مجله بوم شناسی آبزیان

Journal homepage: http://jae.hormozgan.ac.ir

اثر آنتی‌بیوتیک‌های اکسی‌تتراساکلین و فلورفنیکل بر رشد، محتوی کلروفیلa و پروتئین ریزجلبک *Chaetoceros muelleri* (Lemmermann, 1898) در محیط آزمایشگاهی

حسین قاسمی[۱]، آرش اکبرزاده[۱*]، مرتضی یوسف زادی[۲]

۱. گروه شیلات، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران

۲.گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه قم، قم، ایران

نوع مقاله
پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۵/۰۸
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۶/۱۱
تاریخ چاپ الکترونیک: ۱۴۰۲/۰۹/۳۱

***نویسنده مسئول:**

akbarzadeh@hormozgan.ac.ir

چکیده

هدف از این مطالعه بررسی اثر مواجهه بلند مدت (سمیت مزمن) آنتی‌بیوتیک های اکسی‌تتراساکلین (OTC) و فلورفنیکل (FLO) مورد استفاده در مزارع پرورش میگو بر عملکرد رشد، محتوی کلروفیلa و پروتئین کل ریزجلبک *Chaetoceros muelleri* بود. ریزجلبک *C.muelleri* با تراکم اولیه ۴ هزار سلول در هر میلی لیتر به مدت ۱۲ روز به ترتیب در معرض دوزهای ۴۳/۷ و ۲۰/۵ میلی گرم در لیتر اکسی‌تتراساکلین و فلورفنیکل قرار گرفت و سپس فاکتورهای رشد، محتوای کلروفیلa و پروتئین کل مورد سنجش قرار گرفت. نتایج نشان داد که آنتی بیوتیک های OTC و FLO به طور معنی‌داری باعث کاهش رشد، محتوای کلروفیلa و سنتز پروتئین در *C. muelleri* شدند ($p<۰/۰۵$). همچنین نتایج نشان داد که FLO سمیت بیشتری نسبت به OTC برای *C. muelleri* دارد. کاهش رشد، محتوای کلروفیلa و سنتز پروتئین در ریزجلبک *C.muelleri* در مواجهه با آنتی بیوتیک های OTC و FLO ممکن است به دلیل اثرات مهار کننده این آنتی‌بیوتیک‌ها بر تنفس سلولی و سنتز پروتئین باشد.

کلید واژه‌ها: آنتی‌بیوتیک، اکسی‌تتراسایکلین، سمیت، فلورفنیکل، *Chaetoceros muelleri*.

مقدمه

برخی آلاینده‌های متداول شامل آفت‌کش‌ها، مواد پاک‌کننده، سوخت و غیره در سطوح بالا و از راه‌های مختلف از جمله فاضلاب شهری، پساب مزارع کشاورزی و کارخانجات وارد اکوسیستم می‌شوند، اما داروها به صورت مداوم در سطوح و غلظت-های پایین به محیط آبی وارد می‌شوند (Santos *et al*., 2010; Kummrer., 2009). مطالعات نشان می‌دهند که استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در صنعت آبزی پروری خطر شدیدی در رابطه با مقاومت باکتریایی به وجود می آورند که این مقاومت ممکن است با پاتوژن‌های انسانی نیز متقارن باشد (Gräslund *et al*., 2003). ترکیبات ضد باکتریایی در مزارع تکثیر و پرورش آبزیان چندین ماه در رسوبات محیط‌های آبی باقی می‌ماند (Le *et al*., 2004). مصرف گسترده داروها به ویژه آنتی‌بیوتیک‌ها در صنایع آبزی پروری در طول چرخه تولید، بخصوص در دو فاز لاروی و رشد می باشد (Thuy *et al*., 2011; Bermúdez-Almada *et al*., 2014). آنتی‌بیوتیک‌ها در آبزی پروری بصورت حمام، تزریق و در غذا استفاده می‌شوند که در نهایت از مدفوع و یا غذای خورده نشده وارد رسوبات شده و از طریق جریانات آبی مورد استفاده ماهیان دریایی و دیگر موجودات غیر هدف از جمله ریزجلبکها و صدف‌ها قرار می‌گیرند (Cabello *et al*., 2006).

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-05-19]

یکی از چالش‌های اصلی در تولید آبزیان بویژه در تکثیر و پرورش میگو موضوع بهداشت و بیماری‌ها است. در میگوها تاکنون حدود۲۰ بیماری ویروسی، چهار بیماری باکتریایی، سه بیماری قارچی و تعدادی انگل گزارش شده که باعث ایجاد بیماری و خسارت به صنعت تکثیر و پرورش میگو می‌شوند (Lightner *et al*., 1998). برای مقابله با بیماری‌ها حدود ۱۳۸ نوع آنتی‌بیوتیک در تکثیر و پرورش آبزیان استفاده می‌شود. البته در بخش پرورش میگو ۳۲ نوع از آن ها و برای بخش تکثیر میگو ۳۹ نوع آنتی‌بیوتیک مورد استفاده قرار می‌گیرد (Thuy *et al*., 2011). اکسی‌تتراساکلین (Oxytetracycline: OTC) یک آنتی‌بیوتیک باکتریواستاتیک با فرمول شیمیایی ($C_{22}H_{24}N_2O_9$) است که در درمان عفونت‌های ناشی از میکروارگانیسم‌های حساس استفاده می‌شود (Ferreira *et al*., 2007 ;Pakravan and Akbarzadeh., 2017). فلورفنیکل (Florfenicol: FLO) نیز یک آنتی بیوتیک مصنوعی با طیف اثر وسیع در مهار سنتز پروتئین بوده که به زیر واحد ریبوزوم S۵۰ باکتریایی متصل می‌شود. این ویژگی خصوصاً برای استفاده در دامپزشکی و آبزی پروری به ویژه تکثیر و پرورش میگو برای مقابله با پاتوژن های *Flavobacterium columenare*، *Aeromonas salmonicida* و دیگر بیماری‌ها به کار می رود (Freitas *et al*., 2018; Bermúdez-Almada *et al*., 2014). در اکوسیستم‌های آبی و زنجیره‌های غذایی، جلبک‌ها گروه بزرگی از موجودات ساده هستند که در چرخه‌ی تولید و تغذیه نقش مهمی ایفا می‌کنند. آن‌ها به دلیل دارا بودن ترکیبات با ارزش همانند: بتاکاروتن، آستاگزانتین، ویتامین و اسیدهای چرب درصنایع دارویی، آرایشی و بهداشتی و غذایی کاربرد فراوانی یافته‌اند (Naderi Farsani *et al*., 2015). ریزجلبک‌های جنس *Chaetoceros*، از رده Mediophyceae هستند که دارای ۵۲۸ گونه می‌باشند. یکی از گونه‌های شاخص در بین آن ها *Chaetoceros muelleri* است (Lemmermann, 1898). *C. muelleri* به عنوان غذای با ارزش تجاری برای پرورش لارو نرم تنان، سخت پوستان و ماهیان استفاده می شوند.

