



Feasibility Study of the Construction and Evaluation of a Soil Moisture Sensor in Different Soil Textures

B. Moravejalahkami^{1*} and M. Baghshahi²

Abstract

Real-time irrigation management considering field condition, has an important role on water saving and stability of agricultural and horticultural production. One of the approaches of real time irrigation management is the use of soil moisture sensors that have important effect on improving water productivity. In this study the feasibility of designing and evaluation of Iranian soil moisture accompanying watermark sensor was investigated in different soil textures. For designing and calibrating of Iranian soil moisture sensor, an experiment was conducted in 2018 and 2019 at Soil and Water Department of Yazd Agricultural and Natural Resources Research and Education Center. The designed sensor was evaluated in three different soil textures including sandy clay loam, loamy and silty clay with 4 replications. The designed and watermark sensors were calibrated in three soil textures, compared and validated with the direct method of soil moisture measurement. Results showed that the designed and watermark sensor could estimate soil moisture in loamy and sandy clay loam soil textures with proper precision. While in silty clay soil texture both designed and watermark sensors couldn't estimate the soil water content with acceptable precision. According to the results of this study, for soil water content lower than 50%AW (50% of available water), the designed and watermark sensors could accurately estimate the soil moisture. While for the soil water content upper than field capacity these sensors couldn't acceptably estimate soil moisture.

Keywords: Soil Moisture Sensor, Agricultural Water Productivity, Smart Irrigation.

Received: November 9, 2019

Accepted: February 8, 2020

امکان‌سنجی ساخت و ارزیابی یک سنسور رطوبت‌سنج در بافت‌های متفاوت خاک

بی‌تا مروج‌الاحکامی^{۱*} و مرضیه باغشاهی^۲

چکیده

مدیریت به‌هنگام آبیاری با لحاظ شرایط حاکم بر منطقه، نقش بسیار مهمی در صرفه‌جویی مصرف آب و حفظ عملکرد محصولات باغی و زراعی ایفا خواهد کرد. یکی از راهکارهای مدیریت به‌هنگام آبیاری، استفاده از سنسورهای رطوبت‌سنج خاک است که تأثیر قابل توجهی بر بهبود بهره‌وری آب خواهد داشت. در این مطالعه ضمن امکان‌سنجی طراحی سنسور رطوبت‌سنج ایرانی، دقت سنسور طراحی شده و watermark در بافت‌های متفاوت خاک بررسی شد. به منظور طراحی و کالیبراسیون سنسور رطوبت‌سنج ایرانی، آزمایش‌های مربوط به طراحی و ساخت سنسور مذکور در سال‌های ۱۳۹۷ تا ۱۳۹۸ در آزمایشگاه بخش تحقیقات خاک و آب مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان یزد انجام شد. سنسور طراحی شده در ۳ بافت خاک متفاوت لوم رسی شنی، لومی و رس سیلتی مورد ارزیابی قرار گرفت. سنسور طراحی شده و سنسور watermark در هر ۳ بافت خاک، واسنجی و با ارقام رطوبت مشاهده شده به روش مستقیم وزنی مقایسه و صحت‌سنجی شدند. نتایج نشان داد که سنسور طراحی شده و سنسور watermark در بافت خاک لومی و لوم رسی شنی قادر به برآورد نسبتاً دقیق رطوبت وزنی خاک هستند. در حالیکه در بافت خاک رس سیلتی سنسور طراحی شده و سنسور watermark دقت مناسبی در برآورد رطوبت خاک نداشتند. بر اساس نتایج این مطالعه سنسور watermark و سنسور طراحی شده در رطوبت‌های کمتر از ۵۰ درصد کل آب قابل دسترس قادر به تخمین نسبتاً دقیق رطوبت خاک هستند. این در حالی است که سنسورهای مذکور در رطوبت‌های بیشتر از حد زراعی تخمین دقیقی از رطوبت خاک نداشتند.

کلمات کلیدی: سنسور رطوبت‌سنج خاک، بهره‌وری آب کشاورزی، آبیاری هوشمند.

تاریخ دریافت مقاله: ۹۸/۸/۱۸

تاریخ پذیرش مقاله: ۹۸/۱۱/۱۹

1- Assistant Professor, Soil and Water Research Department, Yazd Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Yazd, Iran, E-mail: b.moravej@areeo.ac.ir

2-The Laboratory Expert, Soil and Water Research Department, Yazd Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Yazd, Iran.

*- Corresponding Author

۱- استادیار بخش خاک و آب، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان یزد، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، یزد، ایران.

۲- کارشناس آزمایشگاه بخش خاک و آب، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان یزد، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، یزد، ایران.

*- نویسنده مسئول

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

۱- مقدمه

محدود است (Namdar Khojasteh, 2011). TDR به عنوان روشی جدید از سرعت و دقت نسبتاً زیادی در اندازه‌گیری رطوبت خاک حتی در خاک‌های شور برخوردار است، ولی کاربرد آن در سطوح وسیع زمان بر می‌باشد (Alizadeh, 2004; Roughai et al., 2012). کاربرد بلوک‌های گچی ارزان‌ترین روش اندازه‌گیری رطوبت خاک است که می‌توان از آنها به تعداد زیاد در تخمین رطوبت خاک استفاده کرد (Goodwin, 2000). بزرگترین مشکل بلوک‌های گچی حساسیت به شوری محلول خاک است. اگرچه عمر مفید بلوک‌های گچی تا ۵ سال ذکر می‌شود ولی عملاً در خاک‌های شور یا آلی و خاک‌های مرطوب عمر مفیدی بیشتر از ۱ سال نخواهند داشت (Eldredge et al., 1993; Ganjegunte et al., 2012). یکی از انواع سنسورهای بلوک گچی، سنسورهای watermark است. این تکنولوژی توسط چند شرکت از جمله Spectrum و Irrrometer ارائه شده است که شامل الکترودهایی با مقاومت بالا به خوردگی است که در داخل بافت مشبک قرار گرفته است. گچ استفاده شده در این نوع سنسور منجر به ایجاد محیط بافری برای تعدیل اثرات شوری در خاک و آب کشاورزی می‌گردد. اندازه‌گیری مکش خاک با استفاده از سنسور watermark در دامنه ۰ تا ۲۰۰ سانتی بار امکان‌پذیر است (Rahmani and Ghaemi, 2013). بر اساس توصیه فنی شرکت Irrrometer این سنسور تا شوری خاک حدود ۳ دسی زیمنس بر متر دقت مناسبی داشته و در صورت افزایش شوری خاک نیاز به تصحیح و کالیبراسیون دارد (<http://www.irrometer.com>).

Thompson et al. (2006) برای اندازه‌گیری پتانسیل ماتریک خاک، سنسور watermark مدل SS200 و تانسومتر را مورد ارزیابی قرار دادند. با توجه به معادله کالیبراسیون به دست آمده، سنسور watermark دقت بالایی در برآورد رطوبت خاک داشت. البته این دقت بستگی مستقیم با کالیبراسیون دقیق این سنسور با توجه به شرایط حاکم بر محل مورد مطالعه دارد.

همچنین در مطالعه انجام شده توسط Heaton (2007)، در ۲۰ مزرعه یونجه و به منظور تعیین زمان مناسب آبیاری، سه سنسور watermark در اعماق ۱، ۲ و ۴ فوتی نصب شدند. هدف از نصب این سنسورها یافتن نقطه زمانی شروع آبیاری بود. در این مطالعه دو سیستم آبیاری غرقابی و سنتر پایووت مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس نتایج این مطالعه عدم استفاده از این سنسورها در برنامه‌ریزی آبیاری، منجر به بیش آبیاری خواهد شد.

