مجله علمی- پژوهشی زیست فناوری میکروبی دانشگاه آزاد اسلامی
زمستان ۱۳۸۹، دوره دوم، شماره هفتم، صفحه ۵۴-۴۵

بررسی و مقایسه اثرات ضد باکتریائی عصاره ی متانولی سویه های سیانوباکتر جدا شده از آب بر روی باکتری های عامل گاستروانتریت انسانی

فرزانه حسینی[۱]، فاطمه مقصود احمدی [۱]، آنیتا خنافری، پیمان صمدی[۲]

۱. دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، گروه میکروبیولوژی، تهران، ایران
۲. دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان

نویسنده مسئول: دکتر فرزانه حسینی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، گروه میکروبیولوژی، تهران، ایران
farzaneh953@yahoo.com

دریافت: ۸۹/۹/۲۳ پذیرش: ۸۹/۱۲/۲۷

چکیده

زمینه و هدف: حضور سیانوباکترها در آب ها مشکلات متعددی را پیش می آورد و توسعه آنها منجر به آلودگی آبها به سیانوتوکسین ها شده و سلامت انسان و آبزیان را به خطر می اندازد. گونه های متفاوت سیانوباکتری ها به عنوان تولید کننده متابولیت های داخل سلولی و خارج سلولی بافعالیتهای زیستی مختلف مانند مهار برخی از قارچ ها و باکتری ها شناخته شدند. هدف از این مطالعه بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره سیانوباکتر های جدا شده بر روی باکتری های بیماریزای انسانی می باشد.

روش بررسی: اثر ضدباکتریائی سویه های سیانوباکتر جدا شده از آب بعد از تهیه عصاره متانولی، در غلظت های ۵۰ و ۱۰۰و ۱۵۰µl مورد بررسی قرار گرفت. خواص ضدباکتریائی عصاره ها به روش رقت سازی در لوله تعیین گردید و حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی آنها بر روی باکتریهای بیماریزای انسانی مانند *استافیلوکوکوس اورئوس*، *سالمونلا تایفی*، *باسیلوس سرئوس*، *اشرشیاکلی* و *پروتئوس ولگاریس* مورد بررسی قرار گرفت.

یافته ها: دراین بررسی مشخص گردید که حداکثر غلظت ممانعت کننده سه سویه از سیانوباکتر های ***Oscillatoria sp1***، ***Lyngbya sp*** با غلظت های ۰/۰۱۲۵ g/ml و ۰/۰۲۵ g/ml به ترتیب قادر به مهار و مرگ باکتری های *باسیلوس سرئوس*، *پروتئوس ولگاریس* و *سالمونلا تایفی* بودند و در غلظت های۰/۰۱۲۵ g/ml و ۰/۰۲۵ g/ml عصار های متانولی ***Oscillatoria sp. 2*** به ترتیب قادر به مهار و مرگ سویه های *سالمونلا تایفی* بودند.

نتیجه‌گیری: این بررسی نشان داد که عصاره متانولی سویه های ***Oscillatoria*** دارای بیشترین اثر برروی باکتری های بیماری زا بوده ولی جهت کاربرد بالینی عصاره ها باید تحقیقات بیشتری در زمینه مکانیسم عمل ترکیبات موثر سیانوباکترها بر روی عوامل میکروبی انجام شود.

واژه‌های کلیدی: حداقل غلظت ممانعت کننده , ***Lyngbya sp , Anabaena sp, Oscillatoria sp***