ترکیبات بیوشیمیایی موجود در ریزجلبک ها نقش مهمی در رشد و توسعه موفقیت آمیز بسیاری از گونه‌های ماهی و میگوی پرورشی دارد (Brown *et al* ., 2002). موجودات فتوسنتز کننده دارای مکانیسم‌های متفاوتی برای سازگاری با نوسانات محیطی و حفاظت خود در برابر عواملی چون پرتو فرابنفش، نور مرئی و ورود آلاینده‌ها به اکوسیستم آبی هستند که عبارتند از: تنظیم فعالیت‌های آنزیمی و ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی (لیکوپن، گزانتوفیل و بتاکاروتن) و آنتی اکسیدان‌هایی مانند ویتامینE (آالفا کروفرول)، کاروتنوئیدها و غیره می‌باشند (Carocho *et al*., 2013; Rossa *et al*., 2002). تحقیقات بسیاری توان آنتی‌اکسیدانی ریزجلبک‌ها نسبت به عوامل خارجی را بررسی کرده‌اند که از جمله این تحقیقات می توان به تحقیق Nie و همکاران (۲۰۱۳) اشاره کرد که پاسخ های آنتی‌اکسیدانی ریزجلبک سبز *Pseudokirchneriella subcapitata* در معرض غلظت‌های مختلف از سه آنتی‌بیوتیک اریترومایسین (ETM)، سیپروفلوکساسین (CPF) و سولفامتوکسازول (SMZ) را بررسی کردند. فاکتورهای مورد بررسی شامل سطح پراکسیداسیون لیپیدی، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل و سه مکانیزم عمده آنتی‌اکسیدانی بود. ریزجلبک *P.subcapitata*، به روش‌های مختلف ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بالای خود را نسبت به قرار گرفتن در معرض CPF و SMZ از آنتی‌بیوتیک ETM نشان داد (Nie *et al*., 2013). در مطالعه‌ای دیگر که توسط Campa-Córdova (۲۰۰۶) صورت گرفت، نشان داده شد که آنتی بیوتیک Furazolidone نسبت به آنتی‌بیوتیک های erythromycin و chloramphenicol مهار رشد سلولی بالاتری برای دو ریزجلبک *Isochrysis galbana* و *C. gracilis* داشت(Campa-Córdova *et al*., 2006). علی‌رغم مطالعات بسیاری که در خصوص سمیت مواد ورودی به اکوسیستم های آبی صورت گرفته، پژوهش در مورد سمیت داروها به ویژه آنتی‌بیوتیک‌ها در ریزجلبک ها بسیار اندک بوده است. هدف تحقیق حاضر بررسی اثرات بلند مدت (سمیت مزمن) آنتی‌بیوتیک های اکسی‌تتراساکلین و فلورفنیکل مورد استفاده در تکثیر و پرورش میگو بر رشد، محتوای کلروفیلa و پروتئین کل ریزجلبک *C. muelleri* می باشد.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-05-19]

مواد و روش ها

مواد شیمیایی

آنتی‌بیوتیک OTC (CAT No. O۵۸۷۵)، آنتی‌بیوتیک FLO (C12H14Cl2FNO4S) و اسید گالیک (CAT No. G۷۳۸۴) با خلوص بالا از شرکت سیگما آلدریچ تهیه شد. همچنین فری سیانید پتاسیم (CAT No. ۲۴۴۰۲۳)، تری کلریک اسید (CAT No. T۶۳۹۹)، سدیم کربنات (CAT No. ۱۶۱۳۷۵۷)، سولفات سدیم (CAT No. ۱۶۱۴۸۰۷)، آمونیوم مولیبدات (CAT No. A۱۳۴۳) و سیدیم هیدروکسید (CAT No. S۸۰۴۵) از شرکت مرک آلمان تهیه شد.

تهیه استوک و کشت ریزجلبک

استوک اولیه ریزجلبک *C. muelleri* از ایستگاه تحقیقاتی بندر کلاهی میناب تهیه شد. ریز جلبک مورد نظر در محیط کشت f/2 با روشنایی ۱۰۰۰± ۷۵۰ لـوکس، تناوب نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، دمای ۲ ±۲۵ درجه سانتی‌گراد، شوری ۲۷- ۲۵ گرم در لیتر و pH ۸-۷ به صورت نیمه انبوه کشت شد (Banerjee *et al* ., 2011).

