[DOI: 10.29252/sjku.24.6.93]

Downloaded from sjku.muk.ac.ir at 6:45 +0430 on Thursday September 10th 2020

Evaluation of the microbiological quality of wastewater effluent-irrigated maize

Marzieh Farhadkhani[1], Mahnaz Nikaeen[2], Ghasem Yadegarfar[3], Fazel Mohammadi-moghadam[4]

1. PhD. In Environmental Health Engineering, Department of Environmental Health Engineering, School of Health, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran. ORCID ID: 0000-0002-7282-5760

2. Professor of Environmental Health Engineering, Department of Environmental Health Engineering, School of Health, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran, (Corresponding Author), Tel:031-37923278, Email: nikaeen@hlth.mui.ac.ir. ORCID ID: 0000-0002-1852-1547

3. Associate Professor of Statistics & Epidemiology, Department of Statistics & Epidemiology, School of Health, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran. ORCID ID: 0000-0002-5331-3890

4. Associate Professor of Environmental Health Engineering, Department of Environmental Health Engineering, School of Health, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran. ORCID ID: 0000-0002-7236-0529

ABSTRACT

Background and Aim: Water crisis in many regions of the world especially arid and semi-arid areas such as Iran, is an important obstacle for socioeconomic development and food security. Under such circumstances, wastewater reuse in agriculture can be regarded an important alternative water source. However, treated wastewater may contain some types of pathogenic microorganisms which can threaten human health. In the present study we compared the impacts of treated wastewater (TWW) and tap water irrigation on microbiological quality of soil and crops (maize and maize leaves) through a furrow irrigation system in an experimental field.

Materials and Methods: Total and fecal coliforms and *Escherichia coli* were monitored as indicator bacteria in TWW, irrigated soil and harvested maize and maize leaves. We investigated the presence of *Salmonella* and *Shigella* by using a combination of culture and molecular methods. Statistical analyses were performed by SPSS 22.0 software. $P<0.05$ was considered statistically significant. The Mann-Whitney test was used to evaluate the difference of microbial parameters in the plots irrigated with the two types of water.

Results: The microbiological quality of wastewater in terms of mean concentration of *E. coli* (3.5 Log MPN/100 ml) was compatible with that recommended by the world health organization (WHO) for irrigation of fast-growing crops ($\leq 10^5$ *E. coli* per 100 ml). Although, the microbiological quality of soil was affected by TWW irrigation ($p < 0.05$), a relatively low concentration of *E. coli* was detected in soil. Harvested maize had no microbial contamination with *E. coli*. However, one sample of wastewater-irrigated maize leaves was contaminated with *E. coli*. The TWW, soil and crop samples were not positive for pathogenic bacteria.

Conclusion: According to the results, TWW could be used as an alternative source for irrigation of maize.

Keywords: Secondary effluent, Irrigation, *Escherichia coli*, Pathogenic bacteria, Maize, Maize leaves.

Received: Jan 14, 2019 **Accepted: Nov 3, 2019**

How to cite the article: Marzieh Farhadkhani, Mahnaz Nikaeen, Ghasem Yadegarfar, Fazel Mohammadi-moghadam. Evaluation of the microbiological quality of wastewater effluent-irrigated maize. SJKU 2020; 24 (6): 93-105

Copyright © 2018 the Author (s). Published by Kurdistan University of Medical Sciences. This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-Non Commercial License 4.0 (CCBY-NC), where it is permissible to download, share, remix, transform, and buildup the work provided it is properly cited. The work cannot be used commercially without permission from the journal

[DOI: 10.29252/sjku.24.6.93]
Downloaded from sjku.muk.ac.ir at 6:45 +0430 on Thursday September 10th 2020

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی کردستان / دوره بیست و چهارم / بهمن و اسفند ۹۳-۱۰۵/۱۳۹۸

بررسی کیفیت میکروبی ذرت آبیاری شده با پساب تصفیه خانه فاضلاب

مرضیه فرهادخانی[۱]، مهناز نیک آیین[۲]، قاسم یادگارفر[۳]، فاضل محمدی مقدم[۴]

۱. دکتری تخصصی مهندسی بهداشت محیط، گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.کد ارکید: ۵۷۶۰-۷۲۸۲-۰۰۰۲-۰۰۰۰

۲. استاد مهندسی بهداشت محیط، گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران، تلفن ثابت:۳۷۹۲۳۲۷۸-۰۳۱،پست الکترونیک nikaeen@hlth.mui.ac.ir ..کد ارکید: ۱۵۴۷-۱۸۵۲-۰۰۰۲-۰۰۰۰

۳. دانشیار آمار و اپیدمیولوژی، گروه آمار و اپیدمیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایرا ن.کد ارکید: ۳۸۹۰-۵۳۳۱-۰۰۰۲-۰۰۰۰

۴. دانشیار مهندسی بهداشت محیط،گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران. کد ارکید: ۰۵۲۹-۷۲۳۶-۰۰۰۲-۰۰۰۰

چکیده

زمینه و هدف: امروزه بحران آب یکی از موانع اصلی برای توسعه اقتصادی-اجتماعی و امنیت غذایی در بسیاری از نقاط دنیا به‌ویژه نواحی خشک و نیمه خشک از جمله ایران است. در چنین شرایطی، استفاده مجدد از فاضلاب برای کشاورزی یک گزینه مهم برای تأمین آب است؛ اما فاضلاب تصفیه‌شده ممکن است حاوی انواع میکرو ارگانیسم‌های بیماری‌زای تهدیدکننده سلامتی انسان باشد. در مطالعه حاضر به صورت میدانی، تأثیر آبیاری با فاضلاب تصفیه شده بر روی کیفیت میکروبی خاک و محصولات (ذرت و برگ ذرت) در مقایسه با آبیاری با آب شیر، از طریق یک سیستم غرقابی مورد بررسی قرار گرفت.

روش بررسی: کلیفرم کل و مدفوعی و *اشرشیاکلی* به عنوان باکتری‌های شاخص در پساب تصفیه‌شده، خاک‌های آبیاری شده و ذرت برداشت شده پایش شدند. با استفاده از ترکیب روش‌های کشت و مولکولی، ردیابی *سالمونلا* و *شیگلا* در نمونه‌ها انجام شد. آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS 22 در سطح معناداری ۵ درصد انجام شد. آزمون من-ویتنی(Man-Whitney) جهت ارزیابی اختلاف پارامترهای میکروبی در پلات‌های آبیاری شده با دو نوع آب مورد استفاده قرار گرفت.

