Archive of SID

اقیانوس‌شناسی/ سال دهم/ شماره ۳۸/ تابستان ۱۳۹۸/۸/۳۶_۲۹

Downloaded from joc.inio.ac.ir at 8:36 IRDT on Wednesday May 20th 2020

اثر ضد باکتریایی عصاره های استحصالی از شکم پای *Peronia verrculata* در سواحل استان بوشهر (خلیج فارس)

نجمه جهانی[۱]، سید محمدباقر نبوی[۲*]، بیتا ارچنگی[۳]، ابراهیم رجب‌زاده قطرمی[۴]، رحیم عبدی[۵]

۱- دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی، گروه زیست شناسی دریا، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، پست الکترونیکی: n_jahani84@yahoo.com

۲- دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی، گروه زیست شناسی دریا، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر

۳- دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی، گروه زیست شناسی دریا، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر

۴- دانشکده منابع طبیعی ،گروه شیلات، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر

۵- دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی، گروه زیست شناسی دریا، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر

تاریخ دریافت: ۹۷/۴/۰۲ * نویسنده مسوول تاریخ پذیرش: ۹۷/۹/۲۱

چکیده

امروزه در اثر تکامل مداوم میکروب‌های بیماری‌زا و مقاومت آن‌ها نسبت به آنتی بیوتیک‌ها، تقاضا برای ایجاد ترکیبات جدید و مؤثر ضد میکروبی وجود دارد. به همین دلیل عصاره‌های بوتانولی، متانولی و استونی گونه *Peronia verruculata* تهیه و با استفاده از روش‌های MIC و MBC اثرات ضد باکتریایی دو باکتری گرم مثبت *Staphylococcus aureous* و گرم منفی *Escherichi* بر روی عصاره‌های گرفته شده تعیین شد. بررسی کدورت و شفافیت میکروتیوب‌های حاوی مقادیر مختلف عصاره بوتانولی نشان داد که حداقل غلظت ممانعت کنندگی از رشد (MBC) باکتری *E.coli* برابر با ۶۰۰ µg/µl و باکتری استافیلوکوکوس اورئوس ۸۰۰ µg/µl بود. وضعیت رشد باکتری *E.coli* در پلیت‌های حاوی محیط کشت مولر هینتون آگار در غلظت‌های مختلف عصاره بوتانولی حداقل غلظت کشندگی (MBC) این باکتری را ۸۰۰µg/µl و باکتری استافیلوکوکوس اورئوس را ۱۰۰۰µg/µl نشان داد. عصاره‌های استونی و متانولی حلزون *Peronia verrculata* تا غلظت ۱۰۰۰ µg/µl اثری بر روی ممانعت از رشد باکتری نداشتند.

کلمات کلیدی: *شکم پای Peronia verrculata، فعالیت ضد باکتری، MIC، MBC*

۱. مقدمه

محیط دریاها و اقیانوس‌ها به عنوان یک منبع غنی از متابولیت‌ها و ترکیبات فعال زیستی با پتانسیل ضد قارچی و ضد باکتریایی شناخته شده است (James, 2001). ترکیبات فعال زیستی از گروه‌های مختلف جانوری نظیر مرجان‌ها، خرچنگ‌ها، خارپوستان، ماهی‌ها، اسفنج‌ها و نرم تنان به دست آمده‌اند (Yasoda, et al., 2006). بی‌مهرگان دریایی اغلب به عنوان یکی از منابع مهم پتانسیل داروهای دریایی عنوان می-شوند (Proksch, et al., 2002). مطالعه درمورد ترکیبات ضد باکتری بی‌مهرگان دریایی اطلاعات مفیدی در زمینه کشف آنتی بیوتیک‌های جدید به ما می‌دهد و بینش جدیدی درمورد ترکیبات فعال زیستی ایجاد می‌کند (Baze, et al,. 2009). شاخه نرمتنان دریایی متنوع‌ترین گروه از بی‌مهرگان دریایی

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from joc.inio.ac.ir at 8:36 IRDT on Wednesday May 20th 2020

