فصلنامه پژوهش در علوم، مهندسی و فناوری
دوره ۸، شماره ۱، بهار ۱۴۰۱
صفحات ۱۲-۲۰
ISSN: 2476-5082
www.uctjournals.com

تشخیص مولکولی سیانوباکتری‌های تولیدکننده ساکسی توکسین در خلیج فارس

پریسا صاحبی۱، مژگان امتیازجو۲ و محمد حسن شاه حسینی۳

۱ کارشناسی ارشد، گروه بیولوژی دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، تهران، ایران (نویسنده مسئول)
sahebi_parisa@yahoo.com

۲ دانشیار، گروه بیولوژی دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، تهران، ایران
m_emtyazjoo@iau-tnb.ac.ir

۳استاد، گروه زیست شناسی دریا، دانشکده منابع طبیعی و محیط زیست، واحد علوم تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی ، تهران، ایران
shahhosseiny@yahoo.com

چکیده

زمینه و هدف: سیانوباکترها میکروارگانیسم‌هایی هستند که در تمام پهنه‌های آبی یافت می‌شوند و برخی از آنها با شکوفایی تحت شرایط خاص مانند درجه حرارت آب و یوتروف بودن پهنه آبی در پدیده کشند قرمز در اکوسیستم های دریایی دخالت داشته که از این میان تعدادی سمی بوده و تعادل اکوسیستم را به مخاطره می اندازند. یکی از سموم مهم سیانوباکتری ها که بر سیستم عصبی و دستگاه تنفسی تاثیر میگذارد، ساکسی توکسین میباشد. هدف از این پژوهش، تشخیص سریع ملکولی سیانوباکترهای مولد سم ساکسی توکسین در هرمزگان-خلیج فارس با روش PCR بوده است.

روش تحقیق: در اوایل فصل پاییز سال ۱۳۹۲ در ۲۰ ایستگاه واقع در سه ناحیه مانگرو (خور تیاب)، مرجانی (جزیره لارک) و منطقه حد واسط به دو صورت فیکس شده (با فرمالین ۲ درصد) و فیکس نشده (انتقال روی یخ) نمونه گیری بعمل آمد. نمونه ها بلافاصله در شرایط سرد به لابراتوار منتقل و به روش DNG تغییریافته، DNA استخراج گردید. تست PCR با استفاده از DNA سوش استاندارد توکسوژن Anabeana circinalis AWQC131C اپتیمایز گردید و سپس از جهت ویژگی و حساسیت بررسی شد. آمپیلیکون به روش T/A Cloningدر پلاسمید PTZ57R به جهت توالی و تهیه کنترل مثبت، کلون گردید.

یافته‌ها: تست PCR اپتیمایز شده و محصول 602bp با استفاده از سوش استاندارد تکثیر گردید. آمپیلیکون کلون و پلاسمید pSASXT ساخته شد و سکانس ژن تعیین گردید. در بررسی ویژگی، با هیچ یک از DNA های سیانوباکترها ی -tox و سایر ارگانیسم ها محصولی تکثیر نگردید. علاوه بر آن حساسیت در حد ۱۰ کپی از ژنوم تایید شد. بر این اساس از ۲۰ ایستگاه نمونه برداری ، در ۹ ایستگاه (۴۵٪)، سیانوباکترهای مولد سم (بطور بالقوه) مشاهده گردید. همچنین روش های مولکولی مانند PCR در این مطالعه با استفاده از پرایمرهای Universal و اختصاصی، تکنیک مناسبی به جهت ارزیابی شناسایی سیانوباکترهای مولد سم ساکسی توکسین در پهنه های مختلف آبی می باشد. بعلاوه در این مطالعه با استفاده از پارامترهای مورفولوژیک با کلید شناسایی روش میکروسکوپی به شناسایی سیانوباکترهای موجود در ایستگاههای نمونه برداری شده پرداخته شده است. نتایج حاصل نشان داد که درتمامی ایستگاهها سیانوباکتری ها حضور داشته است.

نتیجه‌گیری: توجه به موقعیت ایستگاههایی که تست PCR در آنها ،حضور ژن سیانوباکترهای مولد سم ساکسی توکسین را تایید کرده است، میتوان نتیجه گیری نمود که نواحی خورهااز جمله خورهای تیاب، دارسرخ و جلابی، حاوی سیانوباکترهای مولد سم ساکسی توکسین می باشند.

