ISSN: 2476-6917; Modares Journal of Biotechnology. 2018;9(3):347-353

Antibacterial and Antioxidant Potential of *Haliclona caerulea* Extracts from Tidal Island Larak, Persian Gulf

ARTICLE INFO

Article Type
Original Research

Authors
Karimpoor M.[1] *MSc*,
Kamrani E.*[2] *PhD*,
Yousefzadi M.[1] *PhD*,
Nazemi M.[3] *PhD*

How to cite this article
Karimpoor M, Kamrani E, Yousefzadi M, Nazemi M. Antibacterial and Antioxidant Potential of *Haliclona caerulea* Extracts from Tidal Island Larak, Persian Gulf. Modares Journal of Biotechnology. 2018 ;9(3):347-353.

[1]Marine Biology Department, Marine Science & Technology Faculty, Hormozgan University, Bandar Abbas, Iran
[2]Fisheries Department, Marine Science & Technology Faculty, Hormozgan University, Bandar Abbas, Iran
[3]Persian Gulf & Oman Sea Ecological Center, Bandar Abbas, Iran

Correspondence
Address: Hormozgan University, 9 Kilometer Minab Road, Bandar Abbas, Iran . Postal Code: 7916193145
Phone: +98 (76) 33711025
Fax: +98 (76) 33711025
ezas47@gmail.com

Article History
Received: September 16, 2016
Accepted: August 20, 2017
ePublished: September 22, 2018

ABSTRACT

Aims Considering the importance of health and some disadvantages of the existing synthetic compounds, the present research aimed at evaluating the antibacterial and antioxidant potential of *Haliclona caerulea* extracts.

Materials & Methods In the present experimental study, organic extracts of n-hexane, diethyl ether, and methanol were prepared by the Bligh and Dyer method from the marine sponge; then, antibacterial activity was measured by disc diffusion, minimum inhibitory concentration (MIC), and minimum bactericidal concentration (MBC), and antioxidant activity was measured by evaluating the regenerative power and determining the total antioxidant capacity of the extracts. The data were analyzed by Duncan's new multiple range test (MRT) one-way ANOVA test. SPSS 19 and Excel 2013 software were used.

Findings Methanol extract had the most antibacterial effect, especially against Gram positive bacterial of *Bacillus subtilis* with a concentration of 2.5mg/ml and *Staphylococcus aureus* with a concentration of 5mg/ml. Diethyl ether extracts showed the highest antioxidant activity at concentration of 5mg/ml.

Conclusion The methanol extract of *Haliclona caerulea* exhibits more antibacterial properties, and the diethyl ether extract of this sponge have a higher antioxidant effect.

Keywords Antibacterial; Antioxidant; Persian Gulf; Marine Sponges; Minimum Inhibitory Concentration

CITATION LINKS

[1] Marine biodiversity as a source of chemical ... [2] Bioactive compounds from marine invertebrates for ... [3] Marine natural product drug discovery ... [4] Evaluation of single and joint effect of metabolites isolated from marine sponges ... [5] Marine natural ... [6] Merging the potential of microbial genetics with biological and chemical diversity: An even brighter future for ... [7] Antifungal and antibacterial activities of four Malaysian sponge ... [8] Antifilarial activity of marine sponge Haliclona oculata against experimental ... [9] Free-radical scavenging capacity and reducing power of wild edible mushrooms from northeast Portugal: Individual ... [10] Antioxidant activity of a flavonoid-rich extract of Hypericum ... [11] Evaluation of antioxidant property of extract and fractions obtained from a red ... [12] Antioxidant capacities and total phenolic contents of 62 ... [13] Antioxidant and free radical scavenging activities of wild bitter ... [14] Antimicrobial and antioxidant activity of purple Sea urchin shell ... [15] Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical ... [16] Optimisation of hydrolysis of purple sea urchin (Strongylocentrotus nudus) gonad by response surface methodology and evaluation of in vitro antioxidant activity of the ... [17] Identification nonpolar component and antibacterial activities of Iophon ... [18] Evalution of antibacterial, antifungal and cytotoxic effects of Holothuria scabra from ... [19] Toxicity of essential oil of Satureja ... [20] Laboratory tests used to guide antimicrobial ... [21] Potential antibacterial and antioxidant properties of a sulfated polysaccharide from the brown marine algae Sargassum ... [22] Antibacterial activity in Strongylocentrotus droebachiensis (Echinoidea), Cucumaria frondosa (Holothuroidea), and ... [23] Antifungal and antibacterial activity of Porifera extracts from the Moroccan Atlantic ... [24] Screening of antimicrobial activity of marine sponge extracts collected from ... [25] Screening for antibacterial and antifungal activities in marine benthic invertebrates from northern ... [26] Effects of methanolic extract of a soft sponge, Haliclona sp. on bacterial cells: Structural degeneration ... [27] Biological activites of extracts from Anadam Sea sponges ... [28] Study of antioxidant, antibacterial and anti-inflammatory activity of cinnamon (Cinamomum tamala), ginger (Zingiber officinale) and ... [29] Chitin extraction from shrimp shell waste using ...

Copyright© 2018, TMU Press. This open-access article is published under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License which permits Share (copy and redistribute the material in any medium or format) and Adapt (remix, transform, and build upon the material) under the Attribution-NonCommercial terms.

www.SID.ir

پتانسیل خواص ضدباکتریایی و آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های اسفنج دریایی *هالیکلونا کارلا* منطقه جزر و مدی جزیره لارک، خلیج فارس

مریم کریم‌پور MSc
گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران
احسان کامرانی* PhD
گروه شیلات، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران
مرتضی یوسف‌زادی PhD
گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران
ملیکا ناظمی PhD
پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان، بندرعباس، ایران

چکیده
اهداف: با توجه به اهمیت بحث سلامت و برخی مضرات ترکیبات مصنوعی موجود، هدف مطالعه حاضر بررسی برخی خواص زیستی از جمله خواص ضدباکتریایی و آنتی‌اکسیدانی اسفنج دریایی *هالیکلونا کارلا* (*Haliclona caerulea*) بود.
مواد و روش‌ها: در مطالعه تجربی حاضر، عصاره‌های آلی ان-هگزان، دی‌اتیل‌اتر و متانول با روش بلایت و دایر از اسفنج دریایی تهیه شدند. سپس فعالیت ضدباکتریایی با روش‌های انتشار دیسک، حداقل غلظت بازدارندگی (MIC)، حداقل غلظت کشندگی (MBC) و فعالیت آنتی‌اکسیدانی با استفاده از ارزیابی قدرت احیاکنندگی و تعیین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل عصاره‌ها سنجیده شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها به‌وسیله آزمون‌های تحلیل واریانس یک‌طرفه و چنددامنه‌ای دانکن صورت گرفت. نرم‌افزارهای SPSS 19 و Excel 2013 به کار رفتند.
یافته‌ها: عصاره متانولی بیشترین اثر ضدباکتریایی به‌ویژه نسبت به باکتری‌های گرم‌مثبت *باسیلوس سوبتیلیس* در غلظت ۲/۵میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و *استافیلوکوکوس اورئوس* در غلظت ۵میلی‌گرم بر میلی‌لیتر را داشت. عصاره دی‌اتیل‌اتری در غلظت ۵میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بیشترین اثر آنتی‌اکسیدانی را نشان داد.
نتیجه‌گیری: عصاره متانولی اسفنج دریایی *هالیکلونا کارلا* خاصیت ضدباکتری بیشتری را نشان می‌دهد و عصاره دی‌اتیل‌اتری این اسفنج خاصیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری دارد.
کلیدواژه‌ها: ضدباکتریایی، آنتی‌اکسیدانی، اسفنج دریایی، خلیج فارس، حداقل غلظت بازدارندگی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۶/۲۶
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۵/۲۹
*نویسنده مسئول: ezas47@gmail.com

