

## The study of fungi in Rajaeii dam lake water and evaluation of its health quality as drinking water source

### ABSTRACT

**Introduction:** Being free from human health risk factors is considered as the most important parameter of drinking water sources. The aim of the present study was quantitative evaluation and identification of fungi in water of Shahid Rajaeii dam lake, and assessment of its health quality as drinking water source of Sari (Mazandaran province).

**Materials and methods:** In the present study, samples were taken from five stations in six stages from June to February 2012. Every sample was diluted by sterile saline (100 and 10<sup>-1</sup>) and was cultured on SD and incubated at 27-30°C for 3-5 days. Finally, the number of colonies was recorded as Colony Forming Unit (CFU) per 100 mL. Also, temperature, BOD<sub>5</sub> and COD were measured.

**Results:** The results showed that the numbers of isolated fungal colonies were significantly highest and lowest in August and February respectively. Moreover, the number of fungal colonies in the dam crown station was significantly higher than other stations. The correlation coefficient between the number of isolated colonies and the temperature, BOD<sub>5</sub> and COD were 0.87, 0.60 and 0.66 respectively. The frequency of identified fungi were *Aspergillus* species (31.4%), various types of yeast (mainly *Candida*) (24.2%), *Penicillium* sp. (19.3%), *Cladosporium* sp. (10.3%), *Mucor* sp. (5.4%), *Fusarium* sp. (2.9%), sterile hyphae (2.8%), *Alternaria* sp. (2.3%) and *Paecilomyces* sp. (1.4%).

**Summary:** The results showed the highest correlation coefficient between the counts of fungi and the changes in temperature, BOD<sub>5</sub> and COD correspondingly. These factors play an important role in the fungal colonies counts. Moreover, the most fungal isolates were pathogenic, toxigenic and hazard to public health.

**Document Type:** Research article

**Keywords:** Fungi, Health quality, Drinking water, *Aspergillus*, BOD<sub>5</sub>.

### Maryam Ghiasi

\* Assistant Professor and Academic Member, Caspian Sea Ecology Research Center (CSERC), Iranian Fisheries Science Research Institute (IFSRI), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Sari, Mazandaran, Iran

Corresponding Author:

ghiasimaryam4@gmail.com

### Hassan Narollahzadeh Saravi

Associate Professor, Academic Member, Caspian Sea Ecology Research Center (CSERC), Iranian Fisheries Science Research Institute (IFSRI), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Sari, Mazandaran, Iran

### Mohammad Binaii3,

M. Sc., Graduate of Biophysics, Caspian Sea Ecology Research Center (CSERC), Iranian Fisheries Science Research Institute (IFSRI), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Sari, Mazandaran, Iran

### Mahmod Ghaneii Tehrani

Researcher in Fishery, Academic Member, Caspian Sea Ecology Research Center (CSERC), Iranian Fisheries Science Research Institute (IFSRI), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Sari, Mazandaran, Iran

Received: 17 July 2017

Accepted: 30 August 2017

► **Citation:** Ghiasi M, Narollahzadeh Saravi H, Binaii M, Ghaneii Tehrani M. The study of fungi in Rajaeii dam lake water and evaluation of its health quality as drinking water source. *Iranian Journal of Research in Environmental Health*. Summer 2017;3 (2) : 158-167.

## مطالعه عوامل قارچی موجود در آب سد شهید رجایی از دیدگاه بهداشتی با هدف تأمین آب شرب

### چکیده

**زمینه و هدف:** مهم‌ترین مسئله در انتخاب منابع تأمین آب شرب، عاری بودن آنها از عوامل مخاطره‌آمیز بهداشتی انسانی خصوصاً عوامل عفونی است. مطالعه حاضر با هدف ارزیابی کمی و شناسایی عوامل قارچی موجود در آب دریاچه سد شهید رجایی از دیدگاه بهداشتی در جهت استفاده از آن برای تأمین آب شرب شهر ساری انجام شد.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه نمونه‌برداری از پنج ایستگاه، طی شش مرحله در سال ۱۳۹۲ انجام گرفت. از هر نمونه دو رقت ۱-۱۰ و ۱۰۰ تهیه و میزان ۵۰۰ mL از آن در محیط سابوردکستروز آگار کشت داده شد و در دمای ۲۷-۳۰°C برای ۳-۵ روز گرمخانه‌گذاری گردید. پرگنه‌ها پس از شمارش، خالص‌سازی و شناسایی شدند. در این بررسی پارامترهای دما، pH، BOD<sub>5</sub> و COD نیز اندازه‌گیری شدند. **یافته‌ها:** تعداد پرگنه‌های قارچی جداسازی شده در تیر و مرداد افزایش معنی‌دار و در بهمن کاهش معنی‌داری داشت (p>۰/۰۵). در بین ایستگاه‌ها، تاج سد در تمام ماه‌ها بالاترین میزان شمارش عوامل قارچی را داشت. ضریب همبستگی بین تعداد پرگنه‌های قارچی جداسازی شده و فاکتورهای دما، BOD<sub>5</sub> و COD به ترتیب ۰/۸۷، ۰/۶۰ و ۰/۶۶ بود. عوامل قارچی شناسایی شده به ترتیب درصد فراوانی آسپرژیلوس (۳۱/۴ درصد)، انواع مخمر (۲۴/۲ درصد)، پنسیلیوم (۱۹/۳ درصد)، کلادوسپوریوم (۱۰/۳ درصد)، موکور (۵/۴ درصد)، فوزاریوم (۲/۹ درصد)، آلترناریا (۲/۳ درصد)، هایف استریل (۲/۸ درصد) و پسیلوماپیس (۱/۴ درصد) بودند.

**نتیجه‌گیری:** بالاترین ضریب همبستگی بین میزان جداسازی عوامل قارچی با فاکتورهای فیزیکوشیمیایی به ترتیب با دما، COD و BOD<sub>5</sub> بود و این فاکتورها نقش مستقیمی در تغییرات کمی پرگنه‌های قارچی جداسازی شده از آب داشتند. همچنین عوامل قارچی جداسازی شده شامل قارچ‌های بیماری‌زای فرصت‌طلب برای انسان و نیز مولد سم بودند که دارای مخاطرات بهداشتی هستند.

**نوع مقاله:** مقاله پژوهشی

**کلید واژه‌ها:** آب شرب، آسپرژیلوس، عوامل قارچی، کیفیت بهداشتی، BOD<sub>5</sub>

### مریم قیاسی

\* دکترای قارچ‌شناسی، استادیار بخش بهداشت و بیماری‌های آبزیان، پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ساری، ایران.  
نویسنده مسئول: ghiasimaryam4@gmail.com

### حسن نصراله‌زاده ساروی

دکترای علوم زیستی، دانشیار بخش اکولوژی، پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ساری، ایران.

