

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

ملیکا ناظمی^{۱*}سعید تمدنی جهرمی^۲زهرا سالاری^۳محسن گذری^۴

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

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

۳. گروه میکروبیولوژی، بخش ژنتیک و زیست‌فناوری، پژوهشکده 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.

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 مтанولی استخراج شده از خیار دریایی گونه *H. leucospilotata* و اسفنج گونه *N. Furcata* نسبت به باکتری‌های گرم مثبت باسیلوس سوبتیلیس، باسیلوس سرئوس، استافیلوکوکوس آورئوس و انتروكوکوس فکالیس و گرم منفی اشرشیاکلی، سودوموناس آئروزینوزا و سراشیا مارسینس استفاده از روش رقت لوله ابی طراحی شده است. نتایج آزمایش نشان داد که عصاره مтанولی استخراج شده از اسفنج از رشد تمام باکتری‌های گرم مثبت و منفی جلوگیری می‌کند و اثر کشنده روی باکتری‌های گرم مثبت باسیلوس سوبتیلیس در غلظت ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، استافیلوکوکوس آورئوس و باسیلوس سرئوس در غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و گرم منفی اشرشیاکلی در غلظت ۳۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و سراشیا مارسینس در غلظت ۲۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از خود نشان داد؛ اما عصاره مтанولی خیار دریایی نسبت به عصاره مtanولی اسفنج اثر ضد باکتریایی کمتری از خود نشان می‌دهد، این عصاره از رشد باکتری‌های گرم مثبت همانند باسیلوس سوبتیلیس و باسیلوس سرفوسدر غلظت ۳۰ میلی‌گرم، استافیلوکوکوس آورئوس در غلظت ۱۰ میلی‌گرم و گرم منفی اشرشیاکلی در غلظت ۳۰ میلی‌گرم و سراشیا مارسینس در غلظت ۱۰ میلی‌گرم جلوگیری نمود اما تنها روی باکتری استافیلوکوکوس آورئوس در غلظت ۴۰ میلی‌گرم اثر کشنده نشان داد. عصاره مtanولی اسفنج اثر ضد باکتریایی را بسیار قوی‌تر از عصاره مtanولی خیار دریایی از خود نشان داد، بنابراین این عصاره در مقایسه با عصاره مtanولی خیار دریایی دارای ترکیبات ضد باکتریایی بیشتری است.

واژگان کلیدی: اسفنج، خیار دریایی، خواص زیستی، متابولیت ثانویه، جزیره هنگام، خلیج فارس.**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 مرسد وجود ترکیباتی با ساختار استروژنی 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 $\frac{3}{5}$ میلیون سال قدمت دارد، بنابراین زمانی که ترکیبات طبیعی سنتز شده توسط آبزیان با جانداران خشکی زی مقایسه می‌شود ترکیبات بیشتر و متكامل‌تری با خواص بیولوژیک یافت می‌گردد، که علت چنین پدیده‌ای فرصت تکاملی بیشتری

است که آبزیان نسبت به جانداران خشکی زی از آن برخوردار بوده‌اند (Jimeno *et al.*, 2004). با وجود 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 (متabolit های ثانویه) دارای خواص بیولوژیک هستند (Ravina, 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، نوروتوکسیک، ضد باکتری، ضدپیروس، ضد قارچ، مهار کنند تقسیم می‌توزو، ضد پروتوزوا، ضدالتهاب، ضدپیری، ممانعت کننده بیماری آیلزایمر، ضد مalaria از بیشترین خواص بیولوژیک متabolit های ثانویه آبزیان می‌باشد (Newman and Cragg, 2004).

تاکنون نزدیک به ۱۵۰۰ 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 استخراج شده که دارای خواص دارویی هستند از اسفنج‌ها و میکروگارگانیسم‌های 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 آبزیان را تشکیل می‌دهد و از نظر رده‌بندی در راسته خارپستان قرار می‌گیرند، منبع غنی از ترکیبات طبیعی با خواص بیولوژیک می‌باشد، در چین و مالزی به صورت صنعتی از سالیان قبل به عنوان دارو در درمان بیماری‌های فشارخون بالا، آسم، روماتیسم، بردگی و سوختگی، ناتوانی جنسی و بیوست استفاده می‌گردد (Chen, 2003).

