دوماهنامه طبّ جنوب
پژوهشکده زیست- پزشکی خلیج فارس
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی بوشهر
سال بیستم، شماره ۱، صفحه ۱۳۴– ۱۱۵ (فروردین و اردیبهشت ۱۳۹۶)

Iran South Med J 2017; 20(1): 115-134

مروری بر ارتباط مرجان‌ها و میکروارگانیسم‌های همزیست آنها از دیدگاه بوم‌شناسی و زیست فناوری

زهرا امینی‌خوئی [۱]، مریم مرادی‌نسب [۲]، اکرم نجفی [۱*]، ایرج نبی‌پور [۱]

[۱] مرکز تحقیقات زیست فناوری دریایی خلیج‌فارس، پژوهشکده علوم زیست پزشکی خلیج‌فارس، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر، بوشهر، ایران
[۲] مرکز تحقیقات طب گرمسیری و عفونی خلیج‌فارس، پژوهشکده علوم زیست پزشکی خلیج‌فارس، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر، بوشهر، ایران

(دریافت مقاله: ۹۵/۱۰/۱۱- پذیرش مقاله: ۹۵/۱۲/۱۶)

چکیده

زمینه: مرجان‌ها، اجتماعات پروکاریوتی متنوع و فراوانی را به شکل همزیست داخلی و یا خارجی در خود جای داده‌اند. در مطالعه مروری حاضر ارتباط بین مرجان‌ها و میکروارگانیسم‌های همزیست آنها از دیدگاه بوم‌شناسی و زیست فناوری را مورد بررسی قرار خواهیم داد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه مقالات نمایه شده در پایگاه های اطلاعاتی **Pubmed**، **Science Direct**، **Google Scholar** و **Scirus** مورد بررسی قرار گرفتند. واژگان مورد جستجو شامل مرجان، میکروارگانیسم همزیست، بوم‌شناسی و زیست فناوری بودند. در مجموع از میان ۱۲۰ مقاله و گزارش، با حذف موارد مشابه در نهایت تعداد ۱۰۳ مقاله ارزیابی گردید.

یافته‌ها: میکروارگانیسم‌های همزیست مرجان‌ها در کنج‌های اکولوژیکی مانند لایه موکوس سطحی، بافت و اسکلت آنها مستقر هستند. آنها در چرخه سولفور، تثبیت نیتروژن، تولید ترکیبات ضد میکروبی و حفاظت از مرجان‌ها در برابر عوامل بیماری‌زا نقش دارند. بسیاری از ترکیبات فعال زیستی که به بی‌مهرگان مانند اسفنج‌ها و مرجان‌ها نسبت داده می‌شود در حقیقت به وسیله باکتری‌های همزیست آنها تولید می‌گردد. متابولیت‌های متنوع تولید شده توسط این میکروارگانیسم‌ها می‌تواند به عنوان دارو مورد استفاده قرار گیرد. پنج ساز وکار غربالگری شامل غربالگری متداول، متاژنومیک، ژنومیک، بیوسنتز ترکیبی و سنتز زیستی برای کشف و گسترش ترکیبات طبیعی میکروب‌های دریایی مورد استفاده قرار می‌گیرند.

نتیجه‌گیری: با توجه به مطالب گردآوری شده می‌توان چنین نتیجه گرفت که مطالعات اکولوژیکی در مورد روابط طبیعی بین مرجان‌ها و میکروارگانیسم های همزیست آنها، پیش نیاز تحقیقات زیست فناورانه بوده و مسیر دستیابی به ترکیبات فعال زیستی موجود در این جاندارن را روشن‌تر می‌سازد. همچنین پیشنهاد می‌شود در گام نخست از تکنولوژی‌های مدرن و روش‌های غربالگری پیشرفته برای شناسایی جمعیت میکروارگانیسم‌های دریایی و پس از آن برای شناسایی متابولیت های ثانویه زیستی موجود در آنها استفاده گردد.

واژگان کلیدی: مرجان، میکروارگانیسم همزیست، بوم‌شناسی، زیست فناوری

---

[*] بوشهر، مرکز تحقیقات زیست فناوری دریایی خلیج‌فارس، پژوهشکده علوم زیست پزشکی خلیج‌فارس، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر، بوشهر، ایران
[*] این تحقیق با حمایت بنیاد ملی نخبگان در قالب دوره پسادکترا (جایزه علامه طباطبایی) در مرکز تحقیقات زیست فناوری دریا وابسته به دانشگاه علوم پزشکی بوشهر انجام شده است.

Email: akna85@gmail.com

مقدمه

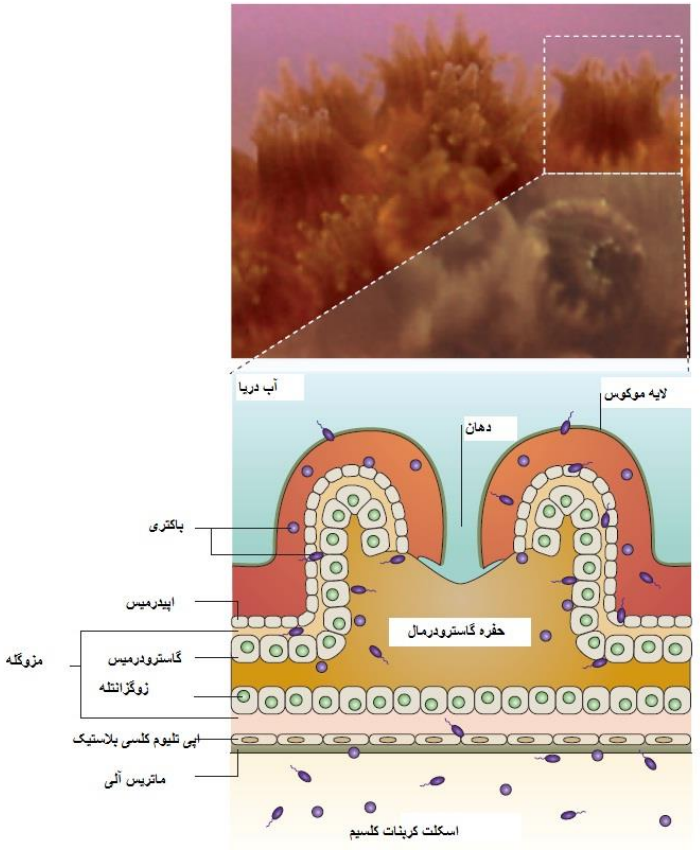
جزایر مرجانی، یکی از متنوع‌ترین و پرتولیدترین اکوسیستم‌های دریایی در مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری هستند (۱ و ۲). اکوسیستم‌های مرجانی مکانی برای تغذیه و تخم‌گذاری بسیاری از گونه‌های دریایی اعم از بی‌مهرگان و مهره‌داران می‌باشند. بنابراین بقاء و پایداری مرجان‌ها برای اکوسیستم دریا و حتی سلامت انسان‌ها لازم و ضروری است (۵-۳). در سال‌های اخیر مطالعات متعدد پیرامون اکولوژی و نقش حیات بخش مرجان‌ها بر روی کره زمین انجام شده است (۶). از طرف دیگر، در موضوع کشف ترکیبات فعال زیستی با منشاء مرجانی روند تحقیقات با سرعت بالایی رو به افزایش است (۹-۷).

مرجان‌ها، میزبان مناسبی برای گروه‌های متنوعی از جانداران دریایی و به ویژه میکروارگانیسم‌های دریایی هستند و معمولاً سه زیستگاه اصلی برای جمعیت میکروارگانیسم‌های همزیست خود فراهم می‌سازند. این زیستگاه‌ها شامل بافت اصلی مرجان، اسکلت کربنات کلسیم و موکوس سطحی آنها است که هر کدام جمعیت میکروبی منحصر به فردی را در خود جای می‌دهند (۱۰). موکوس مرجان‌ها حاوی غلظت بالایی از ترکیبات آلی و غیرآلی است که باعث می‌شود باکتری‌های خاص و کمیاب (حساس به ماده مغذی) در آن رشد کرده و افزایش یابند. برای مثال در موکوس مرجان‌ها، موکوپلی ساکارید اسید ترشح می‌شود که باعث دفع یا به دام انداختن باکتری‌های بیماری‌زا شده و از مرجان‌ها دفاع می‌کند (۱۱).

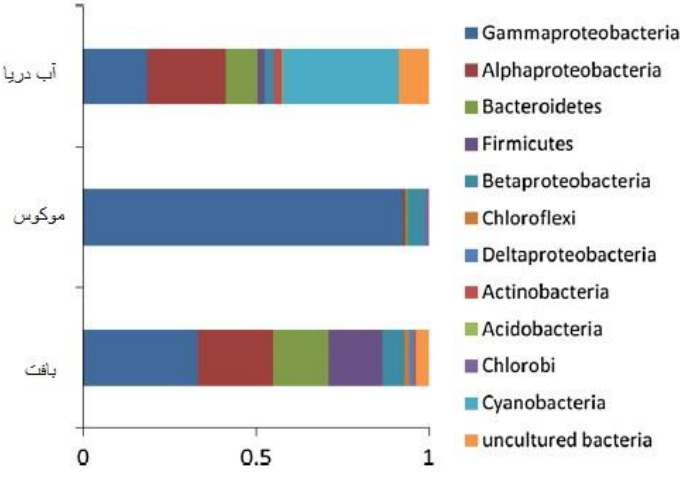
مرجان‌ها، جلبک‌های تک سلولی و میکروب‌های همزیست آنها را هولوبیونت (Holobiont) می‌نامند (شکل ۱). در هولوبیونت مرجانی، جلبک‌های تک سلولی مانند دینوفلاژله‌های فتوسنتز کننده از جنس *Symbiodinium* مشاهده می‌شوند (۱۲). این جلبک‌های تک سلولی که در واکوئل‌های متصل به غشاء سلول‌های ویژه‌ای از مرجان‌ها قرار گرفته‌اند، تقریباً ۶۰ تا ۸۰ درصد از تولید فتوسنتز خود را به میزبان مرجانی‌شان انتقال می‌دهند که منبع اصلی کربن آنها است. وجود این منبع کربنی، رشد و بازماندگی مرجان‌ها را در زیستگاه‌های تهی از مواد غذایی امکان‌پذیر می‌سازد. این جانداران فتوسنتز کننده تک سلولی همچنین اکسیژن مورد نیاز میزبان را تأمین می‌نمایند.

