</sup>	0.31	2.88 <sup>e-h</sup>	0.45
	Summer	5.54 <sup>c</sup>	0.42	1.74 <sup>j</sup>	0.51
Trimetoprim	Autumn	3.47 <sup>d-f</sup>	0.41	3.27 <sup>def</sup>	0.43
	Winter	3.35 <sup>d-g</sup>	0.32	3.02 <sup>d-h</sup>	0.47
	Spring	2.94 <sup>fg</sup>	0.39	2.70 <sup>f-i</sup>	1.66
	Summer	-	-	-	-

Different letters above means indicate significant differences at  $p < 0.05$  for each group of bacteria. Dash lines are missing data.

بیشترین مقدار و در ماه‌های خرداد و شهریور کمترین مقدار را داشت. به هر حال، اگرچه تغییرات تعداد کلیفرم‌های مقاوم با تغییر فصول چندان زیاد نبود، اما کلیفرم‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌های سفالکسین، جنتامایسین و داکسی‌سایکلین در آب در فصل زمستان بیشتر از سایر فصول بودند و کلیفرم‌های مقاوم به سیپروفلوکسازین و تری‌متوپریم در آب در فصل بهار بیشتر بودند (Akiyama and Savin, 2010).

علت زیاد بودن تعداد باکتری‌های هتروتروف مقاوم به آنتی‌بیوتیک در تابستان در مقایسه با تعداد آنها در پتری کنترل بدون آنتی‌بیوتیک روشن نیست. اگرچه اطلاعاتی از منبع آلودگی که باکتری‌ها را وارد رودخانه می‌کند نیست، اما با فرض ثابت بودن آن

داشت ( $p < 0.05$ ). کمترین تعداد آنها هم در پتری دارای سیپروفلوکسازین نمونه تابستان به دست آمد که به جز نمونه داکسی‌سایکلین و جنتامایسین-تابستان، با سایر تیمارها تفاوت آماری معنی‌دار داشت ( $p < 0.05$ ). برخلاف هتروتروف‌ها، تعداد کلیفرم‌ها در فصل تابستان در شاهد و در حضور آنتی‌بیوتیک‌ها، از همه کمتر بود. به طوری که در شاهد حدود ۴/۵ واحد لگاریتمی و در حضور آنتی‌بیوتیک‌ها حدود یک واحد لگاریتمی نسبت به پاییز کاهش یافت.

آکیاما و ساوین در بررسی تغییرات زمانی و مکانی کلیفرم‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک در یکی از سرشاخه‌های رودخانه ایلینویز دیدند که تعداد کلیفرم‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک در ماه آبان



است. بررسی باکتری‌های هتروتروف مکمل باکتری‌های کلیفرم در ارزیابی آلودگی آب‌هاست. اما با توجه به توان باکتری‌های گوناگون به رشد در روی محیط‌های پایه شرایط بررسی نیم‌رخ مقاومت آنتی‌بیوتیکی آنها بسیار پیچیده می‌شود. به هر حال، از جنس‌های غالب این باکتری‌ها می‌توان به سودوموناس، زانتوموناس، مایکوباکتریوم، فلاووباکتریوم، آکروموباکتر، اسپیتتوباکتر، موراکسلا، ائروموناس و کلیفرم‌های محیطی مانند کلبسیلا، لژیونلا، سراثیا و سیتروباکتر اشاره کرد (WHO, 2003). ضمن اینکه گرم- مثبت‌هایی مانند باسیلوس و استافیلوکوک‌ها نیز ممکن است در میان آنها باشند. پژوهش‌ها نشان‌دهنده غالب بودن سودوموناس‌ها در بین اینهاست که ممکن است به آنتی‌بیوتیک‌ها هم مقاوم شده باشند (Bitton, 2002). از آنجا که کلیفرم‌ها جداگانه بررسی شده‌اند و غلظت آنها در تابستان هم در شاهد و هم در پتری‌های دارای آنتی‌بیوتیک کم شده است، بنابراین احتمالاً آنها زیاد در تغییرات فصلی هتروتروف‌ها نقش نداشته باشند. پس همان سودوموناس‌ها و باسیلوس‌ها باکتری غالب باکتری‌های هتروتروف مؤثر در تغییرات فصلی هستند.

