مجله بوم شناسی آبزیان

بررسی اثرات تجزیه زیستی پنج گونه از سیانوباکتری‌های جدا شده از مناطق آلوده نفتی جنوب کشور بر نفت خام ایران

فاطمه فروغی نیا[۱]، مهروز دزفولیان[۱*]، شادمان شکروی[۲]، ناصر هرزندی[۱]، ندا سلطانی[۳]

[۱] گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج

[۲] گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان

[۳] گروه میکروبیولوژی نفت، پژوهشکده علوم کاربردی جهاد دانشگاهی

تاریخچه مقاله:

دریافت: ۹۲/۱۰/۰۴

اصلاح: ۹۲/۱۱/۱۱

پذیرش: ۹۲/۱۱/۱۵

کلمات کلیدی:

تجزیه زیستی

سیانوباکتری

هیدروکربن

منواکسیژناز p450

چکیده

تعدادی از میکروارگانیسم‌ها می‌توانند ترکیبات موجود در نفت و ترکیبات وابسته به آن را تجزیه و پاکسازی کنند. در این پژوهش میزان تجزیه زیستی هیدروکربن‌های نفت خام توسط پنج گونه از سیانوباکتری‌های بومی مناطق نفتی جنوب ایران مورد بررسی قرار گرفته است. این گونه‌ها عبارتند از *Anabaena* ISC55، *Nostoc* ISC26، *Nostoc* ISC32، *Phormidium* ISC24 و *Leptolyngbya* ISC25 که بعد از رشد در محیط کشت اختصاصی و متعاقباً محیط کشت BG11، در حضور نفت به مدت ۲۸ روز هوادهی شدند. میزان هیدروکربن‌های باقیمانده قبل و پس از این مدت به روش GC و تغییرات پروتئین‌های بیان شده به روش SDS-PAGE مورد ارزیابی قرار گرفت. حضور ژن *cyp110A2* که از خانواده آنزیم‌های منواکسیژناز P450 می‌باشد نیز در این گونه ها توسط روش PCR بررسی شد. نتایج این مطالعه نشان داد که میزان کل هیدروکربن‌های باقیمانده برای گونه‌های ذکر شده به ترتیب ۱۶/۱۱، ۴۶/۴۱، ۴۵/۸۴، ۳۸/۱۳ و ۴۴/۹۸ درصد بوده است. تغییر در بیان پروتئین‌ها در تمامی گونه‌ها به وضوح دیده شد. علاوه بر این نتایج PCR نشان داد که ژن *cyp110A2* تنها در دو نمونه *Anabaena* ISC55 و *Phormidium* ISC24 حضور دارد. نتایج این آزمایش‌ها نشان داد که سیانوباکتری‌های مورد آزمایش کاندیدهای مناسبی برای تجزیه نفت بوده و دو نمونه *Anabaena* ISC55 و *Phormidium* ISC24 بهترین نمونه ها برای تجزیه زیستی نفت می باشند.

مقدمه

روش‌های حذف آلودگی‌های نفتی در آب، خاک و هوا به سه روش فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی انجام می شود (Das and Chandran, 2011). از میان روش‌های فیزیکی می توان به ابزارهای جمع آوری کننده نظیر اسکیمر اشاره کرد. در روش شیمیایی اکسید کننده‌های شیمیایی به محیط افزوده می شوند که پرهزینه اند و می توانند منجر به تولید مواد جانبی خطرناک‌تر شوند. در روش بیولوژیکی، فناوری زیست پالایی به کار گرفته می شود تا سیستم زیستی خود برای تغییر شکل مواد شیمیایی زیانبار عمل کند. این روش بسیار کم ضررتر و بسیار ارزان‌تر از روش‌های فیزیکی و شیمیایی است

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: mehrdezfulian@yahoo.com

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-24]

(Alemagi, 2007). میزان تاثیرگذاری این روش به توانایی میکروارگانیسم ها و مناسب بودن شرایط برای فعالیت آنها بستگی دارد. زیست پالایی به دو روش تقویت زیستی و تحریک زیستی انجام می گیرد بدون اینکه اثر ناخواسته ای روی محیط زیست داشته باشد (Das and Chandran, 2011). میکروارگانیسم‌هایی که در روش تجزیه زیستی استفاده می شوند به وسیله تولید سورفاکتانت‌ها (Galindo *et al.*, 2011)، اسیدها و حلال ها (Watson *et al.*, 2002) و آنزیم ها (Das and Chandran, 2011) در تجزیه هیدروکربن های نفتی موثر می باشند.

