Archive of SID

مجله علمی شیلات ایران (DOI): 10.22092/ISFJ.2019.119393 سال بیست و هشت/ شماره ۳

[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.119393]

Downloaded from isfj.ir at 9:49 +0430 on Sunday August 18th 2019

بررسی اثر مهارکنندگی عصاره‌های دی‌اتیل‌اتری و متانولی شقایق موکتی (*sarcophyton* spp.) و ستاره دریایی (*Pentaceraster* spp.) بر باکتری‌های اشرشیاکلی (*Escherichia coli*) و باسیلوس سوبتیلیس (*Bacillus subtilis*)

مرضیه منصورلکورج[۱]، کامران رضایی توابع[*۱]، علیرضا میرواقفی[۱]، ملیکا ناظمی[۲]، محمدعلی نعمت‌اللهی[۱]، مجتبی جهاندیده[۳]

[*]krtavabe@ut.ac.ir

۱- گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران

۲- پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بندرعباس، ایران

۳- دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

تاریخ دریافت: آبان ۱۳۹۷ تاریخ پذیرش: فروردین ۱۳۹۸

چکیده

محیط زیست دریایی، منبع بسیاری از ترکیبات طبیعی زیست فعال است که خصوصیات ساختاری-شیمیایی آنها در سایر محصولات طبیعی گیاهان و جانوران خشکی‌زی مشاهده نمی‌شوند. این مطالعه به منظور بررسی و مقایسه خواص آنتی بیوتیکی عصاره‌های دی‌اتیل‌اتری و متانولی استخراج شده از ستارهٔ دریایی و شقایق موکتی انجام شد. برای این تحقیق، ستارهٔ دریایی و شقایق موکتی از منطقه جزیره لارک جمع آوری شدند و سپس عصاره‌گیری با استفاده از حلال‌های دی‌اتیل‌اتر و متانول انجام گردید. بررسی خواص آنتی بیوتیکی عصاره‌های به‌دست آمده بر باکتری‌های اشرشیاکلی (*Escherichia coli*) و باسیلوس سوبتیلیس (*Bacillus subtilis*) ابتدا با استفاده از روش انتشار در آگار جهت تعیین قطر هالهٔ عدم رشد و سپس رقت لوله‌ای به منظور تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی باکتریایی (MBC) صورت گرفت. بر اساس نتایج بدست آمده، عصارهٔ دی‌اتیل‌اتری استخراجی از شقایق موکتی هیچ اثر مهارکنندگی و کشندگی بر باکتری‌های مورد آزمایش نداشت. در حالیکه عصارهٔ دی اتیل اتری استخراجی از ستاره دریایی در غلظت ۴۰ mg/ml بر باکتری اشرشیاکلی اثر مهارکنندگی رشد را نشان داد، اما قدرت کشندگی نداشت. این عصاره در غلظت‌های مورد نظر تأثیری بر مهار رشد و کشندگی باکتری باسیلوس سوبتیلیس نداشتند. عصاره متانولی استخراجی از ستاره دریایی در غلظت ۳۰ mg/ml بر باکتری باسیلوس سوبتیلیس اثر مهارکنندگی رشد و در غلظت ۵۰ mg/ml اثر کشندگی نشان داد ولی هیچ یک از غلظت های مورد آزمایش تأثیری بر باکتری اشرشیاکلی نداشتند. همچنین عصارهٔ متانولی استخراجی از شقایق موکتی در غلظت ۴۰ mg/ml برای باکتری اشرشیاکلی اثر مهارکنندگی رشد داشت، اما اثر کشندگی نشان نداد. در حالیکه هیچیک از غلظت‌های مورد آزمایش تأثیری بر باکتری باسیلوس سوبتیلیس نداشتند. همچنین بیشترین قطر هاله عدم رشد برای عصارهٔ متانولی ستاره دریایی بر باکتری باسیلوس سوبتیلیس با قطر هالهٔ عدم رشد ۰/۸±۱۲/۱ میلی‌متر ثبت گردید. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که عصارهٔ متانولی استخراجی از ستارهٔ دریایی دارای اثر مهارکنندگی رشد بیشتر و نیز اثر کشندگی بر باکتری باسیلوس سوبتیلیس بود. در حالیکه عصاره متانولی استخراجی از شقایق موکتی دارای قدرت مهار کنندگی رشد بر باکتری اشرشیاکلی بود. در نتیجه، عصاره متانولی ستاره دریایی در مهار رشد باکتری باسیلوس سوبتیلیس و عصاره متانولی شقایق موکتی در مهار رشد باکتری اشریشیاکلی مؤثر بودند.

واژگان کلیدی: قطر هالهٔ عدم رشد، حداقل غلظت کشندگی، حداقل غلظت مهار کنندگی، ستاره دریایی، شقایق موکتی

[*]**نویسنده مسئول**

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.119393]
Downloaded from isfj.ir at 9:49 +0430 on Sunday August 18th 2019

مقدمه

دریاها و اقیانوس‌ها بیش از ۷۰ درصد سطح کرهٔ زمین را تشکیل می‌دهند و از سویی، بیش از ۸۰ درصد موجودات زنده فقط در اکوسیستم‌های آبی وجود دارند. بنابراین، اقیانوس‌ها بزرگترین و متنوع‌ترین منبع حیات در کرهٔ زمین بشمار می‌آیند (Villasin & Pomory, 2000). اقیانوس‌ها به عنوان مبدأ و خاستگاه زیستی بیشتر شاخه‌های جانوری، منبع و سرچشمه ترکیبات طبیعی هستند که این ترکیبات در موجودات مختلف تجمع یافته است. ترکیبات طبیعی موجود در جانداران دریایی را می‌توان به عنوان یک منبع غنی از ترکیباتی با کاربرد غذایی، مواد آرایشی و بهداشتی، رنگدانه‌های دارویی، پزشکی و غیره استفاده نمود (Nazemi & Pishevarzad, 2011; Hafezie, 2018). مطالعهٔ ویژگی‌های فارماکولوژیک فرآورده‌های طبیعی دریایی موجب کشف مواد زیست فعال طبیعی شده است (Bell & Smith, 2004; Devi *et al*., 2010). محیط زیست اقیانوسی و دریایی، منبع بسیاری از ترکیبات طبیعی زیست فعال است که خصوصیات ساختاری- شیمیایی آنها در سایر محصولات طبیعی گیاهان و جانوران خشکی‌زی مشاهده نمی‌شوند. به دلیل تنوع زیستی، دریا بهترین مکان برای آغاز ساخت یک داروخانه طبیعی است (Nabipoor, 2008).

