بررسی باکتریولوژیک فلور طبیعی پوست و آبشش در ماهی شورت (*Sillago sihama*) و ارتباط آن با آلودگی سواحل بندرعباس (شمال خلیج فارس)

امیرهوشنگ بحری[1]*، فروغ فلاح[1]، پدرام یاسمی فر[1]، یوسف آفتاب سوار[2]

amirbahri52@yahoo.com

۱- باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد بندرعباس، دانشگاه آزاد اسلامی، بندرعباس، ایران.

۲- پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان بندرعباس. صندوق پستی۱۵۹۷-۷۹۱۴۵

تاریخ دریافت:تیر ۱۳۹۴ تاریخ پذیرش:مرداد۱۳۹۴

چکیده:

مطالعه باکتریایی پوست و آبشش ماهی شورت از زمستان ۱۳۹۱ تا پاییز ۱۳۹۲به منظور بررسی ارتباط بین آلودگی آب‌های سواحل بندر عباس صورت گرفت. برای این منظور تخمینی فصلی بصورت کمی و کیفی از فلور موجود باکتریایی در آب، پوست و آبشش ماهیان شورت صید شده از ایستگاه‌های مختلف انجام شد و در حد امکان تاحد جنس مورد شناسایی قرار گرفت. نمونه‌های ماهی و آب از ۳ ایستگاه جمع آوری شد. میانگین تعداد کل باکتری‌های قابل مشاهده در آب دامنه‌ای از $۲/۹\times۱۰^{۳}\pm$ ۱/۲ تا $۳/۱\pm۲/۳\times۱۰^{۴}$ (واحد تشکیل دهنده کلونی) (cfu/ml) ،در پوست $۲/۹\times۱۰^{۵}\pm$ ۴/۳ تا $۳/۹\times۱۰^{۶}\pm$ ۴/۱ cfu/cm^2 و در تارهای آبششی $۲/۸\times۱۰^{۷}\pm$ ۱/۲ تا $۳/۱\times۱۰^{۷}\pm$ ۲/۳ cfu/g را برخوردار بود.روی هم رفته، ۶ جنس باکتریایی از پوست و آبشش ماهی شورت شناسایی گردید که بیشترین تعداد احتمالی از اشرشیا کلی (کلیفرم ها) و استافیلوکوک کواگولاز مثبت و همچنین کلبزیلا با حضور بیش از ۲۰ ٪ در تمامی گروه‌ها حکایت داشته است. روش مورد استفاده برای تعیین کلیفرم ها، اشرشیا کلی و استافیلوکوک کواگولاز مثبت بر بیشترین تعداد احتمالی (MPN) استوار بود. نتایج نشان داد،که آب نمونه برداری شده نیز، مشابهت زیادی از نظر ترکیبات باکتریایی پوست و آبشش را در این نوع ماهی داشت. این مسئله می‌تواند این نکته را بازگو کند که فلور باکتریایی این ماهی، چه بسا شرایط باکتریایی آب پیرامون خود را منعکس نماید و بنابراین یک شاخص بالقوه‌ای از آلودگی را مطرح نماید. همچنین بیشترین تعداد فلور باکتریایی پوست و آبشش درفصل تابستان و کمترین تعداد در زمستان بود.

کلمات کلیدی: فلورباکتریایی، آلودگی آب، پوست، آبشش، ماهی شورت، (*Sillago sihama*).

* **نویسنده مسئول**

۱. مقدمه

در کشورهای پیشرفته، بررسی و پایش آلودگی میکروبی سواحل، امری دائمی محسوب می‌گردد چرا که هر گونه آلودگی میکروبی بر سلامت گردشگران ساحلی تأثیر زیادی گذاشته و بیماری‌های مختلفی را پدید می‌آورد، لذا پایش مستمر سواحل در این کشورها امری اجباری و معمول محسوب می‌گردد. Perez و همکاران (۲۰۰۱) به مطالعه آلودگی میکروبی ناشی از باکتری اشریشیا کلی در آب بوسیله روش مبتنی بر کشت amperometric پرداختند و این روش را به عنوان یک روش مناسب برای بررسی سریع وجود این باکتری در آب معرفی کردند (۲۳). در مطالعه دیگری Jensen و همکاران (۲۰۰۱) به بررسی و مطالعه آلودگی میکروبی ناشی از باکتری اشریشیا کلی در آب‌های سطحی مناطق روستایی پاکستان پرداختند و ۱۱۷ نمونه از این آب‌ها را مورد مطالعه قرار دادند (۱۹). Harwood و همکاران (۲۰۰۵) به بررسی و ردیابی منبع آلودگی میکروبی در خلیج مکزیکو پرداخته و روش‌های استاندارد ردیابی منابع آلودگی میکروبی را مطرح نمودند (۱۸). از مطالعات داخلی در کشور نیز جابر و همکاران (۱۳۸۷) به بررسی میزان آلودگی آب سواحل شنا در شهرستان نور و مقایسه آن با استانداردها پرداختند (۳). عمل نمونه برداری و آنالیز نمونه‌ها طبق روش استاندارد انجام گرفت. نتایج حاصل نشان داد که میانگین کلیفرم کل در ایستگاه‌های یک، دو و سه به ترتیب ۲۰۷،۱۶۹ و ۳۳۶ MPN در ۱۰۰ میلی‌لیتر نمونه و کلیفرم مدفوعی به ترتیب ۱۳۴، ۱۳۴ و ۱۴۸ MPN در ۱۰۰ میلی‌لیتر نمونه بوده است که در مقایسه با استانداردها، آلودگی میکروبی سواحل شنای نور از حد استاندارد فراتر بوده و به عنوان یک خطر میکروبی برای شناگران محسوب می‌شود. جابر و همکاران (۱۳۸۷) آلودگی باکتریایی آب دریای خزر در سواحل نور را مورد مطالعه قرار داده و میزان آلودگی میکروبی سواحل قابل شنا و مقایسه آن با استانداردهای جهانی را مورد بررسی قرار دادند. در این مطالعه سواحلی از دریای خزر در شهرستان نور که به عنوان شناگاه تابستانی مورد استفاده مردم و مسافران قرار می‌گیرند انتخاب و آب آن‌ها از نظر بار باکتریایی و آلودگی میکروبی به وسیله شاخص‌های کلی فرم کل و مدفوعی و هم چنین باکتری کلبسیلا (مولد بیماری مننژیت، عفونت‌های ادراری، ریوی و دستگاه گوارش) به همراه pH و دما در طی ماه‌های گرم سال ۱۳۸۶ مطالعه شده است. نتایج حاصل از این پژوهش نشان دهنده آلودگی میکروبی آب‌های منطقه به باکتری‌های مورد نظر، به ویژه باکتری خطرناک کلبسیلا بودند. بار باکتریایی به شدت با دمای آب رابطه مستقیم داشت. میزان بار باکتریایی در ماه تیر بیشترین مقدار را از نظر کلی فرم کل و کلی فرم مدفوعی داشت و مقدار آن‌ها برای هر دو ۶۵۳۳ بودند (۳).