براساس مطالعات Varble et al. (2010) لزوم واسنجی سنسور watermark در مزرعه امری ضروری برای افزایش دقت سنسور در

با توجه به وضعیت بحران کمی و کیفی آب در مناطق مرکزی ایران، لزوم تعیین دقیق‌تر مقدار آب مورد نیاز گیاهان باغی و زراعی امری ضروری است. به گونه‌ای که عدم توجه به این مسأله در آینده بسیار نزدیک منجر به نبود آب کافی برای آبیاری باغات و مزارع یا تحمیل هزینه سنگین مصرف آب خواهد شد. در راستای حل چالش مذکور و در جهت کشاورزی پایدار، مدیریت به‌هنگام آبیاری با لحاظ شرایط حاکم بر منطقه شامل خاک و اقلیم، نقش بسیار مهمی در صرفه‌جویی در مصرف آب و حفظ عملکرد محصولات باغی و زراعی ایفا خواهد کرد. یکی از ابزارهای مدیریت به‌هنگام آبیاری، سنجش رطوبت خاک است که با ارائه اطلاعات مفید در خصوص وضعیت رطوبت خاک در هر یک از حالت‌های اشیاع، ظرفیت زراعی و نقطه پژمردگی منجر به مصرف آب به میزان مورد نیاز شده و ضمن توجه به نیاز دقیق رطوبتی هر مرحله از رشد گیاه و صرفه‌جویی در مصرف آب، منجر به حفظ و در مواردی افزایش عملکرد محصول شده و به این ترتیب تأثیر قابل توجهی بر بهبود بهره‌وری آب خواهد داشت (Ansari and Hassanpour, 2015; Ghanadzadeh et al., 2008; Ghahraman et al., 2009; Namdar Khojasteh, 2011; Irmak et al., 2014).

رطوبت خاک به روش‌های مستقیم و غیرمستقیم قابل اندازه‌گیری است. روش‌های مستقیم وزنی دقیق‌ترین روش اندازه‌گیری رطوبت خاک است. در این روش، رطوبت خاک از طریق خشک کردن نمونه خاک در آون در دمای ۱۰۵ درجه سانتیگراد تعیین می‌شود. در روش‌های غیرمستقیم از TDR، تانسومتر، نوترون متر، بلوک گچی و سنسور رطوبت‌سنج رطوبت خاک استفاده می‌شود.

نوترون متر یکی از روش‌های دقیق سنجش رطوبت خاک است و اگر چه از نظر سرعت کار، بر سایر روش‌ها ارجحیت دارد ولی سنگین بودن، گران بودن و خطرات احتمالی ناشی از نشت تابش‌های رادیواکتیو از معایب این وسیله به شمار می‌رود (Doosti, 2007). تانسومترها که در دو نوع جیوه‌ای یا فلزی موجود هستند در پتانسیل بالاتر از ۱ اتمسفر به دلیل ورود حباب‌های هوا به داخل تانسومتر، دقت مناسبی ندارند. تانسومترها اگر چه نیاز به واسنجی ندارند ولی عموماً در خاک‌های شنی کاربرد دقیقتری داشته و البته نیاز به زمان کافی برای به تعادل رسیدن با خاک اطراف دارند (Shahrokh-Nia, 2016; Doosti, 2007). از دیگر روش‌های تعیین رطوبت خاک، استفاده از دستگاه تابش گاما است که با آن، رطوبت خاک در هر مقطعی از خاک قابل تعیین است. عموماً این روش در کارهای تحقیقاتی استفاده شده و کاربرد آن در کارهای صحرایی

نظر زمان و مقدار آبیاری خواهند بود. با توجه به عدم امکان واردات مستقیم محصول اصلی از شرکت‌های سازنده سنسورهای watermark و در نتیجه افزایش قیمت تمام شده محصول از یک سو و وجود نمونه‌های ارزان قیمت بدون دقت و کارایی مناسب (که مورد تأیید شرکت سازنده محصول اصلی نیست) در بازار کشور از سوی دیگر؛ طراحی و ارایه سنسور رطوبت سنج با کیفیت، کارایی و قیمت مناسب امری ضروری است. لذا اهداف این مطالعه بررسی دقت سنسور watermark در بافت‌های مختلف خاک، ارایه محدوده دقت عمل سنسور مذکور در برآورد رطوبت خاک و همچنین امکان‌سنجی ساخت سنسور رطوبت‌سنج ایرانی با الگو برداری از سنسور watermark ارزیابی دقت سنسور طراحی شده در بافت‌های خاک متفاوت است.

۲- مواد و روشها

به منظور طراحی و کالیبراسیون سنسور رطوبت‌سنج ایرانی، آزمایش‌های مربوط به طراحی و ساخت سنسور مذکور در سال‌های ۱۳۹۷ تا ۱۳۹۸ در آزمایشگاه بخش تحقیقات خاک و آب مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان یزد انجام شد. با الگوبرداری از سنسور رطوبت‌سنج watermark ساخت شرکت Irrrometer (<https://www.irrometer.com>) عملیات ساخت و طراحی سنسور انجام شد و سپس عملکرد این سنسور در بافت‌های خاک متفاوت مورد ارزیابی قرار گرفت. فرایند ارزیابی، شامل واسنجی سنسور طراحی شده در بافت‌های متفاوت خاک و صحت‌سنجی آن با توجه به رطوبت وزنی مشاهده شده به روش مستقیم و همچنین سنسورهای watermark شرکت مذکور بود. سنسور طراحی شده متشکل از اجزای زیر است (شکل ۱):

الف- بدنه محافظ بیرونی: عبارت است از استوانه فلزی مشبک ضدزنگ که به عنوان نگهدارنده عمل می‌کند،

ب- الکترودها،

ج- ماده حدواسط: ماده متخلخل موجود در استوانه فلزی به عنوان حد واسط بین خاک و الکترودها عمل می‌کند. به این ترتیب که رطوبت موجود در خاک از طریق این ماده متخلخل به الکترودها قابل انتقال است،

د- برد الکتریکی: با طراحی برد الکتریکی به عنوان مغز سنسور و برقراری جریان در این قسمت، مقاومت جریان توسط الکترودها اندازه‌گیری می‌شود،

ه- نرم‌افزار: اطلاعات قرائت شده سنسور توسط نرم‌افزار طراحی شده، از برد الکتریکی دریافت و در داخل یک فایل در کامپیوتر در فاصله زمان‌های مشخص که توسط کاربر قابل انتخاب است، ثبت می‌شود.

برآورد رطوبت خاک است. بر اساس مطالعه El Marazky et al. (2011) در دانشکده کشاورزی عربستان سعودی و اجرای سیستم آبیاری هوشمند با استفاده از سنسور watermark، استفاده از این سنسور برای اتوماتیک کردن سیستم آبیاری، مناسب نتیجه‌گیری شده است. لازم به ذکر است که این سنسورها در عمق ۶۰ سانتی‌متری خاک قرار گرفته بودند و بر اساس شرایط مزرعه واسنجی شدند. بر اساس مطالعات انجام شده توسط Chávez et al. (2011) دقت سنسور watermark با سنجش مستقیم رطوبت به روش وزنی مقایسه شد. در این مطالعه نیز به کالیبراسیون مزرعه‌ای برای watermark منظور افزایش دقت اندازه‌گیری رطوبت خاک اشاره شده است. با توجه به نتایج تحقیق انجام شده توسط Ganjgunte et al. (2012) استفاده از سنسور watermark در باغ گردو منجر به صرفه‌جویی قابل توجه در مصرف آب شد. بر اساس نتایج این مطالعه در صورتی که سنسور watermark برای شرایط منطقه مورد نظر واسنجی نشود مقدار خطای برآورد رطوبت خاک قابل توجه خواهد بود.

Nolz et al. (2012) به منظور جمع‌آوری داده‌های رطوبت خاک از راه دور از یک شبکه وایرلس و سنسور watermark استفاده کردند. داده‌ها از طریق اینترنت منتقل می‌شد. نتایج ارایه شده حاکی از پیوستگی و جمع‌آوری رضایت‌بخش داده‌ها با استفاده از این سنسور بود. بر اساس نتایج مطالعه Rahmani and Ghaemi (2013) در بافت خاک لوم رسی و شوری آب آبیاری ۵ دسی‌زیمنس بر متر، سنسور watermark با توجه به عدم تفاوت معنی‌دار با روش مستقیم وزنی و کمترین مقدار خطا و بیشترین مقدار همبستگی با داده‌های مشاهده شده در مزرعه نسبت به سایر سنسورهای هوشمند دقیق‌ترین روش برآورد رطوبت خاک بود. همچنین در مطالعه گلخانه‌ای انجام شده، توسط Ghaemi and Rahmani Sghayeh (2014) با اعمال آبیاری قطره‌ای نواری در بافت خاک لوم رسی و برای گیاه گوجه فرنگی، ارقام رطوبت ارایه شده توسط سنسورهای رطوبت‌سنج watermark تفاوت معنی‌داری با مقادیر رطوبت اندازه‌گیری شده با روش مستقیم وزنی نداشتند.

