

بررسی اثر مهارى ضد باکتریایی و ضد قارچی عصاره اسفنج دریایی *Haliclona Caerulea* در دو فصل تابستان و زمستان منطقه جزرومدی جزایر لاوان و لارک، خلیج فارس

چکیده

این پژوهش به منظور بررسی خواص ضد باکتریایی و ضد قارچ عصاره‌های اسفنج *Haliclona caerulea* انجام شد. چندین کلونی اسفنج در فصل زمستان (اواسط اسفندماه ۱۳۹۵) و تابستان (اواسط مردادماه ۱۳۹۶) از عمق ۱۵ تا ۲۰ متری جزیره لاوان و لارک در خلیج فارس توسط غواص جمع‌آوری شد و عصاره‌گیری توسط حلال‌های آلی کلروفرم و متانول با استفاده از روش‌های استاندارد صورت گرفت. سپس فعالیت ضد قارچی و ضد باکتریایی کل عصاره‌ها به ترتیب با استفاده از روش ماکرودایلوژن بر روی سویه‌های قارچ و مخمر *Candida albicans* ATcc10231 و *Aspergillus fumigatus* pTCC25009 و *Escherichia coli* ATCC 15224 باکتری *Salmonella typhi* PTCC 1609، *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853، *Staphylococcus aureus* ATCC 1764، *Bacillus cereus* ATCC 1715 و *Bacillus subtilis* spizizeni PTCC ۱۷۱۵ آزمایش و مورد مقایسه قرار گرفت و سپس بر اساس آنالیز ANOVA و t-test عملکرد آن‌ها تعیین گردید. بر اساس نتایج آنالیز آماری عملکرد ضد باکتریایی و ضد قارچی عصاره‌های کلروفرمی متانولی در دو فصل زمستان و تابستان در جزایر لاوان و لارک در غلظت‌های مختلف دارای سطح معنی‌دار با یکدیگر بودند ($P < 0.05$) و مشخص گردید مؤثرترین عملکرد ضد باکتریایی مربوط به عصاره فصل زمستان جزیره لارک و لاوان بر روی باکتری‌های *B. cereus* و *B. subtilis* بود. همچنین مؤثرترین عملکرد ضد قارچی بر روی مخمر *C. albicans* مربوط به عصاره فصل تابستان لارک و زمستان لاوان تعیین گردید. نتایج این تحقیق نشان داد که یک نمونه اسفنج *Haliclona caerulea* مربوط به دو ناحیه متفاوت اکولوژیک جزیره لاوان و لارک، در دو فصل زمستان و تابستان، خواص بیولوژیک متفاوتی را با توجه به منطقه زیست متفاوت بوم‌شناختی خود و فصول مختلف نشان می‌دهند، همچنین با قابلیت اثر ضد قارچی و ضد باکتریایی و با مطالعات تکمیلی کلینیکی می‌توان به ساخت داروهای ضد قارچ و ضد باکتریایی از این گونه اسفنج مبادرت ورزید.

واژگان کلیدی: عصاره‌های اسفنج، ضد قارچ، ضد باکتریایی، جزیره لاوان، جزیره لارک، خلیج فارس.

مقدمه

دریاها ۷۰ درصد از سطح زمین را پوشانده‌اند، تنوع زیستی دریاها به‌طور قابل‌ملاحظه‌ای بیشتر از سطح خشکی است و تقریباً ۷۵ درصد از همه موجودات زنده را در خود جای می‌دهد (Devries and Beart, 1995). اسفنج‌ها موجوداتی با پراکنش وسیع که در تمام اقیانوس‌ها یافت می‌شوند و یکی از مهم‌ترین اجتماعات جانوری که به شاخه پوریرفا یا منفذ داران تعلق دارند، هستند (Deweerdlt, 2000; Witte, 1996; Barnes, 1995).

الناز شافعیان^۱

پرگل قوام مصطفوی^{۲*}

مهدی مریدی فریمانی^۳

علی ماشینچیان مرادی^۴

ملیکا ناظمی^۵

۱، ۲ و ۴. گروه علوم دریایی، دانشکده منابع طبیعی و محیط‌زیست، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

۳. گروه فیتوشیمی، پژوهشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی، دانشگاه شهید بهشتی، اوین، تهران، ایران.

۵. پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بندرعباس، ایران.

*مسئول مکاتبات:

mostafavi_pa@srbiau.ir

کد مقاله: ۱۴۰۱۰۳۰۹۶۷

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۱/۰۸

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۲/۲۸

جنس و گونه *Haliclona caerulea* یکی از شایع‌ترین و پر پراکنش‌ترین جنس اسفنج‌ها هستند و در اغلب زیستگاه‌ها از آب‌های عمیق تا حداقل عمق ۴۰ متر از محیط‌های کدر تا آب‌های شفاف و از آب‌های گرم و کم‌عمق خلیج‌ها تا عرض‌های جغرافیایی سردتر حضور دارند (Dannaoui et al., 2003; Barnes, 1995). با توجه به اهمیت اسفنج‌ها و موجوداتی که می‌توانستند نسل خود را از دوران کامبرین تاکنون حفظ نمایند، در بسیاری از کشورها جستجوهای گسترده‌ای در زمینه شناسایی و بررسی اثرات بیولوژیک اسفنج‌ها صورت گرفته است که می‌توان از پتانسیل بالقوه آن‌ها برای تولید داروهای جدیدتر و مؤثرتر در درمان بیماری‌های قرن جدید بهره جست. خاصیت ضد قارچی و ضد باکتریایی از اثرات بیولوژیک اسفنج‌ها می‌باشد. درواقع قارچ‌ها و باکتری‌ها یکی از عوامل شایع بیماری‌زا در سرتاسر جهان هستند که باوجود پیشرفت علم و دانش همچنان عامل بیماری و مرگ‌ومیر می‌باشند. به‌طوری‌که طی دهه‌های اخیر شمار بیماران مستعد به عفونت با میکروارگانیسم‌های فرصت‌طلب از قبیل سوش‌های کاندیدا، به خصوص در بیماران با نقص سیستم ایمنی، به طور قابل توجهی در بسیاری از کشورها افزایش یافته است و همچنین نشان داده شده است که مخمرهای پاتوژن مقاومت ذاتی یا اکتسابی نسبت به داروهای ضد قارچی دارند و از آن‌جا که بیماری‌های میکروبی دسته بزرگی از بیماری‌ها را تشکیل می‌دهند و از طرفی شمار سوش‌های میکروبی مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها هر روز بیشتر می‌شوند لذا نیاز به مواد ضد باکتریایی جدید و کم‌ضرر هر روز بیشتر نمایان می‌گردد (Ragain and Chaurvedi, 2003). اولین گزارش از اثرات ضد میکروبی عصاره اسفنج‌ها توسط نیگرلی و همکاران (۱۹۵۹) ارائه شد (Newblod et al., 1999). از آن به بعد گزارش‌های روز افزونی از خواص ضد باکتریایی و ضد قارچی عصاره اسفنج‌های دریایی ارائه گردید. طی یک سری مطالعات خواص ضد باکتریایی و ضد قارچی اسفنج *Haliclona sp.* توسط Blackburn و Faulkner (۲۰۰۰)، Lakshmi و همکاران (۲۰۱۰)، Laport و همکاران (۲۰۱۲)، ناظمی و همکاران (۲۰۱۴) در جزیره قشم، Shushizadeh و همکاران (۲۰۱۸) در جزیره خارک و Karimpour و همکاران (۲۰۱۸) نیز مورد بررسی قرار گرفته است. بر اساس دلایل ذکر شده و مطالعات انجام شده، عصاره اسفنج مورد مطالعه می‌تواند دارای خاصیت ضد باکتریایی و ضد قارچی باشد. همچنین یافتن ترکیبات ضد میکروبی و ضد قارچی از مواد طبیعی که قطعاً اثرات جانبی کمتری دارد، ضروری می‌باشد؛ بنابراین شناسایی و گزارش اثرات بیولوژیکی اسفنج موجود در سواحل خلیج فارس به عنوان موجودات ارزشمند و قدیمی مهم به نظر می‌رسد و راه را برای به دست آوردن داروهای جدید هموار سازد. با توجه به خواص ضد قارچ و ضد باکتری موجود در اسفنج‌ها، این پژوهش به بررسی اثر ضد قارچ و ضد باکتریایی عصاره کلروفرمی-متانولی اسفنج *Haliclona caerulea* جمع‌آوری شده از جزیره لاوان و لارک، خلیج فارس، در دو فصل زمستان و تابستان پرداخته است.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری از اسفنج‌های مربوط به منطقه بین جزرومدی بدون استفاده از تجهیزات خاص با گشت زنی در ساحل قابل انجام است (Soest, 2006). نمونه‌برداری از ایستگاه‌های تعیین‌شده در ۲ ناحیه مختلف اکولوژیک جزیره لاوان (در خلیج فارس) و لارک (در تنگه هرمز) با توجه به این‌که در دو منطقه متفاوت جغرافیایی قرار دارند و با توجه به شرایط متفاوت محیطی و جریانات آبی متفاوت، همچنین تغییرات فصلی، فاکتورهای زیستی و به‌طور کلی استرس‌های محیطی (تغییرات دما و شوری، آلودگی‌ها (نفتی و غیرنفتی)، شکارچی) که سبب تغییرات خواص زیستی در موجودات دریایی می‌شوند، نیز به همین روش یعنی نمونه‌برداری با گشت زنی در ساحل انجام گرفت و به دلیل تأثیر تغییرات فصلی بر خواص آن‌ها نمونه‌برداری در اواسط اسفندماه سال ۱۳۹۵ (ماه سرد) و اواسط مردادماه سال ۱۳۹۶ (ماه گرم)، نمونه‌برداری انجام شد. چندین کلونی اسفنج *Haliclona caerulea* که در شکل ۱ مشاهده می‌گردد، از دو جزیره لارک و لاوان واقع در خلیج فارس از عمق ۱۵ تا ۲۰ متری توسط غواص جمع‌آوری گردید، سپس در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد منجمد شده و با استفاده از یخ خشک به آزمایشگاه منتقل گردیدند. همچنین خصوصیات