www.SID.ir

مقدمه

سیانوباکتری ها به عنوان جلبکهای سبز آبی که حاوی پیگمان های خاصی اند شناخته شده اند و قدیمی ترین ارگانیسم های فتوتروف می باشند(۱). رشد جهانی سرطان و افزایش هشدار دهنده مقاومت آنتی بیوتیکی و عفونت در آینده بخاطر مقاومت آنتی بیوتیکی میکروارگانیسم ها در طول سالهای اخیر به تحقیق در مورد سیانوباکتر ها با خاصیت آنتی بیوتیکی نائل شده است (۲-۴). سیانوباکترها ارگانیسم های پروکاریوتیک هستند که توانائی فتوسنتز اکسیژن را دارند. آنها منبع عظیمی برای تولیدات مفید به نظر می رسد و به عنوان تولید کننده ترکیبات بیواکتیو شناخته شده اند (۵و۶). سیانوباکترها پتانسیل خود را در چندین زمینه از جمله عوامل درمانی برای انواع بیماری ها ثابت کردند(۷و۸). آزمایش سیانوباکترها به عنوان آنتی بیوتیک و سایر ترکیبات داروئی به عنوان منبع پتانسیل داروئی در حال افزایش است(۹و۱۰). با توجه به فراوانی و ترکیبات متعدد تولید شده توسط سیانوباکترها امروزه این میکروارگانیسم ها بسیار مورد توجه می باشند. از پساب و بقایای سیانوباکتر ها می توان به صورت مایع و یا جامد تحت عنوان کود بیولوژیک در کشاورزی استفاده نمود (۱۱و۱۲). سیانوباکتر انواع متابولیت های ثانویه مانند آنتی بیوتیکها و همچنین منبع غنی تولیدات طبیعی برای غذا دهی به عنوان کود هستند (۱۳). متابولیتهای ثانویه سیانوباکترها مربوط به سم هورمون آنتی نئوپلاستیک و اثرات ضد میکروبی هستند (۱۴و۱۵) و همچنین در طی دهه اخیر سیانوباکتر ها به عنوان منبع غنی از ویتامین ها و سو خت و تولیدات داروئی شرح داده می شوند (۱۶و۱۷). سیانوباکترهای جدا شده از زیستگاهها می توانند منبع پتانسیل جدیدی باشند برای مواد بیواکتیو که به کاهش شماری از باکتری ها قارچ ها ویروس ها و جلبکها و سایر میکروارگانیسم ها کمک می کنند (۱۸-۲۱). شمار زیادی از عصاره جلبکهای میکروسکوپی و محصولات خارج سلولی برای فعالیت ضد میکروبی مورد بررسی قرار گرفتند و مشخص شده که محیط کشت، دوره های اینکوباسیون، دما و شدت نوری فاکتورهای مهمی در تولید عوامل ضد میکروبی توسط سیانوباکتر ها هستند. دمای ۳۵ درجه ، pH:8 و ۱۵ روز گرماگذاری بهترین شرایط برای رشد و تولید عوامل ضدمیکروبی توصیه شده است (۲۲).

با افزایش تعداد باکتری ها و قارچ ها و ویروس ها و گسترش مقاومت به آنتی بیوتیکها و مشتقات آن، سیانو باکترها نوید بزرگی اند برای داروهای جدید و به عنوان منبع غنی از ساختارهای جدید و متابولیت هائی با فعالیت های بیولوژیکی می باشند(۲۳). متابولیتهای ثانویه یا اولیه تولید شده بوسیله این میکروارگانیسم ها پتانسیل ترکیبات بیواکتیو را در صنعت داروسازی اثبات می کند(۲۴). اینها شامل ترکیبات ضد باکتری هستند که در تستهای آزمایشگاهی مانع از رشد باکتری های مسئول بیماری های مهلک در انسان می شود (۲۵).

عفونت های گاستروانتریت عمدتا توسط *اشریشیا کلی* ، *سالمونلا تایفی*، *باسیلوس سرئوس*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و پروتئوس ایجاد می شوند. *باسیلوس سرئوس* باکتری گرم مثبت میله ای و دارای اندوسپور و عامل عفونت های چشمی و کراتیت شدید و مسمومیت غذائی است. *استافیلوکوکوس اورئوس* باکتری بی هوازی اختیاری، گرم مثبت، کواگولاز مثبت و عامل عفونی آبسه های چرکی و مسمومیت است. مسمومیت غذائی ناشی از انتروتوکسین استافیلوکوکی با دوره نهفتگی کوتاه، تهوع شدید، استفراغ و اسهال و دوره نقاهت سریع تظاهر می یابد. *اشرشیاکلی* باکتری گرم منفی میله ای ، بی هوازی اختیاری، لاکتوز مثبت و سیترات منفی است. ساکن روده بزرگ انسان است اما اگر جابجا شود می تواند بیماری زا شود. طیف بیماری هائی که ایجاد می کند عبارتند از منتژیت، گاستروانتریت و شایع ترین عامل عفونتهای ادراری هستند. *سالمونلاتیفی* باکتری گرم منفی میله ای، بی هوازی اختیاری، متحرک، از تخمیر گلوکز گاز تولید می کند، لاکتوز و اندول منفی است. وقتی از طریق دهان وارد بدن انسان یا حیوان می شود اغلب بیماری زا هستند. آنها از طریق حیوانات و محصولات حیوانی به انسان منتقل می شوند و ایجاد التهاب روده، عفونت سیستمیک و تب روده ای می کنند. *پروتئوس میرابلیس* باکتری گرم منفی، میله ای، بی هوازی اختیاری، متحرک، لاکتوز منفی و اوره از مثبت است و یکی از عوامل مهم عفونتهای ادراری می باشد(۲۶). هدف از این مطالعه جداسازی، کشت و تعیین هویت سویه های سیانو باکتر از استخرهای پرورش ماهی گرمابی ساری ، سردابی دماوند و آب شالیزارهای برنج و همچنین بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره ی سویه های جدا شده بر روی باکتری های بیماریزای انسانی می باشد.

www.SID.ir
Archive of SID

روش بررسی

نمونه برداری: نمونه برداری با استفاده از ظرفهای شیشه ای اتو کلاو شده در شرایط کاملا استریل از چندین مکان از جمله آبهای جاری استخر های پرورش ماهی گرمابی ساری، سردابی دماوند و شالیزارهای برنج در استان مازندران در مقطع زمانی بهار انجام شد. نمونه ها پس از ثبت مندرجات مشخصات تا زمان آزمون در فریزر نگهداری شدند. جهت جدا سازی سیانو باکتر ها حجم ۵۰۰ml نمونه آب از صافی میلی پور با قطر منافذ ۰/۴۵ میکرون عبور داده شد و سپس کاغذ صافی به ارلن حاوی۵۰۰ ml محیط کشت BG11(Medium BG11 for cyanobacteria) انتقال داده شد (۲۷).

