بررسی خواص ضدباکتریایی عصاره‌های اسفنج *Axinella sinoxea* از جزیره لارک خلیج فارس

ملیکا ناظمی[1*]، فاطمه پیشه ورزاد[1]، عباسعلی مطلبی[2]، امید احمد زاده[3]

۱) باشگاه پژوهشگران جوان، واحد علوم تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲) موسسه تحقیقات شیلات ایران، تهران، ایران

۳) دریانوردی استان هرمزگان، بندرعباس، ایران

*پست الکترونیک: *melikanazemi@yahoo.com*

تاریخ دریافت: شهریور ۹۱ تاریخ پذیرش: مهر ۹۱

چکیده

اسفنج‌ها ساده‌ترین و قدیمی‌ترین جانداران پرسلولی می‌باشند. این موجودات فاقد هر گونه ساختار دفاعی مکانیکی هستند بنابراین برای حفظ بقا، در طی سالیان متمادی توانایی تولید متابولیت های ثانویه‌ی خود را به عنوان عامل دفاعی شیمیایی تکامل بخشیده‌اند. یکی از مهمترین کاربردهای متابولیت های ثانویه‌ی اسفنج‌ها، استفاده از ترکیبات شیمیایی با خواص بیولوژیک به عنوان دارو می‌باشد که از جمله‌ی این خواص، خاصیت ضد باکتریایی است. در این تحقیق برای نخستین بار به بررسی اثر ضد باکتریایی عصاره‌های اسفنج *Axinella sinoxea* پرداخته شده است. نمونه‌های اسفنج از جزیره‌ی لارک خلیج فارس تهیه شده و با استفاده از روش بلایت و دایر عصاره گیری انجام شد. بررسی اثر ضد باکتریایی با استفاده از روش براث روی باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی مورد آزمایش قرار گرفت. نتایج حاکی از آن است که عصاره‌های در اتیل اتری و آبی در هیچ کدام از غلظت‌های بررسی شده روی باکتری‌های اشرشیاکلای و سودوموناس آرئوجنسیس اثر ضد باکتریایی از خود نشان نمی‌دهند، اما عصاره‌ی دی اتیل اتری روی باکتری‌های باسیلوس سوبتیلیس و استافیلوکوکوس آرئوس، اثر باکتریوسیدی دارند، بنابراین متابولیت های ثانویه‌ی محلول در دی اتیل اتر با ساختار شیمیایی غیر قطبی- نیمه قطبی دارای اثر ضد باکتریایی بوده و می‌تواند به عنوان یکی از عصاره‌هایی که در راستای تولید داروهای آنتی بیوتیک مورد مصرف قرار می‌گیرد، کاربرد داشته باشد.

کلمات کلیدی: اسفنج، خواص بیولوژیک، متابولیت های ثانویه، جزیره لارک، خلیج فارس

مقدمه

اسفنج‌ها قدیمی‌ترین و موفق‌ترین گروه جانداران می‌باشند (بلوچ، ۱۳۸۰)، که پراکنش آن‌ها از رودخانه‌ها و نهرها، استخرهای صخره‌ای تا اعماق اقیانوس‌ها، آب‌های منجمد قطبی تا آب‌های گرم حاره ای گسترده می‌باشد (Campbell and Dawes, 2005).

از آنجا که اسفنج‌ها فاقد ساختار دفاعی فیزیکی می‌باشند، یکی از مهمترین عوامل دفاعی در آن‌ها تولید متابولیت های ثانویه است. در واقع متابولیت های ثانویه سلاح شیمیایی می‌باشند که اسفنج‌ها و سایر جانداران دریازی برای بقا از آن‌ها استفاده می‌نمایند. به عبارت دیگر بررسی‌های انجام شده در رابطه با خصوصیات اکولوژی شیمیایی اسفنج‌ها نشان داده است که؛ متابولیت های ثانویه در سایر فعالیت‌های حیاتی آن‌ها اثر نداشته و در واقع هر گونه اسفنج بر اساس شرایط محیطی، استراتژی خاصی را جهت تولید متابولیت های ثانویه انتخاب می‌کند (Muller et al., 2004 و Thakur et al., 2004).

تحقیقات انجام شده نشان می‌دهد که تعداد بسیاری از هزاران ترکیب استخراج و شناسایی شده دارای خواص بیولوژیک هستند، بیشترین متابولیت ثانویه با خواص بیولوژیک به اسفنج‌ها متعلق است (Raviña, 2010). 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., 2005).

