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

ملیکا ناظمی[1*]
سعید تمدنی جهرمی[2]
زهرا سالاری[3]
محسن گذری[4]

۱، ۲. استادیار، بخش ژنتیک و زیست‌فناوری، پژوهشکده اکولوژی خلیج‌فارس 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، پژوهشکده اکولوژی خلیج‌فارس، 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 متابولیت های ثانویه تولید می‌کنند که این ترکیبات کاربرد دارویی دارند. این پژوهش علمی به‌منظور 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 آورئوس و انتروکوکوس فکالیس و گرم منفی اشرشیاکلی، سودوموناس آئروژینوزا و سراشیا مارسسنس استفاده از روش رقت لوله ایی طراحی‌شده 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 آورئوس و باسیلوس سرئوس در غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و گرم منفی اشرشیاکولای در غلظت ۳۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و سراشیا مارسیسنس 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 سرئوسدر غلظت ۳۰ میلی‌گرم، استافیلوکوکوس آورئوس در غلظت ۱۰ میلی‌گرم و گرم منفی اشرشیاکولای در غلظت ۳۰ میلی‌گرم و سراشیا مارسیسنس در غلظت ۱۰ میلی‌گرم جلوگیری نمود اما تنها روی باکتری استافیلوکوکوس آورئوس 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، خلیج‌فارس.

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 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 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

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-01-23]

است که آبزیان نسبت به جانداران خشکی زی از آن برخوردار بوده‌اند (Jimeno *et al.*, 2004). باوجودآنکه 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 شناسایی‌شده (متابولیت های ثانویه) دارای خواص بیولوژیک هستند (Raviña, 2011). دلیل تولید چنین ترکیباتی دفاع در برابر شکارچیان، مقابله با جاندارانی که روی سطح اسفنج‌ها قرارگرفته 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، ضدویروس، ضد قارچ، مهار کنند تقسیم میتوز، ضد پروتوزوآ، ضدالتهاب، ضدپیری، ممانعت کننده بیماری آیلزایمر، ضد مالاریا از بیشترین خواص بیولوژیک متابولیت های ثانویه آبزیان می‌باشد (Newman and Cragg, 2004).

تاکنون نزدیک به ۱۵۰۰۰ ترکیب طبیعی از جانداران دریایی استخراج و شناسایی‌شده 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 موردبررسی و آزمایش قرارگرفته بودند بیش از ۵۰۰۰ ترکیب با خواص بیولوژیک جداسازی و شناسایی‌شده است.

مطالعات انجام‌شده نشان می‌دهد خیارهای دریایی که گروه بزرگی از آبزیان را تشکیل می‌دهد و ازنظر 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 متابولیت های ثانویه آبزیان در این تحقیق علمی به بررسی و مقایسه اثرات ضد باکتریایی عصاره‌های متانولی اسفنج *Niphates 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 ازنظر تکاملی از اسفنج‌ها پیشرفته‌تر می‌باشند پرداخته‌شده است.

مواد و روش‌ها

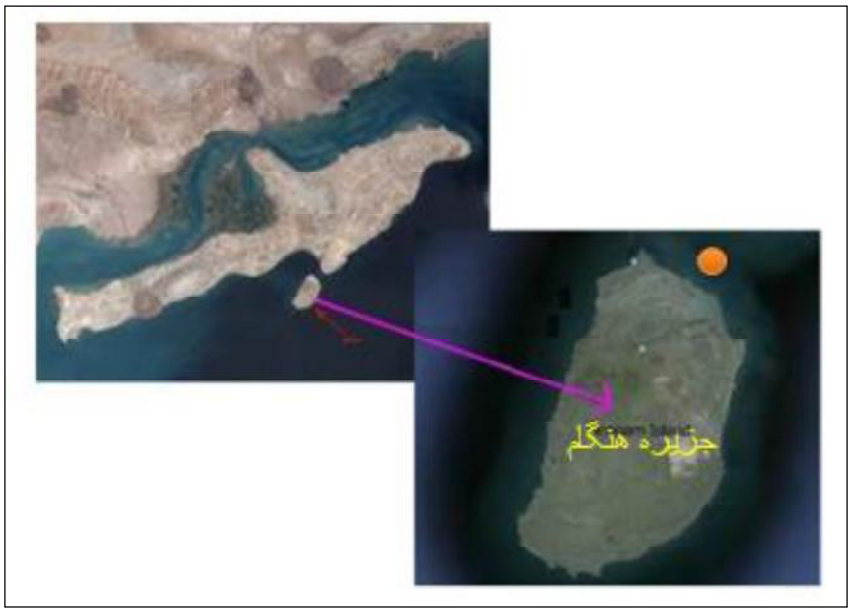
نمونه‌های اسفنج *N. furcata* و خیار دریایی *H. leucospilota* که در شکل ۱ مشاهده می‌گردد، در آبان ماه سال ۱۳۹۲ از عمق ۱۰ تا ۱۵ متر از جزیره هنگام، توسط غواصی تهیه شدند.