فیزیکی آب دریا نیز در جزایر لارک و لاوان در دو فصل سرد و گرم مورد بررسی قرار گرفت. اندازه‌گیری دما توسط ترمومتر برگردان آلمانی مدل (Hidrobios) با دقت ۰/۰۱ درجه سانتی‌گراد انجام پذیرفت. اندازه‌گیری شوری با استفاده از دستگاه شوری سنج برند WTW استفاده و برای سنجش اکسیژن از اکسیژن متر پرتابل در محل برند HANNA استفاده گردید. همچنین به منظور تأمین pH از pH متر دیجیتالی مدل ۳۲۰ از شرکت WTW آلمان استفاده گردید.



شکل ۱: اسفنج *Haliclona caerulea* از عمق ۲۰ متری جزیره لاوان.

جهت عصاره‌گیری ابتدا اسفنج‌ها شسته شدند و سپس با استفاده از قیچی در اندازه‌های ۱ سانتی‌متری بریده شدند. نمونه‌های خردشده در دستگاه خشک‌کن انجمادی خشک شد و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. سپس نمونه‌ها به حالت پودر درآورده و عصاره‌گیری به صورت جداگانه توسط ۳ لیتر حلال کلروفرم و ۳ لیتر متانول در دمای محیط به‌طور متناوب، سه بار و هر بار به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت انجام شد و محلول حاصل را دو بار از کاغذ صافی عبور داده و پس از گذشت زمان موردنظر، عصاره به‌دست‌آمده در بطری تیره در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. سپس توسط دستگاه روتاری اوپراتور یا تبخیرکننده چرخشی (Rota vapor) مجهز به پمپ خلأ در دمای زیر ۴۰ درجه سانتی‌گراد تبخیر کرده تا زمانی که عصاره‌های عاری از حلال شده و ماده تیره‌رنگ جامدی باقی ماند (Viegelmann et al., Santalova et al., 2004). سپس جهت نمک‌زدایی از قیف دکانتور استفاده و عصاره‌های به‌دست‌آمده را با یک لیتر آب مقطر ترکیب کرده و این محلول را در قیف جداکننده ریخته و آب، نمک را شسته و ۳ بار تکرار انجام شد. سپس عصاره‌ها در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. بررسی خواص ضد قارچ با استفاده از روش ماکرودایلوژن روی سویه‌های قارچ و مخمر *Aspergillus fumigatus* و *Candida albicans* ATCC 10231 و *Escherichia* 15224 PTCC 5009 و بررسی خواص ضد باکتریایی با استفاده از روش براث روی سویه‌های باکتری‌های گرم مثبت و منفی *Bacillus* ATCC 1715، *Salmonella typhi* PTCC 1609، *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853، *coli* ATCC 1، *Staphylococcus aureus aureus* ATCC 1764 و *Bacillus subtilis spizizeni* PTCC 1715 که از مرکز کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های صنعتی ایران به‌صورت لیوفیلیزه تهیه شد، انجام گردید. پس از رشد قارچ و مخمر و باکتری‌ها آن‌ها را از انکوباتور خارج نموده و با استفاده از آنس از کلونی‌های تک ایجادشده به ترتیب به محیط ماکرودایلوژن براث و براث در لوله‌های آزمایش وارد شدند. سوسپانسیون حاصل قارچ و مخمر در طول موج ۵۳۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتری دارای عبور نوری ۹۰ درصد استاندارد اندازه‌گیری شد که تقریباً معادل ۱۰^۶ سلول قارچ در هر میلی‌لیتر می‌باشد و برای باکتری‌ها در مقایسه با نیم مک فارلند (Mc Farland 0/5) تلقیح گردید. مایع تلقیحی تهیه‌شده

باید بلافاصله مورد استفاده قرار می‌گرفت تا در فاصله زمانی پس از استاندارد کردن، تکثیر صورت نگیرد. از لوله‌های فوق به مقدار ۱ میلی‌لیتر به هر کدام از لوله‌های استریل اضافه شد، سپس از عصاره‌ها با غلظت ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر که در محیط ماکرودایلوشن براث و براث حل شده بود به مقدار ۱ میلی‌لیتر به لوله‌های فوق اضافه شد. برای در نظر گرفتن شاهد مثبت از داروی ضد قارچ نیستاتین و آنتی‌بیوتیک آمپی‌سیلین که بر اساس میزان ماده مؤثره در هر گرم از قرص غلظت‌های فوق تهیه شد و به‌عنوان شاهد منفی به یکی از لوله‌ها ماده فعال بیولوژیک اضافه نگردید. در داخل یک لوله نیز تنها محیط کشت فاقد ماده مؤثره و قارچ، باکتری قرار داده شد تا در صورت آلودگی محیطی خطای آزمایش مشخص گردد. در یکی دیگر از لوله‌ها نیز محلول‌های مورد استفاده قرار داده شد. سپس سر تمام لوله‌ها با پنبه بسته شد و در انکوباتور با دمای ۲۵ و ۲۶ درجه سانتی‌گراد برای قارچ و مخمر و دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت برای باکتری‌ها، قرار داده شد.

پس از ۲۴ ساعت لوله‌های آزمایش از انکوباتور خارج شده و کدورت آن‌ها مورد بررسی قرار گرفت. لوله کنترل که فاقد ترکیبات فعال بیولوژیک بوده بسیار کدر شده بودند. برای ادامه کار سایر لوله‌ها با لوله مذکور به‌صورت چشمی مقایسه شدند که میانگینی از ۳ مرتبه تکرار آزمایش برای هر گونه قارچی و باکتریایی بود، 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 نشان‌دهنده میزان MIC (Minimum Inhibitory Concentration) که به معنای ممانعت از رشد و افزایش تعداد قارچ‌ها و باکتری‌ها می‌باشد و کمترین غلظتی که در آن فرکشن‌ها سبب مرگ باکتری و قارچ شده به ترتیب به‌عنوان MBC (Minimum Bactericidal Concentration) و MFC (Minimum Fungicidal Concentration) منظور گردید (Rosenblatt, 1991; Green et al., 1994). سپس به‌منظور تعیین اثرگذاری عصاره‌ها روی متغیر پاسخ (با در نظر گرفتن اثرگذاری متفاوت آن‌ها در حضور باکتری‌ها و قارچ‌های مختلف) و همچنین تعیین عصاره‌هایی که بیشترین اثر بیولوژیک را دارا می‌باشند، از آنالیز ANOVA و آزمون t-test با دو عامل عصاره و نوع باکتری، نوع قارچ و داروی ضد قارچ نیستاتین و آنتی‌بیوتیک آمپی‌سیلین به‌عنوان شاهد مثبت استفاده شد. این آزمون در هر فصل و هر مکان به‌طور جداگانه انجام شد، به‌این ترتیب مؤثرترین عصاره تعیین گردید، سپس اطلاعات مربوط به هر دو فصل تلفیق شده و بهترین عصاره در این دو فصل شناسایی شد. ذکر این نکته ضروری است که عصاره‌ای که دارای کمترین میزان میانگین غلظت برای شفافیت محلول است به‌عنوان بهترین عصاره در نظر گرفته شده است.