در عصر حاضر ترکیبات طبیعی نقش بسیار زیادی در علوم پزشکی و دارویی ایفا می‌نمایند، در این میان نقش ترکیبات طبیعی با منشاء دریایی در سال‌های اخیر بسیار حائز اهمیت می‌باشد. به نظر می‌رسد وجود ترکیباتی با ساختار استروژنی و اتم‌های هیدروژن که به دلیل محیط زیست 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 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 جاندارن دریایی می‌گذرد اما تعداد این ترکیبات نسبت به سایر منابع بسیار بیشتر است (Munro et al., 1999).

آزمایش‌ها و بررسی‌های انجام شده نشان می‌دهد که خواص؛ ضدتومور، سیتوتوکسیک، نوروتوکسیک، ضدباکتری، ضدویروس، ضدقارچ، مهار کننده تقسیم میتوز، ضدپروتوزوآ، ضدالتهاب، ضدپیری، ممانعت کننده بیماری آلزایمر، ضد مالاریا از بیشترین خواص بیولوژیک متابولیت های ثانویه اسفنج‌ها می‌باشد (Newman and Cragg, 2004).

تاکنون نزدیک به ۱۵۰۰۰ ترکیب طبیعی از جانداران دریایی استخراج و شناسایی شده است که از این تعداد ٤٥ 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 میکرواورگانیسم های همزیست آن‌ها جداسازی شده‌اند (Piel, 2006). در مطالعه انجام شده توسط مولر و همکاران 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 (Muller et al., 2004).

بررسی‌های انجام شده نشان می‌دهد که عوامل میکروبی یکی از شایع‌ترین عوامل بیماری زایی در عصر حاضر برای انسان است، که به منظور مهار و از بین بردن آن‌ها باید از آنتی بیوتیک ها که هرکدام با مکانیسم‌های متفاوتی وارد عمل می‌شوند استفاده نمود (Andersson, 2003). از طرف دیگر باکتری‌های پاتوژن پس از مدتی نسبت به آنتی بیوتیک خاص مقاوم شده، بنابراین تحقیق و بررسی به منظور کشف آنتی بیوتیک های جدید باید ادامه داشته باشد (Cohen, 1992).

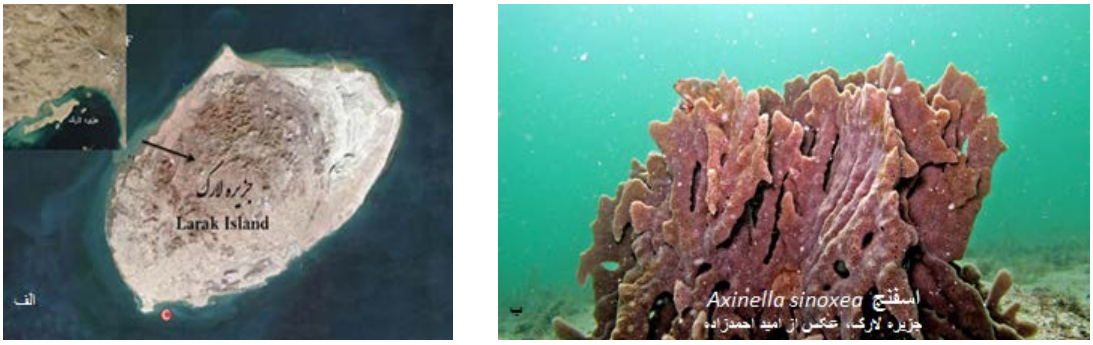
اسفنج‌ها فراوان‌ترین و متنوع‌ترین جانداران بسترهای سخت دریایی؛ صخره‌های مرجانی، صخره‌ها و غارها، می‌باشند (Hooper and van Soest, 2002). از آنجا که اغلب این مناطق به ویژه اکوسیستم‌های مرجانی تولیدات و بیوماس بالایی دارند بنابراین میزان باقیمانده های غذایی در این مناطق بسیار بالاست، از طرف دیگر موکوس تولید شده حاصل از متابولیت های صخره‌های مرجانی منبع دیگری از مواد آلی می‌باشند، که تمام عوامل فوق بستر بسیار مناسبی را برای رشد باکتری‌ها فراهم می‌نماید (Richman et al., 1975). بنابراین یکی از تهدید کنندگان اسفنج‌ها میکرواورگانیسم ها به ویژه باکتری‌ها می‌باشد (Faulkner et al., 2000)، به همین دلیل آن‌ها متابولیت های ثانویه متعددی با خاصیت ضد باکتریایی تولید می‌نمایند (Zaro, 1982).

