



University of Hormozgan

# Journal of Aquatic Ecology

ISSN Print: 2322-2751 ISSN Online: 2980-9355

Homepage: <https://jae.hormozgan.ac.ir>



## The assessment of antifungal properties of nonpolar-polar extracts of the Persian Gulf Sea cucumber *Holothuria lessoni*

Zainab Bideshki<sup>1</sup>, Iman Sourinejad<sup>2✉</sup>, and Melika Nazemi<sup>3</sup>

1. Department of Marine Biology, Faculty of Marine Science and Technology, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran.

2. Department of Fisheries, Faculty of Marine Science and Technology, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran.

3. Persian Gulf and Oman Sea Research Center, Iranian Fisheries Science Research Institution, Agriculture Research, Education and Extension Organization, Bandar Abbas, Iran.

### Article Info

#### Article type:

Research Article

#### Article history:

Received: 15 November 2025

Accepted: 1 February 2026

Published: 15 February 2026

#### ✉ Corresponding Author:

[sourinejad@hormozgan.ac.ir](mailto:sourinejad@hormozgan.ac.ir)

#### Keywords:

Persian Gulf,  
Antifungal properties,  
Secondary metabolites,  
*Holothuria lessoni*.

### ABSTRACT

In this study, the antifungal activity of non-polar to polar extracts from the sea cucumber *Holothuria lessoni* was evaluated. A total of 45 specimens (mean weight: 275 g) were collected during winter from depths of 5–10 m in the waters surrounding Qeshm Island in the Persian Gulf. Dried sample powder was sequentially extracted using n-hexane (non-polar), diethyl ether (semi-polar), and methanol (polar) solvents. The antifungal activity of the extracts was assessed against *Aspergillus fumigatus* and *Candida albicans* by determining minimum inhibitory concentrations (MIC) and minimum fungicidal concentrations (MFC). The n-hexane extract exhibited MIC values of 400 µg/mL against *A. fumigatus* and 500 µg/mL against *C. albicans*, with an MFC of 1000 µg/mL for both fungi. The diethyl ether extract showed MFC values of 1000 µg/mL against *A. fumigatus* and 2000 µg/mL against *C. albicans*. In contrast, the methanol extract showed no fungicidal activity against either species. Nystatin, used as a positive control, demonstrated MFC values of 50 µg/mL for *A. fumigatus* and 100 µg/mL for *C. albicans*. Overall, the results indicate that the non-polar n-hexane extract of *H. lessoni* possesses higher antifungal activity than the semi-polar and polar extracts. Further studies are warranted to identify the bioactive compounds responsible for this activity and to evaluate their antifungal efficacy in vitro.



Publisher: University of Hormozgan

## EXTENDED ABSTRACT

### Introduction

Marine biotechnology has garnered significant interest due to the diverse range of organisms in the oceans that produce bioactive compounds applicable in environmental sciences, biomedical research, and industrial sectors. These compounds, particularly those derived from marine organisms, are being explored for their potential as antibacterial and antifungal agents. Among various marine species, echinoderms, particularly sea cucumbers, are recognized for their high concentration of bioactive compounds, making them valuable for biomedical studies and the development of therapeutic products. The Holothuriidae family, which includes several genera with *Holothuria* being the most prominent, has great potential for producing bioactive compounds. Despite the rich biodiversity of sea cucumbers in regions like the Persian Gulf and the Sea of Oman, research concerning their biomedical properties has been limited. Therefore, investigating the medicinal applications of compounds extracted from these marine organisms is of utmost importance. The objective of the present study was to evaluate the antifungal properties of hexane, methanol, and diethyl ether extracts from the sea cucumber species *Holothuria lessoni*. The study aimed to compare these extracts with commercial antifungal compounds, particularly assessing their effectiveness against the fungal strains *Aspergillus fumigatus* and *Candida albicans*.

### Materials and Methods

A total of 45 sea cucumber specimens with an average weight of 275 g each were caught from a depth of 5 to 10 m off Qeshm Island and transferred to the Laboratory. The specimens were identified based on morphological examination and the condition of the spicules (Purcell et al., 2012). The extraction on samples powder was done using n-hexane (non-polar), diethyl ether (semi-polar) and methanol (polar) solvents. The biological activity of the extracts including antifungal activity against *Aspergillus fumigatus* and *Candida albicans* were assessed.

### Results

The minimum inhibitory concentration of sea cucumber extract *H. lessoni* on *A. fumigatus* was 400 µg/ml. This extract also inhibited the growth of *C. albicans* at a concentration of 1000 µg/ml. The n-hexane extract of sea cucumber at a concentration of 1000 µg/ml resulted in the death of both strains. The concentration of 1000 µg/ml was determined as the minimum inhibitory concentration of diethyl ether extract of sea cucumber on *A. fumigatus* and *C. albicans*. This extract at a concentration of 2000 µg/ml resulted in the death of both strains. The methanolic extracts did not inhibit the growth of either fungus or yeast at any of the concentrations and did not show any lethal effect. The combination of nystatin inhibited the growth of *A. fumigatus* and *C. albicans* at a minimum concentration of 50 µg/ml. Nystatin also had a minimum lytic concentration of 100 µg/mL against *A. fumigatus* and *C. albicans*.