یافته‌ها: میانگین غلظت *اشرشیاکلی* در پساب (۳/۵ Log MPN/100 ml) مطابق مقدار پیشنهادی سازمان بهداشت جهانی (WHO) برای آبیاری محصولات تند رشد (۱۰^{5} ≤ *اشرشیاکلی* در هر ۱۰۰ میلی لیتر) بود. اگرچه کیفیت میکروبی خاک تحت تأثیر آبیاری با پساب قرار گرفت ($p < 0.05$)؛ اما غلظت‌های نسبتاً پایینی از *اشرشیاکلی* در نمونه‌های خاک یافت شد. *اشرشیاکلی* در هیچ‌کدام از نمونه‌های ذرت یافت نشد. نمونه‌های برگ ذرت برداشت شده از یکی از پلات‌های آبیاری شده با پساب، آلوده به *اشرشیاکلی* بودند. هیچ‌کدام از نمونه‌های پساب، خاک و محصول آلوده به باکتری‌های پاتوژن نبودند.

نتیجه گیری: بر اساس پارامترهای آنالیز شده، پساب تصفیه شده ثانویه می‌تواند به عنوان یک منبع جایگزین جهت آبیاری ذرت مورد استفاده قرار گیرد.

کلمات کلیدی: پساب ثانویه، آبیاری، *اشرشیاکلی*، باکتری های بیماری‌زا، ذرت، برگ ذرت

وصول مقاله:۹۷/۱۰/۲۴ اصلاحیه نهایی:۹۸/۷/۳۰ پذیرش:۹۸/۸/۱۲

[DOI: 10.29252/sjku.24.6.93]
Downloaded from sjku.muk.ac.ir at 6:45 +0430 on Thursday September 10th 2020

مقدمه

در قرن حاضر کمبود آب یکی از بزرگ‌ترین مشکلات زیست‌محیطی جوامع بشری در سراسر جهان است. در چنین شرایطی بازیابی و استفاده مجدد فاضلاب برای آبیاری کشاورزی به‌عنوان یک گزینه قابل‌اعتماد و با ارزش در نظر گرفته شده و فشار روی منابع آب شیرین را به‌خصوص در مناطق خشک و نیمه‌خشک مانند خاورمیانه کاهش می‌دهد(۲, ۱). انتظار می‌رود که در دهه‌های آینده فاکتورهای متعددی شامل رشد جمعیت، آلودگی آب‌های سطحی و زیرزمینی، خشک‌سالی و تغییرات آب و هوا باعث افزایش تنش آبی در برخی از مناطق دنیا شوند. تخمین زده شده است که بیش از ۴۰ درصد جمعیت جهان در طی دهه‌های آینده با تنش‌آبی و یا کمبود آب روبرو شوند که متعاقب آن ایمنی غذا و آب و شرایط اجتماعی-اقتصادی آن‌ها تحت‌تأثیر قرار خواهد گرفت(۴, ۳, ۱). ایران نیز به‌عنوان یکی از کشورهای خاورمیانه با میانگین بارش سالانه کمتر از یک سوم میانگین جهانی (۲۵۰ میلی متر) در یکی از خشک‌ترین مناطق جهان قرار گرفته است و با بحران جدی و طولانی‌مدت آب مواجهه است، به‌طوری‌که پیش‌بینی‌شده است که میزان منابع آب در ایران از ۲۰۲۵ مترمکعب در سال ۱۹۹۰ به ۸۱۶ متر مکعب در سال ۲۰۲۵ کاهش خواهد یافت(۵, ۲). به همین دلیل متولیان امر، پالایش و استفاده مجدد از پساب‌های شهری و صنعتی را به عنوان منابعی جدید برای جبران بخشی از این کمبودها موردتوجه قرار داده‌اند.

فاضلاب می‌تواند کاربردهای متعددی شامل آبیاری زمین‌های کشاورزی، آبزی‌پروری، آبیاری چشم‌اندازها، کاربردهای شهری و صنعتی، استفاده‌های زیست محیطی و تغذیه آب‌های زیرزمینی داشته باشد(۶, ۳). در اصل، فاضلاب با داشتن تصفیه مناسب و یا انجام اقدامات احتیاطی می‌تواند برای تمام اهداف کاربردی آب شیرین مورد استفاده قرار گیرد(۶).

بخش کشاورزی با مصرف حدود ۷۰ درصد آب، بزرگ‌ترین مصرف‌کننده آب شیرین جهان است(۴, ۲, ۱)؛ و حتی در بعضی کشورهای خاورمیانه از جمله ایران، بیشتر از ۹۰ درصد کل آب‌های برداشتی به مصرف فعالیت‌های کشاورزی می‌رسد(۵, ۲). کاربرد فاضلاب در کشاورزی مزایای اقتصادی و زیست‌محیطی فراوانی از جمله کاهش کاربرد منابع آب طبیعی، کاهش مصرف کودهای شیمیایی، حفاظت اکوسیستم‌های آبی از آلودگی و بهبود بازده محصول به علت انتقال مواد مغذی فاضلاب به همراه دارد؛ اما می‌تواند مشکلات بهداشتی و زیست‌محیطی را نیز در مواردی به دنبال داشته باشد، به‌خصوص زمانی که تصفیه کافی نشده باشد(۷, ۴, ۳). اگرچه کیفیت میکروبی فاضلاب از نقطه نظر بهداشت و سلامت عمومی بسیار با اهمیت است؛ اما فاکتورهای متعددی بار میکروبی خاک و محصولات آبیاری‌شده با فاضلاب و متعاقب آن خطر مرتبط با سلامتی را تحت تأثیر قرار می‌دهند. دما و رطوبت هوا، میزان اشعه UV، رطوبت و pH خاک، رقابت با میکرو ارگانیسم‌های بومی خاک، روش آبیاری و نهایتاً نوع گیاه می‌توانند سرنوشت و جمعیت میکرو ارگانیسم‌های بیماری‌زا را در خاک و روی سطح محصول تحت تأثیر قرار دهند(۳, ۱). به منظور مدیریت مناسب کاربرد فاضلاب‌های بازیابی‌شده در کشاورزی، پیگیری سرنوشت میکرو ارگانیسم‌های بیماری‌زا و شاخص در مزرعه به‌خصوص در نواحی خشک و نیمه‌خشک که با کمبود آب روبرو هستند امری ضروری است؛ بنابراین با توجه به اینکه شهر اصفهان با داشتن آب‌وهوای نیمه خشک با مشکل کمبود آب در بخش کشاورزی مواجه است و استفاده از پساب می‌تواند به عنوان یک منبع آبی با ارزش مشکل فوق را مرتفع نماید، هدف از انجام این مطالعه بررسی کیفیت میکروبی پساب مورد

[DOI: 10.29252/sjku.24.6.93]
Downloaded from sjku.muk.ac.ir at 6:45 +0430 on Thursday September 10th 2020

استفاده، خاک و محصول آبیاری شده با پساب (ذرت و برگ ذرت) از نظر وجود میکرو ارگانیسم‌های شاخص و بیماری‌زا شامل کلیفرم‌های کل، کلیفرم‌های مدفوعی، *اشرشیاکلی*، *سالمونلا و شیگلا* بود. نکته قابل ذکر این است که با توجه به شرایط آب و هوایی منطقه و قرار گرفتن در ناحیه نیمه‌خشک، شرایط پایداری پاتوژن ها در محیط می‌تواند کاملاً متفاوت از آنچه در دیگر مطالعات بیان شده است باشد که این خود دلیلی اساسی جهت مطالعه گسترده در این زمینه می‌باشد.

