تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۱/۵
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۲/۲۱

نشریه شیلات، مجله منابع طبیعی ایران
دوره ۶۸، شماره ۱، بهار ۱۳۹٤

ص ۱۱۷-۱۲۸

# تعیین میزان آناتوکسین-a در جلبک‌های سبز ـ آبی اکوسیستم‌های آبی استان گیلان

❖ **مریم فلاحی کپورچالی*:** دانشیار دپارتمان اکولوژی پژوهشکدهٔ آبزی‌پروری آب‌های داخلی کشور، مؤسسهٔ تحقیقات علوم شیلاتی کشور، بندرانزلی، ایران

## چکیده

شکوفایی شاخهٔ جلبک‌های سبز ـ آبی (Cyanophyta) طی فصل تابستان نقش قابل توجهی در مرگ ماهیان استخرهای پرورشی دارد. بنابراین، به منظور بررسی میزان سمیت جلبک‌های سبز ـ آبی غالب در استخرهای پرورش ماهیان گرمابی استان گیلان، هشت گونه از این شاخه جداسازی و پس از کشت، میزان سم آناتوکسین-a در آن‌ها با روش گازکروماتوگرافی با دستگاه GC-MS تعیین شد. نتایج نشان داد که میزان سم در گونهٔ *Aphanizomenon flos- aquae* با ۱۹/۹۱ میکروگرم بر کیلوگرم بیش از سایر گونه‌های مورد بررسی بود و کمترین میزان نیز در گونهٔ *Oscillatoria sp.* با ۱/۵۳ میکروگرم بر کیلوگرم برآورد شد. به طور کلی، شکوفایی زیاد جلبک‌های مورد بررسی به‌خصوص دو گونهٔ *Aphanizomenon flos- aquae* و *Anabaena flos- aquae* منجر به مرگ ماهیان در استخرهای پرورشی می‌شود.

**واژگان کلیدی**: استخرهای پرورشی، سمیت، شکوفایی، گاز کروماتوگرافی، *Aphanizomenon flos- aquae*

* Mahyarparvaneh2003@yahoo.com

## ۱. مقدمه

جلبک‌های سبز ـ آبی، معروف به سیانوباکترهای پروکاریوت، یکی از شاخه‌های مهم جلبکی است که در اکثر اکوسیستم‌های آبی مشاهده می‌شود. برخی از آن‌ها انواعی از متابولیت‌های ثانویه مانند آنتی‌بیوتیک، جلبک‌کش، سیتوتوکسیک و آنزیم‌های مهاری تولید می‌کنند (Mundt *et al.*, 2001). شکوفایی وسیع آن‌ها در دریاچه‌ها، استخرها و برخی نواحی اقیانوس‌ها آب را دچار مشکل می‌کند (Chorus & Bartram, 1999; Duy Skulberg, 1984 ;*et al.*, 2000). ممکن است با دفع ترکیبات فرار باعث طعم و بوی بد و نامطبوع شوند (Jones & Korth, 1995). بنابراین حیوانات مسموم می‌شوند و مصرف آن‌ها برای انسان خطرناک است.

چندین جنس از سیانوباکترها تشکیل بلوم‌های سمی می‌دهند و سموم آن‌ها اختصاصی است (Carmichael, 1992; Rinehart *et al.*, 1994). احتمالاً سنتز سموم یک نقطهٔ دفاعی سیانوباکترها در مقابل حملهٔ ارگانیسم‌های دیگر مثل باکتری‌ها، قارچ‌ها، زئوپلانکتون‌ها و میکروجلبک‌های یوکاریوت است.

Kulik (1995) دریافت که از رشد قارچ‌هایی با گرایش به بیماری‌های گیاهی در آزمایشگاه به وسیلهٔ مادهٔ تولیدشدهٔ انواع سیانوفیت‌ها جلوگیری می‌شود و آن‌ها انتخاب مناسبی برای کنترل بیولوژیکی در مقابل باکتری‌ها و قارچ‌های پاتوژن گیاهی‌اند. سموم سیانوباکتریایی یا سموم مربوط به جلبک‌های سبز ـ آبی تا به حال در آب دریاچه‌ها و منابع آب آشامیدنی در مناطق اروپا، شمال امریکا، چین، شمال افریقا و استرالیا گزارش شده است (Carmichael & Falconer, 1993). سیانوباکترها به طور کلی سه نوع سم تولید می‌کنند: نروتوکسین (سم عصبی)، هپاتوتوکسین (سم کبدی) و درماتوکسین (سم پوستی).

این سموم تا به حال باعث مرگ بسیاری حیوانات، همچنین در مواردی بیماری انسان‌ها شده‌اند (Carmichael & Falconer, 1993). آناتوکسین–a k نروتوکسین آلکالوئیدی و آمینو آلکالوئید ثانویه‌ای است که به وسیلهٔ گونه‌هایی مثل *Anabaena*، *Aphanizomenon Flos-aquae*، *Oscillatoria*، *Cylindrospermum* و *Phormidium* تولید می‌شود (Sivonen *et al.*, 1989). بیشترین سمیت ناشی از شکوفایی سیانوباکترها در آب‌های شور و شیرین از نوع پپتیدی حلقوی (هپاتوتوکسیک) و خانواده‌های *Microcystins* و *Nodularin* است.

