

СУСТАНІ Б.С.¹ (<https://orcid.org/0000-0001-8355-3257>)

ЗАРЕЇ ДАРКІ Б.^{2*} (<https://orcid.org/0000-0003-4308-8367>)

ЮСЕФЗАДІ М.³ (<https://orcid.org/0000-0002-2256-8073>)

РАНЖДБАР М.Ш.¹ (<https://orcid.org/0000-0002-1093-2392>)

¹ Хормозганський університет, факультет морських наук і технологій, каф. морської біології, Км 9 Минаб Роуд, Бандар-Аббас 79161-93145, Іран

² Університет Тарбіат Модарес, факультет морських наук, каф. морської біології, Мазандаран, Нур 46414-356, Іран

³ Університет Кума, факультет природничих наук, каф. біології, Альгадір бульвар, Кум 37161-46611, Іран

*Адреса для листування: zareidarki@modares.ac.ir

АНТИОКСИДАНТНА АКТИВНІСТЬ ЕНДОСІМБІОТИЧНОЇ ДИНОФЛАГЕЛЯТИ *SYMBIODINIUM* SP., ЯКА МЕШКАЄ В М'ЯКОМУ КОРАЛІ *STICHODACTYLA HADDONI* SAVILLE-KENT

Реферат. Морські динофлагеляти широко використовуються в таких галузях, як біомедицина, токсикологія та екологія. Дане дослідження присвячене визначенню антиоксидантних властивостей *Symbiodinium* sp., виділеної з м'якого корала *Stichodactyla haddoni*, зібраного в Перській та Оманській затоках у 2018–2019 рр., очищеного та культивованого також *in vitro*. Антиоксидантну активність визначали двома шляхами — з використанням методу видалення радикалів DPPH і методу антиоксидантної здатності відновлювати залізо (FRAP). Найвища антиоксидантна активність методом DPPH була отримана в метанольному екстракті *Symbiodinium* sp. із зимової проби, відібраної в затоці Чабахар із використанням 135,778 мкг · мл⁻¹ IC50. При застосуванні методу FRAP встановлено, що максимальна активність антиоксиданту в метанольному екстракті становить 0,3 мкг · мл⁻¹ при концентрації 2 мг · мл⁻¹ в тій же пробі. Аналіз кластерної теплової карти показав, що антиоксидантна активність у метанольному екстракті *Symbiodinium* sp. тісно пов'язана з фізико-хімічними факторами — температурою та

Надійшла до редакції 18.03.2024. Після доопрацювання 18.11.2024. Підписана до друку 19.12.2024.

Опублікована 20.03.2025

Ц и т у в а н н я . Сустані Б.С., Зареї Даркі Б., Юсефзаді М., Ранждбар М.Ш. 2025. Антиоксидантна активність ендосимбіотичної динофлагеляти *Symbiodinium* sp., яка мешкає у м'якому коралі *Stichodactyla haddoni* Saville-Kent. *Альгологія*. 35(1): 15–29. <https://doi.org/10.15407/alg35.01.015>

This is open access article under the CC BY license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>)

солоністю. Роль антиоксидантів і типи ROS, які переважно нейтралізуються перидиніном та діатоксантином, мають бути вивчені ретельніше. Рекомендуємо використовувати метод спектроскопії електронного спінового резонансу (ЕПР) для визначення антиоксидантних властивостей водоростей, що містять ці пігменти.

Ключові слова: зооксанти, симбіонт, культура, антиоксидант, Індійський океан

Вступ

М'який корал (актинія) *Stichodactyla haddoni* Saville-Kent (*Cnidaria*, *Anthozoa*, *Actiniaria*, *Stichodactylidae*) широко відомий як актинія килимова, розповсюджений у тропічних та субтропічних водах і зустрічається в мулистих або на піщаних ділянках прибережних та припливно-відливних зон. В Індо-Тихоокеанському регіоні *S. haddoni* зазвичай мешкає в припливній зоні (Pandolfi et al., 2003; Krueger et al., 2014). Стан коралів залежить від симбіотичних і фотосинтезуючих динофлагелят. Це, як правило, *Symbiodinium* sp. (Muscatine et al., 1977; Davy et al., 2012). Ендосимбіотичні динофлагеляти мешкають у травній порожнині кнідарій (Wakefield, Kempf, 2001). Заль і Маклафлін вперше опублікували метод виділення та культивування симбіотичних динофлагелят. Вони започаткували метаболічні дослідження вказаної групи (Zahl, McLaughlin, 1957). Згодом були проведені експерименти, які показали, що в порівнянні з вільноживучим *Symbiodinium* sp., який виробляє обмежену кількість гліколевої кислоти, ендосимбіотичні форми продукують відносно велику кількість розчинних вуглеводів (Muscatine, 1967; Gordon and Leggat, 2010). Більш того, види роду *Symbiodinium* Gert Hansen et Daugbjerg виробляють розчинні продукти фотосинтезу та ряд продуктів метаболізму від цукрів та амінокислот до складних ефірів, спиртів та ліпідів, які використовуються їхнім господарем-коралом (Gordon, Leggat, 2010). Одночасно господар істотно впливає на тип і кількість метаболітів, що продукуються в клітинах динофлагелят (Trench, 1971a, b, c).