بر اساس نتایج مطالعات مذکور به نظر می‌رسد که در صورت اعمال شرایط موجود در منطقه به ویژه شوری خاک، سنسور watermark کارایی و دقت مناسبی در برآورد رطوبت خاک خواهد داشت. با توجه به اینکه در برنامه‌ریزی آبیاری، به ویژه در شرایط اجرای سیستم‌های آبیاری قطره‌ای، سنسورهای رطوبتی خاک نقش مهمی در کاربردهایی نظیر کشاورزی دقیق، پایش آب خاک، نمایش پیوسته مقدار آب خاک، بودجه‌بندی کردن منابع آبی، و زمان‌بندی کردن آبیاری دارند، با کاربرد سنسورهای رطوبتی، کشاورزان قادر به ارایه بهترین برنامه آبیاری از

انجام شد. مراحل فوق برای سنسور طراحی شده و سنسور watermark در هر بافت خاک با ۴ تکرار انجام شد. ۲ تکرار به منظور واسنجی و بقیه تکرارها به منظور صحت‌سنجی سنسور بود (شکل ۲). به دلیل اشباع بودن خاک در روز اول تماس کافی بین سنسور و خاک پیرامون آن وجود نداشت و نوسانات قرائت سنسور قابل قبول نبود بنابراین اعداد قرائت شده سنسور بعد از روز دوم که نوسانات قرائت سنسور کمتر و قابل قبول شد در تحلیل مورد استفاده قرار گرفت. به منظور تعیین وزن خاک خشک، خاک مورد آزمایش در داخل آون در دمای ۱۰۵ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفت. نحوه اندازه‌گیری رطوبت وزنی به شرح زیر است:

$$\theta_w = \frac{(w_1 - w_2) - w_w}{w_w} \quad (1)$$

که در اینجا، W_1 : مجموع وزن گلدان، سنسور و خاک، W_2 : مجموع وزن سنسور و گلدان و W_w : وزن خاک خشک است. بعد از جمع‌آوری اطلاعات، عملکرد سنسور watermark و سنسور طراحی شده مورد مقایسه قرار گرفت. همچنین عملکرد سنسورها در بافت‌های متفاوت خاک مورد مقایسه و ارزیابی قرار گرفت.

ارزیابی سنسور طراحی شده در ۳ بافت خاک متفاوت لوم رسی شنی، لومی و رس سیلتی که از مزارع و باغات واقع در استان یزد جمع‌آوری شدند در ۴ تکرار مورد بررسی قرار گرفت. بافت خاک در آزمایشگاه به روش هیدرومتری تعیین شد. خصوصیات خاک‌های مورد مطالعه در جدول ۱ ارایه شده است.

گلدان‌های پلاستیکی به قطر ۱۵ سانتیمتر و ارتفاع ۱۰ سانتیمتر انتخاب شد و خاک به صورت یکنواخت از نظر بافت خاک و تراکم در داخل گلدان‌ها ریخته شد. گلدان بر روی ترازو قرار گرفت و روند تغییرات رطوبت خاک به صورت وزنی ثبت شد. مطابق با دستورالعمل ارایه شده توسط شرکت Irrometer سنسورها ابتدا در داخل آب اشباع شدند. سپس خاک گلدان اشباع شده و بعد از خروج آب تقلی از خاک، سنسور اشباع شده در داخل آن در عمق مشخص و یکسان (۶ سانتیمتری) قرار گرفت به گونه‌ای که بیشترین تماس مطلوب بین خاک اطراف و سنسور برقرار شود. در طول روند خشک شدن خاک گلدان، اعداد رطوبت وزنی از طریق ترازو و اعداد قرائت سنسور در بازه‌های زمانی مشخص ثبت شد. ثبت اطلاعات در روزهای متوالی، به مدت ۲ ساعت در هر روز در بازه‌های زمانی ۳۰ ثانیه، از حالت اشباع تا نقطه پژمردگی

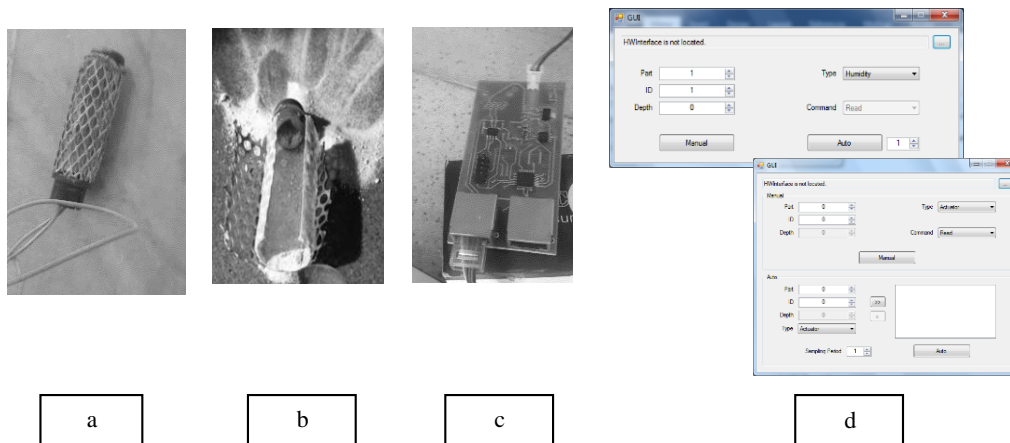


Fig. 1- The components of the designed sensor

(a: Designed sensor, b: Internal view of the sensor, c: Electrical resistance device, d: software)
 شکل ۱- اجزای تشکیل دهنده سنسور طراحی شده (a: سنسور، b: نمای داخلی سنسور، c: برد الکترونیکی، d: نرم‌افزار)

Table 1- Soil characteristics of the studied areas
 جدول ۱- خصوصیات خاک مناطق مورد مطالعه

Location	Soil texture	Silt (%)	Sand (%)	Clay (%)	pH	Electrical Conductivity (EC*10 ³)
Pistachio Nursery- Bahabad-Yazd province	Sandy clay loam	27.3	50.7	22	7.6	4.3
Pistachio Nursery-Mehrize-Yazd province	Loam	29.06	46.34	24.6	7.7	2.8
Landscape-Nosratabad-Yazd province	Silty clay	46.8	2.2	51	7.8	2.4

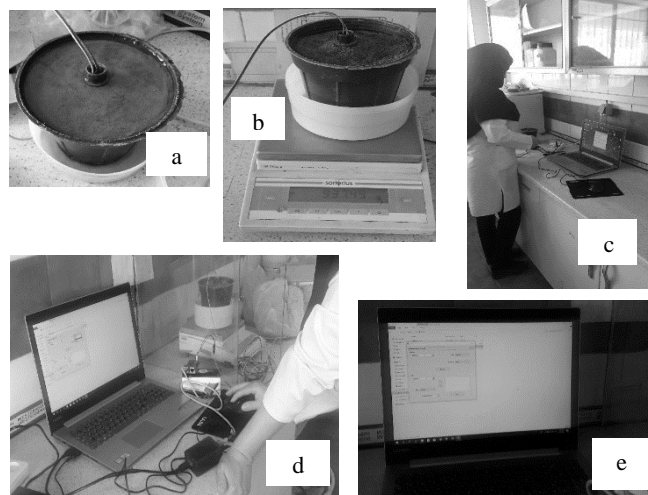


Fig. 2- Preparing steps of the experiment for testing the designed sensor
(a: Soil saturating, b: locating the sensor into the soil, c: Connection of the sensor to the computer, d & e: Running the software)

شکل ۲- مراحل آماده‌سازی آزمایش سنسور طراحی شده

(a: اشباع سازی خاک، b: قرارگیری سنسور در خاک، c: برقراری ارتباط بین سنسور و کامپیوتر، d و e: اجرای نرم‌افزار)

۳- نتایج و بحث

در جدول ۲ معادلات واسنجی سنسور watermark و سنسور طراحی شده در بافت‌های متفاوت خاک ارائه شده است که منجر به بیشترین ضریب تعیین (R^2) بین رطوبت اندازه‌گیری شده و قرائت‌های سنسور می‌شد. با توجه به این جدول، برای سنسور طراحی شده و سنسور watermark کمترین مقدار ضریب تعیین در خاک رس سیلتی به دست آمد.

در مرحله صحت‌سنجی سنسور طراحی شده و سنسور watermark، رطوبت وزنی مشاهده شده و رطوبت قرائت شده توسط سنسور در شکل ۳ ارایه شده است. رطوبت‌های وزنی خاک اندازه‌گیری شده به روش مستقیم وزنی و رطوبت‌های قرائت شده توسط سنسور مورد مقایسه آماری با آزمون t جفت شده قرار گرفتند.

