تحقیقات منابع آب ایران
Iran-Water Resources Research

سال شانزدهم، شماره ۱، بهار ۱۳۹۹
Volume 16, No. 1, Spring 2020 (IR-WRR)
۱۴۶-۱۵۵

شناسایی مورفولوژیکی و مولکولی ریزجلبک‌های عامل بو و طعم بد آب شرب گرمسار

بهاره نوروزی[۱*] و مریم منصف شکری[۲]

چکیده

آب‌های شرب منطقه گرمسار قبل از تصفیه از فیلترهای مخصوص در حوض‌های بزرگی جمع‌آوری می‌شوند که اخیراً به دلیل رشد بی رویه جلبک‌ها و ایجاد بلوم در سطح آب و در نتیجه مرگ بسیاری از جلبک‌ها به آب‌های بد بو و بد طعم تبدیل شدند. از بین رفتن جلبک‌ها موجب تجمع مقدار زیادی مواد آلی می‌شود که شرایط مناسبی را برای رشد باکتری‌ها، حشرات و قارچ‌ها فراهم می‌کند. در این تحقیق برای شناسایی فلور جلبکی آب‌های بد بو و پیشنهاد روش‌های مقابله با بلوم جلبکی، نمونه‌های آب از نقاط و اعماق مختلف حوض به صورت تصادفی جمع‌آوری شدند. به منظور خالص‌سازی و شناسایی جلبک‌ها از محیط کشت جامد Cu_{10} که محیط کشت عمومی جلبک‌ها است استفاده گردید. پس از دو هفته، شناسایی نمونه‌ها بر طبق کلیدهای شناسایی معتبر انجام شد. واریاسیون مورفولوژیک نمونه‌ها برای اطمینان از وضعیت تاکسونومی آن‌ها در محیط کشت مایع Cu_{10} نیز بررسی گردید. سویه‌ها با استفاده از کلید شناسایی Komárek et al. (2014)، شناسایی شدند. علاوه بر آن، آنالیزهای مورفولوژیکی و ژنتیکی با استفاده از توالی ژن 16S rRNA برای شناسایی سویه‌های سیانوباکتری در محیط کشت‌های مایع و جامد و در شرایط فتواتوتروفیک انجام گردید. نتایج نشان داد که سویه‌های مطالعه شده متعلق به سه شاخه سیانوفیتا، کلروفیتا و باسیلاریوفیتا و شامل جنس‌های Anabaena و Synechococcus از سیانوفیتا، Ulothrix از کلروفیتا و Diatoma از باسیلاریوفیتا هستند. با توجه به حضور ریز جلبک‌ها در آب‌های شرب منطقه گرمسار و خطرات ناشی از آن‌ها، برای شناسایی جلبک‌های تشکیل‌دهنده بلوم جلبکی علاوه بر آنالیز مورفولوژیکی، روش مولکولی به عنوانی روشی دقیق و مطمئن جهت شناسایی پیشنهاد می‌شود.

کلمات کلیدی: آب شرب، گرمسار، ریز جلبک، تولید بو و طعم بد.

تاریخ دریافت مقاله: ۹۸/۸/۴
تاریخ پذیرش مقاله: ۹۸/۱۱/۲۳

Morphological and Molecular Identification of the Microalgae Affecting on Bad Smell and Unsavory Production in Garmsar Drinking Water

B. Nowruzi [1] and M. Monsef Shokri[2]*

Abstract

Drinking water of city of Garmsar runs into large pools before being filtered. Recently, due to the growth of algae and their blooms in water surface, following the mortality of many algae, the water became unsavory with bad smell. Deterioration of algae causes the accumulation of a wide variety of organic material which provides a suitable condition for the growth of bacteria, insects, and fungi. To study the algal flora of the pools water samples were collected randomly from different parts and depths of the Garmsar water plan pools, in order to suggest solution for blooming problem. The algae were purified after growing on Cu10 culture media. After two weeks, the species were identified according to valid key of Komárek et al. (2014). Morphologic variation of samples investigated to determine their taxonomic condition in Cu10 culture media. Moreover, morphometric and genetic (16S rRNA) data were used to characterize the cyanobacteria strains in liquid suspension cultures and solid media under photoautotrophic conditions. Results demonstrated that the studied strains belong to three divisions of cyanophyta, chlorophyta, and bacillariophyta which includes *Anabaena*, *Synechococcus* genera belong to cyanophytae, *Ulothrix* genus from chlorophyta, and *Diatoma* from bacillariophyta.

Given the presence of microalgae in Garmsar drinking water and their associated risk, the molecular methods are suggested as a reliable and accurate method in addition to morphological analysis in order to identify the types of algae that form into harmful algal bloom.

Keywords: Drinking Water, Garmsar, Microalgae, Bad Smell and Unsavory Production.

Received: October 26, 2019
Accepted: February 12, 2020

۱- گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران
۲. موسسه تحقیقات بین‌المللی تاسماهیان دریای خزر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران
*- نویسنده مسئول

بحث و مناظره (Discussion) در مورد این مقاله تا پایان تابستان ۱۳۹۹ امکانپذیر است.

1- Department of Biology, School of Basic Science, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
Email: bahareh.nowruzi@srbiau.ac.ir
2- International Sturgeon Research Institute, Agricultural Research, Education & Extension Organization (AREEO), Rasht, Iran.
*- Corresponding Author

۱- مقدمه

جلبک‌های آب شیرین و آب شور به دو صورت بنتوز و فیتوپلانکتون یافت می‌شوند (Nowruzi et al., 2018b). جلبک‌های پلانکتونی در زمستان کمترین فراوانی را دارند زیرا دمای سرد آب مانع تولید مثل و رشدشان می شود، به همین دلیل آب در زمستان شفاف است اما وقتی هوا در بهار و تابستان گرم می‌شود، تولید مثل جلبک‌ها زیاد می‌شود و باعث ایجاد پدیده‌ای به نام بلوم یا شکوفایی جلبکی در آب می‌شود و آب به طور مشخصی شفافیت کمتری دارد، زیرا رنگ آب مایل به سبز می‌شود و این البته بستگی به گونه‌های موجود دارد. بلوم‌ها ضرورتاً سبز نیستند، اگرچه رنگ معمول آن سبز است. آن‌ها می‌توانند سبزآبی، قهوه‌ای، قرمز و حتی بنفش باشند. بعضی بلوم‌ها رنگ آب را به رنگ ویژه‌ای تبدیل می‌کنند که معمولا در نتیجه همکاری با فیتوپلانکتون‌ها (جلبکهای میکروسکپی) است (Bláha et al., 2009).