Показано, що кілька абіотичних факторів, таких як УФ-випромінювання, солоність та температура, впливають на зростання та виживання симбіозів водоростей і кнідарій. Екологічні стреси навколишнього середовища, а також різноманітні метаболічні шляхи призводять до вироблення активних форм кисню (АФК) у глобїонті (Rodriguez, Redman, 2005; Roberty et al., 2015; Roberty et al., 2016). Якщо АФК не реформуються, клітини *Symbiodinium* sp. руйнуються або витісняються з тканин господаря внаслідок окислювального стресу (Weis, 2008; Lesser, 2011). У деяких видів *Symbiodiniaceae* пластичність фото-

синтетичного ланцюга перенесення електронів разом із синергічним поєднанням антиоксидантів (антиоксидантна мережа) може сприяти терmostійкості господаря (Dang et al., 2019).

Система антиоксидантного захисту *Symbiodinium* sp. відіграє ключову роль як у індукції, так і в стійкості коралів до знебарвлення. Однак досі отримано лише обмежену інформацію про антиоксидантний потенціал *Symbiodinium* sp. (Krueger et al., 2014; Roberty et al., 2016). Крім того, через складності культивування ендосимбіотичних динофлагелят їхні анти-оксидантні властивості вивчені недостатньо. Важливість вивчення симбіотичних водоростей є незаперечною, але є обмаль інформації про вторинні сполуки й екологічне та медичне застосування *Symbiodinium* sp.

Тому метою даної роботи є оцінка антиоксидантної активності та впливу сезонних коливань і фізико-хімічних факторів на визначення антиоксидантних властивостей *Symbiodinium* sp., виділеного з м'якого корала *Stichodactyla haddoni*, зібраного в Перській та Оманській затоках і культивованого *in vitro*.

Матеріали та методи

Збір S. haddoni. Зразки дорослих особин *S. haddoni* були відібрані в трьох пунктах Перської (о. Кешм, Дукухак; о. Ормуз) та Оманській заток (затока Чабахар) (рис. 1). Проби відбирали в літню (липень та серпень) та зимову (грудень, лютий) пори року (2018–2019 рр.). За допомогою азотних капсул зразки актиній було доставлено до лабораторії Університету Хормозган. Для кожної точки відбору проб вимірювали фізико-хімічні параметри якості води, такі як температура, провідність, рН і DO за допомогою портативного мультиметра, модель HQ 40 d (виробник Hach Lange, Німеччина). Щоденні дані про швидкість вітру отримували від Метеорологічної організації Ірану (IRIMO) (www.irimo.ir).

Виділення та культивування Symbiodinium. Спочатку частину ротової пластинки морського корала відокремлювали за допомогою скальпеля, потім отримані тканини морської анемони піддавали ручній гомогенізації за допомогою PhilA. Thomson, US № 14860 в 45 мл води. Далі гомогенний розчин переносили в центрифугу з пробіркою об'ємом 15 мл і центрифугували протягом 10 хв при 5000 об. Після додавання холодної фільтрованої солоної води зразки піддавали вихровим потокам у мікроцентрифузі моделі MFP-3500. Процес повторювали, поки весь жир і тканина анемони не були вимиті та відокремлені від клітин *Symbiodinium*. У чашці Петрі зразки сушили з використанням сублімаційної сушарки

FDU-7012. Потім клітини динофлагелят поміщали в антибіотик і охолоджували при 4 °С протягом 24 год (Laskey, 1970; Polne-Fuller, 1991).

Symbiodinium sp. культивували на середовищі ASP12 (Iwasaki, 1961). Зразки зберігали в рідкому живильному середовищі при температурі 27 ± 1 °С і світловому періоді 14 год для досягнення бажаної фази.

Для оцінки антиоксидантної активності екстракт *Symbiodinium*, що складався з 1 г ліофілізованого зразка водорості, змішували зі 100 мл метанолу. Отримані екстракти до аналізу зберігали при температурі -20 °С.

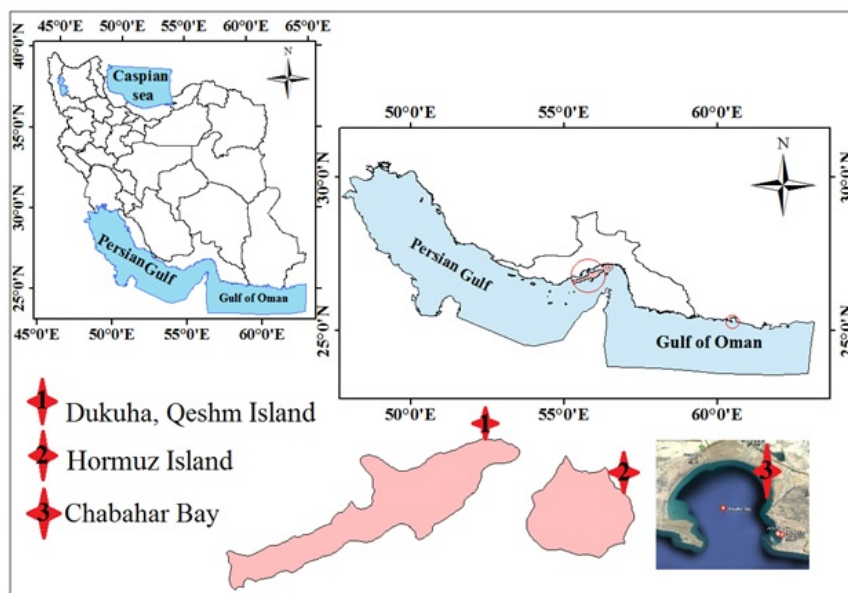


Рис. 1. Розташування пунктів відбору проб уздовж Перської та Оманської заток, Іран (виконано за допомогою ArcGIS версії 0.2)

Методи визначення антиоксидантної активності

Метод зв'язування вільних радикалів DPPH. Широко використовується для оцінки антиоксидантної активності та видалення вільних радикалів DPPH (Gulcin, 2020). Поглинач вільних радикалів DPPH є стабільним вільним радикалом і неспареним електроном. Максимальний захват стабільного радикала DPPH у метанолі відбувається на довжині хвилі 517 нм. Після відновлення реакційна суміш змінює колір з фіолетового на жовтий (Ganesan et al., 2011; Jacob-Lopes et al., 2020). Антиоксидантний потенціал *Symbiodinium* sp. (відсоток інгібування)

розраховували для кожного зразка за наступним рівнянням (Widowati et al., 2017):

$$\text{Эффект (\%)} = \left(\frac{AC - AS}{AC} \right) \times 100 ,$$

де AC — абсорбція контрольної реакції (містить усі реагенти, окрім досліджуваного зразка); AS — абсорбція досліджуваної фракції.