پس از بند پایان هستند که صدهزار گونه را شامل می‌شوند. از این تعداد هشتاد هزار گونه متعلق به شکم پایان می‌باشند که از مناطق ساحلی تا اعماق اقیانوس‌ها پراکنش دارند (Haszprunar, (2001. استفاده بی رویه از ترکیبات آنتی بیوتیکی دارای معایبی همچون ایجاد مقاومت دارویی در باکتری‌ها، ایجاد مشکلات زیست محیطی، گران بودن و به صرفه نبودن، وجود بقایای دارویی در گوشت آبزی و انتقال به مصرف کننده را دارد (Thanikachalam et al., 2010). در دهه‌های اخیر تقاضا برای کشف ترکیبات ضد میکروبی موثر و غیر سمی با افزایش مقاومت پاتوژن‌ها در برابر آنتی بیوتیک‌ها افزایش یافته است (Chellaram, et al., 2004). حلزون‌های دریایی به عنوان یک منبع غنی از متابولیت‌های ثانویه و پتانسیل بالا در زمینه زیست پزشکی، بیشترین مطالعات را در گروه نرمتنان در زمینه محصولات طبیعی دریا نشان می‌دهند (Faulkner, 1996).

Peronia verruculata حلزون دریایی فاقد صدف با تنفس هوازی (Hoffman, 1929) از رده شکم پایان، راسته Pulmonata، خانواده Onchidiidae و جنس *Peronia* می‌باشد (; Chan Caley, 2003). بیضی شکل و کمی در سمت پشتی- شکمی پهن و اندازه آنها در حدود ۶ سانتی متر است. دارای بدنی نرم هستند و آهسته حرکت می‌کنند. حلزون‌های دریایی به طور مداوم در معرض غلظت نسبتا بالایی از باکتری‌ها و ویروس‌ها و قارچ‌ها هستند که بسیاری از آنها مضر هستند. از این رو اگر انواع شیوه-های دفاعی را نداشته باشند، در برابر شکارچیان بسیار آسیب‌پذیر هستند (Wagele and Klussmann-Kolb, 2000). بقا این موجودات وابسته به مکانیسم‌های ضدمیکروبی موثر برای حمایت از آنها در برابر عفونت‌های میکروبی است، که شامل رفتارهای تغییر رنگ، تغییرسایز، توانایی تولید موکوس و مهمترین آنها تولید متابولیت‌های شیمیایی است (Wagele and Klussmann-Kolb, 2005) .

اولین تلاش‌ها برای یافتن فعالیت‌های آنتی میکروبی موجودات دریایی در دهه ۱۹۵۰ آغاز شد. بعد از آن زمان ارگانیسم‌های دریایی زیادی با شاخه‌های متعدد برای بررسی فعالیت‌های ضد میکروبی بررسی شدند (Shaw et. al., 1976). مطالعات اندکی روی فعالیت‌های ضد باکتری عصاره‌های شکم-پایان انجام شده است مانند:

Biskupiak and Ireland, 1983, Dolashka, et al.,2015,، Bano and Ayub, 2012, Dakhil Degiam ; Tahar Abas, 2010, Sivaprakasam Ramya, et. al., 2014, Giftson and Patterson, 2016, Ulagesan and Kim, 2018.

پتانسیل نرمتنان دریایی به عنوان یک منبع از ترکیبات فعال زیستی در ایران ناشناخته مانده است. ضرورت تحقیق حاضر تعیین اثر ضد باکتریایی عصاره‌های استخراجی از حلزون دریایی *Peronia verrculata* می‌باشد.

۲. مواد و روش‌ها

نمونه‌های حلزون *Peronia verrculata* (شکل ۱) از مناطق بین جزرومدی سواحل صخره‌ای استان بوشهر از سواحل اولی شمالی و جنوبی به تعداد ۱۰ نمونه از هر منطقه مطالعاتی جمع آوری گردید (شکل ۲). سپس نمونه‌ها به صورت زنده به آزمایشگاه منتقل شدند.

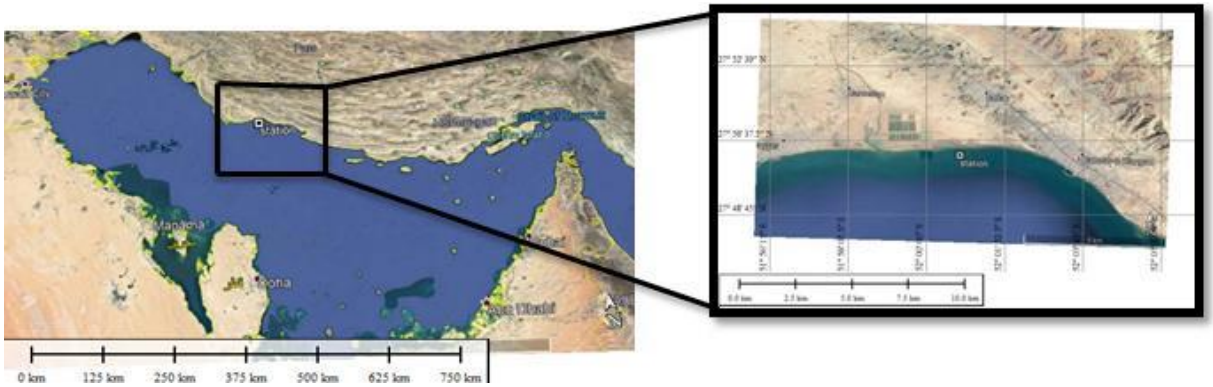
شکل ۱: شکم پای *Peronia verrculata* جمع آوری شده در سواحل استان بوشهر