### محمد بینایی

فوق لیسانس بیوفیریک، کارشناس ارشد آزمایشگاه، پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ساری، ایران.

### محمود قانعی تهرانی

فوق لیسانس شیلات، مربی بخش تکثیر و پرورش، پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ساری، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۴/۲۶

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۶/۰۸

◀ **استناد:** قیاسی م، نصراله‌زاده ساروی ح، بینایی م، قانعی تهرانی م. مطالعه عوامل قارچی موجود در آب سد شهید رجایی از دیدگاه بهداشتی با هدف تأمین آب شرب. *فصلنامه پژوهش در بهداشت محیط*. تابستان ۱۳۹۶؛ ۳(۲): ۱۵۸-۱۶۷.

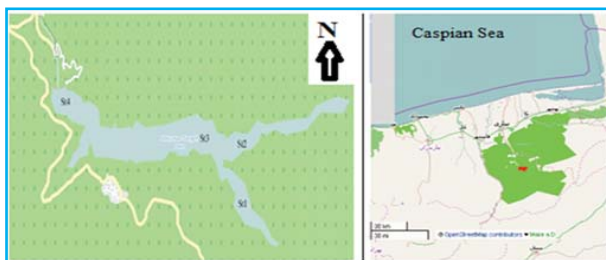
## مقدمه

دریاچه‌ها و مخازن پشت سد، از جمله منابع مهم آبی جهت آبیاری، تأمین آب آشامیدنی و نیز پرورش ماهی می‌باشند (۱). کاهش نزولات جوی، پایین رفتن سطح آب‌های زیرزمینی و بالارفتن برخی پارامترهای شیمیایی نظیر نیترات در آنها و نیز بالا بودن هزینه پمپاژ و بهره‌برداری از آنها باعث شده تا آب پشت سدها به عنوان منبع تأمین آب شرب شهری و روستایی در مقایسه با منابع زیرزمینی در الویت قرار گیرند (۲). از مهم‌ترین جنبه‌های مورد توجه در تهیه آب شرب، میزان آلودگی آن به عوامل بیماری‌زا و مخاطره‌آمیز برای بهداشت انسانی است. در این رابطه باکتری‌ها، ویروس‌ها و انگل‌ها به عنوان آلوده‌کننده‌های آب آشامیدنی بهتر شناخته شده‌اند، زیرا حضور آنها در آب آشامیدنی موجب بروز بیماری‌های همه‌گیر در انسان می‌شود. بیشترین تحقیقات در این خصوص در مورد باکتری‌ها انجام شده است و استانداردهای میکروبی وضع گردیده که کیفیت بهداشتی آب بر اساس آن سنجیده می‌شود (۳). برخلاف باکتری‌ها که حضور آنها در آب منجر به بروز علائم بالینی حاد می‌شود (به‌طور مثال بروز اسهال ناشی از عفونت‌های باکتری‌های کلیفرمی و یا وبا)، قارچ‌ها قابلیت ایجاد علائم بالینی حاد نداشته، ولی در درازمدت موجب بروز بیماری در انسان می‌شوند و به همین دلیل در امر مدیریت بهداشتی آب کمتر به آنها توجه شده است. در ارزیابی قارچی آب تصفیه و غیر تصفیه شده برای شرب نشان داده شده که جنس‌های پنیسیلیوم، کلاودوسپوریوم، آسپرژیلوس، فیالوفورا و آکرومونیوم، بیشترین نمونه‌های قارچی جداسازی شده هستند (۴). اسپور جنس‌های پنیسیلیوم، آسپرژیلوس و کلاودوسپوریوم که قادر به تولید رنگدانه ملانین هستند، قابلیت مقاومت در برابر فرآیند تصفیه را داشته و به راحتی از آب شرب حذف نمی‌شوند. از سوی دیگر تولید ملانین باعث افزایش مقاومت این قارچ‌ها در برابر سیستم ایمنی میزبان شده و در افراد مبتلا به ضعف ایمنی (افراد مبتلا به ایدز، بیماران تحت شیمی درمانی و افراد دریافت کننده عضو) باعث بروز بیماری‌های حاد می‌شوند (۵).

همچنین گونه‌های مختلف پنیسیلیوم، آسپرژیلوس، فوزاریوم و کلاویسپس تولید کننده سموم قارچی هستند که از عوامل بروز سرطان در انسان شناخته شده‌اند (۶، ۷). آسپرژیلوس و پنیسیلیوم از مهم‌ترین عوامل قارچی مولد توکسین در غذا و نوشابه‌ها شناخته شده‌اند (۸) و در بین هزاران متابولیت سمی قارچی، آفلاتوکسین و زیرالنون مهم‌ترین توکسین‌های قارچی شناخته شده در منابع آب آشامیدنی بوده‌اند (۶، ۷). Paterson و همکاران (۱۹۹۷) میزان تأمل برانگیزی از آفلاتوکسین ناشی از حضور آسپرژیلوس فلاووس را در یک تانک منبع آب شرب شناسایی کردند (۹). گونه‌های آسپرژیلوس فومیگاتوس، آسپرژیلوس نایجر، آسپرژیلوس فلاووس، گونه‌های پنیسیلیوم و کلاودوسپوریوم، از مهم‌ترین عوامل ایجاد آلرژی در انسان هستند که اسپورهای مرده و یا بخش‌هایی از میسلیوم آنها از طریق آب دوش حمام و یا استخرهای مصنوعی و طبیعی محل شنا می‌تواند باعث بروز آلرژی در افراد مستعد گردد (۱۰). علاوه بر این، حضور قارچ‌ها نه تنها موجب تغییر بو و مزه آب می‌گردد، بلکه با تولید ترکیبات مختلف باعث اکسید شدن لوله‌های شبکه توزیع آب و کاهش کیفیت آب شرب می‌شود (۱۱).