روش بررسی

طراحی مزرعه مورد آزمایش

آزمایش در یک قسمت باز از یک تصفیه‌خانه فاضلاب شهری که قبلاً در معرض آبیاری با پساب نبوده و برای فعالیت کشاورزی استفاده نشده بود انجام شد. جهت ارزیابی اثر آبیاری با پساب بر روی کیفیت میکروبی خاک و گیاه زمین مورد نظر به ۶ قسمت (پلات) ($P_1 \ldots P_6$) تقسیم شد (شکل ۱) و سه پلات به منظور آبیاری با پساب فاضلاب و سه پلات جهت آبیاری با آب شیر (گروه کنترل) در نظر گرفته شد(۸).

با توجه به مساحت زمین موجود پلات‌هایی با عرض ۲/۵ متر و طول ۳ متر ایجاد و در هر پلات، ۳ ردیف ذرت کشت شد. عرض هر ردیف حدود ۴۰ سانتیمتر و فاصله بین ردیف‌ها نیز حدود ۴۰ سانتیمتر در نظر گرفته شد. فاصله بین گیاه در هنگام بذر پاشی ۲۰ سانتیمتر در نظر گرفته شد. بین پلات‌ها فاصله‌ای بین ۱/۲۵-۱ متر وجود داشت و هر پلات نیز با استفاده از خاک‌ریزی حفاظت شده بود. الگوی آبیاری گیاهان بر اساس روش آبیاری معمول در منطقه به‌صورت غرقابی بود و فواصل آبیاری نیز بر اساس مشورت با کشاورزان پس از آبیاری اولیه (پی آب) هفته‌ای یک‌بار انجام شد. در این مطالعه از پساب خروجی تصفیه‌خانه فاضلاب شهری با سیستم تصفیه لجن فعال (با ظرفیت حجمی حدود ۱۳۰۰۰۰متر مکعب درروز) استفاده گردید. مراحل تصفیه فاضلاب در این تصفیه‌خانه شامل واحدهای تصفیه متداول از جمله آشغال‌گیری (screening)، دانه‌گیری (grit removal)، ته‌نشینی‌اولیه (primary sedimentation)، فرایند لجن‌فعال (activated sludge process) ته‌نشینی‌ثانویه و در نهایت کلرزنی بود. در شرایط کارکرد بهینه مقادیر اکسیژن مورد نیاز شیمیایی (COD)، اکسیژن مورد نیاز بیولوژیکی (BOD_5)، جامدات معلق کل (TSS) و نیتروژن آمونیاکی (NO_3-N) پساب خروجی از این تصفیه‌خانه به طور میانگین به ترتیب ۸۷/۹، ۱۴/۱، ۴۴/۳ و ۱/۱ میلی گرم در لیتر بوده است. آب شیر بدون هیچ آلودگی میکروبی از طریق شبکه لوله‌کشی آب‌شهر جهت آبیاری پلات‌های کنترل فراهم شد. خاک پلات‌ها به عنوان خاک سیلتی-لومی (۵۱ درصد سیلت، ۳۰ درصد شن و ۱۹ درصد رس) مشخص شد. آزمایش‌های در طول یک فصل کشت، از نیمه دوم تیر تا آبان ماه مطابق با شیوه معمول مورد استفاده در منطقه مطالعه انجام شد. در طول‌مدت پژوهش از فاضلاب، خاک (ابتدا و انتهای دوره) و در پایان، از محصول تولیدشده نمونه برداری صورت گرفت.

نمونه برداری

نمونه‌برداری از فاضلاب به‌صورت مرکب در طول فصل کشت، هم‌زمان با آبیاری پلات ها (۱۱ نمونه) انجام شد. در طول مدت آبیاری محصول (۶-۵ ساعت)، فاضلاب در ظرف ضدعفونی شده بزرگی جمع‌آوری و پس از پایان کار، مقدار حدود ۲/۵ لیتر از آن وارد یک ظرف شیشه‌ای در پیچ‌دار استریل‌شده و بلافاصله در شرایط سرد به آزمایشگاه منتقل و مورد آنالیز میکروبی قرار گرفت. در ضمن هر بار pH، EC، میزان کلر باقیمانده و دمای پساب اندازه گیری شد.

[DOI: 10.29252/sjku.24.6.93]
Downloaded from sjku.muk.ac.ir at 6:45 +0430 on Thursday September 10th 2020

نمونه‌های خاک در ابتدای کار قبل از شروع کشت و در انتهای دوره کشت، قبل از برداشت محصول از هر پلات برداشت شد (۱۲ نمونه). نمونه‌برداری خاک از عمق ۲۰-۰ سانتیمتری از سه نقطه متفاوت در هر پلات با استفاده از وسیله‌ی نمونه‌برداری خاک (Uger) انجام شد. نمونه‌های خاک پس از هر نمونه‌برداری به آزمایشگاه منتقل شده و آزمایش‌های میکروبی بر روی این نمونه‌ها انجام شد.

جهت نمونه‌برداری از گیاه (ذرت و برگ ذرت) از هر پلات یک نمونه مرکب (حاوی ۵ زیر نمونه) در پایان فصل کشت برداشت و پس از آماده‌سازی نمونه‌ها، آزمایش‌های میکروبی بر روی آن‌ها صورت گرفت(۹).

آماده‌سازی نمونه‌ها و انجام آزمایش‌های میکروبی

برای تعیین ارگانیسم‌های شاخص شامل کلیفرم‌های کل و مدفوعی، *اشرشیاکلی* از روش تخمیر چند لوله‌ای بر اساس روش‌های ذکر شده در منابع استاندارد استفاده گردید. محیط کشت‌های لوریل تریپتوز براث، برلیانت گرین لاکتوز بایل براث و EC براث برای تشخیص کلیفرم کل و مدفوعی و محیط EC-MUG برای ردیابی *اشرشیاکلی* استفاده شدند(۱۰). نتیجه آزمایش‌ها به صورت تعداد ارگانیسم (MPN (Most Probable Number)) در میلی لیتر نمونه پساب و یا تعداد ارگانیسم در هر گرم از نمونه خاک و یا محصول گزارش گردید.

برای انجام آزمون‌های میکروبی فاضلاب، از نمونه فاضلاب به روش ترقیق چند مرحله‌ای، رقت‌های مناسب تهیه شده و آزمون‌های میکربی مورد نظر در محیط‌های کشت مربوطه انجام گردید.