### Conclusion

The results indicate that the n-hexane (non-polar) extract of sea cucumber body has greater antifungal properties compared to diethyl ether (semipolar) and methanol (polar) extracts. Research on the antimicrobial activities of sea cucumber extract from Qeshm Island and other studies on sea cucumbers in other regions of the Persian Gulf and the world indicate that the

natural bioactive compounds present in the extracted extract have antifungal effects and activities and can be potential candidates for the synthesis of biological antibiotics and other pharmaceutical compounds.

## ارزیابی خواص ضد قارچی عصاره های غیرقطبی-قطبی خیار دریایی خلیج فارس *Holothuria lessoni*

زینب بیدشکی<sup>۱</sup>، ایمان سوری نژاد<sup>۲</sup>✉، ملیکا ناظمی<sup>۳</sup>

۱. گروه زیست شناسی دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران.

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

۳. پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، بندرعباس، ایران.

### چکیده

### اطلاعات مقاله

نوع مقاله:

مقاله پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۸/۲۴

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۱۱/۱۲

تاریخ انتشار: ۱۴۰۴/۱۱/۲۶

✉ نویسنده مسئول:

[sourinejad@hormozgan.ac.ir](mailto:sourinejad@hormozgan.ac.ir)

کلیدواژه‌ها:

خلیج فارس،

فعالیت ضد قارچی،

متابولیت های ثانویه،

*Holothuria lessoni*

در مطالعه حاضر عصاره های غیرقطبی-قطبی خیار دریایی خلیج فارس گونه *Holothuria lessoni* استخراج شده و خواص ضد قارچی عصاره ها مورد بررسی قرار گرفت. تعداد ۴۵ نمونه خیار دریایی با میانگین وزن ۲۷۵ گرم در فصل زمستان از عمق ۵ تا ۱۰ متری آبهای جزیره قشم از منطقه شیب دراز در خلیج فارس جمع آوری شد. عصاره گیری از پودر نمونه ها با استفاده از حلال های ان هگزان (غیر قطبی)، دی اتیل اتر (نیمه قطبی) و متانول (قطبی) انجام شد. سپس فعالیت زیستی عصاره های استخراج شده شامل فعالیت ضد قارچی بر علیه سویه های *Candida albicans* و *Aspergillus fumigatus* ارزیابی شد. حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره ان هگزانی بر قارچ *A. fumigatus* برابر با ۴۰۰ و بر مخمر *C. albicans* برابر با ۵۰۰ میکروگرم در میلی لیتر به دست آمد. این عصاره در غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم در میلی لیتر منجر به مرگ دو سویه مورد بررسی گردید. حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره دی اتیل اتری بر قارچ و مخمر در غلظت ۱۰۰۰ و حداقل غلظت کشندگی نیز در غلظت ۲۰۰۰ میکروگرم در میلی لیتر به دست آمد. عصاره های متانولی در هیچ کدام از غلظت ها از رشد قارچ و مخمر ممانعت نکردند و اثر کشندگی نیز از خود نشان ندادند. ترکیب نیستاتین به عنوان شاهد مثبت مانع از رشد قارچ و مخمر در غلظت ۵۰ و باعث اثر کشندگی در غلظت ۱۰۰ میکروگرم در میلی لیتر شد. نتایج بیانگر خواص ضد قارچی بیشتر عصاره ان هگزانی (غیر قطبی) بدن خیار دریایی در مقایسه با عصاره دی اتیل اتری (نیمه قطبی) و متانولی (قطبی) بود. مطالعات بیشتری برای شناسایی ترکیبات فعال زیستی خاص مسئول فعالیت ضد قارچی و ارزیابی اثربخشی آنها در شرایط آزمایشگاهی مورد نیاز است.



ناشر: دانشگاه هرمزگان.

## مقدمه

تعداد زیادی از موجودات با انواع ترکیبات فعال زیستی در دریاها و اقیانوس ها وجود دارند. که این ترکیبات می توانند در زمینه های گوناگون از جمله علوم زیست محیطی و زیست پزشکی و صنعتی کاربرد داشته باشند. تلاش برای کشف داروهای ضد باکتریایی و ضد قارچی از متابولیت های ثانویه یا همان ترکیبات زیست فعال استخراج شده از جانوران و گیاهان دریایی به شدت در حال انجام است. در قالب علم زیست فناوری دریا می توان به پیشرفت تولید محصولات جدید از جانداران دریایی امیدوار بود (Rasyid et al., 2021).

