

بررسی و مقایسه فعالیت ضد باکتریایی عصاره متانولی خیار دریایی گونه *Holothuria leucospilota* و اسفنج گونه *Niphates furcata* جزیره هنگام خلیج فارس

چکیده

بسیاری از بی‌مهرگان دریایی مانند اسفنج‌ها و خیارهای دریایی متابولیت‌های ثانویه تولید می‌کنند که این ترکیبات کاربرد دارویی دارند. این پژوهش علمی به منظور تعیین خواص ضد باکتری عصاره متانولی استخراج‌شده از خیار دریایی گونه *H. leucospilota* و اسفنج گونه *N. Furcata* نسبت به باکتری‌های گرم مثبت باسیلوس سوبتیلیس، باسیلوس سرئوس، استافیلوکوکوس اورئوس و انتروکوکوس فکالیز و گرم منفی اشرشیاکلی، سودوموناس آنروژینوزا و سراسیا مارسینس استفاده از روش رقت لوله ای طراحی شده است. نتایج آزمایش نشان داد که عصاره متانولی استخراج‌شده از اسفنج از رشد تمام باکتری‌های گرم مثبت و منفی جلوگیری می‌کند و اثر کشندگی روی باکتری‌های گرم مثبت باسیلوس سوبتیلیس در غلظت ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سرئوس در غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و گرم منفی اشرشیاکولای در غلظت ۳۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و سراسیا مارسینس در غلظت ۲۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از خود نشان داد؛ اما عصاره متانولی خیار دریایی نسبت به عصاره متانولی اسفنج اثر ضد باکتریایی کمتری از خود نشان می‌دهد، این عصاره از رشد باکتری‌های گرم مثبت همانند باسیلوس سوبتیلیس و باسیلوس سرئوس در غلظت ۳۰ میلی‌گرم، استافیلوکوکوس اورئوس در غلظت ۱۰ میلی‌گرم و گرم منفی اشرشیاکولای در غلظت ۳۰ میلی‌گرم و سراسیا مارسینس در غلظت ۱۰ میلی‌گرم جلوگیری نمود اما تنها روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در غلظت ۴۰ میلی‌گرم اثر کشندگی نشان داد. عصاره متانولی اسفنج اثر ضد باکتریایی را بسیار قوی‌تر از عصاره متانولی خیار دریایی از خود نشان داد، بنابراین این عصاره در مقایسه با عصاره متانولی خیار دریایی دارای ترکیبات ضد باکتریایی بیشتری است.

واژگان کلیدی: اسفنج، خیار دریایی، خواص زیستی، متابولیت ثانویه، جزیره هنگام، خلیج فارس.

ملیکا ناظمی^{۱*}

سعید تمدنی جهرمی^۲

زهرا سالاری^۳

محسن گذری^۴

۱. ۲. استادیار، بخش ژنتیک و زیست‌فناوری، پژوهشگاه اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بندرعباس، ایران.

۳. گروه شیلات، دانشکده علوم و فنون دریایی،

دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران

۴. گروه میکروبیولوژی، بخش ژنتیک و زیست‌فناوری، پژوهشگاه اکولوژی خلیج فارس، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور و دریای عمان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بندرعباس، ایران

*مسئول مکاتبات:

melikanazemi@yahoo.com

کد مقاله: ۱۳۹۵۰۴۰۴۱۰

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۱/۲۸

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۰/۱۵

این مقاله برگرفته از طرح پژوهشی است.