برای انجام آزمون‌های میکربی خاک، مقدار ۲۵ گرم خاک در ۲۲۵ میلی‌لیتر پپتون واتر استریل ریخته و به مدت یک ساعت با سرعت ۱۲۰ دور در دقیقه در دمای ^{o}C ۳۵ تکان داده شد. سپس از دوغاب تولیدی به روش ترقیق چند مرحله‌ای رقت‌های مناسب (رقت‌های بین ۱ تا ۶) تهیه شده و آزمون‌های میکربی مورد نظر در محیط‌های کشت مربوطه انجام گردید.

برای انجام آزمون‌های میکربی گیاه نیز مقدار مشخصی از گیاه را به نسبت ۱ به ۱۰ در پپتون واتر استریل در درون کیسه‌های استومکر ریخته و با استفاده از استومکر به مدت ۳ دقیقه سوسپانسیون مناسبی تهیه نموده، سپس از سوسپانسیون تولیدی به روش ترقیق چند مرحله‌ای رقت‌های مناسب تهیه شده و آزمون‌های میکربی مورد نظر در محیط‌های کشت مربوطه انجام گردید.

برای تشخیص *سالمونلا* و *شیگلا*، ۳۰۰-۲۰۰ میلی لیتر از نمونه پساب ثانویه با استفاده از فیلتراسیون غشایی (0.22 μm, 47 mm in diameter, Millipore) تغلیظ شد. فیلترها در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب پپتون استریل غوطه ور شده و به مدت ۲۴-۱۲ساعت در دمای ^{o}C۱±۳۵ انکوبه گردید. پس از آن با پی پت استریل ۱۰ میلی‌لیتر آب پپتونه به هر یک از لوله‌های محیط غنی‌کننده سلنیت F (۱۰ لوله) اضافه و در دمای ^{o}C ۳۷ به مدت ۴۸-۲۴ ساعت انکوبه شدند. در مورد نمونه‌های خاک از روی سریال رقت‌های تهیه شده، مقادیر ۱۰ و ۱ میلی‌لیتر از نمونه خاک بر روی محیط سلنیت F کشت داده شد؛ و برای نمونه‌های گیاه نیز مقدار مشخصی از سوسپانسیون حاصله از استومکر که حاوی ۲۵ گرم از گیاه بود، به مدت ۲۴-۱۸ ساعت در انکوباتور تکان داده شد و سپس ۱۰ میلی‌لیتر از سوسپانسیون فوق به بطری حاوی ۱۰۰ میلی‌لیتر سلنیت F منتقل گردید. بعد از غنی‌سازی، لوله‌هایی که به رنگ نارنجی (صورتی تا قرمز) تغییر رنگ دادند را به عنوان مثبت در نظر گرفته و از لوله‌های مثبت بر روی محیط‌های xylose lysine deoxycholate (XLD) آگار و *سالمونلا-شیگلا* آگار (SS) کشت داده شد. با توجه به شکل ظاهری و رنگ کلنی‌های رشد یافته بر روی محیط‌های SS و XLD شناسایی اولیه باکترهای های

[DOI: 10.29252/sjku.24.6.93]
Downloaded from sjku.muk.ac.ir at 6:45 +0430 on Thursday September 10th 2020

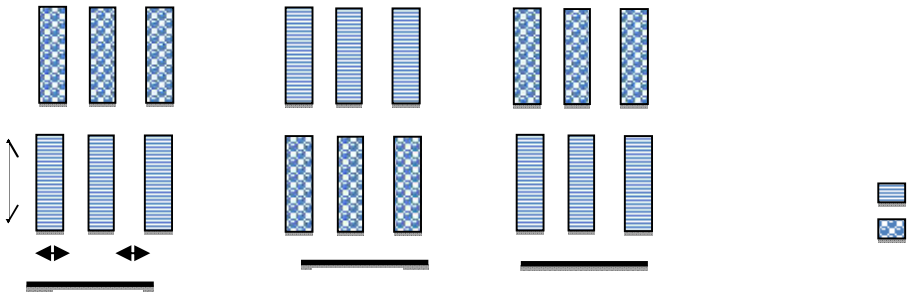
سالمونلا و *شیگلا* صورت گرفت. سپس بر روی کلنی‌های فوق آزمایش‌های تشخیصی نهایی توسط تست‌های تکمیلی افتراقی با استفاده از سه محیط TSI و Urea و SIM صورت پذیرفت. جهت اطمینان کامل از شناسایی این باکتری‌ها، آزمایش PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی (جدول ۱) بر روی DNA استخراج شده کلنی-های ایزوله شده؛ صورت گرفت(۱۱).

استخراج DNA و انجام PCR

برای انجام PCR، کلنی‌های ایزوله شده در ۱۰۰ میکرولیتر آب یونیزه شده حل و DNA با استفاده از روش فریز و ذوب (Freeze and Thaw) استخراج شد و به عنوان DNA نمونه الگو در آزمایش PCR(۱۲) با استفاده از پرایمرهای اختصاصی (جدول ۱) مورد استفاده قرار گرفت.

آنالیزهای آماری

آنالیزهای آماری با استفاده از نرم افزار SPSS 22 انجام شد. جهت توصیف داده‌ها از میانگین و انحراف معیار استفاده گردید. جهت تحلیل داده‌ها از روش آنالیز واریانس داده‌های تکراری استفاده شد. آزمون من-ویتنی-(Man-Whitney) جهت ارزیابی اختلاف پارامترهای میکروبی در پلات‌های آبیاری شده با دو نوع آب مورد استفاده قرار گرفت؛ و در نهایت داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS در سطح معنی داری ۵ درصد آنالیز شدند.



شکل ۱. نقشه کشت ذرت

جدول ۱. پرایمرهای مورد استفاده جهت PCR

ژن هدف (میکروارگانیسم)	پرایمر	سکانس (´3 → ´5)	سایز تکثیر شده (جفت باز)	منبع
ipaH (*شیگلا*)	ipaH-L1	CCT TTT CCG CGT TCC TTG A	۴۲۶	(۲۶)
	ipaH-U1	CGG AAT CCG GAG GTA TTG C		
invA (*سالمونلا*)	139	GTGAAATTATCGCCACGTTCGGGCAA	۲۸۴	(۲۷)
	141	TCATCGCACCGTCAAAGGAACC		

[DOI: 10.29252/sjku.24.6.93]
Downloaded from sjku.muk.ac.ir at 6:45 +0430 on Thursday September 10th 2020

یافته‌ها

کیفیت پساب ثانویه:

نتایج کیفیت میکروبی پساب ثانویه در جدول ۲ ارائه‌شده است. در طول دوره مطالعه، *E. coli* در (۹/۱۱) ۸۲٪ نمونه‌های پساب ثانویه با میانگین **log MPN** ۳.۵ در صد میلی لیتر پساب یافت شد. در طول دوره مطالعه *سالمونلا* و *شیگلا* در هیچ یک از نمونه‌های پساب یافت نشد.