با توجه به اثر ضدباکتریایی موجود در متابولیت های ثانویه اسفنج‌ها، در این پژوهش برای نخستین بار در کشور به بررسی اثر ضدباکتریایی متابولیت های ثانویه محلول در متانول، آب و دی اتیل اتر اسفنج گونه *Axinella sinoxea* پرداخته شده است. این نمونه‌ها از جزیره لارک، با مساحت ٤٨/٧ کیلومتر مربع که در مختصات جغرافیایی ۱۹ و ٥٦ درجه تا 25 و ٥٦ درجه طول شرقی (از نصف‌النهار گرینویچ) و ٤٩ و ٢٦ درجه تا ٥٣ و ٢٦ درجه‌ی عرض شمالی در خلیج فارس قرار گرفته است، جمع آوری شده است.

مواد و روش‌ها

نمونه برداری

نمونه‌های اسفنج *Axinella sinoxea*، که در شکل ۱ مشاهده می‌گردد، در دی ماه ۱۳۹۰ از جزیره لارک توسط غواصی از عمق ۱۵- ۲۰ متر جمع آوری شدند، سپس در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد منجمد شده و با استفاده از یخ خشک، با هواپیما به آزمایشگاه منتقل گردیدند.



شکل ۱. محل نمونه برداری که با علامت قرمز مشخص شده است (الف)، نمونه اسفنج *Axinella sinoxea* در عمق ۲۰ متری جزیره لارک (ب).

عصاره گیری و شناسایی ترکیبات طبیعی غیر قطبی

عصاره گیری با استفاده از روش Bligh and Dyer انجام شد، ابتدا اسفنج‌ها شسته شدند و سپس با استفاده از قیچی در اندازه‌های یک سانتیمتری بریده شدند، نمونه‌های خرد شده، یک کیلو گرم وزن تر اسفنج، به ارلن حاوی ۲۰۰۰ سی سی دی اتیل اتر منتقل گردید، سپس با استفاده از پنبه و فویل در ارلن به خوبی بسته شد و به مدّت ٢٤ ساعت در آزمایشگاه در دمای اتاق (۲۵^{o}C) قرار داده شد. پس از ٢٤ ساعت محلول به دست آمده از صافی عبور داده شد تا ذرات اسفنج از آن جدا شده و آنچه باقی ماند، حلال دی اتیل اتری و ترکیبات آلی موجود در اسفنج بود. عصاره غیرقطبی به دست آمده را به دستگاه روتاری وارد نموده، در دمای ^{o}C ٤۰ و دور ١٤٥، تا حلال (دی اتیل اتر) تبخیر شود.

به منظور تهیه عصاره قطبی اسفنج‌ها را در ۲۰۰۰ سی سی متانول قرار داده و به مدت ۷۲ ساعت در آزمایشگاه در دمای اتاق (۲۵^{o}C) قرار داده شدند. پس از ۷۲ ساعت محلول به دست آمده را از صافی گذرانده تا ذرات اسفنج از آن جدا شده و آنچه باقی

ماند، حلال متانولی و ترکیبات آلی موجود در اسفنج بود. عصاره قطبی به دست آمده به دستگاه روتاری منتقل گردید، در دمای ^{o}C ٤٠ و دور ١٤٥، وارد شد تا حلال (متانول) تبخیر شود، سپس هم حجم نمونه به دست آمده (٧٥ cc) اتر اضافه کرده، دو فاز آبی و اتری تشکیل شد. توسط دکاتور دو فاز فوق جدا شده و به فاز آبی به طور هم حجم N- بوتانول اضافه شد و تکان داده شد تا ترکیب شوند، سپس فاز رویی که حاوی عصاره آبی بود از فاز متانولی جدا شد.

بررسی خواص ضدباکتریایی

بررسی خواص ضدباکتریایی با استفاده از روش براث (Bacterial Broth Dilution Methods) به شرح زیر انجام گرفت:

سویه‌های باکتری *Escherichia coli* ATCC ١٥٢٢٤, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC ٢٥٦١٩, ١٧٦٤ *Staphylococcus aureus aureus* ATCC و *Bacillus subtilis spizizenii* ATCC ٦٦٣٣ از مرکز کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های صنعتی ایران به صورت لیوفیلیزه تهیه شد، سپس هر کدام از سویه‌ها کشت اولیه داده شدند و به مدّت ٢٤ تا ٧٢ ساعت بر اساس میزان سرعت رشد باکتری‌ها در دمای ^{o}C ٣٧ 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 براث در لوله‌های آزمایش وارد نموده، این کار را آن قدر تکرار شد تا کدورت محیط براث با کدورت لوله مک فارلند ٠/٥(McFarland 0.5) یکسان شد.