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 وزن‌تر، وزن خشک خیار ۲۰۰ گرم از ۴۰۰۰ گرم وزن‌تر).

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

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-01-23]

را از صافی گذرانده تا ذرات معلق از آن جداشده 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 نارنجی‌رنگ مشخص‌شده است).

ب) **الف)**

شکل ۲: نمونه‌های موردبررسی (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).

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-01-23]

سویه‌های باکتری *Escherichia coli* ATCC 15224، *Enterococcus faecalis* ATCC 29212، *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 25619، *Bacillus subtilisspizizenii* ATCC 6633، *Staphylococcus aureus* ATCC 1764، *Serratiamarcescens* PTCC 1621، *Bacillus cereus* PTCC 1665 از مرکز کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های صنعتی ایرانبه صورت لیوفیلیزه تهیه شد، سپس هرکدام از سویه‌ها کشت اولیه داده شدند و به مدّت 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 براث در لوله‌های آزمایش وارد نموده، این کار را آن‌قدر تکرار شد تا کدورت محیط براث با کدورت لوله مک فارلند ۰/۵ (McFarland 0.5) یکسان شد.

پس از رقت لوله مک فارلند به تعداد $۱/۵\times۱۰^{۶}$ باکتری به مقدار ۱ میلی‌لیتر به هرکدام از لوله‌های استریل اضافه شد، سپس هرکدام 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 براث حل‌شده 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 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 فعّال 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 مدّت 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 فعّال 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 MIC (Minimum Inhibitory Concentration) 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 مدّت ۲۴ ساعت نگهداری شدند. پس از ۲۴ ساعت پلیت‌ها بررسی شدند و تعداد کلونی‌های تشکیل‌شده (CFU) شمرده شد که این مقدار برابر با MBC (Minimum Bactericidal Concentration) 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 آورئوس، سراشیا مارسسنس 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.

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-01-23]

طبق جدول ۱؛ حداقل اثر مهارکنندگی از رشد باکتری (MIC) عصاره متانولی اسفنج گونه *N. furcata* برای باکتری‌های اشرشیاکولای، استافیلوکوکوس آورئوس 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 مارسسنس 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 *H. leucospilota* میلی‌گرم/میلی‌لیتر	عصاره متانولی *N.furcata* میلی‌گرم/میلی‌لیتر	تتراسایکلین میلی‌گرم/میلی‌لیتر	آمپی‌سیلین میلی‌گرم/میلی‌لیتر
Escherichia coli ATCC۱۵۲۲۴	۳۰	۳	۰/۷۵	۰/۷۵
Enterococcus faecalis ATCC ۲۹۲۱۲	–	۱۰	۰/۷۵	۰/۷۵
Pseudomonas aeruginosa ATCC ۲۵۶۱۹	-	۱۰	۱/۵	۱/۵
Bacillus subtilisspizizenii ATCC ۶۶۳۳	۳۰	۲	۰/۷۵	۰/۷۵
Staphylococcus aureusaureus ATCC ۱۷۶۴	۱۰	۳	۰/۷۵	۰/۷۵
Serratiamarcescens PTCC ۱۶۲۱	۱۰	۵	۰/۷۵	۰/۷۵
Bacillus cereus 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 آورئوس برابر ۴۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر است، اما این عصاره روی باکتری های های اشرشیاکولای، انتروکوکوس فکالیس، سودوموناس آئروژینوزا، باسیلوس سوبتیلیس، سراشیا مارسیسنس 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 سراشیا مارسیسنس برابر ۲۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، باکتری‌های استافیلوکوکوس آورئوس 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 باکتری های مورد آزمایش.

سویه‌های باکتری	عصاره متانولی *H. leucospilota* میلی‌گرم/میلی‌لیتر	عصاره متانولی *N.furcata* میلی‌گرم/میلی‌لیتر	تتراسایکلین میلی‌گرم/میلی‌لیتر	آمپی‌سیلین میلی‌گرم/میلی‌لیتر
Escherichia coli ATCC۱۵۲۲۴	-	۳۰	۱/۵	۱/۵
Enterococcus faecalis ATCC ۲۹۲۱۲	-	-	۳	۳
Pseudomonas aeruginosa ATCC ۲۵۶۱۹	-	-	۳	۳
*Bacillus subtilisspizizenii*ATCC ۶۶۳۳	-	۵	۲	۲
Staphylococcus aureusaureus ATCC ۱۷۶۴	۴۰	۱۰	۱/۵	۱/۵
Serratiamarcescens PTCC ۱۶۲۱	-	۲۰	۰/۷۵	۰/۷۵
Bacillus cereus PTCC ۱۶۶۵	-	۱۰	۳	۳

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-01-23]

بحث و نتیجه‌گیری

بررسی‌های انجام‌شده 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 به‌عنوان اولین شاخه بی‌مهرگان و خیار دریایی به‌عنوان شاخه متکامل بی‌مهرگان است، در این تحقیق علمی خواص ضدمیکروبی آن‌ها موردبررسی قرارگرفته است.

