مجله بوم‌شناسی آبزیان

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

تأثیر هورمون اتینیل استرادیول روی رشد، محتوای کلروفیل و پروتئین ریزجلبک *Chaetoceros muelleri* (Lemmermann, 1898)

صدرا درویش نژاد، محمدرضا طاهری زاده*، احمد همایی

گروه زیست دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس

نوع مقاله:
پژوهشی

تاریخچه مقاله:
دریافت: ۹۸/۱۲/۱۲
اصلاح: ۹۹/۰۶/۲۲
پذیرش: ۹۹/۰۸/۰۲

کلمات کلیدی:
اتینل استرادیول
ریزجلبک
هورمون رشد
EC_{50}

چکیده

در تحقیق حاضر، تأثیر غلظت‌های مختلف هورمون اتینیل‌استرادیول بر روی ریزجلبک *Cheatoceros muelleri* بررسی شده است. هفت غلظت مختلف از هورمون اتینل استرادیول با یک تیمار شاهد در سه تکرار (۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۱۵۰۰، ۱۷۵۰، ۲۰۰۰ و ۲۵۰۰ میکروگرم بر لیتر) مورد سنجش قرار گرفت. فاکتورهای مورد نظر برای ریزجلبک *C. muelleri* از جمله تعیین EC_{50}، اندازه میزان کلروفیل a، ضریب رشد ویژه و میزان پروتئین بود. نتایج نشان داد در غلظت‌های ۲۵۰ و ۵۰۰ میکروگرم بر لیتر، میزان رشد و میزان کلروفیل a در نمونه‌های تیمار شده با هورمون، به طور معنی‌داری نسبت به شاهد افزایش یافت. در مقابل، تنها در غلظت ۲۵۰ میکروگرم بر لیتر بیشترین میزان پروتئین نسبت به شاهد در ریزجلبک مشاهده شد. همچنین افزایش دوره تیماردهی در بیشتر غلظت‌ها تأثیر معنی‌داری بر مهار رشد دارد و در برخی موارد باعث رشد ریزجلبک مورد مطالعه می‌شود. با افزایش حضور هورمون اتینل‌استرادیول، میزان مهار رشد و محتوای کلروفیل ریزجلبک *C. muelleri* تحت تأثیر قرار گرفت و تأثیر بسزایی در میزان پروتئین ریزجلبک مشاهده شد.

مقدمــه

اثرات زیست‌محیطی هورمون‌های جنسی در موجودات آبزی در سه سطح تغذیه‌ای (ماهی‌ها، بی‌مهرگان و جلبک) گزارش‌شده است که برخی از آن‌ها می‌توانند اثرات درون‌زا داشته باشند و از طریق اتصال به گیرنده‌های خاص مشترک بین انسان و موجودات غیر هدف (بی‌مهرگان، ماهی، پرندگان و پستانداران) بر آن‌ها نیز تأثیر بگذارند (Kopperi and Riekkola, 2016). اطلاعات کمی در مورد اثرات هورمون جنسی و تأثیرات آن‌ها بر محیط‌زیست و موجودات غیر هدف در اکوسیستم‌های آبی در دسترس است (Santos *et al*., 2010). استروئید (E1)، ۱۷ بتا استرادیول (E2)، استریول (E3) و α۱۷- اتینیل استرادیول (EE2)، رایج‌ترین هورمون‌های استروژنی می‌باشند که به آسانی در فاضلاب یافت می‌شوند و به اکوسیستم‌های دریایی وارد می‌شوند (Fischer *et al*., 2007). اتینیل استرادیول (EE_2) با فرمول مولکولی ($C_20H_{24}O_2$) استروژن استروئیدی مصنوعی و یکی از محصولات مشتق شده از استرادیول است که در دهه‌ی ۱۹۳۰ میلادی کشف شد و در سال ۱۹۴۳ میلادی در پزشکی استفاده شد (Fischer *et al*., 2007). با این حال، بر اساس توابع و مکانیسم عمل درمانی، گروه‌های خاصی از داروها هستند که حتی در غلظت‌های چند نانوگرم در هر لیتر به‌ویژه تحت شرایط خاص، یک ریسک برای موجودات غیر هدف ایجاد می‌کنند

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: taheri.1965@gmail.com

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2025-07-04]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1400.11.2.4.9]