تیماردهی با آنتی‌بیوتیک

برای ساخت استوک آنتی‌بیوتیک های FLO و OTC ، مقدار یک گرم از آنتی‌بیوتیک مورد نظر در ۱۰۰ میلی لیتر حلال (اتانول یا DMSO) حل شد. غلظت های سمیت مزمن آنتی‌بیوتیک ها بر اساس دستورالعمل استاندارد ۲۰۱" سازمان توسعه و همکاری اقتصادی" که برای جلبک‌ها طراحی گردیده تعیین شد (Rodolfo *et al*., 2011). ریزجلبک *C. muelleri* با تراکم اولیه ۴ هزار سلول در هر میلی لیتر به مدت ۱۲ روز به ترتیب در معرض دوزهای ۴۳/۷ و ۲۰/۵ میلی گرم در لیتر اکسی‌تتراساکلین و فلورفنیکل قرار گرفت

سنجش میزان رشد

پس از معرفی غلظت های مورد نظر آنتی‌بیوتیک ها، نمونه‌های ریزجلبک در طی بازه ۱۲ روزه، به مدت سه روز یک بار جهت تعیین میزان رشد (تراکم سلولی) در سمیت مزمن به وسیله لام هموسیتومتر (مدل Neubauer Improved bright-line chamber, PRECICOLOR HBG, Germany) و با روش پیشنهادی Lavens و Sorgeloos (۱۹۹۶) مورد شمارش قرار گرفتند.

سنجش محتوی کلروفیل a

۱۴ میلی لیتر از نمونه‌ها (هر سه روز) با دور ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ و بعداز حذف مایع رویی، لوله های آزمایش حاوی ریزجلبک با فویل آلومینیوم پوشانده شد. سپس استون ۹۰ درصد به آنها اضافه و به مدت ۱ دقیقه ورتکس شدند. پس از استخراج کلروفیل، لوله‌های آزمایش دوباره با دور rpm ۶۰۰۰ به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند. میزان جذب نمونه (OD) بوسیله دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج‌های ۶۶۴ نانومتر و ۶۳۰ نانومتر اندازه گیری و با استفاده از فرمول ذیل، محتوای کلروفیل a محاسبه شد (Jeffrey *et al*., 1975):

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-05-19]

Chlorophyll a= ۱۱/۴۷E۶۶۴ -۰/۰۴۰E۶۳۰

سنجش پروتئین کل

برای بررسی میزان پروتئین کل از روش برادفورد استفاده شد (Bradford.,1976). برای استخراج عصاره پروتئین ۰/۵گرم از نمونه در ۱/۵ میلی گرم محلول بافر فسفات حل و در دور ۵۰۰۰ سانتریفیوژ شد. سپس فاز بالایی جدا حاوی پروتئین کل بود گردیده. برای اندازه گیری پروتئین به روش برادفورد به ۰/۱ سی سی عصاره پروتئینی از هر نمونه ۵ سی سی محلول برادفورد اضافه شد و سپس به مدت ۲۰ دقیقه ورتکس گردیده و جذب در طول موج ۵۹۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر یادداشت شد.

آنالیز آماری

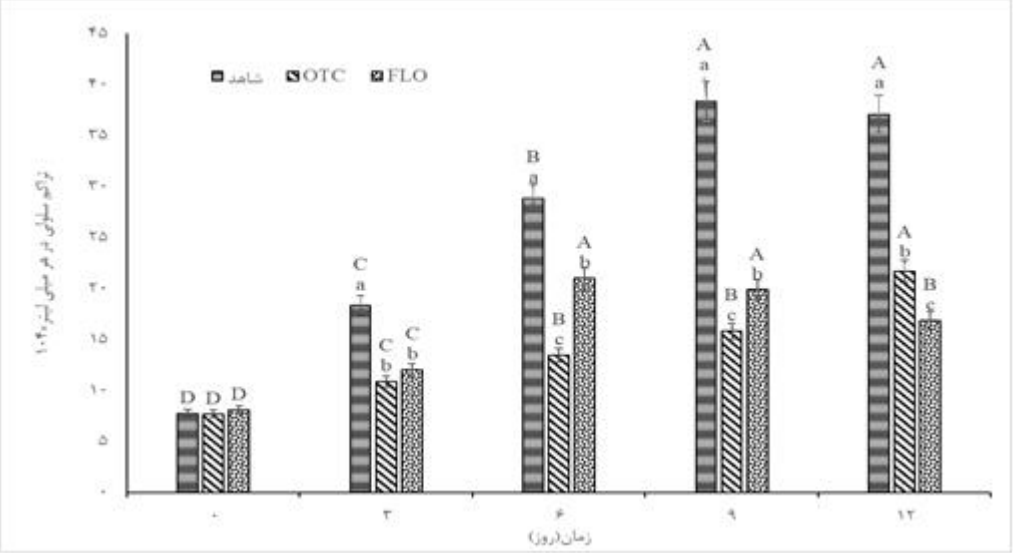
نرمال بودن داده ها به وسیله آزمون Shapiro-Wilk مورد بررسی قرار گرفت. برای بررسی نتایج آزمون و مقایسه میانگین داده ها از آزمون one-way ANOVA استفاده شد. در تمامی بررسی‌ها سطح معنی دار بودن اختلاف‌ها کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد. ابتدا نرمال بودن داده ها بررسی شد. از آزمون دانکن برای مقایسه تغییرات کلروفیل و پروتئین ریزجلبک در بین نمونه شاهد و تیمار نسبت به یکدیگر در روزهای مختلف آزمایش استفاده شد. تمامی اندازه‌گیری ها برای فاکتورهای مورد بررسی ریزجلبک سه بار تکرار شد و مقادیر به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش داده شد. آنالیز آماری با استفاده از نرم افزار SPSS16 و رسم نمودارها با نرم افزار Microsoft Office Excel 2016 انجام شد.