محیط، در بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی و گسترش آن بسیار مهم است و معمولاً باکتری‌هایی که از این منظر بیشتر به آنها پرداخته می‌شود، باکتری‌های شاخص در کیفیت آب هستند. در این بررسی‌ها بیشتر به گونه‌های خاص که کلیفرم‌ها یا باکتری‌های خانواده انتروباکتریاسه هستند، پرداخته می‌شود. اما سایر باکتری‌ها به ویژه گرم- مثبت‌ها و همچنین سودوموناس‌ها هم اهمیت دارند زیرا برای نمونه سودوموناس ائروجینوزا (Mojica and Aga, 2011) باکتری بسیار توانمندی در مقاوم شدن به آنتی‌بیوتیک‌ها و پخش مقاومت آنتی‌بیوتیکی بین سایر باکتری‌هاست. در سوی دیگر، انتروکوکوس از گرم- مثبت‌ها هم شاخصی از آلودگی محیط به فاضلاب‌های انسانی است (Rivers, 2016).

با مشاهده ژن‌های مقاومت وابسته به اینتگرون کلاس یک در باکتری‌های گرم- مثبت جدا شده از فضولات مرغی، اهمیت بررسی هم‌زمان باکتری‌های گرم- مثبت و گرم- منفی برجسته شد، زیرا تصور بر این بود که این ژن تنها در گرم- منفی‌ها باشد (Nandi et al., 2004). باکتری‌های گرم- مثبت دارای ژن مقاومت در آب‌های آلوده و سواحل جاهای مختلف مانند تونس (Said et al., 2015)، برزیل (Basso et al., 2014)، صربستان

در طول سال می‌توان گفت که باتوجه به کاهش تعداد کل باکتری‌ها یعنی تیمار شاهد در فصل تابستان نسبت به فصول سرد و پرباران پاییز و زمستان، که می‌تواند در اثر تنش‌ها مانند کاهش اکسیژن، افزایش دما و شوری باشد، باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها زنده مانده و رشد کرده‌اند و تعداد آنها در فصل تابستان زیادتر شده است. یعنی در واقع بخش زیادی از بار باکتریایی در فصل تابستان در مقایسه با سایر فصول به آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم شده‌اند. در این راستا باید بین مقاومت آنتی‌بیوتیکی در باکتری‌ها و مقاومت در برابر سایر تنش‌ها مانند دمای زیاد که در تابستان به بیش از ۲ برابر آن در زمستان می‌رسد و افزایش شوری EC آب رودخانه که در تابستان به بیش از ۳/۷ برابر آن در زمستان رسیده است، ارتباطی وجود داشته باشد. ارتباط مقاومت آنتی‌بیوتیکی و فلزهای سنگین موضوعی شناخته شده است و حتی ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیک- فلز باهم مرتبط هستند (Foster, 1983). در پژوهش‌های زیادی به این موضوع پرداخته شده است (Knapp et al., 2011, Martinez, 2009, Sair and Khan, 2018).

در سوی دیگر، تعداد کلیفرم‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک در آب برخلاف هتروتروف‌ها در تابستان کمتر از سایر فصول بود. در واقع در فصل تابستان اگرچه باکتری‌ها کم شده‌اند اما بخش زیادی از این باکتری‌ها، مقاوم به آنتی‌بیوتیک هستند. ضمن اینکه به نظر می‌رسد سهم کلیفرم‌ها از این باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک در تابستان در مقایسه با سایر فصول کمتر باشد. کاهش شدید تعداد کلیفرم‌ها در پتری شاهد در این فصل از ۷/۲۸ در پاییز به ۲/۷۳ در تابستان در مقایسه با هتروتروف‌ها که از ۷/۱۹ در پاییز به ۶/۱۱ در تابستان رسیده‌اند، می‌تواند شواهدی بر تغییر تنوع باکتری‌های آب باشد به طوری که احتمالاً بیشتر آنها را هتروتروف‌های توانمند در مواجهه با شرایط سخت تشکیل می‌دهند. ضمن اینکه کاهش دبی آب در فصل تابستان می‌تواند سبب جای گرفتن مناسب‌تر کلیفرم‌ها در رسوبات شود. همان‌گونه که در جدول ۳ نشان داده شده است تعداد باکتری‌ها در فصل تابستان بیشتر است و سهم زیادی از آنها را کلیفرم‌ها تشکیل می‌دهند.

