ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی سیانوباکتری‌های جداسازی شده از جنگل مانگرو خور خوران

چکیده

سیانوباکتری‌های ساکن در اکوسیستم مانگرو به دلیل میانکنش های فیزیولوژیک با سایر جوامع زیستی ساکن در این زیستگاه اختصاصات ویژه‌ای یافته‌اند. ازاین‌رو هدف از مطالعه حاضر جداسازی و ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی سیانوباکتری‌ها موجود در اکوسیستم مانگرو خور خوران بود. بدین منظور ۹ نمونه آب دریا از ۳ ایستگاه مختلف نمونه‌برداری شد. جداسازی سیانوباکتری‌ها با استفاده از تلقیح نمونه‌های آب روی محیط کشت BG11 agar انجام شد. شناسایی جدایه‌ها بر اساس خصوصیات مورفولوژیک با استفاده از کلید روش Desikachary انجام شد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی جدایه‌ها با استفاده از روش مهار رادیکال‌های آزاد دی فنیل ۱- پیکریل هیدرازیل (DPPH) سنجش شد. در کل ۵۲ جدایه سیانوباکتری پس از کشت نمونه‌ها جداسازی گردید. شناسایی جدایه‌ها نشان داد جنس‌های *Phormidium* و *Oscillatoria* با به ترتیب ۴۵ و ۲۹ درصد جنس‌های غالب بودند. پس‌ازآن جدایه های متعلق به جنس‌های *Anabaena*، *Microcystis*، *Nostoc* و *Spirulina* با به ترتیب ۱۰، ۸، ۶ و ۲ درصد جدایه‌ها را تشکیل دادند. ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی متابولیت‌های استخراج‌شده از جدایه‌های سیانوباکتری نشان داد ۱۲ جدایه معادل ۲۳/۵۳ درصد کل جدایه‌ها مولد ترکیبات آنتی‌اکسیدان بودند. در این میان ۸ جدایه متعلق به جنس *Phormidium* بودند. میزان IC_{50} فعالیت آنتی‌اکسیدانی متابولیت‌های استخراج‌شده از ۴۶/۱ تا ۶۷۵/۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر متغیر بود. نتایج این مطالعه الگوی تنوع زیستی سیانوباکتری‌ها در اکوسیستم موردمطالعه در بازه نمونه‌برداری نشان داد. همچنین ۱۲ جدایه سیانوباکتری مولد متابولیت‌های آنتی‌اکسیدان به‌ویژه جدایه KH 15 را جهت مطالعات تکمیلی معرفی نمود.

واژگان کلیدی: آنتی‌اکسیدان‌های میکروبی، سیانوباکتری‌های دریایی، اکوسیستم مانگرو، خور خوران.

احمد زاهری[1*]
محسن گذری[2]
نحله نصیری[3]
سعید تمدنی جهرمی[4]

۱. استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران.
۲. استادیار، پژوهشکده اکولوژی خلیج‌فارس و دریای عمان، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بندرعباس، ایران.
۳. دانش‌آموخته دکتری تخصصی، گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران.
۴. دانشیار، پژوهشکده اکولوژی خلیج‌فارس و دریای عمان، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بندرعباس، ایران.

***مسئول مکاتبات:**
zaheri@pnu.ac.ir

کد مقاله: ۱۴۰۱۰۳۰۹۷۴
تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۱/۱۷
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۲/۲۲
این مقاله پژوهشی و برگرفته از طرح پژوهشی است.

مقدمه

جنگل‌های مانگرو در مناطق ساحلی نواحی گرمسیری و نیمه گرمسیری سراسر دنیا یافت شده و دربرگیرنده جوامع پیچیده‌ای از موجودات زنده می‌باشند (Cheriyan *et al.*, 2022). ازجمله جوامع تشکیل‌دهنده جنگل‌های مانگرو که نقش تعیین‌کننده‌ای در چرخه‌ها و میانکنش‌های موجود ایفا می‌نمایند میکروارگانیسم‌ها می‌باشند (Palit *et al.*, 2022). سیانوباکتری‌ها به‌عنوان باکتری‌های فتواتوتروف اکسیژنی دارای انعطاف اکولوژیکی بالایی بوده و در طیف گسترده‌ای از شرایط محیطی رشد می‌نمایند. این باکتری‌ها ازلحاظ مورفولوژیک متنوع بوده و به‌صورت انفرادی، کلونی و رشته‌ای مشاهده می‌شوند (Nienaber and Steinitz-Kannan, 2018).

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-07-08]

سیانوباکتری‌ها به دلیل وابستگی به انرژی خورشید مکانیسم‌های محافظتی اختصاصی را در ساختار خود توسعه داده‌اند. نازک شدن لایه اوزون و درنتیجه ورود شدیدتر پرتو فرابنفش به‌عنوان یک تهدید جدی از دلایل این سازش‌های فیزیولوژیک است. راهبرد اصلی این فرایندهای محافظتی کاهش یا حذف گونه‌های فعال اکسیژن پیش از واکنش با مولکول‌های زیستی و پیشگیری از ایجاد استرس اکسیداتیو می‌باشد (Rastogi and Incharoensakdi, 2014). استرس اکسیداتیو حالتی از عدم تعادل است که در آن مقدار گونه‌های فعال اکسیژن تولیدشده از مقدار مولکول‌های آنتی‌اکسیدانی تولیدشده بیشتر است (Latifi *et al.*, 2009). این‌گونه های فعال اکسیژن باعث آسیب اکسیداتیو به لیپیدها، پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و همچنین تغییر متابولیسم سلولی می‌شود. ازاین‌رو تولید متابولیت‌های آنتی‌اکسیدان در قالب این راهبرد محافظتی در سیانوباکتری‌ها توسعه‌یافته است.