معمولا بلوم جلبکی زمانی تشخیص داده می‌شود که غلظت آن به میلیون‌ها سلول به ازای هر میلی‌لیتر برسد. معمولا شرایط مطلوب از جمله وجود مواد غذایی کافی مخصوصاً نیترات و فسفات، دما و نور مناسب باعث ایجاد بلوم در آب می‌گردد که خود می‌تواند مسائل و مشکلات فراوانی از جمله برون ریزش توکسین‌های مختلف را به خصوص در آب‌های شرب ایجاد کند (Akin-Oriola et al., 2005). به عنوان مثال کشف جسد مرده چندین موش و اردک در اطراف شالیزارهای استان گلستان، Nowruzi et al. (2012) بر آن داشت که به جستجوی سیانوباکتری‌های توکسیک در آن منطقه بپردازند. نتایج حاصل از تکثیر ژن‌های توکسیک و کروماتوگرافی مایع- اسپکتروفوتومتری جرمی نشان داد که عامل ایجاد مسمومیت متعلق به سویه توکسیک نوستوک می‌باشد. علاوه بر آن، نتایج حاصل از تحقیقات Nowruzi et al. (2013)، به دنبال عامل مسمومیت مرگ یک سگ در دریاچه علی‌آباد استان گلستان نشان داد که سیانوباکتریوم توکسیک *استیگونما*، عامل ایجاد مسمومیت می‌باشد. تکثیر ژن توکسیک mcyE در ایـــن‌گونه، نتایج محققان را تأیید کرد (Nowruzi et al., 2013). تحقیق دیگری توسط Nowruzi et al. (2018) در دریاچه شورمست استان مازندران، عامل مـرگ یک اردک را متعلق بـــه سه سیانوباکتریوم توکسیک آنابنا، نوستوک و نودولاریا و سه تـرکیب توکسیک آناتوکسین a، نـودولارین و کریپتوفایسین نشان داد (Nowruzi et al., 2018). در واقـــع اولین تحقیقات انجام شـده بـــر سیانوتوکسین‌ها و خطرات حـــاصل ازآن‌هـا تـــوسط Sivonen et al. (1990) انجام شده است و تاکنون نیز ادامه دارد. این محققان نشان دادند که سیانوباکتری‌ها قابلیت تولید بلوم‌های سمی در بسیاری از آب‌ها را دارند و محدودهٔ وسیعی از نئوروتوکسین‌ها، هپاتوکسین‌ها و متابولیت‌های ثانویه ارتقادهنده تومور را تولید می‌کنند (Sivonen et al., 1990; Bartram and Chorus, 1999; Sivonen et al., 2008).

با آنکه تاکنون تحقیقات زیادی در ایران در زمینه جستجوی عامل مسمومیت در شالیزار و دریاچه‌های مختلف در ایران انجام شده است، اما هیچکدام تاکنون بر آب‌های شرب که به طور مستقیم برای آشامیدن و مصارف روزانه مصرف می‌شود نبوده است. آب‌های شرب منطقه گرمسار قبل از تصفیه از فیلترهای مخصوص، در حوض‌های بزرگی جمع‌آوری می‌شوند. در فصول گرم سال رشد بی‌رویه جلبک‌ها منجر به ایجاد بلوم‌های وسیع در سطح آب می‌شود، سایه‌افکنی و در نتیجه کاهش شدت نور، مرگ تدریجی جلبک‌ها را به همراه دارد و آن را به آب‌های بد بو و بد طعم تبدیل می‌کند (Nowruzi et al., 2012).

در این تحقیق که برای اولین بار و با هدف شناسایی و پیشنهاد روش‌های مقابله با بلوم‌های جلبکی انجام شده است، با توجه به خطر وجود سموم و همچنین بوی نامطبوع آب شرب ناشی از بلوم جلبکی که خود عامل تهدیدکننده‌ای برای سلامت انسان است، شناسایی جلبک‌ها با نمونه‌برداری از نقاط مختلف حوض‌های بزرگ آب که بعداً تحت تصفیه قرار می‌گیرند، انجام گردید، تا با شناخت شاخه‌ها و جنس‌های موجود نسبت به مقابله با بلوم‌های جلبکی، روش‌هایی مناسب برای کنترل پیشنهاد گردد.

۲- روش تحقیق

۲-۱- معرفی منطقه مورد مطالعه و نمونه‌برداری

منابع آب شرب منطقه گرمسار در طول و عرض جغرافیایی 35°20'N و 52°25'E قرار گرفته‌اند. این منطقه از سه جهت توسط رشته کوه‌های سیاه کوه احاطه شده و فقط سمت جنوبی آن به علت وجود کویر باز است. این منطقه به طور متوسط دارای سرعت باد ۳ متر بر ثانیه و نم نسبی ۲۰ درصد است، به همین دلیل است که آب و هوای گرم و خشکی مخصوصاً در فصول گرم سال دارد. آب‌های شرب منطقه گرمسار قبل از تصفیه از فیلترهای مخصوص در حوض‌های بزرگی جمع‌آوری می‌شوند. در اردیبهشت ۱۳۹۷ نمونه‌برداری از نقط مختلف و اعماق مختلف حوض انجام شد. برای نمونه‌برداری از بطری‌های ۵۰۰ میلی لیتری پلاستیکی دردار استفاده گردید. با توجه مساحت بزرگ پانصد متر مربع حوض آب، نمونه‌برداری از چهار گوش حوض و همچنین وسط اضلاع حوض با سه تکرار انجام گردید. به طوری‌که در کل ۱۸ بطری نمونه‌برداری با آب پر گردید. مطالعات موجود نشان می‌دهد که پراکنش جلبک‌ها بیشتر در مناطق سطحی که دارای میزان

نور بیشتری است، می‌باشد، به همین دلیل نمونه‌برداری تا عمق سی سانتی‌متری انجام گردید. نمونه‌های آب به همراه بلوم‌های جلبکی که طبیعتا با رنگ‌های مختلف بودند، به آزمایشگاه منتقل گردید. پارامتر های لیمنولوژیکی سایت نمونه‌برداری شامل دما، pH، شوری، نیترات و فسفات در هنگام جمع‌آوری نمونه تعیین گردید. دما (°C) و pH بر طبق روش McCleskey et al. (2012) اندازه‌گیری گردید. نیترات و فسفات به ترتیب با روش اسپکتروفوتومتری ماورای بنفش در طول موج ۵۰۰ نانومتر با شماره استاندارد B NO_3^- –۴۵۰۰ و مولیبدات آمونیوم بـــا شماره استاندارد P D– ۴۵۰۰ اندازه‌گیری گردید (SobhanArdakani et al., 2014).

۲-۲-کشت نمونه‌ها

به منظور خالص‌سازی نمونه‌های بلوم، از محیط کشت جامد Cu_{10} (جدول ۱) که محیط کشت عمومی جلبکها است استفاده گردید. پس از آماده‌سازی محیط کشت، pH آن در حد ۶/۵-۷ تنظیم و سپس اتوکلاو گردید (Nowruzi et al., 2012).