مطالعات فلور قارچی منابع آب‌های سطحی (سد، رودخانه و چشمه) و زیرزمینی (چاه، قنات) آب شرب نشان می‌دهد که آلودگی منابع سطحی به عوامل قارچی در مقایسه با منابع زیرزمینی بیشتر است (۱۴-۱۲). وجود ترکیبات آلی بیشتر که منبع غذایی و نیز سوبسترای مناسب رشد را برای قارچ فراهم می‌کنند و نیز اسیدیته و کلسیم کمتر در آب‌های سطحی، دلیل این تفاوت ذکر شده است (۱۳، ۱۴). از سوی دیگر فاکتورهایی مانند دما و pH آب نیز تأثیر مهمی بر تعداد، میزان بقاء، دامنه رشد و قابلیت تولید مثل قارچ‌ها دارند. هرچند دمای مناسب رشد عوامل قارچی در دامنه حرارتی بین  $30^{\circ}\text{C}$ - $25^{\circ}\text{C}$  قرار دارد، ولی در فصول سرد و با افت دما نیز قادر به ادامه زندگی بوده و این قابلیت تا  $20^{\circ}\text{C}$ - نیز مشاهده شده است (۱۵). در مطالعات انجام شده، بهترین pH برای رشد اکثر عوامل قارچی  $5/5$ - $7/5$

و خروجی سد به صورت ماهیانه انجام شد و در مجموع ۳۰ نمونه تهیه گردید. مشخصات هر ایستگاه در شکل ۱ و جدول ۱ آمده است.



شکل ۱. شمای جغرافیایی ایستگاه‌های نمونه‌برداری در دریاچه پشت سد شهید رجایی

جدول ۱. موقعیت مکانی ایستگاه‌های نمونه‌برداری

شماره ایستگاه	نام ایستگاه	طول جغرافیایی	عرض جغرافیایی
۱	ورودی شیرین‌رود به مخزن	۳۱.۱۳.۳۶	۵۳.۱۷.۱۲
۲	ورودی سفیدرود به مخزن	۵۲.۱۴.۳۶	۵۳.۱۸.۱۷
۳	تلاقی سفیدرود و شیرین‌رود در مخزن	۲۸.۱۴.۳۶	۵۳.۱۶.۱۱
۴	نزدیک به تاج سد	۳۹.۱۴.۳۶	۵۳.۱۴.۱۴
۵	خروجی سد	۱۱.۱۵.۳۶	۴۱.۱۳.۵۳

نمونه‌برداری با استفاده از ظروف استریل انجام گردید. پس از آن هر ظرف بر اساس محل نمونه‌برداری کد و تاریخ‌گذاری شد و نمونه‌ها در کنار یخ به آزمایشگاه قارچ‌شناسی پژوهشکده انتقال داده شدند. در آزمایشگاه، از هر نمونه آب با استفاده از سرم فیزیولوژی استریل رقت ۱-۱۰ تهیه و سپس از رقت ۱-۱۰ و ۱۰۰ به میزان ۵۰۰ mL در محیط سابرو دکستروز آگار (SD) حاوی آنتی‌بیوتیک (۴۰ mg جنتامایسین و ۱۰۰ mg کلرامفنیکل در هر L برای جلوگیری از رشد باکتری) در سه تکرار کشت داده شد و نمونه‌ها در دمای ۲۷-۳۰°C به مدت ۳-۵ روز گرمخانه‌گذاری شدند. در طول این مدت پلیت‌ها هر روز از نظر رشد عوامل قارچی مورد بازرسی قرار گرفتند و تعداد کلنی‌های رشد یافته ثبت و در پایان بر اساس واحد شکل‌گیری کلنی (CFU) در هر ۱۰۰ mL گزارش شدند. پس از شمارش، جهت شناسایی عوامل قارچی از پرگنه‌های خالص مجدداً در

ذکر شده است. بر این اساس معمولاً عوامل قارچی pH اسیدی را برای رشد به pH بازی ترجیح می‌دهند، ولی در pH بازی نیز قابلیت رشد و بقا ندارند (۱۶، ۱۷). به‌علاوه کاهش جریان و سکون آب در مخازن پشت سدها موجب رسوب یافتن حجم زیادی از مواد آلی و معدنی شده و شانس بقا و تکثیر جمعیت قارچی آب را افزایش می‌دهد (۱۸).

در حال حاضر استاندارد مشخصی برای میزان عوامل قارچی موجود در آب آشامیدنی مشابه آنچه که در خصوص عوامل باکتریایی موجود است، در دنیا وجود ندارد. برای مثال در بریتانیا، پایش و کنترل عوامل قارچی در آب آشامیدنی بر اساس نظام‌نامه کیفی آب Regulation 2000 (Water Quality) Water Supply 2000 (WSR 2000) ضروری نیست. ولی در کشور سوئد استاندارد در خصوص تعداد عوامل قارچی در آب آشامیدنی بر اساس نظام‌نامه اداره ملی غذا (National Food Administration Regulation, NFAR) وجود دارد. بر اساس استاندارد این نظام‌نامه تعداد پرگنه‌های قارچی از (Colony Forming Unit) CFU100 در هر ۱۰۰ mL آب نباید بیشتر باشد. این استاندارد برای آب شرب بوده و عوامل قارچی موجود در آب و آلودگی‌های ثانویه قارچی ناشی از سیستم توزیع را نیز شامل می‌شود (۱۹). متأسفانه اطلاعات بسیار اندکی در خصوص ارزیابی عوامل قارچی موجود در آب شرب و نیز منابع آبی تأمین‌کننده آن در کشور وجود دارد، لذا مطالعه حاضر با هدف ارزیابی کمی و شناسایی عوامل قارچی و نیز تأثیرات عوامل محیطی بر آنها و نیز بازتاب این تأثیرات بر کیفیت آب انجام شد تا به رهیافت‌های مناسبی در جهت کاهش تأثیرات تهدیدکننده این عوامل بر بهداشت انسانی دست یافت.

## روش کار

در این مطالعه، نمونه‌برداری طی ۶ ماه (خرداد، تیر، مرداد، شهریور، آبان و بهمن سال ۱۳۹۲) از ۵ ایستگاه شامل ورودی سرشاخه شیرین‌رود، ورودی سرشاخه سفیدرود، تلاقی دو سرشاخه، تاج سد

همبستگی پیرسون (Pearson Correlation Coefficient) استفاده شد (۲۳).

### یافته‌ها

نتایج مربوط به اندازه‌گیری ماهیانه دما،  $BOD_5$ ، pH و COD در جدول ۲ آمده است. حداکثر میانگین درجه حرارت در ایستگاه تاج سد و حداقل آن در ایستگاه سفیدرود و شیرین‌رود ثبت شد. بر اساس نتایج آنالیزهای ماهیانه، حداکثر میانگین درجه حرارت آب در مرداد و کمترین میانگین درجه حرارت آب در بهمن بود. حداکثر میانگین pH در ایستگاه تلاقی و حداقل آن در ایستگاه سفیدرود ثبت شد. در آنالیز ماهیانه pH، حداکثر میانگین آن در آبان و حداقل میانگین در شهریور ماه بود. حداکثر میانگین  $BOD_5$  در ایستگاه تاج سد و حداقل آن در ایستگاه سفیدرود مشاهده شد. در آنالیزهای ماهیانه  $BOD_5$ ، حداکثر و حداقل میانگین‌ها به ترتیب در تیر و بهمن ماه ثبت شد. در خصوص COD، حداکثر و حداقل میانگین به ترتیب در ایستگاه تاج و ایستگاه شیرین‌رود بود و بر اساس آنالیز ماهیانه، حداکثر و حداقل میانگین COD به ترتیب در مرداد و بهمن ماه بود.

