JOMB
Journal of Marin Biology
J Marin Bio, 2024; 16(2): 30-45 Doi
https://jmb.ahvaz.iau.ir

Original Article

Investigation on frequency of Vibrionaceae family bacteria in summer, autumn and winter seasons with emphasis on the process of oxygen free radical changes, superoxide dismutase and catalase in oyster muscle tissue (*Pinctada radiata*)

Vida Amiri[1], Mohammad Javad Kazemi[2], Saeid Tamadoni Jahromi Amiri[3*]

1. Post graduate student, Medical Biotechnology Research Center, Department of Biology, Ashkezar Branch, Islamic Azad University, Ashkezar, Yazd, Iran.
2. Assistant professor., Medical Biotechnology Research Center, Department of Biology, Ashkezar Branch, Islamic Azad University, Ashkezar, Yazd, Iran.
3. Associate Professor, Persian Gulf and Oman Sea Ecology Research Center, Iranian Fisheries Sciences Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Bandar Abbas, Iran.

Article history:

Received: 12 June 2024
Revised: 17 July 2024
Accepted: 18 July 2024
ePublished: 18 July 2024

***Corresponding author:** Saeid Tamadoni Jahromi Amiri, Associate Professor, Persian Gulf and Oman Sea Ecology Research Center, Iranian Fisheries Sciences Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Bandar Abbas, Iran.

E-mail: stamadoni@gmail.com

Abstract

In this study, the effect of temperature on the antioxidant properties and the effect of seasonal changes on the bacterial flora of the Vibrionaceae family in the muscle tissue of *Pinctada radiata* oysters were investigated. One hundred fifity oysters were collected from Bandar-e-Lengeh beach From September to January and the flesh of each individual was excised. The total count of Vibrio colonies was performed on TCBS culture medium. The combination of Vibrio bacteria, including *V. parahaemolyticus, V. anguillarum, V. anguillarum, V. harveyi, V. alginolyticus*, in oyster meat was done based on 16S rRNA gene. Catalase and superoxide dismutase activities was determined by detection kits based on the manufacturer's instructions. The results of this study showed that a decrease in temperature led to a decrease in the number of Vibrio colonies, So that the highest value in September decreased from 4.64 ± 0.06 CFU/gr to the lowest value in January by 1.99 log CFU/g (P<0.05).The highest and lowest SOD activity were observed in September (68%) and January (29%), respectively (P < 0.05). Catalase activity was a temperature dependence, so that the lowest catalase activity was recorded in January (P < 0.05). In addition, *V. parahaemolyticus*, *V. harveyi*, *V. alginolyticus* and *V. anguillarum* were the most abundant of *Vibrio* in *Pinctada radiata*. However, the number of colonies of pathogenic strains of Vibrio such as *V. parahaemolyticus* and *V. alginolyticus* decreased with decreasing temperature. The results of study shows that increase in water temperature had a negative effect on health and physiology of *Pinctada radiate.*

Keywords: superoxide dismutase, catalase, Vibrio, antioxidant enzymes, *Pinctada radiate*

Please cite this article as follows: Amiri V., Kazemi M. J., Tamadoni Jahromi S. Investigation on frequency of Vibrionaceae family bacteria in summer, autumn, and winter seasons with emphasis on the process of oxygen free radical changes, superoxide dismutase, and catalase in oyster muscle tissue (*Pinctada radiata*). J Mar Bio, 2024; 16(2): 30–45. DOI:

Copyright © 2024 Journal of Marin Biology. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License (*http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/*) which permits copy and redistribute the material just in noncommercial usages, provided the original work is properly cite

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2026-04-25]

JOMB
مجله زیست شناسی دریا
دوره ۱۶، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۳، صفحات: ۳۰-۴۵
https://jmb.ahvaz.iau.ir

مقاله اصلی

بررسی فراوانی باکتری‌های خانواده ویبریوناسه در فصول تابستان، پاییز و زمستان با تأکید بر فرآیند تغییرات رادیکال آزاد اکسیژن، سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز در بافت عضله صدف محار (*Pinctada radiata*)

ویدا امیری[۱*]، محمدجواد کاظمی[۲]، سعید تمدنی جهرمی[۳*]

۱. دانشجوی ارشد زیست‌شناسی، مرکز تحقیقات زیست‌فناوری پزشکی واحد اشکذر، دانشگاه آزاد اسلامی، اشکذر، یزد، ایران.
۲. استادیار گروه زیست‌شناسی، مرکز تحقیقات زیست‌فناوری پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اشکذر، اشکذر، ایران.
۳. دانشیار پژوهشکده اکولوژی خلیج‌فارس و دریای عمان، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بندرعباس، ایران.

تاریخچه مقاله
تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۳/۳/۲۳
تاریخ ویرایش مقاله: ۱۴۰۳/۴/۲۷
تاریخ پذیرش مقاله: ۱۴۰۳/۴/۲۸
تاریخ انتشار مقاله: ۱۴۰۳/۴/۲۸

تمامی حقوق برای دانشگاه آزاد اهواز محفوظ است.

* نویسنده مسئول: سعید تمدنی جهرمی، گروه بهداشت و بیماریهای آبزیان، دانشیار پژوهشکده اکولوژی خلیج‌فارس و دریای عمان، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بندرعباس، ایران.
ایمیل: stamadoni@gmail.com

چکیده

در این مطالعه اثر دما بر خاصیت آنتی‌اکسیدانی و نیز تأثیر تغییرات فصل بر میزان فلور باکتریایی خانواده ویبریوناسه در بافت عضله صدف محار موردبررسی قرار گرفت. تعداد ۱۵۰ عدد صدف محار از شهریور تا دی‌ماه از ساحل بندرلنگه جمع‌آوری و بافت عضله جداسازی گردید. شمارش کلی کلونی‌های ویبریو بر روی محیط کشت اختصاصی TCBS انجام شد. ترکیب باکتری ویبریو شامل گونه‌های *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio anguillarum*, *Vibrio harveyi, alginolyticus* در گوشت صدف محار بر اساس ژن 16S rRNA انجام گرفت. سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز و سوپراکسیددیسموتاز با استفاده از کیت و بر اساس دستور شرکت سازنده انجام شد. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که کاهش دما منجر به کاهش تعداد کلونی‌های ویبریو شد، به‌طوری‌که بیشترین مقدار در شهریورماه از ۰/۰۶ ± ۴/۶۴ CFU/gr به کمترین مقدار در دی‌ماه به میزان ۱/۹۹ log CFU/g رسید ($P<0.05$). بیشترین و کمترین فعالیت آنزیم‌های سوپر اکسید دیسموتاز اندازه‌گیری شده در بافت عضله صدف محار به ترتیب در شهریور (۶۸ درصد) و دی‌ماه (۲۹ درصد) مشاهده شد ($P<0.05$). فعالیت آنزیم کاتالاز نیز وابسته به دما بود، به‌طوری‌که کمترین مقدار در دی‌ماه (۱۵ درصد) به ثبت رسید ($P<0.05$). نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که *ویبریو پاراهمولیتیکوس*، *ویبریو هاروی*، *ویبریو آلجینولیتیکوس* و *ویبریو آنگولاریوم* فراوان‌ترین گونه‌های ویبریو در صدف‌های محار بودند. به‌هرحال تعداد کلونی‌های سویه‌های بیماری‌زای ویبریو همچون *ویبریو پاراهمولیتیکوس* و *ویبریو آلجینولیتیکوس* با کاهش دما روندی کاهشی داشت. نتایج مطالعه حاضر بیانگر نقش تعیین‌کننده دمای آب بر شاخص‌های متنوع و حیاتی در پرورش صدف محار شامل تعداد باکتری‌های ویبریو، الگوی تغییرات تنوع زیستی گونه‌های ویبریو و روند تغییرات فعالیت آنتی‌اکسیدانی در بافت نرم صدف بود.

واژگان کلیدی: ویبریو، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، صدف محار، سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز

استناد: امیری، ویدا؛ کاظمی، محمدجواد؛ تمدنی جهرمی، سعید. بررسی فراوانی باکتری‌های خانواده ویبریوناسه در فصول تابستان، پاییز و زمستان با تأکید بر فرآیند تغییرات رادیکال آزاد اکسیژن، سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز در بافت عضله صدف محار (*Pinctada radiata*) . مجله زیست شناسی دریا، تابستان ۱۴۰۳؛ ۱۶(۲): ۳۰-۴۵

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2026-04-25]

JOMB
مجله زیست شناسی دریا
دوره ۱۶، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۳، صفحات: ۳۰-۴۵
https://jmb.ahvaz.iau.ir

مقدمه

دوکفه‌ای‌ها با تنوع بیش از ۲۰۰۰۰ گونه، دومین گروه بزرگ از نرم‌تنان بر روی زمین را تشکیل داده که دارای ۲۵۰۰ جنس و بیش از ۲۵۰ خانواده می‌باشند. نرم‌تنان به‌ویژه صدف‌های دوکفه‌ای، بسیار به تغییرات دمایی حساس بوده و با افزایش دما بسیاری از شاخص‌های فیزیولوژیکی آن‌ها همچون متابولیسم، پارامترهای ایمنی، سیستم تولیدمثلی و حساسیت به بسیاری از بیماری‌ها تحت تأثیر قرار می‌گیرد. صدف‌ها به علت فیلتر کنندگی با حجم انبوهی از عوامل میکروبی بیماری‌زا مواجه هستند که تغییر در سیستم ایمنی آن‌ها سبب بروز آلودگی و شیوع مرگ‌ومیر می‌شود (Xu *et al*., 2019). در سال‌های اخیر، افزایش دما (معمولاً اواخر بهار و تابستان) موجب افزایش شیوع بیماری و مرگ‌ومیر در نرم‌تنان شده است (Dang *et al*., 2012). در پژوهشی نشان دادند که با افزایش دما میزان بقاء صدف‌ها افزایش محسوسی داشته، به‌طوری‌که بالاترین درصد بقاء در دمای ۲۹ درجه سانتی‌گراد به میزان ۸۶ درصد به ثبت رسید (Delisle *et al*., 2018).