Потім розраховували напівінгібуючу концентрацію IC50 екстрактів *Symbiodinium* sp. за допомогою пробіт-аналізу (Probit Analysis). Чим нижче було значення IC50, тим вище виявилася антиоксидантна активність екстракту *Symbiodinium* sp. В якості стандарту використовували бутильований гідроксіанізол (БНА), оскільки він є одним з найсильніших антиоксидантів. Екстракт симбіодиніуму відбирали в різних концентраціях (40, 80, 140, 240 і 400 мкг · мл⁻¹). Здійснювали чотири повтори для кожної обробки тестованої концентрації і ще чотири — для контролю. Абсорбцію отриманої суміші вимірювали при 517 нм за допомогою спектрофотометра ELISA (Epoch2, виробництво США).

Аналіз здатності відновлювати залізо (FRAP). Відтворення іонів заліза Fe³⁺ до іонів заліза Fe²⁺ є основою даного аналізу. Збільшення адсорбції вказувало на більш високу відновну здатність. В якості холостого реагенту використовували деіонізовану воду, в якості стандарту — аскорбінову кислоту. Екстракти *Symbiodinium* у різних концентраціях (0,063, 0,125, 0,25, 0,5, 1 і 2 мг · мл⁻¹) використовували для оцінки антиоксидантної активності в аналізі FRAP. Поглинання вимірювали при 700 нм за допомогою спектрофотометра Cecil BioQuest CE 2501 (Великобританія) (Oyaizu, 1986).

Статистичний аналіз. Для статистичного аналізу та підготовки рисунків застосовували SAS версії 9.4 і програмне забезпечення MSEXcel версії 2019. Аналіз теплової карти проводили за допомогою веб-інструменту з використанням <https://biit.cs.ut.ee/clustvis>.

Результати

Фізико-хімічні характеристики води Персидської та Оманської заток у досліджуваних сезонах представлені в таблиці. У затоці Чабахар спостерігалися незначні коливання температури води, солоності та pH під час відбору проб у літній та зимовий сезони.

Антиоксидантна активність, розрахована методом DPPH для всіх досліджуваних концентрацій екстрактів *Symbiodinium* sp., виділених і очищених з актинії, а також екстракту, отриманого з культурального

середовища, представлена на рис. 2. Найвище значення поглинання спостерігали в літньому зразку з о. Кешм — $0,24 \pm 0,04$ мкг · мл⁻¹, найнижче — в екстракті *Symbiodinium* літніх зразків із затоки Чабахар, які були культивовані in vitro ($0,06$ мкг · мл⁻¹ $\pm 0,01$ у кожному випадку).

Таблиця. Середнє значення і стандартне відхилення фізико-хімічних параметрів, виміряних у Персидській та Оманській затоках і в культуральному середовищі *Symbiodinium* sp. in vitro

PhP	SH, $x \pm SD$	WH, $x \pm SD$	SQ, $x \pm SD$	WQ, $x \pm SD$	SCHC & SCHW, $x \pm SD$	WCH± SD	Культура in vitro
DO, мгл ⁻¹	6.90± 0.10	8.24± 0.01	7.39± 0.01	9.91± 0.01	6.95± 0.01	12.90±0 .10	9.23± 0.02
pH	8.44± 0.01	7.96± 0.01	8.35± 0.01	8.20± 0.10	8.25± 0.01	8.41± 0.01	8.81± 0.11
Сольоність	40.71± 0.01	38.40± 0.10	39.40± 0.10	39.60± 0.10	39.70± 0.10	39.10± 0.10	38.63± 0.05
t , °C	34.90± 0.02	22.10± 0.10	33.03± 0.60	20.60± 0.10	24.60± 0.10	25.50± 0.10	26.66± 0.06
% O	93.00± 1.00	93.33± 0.57	109.30± 0.10	107.90 ±0.10	38.60± 0.10	158.20± 0.10	102.53± 0.05

Позначення: PhP — фізико-хімічні параметри; t — температура води; SH — літня проба з о. Ормуз; WH — зимовий зразок з о. Ормуз; SQ — літня проба з о. Кешм; WQ — зимова проба з о. Кешм; SCHC — літній зразок із затоки Чабахар; SCHW — знебарвлений літній зразок із затоки Чабахар; WCH — зимова проба із затоки Чабахар.

Згідно з розрахованими даними IC50 з використанням пробіт-аналізу, серед екстрактів найбільша антиоксидантна активність (найменше значення IC50 $135,78$ мкг · мл⁻¹) виявлена в зимовому екстракті *Symbiodinium*, зібраному зі зразків у затоці Чабахар. Найменшу антиоксидантну активність, що відповідає найбільшому значенню IC50, мали екстракти *Symbiodinium*, зібрані зі зразків у затоці Чабахар влітку та культивовані in vitro ($174,41$ та $175,69$ мкг · мл⁻¹ відповідно).