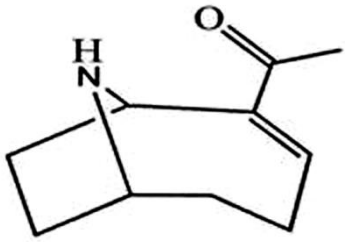
میکروسیستین‌ها، به‌منزلهٔ فراوان‌ترین سموم سیانوباکتریایی، بازدارنده‌های قوی آنزیم پروتئین فسفاتازهایند. مطالعهٔ آزمایشگاهی دربارهٔ حیوانات نشان داده است که میکروسیستین‌ها عامل مهمی در پیشرفت تومورند. هپاتوتوکسین‌ها از طریق ایجاد خونریزی کبدی در عرض چند ساعت باعث مرگ می‌شود.

نروتوکسین‌های سیانوباکتری‌ها شامل Anatoxins، Anatoxin-a(s) و Saxitoxin می‌شود.

Anatoxin-a(s) یگانه نروکسین طبیعی با ساختار N‌ـ هیدروکسی گوانیدین متیل فسفات استر و از نظر شیمیایی و فیزیولوژیکی با Anatoxin-a متفاوت است. Anatoxin-a (شکل ۱، R=CH3) اولین سم سیانوباکتریایی بود که از نظر ساختاری مشخص شد. این ترکیب آلکالوئیدی با ساختار دوحلقه‌ای غیرعادی است. آناتوکسین–a سمیت بالایی دارد (LD50= 200 µg/kg) و به‌منزلهٔ عامل کشندهٔ بسیار سریع نیز شناخته شده است (Carmichael, 1989). آناتوکسین–a آگونیستی نیکوتنیک قوی است که

به‌منزلهٔ عاملی پس‌سیناپسی، دپلاریزه‌کننده و بلوکه‌کنندهٔ ماهیچه‌های عصبی است. نشانه‌های آن در حیوانات شامل گرفتگی عضله، خفگی، تشنج و مرگ در نتیجهٔ توقف تنفس در عرض چند دقیقه است. آناتوکسین-a به طور کلی به وسیلهٔ جلبک‌های *Cylindrospermum spp*، *Anabaena flos-aquae*، *Oscillatoria*، *Aphanizomenon flos-aquae*، *Anabaena circinalis* ایجاد می‌شود. آناتوکسن-a به وسیلهٔ باکتری‌ها تخریب می‌شود (Kiviranta *et al.*, 1991) و در pH>۸ ناپایدار است (James *et al.*, 1997).

آلکالوئید غیرسمی پایدار دی‌هیدرو آناتوکسین-a از تودهٔ پیر *Anabaena flos-aquae* شناسایی شده و اخیراً اپوکسید آناتوکسین-a متابولیت غیرسمی آناتوکسین-a نیز از توده‌های متفاوتی مشاهده شده است (شکل ۱).




**شکل ۱. ساختارهای نروتوکسین‌ها، آناتوکسین-a (A، R= CH3)، همو آناتوکسین-a (A، R=C2H5)، و محصولات تخریبی آن، دی هیدرو آناتوکسین-a (B، R= CH3)، دی هیدرو هموآناتوکسین-a (B، R= C2H5)، اپوکسی آناتوکسین-a (R= CH3) و اپوکسی هموآناتوکسین- a (R= C2H5، C)**

به طور کلی، مسمومیت ناشی از سیانوباکترها برای موجودات از دو راه اتفاق می‌افتد. مصرف‌کردن سلول‌های سیانوباکتر در آب یا به طور غیرمستقیم از طریق مصرف غذایی از جانوران دیگری که به نوبهٔ خود قبلاً از سیانوباکترها تغذیه کرده و سیانوتوکسین‌ها در بدن آن‌ها انباشته شده‌اند. بدین طریق تأثیرات سمی در زنجیرهٔ غذایی دریایی به مقدار قابل توجهی افزایش می‌یابد. احتمال می‌رود که حساسیت گونه‌های زئوپلانکتونی به سم سیانوباکترها منجر به فشار انتخابی از نژادهای مقاوم و مطلوب یا گونه‌هایی از سیانوباکترها شود که به فراوانی در محیط‌های آبی یافت می‌شود (DeMott *et al.*, 1991).

## ۲. مواد و روش کار

### ۱.۲. دستگاه‌های مورد استفاده

۱. کوپل GC8000 مدل Thermo quest و Mstrio 1000 مدل Fisons با منبع یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت.

۲. GC-MS مدل Shimadzu، QP 1100EX با منبع یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت. نوع ستون، شرایط دمایی ستون و نحوهٔ تزریق به دستگاه GC-MS به قرار زیر است: نوع ستون Cp-Sil ۵ CB، ۳۰m؛ دمای اولیهٔ ستون ۴۰ درجهٔ سانتی‌گراد؛ زمان توقف در دمای ۴۰ درجهٔ سانتی‌گراد،یک دقیقه؛ سرعت افزایش دما ۱۵ درجهٔ سانتی‌گراد بر دقیقه؛ دمای نهایی ستون ۲۵۰ درجهٔ سانتی‌گراد؛ مدت توقف در دمای ۲۵۰، ۱۵ دقیقه؛ دمای محل تزریق ۲۵۰ درجهٔ سانتی‌گراد؛ دمای منبع یونیزاسیون ۲۰۰ درجهٔ سانتی‌گراد؛ حساسیت دتکتور ۵۰۰؛ نحوهٔ تزریق Splitless؛ زمان Splitless ۴۵ ثانیه؛ حجم تزریق L ۲؛ نوع گاز حامل هلیم؛ فلوی گاز حامل ۱/۵ میلی‌لیتر بر دقیقه.

### ۲.۲. مواد شیمیایی

(+) آناتوکسین-a به صورت نمک فومارات از کمپانی Sigma خریداری و به‌منزلهٔ استاندارد مرجع استفاده شد. متانول با خلوص > ۹۹/۵٪، سدیم هیدروکسید

با خلوص >۹۸٪ و دی کلرو متان بـا خلـوص > ۹۹٪ از کمپـانی Merck و اسـید هیـدروکلریک ۳۲٪ از کمپانی Roth خریداری شد.