نتایج حاصل از مقایسه میانگین شمارش پرگنه‌های قارچی (کپک و مخمر) هر ایستگاه طی ماه‌های مختلف در جدول ۳ و نتایج حاصل از مقایسه میانگین شمارش پرگنه‌های قارچی ایستگاه‌های مختلف طی یک ماه در شکل ۲ آمده است. بر اساس نتایج به‌دست آمده، تقریباً در همه ایستگاه‌ها در تیر و مرداد افزایش معنی‌دار میزان پرگنه‌های قارچی مشاهده شد ( $p > 0/02$ )؛ این در حالی بود که میزان پرگنه‌های جداسازی شده طی بهمن ماه در تمام ایستگاه‌ها به‌طور معنی‌داری کاهش داشت ( $p > 0/04$ ). در بین ایستگاه‌های مختلف، تاج سد در تمام ماه‌ها به‌طور معنی‌داری بیشترین میزان جداسازی و شمارش عوامل قارچی را داشت ( $p > 0/05$ ) و کمترین میزان جداسازی به‌طور معنی‌دار مربوط به خروجی سد بود ( $p > 0/05$ ). همچنین بر اساس نتایج آزمون همبستگی پیرسون (Pearson Correlation Coefficient)،

محیط SD کشت تهیه و پس از گرمخانه‌گذاری به مدت ۵ روز با لاکتوفن کاتن بلو رنگ‌آمیزی گردید و پس از حصول اطمینان از خلوص پرگنه از آن کشت روی لام (اسلاید کالچر) تهیه گردید (۲۰). شناسایی قارچ‌ها در حد جنس و گونه به کمک روش‌های استاندارد قارچ‌شناسی با استفاده از ساختمان ظاهری و ریزی‌شناسی کلنی‌های رشد یافته انجام شد (۲۱).

برای اندازه‌گیری دمای آب از دماسنج جیوه آلمانی استفاده شد. تعیین pH آب نیز به وسیله دستگاه pH متر (مدل ۳۲۰ WTW آلمانی) صورت گرفت. نمونه آب مورد نیاز جهت تعیین اندازه‌گیری میزان اکسیژن خواهی بیولوژیکی ( $BOD_5$  Biological Oxygen Demand) و اکسیژن خواهی شیمیایی ( $COD$  Chemical Oxygen Demand) با استفاده از بطری نسکین برداشت و در کنار یخ به آزمایشگاه انتقال داده شد. برای اندازه‌گیری  $BOD_5$  در آزمایشگاه شیشه‌های وینکلر حاوی نمونه به مدت ۵ شبانه‌روز در انکوباتور  $25^\circ C$  قرار داده شدند و سپس طبق روش کار OD میزان اکسیژن باقی‌مانده پس از ۵ روز تعیین گردید (۲۲).

$$OD \text{ در روز اول} - OD \text{ پس از ۵ روز} = BOD_5$$

برای اندازه‌گیری COD، ۲ mL از نمونه فوق در ویال‌های حاوی مواد COD ریخته شد و پس از ۲ h در پلیت داغ قرار گرفت. سپس با استفاده از دستگاه اسپکتروسکوپ در طول موج ۵۷۰ nm، غلظت COD بر حسب mg/L خوانده شد (۲۲). ثبت اطلاعات در نرم‌افزار Excel و تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری Spss (نسخه ۱۶) انجام گرفت. جهت مقایسه میانگین شمارش کلی پرگنه‌های قارچی از تست آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و جهت تعیین تفاوت بین داده‌ها از تست دانکن (Duncan) استفاده شد. در ضمن تمام میانگین‌ها به همراه خطای استاندارد ثبت گردید. تعیین ارزش  $p$  با ضریب اطمینان ۹۵ درصد و در سطح معنی‌دار ۰/۰۵ مورد ارزیابی قرار گرفت. همچنین برای تعیین همبستگی بین پارامترهای دما،  $BOD_5$  و COD و میزان جداسازی پرگنه‌های قارچی از آزمون

ضریب همبستگی بین تعداد پرگنه‌های قارچی جداسازی شده و فاکتورهای دما، BOD<sub>5</sub> و COD به ترتیب ۰/۸۷، ۰/۶۰ و ۰/۶۶ بود؛ به عبارت دیگر بیشترین تأثیر فاکتورهای محیطی بر روی میزان جداسازی پرگنه‌های قارچی ابتدا مربوط به دما و در مرتبه بعد مربوط به COD و BOD<sub>5</sub> بود (شکل ۵-۳). عوامل قارچی شناسایی شده به ترتیب درصد فراوانی شامل انواع گونه‌های آسپرژیلوس، مخمر (عمدتاً کاندیدا)، پنسیلیوم، کلاادوسپوریم، موکور، فوزاریوم، آلترناریا، هایف استریل و پسیلومایسس بودند (جدول ۳).

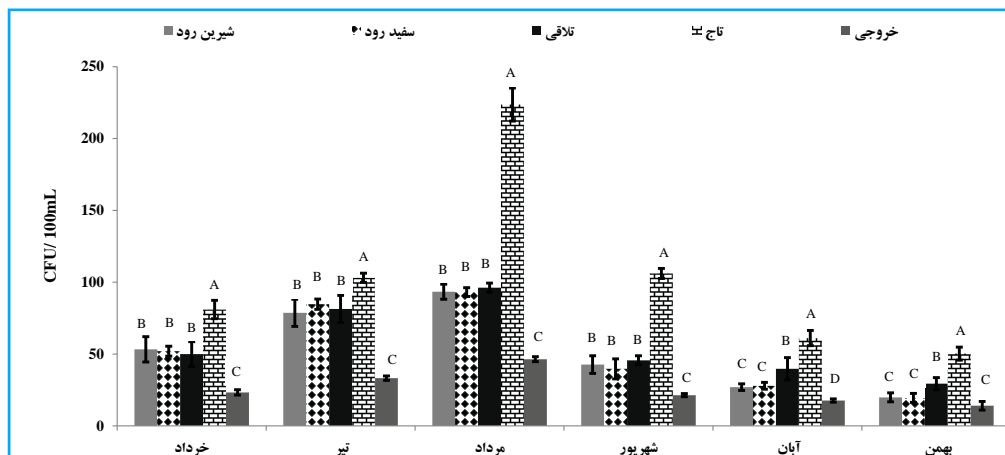
جدول ۲. مقایسه میانگین دما، BOD<sub>5</sub>، pH و COD آب طی ۶ مرحله نمونه‌برداری از ایستگاه‌های مختلف