کیفیت میکروبی خاک:

کیفیت میکروبی خاک قبل و بعد از کشت در جدول ۳ ارائه شده است. قبل از شروع آبیاری اگر چه کلیفرم مدفوعی با مقدار میانگین **MPN/g** ۶ در نمونه‌های خاک یافت شد؛ اما *E. coli* در هیچ‌کدام از نمونه‌های خاک برداشت شده ردیابی نشد. در پایان کشت *E. coli* در (۱/۶) ۱۷ درصد نمونه‌های خاک آبیاری شده با آب شیر با غلظت میانگین **MPN/g** ۱ و تمام نمونه‌های خاک آبیاری شده با پساب با غلظت میانگین **MPN/g** ۹۴ یافت شد و آنالیز آماری اختلاف معنی‌داری را در غلظت های کلیفرم مدفوعی و *E.coli* بین پلات‌های آبیاری شده با آب شیر و پساب نشان داد ($p < ۰/۰۵$). آنالیزهای آماری نشان دادند که بین دو مرحله (قبل از کشت، پایان کشت) غلظت باکترهای شاخص در پلات‌های آبیاری شده با پساب به طور معنی‌داری اختلاف داشتند ($p < ۰/۰۵$). لازم به ذکر است *سالمونلا* و *شیگلا* در هیچ‌کدام از نمونه‌های خاک یافت نشد.

کیفیت میکروبی محصول:

کیفیت میکروبی ذرت و برگ ذرت آبیاری شده با دو نوع آب در جدول ۴ ارائه شده است. هیچ یک از نمونه‌های ذرت و هیچ یک از نمونه‌های برگ ذرت آبیاری شده با آب شیر آلوده به *اشرشیاکلی* نبودند. در حالی که در پلات‌های آبیاری شده با پساب، *اشرشیاکلی* در (۳۳٪) ۱/۳ نمونه‌های برگ ذرت با میانگین غلظت MPN/100 g ۲۶۳۱۶ یافت شد. بین مقادیر باکتری های شاخص در نمونه های ذرت آبیاری شده با دو نوع آب هیچ اختلاف معنی داری از لحاظ آماری مشاهده نشد($p > ۰/۰۵$) لازم به ذکر است *سالمونلا* و *شیگلا* در هیچ کدام از نمونه های محصول یافت نشد.

جدول ۲. کیفیت میکروبی پساب ثانویه

پارامتر	واحد	میانگین±انحراف معیار
کلیفرم کل	log MPN 100 ml^{-1}	۴/۹±۱/۶
کلیفرم مدفوعی	log MPN 100 ml^{-1}	۴/۲±۲
اشرشیاکلی	log MPN 100 ml^{-1}	۳/۵±۱/۶
سالمونلا	MPN 100 ml^{-1}	ND
شیگلا	MPN 100 ml^{-1}	ND

ND: ردیابی نشد.

[DOI: 10.29252/sjku.24.6.93]
Downloaded from sjku.muk.ac.ir at 6:45 +0430 on Thursday September 10th 2020

جدول ۳. کیفیت میکروبی خاک قبل از کشت و بعد از برداشت (مقادیر به صورت میانگین ارائه شده است).

زمان	نوع آبیاری	کلیفرم کل (MPN/g)	کلیفرم مدفوعی (MPN/g)	*اشرشیاکلی* (MPN/g)
قبل از کشت*	آب شیر	۹۴	۶	ND
	پساب	۹۴	۶	ND
بعد از برداشت*	آب شیر	۲۶۳۵	۱	۱
	پساب	۲۱۱۴	۱۴۶	۹۴

ND: ردیابی نشد.

**سالمونلا* و *شیگلا* در هیچ یک از نمونه ها یافت نشد.

جدول ۴. کیفیت میکروبی محصول آبیاری شده با آب شیر و پساب. داده ها به صورت میانگین (تعداد نمونه مثبت به تعداد کل) ارائه شده است.

نوع محصول	کلیفرم کل (MPN/100g)		کلیفرم مدفوعی (MPN/100g)		*اشرشیاکلی* (MPN/100g)	
	آب شیر	پساب	آب شیر	پساب	آب شیر	پساب
ذرت	ND	۱۰۰۰ (۱/۳)	ND	ND	ND	ND
برگ ذرت	۲۷۷۲۸۸ (۳/۳)	۵۴۳۲۸۲ (۳/۳)	ND	۲۶۳۱۶ (۱/۳)	ND	۲۶۳۱۶ (۱/۳)

ND: ردیابی نشد.

بحث

کیفیت پساب ثانویه:

آزمایش‌های میکروبی غلظت بالایی از کلیفرم مدفوعی‌را در پساب ثانویه نشان دادند (۳/۵ Log MPN/100 ml) که خیلی بیشتر از مقدار پیشنهادی سازمان محیط زیست ایران جهت مصارف کشاورزی و آبیاری (۴۰۰ MPN/100 ml کلیفرم مدفوعی) بود(۱۳)؛ اما نتایج نشان داد که کیفیت میکروبی پساب مطابق مقدار پیشنهادی سازمان بهداشت جهانی (WHO) برای آبیاری محصولات تند رشد از جمله ذرت ($۱۰^{۵}$ ≥ *اشرشیاکلی* در هر ۱۰۰ میلی لیتر)(۳) بود (جدول ۲). با توجه به اینکه ذرت یک محصول تند رشد است، بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که مطابق رهنمود سازمان بهداشت جهانی این پساب با چنین کیفیتی برای آبیاری ذرت مشکل ساز نیست. غلظت بالای باکتری‌های شاخص در پساب بازدهی پایین تصفیه‌خانه را در حذف این باکتری‌ها به دلیل غیاب تصفیه پیشرفته و یا فرآیند گندزدایی ناکافی نشان می‌دهد. فرآیندهای متداول تصفیه فاضلاب باکتری‌های را در حد ۳-۲ لگاریتم کاهش می‌دهند، به طوری که غلظت *اشرشیاکلی* در پساب خروجی حدود $۱۰^{۴}$-$۱۰^{۵}$ MPN/100 ml خواهد بود(۱۴). کاهش بیشتر در غلظت میکرو ارگانیسم‌ها می‌تواند از طریق بهبود کیفیت پساب با استفاده از روش‌های گندزدایی مناسب به خصوص گندزدایی با اشعه ماورای بنفش و یا کاربرد روش‌هایی مانند فیلتراسیون و ذخیره پساب در مخازن حاصل شود. *سالمونلا* و *شیگلا* در هیچ یک از نمونه‌های پساب یافت نشدند. در فاضلاب خام غلظت *سالمونلا* در هر ۱۰۰ میلی لیتر حدود $۱۰^{۲}$-$۱۰^{۴}$ سلول گزارش شده است(۱۵). به هر حال *سالمونلا* ممکن است به علت حذف میکرو ارگانیسم‌ها به‌وسیله فرآیندهای تصفیه و یا سطوح پایین عفونت *سالمونلا* در جامعه، در فاضلاب تصفیه شده یافت نشود. به عنوان مثال

[DOI: 10.29252/sjku.24.6.93]
Downloaded from sjku.muk.ac.ir at 6:45 +0430 on Thursday September 10th 2020

تعدادی از مطالعات *سالمونلا* را در فاضلاب شهری تصفیه نشده یافت نکرده‌اند(۱۷, ۱۶).