برای تهیه عصاره، گونه‌های جمع آوری شده جهت بررسی پتانسیل ضد باکتری در آزمایشگاه با آب مقطر شستشو داده شدند و در یک مخلوط کن هموژن شده و برای عصاره‌گیری آماده شدند. به این منظور نمونه‌ها به سه قسمت تقسیم شدند و در ۳ حلال قرار گرفتند. حلال‌ها به نسبت ۱:۳ به اجزای جاندار اضافه گردید. نمونه‌ها طی ۷۲ ساعت در ارلن‌های بسته شده با پارافین و ورقه‌های آلومینیومی در دمای آزمایشگاه و محیط فاقد نور قرارگرفتند.

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from joc.inio.ac.ir at 8:36 IRDT on Wednesday May 20th 2020



شکل ۲: موقعیت جغرافیایی روستاهای اولی شمالی و جنوبی در خلیج فارس

به منظور کاهش خطا و افزایش دقت در روند کار، عصاره گیری از هر کدام از اجزای بدن حلزون‌های بدون صدف دو بار دیگر تکرار شد. به این منظور پس از هر ۷۲ ساعت محتوای ارلن‌ها با استفاده از قیف و کاغذ صافی، صاف شده و اجزای جاندار برای عصاره‌گیری بعدی وارد حلال تازه گردید. سپس محتوای ارلن‌ها با استفاده از کاغذ صافی و قیف صاف و اجزای جاندار از حلال جداسازی شد (بیگی نصیری، ۱۳۹۶). حلال‌های سه مرحله عصاره‌گیری با هم مخلوط شده و برای تغلیظ آنها از روتاری Heidorph مدل 0r0612119 استفاده شد. برای حفظ ساختار ترکیبات عصاره‌ها دمای روتاری ۳۷ درجه سانتی‌گراد تنظیم گردید. پس از تغلیظ عصاره‌ها به منظور جداسازی کامل حلال از عصاره‌ها، از دستگاه فریز درایر(Freeze drier) استفاده گردید. عصاره‌ها در پلیت‌های شیشه‌ای از قبل وزن شده ریخته و در فریزر با دمای $-20^{o}C$ درجه سانتی‌گراد برای انجام آزمایش‌های میکروبی بعدی نگهداری شدند (بیگی نصیری، ۱۳۹۶).

دو باکتری گرم مثبت *Staphylococcus aureous* (کد ATCC 9011) و گرم منفی *Escherichi coli* (کد ATCC 2207) از بیمارستان دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز بصورت خالص تهیه شدند. باکتری‌ها ابتدا در محیط کشت Tryptic Soy Broth (TSB) کشت و بعد از ۲۴ ساعت توسط سرم فیزیولوژی شستشو داده شده و در یخچال در دمای ۴ درجه سانتی گراد به مدت ۳ روز برای انجام مطالعات مورد نظر نگهداری شدند.