از لوله فوق که حاوی $١/٥\times١٠^{٦}$ باکتری بود به مقدار ١ میلی لیتر به هرکدام از لوله‌های استریل اضافه شد، سپس از عصاره‌های متانولی، دی اتیل اتری و آبی با غلظت‌های ٥٠ mg/ml، 40 mg/ml، ٣٠ mg/ml، ٢٠ mg/ml، ١٠ mg/ml، ٥mg/ml، ٣mg/ml، ٢mg/ml، ١/٥mg/ml، ٠/٧٥ mg/ml، ٠/٥٠ mg/ml، ٠/١٠ mg/ml، ٠/٠٥ mg/ml و ٠/٠١ mg/ml که در محیط براث حل شده بود به مقدار ١ میلی لیتر به لوله‌های فوق افزوده شد. برای در نظر گرفتن شاهد مثبت از آنتی بیوتیک های تتراسایکلین و آمپی سیلین، با غلظت‌های فوق استفاده شد و به عنوان شاهد منفی به یکی از لوله‌ها ماده فعّال بیولوژیک اضافه نگردید. در داخل یک لوله نیز تنها محیط کشت فاقد ماده موثره 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 ^{o}C ٣٧ به مدّت ٢٤ ساعت قرار داده شد.

پس از ٢٤ ساعت لوله‌های آزمایش از انکوباتور خارج شده و کدورت آن‌ها را مورد بررسی قرار گرفت. لوله کنترل که فاقد ترکیبات فعّال بیولوژیک بوده بسیار کدر شده بودند، زیرا باکتری‌ها در آن فرصت رشد را داشته‌اند. برای ادامه کار سایر لوله‌ها با

لوله مذکور به صورت چشمی مقایسه شدند که میانگینی از ۳ مرتبه آزمایش برای هرگونه باکتری بود مقایسه کرده، 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 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 به عنوان یک انتخاب مناسب ضدباکتریایی به منظور درمان بیماران مورد آزمایش‌های بعدی قرار بگیرد (Rosenblatt, 1991).

در ادامه آزمایش به منظور تعیین توانایی عصاره‌های مورد نظر در از بین بردن باکتری‌ها از لوله‌هایی که در آن‌ها کدورت مشاهده نشده بود به مقدار ۰/۱ ml به پلیت های استریل تزریق نموده و محیط نوترینت آگار به آن اضافه شد. سپس پلیت ها را به انکوباتور منتقل شد و در دمای ۳۷ ^{o}C به مدّت ۲٤ ساعت نگهداری شدند. پس از ۲٤ ساعت پلیت ها بررسی شدند و تعداد کلونی‌های تشکیل شده (CFU) شمرده شد. در پلیت هایی که باکتری رشد کرده بود حاکی از آن است که عصاره مورد نظر تنها توانایی مهار رشد و تکثیر باکتری را دارد، مانند شکل ۹.۳ ، امّا در پلیت هایی که هیچ گونه کلونی مشاهده نشد نشان دهنده آن است که ماده مورد نظر سبب مرگ باکتری شده است؛ که این مقدار برابر با MBC(Minimum Bactericidal Concentration) می‌باشد (Rosenblatt, 1991).

نتایج

همان طور که از جدول ۱ برداشت می‌شود؛ حداقل غلظت ممانعت کنندگی از رشد باکتری (MIC) عصاره دی اتیل اتری اسفنج *Axinella sinoxea* برای باکتری *Escherichia coli* برابر ۱۰ mg/ml و متانولی ٤۰mg/ml می‌باشد، اما عصاره آبی نسبت به باکتری مذکور هیچ گونه اثری را از خود نشان نداده‌اند. عصاره‌های متانولی، دی اتیل اتری و آبی روی باکتری *Pseudomonas aeruginosa* هیچ گونه اثر ضدباکتریایی از خود نشان نداده‌اند و توانایی مهار رشد باکتری یاد شده را نداشته‌اند. حداقل غلظت ممانعت کنندگی از رشد باکتری (MIC) عصاره دی اتیل اتری برای باکتری*Bacillus subtilis* برابر ۲۰ mg/ml می‌باشد، و عصاره‌های متانولی برابر ٤۰ mg/ml می‌باشد، اما عصاره آبی نسبت به باکتری مذکور هیچ گونه اثری را از خود نشان نداده‌اند. حداقل غلظت ممانعت کنندگی از رشد باکتری (MIC) عصاره دی اتیل اتری برای باکتری *Staphylococcus aureus* برابر ۰.۰۷۵ mg/ml می‌باشد، و عصاره‌های متانولی برابر ۱۰ mg/ml می‌باشد، اما عصاره آبی نسبت به باکتری مذکور هیچ گونه اثری را از خود نشان نداده‌اند.