منو اکسیژنازها دسته ای از آنزیم ها هستند که توسط ژن سیتوکروم P450 کد می شوند (Das and Chandran, 2011). توالی های مختلفی از ژن سیتوکروم P450 در سیانوباکتری ها شناسایی شده اند که عملکرد برخی از آنها هنوز مشخص نشده است. در گذشته مطالعات متعددی درباره توانایی سیانوباکتری ها در حذف آلودگی های نفتی انجام شده است. نتایج پژوهشی که در سال ۲۰۱۲ انجام شده نشان داده است که میزان هیدروکربن‌های باقیمانده روغن موتور بعد از ۱۴ روز مواجهه با *Synechocystis*، *Nostoc hatei* به ترتیب ۶۲/۳ و ۵۳/۲ درصد بوده است (Pimda and Bunnag, 2012a). مطالعه دیگری از همین گروه روی *N. piscinale* در یک دوره ۱۴ هفته ای، کاهش ۷۵ درصدی میزان هیدروکربن‌های ۳ درصد روغن موتور را نشان داده است (Pimda and Bunnag, 2012b) . Odokuma و همکاران از تاثیر دو سیانوباکتری *Chlorella* و *Chroococcus* بر نفت نیجریه در یک دوره ۲۸ روزه توانسته میزان هیدروکربن‌های باقیمانده را به ترتیب به ۲۶/۷ و ۱۶/۷ درصد برسانند (Odkuma and Smith, 2007). پژوهشی که بر روی *Lyngbya lagerlerimi* صورت گرفت نشان داد که این گونه سیانوباکتری می تواند ۲۲/۶۹ درصد از هیدروکربن‌های نفتالین را طی مدت ۷ روز تجزیه کند. در حالیکه *Nostoc lincka* قادر به تخریب هیدروکربن‌های نفتالین نبوده است (Mostafa, 2012).

باتوجه به اثرات متفاوتی که گونه های مختلف سیانوباکتری در تجزیه زیستی هیدروکربن‌ها دارند، در این مطالعه اثرات تجزیه زیستی پنج گونه از سیانوباکتری‌های جدا شده از مناطق نفتی آلوده جنوب کشور بر روی نفت خام سبک ایران مورد بررسی قرار گرفت. از آنجا که گونه های بومی سیانوباکتری سالهاست به طور طبیعی در رفع آلودگی های نفتی موثر بوده اند در این مطالعه، توانایی پنج گونه سیانوباکتری جداسازی شده از مناطق آلوده نفتی از نظر میزان تجزیه نفت، دارا بودن ژن *cyp110A2* و تغییر بیان پروتئین ها در مواجهه با نفت خام مورد بررسی قرار گرفت تا توانایی این سیانوباکتری ها در تجزیه نفت خام مورد ارزیابی قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

خالص سازی و کشت سیانوباکتری‌ها

پنج گونه سیانوباکتری مورد استفاده در این مطالعه شامل: *Anabaena* ISC55، *Nostoc* ISC26، *Nostoc* ISC32، *Phormidium* ISC24 و *Leptolyngbya* ISC25، به طور خالص از کلکسیون ریزجلبک های پژوهشکده علوم کاربردی جهاد دانشگاهی دانشگاه شهید بهشتی تهیه شدند. این گونه ها در محیط کشت جامد برای خالص سازی و در محیط کشت مایع به منظور رشد و تکثیر، کشت داده شدند (Ferris and Hirsch, 1991; Andersen, 2005). محیط کشت BG11 برای رشد گونه‌های *Phormidium* و *Leptolyngbya* و محیط کشت $BG11_0$ برای رشد گونه های *Nostoc* و *Anabaena* مورد استفاده قرار گرفت.

تست تجزیه زیستی نفت در حضور گونه های سیانوباکتری

به منظور بررسی قدرت تجزیه زیستی گونه های مورد مطالعه، در هر ظرف ۱۵ میلی لیتر سیانوباکتری با OD ۰/۵ و حجمی مناسب از نفت ریخته شد و حجم نهایی با افزودن محیط کشت به ۲۵۰ میلی لیتر رسانده شد به نحوی که درصد نفت در حجم نهایی، مقادیر ۰/۸، ۱/۶، ۴ و ۸ درصد گردید. دلیل استفاده از این درصدها اطلاعات اخذ شده از پیش تیمارهای متعددی بود که نشان می داد سیانوباکتری‌های مورد آزمایش در درصدهای ذکر شده تغییرات رشد را نشان می دهند و در

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-24]

غلظت‌های بالاتر از ۸ در صد نفت خام قادر به رشد نیستند. سپس نمونه ها به مدت ۲۸ روز به وسیله پمپ هوا (۲۰۰ میلی لیتر در دقیقه) هوادهی شدند. بعد از طی دوره ۲۸ روزه ظروف حاوی درصدهای ۱/۶، ۴ و ۸ از نفت خام به علت بالا بودن غلظت نفت خام، قابل جداسازی و بررسی نبود بنابراین ادامه مطالعه بر روی نمونه ۰/۸ درصد نفت خام انجام شد.

از محیط کشت BG-11، سدیم نیترات و سدیم کربنات (منابع کربن و نیترات) حذف گردید تا باکتری‌ها مجبور به استفاده از هیدروکربن‌های نفت به عنوان منبع کربن برای تغذیه شوند. به منظور جبران منبع سدیم حذف شده، کلرید سدیم به میزان ۲ گرم در لیتر اضافه شد. نمونه شاهد متشکل از محیط کشت و نفت ساخته شد و در شرایط مشابه به مدت ۲۸ روز هوادهی گردید.