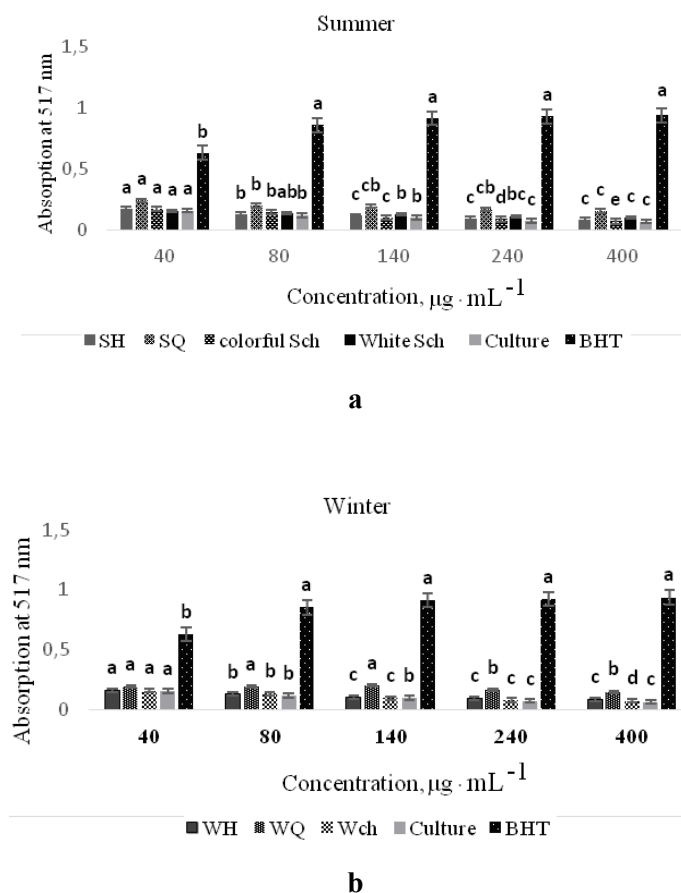
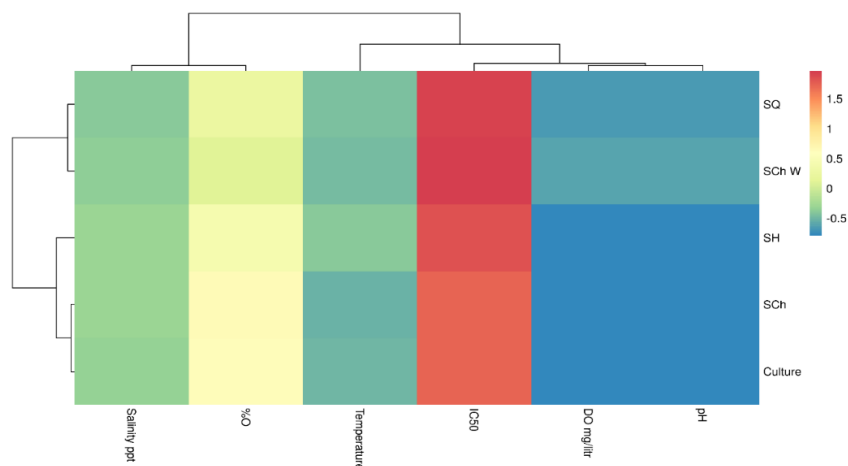


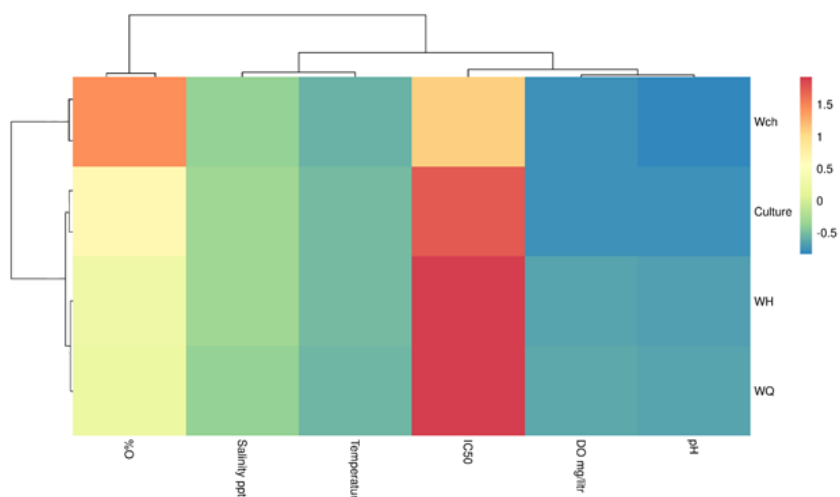
Рис 2. Антиоксидантна активність, розрахована методом DPPH для досліджуваних концентрацій екстрактів, отриманих із літніх (a) і зимових (b) зразків. Малі літери вказують на значні відмінності між обробками на основі тесту Дункана ($p < 0,05$): SH — літня проба з о. Ормуз; WH — зимовий зразок з о. Ормуз; SQ — літня проба з о. Кешм; WQ — зимова проба з о. Кешм; Schcolorful — літній зразок із затоки Чабахар; SchcoloreWhite — знебарвлений літній зразок із затоки Чабахар; Wch — зимова проба із затоки Чабахар; Culture — очищені та культивовані клітини *Symbiodinium* sp. in vitro; BHT — стандарт бутилгідрокситолуолу