کلیدواژه: سیانوباکتر، ساکسی توکسین، PCR ، خلیج فارس، هرمزگان، ایران

مقدمه

سیانوباکتر ها نخستین ارگانیسم های فتوسنتزکننده پروکاریوتی بوده که در اقیانوسها، آب های شیرین دریاچه ها، چشمه های آب گرم وحتی در مناطق خشک حضور دارند. (مساحی و همکاران، ۱۳۹۲.، شکروی و همکاران، ۱۳۸۶).

سیانوباکترها تولیدکننده گروه گسترده‌ای ازمتابولیت‌های ثانویه بوده که دارای اثرات آنتی بیوتیک، ضدقارچ، سیتوتوکسیک و بازدارنده آنزیم می باشند Duy et al.,2000, Chorus &Bartam,1999; Skulberg et al., 1984; Henning & (Kohl,1981). شکوفایی سیانوباکترها در دریاچه ها، رودخانه ها، خورها و اقیانوسها و آبهای ذخیره ای مشکلاتی را ایجاد می کنند که از جمله این مشکلات میتوان به پدیده یوتروفیکاسیون (Eutrophication) وتولید سموم خطرناک در آب اشاره نمود که این سموم تحت متابولیتهای ثانویه در آب ایجاد مزه و بو کرده و در انسان و سایر موجودات ایجاد بیماری و حتی مرگ می‌کنند که به خاطر وارد آوردن زیان های عمده اقتصادی حائز اهمیت می باشند. از انواع سمی سیانوباکترها میتوان *Anabaena flos-aquae*, *Microcystis aeruginosa* ,Oscillatoria, Planktothrix را نام برد (مساحی و همکاران، ۱۳۹۲ ونبی فر،۱۳۸۷ و شکروی و همکاران،۱۳۸۶) . سیانوتوکسین شامل ۴ دسته Neurotoxin ، Hepatotoxin ، Cytotoxin و Dermotoxin می باشند (Leanne et al.,2010). بر اساس جنس، مشتقات سم شامل هپاتوتوکسین های پپتید حلقوی، مثل Nodularin و میکروسیستین و همچنین نوروتوکسینهای آلکلوئیدی مثل anatoxin-a، cylindrospermopsin و saxitoxin (STX) هستند (Pflugmacher & Wiegand.,2005).

فعالیت های انسانی بر روی محیط زیست، مانند ورود فاضلاب های شهری، صنعتی و کشاورزی که حاوی عناصر غذایی فراوانی هستند عامل مهمی درگسترش شکوفایی جلبکی زیان آور بوده و گسترش بلوم های جلبکی سمی و زیان آور، به عنوان شاخص زیستی اختلالات اکولوژیک دریا، مورد توجه قرار گرفته است (نبی فر،۱۳۸۷؛ Betina et al.,2000). پژوهش‌ها و مطالعات فراوانی در زمینه روش های کنترل این سموم صورت گرفته است که تا حد قابل ملاحظه‌ای در کاهش سموم سیانوباکترها مؤثر واقع شده‌اند.از روش های کنترل سموم سیانوباکتر میتوان به کنترل یا مبارزه بیولوژیک و یا افزودن مواد شیمیایی به منابع آب، کلرزنی، فیلتراسیون سریع یا کند اشاره نمود. با مدیریت صحیح منابع آبی شامل ارزیابی این سموم در منابع آبی، تعیین مقادیر آنها و اتخاذ روش های مناسب برای مبارزه و کنترل آنها می‌توان میزان آلودگی منابع آبی به سموم سیانوباکترها را تا حد قابل ملاحظه‌ای کاهش داد و سلامت و بقاء موجودات زنده را تضمین کرد.(اسماعیلی ساری، ۱۳۷۹)

در این تحقیق با توجه به ارزش های اقتصادی و غذایی خلیج فارس طی سال های اخیر و متعاقب آن افزایش بلوم‌های جلبکی دراین منبع مهم غذایی، همچنین ارزش اقتصادی، دارویی و... سیانوباکترها و اثرات زیان بار اقتصادی سیانوتوکسین‌ها و به دلیل برتری روش‌های شناسایی ملکولی از لحاظ هزینه و سرعت و حساسیت نسبت به روش‌های کشت،به بررسی حضور سم ساکسی توکسین و شناسایی سیانوباکترهای تولیدکننده سم ساکسی توکسین در استان هرمزگان به ترتیب با استفاده از روش PCR و روش میکروسکوپی پرداخته شده است.

محدوده مورد مطالعه

در این مطالعه از تکنیک PCR برای شناسایی سریع و دقیق سیانوباکتریها و سیانوباکترهای توکسوژن (سم ساکسی توکسین) در حوزه آبی استان هرمزگان پرداخته شده است .