دریای عمان و خلیج فارس شرایط زیستی مناسبی را برای انواع آبزیان فراهم کرده است. اما متأسفانه در بندرعباس فاضلاب شهری، صنعتی، کشاورزی، حتی در برخی موارد مواد زائد جامد شهری بدون هیچ کنترل، ضوابط و معیاری وارد آب‌های ساحلی می‌شوند (۹). روند کنونی می‌تواند آینده محیط زیست این ثروت طبیعی و ملی را به خطر انداخته و موجب از بین رفتن بسیاری از گونه‌های آبزی موجود در آن شود (۸).

آلودگی دریا با ورود مستقیم یا غیرمستقیم انواع فاضلاب‌های خانگی، صنعتی، کشاورزی و ... به محیط زیست دریایی توسط انسان منجر به اثرات زیانباری نظیر صدمه به سلامت انسان می‌شود (۹). فاضلاب‌های شهری می‌توانند در صورت ورود به آب‌های ساحلی بارآلودگی ناشی از فضولات انسانی را در محدوده ساحلی هر منطقه شهر بالا برده و سبب گردد تا آبزیان موجود در آن منطقه نیز آلوده شوند. در صورت عدم دقت در استفاده از چنین آبزیانی، می‌توانند مصرف‌کننده را دچار عارضه و بیماری نمایند (۴). عمدتاً فاضلاب‌های شهری نشأت گرفته از فضولات

انسانی می‌باشند. به عبارتی فاضلاب‌های شهری مجموعه‌ای از میکروارگانیسم‌ها می‌باشند. از جمله میکروارگانیسم‌هایی که می‌توانند به راحتی ایجاد آلودگی نمایند، باکتری‌های شناساگر بهداشتی را می‌توان نام برد (۴ و ۱۰). از مهم‌ترین آنها کلیفرم‌ها و کلیفرم‌های مدفوعی می‌باشند. کلیفرم‌ها معمولاً منشاء گوارشی مدفوعی انسانی و جانوری داشته و در طبیعت نیز فراوان می‌باشند. وجود بیش از حد آن‌ها در منابع آبی خطرناک بوده و در صورت انتقال از آبزی به انسان، باعث مسمومیت و بیماری‌های روده‌ای می‌شود. خصوصاً در کودکان که باعث معده درد، اسهال و گاهاً مرگ می‌شود (۱۰). فلور باکتریایی جدا شده از تخم‌ها، پوست، آبشش‌ها و روده برای تعداد محدودی از ماهیان توصیف شده است. به طور معمول، تعداد جنسهای باکتریایی جدا شده به زیستگاه آبزیان و بار میکروبی موجود در آب بستگی دارد. مطالعات بسیاری از محققین بیانگر آن است که جنس‌های مختلف از باکتری‌ها که از پوست، آبشش و دستگاه گوارش ماهیان همچنین از آب محل زندگی، رسوبات، گیاهان و حشرات آبزی محیط پیرامون آنها جدا شده هرچند تفاوت‌هایی از نظر زمان و مکان نمونه برداری بصورت سالانه وترکیب نمونه‌ها داشته است، اما نشان دهنده آن است که فلور باکتریایی ماهی‌ها با فلور باکتریایی محیط زیست آنها تا حدود زیادی مشابه است (۱۳، ۱۴). Trust و Sparrow در سال ۱۹۷۴ بیان نمودند که گونه‌های مختلف فلور دستگاه گوارش ماهیان بر شرایط غذایی، رشد و حساسیت به بیماری‌ها مؤثر می‌باشند (۲۹). چنانچه ماهیان مقدار زیادی از باکتری‌های مختلف را از طریق آب، رسوبات و غذای مصرفی به پوست، آبشش و دستگاه گوارش خود جذب نمایند این آلودگی میکروبی می‌تواند به عنوان یک خطر بالقوه برای آنها باشد (۲۵). در این میان، *Escherichia coli* به عنوان مهم‌ترین شاخص حساس به آلودگی‌های مدفوعی محسوب می‌شود (۱۰). ماهی شورت از رده ماهیان استخوانی Osteichthyes، راسته Perciformes خانواده Sillaginidae نام علمی گونه: *Sillago sihama* و نام انگلیسی: Silver Sillago و نام فارسی شورت می‌باشد. حداکثر اندازه بدن ۲۵ cm و به طور متوسط تا ۱۵ cm می‌رسد (۲ و ۱). از خصوصیات اکولوژیک آن این است که در سواحل دارای بسترهای شنی از خط ساحلی تا عمق ۲۰ متر زیست می‌کند و همچنین وارد مصب‌ها و خلیج‌ها (خورها) نیز می‌شود. از ماهیان مهاجر کرانه‌ای است. از بی‌مهرگان کوچک نظیر میگو، کرم‌های پرتار و خرچنگ‌های کوچک تغذیه می‌کند (۶). محل اصلی زندگی: از دریای سرخ و ساحل شرقی آفریقا تا هند، استرالیا، و ژاپن (۲) و پراکنش در ایران، سراسر دریای عمان و بخش شرقی خلیج فارس، حداقل تا بندرلنگه بوده و اهمیت شیلاتی گونه مورد نظر این است که از این ماهی به صورت تازه و منجمد استفاده به عمل می‌آید. برای صید آن نیز تور گردان ساحلی. قلاب دستی، تور گوشگیر ثابت عمقی استفاده به عمل می‌آید (۲). این بررسی با هدف بررسی احتمال آلودگی میکروبی در سواحل بندرعباس و همچنین به تعیین میزان آلودگی باکتریایی ماهی شورت (*Sillago sihama*) وآب پیرامون محیط زندگی آن‌ها می‌پردازد.