آنالیز شیمیایی

میزان نفت تجزیه شده (TPH[1]) با روش کروماتوگرافی گازی (GC[2]) مدل 6890 N-ALIENT بعد از طی دوره ۲۸ روزه اندازه‌گیری شد.

آنالیز مولکولی

بررسی تغییرات بیان پروتئین در گونه های سیانو باکتری قبل و بعد از مواجهه با نفت توسط روش SDS-PAGE بررسی شد. برای آماده سازی نمونه ها، ۰/۱ گرم از سیانوباکتری ها وزن شدند، چند بار متوالی در فریزر و در دمای محیط قرار گرفتند، سپس ۱۰۰ میکرولیتر از محلول لیز شامل ۰/۶۲۵ مولار Tris-HCl، ۲٪ SDS W/V، ۱۰٪ گلیسرول V/V، و ۵٪ 2-mercaptoethanol V/V به سیانوباکتری ها اضافه و پس از ۲۰ دقیقه فریز شدن در دمای اتاق ورتکس شدند. بعد از آن الکتروفورز SDS-PAGE انجام شد. برای SDS –PAGE از ژل متراکم کننده ۵٪ و ژل جدا کننده ۱۲/۵ درصد پلی اکریل آمید استفاده شد.

برای مطالعه DNA های گونه های باکتری ابتدا DNA به وسیله کیت استخراج DNA ژنومی Genomic DNA Purification kit شرکت فرمنتاز استخراج شد، سپس کیفیت DNA های استخراج شده به وسیله الکتروفورز بر روی ژل آگارز ۱٪ مورد تایید قرار گرفت (Sambrook and Russell, 2001) و سپس فرآیند PCR با استفاده از پرایمرهای موجود در جدول ۱ که برای ژن cyp110A2 اختصاصی هستند انجام شد. مطالعه محصولات حاصل از PCR. به وسیله الکتروفورز بر روی ژل آگارز ۱/۲ درصد با دستگاه های Transilluminator و Gel documentation صورت پذیرفت.

جدول۱. پرایمرهای به کار رفته برای شناسایی ژن *cyp110A2*

پرایمر	ژن	سکانس
Ancyp F 2	cytochrome P450 (***cyp110A2***) gene	5'TACCCTGGCCCCAGAGGGTG3'
Ancyp R2	(200bp)	5'TGGAAAGTCTCCGAACAGCAGGG3'

آنالیز آماری

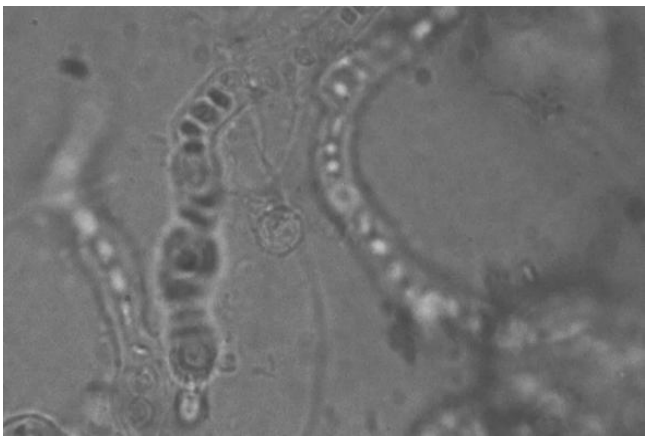
همه آزمایش ها ۳ بار انجام شد و برای آنالیز آماری نتایج از آنالیز واریانس یکطرفه (ANOVA) و تست Tukey استفاده شد. میزان P-value مساوی و کمتر از ۰/۰۵ به عنوان معیار معناداری در نظر گرفته شد.

[1] Total Petroleum Hydrocarbons
[2] Gas Chromatography or GC Chromatography

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-24]

نتایــج

به منظور اطمینان از خلوص گونه های سیانوباکتری، در هر مرحله از مطالعه از آنها اسلاید میکروسکوپی تهیه شد. در هر مرحله با مطالعه میکروسکوپی، عدم آلودگی نمونه ها تایید گردید (شکل ۱). نمودارهای آنالیز کروماتوگرافی گازی محیط کشت نمونه های تیمار شده به منظور تعیین میزان تغییرات TPH احتمالی بر اساس PA (پالس های الکتریکی تولید کننده گرما) در زمان رسم شد و مقدار کربن های شاخص درترکیب محیط کشت مشخص شد (شکل ۲).