سیانوباکتری‌های دریایی به‌عنوان بخش غالب سیانوباکتری‌های موجود در کره زمین، متابولیت‌های متنوعی با ماهیت‌های شیمیایی مختلف ازجمله رنگ‌دانه‌ها، اسیدهای چرب، پروتئین‌ها، ویتامین‌ها و متابولیت‌های اولیه و ثانویه تولید می‌کنند (Chauhan *et al.*, 2021). متابولیت‌های ثانویه استخراج‌شده از سیانوباکتری‌های دریایی به‌عنوان منبع غنی از ترکیبات زیست فعال از قبیل داروهای ضد سرطان، ضدالتهاب و همین‌طور آنتی‌اکسیدان موردتوجه می‌باشند. سیانوباکتری‌های دریایی توانمندی بیوسنتزی بالایی در تولید ترکیبات آنتی‌اکسیدانت دارند (Boden *et al.*, 2021). ترکیبات آنتی‌اکسیدان طبیعی به‌وفور در متابولیت‌های تولیدشده توسط میکروارگانیسم‌ها شناسایی‌شده‌اند. لیکن بیوسنتز این ترکیبات که دارای توانایی مهار گونه‌های فعال اکسیژن می‌باشند به‌خوبی در طی تکامل در سیانوباکتری‌ها توسعه‌یافته است (Rezayian *et al.*, 2019). سطح تحمل به پرتو فرابنفش در میان گونه‌های مختلف سیانوباکتری متفاوت است و از استراتژی‌های مختلفی برای بقاء در زیستگاه‌هایی با شار بالای پرتو فرابنفش استفاده می‌کنند (Pathak *et al.*, 2019). این مکانیسم‌های دفاعی برای سرکوب کردن گونه‌های فعال اکسیژن یا اکسیداسیون نوری حیاتی هستند (Kageyama and Waditee-Sirisattha, 2019).

اهمیت تولید ترکیبات آنتی‌اکسیدان از سیانوباکتری‌های دریایی در زیست‌فناوری و اکتشاف فراورده‌های طبیعی به‌خوبی شناسایی‌شده است (Hatha and Sumayya, 2023). ترکیبات آنتی‌اکسیدان غیر آنزیمی با وزن مولکولی کم تولیدشده توسط سیانوباکتری‌ها در لوازم‌آرایشی و دارو کاربرد دارند (Li *et al.*, 2007). موارد متعددی از کاربرد متابولیت‌های استخراج‌شده از سیانوباکتری‌ها به‌عنوان مکمل‌های غذایی نیز وجود دارد (Assunção *et al.*, 2021). ایمنی و اثربخشی این ترکیبات آن‌ها را به رقبای خوبی برای آنتی‌اکسیدان‌های سنتز شده تجاری تبدیل نموده است (Saad *et al.*, 2022). به دلیل نگرانی از سمیت آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی پرمصرف از قبیل هیدرو کسی آنیزول بوتیله (BHA) و هیدرو کسی تولوئن بوتیله (BHT) (Cushen *et al.*, 2012) نیازمندی ضروری به بازدارنده‌های طبیعی فرآیند اکسیداسیون بدون عوارض جانبی وجود دارد (Singh *et al.*, 2020). ترکیبات آنتی‌اکسیدان استخراج‌شده از سیانوباکتری‌ها با مهار رادیکال‌های آزاد از پر اکسیداسیون چربی‌ها و همچنین آسیب به DNA پیشگیری می‌کند. (Han *et al.*, 2021).

به دلیل اهمیت اکوسیستم‌های مانگرو از جنبه‌های مختلف به‌ویژه ازنظر میزبانی جوامع تجاری آبزیان مانند میگو (به‌ویژه در مرحله لاروی)، اخیراً مطالعات گسترده‌ای باهدف پایش گونه‌های توکسیژنیک سیانوباکتری‌ها در کشورهای مختلف از قبیل برزیل، هند و چین صورت گرفته است. تمرکز این مطالعات بر تغییرات الگوی تنوع زیستی سیانوباکتری‌ها بوده است (Benny *et al.*, 2021a؛ Genuário *et al.*, 2019؛ Inyang and Wang, 2020). لیکن مطالعه پتانسیل کاربردهای بیوتکنولوژیک سیانوباکتری‌های ساکن در جنگل‌های مانگرو همچنان بکر و بررسی نشده باقیمانده است. در داخل کشور نیز جنگل مانگرو خور خوران به‌عنوان ذخیره‌گاه زیست کره زمین به ثبت جهانی رسیده و مهم‌ترین و بزرگ‌ترین اکوسیستم مانگرو در خلیج‌فارس می‌باشد. این اکوسیستم منحصربه‌فرد نقش مهمی در تکثیر گونه‌های میگو در بخش شمال شرقی خلیج‌فارس به‌عنوان یک هچری طبیعی ایفا می‌نماید (Zaheri *et al.*, 2021). در این زمینه مطالعات معدودی در راستای جداسازی و پایش سیانوباکتری‌های توکسیژنیک توسط تیم تحقیقاتی مطالعه حاضر در تابستان ۱۳۹۷ (Zaheri *et al.*, 2020) و بهار ۱۳۹۸ (Zaheri *et al.*,

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-07-08]

2021) در این اکوسیستم انجام‌شده است. لیکن نوآوری این مطالعه ارزیابی پتانسیل متابولیت‌های سیانوباکتریایی با فعالیت آنتی‌اکسیدانی با جداسازی آن‌ها از ایستگاه‌های جدید طی بازه زمانی متفاوت می‌باشد. ازاین‌رو هدف از پژوهش حاضر ارزیابی تنوع زیستی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی سیانوباکتری‌های جداسازی شده از اکوسیستم مانگرو خور خوران به‌عنوان منبعی بالقوه برای فراورده‌های آنتی‌اکسیدان بود.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه از نمونه‌های آب پیرامون گیاهان حرا در بهمن ۱۴۰۰ نمونه‌برداری گردید. بدین منظور ۳ ایستگاه نمونه‌برداری انتخاب شد و از هر ایستگاه نمونه آب با سه تکرار جمع‌آوری گردید. مختصات جغرافیایی هر ایستگاه ثبت شد (جدول ۱). نمونه‌های آب در بطری‌های شیشه‌ای قهوه‌ای استریل جمع‌آوری شد. حداقل ۲۵۰ میلی‌لیتر نمونه آب از عمق ۲۰ سانتی‌متری جمع‌آوری شد. نمونه‌های جمع‌آوری‌شده در دمای ۲۰-۲۵ درجه سلسیوس تا رسیدن به آزمایشگاه نگهداری شدند (Li and Liu, 2018).

جدول ۱: مختصات و عمق ایستگاه‌های نمونه‌برداری جنگل حرا در خور خوان (سال ۱۴۰۰).