تخلیص: با استفاده از روش کشت های متناوب سیانوباکترها جداسازی شدند و به منظور جلوگیری از رشد انواع باکتری ها از مخلوط سه پاد زیست پنی سیلین G، استرپتو مایسین و کلرامفنیکل به میزان ۱۰ml/L ، جهت جلوگیری از رشد تک یاخته ها از اکسید ژرمانیوم با غلظت۵ mg/L و جهت جلوگیری از رشد سایر یوکاریوتها از سیکلوهگزمید با غلظت ۱۰۰mg/l استفاده گردید (۲۸). به منظور شناسایی به وسیله میکروسکوپ نوری نمونه توسط پی پت پاستور استریل برداشته شد و در شرایط کاملا استریل نمونه بر روی لام قرار گرفت و شناسائی و طبقه بندی سیانوباکتری ها برمبنای کلیدهای شناسائی دسیکاچری و مبنای طبقه بندی بر اساس شکل ظاهری و نحوه رشد، تقسیمات سلولی و اندازه سلولی، وجود یا نداشتن غشا لزج در اطراف سلولها، می باشد. مشخصات ذکر شده به عنوان اصول اولیه شناسائی و طبقه بندی سیانوباکتری ها است (۲۹). جداسازی و کشت تک گونه ای نیز توسط میکروسکوپ invert و میکرو پی پت انجام پذیرفت بدین ترتیب که نمونه آب محتوای سیانوباکتر با عدسی ۴۰ x میکروسکوپ invert مورد بررسی قرار گرفت و وقتی سلول نمایان شد با استفاده از میکروپیپت نمونه داخل محیط کشت BG11 در شرایط کنترل شده قرار گرفت(۳۰).

کشت و شرایط رشد: نمو نه ها در دمای ۳۰-۲۵ درجه سانتی گراد و در نور دهی با پرتو های زرد و سفید (100w,220v,E27) به مدت ۴۵ شبانه روز ۱۲h روشنائی و ۱۲ h تاریکی بر روی شیکر با دور ۱۲۰ rpm گر ما گزاری شدند. (۳۱).

تعین وزن خشک: محیط کشت حاوی سیانو باکتر ابتدا سانتریفوژ شدند و رسوب باقی مانده با آب دو بار تقطیر شسته و سپس با کاغذ صافی فیلتر شدند. البته ابتدا وزن کاغذ صافی تعیین شد و بعد از آن در اون با دمای ۶۰ درجه قرار گرفت.

تهیه عصاره: محیط کشت حاوی سیانوباکتر ابتدا سانتریفوژ و سپس در دمای ۶۰ درجه به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفتند. عصاره متانولی با افزودن متانول به توده سیانو باکتر بعد از ۲۴ ساعت آماده و فازها از هم جدا شدند (۳۲).

سو یه های مورد آزمون: در این بررسی از پنج سویه استاندارد میکروبی *استافیلوکوکوس اورئوس* (PTCC 1431) *اشرشیاکلی*(PTCC1533) , *سالمونلا تیفی موریوم* (PTCC1609)، *پروتئوس ولگاریس* (PTCC 1182) ، *باسیلوس سرئوس* (PTCC1154) تهیه شده از سازمان پژو هش های علمی و صنعتی ایران استفاده شد.

روش چاهک گذاری: باکتری را پس از ساب کالچر دادن در محیط مولر هینتون آگار به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۵ تا ۳۷ درجه برای باکتری قرار داده و پس از تعیین رقت از این میکروارگانیسم ها و مقایسه با استاندارد مک فارلند، مجددا در محیطهای مولر هینتون آگار با سواپ پنبه ای استریل کشت پر می دهیم که چاهک هائی نیز در این محیطها تعبیه شده است در داخل هر چاهک مقادیر مشخص از ۵ عصاره ی متانولی سیانوباکتر مورد نظر ریخته ۰ و ۱۰۰ و ۱۵۰ میکرولیتر، سپس باکتری را در داخل انکوباتور در دمای۳۷ درجه قرار داده بعد از ۲۴ ساعت باکتری ها مورد بررسی قرار گرفت(۳۳) در هر نمونه شاهد نیز گذاشته شد.