Теплова карта — це матриця даних, яка використовує колірний градієнт для візуалізації значень в осередках і дає чіткий опис найбільших і найменших значень матриці. Її використовували для відображення кореляції Пірсона між антиоксидантною активністю екстрактів та фізичними й хімічними факторами. Найвищу кореляцію Пірсона, найвищий IC50 і найнижче інгібування DPPH виявлено в метанольних екстрактах *Symbiodinium*, отриманих з літньої проби м'якого корала, зібраної на о. Кешм та знебарвленого літнього зразка, зібраного в порту

Чабахар (рис. 3). Пофарбовані літні зразки із затоки Чабахар та *Symbiodinium* sp., очищений та культивований *in vitro*, показали найнижчу IC50 та найвище інгібування радикалів DPPH.



a



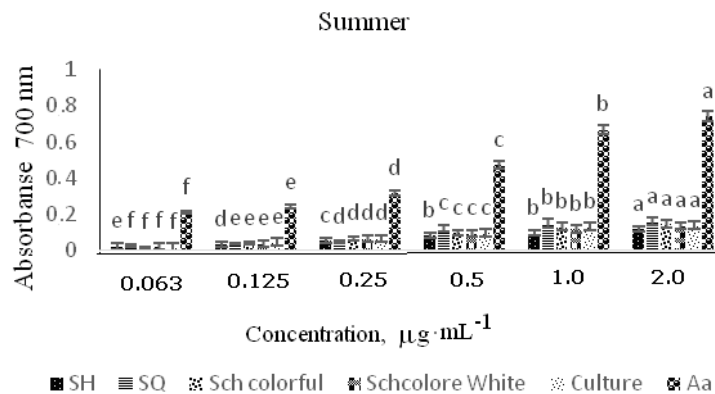
b

Рис. 3. Теплова карта відображає значення IC50, інгібування радикалів DPPH і кореляцію Пірсона між антиоксидантною активністю екстрактів, отриманих з літніх (a) та зимових (b) зразків і розрахованою методом DPPH, та фізичними й хімічними факторами. Темно-червоний колір означає високу кореляцію ($r \rightarrow 1$), темно-синій — негативну ($r \rightarrow -1$), жовто-зелений — відсутність кореляції ($r \cong 0$)

Усі зразки демонстрували зворотну кореляцію із солоністю та температурою, а позитивна кореляція спостерігалася з параметром O%; показники pH та DO мали слабку негативну кореляцію. Крім того, метанольний екстракт *Symbiodinium* зимового зразка з порту Чабахар утворив окремий кластер (див. рис. 3). Зимовий зразок з порту Чабахар та *Symbiodinium* sp., очищений та культивований in vitro, показали найнижчу IC50 та найвище інгібування радикалів DPPH.

Метанольні екстракти зимового зразка із затоки Чабахар та екстракт культурального середовища показали найвищу позитивну кореляцію з киснем та негативну кореляцію з температурою. Екстракти зимової та літньої проб, зібрані в затоці Чабахар, показали найбільше пригнічення радикалу DPPH. Метанольний екстракт *Symbiodinium* зимового зразка із затоки Чабахар мав низьку величину кореляції з відсотковим вмістом розчиненого кисню та солоністю, а також негативну кореляцію з температурою. Жодної кореляції між pH, DO та IC50 не виявлено (рис. 3).

Серед стрічкових екстрактів зразки з о. Кешм ($0,16 \pm 0,01 \text{ мг} \cdot \text{мл}^{-1}$) у концентрації $2 \text{ мг} \cdot \text{мл}^{-1}$ продемонстрували високу антиоксидантну активність в аналізі FRAP порівняно зі стандартом (аскорбінова кислота). Літній зразок із затоки Чабахар виявив найменшу антиоксидантну активність ($0,01 \pm 0,01 \text{ мг} \cdot \text{мл}^{-1}$) у концентрації $0,06 \text{ мг} \cdot \text{мл}^{-1}$ (рис. 4). Загалом найвища антиоксидантна активність в аналізі FRAP спостерігалася в зимовому зразку, зібраному в затоці Чабахар, — $0,3 \pm 0,01 \text{ мг} \cdot \text{мл}^{-1}$ за концентрації $2 \text{ мг} \cdot \text{мл}^{-1}$.



a

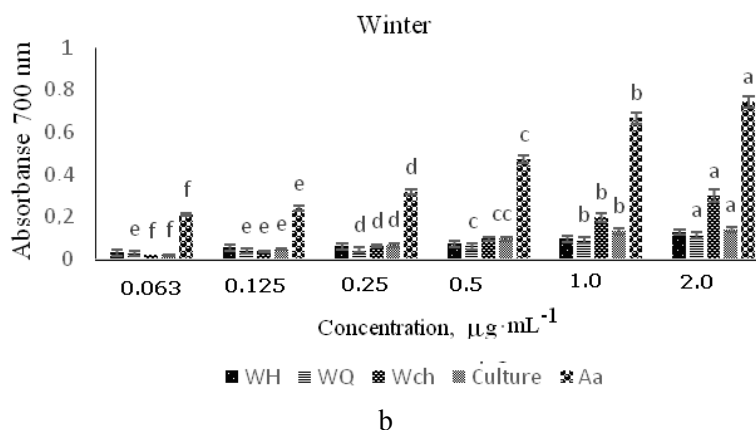


Рис. 4. Антиоксидантна активність, розрахована методом FRAP для досліджуваних концентрацій екстрактів, отриманих з літніх (a) та зимових (b) зразків. Малі літери вказують на значну різницю зразків згідно з тестом Дункана ($p < 0,05$): SH — літня проба з о. Ормуз; WH — зимовий зразок з о. Ормуз; SQ — літня проба з о. Кешм; WQ — зимова проба з о. Кешм; Schcolorful — літній зразок із затоки Чабакхар; SchcoloreWhite — знебарвлений літній зразок із затоки Чабакхар; Wch — зимова проба із затоки Чабакхар; Culture — очищені та культивовані клітини *Symbiodinium* sp. in vitro; Aa — аскорбінова кислота