نتایج

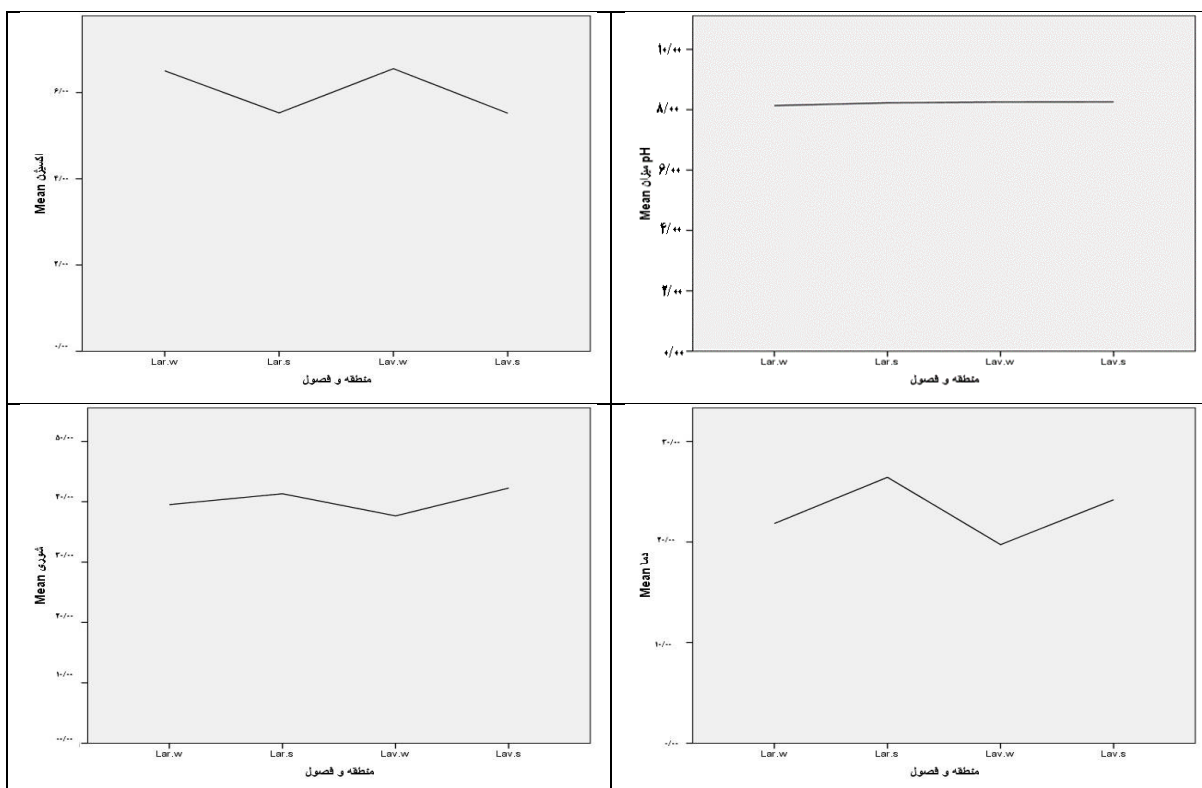
با توجه به آزمون کلوموگروف_اسمیرنوف میانگین ۳ تکرارها و نرمال بودن داده‌ها به دست آمد. با توجه به جداول، داده‌ها نرمال بوده و سطح معنادار بالای ۰/۰۵ می‌باشد و همچنین میانگین خصوصیات فیزیکی آب (pH، شوری، دما و اکسیژن) به‌دست‌آمده در جدول ۱ و ۲ ملاحظه می‌گردد.

جدول ۱: نتایج خصوصیات فیزیکی منطقه لارک در فصل زمستان و تابستان (۱۳۹۵-۱۳۹۶).

فصل		خصوصیات فیزیکی
زمستان	تابستان	
۸/۲۲	۸/۱۳	خصوصیات اسیدی و بازی (pH)
۲۶/۴۳	۲۱/۸۳	دما (درجه سانتی‌گراد)
۴۱/۳۲	۳۹/۵۲	شوری (گرم بر لیتر)
۵/۵۲	۶/۵	اکسیژن محلول (میلی گرم بر لیتر)

جدول ۲: نتایج خصوصیات فیزیکی منطقه لاوان در فصل زمستان و تابستان (۱۳۹۵-۱۳۹۶).

فصل		فصل
خصوصیات فیزیکی	زمستان	تابستان
خصوصیات اسیدی و بازی (pH)	۸/۲۵	۸/۲۵
دما (درجه سانتی‌گراد)	۱۹/۷۴	۲۴/۲
شوری (گرم بر لیتر)	۳۷/۶۵	۴۲/۲۶
اکسیژن محلول (میلی‌گرم بر لیتر)	۶/۵۵	۵/۵۲



شکل ۲: میزان تغییرات اکسیژن، pH، دما و شوری در دو فصل زمستان و تابستان جزایر لارک و لاوان (۱۳۹۵-۱۳۹۶).

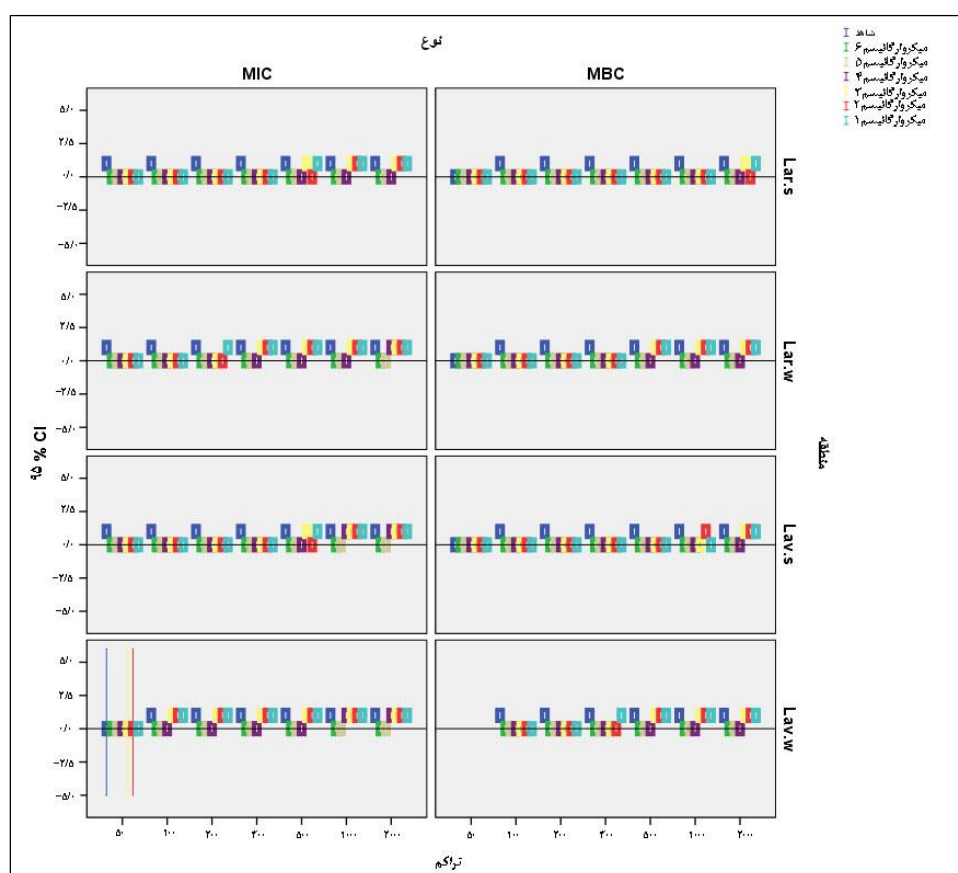
فصل زمستان (W) و تابستان (S) جزایر لارک (Lar) و لاوان (Lav).