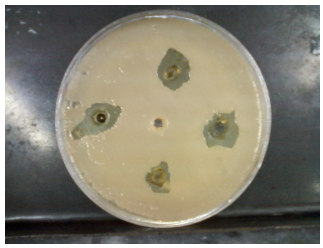
بررسی کمی حساسیت به روش تهیه رقت سریالی: جهت تعیین نسبی حداقل غلظت مهار کننده رشد و حداقل غلظت کشنده باکتری ها از هر کدام از عصاره های متانولی سریالهای رقتی دو برابر به طور مجزا در محیط مولر هینتون براث تهیه شد. سپس به هر کدام از رقت ها به ازای هریک میلی لیتر محیط مایع (۱۰۵ × ۵) باکتری فعال از سوسپانسیون معادل ۰/۵ مک فارلند افزوده شد. در کنار لوله های مورد آزمون از لوله های شاهد مثبت و منفی استفاده شد. بعد از ۲۴ ساعت گرماگذاری در ۳۷ درجه سانتی گراد نتایج قرائت شدند. آخرین رقتی که درآن هیچ رشدی مشاهده نشد به عنوانMIC بر حسب میلی گرم در میلی لیتر در نظر گرفته شد و پس از

www.SID.ir
Archive of SID

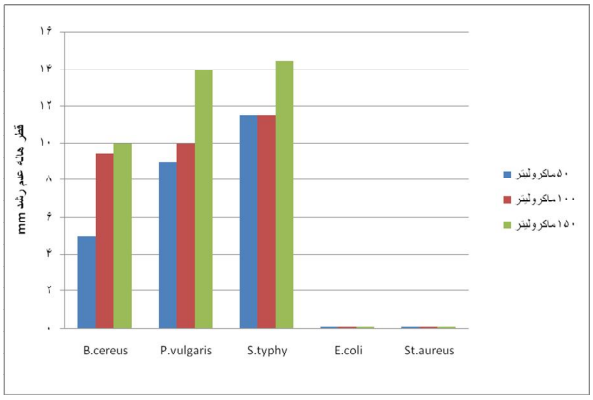
کشت لوله های فاقد کدورت روی محیط مو لر هینتون اگار (شرکت مرک آلمان و مولر هینتون براث محصول شرکت زونا ایتالیا)، آخرین رقتی که قادر به مرگ ۹۹/۹ درصد از باکتری های زنده بود به عنوان MBC عصاره ها تلقی شد (۳۴).

یافته ها

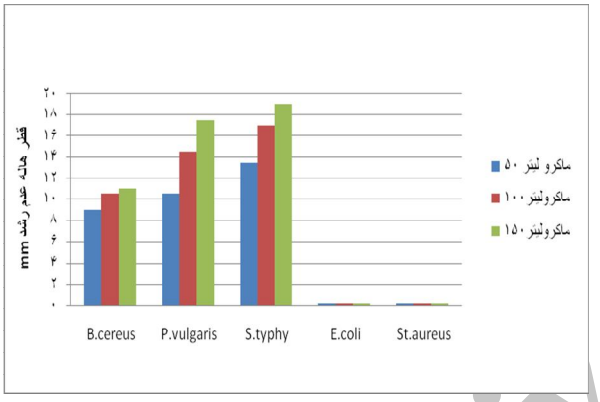
در این بررسی سه سویه سیانو باکتر از نمونه های آب مورد آزمون جدا شدند و تعیین هویت گردیدند. سیانو باکترهای *Oscillatoria spl* و *Oscillatoria sp2* و *Anabaena sp* و *Lyngbya sp* در این رابطه شناسایی شدند. برای آزمون ضد میکرو بی منطقه عدم رشد عصاره سویه های جدا شده در غلظت های ۵۰ و ۱۰۰ و ۱۵۰ میکرولیتر در مقابل باکتری ها در محیط اطراف چاهک اندازه گیری شد، بیشترین هاله عدم رشد در سویه ها ی *Lyngbya sp* با قطر هاله عدم رشد ۲۰ میلی متر و کمترین قطر هاله عدم رشد در سویه های *Anabaena sp* با قطر هاله عدم رشد ۵ میلی متر مشاهده گردید (شکل ۱). در این مطالعه سویه های *Scillatoria spl*، *Oscillatoria sp2*، *Anabaena sp* و *Lyngbya sp* با مقادیر ۵۰ و ۱۰۰ و ۱۵۰ میکرولیتر بر *پروتئوس ولگاریس* و *سالمونلا تایفی* و *باسیلوس سرئوس* هاله باکتریو سایدی تشکیل دادند و بر روی *اشر شیاکلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* بی تاثیر گزارش شدند(جدول ۱).