(Crain *et al*., 2008; Kvarnryd *et al*., 2011). تحقیقات در مورد تأثیر هورمون‌ها در فیزیولوژی ریزجلبک‌ها تقریباً ۸۰ سال پیش آغاز شده و در درجه اول بر تأثیر مواد تنظیم‌کننده رشد بر رشد سلولی و تولید زیست‌توده جلبک متمرکز شده است. توجه جدی‌تر به نقش هورمون‌ها در فیزیولوژی جلبک‌ها توسط مطالعات بی‌شمار در دهه‌های اخیر گزارش شده است که نشان داده است که هورمون‌ها می‌توانند رشد سلول‌های میکروبی و تولید زیست‌توده را به میزان قابل‌توجهی افزایش دهند و همچنین بر انباشت لیپیدهای داخل سلول، میزان پروتئین و رنگ‌دانه تأثیرات مستقیم بگذارند. ریزجلبک‌ها به عنوان پایه و اساس زنجیره‌های غذایی در محیط‌های دریایی شناخته می‌شوند (Suthers and Rissik, 2009). از سوی دیگر ریزجلبک‌ها به شدت حساس هستند، به‌طوری‌که آن‌ها را به عنوان شاخصی برای پاسخ به انواع سموم و پساب صنعتی در نظر می‌گیرند (Lai *et al*., 2002). هورمون‌های طبیعی مانند استرون، استریول و پروژسترون به‌راحتی توسط ریزجلبک‌ها در طی چند روز تجزیه می‌شوند، درحالی‌که هورمون‌های مصنوعی مانند اتینیل استرادیول بسیار پایدارتر هستند و در محیط‌های آبی به‌دشواری قابل متابولیزه شدن می‌باشند (Lai *et al*., 2002; Wan *et al*., 2015). نتایج تحقیقات مورد بررسی نشان داد که واکنش‌های گونه‌های مختلف ریزجلبک، به نوع و غلظت هورمون مورد نظر بستگی دارد. Wang و همکاران در سال ۲۰۱۳ مقایسه قدرت حذف هورمون‌های طبیعی و مصنوعی مانند β۱۷-استرادیول (E2) و اتینل استرادیول موجود در تصفیه‌خانه فاضلاب خانگی را با استفاده از ریزجلبک‌های سبز مانند *Chlorella* sp.، *Chlamydomonas* sp.، *Selenastrum* sp. مقایسه کردند. Balina و همکاران (۲۰۱۵) سمیت هورمون مصنوعی اتینل استرادیول بر پارامترهایی مانند تعداد سلول سالم و فعالیت فتوسنتزی ریزجلبک سبز *Desmodesmus communis* مورد بررسی قرار داده‌اند. Brezovsek و همکاران (۲۰۱۴) سمیت چهار داروی ضد نئوپلاسم و برخی از مخلوط‌های دوتایی از آن‌ها را بر روی دو گونه ریزجلبک سبز *Pseudokirchneriella subcapitata* و سیانوباکتریوم *Synechococcus leopoliensis* مورد سنجش قرار دادند. Belhaj و همکاران (۲۰۱۷)، اثر اتینل استرادیول بر رشد، محتوای متابولیک، پاسخ آنتی اکسیدانی، استرس اکسیداتیو و آسیب ژنتیکی ریزجلبک *Dunaliella salina* مورد بررسی قرار دادند. با این حال، شواهدی درباره میزان تغییر فاکتورهای رشد و همچنین تغییر در روند ترکیبات و میزان پروتئین برای ریزجلبک *Cheatoceros muelleri* به اتینل استرادیول گزارش نشده است. *C. muelleri* یک دیاتوم دریایی و یکی از شناخته‌شده‌ترین گونه‌ها در سرتاسر جهان برای تغذیه لارو سخت‌پوستان و نرم‌تنان می‌باشد که به دلیل داشتن مقادیر بالای لیپید و اسیدهای چرب ضروری می‌باشد (Zmora and Richmond, 2004). ریزجلبک *C. muelleri* همچنین به عنوان یکی از مناسب‌ترین ریزجلبک‌ها برای تولید لیپید و زیست‌توده در مقیاس وسیع شناخته شده است. *C. muelleri* را می‌توان در مقیاس وسیع در محیط داخل و در هوای آزاد برای مصرف تجاری کشت داد (López-Elías *et al*., 2005). این جلبک یکی از کاربردی‌ترین جلبک‌هایی است که در اکثر مراکز تکثیر در کشورهای آسیای شرقی، مکزیک و استرالیا مورد استفاده قرار می‌گیرد (Mansour *et al*., 2005; Lavens and Sorgelos, 1996). در ایران نیز این ریزجلبک برای تغذیه آرتمیا، روتیفر و بارناکل و برای مصرف غذای زنده لارو ماهیان و سخت‌پوستان مانند میگو و صدف در کارگاه‌های تکثیر و پرورش مورد استفاده قرار می‌گیرد (Hafezieh, 2007). با وجود اهمیت ریزجلبک *C. muelleri* در بخش‌های مختلف صنعتی و آبزی‌پروری، تاکنون تأثیر هورمون اتینل استرادیول بر رشد ترکیبات این میکروارگانیسم بررسی نشده است. از این رو در تحقیق حاضر تأثیر غلظت‌های مختلف این هورمون بر رشد، میزان کلروفیل و میزان پروتئین ریزجلبک *C. muelleri* بررسی شد.