نتایج

ارزیابی نتایج رشد سلولی

شکل ۱ میزان رشد ریزجلبک *C. muelleri* در تیمارهای مختلف طی ۱۲ روز آزمایش را نشان می دهد. در روزهای ۳، ۶، ۹ و ۱۲، رشد (تراکم) سلول‌های *C. muelleri* در گروه کنترل به طور قابل توجهی بیشتر از گروه‌های تیماری بود که در معرض دوزهای ۴۳.۷ ملی‌گرم بر لیتر OTC و ۲۰.۵ میلی‌گرم بر لیتر FLO قرار گرفتند ($p<۰/۰۵$). در تیمار OTC، تراکم سلول‌های *C. muelleri* در ابتدا ۱۰.۸×۱۰^{۴}سلول در میلی‌لیتر بود و سپس در روز دوازدهم به۲۱.۷ ×۱۰^{۴} سلول در میلی‌لیتر افزایش یافت، اما در تیمار FLO، تراکم سلول‌های *C. muelleri* در روز سوم ۱۲ ×۱۰^{۴} سلول در میلی‌لیتر بود و در روز دوازدهم به ۱۹.۹×۱۰^{۴} سلول در میلی‌لیتر افزایش یافت.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-05-19]

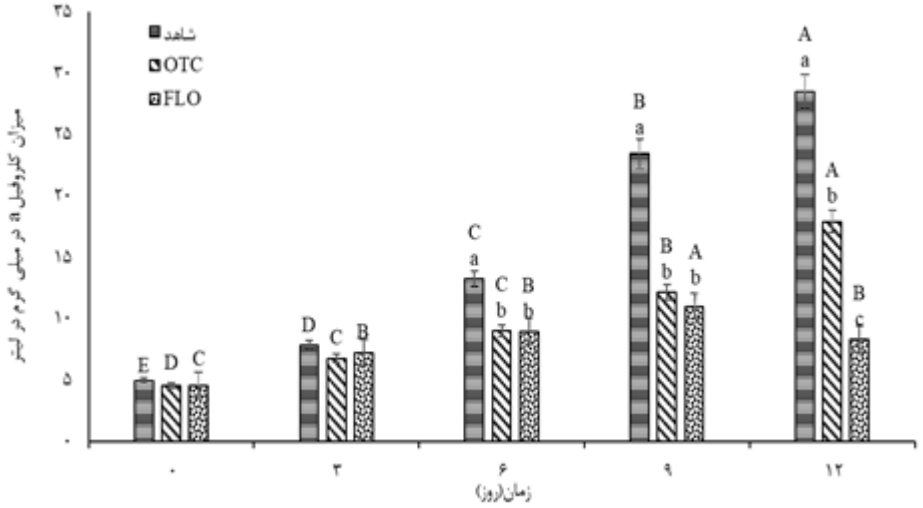


شکل ۱. تراکم سلولی ریزجلبک *C. muelleri* در معرض دوزهای ۴۳.۷ ملی‌گرم بر لیتر OTC و ۲۰.۵ میلی‌گرم بر لیتر FLO در مدت زمان دوازده روز. حروف بزرگ غیرمشابه نشانه اختلاف معنی دار هر تیمار در طی بازه دوازده روز و حروف کوچک غیرمشابه نشانه اختلاف معنی دار داده ها در تیمارهای مختلف در یک روز می باشد ($p<0/05$).

ارزیابی نتایج کلروفیل a

در این مطالعه با افزایش روزهای تیماردهی با آنتی بیوتیک OTC و FLO محتوی کلروفیلa نسبت به گروه کنترل کاهش چشمگیری داشت. شکل۲ محتوی کلروفیل a در ریزجلبک *C.muelleri* تیماردهی شده در روزهای مختلف با آنتی‌بیوتیک های OTC و FLO را نشان می دهد. از روز شروع تست تا روز دوازدهم محتوی کلروفیل a در ریزجلبک (شاهد و تیمار) روند صعودی داشت. از روز ششم به بعد محتوی کلروفیلa نمونه شاهد به طور معنی از نمونه های تیمار دهی شده با آنتی بیوتیک های OTC و FLO بیشتر ($p<0/05$). بیشترین محتوی کلروفیلa در نمونه شاهد و ۲/۴۲±۲۸/۵۴ میلی‌گرم بر لیتر بود. میزان محتوی کلروفیل a در *C. muelleri* در روز ۹، ۰/۲۱±۱۲/۶۷ میلیگرم برلیتر بود و تا روز ۱۲ به ۰/۷±۸/۶۹ سلول میلی‌لیتر کاهش یافت.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-05-19]



شکل ۲. محتوی کلروفیل a ریزجلبک *C. muelleri* در معرض دوزهای ۴۳.۷ ملی‌گرم بر لیتر OTC و ۲۰.۵ میلی‌گرم بر لیتر FLO در مدت زمان دوازده روز. حروف بزرگ غیرمشابه نشانه اختلاف معنی دار هر تیمار در طی بازه دوازده روز و حروف کوچک غیرمشابه نشانه اختلاف معنی دار داده ها در تیمارهای مختلف در یک روز می باشد ($p<۰/۰۵$).