با توجه به اینکه درصد میزان صید در کل دنیا وابسته به وجود اکوسیستم غنی مانگرو، مصب‌ها و زیستگاه‌های مرجانی برآورد شده است . (مجنونیان و میراب زاد ، ۱۳۸۱) و اکوسیستم های مانگرو در ایران به واسطه دارا بودن منابع حساس بیوفیزیکی، اهمیت زیستگاهی، پرورشگاهی، تنوع زیستی، غذای جانداران و وجود گونه های در معرض خطر و کمیاب، واقع شدن در آستانه دامنه اکولوژیک شرایط زیست-محیطی، حساسیت به آلاینده ها، کندی ترمیم و مشکلات ناشی از پاکسازی آلاینده ها در ردیف یکی از مهم ترین مناطق حساس دریایی ایران قرار دارند و جنگل های مانگرو ایران از طریق برداشت بیش از حد سرشاخه ها، توسعه راه های ساحلی، استفاده نامناسب تفریحی، آلودگی نفتی ناشی از تردد نفتکش ها و یا حوادث دریایی، تخلیه آب و پساب نفتی لنج ها، توسعه آبزی پروری در مجاورت آنها و فعالیت های ناموزون گردشگری در معرض تهدید

میباشند.(دانه کار، ۱۳۷۷; دهقانیان و قزلی،۱۳۸۰ ; صفا ایسینی ۱۳۸۵) در این مطالعه در اوایل فصل پاییز سال ۱۳۹۲ از ۲۰ ایستگاه واقع در سه ناحیه خورتیاب (مانگرو)، جزیره لارک (مرجانی) و منطقه حدواسط (transit) به دو صورت فیکس شده (با فرمالین ۲ درصد) و فیکس نشده (انتقال روی یخ) نمونه گیری به عمل آمد.

مواد و روش ها

روش های تشخیص ملکولی کاربردهای زیادی در عرصه های مختلف بیولوژی، بیوتکنولوژی، مهندسی ژنتیک، جرم شناسی، میکروب شناسی، باستان شناسی و.... دارند.علت اصلی این امر، این است که DNA الگوی بکاررفته در PCRرا می توان از منابع مختلف تامین و تکثیر نمود(شاه حسینی، ۱۳۸۴).تکنیکPCR تمامی مشکلات پیشین در بیولوژی ملکولی را که ناشی از عدم دسترسی به مقادیر زیاد DNA یکسان بود، برطرف کرده است(Sambrook, 2001).

براین اساس در این مطالعه از روش PCR برای تشخیص حضور یا عدم حضور سیانوباکتر تولیدکننده سم ساکسی توکسین استفاده شده است. بعلاوه با استفاده ازمیکروسکوپ به شناسایی سیانوباکترهای موجود در ایستگاه‌های نمونه برداری شده پرداخته شده است.

یافته‌ها

نتیجه بهینه کردن تستPCR

آزمون PCR با استفاده از DNA استخراج شده از سوش استاندارد تولیدکننده ساکسی توکسین (توکسوژن) *Anabeana circinalis AWQC131C* ، بهینه گردید. با استفاده از پرایمرهای تشخیص سیانوباکتری CYA106 F- CYA718 R,و پرایمر های اختصاصی stxA-F و stxA-R طبق برنامه حرارتی مناسب، پروسه PCR در مورد آن اجرا شد. آمپلیکون که الگوی آن DNA سوش استاندارد بود، در کنار نمونه کنترل منفی و در کنار سایز مارکر بر روی ژل آگارز ۱/۵٪ مورد ارزیابی قرار گرفت. در الکتروفورز محصول PCR، باند اختصاصی حاصل از آمپلیکون مورد نظر که ۶۰۲ جفت باز طول داشت، کمی بالاتر از باند bp ۵۰۰ سایز مارکر قابل روئیت بود

بهینه کردن پروفایل حرارتی

جهت بهینه نمودن پروفایل حرارتی، به روش گرادیانت (خصوصاً زمان و دمای انیلینگ) مطالعه و در فاصله دماهای بین۵۸ تا ۶۸ درجه بررسی شد. مناسب ترین دما برای مرحله انیلینگ واکنش ۶۵ درجه سانتی‌گراد بود.

بهینه کردن غلظت پرایمرها

برای بهینه کردن مقدار پرایمرهای forward و reverse واکنش غلظت های بین ۰/۱ تا ۱ میکرو مولار از پرایمرها در واکنش آزمون شد در نهایت بیشترین میزان تکثیر DNA زمانی مشاهده شد که غلظت در ۰/۴ میکرومولار تثبیت شد.