سپس بر اساس نتایج به‌دست‌آمده با توجه به جداول و شکل‌ها و همچنین آنالیز ANOVA تفاوت معناداری بین پارامترهای فیزیکی در دو منطقه لارک و لاوان در دو فصل زمستان و تابستان وجود دارد ($P < 0.05$) که بر اساس این داده‌ها و شکل ۲، می‌توان تفسیر کرد که پارامترهای مؤثر دما، شوری و اکسیژن می‌باشد.

جدول ۳: نتایج تعیین حساسیت چهار نوع عصاره *Haliclona sp.* بر روی باکتری‌های پاتوژن با روش ماکرودایلوشن
براث برحسب میکروگرم بر میلی لیتر.

میکروارگانیزم	Lav.s		Lav.w		Lar.s		Lar.w	
	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
<i>Bacillus subtilis</i>	۵۰۰	۱۰۰۰	۱۰۰	۳۰۰	۵۰۰	۲۰۰۰	۲۰۰	۵۰۰
<i>Bacillus cereus</i>	۵۰۰	۱۰۰۰	۵۰	۵۰۰	۵۰۰	۲۰۰۰	۳۰۰	۵۰۰
<i>Staphylococcus aureus</i>	۱۰۰۰	۲۰۰۰	۵۰	۵۰۰	۱۰۰۰	R	۳۰۰	۵۰۰
<i>Escherichia coli</i>	۱۰۰۰	R	۱۰۰۰	R	R	R	۲۰۰۰	R

(جزیره لاوان فصل تابستان (Lav.s)، فصل زمستان (Lav.w) و جزیره لارک فصل تابستان (Lar.s)، فصل زمستان (Lar.w) (R نشانه عدم تأثیر).



شکل ۳: اثرات ضد باکتریایی عصاره *Haliclona caerulea* در دو منطقه لارک و لاوان در دو فصل زمستان و تابستان (۱۳۹۵-۱۳۹۶).

(۱) *Bacillus subtilis* (۲) *Staphylococcus aureus* (۳) *Bacillus cereus* (۴) *Escherichia coli* (۵) *Pseudomonas aeruginosa* (۶) *Salmonella typhi* (۷) شاهد آنتی بیوتیک آمپی سیلین

در جدول ۳ نیز حداقل غلظت ممانعت کنندگی از رشد باکتری (MIC) و حداقل غلظت کشندگی باکتری (MBC) مورد آزمایش عصاره‌های اسفنجی فصل تابستان و زمستان جزیره لارک و لاوان مشاهده می‌گردد.

همان‌طور که از جدول ۳ برداشت می‌شود، حداقل غلظت ممانعت‌کنندگی از رشد (MIC) عصاره کلروفرمی-متانولی فصل تابستان جزیره لارک با غلظت ۵۰۰ و ۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر در باکتری *Bacillus subtilis* و با غلظت ۵۰۰ و ۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر در باکتری *Bacillus cereus* اثر باکتریوسیدی و باکتریواستاتیک و با غلظت ۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر در باکتری *Staphylococcus aureus* اثر باکتریوسیدی از خود نشان دادند و روی سایر باکتری‌ها هیچ‌گونه اثر باکتریوسیدی از خود نشان ندادند. همچنین عصاره کلروفرمی-متانولی فصل زمستان جزیره لارک میزان MIC و MBC مشخص نمود که با غلظت ۲۰۰ و ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر در باکتری *Bacillus subtilis* و با غلظت ۳۰۰ و ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر در باکتری *Staphylococcus aureus* و باکتری *Bacillus cereus* اثر باکتریوسیدی و باکتریواستاتیک از خود نشان دادند و میزان MIC مشخص نمود که این عصاره با غلظت ۲۰۰۰ $\mu\text{g/ml}$ در باکتری *Escherichia coli* اثر باکتریوسیدی داشته ولی سبب مرگ باکتری نشده است. نتایج فوق را آنالیز آماری ANOVA با توجه به شکل ۳ نیز تأیید می‌نماید، در شکل آورده شده در قسمت‌هایی که میکروارگانیسیم‌ها روی هم همپوشانی دارند، نشان‌دهنده معنی‌داری با توجه به غلظت‌های تعریف‌شده می‌باشد. سطح معنادار آزمون اثر متقابل عصاره و باکتری نیز نتیجه می‌دهد که فرض یکسان بودن اثرات آن‌ها در سطح ۰/۰۵ رد می‌شود و در نتیجه عصاره فصل تابستان و زمستان جزیره لارک در حضور باکتری‌های مختلف، با غلظت‌های متفاوت منجر به شفافیت محلول می‌شود. همچنین خروجی آزمون t-test تأیید می‌نماید که میکروارگانیسیم‌های موردنظر در غلظت‌های مختلف، تفاوت معناداری با شاهد داشتند ($P < 0/05$).