### ۳.۲. تهیهٔ استاندارد تجزیه‌ای

نمک فومارات (±) آناتوکسین-a با وزن ۱ میلی‌گرم در ۵ میلی‌لیتر آب دو بار تقطیر حل شد. از آنجا کـه نمـک آناتوکسـین-a در آب بـه فـرم کـاتیون اسـت، خروج آن از ستون GC امکان‌پـذیر نیسـت. بنـابراین، باید آن را به فرم خنثی درآورد، سپس برای اسـتخراج آن از محیط آبی از عملیات استخراج مایع- مایع اسـتفاده کرد. برای این امـر تـا حـد خنثـی‌شـدن بـه آن محلـول ۰/۱ M NaOH اضافه شد. از آنجا که pKa مربوط بـه آناتوکسـین-a ۹/٤ اسـت، بنـابراین pH محلـول بایـد کمتر از این مقدار باشـد تـا بـه صـورت آنیـون بـاقی نماند. سپس، به آن ۲ میلی‌لیتر حـلال آلـی دی کلـرو متان اضافه شد. مخلوط تکان داده شد تا آناتوکسـین-a خنثی و وارد فاز آلی شود. سـپس، فـاز آلـی از آب جدا و تا حدود ۱۰۰ L با عبـور گـاز خنثـی نیتـروژن تغلیظ شد. سپس، به دستگاه GC-MS تزریق شد.

### ۴.۲. اسـتخراج آناتوکسـین-a از گونـه‌هـای سیانوباکتریایی

برای اسـتخراج آناتوکسـین-a، نخسـت جلبـک‌هـای کشت داده شده با دور ۵۰۰۰ بر دقیقـه بـه مـدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شد. سپس، جلبک‌های سانتریفوژشده برای آبگیری بیشتر بـا کاغـذ Whatman No.1 صـاف شـد و بـه مـدت ٤۸ سـاعت تحـت عملیـات Freez drying قرار گرفت تا آب موجود در سلول‌هـا کـاملاً گرفته شود. جلبـک‌هـای لیوفیلیزشـده تحـت فراینـد استخراج قرارگرفت، بدین صورت که برای شکسـتن دیوارهٔ سلولی جلبک و استخراج سم از محـیط درون سلولی آن، به ۱ گرم جلبک لیوفیلیزشده ۱۰۰ سی‌سی متانول و ۱ سی‌سی اسید هیدروکلریک M ۱ اضـافه و محلول به مدت ۱۰ ساعت با همزن الکتریکی هم زده شد. سپس، محلول با شرایط مشـابه قبلـی سـانتریفوژ شد و محلول رویی جمع‌آوری و با کاغـذ Whatman No. 1 صاف شد و در دمای ۵۰ درجهٔ سانتی‌گـراد بـا هـدایت جریـان آرام نیتـروژن تغلـیظ و بـه صـورت direct به دستگاه GC- MS تزریق شد. این عمل برای هشت گونهٔ سیانوباکتر انجام شد.

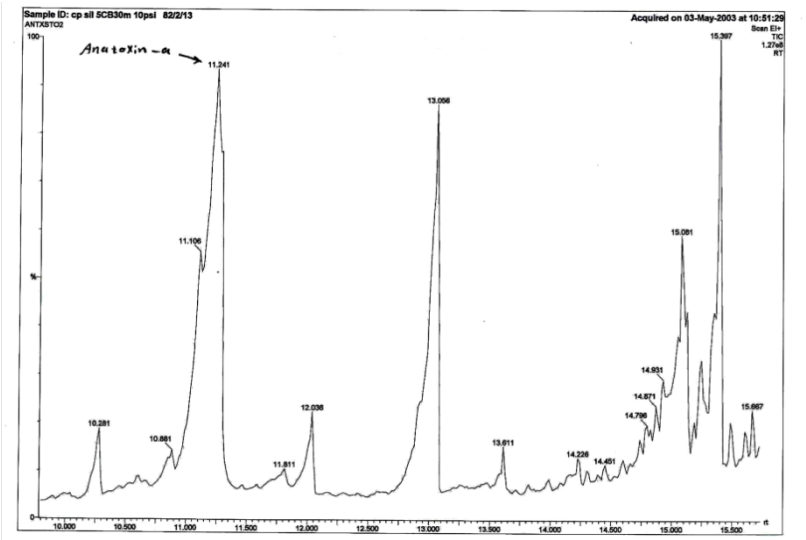
در بسـیاری از مقـالات بـه منظـور آنـالیز آناتوکسـین-a در GC-MS، اسـتخراج بـه طریـق فـاز جامد به منظور خلـوت‌کـردن مـاتریکس و اسـتخراج انتخابی و مشتق‌سازی، برای تیزترشدن پیک‌هـای GC آن و کاهش زمان بازداری گزارش شده اسـت. چـون آناتوکسـین-a آمـین نـوع دوم اسـت از روش‌هـای مشـتق‌سـازی مناسـب بـرای آن، اسـتیله‌کـردن و سیلانه‌کردن است. یکی از مشکلات سیلانه‌کردن ایـن است کـه اضـافی واکـنش‌گـر سـیلانه‌کننـده موجـب تخریب ستون GC می‌شود که باید به طریقـی پـس از انجام واکـنش، اضـافی واکنشـگر را حـذف کـرد کـه ممکن است مقداری نمونه نیز خارج شود. در فراینـد استیله‌کردن نیز یکی از مشـکلات احتمـال هـدررفتن مقداری از نمونه است.