مقدمه

در عصر حاضر ترکیبات طبیعی نقش بسیار زیادی در علوم پزشکی و دارویی ایفا می‌نمایند، در این میان نقش ترکیبات طبیعی با مشاء دریایی در سال‌های اخیر بسیار حائز اهمیت می‌باشد. به نظر می‌رسد وجود ترکیباتی با ساختار استروئیدی و اتم‌های هیدروژن که به دلیل محیط‌زیست جانداران دریایی، آب، چنین ساختارهایی شکل می‌گیرد آن‌ها را از سایر ترکیبات طبیعی متمایز می‌نماید (Mancini et al., 2007). شاید دلیل چنین امری این باشد که حیات در اقیانوس‌ها بیش از ۳/۵ میلیون سال قدمت دارد، بنابراین زمانی که ترکیبات طبیعی سنتز شده توسط آبزیان با جانداران خشکی زی مقایسه می‌شود ترکیبات بیشتر و متکامل‌تری با خواص بیولوژیک یافت می‌گردد، که علت چنین پدیده‌ای فرصت تکاملی بیشتری

است که آبزبان نسبت به جانداران خشکی زی از آن برخوردار بوده‌اند (Jimeno et al., 2004). باوجود آنکه کمتر از چهار دهه از تلاش دانشمندان در رابطه با خواص زیستی ترکیبات شیمیایی جانداران دریایی می‌گذرد اما تعداد این ترکیبات نسبت به سایر منابع بسیار بیشتر است (Munro, 1998).

تحقیقات انجام‌شده نشان می‌دهد که تعداد بسیاری از هزاران ترکیب استخراج و شناسایی شده (متابولیت‌های ثانویه) دارای خواص بیولوژیک هستند (Raviña, 2011). دلیل تولید چنین ترکیباتی دفاع در برابر شکارچیان، مقابله با جاندارانی که روی سطح اسفنج‌ها قرار گرفته و حیات آن‌ها را تهدید نموده و همچنین کنترل باکتری‌های داخلی که بیش از ۵۰ درصد توده زیستی اسفنج‌ها را شامل شده، می‌باشد (Rifai et al., 2004). آزمایش‌ها و بررسی‌های انجام‌شده نشان می‌دهد که خواص ضد تومور، سیتوتوکسیک، نورو توکسیک، ضد باکتری، ضد ویروس، ضد قارچ، مهار کنند تقسیم میتوز، ضد پروتوزوا، ضد التهاب، ضد پیری، ممانعت کننده بیماری آیلزایمر، ضد مالاریا از بیشترین خواص بیولوژیک متابولیت‌های ثانویه آبزبان می‌باشد (Newman and Cragg, 2004).

تاکنون نزدیک به ۱۵۰۰۰ ترکیب طبیعی از جانداران دریایی استخراج و شناسایی شده است که از این تعداد ۴۵ ترکیب با خواص دارویی در مراحل آزمایشی پیش بالینی و بالینی قرار دارند (Newman and Cragg, 2004). بسیاری از این ترکیبات استخراج‌شده که دارای خواص دارویی هستند از اسفنج‌ها و میکروارگانیسم‌های همزیست آن‌ها جداسازی شده‌اند (Piel, 2006). در مطالعه انجام‌شده توسط Müller و همکاران در سال ۲۰۰۸ مشخص شد که طی چهار دهه اخیر از ۵۰۰ گونه اسفنج که مورد بررسی و آزمایش قرار گرفته بودند بیش از ۵۰۰۰ ترکیب با خواص بیولوژیک جداسازی و شناسایی شده است.

مطالعات انجام‌شده نشان می‌دهد خیارهای دریایی که گروه بزرگی از آبزبان را تشکیل می‌دهد و از نظر رده‌بندی در راسته خارپوستان قرار می‌گیرند، منبع غنی از ترکیبات طبیعی با خواص بیولوژیک می‌باشند، در چین و مالزی به‌صورت صنعتی از سالیان قبل به‌عنوان دارو در درمان بیماری‌های فشارخون بالا، آسم، روماتیسم، بریدگی و سوختگی، ناتوانی جنسی و یبوست استفاده می‌گردد (Chen, 2003).