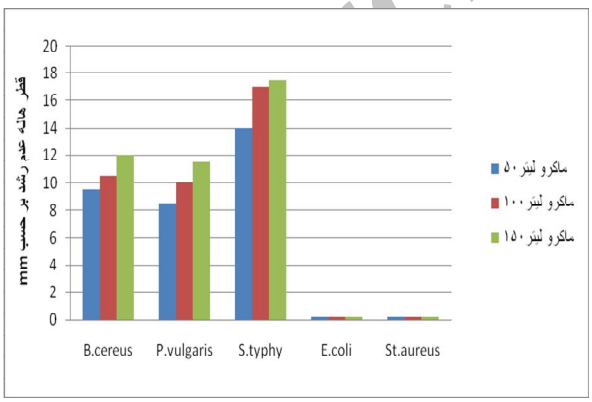
شکل ۱. اثرات ضد باکتریائی عصاره متانولی سویه های سیانو باکتر جدا شده از آب برروی باکتری *سالمونلا تیفی* موریوم با روش آگار دایلوشن متد



نمودار ۱. اثر ضد باکتریائی عصاره متانو لی *Anabaena sp.* بر روی باکتر ی های مورد آزمون



نمودار ۲. اثر ضد باکتریائی عصاره متانو لی *Oscillatoria sp1* بر روی باکتر ی های مورد آزمون



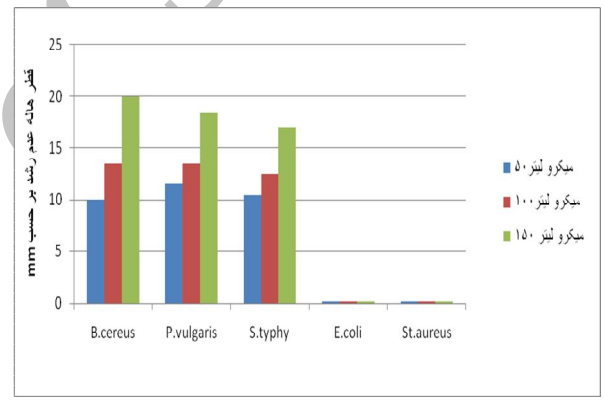
نمودار ۳ . اثر ضد باکتر یائی عصار ه متانو لی *Oscillatoria sp2* بر روی باکتر ی های مورد آزمون

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۱. قطر هاله عدم رشد سو یه های مورد مطالعه در برابر عصاره متانولی سیانو باکتر ها بر حسب میلیمتر

	Oscillatoria sp1			*Anabaena sp*			*Oscillatoria sp2*			*Lyngbya sp*		
	۵۰ µl	۱۰۰ µl	۱۵۰ µl	۵۰ µl	۱۰ µl	۱۵۰ µl	۵۰ µl	۱۰۰ µl	۱۵۰ µl	۵۰ µl	۱۰۰ µl	۱۵۰ µl
B. cereus	۹	/۱۰۵	/۱۳۵	۵	۹	۱۱/۵	۹/۵	۱۰/۵	۱۲	۱۰	۱۱/۵	۲۰
P.vulgaris	۱۰	/۱۴۵	۱۷	۹/۵	۱۰	۱۱/۵	۸/۵	۱۰	۱۱/۵	۱۱/۵	۱۳/۵	۱۸
S.typhy	۱۱	/۱۷۵	۱۹	۱۰	۱۴	۱۴/۵	۱۴	۱۷	۱۷/۵	۱۰/۵	۱۲/۵	۱۷
E.coli	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
St. aureus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-



نمودار ۴ . اثر ضد باکتر یائی عصاره متانو لی *Lyngbya sp* بر روی باکتری های مورد آزمون

میانگین قطر هاله عدم رشد سو یه های مطالعه شده در برابر غلظت های متفاوت عصاره متانولی سیانو باکتر ها در جدول ۱ نمایش داده شده است. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که اثر ضد میکروبی عصاره، وابسته به غلظت بوده و همراه با افزایش غلظت عصاره قطر هاله ممانعت اطراف باکتریها نیز افزایش داشته است (نمودارهای ۱و۲و۳و۴). نتایج حاصل از تعیینMIC و MBC به روش رقت سریال عصاره متانولی سیانو باکتر *Oscillatoria sp1* بر *باسیلوس سرئوس* و *پروتئوس ولگاریس* و *سالمونلا تایفی* نشان داد که مهار رشد و اثر باکتریسیدالی به ترتیب در رقت های ۱:۸ و در رقت ۱: ۴ ، در مورد *Oscillatoria sp2* به ترتیب در رقت های ۱:۸و ۱:۴ و در رقت های۱:۲و ۱:۴ ، در سیانو باکتر *Anabaena sp* رقت۱:۴ و رقت های ۱:۲ و در مورد سیانو باکتر *Lyngbya sp* به ترتیب رقت ۱:۸ و رقت ۱:۴به عنوان MIC وMBC بر روی سویه های نام برده موثر بوده است (جداول ۲و۳). وزن خشک عصاره های متانولی سیانو باکترهای *Oscillatoria sp 1* و*Oscillatoria sp2* *Anabaena sp* و *Lyngbya sp* به میزان gr/ml ۰/۱محاسبه گردید.