از طرفی غلظت بالای اکسیژن (اشباع) که منجر به تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌گردد، نقش حفاظتی در برابر عوامل بیماری‌زا دارد (۱۳). همزیستی بین مرجان‌ها و جلبک‌های دینوفلاژله بسیار پویا و انعطاف‌پذیر است. به طوری که مرجان‌ها می‌توانند برخی از کلادهای (شاخه‌های) دینوفلاژله همراه خود را از دست داده و کلادهای جدید را جایگزین نمایند. این پویایی برای بقاء مرجان‌ها در هنگام تغییر شرایط محیطی و استرس‌های ناشی از آن بسیار کارآمد است. تغییرات و نوسانات در جمعیت باکتری‌های همزیست مرجان‌ها نیز قابل مشاهده است (۱۴ و ۱۵). شواهد نشان می‌دهد که میکروب‌های همزیست مرجان، حداقل برای چرخه‌های بیوژئوشیمیایی و دفاع در برابر میکروب‌های بیماری‌زا مورد نیاز مرجان می‌باشند. به طوری که ژن های تنظیم کننده تثبیت کربن، شکستن کربن در باکتری‌های همزیست مرجان‌ها شناسایی شده‌اند (۱۶) (شکل ۲).

اگرچه حضور باکتری‌های همزیست در مرجان‌ها سال‌ها پیش تأیید شده است، اما اطلاعات محدودی در مورد نقش و عملکرد آنها در هالوبینت مرجانی وجود دارد.

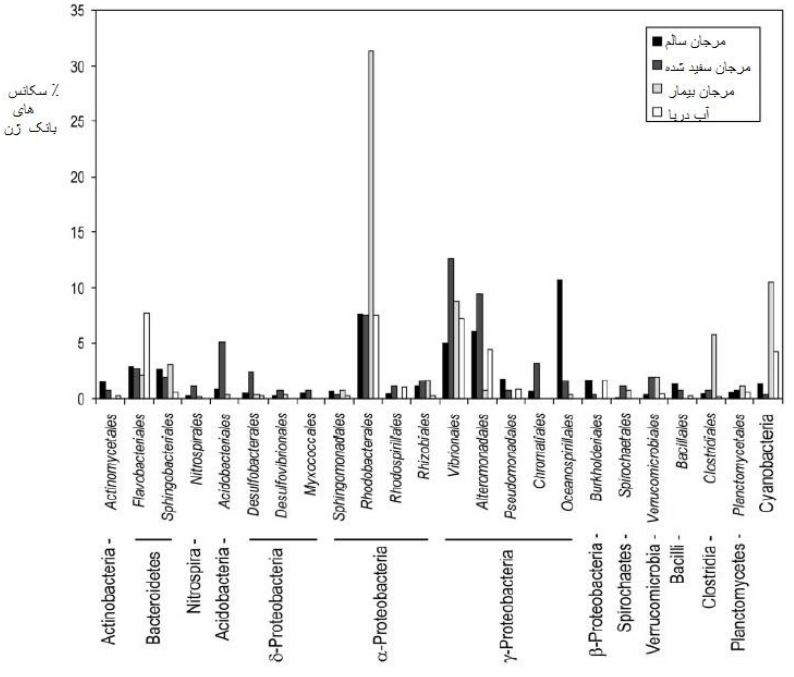


شکل ۱) ساختار بافت مرجان. مرجان‌های سخت متشکل از سه ساختار هستند که برای باکتری‌ها زیستگاه مناسب مهیا می‌کند: لایه موکوس سطحی، بافت مرجان (حفره گاسترودرمال) و اسکلت کربنات کلسیم. زوگزانتله در گاسترودرمیس جای دارند (۱۶).



شکل ۲) ترکیب باکتری‌های آب دریا، موکوس و بافت (۲۰).

در چند دهه اخیر، اکوسیستم‌های صخره‌های مرجانی در معرض تهدید جدی قرار گرفته و رو به کاهش است. این زوال در برخی موارد به دلیل وجود بیماری در مرجان‌ها است. تاکنون، بیش از ۲۰ بیماری در مرجان‌ها شناخته شده است که به دلیل دشوار بودن جداسازی و کشت عوامل بیماری‌زا و یا بافت میزبان، تنها ۶ عامل بیماری شناسایی شده است. اطلاعات در مورد عوامل ایجاد و انتقال بیماری بسیار محدود است. بنابراین نقش باکتری‌های همراه با مرجان‌ها در سلامت و بیماری آنها کاملاً واضح و روشن نمی‌باشد (۱۷). برای درک بهتر چگونگی تغییرات جمعیت باکتری‌های همزیست مرجان‌های آسیب دیده و بیمار و مقایسه آن با مرجان‌های سالم مطالعات زیادی انجام شده است. نتایج این تحقیقات نشان می‌دهد که ترکیب و عملکرد باکتری‌های همزیست در مرجان‌های سالم و بیمار کاملاً متفاوت است (۱۸). تغییر در شرایط محیطی نیز ممکن است به طور مستقیم یا غیرمستقیم جمعیت میکروب‌های همزیست را تغییر دهد. برای مثال، افزایش مواد مغذی (نیتروژن، کربن آلی محلول) موجب شکوفایی و افزایش تعداد ویژه‌ای از باکتری‌های بیماری‌زا می‌شود (۱۶). در سال‌های اخیر فرضیه مرجان پروبیوتیک در میان پژوهشگران مطرح شد. این فرضیه بیان می‌کند که مرجان‌ها با تغییر در جمعیت باکتری‌های همزیست خود توان سازگاری با محیط جدید را پیدا می‌کنند. بنابراین هولوبیونت مرجانی دارای سیستم خود تنظیمی است و این ظرفیت را دارد که مانع از حضور باکتری‌های خارجی و بیماری‌زا شود (۱۸ و ۱۹).



شکل ۳) آنالیز توالی *16S rRNA* میکروب‌های همزیست مرجان‌ها. مرجان‌های سالم (۴۲۷۱ توالی)، مرجان‌های سفید شده (۲۵۴ توالی)، مرجان‌های بیمار (۵۲۴ توالی) و همپوشانی مرجان‌ها و آب (۶۶۲ توالی) (۱۵).

نتایج یک مطالعه نشان داد که جمعیت باکتری‌های همزیست در مرجان‌هایی که متأثر از فعالیت‌های انسانی بوده‌اند، متفاوت از مناطق دیگر می‌باشد. تغییرات فصلی نیز عاملی برای حضور یا عدم حضور گونه‌های مختلف میکروبی می‌باشد (۲۰). در برخی از مطالعات شواهدی مبنی بر اختصاصی بودن حضور بعضی از گونه‌های باکتریایی به مرجان میزبان خود وجود دارد. برای مثال روور (Rohwer) و همکاران نشان دادند که باکتری‌های همزیست با سه گونه مرجان در پاناما، مشابه باکتری‌های همزیست همان گونه‌های مرجان در برمودا هستند. با این وجود، در مطالعات دیگر نتایج متناقض دیگری نیز مشاهده شد. به طوری که جمعیت‌های متفاوت باکتریایی در مرجان‌های مشابه در مکان‌های مختلف مشاهده گردید. این اختلاف‌ها می‌تواند مربوط به روش‌های متفاوت شناسایی باکتری‌های همزیست نیز باشد (۲۱) (شکل ۳).

مواد و روش‌ها

در این مطالعه مقالات نمایه شده در Pubmed، Science Direct، Google Scholar و Scirus مورد بررسی قرار گرفتند. واژگان مورد جستجو شامل مرجان، میکروارگانیسم همزیست، بوم‌شناسی و زیست فناوری بودند. در مجموع از میان ۱۲۰ مقاله و گزارش، با حذف موارد مشابه در نهایت تعداد ۱۰۳ مقاله ارزیابی گردید.

همزیستی مرجان و باکتری‌ها از دیدگاه اکولوژیک

مطالعات نشان می‌دهد که چندین عامل احتمالی برای ایجاد یک رابطه کارآمد میان میزبان و جمعیت میکروبی وجود دارد. این عوامل شامل موارد زیر هستند:

۱- میزبان‌ها باید بتوانند الگوی مولکولی میکروب‌های همزیست را تشخیص دهند تا توانایی ایجاد رابطه همزیستی مناسب با باکتری‌های مطلوب و مورد نظر و یا پاسخ دفاعی به جمعیت میکروب‌های ناخواسته را داشته باشد.

۲- میزبان‌ها باید قابلیت ترشح دامنه وسیعی از ترکیبات ضد میکروبی را داشته باشند تا بتوانند از میان جمعیت میکروب‌های عمومی، گروهی را انتخاب کنند.

۳- میزبان‌ها با ترشح ترکیبات شیمیایی ویژه و یا مواد مغذی منحصر به فرد، میکروارگانیسم‌های مورد نظر خود را جذب نمایند.

۴- میزبان مرجانی باید توانایی نگهداری و پایداری جمعیت‌های اصلی میکروبی خود را داشته باشد، تا در برابر باکتری‌های مهاجم قادر به دفاع و مقابله باشد. مستندات برای موارد ۱ و ۲ نشان می‌دهد که ترکیب جمعیت همزیست نکته مهم‌تری است. در حالی که موارد ۳ و ۴ بیشتر بر روی عملکرد تأکید دارند. در برخی موارد توان تشخیص و احتمال همزیستی میکروارگانیسم‌های خاص از میان تمام میکروارگانیسم‌های محیطی بر اساس ساختارهای سطحی آنها (لیپوپلی ساکاریدها، پپتیدوگلیکان و غیره) است. ژنوم مرجان‌ها (به ویژه هیدروزوآ و آنتوزا) هومولوگ‌های پروتئینی خاصی را کد می‌کنند که توانایی تشخیص میکروارگانیسم‌ها، الگوی مولکولی مانند گیرنده‌های C-type و لکتین‌های دیگر و الیگومیریزاسیون آنها را داشته باشد (۲۲).