با توجه به خواص بیولوژیک متابولیت‌های ثانویه آبزبان در این تحقیق علمی به بررسی و مقایسه اثرات ضد باکتریایی عصاره‌های متانولی اسفنج *Niphatеs furcata* که متعلق به شاخه پوریفرا و از بی‌مهرگان ابتدایی و فاقد بافت می‌باشند و خیار دریایی گونه *Holothuria leucospilota* که متعلق به شاخه خارپوستان که از نظر تکاملی از اسفنج‌ها پیشرفته‌تر می‌باشند پرداخته شده است.

مواد و روش‌ها

نمونه‌های اسفنج *N. furcata* و خیار دریایی *H. leucospilota* که در شکل ۱ مشاهده می‌گردد، در آبان ماه سال ۱۳۹۲ از عمق ۱۰ تا ۱۵ متر از جزیره هنگام، توسط غواصی تهیه شدند.

نمونه‌های خیار دریایی (پس از خالی نمودن اندام‌های داخلی) و اسفنج پس از صید به مدت ۷۲ ساعت در فریزر و در دمای ۲۴- درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. سپس نمونه‌ها در اندازه یک سانتی‌متری برش داده‌شده و به دستگاه فریز درایر برای خشک شدن نمونه‌ها منتقل شدند، پس از خشک شدن با استفاده از آسیاب نمونه‌های تهیه‌شده پودر شدند (وزن خشک اسفنج: ۱۰۳ گرم از ۴۸۰ گرم وزن تر، وزن خشک خیار ۲۰۰ گرم از ۴۰۰۰ گرم وزن تر).

عصاره گیری با استفاده از روش Bligh و Dyer (۱۹۵۹) انجام شد؛ به‌منظور جداسازی ترکیبات قطبی به پودرهای تهیه‌شده ۵۰۰ سی‌سی متانول اضافه گردید و به مدت ۷۲ ساعت در آزمایشگاه در دمای اتاق ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. پس از ۷۲ ساعت محلول به‌دست‌آمده

را از صافی گذرانده تا ذرات معلق از آن جدا شده و آنچه باقی ماند، حلال متانولی و ترکیبات آلی موجود در نمونه بود. عصاره قطبی به‌دست‌آمده، به دستگاه روتاری منتقل گردید و در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد و دور ۱۴۵، به مدت ۱۲۰ ساعت قرار داده شد.



شکل ۱: محل نمونه‌برداری در این بررسی (با دایره نارنجی رنگ مشخص شده است).



شکل ۲: نمونه‌های مورد بررسی (الف) خیار دریایی *Holothuria leucospilota* (ب)، اسفنج *Niphates furcata* (عکس از نگارنده)

بررسی خواص ضد باکتریایی با استفاده از روش رقت لوله ایی (Bacterial Broth Dilution Methods) به شرح زیر انجام گرفت (Rosenblatt, 1991).

سویه‌های باکتری *Pseudomonas*, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Escherichia coli* ATCC 15224, *Staphylococcus aureus* ATCC 1764, *Bacillus subtilis* sp. *zizzenii* ATCC 6633, *aeruginosa* ATCC 25619, *Bacillus cereus* PTCC 1665, *Serratiamarcescens* PTCC 1621 از مرکز کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های صنعتی ایرانیه صورت لیوفیلیزه تهیه شد، سپس هر کدام از سویه‌ها کشت اولیه داده شدند و به مدت ۲۴ تا ۷۲ ساعت بر اساس میزان سرعت رشد باکتری‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور قرار داده شدند تا از کلونی‌های تک به‌منظور انجام آزمایش استفاده شود. پس از رشد باکتری‌ها آن‌ها از انکوباتور خارج نموده و با استفاده از آنس از کلونی‌های تک ایجادشده به محیط برات در لوله‌های آزمایش وارد نموده، این کار را آن‌قدر تکرار شد تا کدورت محیط برات با کدورت لوله مک فارلند ۰/۵ (McFarland 0.5) یکسان شد.