تغییرات سالانه در ترکیب بیوشیمیایی و اجزای طعم بر اساس توالی فصلی به‌طور گسترده در بسیاری از دوکفه‌ای‌های آبی دیگر گزارش‌شده است (Shalders *et al*., 2022). عنوان مثال، در *Crassostrea gigas* محتوای گلیکوژن در گوشته، عضله و توده غدد جنسی در ماه ژوئن به‌طور قابل‌توجهی کمتر از ماه دسامبر بود و ترکیب اسیدهای چرب با چرخه تولیدمثل متفاوت بود (Qin *et al*., 2021). Gao و همکاران (۲۰۲۱) گزارش کردند که محتویات اسیدهای آمینه آزاد (FAAs)، -'5نوکلئوتیدها و پروفایل‌های لیپیدی در غده گوارشی *C. gigas* به سه مرحله مختلف تقسیم شدند. Chen و همکاران (۲۰۲۱) همچنین تغییرات FAA ها، ۵'-نوکلئوتیدها و لیپیدها را در صدف آبی *Mytilus edulis* با تغییرات فصل موردمطالعه قراردادند. عوامل غیر بیولوژیکی و بیولوژیکی، مانند دمای آب دریا، در دسترس بودن غذا و چرخه تولیدمثل، باعث تغییر در ترکیب بیوشیمیایی و مؤلفه طعم در حیوانات آبزی شدند. ویبریوها باکتری‌های گرم منفی و فرصت‌طلبی هستند که در تمام محیط‌های دریایی یافت می‌شوند و ازلحاظ اکولوژیکی و متابولیکی گستردگی فراوانی دارند. ازلحاظ اکولوژیکی، ویبریوها نقش مهمی در تجزیه مواد آلی و پیوند میان انتقال کربن آلی حل‌شده به سطوح بالاتر تروفیک در زنجیره غذایی دریایی ایفا می‌کند. این باکتری‌ها در تراکم‌های بالا در موجودات آبزی دریایی همچون ماهی‌ها، نرم‌تنان، علف‌های دریایی و اسفنج‌ها، میگوها و زئوپلاکتون‌ها حضور دارند. در حال حاضر، از خانواده ویبریو بیش از ۳۴ گونه شناسایی‌شده است که کمتر از ۱۶ گونه آن عامل بیماری‌زا در انسان و بیماری‌های وابسته به غذا هستند. به دلیل این‌که صدف‌ها عمدتاً به‌صورت خام مصرف می‌شوند، بنابراین تجمع آن‌ها در صدف برای سلامتی مصرف‌کنندگان خطرآفرین می‌باشد. این باکتری‌ها می‌توانند از طریق زخم و یا فعالیت‌هایی همچون ماهیگیری، برداشت صدف و دست زدن به غذاهای دریایی وارد بدن انسان شوند (Froelich and Noble, 2016). شاهمرادی و همکاران (۱۳۹۷) در مطالعه‌ای بر روی صدف‌های لب سیاه (*Pinctada margaritifera*) ۴ گونه باکتری از جنس ویبریو شناسایی کردند که شامل *ویبریو هاروی* (*V. harveyi*)، ویبریو آلجینولیتیکوس (*V. alginolyticus*)، ویبریو اسپلندیدوس (*V. splendidus*) و ویبریو آنگولاروم (*V. anguillarum*) بودند. همچنین Lopez-Joven و همکاران (۲۰۱۸) بقا و رشد گونه بیماری‌زا و غیر بیماری‌زای ویبریو پاراهمولیتیکوس را در دماهای مختلف در صدف *Ruditapes philippinarum* موردبررسی قراردادند. نتایج نشان داد که تفاوت معنی‌داری میان تعداد کلونی‌های سویه بیماری‌زا *ویبریو پاراهمولیتیکوس* نگهداری شده در دمای ۴ و ۱۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۹۶ ساعت مشاهده نشد؛ درحالی‌که کاهش معنی‌داری برای سویه غیر بیماری‌زا در دماهای ذکرشده به ثبت رسید. همچنین تعداد کلونی‌های ویبریو در صدف‌های نگهداری شده در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد بیشتر از ۴ و ۱۵ درجه سانتی‌گراد بود.

رادیکال‌های آزاد در اثر شکستگی یک پیوند از یک مولکول پایدار ایجاد می‌شوند و به دلیل داشتن الکترون جفت نشده بسیار واکنش پذیر هستند. یک رادیکال آزاد می‌تواند دارای بار مثبت، منفی و یا خنثی باشد (Almeida *et al*., 2008). آنتی‌اکسیدان‌های جانوران دریایی می‌توانند بدن انسان را برابر رادیکال‌های آزاد و اثرات ROS محافظت نمایند. رادیکال‌های آزاد باعث پیشرفت بسیاری از بیماری‌های مزمن و همچنین تضعیف پراکسیداسیون لیپید می‌شود. بررسی‌های مختلف نشان داده که عصاره‌ی دوکفه‌ای‌ها دارای منبع بسیار خوبی از آنتی‌اکسیدان‌ها می‌باشد که می تواند برای پیشگیری و کاهش بیماری‌های مرتبط با استرس اکسیداتیو و سایر بیماری‌های دیگر اهمیت داشته باشد (Pachaiyappan *et al*.,

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2026-04-25]

JOMB
مجله زیست شناسی دریا
دوره ۱۶، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۳، صفحات: ۳۰-۴۵
https://jmb.ahvaz.iau.ir

2014). همچنین خاصیت آنتی‌اکسیدانی گونه *Brachionus plicatilis* در آب‌های بهمن‌شیر کاملاً چشم‌گیر گزارش شد و امکان پرورش آن را به‌عنوان بهره‌وری تجاری در مکمل‌های غذایی پیشنهاد نمودند (Khafaeizadeh *et al.*, 2016). در تحقیقی دیگر عصاره صدف دسته چاقویی *S. dactylus* دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی نسبتاً زیادی بوده و قابلیت این را دارد که پس از مطالعات مربوط به بهداشت مواد غذایی به‌عنوان غذای معمولی برای مصارف انسانی، تهیه کنسرو و صادرات به کشورهای دیگر به کار رود (Asadollahi *et al.*, 2018).

در کشور ما، برخی از ساحل‌نشینان حاشیه خلیج‌فارس گونه صدف محار را از دریا جمع‌آوری و گوشت آن را مصرف می‌کنند. متأسفانه تاکنون مطالعه‌ای در خصوص پایش میزان آلودگی صدف‌های پرورشی در ایران انجام نگرفته است. از مهم‌ترین پاتوژن‌های محیط دریایی، ویبریوها می‌باشد که این باکتری تحت تأثیر دما میزان و قدرت بیماری‌زایی متفاوتی دارد. گونه *ویبریو پاراهمولیتیکوس* موجب بروز بیماری ناشی از مصرف غذاهای دریایی در بسیاری از کشورهای جهان شده‌اند. این دو گونه در طی روند پاک‌سازی صدف‌های خوراکی حذف نمی‌گردند و حتی این احتمال وجود دارد در طول فرآیند پاک‌سازی صدف تکثیر پیدا کنند. لذا با توجه به اهمیت و لزوم این موضوع، صدف‌ها در دو فصل پاییز و زمستان از طبیعت جمع‌آوری‌شده و گوشت آن‌ها به‌منظور بررسی تغییرات ویبریو استحصال می‌شود. همچنین این مطالعه به بررسی روند تغییرات فعالیت آنتی‌اکسیدانی صدف محار در طول این فصول و ارتباط آن با فراوانی باکتری ویبریو پرداخته است.

مواد و روش‌ها

محیط کشت های مورداستفاده شامل محیط نیترات براث (Nitrate broth)، محیط اختصاصی ویبریو یا تیوسولفات سیترات نمک‌های صفراوی ساکاروز (TCBS)، فنل رد براث، سیمون سیترات، MR-VP، لیزین دکربوکسیلاز، نوترینت براث، دکربوکسیلاز، بافر پپتون واتر و ژلاتین خوراکی بود.

در این مطالعه از صدف محار (*P. radiata*) استفاده شد. نمونه‌ها در طول ماه‌های شهریور تا دی‌ماه سال ۱۳۹۹ از منطقه بندرلنگه واقع در غرب استان هرمزگان جمع‌آوری شدند. در هر بار، از ۳۰ عدد صدف نمونه‌برداری انجام گرفت. طول پشتی- شکمی صدف‌ها (Dorsal- Ventral Measurment یا DVM) برابر ۰/۵۴ ± ۵/۱ سانتی‌متر بود. پس از زدودن گل‌ولای و شستشو با آب شیرین، صدف‌ها جهت سنجش تعداد کلونی‌های باکتری ویبریو به آزمایشگاه میکروبیولوژی منتقل شدند.

در آزمایشگاه، گوشت آن‌ها استحصال و پس از تهیه رقت سریالی در محیط کشت TCBS با سه تکرار تلقیح شدند. محیط کشت ها به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. از هر تکرار پنج کلونی انتخاب شد و بر روی محیط آگار مغذی حاوی دو درصد کلرید سدیم کشت و خالص‌سازی شدند. ایزوله‌های خالص‌شده بر اساس ویژگی‌های مورفولوژیک میکروسکوپی، ماکروسکوپی، بیوشیمیایی و فیزیولوژیک متداول مورد شناسایی قرار گرفتند. آزمون‌های بیوشیمیایی همچون مصرف منابع کربن و نیتروژن، تولید آنزیم‌های ژلاتیناز، اکسیداز، کاتالاز و ردوکتاز و آزمون IMVIC انجام گرفت (Brenner *et al.*, 2005). به‌منظور شناسایی مولکولی، سه سویه از هر تیمار در محیط کشت آب پپتونه حاوی دو درصد کلرید سدیم تلقیح شدند. پس از نگهداری به مدت ۱۸ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به تیوب‌های ۱/۵ میلی‌لیتری منتقل‌شده و با دور ۵۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ شدند. سپس مایع رویی خارج و به توده ته‌نشین شده ۱۰۰ میکرو لیتر آب مقطر استریل افزوده شد. در ادامه به مدت ۵ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شد. سپس سوسپانسیون موجود با دور ۱۰۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ خواهد شد. درنهایت مایع رویی به میکرو تیوب جدید منتقل شد. کیفیت DNA استخراج‌شده با استفاده از الکتروفورز ژل آگارز موردبررسی قرار گرفت. توالی تکثیرشده ژن 16 SrRNA بعد از ارزیابی کیفی توسط الکتروفورز ژل آگارز تعیین توالی شد. در پایان میزان تطابق توالی‌های به‌دست‌آمده با سایر توالی‌های ثبت‌شده در بانک ژن NCBI مورد آنالیز قرار گرفت (Tamura *et al.*, 2013).