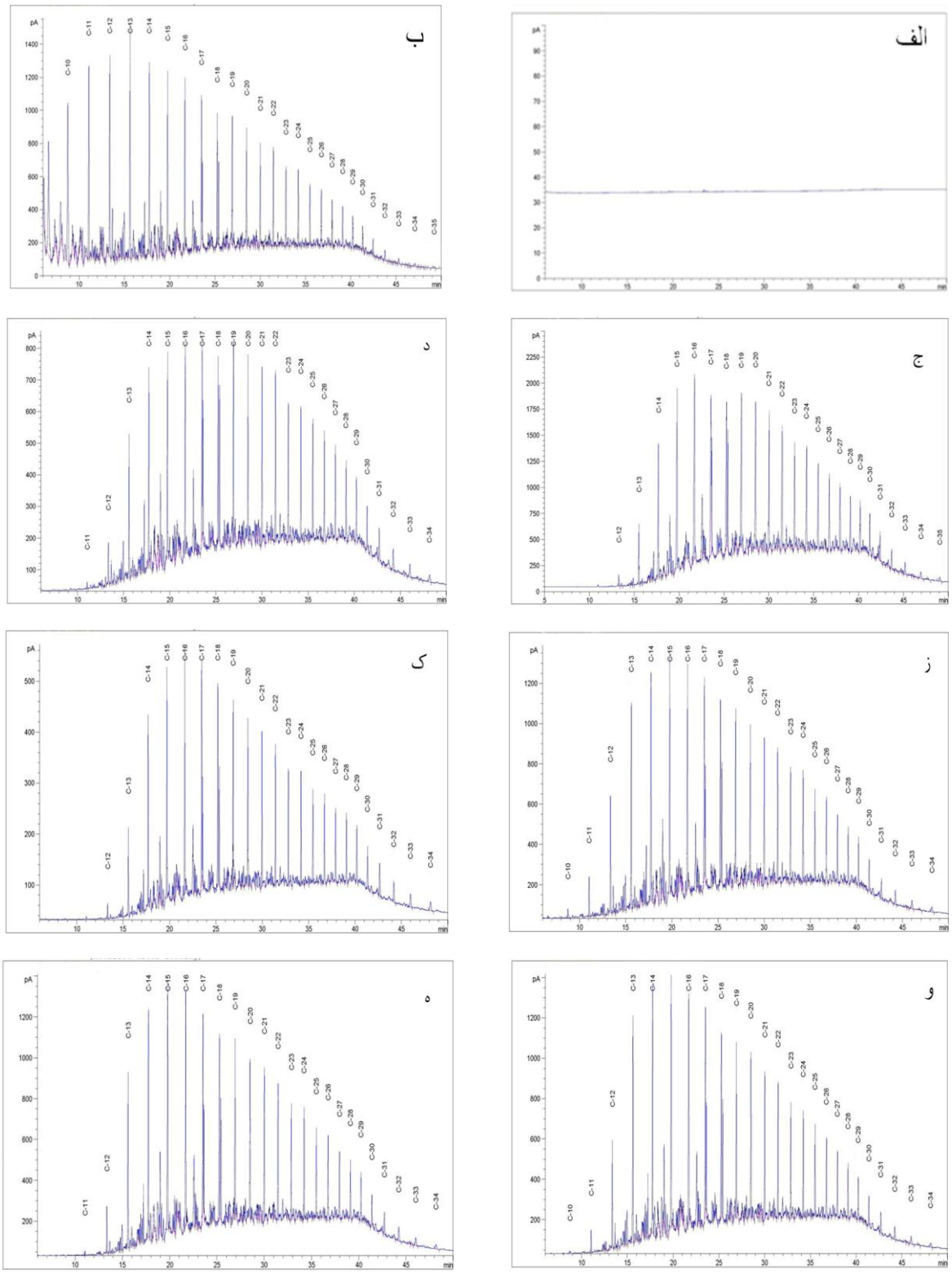
شکل ۱. تصویر میکروسکوپ نوری *Anabaena* ISC55 با درشتنمایی 1000X

چنانکه در شکل ۲- الف مشاهده می شود هیچ گونه منبع کربنی در محیط کشت وجود ندارد. برای کنترل آزمایشات، نفت مورد آزمایش در طول این مطالعه بر اساس حضور مقدار هیدروکربن‌های شاخص از نظر تعداد کربن ها از شماره ۱۰ تا ۳۵ به وسیله GC تعیین شد (شکل ۲ـ ب). سپس برای آنکه تاثیرات اکسیداسیون خود به خودی نفت بدون حضور هرگونه میکروارگانیسمی بررسی گردد نتیجه تست GC برروی مخلوط محیط کشت خالص و نفت انجام شد (شکل۲- ج) که حاکی از آن است که هیدروکربن‌های C_{10} و C_{11} از بین رفته اند و دیگر کربن ها تا حدی کاهش داشته اند. نتایج تست GC برای تیمارهای سیانوباکتری های *Phormidium* ISC24 و *Leptolyngbya* ISC25 نشان داد که در مدت ۲۸ روز این سیانوباکتری‌ها توانستند C_{11} و C_{35} را حذف و دیگر کربن ها را کاهش دهند (شکل ۲- د و ه). سیانوباکتری‌های *Nostoc* ISC26 و *Nostoc* ISC32 فقط C_{35} را شکسته و بقیه کربن ها تا حدودی کم شده اند (شکل ۲- و و ز). از میان این پنج گونه مورد مطالعه، گونه *Anabaena* ISC55 توانست با تاثیر بیشتری باعث حذف C_{10}، C_{11} و C_{35} شود و دیگر کربن ها را کاهش دهد. (شکل ۲-ک). در جدول ۲ نتایج حاصل از آنالیز کروماتوگرافی گازی و میزان کل هیدروکربن ها و درصد هیدروکربن‌های نفت بعد از ۲۸ روز نشان داده شده است.