کیسه‌تنان شاخه‌ای از جانوران آبزی هستند که شامل بیش از ۱۰۰۰۰ گونه بوده و در اکوسیستم‌های آبی (آب شیرین و دریایی) زیست می‌کنند. آنها عمدتاً گونه‌های دریایی و آب شور هستند و ۶۸ درصد آنها متعلق به رده گلسانان است (Banister & Campbell, 1985). برخلاف سایر گونه‌های کیسه تنان، رده گلسانان در مرحله رشد، حالت مدوز ندارند و این بدان معناست که آنها در معرض جریانات دریایی هستند و نیاز به محافظت از خود در برابر عوامل زیستی و محیطی از جمله حمله‌های میکروبی یا قارچی دارند (Devi *et al*., 2010; Crowther, 2011). بسیاری از مطالعات نشان می‌دهد که ستاره‌های دریایی دارای ویژگی‌های دارویی و بیولوژیک مفیدی هستند و استفاده از طیف‌های وسیع گونه‌های ستاره دریایی خشک شده به عنوان طب سنتی برای درمان بیماری آسم، برونشیت، دیابت و بیماری‌های قلبی از آن استفاده می‌شود (Alves & Rosa, 2007; Alves & Alves, 2011). شقایق‌های دریایی ترکیبات فعال بیولوژیک پروتئینی و پلی‌پپتیدی بسیاری از جمله توکسین‌های مولکولی (سیتولیسین)، فسفولیپازها، مهارکننده‌های پروتئیناز و نوروتوکسین‌ها تولید می‌کنند (Ros *et al*., 2013). همچنین شقایق‌های دریایی به‌صورت طبیعی در مقابل عوامل باکتریایی و انگلی به صورت فاگوسیتوز عمل می‌نمایند. بنظر می‌رسد سلول‌های فاگوسیت کننده در طبیعت به سمت مناطق آلوده و آسیب‌دیده مهاجرت می‌نمایند و عمل مبارزهٔ میکروبی صورت می‌گیرد (Franklin & Snow, 2005; Devi *et al*., 2010).

امروزه ۷۰۰۰ ترکیب زیست‌فعال طبیعی دریایی استخراج شده است که ۲۵ درصد آنها از جلبک‌ها، ۳۵ درصد از اسفنج ها، ۱۸ درصد از سلانترها و ۲۴ درصد از سایر شاخه‌های بی مهرگان دریایی مانند غلاف‌داران[1]، نرمتنان، خارتنان و بریوزئوها[2] بدست آمده است (Carter *et al*., 2000). فرآیند استخراج ترکیبات دارویی از موجودات زیستی دریایی، با نرخ سالانه ۱۰ درصد در حال رشد و افزایش می‌باشد (Nabipoor *et al*., 2010). روند کشف داروهای جدید از گونه‌های زیستی، بر بررسی اکوسیستم‌های دریایی جهت شناسایی ترکیبات پیچیده و شیمیایی تأکید دارد. اکوسیستم‌های دریایی منبع بزرگی برای درمان بسیاری از بیماری‌ها از جمله سرطان، بیماری‌های التهابی، آرتریت، مالاریا و انواع زیادی از بیماری‌های ویرورسی، باکتری و قارچی بوده است (Rocha *et al*,. 2011). امروزه بخش اعظمی از موجودات دریایی (بخصوص میکروارگانیسم‌ها) هنوز ناشناخته باقی مانده که بتدریج در حال شناسایی هستند (Qaralleh *et al*., 2010). حتی در مورد موجودات زندهٔ شناخته شده نیز اطلاعات کافی و مفید جهت بهره برداری از آنها بدست نیامده است و این در حالی است که هزاران ترکیب شیمیایی خاص تنها از تعداد کمی از این موجودات

[1] Tunicates
[2] Bryozoa

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.119393]
Downloaded from isfj.ir at 9:49 +0430 on Sunday August 18th 2019

بدست آمده است. بررسی‌هایی که طی دوره‌های زمانی مختلف بر گونه‌های خارتنان و نرمتنان بنتوزی صورت گرفته است، بیانگر تأثیر فوق‌العاده ترکیبات استخراجی از این موجودات بر باکتری‌های گرم مثبت و منفی می‌باشد (Nabipoor, 2008). بنابراین، هدف از انجام این مطالعه بررسی خواص ضدباکتریایی عصاره های استخراج شده از شقایق موکتی *Sarcophyton* spp. و ستارۀ دریایی *Pentaceraster* spp. بدست آمده از سواحل خلیج فارس بر دو سویه باکتریایی اشرشیاکلی و باسیلوس سوبتیلیس با استفاده از دو روش انتشار در آگار و رقت لوله‌ای بود.

مواد و روش کار

نمونه‌برداری و شناسایی نمونه‌ها

نمونه‌های شقایق موکتی (*Sarcophyton* spp.) و ستارۀ دریایی (*Pentaceraster* spp.) هرکدام به وزن ۴۵۰ گرم از سواحل جزیره لارک جمع‌آوری شده و به پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان منتقل شده و سپس شستشو شدند. شناسایی نمونه‌ها با توجه به ویژگی‌های ظاهری و با استفاده از کلید شناسایی سازمان فائو (FAO, 2012) انجام گرفت. بعد از شستشو و شناسایی گونه‌ها، اپی‌فیت‌ها، ماسه و شن‌های روی نمونه‌ها جدا شده و سپس در اندازه های یک سانتی‌متری بریده شدند.

عصاره‌گیری

نمونه‌های جمع آوری شده برش داده شده به ابعاد یک سانتی متر به آزمایشگاه شیلات پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران منتقل شده و تا زمان عصاره گیری در دمای یخچال (۴ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شدند. برای عصاره‌گیری، نمونه‌ها درون ارلن ریخته شده و دو برابر وزن نمونه حلال آلی مربوطه افزوده شد. به منظور عصاره‌گیری و جداسازی ترکیبات زیست فعال حلال‌های دی‌اتیل‌اتر ۹۶ درصد و متانول ۹۸ درصد شرکت مرک آلمان به نمونه‌های مجزا اضافه گردید و به مدت ۷۲ ساعت در آزمایشگاه در دمای اتاق (۲۵ درجه سانتی‌گراد) قرار داده شدند و سپس محلول بدست آمده از صافی واتمن شماره ۴۱ عبور داده شد تا حلال دی‌اتیل‌اتری و ترکیبات موجود در نمونه‌ها جداسازی شوند (Nazemi & Pishevarzad, 2011). محلول بدست آمده به دستگاه روتاری در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد با ۱۴۵ دور در دقیقه منتقل گردید تا حلال تبخیر شود و عصارۀ حاوی ترکیبات زیست فعال از نمونه‌ها بدست آید.