برای تعیین حداقل غلظت بازدارندگی رشد Minimum Inhibotory Concentration (MIC) باکتری‌های مورد استفاده توسط عصاره‌های استونی، بوتانولی و متانولی از روش رقت لوله‌ای (Vanden et al., 1991; Sindambiwe et al., 1999) استفاده گردید. برای تعیین MIC هر یک از عصاره‌های مورد بررسی یک سری ۹ تایی از لوله‌های آزمایش مورد استفاده قرار گرفت ۷ لوله برای آزمایش رقت‌های مختلف عصاره و یک لوله به عنوان کنترل مثبت (محیط کشت + باکتری) و یک لوله نیز به عنوان کنترل منفی (محیط کشت) به کار رفت. ابتدا باکتری‌های *Staphylococcus aureous* و *Escherichi coli* در محیط کشت Tryptic Soy Broth(TSB) کشت داده شده، به محیط کشت مولر هینتون براث Mueller Hinton Broth در لوله های آزمایش اضافه و میزان کدورت حاصل از باکتری با استاندارد ۰/۵ مک فارلند(۱/۵*۱۰۸ cfu/ml) تنظیم گردید سپس به لوله‌های حاوی محیط کشت مولر هینتون براث همراه با باکتری عصاره حلزون‌های دریایی با غلظت های ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰، ۴۰۰، ۶۰۰، ۸۰۰، ۱۰۰۰ میکروگرم بر میکرولیتر اضافه شد. سپس لوله‌های مذکور به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد در انکوباسیون نگهداری و بعد از سپری شدن زمان کدورت آنها بررسی و غلظت اولین لوله‌ای که در مقایسه با شاهد شفاف بود به عنوان MIC در نظر گرفته شد. برای تعیین حداقل غلظت کشندگی Minimum Bactericidal Concentration باکتری‌های *Staphylococcus aureous* و *Escherichi coli* توسط عصاره‌های استخراج شده از حلزون دریایی، از محتویات آن دسته از غلظت‌هایی از عصاره‌های مذکور که در محیط کشت مولر هینتون براث در آزمایش تعیین MIC فاقد کدورت بودند، به میزان ۱۰۰ میکرو لیتر برداشت و در پلیت های محتوی مولر هینتون آگار (Muller Hinton Agar) به روش خطی کشت داده شد. سپس پلیت‌ها در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت نگهداری شدند، پس از اتمام مدت زمان انکوباسیون کمترین غلظتی از عصاره‌های مورد بررسی را که باکتری در آنها رشد

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from joc.inio.ac.ir at 8:36 IRDT on Wednesday May 20th 2020

نکرده بود به عنوان حداقل غلظت کشندگی (MBC) در نظر گرفته شد (Vanden et al., 1991; Sindambiwe et al., 1999).

۳. نتایج و بحث

در این مطالعه تاثیرات ضد باکتریایی عصاره‌های بوتانولی، متانولی و استونی در آزمایشگاه مورد بررسی قرار گرفت. بررسی کدورت و شفافیت میکروتیوب‌های حاوی مقادیر مختلف عصاره بوتانولی نشان داد که حداقل غلظت ممانعت کنندگی از رشد باکتری *E.coli* برابر با ۶۰۰ µg/µl (جدول ۱) و برای باکتری استافیلوکوکوس اورئوس ۸۰۰ µg/µl می‌باشد (جدول ۳). همچنین بررسی وضعیت رشد باکتری *E.coli* در پلیت‌های حاوی محیط کشت مولر هینتون آگار در غلظت‌های مختلف عصاره بوتانولی نشان داد حداقل غلظت کشندگی (MBC) این باکتری ۸۰۰µg/µl (جدول ۲) و برای باکتری استافیلوکوکوس اورئوس ۱۰۰۰µg/µl می‌باشد (جدول ۴). براساس نتایج مذکور عصاره‌های استونی و متانولی تا غلظت ۱۰۰۰ µg/µl اثری بر روی ممانعت از رشد باکتری نداشتند (جدول ۱).

جدول ۱: مقایسه حداقل غلظت ممانعت‌کنندگی از رشد (MIC) باکتری *E.coli* توسط عصاره‌های مختلف

غلظت عصاره µg/µl	۱۰۰	۲۰۰	۳۰۰	۴۰۰	۶۰۰	۸۰۰	۱۰۰۰	C+	C-
بوتانول	+	+	+	+	−	−	−	+	−
متانول	+	+	+	+	+	+	+	+	−
استون	+	+	+	+	+	+	+	+	−

+ رشد باکتری − عدم رشد باکتری

جدول ۲: مقایسه حداقل غلظت کشندگی (MBC) باکتری *E.coli* توسط عصاره های مختلف

غلظت عصاره µg/µl	۴۰۰	۶۰۰	۸۰۰	۱۰۰۰
بوتانول	+	+	−	−
متانول	+	+	+	+
استون	+	+	+	+

+ رشد باکتری − عدم رشد باکتری

عصاره‌های استونی و متانولی اثر کمتری نسبت به عصاره بوتانولی در مهار رشد باکتری و باکتری‌کشی داشته‌اند. باکتری *E.coli* در عصاره بوتانولی رشد کمتری نسبت به باکتری استافیلوکوکوس اورئوس داشته است و تاثیر مهارکنندگی رشد بر روی باکتری *E.coli* بیشتر بوده است. عصاره متانولی شکم پای *Hemifusus pugilinus* نیز بیشترین اثر ضد باکتری را در برابر باکتری *E.coli* نشان داد (Srinivasan G., 2008).