## ۳. نتایج

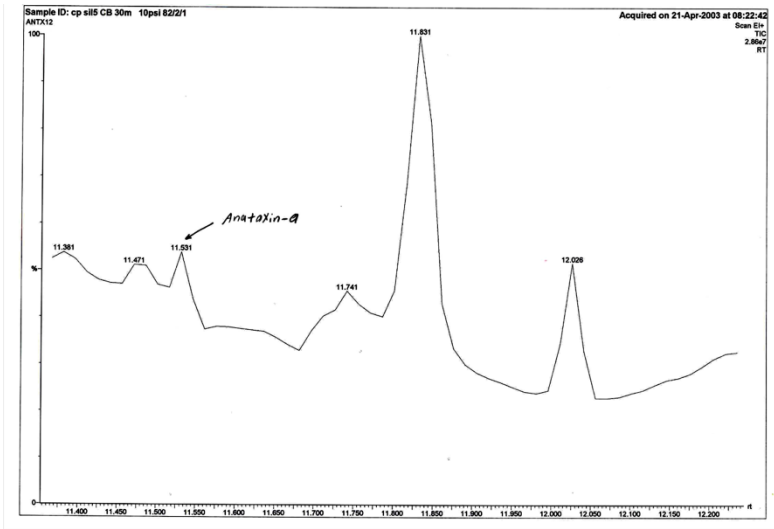
زمان بازداری نمونهٔ استاندارد آناتوکسین-a با شـرایط GC-MS ذکرشده ۱۱/۲٤۱ بود. زمان‌های بازداری این ترکیب در هشت نمونـهٔ سـیانوباکتری در جـدول ۱ و بـزرگ‌نمـایی TIC نمونـهٔ اسـتاندارد آناتوکسـین-a و هشت گونه از جلبک‌های سبز- آبی برای این سـم در شکل ۲ تا ۱۰ آمده است.

**جدول ۱. زمان بازداری و میزان آناتوکسین-a در برخی از جلبک‌های سبز ـ آبی تالاب انزلی**

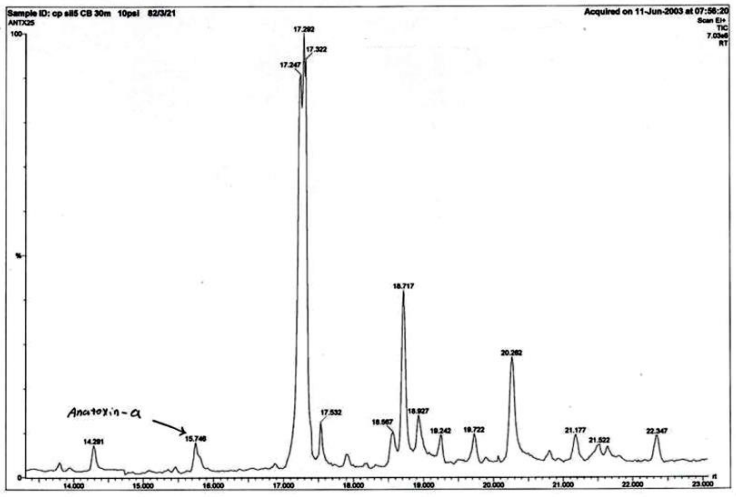
| نام نمونه | مقدار گرم مصرفی | زمان بازداری | نتیجـــه آشکارسازی | مقادیر کمی (µg/Kg) |
|---|---|---|---|---|
| (+)-Anatoxin-a | ۱میلی‌گرم | ۱۱/۲٤۱ | مثبت | |
| *Anabaena spp.* | ۱ گرم | ۱۱/٥٦۱ | مثبت | ۱/۸۷ |
| *A.aphanizomenoides* | ۰/۳۲ گرم | ۱۱/٤۸٦ | مثبت | ۱٤/۹۸ |
| *Anabaena circinalis* | ۱ گرم | ۱۱/٥۱٦ | مثبت | ۱۰/۷۹ |
| *A. flos-aquae* | ۰/۲۲۳ گرم | ۱۱/٥۳۱ | مثبت | ۱۸/٥۱ |
| *Aphanizomenon flos- aquae* | ۱ گرم | ۱۱/۳۹٦ | مثبت | ۱۹/۹۱ |
| *A.Oscillarioides* | ۰/۲٦٥ گرم | ۱۱/٦۲۱ | مثبت | ۱٤/۱٤ |
| *Nostoc sp.* | ۱ گرم | ۱۱/٥۳۱ | مثبت | ۱٥/۷٥ |
| *Oscillatoria sp.* | ۱ گرم | ۱٥/۷٤٦ | مثبت | ۱/٥۳ |