پس از رقت لوله مک فارلند به تعداد $10 \times 1/5$ باکتری به مقدار ۱ میلی‌لیتر به هر کدام از لوله‌های استریل اضافه شد، سپس هر کدام از عصاره‌های متانولی خیار دریایی و اسفنج به‌طور جداگانه با غلظت‌های ۵۰، ۴۰، ۳۰، ۲۰، ۱۰، ۵، ۳، ۲، ۱/۵، ۰/۷۵، ۰/۵۰، ۰/۱۰، ۰/۰۵ و ۰/۰۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر که در محیط برات حل‌شده بود به مقدار ۱ میلی‌لیتر به لوله‌های فوق افزوده شد. برای در نظر گرفتن شاهد مثبت از آنتی‌بیوتیک‌های تتراسایکلین و آمپی‌سیلین با غلظت‌های ۵۰، ۴۰، ۳۰، ۲۰، ۱۰، ۵، ۳، ۲، ۱/۵، ۰/۷۵، ۰/۵۰، ۰/۱۰، ۰/۰۵ و ۰/۰۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر استفاده شد و به‌عنوان شاهد منفی به یکی از لوله‌ها ماده فعال بیولوژیک اضافه نگردید. در داخل یک لوله نیز تنها محیط کشت فاقد ماده مؤثره و باکتری قرار داده شد تا در صورت آلودگی محیطی خطای آزمایش مشخص گردد. سپس سر تمام لوله‌ها با پنبه بسته شد و در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد.

پس از ۲۴ ساعت لوله‌های آزمایش از انکوباتور خارج‌شده و کدورت آن‌ها موردبررسی قرار گرفتند. لوله کنترل که فاقد ترکیبات فعال بیولوژیک بوده بسیار کدر شده بودند. برای ادامه کار سایر لوله‌ها با لوله مذکور به‌صورت چشمی مقایسه شدند (این آزمایش برای هر سویه باکتری و هر عصاره با سه بار تکرار انجام شد) و لوله‌هایی را که کدورت داشتند از ادامه کار خارج شدند و لوله‌هایی که در آن کدورت ایجاد نشده بود به‌منظور ادامه کار جدا شدند. لازم به ذکر است غلظت مواد مصرفی در لوله‌های بدون کدورت میزان (Minimum Inhibitory Concentration) MIC که به معنای ممانعت از رشد و افزایش تعداد باکتری‌ها می‌باشد را نشان داده که خود گواه آن خواهد بود که می‌تواند به‌عنوان یک انتخاب مناسب ضد باکتریایی به‌منظور درمان بیماران مورد آزمایش‌های بعدی قرار بگیرد.

در ادامه آزمایش به‌منظور تعیین توانایی عصاره‌های موردنظر در از بین بردن باکتری‌ها از لوله‌هایی که در آن‌ها کدورت مشاهده نشده بود به مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر به پلیت‌های استریل تزریق نموده و محیط نوترینت آگار به آن اضافه شد. سپس پلیت‌ها به انکوباتور منتقل شدند و در دمای ۳۷ سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت نگهداری شدند. پس از ۲۴ ساعت پلیت‌ها بررسی شدند و تعداد کلونی‌های تشکیل‌شده (CFU) شمرده شد که این مقدار برابر با (Minimum Bactericidal Concentration) MBC می‌باشد (Rosenblatt, 1991).

نتایج

همان‌طور که از جدول ۱ برداشت می‌شود؛ حداقل اثر مهارکنندگی از رشد باکتری (MIC) عصاره متانولی خیار دریایی گونه *H. leucospilota* برای باکتری‌های اشرشیاکولای، باسیلوس سوبتیلیس و باسیلوس سرئوس برابر ۳۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس، سراشیا مارسنس برابر ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بوده است. عصاره متانولی خیار دریایی روی باکتری‌های سودوموناس آئروژینوزا و انتروکوکوس فکالیس اثر مهارکنندگی رشد از خود نشان نداده است.