بهینه کردن غلظت $Mgcl_2$

زمانی که واکنش PCR در مقادیر مختلفی از mM ۵ – ۰/۵ $Mgcl_2$ اجرا شد. ایده‌آل‌ترین غلظت $Mgcl_2$ برای انجام واکنش mM ۱/۵ بدست آمد ولی در غلظت‌های نزدیک به این مقادیر واکنش به مقدار اندک صورت گرفت.

بهینه کردن غلظتdNTPs

به منظور بهینه کردن مقدار نوکلئوتیدهای پیش‌ساز واکنش، واکنش در دو غلظت mM ۰/۵ و mM ۰/۷۵ بررسی شد و بیشترین میزان تکثیر DNA در لوله واکنش در غلظت mM ۰/۵ بدست آمد.

تعیین اختصاصیت آزمونPCRبرای تشخیص سیانوباکتری و ساکسی توکسین

جهت تعیین ویژگی آزمون PCR بهینه‌شده، پرایمرهای مورد استفاده برای تکثیرDNA سیانوباکتر و ژن تولید کننده ساکسی توکسین مورد ارزیابی قرار گرفتند. در آزمون PCR طراحی شده شناسایی سیانوباکترها و همچنین ژن تولید کننده ساکسی توکسین انجام شد. و این در حالی است که DNA مربوط به سایرموجودات توسط پرایمرهای این آزمون قابل تکثیر نبودند. در نتیجه این امر ویژگی اختصاصیت بالای این پرایمرها است که می‌توان با اطمینان از آن‌ها جهت تشخیص سیانوباکترها و ژن تولید کننده سم آنها استفاده نمود.

نتیجه کلونینگ محصولPCR

پس از گذشت ۲۰ ساعت از تزنسفورماسیون، بر روی پلیت LB-Agar حاوی X-Gal , IPTG ,Amp ، کلنی‌های سفید و آبی نمایان گشت. احتمالاً کلنی‌های سفید دارای پلاسمید نوترکیب وکلنی‌های آبی فاقد آن می‌باشند.

چهار تک کلنی سفید از کلنی‌های موجود که فاقد میکروستلایت بودند را شماره گذاری نموده ، سپس از مرکز هریک ازکلنی‌ها مقداری برداشته و با استفاده از پیپت پاستور در پلیت حاوی آمپی سیلین مجددا کشت تهیه شد. از چهار کلنی سفید کشت داده‌شده، از هر یک از آن‌ها به اندازه یک لوپ برداشته و داخل یک میکروتیوبcc ۱/۵ سوسپانسیون درست کرده و DNA پلاسمیدی به روش جوشاندن از تک‌تک آن‌ها استخراج گردید. پس از ۱۰ دقیقه جوشاندن در دمای ۱۰۰ درجه و سانتریفیوژ با 12000 دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه واکنش PCR بر روی DNA های به دست آمده از آن‌ها انجام گرفت. بعد از آزمون PCR تمامی کلنی‌هایی که انتخاب شده بودند از لحاظ داشتن پلاسمید نوترکیب دارای قطعه هدف، مورد تایید قرار گرفتند. محصول واکنش PCR را نشان می‌دهد که در آن DNA پلاسمیدی به دست آمده از چهار کلنی به عنوان الگو مورد استفاده قرارگرفته بود. در نهایت یکی از کلنی‌ها انتخاب شد و از روی آن داخل دو عدد محیط کشت مایع 10cc کشت داده شد به منظور نگهداری و استخراج پلاسمید انکوبه شد.

نتیجه استخراج پلاسمید

پلاسمید به روش آلکالاین فسفاتاز از محیط LB-Broth حاوی کلنی استخراج و در ژل آگارز ۱/۵ ٪ لود و الکتروفورز گردید. از آنجایی که قطعات هدف یکی ۴۸۷و دیگری ۶۰۲ جفت بازی وارد پلاسمید اولیه شده بودند این پلاسمید نوترکیب نسبت به pTZR57 سنگین تر بوده و در الکتروفورز حرکت آهسته تری از خود نشان داد و بر روی ژل آگارز بالاتر از پلاسمید بدون Insert قرار گرفت. همچنین با مشاهده باند ۴۸۷ bp و باند ۶۰۲bp بر روی ژل مشخص شد که کلون به درستی انجام‌شده و پلاسمید به خوبی استخراج‌شده و ژن ما تکثیر یافته است.

نتایج مربوط به آزمون PCR بر روی نمونه های آب تهیه شده از استان هرمزگان

آزمون PCR بهینه شده بر روی DNA استخراج شده نمونه های آب استان هرمزگان با استفاده از پرایمرهای تشخیص سیانوباکتری به همراه کنترل مثبت و کنترل منفی انجام شد و در مورد این نمونه ها باید گفت که تمامی ۲۰ نمونه DNA با این پرایمرها جواب مثبت دادند و مشخص شد که در تمامی ایستگاه ها سیانوباکتری حضور داشته است.