بررسی خواص آنتی بیوتیک

بررسی خواص ضدباکتریایی به روش انتشار در آگار (چاهک) بر اساس یافته‌های Sharma و Sharma (۲۰۱۱) و روش رقت لوله‌ای[1] بر اساس متد Villanova (۲۰۰۴) انجام گرفت. سویه باکتری‌های *Escherichia coli* ATCC 15224 و *Bacillus subtilis* RTCC 1058 از مرکز کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های صنعتی ایران به صورت لیوفیلیزه تهیه شدند. سپس سویه‌های تهیه شده، کشت اولیه داده شده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور قرار داده شدند تا از کلونی‌های تک به منظور انجام آزمایش استفاده شود. پس از رشد، باکتری‌ها از انکوباتور خارج شده و با استفاده از آنس تک کلونی‌های ایجاد شده به محیط براث در لوله های آزمایش وارد شد. این کار آنقدر تکرار شد تا کدورت محیط براث با کدورت لوله مک فارلند ۰/۵[2] یکسان شود. بعد از این مرحله، از سوسپانسیون باکتریایی در شرایط کاملاً سترون با سوآب به صورت سطحی در محیط مولر هینتون آگار کشت داده شد. سپس در پلیت‌های حاوی محیط مولر هینتون آگار، ۵ چاهک به قطر تقریبی ۶ میلی‌متر با فواصل منظم از هم و فاصله مناسب از دیواره پلیت ایجاد شد. بر اساس دامنۀ غلظت‌های مورد استفاده در مرور منابع انجام شده برای سایر بی مهرگان دریایی در هر چاهک ۲۰ میکرولیتر از رقت‌های ۰/۱، ۰/۵۰، ۰/۷۵، ۱/۵، ۲، ۳، ۵، ۷، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره وارد شد. پلیت‌های حاوی کشت باکتری و عصاره با سه تکرار به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و بعد از این

[1] Bacterial Broth Dilution Methods
[2] McFarland 0.5

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.119393]
Downloaded from isfj.ir at 9:49 +0430 on Sunday August 18th 2019

مدت قطر هاله‌های عدم رشد تشکیل شده اندازه‌گیری و ثبت شدند.

تعیین حداقل غلظت‌های بازدارنده (MIC)[1]

تعداد باکتری‌های موجود در لوله ۰/۵ مک فارلند برابر $۱/۵\times۱۰^{۸}$ CFU/ml بود که با رقیق سازی مرحله‌ای تعداد باکتری‌ها به رقم مورد نظر $۱/۵\times۱۰^{۶}$ CFU/ml رسانده شد. مایع تلقیحی تهیه شده بلافاصله مورد استفاده قرار گرفت تا در فاصله زمانی پس از استاندارد سازی، تکثیر باکتریایی صورت نگیرد (Farjami *et al*., 2014). از این لوله‌های مذکور که حاوی $۱/۵\times۱۰^{۶}$ باکتری بود، به مقدار ۱ میلی لیتر به هر کدام از ۱۰ عدد لولهٔ استریل اضافه شد. سپس از آخرین رقت عصاره مربوط به دو گونهٔ مورد تحقیق که دارای کمترین هاله عدم رشد بود، بمراتب غلظت‌های رقیق‌تر عصاره‌ها تهیه شد و ۱ میلی لیتر به لوله‌های آزمایش اضافه گردید. برای در نظر گرفتن شاهد مثبت از آنتی بیوتیک‌های تتراسایکلین و آمپی سیلین، با غلظت‌های ۲-۰/۵ درصد استفاده شد و به عنوان شاهد منفی به یکی از لوله ها ماده فعال بیولوژیک اضافه نگردید. در داخل یک لوله نیز تنها محیط کشت فاقد ماده مؤثره و باکتری قرار داده شد تا در صورت آلودگی محیطی خطای آزمایش مشخص گردد. سپس درب تمام لوله‌ها با پنبه بسته شده و در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد. پس از ۲۴ ساعت لوله‌های آزمایش از انکوباتور خارج شدند و کدورت آنها مورد بررسی قرار گرفتند. لوله شاهد که فاقد ترکیبات فعال بیولوژیک بود، بسیار کدر شده بود. زیرا باکتری‌ها در آن فرصت رشد داشتند. برای ادامه کار، سایر لوله ها با لوله مذکور به صورت چشمی مقایسه شدند (این آزمایش برای هر عصاره با سه بار تکرار انجام شد) و لوله‌هایی که کدورت داشتند، از ادامه کار خارج شدند و لوله‌هایی که در آن کدورت مشاهده نشد، به منظور ادامه کار جدا شدند. غلظت مواد مصرفی در لوله‌های بدون کدورت میزان MIC را نشان می‌دهد که بیانگر ممانعت از رشد و افزایش تعداد باکتری‌ها می‌باشد.

تعیین حداقل غلظت کشندگی مطلق (MBC)[2]

در ادامه آزمایش به منظور تعیین توانایی عصاره‌های مورد نظر در از بین بردن باکتری ها از لوله‌هایی که در آنها کدورت مشاهده نشده بود، با استفاده از آنس نمونه گرفته شده و به محیط کشت آگار انتقال داده شد. سپس پلیت‌ها به انکوباتور منتقل شده و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت نگهداری شدند. پس از ۲۴ ساعت پلیت‌ها بررسی شده و تعداد کلونی‌های تشکیل شده شمارش شدند. در پلیت‌هایی که باکتری رشد کرده بود نشانگر آن بود که عصاره مورد نظر تنها دارای توانایی مهار رشد و تکثیر باکتری می‌باشد. اما در پلیت‌هایی که کمتر از ۸ کلونی باکتری مشاهده شد، نشان‌دهنده آن بود که ماده مورد نظر سبب مرگ باکتری شده است که این مقدار برابر با MBC می‌باشد.

تجزیه و تحلیل آماری

جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم افزار SPSS 22 استفاده گردید و کلیه نمودارها با نرم افزار اکسل ۲۰۰۷ طراحی و رسم شدند. آنالیز داده‌ها با سنجش خطای استاندارد و روش آنالیز آماری آنووای یک طرفه[3] صورت گرفت و مقایسهی میانگین‌ها نیز با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۵ درصد انجام شد.