آنالیز واریانس یکطرفه برای نتایج TPH حاکی از معناداری نتایج به دست آمده است ($F= 9.597, P< 0.0001$). علاوه بر این نتایج تست Tukey نشان داد که همه گونه ها با نمونه نفت خام اختلاف معنادار ($P< 0.0001$) داشته اند در حالیکه فقط گونه *Anabaena* ISC55 اختلاف معناداری ($P< 0.05$) با گروه کنترل نشان می دهد. سیانوباکتری *Anabaena* ISC55 موثرترین گونه در تجزیه نفت و *Nostoc* ISC32 ضعیف ترین گونه مورد بررسی در این مطالعه بوده‌اند.

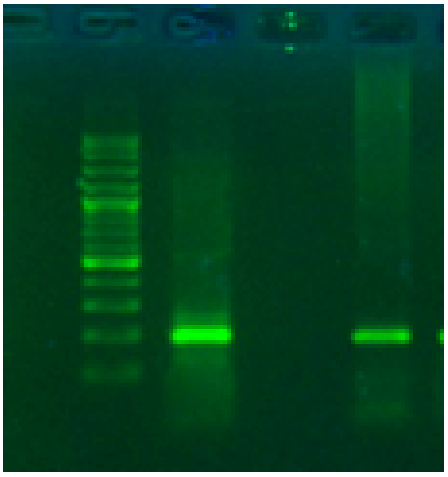
نتایج حاصل از تست PCR بر روی نمونه های مورد مطالعه نشان داد که ژن *cyp110A2* متعلق به خانواده منواکسیژنار P450 در دو سیانوباکتری *Anabaena* ISC55 و *Phormidium* ISC24 حضور دارند (شکل ۳). بقیه نمونه ها هیچ باندی در PCR از خود نشان ندادند. بهترین پاسخ در تجزیه نفت نیز مربوط به این دو نمونه بود.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-24]



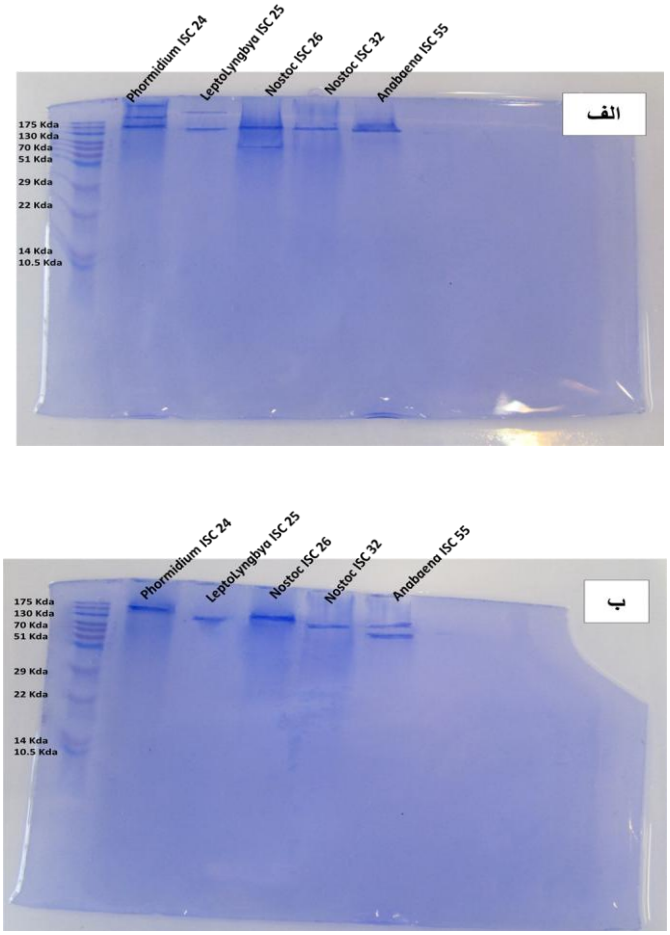
شکل ۲- الف) نمودار GC محیط کشت بدون نفت؛ ب) نمودار GC نفت مورد آزمایش؛ ج) نمودار GC محیط کشت و نفت خام؛ د) نمودار GC نفت باقی مانده در تیمارنمونه *Phormidium* ISC24 ؛ ز) نمودار GC نفت باقی مانده در تیمارنمونه *Nostoc* ISC32 ؛ ک) نمودارGC نفت باقی مانده در تیمارنمونه *Anabaena* ISC55 ؛ و) نمودار GC نفت باقی مانده در تیمارنمونه *Nostoc* ISC26 ؛ ه) نمودار GC نفت باقی مانده در تیمار نمونه *Leptolyngbya* ISC25 .

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-24]



شکل ۳. حضور ژن cyp110A2 مربوط به *Anabaena* ISC55 در ژل آگارز اولین باند بعد از لدر و باند اختصاصی ژن cyp110A2 در *Phormidium* ISC24 دومین باند بعد از لدر.