Table 1- Representing the Cu_{10} solid media culture

جدول ۱- نشان‌دهنده محیط کشت جامد Cu_{10}

Salt	(gr/L)
$Ca(NO_3)_2$	0.04
K_2HPO_4	0.01
$MgSO_4,7H_2O$	0.025
Na_2CO_3	0.02
Na_2SiO_3	0.025
$FeCl_3$	0.08
Distilled water	1 L
Agar	10 gr

۲-۳- شناسایی مورفولوژیکی نمونه‌ها

برای جداسازی و به دست آوردن کلنی خالص، مقداری از هر بلوم با لوپ برداشته و بر روی محیط کشت استریل جامد به صورت زیکزاک کشت داده شد. این کار در شرایط استریل و در زیرلامینار فلو انجام شد. سپس پتریدیش‌های محتوی اینوکولوم بلوم‌های جلبکی در داخل اتاقک رشد با شدت نوری ۱۵۰۰ تا ۲۰۰۰ لوکس و دمای ۲۸ درجه سانتیگراد قرار داده شدند (Nowruzi et al., 2013). پس از دو تا سه هفته کلنی‌های جلبکی در هر پتریدیش ایجاد گردید. به منظور ایجاد لام‌های ثابت از هر نمونه ابتدا یک قطره گلیسرین روی لام قرار داده شد سپس با یک سوزن استریل مقداری از کلنی جلبکی روی قطره گلیسرین گذاشته و به صورت یکنواخت روی لام پخش شد و بعد از چند دقیقه لامل روی لام قرار داده شده و به کمک چسب انتالن فیکس گردید و در نهایت شناسایی نمونه‌ها بر طبق کلید شناسایی Komárek et al. (2014) انجام شد. واریاسیون مورفولوژیک نمونه‌ها برای اطمینان از وضعیت تاکسونومی آن‌ها در محیط کشت مایع Cu_{10} نیز بررسی گردید. پس از چندین واکشت و اطمینان از خالص‌سازی نمونه‌ها، عکس‌های میکروسکوپیک با استفاده از میکروسکپ المپوس مدل CX31RTS5 (Olympus, Tokyo, Japan) گرفته شد.

۲-۴- شناسایی مولکولی سویه‌های سیانوباکتری

۲-۴-۱- استخراج DNA ژنومیک

استخراج DNA با استفاده از کیت E.Z.N.A. SP Plant DNA kit (Omega Bio-tek, Inc., Norcross, GA, USA) انجام گردید. DNA با استفاده از اسپکتروفوتومتر NanoDrop ND-1000 (NanoDrop Technologies, Inc., Wilmington, DE, USA) کیفیت‌سنجی شد (Nowruzi and Blanco, 2019).

۲-۴-۲- تکثیر PCR برای مقایسه ژن 16S rRNA

تکثیر ۱۶ پرایمر الیگونوکلئوتیدی شامل یک پرایمر فروارد و یک پرایمر ریورس برای تکثیر ژن 16S rRNA انجام گردید (جدول ۲). اندازه محصولات در مقایسه با DNA مارکر (λ/HinfIII + φx/HaeIII; Finnzymes) سنجیده شد. محصولات با استفاده از کیت Geneclean Turbo (Qbiogene/MP Biomedicals, Solon, OH, USA) خالص شدند (Nowruzi and Blanco, 2019).

۲-۴-۳- توالی‌یابی و آنالیز

توالی‌یابی ژن 16S rRNA به کمک کیت توالی‌یابی BigDye Terminator v3.1 cycle (Applied Biosystems, Life Technologies, Foster City, CA, USA) انجام گردید.

Table 2- oligonucleotide primers of 16S rRNA used in this study

جدول ۲- پرایمرهای الیگونوکلئوتیدی 16S rRNA استفاده شده در این مطالعه

Target gene	Sequence 5´→3´	Reference
16S rRNA	PA (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') B23S (5'-CTTCGCCTCTGTGTGCCTAGGT-3')	Taton et al., 2003

بررسی‌های Blast (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST) ژن 16S rRNA به منظور شناسایی شباهت توالی با توالی‌های مشابه در بانک اطلاعات ژنی NCBI انجام گردید.

۳- نتایج

نتایج حاصل از شناسایی مورفولوژیکی نمونه‌ها نشان داد که جلبک‌های آب‌های بد بوی گرمسار متعلق به سه شاخه سیانوفیتا، کلروفیتا و باسیلاریوفیتا هستند. نتایج حاصل از اندازه‌گیری پارامترهای لیمنولوژیک در جدول سه نشان داده شده است.

نتایج حاصل از شناسایی مولکولی حاصل از تکثیر ژن 16S rRNA در شکل یک نشان داده شده است. همچنین نتایج حاصل از آنالیز بلاست نوکلئوتیدی در جدول چهار حاکی از آن است که سویه Anabaena sp. با میزان ۹۵ درصد با سویه Anabaena sp. (PCC 7120) و سویه Synechococcus sp. به میزان ۹۶ درصد با سویه Synechococcus PCC6301 شباهت دارد.

یکی از جنس‌های جلبک‌های سبز آبی شناسایی شده، Anabaena است که سلول‌های تریکوم آن به صورت دانه‌های تسبیح به‌هم متصل هستند، با توجه به شکل (شکل‌های دو، سه و چهار A) ریسه‌های تریکوم فاقد هتروسیست و آکاینت هستند. سلول‌های آکاینت به علت شرایط مساعد محیطی و جوان بودن تریکوم و سول‌های آکاینت نیز به دلیل وجود نمک‌های نیتروژنه در طول ریسه موجود نیستند. جلبک سبز آبی دیگر Synechococcus است که با توجه به شکل سلول‌ها کروی یا مستطیلی، سبز آبی یا سبز آبی مایل به زرد هستند (شکل‌های ۲ و ۴ B).

یکی دیگر جنس‌های شناسایی شده، الوتریکس است که متعلق به جلبکهای سبز رشته‌ای است. (شکل پنج). با توجه به شکل، ریسه شامل یک رشته ساده باریک و نازک است که سلول‌های آن به شکل استوانه‌ای و یا مکعبی در یک ردیف قرار گرفته‌اند. تمام سلول‌هایی ریسه یکسان هستند، تنها سلول انتهایی یک سلول نگهدارنده است که به وسیله آن به اجسام متصل می‌شود. این سلول طویل‌تر از بقیه سلول‌ها و فاقد کلروفیل و بیرنگ است (شکل۵ F). در داخل هر یاخته، کلروپلاست زین اسب یا کمربند به خوبی دیده می‌شود (شکل ۵ E).

یکی دیگر از شاخه‌های یافت شده، متعلق به شاخه باسیلاریوفیتا و جنس دیاتومه است که یکی از مهمترین فیتوپلانکتون‌ها محسوب می‌شوند. وجود واکئول بزرگ در داخل سلول باعث سبک شدن سلول می‌شود. تمام دیاتومه‌ها به اشکال مختلف شبیه به قایق، سه گوش، چهار گوش، دایره و بیضی شکل دیده می‌شوند. دیاتومه‌ها بر روی سطوح آب به صورت قشر زرد رنگی مشاهده می‌شوند، که علت آن درصد زیاد مواد کاروتینوئیدی است (شکل‌های ۳ و ۴ C).

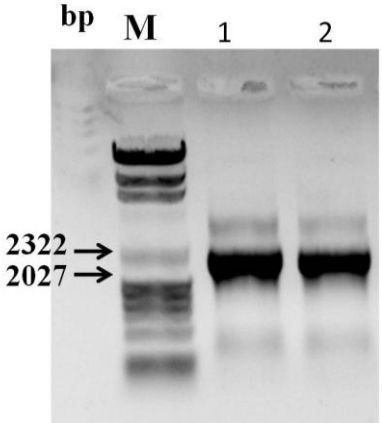

Fig. 1- Gel electrophoresis of the 16S rRNA PCR-product

شکل ۱- ژل الکتروفورز محصول واکنش زنجیره‌ای پلیمراز برای 16S rRNA

Fig. 2- A, representing the *Anabaena* filaments and B, representing the blue green cells of *Synechococcus* at *400x magnification*

شکل ۲- A نشان دهنده زیسه‌های Anabaena و B نشان دهنده سلولهای کروی سبز آبی Synechococcus با بزرگنمایی X۴۰۰