ایستگاه	عمق (متر)	عرض جغرافیایی			طول جغرافیایی		
		درجه	دقیقه	ثانیه	درجه	دقیقه	ثانیه
St 1	۲	۲۶	۹۸	۰۶	۵۵	۶۴	۲۸
St 2	۴	۲۶	۹۴	۰۲	۵۵	۵۹	۳۸
St 3	۶/۵	۲۶	۹۳	۱۴	۵۵	۵۸	۱۱

جداسازی سیانوباکتری‌ها با استفاده از کشت نمونه روی محیط کشت BG11 agar صورت پذیرفت. محیط کشت BG11 agar بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده ساخته شد. به‌منظور افزایش کارایی جداسازی با به حداقل رساندن تأثیر منفی باکتری‌های سریع الرشد رقیق‌سازی نمونه‌ها با استفاده از روش تهیه رقت‌های متوالی تا غلظت 10^{-4} انجام شد. از سوی دیگر فیلتراسیون نمونه آب با استفاده از صافی‌های استات سلولزی شرکت Millipore انجام شد. پس از آماده‌سازی نمونه‌ها از هر رقت و نمونه اصلی ۲۰۰ میکرو لیتر به هر پتری دیش تلقیح گردید و با استفاده از روش پخش کردن در سطح محیط کشت تلقیح شد. در مورد نمونه فیلتر شده پس از انجام فیلتراسیون در شرایط سترون، فیلتر میلی پور در سطح محیط کشت قرار داده شد. محیط‌های کشت تلقیح شده در دمای ۲۸ درجه سلسیوس درون انکوباتور یخچال دار تجهیز شده با لامپ فلورسنت با شدت نور ۲۰۰۰ لوکس گرما گذاری گردید. نوردهی به‌صورت متناوب ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی تنظیم گردید. جدایه‌های به‌دست‌آمده با استفاده از تکنیک کشت متوالی بر اساس مشاهدات میکروسکوپی خالص‌سازی گردید (Meriluoto *et al.*, 2017).

شناسایی سیانوباکتری‌های جداشده پس از کشت بر اساس ویژگی‌های مورفولوژیک انجام شد و تاکسونومی بر اساس مورفوتایپ بر پایه روش Desikachary و همکاران صورت گرفت (Meriluoto *et al.*, 2017). برای مطالعه مورفولوژی ریسه‌ها و سلول‌ها از یک میکروسکوپ نوری دوربین‌دار شرکت نیکون استفاده شد. در بررسی‌های ریخت‌شناسی و بیومتری، شکل رنگ کلنی‌ها و آن‌ها، ابعاد سلول‌های رویشی و سلول‌های تخصصی مانند هتروسیست‌ها و شکل آن‌ها، شکل سلول انتهایی و وجود یا عدم وجود غلاف موردبررسی قرار گرفت (Gugger and Hoffmann, 2004). درنهایت الگوی تنوع زیستی سیانوباکتری‌ها در منطقه نمونه‌برداری تعیین شد.

در این مرحله سویه‌های سیانوباکتری به‌صورت انبوه در محیط کشت BG11 Broth تلقیح شدند و در دمای ۲۸ درجه سلسیوس درون انکوباتور یخچال دار تجهیز شده با لامپ فلورسنت با شدت نور ۲۰۰۰ لوکس گرما گذاری گردید. نوردهی به‌صورت متناوب ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-07-08]

تاریکی تنظیم گردید. پس از اتمام دوره انکوباسیون به مدت ۵ روز بیومس هر سویه به‌وسیله فیلتراسیون جمع‌آوری شد. به دنبال آن استخراج متابولیت‌ها با استفاده از متانول انجام شد. متابولیت‌های استخراج‌شده پس از خشک شدن با دستگاه تبخیرکننده در خلاء برای آزمون‌های بعدی نگهداری شد (Zare *et al.*, 2015).

فعالیت آنتی‌اکسیدانی متابولیت‌های استخراج‌شده از جدایه‌های سیانوباکتری در غلظت‌های نهایی ۶۲۵ ,۳۱۲، ۱۵۶، ۷۸، ۳۹، ۱۹ میکروگرم بر میلی‌لیتربا استفاده از روش سنجش مهار رادیکال‌های آزاد DPPH به‌صورت مایکرودایلوشن مورد غربالگری قرار گرفت. از آسکوربیک اسید به‌عنوان استاندارد و متانول به‌عنوان کنترل منفی استفاده شد. همچنین از عصاره اتیل استاتی محیط کشت BG11Broth به‌عنوان شاهد استفاده گردید. مقدار µl ۵ از غلظت اولیه هر متابولیت یا نمونه‌های کنترل به ۱۹۵µl محلول DPPH (۱۰۰ µM) در هر چاهک افزوده شد. پس از ۳۰ دقیقه انکوباسیون در دمای اتاق و تاریکی، جذب نمونه‌ها در ۵۱۷ nm با استفاده از دستگاه Microplate reader (BioTech instrument) سنجش شد. درصد فعالیت مهار رادیکال‌های آزاد DPPH با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد (Leong and Shui, 2002).