مقایسه نتایج الکتروفورز SDS-PAGE قبل و بعد از مواجهه سیانوباکتری ها با نفت نشان داد میزان بیان پروتئین ها بر اثر تیمار نفت تغییر کرده است. همه باندها در نمونه بدون تیمار در ۱۳۰ کیلودالتون مشاهده شدند، در حالی که بعضی از باندها در روز ۱۴ پس از تیمار با نفت خام به ۱۷۵ کیلودالتون منتقل شدند و علاوه بر آن باندهای سنگین تر نیز مشاهده شد (شکل ۴).



شکل ۴. SDS Page پروتئین‌ها در سیانوباکتری‌ها؛ الف- پس از ۱۴ روز تیمار با نفت خام. ب- قبل از تیمار سلول‌ها با نفت.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-24]

جدول ۲. میزان کل هیدروکربن ها ی نفت پس از ۲۸ روز

نمونه	میزان کل هیدروکربن (TPH)	درصد هیدروکربن ها
Phormidium ISC24	۱۷۵۹	۳۸/۱۳
Leptolyngbya ISC25	۲۰۷۵	۴۴/۹۷
Nostoc ISC26	۲۱۴۱	۴۶/۴۱
Nostoc ISC32	۲۱۱۵	۴۵/۸۴
Anabaena ISC55	۷۴۳	۱۶/۱۱
نمونه فاقد نفت	۰	۰
نمونه کنترل حاوی نفت	۳۴۳۷	۷۴/۴۹
نمونه نفت	۴۶۱۴	۱۰۰

بحث

سیتوکروم ها گروهی از هموپروتئین‌های دارای فعالیت اکسیژنازی می باشند که در بیشتر نمونه های زیستی مشاهده می‌شوند (Nebert *et al.*, 1989). تاکنون بیش از ۱۱۰۰۰ ژن کد کننده سیتوکروم یافته شده است که در حدود ۹۷۷ خانواده توزیع شده‌اند. خانواده های سیتوکروم ها بر اساس مشابهت توالی ها و بر پایه نوع پروتئین ناقل الکترون و سیستم تحویل الکترون (Hanneman *et al.*, 2007) نام گذاری می شوند (Nelson *et al.*, 1996). تعیین خصوصیات ساختارهای کریستالی چندین سیتوکروم نشان داده است که این مولکول ها دارای منحصر به فردترین پیچ خوردگی‌هایی می باشند که تاکنون در یک خانواده آنزیمی مشاهده شده است (Lamb *et al.*, 2007).

سیتوکروم ها در سه عمکرد اساسی در موجودات زنده شرکت می کنند. اول اینکه آنها در سنتز متابولیت های اولیه ضروری نظیر هورمون‌های استروییدی که برای رشد و تمایز و تنظیم هموستازی پستانداران مورد نیاز می باشند دخالت می کنند. ثانیاً آنها مسئول پاسخ به عوامل خارجی و سم زدایی مولکول‌های خارجی بوده و بالاخره نقش آفرینان اصلی در بیوسنتز بسیاری از متابولیت‌های ثانویه می باشند که نقششان ممکن است تاکنون مشخص نشده باشد اما بسیاری از این متابولیت‌های ثانویه دارای نقش های بسیار مفیدی به عنوان دارو هستند (Lamb *et al.*, 2007; Lammers *et al.*,1990).

متابولیت‌های ثانویه تولید شده توسط گیاهان و میکروب‌ها که حاصل از فعالیت مشخص سیتوکروم‌ها می باشد شامل ایزوپرونیدها، آلکالوییدها، فنیل پروپتموییدها و اسیدهای چرب و مسیر سنتز پلی‌کتایدها می‌شوند (Edwards *et al.*, 2004). از محصولات مفید دارویی که به وسیله سیتوکروم ها کاتالیز می شوند می توان به کدیین و مورفین و اریترومایسین اشاره کرد (Cupp-Vickery and Poulos, 1995; Unterlinner *et al.*, 1999) که امروزه کاربردهای وسیعی در پزشکی دارند. چندین نوع ژن سیتوکروم و ژن شبه سیتوکروم تاکنون در ژنوم سیانوباکتری‌ها تعیین شده، هرچند تاکنون توجه اندکی نسبت به خصوصیات کارکردی آنها معطوف گردیده است.

تاکنون ۱۰۰ نوع پروتئین سیتوکروم در سیانوباکتری ها شناسایی شده است که ۶۳ توالی از ۱۰۰ توالی شناخته شده مورد تعیین خصوصیات قرار گرفته. از این تعداد تقریباً نیمی از آنها به خانواده *CYP110* و ۱۲ تا از آنها به *CYP213* تعلق دارد.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-24]

این در حالی است که *CYP120* دارای ۱۰ عضو می باشد. از خانواده سیتوکروم *CYP110*، سیتوکروم *CYP110HC* از 7120 *Nostoc* sp. PCC شباهتی به سایر سیتوکروم های باکتریایی ندارد و یک آنزیم سیتوزولیک نیست بلکه متصل به غشا است و شبیه سیتوکروم‌های یوکاریوتی می باشد. این سیتوکروم به وسیله آلکان‌ها القا نمی شود و در تجزیه زیستی آلکان‌ها نیز شرکت نمی کند اما در امگا هیدروکسیلاسیون رشته های طویل اسیدها چرب شرکت می کند و یک نقش کلیدی را در تثبیت ازت ایفا می کند (Torres *et al.*, 2005).