مواد و روش‌ها

کشت ریزجلبک در ارلن و اعمال تیمارها

این تحقیق در سال ۱۳۹۸ در آزمایشگاه بوم‌شناسی دانشکده علوم و فنون دریایی دانشگاه هرمزگان صورت پذیرفت. ریزجلبک مورد استفاده در تحقیق حاضر، *C. muelleri* بود که استوک مورد نیاز آن از ایستگاه تحقیقاتی کلاهی میناب تهیه شد. ارلن‌های حاوی ۴۰۰ میلی‌لیتر نمونه ریزجلبکی با تراکم 8×10^4 آماده شدند و به مدت چهار روز در شرایط آزمایشگاهی (روشنایی ۱۰۰۰±۷۵۰ لوکس، تناوب نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، دمای ۲ ±۲۵ درجه سانتی‌گراد، شوری ۲۷-۲۵ قسمت در هزار و pH ۸-۷) به فاز رشد لگاریتمی رسیدند. برای رشد ریزجلبک از ترکیب محیط کشت F/2 استفاده

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2025-07-04]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1400.11.2.4.9]

شد (جدول ۱) (Banerjee *et al*., 2011). تیمار هورمون اتینل استرادیول مورد نظر، در روز چهارم با ۷ غلظت شامل ۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۱۵۰۰، ۱۷۵۰، ۲۰۰۰ و ۲۵۰۰ میکروگرم بر لیتر غلظت انجام شد. این غلظت‌های مختلف با استفاده از محلول استوک (۵۰ میلی‌گرم اتینل استرادیول در ۵۰ میلی‌لیتر اتانول) تهیه شدند. سپس ریزجلبک به مدت هفت روز در معرض غلظت‌های مختلف قرار گرفت. روزانه جذب نوری نمونه‌ها و شمارش ریزجلبک برای تعیین میزان رشد و غلظت مؤثر (EC_{50}) انجام گرفت. EC_{50} هورمون با استفاده از نرم‌افزارهای Probit analysis و Excel 2016 محاسبه شد. همچنین نرخ رشد ویژه ریزجلبک با استفاده از فرمول ذیل محاسبه شد (Hibberd, 1981).

$$\mu = ln(C_1/C_0)/t_1-t_0$$

در رابطه بالا، μ ضریب رشد ویژه، C_1 تراکم ریزجلبک در انتهای دوره و C_0 تراکم ریزجلبک در ابتدای دوره است.

اندازه‌گیری میزان کلروفیل a

برای تعیین میزان کلروفیل، ابتدا سوسپانسون ریزجلبکی به مدت ۱۰ دقیقه با استفاده از سانتریفیوژ (۳۰۰۰ دور در دقیقه و دمای ۴- درجه سانتی‌گراد) جدا شد. رسوب ریزجلبکی به دست آمده با یک میلی‌لیتر استون ۸۵ درصد مخلوط و توسط ورتکس به مدت ۲ دقیقه مخلوط شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس، جذب نمونه‌ها در طول موج‌های ۶۶۴ و ۶۳۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومر (مدل CECIL 9200) خوانده شد. میزان کلروفیل با استفاده از فرمول زیر بر حسب میکروگرم بر میلی‌لیتر محاسبه شد (Jeffrey and Humphrey, 1975).

$$\text{Chlorophyll a} = ۱۱/۴۷E_{۶۶۴} - ۰/۰۴۰E_{۶۳۰}$$

سنجش میزان پروتئین کل

برای بررسی میزان تغییرات پروتئین از روش برادفورد استفاده شد (Bradford, 1976). برای استخراج عصاره پروتئین ۰/۵گرم از نمونه در ۱/۵ میلی‌لیتر محلول بافر فسفات حل و با دور ۵۰۰۰ سانتریفیوژ شد و سپس فاز بالایی که حاوی پروتئین کل بود، جدا شد. برای اندازه‌گیری میزان پروتئین به روش برادفورد به ۰/۱ سی‌سی عصاره پروتئینی از هر نمونه ۵ سی‌سی محلول برادفورد اضافه و به مدت ۲۰ دقیقه ورتکس شد. سپس جذب در طول موج ۵۹۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر ثبت شد.