درصد فعالیت مهار رادیکال‌های آزاد DPPH = $(I_0) - (I_{sample})/I_0 \times ۱۰۰$

I_0: جذب در چاهک حاوی ۵ µl متانول + ۱۹۵ µl DPPH

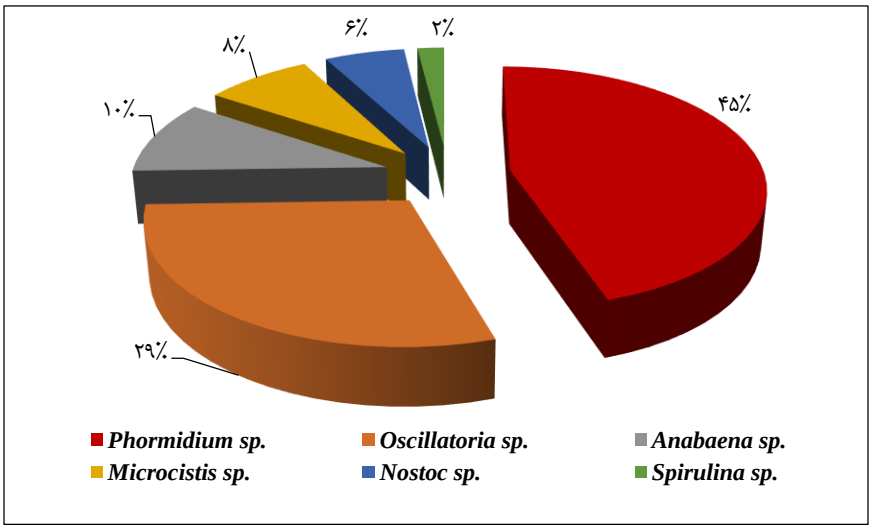
I_{sample}: جذب در چاهک نمونه یا کنترل

تمامی آزمون‌ها با سه بار تکرار انجام گردید. نتایج بررسی الگوی تنوع زیستی به‌صورت درصد فراوانی ارائه گردید. محاسبات آماری با استفاده از نرم‌افزار Microsoft Excel 2013 انجام شد(Microsoft, Seattle, WA) . جهت بررسی معنادار بودن اختلاف میانگین‌ها از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه در سطح $P<۰/۰۵$ با استفاده از نرم‌افزار SPSS 24 انجام شد. نتایج سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی به‌صورت میانگین±خطای استاندارد (SE) ارائه گردید. IC_{50} در سطوح اطمینان ۹۵ درصد به‌وسیله رگرسیون غیرخطی با استفاده از نرم‌افزار (GraphPad Software, Inc.) Graphpad prism 6 محاسبه شد.

نتایج

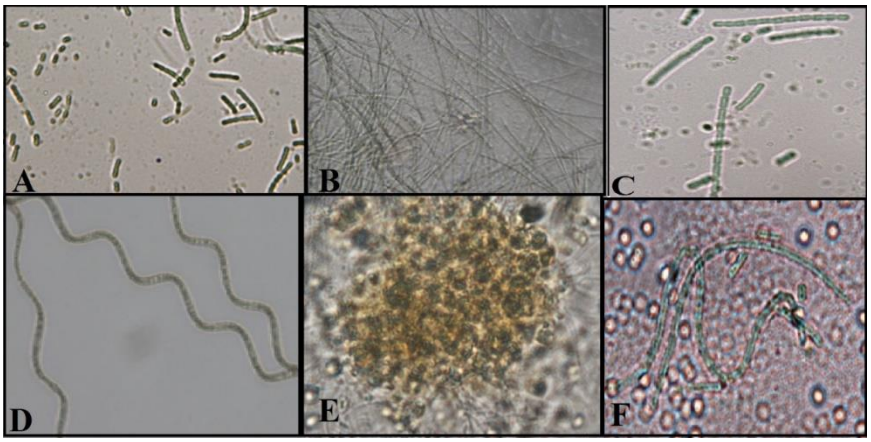
درمجموع ۵۱ جدایه سیانوباکتری از ۹ نمونه آب جمع‌آوری‌شده از ۳ ایستگاه واقع در خور خوران جداسازی شد. نتایج شناسایی مورفولوژیک سیانوباکتری‌های جداسازی شده تا سطح جنس نشان داد در هر سه ایستگاه موردبررسی با اختلاف میانگین معنادار در سطح $P<۰/۰۵$ جنس‌های *Phormidium* و *Oscillatoria* به ترتیب با فراوانی ۴۵ و ۲۹ درصد جنس‌های غالب در ساختار جمعیت سیانوباکتری‌ها بودند (شکل ۱).

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-07-08]



شکل ۱: تنوع زیستی سیانوباکتری‌ها در ایستگاه‌های نمونه‌برداری شده در جنگل حرا در خور خوان (سال ۱۴۰۰).

نتایج شناسایی سیانوباکتری‌های جداشده نشان داد ۲۳ جدایه متعلق به جنس *Phormidium* بود (شکل ۲). این جدایه‌ها دارای رشته‌های انفرادی به‌صورت تک و معمولاً به‌صورت تالوس گسترش یافتند. آرایش این رشته‌ها صاف، نامنظم یا مارپیچ بود. در جدایه‌های موردبررسی رشته‌ها بعضی‌اوقات به‌صورت دسته‌ای و بعضی مواقع به‌صورت خوشه‌ای بودند و به‌ندرت به‌صورت انفرادی مشاهده شدند. رشته‌ها هیچ‌گونه شاخه‌ای نداشتند. کمی پیچ‌وتاب داشتند. تریکوم ها استوانه‌ای شکل بودند. بعضی مواقع در نزدیک به انتها باریک بودند. طول آن‌ها ۵ تا ۱۱ میکرومتر بود. سلول‌ها فاقد آئروتوپ بودند. انتهای سلول‌ها گرد یا باریک بود (شکل 2A).



شکل ۲. تصویر جدایه‌های سیانوباکتری جداسازی شده در جنگل حرا در خور خوان (سال ۱۴۰۰).

A . جدایه *Phormidium* .B *Oscillatoria* .C *Anabaena* .D *Spirulina* .E *Microcystis* .F *Nostoc*

نتایج شناسایی مورفولوژیک نشان داد در میان جدایه‌های سیانوباکتری ۱۵ جدایه معادل ۲۹ درصد متعلق به جنس *Oscillatoria* بودند (شکل ۲). این جدایه‌ها دارای تریکوم های صاف و کمی موج‌دار بودند. در مواردی در نواحی نزدیک به انتها کمی پیچ مشاهده شد و به‌صورت استوانه‌ای و قطبی بودند. بین ۶ تا ۸ میکرومتر عرض و تا ۷۰ میکرومتر طول داشتند. تریکوم ها به‌طورمعمول بدون غلاف بودند. محتوای سلول همگن و

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-07-08]

دارای گرانول‌های بزرگ و فاقد آئروتوپ می‌باشد. تالوس معمولاً مسطح، ماکروسکوپی، صاف، لایه بندی شده، به‌ندرت چرمی مشاهده شد (شکل ۲B).

نتایج نشان داد در میان جدایه‌های سیانوباکتری ۵ جدایه معادل ۱۰ درصد متعلق به جنس *Anabaena* بودند (شکل ۲). نتایج شناسایی مورفولوژیک این جدایه‌ها نشان داد فیلامنت‌ها انفرادی یا به‌صورت خوشه مانند مشاهده شدند. غشا به‌صورت موسیلاژی بی رنگ بود. تریکوم ها داری پیچش‌های نامنظم بود. گاهی کم‌وبیش مستقیم، ایزوپولار و در برخی موارد حاوی گرانول بودند. آئروتوپ در نمونه‌ها مشاهده نشد. تریکوم ها به‌صورت متامریک بود. هتروسیست‌ها به‌صورت انفرادی و به‌صورت اشکال کروی، بیضوی و استوانه‌ای مشاهده شدند و به‌ندرت به بیش از ۹ عدد در هر فیلامنت رسید (شکل ۲C).