تحلیل آماری انجام شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS برای بررسی عملکرد سنسور طراحی شده و مقایسه عملکرد این سنسور با سنسور watermark و در بافت‌های متفاوت خاک انجام شد. همچنین از آماره‌های میانگین مطلق خطا (MAE)، میانگین خطا (ME) و میانگین مربعات خطای نرمال شده (NRMSE) به صورت زیر استفاده شد:

$$MAE = \frac{\sum_{i=1}^n |O_i - S_i|}{n} \quad (2)$$

$$ME = \frac{\sum_{i=1}^n O_i - S_i}{n} \quad (3)$$

$$NRMSE = \left[\frac{\sum_{i=1}^n (S_i - O_i)^2}{n} \right]^{0.5} \times \frac{100}{\bar{O}_i} \quad (4)$$

که در اینجا، O_i : رطوبت وزنی مشاهده شده خاک، S_i : رطوبت قرائت شده سنسور طراحی شده، n: تعداد داده‌ها و \bar{O} : میانگین رطوبت وزنی مشاهده شده خاک می‌باشند.

Table 2- Calibration equations of the soil moisture sensors

جدول ۲- معادلات واسنجی سنسورهای رطوبت‌سنج خاک*

	Soil texture		
	Silty clay	loam	Sandy clay loam
Watermark sensor	$y = 0.0138x + 10.667$ $R^2=0.7982$	$y = 0.009x + 4.2686$ $R^2=0.8735$	$y = 0.009x + 1.6419$ $R^2=0.956$
Designed sensor	$y = 4.9951e^{0.0008x}$ $R^2=0.6707$	$y = 1.0678e^{0.0012x}$ $R^2=0.9469$	$y = 3.4481e^{0.0007x}$ $R^2=0.9089$

* در این معادلات y: رطوبت وزنی (درصد) و X قرائت سنسور است.

خاک نسبت به بافت‌های خاک سبک و متوسط ندارند. نتایج مشابه در مطالعه Wild (2015) در آزمایشگاه به صورت گلدانی و برای سه بافت خاک شنی، رسی و لومی گزارش شده است. مقادیر پارامتر MAE در هر ۳ بافت خاک در سنسور watermark کمتر از سنسور طراحی شده بود. مقدار پارامتر ME در بافت خاک رس سیلتی و لومی در سنسور watermark کمتر از سنسور طراحی شده بود ولی در بافت لوم رسی شنی مقدار این پارامتر در سنسور طراحی شده کمتر از سنسور watermark بود.

در شکل ۴ نمای از مقایسه رطوبت برآورد شده با سنسور watermark و سنسور طراحی شده ارائه شده است. هر چه نمودارها به خط نیمساز (line 1:1) نزدیک‌تر باشند برآورد بهتری از رطوبت اندازه‌گیری شده به روش مستقیم وزنی دارند. در این شکل‌ها رطوبت حد ظرفیت مزرعه (FC)، ۵۰ درصد کل آب قابل دسترس (FC-) 50% (PWP)(50%AW) و نقطه پژمردگی PWP بر اساس توابع انتقالی و حدود ارائه شده در فائو بر اساس بافت خاک لحاظ شده است. نتایج بررسی دقت سنسورهای watermark و سنسور طراحی شده در محدوده‌های رطوبتی به شرح زیر است:

محدوده رطوبتی اشباع تا FC: با بررسی شاخص MAE بیشترین خطای برآورد رطوبت، در سنسور طراحی شده و سنسور watermark در محدوده رطوبتی اشباع تا FC است. در محدوده رطوبتی مذکور، مقدار پارامتر MAE در بافت خاک لومی برای سنسور watermark و سنسور طراحی شده به ترتیب ۲/۴۹ و ۵/۱۶ بود. در بافت خاک لوم رسی شنی مقدار این پارامتر برای سنسور watermark و سنسور طراحی شده به ترتیب ۵/۰۸ و ۴/۶۷ و در بافت خاک رس سیلتی این پارامتر برای سنسور watermark و سنسور طراحی شده به ترتیب معادل ۴/۳۲ و ۱۹/۰۴ بود. در هر ۳ بافت خاک، سنسور watermark منجر به بیش برآورد رطوبت خاک شده است در حالیکه سنسور طراحی شده رطوبت خاک را کمتر از مقدار رطوبت اندازه‌گیری شده به روش وزنی برآورد کرده است. مقایسه آماری نشان داد که تفاوت رطوبت قرائت شده سنسور طراحی شده در این محدوده رطوبتی با ارقام اندازه‌گیری شده رطوبت خاک به روش مستقیم وزنی در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار است. همچنین در این محدوده رطوبتی در سنسور watermark تفاوت رطوبت قرائت شده با ارقام رطوبت اندازه‌گیری شده در سطح احتمال ۵ درصد در بافت خاک لومی و لوم رسی شنی معنی‌دار و در بافت خاک رس سیلتی معنی‌دار نبوده است.

با توجه به این شکل هر دو سنسور طراحی شده و سنسور watermark در بافت خاک لوم قادر به برآورد نسبتاً دقیق رطوبت وزنی خاک هستند. به گونه‌ای که از نظر آماری بین ارقام رطوبت اندازه‌گیری شده به روش مستقیم وزنی و قرائت سنسور تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد وجود ندارد.

در بافت خاک لوم رسی شنی در سنسور watermark و سنسور طراحی شده، تفاوت بین رطوبت اندازه‌گیری شده به روش مستقیم وزنی و قرائت شده سنسور در سطح ۱ درصد معنی‌دار نیست ولی در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار است (شکل ۳). در بافت خاک رس سیلتی، سنسور طراحی شده تا روز پنجم آزمایش (رطوبت معادل ۵۰ درصد آب قابل استفاده) برآوردی کمتر از رطوبت اندازه‌گیری شده به روش وزنی داشت. بعد از روز پنجم دقت برآورد رطوبت توسط سنسور طراحی شده بیشتر بود به گونه‌ای که تفاوت آماری بین رطوبت وزنی اندازه‌گیری شده و رطوبت قرائت شده سنسور در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد معنی‌دار نبود. در بافت خاک رس سیلتی در سنسور watermark تفاوت بین رطوبت اندازه‌گیری شده و قرائت سنسور در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار نبوده ولی در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود (شکل ۳).

مقدار NRMSE برای سنسور watermark در بافت خاک لومی، لوم رسی شنی و رس سیلتی به ترتیب ۲۵، ۲۵/۹۲ و ۲۱/۹۵ و این مقدار برای سنسور طراحی شده در بافت خاک لومی، لوم رسی شنی و رس سیلتی به ترتیب ۳۶/۲۹، ۲۱/۹ و ۳۸/۴ بود. بر اساس شاخص NRMSE سنسور watermark دارای عملکرد متوسط و سنسور طراحی شده در بافت خاک لومی و رس سیلتی عملکرد نه چندان مناسب و در خاک لوم رسی شنی عملکرد متوسطی داشته است. مقدار MAE برای سنسور watermark در بافت خاک لومی، لوم رسی شنی و رس سیلتی به ترتیب ۲/۶۳، ۱/۶۴ و ۳/۹۲ و این مقدار برای سنسور طراحی شده در بافت خاک لومی، لوم رسی شنی و رس سیلتی به ترتیب ۲/۸۸، ۲/۰۶ و ۶/۱۶ بود. ME در سنسور watermark در خاک لومی، لوم رسی شنی و رس سیلتی به ترتیب ۰/۸۲، -۱/۵۳ و -۲/۱۵ و برای سنسور طراحی شده در خاک لومی، لوم رسی شنی و رس سیلتی به ترتیب ۱/۲۴، -۰/۰۴ و ۴/۶۴ می‌باشد. بر اساس نتایج بررسی شاخص‌های MAE و ME بیشترین مقدار خطای برآورد رطوبت خاک در خاک رس سیلتی بود. به طور کلی سنسور طراحی شده و سنسور watermark در بافت‌های خاک سنگین به دلیل تبادل دیر هنگام رطوبتی بین خاک و ماده حد واسط سنسور، برآورد دقیقی از رطوبت