ارزیابی نتایج پروتئین کل

جدول ۱ محتوای پروتئین کل *C. muelleri* تحت تأثیر آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده را نشان می دهد. محتوای پروتئین کل *C. muelleri* در گروه کنترل در مقایسه با تیمارهای OTC و FLO در روزهای ۳ تا ۱۲ پس از در معرض قرار گرفتن، به طور معنی داری بالاتر بود ($p<۰/۰۵$). علاوه بر این، در تمامی گروه‌های کنترل و آنتی‌بیوتیکی، از روز ۳ تا روز ۹ محتوای پروتئین کل *C. muelleri* روند افزایشی معنی داری داشت ($p<۰/۰۵$)،

جدول ۱. محتوای پروتئینی ریزجلبک *C. muelleri* در معرض دوزهای ۴۳.۷ ملی‌گرم بر لیتر OTC و ۲۰.۵ میلی‌گرم بر لیتر FLO در مدت زمان دوازده روز. حروف بزرگ غیرمشابه نشانه اختلاف معنی دار هر تیمار در طی بازه دوازده روز و حروف کوچک غیرمشابه نشانه اختلاف معنی دار داده ها در تیمارهای مختلف در یک روز می باشد ($p<۰/۰۵$).

روز / تیمار	۳	۶	۹	۱۲
شاهد	۰/۰۹۱±۰/۰۰۲^{Ca}	۰/۱۰۴±۰/۰۰۶^{Ba}	۰/۱۱۲±۰/۰۰۶^{Aa}	۰/۱۰۹±۰/۰۰۵^{Aa}
OTC	۰/۰۳۸±۰/۰۰۲^{Cb}	۰/۰۴۵±۰/۰۰۴^{Bb}	۰/۰۴۸±۰/۰۰۳^{Ab}	۰/۰۴۰±۰/۰۰۷^{Bb}
FLO	۰/۰۲۱±۰/۰۰۵^{Cc}	۰/۰۲۹±۰/۰۰۱^{Bc}	۰/۰۳۰±۰/۰۰۶^{Bc}	۰/۰۳۸±۰/۰۰۴^{Ac}

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-05-19]

بحث

در این مطالعه، سمیت مزمن آنتی بیوتیک های FLO و OTC در ریزجلبک *C. muelleri* مورد بررسی قرار گرفت. نتایج کاهش قابل توجه رشد جلبک *C.muelleri* پس از سه روز مواجهه با FLO و OTC نسبت به گروه کنترل را نشان داد. همچنین پس از روز نهم تعداد سلول ها در همه تیمارها تقریباً ثابت بود که نشان دهنده ورود ریزجلبک به فاز سکون است. در این فاز به دلیل تعادل بین افزایش و مرگ سلولی، تراکم سلولی پایدار است (Xiong *et al*., 2019). Xiong و همکاران (۲۰۱۷) گزارش نمودند رشد ریزجلبک *Chlamydomonas Mexican* در معرض غلظت‌های مختلف آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین را بررسی کردند که نتایج مشابهی در پارامترهای رشد در مقایسه با مطالعه حاضر به دست آمده. در این مطالعه، پس از روز نهم، افزایش قابل توجهی در رشد ریزجلبک در تیمار OTC مشاهده شد. این افزایش ممکن است به دلیل تطبیق با محیط و افزایش فراوانی مواد مغذی باشد که رشد متابولیسم ریزجلبک را افزایش داده است. غلظت آنتی‌بیوتیک در محیط کشت، موجب کاهش کلروفیل در نمونه‌های درمانی شده است که منجر به کاهش نرخ فتوسنتز و کاهش رشد شده است. این نتایج با مطالعات قبلی درباره اثر آنتی‌بیوتیک‌ها بر رشد و متابولیسم ریزجلبک‌ها مطابقت دارد (Xiong *et al*., 2017).

با توجه به نتایج به دست آمده، محتوی کلروفیل a در تیمارهای حاوی آنتی بیوتیک نسبت به نمونه شاهد به طور معنی داری کاهش یافت. نتایج تحقیق Chen و همکاران (۲۰۱۲) در مورد اثر آنتی بیوتیک Cefradine بر ریزجلبک های *Microcystis aeruginosa* و *Scenedesmus obliquus* با نتایج این تحقیق مطابقت داشت. کاهش محتوی کلروفیل a به علت افزایش تولید رادیکال‌های اکسیژن است که باعث پراکسیداسیون این رنگیزه و سرانجام تجزیه شیمیایی آن ها می‌شود(Chen *et al*., 2012). در مطالعه ای که بر روی ریزجلبک *T. suecica* انجام شد، اثر سه آنتی‌بیوتیک Chloramphenicol (CHL)، FLO و OTC بر روی روند تغییرات رشد و ترکیبات این ریزجلبک مورد بررسی قرار گرفت (Seoane *et al*., 2014). نتایج آنها نشان داد که هر سه آنتی‌بیوتیک بر محتوی کلروفیل ریزجلبک سبز *T.suecica* در انکوباسیون ۹۶ ساعته با غلظت‌های ۲/۵، ۵، ۷/۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر بیشترین مهار را داشته‌اند. پس از ۲۴ ساعت از قرار گرفتن در معرض آنتی‌بیوتیک غلظت‌های مختلف تاثیر کاهشی بر محتوی کلروفیل نشان داد. پارامترهای مرتبط با فتوسنتز مانند محتوی کلروفیل نیز پس از ۲۴ ساعت اضافه شدن آنتی‌بیوتیک ها تغییر یافته‌اند. آنها نتیجه گرفتند که *T.suecica* به سه آنتی‌بیوتیک CHL، FLO و OTC مورد آزمایش حساس است (Seoane *et al*., 2014). این نتایج با نتایج بدست آمده در این مطالعه از روند محتوی کلروفیل a در تیمارهای حاوی آنتی بیوتیک نسبت به گروه کنترل همخوانی داشت. همچنین، میزان محتوی کلروفیل a ریزجلبک *C.muelleri* در نمونه تیمار OTC پس از اضافه شدن غلظت آنتی‌بیوتیک، ابتدا کاهش یافت؛ ولی در روزهای پایانی (نهم تا دوازدهم) آزمایش، افزایشی محتوای کلروفیل نسبت به روزهای ابتدایی (سوم و ششم) مشاهده شد. صرف نظر از تاثیر غلظت آنتی‌بیوتیک OTC در نمونه تیمار، در نمونه شاهد تا روز نهم آزمایش روند رشد طبیعی ریزجلبک *C.muelleri* مشاهده شد. علت کاهش میزان محتوی کلروفیل پس از روز نهم، وارد شدن ریزجلبک به فاز سکون است که این فاز (سکون) به دلیل ثابت ماندن تراکم سلولی به علت متوازن شدن تکثیر سلولی و مرگ و میر سلولی می باشد. Martins و همکاران (۲۰۱۲) به بررسی اثر آنتی‌بیوتیک *Ciprofloxacin hydrochloride* بر نرخ رشد ویژه و میزان محتوی کلروفیل ریزجلبک *Pseudokirchneriella subcapitata* در غلظت های مختلف پرداختند و به این نتیجه دست یافتند که با افزایش غلظت آنتی‌بیوتیک فاکتور های ذکر شده نیز کاهش یافت. Geiger (۲۰۱۴) در بررسی اثرات جداگانه و مخلوط دارویی Ibuprofen، Ciprofloxacin، Phenols، ۲,۴Dichloropheno- و ۳-Chlorophenol بر روی ریزجلبک *Chlorella vulgaris* به نتایج مشابهی دست یافتند.