Обговорення

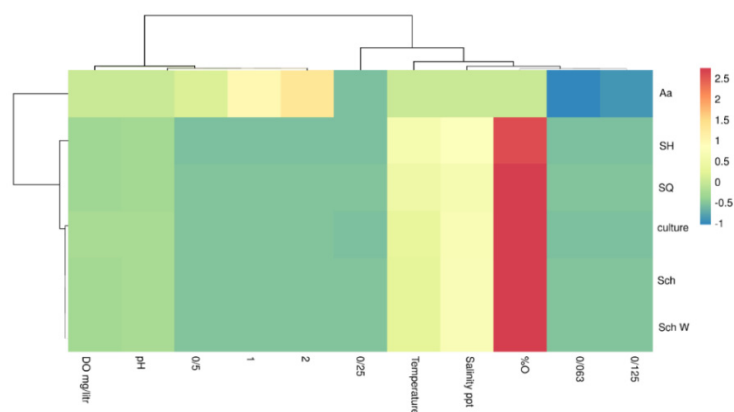
Види роду *Symbiodinium* є багатими джерелами різних пігментів, таких як β -каротин, перидинін, діатоксантин, діадіноксантин, хлорофіли *a* та *c* (Oyaizu, 1986). Перидинін — один з найважливіших каротиноїдів, що має виражену антиоксидантну активність, інгібує пухлиноутворення в організмі та є протираковим агентом (Olppand, Brückner, 2006; Ishikawa et al., 2016). Здатність каротиноїдів індукувати зв'язок між клітинами через щільні сполуки також була описана як потенційна основа їхньої захисної дії проти вільних радикалів та імуномодуючої активності (Olson, 1999). Флавоноїди, вітаміни та каротиноїди, особливо перидинін, як неферментативні антиоксиданти, водо- та жиророзчинні антиоксиданти, беруть участь в інгібуванні вільних радикалів (Hamanaka, Chandel, 2009).

Отримані результати визначення антиоксидантної активності методами DPPH і FRAP мали низьку антиоксидантну активність досліджуваного ендосимбіотичного виду *Symbiodinium* sp., виділеного з м'якого корала *S. haddoni* (рис. 2 та 4). Можливо, спостережувані спектри перекривалися зі світлопоглинаючими сполуками, такими як каротиноїди, у *Symbiodinium* екстрактів. Через спектральне перекриття між розчином DPPH та деякими сполуками з довжинами хвиль, близькими до 500 нм,

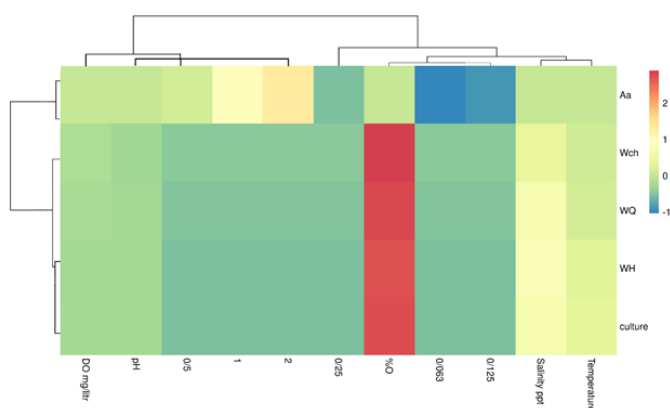
такими як антоціани та деякі каротиноїди, метод DPPH не може бути використаний (Jacob-Lopes et al., 2020). Поведінку поглинання вільних радикалів можна відстежувати за допомогою спектроскопічних вимірювань ESR, оскільки це не впливає на колір екстрактів, виготовлених із різних органічних розчинників (Sha et al., 2016). На жаль, цей метод не використовувався в даному дослідженні. Важливо відзначити, що антиоксидантна здатність клітин *Symbiodinium* залежить не тільки від активності супероксиддисмутази (СОД) та каротиноїдів і що рід *Symbiodinium* може мати широкий спектр інших антиоксидантних молекул і антиоксидантних ферментів у різних концентраціях (Krueger et al., 2014; Roberty et al., 2016). Зміна якості та кількості продукції вільних радикалів та її вплив на види *Symbiodinium* показали, що у продукції антиоксидантів беруть участь різні стресові механізми (Roberty et al., 2016). Тому це питання необхідно вивчити більш детально.

Кластерний аналіз теплових карт (рис. 3 та 5) показав, що антиоксидантна активність у метанольному екстракті *Symbiodinium* sp. сильно корелює з фізико-хімічними факторами (температурою та солоністю), вимірними під час збору проб (див. таблицю). Дані про вплив факторів навколишнього середовища на антиоксидантну активність, надані Roberty та ін. (2016), показали, що види *Symbiodinium* клади помірного поясу були більш стійкими до окислювального стресу, ніж тропічна клада *S. kawagutii*. Ці зміни, ймовірно, є результатом адаптації до їхнього природного клімату. При цьому організми помірного поясу зазнають набагато складніших та екстремальніших умов температури та освітленості (Roberty et al., 2016).