روند تغییرات فصلی باکتری‌های هتروتروف و روند مقاومت آنها در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها را می‌توان در نوع آنتی‌بیوتیک و نوع هتروتروف‌ها جست‌وجو کرد. اگرچه شرایط دیگر مانند وجود رقبا و شکارچیان و همچنین شرایط زیستی هم در این زمینه بسیار مؤثر



تعداد باکتری‌ها در پتری داکسی سایکلین در مقایسه با شاهد ۳/۷۲ واحد لگاریتمی کاهش یافت. با اینکه تعداد هتروتروف‌ها در تیمار شاهد با فصل تغییر زیادی نکرد، اما تعداد هتروتروف‌های مقاوم به داکسی سایکلین مانند هتروتروف‌های آب، در تابستان حدود ۱/۵ واحد لگاریتمی بیشتر از تعداد آنها در فصل بهار شد. بیشترین مقدار مقاومت در هتروتروف‌های رسوب هم در برابر آنتی‌بیوتیک داکسی سایکلین دیده شد. با مقایسه باکتری‌های هتروتروف آب و رسوب در جدول ۲ و ۳ دیده می‌شود که بیشترین و کمترین تعداد هتروتروف‌های رسوب و آب با تأخیر زمانی یک فصل بوده است، به طوری که بیشترین و کمترین تعداد باکتری‌های هتروتروف آب به ترتیب در فصل زمستان (در تیمار شاهد) و فصل پاییز (در تیمار داکسی سایکلین) و بیشترین و کمترین تعداد باکتری‌های هتروتروف رسوب به ترتیب در فصل بهار و زمستان بوده است. بنابراین به نظر می‌رسد منشأ آلودگی، آب است. چون فراوانی باکتری‌ها در محیط رسوب با تأخیر نسبت به آب مشاهده شده است.

بیشترین تعداد کلیفرم‌های رسوب در پتری بدون آنتی‌بیوتیک نمونه زمستان به دست آمد که با تیمار بدون آنتی‌بیوتیک در سایر فصول تفاوت آماری معنی‌داری نداشت ( $P > 0.05$ ). کمترین تعداد کلیفرم‌ها هم در پتری دارای سیپروفلوکساسین نمونه پاییز به دست آمد که با بسیاری از تیمارها تفاوت آماری معنی‌دار نداشت ( $P > 0.05$ ). تفاوت بیشترین و کمترین تعداد کلیفرم‌ها ۳/۴۹ واحد لگاریتمی بود. در بررسی بیشترین و کمترین تعداد کلیفرم‌های رسوب در مقایسه با آب هم همان روند تأخیر فصلی که در مورد هتروتروف‌های آب و رسوب بود دیده می‌شود. روند میانگین تعداد باکتری‌های هتروتروف آب و رسوب مقاوم در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها در هر چهار فصل به این صورت بود: تعداد باکتری‌های مقاوم در برابر سفالکسین < جنتامايسين < سیپروفلوکساسین < داکسی سایکلین < تری‌متوپریم. اما در مجموع میانگین تعداد هتروتروف‌های مقاوم در رسوب  $5/74 \log \text{CFU/g}$  دو واحد لگاریتمی بیش از میانگین تعداد هتروتروف‌های مقاوم در آب  $3/74 \log \text{CFU/mL}$  بود. روند میانگین تعداد باکتری‌های کلیفرم آب و رسوب مقاوم در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها در هر چهار فصل نیز مانند هتروتروف‌ها و به این صورت بود: تعداد باکتری‌های مقاوم در برابر سفالکسین < جنتامايسين < سیپروفلوکساسین < داکسی

(Veljović et al., 2015)، مکزیک (Curiel-Ayala et al., 2012) و کالیفرنیا (Goodwin et al., 2012) دیده شده است.