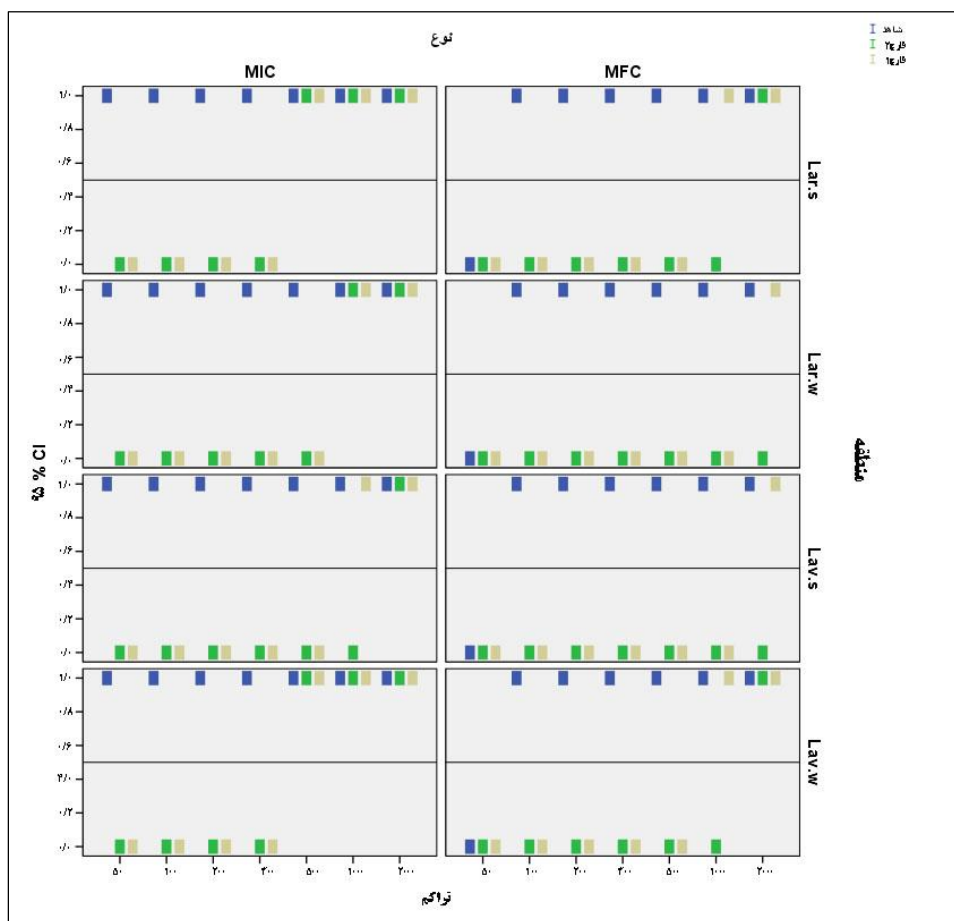
همچنین عصاره کلروفرمی-متانولی جزیره لاوان در فصل تابستان میزان MIC و MBC مشخص نمود که غلظت ۵۰۰ $\mu\text{g/ml}$ و ۱۰۰۰ $\mu\text{g/ml}$ در باکتری *Bacillus subtilis* و باکتری *Bacillus cereus* و با غلظت ۱۰۰۰ $\mu\text{g/ml}$ و ۲۰۰۰ $\mu\text{g/ml}$ در باکتری *Staphylococcus aureus* اثر باکتریوسیدی و باکتریواستاتیک از خود نشان دادند. این عصاره در فصل زمستان با غلظت ۱۰۰ $\mu\text{g/ml}$ و ۳۰۰ $\mu\text{g/ml}$ در باکتری *B. subtilis* و با غلظت ۵۰ $\mu\text{g/ml}$ و ۵۰۰ $\mu\text{g/ml}$ در باکتری *S. aureus* و *B. cereus* اثر باکتریوسیدی و باکتریواستاتیک از خود نشان دادند. هردو عصاره زمستان و تابستان جزیره لاوان با غلظت ۱۰۰۰ $\mu\text{g/ml}$ اثر باکتریوسیدی در باکتری *E. coli* از خود نشان دادند ولی اثر باکتریواستاتیک از خود بر روی این باکتری نشان ندادند. همچنین هیچ‌کدام از عصاره‌های کلروفرمی-متانولی روی باکتری‌های *Pseudomonas aeruginosa* و *Salmonella typhi* هیچ‌گونه اثری از خود نشان ندادند. نتایج فوق را آنالیز آماری ANOVA نیز تأیید می‌نماید، سطح معنادار آزمون اثر متقابل عصاره و باکتری نیز نتیجه می‌دهد که فرض یکسان بودن اثرات آن‌ها در سطح ۰/۰۵ رد می‌شود و در نتیجه عصاره فصل تابستان و زمستان جزیره لاوان در حضور باکتری‌های مختلف، با غلظت‌های متفاوت منجر به شفافیت محلول می‌شود. همچنین خروجی آزمون t-test تأیید می‌نماید که میکروارگانیسیم‌های موردنظر در غلظت‌های مختلف، تفاوت معناداری با شاهد داشتند ($P < 0/05$). طبق بررسی اثرات ضد باکتریایی عصاره متانولی-کلروفرمی اسفنج فصل تابستان و زمستان جزایر لارک و لاوان و تحلیل آماری مشخص گردید که متغیرها توانسته‌اند به ترتیب ۸۶ درصد، ۴۵ درصد، ۶۶ و ۶۰ درصد در فصل زمستان و تابستان لارک، فصل زمستان و تابستان لاوان در غلظت‌های مختلف را تبیین کنند که با توجه به نتایج فوق مشخص گردید که مؤثرترین عصاره، عصاره فصل زمستان لارک و لاوان بوده و بیشترین اثر آن‌ها روی باکتری‌های *Bacillus subtilis* و *Bacillus cereus* بوده است. در نتیجه عملکرد عصاره اسفنج در فصول مختلف جزایر لارک و لاوان دارای اختلاف معناداری بوده ($P < 0/05$) که در نتیجه ثابت گردید که خواص ضد باکتری اسفنج *Haliclona caerulea* در دو فصل سرد و گرم در جزایر لارک و لاوان متفاوت است.

در جدول ۴ حداقل غلظت ممانعت‌کنندگی از رشد قارچ (MIC) و حداقل غلظت کشندگی قارچی (MFC) مورد آزمایش عصاره‌های اسفنجی فصل تابستان و زمستان جزیره لارک و لاوان مشاهده می‌گردد.

جدول ۴: نتایج تعیین حساسیت چهار نوع عصاره *Haliclona sp.* بر روی قارچ‌ها با روش ماکرودایلوژن براث بر حسب میکروگرم بر میلی لیتر.

میکروارگانیزم	Lav.s		Lav.w		Lar.s		Lar.w	
	MIC	MFC	MIC	MFC	MIC	MFC	MIC	MFC
<i>Candida albicans</i>	۱۰۰۰	۲۰۰۰	۵۰۰	۱۰۰۰	۵۰۰	۱۰۰۰	۱۰۰۰	۲۰۰۰
<i>Aspergillus fumigatus</i>	۲۰۰۰	R	۵۰۰	۲۰۰۰	۵۰۰	۲۰۰۰	۱۰۰۰	R

(جزیره لاوان فصل تابستان (Lav.s)، فصل زمستان (Lav.w) و جزیره لارک فصل تابستان (Lar.s)، فصل زمستان (Lar.w) (R نشانه عدم تأثیر).



شکل ۴: اثرات ضد قارچی عصاره *Haliclona caerulea* در دو منطقه لارک و لاوان در دو فصل زمستان و تابستان (۱۳۹۵-۱۳۹۶).

همان‌طور که از جدول ۴ برداشت می‌شود، حداقل غلظت ممانعت‌کنندگی از رشد (MIC) عصاره کلروفرمی-متانولی جزیره لارک در فصل تابستان در غلظت ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر به ترتیب سبب مرگ مخمر و قارچ شده است و در فصل زمستان در غلظت ۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر سبب مرگ مخمر شده و در هیچ‌یک از غلظت‌های موردبررسی سبب مرگ قارچ نشده است. اما عصاره جزیره لاوان در فصل زمستان در غلظت ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر به ترتیب سبب مرگ مخمر و قارچ شده است و در فصل تابستان در غلظت ۲۰۰۰

سبب مرگ مخمر شده و در هیچ‌یک از غلظت‌های موردبررسی سبب مرگ قارچ نشده است. نتایج فوق را آنالیز آماری ANOVA با توجه به شکل ۴ نیز تأیید می‌نماید، که در ابتدا رابطه همبستگی بین قارچ و مخمر در فصول مختلف وجود دارد و سطح معنادار آزمون اثر متقابل عصاره قارچ و مخمر نیز نتیجه می‌دهد که فرض یکسان بودن اثرات آن‌ها در سطح ۰/۰۵ رد می‌شود و در نتیجه عصاره فصل تابستان و زمستان جزیره لارک و لاوان در حضور قارچ‌های مختلف، با غلظت‌های متفاوت منجر به شفافیت محلول می‌شود. همچنین در خروجی آزمون t-test مشاهده می‌شود که میکروارگانیسم‌های موردنظر در غلظت‌های مختلف، تفاوت معناداری با شاهد داشتند ($P < 0/05$). همچنین طبق نتایج به‌دست‌آمده و تحلیل آماری اثر متقابل عصاره اسفنج *Haliclona caerulea* با قارچ و مخمر موردنظر نتیجه داد که فصل تابستان لارک (۷۹ درصد)، فصل زمستان لارک (۶۸ درصد)، فصل زمستان لاوان (۷۹ درصد) و فصل تابستان لاوان (۶۸ درصد) از تغییرات را در غلظت‌های مختلف از خود نشان دادند و با توجه به سطح معناداری در عملکرد عصاره اسفنج بر قارچ و مخمر در هردو فصل سرد و گرم و مناطق مختلف اکولوژیک، مؤثرترین عصاره فصل تابستان لارک و فصل زمستان لاوان بوده و بیشترین اثر آن‌ها بر روی مخمر کاندیدا بوده است.

بحث و نتیجه‌گیری

اسفنج‌ها به دلیل خواص ضد باکتریایی و ضد قارچی به‌عنوان یک منبع بالقوه دارویی جدید موردتوجه ویژه هستند. این داروها به علت داشتن منشأ طبیعی نسبت به داروهای شیمیایی دارای سازگاری بیشتری با ارگانیسم‌های زنده از جمله بدن انسان بوده و عوارض جانبی کمتری ایجاد می‌کنند (Kumar, 2022; Taylor et al., 2008). لذا با توجه به افزایش روزافزون سویه‌های مقاوم به دارو در میان انواع میکروارگانیسم‌ها، یافتن ترکیبات ضد میکروبی و ضد قارچی از مواد طبیعی که قطعاً اثرات جانبی کمتری دارد، ضروری می‌باشد. به همین منظور در این تحقیق علمی یکی از اهداف ما بررسی این اثرات بیولوژیک در رابطه با عصاره اسفنج *Haliclona caerulea* در دو فصل زمستان و تابستان جزایر لاوان و لارک بود. طبق بررسی اثرات ضد باکتریایی عصاره متانولی-کلروفرمی اسفنج فصل تابستان و زمستان جزایر لارک و لاوان و تحلیل آماری مشخص گردید که عصاره فصل زمستان لارک (۸۶ درصد)، فصل تابستان لارک (۴۵ درصد)، فصل زمستان لاوان (۶۶ درصد) و فصل تابستان لاوان (۶۰ درصد) از تغییرات را در غلظت‌های مختلف از خود نشان دادند که با توجه به نتایج فوق مشخص گردید که مؤثرترین عصاره، عصاره فصل زمستان لارک و لاوان بوده و بیشترین اثر آن‌ها روی باکتری‌های *Bacillus subtilis* و *Bacillus cereus* بوده است. در نتیجه عملکرد عصاره اسفنج در فصول مختلف جزایر لارک و لاوان دارای اختلاف معناداری بوده که در نتیجه ثابت گردید که خواص ضد باکتری اسفنج *Haliclona caerulea* در دو فصل سرد و گرم در جزایر لارک و لاوان متفاوت است.