مقدمه
با وجود پیشرفت فوق‌العاده در پزشکی، بیماری‌های ناشی از باکتری‌ها و قارچ‌ها هنوز هم یک تهدید عمده برای سلامت عمومی هستند. به‌دلیل تکامل مداوم میکروب‌های بیماری‌زا و مقاومت آنها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها، همیشه تقاضا برای توسعه ترکیبات جدید و موثر ضدمیکروبی وجود داشته است. در چند دهه گذشته تحقیقات برای کشف سرنخ‌های جدید داروهای ضدمیکروبی از خشکی به اقیانوس گرایش یافته است. اقیانوس‌ها حدود ۷۰% سطح زمین را پوشانده‌اند و پتانسیل نامحدود زیستی و تنوع شیمیایی دارند[1].
مطالعات متعدد نشان می‌دهد بیشتر ترکیبات طبیعی از بی‌مهرگان دریایی استخراج شده‌اند و ساختارهای پپتیدی، آلکالوئیدی، ترپنوئیدی و استروئیدی دارند[2]. تاکنون تعدادی از ترکیبات فعال زیستی با درجه عمل مختلف مانند ضدتومور، ضدسرطان، سمیت سلولی، ضدخزه و همچنین ترکیبات آنتی‌بیوتیکی از منابع دریایی استخراج شده است. برخی از این متابولیت‌های ثانویه فعال با منشا دریایی که خواص ضدباکتری، ضدقارچی و ضدویروسی قوی دارند، به‌طور فراوان و متداول به‌عنوان آنتی‌بیوتیک استفاده می‌شوند[3].
اسفنج‌ها، بی‌مهرگان پرسلولی اولیه‌ای هستند که به‌عنوان یک منبع باارزش در طول ۵۰ سال گذشته بررسی شده‌اند و دانشمندان به امید جداسازی ترکیبات فعال زیستی برای کمک به انسان مجذوب آنها شدند. اسفنج‌ها منابعی از مواد جدید برای درمان تعدادی از بیماری‌ها مانند سرطان، ایدز، عفونت و گستره وسیعی از ویروس‌ها، باکتری‌ها و بیماری‌های قارچی را فراهم کردند. با وجود کشف تعدادی از بیواکتیوها در اسفنج‌ها، تنها تعداد کمی از این ترکیبات تجاری‌سازی شدند. بنابراین کشف اکولوژی شیمیایی متابولیت‌های ثانویه باارزش و امیدوارکننده است. برخی از این متابولیت‌های ثانویه مسیرهای مهمی را برای رشد داروهای قوی عرضه می‌کنند[4].
بیش از ۱۵۰۰۰ محصول طبیعی برای اهداف مختلف استفاده شده است. بیشتر این ترکیبات از اسفنج‌های دریایی، ژله‌فیش‌ها، شقایق‌های دریایی، مرجان‌ها، بریوزوئن‌ها، نرم‌تنان، خارپوستان، تونیکاتا و سخت‌پوستان جداسازی شده‌اند[5, 6]. بین موجودات دریایی، اسفنج‌ها با قدمت حیات بیش از ۸۰۰میلیون سال قدیمی‌ترین و موفق‌ترین گروه جانداران هستند که ترکیبات طبیعی آنها، خواص زیستی متعددی دارد[7]، از جمله این خواص زیستی اثرات ضدمیکروبی، آنتی‌اکسیدانی، سرطان، تخریب بافت عصبی، دیابت نوع دو و عفونت‌های قارچی است. این فعالیت‌های زیستی به وجود استرول‌های جدید، متابولیت‌هایی از قبیل استروئیدها، ترپنوئیدها، پپتیدهای دایره‌ای و اسیدهای چرب غیراشباع نسبت داده می‌شوند[8].
آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی می‌توانند با خنثی‌کردن رادیکال‌های آزاد، در پیشگیری از بیماری‌های قلبی- عروقی و برخی اشکال سرطان اهمیت داشته باشند[9]. رادیکال‌های آزاد، یک یا چند الکترون غیرجفت در اوربیتال خالی دارند و شامل آنیون‌سوپراکسید ($O_2^{\bullet-}$)، هیدروکسیل ($HO^{\bullet}$)، پراکسیل ($ROO^{\bullet}$)، آلکوکسیل ($RO^{\bullet}$) و نیتریک‌اکسید هستند که اکسیژن مرکزی آنها، به‌عنوان گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) شناخته می‌شود[10]. آنها مستقیماً به مولکول‌های بیولوژیک، مانند لیپیدها، پروتئین‌ها، DNA، RNA و آنزیم‌ها حمله می‌کنند[11]. این گونه‌ها نقش یک همزاد را در ارگانیزم‌ها بازی می‌کنند[10] و گمان می‌رود که مهار آنها، برای کاهش سطح استرس‌اکسیداتیو ارگانیزم، در جلوگیری و درمان برخی بیماری‌های مزمن و مخرب، مانند پیری، بیماری‌های قلبی و عروقی، التهاب، سکته، دیابت شیرین، سرطان و غیره موثر باشد[12, 13]. بنابراین آنتی‌اکسیدان‌هایی که می‌توانند ROS را مهار کنند، انتظار می‌رود که این اختلالات را بهبود بخشند[14]. این امر می‌تواند به یک تحول عظیم در علم پزشکی منجر شود[15]. به هر حال توجه به اهمیت سلامتی و آگاهی از مصرف مضر آنتی‌اکسیدان‌های صنعتی مانند بوتیلات‌هیدروکسی‌تولوئن (BHT) و بوتیلات‌هیدروکسی‌آنیزول (BHA) و غیره منجر به افزایش تقاضا برای مصرف آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی شده است[11, 16].
مطالعه حاضر با هدف بررسی برخی خواص زیستی از جمله خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدباکتریایی اسفنج دریایی *هالیکلونا کارلا*

Archive of SID
www.SID.ir

(*Haliclona caerulea*) انجام شد.