Table 3- Limnological parameters of the sample site

جدول ۳- پارامترهای لیمنولوژیکی مکان نمونه‌برداری

pH	Temperature (°C)	Salt(mg L^{-1})	Nitrate (mg L^{-1})	Phosphate (mg L^{-1})
8.7	27	125	0.06	0.06

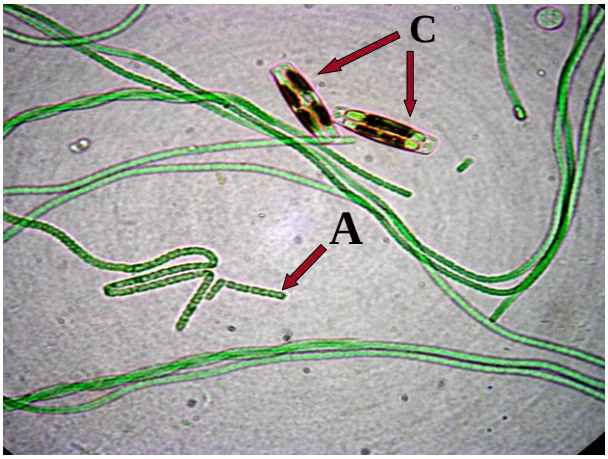

Fig. 3- A representing the *Anabaena* filaments and C, representing the square diatoms at *400x magnification*

شکل ۳- A نشان‌دهنده زیسه‌های Anabaena و C نشان‌دهنده دیاتوم‌های چهار گوش شکل با بزرگنمایی X۴۰۰

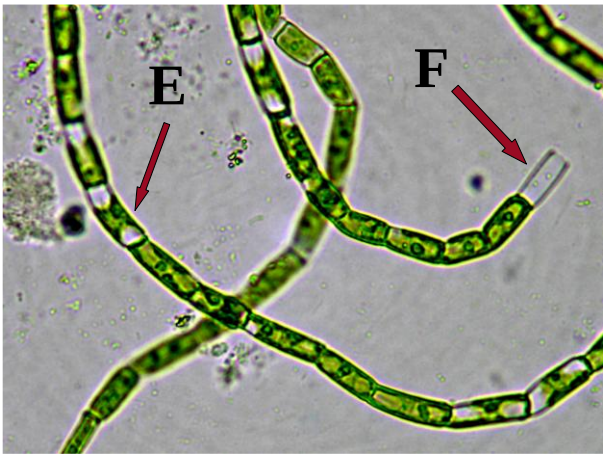

Fig. 5- E representing the girdle-*like chloroplast and F* representing the end cell of *Ulothrix* at *400x magnification*

شکل ۵- E نشان‌دهنده کلروپلاست زین اسبی و F نشان‌دهنده سلول انتهایی Ulothrix با بزرگنمایی X۴۰۰

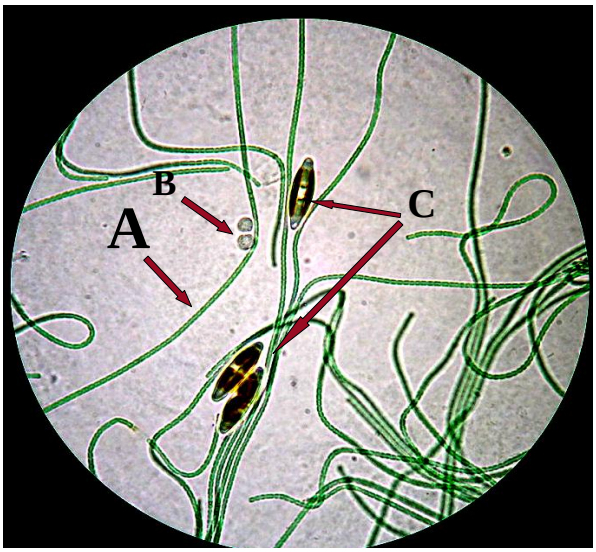

Fig. 4- A representing the *Anabaena* filaments and B, representing the *Synechococcus* and C representing the *elliptical diatom* at *400x magnification*

شکل ۴- A نشان‌دهنده زیسه‌های Anabaena، B نشان‌دهنده Synechococcus و C نشان‌دهنده دیاتوم‌های بیضوی شکل با بزرگنمایی X۴۰۰

۴- بحث در نتایج

نتایج حاصل از شناسایی نمونه‌ها نشان داد که یکی از شاخه‌های موجود، متعلق به جلبک‌های سبز-آبی است که بدون شک پر جمعیت ترین جلبک‌ها به ویژه در مناطق گرمسیری مخصوصا منطقه گرمسار است. سیانوباکتری‌ها به طور طبیعی جزو ناپیدای اکوسیستم‌های آبی هستند و هنگامیکه موقعیت بهینه است، سریعا رشد کرده و تشکیل بلوم می‌دهند. سیانوباکتری‌ها به دلیل داشتن واکئول‌های گازی در سلول خود که سبب سبک شدن و غوطه‌ور شدن سلول آن‌ها در آب می‌شود، در فوقانی‌ترین لایه شناور می‌شوند و خود را از رقابت با دیگر انواع جلبک‌ها برای استفاده از نور خورشید خارج می‌کنند. این توده‌ها زیان‌آور هستند زیرا تجمع بیش از حد آن‌ها در سطح آب، موجب اشباع شدن آب از اکسیژن، کاهش CO_2 و در نتیجه کاهش فتوسنتز و تثبیت ازت هوا می‌گردد که در نهایت منجر به مرگ بسیاری از سلول‌ها و فرو رفتن و متلاشی شدن آنها می‌گردد و موجب بوی بد آب می‌گردد (Dittmann et al., 2006; Liu et al., 2014). اگر رنگ آب از سبز تیره به سبز کم رنگ یا قهوه‌ای تغییر کند، به معنی آن است که سطوح اکسیژن، احتمالا به واسطه مرگ جلبک‌ها پایین آمده است.

Table 4- Percent of similarity of two identified cyanobacteria by blast nucleotide analysis

جدول ۴- درصد شباهت دو سویه سیانوباکتری شناسایی شده با استفاده از آنالیز بلاست نوکلئوتید

Molecular marker	Strain	Best hit indicated by BLAST	Identity (%)
16S rRNA	Anabaena sp.	Anabaena sp. (PCC 7120)	95
	Synechococcus sp.	Synechococcus PCC6301	96

برای اطمینان از سطوح اکسیژن باید تغییرات در سطوح اکسیژن حل شده، هر شب در فصول بهار، تابستان و پاییز، بازبینی و چک شود. زمانیکه بلوم جلبکی پوسیده می‌شود سلول‌ها می‌میرند و اغلب بوی بدی را به خاطر کاهش اکسیژن در اطراف آب ایجاد می‌کنند (Nowruzi and Blanco, 2019).