جدول ۳: مقایسه حداقل غلظت ممانعت کنندگی از رشد (MIC) باکتری استافیلوکوکوس اورئوس توسط عصاره های مختلف

غلظت عصاره µg/µl	۱۰۰	۲۰۰	۳۰۰	۴۰۰	۶۰۰	۸۰۰	۱۰۰۰	C+	C-
بوتانول	+	+	+	+	+	−	−	+	−
متانول	+	+	+	+	+	+	+	+	−
استون	+	+	+	+	+	+	+	+	−

+ رشد باکتری − عدم رشد باکتری

جدول ۴: مقایسه حداقل غلظت کشندگی (MBC) باکتری استافیلوکوکوس اورئوس توسط عصاره های مختلف

غلظت عصاره µg/µl	۴۰۰	۶۰۰	۸۰۰	۱۰۰۰
بوتانول	+	+		
متانول	+	+		
استون	+	+		

+ رشد باکتری − عدم رشد باکتری

در مطالعات انجام شده توسط Sivaprakasam Ramya و همکاران در سال ۲۰۱۴ که بر روی حلزون دریایی Armina babai انجام شد، بیشترین اثر ضدباکتریایی در بین حلال‌های بوتانولی، استونی، اتانولی، متانولی و هگزان، به وسیله حلال بوتانول ثبت شد. همچنین در همین مطالعات عصاره بوتانولی اثر ضدباکتری بیشتری بر روی باکتری *E.coli* نسبت به استافیلوکوکوس اورئوس داشت. در بررسی فعالیت ضد باکتری پپتید های جدا شده از همولنف حلزون خشکی زی Helix lucorum توسط Dolashka و همکاران در سال ۲۰۱۵، بیشترین اثر ممانعت کنندگی بر روی باکتری‌های *E.coli*، استافیلو کوکوس اورئوس و استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس مشخص شد. شکل‌های ۳ و ۴ میـزان قرائت OD غلظت‌های مختلف عصاره را در باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و *E.coli* نشان می‌دهند.

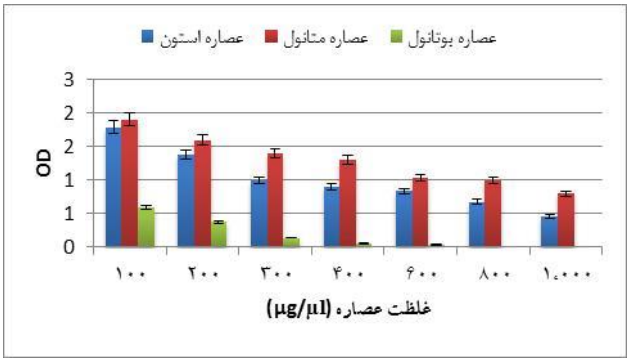
در اولین مطالعات ضدباکتری انجام شده بر روی شکم پایان Biskupiak و Ireland در سال ۱۹۸۳ در پوست شکم پای *Siphonaria pectinata* یک آنتی بیوتیک جدید به نام Pectinatone استخراج کردند که در برابر باکتریهای گرم مثبت *Bacillus subtilis*، *Staphylococcus aureus* و مخمرهای *Saccromyces cerevisiae* و *Candida albicans* فعالیت می‌کرد. در مطالعات انجام شده توسط Dakhil Degiam و Taher Abas در سال ۲۰۱۰ بر روی سه نرمتن دریایی (*Sepia*

www.SID.ir

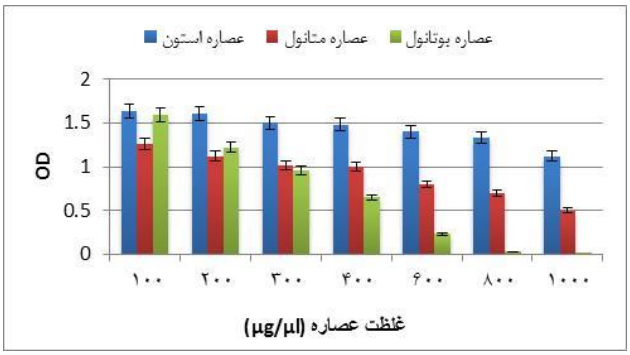
Archive of SID

Downloaded from joc.inio.ac.ir at 8:36 IRDT on Wednesday May 20th 2020

Loligo sp.،sp. و حلزون دریایی Tibia) ، Tibia) بیشترین فعالیت ضدباکتری را نسبت به باکتری‌های Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa , Klebsiella oxytoca , Proteus mirablis ,Serratia liquefaciens نشان داد.