همانطور که پژوهش‌های قبلی نشان داده‌اند، عملکرد آنتی‌بیوتیک‌های استفاده شده در این مطالعه از طریق اتصال به واحدهای خاص ریبوزوم و مهار سنتز پروتئین می باشد (Ferreira *et al*., 2007). برای تأیید اثر آنتی‌بیوتیک‌های آزمایش شده، پروتئین سلول کلی از جلبک‌های ریزوزومی استخراج و با استفاده از آزمون کمیت‌سنجی پروتئین BCA و با استفاده از BSA به عنوان

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-05-19]

استاندارد، اندازه‌گیری شد. گونه *C.muelleri* حساسیت قابل توجهی در برابر آنتی‌بیوتیک‌های آزمایش شده نشان داد و این حساسیت با توجه به غلظت کل پروتئین نشان داده شد (جدول۱). داده‌های این مطالعه نشان داد که اثر نابودکننده آنتی‌بیوتیک FLO نسبت به آنتی‌بیوتیک OTC در طول دوره کشت بیشتر بود ($p<۰/۰۵$). در این مطالعه، با توجه به نمودار کلروفیلa ، اگرچه تمام نمونه‌های در معرض آنتی‌بیوتیک روند رشد لگاریتمی را در منحنی کلروفیلa خود نشان دادند، اما شدت و مدت آن‌ها نسبت به کنترل کاهش یافت. به نظر می‌رسد کاهش میزان کلروفیل در درمان‌های آنتی‌بیوتیکی ممکن است ناشی از مداخله در فرآیندهای متابولیکی مرتبط با توسعه طبیعی، به خصوص سنتز پروتئین باشد (Bashir and Cho, 2016). Xiong و همکاران (۲۰۱۷) اثر غلظت‌های مختلف آنتی‌بیوتیک Ciprofloxacin بر روی فاکتورهای مختلف ریزجلبک *C. Mexican* را بررسی کرده و نشان دادند که پارامتر های رشد از جمله میزان سلول زنده و ترکیبات بیوشیمیایی ریزجلبک در معرض آنتی بیوتیک کاهش یافت که با نتایج آنالیزهای انجام شده در تحقیق حاضر مشابه بود.

نتیجه گیری کلی

با افزایش زمان ورود آنتی بیوتیک به محیط‌کشت ریزجلبک، اثر مخرب بیشتری به سیستم فیزیولوژیک ریزجلبک *C.muelleri* مشاهده گردید. از سوی دیگر، فعالیت‌های بیوشیمیایی ریزجلبک با افزایش زمان حضور آنتی‌بیوتیک در محیط کشت ریزجلبک *C.muelleri* بالا رفته بود. با توجه به داده های جمع آوری شده در این تحقیق می توان نتیجه گرفت تغییرات بسیار کم در افزایش و ورود آنتی‌بیوتیک‌ها در محیط‌های آبی می تواند بر رشد و دوره زندگی آبزیان غیر هدف بویژه ریزجلبک‌ها تاثیر گذار باشد.

منابع

Assunção, M. F., Amaral, R., Martins, C. B., Ferreira, J. D., Ressurreição, S., Santos, S. D., & Santos, L. M. 2017. Screening microalgae as potential sources of antioxidants. Journal of applied phycology, 29(2), 865-877.

Abd El-Baky, H.H., El Baz, F.K. and El-Baroty, G.S.-2009. Production of phenolic compounds from *Spirulina maxima* microalgae and its protective effect in vitro toward Hepatotoxicity model. Electronic Journal of Environmental, Agricultural & Food Chemistry, 8(12).

Aruoma, O. 2003. Methodological consideration for characterization potential antioxidant action of bioactive components in plant foods. Mutation Research, 524, 9-20.

Banerjee, S., Hew, W.E., Khatoon, H., Shariff, M., Yusoff, F.M. 2011. Growth and proximate composition of tropical marine *Chaetoceros calcitrans* and *Nannochloropsis oculata* cultured outdoors and under laboratory conditions. Afr. J. Biotechnol. 10, 1375–1383.

Bashir, K.M.I., Cho, M.-G. 2016. The effect of kanamycin and tetracycline on growth and photosynthetic activity of two chlorophyte algae. BioMed research international 2016.