۲. مواد و روش‌ها

مناطق نمونه برداری آب و ماهی:

محدوده مورد مطالعه شامل سواحل بندرعباس و آب‌های ساحلی اطراف آن تا عمق ۶ متر (محدوده تالابی) در مختصات و ایستگاه‌های اعلام شده می‌باشد. این محدوده از اسکله شیلات شروع شده و تا ساحل روبروی ترمینال مسافر بری بندرعباس (ایستگاه گلشهر) ادامه دارد. در این محدوده خورهای متعددی وجود دارد که از طریق آنها بخشی از فاضلاب شهری بندرعباس وارد دریا می‌گردد. در این تحقیق در ابتدا ایستگاه‌های مطالعاتی با توجه به جریان غالب آب دریا و تخلیه فاضلاب به دریا تعیین شد. با توجه به اینکه

کانون آلودگی محیط زیست دریایی منطقه در سواحل مستقر می‌باشند، خطوط نمونه برداری (ترانسکت‌ها) عمود بر خط ساحل در نظر گرفته شد. به همین منظور سه ترانسکت انتخاب شد. بر روی هر ترانسکت سه ایستگاه (تکرار) به فاصله ۷۰۰ متری از هم عمود بر ساحل انتخاب و از هر ایستگاه یک نمونه از عمق نیم متری آب در ماه‌های اردیبهشت، مرداد، آبان و بهمن برداشت شد. نمونه برداری آب به منظور سنجش پارامترهای اسیدیته، دما، شوری، کدورت، هدایت الکتریکی، اکسیژن محلول و آلودگی میکروبی صورت گرفت. برای این کاراز سه ایستگاه که مختصات جغرافیایی آن بر اساس دستگاه GPS به شرح زیر می‌باشد، استفاده گردید. از آنجایی که ساحل شهر بندر عباس محدوده وسیعی را شامل می‌شود لذا امکان نمونه برداری از تمام مناطق ساحلی مقدورنبود بنابراین به بررسی مناطق شاخص از لحاظ آلودگی اکتفا گردید که شامل دهانه خورها و نمونه برداری از ساحل اینگونه مکان‌ها بود (۹). عمده فاضلاب‌های شهری در بندر عباس از طریق خورهای متعددی که در سطح شهر قرار دارد به دریا ریخته می‌شود (۸).

۱- ایستگاه سورو:

N 27°, 09′, 06.3″

E 56°, 13′, 22.6″

۲- ایستگاه گورسوزان:

N 27°, 10′, 48.1″

E 56°, 17′, 34.6″

۳- ایستگاه گلشهر:

N 27°, 11′, 08.3″

E 56°, 20′, 20.7″

نمونه برداری آب و آنالیز میکروبی:

نمونه برداری آب ایستگاه‌های مورد نظر بصورت ۴ فصل از زمستان ۱۳۹۱ تا پاییز ۱۳۹۲ انجام شد (بدین صورت که ظروف نمونه برداری استریل شده را در داخل آب به عمق فرو برده و در داخل آب، شیشه، باز و با رعایت شرایط استریل و تحت هیچ شرایطی نمونه‌ای که برداشت می‌شود، قبل از ورود به بطری، نباید با دست نمونه بردار برخورد داشته باشد، نمونه برداری انجام گرفت). شایان ذکر است که نمونه‌ها در شرایط کاملاً استریل و در دمای ۴ درجه سانتی گراد در فلاسک یخ در کمتر از ۲۴ ساعت به آزمایشگاه منتقل و مطالعات باکتری شناسی یعنی کشت باکتریایی روی آنها انجام گرفت.

آزمایشات به دو روش شمارش کلی باکتری و روش Most Probable Number (MPN) انجام شدند. روش MPN خود شامل موارد زیر است:

الف) آزمایش مرحله اول (احتمالی): از ۹ لوله آزمایش که حاوی محیط کشت لاکتوز براس حاوی لوله دورهام استفاده می‌گردد. در سه لوله، ۱۰ سی سی، در سه لوله دیگر یک سی سی و در سه لوله سوم ۰/۱ سی سی از آب نمونه افزوده می‌شود. محتویات لوله‌ها پس از ۴۸ ساعت انکوباسیون در ۳۷ درجه سانتی گراد، بررسی شدند. براساس تولید اسید و گاز، تعداد احتمالی باکتری کلیفرم مشخص گردید.