بررسی مورفولوژی میکروسکوپی جدایه نشان داد ۱ جدایه معادل ۲ درصد کل جدایه‌ها به جنس *Spirulina* تعلق داشت (شکل ۲). جدایه‌های *Spirulina* دارای پیچ‌های متصل به یکدیگر، تریکوم های استوانه‌ای و پیچ‌خورده با عرض ۳/۳ تا ۵/۵ میکرومتر و با طول متغیر بودند. تریکوم ها به‌صورت انفرادی مشاهده شدند. رنگ تریکوم ها سبز بود. پیچ‌ها به‌صورت های فشرده مشاهده شدند. غلاف‌ها به‌صورت پوشش‌های موسیلاژی مشاهده شدند و دیواره‌های عرضی سلول‌ها بندرت قابل‌مشاهده بودند. محتوای سلول‌ها به‌صورت یکدست و بدون آیروتوپ بود (شکل ۲D).

این نتایج نشان داد در میان جدایه‌های سیانوباکتری ۴ جدایه معادل ۸ درصد متعلق به جنس *Microcystis* بودند (شکل ۲). جدایه‌های مشاهده‌شده دارای کلنی‌های میکروسکوپی نامنظم بودند؛ که به‌صورت شناور آزاد قرار داشتند. این سلول‌های به‌صورت متراکم قرارگرفته و به‌طور طور نامنظم سازمان‌یافته بودند. سلول‌ها دارای موسیلاژ، بی‌رنگ و حاشیه وسیعی را در اطراف خود تشکیل دادند. سلول‌ها پس از تقسیم به‌صورت کروی و قهوه‌ای مشاهده شدند. اندازه قطر سلول‌ها ۰/۸ تا ۶ میکرومتر قطر بوده و غلاف موسیلاژی پیرامون آن‌ها مشاهده نشد (شکل ۲E).

بررسی ویژگی‌های مورفولوژیک جدایه‌ها خالص‌شده نشان داد ۳ جدایه معادل ۶ درصد بیانگر تعلق آن‌ها به جنس *Nostoc* بود (شکل ۳). تریکوم های جدایه‌های *Nostoc* به شکل دانه تسبیح مشاهده شدند. رشته‌ها پیچ‌دار بوده و در اتصال با یکدیگر خوشه‌های نامنظم را تشکیل دادند. تریکوم ها به‌صورت ایزوپلار قرار داشتند. سلول‌ها استوانه‌ای شکل یا کروی بودند و با شکل و اندازه یکنواخت در طول تریکوم به رنگ آبی روشن مشاهده شدند. هتروسیست‌ها نیز به‌صورت استوانه‌ای شکل بودند و که در انتهای تریکوم ها مشاهده شدند. ساختارهای آکینت‌ها به شکل بیضوی و بزرگ‌تر از سلول‌های رویشی در بین هتروسیت‌ها قرار داشتند (شکل ۲F).

نتایج فعالیت آنتی‌اکسیدانی متابولیت‌های استخراج‌شده از جدایه‌های سیانوباکتری نشان داد ۲۳/۵۳ درصد جدایه‌ها قادر به مهار رادیکال‌های آزاد DPPH بودند. میزان IC_{50} فعالیت آنتی‌اکسیدانی متابولیت‌های استخراج‌شده از ۴۶/۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر توسط جدایه KH 15 تا ۶۷۵/۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر توسط جدایه متغیر بود (جدول ۲).

جدول ۲: میزان مهار رادیکال‌های آزاد DPPH توسط متابولیت‌های زیست فعال استخراج‌شده از جدایه‌های سیانوباکتری.

جدایه	جنس	SE (µg/ml)±IC_{50}	سطوح اطمینان ۹۵٪	جدایه	جنس	SE (µg/ml)±IC_{50}	سطوح اطمینان ۹۵٪
KH 2	*Phormidium*	۳۴۵/۴۷±۶/۲۰	۲۵۳/۴۶۳–۴/۸	KH 17	*Phormidium*	۵۶۵/۱۱±۴/۳۶	۵۴۲/۵۹۰–۶/۲
KH 5	*Phormidium*	۳۹۷/۲۷±۹/۵۳	۳۴۱/۴۵۶–۳/۵	KH 25	*Phormidium*	۳۵۱/۱۵±۸/۶۵	۳۲۴/۳۸۹–۱/۶
KH 7	*Phormidium*	۵۲۱/۲۸±۶/۴۹	۴۴۱/۵۶۱–۹/۲	KH 29	*Oscillatoria*	۶۷۵/۱۷±۴/۳۱	۶۴۱/۷۱۱–۷۸/۰
KH 8	*Phormidium*	۴۴۵/۱۶±۸/۹۵	۴۱۳/۴۸۴–۳/۳	KH 34	*Oscillatoria*	۴۲۷/۱۲±۵/۰۰	۴۰۳/۴۵۳–۴/۶
KH 12	*Phormidium*	۵۱۲/۱۹±۷/۲۸	۴۷۶/۵۵۷–۴/۱	KH 48	*Oscillatoria*	۴۵۱/۲۴±۴/۰۰	۴۰۲/۵۰۲–۲/۷
KH 15	*Phormidium*	۴۶/۳±۱/۱	۳۹/۹ تا ۵۲/۳	KH 51	*Oscillatoria*	۵۶۴/۱۱±۴/۳۶	۵۴۲/۵۹۰–۶/۲

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-07-08]

بحث و نتیجه‌گیری

در مطالعات اخیر در دنیا جنگل‌های مانگرو به‌عنوان منبع جدیدی از میکروارگانیسم‌های مولد ترکیبات زیست فعال موردتوجه قرار گرفته‌اند. لیکن سیانوباکتری‌های دریایی موجود در جنگل‌های مانگرو خلیج‌فارس تاکنون ازنظر تولید ترکیبات آنتی‌اکسیدان مطالعه نشده‌اند. انتخاب منبع غربالگری سیانوباکتری‌های مولد ترکیبات طبیعی نقش کلیدی دریافتن ترکیبات متنوع و مؤثرتر دارد (Xu *et al.*, 2014 ؛Sarkar *et al.*, 2019). ازاین‌رو انتخاب جنگل مانگرو خور خوران به‌عنوان منبع غربالگری آنتی‌اکسیدان‌های سیانوباکتریایی یک نوآوری محسوب می‌شود. در این راستا مطالعه حاضر در قالب یک برنامه غربالگری تولید متابولیت‌های آنتی‌اکسیدان توسط سیانوباکتری‌های موجود در نمونه‌های آب اکوسیستم مانگرو خور خوران را مورد ارزیابی قرارداد.