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر یک پژوهش تجربی است.

نمونه‌برداری و عصاره‌گیری: اسفنج‌های دریایی گونه *هالیکلونا کارلا* در اردیبهشت ۱۳۹۳ از منطقه بین جزر و مدی جزیره لارک خلیج فارس جمع‌آوری و با حفظ شرایط بیولوژیک همراه با آب دریا به آزمایشگاه زیست‌شناسی دانشگاه هرمزگان منتقل شدند. به‌منظور پاک‌سازی نمونه‌ها از آب دریا، نمک اضافی و رسوبات، آنها با آب‌مقطر شسته شدند. سپس جداسازی اپی‌فیت‌ها و بسترهای سنگی متصل به بافت‌های اسفنجی انجام شد تا نمونه‌ها کاملاً تمیز شوند. بافت‌های اسفنجی به اندازه‌های یک‌سانتی‌متری با اسکارپر برش زده شدند تا اثرگذاری حلال‌ها روی جاندار بیشتر شود[17].

بافت‌های اسفنجی برای خشک‌شدن در دستگاه فریز درایر (strike102؛ ایتالیا) در دمای ۴۰°C- قرار گرفتند. عصاره بافت‌های اسفنجی با استفاده از سه حلال ان-هگزان، دی‌اتیل‌اتر و متانول به‌ترتیب افزایش قطبیت جدا شدند. حلال‌ها در دستگاه روتاری (strike102؛ ایتالیا) در شرایط خلا تبخیر و عصاره‌ها پس از حل‌شدن در متانول، در دمای ۲۰°C- نگهداری شدند. لازم به ذکر است که تمام مراحل عصاره‌گیری در دمای آزمایشگاه (۲۵°C) انجام شد[17, 18].

ارزیابی فعالیت ضدمیکروبی: سویه‌های باکتریایی مورد استفاده در مطالعه شامل باکتری‌های گرم‌مثبت *باسیلوس سوبتیلیس* (*Bacillus subtilis*) و *استافیلوکوکوس اورئوس* (*Staphylococcus aureus*) و باکتری‌های گرم‌منفی *شیگلا فلکسنری* (*Shigella flexneri*)، *سالمونلا تیفی‌موریوم* (*Salmonella typhimurium*)، *اشریشیا کلی* (*Escherichia coli*) و *سودوموناس آئروجینوزا* (*Pseudomonas aeruginosa*) بودند که از باکتری‌های بیماری‌زای انسانی محسوب می‌شوند و از مرکز کلکسیون قارچ و باکتری ایران تهیه شدند.

کشت باکتریایی و آزمون انتشار دیسک: از تمام سویه‌های باکتریایی با روش خطی پلیت تهیه شد و به‌مدت ۲۴ساعت در انکوباتور با دمای ۳۷°C قرار گرفتند تا باکتری‌ها کاملاً رشد کنند. سپس در شرایط کاملاً استریل و در کنار شعله از پلیت کشت باکتری، تک‌کلونی برداشته و در لوله‌های حاوی ۴میلی‌لیتر محیط کشت مایع لاکتوز براث انتقال داده شد. برای رشد باکتری لوله‌ها در انکوباتور با دمای ۳۷°C به‌مدت ۴ساعت قرار گرفتند. غلظت نهایی هر نمونه براساس کدورت نیم‌مک‌فارلند در حدود $۱/۵\times۱۰^{۸}$ واحد کلونی باکتری در میلی‌لیتر تنظیم شد[19].

به‌منظور بررسی اثرات ضدباکتریایی (کشت چمنی سوسپانسیون‌های باکتریایی به‌وسیله سوآپ استریل) روی محیط آگار، دیسک‌های آماده بلانک (محصول شرکت پادتن طب؛ ایران) به ظرفیت ۲۰میکرولیتر به فاصله حداقل ۲۵میلی‌متر از یکدیگر و از لبه پلیت به‌وسیله یک پنس استریل به‌دقت روی سطح آگار قرار گرفتند. سپس ۲۰میکرولیتر از هر کدام از عصاره‌های استریل با غلظت ۱۰میلی‌گرم بر میلی‌لیتر (وزنی/حجمی) برداشته و به‌دقت به دیسک‌های بلانک (قطر ۶میلی‌متر) تزریق شدند و بعد به‌آرامی دیسک‌ها با فشار پنس در محیط آگار ثابت شدند. قطر هاله‌های عدم رشد بعد از ۲۴ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷°C تعیین شد. قطر هاله‌ها به‌کمک خط‌کش کولیس (Hi Antibiotic Zone Scale) اندازه‌گیری و نتایج میانگین با سه بار تکرار محاسبه شد[19].

لازم به ذکر است که در کنترل باکتری، متانول به‌جای عصاره و از آنتی‌بیوتیک آمپی‌سیلین نیز به‌عنوان کنترل مثبت استفاده شد.

تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (MIC): به‌منظور تعیین حداقل غلظت بازدارندگی رشد باکتری‌ها توسط عصاره‌های ان-هگزانی، دی‌اتیل‌اتری و متانولی اسفنج دریایی، از لوله‌های آزمایش به شکل رقت سریال ده‌تایی استفاده شد، به‌طوری که در هر لوله یک‌میلی‌لیتر محیط کشت به‌همراه غلظت‌های مناسب از عصاره‌ها (۲۰، ۱۵، ۱۰، ۷/۵، ۵، ۲/۵، ۱/۵، ۰/۷۵، ۰/۵ و ۰/۱میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) وجود داشت. استوک تهیه‌شده از باکتری (غلظت برابر با استاندارد نیم‌مک‌فارلند) با استفاده از محیط کشت مایع، یک به ۱۰۰ رقیق شد تا حاوی $۱/۵\times۱۰^{۶}$ واحد کلونی باکتری باشد. سپس مقدار یک‌میلی‌لیتر به تمام لوله‌ها (به استثنای لوله‌های کنترل) اضافه شد. در مرحله آخر، لوله‌ها به‌مدت ۲۴ساعت در انکوباتور با دمای ۳۷°C قرار داده شدند. برای تعیین مقدار MIC، اولین لوله‌ای که کدورتی نداشت و به بیان دیگر، رشد باکتری در آن مشاهده نشد، به‌عنوان عدد MIC منظور شد[19].

تعیین حداقل غلظت کشندگی (MBC): به‌منظور تعیین حداقل غلظت کشندگی از لوله‌هایی که با اثردادن عصاره‌ها، بعد از گذشت دوره زمانی ۲۴ساعت به‌صورت شفاف باقی مانده بود و احتمال می‌رفت که باکتری در آنها رشد نکرده باشد، در کنار شعله در پلیت حاوی محیط مولر هینتون‌آگار کشت داده شد و سپس پلیت‌ها به‌مدت ۲۴ساعت در انکوباتور با دمای ۳۷°C قرار گرفتند. اگر کلونی باکتری در سطح محیط ظاهر نمی‌شد، یا حداقل از ۷ کلونی بیشتر نبود، نشان می‌داد که عصاره اثر کشندگی داشته و باکتری را از بین برده است. بدین ترتیب MBC عصاره بر سویه مورد نظر مشخص شد[20].

ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی (ارزیابی قدرت احیاکنندگی): این آزمایش بر مبنای احیاکردن کلریدآهن III (سه‌ظرفیتی) به کلریدآهن II (دوظرفیتی) توسط عصاره دارای قدرت احیاکنندگی بود. تبدیل رنگ زرد به آبی مبنای سنجش بود.

توانایی عصاره‌ها برای احیای آهن سه‌ظرفیتی طبق روش *دوان* و همکاران تعیین شد. در این روش، ۰/۵میلی‌لیتر از غلظت‌های مختلف عصاره (۲/۵، ۵، ۷/۵، ۱۰میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) با ۱/۲۵میلی‌لیتر بافر فسفات (۰/۱مولار؛ pH=۶/۶) و ۱/۲۵میلی‌لیتر فری‌سیانیدپتاسیم (۱%؛ وزنی/حجمی) مخلوط شد و به‌مدت ۲۰دقیقه در حمام آب (WiseBath؛ کره‌جنوبی) با دمای ۵۰°C قرار گرفت. سپس ۲/۵میلی‌لیتر از مخلوط برداشته و به آن ۱/۲۵میلی‌لیتر تری‌کلرواستیک‌اسید (۱۰%، وزنی/حجمی) و ۱/۲۵میلی‌لیتر آب‌مقطر و در نهایت ۰/۲۵میلی‌لیتر کلرور فریک (۰/۱%، وزنی/حجمی) اضافه شد. بلافاصله جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۰۰نانومتر به کمک دستگاه اسپکتروفتومتر (Shimadzu؛ ژاپن) خوانده شد. افزایش جذب نمونه‌ها به‌معنی افزایش قدرت احیاکنندگی نمونه‌ها است. آب‌مقطر به‌عنوان بلانک و آسکوربیک‌اسید نیز به‌عنوان استاندارد استفاده شد[11].

ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل (TAC): ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل عصاره‌ها طبق روش *ویجایاباسکار* و همکاران تعیین شد. برای تهیه محلول TAC (به‌عنوان معرف) ۷/۴۵میلی‌لیتر سولفوریک‌اسید ۰/۶مولار، ۰/۹۹گرم سولفات‌سدیم و ۱/۲۳گرم آمونیوم‌مولیبدات مخلوط و با آب‌مقطر به حجم ۲۵۰میلی‌لیتر رسانده شد. مقدار ۰/۱میلی‌لیتر از غلظت‌های مختلف عصاره (۲/۵، ۵، ۷/۵، ۱۰میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) با یک‌میلی‌لیتر از محلول TAC مخلوط شد و پس از ورتکس، ۱۵دقیقه در دمای آزمایشگاه (۲۵°C)

Archive of SID
www.SID.ir

قرار گرفتند. جذب نمونه‌ها در طول موج ۶۹۵نانومتر خوانده شد. افزایش جذب نمونه‌ها به‌معنی افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌ها است. آب‌مقطر به‌عنوان بلانک و آسکوربیک‌اسید نیز به‌عنوان استاندارد استفاده شد[21].

تجزیه و تحلیل داده‌ها به‌وسیله آزمون‌های آماری تحلیل واریانس یک‌طرفه و آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵% صورت گرفت. بدین منظور نرم‌افزارهای آماری SPSS 19 و Excel 2013به کار رفتند.

یافته‌ها

عصاره متانولی اسفنج دریایی بیشترین اثر ضدباکتریایی را روی باکتری گرم‌مثبت *باسیلوس سوبتیلیس* نسبت به سایر عصاره‌ها نشان داد. عصاره‌های دی‌اتیل‌اتری و ان-هگزانی اسفنج مورد آزمایش خاصیت ضدباکتریایی متوسطی نشان دادند (جدول ۱). عصاره‌های متانولی و دی‌اتیل‌اتری بیشترین خاصیت ضدباکتریایی را بر باکتری‌های گرم‌مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* و گرم‌منفی *شیگلا فلکسنری* داشتند. عصاره دی‌اتیل‌اتری اثر ضدباکتریایی بیشتری نسبت به سایر عصاره‌های مورد مطالعه بر باکتری گرم‌منفی *سالمونلا تیفی‌موریوم* نشان داد.

عصاره متانولی اسفنج دریایی بر باکتری‌های *اشریشیا کلی* و *سودوموناس آئروجینوزا* اثر ضدباکتریایی بیشتری نسبت به سایر عصاره‌ها داشت.

تمامی عصاره‌های اسفنج دریایی منطقه جزر و مدی در مقایسه با آموکسی‌سیلین اثر بازدارندگی رشد ضعیفی بر باکتری‌های مورد مطالعه داشتند. حداقل غلظت بازدارندگی عصاره‌ها مربوط به عصاره‌های متانولی اسفنج دریایی بر باکتری گرم‌مثبت *باسیلوس سوبتیلیس* بود و به مقدار ۲/۵میلی‌گرم بر میلی‌لیتر مشاهده شد (جدول ۱).

جدول ۱) فعالیت ضدباکتریایی عصاره‌های آلی اسفنجی روی میکروارگانیزم‌های مورد مطالعه

میکروارگانیزم	متانولی		دی‌اتیل‌اتر		ان-هگزان		آمپی‌سیلین*	
	IZ[a]	MIC[b]	IZ	MIC	IZ	MIC	IZ	MIC
باسیلوس سوبتیلیس	۱۹	۲/۵	۱٤	۷/۵	۸/۷	۱۰	۱۹	۱/۵
استافیلوکوکوس اورئوس	۱۳	۵	۱۳	۷/۵	۹	۱۵	۲۲	۰/۷۵
شیگلا فلکسنری	۱۰	۷/۵	۱۰	۱۰	۷/۳	۱۵	۱۹	۱/۵
سالمونلا تیفی‌موریوم	۹	۷/۵	۱۱	۱۰	۱۰	۱۰	۱۹	۰/۵
اشریشیا کلی	۱۰	۱۰	۷/٦	۱۵	۷/۵	+	۱۱	۲/۵
سودوموناس آئروجینوزا	۱۰	+	۸	+	۹	+	۱۰	+

* آنتی‌بیوتیک آمپی‌سیلین با غلظت ۵میلی‌گرم به‌ازای هر دیسک مورد آزمون قرار گرفت؛ [a] قطر هاله عدم رشد شامل قطر دیسک (۶میلی‌متر) بود، عدم فعالیت (-)، فعالیت متوسط (۱۴-۷)، فعالیت بالا (۱۴<)، [b] حداقل غلظت بازدارندگی براساس میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود، + نمونه‌هایی که کدورت در آنها مشاهده شد.