ب) آزمایش مرحله دوم (تاییدی): از لوله‌ای که اسید و گاز تولید می‌کند به کمک پیپت استریل مقدار ۰/۱ سی سی محلول به لوله‌ای که حاوی محیط کشت بریلیانت گرین بایل براس می‌باشد، اضافه گردید. پس از ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد تولید گاز در لوله دورهام نشان دهنده نتیجه، مثبت و مشخص نمود که نمونه دارای آلودگی کلیفرم می‌باشد که طبق جدول استاندارد MPN تعداد کلیفرم‌های غیر مدفوعی محاسبه شدند.

ج) آزمایش مرحله سوم (تکمیلی) برای اندازه‌گیری تراکم کلیفرم‌های مدفوعی: آزمایش کلیفرم مدفوعی

می‌تواند بین کلیفرم‌های مدفوعی (روده حیوانات خونگرم) با کلیفرم هایی از منابع دیگر تمایز بگذارد. در این آزمایش از لوله‌هایی که اسید و گاز تولید کردند با کمک آنس یک لوپ از این لوله‌ها برداشته و به لوله‌های حاوی محیط کشت *Escherichia coli* EC broth (broth) اضافه گردید. پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون نمونه‌ها در دمای ۴۴ تا ۴۴/۵ درجه سانتی گراد بررسی شدند. چنانچه در لوله‌های دورهام گاز ایجاد شود آزمایش مثبت است و می‌توان طبق جدول استاندارد MPN تعداد باکتری اشرشیا کلی (منشاء مدفوعی) را محاسبه نمود. مقدار تراکم باکتری‌های کلیفرم مدفوعی نیز با استفاده از جدول MPN آب تعیین گردید. همچنین یک لوپ از محیط کشت EC براس بر روی محیط (EMB) Eosin Methylene Blue Agare کشت خطی داده شد. چنانچه پس از ۲۴ ساعت رنگ کلنی‌ها بنفش و با جلای فلزی باشد کلیفرم ها منشاء مدفوعی دارند. برای تأیید، از آزمایش اندول، متیل رد (VP) Voges-Proskauer و سیترات استفاده گردید که باکتری مدفوعی (فکال کلیفرم) اندول مثبت، متیل رد مثبت، VP منفی و سیترات منفی می‌باشد. برای شناسایی و شمارش باکتری‌ها مطابق با منابع موجود عمل گردید (۵، ۱۱ و ۱۲) و از نرم افزار SPSS برای انجام تجزیه و تحلیل آماری استفاده گردید.

نمونه برداری از ماهی و آنالیزهای میکروبی:

نمونه برداری از ماهی نیز، در ۴ فصل، از زمستان ۱۳۹۱ تا پاییز ۱۳۹۲، صورت پذیرفت که در هر مرحله ۳۰ ماهی مورد بررسی قرار گرفت. نمونه‌های ماهی با کمک صیادان محلی و توسط تور از نقاط ساحلی هر ۳ ایستگاه در سواحل بندرعباس تهیه گردید. کل ماهیان صید شده در هر ایستگاه ۳۰ تا ۳۲ عدد و با میانگین وزنی ۱۱۰۰ الی ۱۲۵۰ گرم بودند. کلیه ماهیان بعد از توزین و شمارش برای جلوگیری از فساد بلافاصله به آزمایشگاه میکروبیولوژی انتقال داده شدند. برای شمارش تعداد کل باکتری‌ها از روش پورپلیت یا استاندارد پلیت کانت یا SPC* استفاده گردید. برای تشخیص اشریشیاکلی (*E.coli*) از آزماش اندل** و محیط کشت E.M.B*** استفاده شد و جهت شناسایی استافیلوکوک کوآگولاز از محیط کشت بردپارکر (زرد رنگ) استفاده گردید (۱۵).

۳. نتایج

در این تحقیق، از پوست و آبشش ماهیان شورت صید شده از ایستگاه‌های مختلف در شرایط کاملاً سترون طی چهار مرحله نمونه‌گیری انجام شد و پس از رقت‌گیری، نمونه‌ها در محیط‌های کشت پلیت کانت آگار، مک کانکی آگار، ائوزین متیلن بلو و برد پارکر کشت داده شد. سپس پلیت‌های حاوی کشت در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ـ۳۶ ساعت گذاشته شد و پس از مدت زمان یاد شده بررسی و شمارش میکروارگانیسم‌ها انجام گرفت. نتایج ۶ جنس پروتئوس، کلبسیلا، انتروباکتر، اشرشیا کلی، سالمونلا و استافیلوکوک را در پوست و آبشش ماهی نشان داد. نتایج ارائه شده بر اساس آنچه که انتظار می‌رفت به خوبی نشان می‌دهد که ماهی مذکور دارای فلور میکروبی طبیعی نسبتاً بالایی(جدول ۲) بوده است (از $۲/۹۰\times۱۰^{۵}$ cfu/g ± ۴/۳۰ تا $۳/۱۰\times۱۰^{۷}$ cfu/g ± ۲/۳۰).

این موضوع زمانی اهمیت بیشتری پیدا می کند که مشاهده می گردد تعداد قابل توجه‌ای از این فلور میکروبی را کلیفرم‌ها به ویژه کلیفرم‌های مدفوعی تشکیل می‌دهد.