جدول شماره ۲ . نتایج MIC سو یه های سیانو باکتر جدا شده از آب بر روی باکتری های بیماری زا بر حسب میلی گرم بر میلی لیتر

S.typhy	*St.aureus*	*E.coli*	*P.vulgaris*	*B.cereus*	
۲۵	_	_	۲۵	۲۵	*oscillatoria sp*
۲۵	_	_	۵۰	۵۰	*Oscillatoria sp2*
۵۰	_	_	۵۰	۵۰	*Anabaena sp1*
۲۵	_	_	۲۵	۲۵	*Lyngbya sp*

Archive of SID

www.SID.ir

جدول شماره ۳ . نتایج MBC سو یه های سیانو باکتر جدا شده از آب بر روی باکتری های های بیماری زا بر حسب میلی گرم بر میلی لیتر

	B. cereus	*P.vulgaris*	*Ecoli*	*St. aureus*	*S.typhy*
oscillatoria sp	۱۲/۵	۱۲/۵	–	–	۱۲/۵
oscillatoria sp2	۲۵	۲۵	–	–	۱۲/۵
Anabaena sp1	۲۵	۲۵	–	–	۲۵
Lyngbya sp	۱۲/۵	۱۲/۵	–	–	۱۲/۵

بحث

بدلیل فراوانی اکوسیستم های طبیعی در ایران پژوهش های علمی در زمینه های مختلف در این مناطق ضرورت دارد. در این پژوهش نمونه برداری از آبهای جاری و استخرهای پرورش ماهی گرمابی ساری و سردابی دماوند و آب شالیزارهای برنج در استان مازندران و دریای خزر نمونه برداری صورت گرفت و جهت ازدیاد و رشد سیانو باکتر ها از محیط BG11 استفاده شد. اولین بار Stainer و همکارانش در سال ۱۹۷۱ از این محیط برای کشت سیانو باکتر ها استفاده نمودند و از آن به بعد این محیط کشت به عنوان محیطی مغذی جهت رشد و جداسازی سیانوباکتر ها معرفی و به کار گرفته شد(۳۵).

دامنه دمائی رشد سیانو باکترها بسیار وسیع بوده و از ۵ تا ۷۵ در جه سانتی گراد متغیر می باشد رشد سیانو باکتر ها عمدتا در pH قلیائی بهتر بوده و در pH کمتر از ۴ رشد آنها بسیار کند شده و تقریبا متوقف می گردد. نظر به اینکه سیانو باکترها جزو پرو کاریوت های فتوسنتز کننده هستند و تامین نور امری ضروری است برخی از محققین نور دهی متناوب با دوره ۱۴ ساعت روشنائی و ۱۰ ساعت تاریکی را جهت رشد استفاده کردند(۳۶). در مطالعه حاضر تولید عوامل ضد میکروبی توسط سیانو باکتر های تخلیص شده از آب در مقابل گونه های متفاوت *باسیلوس سرئوس*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *سالمونلا تایفی*، *اشرشیا کلی* و *پروتئوس ولگاریس* مورد بررسی قرار گرفت. گزارشات اخیر نشان داده که متانول قدرت خوبی در استخراج عصاره از تر کیبات بیواکتیو سیانوباکترها را دارد (۳۷و ۳۸).

Mathivanan و همکاران نیز در سال ۲۰۱۰ در برابر سویه های مورد آزمون بین قطر هاله عدم رشد و غلظت عصاره *Lyngbiya maguscula* و *oscillatoria princeps* رابطه مستقیمی یافتند و از عصاره سیانوباکتری های *Oscillatoria princes* و *Lyngbya maguscule* بر روی باکتریهای *باسیلوس سوبتیلیس*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *کاندیدا آلبیکانس آسپرژیلوی نیجر* ، *سودوموناس آروژینازا* قطر هاله عدم رشد را به تر تیب ۱۴ ، ۱۷ ، ۶ ، ۲۱، ۱۲ ، ۲۱ ، ۱۸ ، ۱۵ ، ۱۵ ، ۱۳ و ۱۱ میلی متر گزارش نمودند(۳۹). Rania و همکاران در سال ۲۰۰۸ اثر عصاره ی متانولی سه جنس سیانوباکتر *Tolypothrix ceytonica* ,*Anabaena oryzae* ,*Spirulina platensis*, را به روش چاهک گزاری جهت بررسی تولید عوامل ضدمیکروبی و ضدقارچی آنها بر روی طیف گسترده ای از میکروارگانیسم ها از جمله *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشرشیا کلی* که محرک بیماری انسان است بررسی نمودند. ایشان نشان دادند که *Spirulina platensis* و *Anabaena oryzae* بیشترین اثر ضد میکروبی و ضد قارچی را دارند. آنها هاله عدم رشد عصاره ی متانولی سیانوباکتر *Anabaena oryzae* را بر روی باکتری های *اشرشیا کلی* *باسیلوس سوبتیلیس* ، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *سودوموناس آروژینازا* را به ترتیب ۲و ۱/۵و۱و۲ سانتی متر گزارش نمود و هاله عدم رشد عصاره ی متانولی سیانوباکتر *Spirulina platensis* بر روی باکتریهای *استافیلوکوکوس اورئوس* و *سودوموناس آروژینازا* را به ترتیب ۱/۰و ۲/۵ سانتی متر گزارش نمود(۴۰).