یکی از خصوصیات جلبک‌های سبز آبی که باعث می‌شود بسیار فراوانتر از بقیه انواع جلبک‌ها ظاهر شوند، توانایی بالقوه آنها در استفاده از نیتروژن هوا یا حل شده در آب و همچنین دریافت نور خورشید با بازده بیشتری نسبت به بقیه جلبک‌ها است (Díez-Quijada et al., 2019; Mokoena et al., 2016). یکی از اثرات نامطلوب ایجاد شده توسط بلوم جلبکها به ویژه سیانوباکتری‌ها، آزاد شدن سموم (سیانوتوکسین)، در آب است. گزارشات بسیاری از وجود بلوم‌های جلبکی سمی در نقاط مختلف جهان است حتی سایت مخصوصی وجود دارد که می توان از آخرین اخبار مربوط به وجود بلوم‌های سمی و اثرات آن در انسان‌ها و حیوانات آگاهی یافت (Genuario et al., 2010). نوشیدن آب‌های نوشیدنی حاوی بلوم‌های جلبک‌های سمی می‌توانند موجب ورم معده و روده یا اسهال و بیماری معدی شود. حتی تماس با آب حاوی بلوم‌های سمی ممکن است موجب سوزش پوست یا ناراحتی‌های تنفسی شود (Jaiswal et al., 2008)

آزمایشات نشان می‌دهد که جلبکهای سبز آبی Nodularia، Anabena Cylindrospermopsis، Microcystis، Oscillatoria و Aphanizomenon تولید کننده سم هستند. سموم جلبک‌های سبز آبی شامل چهار گروه مختلف هپاتوکسین‌ها، نوروتوکسین‌ها و اندوتوکسین‌ها و سم‌های تقریباً غیر محسوس است. این جلبک‌ها سم را درون سلول خود ذخیره می‌کنند و پس از تجزیه سم را آزاد می‌کنند. اما هنوز مشخص نیست که چرا جلبک‌های سبز آبی سم تولید می‌کنند (Lyon-Colbert et al., 2018; Kabziński et al., 2000; Stewart and Falconer, 2008). گزارشات موجود از مطالعات انجام شده در ایران نشان می‌دهد که شالیزارهای استان گلستان، دریاچه علی‌آباد و شورمست در استان گلستان نیز در معرض بلوم سیانوباکتری‌ها هستند، محققان با جداسازی DNA به تکثیر ژن‌های توکسیک در این مناطق پرداختند، کشف چندین جسد از حیوانات بومی و اهلی نشان دهنده مسمومیت این حیوانات با سیانوتوکسین‌ها می‌باشد (Nowruzi et al., 2013; Nowruzi et al., 2012; Nowruzi et al., 2018a). تحقیقات زیادی در زمینه از بین بردن اثرات سموم جلبک‌های سبز آبی در سطح منابع آب در حال انجام است، به هر حال وقتی که بلوم‌های عظیمی در منابع آبی رخ می‌دهد، مقدارهای هر چند کوچک سم در آب‌های نوشیدنی تیمار شده هنوز باقی می‌ماند. سازمان سلامت و بهداشت جهانی (WHO) رهنمودهایی را برای اطمینان از سلامتی آبهای نوشیدنی و همچنین مراحل مختلف تیمار برای از بین بردن این سموم ارائه کرده است. تحقیقت بسیاری نیز در استرالیا، UK و US در مورد سموم آزاد شده از بلوم جلبک‌های سبز آبی در در حال انجام است (Weirich, 2017; Lehtimäki, 2000). آزمایشات متعدد نشان می‌دهد که حضور یا غیاب یک بو یا مزه بد، شاخص قابل اطمینانی از حضور یا غیاب سموم سمی در آب نیست. در زمینه کیفیت میکروبی آب آشامیدنی و شیوع آب آشامیدنی و شیوع مقطعی بیماری‌های مرتبط با آن، مطالعه موردی در شهرستان کنگاور در فاصله زمانی بین ۱۳۸۵ تا ۱۳۸۹ انجام گردید. در این مطالعه محققان به ارتباط معناداری بین آلودگی میکروبی آب آشامیدنی با فصول سال پی بردند، به طوریکه میزان شیوع بیماری در فصول گرم سال نسبت به فصول سرد، قوی‌تر است (Pirsaheb et al., 2013). علاوه بر آن در یک طرح پژوهشی توسط Nasrollahzadeh Saravi et al. (2016) در شهرستان ساری، از پارامترهای زیستی و غیر زیستی جهت تعیین کیفیت آب پشت سد شهید رجایی استفاده گردید.

نتایج نشان داد که ۱۰۷ گونـه فیتوپلانکتـون در ۸ شـاخه مختلف در این آبها وجود دارند و شمارش آن نیز در ماه‌های مرداد و شهریور افزایش داشته است. در واقع چالش انجام تحقیق حاضر نیز افزایش بوی بد در فصول گرم سال در آب‌های شرب منطقه گرمسار بود که نتایج حاکی از وجود فلور متنوع جلبکی در این منطقه گزارش گردید. در تحقیق دیگری توسط Fathi and Arjomandzadegan (2018) در آنالیز میکروبی هتروتروفی شبکه شرب آب شهرستان اراک و ارتباط آن با MPN، شاخصهای فیزیکوشیمیایی آب و جنس لوله‌ها نشان داده شد که اندازه‌گیری HPC به عنوان یک متغیر مهم و تأثیرگذار در کنترل آب آشامیدنی ضروری است. در یک تحقیق به بررسی میزان آلودگی میکروبی آب رودخانه ناورود به باکتری‌های E.Coli و Coliform بر اساس استانداردهای جهانی توسط Sayyad Ghorbani and alidoost Nedamani (2017) پرداخته شد.

نتایج حاصل از آنالیز نتایج با استانداردهای جهانی نشان داد که آب رودخانه ناورود دارای بار میکروبی کمتر از حد استاندارد جهانی بوده و جهت استفاده در مواردی غیر از شرب مستقیم و تصفیه نشده بلامانع می‌باشد. در این راستا با توجه به نتایج حاصل از تحقیق حاصل و حضور سیانوباکتری‌های توکسیک، برای استفاده از آب شرب منطقه گرمسار باید احتیاط لازم به عمل آید. Kabziński et al. (2000) پیشنهاد دادند، زمانی که شمارش جلبک‌ها متجاوز از تعداد معینی سلول به ازای هر میلیمتر آب می‌شود، تیمار و کنترل ضرورت پیدا می‌کند.