در صورتی که عصاره دی‌اتیل‌اتری اسفنج دریایی بر باکتری گرم‌منفی *اشریشیا کلی* و عصاره ان-هگزانی اسفنج دریایی بر باکتری‌های گرم‌مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* و گرم‌منفی *شیگلا فلکسنری* اثر ضدباکتریایی ضعیف‌تری داشتند و حداقل غلظت بازدارندگی در غلظت ۱۵میلی‌گرم بر میلی‌لیتر مشاهده شد. همچنین، عصاره متانولی اسفنج دریایی بر باکتری‌های گرم‌منفی *اشریشیا کلی* در غلظت ۱۰میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اثر بازدارندگی رشد داشت و در عصاره ان-هگزانی آن فاقد اثر بازدارندگی رشد بود.

در بازه غلظتی ۰/۱ تا ۱/۵میلی‌گرم بر میلی‌لیتر هیچ یک از عصاره‌های مورد بررسی اثر بازدارندگی رشد بر باکتری‌های مورد مطالعه نداشتند.

حداقل غلظت بازدارندگی در هیچ یک از عصاره‌ها، بر رشد باکتری گرم‌منفی *سودوموناس آئروجینوزا* در دامنه غلظتی مورد مطالعه مشاهده نشد (جدول ۱).

حداقل غلظت کشندگی باکتری عصاره متانولی اسفنج دریایی برای باکتری *باسیلوس سوبتیلیس* ۷/۵میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. در مورد باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* هر دو عصاره متانولی و دی‌اتیل‌اتری در غلظت ۱۵میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اثر کشندگی را نشان دادند. در باکتری *سالمونلا تیفی‌موریوم* تنها عصاره متانولی اسفنج دریایی در غلظت ۱۵میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اثر کشندگی از خود نشان داد. عصاره ان-هگزانی اسفنج دریایی در مورد هیچ یک از باکتری‌ها اثر کشندگی نشان نداد. در مقایسه عصاره‌ها با آموکسی‌سیلین به‌عنوان کنترل مثبت، عصاره‌ها اثر کشندگی ضعیف‌تری داشتند (جدول ۲).

جدول ۲) حداقل غلظت کشندگی باکتریایی عصاره‌های اسفنجی

کلونی	میکروارگانیزم	**غلظت عصاره اسفنجی** (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)
۰	*باسیلوس سوبتیلیس*	۷/۵ (متانولی)
۰	*استافیلوکوکوس اورئوس*	۱۵ (متانولی)
>۷	*سالمونلا تیفی‌موریوم*	۱۵ (متانولی)
۰	*باسیلوس سوبتیلیس*	۲۰ (دی‌اتیل‌اتر)
۰	*استافیلوکوکوس اورئوس*	۱۵ (دی‌اتیل‌اتر)
۰	*باسیلوس سوبتیلیس*	۲/۵ (آموکسی‌سیلین)
۰	*استافیلوکوکوس اورئوس*	۵ (آموکسی‌سیلین)
>۷	*سالمونلا تیفی‌موریوم*	۰/۷۵ (آموکسی‌سیلین)
>۷	*اشریشیا کلی*	۵ (آموکسی‌سیلین)

بیشترین میزان قدرت احیاکنندگی در برابر آسکوربیک‌اسید به‌عنوان استاندارد در عصاره دی‌اتیل‌اتری (غلظت ۵میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) مشاهده شد (نمودار ۱). میزان قابل توجهی قدرت احیاکنندگی در غلظت ۱ و ۰/۷۵میلی‌گرم بر میلی‌لیتر آسکوربیک‌اسید و غلظت ۵میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره متانولی اسفنج دریایی مشاهده شد که براساس شاخص‌های آماری نیز تفاوت معنی‌داری بین این غلظت‌ها وجود نداشت. این در حالی است که کمترین میزان قدرت احیاکنندگی در عصاره ان-هگزانی (غلظت ۱/۲۵میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) مشاهده شد.

آسکوربیک‌اسید در غلظت ۰/۲۵میلی‌گرم بر میلی‌لیتر نیز میزان قابل توجهی قدرت احیاکنندگی داشت که در مقایسه با قدرت احیاکنندگی در عصاره ان-هگزانی اسفنج دریایی در غلظت ۱/۲۵میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد.

به‌طور کلی اختلاف معنی‌داری بین عصاره‌های مختلف آلی اسفنج دریایی منطقه جزر و مدی و آسکوربیک‌اسید در غلظت‌های مختلف مشاهده شد ($p\leq 0/05$؛ نمودار ۱).

عصاره دی‌اتیل‌اتری اسفنج دریایی در غلظت ۱۰میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بالاترین میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی را داشت (نمودار ۲).

عصاره ان-هگزانی اسفنج دریایی منطقه جزر و مدی در غلظت ۱۰میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و آسکوربیک‌اسید در غلظت ۵میلی‌گرم بر میلی‌لیتر نیز میزان قابل توجهی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی داشتند.

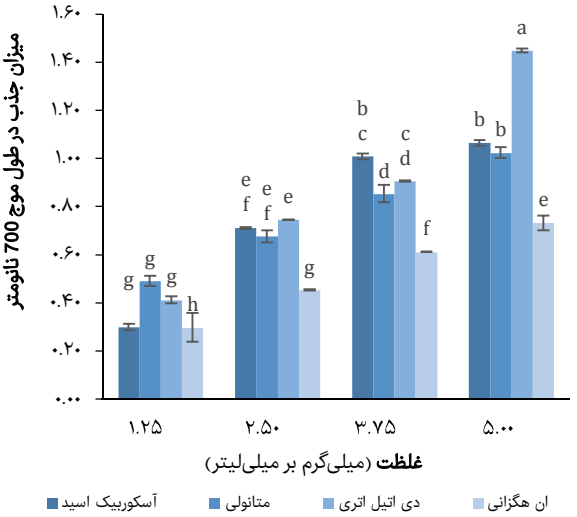
بین عصاره‌های نام‌برده اختلاف معنی‌داری وجود نداشت، همچنین عصاره ان-هگزانی منطقه جزر و مدی در غلظت ۲/۵میلی‌گرم بر میلی‌لیتر پایین‌ترین میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی را نشان داد.