* Standard Plate Count

** Indol

*** Eosin methylen blue

جدول شماره ۱: میانگین تعداد کل باکتری‌های آب در ایستگاه‌ها و فصول مختلف (Mean ±SD) (cfu/ml)

فصل / ایستگاه	زمستان	بهار	تابستان	پاییز
۱	۱/۴۵±۲/۲۱×۱۰^{۳}	۲/۰۲±۱/۵۳×۱۰^{۳}	۲/۳۰±۳/۱۰×۱۰^{۳}	۲/۰۵±۰/۷۵×۱۰^{۳}
۲	۱/۲۲±۲/۴۲×۱۰^{۳}	۱/۹۸±۱/۴۵×۱۰^{۳}	۲/۱۲±۲/۲۹×۱۰^{۳}	۱/۹۸±۰/۹۵×۱۰^{۳}
۳	۱/۲۰±۲/۹۰×۱۰^{۳}	۱/۶۵±۱/۸۲×۱۰^{۳}	۱/۹۸±۲/۹۵×۱۰^{۳}	۱/۵۵±۱/۰۲×۱۰^{۳}

جدول شماره ۲: میانگین تعداد کل باکتری‌های پوست در ایستگاه‌ها و فصول مختلف (Mean ±SD) (cfu/cm^{2})

فصل / ایستگاه	زمستان	بهار	تابستان	پاییز
۱	۶/۲۳±۲/۲۳×۱۰^{۵}	۱/۲۵±۲/۲۱×۱۰^{۶}	۴/۱۰±۲/۹۰×۱۰^{۶}	۳/۳۸±۰/۹۵×۱۰^{۵}
۲	۵/۶۵±۱/۵۲×۱۰^{۵}	۲/۴۸±۰/۹۵×۱۰^{۵}	۴/۲۵±۲/۲۵×۱۰^{۶}	۴/۲۱±۱/۲۵×۱۰^{۵}
۳	۴/۳۰±۲/۹۰×۱۰^{۵}	۲/۳۵±۱/۴۸×۱۰^{۵}	۱/۲۵±۲/۱۲×۱۰^{۵}	۲/۶۵±۲/۱۵×۱۰^{۵}

جدول شماره ۳ : میانگین تعداد کل باکتری‌های آبشش در ایستگاه‌ها و فصول مختلف (Mean ±SD) (cfu/g)

فصل / ایستگاه	زمستان	بهار	تابستان	پاییز
۱	۲/۲۴±۲/۱۲×۱۰^{۷}	۲/۲۵±۱/۳۵×۱۰^{۷}	۲/۳۰±۳/۱۰×۱۰^{۷}	۲/۲۵±۱/۲۵×۱۰^{۷}
۲	۱/۱۲±۱/۹۵×۱۰^{۷}	۲/۲۵±۱/۴۸×۱۰^{۷}	۲/۱۸±۲/۲۵×۱۰^{۷}	۲/۲۵±۱/۴۵×۱۰^{۷}
۳	۱/۲۰±۲/۸۰×۱۰^{۷}	۱/۸۵±۱/۵۰×۱۰^{۷}	۲/۲۵±۲/۵۰×۱۰^{۷}	۱/۵۷±۱/۲۵×۱۰^{۷}

درجدول شماره ۲ و۳ ملاحظه می‌گردد که نسبت کل باکتری‌ها در پوست و آبشش ماهی در ایستگاه ۱ (سورو) و در تابستان اختلاف فاحشی وجود دارد و از نظر آماری دارای اختلاف معنی داری می‌باشد (P< ۰/۰۵). این آلودگی از نظر استافیلوکوکوس کوآگولاز مثبت نیز در پوست و آبشش ماهی نمونه‌های ایستگاه سورو و گورسوزان نسبت به ماهی‌های ایستگاه گلشهر مشاهده می‌گردد و از این نظر نیز دارای اختلاف معنی دار آماری می‌باشد (P<۰/۰۵). نتایج نشان داد،که آب نمونه برداری شده نیز ،مشابهت زیادی از نظر ترکیبات باکتریایی پوست و آبشش را در این نوع ماهی داشت. این مسئله می‌تواند این نکته را بازگو کند که فلور باکتریایی این ماهی، چه بسا شرایط باکتریایی آب پیرامون خود را منعکس نماید و بنابراین یک شاخص بالقوه‌ای از آلودگی را مطرح نماید. همچنین بیشترین تعداد فلور باکتریایی پوست و آبشش در تابستان و کمترین تعداد در زمستان بود.

۴. بحث

در این مطالعه به بررسی آلودگی میکروبی آب‌های ساحلی خلیج فارس در محدوده ساحلی شهر بندرعباس پرداخته شده است. آب مصرفی شهر بندرعباس با جمعیتی بالغ بر ۴۰۰۰۰۰ نفر، ۸۵۰۰۰ مترمکعّب در روز طی سال ۸۵ بوده که بطور متوسّط میزان فاضلاب تولیدی۷۰۰۰۰ مترمکعب در روز می‌باشدکه حدود ۲۰درصد آن بصورت سطحی دفع می‌گردد (۱۴۰۰۰مترمکعّب در روز) و ۸۰ درصد مابقی آن (۵۶۰۰۰ متر مکعب) از طریق چاه‌ها و سپتیک‌ها و تصفیه خانه‌ها، مورد دفع قرار می‌گیرد. در شهر بندرعباس درحال حاضر سیستم دفع فاضلاب بصورت کامل راه اندازی نشده است که با توجّه به بالابودن سطح ایستایی آب و عدم جذب کافی فاضلاب در برخی مناطق بصورت مستقیم و غیرمستقیم به سواحل منتقل می‌شوند.