Abraham در سال ۲۰۱۱ انواعی از سیانوباکترها را از مکان های متفاوتی ازسواحل دریا Nagappattinum جداسازی و جهت آزمایشات ضد میکروبی استفاده کرد. از جمله سیانوباکترهای جدا شده , *Lynbya majuscule* و *Oscillatoria boryanum* را می توان نام برد که بر *استافیلوکوکوس اورئوس* قطر هاله عدم رشد به ترتیب ۱۲و۱۷ میلی متر را گزارش نمود(۴۱). P. Kaushik در سال ۲۰۰۷ اثر ضد میکروبی عصاره ی متانولی*Spirulina platensis* و چهار باکتری گرم منفی *کلبسیلا پنومونیه*، *سالمونلا تیفی*، *اشرشیا کلی* و *سودوموناس آروژینازا* را برای یک باکتری گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* استفاده نمود و به ترتیب قطر هاله عدم رشد را ۱ /۰±۵۱/۲۱ ، ۰/۴۷ ±۱۲/۴۲ ، ۰/۳۸±۱۱/۲۵ و ۰/۱۸±۱۱/۵۲ گزارش نمود. در مقابل نتایج MIC عصاره

Archive of SID
www.SID.ir

متانولی برای *اشرشیا کلی* و *استفیلوکوکوس اورئوس* به ترتیب ۱۲۸ و ۲۵۶ میکروگرم بر میلی لیتر بوده است(۴۲).

P. Kaushik در سال ۲۰۰۸ اثر ضد میکروبی عصاره متانولی سیانوباکتر *Nostoc commune* را برای باکتری های گرم مثبت *باسیلوس سوبتیلیس*، *استفیلوکوکوس اورئوس*، *باسیلوس سرئوس* و *باسیلوس پومیلوس* و باکتری های گرم منفی *کلبسیلا پنومونیه*، *سالمونلا تیفی* و *اشرشیا کلی* بررسی نمود. نتایج نشان داد عصاره متانولی هیچ اثر ضد میکروبی در مقابل *کلبسیلا پنومونیه*، *سالمونلا تیفی* نداشت. نتایج MIC عصاره متانولی در مقابل باکتری *استفیلوکوکوس اورئوس* ۱۲۸ میکروگرم بر میلی لیتر، در مقابل *اشرشیا کلی* ۲۵۶ میکروگرم بر میلی لیتر، و در مقابل باکتری *باسیلوس پومیلوس* ۵۱۲ میکروگرم بر میلی لیتر، بوده است (۴۳). در این تحقیق از باکتری های بیماری زای *اشرشیاکلی* ، *باسیلوس سرئوس* ، *پروتئوس ولگاریس*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *سالمونلا تایفی* به عنوان شاخص های باکتری های عامل گاستروانتریت با روش چاهک گذاری جهت بررسی اثر ضد میکروبی عصاره استفاده گردید. گزارشات زیادی در خصوص عصاره الکلی جنس های مختلف سیانوباکتر ها وجود دارد. در مطالعه دیگری Chestumon و همکاران در سال ۱۹۹۳ از سیانوباکتر های جدا شده از دریاچه ای از شمال تایلند خاصیت آنتی بیوتیکی بر علیه *باسیلوس سوبتیلیس* را گزارش نمودند(۴۴). در این بررسی نیز خاصیت آنتی بیوتیکی عصاره های متانولی *Lyngbya sp, Oscillatoriasp1, Oscillatoriasp2* Anabaena sp بر روی باکتری های *سالمونلاتیفی* و *باسیلوس سرئوس* و *پروتئوس ولگاریس* به اثبات رسید در حالیکه این سیانوباکترها بر روی باکتری های *اشرشیاکلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* بی تاثیر بودند. در این تحقیق بیشترین هاله عدم رشد را *Lyngbya sp* با قطر هاله عدم رشد ۲۰ میلی متر و کمترین هاله عدم رشد را *Anabaena sp* با قطر هاله عدم رشد ۵ میلی متر بر *باسیلوس سرئوس* مشاهده گردید. حداکثر قطر عدم رشد با عصاره متانولی *Oscillatoria sp1* (۱۹ میلی متر) در مورد *استافیلوکوکوس اورئوس* مشاهده شد. نتایج حاصل از کمترین غلظت ممانعت کننده از رشد در جنس های *Lyngbya sp sp1, Oscillatoria* با مقدار ۱۲/۵ میلی گرم بر میلی لیتر و کمترین غلظت کشندگی با مقدار ۵۰ میلی گرم بر میلی لیتر با مشاهدات محققانی مانند Abhishek و همکارانش همسویی نشان می دهد. این محققان نشان دادند که عصاره ی متانولی سیانوباکتر *Anabaena sp* بر *B.cereus* هاله عدم رشد ایجاد می کند اما بر روی باکتری *سالمونلا تیفی* بی تاثیر می باشد(۴۵). طبق گزارشات Falch و همکارانش ترکیبات فعال fischerella ambigua خاصیت آنتی بیوتیکی فعال بر ضد *اشرشیا کلی* دارد(۴۶). درتحقیقی دیگر Vigaya و همکارانش در سال ۲۰۰۹ قطر هاله عدم رشد عصاره *Oscillatoria.sp* و *L.maguscule* بر روی باکتری *استفیلوکوکوس اورئوس* را به تر تیب ۷/۵ –۵/۵ میلی متر گزارش نمودند(۴۷). Ghasemi و همکاران در سال ۲۰۰۳ با استفاده از عصاره محیط کشت سیانوباکتر به عنوان ماده ضد میکروبی بیشترین اثر ضد میکروبی را برای *استفیلوکوکوس اورئوس* و کاندیدا کروزی به تر تیب ۱۴ و ۸ میلی متر گزارش نمودند(۴۸). این مطالعه نشان داد که بین غلظت عصاره سه جنس سیانوباکتر جدا شده و قطر هاله عدم رشد در تمامی موارد رابطه مستقیمی وجود دارد بدین معنی که با کاهش غلظت عصاره در همه حال قطر هاله عدم رشد کاهش داشته است.