کیفیت میکروبی خاک

کیفیت میکروبی فاضلاب مورد استفاده جهت آبیاری می‌تواند کیفیت میکروبی خاک را تحت تأثیر قرار دهد. انتشار میکروب‌های بیماری‌زا در خاک به علت کاربرد فاضلاب در آبیاری و سپس متعاقب آن، انتقال آن‌ها از خاک به محصول یک نگرانی بزرگ از نقطه نظر بهداشت عمومی و سلامت مصرف‌کنندگان است(۷, ۳, ۱). نتایج نشان می‌دهد که در انتهای کشت، غلظت *E. coli* در پلات‌های آبیاری شده با پساب نسبت به پلات‌های آبیاری شده با آب شیر به طور معنی‌داری بیشتر بود (۰/۰۵ >p.value)(جدول ۳). این اختلاف مشخص می‌کند که خصوصیات میکروبی خاک می‌تواند تحت تأثیر کیفیت میکروبی آب آبیاری قرار گیرد و در ضمن می‌توان فاضلاب را به عنوان یک منبع آلودگی خاک در نظر گرفت. *E. coli* همچنین در نمونه‌های خاک پلات‌های آبیاری شده با آب شیر نیز یافت شد (جدول ۳). از آنجا که *E. coli* یکی از معمول‌ترین شاخص‌های آلودگی مدفوعی است؛ بنابراین حضورش در خاک‌های آبیاری شده با آب شیر، می‌تواند ناشی از یک منبع خارجی آلودگی مدفوعی مانند پرندگان و یا حیوانات اهلی و وحشی باشد که این موضوع توسط دیگر محققان نیز گزارش شده است(۱۹, ۱۸, ۹). آلودگی *E. coli* پلات‌های آبیاری شده با آب شیر می‌تواند با حضور تعداد زیاد پرندگان در مزرعه‌ی مورد آزمایش مرتبط باشد. به عنوان مثال Benami و همکاران (۲۰۱۳)، حضور و فراوانی شش پاتوژن و ارگانیسم شاخص را در خاک‌های آبیاری شده با آب خاکستری و آب شیرین مورد بررسی قرار دادند. آن‌ها پیشنهاد کردند که نوع آب روی تنوع و فراوانی میکرو ارگانیسم‌ها تأثیر ندارد(۱۸). در مطالعه‌ای که توسط Forslund و همکاران (۲۰۱۲) انجام شد، توالی ژنتیکی *اشرشیاکلی*‌های جدا شده از فاضلاب و خاک‌های آبیاری شده با فاضلاب الگوهای مشابهی را نشان ندادند که این موضوع نشان‌دهنده ورود آلودگی مدفوعی از دیگر منابع محیطی مانند حیات‌وحش است(۹). اگرچه نتایج نشان می‌دهد که کیفیت میکروبی خاک تحت تأثیر کیفیت آب آبیاری قرار گرفته است؛ اما این نکته باید مورد توجه قرار گیرد که نسبت به کیفیت پساب مورد استفاده غلظت های نسبتاً پایینی از *E. coli* در خاک‌های آبیاری شده با پساب یافت شد. در تطابق با نتایج دیگر مطالعات، تعداد بالای باکتری‌های شاخص در فاضلاب منجر به تجمع باکتری‌ها در خاک نمی‌شود(۲۰, ۱۶, ۸). مطالعه‌ای که توسط Gatta و همکاران (۲۰۱۶) تحت شرایط آب و هوایی مدیترانه‌ای انجام شد، غلظت پایینی از کلیفرم مدفوعی را در خاک‌های آبیاری شده با پساب ثانویه نشان داد، هرچند غلظت این باکتری‌ها در پساب (بیشتر از 10^4 CFU/100 ml) بالا بود(۸). فاکتورهای محیطی معین بقای میکرو ارگانیسم‌ها را در خاک تحت تأثیر قرار می‌دهند(۲۱, ۷). مطالعات متعدد تأثیر روش‌های مختلف آبیاری را بر روی کیفیت میکروبی خاک و محصولات، مورد ارزیابی قرار داده‌اند. نتایج این مطالعات نشان می دهد که آبیاری قطره‌ای فاضلاب مخصوصاً آبیاری قطره‌ای زیرسطحی، می‌تواند به طور مؤثری آلودگی خاک و محصولات و متعاقباً خطرات بهداشتی مرتبط با آن را کاهش دهد(۲۳, ۲۲, ۹). Song و همکاران(۲۰۰۶) بر روی پلات های آبیاری شده به روش غرقابی نسبت به پلات‌های آبیاری شده به روش قطره‌ای زیر سطحی غلظت بالاتری از میکرو ارگانیسم‌ها را یافتند(۲۳).

همان‌طور که پیش بینی شده بود، *سالمونلا* و *شیگلا* در نمونه‌های خاک یافت نشدند. در مطالعه Ibekwe و همکاران (۲۰۱۷) بر روی کیفیت میکروبی خاک با استفاده از روش pyrosequencing، *سالمونلا* در هیچ یک از نمونه‌های خاک آبیاری شده با فاضلاب تصفیه شده یافت

[DOI: 10.29252/sjku.24.6.93]
Downloaded from sjku.muk.ac.ir at 6:45 +0430 on Thursday September 10th 2020

نشد(۲۴). در مطالعه Gatta و همکاران (۲۰۱۶) علی‌رغم فراوانی بالای *سالمونلا* در نمونه های پساب ثانویه، غلظت خیلی پایینی از این میکروارگانیسم در نمونه های خاک آبیاری شده با پساب ثانویه یافت شد. علاوه بر این، آن‌ها گونه‌های *سالمونلا* را در خاک‌های آبیاری شده با پساب ثالثه (پساب حاصل از تصفیه پیشرفته) یافتند، در حالی‌که نمونه‌های پساب ثالثه از نظر وجود این باکتری منفی بودند. آن ها نتیجه گیری کردند که منبع آب به تنهایی نمی‌تواند عامل آلودگی باشد(۸).