برای نمونه ریزور باکتری‌های گرم - مثبت مقاوم به آنتی‌بیوتیک در آب‌های ساحلی و آلوده خلیج چسپیک به زهاب کشاورزی را گزارش کرد. ایشان ۱۴۲ سویه که معمولاً از چهار جنس باسیلوس (۹۵ سویه)، لاکتوکوکوس (۱۰ سویه)، استافیلوکوکوس (۲۰ سویه) و انتروکوکوس (۱۷ سویه) بودند را از خلیج و رودخانه‌های منتهی به آن در تابستان ۲۰۱۲ جدا کرد. همه استافیلوکوک‌ها به کلرامفنیکول مقاوم بودند، همه لاکتوکوکوس‌ها به ریفاپین، سیپروفلوکساسین و لینزولید مقاوم و ۸۰ درصد آنها هم به تری‌متوپریم مقاوم بودند. همه انتروکوک‌ها هم به لینزولید مقاوم بودند (Rivers, 2016). به این باکتری‌ها به این دلیل اشاره شد که آنها هتروتروف‌های قوی هستند و اگرچه در این پژوهش جداسازی باکتری‌های هتروتروف بر اساس جنس انجام نشد، اما به احتمال زیاد در میان باکتری‌های هتروتروف این پژوهش نیز از باکتری‌های نام برده شده حضور داشته باشند. ضمن اینکه بسیاری از آنها مانند استافیلوکوک، انتروکوکوس و برخی از باسیلوس‌ها بیماری‌زا بوده و همچنین استافیلوکوک و لاکتوباسیلوس از فلور میکروبی انسان هستند و بنابراین در تماس با سایر باکتری‌ها بوده و ارتباط آنها با دیگر باکتری‌ها در سلامتی مهم است (Becker et al., 2014). برآورد شده است که ۱۵ تا ۳۰ درصد جدایه‌های استرپتوکوک نمونیه به حداقل سه کلاس آنتی‌بیوتیکی مقاوم شده باشند که خطر بسیار زیادی در سلامت و بهداشت دارد و هزینه اقدامات بهداشتی را بسیار افزایش می‌دهد (Lynch and Zhanel, 2009).

### ۳-۵- تعداد باکتری‌های رسوب

مقایسه میانگین پیامد برهم‌کنش نوع آنتی‌بیوتیک در زمان نمونه‌برداری بر لگاریتم تعداد باکتری‌های هتروتروف و کلیفرم رسوب در جدول ۳ آمده است. بیشترین تعداد باکتری‌های هتروتروف رسوب در پتری بدون آنتی‌بیوتیک نمونه بهار به دست آمد که با تیمار بدون آنتی‌بیوتیک در سایر فصول تفاوت آماری معنی‌داری نداشت ( $P > 0.05$ ). کمترین تعداد باکتری‌های هتروتروف رسوب هم در پتری دارای داکسی سایکلین نمونه زمستان به دست آمد که با بسیاری از تیمارها مانند هتروتروف‌های آب، تفاوت آماری معنی‌دار نداشت ( $P > 0.05$ ). در این بررسی نیز



جدول ۳- مقایسه میانگین پیامد برهم‌کنش نوع آنتی‌بیوتیک در زمان نمونه‌برداری بر لگاریتم تعداد باکتری‌های هتروتروف و کلیفرم در رسوب

**Table 3.** Mean comparisons for the effect of antibiotic and sampling time interactions on the heterotrophic and coliform bacteria in sediment (log number)