همچنین طبق نتایج به‌دست‌آمده و تحلیل آماری اثر متقابل عصاره اسفنج *Haliclona caerulea* با قارچ و مخمر موردنظر نتیجه داد که دارای سطح معنادار با شاهد در غلظت‌های مختلف هستند و عصاره‌های فصل تابستان لارک، فصل زمستان لارک، فصل زمستان لاوان و فصل تابستان لاوان به ترتیب ۷۹ درصد، ۶۸ درصد، ۷۹ درصد و ۶۸ درصد از تغییرات را در غلظت‌های مختلف از خود نشان دادند و با توجه به سطح معناداری در عملکرد عصاره اسفنج بر قارچ و مخمر در هردو فصل سرد و گرم و مناطق مختلف اکولوژیک، مؤثرترین عصاره فصل تابستان لارک و فصل زمستان لاوان بوده و بیشترین اثر آن‌ها بر روی مخمر *C. albicans* بوده است.

به‌طور کلی توانمندی میکروارگانیسم‌ها در حضور عصاره اسفنج‌ها قبلاً نیز در نقاط مختلف دنیا به اثبات رسیده است. طی یک سری مطالعات خواص ضد باکتریایی و ضد قارچی اسفنج *Haliclona* sp. توسط Darah و همکاران (۲۰۰۱) صورت گرفت که در نتایج این تحقیق عصاره هگزانی و دی کلرومتانی اسفنج‌های تایلند روی باکتری‌های مورد آزمایش اثری از خود نشان ندادند که با نتایج ما مطابقت ندارد؛ اما آزمایش انجام‌شده روی عصاره‌های متانولی و کلروفرمی اسفنج *Haliclona* sp. از جزیره ساکرا در مالزی که اثر ضد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس با استفاده از روش براث مورد ارزیابی قرار گرفته بود، مشخص شده که عصاره متانولی و عصاره کلروفرمی در غلظت‌های بالا از رشد این باکتری

جلوگیری می‌نماید (Darrah et al., 2011). از طرفی دیگر در سال Laport و همکاران (۲۰۱۲) خاصیت ضد باکتریایی اسفنج *Haliclona* sp. در سواحل برزیل را روی باکتری گرم مثبت به‌خصوص استافیلوکوکوس ثابت کردند که مطابق با نتایج این مطالعه می‌باشد. همچنین ناظمی و همکاران (۲۰۱۴) خواص ضد باکتری و ضد قارچی *Haliclona* sp. واقع در جزیره قشم (خلیج فارس) را گزارش کردند، نتایج آن‌ها نشان داد که *Haliclona* sp. بر روی باکتری‌های گرم مثبت اثر دارد. Pech-puch و همکاران (۲۰۲۰) از سواحل مکزیک عصاره ۵۱ اسفنج را مورد بررسی قرار دادند و خواص ضد باکتریایی اسفنج‌ها را بیشتر بر روی باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس، مطابق با نتایج این تحقیق گزارش کردند. آزمایش‌های انجام‌شده نشان می‌دهد که باکتری‌های گرم مثبت از باکتری‌های گرم منفی نسبت به ترکیبات طبیعی دریایی حساسیت بیشتری از خود نشان می‌دهند، مطالعات انجام‌شده توسط Burkholder (۱۹۶۸) که روی ۷۷ گونه از اسفنج‌های دریایی کارائیب انجام‌شده، نشان می‌دهد که ۲۷ درصد گونه‌های اسفنج اثر ضد باکتریایی بر روی باکتری‌های گرم مثبت و ۱۵ درصد آن‌ها خواص ضد باکتریایی بر روی باکتری‌های گرم منفی ایجاد می‌نمایند. مطابق با نتایج این تحقیق، Darrah و همکاران (۲۰۱۱) اثر عصاره متانولی اسفنج *Haliclona* sp. جمع‌آوری‌شده از جزیره کرا در مالزی بر روی باکتری *Pseudomonas aeruginosa* بررسی کردند و مشخص گردید که عصاره اسفنج اثر ضد باکتریایی نسبت به این باکتری گرم منفی از خود نشان نمی‌دهد (Warsidah et al., 2020). همچنین مطالعات انجام‌شده در رابطه با اثر ضد باکتریایی عصاره اسفنجی *Haliclona* sp. به باکتری *Pseudomonas aeruginosa* و *Salmonella typhi* نشان می‌دهد که این باکتری‌های گرم منفی نسبت به عصاره‌های مورد آزمایش بسیار قوی عمل نموده به‌طوری‌که در موارد اندکی عصاره‌های مورد بررسی اثر ضد باکتریایی نسبت به این باکتری‌ها را از خود نشان می‌دهد. Shushizadeh و همکاران (۲۰۱۸) نیز خواص ضد باکتریایی *Haliclona* sp. جمع‌آوری‌شده از جزیره خارک (خلیج فارس) را بر روی باکتری‌های *S.aureus* و *B.subtilis* ثبت کردند. خاصیت ضد باکتریایی عصاره متانولی اسفنج *Haliclona caerulea* بر روی *Bacillus subtilis* و *Staphylococcus aureus* توسط Karimpoor و همکاران (۲۰۱۸)، Kaplan و همکاران (۲۰۲۱) و Habibie (۲۰۲۳) نیز گزارش شده است.

همان‌طور که مشاهده می‌شود مانند پژوهش پیش رو عصاره این اسفنج روی باکتری‌های گرم مثبت اثر بهتری داشت. آزمایش‌های دیگری که توسط Johnson و همکاران (۲۰۱۲) انجام شد نیز نشان‌دهنده آن بود که اسفنج‌های مورد مطالعه خواص ضد باکتریایی خودروی باکتری‌های گرم مثبت ۷۷ درصد بیش از باکتری‌های گرم منفی نشان می‌دهند. در آزمایش‌های انجام‌شده بر روی اسفنج‌ها مشخص شده است که تقریباً حدود ۵۷ درصد آن‌ها اثر ضد باکتریایی بر روی باکتری‌های گرم مثبت و منفی را دارا می‌باشند. تفاوت در مطالعات پیشین به تفاوت‌ها در ویژگی‌های فردی هر گونه، ویژگی‌های فصلی، جغرافیایی و نوع روش به‌کاررفته نسبت داده می‌شود. همچنین فعالیت ضد باکتریایی عصاره‌های اسفنج‌ها بر روی نمونه‌های باکتریایی، به گونه باکتری و عصاره‌های استخراج‌شده از اسفنج بستگی دارد به‌عبارت دیگر عصاره‌های متفاوت جداشده از اسفنج‌ها دارای اثرات متفاوتی بر روی گونه‌های مختلف باکتریایی هستند. به‌طور کلی عملکرد عصاره‌های اسفنج به‌عنوان یک ترکیب ضد میکروبی با مهار آنزیم تولیدکننده پپتید و گلیکان موجود در ساختمان باکتری به نام ترانس پپتیداز باعث اختلال در ساختمان آن‌ها شده و سنتز دیواره متوقف و با اتصال به باکتری آنزیم‌های اتولیتیک آزاد و دیواره سلولی را تخریب که این عملکرد در باکتری‌های گرم مثبت و منفی به دلیل مواد تشکیل‌دهنده دیواره سلولی متفاوت خواهد بود؛ زیرا باکتری‌های گرم منفی دارای کانال پورین و لیپید دولایه در اطراف پپتید و گلیکان هستند پس نفوذپذیری سخت خواهد بود.