روش‌های مختلفی برای از بین بردن بلوم جلبکی چه در مورد آب‌های شرب و چه در سایر مخازن آب وجود دارد. یکی از روش‌ها استفاده از تیمارهای شیمیایی است، که دلایل بسیاری استفاده از آن را محدود می‌سازد. آنچه مسلم است این است که در مورد آب‌های شرب استفاده از کودهای شیمیایی کاربردی ندارد، زیرا به طور مستقیم با سلامتی انسان در ارتباط است. معمولا استفاده از تیمارهای شیمیایی در سطح آب‌ها برای کنترل جلبک‌ها گران و همیشه عملی موفق یا قانونی نیست (Westrick and Szlag, 2018). به عنوان مثال یکی از مضرات استفاده از کودهای شیمیایی این است که موجب افزایش بلوم‌های جلبکی پلانکتونی در تابستان می‌شود، آزادسازی ناگهانی مواد غذایی از جلبک‌های رشته‌ای در حال مردن، به واسطه تیمار شدن با علف‌کش‌هایی از جمله Cutrine است، که باعث افزوده شدن توده کود آلی (رسوبات لجن مانند کف حوض) می‌شود. با این کار نه تنها بلوم جلبکی با تیمار شدن با این علف کش‌ها از بین نمی‌روند، بلکه به تغزیه مجدد جلبک‌ها با افزایش مواد آلی ناشی از مرگ آنها کمک می‌کنند. به همین دلیل است که استفاده از این ترکیبات شیمیایی برای کنترل بلند مدت مناسب نیست. عامل دیگری که استفاده از تیمارهای شیمیایی را محدود می‌کند مقاومت و سازگاری جلبک‌ها به خصوص سیانوباکتری‌ها، به تیمارهای شیمیایی است. به عنوان مثال استفاده از سولفات مس (کات کبود) برای کنترل جلبک‌ها درمخازن ذخیره آب برای آب‌های نوشیدنی در نهایت منجر به تشکیل جلبک‌های مزاحم مقاوم به علف‌کش‌ها گردید. سولفات مس، منعقد کننده است، با ذرات معلق و حل شده مانند جلبک‌ها و سیانوباکتری‌ها پیوند می‌یابند و منجر به تشکیل رسوباتی در ته حوض می‌شوند. به عنوان مثال تیمار با کات کبود در دریاچه Killarney باعث گردید تا سطح رسوبات مس ۵۰ بار بیشتر از دریاچه‌های دیگر گردد که این رسوبات با تجمع در کف دریاچه‌ها برای تولید آب شرب بسیار مضر هستند. البته باکتری‌های مفیدی وجود دارد که باعث تجزیه کردن لجن‌ها در ته حوض می‌شوند، این باکتری‌ها برای ماهی‌ها و حتی شنا کردن مشکلی ایجاد نمی‌کنند. در بسیاری از موارد استفاده از این باکتری‌ها برای تجزیه رسوبات ته دریاچه‌ها پیشنهاد می‌شود (Szlag et al., 2015). با توجه به تمام مضرات ذکر شده در رابطه با استفاده از تیمارهای شیمیایی، روشهای بیولوژیکی مفیدی برای کنترل بلوم جلبکی وجود دارد بطور مثال، نیترات و فسفات اضافی آب می‌تواند توسط گیاه‌پالایی حذف گردد (Avatefinezhad and Asrari, 2016; Imani et al., 2017).

نکته مهم برای تیمار بلوم جلبک‌های سبز آبی این است که هرگز نباید بلوم‌های سمی را با تیمارهای شیمیایی به خصوص سولفات مس کنترل کرد، مخصوصاً زمانی که یک بلوم، تازه شکل گرفته است، زیرا مرگ جلبک‌ها، ممکن است موجب آزادسازی سلول‌های ذخیره‌کننده سم به درون آب شوند. در این گونه موارد برای اطمینان از سالم بودن آب بـایـد حداقل دو هفته بین زمان تیمار شیمیایی تـــا آزادسازی سموم و مصرف آب فاصله باشد (Díez-Quijada et al., 2018). Sayyad Ghorbani and alidoost Nedamani (2017) به بررسی میزان آلودگی میکروبی آب رودخانه ناورود بر اساس استانداردهای جهانی پرداختند. نتایج حاصل از آنالیز نتایج با استانداردهای جهانی نشان داد که آب رودخانه ناورود دارای بار میکروبی کمتر از حد استاندارد جهانی بوده و جهت استفاده در مواردی غیر از شرب مستقیم و تصفیه نشده بلامانع می‌باشد. در این راستا با توجه به نتایج حاصل از تحقیق حاضر و کشف سیانوباکتری‌های توکسیک، برای استفاده از آب شرب منطقه گرمسار باید احتیاط‌های لازم به عمل آید.

Kabziński et al. (2000) پیشنهاد دادند، زمانی که شمارش جلبک‌ها متجاوز از تعداد معینی سلول به ازای هر میلیمتر آب می‌شود، تیمار و کنترل ضرورت پیدا می‌کند. مستقیم‌ترین را برای کنترل بلوم‌ها این است که مواد غذایی (به خصوص فسفات و نیترات) را در آب کاهش دهیم. بسیاری از سازمان‌های مدیریتی در سراسر جهان استراتژی‌های مختلف را برای کنترل بلوم‌های جلبکی تعقیب می‌کنند.

اما به هر حال برای بعضی از اکوسیستم‌های آبی کنترل مواد غذایی عملی، بیهوده یا بسیار گران است. با توجه به تمام مضرات ذکر شده در رابطه با استفاده از تیمارهای شیمیایی، روش‌های بیولوژیکی مفیدی برای کنترل بلوم جلبکی وجود دارد. یکی از مواردی که باعث افزایش مواد غذایی در آب به خصوص در مورد حوض‌های سر باز مانند حوض آب شرب گرمسار است، ریزش باران‌های سنگین است که می‌تواند باعث ورود املاح بسیاری به درون حوض شود که طبیعتا باید به نحوی از آن جلوگیری نمود. یکی دیگر از کارهای ممکن برای کاهش مواد غذایی آب، حذف برگهای افتاده، حشرات و جلبک‌های مرده از سطح آب به کمک یک کفگیر است، قبل از آن که به ته حوض بروند و شروع به پوسیدگی و بوی بد در آب کنند. معمولاً برای تخریب بلوم‌های جلبکی در سطح آب‌های شرب و نوشیدنی از تیمارهای بیولوژیکی که فاقد هرگونه مواد شیمیایی باشد استفاده می‌کنند. یکی از این روش‌ها استفاده از سایه‌بان‌های آبی هم است تا از ورود نور خورشید جلوگیری کنید این روش به همراه استفاده از سیستم‌های تهویه روش بسیار خوبی برای کنترل بلوم‌های جلبکی است. سیستم‌های تهویه در طول دوره‌های گرم و آفتابی برای اکسیژن‌دهی روش بسیار خوبی برای خنک کردن آب است و فرصت ایجاد و تشکیل بلوم را کاهش می‌دهد (Pearson et al., 2010).

سیستم‌های تهویه با چرخش مواد غذایی از ته رسوبات مانع رشد جلبک‌ها می‌شود. همچنین هوادهی خوب حرکت آب را تداوم می‌بخشد و دمای آب را از بالا به پایین ثابت نگاه می‌دارد و از تشکیل لایه‌های گرم در سطح آب در طول تابستان‌های جلوگیری می‌کند. هـــوادهی همچنین مانع تخلیه اکسیژنی می‌شودکه با مرگ و پوسیدگی بلوم جلبکی ایجاد شـــده است. اگرچـه ممکن است هنوز بلوم تشکیل شود، امـــا هوادهی خود ایجاد آن‌هـــا را کمتر می‌کند، زیـــرا جلبک‌ها تمایل بـــه تشکیل بلوم تحت شرایط گـــرم و آرام را دارنـــد (Lyon-Colbert et al., 2018).

در رابـطه بـــــا حفظ کیفیت آب، در یـک تحقیق تـــــوسـط Atafar et al. (2015)، به مطالعه روند تغییرات کیفیت میکروبی آب آشامیدنی روستاهای شهرستان کرمانشاه طی دوره ده ساله پرداخته شد. نتایج حاصل از بررسی کیفیت آب نشان داد که درصد آلودگی میکروبی آب شرب شهرستان کرمانشاه در بازه زمانی ده ساله در روستاهای تحت پوشش آبفار در زمستان خوب و در تابستان متوسط و در روستاهای غیر تحت پوشش در زمستان متوسط و در تابستان ضعیف ارزیابی گردید. در این ارتباط استفاده از تیمار کلرزنی در سالم‌سازی و افزایش کارآیی گندزدایی آب توصیه گردید.