نتایج بررسی الگوی تنوع زیستی ۵۱ جدایه سیانوباکتری جداسازی شده نشان داد جنس‌های *Phormidium* و *Oscillatoria* به‌صورت غالب با فراوانی ۴۵ و ۲۹ درصد در نمونه‌های جمع‌آوری‌شده حضور داشتند. در حالی که مطالعات گذشته در این اکوسیستم درصدهای فراوانی متفاوتی از جنس‌های سیانوباکتری گزارش‌شده در مطالعه حاضر را ارائه نمودند. برای نمونه مطالعه زاهری و همکاران حضور غالب پنج جنس *Phormidium*، *Microcystis*، *Anabaena*، *Oscillatoria* و *Spirulina* با فراوانی به ترتیب ۲۵/۳۳، ۱۲/۶۶، ۱۲، ۶/۶۶ و ۶/۶۶ را در اغلب ایستگاه‌های نمونه‌برداری شده در اکوسیستم مانگرو خور خوران در بهار ۱۳۹۸ گزارش داد (Zaheri *et al.*, 2021). در مطالعه دیگری که در تابستان ۱۳۹۷ در همین اکوسیستم مشخص شد جنس‌های *Phormidium* ، *Oscillatoria* و *Spirulina* به ترتیب با فراوانی ۲۵، ۲۰ و ۱۰ درصد بیشترین میزان جمعیت سیانوباکتری‌ها را تشکیل دادند (Zaheri *et al.*, 2021). تفاوت میزان فراوانی جنس‌های سیانوباکتری شناسایی‌شده در مهروموم‌ها و فصول مختلف در این اکوسیستم دارای عوامل مختلفی می‌باشد. مهم‌ترین این عوامل تغییرات فیزیکوشیمیایی آب در اکوسیستم مانگرو می باشد (Benny *et al.*, 2021b). نوسانات فصلی شوری، دما، میزان نور و اکسیژن در اکوسیستم مانگرو خور خوران متغیر بوده و می‌تواند دلیل تغییرات الگوی تنوع زیستی در مطالعات اخیر باشد. این تفاوت الگوی تنوع و فراوانی سیانوباکتری‌ها در این اکوسیستم می‌تواند به عوامل دیگری ازجمله ویژگی‌های فون و فلور اکوسیستم، ویژگی‌های اقلیمی و آلودگی‌های محیطی نیز مرتبط باشد (Hasan *et al.*, 2022). عواملی از قبیل تغییرات دوره‌ای ناشی از جریان‌های دریایی، ورود پساب‌ها و روان آب‌ها به اکوسیستم، فعالیت‌های انسانی جاری در تالاب (صیادی، برداشت از گیاهان حرا) و همچنین رخداد پیاپی شکوفایی سیانوباکتری‌اشی مضر در منطقه می‌تواند نقش شایان توجهی در تغییر فلور باکتریایی موجود ایجاد نماید. همچنین تخلیه آب تعادل کشتی‌ها (حاوی گونه‌های غیربومی) در اسکله‌های مجاور این تالاب ممکن است در الگوی تنوع سیانوباکتری‌ها و ارزیابی فعالیت آن‌ها نقش داشته باشد. مطالعات انجام‌شده در سایر اکوسیستم‌های مانگرو نیز بیانگر حضور غالب این جنس‌ها می‌باشند. برای نمونه در یک مطالعه Lopes و همکاران (۲۰۱۹) ۱۵ جنس سیانوباکتری‌ها را از جنگل مانگرو در مصب رودخانه‌ای در ایالت ماران ها در برزیل شناسایی کردند. ۵ جنس‌های از نمونه‌های شناسایی‌شده متعلق به خانواده *Phormidiaceae* ، ۲ جنس از خانواده *Anabaenaceae*، ۲ جنس از خانواده *Synechococcaceae*، ۲ جنس از خانواده *Scytonemataceae* و از خانواده‌های *Chroococcaceae* ، *Xenococaceae* ، *Oscillatoriaceae* و *Hilaceae* هرکدام یک جنس شناسایی شد. در همین راستا مطالعه Ram و همکاران روی سیانوباکتری‌های موجود در ۷ اکوسیستم مانگرو در هندوستان نشان داد جنس‌های *Oscillatoria* با ۱۳ گونه، *Nostoc* با ۵ گونه و *Lyngbya* با ۳ گونه غالب جنس‌های موجود در اکوسیستم مذکور بود. جنس‌های *Phormidium*، *Aphanothece* و *Merismopedia* هرکدام با یک‌گونه اقلیت گونه‌ای جداسازی شده بودند (Ram and Shamina, 2017).

ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی متابولیت‌های استخراج‌شده از سیانوباکتری‌های جداشده از خور خوران نشان داد ۱۲ جدایه معادل ۲۳/۵۳ درصد سیانوباکتری‌های جداسازی شده مولد ترکیبات آنتی‌اکسیدان مهارکننده رادیکال‌های آزاد DPPH بودند. با توجه به اهمیت ترکیبات آنتی‌اکسیدان در کاهش فشار اکسیداتیو، متابولیت های سیانوباکتری‌اشی می‌توانند زمینه‌های مطالعاتی جدیدی را در ارزیابی میانکنش های بیوشیمیایی میان

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-07-08]