در تمام عصاره‌های آلی غلظت‌های مختلف اسفنج دریایی

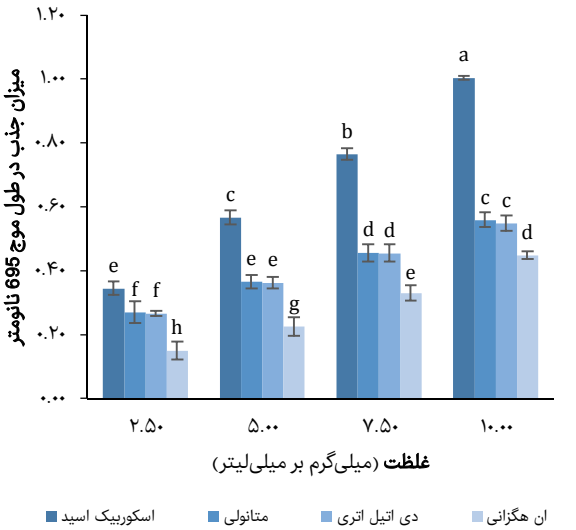
Archive of SID

www.SID.ir

هالیکلونا کارلا تاثیر معنی‌داری مشاهده شد (p≤۰/۰۵؛ نمودار ۲).



نمودار ۱) مقایسه قدرت احیاکنندگی عصاره‌های آلی اسفنج دریایی با آسکوربیک‌اسید به‌عنوان استاندارد در غلظت‌های مختلف (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) غلظت‌های آسکوربیک‌اسید یک به ۵ غلظت عصاره‌های آلی بودند (حروف غیرمشابه بیانگر اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال p≤۰/۰۵ است)



نمودار ۲) مقایسه ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل عصاره‌های آلی اسفنج دریایی با آسکوربیک‌اسید به‌عنوان استاندارد در غلظت‌های مختلف (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) غلظت‌های آسکوربیک‌اسید یک به ۱۰ غلظت عصاره‌های آلی بودند (حروف غیرمشابه بیانگر اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال p≤۰/۰۵ است)

بحث

هدف مطالعه حاضر بررسی برخی خواص زیستی (آنتی‌اکسیدانی و ضدباکتریایی) اسفنج دریایی *هالیکلونا کارلا* بود.

مطالعات متعدد نشان می‌دهند اغلب ترکیبات طبیعی از بی‌مهرگان دریایی استخراج شده‌اند و ساختارهای پپتیدی، آلکالوئیدی، ترپنوئیدی و استروئیدی دارند[2]. همچنین اسفنج‌های دریایی منبع مهمی از استروئیدها، آلکالوئیدها، پپتیدها و اسیدهای چرب اشباع‌نشده هستند که چندین فعالیت متنوع زیستی برای آنها بیان شده است[8].

در بررسی و سنجش اثر ضدباکتریایی در اکثر آزمایشات دو روش انتشار از دیسک و رقیق‌سازی محیط کشت استفاده می‌شود[22] که به‌عنوان دو روش مناسب در این راستا کاربرد دارند. نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره متانولی استخراج‌شده از اسفنج دریایی هالیکلونا کارلا به‌طور موثری در برابر ارگانیزم‌های گرم‌مثبت خاصیت ضدباکتریایی داشت. ارگانیزم‌هایی مانند باکتری *باسیلوس سوبتیلیس* و *استافیلوکوکوس اورئوس* به‌وسیله عصاره‌های قطبی مهار شدند.

در پژوهش دیگری در رابطه با خواص ضدباکتریایی عصاره‌های خشک متانولی اسفنج‌های سواحل موروکان واقع در اقیانوس اطلس با استفاده از روش دیسک روی باکتری *باسیلوس سوبتیلیس* مشخص شد که عصاره‌های خشک متانولی اسفنج‌های *هالیکلونا مدیترینیا* (*Haliclona mediterranea*)، هاپلوس‌کلریدا (Haplosclerida sp9)، *سناچیرلا تارنتین* (*Cinachyrella tarentine*)، *ایرسینیا اوروس* (*Ircinia oros*)، *کلیونا سلاتا* (*Cliona celata*)، آکسینلا پولیپوئیدز (*Axinella polypoides*)، *Haplosclerida sp4*، *Haplosclerida sp3*، هاپلوس‌کلریدا *آدوسیدا* (*Haplosclerida adocia*) و *کلیونا ویریدیس* (*Cliona viridis*) روی باکتری مورد آزمایش اثری ندارند[23].

در یک پژوهش در رابطه با اثر ضدباکتریایی عصاره اتیل‌استاتی اسفنج‌های سواحل تونس با استفاده از روش دیسک مشخص شد که اسفنج‌های اسپونجیا (Spongia spp.)، *هیپوس‌پونجیا کومیونیس* (*Hippospongia communis*) و *ایرسینیا سارکوتراگوس* (*Ircinia sarcotragus*) اثر ضدباکتریایی روی باکتری‌های گرم‌منفی ندارند، اما اسفنج‌های *آجلاس اورویدز* (*Agelas oroides*)، *ایرسینیا اسپینوسولا* (*I. spinosula*)، *آکسینلا دامیکورنیس* (*Axinella damicornis*) و *پتروزینا فیکی‌فورمیس* (*Petrosia ficiformis*) هاله عدم رشد ایجاد کردند[24].

در مطالعه حاضر عصاره متانولی استخراج‌شده از اسفنج دریایی *هالیکلونا کارلا* در غلظت ۱۰میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اثر باکتریواستاتیک روی باکتری *اشریشیا کلی* داشت، اما اثر باکتریوسایدی روی باکتری مذکور نشان نداد. همچنین نتایج آزمایشات این مطالعه نشان داد هیچ کدام از عصاره‌های مورد آزمایش روی باکتری *سودوموناس آئروجینوزا* اثر ضدباکتریایی نداشتند.

گزارشاتی نیز مبنی بر فعالیت ضدباکتریایی اسفنج‌ها در برابر باکتری‌های گرم‌منفی بیان شده است[25]. در پژوهش *دارا* و همکاران روی باکتری *اشریشیا کلی* از عصاره متانولی اسفنج جنس هالیکلونا مشخص شد که عصاره متانولی روی این باکتری اثر ضدباکتریایی نداشت[26]. بررسی اثر ضدباکتریایی عصاره‌های مختلف اسفنج *آیوفون لاویستیلوس* (*Iophon laevistylus*) از جزیره فارور واقع در خلیج فارس که با استفاده از روش MIC روی باکتری *سودوموناس آئروجینوزا* انجام شده بود، نشان داد که هیچ کدام از عصاره‌های مورد آزمایش خواص باکتریواستاتیک و باکتریوسایدی ندارند[17]. نتایج حاصل از مطالعه حاضر با نتایج مطالعات پیشین مطابقت دارد.

پژوهش‌های انجام‌شده در رابطه با اثر ضدباکتریایی عصاره اسفنجی نسبت به باکتری‌های گرم‌منفی مورد نظر در مطالعه حاضر نشان می‌دهد این باکتری‌ها نسبت به عصاره‌های مورد آزمایش بسیار قوی عمل کرده به‌طوری که در موارد اندکی این عصاره‌ها تاثیر ضدباکتریایی نسبت به این باکتری‌ها دارند.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد عصاره متانولی استخراج‌شده از

Archive of SID
www.SID.ir

اسفنج دریایی *هالیکلونا کارلا* روی باکتری‌های گرم‌مثبت *باسیلوس سوبتیلیس* و *استافیلوکوکوس اورئوس* اثر باکتریواستاتیک و عصاره‌های متانولی و دی‌اتیل‌اتری روی این آنها اثر باکتریوسایدی داشتند.