جدول۱. حداقل غلظت ممانعت کنندگی از رشد باکتری (MIC) عصاره‌های اسفنج *Axinella sinoxea*.

سویه‌های باکتری																			
B. subtilis					***S. aureus***					***P. aeruginosa***					***E. coli***				
ت	آم	آ	د	م	ت	آم	آ	د	م	ت	آم	آ	د	م	ت	آم	آ	د	م
۱/۵	۱/۵	-	۲۰	٤۰	۰/۷۵	۰/۷۵	-	۰/۷۵	۱۰	۱/۵	۱/۵	-	-	-	۰/۷۵	۰/۷۵	-	۱۰	٤۰

م: عصاره متانولی، د: عصاره دی اتیل اتری، آ: عصاره آبی، آم: آمپی سیلین، ت: تتراسایکلین / بر اساس mg/ml.

همان طور که از جدول ۲ برداشت می‌شود؛ عصاره‌های متانولی، دی اتیل اتری و آبی اسفنج *Axinella sinoxea* عصاره دی اتیل اتری روی باکتری *Escherichia coli* و *Pseudomonas aeruginosa* اثر باکتریوسیدی از خود نشان نمی‌دهند. حداقل غلظت کشندگی باکتری (MBC) عصاره دی اتیل اتری برای باکتری*Bacillus subtilis* برابر mg/ml ۳۰ و برای باکتری *Staphylococcus aureus* برابر ۱۰mg/ml می‌باشد، اما عصاره‌های متانولی و آبی روی هیچ کدام از باکتری‌های مذکور اثر باکتریوسیدی از خود نشان نداده‌اند.

جدول۲. حداقل غلظت کشندگی باکتری (MBC) عصاره‌های اسفنج *Axinella sinoxea*.

سویه‌های باکتری									
B. subtilis			***S. aureus***			***P. aeruginosa***		***E. coli***	
ت	آم	د	ت	آم	د	ت	آم	ت	آم
۱/۵	۱/۵	۲۰	۰/۷۵	۰/۷۵	۰/۷۵	۱/۵	۱/۵	۱/۵	۱/۵

م: عصاره متانولی، د: عصاره دی اتیل اتری، آ: عصاره آبی، آم: آمپی سیلین، ت: تتراسایکلین / بر اساس mg/ml.

بحث

یکی از خواص بیولوژیک موجود در اسفنج‌ها خواص ضدباکتریایی می‌باشد، به همین منظور در این تحقیق علمی این اثر بیولوژیک در رابطه با عصاره‌های دی اتیل اتری، متانولی و آبی اسفنج *Axinella sinoxea* با استفاده از روش براث انجام گردید. نتایج آزمایش‌ها نشان می‌دهد که عصاره دی اتیل اتری استخراج شده از اسفنج *Axinella sinoxea* در غلظت ۱۰mg/ml اثر باکتریواستاتیک روی باکتری *Escherichia coli* از خود نشان می‌دهد اما اثر باکتریوسیدی روی باکتری مذکور از خود نشان نداد.

در آزمایشی که توسط Darah و همکاران (2011) روی باکتری *Escherichia coli* از عصاره خشک متانولی اسفنج *Haliclona sp.* انجام شد مشخص گردید که عصاره متانولی اثر ضدباکتریایی از خود روی باکتری اشرشیاکلای نشان نمی‌دهد.

آزمایشی که توسط Tadesse و همکاران (2008) روی عصاره‌های قطبی اسفنج‌های منطقه شمالی نروژ انجام شده نشان داد که عصاره استونیتریل که بیشترین قطبیت را داشت از اسفنج‌های *Geodia barretti*، *Haliclona spp. 1*، *Haliclona rosea*، *Myxilla incrustans*، *Polymastia spp.* و *Alcyonium digitatum* هیچ گونه اثری روی باکتری اشرشیاکلای از خود نشان نمی‌دهد و تنها عصاره اسفنج *Haliclona spp. 2* در غلظت ۵mg/ml اثر باکتریواستاتیک از خود نشان داده است.