با توجه به خواص بیولوژیک متabolit های ثانویه آبزیان در این تحقیق علمی به بررسی و مقایسه اثرات ضد باکتریایی عصاره‌های متابولی اسفنج *Holothuria leucospilota* که متعلق به شاخه پوریفرا و از بی‌مهرگان ابتدایی و فاقد بافت می‌باشد و خیار دریایی گونه *Niphates furcata* که متعلق به شاخه خارپستان که از نظر تکاملی از اسفنج‌ها پیشرفته‌تر می‌باشد 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 تهییه شدند.

نمونه‌های خیار دریایی (پس از خالی نمودن اندام‌های داخلی) و اسفنج پس از صید به مدت ۷۲ ساعت در فریزر و در دمای -۲۴-۲۶ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. سپس نمونه‌ها در اندازه یک سانتی‌متری برش داده شده و به دستگاه فریز درایر برای خشک شدن نمونه‌ها منتقل شدند، پس از خشک شدن با استفاده از آسیاب نمونه‌های تهییه شده پودر شدند (وزن خشک اسفنج: ۱۰۳ گرم از ۴۸۰ گرم وزن تر، وزن خشک خیار ۲۰۰ گرم از ۴۰۰ گرم وزن تر).

عصاره گیری با استفاده از روش Bligh و Dyer (۱۹۵۹) انجام شد؛ به منظور جداسازی ترکیبات قطبی به پودرهای تهییه شده ۵۰۰ سی سی متابول اضافه گردید و به مدت ۷۲ ساعت در آزمایشگاه در دمای اتاق ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. پس از ۷۲ ساعت محلول به دست آمده

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



شکل ۱: محل نمونه برداری 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 ای (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 subtilisspizizenii* ATCC 6633 *aeruginosa* ATCC 25619 از مركز کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های صنعتی ایرانیه صورت *Bacillus cereus* PTCC 1665 *Serratiamarcescens* PTCC 1621 لیوفیلیزه تهیه شد، سپس هرکدام از سویه‌ها کشت اولیه داده شدند و به مدت ۲۴ ساعت بر اساس میزان سرعت رشد باکتری‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور قرار داده شدند تا از کلونی‌های تک به منظور انجام آزمایش استفاده شود. پس از رشد باکتری‌ها آن‌ها از انکوباتور خارج نموده و با استفاده از آنس از کلونی‌های تک ایجاد شده به محیط برات در لوله‌های آزمایش وارد نموده، این کار را آن‌قدر تکرار شد تا کدورت محیط برات با کدورت لوله مک فارلاند ۰/۵ (McFarland 0.5) یکسان شد.

پس از رقت لوله مک فارلاند به تعداد $1/5 \times 10^6$ باکتری به مقدار ۱ میلی‌لیتر به هرکدام از لوله‌های استریل اضافه شد، سپس هرکدام از عصاره‌های متابولی خیار دریایی و اسفنج به طور جداگانه با غلظت‌های $1/5$, $1/10$, $1/20$, $1/40$, $1/50$, $1/75$, $1/100$, $1/200$ و $1/400$ میلی‌گرم در میلی‌لیتر که در محیط برات حل شده بود به مقدار ۱ میلی‌لیتر به لوله‌های فوق افزوده شد. برای در نظر گرفتن شاهد مثبت از آنتی‌بیوتیک‌های تتراسایکلین و آمپی‌سیلین با غلظت‌های با غلظت‌های $1/5$, $1/10$, $1/20$, $1/40$, $1/50$, $1/75$, $1/100$, $1/200$ و $1/400$ میلی‌گرم در میلی‌لیتر استفاده شد و به عنوان 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 آسودگی 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 خارج شده و کدورت آن‌ها مورد بررسی قرار گرفتند. لوله کنترل که فاقد ترکیبات فعال بیولوژیک بوده بسیار کدر شده بودند. برای ادامه کار سایر لوله‌ها با لوله مذکور به صورت 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 به منظور 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 به عنوان یک انتخاب مناسب ضد باکتریایی به منظور درمان بیماران مورد آزمایش‌های بعدی قرار بگیرد.