Узагальнення про функціональні ознаки між видами або підвидами *Symbiodinium* слід робити обережно, а відмінності, що спостерігаються в цьому дослідженні, ймовірно, пов'язані з природним середовищем, в якому вони ростуть у різних географічних районах (Wietheger et al., 2015). Звісно, культивовані зразки не завжди відображають вплив навколишнього середовища. Діатоксантин і перидинін також можуть мати антиоксидантну активність і стабілізувати мембрани, на додаток до їхньої ролі у поглинанні світла або в нефотохімічних процесах гасіння (Sha et al., 2016). У цілому антиоксидантну активність *Symbiodinium*, типи вільних радикалів та АФК, які переважно інгібуються діатоксантином та перидиніном, необхідно вивчати глибше.



а



б

Рис 5. Теплова карта, що відображає антиоксидантну активність, розраховану методом FRAP, та кореляцію Пірсона між антиоксидантною активністю екстрактів, отриманих з літніх (а) та зимових (б) зразків і розрахованих методом FRAP, та фізико-хімічними факторами. Темно-червоний колір означає високу кореляцію ($r \rightarrow 1$); темно-синій — негативну ($r \rightarrow -1$), жовто-зелений — відсутність кореляції ($r \cong 0$)

Висновки

Досліджено антиоксидантні властивості *Symbiodinium* sp. з точки зору біотехнології та екологічного застосування. Отримані високі значення IC50 і низьке інгібування вільних радикалів досліджуваних екстрактів *Symbiodinium* sp. та, відповідно, низька антиоксидантна активність. Ймовірно, це пов'язано з тим, що не були враховані всі важливі фізико-хімічні фактори. При симбіозі можливий обмін метаболітами між актинією та клітинами *Symbiodinium* і антиоксидантні властивості, виявлені в

експерименті, можуть не відображати дійсну ступінь антиоксидантних властивостей симбіозу в природі. Також існує вірогідність спектрального перекриття. Тому рекомендується вивчення антиоксидантної активності ендосимбіотичних видів водоростей з використанням методу спектроскопії ЕПР.

Список літератури

- Dang K.V., Pierangelini M., Roberty S., Cardol P. 2019. Alternative photosynthetic electron transfers and bleaching phenotypes upon acute heat stress in *Symbiodinium* and *Breviolum* spp. (*Symbiodiniaceae*) in culture. *Front. Mar. Sci.* 6: 656.
- Davy S.K., Allemand D., Weis V.M. 2012. Cell biology of cnidarian-dinoflagellate symbiosis. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 76(2): 229–261.
- Ganesan K., Kumar K.S., Rao P.S. 2011. Comparative assessment of antioxidant activity in three edible species of green seaweed, *Enteromorpha* from Okha, Northwest coast of India. *Innovat. Food Sci. Emerg. Technol.* 12(1): 73–78.
- Gordon B.R., Leggat W. 2010. *Symbiodinium* – invertebrate symbioses and the role of metabolomics. *Mar. Drugs*. 8(10): 2546–2568.
- Gulcin I. 2020. Antioxidants and antioxidant methods: An updated overview. *Arch. Toxicol.* 94(3): 651–715.
- Hamanaka R.B., Chandel N.S. 2009. Mitochondrial reactive oxygen species regulate hypoxic signaling. *Curr. Opin. Cell Biol.* 21(6): 894–899.
- Ishikawa C., Jomori T., Tanaka J., Senba M., Mori N. 2016. Peridinin, a carotenoid, inhibits proliferation and survival of HTLV-1-infected T-cell lines. *Int. J. Onc.* 49(4): 1713–1721.
- Iwasaki H. 1961. The life-cycle of *Porphyratenera* in vitro. *Biol. Bull.* 121(1): 173–187.
- Jacob-Lopes E., Queiroz M.I., Zepka L.Q. 2020. *Pigments from Microalgae Handbook*. Switzerland: Springer Nat. 214 p.
- Johansen J.E., Svec W.A., Liaaen-Jensen S., Haxo F.T., 1974. Carotenoids of the *Dinophyceae*. *Phytochemistry*. 13(10): 2261–2271.
- Krueger T., Becker S., Pontasch S., Dove S., Hoegh-Guldberg O., Leggat W., Fisher P.L., Davy S.K. 2014. Antioxidant plasticity and thermal sensitivity in four types of *Symbiodinium* sp. *J. Phycol.* 50(6): 1035–1047.
- Laskey R.A. 1970. The use of antibiotics in the preparation of amphibian cell cultures from highly contaminated material. *J. Cell Sci.* 7(3): 653–659.
- Lesser M.P. 2011. Coral bleaching: causes and mechanisms. In: *Coral reefs: An ecosystem in transition*. Dordrecht: Springer. Pp. 405–419.
- Muscatine L.E., Porter J.W. 1977. Reef corals: mutualistic symbioses adapted to nutrient-poor environments. *Bioscience*. 27(7): 454–460.
- Muscatine L., Karakashian S.J., Karakashian M.W. 1967. Soluble extracellular products of algae symbiotic with a ciliate, a sponge and a mutant hydra. *Comp. Biochem. Physiol.* 20(1): 1–2.