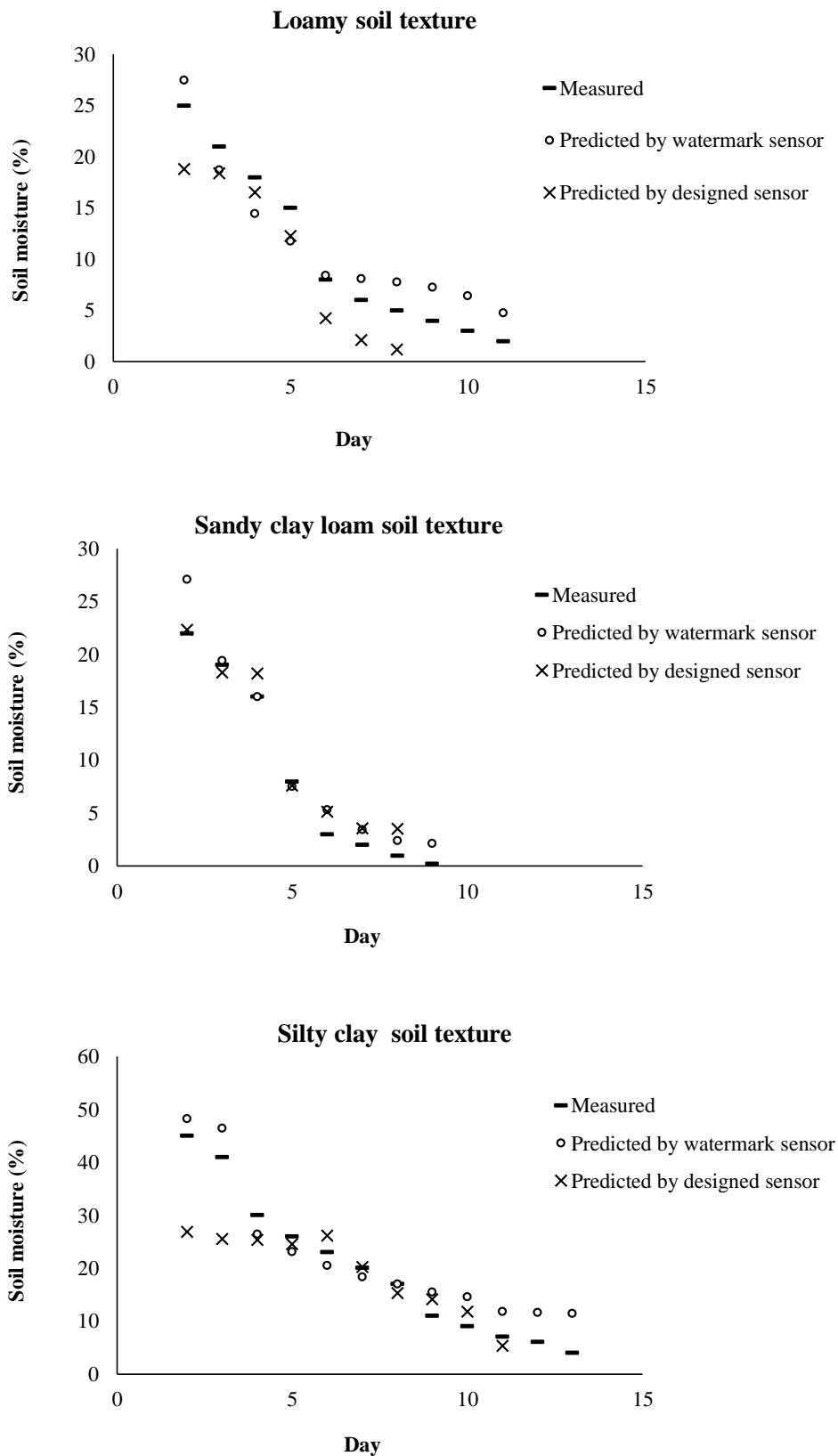


Fig. 3- Comparison of the soil moisture estimated by sensors with measured data
 شکل ۳- مقایسه رطوبت خاک قرائت شده توسط سنسورها با رطوبت وزنی اندازه گیری شده

محدوده رطوبتی کمتر از PWP: پارامتر MAE در این محدوده رطوبتی برای سنسور watermark برای خاک رس سیلتی، لوم رسی شنی و لومی به ترتیب معادل ۴/۶۳، ۱/۲۷ و ۲/۵ بود. این پارامتر برای سنسور طراحی شده برای خاک رس سیلتی، لوم رسی شنی و لومی به ترتیب معادل ۱/۴۹، ۱/۲۲ و ۲/۴۷ بود. بر اساس نتایج فوق دقت سنسور طراحی شده در این محدوده رطوبتی در هر ۳ بافت خاک بیشتر از سنسور watermark است. بررسی آماری نشان داد که تفاوت رطوبت قرائت شده سنسور watermark در این محدوده رطوبتی با رطوبت اندازه گیری شده در هر ۳ بافت خاک در سطح احتمال ۵ درصد معنی دار است. این در حالی است که در سنسور طراحی شده تفاوت رطوبت قرائت شده سنسور با رطوبت اندازه گیری شده در سطح احتمال ۵ درصد در بافت خاک لومی و لوم رسی شنی معنی دار بود و در بافت رس سیلتی معنی دار نبوده است.

۴- خلاصه و جمع بندی

با توجه به وضعیت بحران کمی و کیفی آب در ایران به ویژه در مناطق مرکزی کشور، لزوم تعیین هر چه دقیق تر مقدار آب مورد نیاز گیاهان باغی و زراعی امری ضروری است. در راستای برنامه ریزی دقیق آبیاری، کاربرد سنسور رطوبت سنج به منظور پایش میزان رطوبت خاک پیشنهاد شده است. با توجه به دقت مناسب سنسور Watermark نسبت به سایر سنسورهای رطوبت سنج ارائه شده، در این مطالعه دقت سنسور Watermark در بافت های خاک متفاوت بررسی و محدوده دقت سنسور مذکور در برآورد رطوبت خاک ارائه شد. همچنین امکان سنجی ساخت سنسور رطوبت سنج ایرانی با الگوبرداری از سنسور Watermark و ارزیابی دقت سنسور طراحی شده در بافت های خاک متفاوت نیز مورد مطالعه قرار گرفت. به منظور طراحی و کالیبراسیون سنسور رطوبت سنج ایرانی، آزمایش های مربوط به طراحی و ساخت سنسور مذکور در سال های ۱۳۹۷ تا ۱۳۹۸ در آزمایشگاه بخش تحقیقات خاک و آب مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان یزد انجام شد. ارزیابی سنسور طراحی شده و سنسور Watermark در بافت خاک لوم رسی شنی، لومی و رس سیلتی انجام شد. در طول خشک شدن خاک، اعداد قرائت سنسورها توسط نرم افزار مربوطه و تغییرات رطوبت خاک به روش مستقیم وزنی توسط ترازو ثبت شد. بر اساس نتایج این مطالعه سنسورهای رطوبت سنج (طراحی شده و Watermark) در خاک های با بافت سبک و متوسط نسبت به خاک های با بافت سنگین دقت قابل قبولی در برآورد رطوبت خاک دارند.

محدوده رطوبتی FC تا 50%AW: بررسی پارامتر MAE نشان داد که بیشترین خطای برآورد رطوبت در خاک رس سیلتی برای سنسور طراحی شده و سنسور watermark بود. در این محدوده رطوبتی مقادیر پارامتر MAE برای سنسور watermark برای بافت خاک رس سیلتی، لومی و لوم رسی شنی به ترتیب معادل ۳/۵۵، ۲/۲۹ و ۰/۴۴ بود. این پارامتر برای سنسور طراحی شده برای بافت خاک رس سیلتی، لومی و لوم رسی شنی به ترتیب معادل ۷/۵۹، ۰/۶ و ۲/۷ بود. بر این اساس در این محدوده رطوبتی دقت سنسور watermark در خاک رس سیلتی و لوم رسی شنی بیشتر از سنسور طراحی شده است. اما در بافت خاک لوم دقت سنسور طراحی شده بیشتر از سنسور watermark است. مقایسه آماری نشان داد که تفاوت رطوبت قرائت شده سنسور طراحی شده در این محدوده رطوبتی با ارقام اندازه گیری شده رطوبت خاک به روش مستقیم وزنی در بافت خاک لوم رسی شنی و رس سیلتی در سطح احتمال ۵ درصد معنی دار بود در حالیکه در بافت خاک لومی معنی دار نبود. در این محدوده رطوبتی در سنسور watermark تفاوت رطوبت قرائت شده با ارقام رطوبت اندازه گیری شده در سطح احتمال ۵ درصد در بافت خاک لومی و لوم رسی شنی معنی دار و در بافت خاک رس سیلتی معنی دار نبوده است.