بطور کلی حدود ۹۹/۹ درصد فاضلاب شهری را آب و تنها ۰/۱ درصد آن را سایر مواد تشکیل می‌دهد. در ترکیب فاضلاب شهری علاوه بر آب مصرفی موادی مانند چربی روغن، پروتئین، کربوهیدرات‌ها، مواد شیمیایی و بخصوص مواد پاک‌کننده و پاتوژن‌ها وجود دارد. وجود میکرو اورگانیزم‌ها در آب نشان دهنده آلوده بودن آب است. با توجه به شرایط خاص آب و هوایی و اقلیمی حاکم بر منطقه و به علت وجود پاره‌ای مشکلات اقتصادی، فرهنگی و اجرایی، وضعیت دفع آب‌های سطحی و فاضلاب شهر بندرعباس بحرانی است و همچنین در شهر مشکل دفع آب‌های سطحی معابر وجود دارد و نیز در بخش‌هایی از شهر که نزدیک دریا واقع شده‌اند چاه جاذب کارآیی ندارد و تخلیه فاضلاب منازل به معابر عمومی روی می‌دهد که در نهایت وارد دریا می‌گردد (۷). ورود فاضلاب به سواحل بطور قطع می‌تواند عامل ایجاد آلودگی‌های میکروبی در آبزیان مصرفی در سواحل بندر عباس و همچنین افرادی که به شنا می‌پردازند، گردد. میکروبیولوژی دستگاه گوارش ماهیان دریایی و آب شیرین بوسیله بسیاری از محققان مورد بررسی قرار گرفته است. شواهدی وجود دارد که جمعیت‌های متراکم میکروبی در محتویات روده‌ای با تعداد زیادی از باکتری‌های آن، بیشتر از آب اطراف رخ می‌دهد که نشان دهنده آن است که پوست، آبشش و روده آشیان‌های اکولوژیک مناسبی برای این موجودات فراهم می‌آورند (۱۰). کلی فرم‌ها، باکتری کلی فرم مدفوعی (fecal coliform) و *Esherichia coli* بـــــه عنوان شاخص‌های آلودگی میکروبی آب در منابع آبی و آب‌های تفریحی محسوب می‌شوند (۲۳). در سال ۱۸۸۵ Theodore Esherich، متخصص آلمانی طب کودکان برای اولین بار این باکتری (*Esherichia coli*) را شناسایی نمود و نام خود را نیز بر روی آن نهاد (۲۲).

هر چند که کیفیت آب به طور معمول توسط شمارش شاخص باکتریایی پایش می‌شود ولی هیچ نوع اطلاعاتی را در خصوص منشأ آلودگی که می‌تواند کیفیت آب را در نواحی ساحلی کاهش دهد به ما ارائه نمی‌کند (۲۶,۲۸). بیماری‌های ناشی از عفونت *E.coli* شامل اسهال، اسهال خونی، مسمومیت سراسری بدن و... می‌باشد. علاوه بر این ویروس‌های انسانی که در مدفوع وجود دارد می‌تواند بر تنفس، چشم و عملکردهای مربوط به معده و قلب اثر منفی بگذارد (۱۶, ۱۷, ۲۴). در پژوهش حاضر تفاوت مشخصی در فلور باکتریایی ماهیان ایستگاه‌های مختلف از نظر جنس، وجود نداشـــــــت.گونه‌های غالب نیز شامل *Escherchia coli, Enterobacter, Klebsiell* بودند. شاید وجود کلیفرم، آلودگی سواحل شهر بندرعباس را به فاضلاب‌های شهری بیان نماید ، اما مهمتر اینکه ۲۰ درصد از نمونه ماهی‌های مورد آزمایش دارای کلیفرم‌های مدفوعی از جمله *E.coli* بوده‌اند که خود بیانگر احتمال آلودگی آب‌های ساحلی به فاضلاب‌های مدفوعی انسان می‌باشد. همچنین، تعداد باکتری ماهیان در شرایط معمول تحت تأثیر عوامل مختلفی قرار داشت. از جمله این عوامل