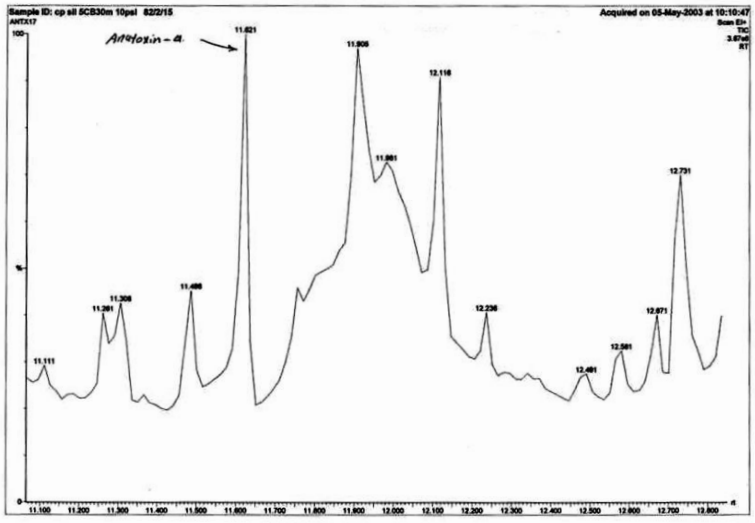

**شکل ۲. بزرگ‌نمایی TIC نمونهٔ استاندارد آناتوکسین-a**



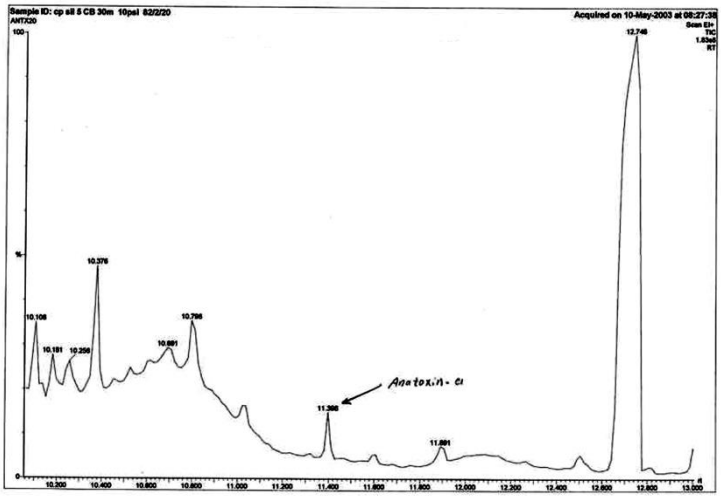

**شکل ۳. بزرگ‌نمایی TIC در جلبک *Anabaena flos-aquae* با بیشترین سم آناتوکسین-a**



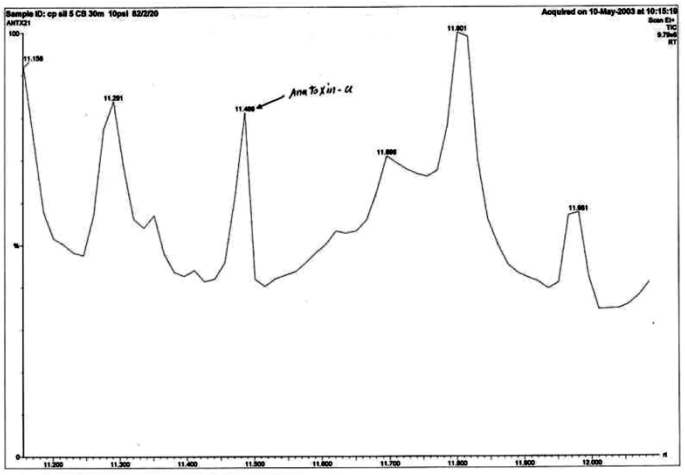

**شکل ٤. بزرگ‌نمایی TIC در جلبک *Oscillatoria sp.* با کمترین میزان سم آناتوکسین-a**



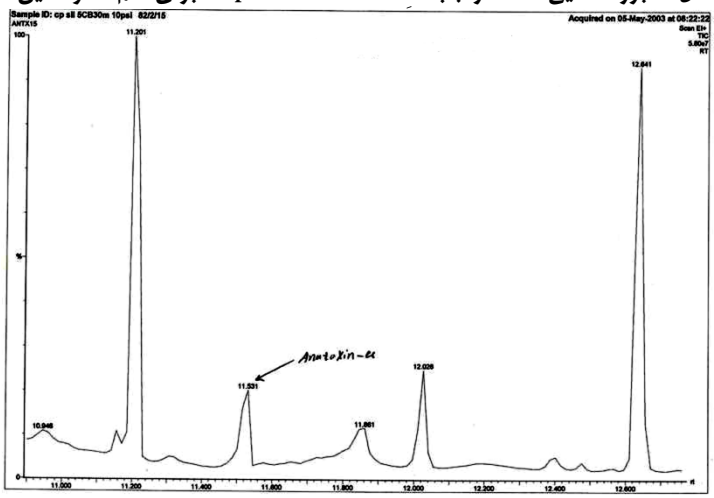

**شکل ٥. بزرگ‌نمایی TIC در جلبک *A.Oscillarioides* برای سم آناتوکسین-a**



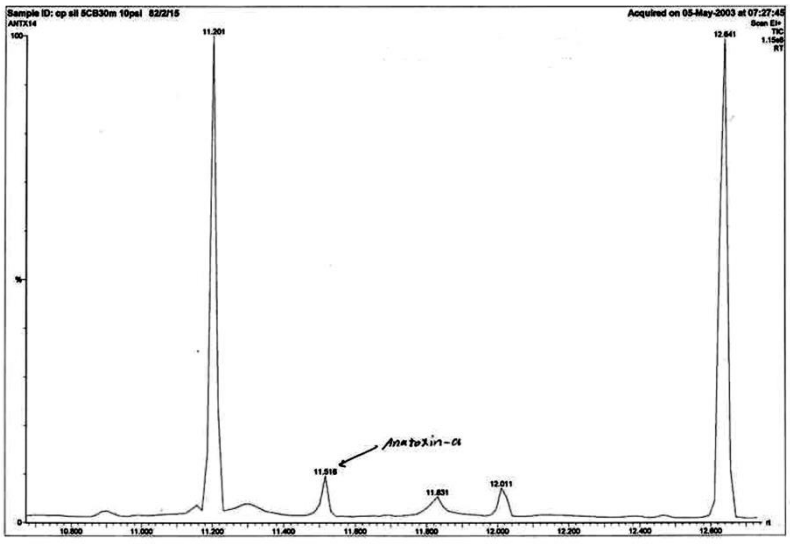

**شکل ٦. بزرگ‌نمایی TIC در جلبک *Aphanizomenon flos- aquae* برای سم آناتوکسین-a**



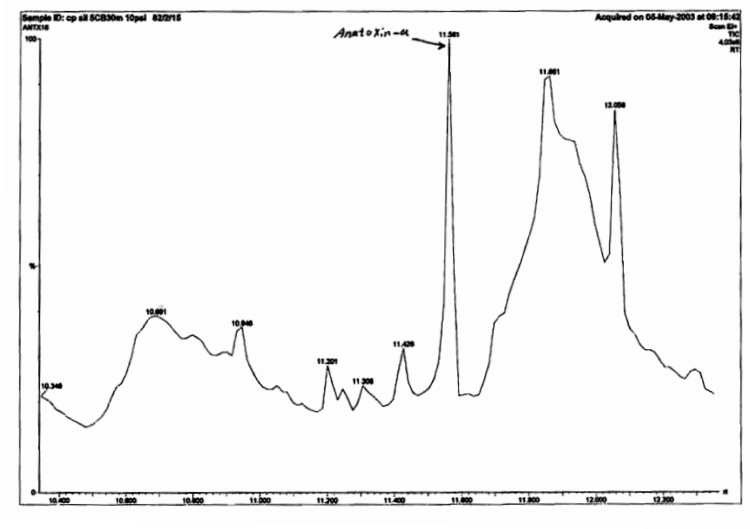

**شکل ۷. بزرگ‌نمایی TIC در جلبک *A.aphanizomenoides* برای سم آناتوکسین-a**




**شکل ۸. بزرگ‌نمایی TIC در جلبک *Nostoc sp.* برای سم آناتوکسین-a**




**شکل ۹. بزرگ‌نمایی TIC در جلبک *Anabaena circinalis* برای سم آناتوکسین-a**



**شکل ۱۰. بزرگ‌نمایی TIC در جلبک *Anabaena spp.* برای سم آناتوکسین-a**

بیشترین میزان آناتوکسین-a متعلق به میکروجلبک *Aphanizomenon flos- aquae* و در حدود ۱۹/۹۱ میکروگرم در هر کیلوگرم و کمترین مقدار متعلق به میکروجلبک *Oscillatoria sp.* با میزان ۱/۵۳ میکروگرم در هر گرم بوده است.

به طور کلی، زمان بازداری نمونه‌ها نسبت به نمونهٔ استاندارد بیشتر است و این امر را می‌توان به برهم‌کنش میان ماتریکس و آناتوکسین-a و تفاوت حلال نمونهٔ استاندارد و حقیقی نسبت داد.

نکتهٔ قابل توجه در آنالیز این ترکیب حساسیت این ترکیب به نور و دمای بالاست. بنابراین، نگهداری نمونه‌های مورد آنالیز باید در دمای ۸-٤ درجهٔ سانتی‌گراد و به دور از نور انجام شود.