جدایه‌های خالص‌شده بر اساس ویژگی‌های مورفولوژی میکروسکوپی، ماکروسکوپی، بیوشیمیایی و فیزیولوژیک متداول مورد شناسایی قرار گرفتند.

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2026-04-25]

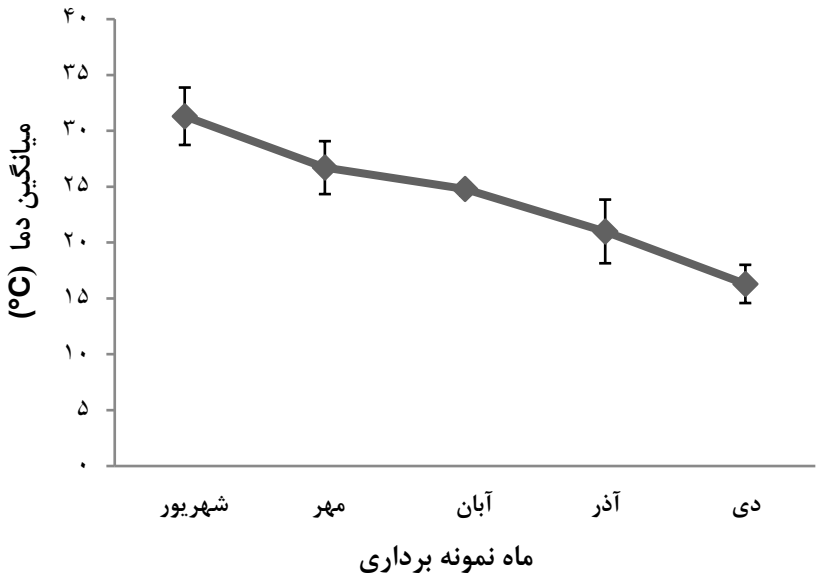
JOMB
مجله زیست شناسی دریا
دوره ۱۶، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۳، صفحات: ۳۰-۴۵
https://jmb.ahvaz.iau.ir

رسم درخت فیلوژنتیکی بر اساس آنالیز Neighbor joining و با شرایط پشتوانه تکرار ۱۰۰۰، حذف فاصله‌ها، در نظر گرفتن جهش‌های ترانزیشن و ترانسپورژن برای ۵ ایزوله موردنظر با دیگر ایزوله‌های ثبت‌شده در بانک ژنی، بر اساس تفاوت به‌دست‌آمده با استفاده از ژن 16s rRNA ترسیم گردید (Nei, 1987). فاصله ژنتیکی میان توالی‌های فوق نیز با استفاده از نرم‌افزار MEGA X و بر اساس Neighbour joining صورت گرفت (Kumar, 2018).

برای اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی بافت نرم صدف‌ها جداشده و در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شود. در زمان آنالیز پس از ذوب شدن نمونه‌ها بافت نرم صدف قطعات ریز برش داده می‌شود و پس از اضافه کردن بافر فسفات، نمونه‌ها در سانتریفیوژ یخچال دار با دور ۵۰۰۰ دور بر دقیقه و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار می‌گیرند تا زمانی که نمونه‌ها کامل به‌صورت محلول درآید. سپس ماده شناور رویی محلول جهت آنالیز در دمای ۸۰- نگهداری می‌شود. اندازه‌گیری آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسیددیسموتاز، کاتالاز و رادیکال‌های آزاد اکسیژن (ROS) در بافت با استفاده از کیت‌های شرکت طب پژوهان رازی به ترتیب در طول‌موج‌های ۴۴۰، ۵۴۰ و ۵۰۰ نانومتر اندازه‌گیری شد.

نتایج

سنجش ماهانه دمای آب دریا در طی دوره پرورش صدف بیانگر روند نزولی تغییرات دما در طی دوره پرورش صدف بود (شکل ۱). به‌طوری‌که متوسط دمای آب در ابتدای دوره پرورش در شهریور معادل ۳۱/۳±۲/۵۷ درجه سلسیوس ثبت شد، درحالی‌که در انتهای دوره در دی معادل ۱۶/۱±۳/۷۱ ثبت گردید.

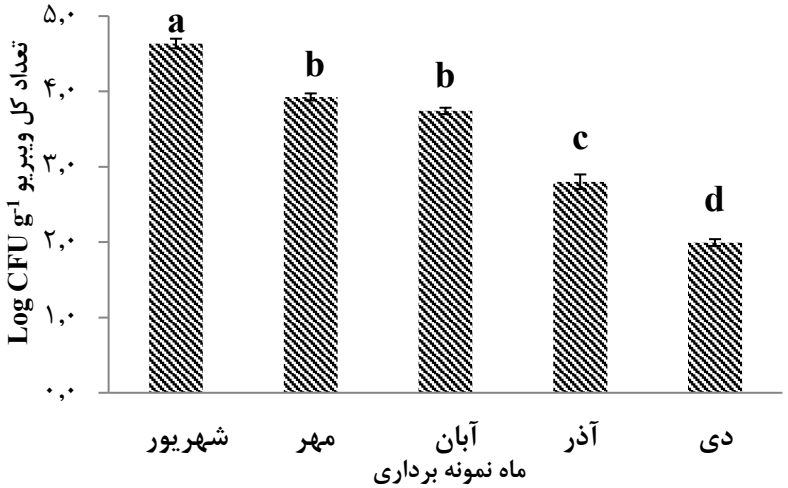


شکل ۱: تغییرات دمای آب طی دوره نمونه‌برداری (سال ۱۳۹۹)

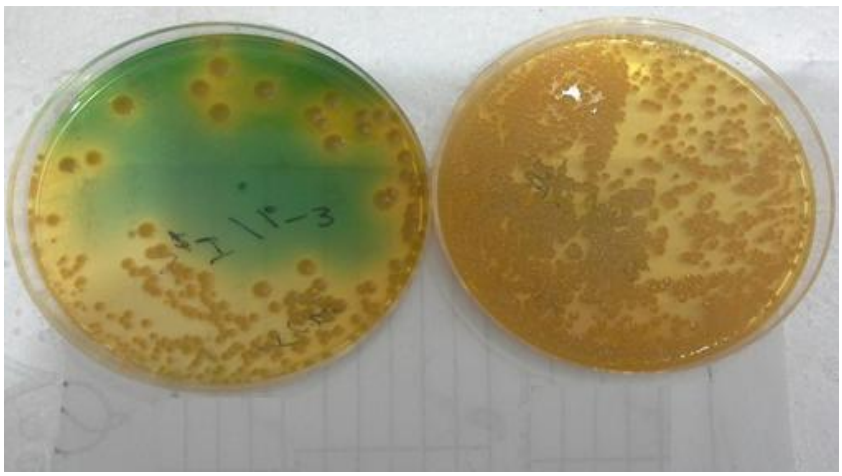
ارزیابی تغییرات تعداد باکتری‌های ویبریو در نمونه‌های صدف جمع‌آوری‌شده در ماه‌های مختلف بیانگر روند کاهشی حضور باکتری‌های ویبریو در نمونه‌های موردبررسی داشت، به‌طوری‌که تعداد کل باکتری‌های ویبریو در شهریور بیشترین میزان با میانگین ۰/۰۶ CFU/gr ±۶۴/۴ از گوشت صدف بود. میانگین این تعداد در دی به ۰/۰۴ CFU/gr ±۹۹/۱ در هر گرم گوشت صدف رسید (شکل ۲). آنالیز واریانس مقادیر به‌دست‌آمده بیانگر اختلاف معنادار میان تعداد کل باکتری‌های ویبریو در تمامی ماه‌های موردبررسی به‌جز مهر و آبان در سطح $p<0.05$ بود. در شکل ۳ نمایی از جداسازی و شمارش باکتری‌های ویبریو ارائه‌شده است.

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2026-04-25]

JOMB
مجله زیست شناسی دریا
دوره ۱۶، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۳، صفحات: ۳۰-۴۵
https://jmb.ahvaz.iau.ir



شکل ۲: تغییرات ماهانه تعداد کل باکتری‌های ویبریو در نمونه‌های صدف محار (*Pinctada radiata*) (سال ۱۳۹۹)
حروف لاتین متفاوت بیانگر اختلاف معنادار در سطح P < ۰/۰۵ می‌باشد



شکل ۳: نمایی از جداسازی و شمارش باکتری‌های ویبریو: رقت 10^{-2} (تصویر سمت راست) و 10^{-3} (تصویر سمت چپ) (سال ۱۳۹۹)

نتایج حاصل از آزمون‌های بیوشیمیایی کلونی‌های ویبریو در جدول ۱ نمایش داده‌شده است.