ایستگاه	پارامترهای محیطی				
	شیرین رود	سفید رود	تلاقی	تاج	خروجی
درجه حرارت آب (°C)	Mean±SE	۲/۸۵ ± ۲۱/۱۸	۲/۹۳ ± ۲۱/۱۸	۲/۸۲ ± ۲۱/۴۳	۲/۵۸ ± ۲۱/۶۲
	Min - Max	۲۷/۰۰ - ۸/۲۰	۲۷/۰۰ - ۸/۵۰	۲۷/۰۰ - ۸/۵۰	۲۷/۰۰ - ۱۰/۰۰
(mg/L) BOD <sub>5</sub>	Mean±SE	۰/۹۴ ± ۲/۶۷	۰/۷۹ ± ۲/۱۹	۰/۷۷ ± ۲/۷۵	۱/۰۴ ± ۲/۹۱
	Min - Max	۷/۰۴ - ۰/۶۴	۴/۴۸ - ۰/۹۶	۴/۶۴ - ۰/۱۶	۵/۷۶ - ۰/۴۸
(mg/L) COD	Mean±SE	۱/۳۴ ± ۵/۳۰	۱/۰۳ ± ۵/۴۸	۱/۴۲ ± ۵/۶۸	۲/۱۸ ± ۷/۰۲
	Min - Max	۱۰/۵۰ - ۱/۷۰	۸/۶۰ - ۲/۵۰	۱۰/۳۰ - ۱/۷۰	۱۳/۶۰ - ۱/۶۰
pH	Mean±SE	۰/۱۱ ± ۸/۵۲	۰/۱۲ ± ۸/۵۱	۰/۰۹ ± ۸/۵۹	۰/۰۹ ± ۸/۵۵
	Min - Max	۸/۸۶ - ۸/۲۴	۸/۸۷ - ۸/۲۳	۸/۹۱ - ۸/۳۶	۸/۸۶ - ۸/۲۳

جدول ۳. مقایسه میانگین پرگنه‌های قارچی جدا شده (۱۰۰/CFU mL) از هر ایستگاه طی ماه‌های مختلف

ایستگاه	ماه	خرداد	تیر	مرداد	شهریور	آبان	بهمن
ایستگاه ۱		۵۳/۳۳ ± ۸/۸۲ b	۷۸/۷۰ ± ۹/۴۶ a	۹۳/۴۳ ± ۵/۸۲۳	۴۲/۶۶ ± ۶/۱۷ bc	۲۷/۰۰ ± ۲/cd۳۱	۱۹/۸۷ ± ۳/d۱۱
ایستگاه ۲		۵۲/۰۰ ± ۳/۴۱ b	۸۴/۷۳ ± ۳/۵۶ a	۹۳/۱۷ ± ۳/۸۰۶	۳۹/۷۰ ± ۶/۹۹ bc	۲۷/۹۰ ± ۲/c۴۰	۱۹/۴۷ ± ۳/۱۴ c
ایستگاه ۳		۵۰/۰۰ ± ۸/۶۶ b	۸۱/۳۷ ± ۹/۴۰ b	۹۶/۲۳ ± ۵/۸۱۹	۴۵/۶۷ ± ۳/۱۵ c	۳۹/۷۰ ± ۷/cd۸۰	۲۹/۴۰ ± ۴/۲۱ d
ایستگاه ۴		۸۱/۰۰ ± ۶/۳۵ c	۱۰۳/۰۷ ± ۳/۲۱ b	۲۲۳/۷۳ ± ۱۱/۸۵۱	۱۰۶/۱۰ ± ۳/۵۷ c	۶۱/۱۰ ± ۵/d۲۸	۵۰/۳۰ ± ۳/۵۳ d
ایستگاه ۵		۲۳/۳۰ ± ۱/۸۹ c	۳۳/۲۰ ± ۱/۵ b	۴۶/۴۳ ± ۱/a۷۲	۲۱/۴۰ ± ۱/cd۰۴	۱۷/۶۶ ± ۱/۱۲ df	۱۴/۰۰ ± ۳/۰۰ f

حروف مشابه در هر ردیف نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار است. مقادیر مشاهده شده در جدول بیانگر میانگین ± خطای انحراف معیار است.



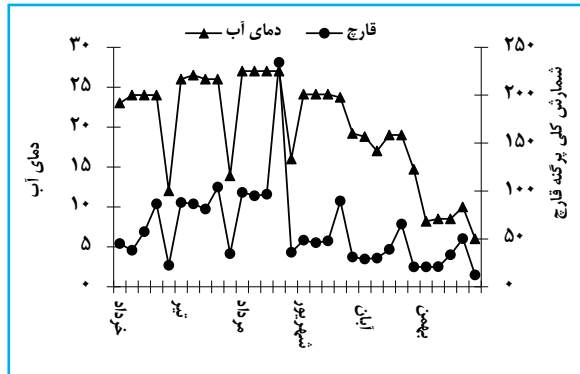
شکل ۲. مقایسه تغییرات میانگین پرگنه‌های قارچی در آب ایستگاه‌های مختلف طی هر ماه (حروف مشابه در هر ردیف بر روی هر ستون نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار است)

### بحث

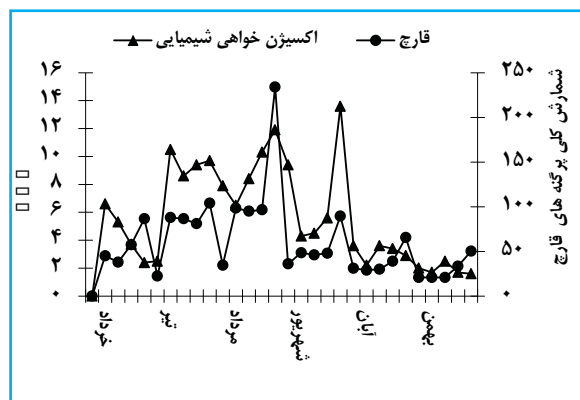
قارچ‌ها با داشتن سیستم قوی آنزیمی و استفاده از ترکیبات آلی به عنوان منبع نیتروژن و کربن، موجب تغییر در ترکیبات میکروبی و شیمیایی محیط اطراف خود شده و بررسی تغییرات کمی و کیفی آنها می‌تواند ابزار مناسبی در ارزیابی اکوسیستم‌های مختلف باشد (۲۱). بازیابی قارچ‌ها در مخازن طبیعی آب مانند دریاچه‌های طبیعی و مصنوعی، رودخانه‌ها، آب‌های زیرزمینی و آب آشامیدنی در تحقیقات متعدد به اثبات رسیده است (۴، ۱۲، ۱۳، ۲۶-۲۴). آنها می‌توانند به‌طور مستقیم، با تولید توکسین و ترکیبات مختلف به سلامتی انسان و نیز شبکه‌های توزیع آب آسیب وارد نمایند (۲۷).