سیانوباکتری های دریایی از جنس های *Microcoleus* و *Phormidium* که به عنوان زیست تجزیه آلودگی نفتی با استفاده از *CYP* به عنوان کاتالیست برای شکستن آلکان ها نقش دارند (Cardini and Jurtshuk ,1968). ژن سیتوکروم ۱۱۰ به صورت بسیار حفظ شده است و در شکل گیری هتروسیست سیانوباکتری های *Anabaena* ، *Nostoc*، *Calothrix* و *Fremyella* نقش دارد. توالی اسیدهای آمینه *CYP110* بیشترین شباهت را با خانواده سیتوکروم P450 پستانداران و P450 *Bacillus megatarium* دارند. اولین مرحله از تجزیه آلکان‌ها در بسیاری از سیستم‌های میکروبی یک هیدروکسیلاسیون وابسته به p450 است (Lamb *et al.*, 2007; Harel *et al.*, 2004). *CYP110A2* از نظر توالی سرتاسری مشابهت کمی با سایر آنزیم های آلکان هیدروکسیلاز نظیر خانواده *CYP52* دارد (Scheller *et al.*, 1996)، با این حال در تحقیق حاضر ارتباط مستقیمی بین حضور ژن *cyp110A2* و میزان تجزیه انواع هیدروکربن‌های موجود در نفت خام دیده شد، بنابراین حضور ژن *cyp110A2* می تواند به عنوان شاخص در تعیین نمونه‌های فعال در تجزیه نفت مورد استفاده قرار گیرد.

میزان بیان پروتئین ها بر اثر تیمار نفت تغییرات مشخصی را نشان داد و پس از تیمار با نفت خام باندهای ۱۷۵ کیلودالتون و باندهای سنگین تر مشاهده شدند. نفت خام همیشه با مقادیر زیادی نمک همراه است که این امر سبب تنش شوری و تغییر بیان پروتئین ها در پاسخ به تنش شوری شده و در بیشتر سیانوباکتری ها این تنش سبب تغییر بیان پروتئین ها و ایجاد باندهای پروتئینی سنگین تر می شود که در مطالعه حاضر نیز نظیر آن مشاهده شد (Kumar and Bhagwat, 1989) . معمولاً پس از آستانه ای که در آن پروتئین های تنش القا می شوند افزوده شدن بر غلظت نفت می تواند سبب کاهش چشمگیر در رشد و سپس مضمحل شدن سیانوباکتری شود.

در مجموع از نتایج به دست آمده در این مطالعه می توان اینگونه برداشت کرد که گونه *Anabaena* ISC55 در طی این دوره ۲۸ روزه از چهارگونه مورد بررسی دیگر موثرتر بوده است. خود تجزیه پذیری نفت، میزان هیدروکربن های باقیمانده را به ۷۴/۴۹ درصد کاهش می دهد در حالیکه حاصل عملکرد *Anabaena* ISC55 سبب می شود هیدروکربن باقیمانده به ۱۶/۱۱ درصد برسد. مطالعاتی با نتایج مشابه این تحقیق وجود دارد (Galindo *et al.*, 2011; Odkuma and Smith, 2007). نتایج پژوهش حاضر نشان میدهد که دو گونه *Nostoc* بومی ایران ISC26 و ISC32 قادرند C_{35} را به طور کامل تجزیه کنند. تفاوت مشاهده شده بین نتایج این پژوهش با مطالعات دیگر می‌تواند ناشی از تفاوت در شرایط آزمایش، اکوسیستم، میکروارگانیسم‌ها و تفاوت‌های فیزیولوژیکی و آنزیمی آنها باشد و می تواند تایید کند که سیانوباکتری های بومی ایران بر نفت خام ایران اثر تجزیه زیستی دارند البته باید در نظر داشت که غلظت نفت موجود در مناطق آلوده نفتی بر میزان تجزیه‌کنندگی نفت به وسیله این سیانوباکتری ها تاثیر مستقیم دارد. در مناطق آلوده، کاهش غلظت نفت به وسیله روش‌های فیزیکی می تواند زمینه را برای تجزیه زیستی نفت فراهم سازد. بر این اساس می توان از این گونه ها برای حذف آلودگی های نفتی آب و خاک در مناطق نفتی جنوب کشور استفاده کرد.

منابع

Alemagi, D. 2007. The oil industry along the Atlantic coast of Cameroon: assessing impacts and possible solutions. Resources Policy. 32(3): 135-45.

Andersen, R.A. 2005. Algal culturing techniques . First Edition. Academic Press. 70p.