بررسی خصوصیات زیست شناختی خارپوستان موید آن است که خیارهای دریایی دارای بیشترین ترکیبات شیمیایی در این گروه می باشند (Senadheera et al., 2020). خیارهای دریایی برای مطالعات زیست پزشکی و تولید ترکیبات فعال زیستی بسیار مهم هستند. این موجودات منبع بالقوه ترکیبات با ارزش افزوده بالا با خواص درمانی هستند (Pangestuti and Arifin, 2018; Xu et al., 2018). به طور معمول برای مهار عوامل میکروبی بیماری زا از آنتی بیوتیک های شیمیایی استفاده می شود که بروز مقاومت باکتریایی را معمولا به دنبال دارد. با توجه به پتانسیل خیارهای دریایی در تولید متابولیت های ثانویه با کاربردهای دارویی، تحقیقات متنوعی در این زمینه در کشورهای مختلف در حال انجام است.

بر اساس مرور منابع پیشین، فعالیت ضد قارچی ساپونین استخراج شده از خیار دریایی خلیج فارس گونه *Stichopus hermanni* بررسی شد (Salari et al., 2018). ساپونین استروئیدی در غلظت ۲۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر رشد قارچ و در غلظت ۴۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر رشد مخمر را مهار نمود و در غلظت ۴۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر در قارچ خاصیت کشندگی داشت. برای ساپونین گلیکوزیدی-استروئیدی، حداقل غلظت مهارکنندگی در قارچ برابر با ۳۰ میکروگرم بر میلی لیتر و در مخمر برابر با ۱۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر بود در حالی که حداقل غلظت کشندگی در قارچ برابر با ۱۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر و در مخمر برابر با ۴۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر بدست آمد. Mokhlesi و همکاران (۲۰۱۲) فعالیت سیتوتوکسیک، ضد باکتریایی و ضد قارچی اندامهای مختلف خیار دریایی *Holothuria leucospilota* را مورد بررسی قرار دادند و به این نتیجه رسیدند که عصاره استخراج شده از این گونه دارای اثر سیتوتوکسیک و ضد قارچی بوده است اما فاقد اثر ضد باکتریایی بود. Bahrami و همکاران (۲۰۱۸) به بررسی توزیع ساپونین ها در دیواره بدن و احشاء خیار دریایی *Holothuria lessoni* و فعالیت زیستی آنها پرداختند. دیواره بدن با اتانول ۷۰ درصد استخراج شد و با کروماتوگرافی خالص شد. گلیکوزیدهای تری ترین شناسایی شده فعالیت ضد قارچی قوی در برابر قارچ های آزمایش شده نشان دادند، اما هیچ اثر ضد باکتریایی بر روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس نداشتند.

یکی از مهم ترین خانواده های خیار دریایی، خانواده Holothuriidae است که از پنج جنس تشکیل شده است و در میان آنها، جنس *Holothuria* غالب ترین است (Utzeri et al., 2020). علی رغم اینکه خلیج فارس و دریای عمان دارای تنوع مناسبی از گونه های مختلف خیار دریایی می باشد ولی مطالعات انجام شده کمتر به قابلیت زیست پزشکی این گونه ها و تولید ترکیبات زیست فعال پرداخته است و بنابراین مطالعه کاربردهای دارویی ترکیبات طبیعی مستخرج از این موجودات، حایز اهمیت کاربردی فراوان می باشد. بنابراین، هدف از مطالعه پیش رو بررسی خواص ضد قارچی عصاره های ان هگزانی و متانولی و دی اتیل اتری خیار دریایی جنس *Holothuria* و مقایسه آن با داروی ضد قارچ تجاری در نظر گرفته شد.

## مواد و روش ها

تعداد ۴۵ نمونه خیار دریایی با میانگین وزن هر کدام ۲۷۵ گرم در فصل زمستان (دمای آب ۲۲ درجه سانتیگراد و شوری ۳۹ گرم در لیتر) از عمق ۵ تا ۱۰ متری جزیره قشم از منطقه شیب دراز (بین جزیره همگام و قشم) واقع در خلیج فارس توسط عملیات غواصی صید شد و در کنار یخ خشک به آزمایشگاه شیمی پژوهشگاه اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان منتقل گردید. نمونه های جمع آوری شده بر اساس بررسی ریخت شناسی و وضعیت اسپیکول ها در شناسایی شدند. برای شناسایی، از تطابق اطلاعات به دست آمده با کلید شناسایی خیارهای دریایی سازمان خواربار و کشاورزی جهانی استفاده شد (Purcell et al., 2012).