نتایج آزمایش نشان می‌دهد که عصاره متانولی استخراج‌شده از خیار دریایی *H. leucospilota* و اسفنج گونه *N. furcata* از رشد باکتری‌های گرم مثبت باسیلوس سوبتیلیس، استافیلوکوکوس آورئوس و باسیلوس سرئوس جلوگیری می‌کنند؛ اما عصاره متانولی اسفنج گونه *N. furcata* در غلظت ۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از رشد باکتری باسیلوس سوبتیلیس و ۳ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از رشد باکتری‌های استافیلوکوکوس آورئوس 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 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اثر کشندگی روی باکتری استافیلوکوکوس آورئوس از خود نشان داده است؛ اما عصاره متانولی اسفنج موردبررسی بسیار قوی‌تر اثر کرده و در غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر روی باکتری‌های گرم مثبت استافیلوکوکوس آورئوس 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 متانولی اسفنج و خیار دریایی به شرایط بیولوژیک این دو جاندار بازمی‌گردد ازآنجاکه اسفنج‌ها ساده‌ترین جانداران در رده‌بندی بی‌مهرگان هستند و هیچ‌گونه سیستم دفاعی و حرکتی به‌منظور مقابله با مهاجمین برای ادامه بقا ندارند، تمام سیستم دفاعی آن‌ها در سنتز متابولیت های ثانویه خلاصه می‌شود که همین امر باعث می‌شود به‌عنوان آبزیانی با بیشترین خواص بیولوژیک شناخته شوند(Nazemi *et al*,. 2014).

در مطالعه ایی که روی عصاره‌های اسفنج *Ircinia mutans* از جزیره کیش انجام‌شده است، نتایج به‌دست‌آمده نشان داد که عصاره متانولی در غلظت ۳۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از رشد باکتری‌های گرم مثبت باسیلوس سوبتیلیس و استافیلوکوکوس آورئوس جلوگیری می‌کنند (Nazemi *et al.*, 2014). .آزمایش انجام‌شده روی عصاره‌های متانولی و کلروفنلی اسفنج *Haliclona* spp. از جزیره کرا در مالزی که اثر ضد باکتریایی روی باکتری استافیلوکوکوس آرئوس با استفاده از روش براث مورد ارزیابی قرارگرفته بود مشخص‌شده که عصاره متانولی در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و عصاره کلروفنلی 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 متانولی استخراج‌شده 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 استخراج‌شده از خیار دریایی *H. leucospilota* از رشد باکتری‌های باکتری‌های گرم منفی اشرشیاکولای و سراشیا مارسسنس جلوگیری می‌کند، اما اثر کشندگی روی هیچ‌کدام از باکتری‌های نشان نمی‌دهد. درحالی‌که عصاره متانولی اسفنج گونه *N. furcata* از رشد باکتری‌های گرم منفی اشرشیاکولای و سراشیا مارسسنس 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 موردمطالعه در خلیج‌فارس اثر ضد باکتری از خود نشان می‌دهد که دلیل آن را می‌توان به وجود بار آلودگی میکروبی در محیط و یا فصل نمونه‌برداری 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 کلروفرمی اسفنج گونه *Niphate serecta* انجام شد عصاره‌های ذکرشده در غلظت‌های ۱/۵ و ۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از رشد باکتری اشرشیاکولای جلوگیری کردند (Galeano Santamaría *et al.*, 2007). آزمایش‌های انجام‌شده توسط فرجامی و همکاران در سال ۱۳۹۳ نشان می‌دهد که عصاره متانولی

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-01-23]

استخراج‌شده 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 ۲میلی‌گرم در میلی‌لیتر 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. ازآنجاکه اسفنج‌های ساده‌ترین پرسلولی‌های چسبیده به بستر دریایی می‌باشند و فاقد هرگونه سیستم دفاعی مکانیکی می‌باشند می‌توان نتیجه گرفت این جانداران با سنتز ترکیبات شیمیایی یا متابولیت های 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 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 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 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 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.

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-01-23]

Mancini, I., Defant, A. and Guella, G., 2007. Recent synthesis of marine natural productswith 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 Societiesjournal 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 ofantibacterial 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.

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.

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-01-23]