در آزمایش انجام شده روی عصاره‌های متانولی و دی اتیل اتری اسفنج *Iophon laevistylus* از جزیره فارور در خلیج فارس مشخص گردید که عصاره غیرقطبی در غلظت ۲ mg/ml و عصاره قطبی در غلظت ۱/۵ mg/ml از رشد باکتری اشرشیاکلای ممانعت به عمل نموده و هر دو عصاره در غلظت ۳mg/ml سبب مرگ باکتری مذکور می‌گردند (ناظمی و همکاران، ۱۳۸۹).

یکی دیگر از باکتری‌های گرم منفی که مورد بررسی عصاره‌های آبی، متانولی و دی اتیل اتری اسفنج *Axinella sinoxea* قرار گرفت باکتری *Pseudomonas aeruginosa* بود. همان طور که نتایج آزمایش‌ها نشان می‌دهند هیچ کدام از عصاره‌های فوق که تهیه شده بودند روی باکتری مذکور اثر ضدباکتریایی از خود نشان نداده‌اند.

در آزمایش انجام شده در رابطه با اثر ضدباکتریایی عصاره اتیل استاتی اسفنج‌های سواحل تونس با استفاده از روش دیسک که با غلظت ۱۰ mg/ disk انجام شد مشخص گردید که اسفنج‌های *Spongia spp.*، *Hippospongia communis* و *Ircinia sarcotragus* اثر ضدباکتری در رابطه با باکتری سودوموناس آئروجنسیس ندارد اما اسفنج‌های *Agelas oroides* و *I. spinosula* در غلظت مورد آزمایشی تا فاصله ۸ میلی متر و اسفنج‌های *Axinella damicornis* و *Petrosia ficiformis* تا فاصله ۱۲ و ۷ میلی‌متر از رشد باکتری مذکور جلوگیری نموده است (Touati et al., 2007).

بررسی اثر ضدباکتریایی عصاره‌های آبی، متانولی و دی اتیل اتری اسفنج *Iophon laevistylus* از جزیره فارور واقع در خلیج فارس که با استفاده از روش براث روی باکتری سودوموناس آئروجنسیس انجام شده بود، نشان داد که هیچ کدام از عصاره‌های مورد آزمایش خواص باکتریواستاتیک و باکتریوسید از خود نشان نمی‌دهند (Nazemi et al., 2010).

بررسی اثر ضدباکتریایی عصاره متانولی- استونی اسفنج‌های خلیج مانار واقع در جنوب شرقی هند نشان می‌دهد بسیاری از اسفنج‌های مورد آزمایش نظیر؛ *Myrmekioderma granulata*، *Spongia officinalis*، *Haliclona cribricutis*، *Oceanapia fistulosa* و *Fasciospongia cavernosa* در غلظت ۵۰۰ µg/ disk مانع از رشد باکتری *P. aeruginosa* نشده است، تنها عصاره اسفنج‌های *Petrosia nigricans*، *Haliclona exigua* و *Dysidea spp.* در غلظت یاد شده تا فاصله ٦، ٥ و ٤ میلی متر از رشد باکتری مذکور جلوگیری می‌نماید (Limna et al., 2010).

مطالعات انجام شده در رابطه با اثر ضدباکتریایی عصاره اسفنجی نسبت به باکتری سودوموناس آئروجنسیس نشان می‌دهد که این باکتری گرم منفی نسبت به عصاره‌های مورد آزمایش بسیار قوی عمل نموده به طوری که در موارد اندکی عصاره‌های مورد بررسی اثر ضدباکتریایی نسبت به این باکتری را از خود نشان می‌دهد.

در این تحقیق علمی اثر بیولوژیک ضد باکتری، عصاره‌های دی اتیل اتری، متانولی و آبی اسفنج *Axinella sinoxea* روی باکتری‌های گرم مثبت *Bacillus subtilis* و *Staphylococcus aureus* نیز انجام گردید. نتایج آزمایش‌ها نشان می‌دهد که عصاره دی اتیل اتری روی باکتری باسیلوس سوبتیلیس در غلظت ۲۰ mg/ml و روی باکتری استافیلوکوکوس آرئوس در غلظت ۰.۷۵ mg/ml اثر باکتریواستاتیک و در غلظت‌های ۳۰ mg/ml و ۱۰ mg/ml اثر باکتریوسیدی از خود نشان می‌دهند.