ارگانیسم‌های موجود در اکوسیستم مانگرو ایجاد نماید. مطالعه حاضر جدایه‌های *Phormidium* و *Oscillatoria* غالب جدایه‌های دارای فعالیت آنتی‌اکسیدان را تشکیل دادند. در این میان جدایه KH 15 متعلق به جنس *Phormidium* بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را با IC_{50} به میزان ۱/۱±۴۶/۳ میکروگرم بر میلی‌لیتر نشان داد. در سایر مطالعات نیز فعالیت آنتی‌اکسیدانی متابولیت‌های استخراج‌شده از سیانوباکتری‌ها گزارش‌شده است (Calella *et al.*, 2022). نتایج یک مطالعه نشان داد متابولیت‌های فیکواریترین جداشده از سیانوباکتری دریایی *Phormidium* sp. A09DM، فعالیت آنتی‌اکسیدانی به میزان ۸۴/۲۹ میکروگرم بر میلی‌لیتر در مهار رادیکال‌های آزاد DPPH نشان داد. همچنین میزان IC_{50} متابولیت‌های فیکوسیانین و آلوفیکوسیانین استخراج‌شده از این باکتری به ترتیب در غلظت‌های ۷۲/۲۶ و ۷۰/۵۳ میکروگرم بر میلی‌لیتر رادیکال‌های آزاد DPPH را مهار نمود (Sonani *et al.*, 2014). نتایج مطالعه Elkomy و همکاران (۲۰۲۱) نشان داد عصاره متانولی سیانوباکتری دریایی *Oscillatoria simplicissima* در غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به میزان ۴۵/۹۷ درصد رادیکال‌های آزاد DPPH را جذب نمود. در مطالعه دیگری متابولیت‌های استخراج‌شده از *Oscillatoria* sp. SSCM01 در غلظت ۶۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر ۴۸ درصد از رادیکال‌های آزاد DPPH را مهار نمود (Nainangu *et al.*, 2020). مطالعات مختلف درباره منشأ فعالیت آنتی‌اکسیدانی متابولیت‌های استخراج‌شده از جنس‌های *Phormidium* و *Oscillatoria* بحث نموده‌اند. تولید مقادیر بالای ترکیب ارگوتیونئین در جنس‌های *Phormidium* و *Oscillatoria* به‌عنوان یکی از دلایل احتمالی فعالیت آنتی‌اکسیدانی این جنس‌ها محسوب می‌شود (Baran *et al.*, 2013). ازاین‌رو پیشنهاد می‌شود در مطالعات آینده متابولیت‌های آنتی‌اکسیدان استخراج‌شده در مطالعه حاضر را ازنظر تولید ارگوتیونئین موردبررسی قرارداد.

مطالعه حاضر پتانسیل بالای سیانوباکتری‌های جداسازی شده از اکوسیستم مانگرو خور خوران به‌عنوان یک منبع بکر برای تولید ترکیبات آنتی‌اکسیدان طبیعی را نشان داد. با مقایسه میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی متابولیت‌های استخراج‌شده از جدایه‌های سیانوباکتری‌اشی به‌ویژه جدایه KH 15 با سیانوباکتری‌های جداسازی شده در مطالعات پیشین فعالیت نسبت بالاتر جدایه KH 15 تائید شد. ازاین‌رو متابولیت‌های استخراج‌شده از این جدایه می‌توانند در مطالعات آینده ازنظر ماهیت شیمیایی جهت توسعه کاربردهای فناورانه در صنایع غذایی، پزشکی، آرایشی و بهداشتی موردبررسی قرار گیرد. این مطالعه همچنین درک بهتری از تنوع زیستی سیانوباکتری‌ها در منطقه موردبررسی در زمان نمونه‌برداری ایجاد نمود. نتایج این مطالعه می‌تواند به‌عنوان بخشی از پایش‌های دوره‌ای تغییرات الگوی سیانوباکتری‌ها در این تالاب حفاظت‌شده بین‌المللی جهت حفاظت از تنوع زیستی گیاهی، جانوری و میکروبی در مقابل گونه‌های توکسیژنیک سیانوباکتری بکار گرفته شود.

سپاسگزاری

این مقاله از نتایج طرح پژوهشی مصوب دانشگاه پیام نور با عنوان " ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی سیانوباکتری‌های بومی جداشده از جنگل‌های مانگرو بندر خمیر در راستای تولید مکمل‌های غذایی" مستخرج شده است. این طرح در قالب پژوهانه دانشگاه تأمین اعتبارشده است.

منابع

زاهری، ا.، بهادر، ن.، یوسف زادی، م.، آرمان، م.، ۱۳۹۹. ارزیابی سمیت سیانوباکترهای جداسازی شده از اکوسیستم مانگرو خور خوران بر لارو میگو. نشریه علمی بوم‌شناسی آبزیان. ۱۰ (۲): صفحات ۷۴-۶۳.

Assunção, J., Amaro, H. M., Lopes, G., Tavares, T., Malcata, F. X. and Guedes, A. C., 2021. Exploration of marine genus chroococcidiopsis sp.: A valuable source for antioxidant industry? Journal of Applied Phycology, 33: 2169-2187.

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-07-08]

Baran, R., Ivanova, N. N., Jose, N., Garcia-Pichel, F., Kyrpides, N. C., Gugger, M. and Northen, T. R., 2013. Functional genomics of novel secondary metabolites from diverse cyanobacteria using untargeted metabolomics. Marine Drugs, 11: 3617-3631.

Benny, N., Thomas, L. C. and Padmakumar, K., 2021 a. Community structure of microphytobenthos associated with mangrove ecosystems along the southwest coast of india. Estuaries and Coasts, 44: 1380-1391.

Benny, N., Thomas, L. C., Padmakumar, K. B., 2021b. Environmental influences on the cyanobacterial mat formation in the mangrove ecosystems along the southwest coast of india. Marine Ecology, 42: e12685.

Boden, J. S., Konhauser, K. O. and Robbins, L. J. and Sánchez-Baracaldo, P., 2021. Timing the evolution of antioxidant enzymes in cyanobacteria. Nature Communications, 12: 1-12.

Calella, P., Di Dio, M., Cerullo, G., Di Onofrio, V., Gallé, F. and Liguori, G., 2022. Antioxidant, immunomodulatory, and anti-inflammatory effects of spirulina in disease conditions: A systematic review. International Journal of Food Sciences and Nutrition, 73: 1047-1056.

Chauhan, R., Chauhan, A., Tripathi, A., Ranjan, A., Chauhan, S. C. and Jindal, T., 2021. Pharmaceutical potential of laboratory grown cultures of blue-green algae: A comprehensive review and future possibilities. Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences.

Cheriyan, A.S., Moushmi, K., Cheriyan, E., Baby, L. and Chandramohanakumar, N., 2022. Sources and degradation of organic matter and its relation to trophic status in the core sediments of a tropical mangrove ecosystem along the southwest coast of india. Marine Chemistry, 104137.

Cushen, M., Kerry, J., Morris, M., Cruz-Romero, M. and Cummins, E., 2012. Nanotechnologies in the food industry–recent developments, risks and regulation. Trends in food science & technology, 24: 30-46.