طبق جدول ۱؛ حداقل اثر مهارکنندگی از رشد باکتری (MIC) عصاره متانولی اسفنج گونه *N. furcata* برای باکتری‌های اشرشیاکولای، استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سرئوس برابر ۳ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، باکتری‌های انتروکوکوس فکالیس و سودوموناس آئروژینوزا برابر ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، باکتری باسیلوس سوبتیلیس برابر ۲ میلی‌گرم و باکتری سریشیا مارسینس برابر ۵ میلی‌گرم بوده است.

جدول ۱: حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) عصاره متانولی خیار دریایی گونه *Holothuria leucospilota* و اسفنج گونه *Niphates furcata* روی باکتری‌های مورد آزمایش.

سویه‌های باکتری	عصاره متانولی <i>H. leucospilota</i> میلی گرم/میلی لیتر	عصاره متانولی <i>N. furcata</i> میلی گرم/میلی لیتر	تترا سایکلین میلی گرم/میلی لیتر	آمپی سیلین میلی گرم/میلی لیتر
<i>Escherichia coli</i> ATCC ۱۵۲۲۴	۳۰	۳	۰/۷۵	۰/۷۵
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC ۲۹۲۱۲	-	۱۰	۰/۷۵	۰/۷۵
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC ۲۵۶۱۹	-	۱۰	۱/۵	۱/۵
<i>Bacillus subtilis</i> sp. <i>pizizenii</i> ATCC ۶۶۳۳	۳۰	۲	۰/۷۵	۰/۷۵
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC ۱۷۶۴	۱۰	۳	۰/۷۵	۰/۷۵
<i>Serratiamarcescens</i> PTCC ۱۶۲۱	۱۰	۵	۰/۷۵	۰/۷۵
<i>Bacillus cereus</i> PTCC ۱۶۶۵	۳۰	۳	۱/۵	۱/۵

همان‌طور که از جدول ۲ برداشت می‌شود؛ حداقل اثر کشندگی باکتری (MBC) عصاره متانولی خیار دریایی برای باکتری استافیلوکوکوس اورئوس برابر ۴۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر است، اما این عصاره روی باکتری‌های اشرشیاکولای، انتروکوکوس فکالیس، سودوموناس آئروژینوزا، باسیلوس سوبتیلیس، سریشیا مارسینس و باسیلوس سرئوس اثر کشندگی از خود نشان نداده است.

بر اساس نتایج آزمایش در جدول شماره ۲ حداقل اثر کشندگی باکتری (MBC) عصاره متانولی اسفنج برای باکتری اشرشیاکولای برابر ۳۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، باکتری سریشیا مارسینس برابر ۲۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سرئوس برابر ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، باکتری باسیلوس سوبتیلیس برابر ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر است، اما عصاره متانولی اسفنج روی باکتری‌های انتروکوکوس فکالیس و سودوموناس آئروژینوزا اثر کشندگی از خود نشان نداده است.

جدول ۲: حداقل غلظت کشندگی (MBC) عصاره متانولی خیار دریایی گونه *Holothuria leucospilota* و اسفنج گونه *Niphates furcata* روی باکتری‌های مورد آزمایش.

سویه‌های باکتری	عصاره متانولی <i>H. leucospilota</i> میلی گرم/میلی لیتر	عصاره متانولی <i>N. furcata</i> میلی گرم/میلی لیتر	تترا سایکلین میلی گرم/میلی لیتر	آمپی سیلین میلی گرم/میلی لیتر
<i>Escherichia coli</i> ATCC ۱۵۲۲۴	-	۳۰	۱/۵	۱/۵
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC ۲۹۲۱۲	-	-	۳	۳
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC ۲۵۶۱۹	-	-	۳	۳
<i>Bacillus subtilis</i> sp. <i>pizizenii</i> ATCC ۶۶۳۳	-	۵	۲	۲
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC ۱۷۶۴	۴۰	۱۰	۱/۵	۱/۵
<i>Serratiamarcescens</i> PTCC ۱۶۲۱	-	۲۰	۰/۷۵	۰/۷۵
<i>Bacillus cereus</i> PTCC ۱۶۶۵	-	۱۰	۳	۳