با همین نمونه ها تست PCR مربوط به تشخیص ساکسی توکسین با پرایمرهای مربوطه همراه کنترل مثبت و کنترل منفی گذاشته شد نتایج حاصل از آن نشان داد که ۹ ایستگاه از ۲۰ ایستگاه با این پرایمرها جواب مثبت دادند.

حضور سیانوباکترهای تولید کننده ساکسی توکسین درخلیج فارس- هرمزگان

نتایج حاصل از آزمون PCR نشان داد که از بین ۲۰ ایستگاهی که از آنها نمونه آب سطحی گرفته شده بود، ۹ ایستگاه (۴-۶-۷-۱۰-۱۱-۱۲-۱۳-۱۶-۱۷) حاوی سیانوباکترهای تولید کننده سم ساکسی توکسین بودند.

با نگاهی به موقعیت ایستگاهها،میتوان نتیجه گرفت که ایستگاههایی که در نواحی خورها(تیاب ، دارسرخ، جلابی) قرار دارند حاوی سیانوباکترهای مولد سم ساکسی توکسین هستند.

از آنجا که فاکتورهای محیطی شامل دما، pH، میزان نور و غلظت مواد مغذی به عنوان عاملی موثر بر بروز شکوفایی سمی شناخته شده اند (Vander Westhuizen and Eloff 1985).

توزیع غلظت مواد مغذی در سطح و عمق و اختلاط لایه های مختلف ستون آب به جریان های دریایی و تاثیر فاضلاب های شهری و صنعتی وابسته می باشد (ابراهیمی، ۱۳۸۱)

تغییرات شرایط اقلیمی و توفان ها، تردد شناورهای بزرگ و کوچک، ورود فاضلاب های خانگی، صنعتی و کشاورزی که حاوی مواد نیترات و فسفات میباشند در آب های خلیج فارس با تغییر میزان مواد مغذی، دما، شوری، اکسیژن محلول، کدورت و نور موجب شده شاهد دگرگونی هایی در تنوع زیستی، وضعیت فیزیکو شیمیایی آب ها و بروز پدیده طبیعی و نابهنگامی چون پدیده کشند قرمز در این پهنه آبی باشیم (قربانپور ۱۳۸۹).

شناسایی میکروسکوپی سیانوباکتری‌های خلیج فارس- هرمزگان:

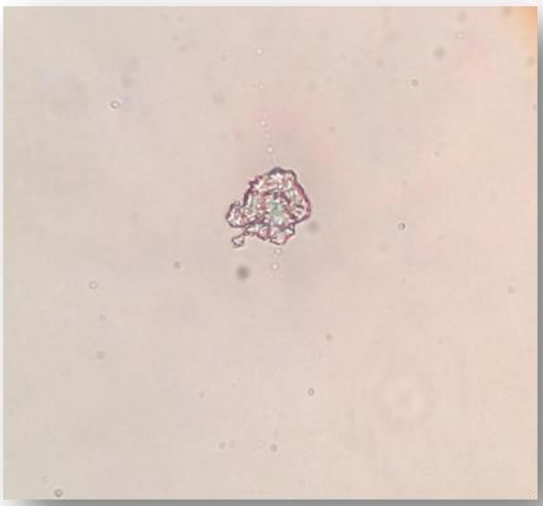
شناسایی بطورمستقیم توسط میکروسکوپ نوری انجام گرفته است. نتیجه مشاهدات بر این مبنا بود که در همه نمونه های جمع آوری شده، سیانوباکتری حضور داشته است. جدول زیر بیانگر سیانوباکترهای مشاهده شده در ۲۰ ایستگاه نمونه برداری شده است:

جدول ۱- سیانوباکترهای شناسایی شده در خلیج فارس- ۱۳۹۲

نمونه ای از سیانوباکترهای مشاهده شده در زیر نشان داده شده است

ایستگاه ها / سیانوباکترها (جنس)	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰	۱۱	۱۲	۱۳	۱۴	۱۵	۱۶	۱۷	۱۸	۱۹	۲۰
Aphanizomenon	*	*		*		*	*	*		*	*	*	*			*	*		*	*
Aphanocapsa					*	*				*	*	*	*		*	*	*	*		
Aphanothece								*							*		*			
Anabeana							*				*					*	*			
Anabenopsis								*		*						*				
chroococcus												*				*				
Cyanarcus								*							*					
Dactytococcopsis					*								*	*	*					*
Gelio capsa		*			*	*	*		*	*		*	*	*	*	*	*	*	*	*
Gelio theca		*			*	*	*		*	*		*	*	*	*	*	*	*	*	*
Gamphosphaeria																	*			
Halopedia															*					*
Leptothrix													*				*			
Lyngbya																	*			
Microcystis	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*		*	*		*	*	*	*
Merismopedia											*									
Nostoc											*		*							
Oscillatoria	*	*	*	*		*	*	*		*	*	*	*	*	*	*	*		*	*
Pediochloris																	*			
Phormidium																	*			
Raphidiopsis																		*		
Rivolaria		*		*		*	*		*	*	*		*	*	*		*	*	*	*
Romeria				*					*					*				*		
Rhabdoderma														*				*		*

شکل شماره ۱: **Oscillatoria**



شکل شماره ۲ : **Microcystis**

شکل شماره ۳ : **Merismopedia**

شکل شماره ۴ : **Gamphosphaeria**

نتیجه‌گیری

در پژوهش حاضر، حضور یا عدم حضور سیانوباکترهای مولد سم ساکسی توکسین در ۲۰ ایستگاه در منطقه هرمزگان در فصل پاییز سال ۱۳۹۲ با استفاده از روش ملکولی PCR سنجش گردید. علاوه برآن با استفاده از روش میکروسکوپی به شناسایی سیانوباکترهای موجود در ۲۰ ایستگاه پرداخته شد.

مطالعه سیانوباکترها، در اکوسیستم های دریایی از اهمیت ویژه ای برخوردار است. اهمیت این میکروارگانیسم ها نه تنها در تشکیل اولین زنجیره غذایی به عنوان تولیدکنندگان اولیه مطرح است بلکه تولیدکننده برخی مواد طبیعی فعال هستند که ارزش های دارویی، غذایی و اقتصادی فراوان دارند. علاوه بر این برخی از آنها با شکوفایی تحت شرایط خاص مانند درجه حرارت آب و یوتروف بودن پهنه آبی در پدیده کشند قرمز در اکوسیستم های دریایی دخالت داشته که از این میان تعدادی سمی بوده و تعادل اکوسیستم را به مخاطره می اندازند. (امتیازجو ۱۳۷۹، Rantala et al.,2006)

سیانوباکتری ها به رغم اندازه میکروسکوپی و ساختار سلولی ساده ای که دارند، نقش چشمگیری در تاریخ گذشته زمین ایفا کرده اند. سیانوباکتری های فتوسنتزی، اکسیژن اولیه اتمسفر زمین را بوجود آورده اند که سرآغازی برای پیدایش یوکاریوت ها

بوده است. مضاف بر این که، سیانوباکترهای باستانی، رسوبات کربناته عظیمی را در اعماق دریاها تولید کرده اند که باعث کاهش سطوح دی اکسید کربن اتمسفری و به تبع آن تغیر در اقلیم جهانی شده است.

امروزه نیز سیانوباکتری ها از منظر انسانی دارای اثرات مثبت و منفی هستند.سیانوباکتری ها زیستگاههای متنوع آبی و خشکی را اشغال کرده اند و ترکیبات آلی تولید می کنند که توسط موجودات دیگر به مصرف میرسند. سیانوباکترهای تثبیت کننده نیتروژن باعث حاصلخیزی بیشتر خاک و آب شده و سبب رشد برخی گیاهان و قارچ های همزیست می شوند. برخی سیانوباکتری ها در تولید ترکیبات دارویی و انرژی هایی با مبنای هیدروژنی، کاربردهای بالقوه بیوتکنولوژی دارند.تمایل بسیاری از سیانوباکترها به تولید سموم مختلف و تشکیل اجتماعات مضر و گسترده (شکوفایی سیانوباکتریایی) نگرانی فزاینده ای درباره اثرات منفی سیانوباکتری در جهان بوجود آورده است. (حاجی منیری ،۱۳۹۲., Graham, 1946)

در تحقیق حاضر، روش ملکولی PCR نشان داد که سیانوباکتری ها در تمام ۲۰ ایستگاه نمونه برداری شده، حضور دارند و در ۹ ایستگاه از ۲۰ ایستگاه (٪۴۵) حضور سیانوباکتری مولد سم مشاهده گردید .سپس با استفاده از روش میکروسکوپی به شناسایی سیانوباکتری ها پرداخته شد که سیانوباکتری های Aphanizomenon,Aphanocaps,Aphanothece,Anabeana,Anabenopsis,Lyngbya , Chroococcus, Cyanarcus, Dactytococcopsis, Geliocapsa, Geliotheca, Gamphosphaeria, Halopedia, Leptothrix, Microcystis, Merismopedia, Nostoc, Oscillatoria, Pediochloris, Phormidium, Raphidiopsis, Rivolaria, Romeria, Rhabdoderma مشاهده گردید.