میکروب‌ها نقش مهمی در چرخه عناصر اکوسیستم ایفا می‌نمایند. این میکروارگانیسم‌های همزیست، در چرخه سولفور، تثبیت نیتروژن، تولید ترکیبات ضد میکروبی، مهار ارتباط بین سلولی و اختلال در عملکرد پاتوژن‌های

فرصت‌طلب نقش دارند و بدین ترتیب توان فیزیولوژیک مرجان‌ها را بالا می‌برند (۲۳). برای مثال سیانوباکترها، علاوه بر آن که فتوسنتز کننده‌های میکروبی هستند و محصولات فتوسنتز خود را به میزبان‌شان انتقال می‌دهند، در چرخه نیتروژن نیز فعال‌اند. سطح نیتروژن در آب‌های دریایی الیگوتروف بسیار پایین است. بنابراین سیانوباکترها مقدار بسیار زیادی از نیتروژن مورد نیاز میزبان خود را در اختیار آنها قرار می‌دهند.

مطالعات متاژنوم و ژن‌های عملکردی نشان می‌دهد که بسیاری از باکتری‌های همزیست مرجان‌ها در چرخه نیتروژن دخالت دارند (۲۶-۲۳). باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن مانند *رودوبیوم*، *ریزوبیال*، *سیانوباکتری* و باکتری‌های اکسید کننده آمونیاک مانند *نیتروسپیرا* و *نیتروزوکوکوس* از مرجان‌ها جداسازی شده است (۲۳). به طور ویژه تعداد بسیار زیادی از *ریزوبیال* ها در راسته زوآنتایدها شناسایی شده‌اند (۲۷). *Hodobium* یک جنس از *ریزوبیال* است که قادر به تولید هیدروژن از طریق نیتروژناز می‌باشد. *نیتروسپیرا* نیز یک باکتری اکسید کننده نیتریت است که می‌تواند نیتریت را به نیترات تبدیل نماید.

نیتروزوکوکوس قادر به اکسیداسیون آمونیاک به نیتریت است. آنها باکتری‌های شوره ساز مهم در زیستگاه‌های دریایی هستند. علاوه بر این Candidatus در مرجان‌ها با اکسیداسیون آمونیاک به نیتریت، به عنوان گروه غالب در شرایط هوازی برای اکسیداسیون آمونیاک عمل می‌کنند (۲۸ و ۲۹).

رقابت زیادی بین میکروب‌های همزیست بی‌مهرگان دریایی به منظور یافتن غذا و فضای مناسب برای زندگی وجود دارد. یک راهکار برای از بین بردن رقبا و بقاء، تولید آنتی‌بیوتیک برای از بین بردن دیگر میکروب‌هاست. برای مثال باکتری‌های *استرپتومایسز* و *آمیکولاتوپسیس* تولید کننده آنتی‌بیوتیک‌ها هستند.

اعضاء چنین جنس‌هایی ممکن است مواد فعال زیستی را تولید کنند که مرجان‌های میزبان را در برابر عوامل بیماری‌زا محافظت نمایند. نکته قابل توجه این است که تنوع ترکیبات ضد میکروبی حاصل از باکتری‌های همزیست مرجان‌ها قابل مقایسه با ترکیبات تولید شده توسط همزیست‌های اسفنجی و یا رسوبات دریایی نمی‌باشد. بنابراین، میکروب‌ها در هولوبیونت مرجانی شریکی برای تکامل، پیشرفت و واکنش‌های متقابل اکولوژیک هستند (۳۰).

تنوع باکتری‌های همزیست مرجان‌ها

سال‌ها تصور بر آن بود که دینوفلاژله‌ها تنها گروه همزیست مرجان‌ها می‌باشند. اخیراً پیشرفت روش‌های میکروب‌شناسی مولکولی نشان می‌دهد که تعداد بسیار زیاد و متنوعی از باکتری‌ها نیز همزیست مرجان‌ها هستند. نتایج مطالعات اخیر نشان می‌دهد که گونه‌های باکتریایی همزیست مرجان‌ها بسیار بالا است و بسیاری از آنها در سطح جنس و گونه جدید می‌باشند (۳۴-۳۱).

دانشمندان تخمین زده‌اند که اقیانوس‌ها حاوی بیشترین سلول‌های پروکاریوتی در حدود $۳/۶۷\times۱۰^{۳۰}$ سلول در زمین هستند (۳۵ و ۳۶). شاخه‌های مختلف باکتری‌ها از جمله اکتینوباکترها، اسیدوباکترها، کلروفلکس‌ها، پلانکتومایست‌ها، پروتئوباکترها، سیانوباکترها، باکتریودیت‌ها، وروکومیکروبیا و پوری باکترها در بافت، موکوس و یا اسکلت مرجان‌ها مشاهده شده‌اند (۳۶ و ۳۷).

این میکروارگانیسم‌های همزیست حجم قابل توجهی از وزن میزبان خود را اشغال می‌کنند. به طوری که

این فراوانی و تنوع، بسیار بالاتر از جمعیت باکتریایی آب‌های محیط اطراف مرجان‌ها است. در یک مطالعه با روش pyrosequencing، جمعیت باکتری‌های همزیست یک گونه زوآنتاید Palythoaaustraliae، غالباً از گروه پروتئوباکتری‌ها و به طور ویژه آلفا پروتئوباکتری‌ها، اکتینوباکترها، اسیدوباکترها و ۱۰ درصد اعضاء گروه کلروفلکس‌ها بودند (۲۷). مطالعه موکوس یک گونه مرجان (*Acropora* sp.) با روش PCR-DGGE، نشان داد که بیشتر باکتری‌های همزیست متعلق به گروه آلفاپروتئوباکتری‌ها، گاما پروتئوباکتری‌ها و وبیریوها بودند (۳۷). بررسی تنوع و فراوانی جمعیت باکتری‌های همزیست مرجان‌های *Montipora* هاوایی نیز نشان داد که گروه‌های غالب شامل آلفا، بتا و گاما پروتئوباکتری‌ها به همراه جنس‌های *ویبریو* می‌باشند (۳۸).

به طور کلی جمعیت باکتری‌های همزیست با راسته زوآنتایدها بسیار مشابه جمعیت همزیست با مرجان‌های اسکلراکتین است (۱).

توانایی باکتری‌های همزیست مرجان‌ها در تولید متابولیت‌های ثانویه

امروزه اهمیت باکتری‌های خشکی‌زی و ارزش مواد فعال ارزشمند آنها بر همگان روشن است. تاکنون داروهای زیادی از جمله پنی‌سیلین، سایکلوسپورین A، آدریمایسین از میکروارگانیسم‌های خشکی در دسترس بیماران است.

این در حالی است که باکتری‌های آبزی کمتر مورد توجه قرار گرفته‌اند. اما مطالعات متعدد در سال‌های اخیر پتانسیل باکتری‌های دریایی در تولید متابولیت‌های فعال و با ارزش را روشن ساخته است. تاکنون، بالغ بر ۳۰ ترکیب از میکروب‌های دریایی مانند Didemnin B (Aplidine) و Thiocoraline و در مرحله مطالعات بالینی یا پیش بالینی برای درمان سرطان‌های مختلف می‌باشند (۳۹).

مرجان‌های ساکن یا پولیپ به دلیل ساکن بودن، برای مقابله با خطرهای محیطی دفاع شیمیایی را انتخاب می‌کنند و در بسیاری از موارد ترکیبات شیمیایی دفاعی را از میکروارگانیسم‌های همراه خود دریافت می‌کنند. میکرو ارگانیسم‌های دریایی، از منابع اولیه آنزیم‌های دریایی هستند و علاقمندی زیادی به مطالعه مدل‌های اکسترموفیل وجود دارد. بقاء و توان سازگاری این موجودات نسبت به دامنه تغییرات زیاد دما و pH یا فشار و شوری بالا می‌تواند به دلیل استحکام کاتالیست‌های زیستی موجود در این جانوران باشد (۴۰).

میکروب‌های همزیست بی‌مهرگان دریایی: فرصتی برای زیست فناوری میکروبی

بی‌مهرگان دریایی منبع غنی از متابولیت‌های فعال زیستی هستند و از پتانسیل خوبی برای استفاده به عنوان دارو بهره‌مند می‌باشند. در بسیاری از موارد، میکروارگانیسم‌ها مسئول و یا مظنون تولید ترکیبات طبیعی در بی‌مهرگان دریایی هستند. بکارگیری علم میکروب‌شناسی مولکولی در مطالعه ارتباط بین بی‌مهرگان و میکروارگانیسم‌های همراه آنها اطلاعات پایه بیولوژیکی را در اختیار ما قرار می‌دهد (۲). اغلب وجود و عملکرد میکروب‌های همزیست نسبتاً روشن است. برای مثال تعدادی از ماهی‌ها و برخی از اسکوئیدها باکتری‌های بیولومینسنت که از خود نور منتشر می‌کنند را به عنوان منبع نوری و همزیست در بدن خود دارند.

بی‌مهرگان دریایی، به ویژه موجودات ساکن و بی‌حرکت منبع غنی از متابولیت‌های غیرمعمول هستند. این حیوانات، مانند گیاهان خشکی وابسته به دفاع شیمیایی برای از بین بردن دشمنان خود می‌باشند (۴۳-۴۱). در

برخی موارد مستنداتی وجود دارد که ترکیبات ساخته شده اتوژنوز و توسط خود موجود ساخته می‌شوند. در حالی که در مواردی نیز جمعیت میکروبی را مسئول ساخت این ترکیبات می‌دانند. تشخیص و تمایز واضح در بسیاری موارد غیرممکن می‌باشد. شباهت‌های ساختاری به متابولیت‌های تولید شده توسط باکتری‌ها وجود دارد. ترکیبات مشابه موجود در هر دو گروه می‌توانند به دلیل مسیر تکاملی موازی یا متلاقی آنها باشد (۴۴). یک احتمال دیگر انتقال ژن‌های خاص از باکتری‌ها به ارگانیسم‌های دیگر مانند بی‌مهرگان دریایی است. از سال ۱۹۹۵، روند تحقیق بر روی متابولیت‌های ثانویه میکروارگانیسم‌های دریایی با سرعت بیشتری پیش رفته است. در این تحقیقات، این فرضیه که بسیاری از متابولیت‌های ثانویه تولید شده در جلبک‌ها و بی‌مهرگان دریایی ممکن است از میکروارگانیسم‌های همراه آنها منشاء گرفته باشد، بیشتر تقویت شده است (۴۵).