برای تهیه پودر و عصاره‌گیری از گونه خیار دریایی، ابتدا نمونه‌ها با آب مقطر شستشو و پس از برش از مخرج به سمت دهان و تخلیه حفره شکمی و شستشو، عضلات دیواره بدن در اندازه‌های یک سانتی متری بریده شدند و در فریز درایر در دمای  $-40^{\circ}\text{C}$  درجه سانتیگراد به مدت ۴۸ ساعت قرار گرفتند. سپس با استفاده از آسیاب، نمونه‌های خشک شده به صورت پودر در آمدند تا سطح تماس ماده خشک با حلال‌های آلی افزایش یابد و بیش‌ترین میزان عصاره به دست آید. عصاره‌گیری با استفاده از حلال‌های آن‌هگزان (غیر قطبی)، دی‌اتیل اتر (نیمه قطبی) و متانول (قطبی) انجام شد. بدین منظور، مقدار یکصد گرم نمونه پودر شده خیار دریایی به ارن‌هاوی ۱۲۰۰ میلی لیتر حلال آن‌هگزان جهت عصاره‌گیری با روش استفاده از حلال منتقل شد و در آزمایشگاه در دمای  $25^{\circ}\text{C}$  درجه سانتیگراد به دور از تابش نور خورشید به مدت ۲۴ ساعت برای جداسازی ترکیبات طبیعی قرار گرفت. در ادامه به مدت ۲۴ ساعت در حلال دی‌اتیل اتر و  $72^{\circ}\text{C}$  ساعت در حلال متانول با توجه به میزان قطبیت حلال‌های مختلف قرار گرفت. محلول‌های به دست آمده با کاغذ صافی واتمن شماره ۴۲ پس از گذشت زمان مذکور صاف شدند تا ذرات معلق از آن جدا شود و آنچه باقی می‌ماند، حلال‌های حاوی ترکیبات آلی موجود در نمونه بود. با دستگاه روتاری (Heidolph, laborot 4000) تحت فشار کم و دور ۱۴۵ در دمای  $35^{\circ}\text{C}$  درجه سانتیگراد، حلال عصاره تبخیر و جدا گردید تا تنها عصاره خالص باقی بماند (Duan et al., 2006). به منظور حذف تمام حلال از عصاره نمونه‌ها بعد از این مرحله به مدت ۲۴ ساعت به وسیله فریز درایر خشک و تا زمان انجام آزمایش‌ها در دمای منفی  $20^{\circ}\text{C}$  درجه نگهداری شدند.

سویه‌های قارچ *Aspergillus fumigatus* و مخمر *Candida albicans* برای ارزیابی فعالیت ضد زیستی عصاره‌های دی‌اتیل اتری و متانولی استخراج شده از خیار دریایی مورد استفاده قرار گرفتند. هرکدام از سویه‌های قارچ و مخمر که به فرم لیوفیلیزه از مرکز کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های صنعتی ایران تهیه شده بودند به روش استاندارد کشت اولیه داده شدند. برای *A. fumigatus* روش استاندارد CLSI M38 و برای *C. albicans* روش استاندارد CLSI M27 استفاده شد. برای کشت اولیه مخمر *C. albicans* از محیط کشت دارای  $10^6$  گرم گلوکز،  $20^{\circ}\text{C}$  گرم آگار،  $5^{\circ}\text{C}$  گرم پپتون و  $3^{\circ}\text{C}$  گرم عصاره مخمر در یک لیتر آب مقطر با pH برابر با  $6.2 \pm 0.2$  استفاده شد و در انکوباتور در دمای  $25^{\circ}\text{C}$  درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفتند و از کلونی تک برای انجام آزمایش استفاده شد. قارچ *A. fumigatus* نیز در محیط کشت حاوی  $20^{\circ}\text{C}$  گرم گلوکز،  $20^{\circ}\text{C}$  گرم عصاره سیب زمینی و  $15^{\circ}\text{C}$  گرم آگار در یک لیتر آب مقطر با pH برابر با  $6.2 \pm 0.2$  کشت اولیه داده شد و در انکوباتور در دمای  $26^{\circ}\text{C}$  درجه سانتیگراد به مدت ۷۲ ساعت قرار گرفت و از کلونی تک برای انجام آزمایش استفاده شد.

پس از رشد قارچ و مخمر کشت‌ها از انکوباتور خارج شدند و با استفاده از آنس کلونی‌های تک ایجاد شده به محیط ماکرو دیلوژن برات در لوله‌های آزمایش وارد شدند. سوسپانسیون به دست آمده در طول موج  $530\text{ nm}$  نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری دارای عبور نوری ۹۰ درصد استاندارد اندازه‌گیری شد. از لوله فوق که حاوی  $10^6$  سلول قارچی بود به مقدار یک میلی لیتر به هر کدام از لوله‌های استریل اضافه شد. سپس از عصاره‌ها با غلظت‌های  $2$ ،  $4$ ،  $10$ ،  $20$ ،  $30$ ،  $40$ ،  $50$ ،  $100$ ،  $200$ ،  $300$ ،  $400$ ،  $500$  و  $2000$  میکروگرم بر میلی لیتر که در محیط ماکرو دیلوژن برات حل شده بودند به لوله‌های فوق به مقدار یک میلی لیتر اضافه شد. برای در نظر گرفتن شاهد مثبت از داروی ضد قارچ نیستاتین (سیگما-آلدریج) استفاده شد و بر اساس میزان ماده مؤثره در هر گرم از قرص، غلظت‌های فوق تهیه گردید. سپس با پنبه سر تمام لوله‌ها بسته شد و به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور با دمای  $26^{\circ}\text{C}$  درجه سانتیگراد قرار داده شد. پس از ۲۴ ساعت لوله‌های آزمایش از انکوباتور خارج شده و کدورت آن‌ها مورد بررسی قرار گرفت. غلظت مواد مصرفی در لوله‌های بدون کدورت حاکی از میزان MIC می‌باشد که به معنای ممانعت از رشد و افزایش تعداد قارچ هاست.