جدول ۱. مواد شیمیایی و مقادیر مورد استفاده در تهیه محیط کشت F/2

نام محلول	نام ماده	مقدار مورد نیاز
1-medium	$NaNO_3$	۷۵g/L
	$NaH_2PO_4.H_2O$	۵/۶۵g/L
2-Vitamin mix	Vitamin B_{12}	۰/۵mg/L
	Thiamine HCL	۱۰۰mg/L
	Biotin	۰/۵Mg/L
3-Trace elements	$Na_2C_{10}H_{14}O_8N_2.H_2O$(EDTA)	۴/۱۶g/L
	$FeCl_3.6H_2O$	۳/۱۵g/L
	Cu $So_4.5H_2O$	۰/۰۱g/L
	Zn $So_4.7H_2O$	۰/۰۲۲g/L
	$CoCl_2.6H_2O$	۰/۰۱g/L
	$MnCl_2.4H_2O$	۰/۱۸g/L
	$Na_2MoO_4.2H_2O$	۰/۰۰۶g/L

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2025-07-04]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1400.11.2.4.9]

آنالیز آماری

آزمایش در طرح تصادفی و با ۳ تکرار انجام شد. برای تحلیل داده‌ها از آزمون تحلیل یک طرفه one-way ANOVA و مقایسه اختلاف میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۹۵٪، نرم افزار SPSS 21 استفاده شد.

نتایــج

تأثیر بر رشد ریزجلبک *C. muelleri*

به منظور تعیین EC_{50} در چهار روز برای هورمون اتینیل استرادیول بر روی ریزجلبک *C. muelleri* غلظت‌های بین ۱۰ تا ۱۵۰۰ میکروگرم بر لیتر تست شد. میزان EC_{50} برای ریزجلبک *C. muelleri* برابر با ۴۴۰۱/۷۲ میکروگرم بر لیتر تعیین گردید. شکل ۱ اثرات غلظت‌های مختلف هورمون را طی هفت روز بر ریزجلبک *C. muelleri* نشان می‌دهد. در مقایسه بین غلظت‌های مختلف هورمون، بیشترین میزان جذب نوری در غلظت ۲۵۰ میکروگرم بر لیتر (OD ۱/۰۴۵) بود؛ درحالی‌که کم‌ترین میزان جذب در غلظت ۲۵۰۰ میکروگرم بر لیتر ۰/۵۶۶ بود.

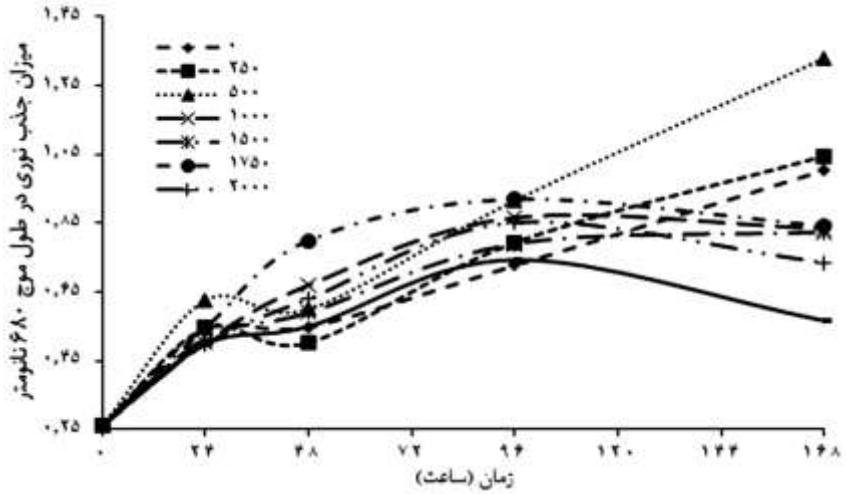
همچنین بر اساس نتایج ارائه شده در جدول ۲ بیشترین و کمترین ضریب رشد ویژه ریزجلبک *C. muelleri* طی غلظت‌های مختلف هورمون استرادیول در روز هفتم به ترتیب مربوط به غلظت‌های ۵۰۰ (۱۵/۱درصد) و ۲۵۰۰ (۰/۲۹ درصد) میکروگرم بر لیتر بود.