توسعه استفاده از ترکیبات طبیعی موجود در بی‌مهرگان دریایی به دلیل مشکلات کنونی مانند کمیابی موجودات، رشد کند و آرام آنها به همراه سختی جمع‌آوری این موجودات، مسیر دستیابی به مشتقات ترکیبات طبیعی ثانویه آنها را سخت و پیچیده می‌نماید. جمع‌آوری از محیط‌های طبیعی آسیب جبران‌ناپذیری به محیط طبیعی‌شان وارد می‌کند. آبزی‌پروری گزینه مناسبی برای تولید این ترکیبات است (۴۶).

بنابراین ترکیبات طبیعی حاصل از ارگانیسم‌های همزیست بی‌مهرگان دریایی علاوه بر اینکه موضوع بسیار جالبی برای تحقیقات بیولوژی و بیوشیمی هستند، از موقعیت مناسبی نیز برای تولید انبوه برخوردار می‌باشند. کشت همزیست‌ها، درک تنظیم تولید ترکیبات و بهینه‌سازی بیوسنتز آنها مشکل جمع‌آوری از محیط طبیعی را به طور کامل از بین می‌برد. اگرچه کشت و پرورش میکروب‌های همزیست آسان نمی‌باشد (۴۷).

متابولیت‌های ثانویه باکتری‌های همزیست مرجان‌ها

در حال حاضر ۱۶ ترکیب از ۲۰ ترکیب ضد سرطان دریایی که در مرحله بالینی قرار دارند از منابع میکروبی هستند (۴۸). برای مثال اکتینوباکترها پتانسیل بالایی برای تولید ترکیبات زیستی جدید دارند (۴۹). از ۲۲۰۰۰ متابولیت ثانویه میکروبی شناخته شده، ۷۰ درصد آنها به وسیله اکتینومایست‌ها، ۲۰ درصد توسط قارچ‌ها، ۷ درصد توسط *Bacillus* sp. و ۱ تا ۲ درصد به کمک سایر باکتری‌ها تولید می‌شوند. در میان اکتینومایست‌ها، گروه استرپتومایست اهمیت اقتصادی ویژه دارند (۴۱). از ترکیبات تولیدی توسط باکتری‌های دریایی می‌توان به سالینوسپورامیداها که یک ترکیب ضدسرطانی است اشاره نمود. Abyssomicin C نیز که یک آنتی‌بیوتیک با ساختار پلی‌کتاید چند حلقوی جدید است که از سویه دریایی *Verrucosispora* جداسازی شده است (۴۲). این ترکیب مهارکننده قوی بیوسنتز پارا آمینو بنزوئیک اسید است که بیوسنتز اسید فولیک را در مراحل اولیه مهار می‌نماید. همچنین فعالیت شدیدی در برابر باکتری‌های گرم مثبت، مانند *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به ونکومایسین دارد.

Diazepinomicin، یک فارنسیلات دی بنزودیازی پینون است که به وسیله سویه *Micromonospora* تولید می‌گردد. این ترکیب خاصیت ضد باکتریایی و ضد سرطانی دارد (۴۳). یک ترکیب شناخته شده دیگر Salinosporamide A است، که یک ترکیب

بتالاکتون- گاما لاکتام برگرفته از *سالینیسپورا تروپیکا* است (۴۴).

در مطالعه‌ای که روی باکتری‌های موجود در موکوس مرجان‌های سخت مانند *Platygyra* sp.، *Porites* sp.، *Stylophora* sp. و *Pocillopora* sp. و مرجان‌های نرم *Rhytisma fulvum* و *Xenia* sp. صورت گرفت بین ۲۵ تا ۷۰ درصد باکتری‌های قابل کشت، فعالیت زیستی از خود نشان دادند. در میان باکتری‌های مختلف دو باکتری از جنس *ویبریو* و *سودوآلتروموناس* فعالیت ضد باکتری بیشتری در برابر باکتری‌های گرم منفی و مثبت نشان دادند (۵۰). مطالعات صورت گرفته بر روی رنگدانه‌های فعال زیستی باکتری‌های دریایی آزادزی و همزیست با بی‌مهرگان دریایی نشان داده است که این رنگدانه‌ها دارای خواص فعال زیستی منحصر به فردی می‌باشند (۵۱). برای مثال پرودیگینین‌ها (Prodiginin) (معروف به نان خونی اسرارآمیز)، ترکیبات قرمز رنگ ویژه‌ای هستند که برای اولین بار از باکتری *سراشیا مارسسنس* جداسازی و به عنوان متابولیت ثانویه شناخته شدند (۵۲ و ۵۳).

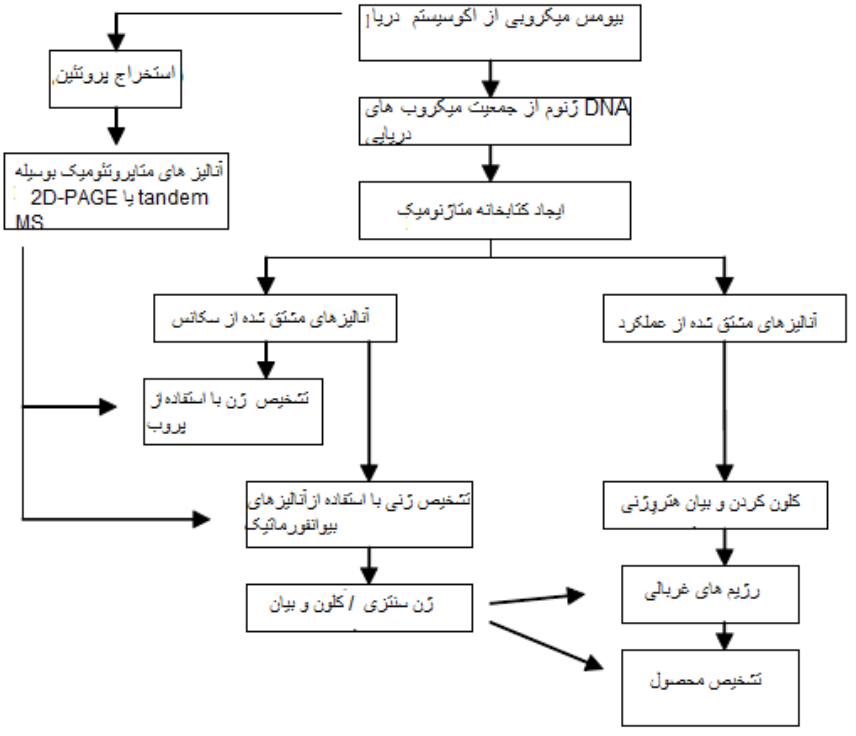
پرودیگینین‌ها یک ساختار هسته پیرولیل دی پیرو متن مشترک دارند که دارای خواص زیستی گسترده و متنوع شامل خواص ضد باکتری، ضد قارچی، ضد مالاریا و تحریک کننده ایمنی است (۵۴). به دلیل داشتن چنین ویژگی‌هایی تحقیقات بسیار زیادی در دهه اخیر بر روی این ترکیبات صورت گرفته است. به علاوه چندین گروه از باکتری‌های دریایی از جنس *Streptomyces*، *Actinomadura*، *Pseudomonas* و *Pseudoalteromonas* نیز حاوی پرودیگینین می‌باشند. اخیراً باکتری‌های تولید کننده رنگدانه‌های قرمز از رودخانه‌ها و حتی استخرهای شنا نیز جداسازی شده است (۵۵).

یک گروه دیگر از رنگدانه‌های موجود در باکتری‌های دریایی، کاروتن‌ها هستند. این ترکیبات هیدروکربن‌های غیراشباع‌اند که حاوی ۴۰ اتم کربن در مولکول خود می‌باشند و معمولاً در گیاهان فتوسنتز کننده تولید می‌شوند.

اخیراً در یک باکتری هالوفیل قرمز رنگ که برای رشد خود نیاز به ۲۵-۱۵ درصد نمک داشت، حضور فیتون (phytoene)، فیتوفلوئن (phytofluene)، لیکوپن (lycopene) و بتاکارتن (β-carotene) تأیید شده است (۵۶). آستاگزانتین، یکی از کارتنوئیدهای مهم تجاری است که در باکتری‌ها مشاهده شده و به عنوان مکمل غذای انسان و حیوانات مطرح می‌باشد. یک کلاستر ژنی بیوسنتز کارتنوئیدها نیز در باکتری دریایی *Agrobacterium aurantiacum* شناسایی شده است (۵۷).

فنون‌های مطالعه جمعیت و ترکیبات فعال زیستی باکتری‌های همزیست بی‌مهرگان دریایی

امروزه تکنیک‌های مدرن زیست‌شناسی مولکولی و میکروب‌شناسی برای شناسایی جمعیت‌های میکروبی و نیز استخراج مواد فعال زیستی مختلف از میکروب‌های دریایی مورد استفاده قرار می‌گیرند (۵۸). به طور معمول جداسازی و خالص‌سازی میکروارگانیسم‌های دریایی با دو روش وابسته به کشت یا مستقل از کشت صورت می‌گیرد (شکل ۴) (۵۹).



شکل ۴) روش‌های بر پایه امیک (Omic) برای تشخیص کاتالیست‌های زیستی جدید از اکوسیستم‌های دریایی (۴۴).

روش وابسته به کشت برای شناسایی ساختار و عملکرد جمعیت‌های میکروب‌های دریایی

جداسازی و کشت خالص میکروارگانیسم‌های جدید دریایی مسیر بسیار سختی برای کشف ترکیبات طبیعی جدید دریایی است. با استفاده از روش‌های معمول کشت، تنها بین ۰/۰۰۱ تا ۲ درصد از سلول‌های باکتریایی توانایی تشکیل کلنی دارند (۵۹).

بنابراین روش‌های وابسته به کشت از محدودیت بسیار بزرگی برخوردار می‌باشند. با این حال در سال‌های اخیر، پیشرفت‌های بزرگی در ساخت محیط کشت و روش‌های کشت اتفاق افتاده است. با بهبود در شرایط کشت و مشابه سازی شرایط کشت با محیط طبیعی دریا، تعداد بیشتری از جمعیت‌های میکروبی که پیش از این غیرقابل کشت بودند، توان تشکیل کلنی را به دست آوردند. بنابراین انتخاب و طراحی محیط کشت مناسب و منحصر به فرد برای میکروب‌های دریایی لازم و ضروری است (۶۰).