Antibiotic	Season	Heterotrophic bacteria		Coliforms	
		Mean	STDEV (n=2)	Mean	STDEV (n=2)
Without antibiotic	Autumn	8.14 <sup>a</sup>	0.80	7.45 <sup>ab</sup>	0.71
	Winter	7.89 <sup>a</sup>	0.37	8.18 <sup>a</sup>	0.66
	Spring	8.53 <sup>a</sup>	0.80	7.97 <sup>a</sup>	0.76
	Summer	8.46 <sup>a</sup>	0.42	8.08 <sup>a</sup>	0.46
Cephalexin	Autumn	6.81 <sup>bc</sup>	0.37	4.82 <sup>g</sup>	0.39
	Winter	6.50 <sup>bcd</sup>	0.38	6.83 <sup>bc</sup>	0.70
	Spring	5.44 <sup>g-k</sup>	0.36	5.11 <sup>fg</sup>	0.41
	Summer	6.17 <sup>c-f</sup>	0.72	5.97 <sup>de</sup>	0.49
Gentamicin	Autumn	6.34 <sup>b-f</sup>	0.35	5.17 <sup>fg</sup>	0.12
	Winter	5.58 <sup>f-i</sup>	0.48	5.27 <sup>efg</sup>	0.40
	Spring	5.44 <sup>g-i</sup>	0.32	5.24 <sup>efg</sup>	0.64
	Summer	6.97 <sup>b</sup>	0.43	5.87 <sup>bc</sup>	0.53
Doxycyclin	Autumn	4.76 <sup>k</sup>	0.17	4.81 <sup>g</sup>	0.22
	Winter	4.71 <sup>k</sup>	0.42	4.71 <sup>g</sup>	0.64
	Spring	4.81 <sup>jk</sup>	0.42	4.78 <sup>g</sup>	0.64
	Summer	6.42 <sup>b-e</sup>	0.40	6.51 <sup>cd</sup>	0.73
Ciprofloxacin	Autumn	5.01 <sup>ijk</sup>	0.44	4.69 <sup>g</sup>	0.53
	Winter	6.11 <sup>c-f</sup>	0.51	5.86 <sup>def</sup>	0.47
	Spring	5.15 <sup>h-k</sup>	0.31	4.93 <sup>g</sup>	0.45
	Summer	5.82 <sup>e-i</sup>	0.42	5.37 <sup>efg</sup>	0.51
Trimetoprim	Autumn	5.68 <sup>e-i</sup>	0.41	6.27 <sup>cd</sup>	0.43
	Winter	5.46 <sup>g-k</sup>	0.32	5.23 <sup>efg</sup>	0.47
	Spring	5.87 <sup>d-h</sup>	0.39	4.65 <sup>g</sup>	1.66
	Summer	-	-	-	-

Different letters above means indicate significant differences at  $p < 0.05$  for each group of bacteria. Dash lines are missing data.

بیشتر از همه در برابر آنتی‌بیوتیک سفالکسین و جنتامایسین مقاوم بودند.

بیشترین تعداد کلیفرم‌های مقاوم در فصل زمستان و کمترین تعداد آنها در فصل تابستان به دست آمد. بنابراین به نظر می‌رسد آب رودخانه گوهررود در داخل شهر رشت به باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک آلوده می‌شود و اگر از آب این رودخانه در کشاورزی استفاده شود، ممکن است باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک وارد زنجیره غذایی شوند.

#### ۵- قدردانی

نویسندگان از معاونت پژوهشی دانشگاه گیلان به دلیل حمایت مالی از انجام این پژوهش قدردانی می‌کنند.

سایکلین <تری‌متوپریم. اما در مجموع میانگین تعداد کلیفرم‌های مقاوم در رسوب  $5/37 \log \text{CFU/mg}$  حدود  $2/5$  واحد لگاریتمی بیش از میانگین تعداد آنها در آب  $2/79 \log \text{CFU/mL}$  بود.

#### ۴- نتیجه‌گیری

در این پژوهش باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک در رودخانه گوهررود رشت بررسی شدند. پیامد تغییرات زمانی و مکانی و همین‌طور نوع آنتی‌بیوتیک بر باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک بررسی شد. با عبور رودخانه از شهر، pH و EC آب و همچنین تعداد هتروتروف‌ها و کلیفرم‌های آب و رسوب افزایش یافتند.