تأثیر هورمون بر کلروفیل a

نتایج آنالیز واریانس یک طرفه نشان داد که محتوای کلروفیل a ریزجلبک *C. muelleri* در پاسخ به غلظت‌های مختلف هورمون اتینل استرادیول تفاوت معنی‌داری دارد ($P < ۰/۰۵$). در تیمار هورمون EE2، در غلظت‌های ۲۵۰ و ۵۰۰ میکروگرم بر لیتر افزایش معنی‌داری در مقدار کلروفیل a نسبت به شاهد مشاهده شد. در غلظت‌های ۲۰۰۰ و ۲۵۰۰ میکروگرم بر لیتر بیشترین کاهش معنی‌دار در مقدار کلروفیل a نسبت به نمونه شاهد مشاهده شد (شکل ۲).

تأثیر هورمون بر میزان پروتئین

با توجه به شکل ۳، غلظت ۵۰۰ میکروگرم بر لیتر هورمون اتینل استرادیول باعث افزایش معنی‌دار میزان پروتئین شد؛ اما غلظت‌های ۲۰۰۰ و ۲۵۰۰ میکروگرم بر لیتر کاهش معنی‌داری در میزان پروتئین نسبت به شاهد ایجاد کرد ($P < ۰/۰۵$).



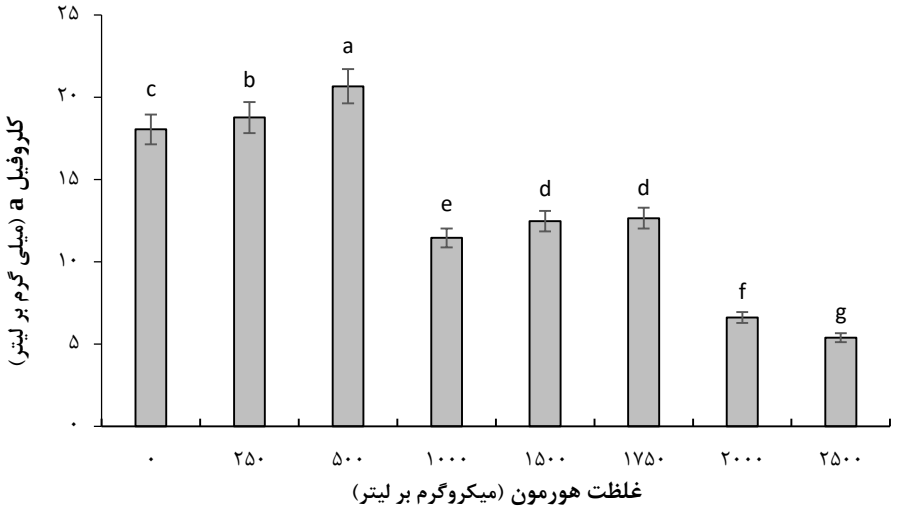
شکل ۱. بررسی روند تغییرات منحنی جذب نوری ریزجلبک *C. muelleri* در مواجهه با غلظت‌های مختلف هورمون در ۱۶۸ ساعت انکوباسیون.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2025-07-04]

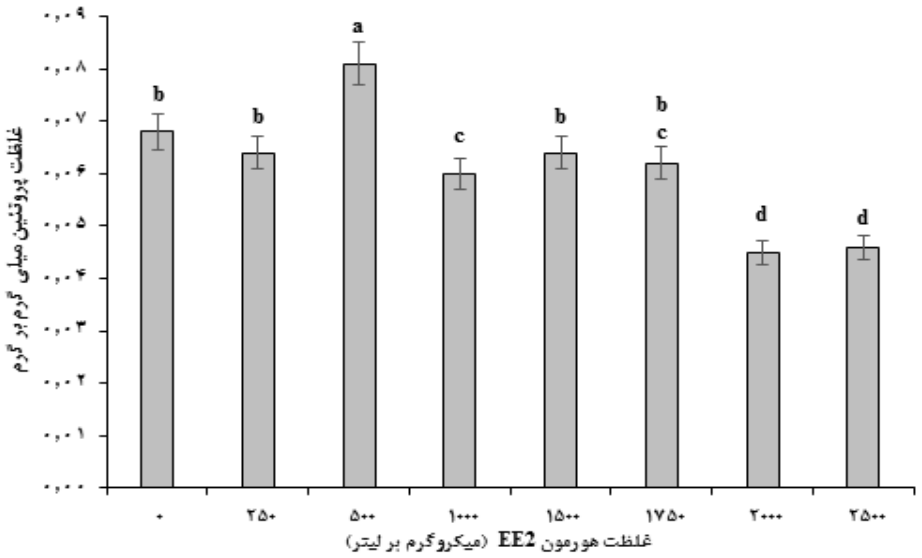
[DOR: 20.1001.1.23222751.1400.11.2.4.9]