محدوده رطوبتی 50%AW تا PWP: پارامتر MAE در این محدوده رطوبتی برای سنسور watermark برای خاک رس سیلتی، لوم رسی شنی و لومی به ترتیب معادل ۲/۳۴، ۰/۰۲۸ و ۱/۸۲ بود. این پارامتر برای سنسور طراحی شده برای خاک رس سیلتی، لوم رسی شنی و لومی به ترتیب معادل ۱/۲۲، ۲/۲ و ۴/۵۶ بود. بر اساس نتایج فوق در محدوده رطوبتی مذکور، دقت سنسور watermark در بافت خاک لومی و لوم رسی شنی بیشتر از سنسور طراحی شده است. اما در بافت خاک رس سیلتی دقت سنسور طراحی شده در این محدوده رطوبتی بیشتر است. در بافت خاک رس سیلتی تفاوت رطوبت قرائت شده برای هر دو سنسور watermark و طراحی شده با رطوبت اندازه گیری شده به روش مستقیم وزنی در سطح احتمال ۵ درصد معنی دار است. در بافت خاک لوم رسی شنی تفاوت رطوبت قرائت شده سنسور watermark با رطوبت اندازه گیری شده به روش مستقیم در سطح احتمال ۵ درصد به ترتیب معنی دار بوده است در حالی که این تفاوت برای سنسور طراحی شده معنی دار نبود. همچنین در بافت خاک لومی تفاوت رطوبت قرائت شده سنسور watermark با رطوبت اندازه گیری شده به روش مستقیم در سطح احتمال ۵ درصد معنی دار نبود در حالی که این تفاوت برای سنسور طراحی شده معنی دار بود.

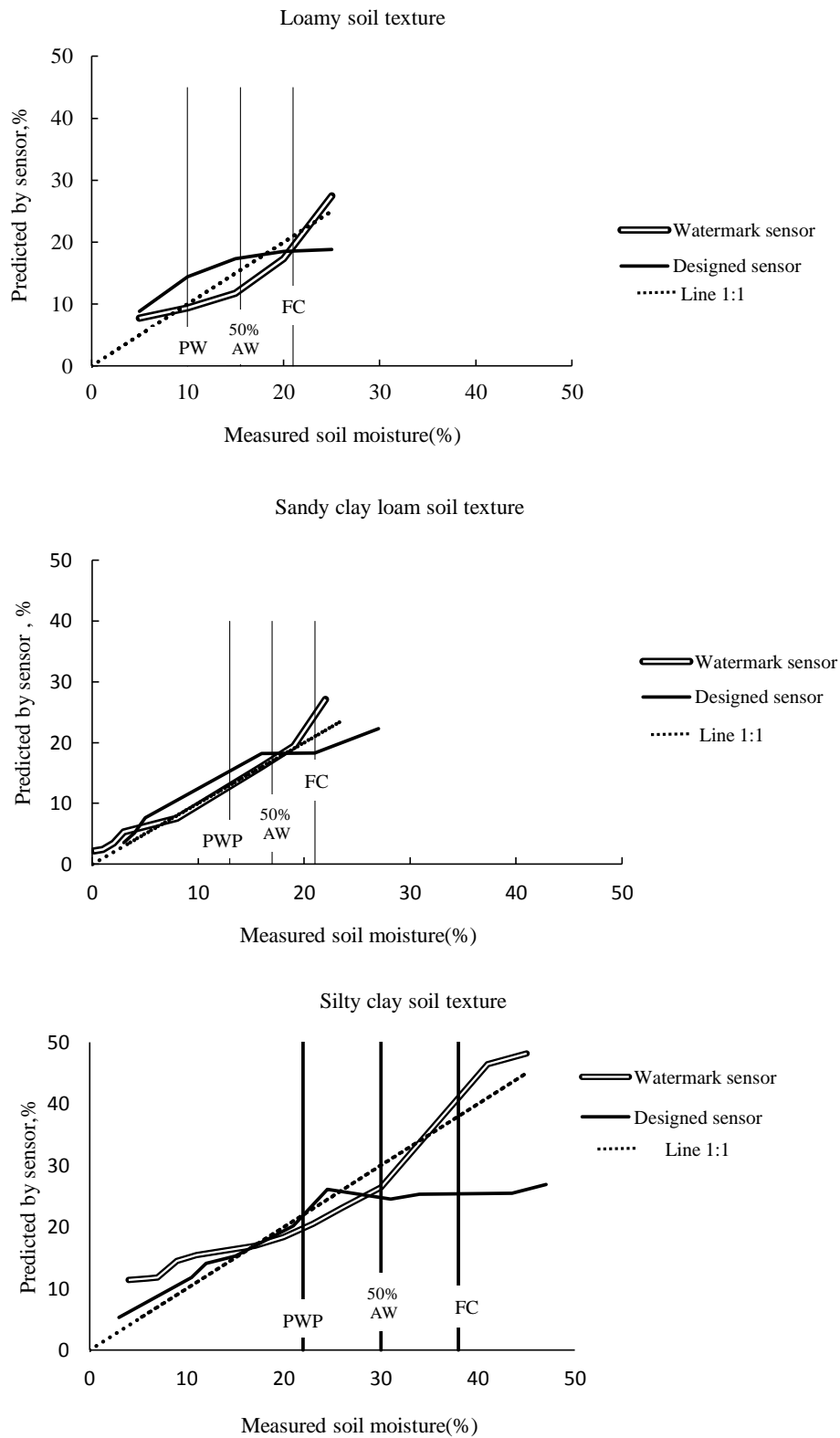


Fig. 4- Precision range of watermark and designed sensors performance (FC: Field capacity, RAW: 50%AW, PWP: Permanent wilting point)

شکل ۴- محدوده دقت عملکرد سنسور Watermark و سنسور طراحی شده

(FC: رطوبت حد مزرعه، 50%AW: 50 درصد رطوبت قابل استفاده و PWP: رطوبت نقطه پژمردگی)

- irrigation management. *Agronomy Journal* 85:1228-1232
- El Marazky MS, Fawzi SM, Al-Ghobari H (2011) Evaluation of soil moisture sensors under intelligent irrigation systems for economical crops in arid regions. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences* 6(2):287-300
- Ganjugunte GK, Sheng Z, Clark J (2012) Evaluating the accuracy of soil water sensors for irrigation scheduling to conserve freshwater. *Applied Water Science* 2:119-125
- Ghaemi A A, Rahmani Soghayeh J (2014) Investigation the performance of smart sensors as a new approach to determine soil moisture content. *Iranian Journal of Irrigation and Drainage* 8(1):16-25 (In Persian)
- Ghahraman B, Davary K, Astaraii A, Majidi Khalil Abad M, Tamassoki S (2009) Correction of Gypsum block readings due to salinity effects for soil moisture content measurements. *Journal of Water and Soil* 23(1):69-78 (In Persian)
- Ghanadzadeh MA, Davari K, Ghahraman B (2009) Evaluation of some different types of gypsum blocks for determination of soil moisture. *Iranian Water Research Journal* 2(3):23-32 (In Persian)
- Goodwin IT (2000) Gypsum blocks for measuring the dryness of soil. *Agriculture Notes*, AG0294
- Heaton K (2007) Soil moisture management with water mark sensors. Utah State University Extension, Kane and Garfield County Agent, February 6-7
- Irmak S, Payer JO, Vandevale B, Rees J, Zoubek G (2014) Principles and operational characteristics of watermark granular matrix sensor to measure soil water status and its practical applications for irrigation management in various soil texture. The Board of Regents of the University of Nebraska on behalf of the University of Nebraska-Lincoln Extension
- Irrrometer (2010) Watermark soil moisture sensor- Model 200SS. Specification Document. Irrrometer company, Inc. P. O. Box: 2424, Riverside, CA 92516. <http://www.irrometer.com>
- Namdar Khojasteh D, Shorafa M, Eskandari Z, Fazeli sanghani M (2011) Effects of clay content and salinity on volumetric water content using time domain reflectometry. *Iranian Journal of Soil Research (Formerly Soil and Water Sciences)* 25(2):103-112 (In Persian)
- Nolz R, Kammerer G, Cepuder P (2012) Calibrating soil water potential sensors integrated into a wireless monitoring network. *Agricultural Water Management* 116:12- 20
- در بافت خاک لوم رسی شنی در سنسور Watermark و سنسور طراحی شده، تفاوت بین رطوبت اندازه گیری شده به روش مستقیم وزنی و قرائت شده سنسور در سطح ۱ درصد معنی دار نیست ولی در سطح احتمال ۵ درصد معنی دار است. بیشترین خطای برآورد رطوبت خاک (ME و MAE) مربوط به بافت خاک رسی سیلتی می باشد. به طور کلی سنسور طراحی شده و سنسور Watermark در بافت های خاک سنگین به دلیل تبادل دیر هنگام رطوبتی بین خاک و ماده حد واسط سنسور، برآورد دقیقی از رطوبت خاک ندارند. همچنین سنسورهای رطوبت سنج (طراحی شده و Watermark) در رطوبت های بیشتر از حد زراعی (FC) دقت مناسبی در برآورد رطوبت خاک ندارند. بر اساس نتایج این مطالعه کاربرد سنسورهای رطوبت سنج (طراحی شده و Watermark) در رطوبت های کمتر از 50%AW (که عموماً در برنامه ریزی آبیاری این محدوده مورد استفاده است) توصیه می شود که منجر به تخمین دقیق رطوبت خاک توسط این سنسورها می شود. مقایسه عملکرد سنسور طراحی شده با سنسور Watermark حاکی از دقت قابل قبول سنسور طراحی شده است و در مواردی دقت سنسور طراحی شده بیشتر از سنسور Watermark است (بافت خاک لوم رسی شنی) که بیانگر امکان ساخت داخلی این سنسور و ارایه آن به کاربر با هزینه مناسب است. بر اساس نتایج این مطالعه دقت برآورد سنسور طراحی شده در بافت خاک رس سیلتی در رطوبت های بیشتر از 50%AW مناسب نیست که نیاز به مطالعات بیشتر در این شرایط رطوبتی را ضروری می سازد.