در تحقیق دیگری که در رابطه با خواص ضدباکتریایی عصاره‌های خشک متانولی و دی کلرومتانی اسفنج‌های سواحل موروکان واقع در اقیانوس اطلس با استفاده از روش دیسک روی باکتری *B. subtilis* انجام گردید؛ مشخص شد که عصاره خشک متانولی اسفنج‌های *Haliclona mediterranea*، *Haplosclerida sp9*، *Cinachyrella tarentine*، *Ircinia oros*، *Cliona celata*، *Axinella polypoides*، *Haplosclerida sp4*، *Haplosclerida sp3*، *Haplosclerida adocia* و *Cliona viridis* روی باکتری مورد آزمایش اثری نداشته است. در این آزمایش عصاره‌های خشک دی کلرومتانی اسفنج‌های *C. viridis*، *Haplosclerida sp3* و *H. viscosa* تا فاصله ۱۱ میلی متر، *H. adocia*، *A. polypoides*، *I. dendroides* و *C.celata*، *I. oros* تا فاصله ۸ میلی متر، *Haplosclerida sp4*، *I. spinulosa* و *H. mediterranea* تا فاصله ۷ میلی متر و *C. tarentine* تا فاصله ۱۲ میلی متر و عصاره‌های خشک متانولی اسفنج‌های *I. spinulosa* تا فاصله ۷ میلی متر، *I. dendroides* تا فاصله ۱۱

میلی متر و *H. viscosa* تا فاصله ۱۲ میلی متر از رشد باکتری باسیلوس سوبتیلیس جلوگیری نموده‌اند (et al., 2010 Amraouia).

در تحقیق دیگری که روی باکتری *S. aureus* با استفاده از روش براث از عصاره‌های هگزانی و دی کلرومتانی اسفنج‌های دریای آنادام تایلند انجام شده مشخص گردید که اسفنج‌های *Axinyssa spp.*، *Chondrosia reticulata*، *Chondrosia spp.*، *Gelliodes petrosiodes*، *Psammoclrma ramosum*، *Xestospongia spp.* ، *Halichondria spp.*و *Ircinia mutans* روی باکتری مورد آزمایش اثری از خود نشان نمی‌دهند اما عصاره هگزانی اسفنج‌های *Axinyssa spp.*، *Axinella spp.* و *Phakellia ventilabrum* در غلظت ۱۰µg/ml و اسفنج *Ptilocaulis spp.* در غلظت ۱۱µg/ml و *Sigmosceptrella spp.* در غلظت ۱۲µg/ml و عصاره دی کلرومتانی اسفنج‌های *Oceanapia spp.*، *Phkellia ventilabrum* و *Ptilocaulis spp* در غلظت ۱۰µg/ml و *Theonella spp.* در غلظت ۱۲µg/ml از رشد باکتری مورد آزمایش جلوگیری می‌نماید (et al., 2010 Patchra,).

همانطور که مطالعه انجام شده روی عصاره غیرقطبی اسفنج *Axinella sinaxeat* از جزیره لارک و سایر مطالعات انجام شده در رابطه با اسفنج‌های سایر مناطق خلیج فارس و دنیا نشان می‌دهد عصاره‌های غیرقطبی نسبت به عصاره‌های قطبی اثر ضدباکتریایی بیشتری را نسبت به باکتری‌های گرم مثبت اشرشیاکلای از خود نشان می‌دهند که می‌توان نتیجه گرفت ترکیبات ضدباکتری این باکتری در عصاره‌های غیر قطبی قابلیت انحلال را دارند.

منابع

بلوچ، م. ۱۳۸۲، جانورشناسی ۱، جلد اول،تهران، دانشگاه پیام نور.

ناظمی، م.، غرقی، الف، مطلبی، ع و خوشخو، ژ. ۱۳۸۹، سنجش میزان اثرات باکتریواستاتیکی و باکتریوسیدی عصاره‌های بیولوژیک اسفنج متعلق به گونه *Iophon sp.* شانزدهمین کنگره دامپزشکی ایران.

Amraouia, B. El., Biardb, J. F., Urizc, M.J., Rifaia, S., and Fassouane, A. 2010. Antifungal and antibacterial activity of Porifera extracts from the Moroccan Atlantic coasts. Mycology Medical. Vol 20, PP 70- 74 .