فصل و محل صید بود. فلور باکتریایی پوست، آبشش و دستگاه گوارش ماهیان آب شیرین و شور توسط بسیاری از محققین مطالعه شده است(۲,۱۴, ۳۱, ۳۰). به اثبات رسیده که بیشترین فلور باکتریایی متعلق به روده‌ها بوده که خود در ارتباط با آب پیرامون ماهیان بوده است. بنابراین روده‌ها آشیان اکولوژیک مناسبی را برای این باکتری‌ها فراهم می‌نمایند.(۱۳)در بررسی‌های صورت گرفته روش‌های نمونه برداری، تعیین و شناسایی باکتری‌ها متفاوت بود. استفاده از روش colwell (۱۵) می‌تواند تعداد تخمینی از گونه‌های محتمل را از فلور دستگاه گوارش نشان دهد. در بعضی موارد نمونه‌ها مستقیماً از روده‌ها برداشت می‌گردد. در صورتیکه در بسیاری از پژوهش‌ها از روش کشت دادن برای شناسایی آنها استفاده می‌گردد (۱۵،۲۵ ،۱۰،۱۳).در خصوص ارتباط فلور باکتریایی دستگاه گوارش و محیط آبی مک فارلن و همکاران (۲۰) به تفاوت‌های ترکیبی فلور دستگاه گوارش ماهی سی بأس (*Morone saxatilis*) در ۲ محیط دریایی و مصبی اشاره نمودند. در تحقیقی مشابه(۲۷) در رودخانه Hudson جمعیت‌های باکتریایی دستگاه گوارش Latter fish بطور قابل توجهی بالاتر از فلور باکتریایی مصب بوده در حالیکه در گونه‌های دریایی از این مقدار کمتر بوده است. نتایج این چنین بیان می‌نماید که باکتری‌های موجود در آب ، باکتری‌های موجود در دستگاه گوارش ماهی را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۲۷). در تحقیقی دیگر فلور باکتریایی دستگاه گوارش آزاد ماهیان پرورش یافته در ۲ محیط آب شیرین و آب دریا و آزادماهیان جمع‌آوری شده از رودخانه‌ها و دریاچه‌ها با فلور باکتریایی آبی که ماهیان مربوطه در آنجا حضور داشتند مورد مقایسه قرار گرفتند (۱۵). تعداد باکتری‌های شمارش شده در روده ماهیان دریایی 10^4تا 10^7 بر گرم بر اساس تغییرات فصلی بوده است. در آب مربوطه نیز مقدار 10^3عدد بر میلی‌لیترکه بدون تغییرات فصلی بوده، اندازه‌گیری شد که اکثراً جنس‌های Flavobacterium Cytophaga و Pseudomonas بوده است. همچنین بیشترین تعداد باکتری‌ها در بهار و تابستان و کمترین تعداد در زمستان گزارش شده است،که دستاوردهای این تحقیق، را تأیید می‌نماید. در مطالعه مشابه دیگر (۳۰ و ۳۱) ۷ گونه ماهی صید شده از ایستگاه‌های مختلف در طول رودخانه‌ای در ژاپن فلور باکتری‌های هوازی و بی‌هوازی از دستگاه گوارش (روده) آن‌ها جدا شده و با فلور باکتریایی آب ، رسوبات و حشرات آبزی منطقه مقایسه گردید. همچنین تفاوت‌های فصلی از نظر تعداد برآورد گردید. نتایج نشان داد که کل تعداد باکتری شمارش شده از روده 10^5 تا 10^8 عدد بر گرم بوده و خانواده Enterobacteriacea و گروه Vibrio-Aeromonas در همه نمونه‌ها غالب بودند. لذا به طور کلی فلور میکروبی هر ماهی بازتابی از فلور آبی می‌باشد که ماهی از آن محل صید شده باشد. طبق آزمایشهای مختلف ، به طور متوسط تعداد طبیعی باکتریهای بر روی پوست ، بین ۱۰۰۰۰ تا ۱۰۰۰۰۰۰ در(10^6 – 10^4)هر سانتی مترمربع آن و داخل امعاء و احشاء حدود یک میلیون در هر گرم می‌باشد (۱۵). تعداد این باکتری‌ها بر اساس شرایط و درجه حرارت محیط زندگی ماهی متفاوت می‌باشد. به طوری که در آب‌های سرد و تمیز مقدار کمتر و در آب‌های گرم و آلوده بیشتر است. تعداد باکتری‌ها بر روی پوست و برانش‌ها نشانه پاکیزگی یا آلودگی محیط زیست آن می‌باشد. عمده‌ترین خطرات تخلیه فاضلاب‌ها در دریا مصرف غذاهای دریایی آلوده است. سواحل شهر بندرعباس عمدتاً سواحل شنی یا سواحل گلی یا ترکیبی از این دو هستند (۷،۸). این میکروب‌ها علاوه بر آلوده سازی آب‌ها، بستر و انواع آبزیان ساحلی از نظر بهداشتی باعث کاهش شدید اکسیژن محلول در آب هم می‌شوند.کسانی که به صورت تفریحی و یا حرفه‌ای این آبزیان را صید و جهت مصرف به بازار عرضه می‌کنند؛ در معرض ابتلا به انواع بیماری‌ها و انتقال آنها به جامعه می‌باشند.

علت آنکه کلیفرم‌ها به خصوص اشریشیا کلی (*E.coil*)

را به عنوان میکروارگانیسم نشانگر پذیرفته‌اند وجود تعداد زیاد این باکتری در مدفوع می‌باشد (۱۰[۱۱] ـ ۱۰[۹]) و معتقدند که وجود اشریشیاکلی در غذا دلیل بر آلودگی آن با مدفوع انسانی و حیوانی می‌باشد (۷). بنابراین عمدتاً میکروارگانیسم‌های بیماری‌زای انسان در آبشش و پوست و دستگاه گوارش ماهیان تجمع می‌یابد. به این ترتیب می‌توان بیان نمود که در حال حاضر آب‌های ساحلی شهر بندرعباس بخصوص حوزه شهری دارای آلودگی مدفوعی می‌باشد که بیشتر از طریق خورهای موجود در شهر به دریا انتقال داده می‌شود. در نتیجه ماهیانی که در طول سواحل شهر زیست می‌نمایند و توسط صیادان بومی صید می‌گردند دارای آلودگی مدفوعی می‌باشند. این آلودگی می‌توانند از طریق مصرف چنین ماهیانی سلامت مصرف کننده را با خطر بیماری مواجه نمایند. تاکنون فلورهای باکتریایی بسیاری از گونه‌ها خصوصاً گونه‌های تجاری که صید می‌گردند و همچنین ماهیان پرورشی تعیین گردیده است. بنابراین جهت مطالعات آینده شناسایی سازگاری‌های اکولوژیک و پتانسیل بیماریزایی باکتری‌ها در ارتباط با سلامتی مصرف‌کنندگان ماهیان، بسیار مهم و با ارزش خواهد بود. بررسی آلودگی آبزیان قابل مصرف در سواحل شهری، می‌تواند دست اندرکاران را در امر برنامه ریزی برای جلوگیری از ورود فاضلاب‌های شهری به سواحل دریا یاری کند.

منابع

۱- اسدی، ه.، دهقانی پشترودی، ر. ۱۳۷۵. اطلس ماهیان خلیج فارس و دریای عمان. انتشارات سازمان تحقیقات و آموزش شیلات. چاپ‌اول. ۳۴۶ صفحه.

۲ـ اعتماد، ا.، مخیر، ب. ۱۳۷۴. ماهیان خلیج فارس. موسسه انتشارات و چاپ دانشگاه تهران. چاپ سوم. صفحه ۴۱.

۳- جابر، ل.، شیرانی فر ادنبه، ز. ۱۳۸۷. بررسی آلودگی باکتریای آب دریای خزر در سواحل نور. دومین همایش تخصصی مهندسی محیط زیست، تهران. دانشکده محیط زیست .

۴- حاجیان، ع. ۱۳۷۵. میکروبیولوژی آب و فاضلاب. انتشارات مجتمع سازندگی و آموزش اصفهان. ۵۶ صفحه.