جدول ۲. ضریب رشد ویژه ریزجلبک *C. muelleri* در پاسخ به غلظت‌های متفاوت هورمون اتینیل استرادیول طی روز هفتم

تیمار / روز	شاهد	۲۵۰ μg/L	۵۰۰ μg/L	۱۰۰۰ μg/L	۱۵۰۰ μg/L	۱۷۵۰ μg/L	۲۰۰۰ μg/L	۲۵۰۰ μg/L
هفتم	۱۱/۱ c	۱۱/۷ b	۱۵/۱ a	۰/۸۵ d	۰/۸۳ d	۰/۸۶ d	۰/۵۴ e	۰/۲۹ f



شکل ۲. میزان کلروفیل a بعد از هفت روز انکوباسیون در پاسخ به غلظت‌های مختلف هورمون اتینیل استرادیول. حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین داده‌ها در سطح $p<0.05$ است.



شکل ۳. تأثیر هورمون اتینیل استرادیول بر میزان پروتئین در ریزجلبک *C. mueller* در پایان دوره ۷ روزه. حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین داده‌ها در سطح $p<0.05$ است.

بحث

بررسی رشد ویژه ریزجلبک *C. muelleri* در پاسخ غلظت‌های مختلف هورمون EE2 (۲۵۰-۲۵۰۰ میکروگرم بر لیتر) نشان داد که رشد ریزجلبک مورد نظر در پاسخ به غلظت‌های بالاتر این هورمون در مقایسه با کنترل کاهش یافته است. با این حال اثر غلظت هورمون‌های طبیعی و مصنوعی در غلظت‌های مختلفی گزارش شده است. تحقیقات نشان می‌دهد که اثر مهاری بر روی

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2025-07-04]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1400.11.2.4.9]