Cardini, G., Jurtshuk, P. 1968. Cytochrome P-450 involvement in the oxidation of n-octane by cell-free extracts of *Corynebacterium* sp. strain 7E1C. Journal of Biological Chemistry. 243: 6070-6072.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-24]

Cupp-Vickery, J.R., Poulos, T.L. 1995. Structure of cytochrome P450eryF involved in erythromycin biosynthesis. Nature Structural & Molecular Biology. 2: 144-153.

Edwards, D.J., Marquez, B.L., Nogle, L.M., McPhail, K., Goeger, D.E., Roberts, M.A., Gerwick, W.H. 2004. Structure and biosynthesis of the jamaicamides, new mixed polyketide–peptide neurotoxins from the marine cyanobacterium *Lyngbya majuscula*. Chemistry & Biology. 11: 817-833.

Das, N., Chandran, P. 2011. Microbial degradation of petroleum hydrocarbon contaminants: an overview. Biotechnology Research International. doi:10.4061/2011/941810.

Ferris, M.J., Hirsch, C. 1991.Method for isolation and purification of cyanobacteria. Applied and environmental microbiology. 57(5): 1448-52.

Galindo, H., Revah, S., Cervantes, F., Arriaga, S. 2011. Effect of surfactant and oil additions in the biodegradation of hexane and toluene vapours in batch tests. Environmental Technology. 32(2): 167-73.

Hannemann, F., Bichet, A., Ewen, K.M., Bernhardt, R. 2007. Cytochrome P450 systems-biological variations of electron transport chains. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects. 1770(3): 330-44.

Harel, Y., Ohad, I., Kaplan, A. 2004. Activation of photosynthesis and resistance to photoinhibition in cyanobacteria within biological desert crust. Plant Physiology. 136(2): 3070-3079.

Kumar, S., Bhagwat, A. 1989. Salinity-Stress-Induced Proteins in two Nitrogen-Fixing *Anabaena* strains differentially tolerant to salt. Journal of Bacteriology. 171(2): 909-915.

Lamb, D.C., Waterman, M.R., Kelly, S.L., Guengerich, F.P. 2007. Cytochromes P450 and drug discovery. Current Opinion in Biotechnology. 18: 504-512.

Lammers, P.J., McLaughlin, S., Papin, S., Trujillo-Provencio, C., Ryncarz, A.J. 1990. Developmental rearrangement of cyanobacterial nif genes: nucleotide sequence, open reading frames, and cytochrome P-450 homology of the *Anabaena* sp. strain PCC 7120 nifD element. Journal of Bacteriology. 172(12): 6981-6990.

Mostafa, M. 2012. Biodegradation of Phenolic and Polycyclic Aromatic Compounds by Some Algae and Cyanobacteria. Journal of Bioremediation & Biodegradation. 3:133. doi:10.4172/2155-6199.1000133.

Nebert, D.W., Nelson, D.R., Feyereisen, R. 1989. Evolution of the cytochrome P450 genes. Xenobiotica. 19(10): 1149-1160.

Nelson, D.R., Kamataki, T., Waxman, D.J., Guengerich, F.P., Estabrook, R.W. Feyereisen, R., Gonzalez, F.J., Coon, M.J., Gunsalus, I.C., Gotoh, O., Estabrook, R.W., Neberet, D.W. 1996. The P450 Superfamily: Update on New Sequences, Gene Mapping, Accession Numbers and Nomenclature. Pharmacogenetics. 6: 1-42.

Odokuma, L., Smith, V. 2007. Biodegradation of a Nigerian crude oil by a microalga and a cyanobacterium. Tropical Freshwater Biology. 16(1): 17-30.

Pimda, W., Bunnag, S. 2012[a]. Biodegradation of used motor oil by single and mixed cultures of cyanobacteria. African Journal of Biotechnology. 11(37): 9047-78.

Pimda, W., Bunnag, S. 2012[b]. Biodegradation of used motor oil by *Nostoc piscinale* TISTR 8401. African Journal of Microbiology Research. 6(10): 2367-72.

Sambrook, J., Russell, D.W. 2001. Molecular cloning: a laboratory manual. 2nd edition. Cold Spring Harbor, New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press. 203 p.

Scheller, U., Zimmer, T., Kargel, E., Schunck, W.H. 1996. Characterization of the n-alkane and fatty-acid hydroxylating cytochrome-p450 forms 52A3 and 52A4. Archives of Biochemistry and Biophysics. 328(2): 245-254.

Torres, S., Fjetland, C.R., Lammers, P.J. 2005. Alkane-induced expression, substrate binding profile, and immunolocalization of a cytochrome P450 encoded on the nifD excision element of *Anabaena* 7120. BMC Microbiology. 5: 1-12.

Unterlinner, B., Lenz, R., Kutchan, T.M. 1999. Molecular cloning and functional expression of codeinone reductase. The Plant Journal. 18: 465-475.

Watson, J., Jones, D., Swannell, R., Van Duin, A. 2002. Formation of carboxylic acids during aerobic biodegradation of crude oil and evidence of microbial oxidation of hopanes. Organic Geochemistry. 33(10): 1153-69.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-24]