همچنین در تحقیقی مشابه که توسط Darrah و همکارانش (۲۰۱۱) با استفاده از عصاره‌های متانولی و کلروفرمی اسفنج جنس *Haliclona* sp. از سواحل صخره‌ای مالزی روی قارچ *Aspergillus fumigatus* انجام گردید مشخص شد که هیچ‌کدام از عصاره‌های مورد آزمایش از رشد قارچ جلوگیری نمی‌نمایند که با نتایج این تحقیق در مورد دو عصاره فصل زمستان لارک و فصل تابستان لاوان مطابقت دارد. در یک تحقیق علمی مشابه در سال Lakshmi و همکاران (۲۰۱۰) ثابت کردند که عصاره *Haliclona* sp. بر روی دو نوع قارچ مؤثر می‌باشد. همان‌طور که

بررسی‌های انجام‌شده نشان می‌دهند بررسی خواص ضد قارچ عصاره‌های اسفنجی روی جنس اسپرژیلوس بسیار محدود می‌باشد، بسیاری از عصاره‌های اسفنجی از رشد این قارچ جلوگیری نمی‌نمایند و آزمایش‌هایی که اثر ضد قارچ از خود نشان می‌دهند در غلظت‌های بالا مؤثر بوده‌اند، اما اثر کشندگی بر روی مخمر *C. albicans* ثابت‌شده است. در مورد مخمر *Candida albicans* در تحقیقی مشابه که توسط Galeano & Martinez (۲۰۰۷) انجام شد میزان تأثیر عصاره متانولی_کلروفرمی اسفنج‌های دریایی کلمبیا بر مهار رشد مخمر به دست آمد. در تحقیقی دیگر که در رابطه با خواص ضد قارچ عصاره‌های متانولی و دی کلرومتان اسفنج سواحل موروکان واقع در اقیانوس اطلس با استفاده از روش دیسک روی مخمر *C. albicans* انجام گردیده مشخص شد که هیچ کدام از عصاره‌های اسفنج *Haliclona Mediterranean* روی مخمر مورد آزمایش اثر ضد قارچ از خود نشان نداده است. همچنین در بررسی دیگر از عصاره اسفنج‌های جمع‌آوری شده از شمال نروژ در رابطه با اثر ضد قارچ گونه *C. albicans* مشخص گردید که عصاره‌های اسفنج‌های گونه *Haliclona sp.* از رشد مخمر کاندیدا آلبیکنس جلوگیری نموده است (Tadesse et al., 2008). بر اساس آزمایش‌های انجام‌شده توسط برخلو (۱۹۶۸) که به بررسی اثر ضد قارچ و مخمر عصاره‌های تهیه‌شده از ۷۷۷ گونه اسفنج پرداخته است مشخص شد که ۱۰ درصد آن‌ها اثر ضد قارچ از خود نشان می‌دهند و ذکر کردند در این میان اسفنج‌هایی که دارای تعداد بیشتری باکتری‌های همزیست هستند اثر ضد قارچ ضعیف‌تری از خود نشان می‌دهند (Amade et al., 1987; Kumar, 2022).

همچنین بر اساس داده‌های حاصل از آنالیز آماری و با توجه به نتایج خصوصیات فیزیکی آب در دو جزیره لاوان و لارک در دو فصل زمستان و تابستان، مشخص گردید تفاوت معنی‌داری بین پارامترهای فیزیکی در فصول سرد و گرم و مناطق مختلف اکولوژیک وجود دارد و بر اساس این داده‌ها می‌توان تفسیر کرد که دمای بالا، شوری بالا و اکسیژن پایین می‌تواند دلیل تفاوت خواص زیستی در جزایر لاوان و لارک و در دو فصل سرد و گرم باشد. درواقع تغییرات فصلی روی فاکتورهایی چون دما، شوری و همین‌طور فاکتورهای زیستی مثل مورفولوژی و تنوع همزیستان اثر می‌گذارد. به‌خصوص تغییر درجه حرارت آب می‌تواند تأثیر قابل‌ملاحظه‌ای بر جوامع اسفنج‌ها داشته باشد. با توجه به این که خلیج فارس در منطقه گرمسیری واقع شده و عمدتاً توسط خشکی احاطه شده است، تحت تأثیر مناطق خشکی اطراف قرار داشته و از طرفی به علت دور بودن از شرایط اقیانوسی، آب خلیج فارس به‌شدت تحت تأثیر تغییرات فصلی می‌باشد. همچنین تغییرات دما و شوری در خلیج فارس بر اساس تفاوت در مکان و زمان تحت تأثیر نیروهای حاصل از جزرومد و یا شکست امواج می‌باشد که بر همین اساس جزیره لارک که یکی از مناطق منحصربه‌فرد از نظر اکولوژیک است. مدت‌زمان جزرومد در این جزیره طولانی است و موجودات جانوری و گیاهی در زمان حداکثر جزر از آب خارج شده و در معرض مستقیم هوا و دمای محیط قرار می‌گیرند. جزیره لاوان منطقه‌ای خشک با بارندگی کم است و تبخیر آب دریا به‌خصوص در فصل تابستان در این منطقه زیاد است که باعث کاهش دسترسی غذا و کاهش تعداد همزیست‌های موجودات دریایی می‌شود. از آنجایی که اسفنج‌های *Haliclona sp.* در این جزایر گونه غالب اسفنج‌ها را شامل می‌شوند، باید قادر به تحمل این شرایط سخت و نوسانات محیطی باشند، چنین مقاومت و استرس محیطی می‌تواند سبب تغییر ترکیبات شیمیایی و خواص زیستی آن‌ها شود که با تحقیقات انجام‌شده توسط Santalova و همکاران (۲۰۰۳) و Viegelmann و همکاران (۲۰۱۴) انطباق دارد. گزارش‌های آن‌ها حاکی از آن است که اختلاف و تغییر ترکیبات شیمیایی اسفنج‌ها و خواص زیستی آن‌ها نشان‌دهنده واکنش به استرس از سوی محیط، شرایط متفاوت محیطی و همین‌طور فاکتورهای زیستی آن‌ها می‌باشد. نتایج این آزمایش بسیار نزدیک به تحقیق انجام‌شده توسط Wang و همکارانش (۲۰۰۸) می‌باشد که ذکر کردند شرایط اکولوژی مختلف هم‌از لحاظ مکانی و هم‌زمانی تأثیر مستقیمی بر تولید متابولیت‌های ثانویه، تغییر در ساختار ترکیبات و فعالیت زیستی موجودات دریایی، مانند فعالیت‌های ضد میکروبی دارند و نیز ذکر کردند از این منابع دریایی می‌توان به منابع دارویی رسید. در این خصوص نیز Lesser و همکاران (۲۰۱۶) ذکر کردند استرس‌های محیطی به‌خصوص تغییرات دما باعث تغییر متابولیت‌های ثانویه در اسفنج‌ها به‌صورت غیرمستقیم شده به این صورت که با تغییرات دما پراکنش سیانوباکترهای همزیست اسفنج‌ها دست‌خوش تغییرات شده در نتیجه مواد غذایی در دسترس تغییر خواهد کرد و این مسئله بر روی ترکیبات اسفنج‌ها و خواص زیستی آن‌ها تأثیر می‌گذارد.

با توجه به یافته‌های فوق می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که عصاره *Haliclona caerulea* دارای خواص ضد باکتریایی و ضد قارچی است که خواص ضد باکتری در فصل زمستان جزیره لارک و لاوان بیشتر است و خواص ضد قارچی *Haliclona caerulea* در فصل تابستان لارک و فصل زمستان جزیره لاوان بیشتر است، در نتیجه خواص بیولوژیک متفاوتی را با توجه به منطقه زیست متفاوت بوم‌شناختی خود و فصول مختلف نشان می‌دهند.

پیشنهادهایی که در این زمینه ارائه می‌شود می‌تواند شامل: بررسی سایر خواص زیستی اسفنج‌ها، برای شناسایی داروهای جدید علیه بیماری‌های خاص انسانی و کنترل عوامل بیماری‌زای آبزیان اقتصادی شیلاتی باشد.