برای آزمایش تعیین حداقل غلظت کشندگی قارچ (MFC)، مقدار  $0.1$  میلی لیتر از هر کدام از لوله‌هایی که در آنها رشدی مشاهده نشده بود روی پلیت‌های محیط سابور دکستروز (Sabor Dextrose) آگار کشت خطی داده شد. سپس پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور در دمای  $26^{\circ}\text{C}$  درجه سانتیگراد قرار گرفتند. کمترین غلظت که پلیت‌ها فاقد کلونی بودند و سبب مرگ قارچ شده بود به عنوان MFC در نظر گرفته شد (Green et al., 1994).

## نتایج

در مورد فعالیت ضد قارچی عصاره ان هگزانی خیار دریایی، همانطور که در جدول ۱ مشاهده می شود حداقل غلظت مهار کنندگی عصاره *H. lessoni* بر قارچ *A. fumigatus* معادل ۴۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر بود. این عصاره همچنین مانع از رشد مخمر *C. albicans* در غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم در میلی لیتر شد. عصاره ان هگزانی خیار دریایی در غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر منجر به مرگ دو سویه مورد بررسی گردید. در تمام جداول، نمونه های فاقد کدورت (n) و نمونه های دارای کدورت (y) می باشد.

جدول ۱. حداقل غلظت مهار کنندگی و کشندگی ( $\mu\text{g/ml}$ ) عصاره ان هگزانی بر قارچ و مخمر

| غلظت عصاره        | <i>A. fumigatus</i> | <i>C. albicans</i> | غلظت عصاره | <i>A. fumigatus</i> | <i>C. albicans</i> |
|-------------------|---------------------|--------------------|------------|---------------------|--------------------|
| ۲                 | y                   | y                  | ۱۰۰        | y                   | y                  |
| ۴                 | y                   | y                  | ۲۰۰        | y                   | y                  |
| ۱۰                | y                   | y                  | ۳۰۰        | y                   | y                  |
| ۲۰                | y                   | y                  | ۴۰۰        | n                   | y                  |
| ۳۰                | y                   | y                  | ۵۰۰        | n                   | y                  |
| ۴۰                | y                   | y                  | ۱۰۰۰       | n                   | n                  |
| ۵۰                | y                   | y                  | ۲۰۰۰       | n                   | n                  |
| حداقل غلظت کشندگی |                     |                    | ۱۰۰۰       | ۱۰۰۰                |                    |

در مورد فعالیت ضد قارچی عصاره دی اتیل اتری خیار دریایی، بر اساس نتایج به دست آمده که در جدول ۲ قابل مشاهده است غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر به عنوان حداقل غلظت مهار کنندگی عصاره دی اتیل اتری خیار دریایی بر قارچ *A. fumigatus* و مخمر *C. albicans* شناخته شد. این عصاره در غلظت ۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر منجر به مرگ دو سویه مورد بررسی گردید.

جدول ۲. حداقل غلظت مهار کنندگی و کشندگی ( $\mu\text{g/ml}$ ) عصاره دی اتیل اتری بر قارچ و مخمر

| غلظت عصاره        | <i>A. fumigatus</i> | <i>C. albicans</i> | غلظت عصاره | <i>A. fumigatus</i> | <i>C. albicans</i> |
|-------------------|---------------------|--------------------|------------|---------------------|--------------------|
| ۲                 | y                   | y                  | ۱۰۰        | y                   | y                  |
| ۴                 | y                   | y                  | ۲۰۰        | y                   | y                  |
| ۱۰                | y                   | y                  | ۳۰۰        | y                   | y                  |
| ۲۰                | y                   | y                  | ۴۰۰        | y                   | y                  |
| ۳۰                | y                   | y                  | ۵۰۰        | y                   | y                  |
| ۴۰                | y                   | y                  | ۱۰۰۰       | n                   | n                  |
| ۵۰                | y                   | y                  | ۲۰۰۰       | n                   | n                  |
| حداقل غلظت کشندگی |                     |                    | ۲۰۰۰       | ۲۰۰۰                |                    |

در مورد فعالیت ضد قارچی عصاره متانولی خیار دریایی، بر اساس نتایج به دست آمده که در جدول ۳ قابل مشاهده است عصاره های متانولی در هیچ کدام از غلظت ها از رشد قارچ و مخمر ممانعت نکرد و اثر کشندگی نیز از خود نشان نداد. در مورد فعالیت ضد قارچی ترکیب نیستاتین بر قارچ/مخمرهای مورد مطالعه، همانطور که جدول ۴ نشان می دهد ترکیب نیستاتین از رشد قارچ های *A. fumigatus* و *C. albicans* در حداقل غلظت ۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر ممانعت نمود. نیستاتین همچنین دارای حداقل غلظت کشندگی ۱۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر بر علیه قارچ های *A. fumigatus* و *C. albicans* بود.