روش‌های گوناگون شامل روش‌های غنی سازی، پیش تیمارهای فیزیکی و شیمیایی مانند گرمای خشک، قرار گرفتن در معرض فنول ۱/۵–۱ درصد، سانتریفیوژ گرادیانت ساکاروز و فیلتر کردن از طریق کاغذ سلولزی قبل از کشت، موجب بهبود کشت باکتری‌ها در مراحل بعد می‌گردد. با انجام این پیش تیمارها قبل از کشت، احتمال و ریسک آلودگی کاهش می‌یابد و جداسازی میکروب‌های دریایی کند رشد، تسهیل می‌شود (۶۰). یامامورا (Yamamura) و همکاران، برای جداسازی نوکوردیا از سایر اکتینومایست از روش سانتریفیوژ

ساکاروز استفاده نمودند. بیشتر سلول‌های نوکوردیا در لایه ساکاروز ۲۰ درصد جای گرفتند. به طور متمایز تعداد بیشتری از *Streptomyces* sp. در لایه‌های ساکاروز ۳۰، ۴۰ و ۵۰ درصد ساکاروز جای گرفتند. *Micromonospora* در لایه ۲۰ و ۳۰ درصد ساکاروز جداسازی گردید (۶۱). بردهولد (Bredholdt) و همکاران، از تکنیک‌های پیش تیمار (تابش UV، تابش فرکانس فوق‌العاده بالا و شوک سرمایی در ۱۸- °C) بر روی اکتینومایست‌های رسوبات دریا استفاده کردند (۶۲). میکروب‌های دریایی برای رشد نیاز به مواد غذایی ویژه دارند. برانس (Bruns) و همکاران، آب مصنوعی دریا (لب شور) با منابع کربنی مختلف (آگاروز، نشاسته، لامینارین، اگزیلان، کتین و گلوگز) در غلظت پایین (۲۰۰ میکرومول) را برای رشد باکتری‌های هتروتروف دریای بالتیک مورد استفاده قرار دادند. با استفاده از این مواد کارآیی رشد تا حد قابل ملاحضه‌ای افزایش یافت. علاوه بر این آدنوزین منو فسفات حلقوی (AMP)، N-butyryl homoserine lactone یا N-oxohexanoyl-DL-homoserine lactone در غلظت ۱۰ میکرومولار احتمال موفقیت کشت باکتری را افزایش داد. در میان این ترکیبات، آدنوزین منوفسفات حلقوی مؤثرترین تحریک کننده کشت بود و بازدهی کشت را تا ۱۰۰ درصد افزایش داد (۶۳).

سایر شرایط محیط کشت مانند قدرت یونی محیط برای رشد میکروب‌ها مهم هستند. اکتینومایست‌های دریایی مانند جنس‌های *Salinispora* توان تولید متابولیت‌های ثانویه مانند desferrioxamine، saliniketals، arenamides، arenimycin و salinosporamide را دارند. لم و تسانگ (Lam &Tsueng) مشاهده کردند که سه گونه *سالینیسپورا* شامل، *S. arenicola*، *S. tropica* و *S. pacifica* برای رشد خود نیازمند قدرت یونی بالا می‌باشند. این باکتری با استفاده از محیط کشت با پایه- کلراید و با پایه- لیتیوم، برای رشد نیاز به یون‌های دو بار مثبت منیزیم و کلسیم دارد.

علاوه بر این در برخی موارد دیده شده است که میکروب‌های خاص، تنها در حضور گروه‌های ویژه دیگر می‌توانند به طور موفق در شرایط آزمایشگاه رشد کنند. ترکیبات شیمیایی آزاد شده از این گروه‌ها تسهیل کننده یا تحریک کننده رشد باکتری‌های هدف می‌باشند (۶۴).

روش‌های مستقل از کشت برای آنالیز ساختار و عملکرد جمعیت میکروب‌های دریایی

همان طور که گفته شد، امروزه مسئله مهم آن است که میکروب‌هایی که در محیط‌های طبیعی به وفور یافت می‌شوند، در محیط‌های آزمایشگاهی قابل کشت نیستند (۶۵ و ۵۹). بنابراین ما نیازمند آن هستیم که روش‌های جدید و هوشمندانه‌تری را برای شناسایی آنها در آزمایشگاه به کار بریم.

در گذشته، شناسایی تعداد گونه‌های موجود در یک نمونه با استفاده از روش میکروسکوپی صورت می‌گرفت. اما پیشرفت در تکنیک‌ها و تکنولوژی توالی‌یابی DNA/RNA، شناسایی و تعیین تنوع و عملکرد باکتری‌های حاضر در جمعیت باکتریایی را امکان‌پذیر ساخت (۶۶). ما می‌توانیم اطلاعات توالی ژن‌های RNA ریبوزومی را به طور مستقیم و بدون کشت از همزیست‌ها به دست آورده و پروب‌های الیگونوکلئوتید ویژه طراحی کنیم. با این ابزار می‌توانیم جمعیت‌های ویژه مورد نظر، با عملکرد خاص را ردیابی نماییم (۶۷ و ۶۸). همچنین با تکنیک‌های بیولوژی مولکولی و با استفاده از پایگاه‌های داده به عنوان نقطه شروع، می‌توان به طور مستقیم ژن‌های همزیست‌ها را کلون و با استفاده از میزبان بیانی ترکیبات طبیعی را تولید نمود.

این حقیقت که بسیاری از مسیرهای باکتریایی برای تولید متابولیت‌های ثانویه در اپرون‌های پیوسته سازمان‌دهی می‌شوند مسیرهای reconstruction را تسهیل می‌کنند (۶۹). با استفاده از روش غیر قابل کشت ترکیبات ضد سرطان pederin، mycalamide A، onnamide A کشف شدند که نشان دهنده پتانسیل بالای این روش در کشف ترکیبات طبیعی است (۷۰).

در طول چند دهه اخیر، پیشرفت فوق‌العاده‌ای در زمینه اکولوژی میکروبی اتفاق افتاده است. روش‌های آنالیز نسبی جمعیت عموماً شامل روش‌های مبتنی بر PCR می‌شود که برای تشخیص میکروارگانیسم‌ها از کل DNA/RNA استخراج شده از نمونه‌های محیطی استفاده می‌گردد. ساخت کتابخانه کلون، گسترده‌ترین روش مورد استفاده برای آنالیز محصولات PCR از نمونه‌های محیطی است. Genetic fingerprinting، تکنیک رایج دیگری است که یک پروفایل از جمعیت‌های میکروبی بر پایه آنالیز مستقیم محصول PCR از DNA محیطی می‌باشد. این روش‌ها که بر پایه آنالیز مستقیم توالی زیر واحد کوچک ژن ریبوزومی استوار هستند، بسیار مورد استفاده قرار می‌گیرند. به طوری که برای مقایسه ترکیب و ساختار جوامع میکروبی به طور معمول از آنالیز ژن *16S rRNA* استفاده می‌گردد.

روش دیگر DGGE (Denaturing-gradient gel electrophoresis) است که بر اساس اختلاف در دناتوره شدن و جدایی قطعات حاصل از PCR با اندازه مشابه در شیب اوره- فرمامید عمل می‌نماید. روش‌های دیگر شامل SSCP (Single-Strand Conformation Polymorphism)، RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA)، ARDRA (Amplified Ribosomal DNA Restriction Analysis)، T-RFLP (Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism)، LH-PCR (Length Heterogeneity PCR)، and RISA (Ribosomal Intergenic Spacer Analysis) و در نهایت توالی‌یابی در تجزیه و تحلیل اسید نوکلئیک‌ها به طور گسترده مورد استفاده قرار می‌گیرند (۷۶-۷۱).

برای افزایش توان تشخیص میکروارگانیسم‌ها در نمونه‌های پیچیده از روش DNA microarrays استفاده می‌شود (۷۷). این روش بر اساس پروب مورد استفاده به دو گروه 16S rRNA gene microarrays و functional gene arrays (FGA) تقسیم‌بندی می‌شود (۷۸). همچنین RT-PCR (Real Time-PCR) که qPCR (Quantitative-PCR) نیز نامیده می‌شود، برای تعیین کیفیت ژن‌های عملکردی در محیط مورد استفاده قرار می‌گیرد (۷۹ و ۸۰). (FISH) Fluorescence in situ hybridization توان تشخیص گونه باکتری و توزیع فضایی آن را دارا می‌باشد. در آنالیز FISH، پروب‌ها برای یک ژن هدف ویژه در نمونه طراحی می‌شوند. آنالیز توالی‌های ژن *16S rRNA* معمولاً برای مطالعات اکولوژی به کار می‌روند. اگرچه، علی‌رغم طبیعت بسیار حفاظت شده این ژن، شناسایی کامل در سطح جنس و گونه انجام نمی‌شود (۸۴-۸۱).

RNAهای استخراج شده از نمونه‌های محیطی در مقایسه با DNA استخراج شده، اطلاعات ارزشمندتری در شناسایی جمعیت فعال در برابر جمعیت پنهان در اختیار ما قرار می‌دهد. زیرا rRNA و mRNA به عنوان شاخص برای عملکرد جمعیت میکروبی فعال در نظر گرفته می‌شوند (۸۵). میزان rRNA در سلول‌ها با فعالیت رشد باکتری‌ها ارتباط دارد. mRNA ژن‌های عملکردی، امکان ردیابی و تشخیص بیان فعالیت آنزیم‌های کلیدی باکتری را در شرایط مختلف در اختیار ما قرار می‌دهد. مقایسه و آنالیز کمی rRNA بیان شده و ژن‌های

آنزیم‌های کلیدی برای به دست آوردن اطلاعات گروه‌های مختلف باکتری مفید می‌باشد (۸۶). برای مثال تعیین گروه‌هایی که دارای فعالیت اکسیداسیون متان، دنتیریفیکاسیون و یا نیتریفکاسیون هستند.