Bermúdez-Almada, M., Espinosa-Plascencia, A., Santiago- ernández, M.L., Barajas-Borgo, C.J. and Acedo-Félix, E. 2014. Comportamiento de oxitetraciclina en camarón de cultivo *Litopenaeus vannamei* y la sensibilidad a tres antibioticos de bacterias de Vibrio aisladas de los organisms. Biotecnia, 16(3), pp.29-37.

Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical biochemistry 72, 248-254.

Brown, M.R. 2002. Nutritional value and use of microalgae in aquaculture. Avances en Nutrición Acuícola VI. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuícola, 3, pp.281.

Cabello, F.C. 2006. Heavy use of prophylactic antibiotics in aquaculture: a growing problem for human and animal health and for the environment. Environmental Microbiology, 8(7), pp.1137-1144.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-05-19]

Campa-Córdova, A.I., Luna-Gonzalez, A., Ascencio, F., Cortés-Jacinto, E. and Cáceres-Martínez, C.J. 2006. Effects of chloramphenicol, erythromycin, and furazolidone on growth of *Isochrysis galbana* and *Chaetoceros gracilis*. Aquaculture, 260(1-4), pp.145-150.

Carocho, M., & Ferreira, I. C. 2013. A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. Food and chemical toxicology, 51, 15-25.

Chen, J.Q. and Guo, R.X. 2012. Access the toxic effect of the antibiotic cefradine and its UV light degradation products on two freshwater algae. Journal of hazardous materials, 209, pp.520-523.

Facchini, A. Pena, C. Delerue-Matos and M. C. B. S. M. Montenegro. 2010. Ecotoxicological aspects related to the presence of pharmaceuticals in the aquatic environment. Journal of Hazardous Materials, 175(1–3): 45-95.

Ferreira, C. S. G., B. A. Nunes, J. M. d. M. Henriques-Almeida and L. Guilhermino. 2007. Acute toxicity of oxytetracycline and florfenicol to the microalgae *Tetraselmis chuii* and to the crustacean *Artemia parthenogenetica*. Ecotoxicology and Environmental Safety, 67(3): 452-458.

Freitas, E.C., Rocha, O. and Espíndola, E.L.G., 2018. Effects of florfenicol and oxytetracycline on the tropical cladoceran *Ceriodaphnia silvestrii*: A mixture toxicity approach to predict the potential risks of antimicrobials for zooplankton. Ecotoxicology and Environmental Safety, 162: 663-672.

Geiger, D.F.E. 2014. Individual and Mixture Toxicity of Pharmaceuticals and Phenols on Freshwater Algae *Chlorella vulgaris* (Doctoral dissertation, University of Applied Sciences Technikum Wien).

Gräslund, S., K. Holmström and A. Wahlström. 2003. A field survey of chemicals and biological products used in shrimp farming. Marine Pollution Bulletin, 46(1): 81-90.

Hibberd, D. J. 1981. Notes on the taxonomy and nomenclature of the algal classes *Eustigmatophyceae* and *Tribophyceae* (synonym *Xanthophyceae*). Botanical Journal of the Linnean Society, 82(2): 93-119.

Jeffrey, S. W. and G. F. Humphrey. 1975. "New spectrophotometric equations for determining chlorophylls a, b, c1 and c2 in higher plants, algae, and natural phytoplankton." Biochemie und Physiologie der Pflanzen 167(2): 191-194.

Karsten, U., Lembcke, S. and Schumann, R. 2007. The effects of ultraviolet radiation on photosynthetic performance, growth and sunscreen compounds in aeroterrestrial biofilm algae isolated from building facades. Planta, 225(4), pp.991-1000.

Khalili, M. and Ebrahimzadeh, M.A. 2015. A review on antioxidants and some of their common evaluation methods. Journal of Mazandaran University of Medical Sciences, 24(120), pp.188-208.

Kummerer, K. 2009. Antibiotics in the aquatic environment–a review–part I. Chemosphere, 75**,** 417-434.

Le, T. X. and Y. Munekage. 2004. Residues of selected antibiotics in water and mud from shrimp ponds in mangrove areas in Viet Nam. Marine Pollution Bulletin, 49(11–12): 922-929.

Lavens, P., P. Sorgeloos, Food and A. O. o. t. U. Nations. 1996. Manual on the production and use of live food for aquaculture, Food, and Agriculture Organization of the United Nations.

Lemmermann, E. 1898. Der grosse Waterneverstorfer Binnensee. Eine biologische Studie. Forschungsberichte aus der Biologischen Station zu Plön 6: 166-205.

Lightner, D.V., and Redman, R.M. 1998. Shrimp diseases and current diagnostic methods. Aquaculture, 164(1), pp.201-220.

Liu, Y., Guan, Y., Gao, B. and Yue, Q. 2012. Antioxidant responses and degradation of two antibiotic contaminants in *Microcystis aeruginosa*. Ecotoxicology and environmental safety, 86, pp.23-30.

Mata, T.M., Martins, A.A. and Caetano, N.S. 2010. Microalgae for biodiesel production and other applications: a review. Renewable and sustainable energy reviews, 14(1), pp.217-232.

Martins, N., Pereira, R., Abrantes, N., Pereira, J., Gonçalves, F. and Marques, C.R. 2012. Ecotoxicological effects of ciprofloxacin on freshwater species: data integration and derivation of toxicity thresholds for risk assessment. Ecotoxicology, 21(4), pp.1167-1176.

Naderi Farsani, M., Naderi Farsani, M. 2015. Effects of different nitrate levels on growth and fatty acid content in two species of freshwater microalgae. 4(1), 15-28. (in Persian)

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-05-19]

Nie, X.P., Liu, B.Y., Yu, H.J., Liu, W.Q. and Yang, Y.F. 2013. Toxic effects of erythromycin, ciprofloxacin and sulfamethoxazole exposure to the antioxidant system in *Pseudokirchneriella subcapitata*. Environmental pollution, 172, pp.23-32.