۵- مراجع

- Alizadeh A (2004) Water, soil & plant, relationships. Emam Reza Publication, Mashhad, Iran 470 P (In Persian)
- Ansari H, Hassanpour M (2015) Design and construction of REC-P55 for reading of soil moisture, temperature and salinity. *Iranian Journal of Irrigation and Drainage* 9(1):32-43 (In Persian).
- Chávez JL, Varble JL, Andales AA (2011) Performance evaluation of selected soil moisture sensors. 3rd Annual Central Plains Irrigation Conference, Burlington, CO., February 22-23, Available from CPIA, 760 N. Thompson, Colby, Kansas
- Doosti M (2007) Irrigation management of the Greenhouse using new methods of measuring soil moisture. The first workshop on improvement of water use efficiency in greenhouse, 18 October, Karaj, Iran, 18 p. (In Persian)
- Eldredge E P, Shock CC, Stieber TD (1993) Calibration of granular matrix sensors for

- Thompson RB, Gallardo M, Aguera T, Valdez LC, Fernandez MD (2006) Evaluation of the watermark sensor for use with drip irrigated vegetable crops. *Irrigation Science Journal* 24:1850-202
- Varble J L, Chávez J (2011) Performance evaluation and calibration of soil water content and potential sensors for agricultural soils in eastern Colorado. *Agricultural Water Management* 101:93-106
- Wild M (2015) Soil moisture sensor sensitivity, a research on the performance of different soil moisture sensors in different soil textures. Royal Eijkelpkamp Company and Hogeschool VHL, University of applied science: 57p.
- Rahmani Soqay J, Ghaemi A (2014) Effect of salinity on performance of smart sensors in determination of soil moisture content. *Journal of Water and Irrigation Management* 3(2):135-146 (In Persian)
- Roughani M, Emamjomeh R, Kamali K (2012) Effort for buried sensors TDR construction and its performance assessment in soil moisture measurement. *Iranian Journal of Watershed Management Science and Engineering* 5(17):53-62 (In Persian)
- Shahrokh-Nia M A (2016) Principles and tools of irrigation planning for farms and gardens. Research and Publication council of fars agricultural and natural resources research and education center. Technical Issue No. 25 (In Persian)

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

B. Nowruzi^{1*} and M. Monsef Shokri²

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

شناسایی مورفولوژیکی و مولکولی ریز جلبک‌های 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 Cu10 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 Cu10 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 عنوان 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

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- 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.

۱- مقدمه

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 $35^{\circ}20'N$ و $52^{\circ}25'E$ 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 نقطه 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 طوری که در کل ۱۸ بطری نمونه‌برداری با آب پر گردید. مطالعات موجود نشان می‌دهد که پراکنش جلبک‌ها بیشتر در مناطق سطحی که دارای میزان

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 می‌شود، 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 سبزی، قهوه‌ای، قرمز و حتی بنفش باشند. بعضی بلوم‌ها رنگ آب را به رنگ ویژه‌ای تبدیل می‌کنند که معمولاً در نتیجه همکاری با فیتوپلانکتون‌ها (جلبک‌های میکروسکوپی) است (Bláha et al., 2009).

معمولاً بلوم جلبکی زمانی تشخیص داده می‌شود که غلظت آن به میلیون‌ها سلول به ازای هر میلی‌لیتر برسد. معمولاً 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 /ستیکونما، عامل ایجاد مسمومیت می‌باشد. تکثیر ژن توکسیک mcyE در این‌گونه، نتایج محققان را تأیید کرد (Nowruzi et al., 2013). تحقیق دیگری توسط (Nowruzi et al., 2018) در دریاچه شورمست استان مازندران، عامل مرگ یک اردک را متعلق به سه سیانوباکتریوم توکسیک آنا، نوستوک و نودولاریا و سه ترکیب توکسیک آنا توکسین a، نودولارین و کریپتوفایسین نشان داد (Nowruzi et al., 2018). در واقع اولین تحقیقات انجام شده بر سیانوتوکسین‌ها و خطرات حاصل از آن‌ها توسط (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 محدوده وسیعی از نئوتوکسین‌ها،

هفته کلنی‌های جلبکی در هر پتربیدیش 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 واگشت و اطمینان از خالص‌سازی نمونه‌ها، عکس‌های میکروسکوپی با استفاده از میکروسکوپ المپوس مدل CX31RTS5 (Olympus, Tokyo, Japan) گرفته شد.

۲-۴-۲-۴- شناسایی مولکولی سویه‌های سیانوباکتری

۲-۴-۲-۱- 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).

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

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

۲-۴-۲-۳- 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.

نور بیشتری است، می‌باشد، به همین دلیل نمونه‌برداری تا عمق سی سانتی‌متری انجام گردید. نمونه‌های آب به همراه بلوم‌های جلبکی که طبیعتاً با رنگ‌های مختلف بودند، به آزمایشگاه منتقل گردید. پارامترهای لیمنولوژیکی سایت نمونه‌برداری شامل دما، pH، شوری، نیترات و فسفات در هنگام جمع‌آوری نمونه تعیین گردید. دما ($^{\circ}C$) 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 با 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 ₂ HPO ₄	0.01
MgSO ₄ .7H ₂ O	0.025
Na ₂ CO ₃	0.02
Na ₂ SiO 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 پتربیدیش‌های 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

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'-AGAGTTTGTATCCTGGCTCAG-3')	Taton et al., 2003
	B23S (5'-CTTCGCCTCTGTGTGCCTAGGT-3')	

یکی دیگر از شاخه‌های یافت شده، متعلق به شاخه باسیلاریوفیتا و جنس دیاتومه است که یکی از مهمترین فیتوپلانکتون‌ها محسوب می‌شوند. وجود واکتول 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).