روش پیشرفته‌تر آنالیز نسبی جمعیت شامل کاوش ایزوتوپ‌های فعال SIP (stable isotope probing) است (۸۷ و ۸۸). این روش، زمانی استفاده می‌شود که جمعیت میکروبی فعال از مولکول‌های زیستی نشان‌دار (اسیدهای چرب فسفولیپید) در طول دوره رشد استفاده می‌نمایند (۸۹).

کشف و توسعه ترکیبات طبیعی جدید دریایی

کشف و توسعه ترکیبات طبیعی جدید دریایی با جداسازی ایزوله‌های جدید یا خاص با روش‌ها و ساز وکارهای جدید غربالگری میسر است و پنج دستورالعمل غربالگری پیشبرد اساسی در کشف ترکیبات طبیعی جدید ایجاد کرده‌اند؛ شامل ۱) روش‌های متعارف غربالگری ۲) متاژنومیکس ۳) ژنومیکس ۴) بیوسنتز و ۵) سنتتیک می‌باشند (۹۰).

اغلب کشف ترکیبات طبیعی از طریق روش‌های متعارف و مرسوم شامل غربالگری بر مبنای فعالیت زیستی و غربالگری بر مبنای ژن است (۹۱). غربالگری بر مبنای فعالیت زیستی می‌تواند به طور مستقیم فعالیت زیستی (ضد میکروبی، ضد سرطانی، ضد ویروسی و ضد انگلی) را با استفاده از کشت سوپرناتانت یا عصاره سلولی شناسایی نماید (۹۲). برای مثال ترکیب Marinomycins A–D که خاصیت ضد میکروبی در برابر پاتوژن‌های مقاوم به دارو و فعالیت ضد سرطانی در برابر سلول‌های ملانوما دارد از کشت محلول نمکی باکتری *Marinispora* sp. جداسازی شد (۹۳).

با روش غربالگری بر مبنای ژن، ژن‌های مسیر بیوسنتز methylmalonyl-CoA transferase of enediyne PKS ،polyketides (PKS) type I O-methyltransferase ،ketosynthase gene ،gene P450 monooxygenase gene و غیره، شناسایی شده است. این روش یک پیش‌بینی ساده و آسان برای تعیین حضور متابولیت‌های ثانویه یا ترکیبات شناخته شده در سویه‌های متفاوت است و فرآیند کشف متابولیت‌های ثانویه را تسریع می‌نماید (۹۶-۹۴). ترکیب این دو روش با یکدیگر می‌تواند ابزار قدرتمندی برای کشف ترکیبات طبیعی جدید در اختیار ما قرار دهد (۹۷).

ژانگ (Zhang) و همکاران، ژن‌های nonribosomal peptide synthetase (NRPS) را با روش PCR در ۱۰۹ باکتری جداسازی شده از اسفنج‌های جنوب چین بررسی کردند. از این میان تعداد ۱۵ باکتری حاوی ژن‌های NRPS بودند. این باکتری‌ها بر اساس توالی *16S rDNA* در دو گروه Firmicutes و Proteobacteria جای گرفتند (۹۸).

یکی دیگر از روش‌های کشف محصولات میکروبی طبیعی دریا، روش متاژنومیک است. این روش میان بری برای موانع مسیر کشت مستقیم است (۹۴).

متاژنومیکس یک مسیر بسیار کارآمد برای دستیابی به ترکیبات طبیعی است که به وسیله ژنوم کل میکروارگانیسم‌های محیطی کد می‌شود. در این روش پس از استخراج کل DNA محیطی و عرضه آن به یک میزبان مناسب، کتابخانه بسیار بزرگ ژنی ایجاد می‌شود که می‌توان ترکیبات طبیعی را در این کتابخانه بزرگ غربالگری نمود (۹۹).

چندین ساختار منحصر به فرد با فعالیت‌های زیستی متنوع مانند terragines، violacein، indirubin و turbomycins با روش متاژنومیکس شناسایی

شده‌اند. این تکنولوژی یک جایگزین مناسب برای جستجو و کشف ترکیبات طبیعی در میکروب‌های غیر قابل کشت است (۴۵ و ۱۰۰).

چالش‌های بر سر راه پیشبرد ترکیبات طبیعی از باکتری‌های دریایی

چندین مشکل اساسی بر سر راه پیشبرد ترکیبات طبیعی از دریا وجود دارد. این چالش‌ها در تنوع زیستی، ذخایر، تکنیک‌ها و بازاریابی خودنمایی می‌کنند. در موضوع تنوع زیستی، موضوع دسترسی به منابع دریایی، شناسایی صحیح و استفاده از روش‌های زیستی کارآمد غربالگری نمونه‌ها و ترکیبات مطرح است. این حقیقت وجود دارد که آنچه ما در مورد ماه می‌دانیم بیشتر از دریا است.

دسترسی به اقیانوس‌ها و مناطق عمیق آن یکی از سختی‌های پیش رو برای دسترسی به موجودات دریایی است. تکنولوژی مهندسی رباتیک برای ارزیابی منابع قابل دسترس دریایی مورد نیاز است. اطلاعات پزشکی زیادی پیرامون ارگانیسم‌های دریایی وجود ندارد. زیرا مطالعات بر اساس در دسترس بودن و انتخاب تصادفی ارگانیسم‌های دریایی صورت گرفته است. نمونه‌برداری‌ها معمولاً بر اساس کاوش گروه‌ها و تاکسون‌های جدید و یا منابع مناطق جغرافیایی بهره‌برداری نشده صورت می‌گیرد (۱۰۱). مطالعات، معمولاً محدود به مناطق کم عمق ساحلی است. در حالی که پتانسیل بالای جمعیت‌های عمیق‌تر غیر قابل دسترسی و نادیده گرفته شده است (۱۰۲). در موضوع ذخایر و تکنیک‌ها چالش‌هایی مانند جداسازی دقیق، استخراج خالص محصول و درک مکانیسم عمل ترکیب مورد توجه است. در نهایت درچالش بازار، ملاحظات قیمت تمام شده محصول و مقرون به صرفه بودن و تولید پایدار مورد نظر می‌باشد (۱۰۳).

نتیجه‌گیری

با توجه به مطالب گردآوری شده، می‌توان چنین نتیجه گرفت که مطالعات اکولوژیکی در مورد روابط طبیعی بین مرجان‌ها و میکروارگانیسم‌های همزیست آنها، پیش نیاز تحقیقات زیست فناورانه بوده و مسیر دستیابی به ترکیبات فعال زیستی موجود در این جاندارن را روشن‌تر می‌سازد. همچنین پیشنهاد می‌گردد در گام نخست از تکنولوژی‌های مدرن و روش‌های غربالگری پیشرفته برای شناسایی جمعیت میکروارگانیسم‌های دریایی و پس از آن برای شناسایی متابولیت‌های ثانویه زیستی موجود در آنها استفاده گردد.

سپاس و قدردانی

نویسندگان این مقاله از تمام پژوهشگرانی که در سرتاسر جهان و کشور عزیزمان نتایج مطالعه‌شان به ارائه این مقاله منجر گردید و به دلیل محدودیت‌های مقاله امکان استناد به تمامی آنها وجود نداشته است کمال امتنان را دارند. مقاله حاضر تحت حمایت مالی سازمان یا مؤسسه‌ای نمی‌باشد.

این تحقیق با حمایت بنیاد ملی نخبگان در قالب دوره پسادکترا (جایزه علامه طباطبایی) در مرکز تحقیقات زیست فناوری دریا وابسته به دانشگاه علوم پزشکی بوشهر انجام شده است.

تضاد منافع

هیچ گونه تعارض منافع توسط نویسندگان بیان نشده است.

References:

1.Krediet CJ, Ritchie KB, Paul VJ, et al. Coral-associated micro-organisms and their roles in promoting coral health and thwarting diseases. Proc Biol Sci 2013; 280(1755): 20122328.

2.Blackall LL, Wilson B, van Oppen MJ. Coral-the world's most diverse symbiotic ecosystem. Mol Ecol 2015; 24(21): 5330-47.

3.Ghanbari Z, Nabipour I, Farrokhnia M. Marine natural products in prevention and treatment of osteoporosis. Iran South Med J 2015; 18(2): 469-85. (Persian)

4.Nabipour I. Marine medicine. Iran South Med J 2010; 13(4): 299. (Persian)

5.Farrokhnia M, Nabipour I. Marine natural products as acetylcholinesterase inhibitor: comparative quantum mechanics and molecular docking study. Curr Comput Aided Drug Des 2014; 10(1): 83-95.

6.Glynn PW, Manzello DP. Bioerosion and coral reef growth: a dynamic balance. Coral Reefs in the Anthropocene. New York City: Springer; 2015, 67-97.

7.Aminikhoei Z, Janahmadi Z, Nabipour I. Biological activities of secondary metabolites of the order Zoanthids. Iran South Med J 2015; 18(5): 1103-14. (Persian)

8.Mohebbi GH, Nabipour I, Vazirizadeh A. The sea, the future pharmacy. Iran South Med J 2014;17(4): 748-88. (Persian)

9.Nazarian M, Hosseini SJ, Nabipour I, et al. Marine bioactive peptides with anti-cancer potential. Iran South Med J 2015; 18(3): 607-29. (Persian)

10.ElAhwany AM, Ghozlan HA, ElSharif HA, et al. Phylogenetic diversity and antimicrobial activity of marine bacteria associated with the soft coral Sarcophyton glaucum. J Basic Microbiol 2015; 55(1): 2-10.

11.Ritchie KB. Regulation of microbial populations by coral surface mucus and mucus-associated bacteria. Mar Ecol Prog Ser 2006; 322: 1-14.

12.Baums IB, Devlin-Durante MK, LaJeunesse TC. New insights into the dynamics between reef corals and their associated dinoflagellate endosymbionts from population genetic studies. Mol Ecol 2014; 23(17): 4203-15.

13.Davy SK, Allemand D, Weis VM. Cell biology of cnidarian-dinoflagellate symbiosis. Microbiol Mol Biol Rev 2012; 76(2): 229-61.

14.Douglas AE. Coral bleaching-how and why. Mar Pollut Bull 2003; 46(4): 385-92.

15.Mouchka ME, Hewson I, Harvell CD. Coral-associated bacterial assemblages: current knowledge and the potential for climate-driven impacts. Integr Comp Biol 2010; 50(4): 662-74.