یکی از روش‌های تخریب بلوم جلبکی، افزایش تابش اشعه ماورابنفش در نتیجه رقیق‌سازی لایه اوزون است که به طور مشخص بر رشد جلبک‌ها اثرگذار است و ممکن است اثرات زیادی را روی شبکه غذایی آب‌های شیرین و شور بگذارد. البته نتایج اکولوژیکی بلند مدت این‌ها هنوز به خوبی شناخته نشده است. در این رابطه در تحقیقی توسط Behdarvand et al. (2017)، به بررسی فاکتورهای موثر در گندزدایی با استفاده از تابش خورشید پرداختند.

روش دیگر، استفاده از محلول‌های صوتی است، وسیله‌ای که با تولید امواج ماوراصوت و تخریب عملکرد سلول و ساختمان جلبک، جلبک‌ها را ازبین می‌برد. این محلول خطری را برای ماهی‌ها و یا حتی گیاهان آبزی ایجاد نمی‌کند و حتی منجر به کاهش pH و TSS نیز می شود. این محلول بسیار مؤثرتر از سایر جلبک‌کش‌های شیمیایی در ذخایر آب‌های شیرین، حوض‌ها، استخرها، دریاچه‌ها، تالاب‌ها و مخازن است. محققان در دانشگاه بین‌المللی فلوریدا در میامی آزمایشاتی را با امواج فراصوت با شدت ۴۶۰ کیلوهرتز برای ایجاد مناطق به داغی 3,700° C ایجاد کردند. این امواج بعضی از مولکول‌های آب را به قطعات واکنش‌پذیر یا انفعالی می‌شکنند که می‌تواند جلبک‌ها را نابود سازد. فعالیت دیگری بر بلوم جلبک‌ها در آب‌های شرب رودخانه نیل انجام گرفته است. محققان برای از بین بردن بلوم جلبک‌های مزاحم در آب شرب از اکسیدان‌های ترکیب شده با پرمنگنات پتاسیم آلومینیم استفاده کردند. آزمایشات نشان داد که این تیمار مؤثرترین ترکیب برای بالا بردن نرخ نابودی جلبک‌ها بود (Wood, 2016).

۵- خلاصه و جمع‌بندی

تولید بلوم‌های آبی یک پدیده گسترده است که از نقاط مختلف جهان گزارش شده و تهدیدی قابل توجهی برای گیاهان و جانوران و سلامت و رفاه انسان است. بسیاری از گونه‌های آبزی جلبک‌ها در آب‌های شرب، قادر به تولید متابولیت‌های ثانویه فعال بیولوژیکی هستند که بـــرای انسان و سایـــر حیوانات بسیار سمی هستند. بسیاری از ایـــن مولکول‌های زیستی از نظر دارویی اهمیت داشته و شـامـل هپاتوتوکسیک (مخرب بـــرای کبد)، نوروتوکسیک (مخرب برای عصب)، سیتوتوکسیک (مخرب برای سلول) و سموم مسئول واکنش‌های آلرژیک هستند (Falconer et al., 2005; Almuhtaram et al., 2018).

در این مطالعه که برای اولین بار بر آب‌های شرب گرمسار با هدف جستجوی عامل بد طعم کردن و بد بو بودن آب انجام گردید، سه دسته از جلبک‌های متعلق به شاخه‌های سیانوفیتا، کلروفیتا و باسیلاریوفیتا را عامل این مشکل در آب‌های شرب گزارش داد. مطالعات مورفولوژیکی و میکروسکوپیک انجام شده، جنس‌های Synechococcus, Anabaena از سیانوفیتا، Ulothrix از کلروفیتا و Diatoma از باسیلاریوفیتا را مورد شناسایی قرار داد. همچنین مطالعات مولکولی نیز با استفاده از تکثیر ژن 16S rRNA، حضور جنس‌های سیانوباکتریایی را در آب‌های شرب گرمسار تأیید ساخت. در نهایت با توجه به خطری که قطعاً حضور این جلبک‌ها در آب‌های شرب سلامت مصرف‌کنندگان را تهدید می‌سازد، با مروری بر مقالات موجود در ایران و سایر کشورها، پیشنهاداتی به منظور کنترل این بلوم‌های سمی ارائه گردید. با توجه به حضور ریز جلبکها در آب های شرب منطقه گرمسار و خطر مسمومیتی که می‌تواند برای انسان‌ها و حیوانات اهلی بوجود آورد، لازم است نسبت به سالم‌سازی آب و ارتقاء کیفیت میکروبی آن بویژه در مناطق روستایی و فصول گرم توجه بیشتری شود. همچنین با توجه به تنوع توکسین‌های سیانوباکتری و خطری که برای سلامت انسان ایجاد می‌نمایند، ارزیابی مقدار آن‌ها در آب‌های شرب جهت بررسی کیفیت آب در فصول گرم لازم به نظر می‌رسد، که انجام این امر مستلزم شناخت دقیق گونه‌ها می‌باشد. علاوه بر آن شناسایی دقیق نوع سم و تخمین میزان مسمومیت به کمک LC-MS کمک شایانی به انتخاب

تیمارهای اختصاصی برای از بین بردن آلودگی در آب‌های شرب منطقه خواهد کرد. با بررسی منابع و تحقیق‌های انجام شده در ایران در نقاط مختلف کشور، به نظر می‌رسد که اگر چه در این تحقیقات، از تکنیک‌های مختلف برای بررسی کیفیت آب‌های شرب و همچنین کنترل و تیمار آبهای آلوده استفاده شده است، اما هیچکدام از آنالیزهای مولکولی به منظور شناسایی مولکولی عوامل ایجادکننده مسمومیت و یا بوی بد در آب‌های شرب استفاده نکردند. در واقع استفاده از توالی‌های ژنتیکی همواره روشی مطمئن برای تأیید و شناسایی فلور میکروبی می‌باشد، چرا که توالی‌های ژنتیکی بر عکس ویژگی‌های مورفولوژیکی، هیچگاه دستخوش تغییر نمی‌شوند و همواره به عنوان یک ویژگی ثابت در طبقه‌بندی و شناسایی میکروب‌ها مطرح هستند. امید است که نتایج حاصل از این تحقیق تا حدودی توانسته باشد، گامی در جهت شناساندن حضور جلبک‌های سمی در منابع آبی شرب و خطرات حاصل از آن‌ها در کشور برداشته باشد.