کیفیت محصول

زمانی که از فاضلاب جهت آبیاری محصولات کشاورزی استفاده می‌شود، بیماری‌های قابل انتقال از طریق غذا مرتبط با مصرف محصولات آلوده یکی از نگرانی‌های اصلی است. همان‌طور که پیش بینی شده بود، *E.coli* در هیچ یک از نمونه‌های ذرت یافت نشد که این به نوع محصول و خصوصیات آن مرتبط است. به‌طوری‌که بخش خوراکی ذرت با پوست پوشیده شده است، بنابراین آن را از آلوده شدن محافظت می‌کند. علاوه بر این، از آنجا که ذرت یک محصول تند رشد است، لذا خطر آلودگی آن با آبیاری فاضلاب پایین است؛ بنابراین اگرچه کیفیت میکروبی پساب مورد استفاده در حد استاندارد سازمان حفاظت از محیط زیست ایران جهت استفاده مجدد در مصارف کشاورزی نبود (جدول ۲)؛ ولی همان طور که توسط سازمان بهداشت جهانی (WHO) اشاره شده است فاضلاب با کیفیت میکروبی پایین ($\leq 10^5$ *اشرشیاکلی* در هر ۱۰۰ میلی‌لیتر) را می‌توان برای آبیاری این نوع محصولات به کار برد(۳)؛ اما برخلاف ذرت، آلودگی *E.coli* بر روی نمونه برگ ذرت یکی از سه پلات آبیاری شده با پساب یافت شد (جدول ۴) که این آلودگی می‌تواند ناشی از تماس برگ‌های ذرت و یا قسمت ساقه گیاه با خاک باشد. از آنجا که این قسمت از گیاه ذرت جهت مصرف دام به مدت ۴ الی ۵ ماه در انبار ذخیره می‌شود تا کاملاً خشک شده و رطوبتش را از دست دهد، بنابراین می‌توان انتظار داشت که این مقدار آلودگی بعد از این مدت زمان نگهداری کاملاً از بین‌رفته و این محصول برای مصرف دام ایمن باشد. در مطالعه بر روی آبیاری قطره‌ای توسط Gatta و همکاران (۲۰۱۶)، با وجود اینکه غلظت بالایی از *E. coli* در پساب ثانویه یافت شد؛ اما هیچ‌کدام از نمونه‌های قسمت بالای کنگرفرنگی آلوده به این باکتری نبودند. اگرچه آن‌ها گونه‌های *سالمونلا* را در نمونه‌های پساب و خاک‌های آبیاری شده یافتند؛ اما هیچ‌یک از نمونه‌های گیاه یا قسمت بالای کنگرفرنگی برای *سالمونلا* مثبت نبودند(۸). نتایج مشابهی برای کیفیت میکروبی بادمجان و گوجه‌های آبیاری شده به روش آبیاری قطره‌ای با فاضلاب تصفیه شده که محتوای *E. coli* آن اغلب بالاتر از حد پیشنهادی سازمان بهداشت جهانی (WHO) بود، گزارش شده است(۱۶). در مطالعه Lonigro و همکاران (۲۰۱۶) علی‌رغم اینکه فاضلاب مورد استفاده در آبیاری سطوح بالایی از بار میکروبی را داشت (۱۷۱۳ و ۱۲۳۴۲۹ *اشرشیاکلی* (CFU) در هر ۱۰۰ میلی‌لیتر به ترتیب در فاضلاب تصفیه شده به وسیله لاگون و پساب ثانویه)؛ اما در زمان برداشت، نمونه‌های خاک و گیاه یا آلوده نبودند و یا مقدار آلودگی در آن‌ها بسیار پایین بود(۱۷).

دیگر فاکتور مهم مؤثر بر میزان آلودگی مدفوعی محصولات آبیاری شده با فاضلاب، فاصله زمانی بین آخرین آبیاری و برداشت است که در مطالعه حاضر ۷ روز بود. Li و Wen (۲۰۱۶) گزارش کردند که فاصله زمانی آبیاری بیشتر از ۳ روز خطر آلودگی *E. coli* خاک‌های آبیاری شده به روش آبیاری قطره‌ای را کاهش می‌دهد(۲۱). نتایج مشابه توسط Shock و همکاران (۲۰۱۶) که دو روش آبیاری غرقابی و قطره‌ای را در انتقال *E. coli* به پیاز مقایسه

[DOI: 10.29252/sjku.24.6.93]

Downloaded from sjku.muk.ac.ir at 6:45 +0430 on Thursday September 10th 2020

کردند، گزارش شد(۲۵). بر اساس شرایط آب و هوایی (دما، شدت نور خورشید و رطوبت) و نوع محصول، بعد از آخرین آبیاری ۲-۰/۵ لگاریتم کاهش میکرو ارگانیسم‌ها در هر روز روی سطح محصول حاصل خواهد شد(۷).

هیچ‌یک از نمونه‌های خاک آبیاری شده با پساب و محصول حاوی *سالمونلا* و *شیگلا* نبودند که پیشنهاد می‌شود که هیچ خطر عفونت ناشی از این پاتوژن‌ها برای مصرف‌کنندگان ذرت آبیاری شده با فاضلاب وجود نداشته باشد. Lonigro و همکاران (۲۰۱۶) *سالمونلا* و *کریپتوسپوریدیوم* را روی سبزیجات و خاک آبیاری شده به روش قطره‌ای با فاضلاب شهری تصفیه شده نیافتند(۱۷).

یک نتیجه قابل توجه از مطالعه این است که تعداد بالای *E. coli* در پساب ثانویه منجر به آلودگی میکروبی ذرت نشد. اگرچه سطح آلودگی مدفوعی محصولات آبیاری شده با فاضلاب تحت تأثیر شرایط رشد و همچنین تماس مستقیم با فاضلاب و خاک قرار می‌گیرد(۹, ۳)، نتایج مطالعه قویاً نشان می‌دهد که شرایط آب و هوایی مناطق خشک و نیمه‌خشک مانند دمای بالا، رطوبت پایین و شدت نور خورشید می‌توانند میکرو ارگانیسم‌ها را در خاک و یا روی سطح محصول به طور مؤثری غیرفعال کنند؛ به عبارت دیگر، شرایط آب و هوایی مطالعه حاضر به عنوان یک ناحیه نیمه‌خشک، می‌تواند توضیحی برای کاهش مقادیر کلیفرم مدفوعی و *E. coli* از پساب به خاک و از خاک به گیاه، حتی تحت روش آبیاری غرقابی باشد. Lonigro و همکاران (۲۰۱۶) گزارش کردند که سیستم آبیاری قطره‌ای، شرایط آب و هوایی شامل افزایش تماس با اشعه ماورای بنفش در تابستان یا درجه حرارت پایین در زمستان و فاصله زمانی بین آخرین آبیاری و برداشت (یک هفته) می‌توانند تأثیر فاضلاب روی بار میکروبی محصولات و خاک را کاهش دهند(۱۷).