بحث و نتیجه گیری

بررسی‌های انجام شده در رابطه با خواص بیولوژیک خارپوستان نشان می‌دهد که بیشترین ترکیبات شیمیایی دارای خواص بیولوژیک متعلق به خیارهای دریایی می‌باشد (Bordbar et al., 2011)، از طرف دیگر بیشترین متابولیت ثانویه با خواص بیولوژیک متعلق به اسفنج‌ها است (Blunt et al., 2007)، با توجه به اهمیت خواص زیستی این دوشاخه که اسفنج به عنوان اولین شاخه بی‌مهرگان و خیار دریایی به عنوان شاخه متکامل بی‌مهرگان است، در این تحقیق علمی خواص ضد میکروبی آن‌ها مورد بررسی قرار گرفته است.

نتایج آزمایش نشان می‌دهد که عصاره متانولی استخراج شده از خیار دریایی *H. leucospilota* و اسفنج گونه *N. furcata* از رشد باکتری‌های گرم مثبت باسیلوس سوبتیلیس، استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سرئوس جلوگیری می‌کنند؛ اما عصاره متانولی اسفنج گونه *N. furcata* در غلظت ۲ میلی گرم بر میلی لیتر از رشد باکتری باسیلوس سوبتیلیس و ۳ میلی گرم بر میلی لیتر از رشد باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سرئوس جلوگیری می‌کند، لازم به ذکر است حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره متانولی اسفنج بسیار کمتر از عصاره متانولی خیار دریایی *H. leucospilota* اثر گذاشته است. عصاره متانولی خیار دریایی تنها در غلظت ۴۰ میلی گرم بر میلی لیتر اثر کشندگی روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس از خود نشان داده است؛ اما عصاره متانولی اسفنج مورد بررسی بسیار قوی تر اثر کرده و در غلظت ۱۰ میلی گرم بر میلی لیتر روی باکتری‌های گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سرئوس و در غلظت ۵ میلی گرم بر میلی لیتر اثر کشندگی روی باکتری باسیلوس سوبتیلیس از خود نشان داده است. علت اثربخشی بیشتر عصاره متانولی اسفنج و خیار دریایی به شرایط بیولوژیک این دو جاندار بازمی‌گردد از آنجاکه اسفنج‌ها ساده‌ترین جانداران در رده بندی بی‌مهرگان هستند و هیچ گونه سیستم دفاعی و حرکتی به منظور مقابله با مهاجمین برای ادامه بقا ندارند، تمام سیستم دفاعی آن‌ها در سنتز متابولیت های ثانویه خلاصه می‌شود که همین امر باعث می‌شود به عنوان آبرسانی با بیشترین خواص بیولوژیک شناخته شوند (Nazemi et al., 2014).

در مطالعه ایی که روی عصاره‌های اسفنج *Ircinia mutans* از جزیره کیش انجام شده است، نتایج به دست آمده نشان داد که عصاره متانولی در غلظت ۳۰ میلی گرم بر میلی لیتر از رشد باکتری‌های گرم مثبت باسیلوس سوبتیلیس و استافیلوکوکوس اورئوس جلوگیری می‌کنند (Nazemi et al., 2014). آزمایش انجام شده روی عصاره‌های متانولی و کلروفنی اسفنج *Haliclona* spp. از جزیره کرا در مالزی که اثر ضد باکتریایی روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس با استفاده از روش برات مورد ارزیابی قرار گرفته بود مشخص شده که عصاره متانولی در غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر و عصاره کلروفنی در غلظت ۳۰ میلی گرم بر میلی لیتر از رشد این باکتری جلوگیری می‌نماید (Darah et al., 2011). در آزمایش دیگری که روی بررسی خواص ضد باکتری عصاره متانولی استخراج شده از خیار دریایی *H. leucospilota* از جزیره لارک انجام شد عصاره متانولی اثر ضد باکتری روی باکتری‌های گرم مثبت نشان نداده است (Farjami et al., 2013).