16.Rosenberg E, Koren O, Reshef L, et al. The role of microorganisms in coral health, disease and evolution. Nat Rev Microbiol 2007; 5(5): 355-62.

17.Willis BL, Page CA, Dinsdale EA. Coral disease on the great barrier reef. Coral health and disease. New York City: Springer, 2004, 69-104.

18.Bourne DG, Garren M, Work TM, et al. Microbial disease and the coral holobiont. Trends Microbiol 2009; 17(12): 554-62.

19.Reshef L, Koren O, LoyaY, et al. The Coral Probiotic Hypothesis. Environ Microbiol 2006; 8(12): 2068-73.

20.Zhang YY, Ling J, Yang QS, et al. The diversity of coral associated bacteria and the environmental factors affect their community variation. Ecotoxicology 2015; 24(7): 1467-77.

21.Rohwer F, Seguritan V, Azam F, et al. Diversity and distribution of coral-associated bacteria. Mar Ecol Progress Series 2002; 243: 1-10.

22.McFall-Ngai M, Heath-Heckman EA, Gillette AA, et al. The secret languages of coevolved symbioses: insights from the Euprymna scolopes-Vibrio fischeri symbiosis. Semin Immunol 2012; 24(1): 3-8.

23.Lema KA, Willis BL, Bourne DG. Corals Form Characteristic Associations with Symbiotic Nitrogen-Fixing Bacteria. Appl Environ Microbiol 2012; 78(9): 3136-44.

24.Kimes NE, Van Nostrand JD, Weil E, et al. Microbial functional structure of Montastraea faveolata, an important Caribbean reef-building

coral, differs between healthy and yellow-band diseased colonies. Environ Microbiol 2010; 12(2): 541-56.
25.Olson ND, Ainsworth TD, Gates RD, et al. Diazotrophic bacteria associated with Hawaiian Montipora corals: Diversity andabundance in correlation with symbiotic dinoflagellates. J Experimental Mar Biol Ecol 2009; 371(2): 140-6.
26.Wegley L, Edwards R, Rodriguez-Brito B, et al. Metagenomic analysis of the microbial community associated with the coral Porites astreoides. Environ Microbiol 2007; 9(11): 2707-19.
27.Sun W, Zhang F, He L, et al. Pyrosequencing reveals diverse microbial community associated with the Zoanthid Palythoa australiae from the South China Sea. Microb Ecol 2014; 67(4): 942-50.
28.Chiu HH, Mette A, Shiu JH, et al. Bacterial Distribution in the Epidermis and Mucus of the Coral Euphyllia glabrescens by CARD-FISH. Zool Stud 2012; 51(8): 1332-42.
29.Neulinger SC, Gärtner A, Järnegren J, et al. Tissue-associated "Candidatus Mycoplasma corallicola" and filamentous bacteria on the cold-water coral Lophelia pertusa (Scleractinia). Appl EnvironMicrobiol 2009; 75(5): 1437-44.
30.Kvennefors EC, Sampayo E, Kerr C, et al. Regulation of bacterial communities through antimicrobial activity by the coral holobiont. Microb Ecol 2012; 63(3): 605-18.
31.Bourne DG, Munn CB. Diversity of bacteria associated with the coral Pocillopora damicornis from the Great Barrier Reef. Environ Microbiol 2005; 7(8): 1162-74.
32.Koren O, Rosenberg E. Bacteria associated with mucus and tissues of the coral Oculina patagonica in summer and winter. Appl Environ Microbiol 2006; 72(8): 5254-9.
33.Pantos O, Cooney RP, Le Tissier MD, et al. The bacterial ecology of a plague-like disease affecting the Caribbean coral Montastrea annularis. Environ Microbiol 2003; 5(5): 370-82.
34.Rosenberg E, Loya Y. Coral health and disease. New York: Springer Science & Business Media, 2013, 302-18.
35.Mouchka ME, Hewson I, Harvell CD. Coral-associated bacterial assemblages: current knowledge and the potential for climate-driven impacts. Integr Comp Biol 2010; 50(4): 662-74.
36.Kuang W, Li J, Zhang S, et al. Diversity and distribution of Actinobacteria associated with reef coral Porites lutea. Front Microbiol 2015; 6: 1094.
37.Taniguchi A, Yoshida T, Hibino K, et al. Community structures of actively growing bacteria stimulated by coral mucus. J Exp Mar Biol Ecol 2015; 469: 105-12.
38.Olson ND, Ainsworth TD, Gates RD, et al. Diazotrophic bacteria associated with Hawaiian Montipora corals: diversity and abundance in correlation with symbiotic dinoflagellates. J Exp Mar Biol Ecol 2009; 371(2): 140-6.
39.Xu Y, Kersten RD, Nam S-J, Lu L, Al-Suwailem AM, Zheng H, et al. Bacterial biosynthesis and maturation of the didemnin anti-cancer agents. J Am Chem Soc 2012; 134(20): 8625-32.
40.Dionisi HM, Lozada M, Olivera NL. Bioprospection of marine microorganisms: biotechnological applications and methods. Rev Argent Microbiología 2012; 44(1): 49-60.
41.Dobretsov S, Qian P-Y. The role of epibotic bacteria from the surface of the soft coral Dendronephthya sp. in the inhibition of larval settlement. J Expl Mar Biol Ecol 2004; 299(1): 35-50.
42.Karna Radjasa O. Marine invertebrate-associated bacteria in coral reef ecosystems as a new source of bioactive compounds. J Coast Develop 2004; 7(2): 65-70.
43.Garren M, Azam F. New directions in coral reef microbial ecology. Environ Microbiol 2012; 14(4): 833-44.
44.Kennedy J, Marchesi JR, Dobson AD. Marine metagenomics: strategies for the discovery of novel enzymes with biotechnological applications from marine environments. Microb Cell Fact 2008; 7(1):27.
45.Xiong ZQ, Wang JF, Hao YY, et al. Recent Advances in the Discovery and Development of Marine Microbial Natural Products. Mar Drugs 2013; 11(3): 700-17.

46.Rouhi AM. Supply issues complicate trek of chemicals from sea to market. Chem Eng News 1995; 73(47): 42-4.
47.Leal MC, Madeira C, Brandão CA, et al. Bioprospecting of marine invertebrates for new natural products—a chemical and zoogeographical perspective. Molecules 2012; 17(8): 9842-54.
48.Simmons TL, Coates RC, Clark BR, et al. Biosynthetic origin of naturalproducts isolated from marine microorganism–invertebrate assemblages. Proc Natl Acad Sci U S A 2008; 105(12): 4587-94.
49.Nazarian M, Nabipour I, Najafi A. Marine Actinobacteria: a source for discovering of new deugs. J Microb World 2015; 8(1): 76-92. (Persian)
50.Shnit-Orland M, Kushmaro A, editors. Coral mucus bacteria as a source for antibacterial activity. Proceedings of the 11th International Coral Reef Symposium; 2008 Jul. 7-11, Florida, USA: Elsevier, 2008, 257-9.
51.Soliev AB, Hosokawa K, Enomoto K. Bioactive pigments from marine bacteria: applications and physiological roles. Evid Based Complement Alternat Med 2011; 2011: 670349.
52.Gerber NN. Prodigiosin-like pigments. CRC Crit Rev Microbiol 1975; 3(4): 469-85.
53.Williamson NR, Fineran PC, Gristwood T, et al. Anticancer and immunosuppressive properties of bacterial prodiginines. Future Microbiol 2007; 2(6): 605-18.
54.Bennett JW, Bentley R. Seeing red: the story of prodigiosin. Adv Appl Microbiol 2000; 47: 1-32.
55.Montaner B, Pérez-Tomás R. The prodigiosins: a new family of anticancer drugs. Curr Cancer Drug Targets 2003; 3(1): 57-65.
56.Oren A, Rodríguez-Valera F. The contribution of halophilic Bacteria to the red coloration of saltern crystallizer ponds. FEMS Microbiol Ecol 2001; 36(2-3): 123-30.
57.Misawa N, Satomi Y, Kondo K, et al. Structure and functional analysis of a marine bacterial carotenoid biosynthesis gene cluster and astaxanthin biosynthetic pathway proposed at the gene level. J Bacteriol 1995; 177(22): 6575-84.
58.Zhang Y, Li X, Bartlett DH, et al. Current developments in marine microbiology: high-pressure biotechnology and the genetic engineering of piezophiles. Curr Opinion Biotechnol 2015; 33: 157-64.
59.Hugenholtz P. Exploring prokaryotic diversity in the genomic era. Genome Biol 2002; 3(2): REVIEWS0003.
60.Schut F, de Vries EJ, Gottschal JC, et al. Isolation of Typical Marine Bacteria by Dilution Culture: Growth, Maintenance, and Characteristics of Isolates under Laboratory Conditions. Appl Environ Microbiol 1993; 59(7): 2150-60.
61.Yamamura H, Hayakawa M, Iimura Y. Application of sucrose-gradient centrifugation for selective isolation of Nocardia spp. from soil. J Appl Microbiol 2003; 95(4): 677-85.
62.Bredholdt H, Galatenko OA, Engelhardt K, et al. Rare actinomycete bacteria from the shallow water sediments of the Trondheim fjord, Norway: isolation, diversity and biologicalactivity. Environ Microbiol 2007; 9(11): 2756-64.
63.Bruns A, Cypionka H, Overmann J. Cyclic AMP and Acyl Homoserine Lactones Increase the Cultivation Efficiency of Heterotrophic Bacteria from the Central Baltic Sea. Appl Environ Microbiol 2002; 68(8): 3978-87.
64.Tsueng G, Lam KS. A preliminary investigation on the growth requirement for monovalent cations, divalent cations and medium ionic strength of marine actinomycete Salinispora. Appl Microbiol Biotechnol 2010; 86(5): 1525-34.
65.Vartoukian SR, Palmer RM, Wade WG. Strategies for culture of ‘unculturable’ bacteria. FEMS Microbiol Lett 2010; 309(1): 1-7.
66.DeSantis TZ, Brodie EL, Moberg JP, et al. High-density universal 16S rRNA microarray analysis reveals broader diversity than typical clone library when sampling the environment. Microb Ecol 2007; 53(3): 371-83.
67.Alex A, Silva V, Vasconcelos V, et al. Evidence of Unique and Generalist Microbes in Distantly RelatedSympatric Intertidal Marine