نتیجه گیری

به صورت کلی آنالیز نتایج مطالعه تائید می‌کنند که در مناطق نیمه خشک با کمبود آب، پساب ثانویه می‌تواند برای آبیاری محصولات تحت شرایط کنترل‌شده به عنوان یک منبع جایگزین مورد استفاده قرار گیرد. از آنجا که روش آبیاری غرقابی در مطالعه حاضر مورد استفاده قرار گرفت، روش آبیاری قطره‌ای به عنوان یک روش پر بازده جهت کاهش میکرو ارگانیسم‌ها در خاک می‌تواند برای آبیاری محصولات مدنظر قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

این تحقیق با کمک مالی شرکت آب و فاضلاب اصفهان (گرنت شماره ۸۴۵۹) در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان انجام گردیده است که بدین‌وسیله از رئیس و کارکنان تصفیه خانه فاضلاب جنوب اصفهان، کمال تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

Reference

1. Becerra-Castro C, Lopes AR, Vaz-Moreira I, Silva EF, Manaia CM, et al. Wastewater reuse in irrigation: A microbiological perspective on implications in soil fertility and human and environmental health. Environ. Int. 2015; 75: 117-35.
2. Jasim SY, Saththasivam J, Loganathan K, Ogunbiyi OO, Sarp S. Reuse of Treated Sewage Effluent (TSE) in Qatar. J. Water Process. Eng. 2016;11:174-82.
3. WHO. Guidelines for the Safe Use of Wastewater, Excreta and Greywater: Volume II Wastewater Use in Agriculture. WHO Press, Geneva, Switzerland; 2006.
4. Elgallal M, Fletcher L, Evans B. Assessment of potential risks associated with chemicals in wastewater used for irrigation in arid and semiarid zones: A review. Agric Water Manag. 2016;177:419-31.

[DOI: 10.29252/sjku.24.6.93]
Downloaded from sjku.muk.ac.ir at 6:45 +0430 on Thursday September 10th 2020

5. Lehane S. The Iranian water crisis. Strategic Analysis Paper. Future Directions International. 2014.
6. Scheierling SM, Bartone CR, Mara DD, Drechsel P. Towards an agenda for improving wastewater use in agriculture. Water Int. 2011;36(4):420-40.
7. Drechsel P, Scott CA, Raschid-Sally L, Redwood M, Bahri A (eds.) Wastewater irrigation and health: assessing and mitigation risks in low-income countries. Earthscan-IDRC-IWMI, UK; 2010. www.idrc.ca/en/ev-149129-201-1-DO_TOPIC.html
8. Gatta G, Libutti A, Beneduce L, Gagliardi A, Disciglio G, Lonigro A, et al. Reuse of treated municipal wastewater for globe artichoke irrigation: Assessment of effects on morpho-quantitative parameters and microbial safety of yield. Sci Hort. 2016; 213:55-65.
9. Forslund A, Ensink J, Markussen B, Battilani A, Psarras G, Gola S, et al. *Escherichia coli* contamination and health aspects of soil and tomatoes (Solanum lycopersicum L.) subsurface drip irrigated with on-site treated domestic wastewater. Water res. 2012;46(18):5917-34.
10. APAH. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, Twenty-second Ed. American Public Health Association, Washington, DC; 2013.
11. Farhadkhani M, Nikaeen M, Yadegarfar G, Hatamzadeh M, Pourmohammadbagher H, Sahbaei Z, et al. Effects of irrigation with secondary treated wastewater on physicochemical and microbial properties of soil and produce safety in a semi-arid area. Water res. 2018;144:356-64.
12. Shamsizadeh Z, Nikaeen M, Esfahani BN, Mirhoseini SH, Hatamzadeh M, Hassanzadeh A. Detection of antibiotic resistant *Acinetobacter baumannii* in various hospital environments: potential sources for transmission of Acinetobacter infections. Environ. Health Prev. Med. 2017;22(1):44.
13. Standard of wastewater effluent, Iran Environmental Protection Agency (persian).
14. De Sanctis M, Del Moro G, Chimienti S, Ritelli P, Levantesi C, Di Iaconi C. Removal of pollutants and pathogens by a simplified treatment scheme for municipal wastewater reuse in agriculture. Sci Total Environ. 2017;580:17-25.
15. Bitton G. Wastewater Microbiology. 4 ed. Canada. John Wiley & Sons Inc, New Jersey, USA; 2015.
16. Cirelli G, Consoli S, Licciardello F, Aiello R, Giuffrida F, Leonardi C. Treated municipal wastewater reuse in vegetable production. Agric Water Manag. 2012;104:163-70.
17. Lonigro A, Rubino P, Lacasella V, Montemurro N. Faecal pollution on vegetables and soil drip irrigated with treated municipal wastewaters. Agric Water Manag. 2016;174:66-73.
18. Benami M, Gross A, Herzberg M, Orlofsky E, Vonshak A, Gillor O. Assessment of pathogenic bacteria in treated graywater and irrigated soils. Sci Total Environ. 2013;458:298-302.
19. Rusan MJM, Hinnawi S, Rousan L. Long term effect of wastewater irrigation of forage crops on soil and plant quality parameters. Desalination. 2007;215(1):143-52.
20. Orlofsky E, Bernstein N, Sacks M, Vonshak A, Benami M, Kundu A, et al. Comparable levels of microbial contamination in soil and on tomato crops after drip irrigation with treated wastewater or potable water. Agric. Ecosyst. Environ. 2016; 215:140-50.
21. Li J, Wen J. Effects of water managements on transport of E. coli in soil-plant system for drip irrigation applying secondary sewage effluent. Agric Water Manag. 2016; 178:12-20.

[DOI: 10.29252/sjku.24.6.93]
Downloaded from sjku.muk.ac.ir at 6:45 +0430 on Thursday September 10th 2020

22. Qadir M, Wichelns D, Raschid-Sally L, McCornick PG, Drechsel P, Bahri A, et al. The challenges of wastewater irrigation in developing countries. Agric Water Manag. 2010; 97(4):561-8.
23.Song I, Stine SW, Choi CY, Gerba CP. Comparison of crop contamination by microorganisms during subsurface drip and furrow irrigation. J. Environ. Eng. 2006; 132(10):1243-8.
24. Ibekwe A, Gonzalez-Rubio A, Suarez D. Impact of treated wastewater for irrigation on soil microbial communities. Sci. Total Environ. 2017; 622-623: 1603-1610.
25. Shock CC, Reitz SR, Roncarati RA, Kreeft H, Shock BM, Klauzer JC. Drip vs. furrow irrigation in the delivery of *Escherichia coli* to onions. 2016; 32(2): 235-244.
26. Thiem VD, Sethabutr O, von Seidlein L, Van Tung T, Chien BT, Lee H, et al. Detection of *Shigella* by a PCR assay targeting the ipaH gene suggests increased prevalence of shigellosis in Nha Trang, Vietnam. J. Clin. Microbiol. 2004; 42(5):2031-5.
27. Malorny B, Hoorfar J, Bunge C, Helmuth R. Multicenter validation of the analytical accuracy of *Salmonella* PCR: towards an international standard. Appl. Environ. Microbiol. 2003; 69(1):290-6.