در کل تعداد باکتری‌ها در رسوب بیشتر از آب و تعداد هتروتروف‌ها بیشتر از کلیفرم‌ها بود. باکتری‌های آب و رسوب



## References

- Abbaspour, M. 1992. *Environmental Engineering*. Scientific Publishing, Islamic Azad University, Tehran, Iran. (In Persian)
- Akiyama, T. & Savin, M. C. 2010. Populations of antibiotic-resistant coliform bacteria change rapidly in a wastewater effluent dominated stream. *Science of the Total Environment*, 408, 6192-6201.
- APHA (American Public Health Association). 2005. Standard methods for the examination of water and wastewater, 21<sup>st</sup> Ed. American water works association, water environment federation, Washington, DC.
- Arian, S., Hashemi, S. M. & Gholampour Azizi, A. S. 2003. MPN test and its effective factors in identifying fecal pollution of water resources. 6<sup>th</sup> *National Conference on Health of Sari, Mazandaran University of Medical Sciences and Health Services*. Mazandaran, Iran. (In Persian)
- Babakhani, S., Shok, S. & Nazer, M. 2015. Comparison frequency and pattern and determination antibiotic resistance spp. isolated from Nosocomial infection in Khorramabad Shohadaye Ashayer hospital. *Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences*, 3(12), 149-154.
- Bagherzadeh, A., Pirouz, B. & Sabet, A. 2009. Effects of sources of effects of industrial and agricultural pollutants on water quality of the River Goharroud in Rasht, 8<sup>th</sup> *International River Engineering Workshop*. Guilan, Iran. (In Persian).
- Bahari Chahardeh, Z. & Haghazar, S. 2016. Environmental geochemistry of Zarjoob River in Rasht city (Guilan province). *Journal of Environmental Geology*, 10, 15-29. (In Persian)
- Basso, A. P., Martins, P. D., Nachtigall, G., Sand, S. V. D., Moura, T. M. & Frazzon, A. P. G. 2014. Antibiotic resistance and enterotoxin genes in *Staphylococcus sp.* isolates from polluted water in Southern Brazil. *Journal Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 86, 1813-1820.
- Becker, K., Heilmann, C. & Peters, G. 2014. Coagulase-negative staphylococci. *Journal Clinical Microbiology Reviews*, 27, 870-926.
- Bitton, G. 2002. *Encyclopedia of Environmental Microbiology*, Wiley-Inte Sciences 1<sup>st</sup> Ed., New york, USA.
- Cromwell, G. L. 2002. Why and how antibiotics are used in swine production. *Animal Biotechnology*, 13, 7-27.
- Curiel-Ayala, F., Quiñones-Ramirez, E. I., Pless, R. & González-Jasso, E. 2012. Comparative studies on enterococcus, clostridium perfringens and staphylococcus aureus as quality indicators in tropical seawater at a Pacific Mexican beach resort. *Marine Pollution Bulletin*, 64, 2193-2198.
- Elmolla, E. S. & Chaudhuri, M. 2010. Comparison of different advanced oxidation processes for treatment of antibiotic aqueous solution. *Desalination*, 256, 43-47.
- Elmolla, E. S. & Chaudhuri, M. 2011. The feasibility of using combined TiO<sub>2</sub> photocatalysis-SBR process for antibiotic wastewater treatment. *Desalination*, 272, 218-224.
- Foster, T. 1983. Plasmid-determined resistance to antimicrobial drugs and toxic metal ions in bacteria. *Microbiological Reviews*, 47, 361.
- García-Galán, M. J., Garrido, T., Fraile, J., Ginebreda, A., Díaz-Cruz, M. S. & Barceló, D. 2010. Simultaneous occurrence of nitrates and sulfonamide antibiotics in two groundwater bodies of Catalonia (Spain). *Journal of Hydrology*, 383, 93-101.
- Ghavidel, A. & Moatar, F. 2009. Investigation of lead, zinc and nickel in rivers of the Anzali wetland, studied by Goharroud River. *Journal of Environmental Science and Technology*, 16(1), 89-96. (In Persian)
- Ghodrati, A., Zahedi, S. S. & Dadashi, M. 2007. Investigating the pollution of industries in the Zarjub River of Rasht-Guilan Province. *Iranian Journal of Natural Resources Research*, 60, 213-224. (In Persian)
- Goodwin, K. D., Mcnay, M., Cao, Y., Ebentier, D., Madison, M. & Griffith, J. F. 2012. A multi-beach study of staphylococcus aureus, MRSA, and enterococci in seawater and beach sand. *Water Research*, 46, 4195-4207.