در ادامه آزمایش به منظور تعیین توانایی عصاره‌های موردنظر در از بین بردن باکتری‌ها از لوله‌هایی که در آن‌ها کدورت مشاهده شده بود به مقدار $1/10$ میلی‌لیتر به پلیت‌های استریل تزریق نموده و محیط نوتربینت 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 تشکیل شده (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 متابولی خیار دریایی گونه *H. leucospilota* برای باکتری‌های اشرشیاکولای، باسیلوس سوبتیلیس و باسیلوس سرئوس برابر 30 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، باکتری‌های استافیلوکوکوس آرثروز، سراشیا مارسینس برابر 10 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بوده است. عصاره متابولی 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 مтанولی اسفنج گونه *N. furcata* برای باکتری‌های اشرشیاکولای، استافیلوكوکوس آرئوس 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 سراشیا مارسینس برابر ۵ میلی‌گرم بوده است.

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

سویه‌های باکتری	عصاره مtanولی <i>H. leucospilota</i>	عصاره مtanولی <i>N.furcata</i>	تتراسایکلین میلی‌گرم/میلی‌لیتر	آمپی‌سیلین میلی‌گرم/میلی‌لیتر
<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 subtilisspizizenii</i> ATCC ۶۶۳۳	۳۰	۲	۰/۷۵	۰/۷۵
<i>Staphylococcus aureusaureus</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 مtanولی خیار دریایی برای استافیلوكوکوس آرئوس برابر ۴۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر است، اما این عصاره روی باکتری‌های اشرشیاکولای، انتروکوکوس فکالیس، سودوموناس آئروژینوزا، باسیلوس سوبتیلیس، سراشیا 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 مtanولی اسفنج برای باکتری اشرشیاکولای برابر ۳۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، باکتری سراشیا مارسینس برابر ۲۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، باکتری‌های استافیلوكوکوس آرئوس و باسیلوس سرئوس برابر ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، باکتری باسیلوس سوبتیلیس برابر ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر است، اما عصاره مtanولی اسفنج روی باکتری‌های انتروکوکوس فکالیس و سودوموناس آئروژینوزا اثر کشندگی از خود نشان نداده است.

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

سویه‌های باکتری	عصاره مtanولی <i>H. leucospilota</i>	عصاره مtanولی <i>N.furcata</i>	تتراسایکلین میلی‌گرم/میلی‌لیتر	آمپی‌سیلین میلی‌گرم/میلی‌لیتر
<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 subtilisspizizenii</i> ATCC ۶۶۳۳	-	۵	۲	۲
<i>Staphylococcus aureusaureus</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 نتیجه‌گیری

بررسی‌های انجام شده در رابطه با خواص بیولوژیک خارپستان 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 متكامل بی‌مهرگان است، در این تحقیق علمی خواص ضد میکروبی آن‌ها مورد بررسی قرار گرفته است.

نتایج آزمایش نشان می‌دهد که عصاره مтанولی استخراج شده از خیار دریایی *H. leucospilota* و اسفنج گونه *N. furcata* از رشد باکتری‌های گرم مثبت باسیلوس سوبتیلیس، استافیلوكوکوس آرئوس و باسیلوس سرئوس جلوگیری می‌کنند؛ اما عصاره مтанولی اسفنج گونه *N. furcata* در غلظت ۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از رشد باکتری باسیلوس سوبتیلیس و ۳ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از رشد باکتری‌های استافیلوكوکوس آرئوس و باسیلوس سرئوس جلوگیری می‌کند، لازم به ذکر است حداقل غلظت مهار کنندگی عصاره مтанولی اسفنج بسیار کمتر از عصاره مtanولی خیار دریایی *H. leucospilota* اثر گذاشته است. عصاره مtanولی خیار دریایی تنها در غلظت ۴۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اثر کشندگی روی باکتری استافیلوكوکوس آرئوس از خود نشان داده است؛ اما عصاره مtanولی اسفنج موردررسی بسیار قوی‌تر اثر کرده و در غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر روی باکتری‌های گرم مثبت استافیلوكوکوس آرئوس و باسیلوس سرئوس و در غلظت ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اثر کشندگی روی باکتری باسیلوس سوبتیلیس از خود نشان داده است. علت اثربخشی بیشتر عصاره مtanولی اسفنج و خیار دریایی به شرایط بیولوژیک این دو جاندار بازمی‌گردد از آنجاکه اسفنج‌ها ساده‌ترین جانداران در رده‌بندی بی‌مهرگان هستند و هیچ‌گونه سیستم دفاعی و حرکتی به منظور مقابله با مهاجمین برای ادامه بقا ندارند، تمام سیستم دفاعی آن‌ها در سنتز متابولیت‌های ثانویه خلاصه می‌شود که همین امر باعث می‌شود به عنوان آبزیانی با بیشترین خواص بیولوژیک شناخته شوند(Nazemi *et al.*, 2014).