همان‌طور که نتایج نشان می‌دهد؛ در این پژوهش علمی عصاره متانولی استخراج شده از خیار دریایی *H. leucospilota* از رشد باکتری‌های باکتری‌های گرم منفی اشرشیاکولای و سراسیا مارسنس جلوگیری می‌کند، اما اثر کشندگی روی هیچ کدام از باکتری‌های نشان نمی‌دهد. درحالی که عصاره متانولی اسفنج گونه *N. furcata* از رشد باکتری‌های گرم منفی اشرشیاکولای و سراسیا مارسنس جلوگیری نموده و در غلظت‌های ۳۰ و ۲۰ میلی گرم بر میلی لیتر اثر کشندگی از خود نشان می‌دهد. در این مطالعه اسفنج مورد نظر بسیار بیشتر از سایر گونه‌های اسفنجی مورد مطالعه در خلیج فارس اثر ضد باکتری از خود نشان می‌دهد که دلیل آن را می‌توان به وجود بار آلودگی میکروبی در محیط و یا فصل نمونه برداری نسبت داد، زیرا ترکیبات فعال زیستی هوشمندانه و بر اساس شرایط اکولوژی - شیمیایی سنتز می‌شوند (Sipkema et al., 2005). مطالعه‌ای در رابطه با خواص ضد باکتریایی عصاره‌های متانولی اسفنج گونه *Topsentia ophiraphidites* و عصاره کلروفنی اسفنج گونه *Niphate serecta* انجام شد عصاره‌های ذکر شده در غلظت‌های ۱/۵ و ۲ میلی گرم بر میلی لیتر از رشد باکتری اشرشیاکولای جلوگیری کردند (Galeano Santamaría et al., 2007). آزمایش‌های انجام شده توسط فرجامی و همکاران در سال ۱۳۹۳ نشان می‌دهد که عصاره متانولی

استخراج‌شده از خیار دریایی گونه *H. leucospilota* روی باکتری اشرشیاکلای هیچ‌گونه اثری از خود نشان نمی‌دهد اما عصاره کلروفومی و آن هگزانی در غلظت‌های ۵ و ۲ میلی گرم در میلی لیتر از رشد باکتری مذکور جلوگیری می‌کند. همان‌طور که نتایج این تحقیق نشان می‌دهد اثر ضد باکتری عصاره متانولی خیار دریایی و اسفنج روی باکتری‌های گرم مثبت بیشتر است که علت آن ساختار دیواره باکتری‌های گرم مثبت است؛ اما همان‌طور که نتایج نشان می‌دهد اثر ضد باکتری عصاره متانولی اسفنج *N. furcata* از خیار دریایی *H. leucospilota* بیشتر است. عصاره متانولی اسفنج از رشد تمام باکتری‌های گرم مثبت جلوگیری می‌نماید. از آنجاکه اسفنج‌های ساده‌ترین پرسول‌های چسبیده به بستر دریایی می‌باشند و فاقد هرگونه سیستم دفاعی مکانیکی می‌باشند می‌توان نتیجه گرفت این جانداران با سنتز ترکیبات شیمیایی یا متابولیت‌های ثانویه با ساختار شیمیایی ترپنوئیدی و پپتیدی با مهاجمان بیماری‌زا نظیر باکتری‌ها و قارچ‌ها و شکارچیان در طور حیات خود مقابله کرده‌اند.

سپاسگزاری

این مقاله منتج از پروژه تحقیقاتی با کد مصوب "۹۲۱۲۸-۱۲-۷۵-۲" پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور می‌باشد. بدین‌وسیله از همکاری عزیزانی که در انجام آن با ما همکاری داشته‌اند سپاسگزاری می‌گردد. ضمناً نتایج این مطالعه با منافع نویسندگان در تعارض نمی‌باشد.