در تحقیق حاضر سیانوباکترهای ,Aphanizomenon, Aphanocapsa,Gelio capsa، Rivolaria Gelio thece, Microsystis, Oscillatoria, در اکثر ایستگاهها مشاهده گردید و در ایستگاههایی که ژن سیانوباکترهای مولد سم ساکسی توکسین شناساسایی شد، سیانوباکترهای ,Aphanizomenon, Anabeana, Lyngbya Aphanocapsa, Geliocapsa, Geliothece, Microsystis, Romeria, Aphanopsis, Gamphosphaera, Phormidium, Pediochloris, Merismopedia, Nostoc, Dactytococcopsis, Chroococcus, Leptpthrix, Aphanothece, Oscillatoria, Rivolaria, نیز مشاهده گردید.

گونه های سیانوباکتری تشکیل دهنده بلوم، قادر به تولید متابولیت های ثانویه فعال بیولوژیک هستند که برای انسان و موجودات دیگر به شدت سمی است. سیانوتوکسین ها را میتوان از دیدگاه سم شناسی به ۴ دسته اصلی نوروتوکسین، هپاتوتوکسین، سیتوتوکسین و درماتوکسین طبقه بندی نمود.(LeannePearsonetal.,2010). نوروتوکسین ها بر سیستم اعصاب اثر میگذارند. هپاتوتوکسین به کبد حمله میکند و درماتوکسین باعث آزار پوست و مخاط میشود. مطالعات دراروپا و آمریکای شمالی نشان می دهد که ۲۵ الی ۷۵ درصد شکوفایی های ایجاد شده توسط سویه های سمی و در دریاچه های یوتروف به وقوع می پیوندد.

در شهر Bahia واقع در کشور برزیل *Anabaena* و *Microcystis spp* باعث شیوع مرگبار سیانوباکترهای سمی در آبهای آشامیدنی گردید و مرگ ۸۸ کودک از ۲۰۰۰ مورد ورم شکمی را در یک دوره ۴۴ روزه رقم زد (Teixera et al.,1993). فاکتورهای محیطی به عنوان عاملی موثر بر فرم شکوفایی سمی شناخته شده اند. که شامل دما ، pH، میزان نور و غلظت مواد مغذی می شود (Vander Westhuizen and Eloff 1985). در تمامی دنیا سم کبدی (هپاتوتوکسین حاوی میکروسیستین) ناشی از بلوم های سیانوباکتری آب شیرین نسبت به بلوم های نوروتوکسین ها فراوان تر است (Watanabe et al.,1992)

ساکسی توکسین یک نوروتوکسین قوی است که در محیط های آبزیان سرتاسر جهان رخ می دهد. مصرف گونه های ناقل می تواند منجر به مسمومیت صدف فلج کننده (PSP) شود که یک بیماری شدید است که ممکن است باعث فلج و مرگ شود. در آب های شیرین این سم توسط سیانوباکترهای پروکاریوتی تولید می شود و در آب های دریایی داینوفلاژله های یوکاریوتی نیزاین سم را تولید میکنند.اگرچه، چندین مطالعه نشان می دهد که سم ساکسی توکسین بوسیله خود داینوفلاژله ها تولید نمی شود بلکه بوسیله باکتری های همزیست-کشت (Co-Culture) تولید می شود (Stuken et al., 2011).

در تحقیق حاضر با توجه به نتایج حاصل از تست PCR مبنی بر حضور ژن مولد سم ساکسی توکسین در ۴۵ درصد از ایستگاههای نمونه برداری شده ومقایسه نتایج حاصله از شناسایی سیانوباکتری های مولد سم ساکسی توکسین در تحقیق حاضر با مطالعات انجام شده در ایران و جهان، میتوان حضورسیانوباکترهای Rivolaria,Anabeana Aphanizomenon, Lyngbya, Oscillatoria, را عامل حضور ژن سیانوباکترهای مولد سم ساکسی توکسین در۴۵ درصد از ایستگاههای نمونه برداری شده دانست.