جدول ۱: نتایج آزمون‌های شناسایی کلونی‌های ویبریو (سال ۱۳۹۹)

مشخصه	*V.alginolyticus*	*V.harveyi*	*V. anguillarum*	*V. parahaemolyticus*
رنگ‌آمیزی گرم	-	-	-	-
رنگ کلونی روی TCBS	زرد	زرد	زرد	سبز
اکسیداز	–	–	–	–
کاتالاز	+	+	+	+
اکسیداسیون/تخمیر	+/+	+/+	+/+	+/+
آرژینین دی هیدرولاز	–	–	+	–
لایزین دکربوکسیلاز	+	+	–	+

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2026-04-25]

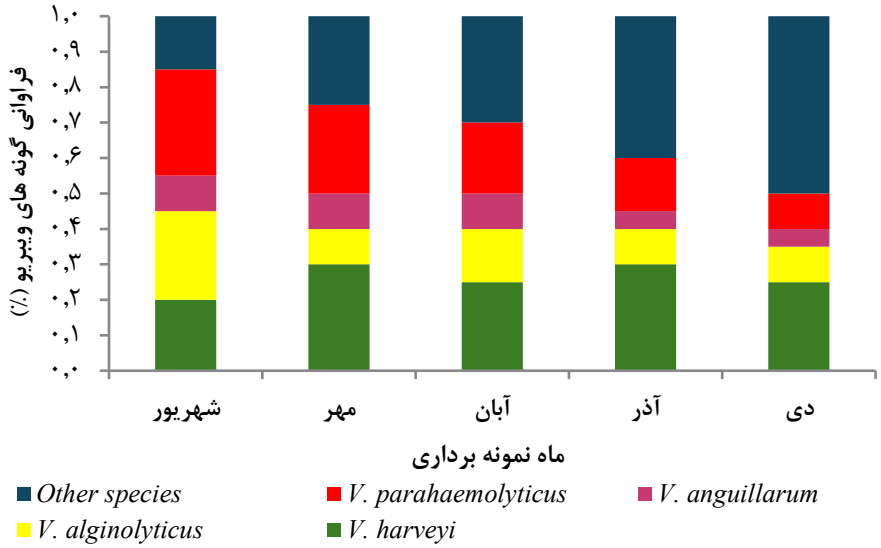
JOMB
مجله زیست شناسی دریا
دوره ۱۶، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۳، صفحات: ۳۰-۴۵
https://jmb.ahvaz.iau.ir

اورنیتین دکربوکسیلاز	+	+	−	+
متیل رد	+	-	+	+
وژپروسکوئر	+	−	+	−
احیاء نیترات	+	+	+	+
سیترات	+	-	+	+
تجزیه ژلاتین	+	-	+	+
تجزیه اوره	−	-	−	−
تولید بتا گالاکتوزیداز	−	-	+	−
مصرف منابع کربن				
آرابینوز	-	-	+	+
اینوزیتول	-	-	−	−
سوکروز	+	+	+	−
سالیسین	-	-	−	−
سوربیتول	-	-	+	−
گلوکز	+	+	+	+
گلوکزآمین	−	-	−	+
گالاکتوز	+	+	−	+
لاکتوز	-	-	−	−
مانیتول	+	+	+	+
مانوز	+	+	+	+
رشد در غلظت‌های کلرید سدیم				
۰٪	-	-	−	−
۳٪	+	+	+	+
۶٪	+	+	−	+
۸٪	+	+	−	+
۱۰٪	+	-	−	+
رشد در دماهای				
۰°c	-	-	−	−
۲۰°c	+	+	+	+
۳۰°c	+	+	+	+
۳۵°c	+	+	+	+
۴۰°c	+	+	−	+

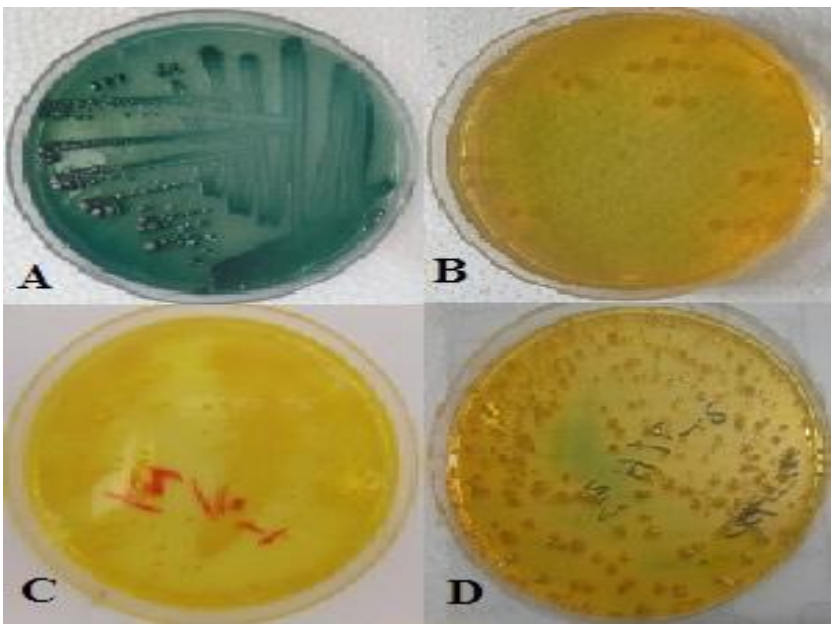
[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2026-04-25]

JOMB
مجله زیست شناسی دریا
دوره ۱۶، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۳، صفحات: ۳۰-۴۵
https://jmb.ahvaz.iau.ir

پس از جداسازی و شمارش باکتری‌های ویبریو در هرماه الگوی تنوع زیستی جدایه‌ها پس از شناسایی آن‌ها بر اساس ویژگی‌های مورفولوژیک، بیوشیمیایی و فیزیولوژیک انجام شد. نتایج الگوی ماهانه ایجادشده به‌صورت درصد فراوانی در شکل ۴ نشان داده‌شده است. الگوی به‌دست‌آمده بیانگر روند کاهشی درصد فراوانی گونه‌های بیماری‌زا با کاهش دما بود. به‌طوری‌که فراوانی جدایه‌های متعلق به *V. parahaemolyticus* از ۳۰ درصد در شهریور به ۱۰ درصد در دی تقلیل یافت. همچنین درصد فراوانی جدایه‌های متعلق به گونه *V. alginolyticus* از ۲۵ درصد در شهریور به ۱۰ درصد در دی کاهش یافت. این درحالی‌که بود که درصد فراوانی سایر گونه‌های غیر بیماری‌زای ویبریو از ۱۵ درصد در شهریور به ۵۰ درصد در دی افزایش یافت (شکل ۴). در شکل ۵ مورفولوژی کلونی باکتری‌های ویبریو جداسازی شده از نمونه‌های صدف بر روی محیط TCBS آورده شده است. در شکل ۶ مورفولوژی میکروسکوپی باکتری‌های ویبریو جداسازی شده از نمونه‌های عضله صدف محار ارائه‌شده است.



شکل ٤: تغییرات الگوی فراوانی گونه‌های ویبریو در ماه‌های مختلف نمونه‌برداری (سال ۱۳۹۹)



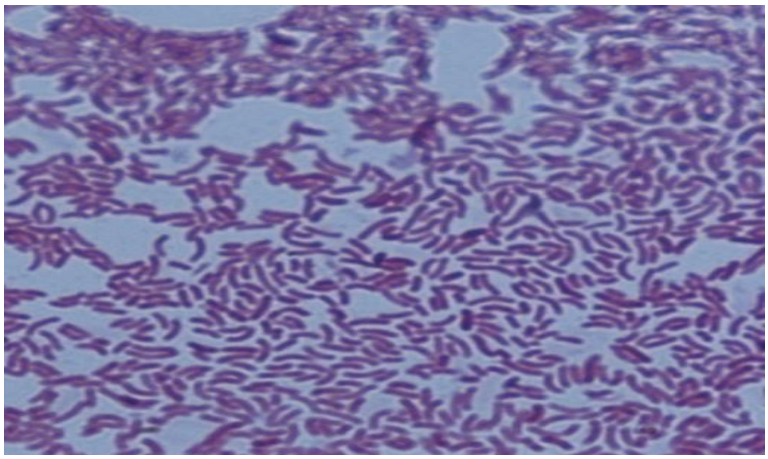
شکل ٥: مورفولوژی کلونی باکتری‌های ویبریو جداسازی شده از نمونه‌های صدف محار (*Pinctada radiata*) بر روی محیط TCBS (سال ۱۳۹۹)

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2026-04-25]

JOMB
مجله زیست شناسی دریا
دوره ۱۶، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۳، صفحات: ۳۰-۴۵
https://jmb.ahvaz.iau.ir

(*V. alginolyticus* .D *V. anguillarum* .C *V. harveyi* .B .*V. parahaemolyticus* A)

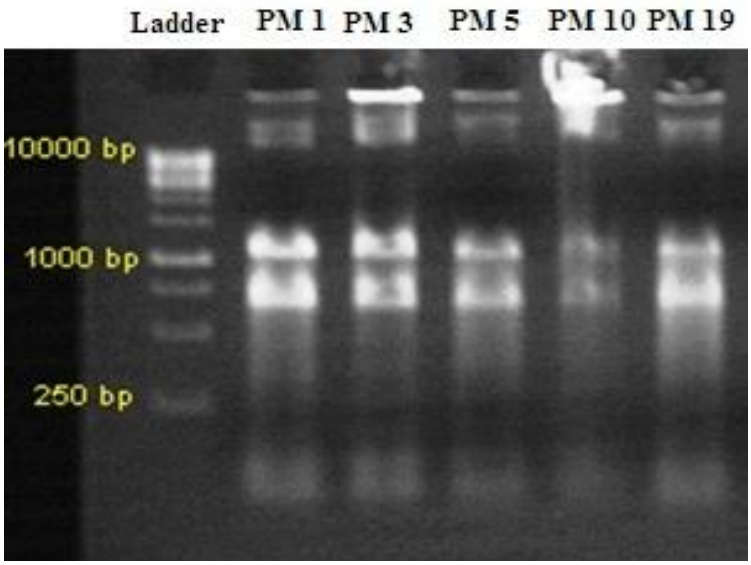
محیط کشت سبزرنگ به جهت عدم تخمیر سوکروز توسط باکتری (A) و محیط کشت زرد به علت توانایی در تخمیر سوکروز (C)



شکل ٦: مورفولوژی میکروسکوپی باکتری‌های ویبریو جداسازی شده از نمونه‌های عضله صدف محار (*Pinctada radiata*) (سال ۱۳۹۹)

به‌منظور تأیید شناسایی مورفولوژیک، بیوشیمیایی و فیزیولوژیک گونه‌ها اقدام به تأیید شناسایی با روش ژنتیکی مبتنی بر تکثیر و تعیین توالی ژن 16S rRNA گردید. بدین منظور مراحل استخراج DNA، تکثیر ژن 16S rRNA و تعیین توالی و آنالیز آن صورت گرفت.