منابع

- Bligh, E. G. and Dyer, W. J., 1959.** A rapid method of total lipid extraction and purification. Canadian journal of biochemistry and physiology, 37 (8):911-917.
- Blunt, J. W., Copp, B. R., Hu, W.-P., Munro, M., Northcote, P. T. and Prinsep, M. R., 2007.** Marine natural products. Natural Product Reports, 24 (1):31-86.
- 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):1761-1805.
- Chen, J., 2003.** Overview of sea cucumber farming and sea ranching practices in China. SPC. beche-de-mer Information Bulletin ,18:18-23.
- Darah, I., Lim, C., Nurul-Aili, Z., Nor-Afifah, S. and Shaida-Fariza, S., 2011.** Effects of methanolic extract of a soft sponge, *Haliclona* sp. on bacterial cells: structural degeneration study. International Journal. Comprehensive Pharmacology, 2:1-6.
- Farjami, B., Nematollahi, M. A., Moradi, Y., Irajian, G., Nazemi, M., Ardebili A. and Pournajaf, A., 2013.** Antibacterial activity of the sea cucumber *Holothuria leucospilota*. International Journal of Molecular and Clinical Microbiology, 3 (1):225-230.
- Galeano Santamaría, C., Alonso Pardo, M. E., Martínez, E. and Suardíaz Pareras, J. H., 2007.** Caracterización de la educación en el trabajo para el perfil de laboratorio en la carrera de Tecnología de la Salud. Educación Médica Superior, 21 (2):0-0.
- Jimeno, J., Faircloth, G., Sousa-Faro, J., Scheuer, P. and Rinehart K., 2004.** New Marine Derived Anticancer Therapeutics— A Journey from the Sea to Clinical Trials. Marine Drugs, 2 (1):14-29.

- Mancini, I., Defant, A. and Guella, G., 2007.** Recent synthesis of marine natural products with antibacterial activities. *Anti-Infective Agents in Medicinal Chemistry*, 6 (1):17-48.
- Müller, W. E., Schloßmacher, U., Wang, X., Boreiko, A., Brandt, D., Wolf, S. E., Tremel, W. and Schröder, H. C., 2008.** Poly (silicate)-metabolizing silicatein in siliceous spicules and silicasomes of demosponges comprises dual enzymatic activities (silica polymerase and silica esterase). *Federation of European Biochemical Societies journal* 275 (2):362-370.
- Munro, M. H., 1998.** Marine bioprocess engineering: from ocean to industry Meeting.
- Nazemi, M., Moghanjoghi, A. A., Jamili, S., Mashinchian, A. and Mostafavi, G. P., 2014.** Comparison of antibacterial activities of *Ircinia* mutants extracts in two different seasons from Kish Island, Persian Gulf, Iran. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 13 (4):823-833.
- Newman, D. J. and Cragg, G. M., 2004.** Marine natural products and related compounds in clinical and advanced preclinical trials. *Journal of natural products*, 67 (8):1216-1238.
- Piel, J, 2006.** Bacterial symbionts: prospects for the sustainable production of invertebrate-derived pharmaceuticals. *Current medicinal chemistry*, 13 (1):39-50.
- Raviña, E., 2011.** The evolution of drug discovery: from traditional medicines to modern drugs: John Wiley & Sons.
- Rifai, S., Fassouane, A. F., Kijjoa, A. and Van Soest, R., 2004.** Antimicrobial activity of untenospongin B, a metabolite from the marine sponge *Hippospongia communis* collected from the Atlantic coast of morocco. *Marine Drugs*, 2 (3):147-153.
- Rosenblatt, J. E., 1991.** Laboratory tests used to guide antimicrobial therapy. Paper read at Mayo Clinic Proceedings.
- Sipkema, D., Franssen, M. C., Osinga, R., Tramper, J. and Wijffels, R. H., 2005.** Marine sponges as pharmacy. *Marine Biotechnology*, 7 (3):142-162.