رشد ریزجلبک‌ها در غلظت کمتر از ۱۰ میکروگرم بر لیتر (۴-۸ میکروگرم بر لیتر) شروع شده است. در محدوده غلظت ۸۰-۱۰۰ میکروگرم بر لیتر رشد حدود ۵۰٪ کاهش داشته است، در غلظت ۱۰۰ تا ۵۰۰ میکروگرم بر لیتر کاهش ۱۰۰٪ رشد مشاهده شد و حتی باعث تخریب سلول‌های جلبک می‌شود (Balina *et al*., 2015; Pocock and Falk, 2014). وقوع و انباشت ترکیبات، از جمله هورمون‌های استروئید (E1)، ۱۷ بتا استرادیول (E2)، استریول (E3) (هورمون‌های استروژن طبیعی) و α۱۷- اتینیل استرادیول (EE2) (هورمون استروژن مصنوعی) در اکوسیستم‌های آبزی ممکن است بر سیستم‌های غدد درون‌ریز ماهی، صدف و سایر گونه‌های آبزی تأثیرات زیادی بگذارند. در برخی تحقیقات غلظت استروژن‌های طبیعی در جلبک‌ها به طور قابل‌توجهی پایین‌تر از مواردی چون استروژن‌های مصنوعی به عنوان مثال، اتیینل استرادیول EE2 و سایر مواد مختل‌کننده غدد درون ریز گزارش شده است (Kozlova *et al*., 2019). در نتایج ارائه شده در تحقیق حاضر در طی هفت روز انکوباسیون ریزجلبک *C. muelleri* با غلظت‌های متفاوت هورمون اتینیل استرادیول مشخص گردید محتوای کلروفیل a در غلظت‌های مختلف این هورمون با میزان رشد ریزجلبک طی هفت روز و در پاسخ به غلظت‌های مختلف همخوانی دارد. کلروفیل a یکی از رنگدانه‌های اصلی در ریزجلبک‌ها محسوب می‌شود که در فرایند تولید اکسیژن نقش اساسی دارد. لذا می‌تواند به‌عنوان یک شاخص جهت برآورد تولیدات اولیه در منابع آبی مورد استفاده قرار گیرد (Strickland and Parson, 1972). به طور کلی با مقایسه غلظت کلروفیل a در تیمارهای مختلف با توجه به نتایج آزمون همبستگی در این تحقیق می‌توان گفت که بین غلظت کلروفیل a و میزان رشد در گونه ریزجلبک مورد مطالعه ارتباط معنی‌دار وجود دارد. Belhaj و همکاران (۲۰۱۷) مواجهه کشت ریزجلبک *Dunaliella salina* در مواجهه با غلظت‌های متفاوت نانوگرم بر لیتر α-Ethinylestradiol (EE2) ۱۷ طی ۱۱ روز را بررسی کردند که مشخص شد در تیمار ریزجلبک *D. salina* غلظت ۱۰ نانوگرم بر لیتر در تیمار ۱۰۰ نانوگرم بر لیتر با افزایش رشد ریزجلبک میزان کلروفیل a کاهش پیدا کرده است. به نظر کاهش میزان کلروفیل ریزجلبک، احتمالاً به دلیل ممانعت از سنتز کلروفیل در غلظت بالای هورمون اتینیل استرادیول باشد، زیرا با افزایش غلظت مواد شیمیایی محیط کشت، میزان اکسیژن محلول در آن نیز کاهش می‌یابد که در تحقیق حاضر نیز در غلظت‌های بالاتر هورمون اتینیل استرادیول باعث کاهش کلروفیل شده است؛ اما در غلظت‌های پایین (۲۵۰ و ۵۰۰ میکروگرم بر لیتر) باعث افزایش کلروفیل a شدند (Lai *et al*., 2002). نتایج تحقیق Kozlova و همکاران (۲۰۱۹) در مورد اثرات هورمون‌های β-۱۷estradiol (E2) و ۲۰,۱۷-β-dihydroxy-4-pregnen-3-one25 بر ریزجلبک *Scenedesmus obliquus* با نتایج این تحقیق همپوشانی داشت. با بررسی نتایج میزان رشد و اندازه‌گیری پروتئین کل ریزجلبک *C. muelleri* مشخص شد که هر چه میزان غلظت هورمون اتینیل استرادیول بالا رود میزان پروتئین نیز تغییر می‌کند. با توجه به روند رشد تیمار شاهد مشخص گردید هورمون اتینیل استرادیول بر روی کاهش پروتئین در غلظت‌های بالا نقش مهمی دارد. در غلظت ۲۵۰ و ۵۰۰ میکروگرم بر لیتر با توجه به رشد بیشتر تیمار نسبت به شاهد اثر مثبت در افزایش میزان پروتئین هم مشاهده شد. در تحقیق انجام شده در سال ۱۹۹۹ توسط Borowitzka بر روی ریزجلبک *Chlorella vulgaris* نیز مشخص شد پروتئین‌سازی در ریزجلبک با افزایش میزان غلظت هورمون کاهش پیدا می‌کند که ارتباط مستقیم بین رشد و پروتئین موجود در ریزجلبک را نشان داده است. با توجه به تحقیقات انجام شده بر روی ریزجلبک‌های در معرض هورمون‌های استروئیدی، غلظت‌های بالای هورمون بر رونویسی پروتئین و سنتز آن نقش دارد. (Borowitzka, 1999). بررسی نتایج میزان رشد و پروتئین کل ریزجلبک *C. muelleri* نشان داد که هر چه میزان غلظت هورمون EE2 افزایش یابد میزان پروتئین نیز به همان میزان تغییر می‌یابد. بنابراین ریزجلبک‌ها می‌توانند تحت تأثیر آلاینده‌ها قرار گیرند و میزان حساسیت و تحمل آن‌ها مربوط به ترکیبات آلاینده و وابسته به گونه‌ها است (Liu *et al*., 2018). یافته‌ها نشان داده اند که اتینل استرادیول بر توانایی رشد سلول‌ها و تقسیم سلولی و فرآیندهای فتوسنتزی در سلول ریزجلبکی تأثیر گذار است و روند کاهشی را در این پارامترها دنبال می‌کند (Wang *et al*., 2013). مطالعات بسیاری در مورد راندمان حذف EE2 و یا کاهش استرس اکسیداتیو که این هورمون می‌تواند ایجاد کند، انجام شده است؛ ولی تا کنون ارزیابی‌هایی درباره غلظت هورمون اتینل استرادیول در محیط زیست که ممکن است به روش‌های مختلف حذف شود گزارش نشده است. نتایج این تحقیق نشان داد که افزایش دوره تیماردهی در بیشتر غلظت‌ها تأثیر معنی‌داری بر

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2025-07-04]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1400.11.2.4.9]

مهار رشد دارد و با افزایش حضور هورمون EE2 در محیط کشت ریزجلبک *C. muelleri* میزان مهار رشد و محتوای کلروفیل تحت تأثیر قرار گرفته و تأثیر بسزایی در میزان پروتئین نیز ایجاد می‌شود.

منابــع

Balina, K., Balode, M., Muzikante, L., Blumberga, D. 2015. Impact of synthetic hormone 17α-ethinylestradiol on growth of microalgae *Desmodesmus communis*. Journal of Agronomy Research. 13(2): 445-454.

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. Journal of Biotechnol. 10: 1375-1383.