شکست‌های مشاهده‌شده در طیف جرمی آناتوکسین-a به صورت زیر است: (M)+۱٦٥، (M+H)+۱٦٦، (M-H)+۱٦٤، (M-CH3)+۱٥۰، (M-CHO)+۱۳٦، (M-C2H4O)+۱۲۲، (M-C7H6O)+۸۲، (M-C6H9O)+٦۸، (CH3CO)+٤۳.

## ٤. بحث و نتیجه‌گیری

با توجه به اینکه میزان LD50 برای آناتوکسین-a ۲۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم برآورد شده (Carmichael, 1989)، نتایج حاضر نشان داد که میزان سم آناتوکسین-a در جلبک‌های سبز- آبی مورد آزمایش کمتر از مقدار فوق است. بیشترین مقدار آناتوکسین-a متعلق به جلبک‌های سبز- آبی *Aphanizomenon flos aquae*، *Anabaena flos-aquae* به ترتیب با ۱۹/۹۱ و ۱۸/۵۱ میکروگرم بر کیلوگرم بوده است، البته وجود سایر سموم در این جلبک‌ها می‌بایست در آینده آنالیز شود.

نتایج نشان داد که زمان بازداری نمونهٔ استاندارد آناتوکسین-a با شرایط ذکرشده GC-MS ۱۱/۲٤۱ دقیقه بوده است. در واقع، این سم بعد از ۱۱/۲٤۱ دقیقه از شروع تزریق از ستون خارج شد و استخراج سم آناتوکسین-a در بقیهٔ جلبک‌ها به این زمان نزدیک بود. تمامی جلبک‌های مورد آزمایش وجود این سم را نشان داد. جرم مولکولی N- استیل آناتوکسین-a ۲۰۷ است که در نتایج طیف جرمی این

طرح نیز مشهود بود. Ross *et al.* (1989) نشان دادند که در طیف چنین ترکیبی جرم‌های ٦٨، ١٣٦، ١٦٥، ٩٤ و ١٥٠ نیز قابل مشاهده است که وجود جرم‌های ٦٧، ١٣٧، ٩٧ و ١٤٩ به ترتیب طیف جرمی وجود احتمالی سم را در نمونه نشان می‌دهد و در مشاهدهٔ طیف‌های جرمی طرح حاضر این موضوع کاملاً مشخص بود.

آناتوکسین-a اولین سمی است که از نظر شیمیایی تعریف و از *Aphanizomenon flos-aquae* و *Oscillatoria sp.* جداسازی شد (Skulberg *et al.*, 1992).