نتایج به‌دست‌آمده از الکتروفورز DNA ژنومی استخراج‌شده از ۵ جدایه‌های ویبریو PM 1، PM 3، PM 5، PM 10 و PM 19 کارایی فرایند استخراج را تأیید نمود. مقایسه طول DNA ژنومی استخراج‌شده از جدایه‌های منتخب با استفاده از خط‌کش ژن (Gene ruller) نشان داد اندازه ژنوم استخراج‌شده از جدایه‌های موردبررسی بیش از ۱۰kbp بود. همچنین ژنوم خارج کروموزومی پلاسمیدی نیز با اندازه ژنوم ۹۰۰ bp و bp ۱۵۰۰ قابل‌مشاهده بود. همان‌طور که در شکل ۷ نشان داده‌شده است، تمامیت و ساختار DNA ژنومی سویه‌های موردبررسی در طی فرایند استخراج حفظ شد. بررسی کمیت و کیفیت DNA ژنومی استخراج‌شده با روش اسپکتروفوتومتری بیانگر خلوص مناسب نمونه‌های به‌دست‌آمده و غلظت کافی برای آزمون‌های بعدی بود (شکل ۷).

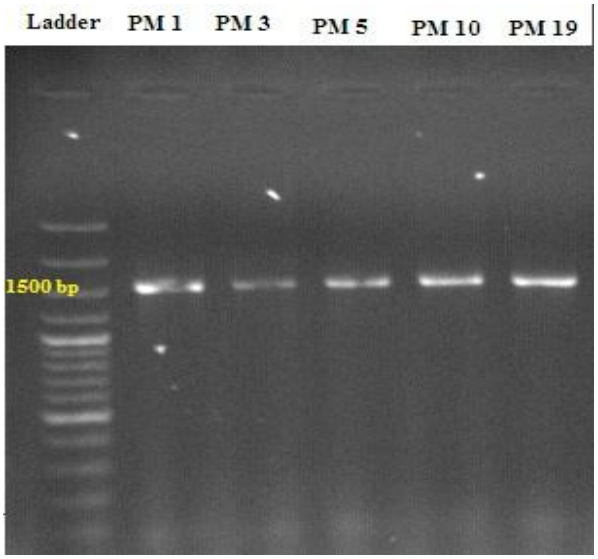


شکل ۷: تصویر الکتروفورز DNA استخراج‌شده از سویه‌های متمایز ویبریو به ترتیب از چپ به راست، PM 1 3, 5,10,19 (سال ۱۳۹۹)

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2026-04-25]

JOMB
مجله زیست شناسی دریا
دوره ۱۶، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۳، صفحات: ۳۰-۴۵
https://jmb.ahvaz.iau.ir

نتایج حاصل از الکتروفورز محصول PCR ناشی از تکثیر ژن 16S rRNA جدایه‌های موردنظر ویبریو بیانگر تکثیر توالی‌هایی با طول حدود ۱۵۰۰ bp بود. این نتایج نشان داد فرایند تکثیر ژن 16S rRNA به‌وسیله واکنش زنجیره‌ای پلیمراز به‌صورت کاملاً اختصاصی انجام‌شده است (شکل ۸).



شکل ۸: تصویر محصول PCR ژل آگاروز ژن 16S rRNA استخراج‌شده از جدایه‌های ویبریو به ترتیب از چپ به راست، PM 1 3, 5,10,19 (سال ۱۳۹۹)

نتایج آنالیز تطابق توالی ژن 16S rRNA جدایه‌های ویبریو با نزدیک‌ترین سویه‌های شاخص ثبت‌شده در بانک ژن NCBI نشان داد توالی ژن 16S rRNA سویه PM 1 با باکتری به میزان ۱۰۰ تشابه *Vibrio anguillarum* strain NBRC 13266 نشان داد. نتایج این آنالیز برای جدایه PM ۳ نیز بیانگر تشابه ۱۰۰ درصدی این جدایه با سویه *Vibrio parahaemolyticus* strain ATCC 17802 بود. همچنین جدایه PM 5 با سویه *Vibrio harveyi* strain NBRC 15634 به میزان ۹۹/۹۲ درصد تشابه نشان داد. نتایج این بررسی تشابه ۹۹/۹۱ درصدی جدایه PM 10 با سویه *Vibrio harveyi* strain NCIMB1280 را تأیید نمود. همچنین ژن16S rRNA جدایه PN 19 با سویه *Vibrio alginolyticus* strain ATCC 17749 به میزان ۱۰۰ تشابه نشان داد (جدول ۲).

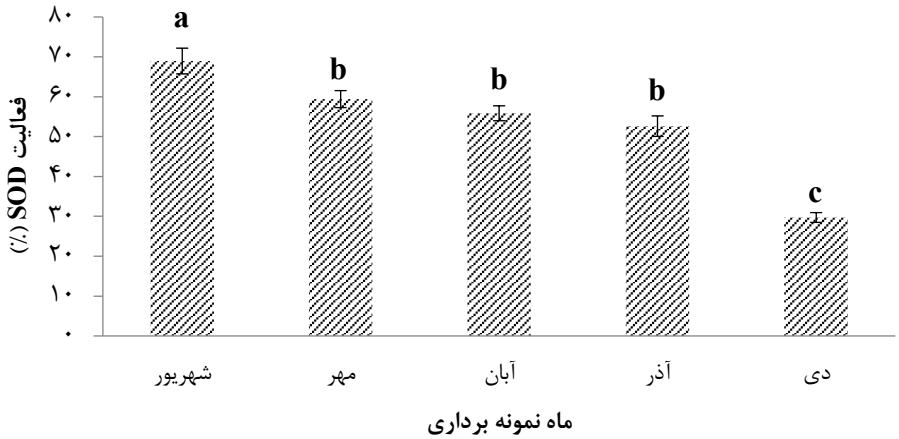
جدول ۲: میزان تشابه سویه‌های ویبریو جداشده با نزدیک‌ترین گونه‌های شاخص ثبت‌شده در NCBI بر اساس ژن 16S rRNA (سال ۱۳۹۹)

نام سویه	درصد تشابه	نزدیک‌ترین سویه شاخص در NCBI
PM 1	100%	*Vibrio anguillarum* strain NBRC 13266
PM 3	100%	*Vibrio parahaemolyticus* strain ATCC 17802
PM 5	99.92%	*Vibrio harveyi* strain NBRC 15634
PM 10	99.91%	*Vibrio harveyi* strain NCIMB1280
PM 19	100%	*Vibrio alginolyticus* strain ATCC 17749

نتایج بررسی تغییرات فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز (SOD) در طی ماه‌های نمونه‌برداری بیانگر ایجاد یک روند کاهشی بود، به‌طوری‌که بیش‌ترین فعالیت آنزیم در ماه شهریور به میزان ۶۸/۹۵ درصد و کمترین میزان فعالیت آنزیم در ماه دی به میزان ثبت گردید. آنالیز واریانس مقادیر به‌دست‌آمده بیانگر اختلاف معنادار فعالیت آنزیم در ماه‌های شهریور و دی در سطح $P < ۰/۰۵$ بود، درحالی‌که میان فعالیت آنزیم در ماه‌های مهر، آبان و آذر اختلاف معنی‌داری در سطح $P < ۰/۰۵$ مشاهده نشد (شکل ۹).

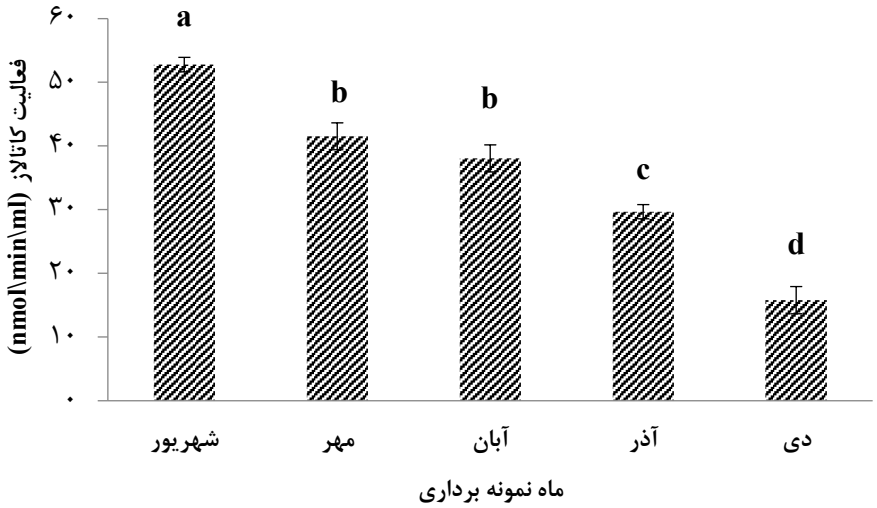
[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2026-04-25]

JOMB
مجله زیست شناسی دریا
دوره ۱۶، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۳، صفحات: ۳۰-۴۵
https://jmb.ahvaz.iau.ir



شکل ۹: تغییرات ماهانه فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز در نمونه‌های صدف محار (*Pinctada radiata*) (سال ۱۳۹۹).
حروف لاتین متفاوت بیانگر اختلاف معنادار در سطح P < ۰/۰۵ می‌باشد.