Pakravan S, Akbarzadeh A. . 2017 Teh review of pathogenic mechanism of Aeromonas hydrophila and action of tetracycline against it in aquatic animal. J. Aqu. Eco; 6 (4) :1-9 (in Persian)

Reed, L. A., T. C. Siewicki and J. C. Shah. 2004. "Pharmacokinetics of oxytetracycline in the white shrimp, *Litopenaeus setiferus*." Aquaculture 232(1): 11-28.

Rodolfo, G. Z. 2011. Society at a Glance. 2011 OECD Social Indicators: OECD Social Indicators. OECD Publishing.

Rossa, M.M., de Oliveira, M.C., Okamoto, O.K., Lopes, P.F. and Colepicolo, P. 2002. Effect of visible light on superoxide dismutase (SOD) activity in the red alga *Gracilariopsis tenuifrons* (Gracilariales, Rhodophyta). Journal of applied phycology, 14(3), pp.151-157.

Santos, L. H. M. L. M., A. N. Araújo, A. Facchini, A. Pena, C. Delerue-Matos and M. C. B. S. M. Montenegro., 2010. Ecotoxicological aspects related to the presence of pharmaceuticals in the aquatic environment. Journal of Hazardous Materials, 175(1–3): 45-95.

Singleton, V.L. and Rossi, J.A. 1965. Colourimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. American journal of Enology and Viticulture, 16(3), pp.144-158.

Seoane, M., Rioboo, C., Herrero, C. and Cid, Á. 2014. Toxicity induced by three antibiotics commonly used in aquaculture on the marine microalga *Tetraselmis suecica* (Kylin) Butch. Marine environmental research, 101, pp.1-7.

Soleimani, S., Yousefzadi, M., Rezadoost, H. and Bioki, N.A. 2016. Identification and antioxidant of only hydroxylated naphthoquinone pigments from sea urchin pigments of *Echinometra mathaei*. Medicinal Chemistry Research, 25(7), pp.1476-1483.

Soobrattee, M.A., Neergheen, V.S., Luximon-Ramma, A., Aruomab, O.I., Bahoruna, T. 2005. Phenolics as potential antioxidant therapeutic agents: Mechanism and actions. Mutation Research 579, PP. 200-213.

Suzuki, N., Koizumi, N., and Sano, H. 2001. Screening of cadmium-responsive genes Tripathi B. N., Gaur J .P. 2006. Physiological behaviour of *Scenedesmus* sP. During exposure to elevated levels of Cu and Zn and after withdrawal of metal stress. Protoplasma. 229, 19.

Thuy, H. T. T., L. P. Nga and T. T. C. Loan. 2011. "Antibiotic contaminants in coastal wetlands from Vietnamese shrimp farming." Environmental Science and Pollution Research 18(6): 835-841.

Vijayabaskar, P., Vaseela, N. and Thirumaran, G. 2012. Potential antibacterial and antioxidant properties of a sulfated polysaccharide from the brown marine algae *Sargassum swartzii*. Chinese journal of natural medicines, 10(6), pp.421-428.

Xiong, J.-Q., Kim, S.-J., Kurade, M.B., Govindwar, S., Abou-Shanab, R.A., Kim, J.-R., Roh, H.-S., Khan, M.A., Jeon, B.-H. 2019. Combined effects of sulfamethazine and sulfamethoxazole on a freshwater microalga, *Scenedesmus obliquus*: toxicity, biodegradation, and metabolic fate. Journal of hazardous materials 370, 138-146.

Xiong, J.-Q., Kurade, M.B., Jeon, B.-H. 2017. Ecotoxicological effects of enrofloxacin and its removal by monoculture of microalgal species and their consortium. Environmental pollution 226, 486-493.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-05-19]

Journal of Aquatic Ecology
Volume14, Issue 2, Autumn 2023
Pages:86-96

Journal of Aquatic Ecology

Journal homepage: http://jae.hormozgan.ac.ir

University Of Hormozgan

The effect of oxytetracycline and florfenicol antibiotics on growth, chlorophyll a and total protein to microalgae *Chaetoceros muelleri* (Lemmermann, 1898)

Hossein Ghasemi[1], Arash Akbarzadeh [1*], Morteza Yousefzadi [2]

1. Department of Fisheries, Faculty of Marine Science and technology, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran.

2. Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, University of Qom, Qom, Iran

Abstract

The study aimed to examine the chronic toxicity effects of oxytetracycline (OTC) and florfenicol (FLO) antibiotics, commonly used in shrimp farms, on the growth performance, chlorophyll a content, and total protein of *Chaetoceros muelleri* microalgae. *C. muelleri*, initially at a density of 4,000 cells per milliliter, underwent exposure to oxytetracycline at doses of 7.43 milligrams per liter and florfenicol at 5.20 milligrams per liter for 12 days. Subsequent assessments focused on growth metrics, chlorophyll a content, and total protein. The findings highlighted a significant reduction in the growth, chlorophyll a content, and protein synthesis of *C. muelleri* following exposure to both OTC and FLO antibiotics ($p < 0.05$). Moreover, the study revealed that FLO exhibited higher toxicity toward *C. muelleri* compared to OTC. The observed decline in growth, chlorophyll a content, and protein synthesis in *C. muelleri* under OTC and FLO exposure could be attributed to the inhibitory impact of these antibiotics on cellular respiration and protein synthesis pathways.

ARTICLE TYPE
Research

Received: 30 July 2019
Accepted: 1 September 2020
ePublished: 17 December 2023

[*] Corresponding Author:
akbarzadeh@hormozgan.ac.ir

Keywords: antibiotic, toxicity, florfenicol, oxytetracycline, *Chaetoceros muelleri*.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-05-19]