نتایج

تأثیر رقت‌های مورد مطالعه در جلوگیری از رشد باکتری‌های اشرشیاکلی و باسیلوس سوبتیلیس در روش چاهک‌گذاری با ایجاد هاله‌های عدم رشد مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نهایی حاصل از میانگین میزان هاله عدم رشد (میلی‌متر) عصاره‌های بدست آمده در شکل‌های ۱، ۲ و ۳ ارائه شده است. برای عصاره دی‌اتیل‌اتری استخراجی از شقایق موکتی هاله عدم رشد مشاهده نشد.

[1] Minimum Inhibitory Concentration

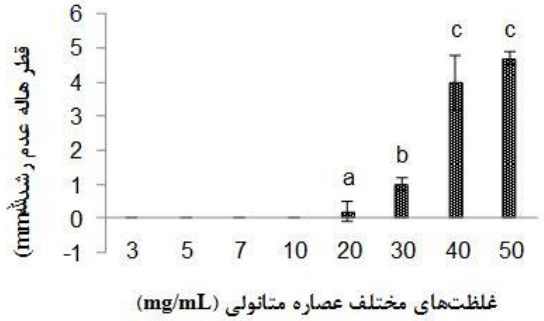
[2] Minimum Bactericidal Concentration

[3] One way ANOVA

www.SID.ir

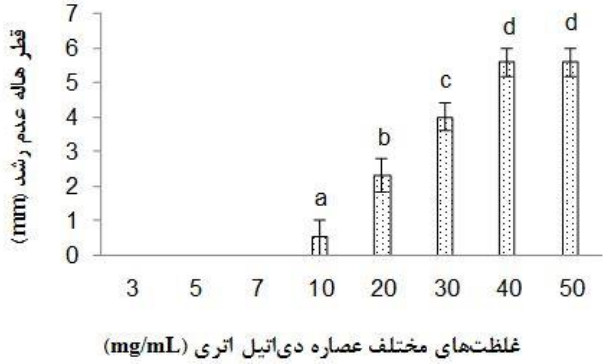
Archive of SID

[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.119393]
Downloaded from isfj.ir at 9:49 +0430 on Sunday August 18th 2019



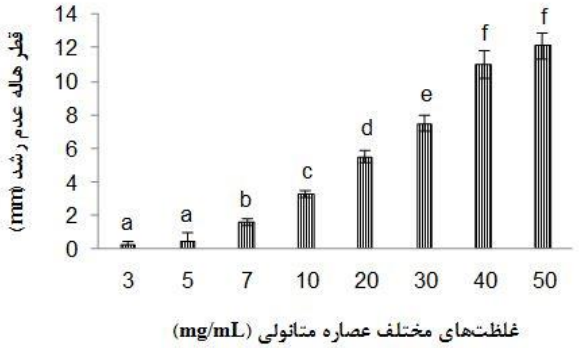
شکل ۱: مقایسه قطر هاله عدم رشد ایجاد شده برای باکتری اشرشیاکلی بین غلظت‌های مختلف عصاره متانولی استخراج شده از شقایق موکتی. حروف لاتین متفاوت بیانگر تفاوت معنی دار بین تیمارهای غلظتی در سطح ۵ درصد می‌باشد.

Figrue 1: Growth inhibitory diameter of different doses of carpet anemone´s methanol extracts (Sarcophyton spp.) on *E. coli* bacteria. Bars with different letters are significantly different (p< 0.05).



شکل ۲: مقایسه قطر هاله عدم رشد ایجاد شده برای باکتری اشرشیا کلی بین غلظت‌های مختلف عصاره دی‌اتیل‌اتری استخراج شده از ستاره دریایی. حروف لاتین متفاوت بیانگر تفاوت معنی دار بین تیمارهای غلظتی در سطح ۵ درصد می‌باشد.

Figrue 2: Growth inhibitory diameter of different doses of starfish´s diethyl ether extracts (*Pentaceraster* spp.) on *E. coli* bacteria. Bars with different letters are significantly different (p< 0.05).



شکل ۳: مقایسه قطر هاله عدم رشد ایجاد شده برای باکتری باسیلوس سابتیلیس بین غلظت‌های مختلف عصاره متانولی استخراج شده از ستاره دریایی. حروف لاتین متفاوت بیانگر تفاوت معنی دار بین تیمارهای غلظتی در سطح ۵ درصد می‌باشد.

Figrue 3: Growth inhibitory diameter of different doses of starfish´s methanol extracts (*Pentaceraster* spp.) on *Bacillus subtilis* bacteria. Bars with different letters are significantly different (p< 0.05).

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.119393]

Downloaded from isfj.ir at 9:49 +0430 on Sunday August 18th 2019

اما برای عصارهٔ دی‌اتیل‌اتری استخراجی از ستاره دریایی برای باکتری اشرشیاکلی مطابق شکل ۲ از غلظت ۱۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر هاله عدم رشد مشاهده شد، در حالیکه تأثیری بر باکتری باسیلوس سوبتیلیس نداشت. در مورد عصاره‌های متانولی نیز بر اساس شکل ۱ عصاره شقایق موکتی برای باکتری اشرشیاکلی از غلظت ۲۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر هاله عدم رشد را نشان داد. اما برای باکتری باسیلوس سوبتیلیس هیچگونه قطر هاله عدم رشدی مشاهده نشد. مطابق شکل ۳ عصاره متانولی استخراجی از ستاره دریایی برای باکتری باسیلوس سوبتیلیس از غلظت ۳ میلی‌گرم در میلی‌لیتر قطر هاله عدم رشد مشاهده شد. اما عصاره متانولی ستاره دریایی هیچگونه اثری بر باکتری اشرشیاکلی نداشت. بیشترین قطر هاله عدم رشد عصاره متانولی استخراجی از ستارهٔ دریایی مربوط به غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر با قطر هاله عدم رشد ۰/۸±۱۲/۱ میلی‌متر بر باکتری باسیلوس سوبتیلیس (شکل ۳) و کمترین میزان قطر هاله عدم رشد بترتیب برای عصاره‌های متانولی استخراج شده از ستاره دریایی مربوط به غلظت‌های ۳ و ۲۰ میلی‌گرم/میلی لیتر (شکل ۳) و شقایق موکتی و با قطر هاله ۰/۲±۰/۲ میلی‌متر بود (شکل ۱). همانطوریکه در نمودارها مشاهده می‌شود، اختلاف معناداری در اثر غلظت‌های متفاوت از عصاره استخراجی از ستاره دریایی ($p< 0/05$) مشاهده شد. اما برای شقایق موکتی در غلظت های ۲۰ و ۳۰ و همچنین غلظت‌های ۴۰ و ۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر هیچگونه اختلاف معناداری مشاهده نشد.