Bligh. E. G. and Dyer. W. J. 1959. A rapid method of total lipid extraction, Canadian Journal of Biochemistry and Physiology. 37: 911-917.

Campbell Andrew and Dawes John. 2005. Encylopedia Of Underwater Life, first edition. Oxford University Press, London, PP 20-21.

Cohen, M. L. 1992. Epidemiology of drug resistance: implications for a post-antimicrobial era. Science. 257:1050-1055.

Darah, I., Lim, C. L., 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 of comprehensive pharmacy. 7(3): 1-6.

Faulkner, D. J., Harper, M.K., Haygood, M. G., Salomon, E., and Schmidt, E. W. 2000. Symbiotic bacteria in ponges: sources of bioactive substances. In: N. Fusetani, Editor, Drugs from the sea.107–119.

Hooper, J. N. A. & Van Soest, R. W. M. 2002. Systema Porifera: A Guide to the Classification of Sponges, Vol. 1. Kluwer Academic/ Plenum Publishers, New York.

Jimeno, J., Faircloth, G., Fernández Sousa-Faro, J. M., Scheuer, P. and Rinehart, K. 2004. New marine derived anticancer therapeutics- Ajouney from the sea to clinical trials. Marine Drugs. 2:14-29.

Limna, M. V.P., Raveendran, T.V., Abhilasha, K.R., and Parameswarana, P.S. 2010. Inhibitory effect of Indian sponge extracts on bacterial strains and larval settlement of the barnacle, Balanus Amphitrite. Marine Ecology. 4: 25-38 .

Mancini, I., Defant, A., and Guella, G. 2007. Recent Synthesis of Marine Natural Products with Antibacterial Activities. Anti-Infective Agents in Medicinal Chemistry. 17: 17-47.

Muller, W.E., Grebenjuk, W.E., Le Pennec, G., Schroeder, H., Brummer, F., and Hentschel, I. 2004. Sustainable production of bioactive compounds by sponges-cell culture and gene cluster approach: a review. Marine Biotechnology. 6:105–117 .

Munro, M.H.G., Blunt, J.W., Dumdei. E.J., Hickford, S.J.H., Lill, R. E., Li, S., Battershill, C.N., Duckworth, A R. 1999. The discovery and development of marine compounds with pharmaceutical potential. Biotechnology. 70: 15-25.

Nazemi, M., Khoshkhoo, Z., Motalebi, A., Karimi, F. H., and Pishehvarzad, F. 2010. Identification nonpolar component and antibacterial activities of Iophon laevistylus from Persian Gulf. International Journal of Environmental Science and Development. 1: 107- 110.

Newman, D.J. and Cragg, G.M. 2004. Marine natural products and related compounds in clinical and advanced preclinical trials. Journal Natural Products. 67: 1216–1238.

Patchra, P., Wanlapa, M., Venna, N., and Udomska, D. 2010. Biological activites of extracts from Anadam Sea sponges, Thailand. EurAsian Journal of Bioscience. 4: 63- 69.

Raviña, E. 2010. The Evolution of Drug Discovery: From Traditional Medicines to Modern Drugs; Wiley-WCH: Weinheim, Germany .

Richman, S., Loya, Y., and Slobodkin, L. B. (1975). The rate of mucus production by corals and its assimilation by the coral reef copepod Acartia negligens. Limnology oceanography. 20: 918- 923 .

Rifai, S., Fassouane, A., El-Abbouyi, A. Wardani, A., Kijjoa, A., and Van Soest, R. 2005. Screening of antimicrobial activity of marine sponge extracts. Mycology Medical. 15: 33–38.

Rosenblatt JE 1991. Laboratory Tests Used to Guide Antimicrobial Therapy. Mayo Clin. Proc. 66: 942-948.

Tadesse, M., Gulliksen, B., Strøm, B.C., Styrvold, O. B., and Haug, T. 2008. Screening for antibacterial and antifungal activities in marine benthic. Invertebrate pathology. 99(3):286-93.

Thakur Narsinh, L., Thakur Archana, N., and Muller Warner, E. 2005. Marine natural products In drug discovery. Natural Products Radiance. 4: 471-477.

Touati,I., Chaieb, K., Bakhrouf, A., and Gaddour, K. 2007. Screening of antimicrobial activity of marine sponge extracts collected from Tunisian coast. Mycology Medical. 17:183–187.

Zaro, B. A. 1982. Marine sponges: a source of novel antibiotics. Proceedings of the Western Pharmacological Society. 25: 11–13.