Belhaj, D., Athmouni, K., Frikha, D., Kallel, M., El Feki, A., Maalej, S., Zhou, J.L., Ayadi, H. 2017. Biochemical and physiological responses of halophilic nanophytoplankton (*Dunaliella salina*) from exposure to xeno-estrogen 17α-ethinylestradiol. Journal of Environmental Science and Pollution Research. 24(8): 7392-7402.

Borowitzka, M.A. 1999. Commercial production of microalgae: ponds, tanks, tubes and fermenters. Journal of Biotechnology. 70(1-3): 313-321.

Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Journal of Analytical Biochemistry. 72(1-2): 248-254.

Crain, C.M., Kroeker, K., Halpern, B.S. 2008. Interactive and cumulative effects of multiple human stressors in marine systems. Journal of Ecology Letters. 11(12): 1304-1315.

Fischer, L., Clemente, J.T., Tambeli, C.H. 2007. The Protective Role of Testosterone in the Development of Temporomandibular Joint Pain. Journal of Pain. 8(5): 437-442.

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

Hafezieh, M. 2007. Comparative study of growth and survival rate in *artemia uramina* fed. Journal of Iranian Scientific Fisheries Journal. 15(3): 55. (in Persian)

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

Kopperi, M., Riekkola, M.L. 2016. Non-targeted evaluation of selectivity of water-compatible class selective adsorbents for the analysis of steroids in wastewater. Journal of Analytica Chimica Acta. 920: 47-53.

Kozlova, T.A., Hardy, B.P., Levin, D.B. 2019. Effect of fish steroids 17β-estradiol and 17, 20β-dihydroxy-4-pregnen-3-one on growth, accumulation of pigments, and fatty acid profiles in the microalgae *Scenedesmus quadricauda* (CPCC-158). Journal of Renewable Energy. 148 (2020): 798-806.

Kvarnryd, M., Grabic, R., Brandt, I., Berg, C. 2011. Early life progestin exposure causes arrested oocyte development, oviductal agenesis and sterility in adult *Xenopus tropicalis* frogs. Journal of Aquatic Toxicology. 103(1-2): 18-24.

Lai, K.M., Scrimshaw, M.D., Lester, J.N. 2002. Biotransformation and bioconcentration of steroid estrogens by *Chlorella vulgaris*. Journal of Applied and Environmental Microbiology. 68(2): 859-864.

Lavens, P., Sorgeloos, P. 1996. Manual on the production and use of live food for aquaculture. Food and Agriculture Organization (FAO).

Liu, W., Chen, Q., He, N., Sun, K., Sun, D., Wu, X., Duan, S. 2018. Removal and biodegradation of 17β-estradiol and diethylstilbestrol by the freshwater microalgae *Raphidocelis subcapitata*. Journal of Environmental Research and Public Health. 15(3): 452.

López-Elías, J.A., Voltolina, D., Enríquez-Ocaña, F., Gallegos-Simental, G. 2005. Indoor and outdoor mass production of the diatom *Chaetoceros muelleri* in a Mexican commercial hatchery. Journal of Aquacultural Engineering. 33(3): 181-191.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2025-07-04]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1400.11.2.4.9]

Mansour, M.P., Frampton, D.M.F., Nichols, P.D. Volkman, J.K., Blackburn, S.I. 2005. Lipid and fatty acid yield of nine stationary-phase microalgae: Applications and unusual C_{24}–C_{28} polyunsaturated fatty acids. Journal of Applied Phycology. 17(4): 287-300.

Pocock, T., Falk, S. 2014. Negative impact on growth and photosynthesis in the green alga *Chlamydomonas reinhardtii* in the presence of the estrogen 17α-ethynylestradiol. Journal of PloS One. 9(10): e109289.

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

Suthers, I.M., Rissik, D. 2009. Plankton: A guide to their ecology and monitoring for water quality, CSIRO publishing. 26 p.

Strickland, J.D.H., Parsons, T.R. 1972. A practical handbook of seawater analysis. Fisheries Research Board of Canada.

Wan, J., Guo, P., Peng, X., Wen, K. 2015. Effect of erythromycin exposure on the growth, antioxidant system and photosynthesis of *Microcystis flos-aquae*. Journal of Hazardous Materials. 283: 778-786.

Wang, P., Wong, M., Tam, N. 2013. Antioxidant responses of two microalgae, *Selenastrum capricornutum* and *Chlorella* sp., to estradiol and ethinylestradiol. Journal of Applied Phycology. 25(3): 891-903.

Zmora, O., Richmond, A. 2004. 20 Microalgae for Aquaculture. Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology. 365 p.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2025-07-04]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1400.11.2.4.9]