- Olpp T., Brückner R. 2006. Total synthesis of the light-harvesting carotenoid peridinin. *Angew. Chem. Int. Edit.* 45(24): 4023–4027.
- Olson J.A. 1999. Carotenoids and human health. *Arch. Latinoam. Nutr.* 49(3 Suppl 1): 7S–11S.
- Oyaizu M. 1986. Studies on products of browning reaction. *Jap. J. Nutr. Diet.* 44(6): 307–315.
- Pandolfi J.M., Bradbury R.H., Sala E., Hughes T.P., Bjorndal K.A., Cooke R.G., McArdle D., McClenachan L., Newman M.J., Paredes G., Warner R.R. 2003. Global trajectories of the long-term decline of coral reef ecosystems. *Science*. 301(5635): 955–958.
- Polne-Fuller M. 1991. A novel technique for preparation of axenic cultures of *Symbiodinium* (Pyrrophyta). *J. Phycol.* 27(4): 552–554.
- Roberty S., Furla P., Plumier J.C. 2016. Differential antioxidant response between two *Symbiodinium* species from contrasting environments. *Plant, Cell Environ.* 39(12): 2713–2724.
- Roberty S., Fransolet D., Cardol P., Plumier J.C., Franck F. 2015. Imbalance between oxygen photoreduction and antioxidant capacities in *Symbiodinium* cells exposed to combined heat and high light stress. *Coral Reefs*. 34(4): 1063–1073.
- Rodriguez R., Redman R. 2005. Balancing the generation and elimination of reactive oxygen species. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 102(9): 3175–3176.
- Sha M.M.R., Samarakoon K.W., An S., Jeon Y., Lee J. 2016. Growth characteristics of three benthic dinoflagellates in mass culture and their antioxidant properties. *J. Fisher. Aquat. Sci.* 11: 268–277.
- Trench R.K. 1971a. The physiology and biochemistry of zooxanthellae symbiotic with marine coelenterates. I. The assimilation of photosynthetic products of zooxanthellae by two marine coelenterates. *Proc. Roy. Soc. London. Ser. B.* 177(1047): 225–235.
- Trench R.K. 1971b. The physiology and biochemistry of zooxanthellae symbiotic with marine coelenterates. II. Liberation of fixed ¹⁴C by zooxanthellae *in vitro*. *Proc. Roy. Soc. London. Ser. B.* 177(1047): 237–250.
- Trench R.K. 1971c. The physiology and biochemistry of zooxanthellae symbiotic with marine coelenterates III. The effect of homogenates of host tissues on the excretion of photosynthetic products *in vitro* by zooxanthellae from two marine coelenterates. *Proc. Roy. Soc. London. Ser. B.* 177(1047): 251–264.
- Wakefield T.S., Kempf S.C. 2001. Development of host-and symbiont-specific monoclonal antibodies and confirmation of the origin of the symbiosome membrane in a cnidarian–dinoflagellate symbiosis. *Biol. Bull.* 200(2): 127–143.
- Weis V.M. 2008. Cellular mechanisms of Cnidarian bleaching: stress causes the collapse of symbiosis. *J. Exp. Biol.* 211(19): 3059–3066.
- Widowati I., Zainuri M., Kusumaningrum H.P., Susilowati R., Hardivillier Y., Leignel V., Mouget J.L. 2017. Antioxidant activity of three microalgae *Dunaliellasalina*, *Tetraselmischuii* and *Isochrysisgalbana* clone Tahiti. *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci.* 55(1): 01206.

- Wietheger A., Fisher P.L., Gould K.S., Davy S.K. 2015. Sensitivity to oxidative stress is not a definite predictor of thermal sensitivity in symbiotic dinoflagellates. *Mar. Biol.* 162(10): 2067–2077.
- Zahl P.A., McLaughlin J.O. 1957. Isolation and cultivation of zooxanthellae. *Nature*. 180(4578): 199–200.

Soostani B.S. ¹ (<https://orcid.org/0000-0001-8355-3257>)

Zarei Darki B. ² (<https://orcid.org/0000-0003-4308-8367>)

Yousefzadi M. ³ (<https://orcid.org/0000-0002-2256-8073>)

Ranjbar M.Sh. ¹ (<https://orcid.org/0000-0002-1093-2392>)

¹ Hormozgan University, Faculty of Marine Science and Technology, Dep. of Marine Biology, Km 9 Minab Road, Bandar Abbas, 79161-93145, Iran

² TarbiatModares University, Faculty of Marine Science, Dep. of Marine Biology, Mazandaran, Noor, 46414-356, Iran

³ University of Qom, Faculty of Science, Dep. of Biology, Alghadir Blvd, Qom, 37161-46611, Iran

Antioxidant of the endosymbiotic dinoflagellate *Symbiodinium* sp. from the sea anemone *Stichodactyla haddoni* Saville-Kent

Marine dinoflagellates are potentially useful for many biomedical, toxicological and ecological applications. This study focuses on determining the antioxidant properties of *Symbiodinium* sp. isolated from the sea anemone *Stichodactyla haddoni*, collected from the Persian Gulf and the Gulf of Oman in 2018 and 2019, purified and cultured also *in vitro*. Antioxidant activity and total antioxidant activity were determined by two methods using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) free radical and ferric-reducing antioxidant power (FRAP). The highest DPPH radical scavenging activity detected was $135.78 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ in the methanolic extract of *Symbiodinium* sp. from the winter Chabahar Bay sample using LC50. The FRAP method showed the maximum antioxidant activity ($0.3 \mu\text{g mL}^{-1}$) in the methanolic extract at the concentration of $2 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ in the same sample. Cluster heatmap analysis showed that antioxidant activity was highly correlated with physicochemical factors (temperature and salinity) in the methanolic extract of *Symbiodinium* sp. Our results showed that the role of antioxidants and the types of ROS that are predominantly neutralized by peridinin and diatoxanthin should be more carefully studied, and we recommend using the electron spin resonance (ESR) spectroscopic method to determine the antioxidant properties of algae that contain these pigments.

Key words: zooxanthellae, symbiont, culture, antioxidant, Indian Ocean

Citation. Soostani B.S., Zarei Darki B., Yousefzadi M., Ranjbar M.Sh. 2025. Antioxidant of the endosymbiotic dinoflagellate *Symbiodinium* sp. from the sea anemone *Stichodactyla haddoni* Saville-Kent. *Algologia*. 35(1): 15–29. <https://doi.org/10.15407/alg35.01.015>