شایان ذکر است که استخراج آناتوکسین-a تاکنون در گونه‌های فیتوپلانکتونی تالاب انزلی و آب‌های داخلی گیلان انجام نشده و فقط نجاتخواه (١٣٨١) تأثیر استخراج چند جلبک سبز- آبی تالاب انزلی را روی موش و ماهی بررسی کرد و متوجه شد که یکی از جلبک‌ها به نام *Planktothrix agardhii (Oscillatoria)* باعث خونریزی و بیرون‌زدگی مخرج، بزرگ‌شدن کبد، افزایش نسبت وزن کبد به وزن موش، پرخونی کبد و نقاط نکروزی روی این اندام شد که با توجه به بی‌حالی، کج‌شدن ستون فقرات و آسیب‌های بافتی در کبد، کلیه و ریه، وجود سم میکروسیستین را در این جلبک احتمال داد. همچنین، بیان کرد که وقتی ماهی فیتوفاگ (کپور نقره‌ای) را در مقابل این جلبک قرار داد، پرخونی در هپاتوپانکراس و تا حدی کلیه دیده شد و وقتی در معرض مقدار بیشتری از جلبک قرارگرفت در بخش‌هایی از کبد آسیب و نکروز سلولی مشاهد شد و با افزایش زمان، سلول‌های کبدی به کلی تخریب و نقاط واضح خونریزی دیده شد.

سیانوتوکسین‌ها در داخل سلول‌های سیانوباکترهایی که در مرحلهٔ رشد فعال‌اند تولید می‌شوند و در همان‌جا باقی می‌مانند. آزادشدن این ترکیبات در محیط، به‌منزلهٔ سم محلول، اغلب طی مرحلهٔ پیری سلول‌ها یا مرگ و متلاشی‌شدن آن اتفاق می‌افتد. معمولاً طی فاز لگاریتمیک رشد در محیط کشت، فقط ١٠ تا ٢٠ درصد یا کمتر از کل سم موجود در محیط مربوط به میزان خارج سلولی آن است (Sivonen *et al.*, 1989).

وقتی سلول‌ها وارد فاز ثابت رشد خود می‌شوند، افزایش مرگ سلولی ممکن است منجر به افزایش غلظت سم محلول شود. حتی در فاز لگاریتمی رشد در محیط کشت، درصد کوچکی از جمعیت سلول‌ها ممکن است دچار مرگ سلولی شود و سموم داخل سلولی خود را آزاد کند و این در حالی است که رشد جمعیت سلولی مثبت در محیط کشت وجود دارد. در محیط طبیعی، جمعیت‌های شکوفای سالم سم خارج سلولی اندکی تولید می‌کند. در دریاچه و رودخانه، به‌ویژه هنگامی که باد یا جریان‌های آبی شدید آب را دائماً مخلوط می‌کند، سموم آزادشده از سلول به‌سرعت با تودهٔ عظیم آب رقیق می‌شود. به هر حال، غلظت سموم محلول در شکوفایی‌های مسن یا در حال انحطاط احتمالاً بسیار بالاتر است (Berg *et al.*, 1987).

مطالعات (Watanabe & Oishi, 1985) نشان داده است که اگر سیانوباکترها در معرض شرایط محیطی مطلوب قرار بگیرد، اغلب تولید سم می‌کند و گونه‌های مختلف سیانوباکترها احتیاج به میزان نور متفاوتی دارد؛ برای مثال، آسیلاتوریا نور با شدت کم را ترجیح می‌دهد، در حالی که آنابنا به نور متوسط و جنس آفانی فومنون به نور با شدت بالا برای رشد مطلوب نیازمند است.

همهٔ گونه‌های تولیدکنندهٔ سم غالباً هنگامی که تحت شرایط نوری مناسب خود قرار گیرند و رشد کنند سموم را تولید می‌کنند. به همین ترتیب، میزان تولید سم به مقدار نیتروژن موجود بستگی دارد، به طوری که جنس آسیلاتوریا در بالاترین غلظت نیتروژن، حداکثر سم و در پایین‌ترین حد نیتروژن حداقل آن را تولید می‌کند. برای اغلب گونه‌های سیانوباکتر و نژادهای آن‌ها دمای ۱۸ و ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد دمای مناسب است و در دمای کمتر از ۱۰ درجه یا دماهای خیلی بالا مثلاً ۳۰ درجهٔ سانتی‌گراد میزان سموم محتوی سیانوباکتر به‌شدت کاهش می‌یابد. در pH اسیدی یا قلیایی میزان سمیت آن‌ها افزایش می‌یابد. در غلظت‌های بالای فسفر، گونه‌های هپاتوتوکسیک سم بیشتری تولید می‌کند، اما غلظت فسفر در میزان تولید آناتوکسین-a تأثیری ندارد. جنس‌هایی که قدرت تثبیت نیتروژن را ندارند، مثل میکروسیستین و آسیلاتوریا، در شرایط غنی از نیتروژن میزان سم بیشتری تولید می‌کنند، اما جنس‌های تثبیت‌کنندهٔ نیتروژن برای تولید سم وابستگی به میزان نیتروژن محیط ندارند (Rapala *et al.*, 1993).

Lukač & Aegerter (1993) دریافتند که تنها فلز کمیابی که هم برای رشد و هم برای تولید سم مورد نیاز است روی (Zinc) است.

Carmichael (1992) دریافت که سموم سیانوباکترها بی‌نهایت برای گونه‌های زئوپلانکتونی که از سیانوباکترها تغذیه می‌کنند، مضر است. آن‌ها ممکن است مستقیماً بمیرند یا که تولیدمثل آن‌ها کاهش یابد.