شکل ۳: مقایسه OD در غلظت‌های مختلف و عصاره‌های مختلف مورد استفاده در باکتری *E.coli*



شکل ۴: مقایسه OD در غلظت‌های مختلف و عصاره‌های مختلف مورد استفاده در باکتری استافیلوکوکوس اورئوس

Bano و Ayub در سال ۲۰۱۲، با بررسی سه گونه از شکم پای *Siphonaria*، عصاره های متانول خالص و کلروفرم- متانول بهترین و هگزان خالص ضعیف ترین حلال معرفی کردند. در مطالعات Giftson و Patterson (2016) بر روی اثر ضدباکتری عصاره های استونی، بوتانولی و اتانولی گونه شکم پای *Harpa davidis* بیشترین هاله عدم رشد در عصاره متانولی و کمترین در عصاره اتانولی روی پاتوژن‌های انسانی و ماهی ثابت شد. Ulagesan و Kim در سال ۲۰۱۸ که بر روی فعالیت ضد باکتری و ضد قارچی ۷ حلزون مختلف آب شیرین و خشکی مطالعاتی انجام دادند که حلزون *Cryptozona bistrialis* بیشترین فعالیت ضدباکتری را نشان داد و پروتئین های آن بیشترین ممانعت را در برابر فعالیت پاتوژن های باکتریایی نشان دادند و آن را به عنوان یک آنتی بیوتیک در زیست پزشکی معرفی کردند. فعالیت ضد میکروبی معمولا در عصاره گونه‌های مختلف شکم پایان مشاهده می‌شود (Ramasamy and Morugan, 2005; Prem and Patterson, 2002). حلزون‌های دریایی قادر به ترشح موکوسی هستند که حاوی موادی با طعم غیر مطبوع است و مانع شکار شدن آنها توسط سایر موجودات می‌گردد(McFarlane, 1979). این مواد از سلول‌های تخصص یافته موجود در پوست به نام غدد رپوگناتوریال (Repugnatorial) ترشح می شوند که به غدد دفاعی نیز مشهور هستند (Pinchuck and Hodgson, 2010) و حاوی ایزومرهای پلی پروپیونات (Polypropionate) و مواد اسیدی هستند که نقش دفاعی و بد مزه شدن موجود را دارند و فعالیت ضد باکتری نیز دارند (Darias et Al., 2006).

در ایران در مطالعات بی‌تعب و همکاران در سال ۲۰۱۵ که بر روی اثر ضد باکتری پپتیدهای استخراجی از حلزون دریایی *Peronia peroneii* سواحل قشم بر روی باکتری‌های *Bacillus subtilis*، *Staphylococcus aureus*، *Serratia marcescens*، *Pseudomonas aeruginosa*، *Escherichia coli*، *Klebsiella pneumonia* و *Proteu mirabilis* انجام شد، اثر ضد باکتری قوی پپتیدهای استخراجی بر روی باکتری‌های ذکر شده مشخص گردید.

۴. نتیجه گیری

بررسی و مقایسه نتایج حاصل از این مطالعه با نتایج سایر مطالعات صورت گرفته در ارتباط با شکم پایان نشان می‌دهد که عصاره‌های بوتانولی، استونی و متانولی گرفته شده از شکم پای *peronia verrculata* خاصیت ضد باکتری متوسط را در دو باکتری *E.coli* و استافیلوکوکوس اورئوس نشان می‌دهند و به غلظت‌های بالایی از این عصاره نیاز برای تاثیرات ضد باکتری نیاز است. به نظر می‌رسد در حال حاضر از نظر اقتصادی استخراج عصاره از این گونه با غلظت بالای باکتری کشی مقرون به صرفه نمی‌باشد.