جدول ۳. حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی ( $\mu\text{g/ml}$ ) عصاره متانولی بر قارچ و مخمر

| غلظت عصاره        | <i>A. fumigatus</i> | <i>C. albicans</i> | غلظت عصاره | <i>A. fumigatus</i> | <i>C. albicans</i> |
|-------------------|---------------------|--------------------|------------|---------------------|--------------------|
| ۲                 | y                   | y                  | ۱۰۰        | y                   | y                  |
| ۴                 | y                   | y                  | ۲۰۰        | y                   | y                  |
| ۱۰                | y                   | y                  | ۳۰۰        | y                   | y                  |
| ۲۰                | y                   | y                  | ۴۰۰        | y                   | y                  |
| ۳۰                | y                   | y                  | ۵۰۰        | y                   | y                  |
| ۴۰                | y                   | y                  | ۱۰۰۰       | y                   | y                  |
| ۵۰                | y                   | y                  | ۲۰۰۰       | y                   | y                  |
| حداقل غلظت کشندگی |                     |                    |            |                     |                    |
|                   | n                   | n                  |            | n                   | n                  |

جدول ۴. حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی ( $\mu\text{g/ml}$ ) داروی نیستاتین بر قارچ و مخمر

| غلظت نیستاتین     | <i>A. fumigatus</i> | <i>C. albicans</i> | غلظت نیستاتین | <i>A. fumigatus</i> | <i>C. albicans</i> |
|-------------------|---------------------|--------------------|---------------|---------------------|--------------------|
| ۲                 | y                   | y                  | ۱۰۰           | n                   | n                  |
| ۴                 | y                   | y                  | ۲۰۰           | n                   | n                  |
| ۱۰                | y                   | y                  | ۳۰۰           | n                   | n                  |
| ۲۰                | y                   | y                  | ۴۰۰           | n                   | n                  |
| ۳۰                | y                   | y                  | ۵۰۰           | n                   | n                  |
| ۴۰                | y                   | y                  | ۱۰۰۰          | n                   | n                  |
| ۵۰                | n                   | n                  | ۲۰۰۰          | n                   | n                  |
| حداقل غلظت کشندگی |                     |                    |               |                     |                    |
|                   | ۱۰۰                 | ۱۰۰                |               | ۱۰۰                 | ۱۰۰                |

## بحث

ترکیبات ثانویه و طبیعی تولید شده از موجودات دریایی می‌توانند در شرایط محیطی نامناسب در مقابل عوامل محدودکننده‌ای مثل تغییرات شوری و فشار، دمای بالا و وجود عوامل بیماری‌زا به عنوان منبع مواد زیست فعال عمل نموده و فعالیت‌های بیولوژیک خاص داشته باشند و در علم داروسازی به جهت بهره‌برداری از آن‌ها و تولید داروها مورد استفاده قرار گیرند. علیرغم وجود تحقیقات انجام شده در زمینه کاربردهای گوناگون خیارهای دریایی در کشورهای مختلف، بر روی خواص ضد میکروبی و سمیت سلولی خیارهای دریایی در کشور ما مطالعات جامعی صورت نگرفته است. با وجود اینکه کشور ما در مناطق خلیج فارس و دریای عمان به عنوان یک منبع غنی از گونه‌های مختلف خیار دریایی محسوب می‌شود اما مطالعات انجام شده روی خیارهای دریایی در ایران اکثراً تنها جنبه‌های فیزیولوژیکی و زیست محیطی را پوشش می‌دهد.

ترکیبات ترپنوئیدی یکی از متابولیت‌های ثانویه مهم در خیارهای دریایی محسوب می‌شوند. تاکنون بیش از ۱۰۰ نوع گلیکوترپنوئید از خیار دریایی جداسازی و شناسایی شده است. خواص ضدباکتری، ضدقارچ، سمیت سلولی و ضدویروس خیارهای دریایی در نتیجه فعالیت این مشتقات ترپنوئیدها است. در مطالعه حاضر اثر ضد قارچی عصاره‌های خیار دریایی *H. lessoni* که از دیواره عضلانی بدن استخراج شده بودند بر برخی عوامل بیماری‌زای انسانی مورد مطالعه قرار گرفت. در سال‌های اخیر پژوهشگران مختلف اثر ضد میکروبی ترکیبات مختلف استخراج شده با غلظت‌های متفاوت از طیف گسترده‌ای از موجودات دریایی از جمله خیار دریایی را مورد بررسی قرار داده‌اند. با توجه به این نکته که هدف از انجام مطالعه حاضر آگاهی از خواص احتمالی ضد میکروبی مواد مؤثره خیارهای دریایی و کاربرد آن در علم زیست پزشکی و صنعت داروسازی در آینده می‌باشد غلظت‌های بکار گرفته شده از ۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بیشتر نبود.