- Gorgy, M. 1993. Investigating the causes of salinity of Aji Chay River and how to optimally exploit its water. 7<sup>th</sup> *Seminar of the National Irrigation and Drainage Committee*. Tehran, Iran. (In Persian)
- Hadi, M., Shokoohi, R., Ebrahimzadeh Namvar, A., Karimi, M. & Solaimany Aminabad, M. 2011. Antibiotic resistance of isolated bacteria from urban and hospital wastewaters in Hamadan City. *Iranian Journal of Health and Environment*, 4, 105-114. (In Persian)
- Hu, X., Zhou, Q. & Luo, Y. 2010. Occurrence and source analysis of typical veterinary antibiotics in manure, soil, vegetables and groundwater from organic vegetable bases, Northern China. *Environmental Pollution*, 158, 2992-2998.
- Karami Moghadam, A. & Mashhadi, S. H. 2006. Investigating the role of changes in Gorganrood river flow in the impact of chemical basis of water quality. 7<sup>th</sup> *International River Engineering Workshop*. Ahvaz, Iran. (In Persian)
- Khatib Haghighi, S. & Ghane, A. 2017. Study of coliform contamination of havigh river in the west of Guilan Province. *Caspian Sea Aquatic Journal*, 2, 55-56. (In Persian)
- Knapp, C. W., McCluskey, S. M., Singh, B. K., Campbell, C. D., Hudson, G. & Graham, D. W. 2011. Antibiotic resistance gene abundances correlate with metal and geochemical conditions in archived Scottish soils. *Plos One*, 6, 27300.
- Kulik, N., Trapido, M., Goi, A., Veressinina, Y. & Munter, R. 2008. Combined chemical treatment of pharmaceutical effluents from medical ointment production. *Chemosphere*, 70, 1525-1531.
- Loos, R., Locoro, G., Comero, S., Contini, S., Schwesig, D., Werres, F., et al. 2010. Pan-european survey on the occurrence of selected polar organic persistent pollutants in ground water. *Water Research*, 44, 4115-4126.
- Lynch, J. P. & Zhanel, G. G. 2000. Streptococcus pneumoniae: does antimicrobial resistance matter? *Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine*, Thieme Medical Publishers, 30(2), 210-238.
- Martinez, J. L. 2009. Environmental pollution by antibiotics and by antibiotic resistance determinants. *Environmental Pollution*, 157, 2893-2902.
- Mojaradi, B., Alizadeh Sanami, F. & Samadi, M. 2018. Estimation of water quality index Talar river using gene expression programming and artificial neural networks. *Iranian Journal of Watershed Management Science and Engineering*. 13, 61-72. (In Persian)
- Mojica, E. & Aga, D. 2011. Antibiotics pollution in soil and water: potential ecological and human health issues. In book: *Encyclopedia of Environmental Health*. Elsevier Science Pub. Michigan, USA.
- Mosaferi, M., Shaker Khatibi, M. & Mehri Badloo, A. 2010. Heterotrophic bacteria in drinking water of Tabriz city. *Journal of School of Public Health and Institute of Health Research*, 8, 83-92. (In Persian)
- Naderi, sh., Shariat, M., Nadafi, K., K., Vaezi, F., & Zeraati, H. 2002. Investigating the relationship between biological indices and water quality parameters in the drinking water distribution system of rural areas in the Qazvin province. 6<sup>th</sup> *National Conference on Environmental Health, Faculty of Medical Sciences and Health*, Mazandaran, Iran. (In Persian)
- Nandi, S., Maurer, J. J., Hofacre, C. & Summers, A. O. 2004. Gram-positive bacteria are a major reservoir of class 1 antibiotic resistance integrons in poultry litter. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(18), 7118-7122.
- Nourani Masouleh, H., Forghani, A. & Ramezanpour, H. 2013. Investigating the quality of inland water in Anzali Wetland case study of Gohar River. *International Journal of Analytical Research on Water Resources and Development. Special Letter of the Lagoon*, 1.
- Padashi, F., Forghani, A. & Khaledian, M. 2011. pH, EC, potassium and phosphorus in Goharroud river, Rasht, Iran. 4<sup>th</sup> *Iranian Water Resources Management Conference*, Tehran, Iran. (In Persian).