۶- مراجع

Akin-Oriola G, Lawton L (2005) Detection and quantification of toxins in cultures of microcystis aeruginosa (pcc 7820) by hplc and protein phosphatase inhibition assayffect of blending various collectors at bulk. African Journal of Science and Technology 6(1):1-10

Almuhtaram H, Cui Y, Zamyadi A, and Hofmann R (2018) Cyanotoxins and cyanobacteria cell accumulations in drinking water treatment plants with a low risk of bloom formation at the source. Toxins 10(11):430p

Atafar Z, Almasi A, Sarkhosh M, and Dargahi A (2015) Microbiological quality trend of drinking water in rural areas of kermanshah during 2004-2013. Journal of Environmental Health Enginering 3(1):10-19

Avatefinezhad G and Asrari E (2016) Evaluation of nitrate removal from the water using eichhornia crassipes. Iran-Water Resources Research 14(1):69-74 (In Persian)

Bartram J and Chorus I (1999) Toxic cyanobacteria in water: a guide to their public health consequences. Monitoring and Management CRC Press 600 p

Behdarvand N, Godini E, Godini H, and ShamsKhoramabadi G (2017) Study of effective factors on E. coli removal from water using solar radiation disinfection. Journal of Environmental Health Enginering 5(1):73-82 (In Persian)

Bláha L, Babica P, and Maršálek B (2009) Toxins produced in cyanobacterial water blooms-toxicity and risks. Interdisciplinary Toxicology 2(2):36-41

Díez-Quijada L, Puerto M, Gutiérrez-Praena D, Llana-Ruiz-Cabello M, Jos A, and Cameán A (2019) Microcystin-RR: Occurrence, content in water and food and toxicological studies. A Review, Environmental Research 168:467-489

Dittmann E, Wiegand C, and Research F (2006) Cyanobacterial toxins–occurrence, biosynthesis and impact on human affairs. Molecular Nutrition & Food Research 50(1):7-17

Falconer I, Humpage A, and Health P (2005) Health risk assessment of cyanobacterial (blue-green algal) toxins in drinking water. International Journal of Environmental Research and Public Health 2(1):43-50

Fathi F and Arjomandzadegan M (2018) Microbial heterotrophic analysis of water network in Arak city and its correlation with MPN, water physicochemical parameters and pipe material. Journal of Environmental Science and Technology 20(4):125-137

Genuario DB, Silva-Stenico ME, Welker M, Moraes L, and Fiore M (2010) Characterization of a microcystin and detection of microcystin synthetase genes from a Brazilian isolate of Nostoc. Toxicon 55(4):846-854

Imani S, Delavar M, and Niksokhan M (2017) Simulation and assessment of management practices for reduction of nutrients discharge to the zrebar lake using swat model. Iran-Water Resource Research 13(1):69-87 (In Persian)

Jaiswal P, Singh PK, and Prasanna R (2008) Cyanobacterial bioactive molecules- an overview of their toxic properties. Canadian Journal of Microbiology 54(9):701-717

Kabziński A, Juszczak R, Miękoś E, Tarczyńska M, Sivonen K, and Rapala J (2000) The first report about the presence of cyanobacterial toxins in Polish lakes. Polish Journal of Environmental 9(3):171-178

Komárek J, Kaštovský J, Mareš J, and Johansen J (2014) Taxonomic classification of cyanoprokaryotes (cyanobacterial genera), using a polyphasic approach. European Journal of Phycology 86(4):295-335

Lehtimäki J (2000) Characterisation of cyanobacterial strains originating from the Baltic Sea with emphasis on Nodularia and its toxin, nodularin. Academic Dissertation in Microbiology 79p

Liu L, Jokela J, Wahlsten M, Nowruzi B, Permi P, Zhang YZ, Xhaard H, Fewer DP, and Sivonen K (2014) Nostosins, trypsin inhibitors isolated from the terrestrial cyanobacterium Nostoc sp. strain FSN. Journal of Natural Products 22; 77(8):1784-90

saxitoxin and cylindrospermopsin. Marine Drugs 8(5):1650-1680

Pirsaheb M, Moradi M, Sharafi K, and Nasirinia E (2013) Evaluation of the relationship between microbial quality of drinking water and the cross-sectional outbreak of related diseases-Case study: Kangavar city (2005-2009). Journal of Health in the Field 1(2):9-16 (In Persian)

Sayyad Ghorbani Shirin F and Alidoost Nedamani S (2017) Evaluation of microbial contamination of Nawrood River to E. coli and Coliform bacteria based on global standards. Scientific Journal Management System 11(40):1-10

Sivonen K, Börner T (2008) Bioactive compounds produced by cyanobacteria. Genomics and Evolution, Caister Academic Press 159-197

Sivonen K, Carmichael W, Namikoshi M, Rinehart K, Dahlem A, and Niemelä S (1990) Isolation and characterization of hepatotoxic microcystin homologs from the filamentous freshwater cyanobacterium Nostoc sp. strain 152. Applied and Environmental Microbiology 56(9):2650-2657

SobhanArdakani S, Mehrabi Z, Ehteshami M (2014) Effect of aquaculture farms wastewater on physicochemical parameters of Kabkian River, 2011-12. Journal of Mazandaran University of Medical Sciences 15; 24(113):140-9 (In Persian)

Stewart I and Falconer I (2008) Cyanobabteria and cyanobacterial toxins. Oceans and human health: risks and remedies from the seas. Eds: Walsh PJ, Smith SL and Fleming LE, Academic Press 271-296

Szlag D, Sinclair J, Southwell B, and Westrick J (2015) Cyanobacteria and cyanotoxins occurrence and removal from five high-risk conventional treatment drinking water plants. Toxins 7(6):2198-2220

Weirich C (2017) Cyanobacteria and cyanotoxin ecology in lakes and drinking water. Theses and Dissertations 1553p

Westrick JA and Szlag D (2018) A cyanotoxin primer for drinking water professionals. Journal of American Water Works Association 110(8):E1-E16

Wood R (2016) Acute animal and human poisonings from cyanotoxin exposure-A review of the literature. Environment International 91:276-282

Lyon-Colbert A, Su S, and Cude C (2018) A systematic literature review for evidence of Aphanizomenon flos-aquae toxigenicity in recreational waters and toxicity of dietary supplements: 2000–2017. Toxins 10(7):254

McCleskey R, Nordstrom D, Ryan J, and Ball J (2012) A new method of calculating electrical conductivity with applications to natural waters. Geochimica et Cosmochimica Acta 77:369-382

Mokoena M, Mukhola M, Okonkwo O, and Research E (2016) Hazard assessment of microcystins from the household's drinking water. Applied Ecology and Environmental Research 14(3):695-710

Nasrollahzadeh Saravi H, Makhlogh A, Yaghobzadeh Z, Ghiasi M, Negarstan H, Pourang N, and Farabi S (2016) Study on biotic and abiotic parameters to determine water quality of Rajaei Dam (Mazandaran province-Sari). Iranian Fisheries Science Research Institute, 76pp (In Persian)

Nowruzi B, Blanco S, and Nejadsattari T (2018a) Chemical and molecular evidences for the poisoning of a duck by anatoxin-a, nodularin and cryptophycin at the coast of Lake Shoormast (Mazandaran Province, Iran). Int J Algae 20(4):359-376

Nowruzi B and Blanco S (2019) In silico identification and evolutionary analysis of candidate genes involved in the biosynthesis methylproline genes in cyanobacteria strains of Iran. Phytochemistry letters 29:199-211

Nowruzi B, Haghighat S, Fahimi H, and Mohammadi E (2018b) Nostoc cyanobacteria species: A new and rich source of novel bioactive compounds with pharmaceutical potential. Journal of Pharmaceutical Health Services Research 9(1):5-12

Nowruzi B, Khavari-Nejad R-A, Sivonen K, Kazemi B, Najafi F, and Nejadsattari T (2012) Identification and toxigenic potential of a Nostoc sp. Algae 27(4):303-313

Nowruzi B, Khavari-Nejad RA, Sivonen K, Kazemi B, Najafi F, and Nejadsattari T (2013) Identification and toxigenic potential of a cyanobacterial strain (Stigomena sp.). Progress in Biological Sciences 3(1):79-85

Pearson L, Mihali T, Moffitt M, Kellmann R, and Neilan B (2010) On the chemistry, toxicology and genetics of the cyanobacterial toxins, microcystin, nodularin,