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که در مقایسه تفاوت نوع حلال و در نتیجه قطبیت متابولیت‌های ثانویه مستخرج، به طور کلی عصاره ان هگزانی دارای بهترین عملکرد ضد قارچی علیه سویه‌های قارچ و مخمر مورد استفاده بود. دلیل فعالیت بالاتر عصاره ان

هگزانی نسبت به عصاره های دی اتیل اتری و متانولی را احتمالا می توان به تفاوت در نوع ترکیبات زیست فعال مستخرج با این حلال ها نسبت داد. از آنجایی که ان هگزان یک حلال غیرقطبی است انتظار می رود که روند عصاره گیری با این حلال به استخراج ترکیبات کاملاً غیر قطبی و احتمالا بیشتر رنگیزه ها منجر شود در حالی که عصاره گیری با دی اتیل اتر ترکیبات غیرقطبی به سمت نیمه قطبی را جدا کرده و در ادامه متانول تقریباً تمام ترکیبات قطبی باقی مانده را استخراج می کند. بنابراین فعالیت بالای عصاره های ان هگزانی به این معناست که ترکیبات غیر قطبی موجود در خیار دریایی (مانند اسید چرب اولئیک اسید و متیل آراشیدونات و مونوترپنوئیدها) که عمدتاً حلال مناسب آنها جهت استخراج حلال های غیر قطبی نظیر ان هگزان می باشد، دارای فعالیت ضد قارچی بالایی هستند.

عصاره متانولی خیار دریایی در مقایسه با عصاره های ان هگزانی و دی اتیل اتری اثر بازدارندگی ضعیف تری بر رشد و اثر کشندگی کمتری داشت. مشخص شده است که ترکیبات زیست فعال طبیعی با اتصال به غشای استرول مخمر *C. albicans* باعث تخریب یکپارچگی دیواره سلولی شده و از این طریق مرگ سلول و بروز فعالیت ضد قارچی را باعث می شوند که شبیه به ساز و کار عمل نیستاتین می باشد (Bordbar et al., 2011). همچنین تفاوت ها در ماهیت استخراج ها می تواند ناشی از تنوع فعالیت آنزیمی یا شرایط زیستگاهی موجودات باشد.

فعالیت ضد قارچی ترکیبات گلیکوزید تری ترین خیار دریایی *H. scabra* بر قارچ *A. fumigatus* و مخمر *C. albicans* توسط Han و همکاران (۲۰۰۹) بررسی شد. بر اساس یافته ها، ترکیبات گلیکوزیدی اثر ضد قارچی با فعالیت مهارکنندگی رشد در غلظت های ۱ تا ۱۶ میکروگرم بر میلی لیتر بر سویه های قارچی نشان دادند که بیانگر میزان کمتر MIC نسبت به مطالعه حاضر می باشد. دلیل این مساله به متفاوت بودن گونه مورد مطالعه و ساختار ترکیبات استخراج شده نسبت داده شد که نیاز به مطالعات جامع تر و دقیقتر را برای ارزیابی ارتباط بین ساختار این ترکیبات طبیعی با فعالیت های ضد قارچی نمایان می سازد.

در مطالعه دیگری در سال ۲۰۱۴ خاصیت ضد قارچی خیار دریایی گونه *S. hermanni* بر قارچ *A. niger* و مخمر *C. albicans* توسط Sarhadizadeh و همکاران بررسی شد. بر اساس یافته ها، فعالیت ضد قارچی شدیدی بر علیه قارچ *A. niger* مشاهده شد و بیان شد که این خیار دریایی می تواند کاندیدای مناسبی برای مقابله با عفونت *A. niger* در بیماران مبتلا به سل ریوی باشد. در مجموع می توان دریافت که بسیاری از گونه های خیار دریایی دارای ترکیبات طبیعی زیست فعال با خصوصیات ضد قارچی در سطوح مختلف هستند و به همین دلیل می توانند باعث ممانعت از رشد سویه های قارچی با غلظت های متفاوت شوند. علت وجود این تفاوت ها در نتایج بررسی خواص زیستی مانند اثرات ضد میکروبی در مطالعات مختلف می تواند به دلیل شرایط متنوع اکولوژی، تاثیر فصول مختلف سال و مواجه با آلودگی های مختلف میکروبی باشد که باعث سنتز متابولیت های ثانویه متفاوت و فعالیت خاص آنها می گردد.

## نتیجه گیری

در جمع بندی نهایی، نتایج بیانگر خواص ضد قارچی بیشتر عصاره ان هگزانی (غیر قطبی) بدن خیار دریایی در مقایسه با عصاره دی اتیل اتری (نیمه قطبی) و متانولی (قطبی) بود. تحقیقات صورت گرفته در مورد فعالیت های ضد میکروبی عصاره خیار دریایی جزیره قشم و سایر بررسی های انجام شده در رابطه با خیارهای دریایی در سایر مناطق خلیج فارس و دنیا نشان می دهد که ترکیبات زیست فعال طبیعی موجود در عصاره استخراج شده، اثر و فعالیت زیستی قابل توجهی دارند و می توانند کاندیداهای بالقوه ای برای سنتز آنتی بیوتیک های زیستی و سایر ترکیبات دارویی باشند. برای مطالعات آینده پیشنهاد می گردد تحقیقات بیشتری برای شناسایی ترکیبات فعال زیستی خاص مسئول فعالیت ضد قارچی و ارزیابی اثربخشی آنها در شرایط آزمایشگاهی صورت گیرد.