MIC:

طبق داده‌های ارائه شده در جدول ۱، برای باکتری اشرشیاکلی در لوله‌های آزمایش حاوی عصاره دی‌اتیل‌اتری شقایق موکتی کدورت مشاهده شد و برای عصاره متانولی شقایق موکتی از غلظت ۴۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر هیچگونه کدورتی مشاهده نشد. همچنین در لوله‌های آزمایش حاوی عصاره متانولی ستاره دریایی برای باکتری اشرشیاکلی کدورت مشاهده شد. اما برای عصاره دی‌اتیل‌اتری از غلظت ۴۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر هیچگونه کدورتی مشاهده نشد.

همچنین طبق نتایج مذکور در جدول ۲، هیچ کدام از عصاره‌های استخراجی از شقایق موکتی اثر مهارکنندگی رشد بر باکتری باسیلوس سوبتیلیس نداشتند. عصاره متانولی استخراجی از ستاره دریایی از غلظت ۳۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اثر مهارکنندگی رشد بر باکتری باسیلوس سوبتیلیس داشت.

MBC:

با توجه به نتایج ارائه شده در جدول ۳، هیچ کدام از غلظت‌های تعیین شده برای عصاره‌های دی‌اتیل‌اتری و متانولی استخراج شده از ستاره دریایی و شقایق موکتی دارای کمترین قدرت کشندگی باکتری اشرشیاکلی نبودند. همچنین طبق نتایج مندرج در جدول ۴، هیچ کدام از عصاره‌های متانولی و دی‌اتیل‌اتری استخراجی از شقایق موکتی برای باکتری باسیلوس سوبتیلیس قدرت کشندگی نداشتند. اما عصاره متانولی ستاره دریایی در غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اثر کشندگی مطلق را بر باکتری باسیلوس سوبتیلیس داشته است.

جدول ۱: حداقل غلظت مهار کنندگی (میلی‌گرم در میلی‌لیتر) عصاره های گرفته شده از دو گونه بی مهره مورد مطالعه روی باکتری اشرشیاکلی.

Table 1: Minimum inhibitory concentration (mg/mL) of extracts from two invertebrates studied on *E. coli*.

گونه بی‌مهره	عصاره دی‌اتیل‌اتری (MIC) (میلی‌گرم در میلی‌لیتر)	عصاره متانولی (MIC) (میلی‌گرم در میلی‌لیتر)	تتراسایکلین (MIC) (میلی‌گرم در میلی‌لیتر)	آمپی سیلین (MIC) (میلی‌گرم در میلی‌لیتر)
شقایق موکتی	-	۴۰	۰/۷۵	۰/۷۵
ستاره دریایی	۴۰	-	۰/۷۵	۰/۷۵

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.119393]

Downloaded from isfj.ir at 9:49 +0430 on Sunday August 18th 2019

جدول ۲: حداقل غلظت مهار کنندگی (میلی‌گرم در میلی‌لیتر) عصاره های گرفته شده از ۲ گونه بی مهره مورد مطالعه بر باکتری باسیلوس سوبتیلیس.

Table 2: Minimum inhibitory concentration (mg/mL) of extracts from two invertebrates studied on *Bacillus subtilis* bacteria.

گونه بی‌مهره	عصاره دی‌اتیل‌اتری (MIC) (میلی‌گرم در میلی‌لیتر)	عصاره متانولی (MIC) (میلی‌گرم در میلی‌لیتر)	تتراسایکلین (MIC) (میلی‌گرم در میلی‌لیتر)	آمپی سیلین (MIC) (میلی‌گرم در میلی‌لیتر)
شقایق موکتی	-	-	۰/۷۵	۰/۷۵
ستاره دریایی	-	۳۰	۰/۷۵	۰/۷۵

جدول ۳: حداقل غلظت کشندگی (میلی‌گرم در میلی‌لیتر) عصاره های گرفته شده از ۲ گونه بی مهره مورد مطالعه بر باکتری اشرشیاکلی

Table 3: Minimum bactericidal *concentration* (mg/mL) of extracts from two invertebrates studied on *E. coli.*

گونه بی مهره	عصاره دی‌اتیل‌اتری (MBC) (میلی‌گرم در میلی‌لیتر)	عصاره متانولی (MBC) (میلی‌گرم در میلی‌لیتر)	تتراسایکلین (MBC) (میلی‌گرم در میلی‌لیتر)	آمپی سیلین (MBC) (میلی‌گرم در میلی‌لیتر)
شقایق موکتی	-	-	۰/۷۵	۰/۷۵
ستاره دریایی	-	-	۰/۷۵	۰/۷۵

بحث

در بررسی و سنجش اثر ضدباکتریایی عصاره‌های مختلف از دو روش کاربردی و مناسب شامل انتشار در آگار و رقت لوله‌ای استفاده می‌شود. در تحقیق حاضر تأثیر رقت‌های مورد مطالعه عصاره‌های دی‌اتیل‌اتری و متانولی ستارهٔ دریایی و شقایق موکتی در جلوگیری از رشد باکتری های اشرشیاکلی و باسیلوس سوبتیلیس در روش چاهک‌گذاری با ایجاد هاله‌های عدم رشد مورد بررسی قرار گرفت. مطالعات بر اثرات ضدباکتریایی عصاره‌های موجودات مختلف در سال‌های اخیر به فراوانی انجام شده است. عصاره‌های بدست آمده از ستاره‌های دریایی دارای ترکیبات دارویی مفید و متعددی هستند و در بسیاری موارد از ترکیبات زیست‌فعال خارتنان در پزشکی و در درمان سرطان استفاده می‌شود (Emadi, 2008; Choi *et al*., 2010; Devi *et al*., 2010; Thangaraj *et al*., 2011; Crowther, 2011). در شقایق‌های دریایی مطالعات فعالیت‌های آنتی‌بیوتیک و ترکیبات زیست فعال بسیار محدود بوده و دفاع آنتی‌بیوتیک و فاگوسیتی سلول‌های آمیبوسیت استخراجی از رشته‌های مزانتر در شقایق‌های دریایی گزارش شده است (Mayer *et al*., 2011; Moghadasi *et al*., 2017). بر اساس نتایج تحقیق حاضر، اثر ضد باکتریایی عصاره‌های دی‌اتیل‌اتری و متانولی دو گونه مورد مطالعه بر دو گونهٔ باکتریایی تأیید شد. میزان این تأثیر با توجه به نوع عصاره، گونهٔ باکتری و غلظت عصاره متفاوت بود.