۵- حسن زاده، پ. ۱۳۷۹. دستور کار آزمایشگاه باکتری شناسی. دانشکده علوم، بخش زیست شناسی. دانشگاه شیراز. ۱۷۴ صفحه.

۶- صادقی،ن. ۱۳۸۰. ویژگی‌های زیستی و ریخت‌شناسی ماهیان جنوب ایران خلیج‌فارس. انتشارات نقش مهر. چاپ اول. ۲۴۰صفحه.

۷- فداکار، ش. ۱۳۸۴. مدیریت زیست محیطی سواحل شهر بندرعباس. دانشگاه‌هرمزگان.

۸- معصومی، ا. ۱۳۸۲. بررسی اثرات زیست محیطی فاضلاب‌های شهری برسواحل. پایان نامه کارشناسی. دانشگاه آزاد اسلامی واحد بندرعباس.

۹- ملک پوری، م. ۱۳۸۵. نگاهی به وضعیت ساحلی بندرعباس با تکیه بر ۴ اسکله شهر بندرعباس. سازمان حفاظت محیط زیست بندرعباس.

۱۰ ـ ملک زاده، ف. و شهامت، م. ۱۳۷۱. میکروبیولوژی عمومی. انتشارات شهر آب. چاپ دوم. ۶۹۲صفحه.

۱۱- موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران. ۱۳۶۸. روش جداسازی، شناسایی و شمارش بیشترین تعداد احتمالی اشریشیا کلی در مواد غذایی و آب. چاپ اول. وزارت صنایع. ۱۴ صفحه.

12- American Public Health Association 1990. Standard methods for the examination of water and waste water. 17th edition. New York. USA. pp: 875-1003.

13- Austin, B., Austin, D.A. 1987. Bac-

terial fish pathogens: Disease in farmed and wild fish. Ellis, Horwood, Ltd, Chichester.

14- Austin, B., Allen-Austin, D. 1985. Areview: Bacterial pathogens of fis. 483-506.

15- Colwell R.R. 1962. The bacterial flora of Puget Sound fish. J. Appl Bacteriol. 25: 147-158.

16- Fleisher, J.M., Kay, D., Wyer, M.D. and A.F., Godfree. 1998. Estimates of the severity of illnesses associated with bathing in marine recreational waters contaminated with domestic sewage. Int J Epidemiol. 27: 722-7.

17- Griffin, D.W., Donaldson, K.A., Paul, J.H. and J.B., Rose. 2003. Pathogenic human viruses in coastal waters. Clin Microbiol Rev. 16:129-143.

18- Harwood, V.J., Levine, A.D., Scott, T.M., Chivukula,V., Lukasik, J., Farrah, S. R. and Rose, J.B. 2005. Validity of the indicator organism paradigm for pathogen reduction in reclaimed water and public health protection. Appl Environ Microbiol. 71:3163-3170.

19-Jensen,P.R.,Aalbaek,B.,Aslam,R., Dalsagaard,A.2001. Specifity for field enumeration of Escherichia coli in tropical surface waters. *Journal of microbiological methods*. 45:135-141.

20- MacFarlane, R.D., McLaughlin, JJ., Bullock, G.L. 1986. Quantitative and qualitative studies of gut flora in striped bass from estuarine and coastal marine environments. J., Wildlife Dis. 22:344-348

21-Nieto,T.P.,Toranzo,A.E.,Barja,J.L. 1984.Comparison between the bacterial flora associated with fingerling rainbow trout cultured in two different hatcheries in the north-west of Spain. Aquaculture. 42: 193-206.

22- Neidhardt, E.C. 1996. Escherichia coli and Salmonella: Cellular and Molecular Biology. 2d ed. ASM Press. Washington.

23- Perez, F.I., Tryland, M., Masciai, L. and Fiksdal. 2001. Rapid detection of Escherichia coli in water by a culture-based amperometric method. Analytica Chimica Acta. 927:149-154.

24-Pina,S.M., Puig, F., Lucena, J., Jofre & R., Girones.1998. Viral pollution in the environment and in shellfish: human adenovirus detection by PCR as an index of human viruses. Appl Environ Microbiol. 64:3376-3382.

25- Sakata, T., Okabayashi, J. and Kakimoto, D. 1980. Variations in the intestinal microflora of Tilapia reared in fresh and sea water. Bull Jap Soc Sei Fish. 46:313-317.

26- Simpson, J.M., Santo Domingo, J.W. and D.J., Reasoner. 2002. Microbial source tracking: State of the science. Environmental Science and Technology. 36:5279-5288.

27- Sugita, H., Oshima, K., Tamura, M., Deguchi, Y. 1983. Bacterial flora in the gastrointestine of freshwater fishes in the river. Bull Jap Soc Sci Fish. 49:1387-1395.

28- Stoeckel, D.M., Harwood, VJ. 2007. Performance, design and analysis in microbial source tracking studies. Appl Environ Microbiol. 73:2405-2415.

29- Trust,TJ., Sparrow,RAH. 1974. The bacteria/ flora in the alimentary tract of freshwater salmonid fishes. Can J Microbio. l20:1219-1228.

30-Yoshimizu,M.,Kamiyama,K.,Kimura, T., Sakai, M. 1976. Studies on the intestinal microflora of salmonids--IV. The intestinal microflora of fresh water salmon. Bull Jap Soc Sci Fish. 42: 128 l-1290 (in Japanese).

31-Yoshimizu,M.,Kimura,T. and Sakai, M. 1976. Studies on the intestinal microfiora of salmonids- L The intestinal microflora of fish reared in fresh water and sea water. Bull Jap Soc Sci Fish. 42:91-99 (in Japanese).