در مطالعه ای که روی عصاره‌های اسفنج *Ircinia mutans* از جزیره کیش انجام شده است، نتایج به دست آمده نشان داد که عصاره مtanولی در غلظت ۳۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از رشد باکتری‌های گرم مثبت باسیلوس سوبتیلیس و استافیلوكوکوس آرئوس جلوگیری می‌کند (Nazemi *et al.*, 2014). آزمایش انجام شده روی عصاره‌های مtanولی و کلروفتالی اسفنج *Haliclona spp.* از جزیره کرا در مالزی که اثر ضد باکتریایی روی باکتری استافیلوكوکوس آرئوس با استفاده از روش براث مورد ارزیابی قرار گرفته بود مشخص شده که عصاره Mtanولی در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و عصاره کلروفتالی در غلظت ۳۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از رشد این باکتری جلوگیری می‌نماید(Darah *et al.*, 2011). در آزمایش دیگری که روی بررسی خواص ضد باکتری عصاره Mtanولی استخراج شده از خیار دریایی *H. leucospilota* از جزیره لارک انجام شد عصاره Mtanولی اثر ضد باکتری روی باکتری‌های گرم مثبت نشان نداده است(Farjamia *et al.*, 2013).

همان‌طور که نتایج نشان می‌دهد؛ در این پژوهش علمی عصاره Mtanولی استخراج شده از خیار دریایی *H. leucospilota* از رشد باکتری‌های باکتری‌های گرم منفی اشرشیاکولای و سراشیا مارسینس جلوگیری می‌کند، اما اثر کشندگی روی هیچ‌کدام از باکتری‌های نشان نمی‌دهد. در حالی که عصاره Mtanولی اسفنج گونه *N. furcata* از رشد باکتری‌های گرم منفی اشرشیاکولای و سراشیا مارسینس جلوگیری نموده و در غلظت‌های ۳۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اثر کشندگی از خود نشان می‌دهد. در این مطالعه اسفنج موردنظر بسیار بیشتر از سایر گونه‌های اسفنجی موردنظر داری نسبت داد، زیرا ترکیبات فعل زیستی هوشمندانه و بر اساس شرایط اکولوژی -شیمیایی سنتز می‌شوند(Sipkema *et al.*, 2005). مطالعه‌ای در رابطه با خواص ضد باکتریایی عصاره‌های Mtanولی اسفنج گونه *Topsisentia ophiraphidites* و عصاره کلروفرمی اسفنج گونه *Niphate serecta* انجام شد عصاره‌های ذکر شده در غلظت‌های ۱/۵ و ۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از رشد باکتری اشرشیاکولای جلوگیری کردند (Galeano Santamaría *et al.*, 2007).

استخراج شده از خیار دریایی گونه *H. leucospilota* روی باکتری اشرشیاکلای هیچ‌گونه اثری از خود نشان نمی‌دهد اما عصاره کلروفرمی و ان هگزانی در غلظت‌های ۵ و ۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر از رشد باکتری مذکور جلوگیری می‌کند.

همان‌طور که نتایج این تحقیق نشان می‌دهد اثر ضد باکتری عصاره مтанولی 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 مtanولی اسفنج از *N. furcata* از خیار دریایی *H. leucospilota* بیشتر است. عصاره مtanولی اسفنج از رشد تمام باکتری‌های گرم مثبت جلوگیری می‌نماید. از آنجاکه اسفنج‌های ساده‌ترین پرسولوی‌های 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 پیتیدی با مهاجمان بیماری‌زا نظیر باکتری‌ها و قارچ‌ها و شکارچیان در طور حیات خود مقابله کرده‌اند.

سپاسگزاری

این مقاله منتج از پژوهه تحقیقاتی با کد مصوب "۹۲۱۲۸-۷۵-۱۲-۲" پژوهشکده اکولوژی خلیج‌فارس 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 نویسندهای 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 cucumberfarming 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 Pournejaf, 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 mutans* 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.
- Ravina, 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.