Elkomy, R. G. and Ismail, M. M., 2021. Crude sulfated polysaccharides extracted from marine cyanobacterium oscillatoria simplicissima with evaluation antioxidant and cytotoxic activities. Iranian Journal of Microbiology, 13: 553.

Genuário, D. B., Vaz, M. G., Santos, S. N. and Kavamura, V. N. and Melo, I. S., 2019. Cyanobacteria from brazilian extreme environments: Toward functional exploitation. Pp. 265-284 in Microbial diversity in the genomic era Elsevier.

Gugger, M. F. and Hoffmann, L., 2004. Polyphyly of true branching cyanobacteria (stigonematales). International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 54: 349-357.

Han, P., Li, J., Zhong, H., Xie, J., Zhang, P., Lu, Q., Li, J., Xu, P., Chen, P. and Leng, L., 2021. Anti-oxidation properties and therapeutic potentials of spirulina. Algal Research, 55: 102240.

Hasan, J., Shaha, D. C., Kundu, S. R., Yusoff, F. M., Cho, Y. K., Haque, F., Salam, M. A., Ahmed, S., Wahab, M. A. and Ahmed, M., 2022. Phytoplankton community in relation to environmental variables in the tidal mangrove creeks of the pasur river estuary, bangladesh. Conservation, 2: 587-612.

Hatha, A. M. and Sumayya, N., 2023. Antioxidants from marine cyanobacteria. Pp. 119-131 in Marine antioxidants Elsevier.

Inyang, A. I. and Wang, Y. S., 2020. Phytoplankton diversity and community responses to physicochemical variables in mangrove zones of guangzhou province, china. Ecotoxicology, 29: 650-668.

Kageyama, H. and Waditee-Sirisattha, R., 2019. Antioxidative, anti-inflammatory, and anti-aging properties of mycosporine-like amino acids: Molecular and cellular mechanisms in the protection of skin-aging. Marine Drugs, 17: 222.

Latifi, A., Ruiz, M. and Zhang, C. C., 2009. Oxidative stress in cyanobacteria. FEMS Microbiology Reviews, 33: 258-278.

Leong, L. and Shui, G., 2002 .An investigation of antioxidant capacity of fruits in singapore markets. Food Chemistry, 76: 69-75.

Li, D. and Liu, S., 2018. Water quality monitoring and management: Basis, technology and case studies. Academic Press.

Li, H. B., Cheng, K. W., Wong, C. C ,.Fan, K. W., Chen, F. and Jiang, Y., 2007. Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. Food Chemistry, 102: 771-776.

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-07-08]

Lopes, V., Costa, P. and Rosa, R., 2019. Effects of harmful algal bloom toxins on marine organisms. Pp. 42-88 in Ecotoxicology of marine organisms CRC Press.

Meriluoto, J., Spoof, L. and Codd, G. A., 2017. Handbook of cyanobacterial monitoring and cyanotoxin analysis. John Wiley & Sons.

Nainangu, P., Antonyraj, A. P. M., Subramanian, K., Kaliyaperumal, S., Gopal, S. and Renuka, P. S., 2020. In vitro screening of antimicrobial, antioxidant, cytotoxic activities, and characterization of bioactive substances from freshwater cyanobacteria oscillatoria sp. Sscm01 and phormidium sp. Sscm02. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 29: 101772.

Nienaber, M. A. and Steinitz-Kannan, M., 2018. A guide to cyanobacteria: Identification and impact. University Press of Kentucky.

Palit, K., Rath, S., Chatterjee, S. and Das, S., 2022. Microbial diversity and ecological interactions of microorganisms in the mangrove ecosystem: Threats, vulnerability, and adaptations. Environmental Science and Pollution Research: 1-46.

Pathak, J., Ahmed, H., Singh, P. R., Singh, S. P., Häder, D. P. and Sinha, R. P., 2019. Mechanisms of photoprotection in cyanobacteria. Pp. 145-171 in Cyanobacteria Elsevier.

Ram, A. T. and Shamina, M., 2017. Cyanobacterial diversity from seven mangrove environments of kerala, india. World News of Natural Sciences, 9: 91-97.

Rastogi, R. P. and Incharoensakdi, A. 2014. Characterization of uv-screening compounds, mycosporine-like amino acids, and scytonemin in the cyanobacterium lyngbya sp. Cu2555. FEMS microbiology ecology, 87: 244-256.

Rezayian, M., Niknam, V. and Ebrahimzadeh, H., 2019. Stress response in cyanobacteria. Iranian Journal of Plant Physiology, 9: 2773-2787.

Saad, M. H., El-Fakharany, E. M., Salem, M. S. and Sidkey, N. M., 2022. The use of cyanobacterial metabolites as natural medical and biotechnological tools. Journal of Biomolecular Structure and Dynamic, 40: 2828-2850.

Sarkar, A., Prajapati, S., Bakshi, A. S., Khatoon, A., Swathi, R., Kumar, S., Behera, A. and Pradhan, R., 2019. Diversity analysis of indian mangrove organisms to explore their potential in novel and value-added biomolecules. Pp. 31-53 in Ethnopharmacology and biodiversity of medicinal plants Apple Academic Press.

Singh, S. K., Kaur, R., Bansal, A., Kapur, S. and Sundaram, S., 2020. Biotechnological exploitation of cyanobacteria and microalgae for bioactive compounds. Pp. 221-259 in Biotechnological production of bioactive compounds Elsevier.

Sonani, R. R., Singh, N. K., Kumar, J., Thakar, D. and Madamwar, D., 2014. Concurrent purification and antioxidant activity of phycobiliproteins from lyngbya sp. A09dm: An antioxidant and anti-aging potential of phycoerythrin in caenorhabditis elegans. Process Biochemistry, 49: 1757-1766.

Xu, D. B., Ye, W. W., Han, Y., Deng, Z. X. and Hong, K., 2014. Natural products from mangrove actinomycetes. Marine Drugs, 12: 2590-2613.

Zaheri, A., Bahador, N., Yousefzadi, M. and Arman, M., 2021. Molecular identification and toxicity effects of cyanobacteria species isolated from the khoor-e-khooran mangrove forest, persian gulf. Iranian Journal of Fisheries Sciences, 20: 572-589.

Zare, M., Bahador, N. and Salehi, M. B., 2015. Isolation of cyanobacteria producing saxitoxin from kor river located in marvdasht, fars province, iran. International Journal of Life Sciences, 9: 54-57.

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-07-08]