در مطالعه حاضر، افزایش معنی‌دار پرگنه‌های قارچی در ماه‌های تیر و مرداد (با میانگین دمای  $25^{\circ}\text{C}$ - $24^{\circ}\text{C}$ ) نسبت به سایر ماه‌های نمونه‌برداری مشاهده شد. از سوی دیگر ضریب همبستگی پیرسون بین دما و تعداد پرگنه‌های قارچی جدا شده  $r=0/87$  بود که نشان می‌دهد دما نقش بسیار تعیین‌کننده‌ای بر وضعیت رشد و تکثیر عوامل قارچی دارد. بررسی‌ها نشان داده است که عوامل قارچی ساپروفیت بهترین رشد را در حرارت  $25^{\circ}\text{C}$ - $30^{\circ}\text{C}$  دارند. مشابه نتایج مطالعه حاضر، در مطالعه Fayyaz و همکاران (۲۰۱۵) و Bandh و همکاران (۲۰۱۲) که به ترتیب بر روی ارزیابی فلور قارچی رودخانه Jhelum و دریاچه Dal منطقه کشمیر انجام شد، بیشترین میزان پرگنه شمارش شده مربوط به اواسط خرداد تا اوایل مرداد (دمای آب  $27^{\circ}\text{C}$ - $22^{\circ}\text{C}$ ) و میزان تراکم عوامل قارچی به ترتیب در تابستان، بهار، پاییز و زمستان بیشتر بود (۱۸، ۲۸).

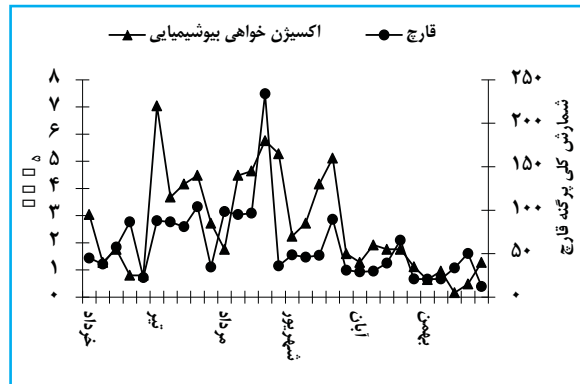
بر اساس نتایج مطالعه حاضر بیشترین میزان عوامل قارچی شمارش شده صرف‌نظر از ماه نمونه‌برداری، در تاج سد وجود داشت. سدها با کاهش سرعت رودخانه موجب تجمع مواد آلی و معدنی در پشت دیواره خود می‌شوند و این تجمع شرایط ایجاد بیوفیلم و جاسازی عوامل قارچی بر روی آنها را فراهم می‌نماید (۲۹، ۳۰). در مطالعه حاضر ضریب همبستگی پیرسون بین



شکل ۳. مقایسه همبستگی تغییرات دما و شمارش کلی پرگنه‌های قارچی



شکل ۴. مقایسه همبستگی تغییرات COD و شمارش کلی پرگنه‌های قارچی



شکل ۵. مقایسه همبستگی تغییرات  $BOD_5$  و شمارش کلی پرگنه‌های قارچی

جدول ۴. مقایسه درصد فراوانی عوامل قارچی شناسایی شده در نمونه‌های آب سد شهید رجایی

نوع قارچ	درصد فراوانی
آسپرژیلوس	۳۱/۴
مخمر	۲۴/۲
پنی سیلیوم	۱۹/۳
کلادوسپوریوم	۱۰/۳
موکور	۵/۴
فوزاریوم	۲/۹
آترناریا	۲/۳
هایف استریل	۲/۸
پسیلومایسس	۱/۴

بالا، قابلیت سازگاری با شرایط محیطی (خصوصاً دما) و نیز وجود مکانیسم‌های مقاومتی (تولید رنگدانه) موجب گستردگی پراکنش این دو جنس در محیط‌های آبی شده است (۳۵). از سوی دیگر این دو جنس قارچ‌های خاکزی بوده و در مناطق جنگلی به وفور یافت می‌شوند (۳۶). با توجه به پوشش گیاهی فراوانی که در منطقه اطراف دریاچه سد شهید رجایی وجود دارد، ممکن است بتوان قابل توجه بودن جداسازی این دو جنس را توجیه نمود. بر اساس نتایج مخمرها بعد از آسپرژیلوس بالاترین درصد جداسازی عوامل قارچی را به خود اختصاص داده‌اند. باید توجه داشت که مخمرها خصوصاً کاندیداها جزء فلور طبیعی پوست، دستگاه گوارش و ادراری انسان، حیوانات و حتی ماهی‌ها بوده و می‌توانند از طریق دفع ادرار و مدفوع توسط دام، ماهیان و یا افرادی که در حاشیه دریاچه برای تفریح می‌آیند، وارد آب شوند. شاید به همین دلیل باشد که بین میزان عوامل مخمری و میزان کلیفرم (باکتری با منشأ روده) نمونه‌های آب در برخی مطالعات ارتباط مستقیم مشاهده شده است (۳۸-۳۶). بر اساس نتایج مطالعه حاضر، عوامل قارچی جداسازی شده از عوامل اصلی بیماری‌های قارچی فرصت‌طلب در افراد با سیستم ایمنی ضعیف (افراد مبتلا به HIV، افراد تحت شیمی درمانی و افرادی که پیوند عضو شده‌اند) و بیماران بستری در بیمارستان‌ها هستند (۲۰)، لذا اهمیت مطالعات قارچ‌شناسی انجام شده در خصوص منابع آبی مانند دریاچه پشت سد شهید رجایی دیدگاه مناسبی را فراهم می‌نماید تا الزامات بهداشتی در خصوص روند تصفیه آب با در نظر گرفتن اینکه این آب در بیمارستان‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد را مورد توجه قرار دهد. همچنین در مطالعه حاضر مانند دیگر مطالعات، میزان قارچ‌های موجود در آب به صورت میانگین CFU در ۱۰۰ mL آب گزارش شد. باید توجه داشت که یک کلنی شکل گرفته در محیط کشت نمی‌تواند الزاماً از یک اسپور قارچ شکل گرفته باشد. این کلنی‌ها می‌توانند ناشی از تجمع میسلیم‌های قارچ یا تجمعی از چندین سلول قارچی رویش یافته باشند (۳۴).