در مطالعه دیگری روی باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* با استفاده از روش براث از عصاره‌های ان-هگزانی و دی‌کلرومتانولی اسفنج دریایی آنادام تایلند، مشخص شد که اسفنج‌های آکسینیسا (Axinyssa *spp.*)، هالیچوندریا (Halichondria spp) و کوندروسیا (Chondrosia spp) روی باکتری مورد آزمایش اثری نداشتند، اما عصاره ان-هگزانی و دی‌کلرومتانولی اسفنج‌ها دارای اثر باکتریواستاتیک بودند[27].

طبق مطالعات در سال‌های اخیر آنتی‌اکسیدان‌ها در درمان بیماری‌های گوناگون مزمن و عفونی استفاده می‌شوند.

مطالعات اپیدمیولوژی و آزمایشگاهی نیز بر تخریب سلولی اکسیداتیو ناشی از یک ناهماهنگی بین سیستم تولید و مهار رادیکال آزاد، به‌عنوان اولین علت بیماری التهاب، ناراحتی‌های قلبی- عروقی، سرطان، پیری و غیره دلالت می‌کنند[28]. ترکیبات شیمیایی موجود در اسفنج‌ها می‌تواند به‌عنوان آنتی‌اکسیدان عمل نماید و از اختلالات ناشی از آسیب‌های اکسیداتیو پیشگیری کند.

یکی از مکانیزم‌هایی که ترکیبات ضداکسیدان از طریق آن اثر خود را اعمال می‌کنند، خاصیت احیاکنندگی است. این ترکیبات با احیاکردن رادیکال‌های آزاد، مانع ایجاد اثرات مخرب آنها می‌شوند. در مطالعه حاضر، از توانایی احیاکنندگی این ترکیبات برای تبدیل آهن سه‌ظرفیتی به آهن دوظرفیتی استفاده شد. تبدیل آهن سه‌ظرفیتی به آهن دوظرفیتی توسط ترکیبات احیاکننده، باعث ایجاد رنگ سبز- آبی می‌شود که این تغییر رنگ مبنای آزمایشات رنگ‌سنجی است. هر چه شدت رنگ بیشتر باشد، فعالیت احیاکنندگی ترکیب بیشتر است. نتایج مطالعات متعددی نشان داد که عصاره‌های مورد آزمایش به‌عنوان عاملی احیاکننده، می‌توانند آهن سه‌ظرفیتی را به آهن دوظرفیتی تبدیل کنند. همچنین، آنها بیان کردند که میزان قدرت احیاکنندگی با افزایش غلظت، رابطه مستقیم دارد. نتایج حاصل از مطالعه حاضر نیز با مطالعات پیشین مطابقت داشت.

براساس نتایج مطالعه حاضر با افزایش غلظت، میزان قدرت احیاکنندگی نیز افزایش می‌یابد. بنابراین، می‌توان قدرت احیاکنندگی را به ترکیبات زیستی شرکت‌کننده با خاصیت ضداکسیدانی نسبت داد[29].

مطالعات متعددی مبنی بر وجود ترکیبات فعال زیستی قوی در اسفنج‌های دریایی به سبب دارابودن پتانسیل دارویی انجام شده است. نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان داد که عصاره‌های قطبی و نیمه‌قطبی اسفنج دریایی *هالیکلونا کارلا* نسبت به عصاره‌های غیرقطبی اثر ضدباکتری و آنتی‌اکسیدانی قوی‌تری دارند، می‌توان نتیجه گرفت ترکیبات ضدباکتری و آنتی‌اکسیدانی این اسفنج در عصاره‌های قطبی و نیمه‌قطبی قابلیت انحلال بیشتری دارند به‌طوری که عصاره متانولی خاصیت ضدباکتری بیشتر و عصاره دی‌اتیل‌اتری خاصیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری از خود نشان دادند. با توجه به نتایج حاصل‌شده پیشنهاد می‌شود ضمن تخلیص ترکیبات، شناسایی و تعیین نقش اختصاصی هر یک از آنها، برای ساخت ترکیبات دارویی و پزشکی انجام شود. در نتیجه می‌توان اسفنج دریایی *هالیکلونا کارلا* را به‌عنوان یک منبع بالقوه از ترکیبات فعال زیستی طبیعی با فعالیت ضدباکتریایی و آنتی‌اکسیدانی معرفی کرد.

از جمله محدودیت‌های پژوهش حاضر در دسترس‌نبودن همیشگی نمونه‌های جزومدی اسفج دریایی *هالیکلونا کارلا* درفصول خاص به‌علت شرایط جوی حاکم در جنوب کشور بود. پیشنهاد می‌شود با توجه به مقاومت دارویی در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها و نیاز روزافزون بشر به داروها، پژوهش‌هایی پیرامون آنالیز شیمیایی و شناسایی ترکیب یا ترکیبات موثر در خصوص فعالیت‌های ضدباکتریایی، آنتی‌اکسیدانی و تعیین نقش اختصاصی هر یک از آنها برای ساخت ترکیبات دارویی و پزشکی انجام شود.

نتیجه‌گیری

عصاره متانولی اسفنج دریایی *هالیکلونا کارلا* خاصیت ضدباکتری بیشتری را نشان می‌دهد و عصاره دی‌اتیل‌اتری این اسفنج خاصیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری دارد.

تشکر و قدردانی: از مسئولان محترم دانشگاه هرمزگان که ضمن حمایت مالی، محیط و امکانات پژوهشی مناسب را برای پژوهش حاضر فراهم کردند و نیز از تمامی همکارانی که در انجام عملیات میدانی و آزمایشگاهی مشارکت داشتند، سپاس‌گزاری و تقدیر می‌شود.

تاییدیه اخلاقی: موردی از سوی نویسندگان گزارش نشد.

تعارض منافع: نویسندگان اعلام می‌دارند هیچ‌گونه تعارض منافعی میان آنها وجود ندارد.

سهم نویسندگان: مریم کریم‌پور (نویسنده اول)، نگارنده مقدمه/پژوهشگر اصلی/نگارنده بحث (۲۵%)؛ احسان کامرانی (نویسنده دوم)، روش‌شناس (۲۵%)؛ مرتضی یوسف‌زادی (نویسنده سوم)، تحلیلگر آماری (۲۵%)؛ ملیکا ناظمی (نویسنده چهارم)، پژوهشگر کمکی (۲۵%)

منابع مالی: پژوهش حاضر تحت حمایت مالی دانشگاه هرمزگان بوده است.

منابع

1- De Vrites DJ, Hall MR. Marine biodiversity as a source of chemical diversity. Drug Dev Res. 1994;33(2):161-73.