با توجه به نتایج مطالعهٔ حاضر میزان آناتوکسین-a در این جلبک‌ها کم است، اما اگر این جلبک به میزان خیلی انبوه در اکوسیستمی شکوفا شود، ممکن است موجودات را دچار خطر کند. بنابراین کنترل رشد این جلبک‌ها در اکوسیستم‌های استخری بسیار مهم است. از طرف دیگر، می‌بایست مطالعات جامعی دربارهٔ سموم دیگر در همهٔ جلبک‌های سبز آبی تالاب انزلی و کلاً اکوسیستم‌های آبی ایران انجام شود تا مدیریت صحیح‌تری را برای حفظ منابع آبی اعمال کرد.

## تشکر و قدردانی

از حمایت و زحمات جناب آقای دکتر مطلبی ریاست محترم وقت مؤسسهٔ تحقیقات شیلات ایران، جناب آقای دکتر شریف روحانی معاونت محترم پژوهشی مؤسسهٔ تحقیقات شیلات ایران و همهٔ همکارانم در پژوهشکدهٔ آبزی‌پروری آب‌های داخلی کمال سپاس و تشکر را دارم.

# References

[1]. Berg, K., Skulberg, O.M., Skulberg, R., 1987. Effects of decaying toxic blue-green algae on water quality, a laboratory study. Archiv für Hydrobiologie 108, 549-563.

[2]. Carmichael, W., 1989. Freshwater cyanobacteria (blue-green algae) toxins. Natural Toxins: characterization, pharmacology and therapeutics, CL Ownby, and GV Odell, Eds., Pergamon Press, Oxford, 3-16.

[3]. Carmichael, W., 1992. Cyanobacteria secondary metabolites—the cyanotoxins. Journal of Applied Microbiology 72, 445-459.

[4]. Carmichael, W.W., Falconer, I.R., 1993. Diseases related to freshwater blue-green algal toxins, and control measures. In: Falconer IR, editor. Algal toxins in seafood and drinking water. London: Academic Press; 1993. pp. 187–209.

[5]. Chorus, I., Bartram, J., 1999. Toxic cyanobacteria in water: A guide to their public health consequences, monitoring and management. Spon Press, p.

[6]. DeMott, W.R., Zhang, Q.-X., Carmichael, W.W., 1991. Effects of toxic cyanobacteria and purified toxins on the survival and feeding of a copepod and three species of Daphnia. Limnology and Oceanography 36, 1346-1357.

[7]. Duy, T.N., Lam, P.K., Shaw, G.R., Connell, D.W., 2000. Toxicology and risk assessment of freshwater cyanobacterial (blue-green algal) toxins in water. Springer, p.

[8]. James, K.J., Sherlock, I.R., Stack, M.A., 1997. Anatoxin-a in Irish freshwater and cyanobacteria, determined using a new fluorimetric liquid chromatographic method. Toxicon 35, 963-971.

[9]. Jones, G.J., Korth, W., 1995. < i> In situ</i> production of volatile odour compounds by river and reservoir phytoplankton populations in Australia. Water Science and Technology 31, 145-151.

[10]. Kiviranta, J., Sivonen, K., Lahti, K., Luukkainen, R., Niemelä, S., 1991. Production and biodegradation of cyanobacterial toxins-a laboratory study. Archiv für Hydrobiologie 121, 281-294.

[11]. Kulik, M.M., 1995. The potential for using cyanobacteria (blue-green algae) and algae in the biological control of plant pathogenic bacteria and fungi. European journal of plant pathology 101, 585-599.

[12]. Lukač, M., Aegerter, R., 1993. Influence of trace metals on growth and toxin production of< i> Microcystis aeruginosa</i>. Toxicon 31, 293-305.

[13]. Mundt, S., Kreitlow, S., Nowotny, A., Effmert, U., 2001. Biochemical and pharmacological investigations of selected cyanobacteria. International journal of hygiene and environmental health 203, 327-334.

[14]. Rapala, J., Sivonen, K., Luukkainen, R., Niemelä, S.I., 1993. Anatoxin-a concentration inAnabaena andAphanizomenon under different environmental conditions and comparison of growth by toxic and non-toxicAnabaena-strains—a laboratory study. Journal of applied phycology 5, 581-591.

[15]. Rinehart, K.L., Namikoshi, M., Choi, B.W., 1994. Structure and biosynthesis of toxins from blue-green algae (cyanobacteria). Journal of applied phycology 6, 159-176.

[16]. Ross, M.M., Kidwell, D.A., Callahan, J.H., 1989. Mass spectrometric analysis of anatoxin-a. Journal of analytical toxicology 13, 317-321.

[17]. Sivonen, K., Kononen, K., Carmichael, W., Dahlem, A., Rinehart, K., Kiviranta, J., Niemela, S., 1989. Occurrence of the hepatotoxic cyanobacterium Nodularia spumigena in the Baltic Sea and structure of the toxin. Applied and Environmental microbiology 55, 1990-1995.

[18]. Skulberg, O.M., Skulberg, R., Carmichael, W.W., Andersen, R.A., Matsunaga, S., Moore, R.E., 1992. Investigations of a neurotoxic oscillatorialean strain (Cyanophyceae) and its toxin. Isolation and

characterization of homoanatoxin-a. Environmental toxicology and chemistry 11, 321-329.

[19]. Skulberg, O.M.C., G. A.; and Carmichael, W. W, 1984. Toxic blue-green algal blooms in Europe: a growing problem. Ambio 13(4), 244-247.

[20]. Watanabe, M.F., Oishi, S., 1985. Effects of environmental factors on toxicity of a cyanobacterium (Microcystis aeruginosa) under culture conditions. Applied and Environmental microbiology 49, 1342-1344.