BOD<sub>5</sub> و COD و تعداد پرگنه‌های قارچی جدا شده به ترتیب  $R=0.66$  و  $R=0.60$  بود. با توجه به این که میزان عددی این دو فاکتور در تاج سد نسبت به سایر مناطق در مرداد ماه بیشتر بود، می‌تواند دلیلی بر افزایش معنی‌دار میزان جداسازی پرگنه‌های قارچی در این ایستگاه باشد. بررسی‌های مختلف نشان داده‌اند که افزایش این دو فاکتور خصوصاً COD ناشی از افزایش بار آلی آب است (۳۱). با توجه به آنچه گفته شد به نظر می‌رسد افزایش دما، کاهش جریان آب و تجمع بالای مواد آلی در تاج سد بتواند افزایش معنی‌دار میزان پرگنه‌های قارچی جداسازی شده در این بخش را توجیه نماید.

نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان داد که میزان پرگنه قارچی در خروجی در مقایسه با تاج کاهش معنی‌داری در تمامی ماه‌های نمونه‌برداری داشت، ولی میزان پرگنه‌های قارچی در این ایستگاه در دو ماه تیر و مرداد بیشتر از سایر ماه‌های سال بود. با اینکه نتایج درجه حرارت و میزان BOD<sub>5</sub> و COD در این ایستگاه نسبت به تاج سد کمتر بود، ولی این افزایش می‌تواند تابعی از افزایش پرگنه‌های قارچی در تاج سد باشد. همچنین با توجه به آنچه گفته شد می‌توان نتیجه گرفت که کاهش معنی‌دار میانگین پرگنه‌های قارچی جداسازی شده در ماه‌های آبان و بهمن در مقایسه با ماه‌های تیر، مرداد و شهریور در هر ایستگاه علاوه بر ارتباط مستقیم با کاهش دما، می‌تواند با میزان BOD<sub>5</sub> و COD به دست آمده نیز ارتباط مستقیم داشته باشد.

نتایج این مطالعه نشان داد که بیشترین میزان پرگنه‌های قارچی از نوع قارچ‌های هایف‌دار جنس‌های آسپرژیلوس و پنسیلیوم بود. در بسیاری از مطالعات، فلور قارچی منابع آبی اعم از رودخانه، دریاچه و حتی آب شرب دو جنس آسپرژیلوس و پنسیلیوم بیشترین فراوانی را در جداسازی داشته‌اند (۱۸، ۲۸، ۳۲-۳۴). در مطالعه Mayahi و همکاران (۲۰۱۲) که بر روی ۶۰ نمونه از آب شرب ساری انجام شد، عوامل قارچی جداسازی شده بر اساس درصد جداسازی به ترتیب آسپرژیلوس، پنسیلیوم و کلاوسپوریم بود (۲۰). به نظر می‌رسد قدرت آنزیمی بسیار



## نتیجه گیری

هرچند در حال حاضر استاندارد برای شمارش قارچ‌های موجود در آب شرب، آن چنان که برای باکتری موجود است تعریف نشده، ولی انجام آزمایشات قارچ‌شناسی در برآورد میزان آلودگی به انواع قارچ‌ها خصوصا برای افراد در معرض خطر می‌تواند ارزشمند باشند. بنابراین پیشنهاد می‌گردد با توجه به میزان عوامل قارچی جداسازی شده از آب و تغییرات آن با فاکتورهای فیزیکی-شیمیایی آب و نیز سایر عوامل بیولوژیک (جلبک‌ها و باکتری‌ها) یک برنامه پایش عوامل قارچی از منابع آبی که برای آب شرب استفاده می‌گردند و نیز یک برنامه پایش مستمر عوامل قارچی در آب مصرفی مکان‌های پرخطر (بیمارستان‌ها و مراکز درمانی مربوط به افراد مبتلا به سرطان، افراد

مبتلا به HIV و بیماران تحت پیوند عضو) الزامی گردد.

## تشکر و قدردانی

این مقاله بخشی از پروژه تحقیقاتی با عنوان ارزیابی کمی و شناسایی عوامل قارچی موجود در آب سد شهید رجایی- استان مازندران (ساری) بوده که در سال ۱۳۹۲ در پژوهشکده اکولوژی دریای خزر انجام شد. به این وسیله از موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور که زمینه علمی و آزمایشگاهی و نیز سازمان آب منطقه‌ای استان مازندران که پشتیبانی مالی این تحقیقات را فراهم نمودند کمال سپاسگزاری به عمل می‌آید. همچنین از کلیه همکاران و در بخش بهداشت و بیماری‌های آبزیان پژوهشکده و سد شهید رجایی قدردانی می‌گردد.