2- Datta D, Nath Talapatra S, Swarnakar S. Bioactive compounds from marine invertebrates for potential medicines - an overview. Int Lett Nat Sci. 2015;34:42-61.

3- Villa FA, Gernwick L. Marine natural product drug discovery: Leads for treatment of inflammation, cancer, infections and neurological disorders. Immunopharmacol Immunotoxicol. 2010;32(2):228-37.

4- Majik MS, Shirodkar D, Rodrigues C, D'Souza L, Tilvi S. Evaluation of single and joint effect of metabolites isolated from marine sponges, Fasciospongia cavernosa and Axinella donnani on antimicrobial properties. Bioorg Med Chem Lett. 2014;24(13):2863-6.

5- Blunt JW, Copp BR, Keyzers RA, Munro MH, Prinsep MR. Marine natural products. Nat Prod Rep. 2016;33(3):382-431.

6- Salomon CE, Magarvey NA, Sherman DH. Merging the potential of microbial genetics with biological and chemical diversity: An even brighter future for marine natural product drug discovery. Nat Prod Rep. 2004;21(1):105-21.

7- Qaralleh H, Idid S, Saad S, Susanti D, Taher M, Khleifat K. Antifungal and antibacterial activities of four Malaysian sponge species (Petrosiidae). Journal de Mycologie Médicale. 2010;20(4):315-20. [French]

Archive of SID

www.SID.ir

Gulf. J Mycol Med. 2013;23(4):225-9.
19- Yousefzadi M, Riahi-Madvar A, Hadian J, Rezaee F, Rafiee R, Biniaz M. Toxicity of essential oil of Satureja khuzistanica: In vitro cytotoxicity and anti-microbial activity. J Immunotoxicol. 2014;11(1):50-5.
20- Rosenblatt JE. Laboratory tests used to guide antimicrobial therapy. Mayo Clin Proc. 1991;66(9):942-8.
21- Vijayabaskar P, Vaseela N, Thirumaran G. Potential antibacterial and antioxidant properties of a sulfated polysaccharide from the brown marine algae Sargassum swartzii. Chin J Nat Med. 2012;10(6):421-8.
22- Haug T, kjuul AK, Styrvold OB, Sandsdalen E, Olsen ØM, Stensvåg K. Antibacterial activity in Strongylocentrotus droebachiensis (Echinoidea), Cucumaria frondosa (Holothuroidea), and Asterias rubens (Asteroidea). J Invertebr Pathol. 2002;81(2):94-102.
23- El-Amraoui B, Biard JF, Uriz MJ, Rifai S, Fassouane A. Antifungal and antibacterial activity of Porifera extracts from the Moroccan Atlantic coasts. Journal de Mycologie Médicale. 2010;20(1):70- 4. [French]
24- Touati I, Chaieb K, Bakhrouf A, Gaddour K. Screening of antimicrobial activity of marine sponge extracts collected from Tunisian coast. Journal de Mycologie Médicale. 2007;17(3):183-7. [French]
25- Tadesse M, Gulliksen B, Strøm MB, Styrvold OB, Haug T. Screening for antibacterial and antifungal activities in marine benthic invertebrates from northern Norway. J Invertebr Pathol. 2008;99(3):286-93.
26- Darah I, Lim CL, Nurul Aili Z, Nor Afifah S, Shaida Fariza S. Effects of methanolic extract of a soft sponge, Haliclona sp. on bacterial cells: Structural degeneration study. Int J Compr Pharm. 2011;7(3):1-6.
27- Pedpradab P, Molex W, Nukoolkarn V, Darumas D. Biological activites of extracts from Anadam Sea sponges, Thailand. EurAsian J Biosci. 2010;4:63-9.
28- Thakur R, Yadav K, Khadka KB. Study of antioxidant, antibacterial and anti-inflammatory activity of cinnamon (Cinamomum tamala), ginger (Zingiber officinale) and turmeric (Curcuma longa). Am J Life Sci. 2013;1(6):273-7.
29- Ghorbel-Bellaaj O, Younes I, Maâlej H, Hajji S, Nasri M. Chitin extraction from shrimp shell waste using Bacillus bacteria. Int J Biol Macromol. 2012;51(5):1196-201.
8- Gupta J, Misra S, Mishra SK, Srivastava S, Srivastava MN, Lakshmi V, et al. Antifilarial activity of marine sponge Haliclona oculata against experimental Brugia malayi infection. Exp Parasitol. 2012;130(4):449-55.
9- Ferreira ICFR, Baptista P, Vilas-Boas M, Barros L. Free-radical scavenging capacity and reducing power of wild edible mushrooms from northeast Portugal: Individual cap and stipe activity. Food Chem. 2007;100(4):1511-6.
10- Zou Y, Lu Y, Wei D. Antioxidant activity of a flavonoid-rich extract of Hypericum perforatum L. in vitro. J Agric Food Chem. 2004;52(16):5032-9.
11- Duan XJ, Zhang WW, Li XM, Wang BG. Evaluation of antioxidant property of extract and fractions obtained from a red alga, Polysiphonia urceolata. Food Chem. 2006;95(1):37-43.
12- Fu L, Xu BT, Xu XR, Gan RY, Zhang Y, Xia EQ, et al. Antioxidant capacities and total phenolic contents of 62 fruits. Food Chem. 2011;129(2):345-50.
13- Wu SJ, Ng LT. Antioxidant and free radical scavenging activities of wild bitter melon (Momordica charantia Linn. var. abbreviata Ser.) in Taiwan. LWT Food Sci Technol. 2008;41(2):323-30.
14- Shankarlal S, Prabu K, Natarajan E. Antimicrobial and antioxidant activity of purple Sea urchin shell (Salmacis virgulata L. Agassiz and Desor 1846). Am Eurasian J Sci Res. 2011;6(3):178-81.
15- Ratnam DV, Ankola DD, Bhardwaj V, Sahana DK, Kumar MN. Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective. J Control Release. 2006;113(3):189-207.
16- Zhou D, Qin L, Zhu B, Li D, Yang J, Dong X, et al. Optimisation of hydrolysis of purple sea urchin (Strongylocentrotus nudus) gonad by response surface methodology and evaluation of in vitro antioxidant activity of the hydrolysate. J Sci Food Agric. 2012;92(8):1694-701.
17- Nazemi M, Khoshkhoo Z, Motalebi AA, Karimi Firozjaee H, Pishevarzad F. Identification nonpolar component and antibacterial activities of Iophon laevistylus from Persian Gulf. Int J Environ Sci Dev. 2010;1(2):107-10.
18- Mohammadizadeh F, Ehsanpor M, Afkhami M, Mokhlesi A, Khazaali A, Montazeri S. Evalution of antibacterial, antifungal and cytotoxic effects of Holothuria scabra from the North Coast of the Persian

Archive of SID

www.SID.ir