- PCRWR 2005. National water quality monitoring programme. Water quality report Islamabad, Council for Research in Water Resources. Pakistan.
- Rivers, J. L. 2016. Unexpected antibiotic resistance in gram-positive bacteria recovered from the Chesapeake Bay and associated rivers and investigating the antimicrobial activity of a wide variety of essential oils as a means to identify novel drug targets. PhD Thesis, *Johns Hopkins University*. USA.
- Safari Sanjani, A. A., Sharifi, Z. & Senjani, M. S. 2011. Experimental methods in soil microbiology. 1<sup>st</sup> Edition of *Bu Ali Sina University Press*, Hamadan, Iran. (In Persian)
- Said, L. B., Klibi, N., Lozano, C., Dziri, R., Slama, K. B., Boudabous, A., et al. 2015. Diversity of enterococcal species and characterization of high-level aminoglycoside resistant enterococci of samples of wastewater and surface water in Tunisia. *Science of the Total Environment*, 530, 11-17.
- Sair, A. T. & Khan, Z. A. 2018. Prevalence of antibiotic and heavy metal resistance in gram negative bacteria isolated from rivers in northern Pakistan. *Water and Environment Journal*, 32, 51-57.
- Shokohifar, M. & Izadpanah, Z. 2013. Investigation of the relationship between TDS, EC, HCO<sub>3</sub> and Cl with the discharge of Karun river in cold and hot seasons using regression analysis. 1<sup>st</sup> National Conference on Water and Agriculture Resource Challenges, Isfahan, Iran. (In Persian)
- Sui, Q., Cao, X., Lu, S., Zhao, W., Qiu, Z. & Yu, G. 2015. Occurrence, sources and fate of pharmaceuticals and personal care products in the groundwater: a review. *Emerging Contaminants*, 1, 14-24.
- Tripathi, K. & Sharma, A. 2011. Seasonal variation in bacterial contamination of water sources with antibiotic resistant faecal coliforms in relation to pollution. *Journal of Applied and Natural Science*, 3, 298-302.
- Van Den Bogaard, A., London, N. & Stobberingh, E. 2000. Antimicrobial resistance in pig faecal samples from the Netherlands (five abattoirs) and Sweden. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 45, 663-671.
- Veljović, K., Popović, N., Vidojević, A. T., Tolinački, M., Mihajlović, S., Jovčić, B., et al. 2015. Environmental waters as a source of antibiotic-resistant enterococcus species in Belgrade, Serbia. *Environmental Monitoring and Assessment*, 187, 599.
- WHO 1993. *Guidelines for drinking water quality*. 2<sup>nd</sup> Ed. World Health Organization. Geneva, Switzerland.
- WHO 2003. *Heterotrophic Plate Counts and Drinking-Water Safety: The Significance of HPCs for Water Quality and the Human Health*. Published on behalf of WHO by IWA Publishing, Padstow, Cornwall, UK.
- Xu, H., Zheng, H., Chen, X., Ren, Y. & Ouyang, Z. 2016. Relationships between river water quality and landscape factors in Haihe River Basin, China: implications for environmental management. *Chinese Geographical Science*, 26, 197-207.
- Zhang, J., Fu, D., Xu, Y. & Liu, C. 2010. Optimization of parameters on photocatalytic degradation of chloramphenicol using TiO<sub>2</sub> as photocatalyst by response surface methodology. *Journal of Environmental Sciences*, 22, 1281-1289.