## References

- 1- Saeedi P, Mehrdadi N, Ardestani M, Baghvand A. Simulation of thermal stratification and dissolved oxygen using Ce-Qual-W2 model (Case study: Shahid Rejaeei dam). *Journal of Environmental Studies*. 2013; 39(4):171-180. (In Persian)
- 2- Daniali SR. Study on Factors affecting of dam Khamiran water quality. *Sciences and Environmental Engineering*. 2007; 44,44-52. (In Persian)
- 3- Mara D, Horan N. *The handbook of water and wastewater microbiology*, 1rd ed. London. Elsevier Academic Press. 2003; p: 832
- 4- Göttlich E, van der Lubbe W, Lange B, Fiedler S, Melchert I, Reifenrath M, Flemming HC, de Hoog S. Fungal flora in groundwater-derived public drinking water. *Inter J Hygi Environ Heal*. 2002; 205: 269-279.
- 5- Langfelder K, Streibel M, Jahn B, Haase G, Brakhage AA. Biosynthesis of fungal melanins and their importance for human pathogenic fungi. *Fungal Gen Biol*, 2003; 38(2):143-158.
- 6- Paterson RRM, Lima N. Fungal contamination of drinking water. In: Lehr J, Keeley J, Lehr J. *Kingery III TB. Water Encyclopedia*. New Jersey. John Wiley and Sons. 2005. p. 483.
- 7- Paterson RRM, Hageskal G, Skaar I, Lima N. Occurrence, problems, analysis and removal of filamentous fungi in drinking water. In: De Costa P, Bezerra P. *Fungicides: Chemistry, Environmental Impacts and Health Effects*. New York. Nova Science Publishers, 2009; p.1-399
- 8- Pitt JI, Hocking AD. *Fungi and Food Spoilage*, 2nd edn. Aspen Publishers, Gaithersburg, MD. 1999
- 9- Paterson RRM, Kelley J, Gallagher M. Natural occurrence of aflatoxins and *Aspergillus flavus* (Link) in water. *Let. App. Microbio*, 1997; 25: 435-436.
- 10- Kauffman HF, van der Heide S. Exposure, sensitisation, and mechanisms of fungus-induced asthma. *Cur. Alle. Asth. Rep*, 2003; 3 (5): 430-437
- 11- Hageskal G, Lima, N, Skaar I. The study of fungi in drinking water (review) *Mycolo Res*. 2009; 113,165 – 172.
- 12- Hageskal G, Knutsen AK, Gaustad P, de Hoog GS, Skaar I. The diversity and significance of mold species in Norwegian drinking water. *App Environ Microbio*. 2006; 72 (12): 7586-7593.
- 13- Hageskal G, Gaustad P, Heier BT, Skaar I. Occurrence of moulds in drinking water. *J App Microbio*. 2007; 102 (3):774-780.
- 14- Pereira VJ, Basílio MC, Fernandes D, Domingues M, Paiva JM, Benoliel MJ, Crespo MT, San Romão MV. Occurrence of filamentous fungi and yeasts in three different drinking water sources. *Water Res*. 2009; 43: 3813-3819.
- 15- Pietkainen J, Pettersson M, Baath E. Comparison of temperature effects on soil respiration and bacterial and fungal growth rates. *FEMS Micro Eco*. 2005; 52 (1): 49-58.
- 16- Wheeler KA, Hurdman BF, Pitts JI. Influence of pH on the growth of some toxigenic species pH *Aspergillus*, *Penicillium* and *Fusarium*. *Inter J Food Prot*. 1991; 54: 375-377.
- 17- Marín S, Sanchis V, Magan N. Water activity, temperature and pH effects on growth of *Fusarium moniliform* and *Fusarium proliferatum* isolates from maize. *Canadian J Microbio*. 1995; 41: 1063-1070.
- 18- Bandh SA, Kamili AN, Ganai BA, Saleem S, Lone BA, Nissa

- H. First qualitative survey of filamentous fungi in Dal Lake, Kashmir. *J Yeast Fungal Res.* 2012; 3(1):7 – 11.
- 19- National Food Administration,. *Livsmedelsverkets föreskrifter om dricksvatten.* Sweden 2001; SLVFS:30
- 20- Mayahi S, Mosavi B, Hedayati, MT, Movahedi M, Shokohi T. Mycoflora assessment in drinking tap water (Sari, Iran). *Journal of Gorgan University of Medical Sciences.* 2012;13(4), 114 – 119. (In Persian)
- 21- Samson RA, Hoekstra ES, Frisvad JC, Filtenborg O. *Introduction to food and airborne fungi*”, 6 edition, centraalbureau voor schimmelculture publication. Netherlands. Wageningen. 2000; p. 389.
- 22- Clesceri LT, Greenbery AE, Eaton AD. *Standard Methods for the examination of water and waste water*”. 21th ed., Baltmor American Public Health Association, Portcity Press, , Maryland, 2005; p. 1-2800.
- 23- Zar JH. *Biostatistical Analysis.* 4th ed. Prentice-Hall Inc., Englewood Cliffs, New Jersey. 1994; p. 960
- 24- Arvanitidou M, Kanellou K, Constantinides TC, Katsouyannopoulos V. The occurrence of fungi in hospital and community potable waters. *Let App Microbio.* 1999; 29 (2):81-84.
- 25- Gonçalves AB, Paterson RRM, Lima N. Survey and significance of filamentous fungi from tap water. *Inter J Hygi Environl Heal.* 2006; 209: 257-264.
- 26- Kanzler D, Buzina W, Paulitsch A, Haas D, Platzer S, Marth E, Mascher F. Occurrence and hygienic relevance of fungi in drinking water. *Mycoses.* 2008;51 (2):165-169.
- 27- Emde KME, Smith DW, Facey R. Initial investigation of microbially influenced corrosion (MIC) in a low temperature water distribution system. *Water Res.*1992; 26 (2): 169-175.
- 28 - Fayaz F, Kamili AV, Hafiz BZ, Khan I, Dar GH. Abundance and diversity of major cultivation fungal flora of River Jhelum in Keshmir Himalaya. *J Ecol Natu Enviro.* 2015;,7(1), 1- 6
- 29- Naderi M, Naderi MR. Evaluation of ecological effects of dams. *Proceeding of 11th National Conferences of Civil Students.* 2004 Dec. Bandar Abbas, Iran.641 – 649. (In Persian)
- 30- US EPA. Health risks from microbial growth and biofilms in drinking water distribution systems. *Office of Ground Water and Drinking Water. Distribution System White Pape r.* 2002; p. 1- 50.
- 31- Vaeseh S, Panahi M, Khesri M. Evaluation of industrial activity on BOD, COD and TSS variation on Tajan River. *Journal of Science and Environmental Engineering.* 2014; 2:45 – 75. (In Persian)
- 32 - Parveen S, Lanjewar S, Sharma K, Kutti U. Isolation of fungi from the surface water of river. *J Experi Sci.* 2011; 2(10): 58-59.
- 33- Sharma K, Parveen S. Ecological study of fungi isolated from the surface water of Dudhawa Dam Dhamtari, Chhattisgarh, India. *J Phytol.* 2011; 3(4): 06-08.
- 34- Brandi G, Sisti M, Papparini A, Gianfranceschi G, Schiavano GF, De Santi M, Santoni D, Magini V, Romano-Spica V. Swimming pools and fungi: an environmental epidemiology survey in Italian indoor swimming facilities. *Inter J Environ Heal Res.* 2007; 17(3):197-206.
- 35- Al-Gabr HM, Ye C, Zhang Y, Khan S, Lin H, Zheng T. Effects of Carbon, nitrogen and pH on the growth of *Aspergillus parasiticus* and aflatoxin production in water. *J Environ Biol.* 2013; 34: 353 – 358.
- 36- Garnett H, Barloche F, Giberson D. Aquatic hyphomycetes in Catamaran Brook: Colonization dynamics, sasonal patterns, and logging effects. *Mycologia.* 2000; 92: 29-41.
- 37- Shokri H, Khosravi AR, Nikaein D. A comparative study of digestive tract mycoflora of broilers with layers. *Inter J Vet Res.* 2011; 5(1):1-4.
- 38- Mandal S, Ghosh K. Isolation of tannase-producing microbiota from the gastrointestinal tracts of some freshwater fish. *J Appl Ichthyo.* 2012; , 29(1):1–9.