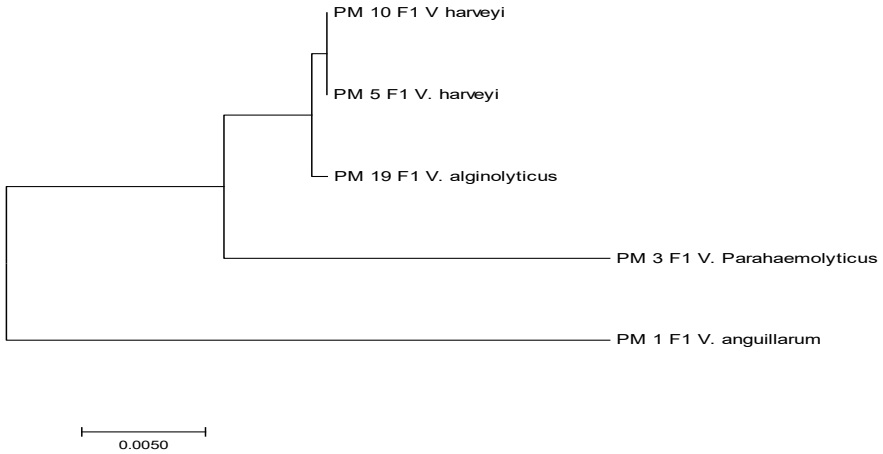
نتایج بررسی تغییرات فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) طی ماه‌های نمونه‌برداری نشان داد فعالیت آنزیم یک‌روند کاهشی را ارائه می‌نماید. به‌طوری‌که بیشترین فعالیت آنزیم در ماه شهریور به میزان ۵۲/۷۷ nmol\min\ml و کمترین میزان فعالیت آنزیم در ماه دی به میزان ۱۵/۷۹ nmol\min\ml ثبت گردید. آنالیز واریانس مقادیر به‌دست‌آمده بیانگر اختلاف معنادار فعالیت آنزیم در ماه‌های شهریور، مهر، آذر و دی در سطح $p<0.05$ بود درحالی‌که میان فعالیت آنزیم در ماه‌های مهر و آبان اختلاف معناداری در سطح $p>0.05$ مشاهده نشد (شکل ۱۰).



شکل ۱۰: تغییرات ماهانه فعالیت آنزیم کاتالاز در نمونه‌های صدف محار (*Pinctada radiata*) (سال ۱۳۹۹)
حروف لاتین متفاوت بیانگر اختلاف معنادار در سطح P < ۰/۰۵ میباشد

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2026-04-25]

JOMB
مجله زیست شناسی دریا
دوره ۱۶، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۳، صفحات: ۳۰-۴۵
https://jmb.ahvaz.iau.ir



شکل ۱۱: درخت فیلوژنی بر اساس آنالیز توالی ژن 16S rRNA با استفاده از روش joining-Neighbour

رسم درخت فیلوژنتیک نشان داد که سویه‌های *هاروی*، *آلجینولیتیکوس* و *پاراهمولیتیکوس* در یک کلاستر با دو گروه خواهری خود را نشان دادند اگرچه ویبریو *آنگولا ریوم* بافاصله ژنتیکی بالاتری و جابجایی‌های نوکلئوتیدی بسیار بالا خود را از سویه‌های دیگر جدا کرده است.

بحث و نتیجه‌گیری

در چند دهه اخیر عواملی متعددی چون تغییرات اقلیمی، گرمایش جهانی، ورود پساب‌های صنعتی و خانگی به دریا و آلودگی‌های نفتی اکوسیستم خلیج‌فارس را تحت تأثیر قرار داده است (Khatir *et al.*, 2020 ؛Bayani, 2016). زیستگاه‌های صدف‌های خوراکی نیز از این تغییرات مستثنا نبوده و تأثیرات این عوامل با شدت‌های مختلف بر این زیستگاه‌های حساس قابل‌مطالعه و بحث می‌باشد. ازآنجاکه خلیج‌فارس به‌عنوان یکی از گرم‌ترین توده‌های آبی در دنیا محسوب می‌شود، وجود تغییرات فیزیولوژیک در ارگانیسم‌های موجود در این اکوسیستم بسیار حائز اهمیت است (Ebrahimi *et al.*, 2014). ازاین‌رو پایش این تغییرات به‌ویژه در ارگانیسم‌های خوراکی ازجمله صدف‌های محار که به دلیل پالیده خواری تبادل بالایی با محیط پیرامون خوددارند از اهداف مطالعه حاضر در نظر گرفته شدند.

نتایج سنجش تغییرات ماهیانه دمای آب طی دوره پرورش صدف محار نشان داد طی ماه‌های شهریور تا دی‌ماه دمای آب روند نزولی را طی نمود. از دلایل بدیهی این امر تغییر فصول و به‌تبع آن تغییر زاویه تابش خورشید می‌باشد. تغییر دینامیک و جریان آب و همچنین الگوی وزش باد از دیگر دلایل نوسانات دمایی در طول سال می‌باشد. درنتیجه این فاکتورها انرژی واردشده به اکوسیستم که عمدتاً از نور خورشید است در طول سال تغییر می‌نماید (Noori *et al.*, 2019). اهمیت این تغییرات دمایی از جهات مختلف بر فیزیولوژی صدف‌های محار قابل‌توجه بوده و به تفکیک نتایج به‌دست‌آمده موردبحث قرار خواهد گرفت.

بررسی تغییرات تعداد کل باکتری‌های ویبریو در نمونه‌های صدف جمع‌آوری‌شده طی ماه‌های مختلف نشان داد باگذشت زمان از ماه‌های شهریور تا دی روند کاهشی به‌طور معنی‌داری قابل‌مشاهده بود. از مهم‌ترین عوامل مؤثر بر ایجاد این روند نزولی می‌تواند کاهش دمای آب باشد. رابطه مستقیم سرعت تکثیر اغلب باکتری‌های ویبریو با دمای محیط در محدوده دمای رشد به‌عنوان یک قاعده حاکم در فیزیولوژی این باکتری‌ها پذیرفته‌شده است (Hsiao *et al.*, 2016). با افزایش دما میزان فسفوریلاسیون و متیلاسیون پروتئین‌ها و گیرنده‌های انتقال‌دهنده سیگنال و احتمالاً سایر میانکنش های آنزیمی دخیل در کینتیک باکتری‌های ویبریو افزایش می‌یابد. همچنین سیالیت و تراوایی غشاها به دما وابسته است و نقش قابل‌ملاحظه‌ای در افزایش دسترسی باکتری به انرژی و مواد مغذی و به‌تبع آن افزایش تکثیر باکتری ایفا می‌نماید (Larsen *et al.*, 2015).

ازاین‌رو با کاهش دما از ۳۱/۳ درجه سلسیوس در شهریور تا ۱۶/۳ درجه سلسیوس در دی سرعت تکثیر باکتری‌های ویبریو کاهش یافت. آنالیز آماری نشان داد میان تعداد کل باکتری‌های ویبریو در ماه‌های مهر و آبان اختلاف معناداری در سطح $P < ۰/۰۵$ گزارش نشد. این نتیجه می‌تواند

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2026-04-25]

JOMB
مجله زیست شناسی دریا
دوره ۱۶، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۳، صفحات: ۳۰-۴۵
https://jmb.ahvaz.iau.ir

به دلیل کاهش اختلاف دمای آب میان این دو فصل باشد. سایر مطالعات درزمینه سنجش باکتری‌های ویبریو در صدف‌های خوراکی نیز نتایج همگرایی را ارائه نموده است. برای نمونه مطالعه Lopez-Joven و همکاران (۲۰۱۵) نشان داد تعداد کل باکتری‌های ویبریو در صدف‌های *Ruditapes philippinarum* نگه‌داری شده در دمای ۲۸ درجه سلسیوس بیشتر از ۴ و ۱۵ درجه سلسیوس بود. همین گروه تحقیقاتی در مطالعه دیگری گزارش دادند تعداد باکتری‌های ویبریو پاراهمولیتیکوس در صدف‌های *Crassostrea gigas*، *Mytilus galloprovincialis*، *Ruditapes decussatus* و *Ruditapes philippinarum* جمع‌آوری‌شده از آبگیرهای Alfacs و Fangar منطقه کاتولانیای اسپانیا با افزایش دمای آب افزایش یافت (Lopez *et al.*, 2018).

ارزیابی تغییرات ماهانه الگوی تنوع زیستی گونه‌های ویبریو نشان داد با کاهش دما درصد فراوانی گونه‌های بیماری‌زا کاهش یافت. کاهش فراوانی جدایه‌های بیماری‌زای فرصت‌طلب شامل *V. parahaemolyticus* و *V. alginolyticus* از به ترتیب ۳۰ و ۲۵ درصد در شهریور به ۱۰ درصد در دی بیانگر این روند کاهشی بود. در مقابل فراوانی گونه‌های غیر بیماری‌زا از ۱۵ درصد در شهریور به ۵۰ درصد در دی افزایش یافت.

این روند صعودی وابسته به دمای باکتری‌های غیر بیماری‌زای ویبریو در سایر مطالعات نیز گزارش‌شده است. نتایج مطالعه Lokmer و Mathias Wegner (۲۰۱۵) نشان داد بیشترین میزان تلفات صدف *Crassostrea gigas* درنتیجه گونه‌های بیماری‌زای ویبریو در دمای ۲۲ درجه سلسیوس ثبت شد، درحالی‌که میزان بقا صدف‌های تیمار شده در دمای ۸ درجه سلسیوس به میزان معناداری بیشتر گزارش شد. این روند وابسته به دمای تکثیر گونه‌های ویبریو در مطالعه Lopez-Joven و همکاران (۲۰۱۵) نیز مشاهده شد و تأثیر مثبت افزایش دما برافزایش فراوانی گونه‌های بیماری‌زا در صدف‌های *Crassostrea gigas*، *Mytilus galloprovincialis*، *Ruditapes decussatus* و *Ruditapes philippinarum* جمع‌آوری‌شده از آبگیرهای Alfacs و Fangar منطقه کاتولانیای اسپانیا گزارش شد.