سپاسگزاری

در پایان از مسئولین محترم پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان، استان هرمزگان که در طی پروسه نمونه‌برداری و انجام قسمتی از پروژه این کمترین را یاری کردند و همچنین مسئولین محترم دانشگاه شهید بهشتی پژوهشکده گیاهان دارویی به خاطر راهنمایی‌ها و کمک‌های بی‌دریغشان و بر عهده داشتن این پروژه، کمال تشکر و سپاسگزاری را داریم.

منابع

- Amade, P., Charroin, C., Baby, C. and Vacelet, J., 1987. Antimicrobial activities of marine sponges from the Mediterranean Sea. *Marine Biology*, 94(2): 271- 275.
- Barnes, D. K. A., 1995. Sublittoral epifaunal communities at Signy Island, Antarctica, Below the ice_foot Zone resources. *Marine Biology*, 121: 565- 572.
- Blackburn, L. C. and Faulkner, D. J., 2000. Adociasulfate 10, A New Merohexaprenoid sulfate from the sponge *Haliclona* (*Adocia* aka) sp., *Tetrahedron*, 56(43): 8429-8432. DOI: 10.1016/S0040-4020(00)00786-9.
- Burkholder, P. R., 1968. Antimicrobial substances from the sea. In: Freudenthal, H.D. (eds). *Drugs From the Sea*. Marine Technology Society. Washington, DC, 119: 11-87.
- Dannaoui, E., Lortholary, O. and Dromer, F., 2003. Thechnique des associations diantifongiques in vitro et in viso chez fanimal. *Medical Mycology*, 13: 73-85.
- 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.
- Devries, D. J. and Beart, P. M., 1995. Fishing for drugs from the sea: status and strategies. *Trends in Pharmacological Sciences*. 16: 275-279.
- Deweerdlt, W. H., 2000. A monograph of shallow_water Chalinidae (Porifera. Haplosclerida) of the Caribbean resources. *Beaufortia*, 50: 1- 67.
- Galeano, E., Martinez, A., 2007. Antimicrobial activity of marine sponges from Uraba Gulf, Colombian Caribbean region Activite antimicrobienne des eponges marines du Golf d'Uraba, region des caraibes colombiennes. *Journal de Mycology Medical*, 17: 21-24.
- Green, L., Petersen, B. and Steimel, L., 1994. Rapid determination of antifungal activity by flow cytometry. *Clinical Microbiology*, 32: 1088-1094.
- Habibie, B. J., 2023. Antibacterial activity of sponge-associated bacteria from Torosiaje marine area Gorontalo, Indonesia. *Journal of Biological Diversity*, 24(2): 1-25.
- Johnson, T. A., Sohn, J., Vaske, Y. M., White, K. N., Cohen, T. L., Vervoort, H. C., Tenney, K., Valeriotte, F. A., Bjeldanes, L. F. and Crews, P., 2012. Myxobacteria VS. Sponge-Derived Alkaloids: The bengamide family

identified as potent immune modulating agents by scrutiny of LC-MS/ELSD libraries. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 20(14): 4348-4355.

Kaplan, A. R., Schrank, C. L., Wuest, W. M., 2021. Antibacterial and antioxidant potential of *Haliclona caerulea* extracts from Tidal Island Larak, Persian Gulf. *JMBS*, 9(3): 347-353.

Karimpoor, M., Kamrani, E., Yousefzadi, M. and Nazemi, M., 2018. Antibacterial and Antioxidant potential of *Haliclona caerulea* extract from tidal Island Larak, Persian Gulf. *Modares Journal of Biotechnology*, 9(3): 347-353.

Kumar, M. S., 2022. Antifungal and antibacterial activity of marine sponge from Ratnagiri coast of India. *Medical Mycology*, 32(4): 1-6.

Lakshmi, V., Sexena, A., Mishra, S. K., Mishra, M., Srivastava, S. and Ghoshah, S., 2010. Antiemetic activity of marine sponge *Haliclona exigua*. *Bangladesh Journal of Pharmacology*, 4: 55- 59.

Lesser, P. M., Fiore, C., Slattery, M. and Zaneveld, J., 2016. Climate change stressors destabilize the microbiome of the caribbean barrel sponge, *xestospongia muta*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 475: 11-18.

Laport, M. S., Marinho, P. R., Santos, O. C. D. S., Almeida, P. D., Romanos, M. T. V., Muricy, G., Brito, M. A. V. P. and Giambiagi-demarval, M., 2012. Antimicrobial activity of marine sponges against coagulase-negative staphylococci isolated from bovine mastitis. *Eterinary Microbiology*, 155: 362-368.

Nazemi, M., Salimi, M. A., Salimi, P. A. and Motallebi, A., 2014. Antifungal and antibacterial activity of *Haliclona* sp. From the Persian Gulf, Iran. *Journal de Mycologie Medical*, 24: 220-224.

Newbold, R. W., Jensen, P. R., Fenical, W. and Pawlik, J. R., 1999. Antimicrobial activity of caribbean sponge extracts. *Aquatic Microbial Ecology*, 19: 79-84.

Pech-Puch, D., Perez-Povedano, M., Gomez, P., Martinen-Guitian, M., Lasarte-Monterrubio, C., Vazquez-Ucha, J., Novoa-Olmedo, M.L., Guillen-Hernandez, S., Villegas-Hernandez, H., Bou, G., Rodriguez, J., Beceriro, A. and Jimenez, C., 2020. Marine organisms from the Yucatan peninsula (Mexico) as a potential Natural source of Antibacterial compounds. *Marine Drugs*, 18(369): 1-25.

Ramain, R. and Chaturvedi, V., 2003. Flow cytometry anti-fungal susceptibility testing of pathogenic yeasts other than candida albicans and comparison with the NCCLS broth MIC rodilution test. *Antimicrob. Agent Chemotherapy*, 44: 2752-2758.

Rosenblatt, J. E., 1991. Laboratory Tests Used to Guide Antimicrobial Therapy. *Mayo Clinic Proceeding*, 66: 942-948.

Santalova, E. A, Makarieva, T. N., Gorshkova, I. A., Dmitrenok, A. S., Krasokhin, V. B. and Stonik, V.A., 2004. Sterols from six marine sponges. *Journal of Biochemical systematics and Ecology*, 32: 153-167.

Shushizadeh, M. R., Behrooz, S., Behfar, A. A. and Nazemi, M., 2018. Antibacterial activity and GC-Mass analysis of organic extract from Persian Gulf *Haliclona* sp.. *Pharmacophore an International Journal*, 9(2): 19-24.

Soest, R. W. M., Evelyn, E. R., Gomez, R. and Breakman, J. C., 2006. Protocols for developing of sponge compound involving the source organism. *Zoological Museum of the University of Amsterdam, The Netherlands*, 1-380.

Tadesse, M., Gulliksen, B., Storm, B. C., Styrvold, O. B. and Haug, T., 2008. Screening for antibacterial and antifungal activities in marine benthic. *Journal of Invertebrate Pathology*, 99(3): 286-293.

Taylor, M.W., Radax, R., Steger, D., Wagner, M., 2007. Sponge-associated microorganisms: evolution. ecology and biotechnological potential resources. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 71: 295- 374.

Viegelmann, C., Parker, J., Ooi, T., Clements, C., Abbott, G., Young, L., Kennedy, J. D.W., Dobson, A. and Edrada-Ebel, R., 2014. Isolation and Identification of antitrypanosomal and antimycobacterial active steroids from the sponge *Haliclona simulans*. *Journal Marine drug*, 12(5): 2937- 2952.

Wang, C., Haiyan, L., Shao, C., Wang, Y., Li, L. and Cuan, H., 2008. Chemical defensive substances of soft corals and gorgonians, *Acta Ecologica Sinica*, 28(5): 2320-2328.

Warsidah, Masrianih, M. S. J., Sofiana, I., Safitri, A., Sapar, A. B., Aritonang, Y. S. and Fadly, D., 2020. Protein isolation from sponge *Niphates* sp. As an antibacterial and antioxidant. *Systematic Reviews in Pharmacy*, 11(9): 518-521.

Witte, U., 1996. Seasonal reproduction in deep sea sponges Triggeres by vertical particle flux, resources. *Marine Biology*, 124: 571- 581.