Sponges (Porifera: Demospongiae). PLoS One 2013; 8(11): e80653.
68.Ghosh A, Dey N, Bera A, et al. Culture independent molecular analysis of bacterial communities in the mangrove sediment of Sundarban, India. Saline Syst 2010; 6: 1.
69.Rocha-Martin J, Harrington C, Dobson AD, et al. Emerging Strategies and Integrated Systems Microbiology Technologies for Biodiscovery of Marine Bioactive Compounds. Mar Drugs 2014; 12(6): 3516-59.
70.Banik JJ, Brady SF. Recent application of metagenomic approaches towards the discovery of antimicrobials and other bioactive small molecules. Curr Opinion Microb 2010; 13(5): 603-9.
71.Nübel U, Garcia-Pichel F, Kühl M, et al. Quantifying microbial diversity: morphotypes, 16S rRNA genes, and carotenoids of oxygenic phototrophs in microbial mats. Appl Environ Microbiol 1999; 65(2): 422-30.
72.Muyzer G, Smalla K. Application of denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) and temperature gradient gel electrophoresis (TGGE) in microbial ecology. Antonie Van Leeuwenhoek 73(1): 127-41.
73.Neilan BA. Identification and Phylogenetic Analysis of Toxigenic Cyanobacteria by Multiplex Randomly Amplified Polymorphic DNA PCR. Appl Environ Microbiol 1995; 61(6): 2286-91.
74.Roberts MA, Crawford DL. Use of Randomly Amplified Polymorphic DNA as a Means of Developing Genus- and Strain-Specific Streptomyces DNA Probes. Appl Environ Microbiol 2000; 66(6): 2555-64.
75.Heyndrickx M, Vauterin L, Vandamme P, et al. Applicability of combined amplified ribosomal DNA restriction analysis (ARDRA) patterns in bacterial phylogeny and taxonomy. J Microbiol Methods 1996; 26(3): 247-59.
76.Moeseneder MM, Arrieta JM, Muyzer G, et al. Optimization of Terminal-Restriction Fragment Length Polymorphism Analysis for Complex Marine Bacterioplankton Communities and Comparison with Denaturing Gradient Gel Electrophoresis. Appl Environ Microbiol 1999; 65(8): 3518-25.
77.Zhou J. Microarrays for bacterial detection and microbial community analysis. Curr Opinion Microbiol 2003; 6(3): 288-94.
78.Wu L, Kellogg L, Devol AH, et al. Microarray-based characterization of microbial community functional structure and heterogeneity in marine sediments from the gulf of Mexico. Appl Environ Microbiol 2008; 74(14): 4516-29.
79.Smith CJ, Osborn AM. Advantages and limitations of quantitative PCR (Q-PCR)-based approaches in microbial ecology. FEMS Microbiol Ecol 2009; 67(1): 6-20.
80.Cassler M, Peterson CL, Ledger A, et al. Use of Real-Time qPCR to Quantify Members of the Unculturable Heterotrophic Bacterial Community in a Deep Sea Marine Sponge, Vetulina sp. Microb Ecol 2008; 55(3): 384-94.
81.Glöckner FO, Fuchs BM, Amann R. Bacterioplankton compositions of lakes and oceans: a first comparison based on fluorescence in situ hybridization. Appl Environ Microbiol 1999; 65(8): 3721-6.
82.Moter A, Göbel UB. Fluorescence in situ hybridization (FISH) for direct visualization of microorganisms. J Microbiol Methods 2000; 41(2): 85-112.
83.Kindaichi T, Ito T, Okabe S. Ecophysiological interaction between nitrifying bacteria and heterotrophic bacteria in autotrophic nitrifying biofilms as determined by microautoradiography-fluorescence in situ hybridization. Appl Environ Microbiol 2004; 70(3): 1641-50.
84.Konstantinidis KT, Tiedje JM. Prokaryotic taxonomy and phylogeny in the genomic era: advancements and challenges ahead. Curr Opin Microbiol 2007; 10(5): 504-9.
85.Torsvik V, Øvreås L. Microbial diversity and function in soil: from genes to ecosystems. Curr Opin Microbiol 2002; 5(3): 240-5.
86.Wellington EMH, Berry A, Krsek M. Resolving functional diversity in relation to microbial community structure in soil: exploiting genomics and stable isotope probing. Curr Opin Microbiol 2003; 6(3): 295-301.
87.Webster G, Watt LC, Rinna J, et al. A comparison of stable-isotope probing of DNA

and phospholipid fatty acids to study prokaryotic functional diversity in sulfate-reducing marine sediment enrichment slurries. Environ Microbiol 2006; 8(9): 1575-89.
88.Radajewski S, McDonald IR, Murrell JC. Stable-isotope probing of nucleic acids: a window to the function of uncultured microorganisms. Curr Opin Biotechnol 2003; 14(3): 296-302.
89.Adamczyk J, Hesselsoe M, Iversen N, et al. The isotope array, a new tool that employs substrate-mediated labeling of rRNA for determination of microbial community structure and function. Appl Environ Microbiol 2003; 69(11): 6875-87.
90.Fuerst JA. Diversity and biotechnological potential of microorganisms associated with marine sponges. Appl Microbiol Biotechnol 2014; 98(17): 7331-47.
91.Zhang L, An R, Wang J, et al. Exploring novel bioactive compounds from marine microbes. Curr Opin Microbiol 2005; 8(3): 276-81.
92.Blunt JW, Copp BR, Munro MH, et al. Marine natural products. Nat Prod Rep 2004; 21(1): 1-49.
93.Kwon HC, Kauffman CA, JensenPR, et al. Marinomycins A−D, antitumor-antibiotics of a new structure class from a marine actinomycete of the recently discovered genus "marinispora". J Am Chem Soc 2006; 128(5): 1622-32.
94.Kennedy J, Marchesi JR, Dobson AD. Marine metagenomics: strategies for the discovery of novel enzymes with biotechnological applications from marine environments. Microb Cell Fact 2008; 7: 27.
95.Cowan D, Meyer Q, Stafford W, et al. Metagenomic gene discovery: past, present and future. Trends Biotechnol 2005; 23(6): 321-9.
96.Handelsman J. Metagenomics: application of genomics to uncultured microorganisms. Microbiol Mol Biol Rev 2004; 68(4): 669-85.
97.Suenaga H, Ohnuki T, Miyazaki K. Functional screening of a metagenomic library for genes involved in microbial degradation of aromatic compounds. Environ Microbiol 2007; 9(9): 2289-97.
98.Zhang W, Li Z, Miao X, et al. The screening of antimicrobial bacteria with diverse novel nonribosomal peptide synthetase (NRPS) genes from South China sea sponges. Mar Biotechnol (NY) 2009; 11(3): 346-55.
99.Alma'abadi AD, Gojobori T, Mineta K. Marine Metagenome as A Resource for Novel Enzymes. Genomics Proteomics Bioinformatics 2015; 13(5): 290-5.
100.Li X, Qin L. Metagenomics-based drug discovery and marine microbial diversity. Trends Biotechnol 2005; 23(11): 539-43.
101.Leal MC, Madeira C, Brandão CA, et al. Bioprospecting of marine invertebrates for new natural products - a chemical and zoogeographical perspective. Molecules 2012; 17(8): 9842-54.
102.Martins A, Vieira H, Gaspar H, et al. Marketed Marine Natural Products in the Pharmaceutical and Cosmeceutical Industries: Tips for Success. Mar Drugs 2014; 12(2): 1066-101.
103.Rouhi AM. Science/technology. Chem Eng News Arch 1995; 73(47): 42-4.

Review Article

Review on Association Between Corals and Their Symbiotic Microorganisms From the Ecology and Biotechnology Perspective

Z. Amini Khoei [1], M. Moradinasab [2], A. Najafi [1*], I. Nabipour [1]

[1] The Persian Gulf Marine Biotechnology Research Center, The Persian Gulf Biomedical Sciences Research Institute, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, Iran

[2] The Persian Gulf Tropical Medicine Research Center, The Persian Gulf Biomedical Sciences Research Institute, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, Iran

(Received 31 Dec, 2016 Accepted 6 Mar, 2017)

Abstract

Background: Corals have a diversity of prokaryotic communities as an internal or external symbiotic . This review will examine the association between corals and their symbiotic microorganisms from the ecology and biotechnology perspective.

Material and Methods: In this study, articles were examined which indexed in Pubmed, Science Direct, Google Scholar and Scirus databases. Keywords we used included coral, symbiotic microorganisms, ecology, and biotechnology. Finally, overall of 120 articles and reports, 103 articles were evaluated by eliminating the same articles.

Results: The Corals symbiotic microorganisms stay on in the ecological niches such as the surface mucus layer, tissue and their skeleton. They play role in the cycle of sulfur, nitrogen fixation, production of antimicrobial compounds and protect corals against pathogens. Many bioactive compounds which attributed to invertebrates such as sponges and corals in fact they are produced by symbiotic bacteria. Various metabolites produced by these microorganisms can be used as medicine. Five screening strategies including conventional screening, met genomics, genomics, combinatorial biosynthesis, and synthetic biology are used for marine microbial natural products discovery and development.

Conclusion: According to the collected material we can be concluded that, the ecological studies about the natural association between corals and their symbiotic microorganisms were technological prerequisite for biomedical research and they make clear the road to attainment to bioactive compounds in fauna. Also, in the first step, it is recommended that modern technology and advanced screening methods used to identification of marine organisms and then to identify secondary metabolites among them.

Keywords: Coral, Symbiotic microorganisms, Ecology, Biotechnology

©Iran South Med J. All rights reserved.

Cite this article as: Amini Khoei Z, Moradinasab M, Najafi A, Nabipour I. Review on Association Between Corals and Their Symbiotic Microorganisms Form the Ecology and Biotechnology Perspective. Iran South Med J 2017; 20(1): 115-134

Copyright © 2017 Amini Khoei, et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-noncommercial 4.0 International License which permits copy and redistribute the material just in noncommercial usages, provided the original work is properly cited.

[*]Address for correspondence: The Persian Gulf Marine Biotechnology Research Center, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, Iran.. Email: akna85@gmail.com