نتایج این مطالعه نشان داد تیمار صدف‌های موردمطالعه به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲۲ درجه سلسیوس فراوانی دو باکتری *Vibrio parahaemolyticus* و *Vibrio vulnificus* را به ترتیب حدود ۱/۲ و ۲ (log MPN/g) کاهش داد. با کاهش دما به ۱۵ درجه سلسیوس شیب کاهش تندتر شد که به ترتیب فراوانی باکتری‌ها به حدود ۲/۱ و ۲/۹ (log MPN/g) گزارش شد (Chae *et al.*, 2009). علت این روند وابسته به دمای الگوی تغییرات گونه‌های ویبریو از حداقل از ۲ جنبه قابل‌بررسی می‌باشد. جنبه اول تغییرات ایمونولوژیک، فیزیولوژیک و ژنتیک ارگانیسم میزبان یعنی صدف ناشی از تغییرات دمایی است و جنبه دوم ویژگی‌های فیزیولوژیک، میان‌کنش‌های اکولوژیک و تغییرات بیان ژن‌ها در باکتری‌های ویبریو متأثر از تغییرات دمای آب می‌باشد. مطالعات گسترده‌ای در بررسی جنبه اول موردبحث انجام‌گرفته است. در این مطالعات فاکتورهای ایمنی، شاخص‌های متابولیک، کیفیت تخم‌ریزی، بلوغ جنسی، میزان بقاء، تغییرات وزنی صدف‌ها در دماهای مختلف موردبحث قرارگرفته است. جمع‌بندی مطالعات مختلف نشان می‌دهد ازلحاظ فاکتورهای ایمنی در صدف افزایش دما تأثیر منفی بر مکانیسم‌های ایمنی ازجمله بیگانه‌خواری یا فاگوسیتوز، تعداد هموسیت ها و فعالیت ضد باکتریایی همولنف اعمال نموده و سطح فعالیت این مکانیسم‌ها کاهش‌یافته و درنتیجه امکان تکثیر باکتری‌ها افزایش می‌یابد (Li *et al.*, 2007). از جنبه دوم نیز به‌طور هم‌زمان در این شرایط باکتری‌های بیماری‌زا که عمدتاً به دلیل بهره‌برداری از مکانیسم‌های رقابتی ازجمله طرد رقابتی (Knipe *et al.*, 2021)، کوئروم سنسینگ (Defoirdt, 2019)، توانمندی‌های کاتابولیک بهتر درنتیجه تنوع آنزیمی، دارا بودن عوامل بیماری‌زایی از قبیل توکسین‌ها و مکانیسم‌های مقاومتی به عوامل ضد میکروبی درنتیجه دارا بودن پلاسمیدها و عوامل ژنتیکی خارج کروموزومی نسبت به عموم باکتری‌ها دارای مزیت رقابتی می‌باشند، امکان بروز و بیماری‌زایی بیشتری خواهند داشت (Kane and Dorman, 2021). برای نمونه در یک مطالعه مشخص شد پاسخ کموستاتیک سویه بیماری‌زای *V. anguillarum* نسبت به اسیدآمینه سرین در دمای ۲۵ درجه سلسیوس در مقایسه با دمای ۵ تا ۱۵ درجه سلسیوس به‌طور معناداری بالاتر بود. این افزایش دما باعث جذب بیشتر اسیدآمینه سرین توسط باکتری و درنتیجه تسریع فرآیند تکثیر این باکتری در دمای ۲۵ درجه سلسیوس است (Larsen *et al.*, 2004). در این زمینه Travers و همکاران (۲۰۰۹) گزارش نمودند که افزایش تنها یک درجه سلسیوس

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2026-04-25]

JOMB
مجله زیست شناسی دریا
دوره ۱۶، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۳، صفحات: ۳۰-۴۵
https://jmb.ahvaz.iau.ir

دمای کشور فرانسه در طی ۱۰-۱۵ سال اخیر موجب تغییر در سیستم ایمنی، بلوغ جنسی و افزایش مرگ‌ومیر ناشی از باکتری *Vibrio harveyi* در آبالون (*Haliotis tuberculata*) شده است.

استفاده از روش‌های شناسایی ژنتیکی در تعیین قطعی هویت باکتری‌های ویبریو نقش تعیین‌کننده در اعتبار الگوی تنوع‌گونه‌ای ترسیم‌شده ایفا می‌نماید. در مطالعه حاضر پس از شناسایی ویژگی‌های فنوتیپی باکتری‌های ویبریو شامل خصوصیات مورفولوژیک، بیوشیمیایی و فیزیولوژیک از روش ژنتیکی بر اساس توالی‌های ژن 16S rRNA برای شناسایی سویه‌های متعلق به گونه‌های شاخص استفاده شد. دلیل این انتخاب پیشینه مطالعات در این زمینه بود که بیانگر حضور بسیاری از سویه‌های بیماری‌زای ویبریو در میان گونه‌های حاضر بود. با توجه به استفاده از توالی تکاملی و حفاظت‌شده ژن 16S rRNA که به‌عنوان یک ساعت تکاملی در شناسایی باکتری‌ها به‌طور گسترده استفاده می‌شود می‌توان نتایج به‌دست‌آمده را با قطعیت بالایی پذیرفت. نتایج آنالیز تطابق توالی ژن 16S rRNA جدایه‌های ویبریو با نزدیک‌ترین سویه‌های شاخص ثبت‌شده در بانک ژن NCBI نشان داد توالی ژن 16S rRNA سویه PM 1، PM 3، PM 5، PM 10 و PM 19 به ترتیب به میزان ۱۰۰،۱۰۰، ۹۹/۹۲، ۹۹/۹۱ و ۱۰۰ درصد با سویه‌های *V. anguillarum* strain NBRC 13266، *V. parahaemolyticus* strain ATCC 17802، *V. harveyi* strain NBRC 15634، *Vibrio harveyi* strain NCIMB1280 و *Vibrio alginolyticus* strain ATCC 17749 تشابه داشتند. حضور گونه‌های شناسایی‌شده در پژوهش حاضر در سایر مطالعات انجام‌شده روی میکرو فلور صدف نیز گزارش‌شده است.

رسم درخت فیلوژنتیک نشان داد سویه‌های جداشده در این مطالعه در یک کلاستر قرارگرفته و منشأ منوفیلتیک یکسان دارند، درنتیجه جهش‌های زیادی را متحمل نشده‌اند. این در حالی است که سویه آنگولاریوم با اختلاف ژنتیکی بالاتری نسبت به سه گونه‌ی موردبررسی خود را نشان دهد و داده و اختلاف ژنتیکی بسیار بالاتری نسبت به سه گونه موردبررسی خود را نشان داد. فواصل ژنتیکی بین سویه‌های مختلف موجود در درخت فیلوژنتیک حاضر به دلیل وجود جهش در ژن 16S rRNA می‌باشد. تغییرپذیری و انعطاف در میان ژنوم گونه‌های ویبریو می‌تواند به دلیل پدیده انتقال افقی ژن‌ها باشد. این پدیده با ایجاد تنوع در جمعیت ویبریوها باعث سازش آن‌ها با تغییرات اقلیمی محیط و ایجاد روابط اکولوژیک گسترده می‌گردد (Lipp *et al.*, 2002).

تغییرات فعالیت آنتی‌اکسیدانی بافت نرم نمونه‌های صدف محار طی دوره پرورش ۵ ماهه روند کاهشی فعالیت هر دو آنزیم سوپراکسیددیسموتاز (SOD) و کاتالاز را نشان داد، به‌طوری‌که طی ماه‌های نمونه‌برداری بیشترین فعالیت آنزیم SOD در ماه شهریور به میزان ۶۸/۹۵ درصد و کمترین میزان فعالیت این آنزیم در ماه دی به میزان ۲۹/۷۰ درصد ثبت گردید. این روند برای آنزیم کاتالاز ۵۲/۷۷ nmol\min\ml در ماه شهریور و ۱۵/۷۹ nmol\min\ml در ماه دی گزارش شد. رابطه مستقیم فعالیت آنتی‌اکسیدانی بافت‌های مختلف صدف محار با دمای آب در سایر مطالعات نیز گزارش‌شده است. در یک مطالعه فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز نشان داد افزایش دما از ۱۰ به ۳۰ درجه سلسیوس منجر به افزایش معنادار بیان ژن‌های کاتالاز و سوپراکسیددیسموتاز در غزه گوارشی و آبشش صدف شد (An *et al.*, 2010). در مطالعه دیگری De Zoysa و همکاران (۲۰۰۹) رابطه مستقیم دما و بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی آبالون صفحه‌ای (*Haliotis discus discus*) را گزارش نمودند. نتایج این مطالعه نشان داد بیان ژن‌های آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از قبیل کاتالاز به‌طور معناداری در صدف‌های نگهداری شده در دمای ۲۸ درجه سلسیوس افزایش داشت. این در حالی بود که بیان ژن‌های مربوط به آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز کاهش معنی‌داری را نسبت به تیمار شاهد نشان داد.

نتایج مطالعه حاضر بیانگر نقش تعیین‌کننده دمای آب بر شاخص‌های متنوع و حیاتی در پرورش صدف محار شامل تعداد باکتری‌های ویبریو، الگوی تغییرات تنوع زیستی گونه‌های ویبریو و روند تغییرات فعالیت آنتی‌اکسیدانی در بافت نرم صدف بود. نتایج این مطالعه نشان داد صدف‌های محار موردبررسی در شهریورماه با بیشترین میزان دمای آب دارای بیشترین میزان باکتری ویبریو بوده و الگوی تنوع زیستی غالبیت گونه‌های بیماری‌زای فرصت‌طلب را تأیید نمود. همچنین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در بافت نرم صدف‌های موردبررسی در شهریور بیشترین میزان ثبت شد. درمجموع این نتایج بر اثرات نامطلوب افزایش دمای آب بر سلامت و فیزیولوژی صدف‌های محار تأکید می‌نماید. ازاین‌رو می‌توان افزایش

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2026-04-25]

JOMB
مجله زیست شناسی دریا
دوره ۱۶، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۳، صفحات: ۳۰-۴۵
https://jmb.ahvaz.iau.ir

دمای آب ناشی از پدیده گرمایش جهانی را به‌عنوان یک تهدید برای جمعیت‌های صدف محار در منطقه موردبررسی در خلیج‌فارس ارزیابی نمود. این پدیده می‌تواند با ارتقاء نسبت باکتری‌های بیماری‌زا در میکروبیوتای صدف همزمان با افزایش تغییرات اکسیداتیو در این ارگانیسم تأثیرات نامطلوب خود را اعمال نماید. می‌توان افزایش دمای آب ناشی از پدیده گرمایش جهانی را به‌عنوان یک تهدید برای جمعیت‌های صدف محار در منطقه موردبررسی در خلیج‌فارس ارزیابی نمود. این پدیده می‌تواند با ارتقاء نسبت باکتری‌های بیماری‌زا در میکروبیوتای صدف همزمان با افزایش تغییرات اکسیداتیو در این ارگانیسم تأثیرات نامطلوب خود را اعمال نماید.