نتایج نشان داد که آزمون انتشار در آگار و مقایسه اثربخشی آنتی باکتریایی عصاره‌های مورد مطالعه، بیشترین اثر آنتی باکتریایی در عصاره متانولی ستاره دریایی بر باکتری باسیلوس سوبتیلیس مشاهده شد. همچنین عصاره متانولی ستاره دریایی بر باکتری باسیلوس سوبتیلیس اثر مثبت و بر اشرشیاکلی بی تأثیر بود. ولی عصاره دی‌اتیل‌اتری ستاره دریایی بر باکتری اشرشیاکلی مؤثر بود در حالیکه تأثیری بر باکتری باسیلوس سوبتیلیس نداشت. مقایسه عصاره‌های مورد استفاده با آنتی بیوتیک‌ها نشان می‌دهد که عصاره‌های مورد نظر نسبت به تتراسایکلین و آمپی‌سیلین تأثیر کمتر و ضعیف‌تری بر باکتری‌های اشرشیاکلی و باسیلوس سوبتیلیس دارند. Haug و همکاران (۲۰۰۲) آثار ضد باکتریایی سه گونه خارتن توتیا (*Strongylocentrotus droebachiensis*)، ستارهٔ دریایی (*Asterias rubens*) و خیار دریایی (*Cucumaria frondosa*) بر ۴ گونه باکتری را مطالعه نمودند. نتایج آنها نشان داد که عصاره‌های طبیعی مانند لیزوزیم‌های استخراجی (تست لیزوزیمی) و سنجش بافت خونی از اندام‌های این سه گونه خارپوست بخصوص

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.119393]
Downloaded from isfj.ir at 9:49 +0430 on Sunday August 18th 2019

عصاره‌های تهیه شده از دیواره بدن و مایع درون شکمی دارای اثر ضد باکتریایی بوده که البته از این میان بیشترین اثر مربوط به عصاره‌های بدست آمده از دستگاه گوارش و تخمدان ستاره دریایی و تخم‌های خیار دریایی بود. محققین اختلاف بین میزان اثربخشی این ترکیبات را به علت تفاوت در آب دوست بودن و حساسیت به حرارت در ترکیبات زیست فعال مختلف به دست آمده بیان نموده‌اند (Haug *et al*., 2002; Thangaraj *et al*., 2011).

مطالعهٔ اثر آنتی بیوتیک عصارهٔ استونی ستارهٔ دریایی *Asterina pectinifera* بر باکتری *Staphylococcus aureus* نشان داد که قطر هاله عدم رشد بدست آمده بعد از گذشت ۱۲ ساعت ۰/۵۰±۱۴/۵ میلی‌متر و بعد از گذشت ۱۸ ساعت ۰/۸۷±۱۲/۵ و بعد از گذشت ۲۴ ساعت به اندازه ۰/۶۹±۱۱/۹ میلی‌متر بود (Choi *et al*., 2010). در تحقیق حاضر، بیشترین قطر هاله عدم رشد مربوط به عصاره متانولی استخراجی از ستارهٔ دریایی با قطر هاله ۰/۸±۱۲/۱ و کمترین میزان قطر هاله عدم رشد مربوط به غلظت عصاره ۳ و ۲۰ و بترتیب برای عصاره‌های متانولی استخراجی از ستاره دریایی و شقایق موکتی و با قطر هاله ۰/۲±۰/۲ میلی‌متر بود. Thangaraj و همکاران (۲۰۱۱) اثرات آنتی‌بیوتیک عصاره‌های دی کلرومتان، اتانول، استون، بوتانول و متانولی دو گونه شقایق دریایی *Stichodactyla mertensii* و *Stichodactyla gigantea* را بر ۱۰ گونهٔ باکتریایی و ۱۰ گونهٔ قارچی بررسی کردند. بیشترین اثر ضد باکتریایی مربوط به عصاره استونی استخراجی از شقایق دریایی *S. mertensii* بود و عصاره بوتانولی شقایق *S. gigantea* نیز بیشترین اثر مهارکنندگی را بر قارچ‌ها و باکتری‌ها نشان داد. بر اساس نتایج این محققین، بیشترین قطر هاله ایجاد شده برای باکتری سودوموناس آروژینوزا با قطر ۰/۸±۱۲/۰ میلی‌متر برای عصاره بوتانولی استخراج شده از شقایق گونه *S. gigantean* بود و بیشترین قطر هاله برای قارچ *Aspergillus niger* با قطر ۱/۲±۱۰/۳ میلی‌متر برای عصاره متانولی استخراجی از شقایق *S. mertensii* بود (Thangaraj *et al*., 2011). تحقیقات نشان داده است که احتمالاً متابولیت‌ها و ترکیبات زیست فعال ثانویهٔ بدن بی‌مهرگان آبزی نقش مهمی در دفاع آنها علیه باکتری‌ها و قارچ‌های مضر دارند (Ros *et al*., 2013).

نتایج بدست آمده نشان داد که حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره متانولی ستاره دریایی برای گونه باکتری باسیلوس سوبتیلیس ۳۰ میلی گرم در میلی لیتر بود و همچنین غلظت مهارکنندگی عصاره های متانولی شقایق موکتی برای باکتری اشرشیاکلی غلظت ۴۰ میلی گرم در لیتر نشان داده شد. همچنین حداقل غلظت کشندگی باکتریایی نیز در غلظت ۵۰ میلی گرم در لیتر از عصاره متانولی ستاره دریایی بوده است که باعث مرگ باکتری گونه باسیلوس سوبتیلیس شده است. هر یک از این گونه‌های باکتریایی دارای یکسری ویژگی‌های منحصر به خود هستند که با هم متفاوتند. بنابراین، تفاوت‌هایی که در ساختار این گونه‌هاست، سبب این تفاوت‌ها در نتایج شده است. تناقض موجود در این مطالعه و برخی پژوهش‌های مرتبط احتمالاً به دلیل تفاوت در گونه‌های متفاوت ستاره دریایی و حتی سویه‌های باکتریایی مورد آزمایش یا اختلاف در نحوه عصاره‌گیری مربوط باشد. زیرا نتایج تغییرات رشد در باکتری‌ها با استفاده از غلظت‌های متفاوت از هر عصاره نشان می‌دهد که هر یک از عصاره‌های آلی بی‌مهرگان آبزی دارای ترکیبات زیستی با توان ضدباکتریایی متفاوت هستند که بسیار تحت تأثیر سویهٔ باکتریایی، منطقهٔ جغرافیایی جمع‌آوری نمونه و نوع حلال مورد استفاده می‌باشد (Haug *et al*., 2002). مطالعهٔ انجام شده بر اثرات آنتی بیوتیک عصاره‌های دی‌اتیل‌اتر، استون، اتانول و آبی استخراج شده از شقایق دریایی گونهٔ *Anthopleura nigrescens* در منطقهٔ کاستاریکا نشان داد که عصاره‌های استونی و اتانولی بدست آمده از این گونه شقایق دریایی بیشترین اثر آنتی بیوتیک را در بین عصاره‌های مورد استفاده داشتند. در این تحقیق از ۵ گونه باکتری و همچنین از ۵ گونه قارچ استفاده شد. طبق نتایج بدست آمده بیشترین هاله عدم رشد ۷/۰ میلی‌متر و مربوط به اثرگذاری عصاره استونی بر باکتری *Proteus vulgaris* و کمترین هاله ایجاد شده نیز مربوط به عصاره آبی با قطر ۱/۵ میلی‌متر بود (Borbon *et al*., 2016). در نتایج مطالعهٔ حاضر، کمترین میزان قطر هاله