۵. سپاسگزاری

از پژوهشکده آبزی‌پروری جنوب کشور خصوصا ریاست محترم پژوهشکده سرکار خانم دکتر سیمین دهقان مدیسه و

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from joc.inio.ac.ir at 8:36 IRDT on Wednesday May 20th 2020

معاون محترم تحقیقاتی پژوهشکده آقای دکتر حسین هوشمند و سرکار خانم دکتر مینا آهنگرزاده مسئول بخش بهداشت و بیماری‌های آبزیان و خانم دکتر سمیرا ناظم الرعایا به دلیل فراهم نمودن شرایط انجام این تحقیق و مساعدت فراوان کمال تشکر را دارم.

منابع

بیگی نصیری، منصوره. ۱۳۹۶. بررسی فعالیت‌های ضد میکروبی عصاره‌های آلی توتیای دریایی *Echinometra mathaei* خلیج فارس (سواحل بوشهر). پایان نامه دوره دکتری رشته داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، ۷۴ صفحه.

Akhil Degiam , Z. and Tahar Abas,A. 2010. Antimicrobial activity of some crude marine Mollusca extracts against some human pathogenic bacteria, Thi-Qar Medical Journal (TQMJ): Vol(4) No(3): p(142-147).

Avila, C., 1995. Natural products from opisthobranch mollusks. A biological review. Oceanography Marine Biology. Annu. Rev., 33: 487-559.

bacteria. Journal of Shellfish Research. 24: 243-251.

Bano,A. and Ayub, Z. 2012. Antibacterial and Antifungal Activity in Three Species of Siphonaria (Gastropoda: Pulmonata) Collected From Rocky Ledge of Mubarak Village, Karachi. Pakistan Journal of Zoology. vol. 44(6), pp. 1493-1497.

Bazes A, Silkina A, Douzenel P, Fay F, Kervarec N, Morin D. 2009. Investigation of the antifouling constituents from the brown alga Sargassum muticum (Yendo) Fensholt. Journal of Applied Phycology;21:395-403. https://doi.org/10.1007/s10811-008-9382-9

Biskupiak, J.E , Ireland C.M, 1983. Pectinaton. A new antibiotic from the mollusk Siphonaria pectinata. Tettrahedron let t ,24:3055-3058. https://doi.org/10.1016/S0040-4039(00)88093-4

Bitaab, M.A. S.O. Siadat,R , Pazooki1, J. Sefidbakht, Y. 2015. Antibacterial and molecular dynamics study of the Dolabellanin B2 isolated from sea slug, Peronia peronii .BIOSCIENCES BIOTECHNOLOGY RESEARCH ASIA, Vol. 12(3), 2023-2035. https://doi.org/10.13005/bbra/1870

Chan, B. K. K.; Caley, K. J. 2003. Hong Kong Field Guides 69: Sandy Shores. Hong Kong: Wan Li Book Co.

Chellaram C, Gnanambal KM, Edward JK. 2004. Antibacterial activity of the winged oyster Pteria chinensis (Pterioida: Pteridae). Indian Journal of Marine Science; 33(4):369-72.

Darias, J., Cueto, M., Diaz-Marrero, A.R. 2006. The Chemistry of Marine Pulmonate Gastropods. Article in Progress in molecular and subcellular biology. Progress in Molecular and Subcellular Biology , Subseries Marine Molecular Biotechnology . p: 105-131. https://doi.org/10.1007/978-3-540-30880-5_5

De Vries DJ and Hall MR. 1994. Marine biodiversity as a source of chemical diversity. Drug Development Research. 33: 161-173. https://doi.org/10.1002/ddr.430330213

Dolashka, P., Dolashki, A., Voelter,W., Van Beeumen, J., Stevanovic, S. 2015. Antimicrobial activity of peptides from the hemolymph of Helix lucorum snails. Internatinal Journal of Current Microbiology and Applied Science. 4, 1061–1071.

Faulkner, J. 1996. Marine natural products. Natural Product Reports. 13: p. 75-125. https://doi.org/10.1039/np9961300075

Giftson, H. and Patterson, J. 2016 . Evaluation of Antibacterial activity of crude extracts of Gastropod, Harpa Davidis, Roding 1798, from Kanyakumari coast against isolated human and fish pathogens.. Vol 9, Issue 3.

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from joc.inio.ac.ir at 8:36 IRDT on Wednesday May 20th 2020

Screening of seven selected Rwandan medicinal plants for antimicrobial and antiviral activites. J Ethnopharmacol, 65(1), 71-77.

https://doi.org/10.1016/S0378-8741(98)00154-8

Shaw PD, McClure WO, Van Blaricom G, Sims J, Fenical W, Rude J., 1976. Antimicrobial activities from marine organisms. In: Webber HH, Ruggieri GD. (eds.) Fooddrugs from the sea. Washington DC: Marine Technology Society; p. 55-60.