## تشکر و قدردانی

نویسندگان از مجموعه مدیریتی آزمایشگاه های دانشگاه هرمزگان و پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان در فراهم نمودن امکانات لازم برای انجام مطالعه حاضر قدردانی می نمایند.

## حامی مالی

مطالعه حاضر با حمایت مالی پایان نامه های دانشگاه هرمزگان و اعتبار پژوهشی نویسندگان انجام شده است.

## References

- Bahrami, Y., Zhang, W. and Franco, C. M. M., 2018. Distribution of saponins in the sea cucumber *holothuria lessoni*; the body wall versus the viscera, and their biological activities. *Marine Drugs*, 16(11), 423. <https://doi.org/10.3390/md16110423>
- Bordbar, S., Anwar, F. and Saari, N., 2011. High-value components and bioactives from sea cucumbers for functional foods-a review. *Marine Drugs*, 9(10), pp. 1761-1805. <https://doi.org/10.3390/md9101761>
- Duan, X. J., Zhang, W. W., Li, X. M. and Wang, B. G., 2006. Evaluation of antioxidant property of extract and fractions obtained from a red alga, *Polysiphonia urceolata*. *Food Chemistry*, 95(1), pp. 37-43. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.12.015>
- Green, L., Petersen, B., Steimel, L., Haeber, P. and Current, W., 1994. Rapid determination of antifungal activity by flow cytometry. *Journal of Clinical Microbiology*, 32(4), pp. 1088-1091. <https://doi.org/10.1128/jcm.32.4.1088-1091.1994>
- Han, H., Yi, Y., Li, L., Liu, B., La, M. and Zhang, H., 2009. Antifungal active triterpene glycosides from sea cucumber *Holothuria scabra*. *Acta Pharmaceutica Sinica*, 44 (6), pp. 620-624.
- Mokhlesi, A., Saeidnia, S., Gohari, A.R., Shahverdi, A.R., Nasrolahi, A., Farahani, F., Khoshnood, R. and Es'haghi N., 2012. Biological activities of the sea cucumber *Holothuria leucospilota*. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*, 7(3), pp. 243-249. <https://doi.org/10.3923/ajava.2012.243.249>
- Nazemi, M., Moradi, Y., Gozari, M., Legzaee, F. and Karimpour, M., 2016. Investigations of Antibacterial Activity of Methanol and Aqueous Ex-tracts of the Body Wall of Sea Cucumber *Holothuria leucospilota* on some Human Pathogenic Bacteria. *Avicenna Journal of Clinical Medicine*, 23 (1), pp. 75-82. <http://sjh.umsha.ac.ir/article-1-863-en.html>
- Pangestuti, R. and Arifin, Z., 2018. Medicinal and health benefit effects of functional sea cucumbers. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 8(3), pp. 341-351. <https://doi.org/10.1016/j.jtcme.2017.06.007>
- Purcell, S. W., Samyn, Y. and Conand, C., 2012. Commercially important sea cucumbers of the world. *FAO Species Catalogue for Fishery Purposes*, No. 6. Rome.
- Rasyid, A., Yasman, Y. and Putra, M. Y., 2021. Current prospects of nutraceutical and pharmaceutical use of sea cucumbers. *Pharmacia*, 68(3), pp. 561-572. <https://doi.org/10.3897/Pharmacia.68.e69140>
- Rozenblat, J. E., 1991. September. Laboratory tests used to guide antimicrobial therapy. In *Mayo Clinic Proceedings*, 66(9), pp. 942-948.
- Salari, Z., Souinezad, I., Nazemi, M. and Yousefzadi, M., 2018. Antibacterial activity of saponin extracted from the sea cucumber (*Stichopus hermanni*) collected from the Persian Gulf. *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 27 (1), pp. 59-69. <http://isfj.ir/article-1-1806-en.html>
- Sarhadizadeh, N., Afkhami, M. and Ehsanpour, M., 2014. Evaluation bioactivity of a sea cucumber, *Stichopus hermanni* from Persian Gulf. *European Journal of Experimental Biology*, 4, pp. 254-258.
- Senadheera, T. R. L., Dave, D. and Shahidi, F., 2020. Sea cucumber derived type I collagen: A comprehensive review. *Marine Drugs*, 18(9), 471. <https://doi.org/10.3390/md18090471>
- Utzeri, V. J., Ribani, A., Bovo, S., Taurisano, V., Calassanzio, M., Baldo, D. and Fontanesi, L., 2020. Microscopic ossicle analyses and the complete mitochondrial genome sequence of *Holothuria* (*Roweothuria*) *polii* (Echinodermata; Holothuroidea) provide new information to support the phylogenetic positioning of this sea cucumber species. *Marine Genomics*, 51, 100735. <https://doi.org/10.1016/j.margen.2019.100735>
- Xu, C., Zhang, R. and Wen, Z., 2018. Bioactive compounds and biological functions of sea cucumbers as potential functional foods. *Journal of Functional Foods*, 49, 73-84. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.08.009>