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.119393]

Downloaded from isfj.ir at 9:49 +0430 on Sunday August 18th 2019

عدم رشد مربوط به غلظت ۲۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر برای عصاره متانولی استخراجی از شقایق موکتی با قطر هاله ۰/۲±۰/۲ میلی‌متر بود. برخی محققین معتقدند که میزان اثرگذاری و خواص آنتی‌بیوتیک عصاره‌های بی مهرگان آبزی بر باکتری‌های مختلف متفاوت است و این میزان تأثیرگذاری بر اساس گرم منفی یا گرم مثبت بودن باکتری‌ها متفاوت می‌باشد (Bell & Smith., 2004; Choi *et al*., 2010).

مطالعه حاضر نشان داد که عصاره متانولی شقایق موکتی بومی آبهای خلیج فارس دارای ترکیبات زیست فعالی است که می‌تواند مانع از رشد باکتری اشرشیاکلی شود. همچنین عصاره متانولی ستاره دریایی بومی خلیج فارس نیز دارای ترکیبات زیستی است که می‌تواند مانع از رشد باکتری باسیلوس سوبتیلیس و عصاره دی‌اتیل‌اتری آن مانع از رشد باکتری اشرشیاکلی شود. نتایج نشان می‌دهد که عصاره‌های دی‌اتیل‌اتری و متانولی استخراج شده از شقایق موکتی خاصیت مهار کنندگی رشد را بر باکتری باسیلوس سوبتیلیس ندارند. همچنین هیچیک از عصاره‌های استخراجی از ستاره دریایی و شقایق موکتی هیچگونه قدرت کشندگی برای باکتری اشرشیاکلی ندارند. اما عصارهٔ متانولی استخراجی از ستاره دریایی علاوه بر قدرت مهارکننده رشد، قدرت کشندگی را بر باکتری باسیلوس سوبتیلیس دارد. به طور خلاصه، بر اساس نتایج بدست آمده، از دیدگاه کاربردی با توجه به اینکه باکتری باسیلوس سوبتیلیس یکی از میکروب‌های بیماری‌زا عمده در آبزیان پرورشی می‌باشد، عصاره‌های متانولی و دی‌اتیل‌اتری ستاره دریایی را می‌توان برای از بین بردن این باکتری بکار برد.

منابع

Alves, R.R. and Rosa, I.L., 2007. Zootherapy goes to town: the use of animal-based remedies in urban areas of NE and N Brazil. *Journal of Ethnopharmacology*, 113: 541–555. DOI: 10.1016/j.jep.2007.07.015

Alves, R.R. and Alves, H.N., 2011. The faunal drugstore: animal-based remedies used in traditional medicines in Latin America. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 10: 1746–4269. DOI: 10.1186/1746-4269-7-9

Banister K. and Campbell A., 1985. Encyclopedia of underwater life. Oxford shire: Andromeda Oxford Limited, *Oxford*, 287P.

Bell, J.J. and Smith, D., 2004. Ecology of sponge assemblages (Porifera) in the Wakatobi region, south-east Sulawesi, Indonesia: richness and abundance. *Journal of the Marine Biological Association*, 84: 581- 591. DOI: 10.1017/S0025315404009580h

Borbon, H., Valdes, S., Alvarado, M.J., Soto, R. and Vega, I., 2016. Antimicrobial properties of sea anemone *Anthopleura nigrescens* from Pacific coast of Costa Rica. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 6: 418-421. DOI: 10.1016/j.apjtb.2016.01.014

Carter, A.P., Clemons, W.M., Brodersen, D.E., Morgan-Warren, R.J., Wimberly, B.T. and Ramakrishnan, V., 2000. Functional insights from the structure of the 30S ribosomal subunit and its interactions with antibiotics. *Nature*, 407: 340–348. DOI: 10.1038/35030019

Choi, G.H., Kim, B.A., Park, C.I. and Kim, Y.Y., 2010. The effect of phytosphingosine isolated from *Asterina pectinifera* on cell damage induced by mite antigen in HaCaT cell and

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.119393]

Downloaded from isfj.ir at 9:49 +0430 on Sunday August 18th 2019

antibacterial activity against *Staphylococcus aureus*. *African Journal of Biotechnology*, 9(6): 920-926.

Crowther A.L., 2011. Animal biodiversity: an outline of higher-level classification and survey of taxonomic richness. *Zootaxa*, 3148: 165-91.

Devi, P., Wahidullah, S., Rodrigues, C. and Souza, L.D., 2010. The sponge-associated bacterium *Bacillus licheniformis* SAB1: a source of antimicrobial compounds. *Marine drugs*, 8: 1203-1212. DOI: 10.3390/md8041203

Emadi, H., 2008. Saltwater Aquarium fishes. *Aquaculture Scientific Publications*, Tehran, 262P.

FAO, 2012. Field Identification Guide to the Living Marine Resources of Kenya, Italy, Rome, 422P.

Farjami, B., Nematollahi, M.A., Moradi, Y., Irajian, G.R. and Nazemi, M., 2014. Study of antibacterial effect of the extracts of the Sea Cucumber (*Holothuria leucospilota*) of Persian Gulf on the *Escherichia coli*. *Iranian Journal of Medical Microbiology*, 8: 27-33.

Franklin, T.J. and Snow, GA., 2005. Biochemistry and molecular biology of antimicrobial drug action. 6th edition, New York, Springer press. 135 pp.