References

۱. **شاهمرادی، م.، متقی، م.، رامشی، ر. و تدین، م.، ۲۰۱۸.** جداسازی و شناسایی باکتری‌های *Vibrio* موجود در صدف مرواریدساز لب‌سیاه و بررسی حساسیت و مقاومت آنتی‌بیوتیک‌ها نسبت به آن در غرب خلیج فارس. فیزیولوژی و بیوتکنولوژی آبزیان.۶ (۳) : صفحات ۱۶-۱.

2. **Almeida, I.F., Fernandes, E., Lima, J.L., Costa, P.C. and Bahia, M.F., 2008.** Walnut (Juglans regia) leaf extracts are strong scavengers of pro-oxidant reactive species. Food Chemistry, 106(3), pp.1014-1020.
3. **An, M. I. and Choi, C. Y., 2010.** Activity of antioxidant enzymes and physiological responses in ark shell, *Scapharca broughtonii*, exposed to thermal and osmotic stress: Effects on hemolymph and biochemical parameters. Comparative Biochemistry and Physiology. - B Biochemical Molecular Biology, 155: 34–42.
4. **Asadollahi, M., Sakhaei, N., Dost Shenas, B., Ghaemi, K. and Archangi, B., 2018.** Antioxidant properties of oyster handle Solen dactylus by DDPH method, reducing power and total antioxidant capacity. Aquatic Ecology, 9(1): 50-57.
5. **Bayani, N., 2016.** Ecology and environmental challenges of the Persian Gulf. Iranian Studies, 49(6):1047-1063.
6. **Brenner, D. J., Krieg, N. R. and Staley, J. T., 2005.** Bergey's manualof systematic bacteriology: Volume two the proteobacteria part C the alpha, beta, delta, and Epsilonproteo bacteria. Springer.
7. **Chae, M. J., Cheney, D. and Su, Y. C., 2009.** Temperature effects on the depuration of vibrio parahaemolyticus and vibrio vulnificus from the American oyster (*Crassostrea virginica*). Journal of Food Science, 74: 62–66.
8. **Chen, J. N., Huang, X. H., Zheng, J., Sun, Y. H., Dong, X. P., Zhou, D. Y., Zhu, B. W. and Qin, L., 2021.** Comprehensive metabolomic and lipidomic profiling of the seasonal variation of blue mussels (*Mytilus edulis* L.): Free amino acids, 5′-nucleotides, and lipids. LWT - Food Science and Technology, 149:111835.
9. **Dang, V. T., Speck, P. and Benkendorff, K., 2012.** Influence of elevated temperatures on the immune response of abalone, *Haliotis rubra*. Fish and Shellfish Immunology, 32: 732–740.
10. **Defoirdt, T., 2019.** Amino acid–derived quorum sensing molecules controlling the virulence of vibrios (and beyond). PLoS pathogens,15: e1007815.
11. **De Zoysa, M., Whang, I., Lee, Y., Lee, S., Lee, J. S. and Lee, J., 2009**. Transcriptional analysis of antioxidant and immune defense genes in disk abalone (*Haliotis discus discus*) during thermal, low-salinity and hypoxic stress. Comparative Biochemistry and Physiology- B Biochemical Molecular Biology, 154: 387–395.

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2026-04-25]

12. **Delisle, L., Petton, B., Burguin, J. F., Morga, B., Corporeau, C. and Pernet, F., 2018.** Temperature modulate disease susceptibility of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* and virulence of the Ostreid herpesvirus type 1. Fish and Shellfish Immunology, 80: 71–79.
13. **Ebrahimi, M., Owfi, F., Dehghan, S., et al. 2014.** Hydrology and hydrobiological study of the Iranian waters in the Oman Sea.
14. **Froelich, B.A. and Noble, R.T., 2016.** Vibrio bacteria in raw oysters: Managing risks to human health. Philos. Trans. Royal Society Biological Sciences, 371: 1–6.
15. **Gao, J. X., Zhang, Y. M., Huang, X. H., Liu, R., Dong, X. P., Zhu, B. W. and Qin, L., 2021.** Comparison of amino acid, 5′-nucleotide and lipid metabolism of oysters (*Crassostrea gigas* Thunberg) captured in different seasons. Food Research International, 147: 110560.
16. **Hsiao, H. I., Jan, M. S. and Chi, H. J., 2016.** Impacts of climatic variability on *Vibrio parahaemolyticus* outbreaks in Taiwan. International journal of Environmental Research and Public Health, 13: 188.
17. **Khafaeizadeh, K., Sakhaei, N., Doustshenas, B., Ghanemi, K. and Zolgharnein, H., 2016.** Evaluation of antioxidant activity of the purified peptides from hydrolysis of rotifer (*Brachionus plicatilis*). Iranian Journal of Fisheries Sciences, 25(2): 69-78.
18. **Kane, L. and Dorman, M. J., 2021.** Getting ahead of the competition. Nature Reviews Microbiology, 19(9):551.
19. **Khatir, Z., Leitão, A. and Lyons, B. P., 2020.** The biological effects of chemical contaminants in the Arabian/Persian Gulf: A review Regional Studies in Marine Science, 33:100930.
20. **Knipe, H., Temperton, B., Lange, A., et al. 2021.** Probiotics and competitive exclusion of pathogens in shrimp aquaculture. Reviews in Aquaculture, 13: 324-352.
21. **Kumar, S., Stecher, G. and Li, M., 2018.** MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. Molecular Biology and Evolution, 35: 1547-1549.
22. **Larsen, M. H., Blackburn, N., Larsen, J. L, et al. 2004.** Influences of temperature, salinity and starvation on the motility and chemotactic response of *Vibrio anguillarum*. Microbiology, 150: 1283-1290.
23. **Larsen, A. M., Rikard, F. S., Walton, W. C. and Arias, C. R., 2015.** Temperature effect on high salinity depuration of *Vibrio vulnificus* and *V. parahaemolyticus* from the Eastern oyster (*Crassostrea virginica*). International Journal of Food Microbiology, 192: 66–71.
24. **Li, Y., Qin, J. G., Abbott, C. A., Li, X. and Benkendorff, K., 2007.** Synergistic impacts of heat shock and spawning on the physiology and immune health of *Crassostrea gigas*: an explanation for summer mortality in Pacific oysters. American Journal of Physiology-Regulatory, 293: R2353–R2362.
25. **Lipp E. K., Huq, A. and Colwell, R. R., 2002.** Effects of global climate on infectious disease: the cholera model. Clinical Microbiology Reviews, 15(4): 757-770.
26. **Lokmer, A. and Mathias Wegner, K., 2015.** Hemolymph microbiome of Pacific oysters in response to temperature, temperature stress and infection. ISME Journal, 9: 670–682. https://doi.org/10.1038/ismej.2014.160

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2026-04-25]

27. **Lopez-Joven, C., de Blas, I., Dolores Furones, M. and Roque, A., 2015.** Prevalences of pathogenic and non-pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* in mollusks from the Spanish Mediterranean Coast. Frontiers in Microbiology, 6: 1–10.
28. **Lopez-Joven, C., de Blas, I. and Roque, A., 2018.** Temperature effects on the growth and survival of tdh positive *Vibrio parahaemolyticus* in tissues of postharvest Manila clam (*Ruditapes philippinarum*). Food Microbiology, 75: 61–64.
29. **Noori, R., Tian, F., Berndtsson, R., et al. 2019.** Recent and future trends in sea surface temperature across the Persian Gulf and Gulf of Oman. PLoS One, 14:e0212790.
30. **Pachaiyappan, A., Muthuvel, A., Sadhasivam, G., Sankar, V. J. V., Sridhar, N. and Kumar, M., 2014.** In vitro antioxidant activity of different gastropods, bivalves and echinoderm by solvent extraction method. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research,* 5(6): 2539-2545.
31. **Qin, Y. P., Li, X. Y., Li, J., Zhou, Y.Y., Xiang, Z. M., Ma, H. T., Noor, Z., Mo, R., Zhang, Y. H. and Yu, Z. N., 2021.** Seasonal variations in biochemical composition and nutritional quality of *Crassostrea hongkongensis*, in relation to the gametogenic cycle. Food Chemistry, 365: 129736.
32. **Shalders, T.C., Champion, C. and Coleman, M.A., 2022.** Benkendorff, K. The nutritional and sensory quality of seafood in a changing climate. Marine Environmental Research,176:105590.
33. **Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A., Kumar, S., others, 2013.** Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular Biology* and *Evolution,* 30: 2725–2729.
34. **Travers, M. A. S., Basuyaux, O., Le Goïc, N., Huchette, S., Nicolas, J. L., Koken, M. and Paillard, C., 2009.** Influence of temperature and spawning effort on *Haliotis tuberculata* mortalities caused by *Vibrio harveyi*: An example of emerging vibriosis linked to global warming. Global *Change Biology*, 15: 1365–1376.
35. **Xu, Q., Hao, J., Gao, F. and Yang, H., 2019.** Effect of temperature and thermal stress on the hemodynamics of the scallop *Chlamys farreri*, as indicated by Doppler ultrasonography. *Journal* of *Experimental* Marine *Biology* and *Ecology,* 510: 1–9.

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2026-04-25]