Sindambiwe, J.B., Calomme, M., Cos, P., Totte, J., Pieters, L., Vlietinck, A., 1999.

Sivaprakasam Ramya, M., Sivasubramanian, K., Ravichandran, S., Anbuchezhian, R., 2014. Screening of antimicrobial compound from the sea slug Armina Babai. A Journal of the Bangladesh Pharmacological Society (BDPS) A Journal of the Bangladesh Pharmacological Society (BDPS). 9: 268-274.

https://doi.org/10.3329/bjp.v9i3.18483

Srinivasan G., 2008. Studies on antimicrobial properties of a gastropod Hemifusus pugilinus and a bivalve Anadara granosa (M.Sc Thesis). Parangipettai: Annamalai University, p. 27.

Thanikachalam, K., Kasi, M., Rathinam, X., 2010 .Effect of garlic peel on growth, hematological parameters and disease resistance against Aeromonas hydrophila in African catfish Clarias gariepinus (Bloch) fingerlings Asian Pacific Journal of Tropical Medicine. 3 (8) , pp. 614-618.

https://doi.org/10.1016/S1995-7645(10)60149-6

Ulagesan,S. and Jun Kim, H, 2018. Antibacterial and Antifungal Activities of Proteins Extracted from Seven Different Snails. Applied Science .8, 1362

Vanden, D.A., Vlietinck, A.J., 1991. In: Dey PM, Harborne JB. (Eds.), Methods in plant biochemistry: screening medthods for antibacterial and antiviral agents from higher plants. London, Academic Press, 47-69.

Haszprunar, G. 2001. "Mollusca (Molluscs)". Encyclopedia of Life Sciences. John Wiley & Sons, Ltd.doi:10.1038/npg.els.0001598.

https://doi.org/10.1038/npg.els.0001598

Hoffman H. 1929. Zur Kenntnis der Oncidiiden (Gastrop. pulmon.) ii. Phylogenie und verbreitung. Zoo. Jb., Syst. 57: 253-302.

James, DB. 2001. Twenty sea cucumber from seasaround Indian. Naga, the ICLARM Quartely. 24: 4-8

Mcfarlane, I,D. 1979. Behaviour and ecology of the inter-tidal Pulmonata mollusk, Onchidium peronei, in Kuwait. Kuwait journal of science.

Pinchuck, S,C, Hodgson, A,H. 2010. The ultrastructureand histology of the perinatal epidermis and defensive glandsof two species of Onchidella (Gastropoda: Pulmonata). Tissue and cell, 19(2); 110-115.

https://doi.org/10.1016/j.tice.2010.02.001

Prem, A.T. and Patterson, E.J.K., 2002. Antimicrobial activity in the tissue extracts of five species of cowries Cypraea spp. (Mollusca: Gastropoda) and an ascidian Didemnum psammathodes (Tunicata:Didemnidae). Indian Journal of marine Science. 31: 239-242

Ramasamy, M.S. and Morugan, A., 2005. Potential antimicrobial activity of marine mollusks from tuticorin, southeast coast of India against 40 biofilm

Rinehart, K.L., Shaw, P.D., Shield, L.S., Gloer, J.B., Harbour,G.C., Koker, M.E.S. , Samain,D., Schwartz, R.E., Tymiak, A.A., Swynenberg, E.G., Stringfellow, D.A., Vavva, J.J., Coasts, J.H., Zurenko, G.E., Kuentel, S.L., Li,L.H., Bakus, G.J., Brasca, R.C., Craft, I.I., Young,D.N. & Connot,.L.J., 1981. Marine natural products as a source of antiviral, antimicrobial and antineoplastic agents, Pure and Applied Chemistry. 53: 795-817.

https://doi.org/10.1351/pac198153040795

www.SID.ir

Archive of SID

foraging. Front Zoology, 2(1):3.

Yasoda, HN., Chi, Z., Zhu, K. 2006. Probiotics and sea cucumber farming. SPC Bech Info Bull; 24: 458-9.

Wägele, H., Klussmann-Kolb, A.,2005. Opisthobranchia (Mollusca, Gastropoda)more than just slimy slugs. Shell reduction and its implications on defence and

Downloaded from joc.inio.ac.ir at 8:36 IRDT on Wednesday May 20th 2020

www.SID.ir