Hafezieh, M., 2018. Antioxidant properties of phenol compounds in brown seaweed, Sargassum ilicifolium of Iranian shore coast of Oman sea . *isfj*, 26 (5) :13-21. DOI: 10.22092/ISFJ.2017.114048

Haug T., Kjuul, A.K., Styrvold, O.B., Sandsdalen, E., Olsen, Q.M. and Stensvåg, K., 2002. Antibacterial activity in *Strongylocentrotus droebachiensis* (Echinoidea), *Cucumaria frondosa* (Holothuroidea), and *Asterias rubens* (Asteroidea). *Journal of Invertebrate Pathology*, 81: 94-102. DOI: 10.1016/S0022-2011(02)00153-2

Mayer, A.M.S., Rodriguez, A.D.R., Berlinck, G.S. and Fusetani, N., 2011. Marine compounds with antibacterial, anticoagulant, antifungal, anti-inflammatory, antimalarial, antiprotozoal, antituberculosis, and antiviral activities; affecting the immune and nervous system, and other miscellaneous mechanisms of action. *Comparative Biochemistry and Physiology*, Part C, 153: 191-222. DOI: 10.1016/j.cbpc.2010.08.008

Moghadasi, Z., Jamili, S., Shahbazzadeh, D., Mosaffa, N., Pooshang Bagheri, K., 2017. Studing the effect of aqueous extract of the Persian Gulf carpet anemone (Stichodactyla haddoni) on breast cancer cell line in vitro. *Isfj*, 26 (2) :37-46. DOI: 10.22092/ISFJ.2017.113482

Nabipoor, I., 2008. Marine medicine. Bushehr University of Medical Sciences and Health Services, *Bushehr Medicine Journal*, 8: 155-167.

Nabipoor, I., Najafi, A. and Bolkheyr, A., 2010. Persian Gulf Pharmaceutical mollusks, Bushehr University of Medical Sciences and Health Services, *Technical report*, 61 pp.

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.119393]
Downloaded from isfj.ir at 9:49 +0430 on Sunday August 18th 2019

Nazemi, M. and Pishevarzad, F., 2011. Antibacterial investigation of *Axinella sinoxea* sponge extracts from the Persian Gulf Lark Island. *Journal of Aquatic Biology*, 4: 54-65. DOI: 10.3354/ame019279

Qaralleh, H., Idid, S., Susanti, D., Taher, M. and Khleifat, K., 2010. Antifungal and antibacterial activities of four Malaysian sponge species (Petrosiidae). *Journal de Mycologic Medicale*, 20: 315-320. DOI: 10.1016/j.mycmed.2010.10.002

Rocha, J., Peixe, L., Gomes, N.C.M. and Calado, R., 2011. Cnidarians as a source of new marine bioactive compounds – an overview of the last decade and future steps for bioprospecting. *Marine Drugs*, 9: 1860-1886. DOI: 10.3390/md9101860

Ros, U., Edwards, M.A., Epand, R.F., Lanio, M.E., Schreier, S. and Yip, C.M., 2013. The sticholysin family of pore-forming toxins induces the mixing of lipids in membrane domains. *Biochim Biophys Acta*, 1828: 2757-2762. DOI: 10.1016/j.bbamem.2013.08.001

Sharma, A. and Sharma, K., 2011. Should solubility and zone of inhibition be the only criteria for selection of solvent in antimicrobial assay? *Advances in Biological Research*, 5: 241-247.

Thangaraj. S., Bragadeeswaran, S., Suganthi, K. and Sri-kumar, N., 2011. Antimicrobial properties of sea anemone *Stichodactyla mertensii* and *Stichodactyla gigantea* from Mandapam coast of India. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 28: 43-46. DOI: 10.1016/S2221-1691(11)60120-2

Villanova, P.A., 2004. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobility. *National Committee for Clinical laboratory standards (NCCLS)*, USA. 3rd ed. Approved standard M7-A. 98P.

Villasin J. and Pomory, C.M., 2000. Antibacterial activity of extracts from the body wall of *Parastichopus parvimensis* (Echinodermata: Holothuroidea). *Fish and Shellfish Immunology*, 10: 46-57. DOI: 10.1006/fsim.2000.0265.

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.119393]

Downloaded from isfj.ir at 9:49 +0430 on Sunday August 18th 2019

Evaluation of the effects of diethyl ether and methanol extracts of carpet anemone (*Sarcophyton* spp.) and starfish (*Pentaceraster* spp.) on *E. coli* and *Bacillus subtilis* bacteria

Mansurlakuraj M.[1]; Rezaei Tavabe K.[1*]; Mirvaghefi A.R.[1], Nazemi M.[2], Nematollahi M.A.[1]; Jahandideh M.[3]

*krtavabe@ut.ac.ir

1-Fisheries Department, Faculty of Natural Resources, Tehran University, Karaj, Iran.
2-Persian Gulf and Oman sea Ecological Research Center, Iranian Fisheries Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Bandar Abbas, Iran.
3-Gorgan Agriculture and Natural Resources University, Gorgan, Iran.

Abstract

Marine environment is the main source of natural bioactive products whose chemical-structural properties are not similar with other natural products of plants and other inland organisms. The present study was carried out to evaluate antibiotic properties of diethyl ether and methanol extracts of two marine species including starfish and carpet anemone. The samples of starfish and carpet anemone were collected from the Lark Island coasts. Extraction was done using diethyl ether and methanol solvents and antibiotic properties analysis on *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis* were evaluated using agar diffusion method. Then tube dilution to determine the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC). According to the results, diethyl ether extract from carpet anemone had no inhibitory effect on *E. coli* bacteria. While, starfish methanol extract **(**40 mg/ml**)** showed a growth inhibitory effect on *E. coli* bacteria. The starfish methanol extract (30 and 50 mg/ml) had a growth inhibitory effect on *B. subtilis* bacteria. Carpet anemone methanol extract (40 mg/ml) cause a growth inhibitory effect on *E. coli*, but did not have a deleterious effect. Starfish methanol extract showed the highest growth inhibitory effect on *B. subtilis* and created a growth inhibitory circle zoon (12.1±0.8 mm diameter). The results showed that the methanolic extract of the starfish has higher growth inhibitory effect on the two studied bacterial species. In conclusion, methanolic extracts of the starfish were effective in inhibiting the growth of *Bacillus subtilis* bacteria and methanolic extract of carpet anemone in inhibiting *E. coli* bacteria growth.

Keywords: Antibacterial, Agar diffusion, Carpet anemone, starfish, MIC, MBC.

*Corresponding author

www.SID.ir