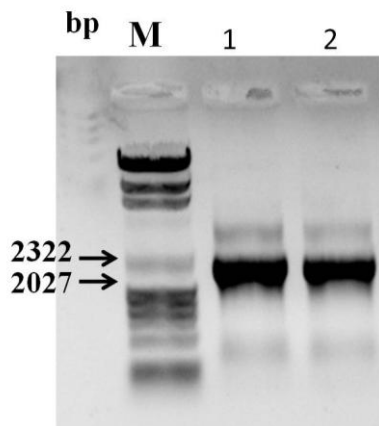


Fig. 1- Gel electrophoresis of the 16S rRNA PCR-product

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 X400

بررسی‌های Blast (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>) 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 به هم متصل هستند، با توجه به شکل (شکل‌های دو، سه و چهار A) ریشه‌های تریکوم فاقد هتروسیست و آکاینه هستند. سلول‌های آکاینه به علت شرایط مساعد محیطی و جوان بودن تریکوم و سلول‌های آکاینه نیز به دلیل وجود نمک‌های نیتروژنه در طول ریشه 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، ریشه شامل یک رشته ساده باریک و نازک است که سلول‌های آن به شکل استوانه‌ای و یا مکعبی در یک ردیف قرار گرفته‌اند. تمام سلول‌هایی ریشه یکسان هستند، تنها سلول انتهایی یک سلول نگهدارنده است که به وسیله آن به اجسام متصل می‌شود. این سلول طولی‌تر از بقیه سلول‌ها و فاقد کلروفیل و بیرنگ است (شکل ۵ F)، در داخل هر یاخته، کلروپلاست زین اسب یا کمر بند به خوبی دیده می‌شود (شکل ۵ E).

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

تحقیقات منابع آب ایران، سال شانزدهم، شماره ۱، بهار ۱۳۹۹

Volume 16, No. 1, Spring 2020 (IR-WRR)

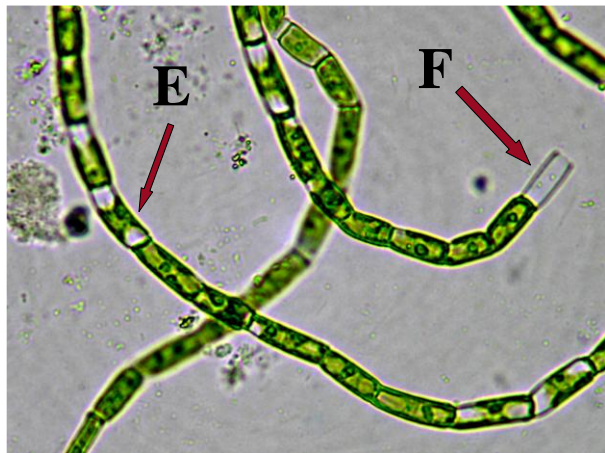


Fig. 5- E representing the girdle-like chloroplast and F representing the end cell of *Ulothrix* at 400x magnification

شکل ۵- E نشان دهنده کلروپلاست زمین اسبی و F نشان دهنده سلول انتهایی *Ulothrix* با بزرگنمایی ۴۰۰X

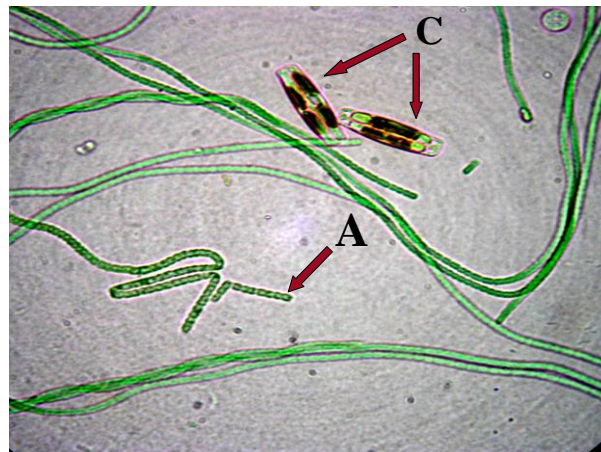


Fig. 3- A representing the *Anabaena* filaments and C, representing the square diatoms at 400x magnification

شکل ۳- A نشان دهنده زیسه های *Anabaena* و C نشان دهنده دیاتوم های چهار گوش شکل با بزرگنمایی ۴۰۰X

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 مخصوصاً منطقه گرمسار است. سیانوباکتری‌ها به طور طبیعی جزو ناپیدای اکوسیستم‌های آبی هستند و هنگامیکه موقعیت بهینه است، سریعاً رشد کرده و تشکیل بلوم می‌دهند. سیانوباکتری‌ها به دلیل داشتن واکنش‌های 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، احتمالاً به واسطه مرگ جلبک‌ها پایین آمده است.

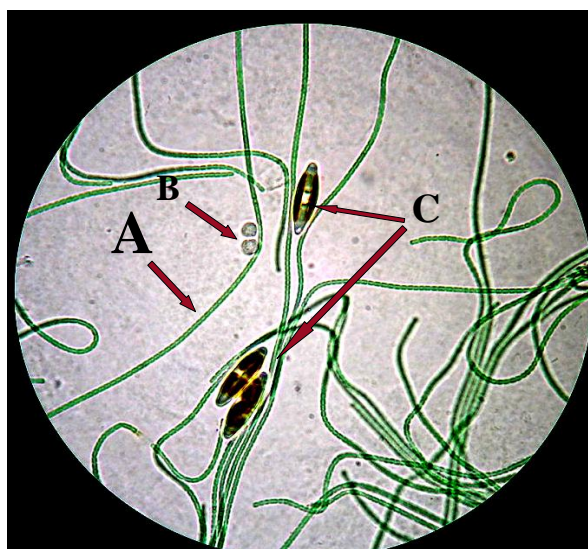


Fig. 4- A representing the *Anabaena* filaments and B, representing the *Synechococcus* and C representing the elliptical diatom at 400x magnification

شکل ۴- A نشان دهنده زیسه های *Anabaena*، B نشان دهنده *Synechococcus* و C نشان دهنده دیاتوم های بیضوی شکل با بزرگنمایی ۴۰۰X

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	<i>Anabaena</i> sp.	Anabaena sp. (PCC 7120)	95
	<i>Synechococcus</i> sp.	Synechococcus PCC6301	96

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 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 طوری که میزان شیوع بیماری در فصول گرم سال نسبت به فصول سرد، قوی‌تر است (Pirsahab 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 گونه فیتوپلانکتون در ۸ شاخه 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 فیزیوشیمیایی 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.

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 می‌توان 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 می‌تواند 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*، *Oscillatoria*، *Microcystis*، *Cylindrospermopsis Anabena* و *Aphanizomenon* تولید کننده سم هستند. سموم جلبک‌های سبز آبی شامل چهار گروه مختلف هپاتوکسین‌ها، نوروکسین‌ها 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

سم به درون آب شوند. در این گونه موارد برای اطمینان از سالم بودن آب باید حداقل دو هفته بین زمان تیمار شیمیایی تا آزادسازی سموم و مصرف آب فاصله باشد (Díez-Quijada et al., 2018). Sayyad Ghorbani and alidoost Nedamani (2017) 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 راه 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 طبیعتاً 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).

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. معمولاً 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 علف‌کش‌ها از بین نمی‌روند، بلکه به تغذیه 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 در مخازن 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 می‌یابد 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

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 آبی جلبک‌ها در آب‌های شرب، قادر به تولید متابولیت‌های ثانویه فعال بیولوژیکی هستند که برای انسان و سایر حیوانات بسیار سمی هستند. بسیاری از این مولکول‌های زیستی از نظر دارویی اهمیت داشته و شامل هپاتوتوکسیک (مخرب برای کبد)، نوروکسیک (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 میکروسکوپی 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 آب‌های 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

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. هوادهی همچنین مانع تخلیه اکسیژنی می‌شود که با مرگ و پوسیدگی بلوم جلبکی ایجاد شده است. اگرچه ممکن است هنوز بلوم تشکیل شود، اما هوادهی خود ایجاد آن‌ها را کمتر می‌کند، زیرا جلبک‌ها تمایل به تشکیل بلوم تحت شرایط گرم و آرام را دارند (Lyon-Colbert et al., 2018).

در رابطه با حفظ کیفیت آب، در یک تحقیق توسط 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 آبشار 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 کارایی 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 مؤثر 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 از بین می‌برد. این محلول خطری را برای ماهی‌ها و یا حتی گیاهان آبی ایجاد نمی‌کند و حتی منجر به کاهش pH و TSS نیز می‌شود. 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 می‌شکند که می‌تواند جلبک‌ها را نابود سازد. فعالیت دیگری بر بلوم جلبک‌ها در آب‌های شرب رودخانه نیل

- 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

تیمارهای اختصاصی برای از بین بردن آلودگی در آب‌های شرب منطقه خواهد کرد. با بررسی منابع و تحقیقاتی 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 میکروارگانیسم‌ها 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 assay. *African Journal of Science and Technology* 6(1):1-10
- Almuharam 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 Engineering* 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 Engineering* 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

- 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) Cyanobacteria 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, Makhloogh 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 Nejdassattari 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, Haghghat 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 Nejdassattari 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 Nejdassattari 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,