در این پژوهش توانایی روش مولکولی PCR در شناسایی سیانوباکترهای مولد ساکسی توکسین در هرمزگان- خلیج فارس مورد ارزیابی قرار گرفته است و نشان داده که میتوان سیانوباکتری های مولد سم ساکسی توکسین را در پهنه های آبی مورد شناسایی قرار داد و از وجود این سم در منابع آبی مختلف در زمان شکوفایی و غیر از آن کسب نمود نتیجه حاصل از این مطالعه نشان دهنده حضور ۴۵ درصد سیانوباکتری های مولد ساکسی توکسین در این پهنه مهم آبی بوده است.

همچنین با استفاده از میکروسکوپ به شناسایی سیانوباکتری های حاضر در منطقه نمونه برداری شده پرداخته شد که ۲۴ جنس از سیانوباکتری ها شناسایی شدند. سیانوباکتری های
Aphanizomenon,Aphanocaps,Aphanothece,Anabeana,Anabenopsis,Lyngbya , Chroococcus, Cyanarcus, Dactytococcopsis, Geliocapsa, Geliotheca, Rivolaria Oscillatoria, Gamphosphaeria, Halopedia, Leptothrix, Microcystis, Merismopedia, Nostoc, Pediochloris, Phormidium, Raphidiopsis, Romeria, Rhabdoderma مشاهده گردید.

بر این اساس با توجه به موقعیت ایستگاههایی که تست PCR در آنها ،حضور ژن سیانوباکترهای مولد سم ساکسی توکسین را تایید کرده است، میتوان نتیجه گیری نمود که نواحی خورهااز جمله خورهای تیاب ، دارسرخ و جلابی ،حاوی سیانوباکترهای مولد سم ساکسی توکسین می باشند.

منابع

- ابراهیمی، م.، ۱۳۸۱، بررسی تغییرات فصلی مواد مغذی(Nutrients) و عوامل فیزیکی و شیمیایی در آبهای محدوده شمال شرقی خلیج فارس – پایان نامه کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال.ص ۱۱۱.
- امتیازجو،م.، ۱۳۷۹، بررسی تنوع زیستی و پتانسیل تولید مواد زیستی فعال از سیانوباکترهای خلیج فارس، رساله دکتری بیولوژی دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی علوم و تحقیقات تهران، دانشگاه آزاد اسلامی
- اسماعیلی ساری.، ع،۱۳۷۹ ، باکتریها، جلبک‌ها، قارچها و بی‌مهرگان آب شیرین، مؤسسهٔ تحقیقات شیلات ایران، ص ۳۳تا ۳۵.
- حاجی منیری،م.، کامیابی،ص.،۱۳۹۲ ، جلبک ها،جهاد دانشگاهی مشهد.
- دانه کار، افشین، ۱۳۸۵، طرح مدیریت و توسعه جنگل های مانگرو در استان هرمزگان"مهندسین مشاور پایداری طبیعت و منابع .جلد اول، اداره کل منابع طبیعی استان هرمزگان، ص۲۲۲.
- قربانپور، ص.،۱۳۸۹، شکوفایی فیتوپلانکتونی و بررسی اثرات آن در دریای خلیج فارس(هرمزگان) و تعیین راهکارهای مناسب، پایان نامه کارشناسی ارشد آلودگی و حفاظت محیط زیست دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی.
- مجنونیان، هنریک و میراب زاده، پرستو ،۱۳۸۱، مناطق حفاظت شده ساحلی – دریایی(ارزشها و کارکردها) ، انتشارات سازمان حفاظت محیط زیست.
- Betina, C., Hitzfeld, B., Stefan, J., Hoger, S., Daniel, R., Dietrich, D.,2000 Feb, Cyanobateial toxins, University of knostans, Germany, Environ Health Perspect 108 (suppl1): 133-122.Watanabe et al., 1992
- Duy, T. N., Lam, P. K. S., Shaw, G., Connell, D. W. (2000), Toxicology and risk assessment of freshwater cyanobacterial (bluegreenalgal) toxins in water, Rev. Environ. Contam. Toxicol., 163, 113 –186

- Leanne Pearson, Troco Mihali, Michelle Moffitt, Ralf Kellmann and Brett Neilan, 2010, On the Chemistry, Toxicology and Genetics of the Cyanobacterial Toxins, Microcystin, Nodularin, Saxitoxin and Cylindrospermopsin.
- StÜken, A., Orr, R.J.S., Kellmann, R., Murray, S.A., Neilan, B.A., Jakobsen, K.S.,2011, Discovery of Nuclear-Encoded Genes for the Neurotoxin Saxitoxin in Dinoflagellates.
- Watanabe, M.F., Tsuji, K., Watanabe, Harada, K., Suzuki, M., 1992, Rlease of heptapeptide toxin (microcystin) during the decomposition process of Microcystis aeruginosa, Nat Toxin, 1(1): 48-53.