نتیجه گیری

نتایج حکایت از این واقعیت دارد که عصاره متانولی سیانو باکتر اثر ضد باکتریائی مشخصی دارد که با افزایش غلظت یا به عبارت دیگر با افزایش ماده موثر این اثر بیشتر می شود. با توجه به حضور سیانوباکترها و رشد وسیع آنها در آب های مورد مصرف دامها و انسانها بررسی اثرات ضد میکروبی شان بر روی باکتری های روده ای امری ضروری به نظر می رسد.

References

1. Abedin RMA, Taha HM. *Antibacterial and antifungal activity of cyanobacteria and green microalgae. Evaluation of medium components by Plackett- Burman design for antimicrobial activity of cyanobacteria and green microalgae.* Global J.Biotech &. Biochem. 2008; 3(1):22- 31.
2. Kaushik P, Chauhan A. *In vitro antibacterial activity of laboratory grown culture of cyanobacteria and green microalgae.* Indian Journal of Microbiology. 2008; 48:348-352.
3. Martins RF, Ramos MF, Herfindal L, Sousa JA, Skærven K,Vasconcelos VM. *Antimicrobial and cytotoxic Assessment of Marine cyanobacteria- Synechocystis and Synechococcus.* Mar. Drugs. 2008; 6(4):1-11.
4. Patil LS, Kulkarni MV, Puranik PR. *Assessment of antibacterial potential of some indigenously isolated cyanobacterial species*. Journal of pharmacy research. 2009; 2(6):1116-1119.
5. Carmichael WW. *Health effects of toxinproducingcyanobacteria: "The cyanoHABs"*

www.SID.ir
Archive of SID

Human and Ecological Risk Assessment. 2001; 7(5): 1393-1407.
6. Codd GA, Bell SG, Kaya K, Ward CJ, Beattie KA, Metcalf JS. *Cyanobacterial toxins, exposure routes and human health*. Eur. J. Phycol. 1999; 34, 405–415.
7. Harada H, Yamashita H, Kurihara E, Fukushi J, Kawabata Y. *Antitumor activity of palmitic acid found as a selective cytotoxic substance in a marine red alga.* Anticancer Res. 2002; 22:2587-2590.
8. Romanos M, Andrada-Serpa MJ, Mourao PA, Yoneshigue-Valentin Y, Costa SS, Pereira MS, et al. *A sulphated fucan from the Laminaria abyssalisinhibits the human T cell lymphotropic virus type 1- induced syncytium formation in HeLa cells.* Antivir. Chem. Chemother. 2002; 13(4): 219-21.
9. Codd GA, Steffensen DA, Burch MD, Baker PD. *Toxic blooms of cyanobacteria in Lake Alexandrina:learning from history.*Aust. J. Mar. Freshwater Res. 1994; 45(2):731-736.
10. Borowitzka, AM. *Microalgae as source of pharmaceuticals and biologically active compounds*. J.Appl. Phycol.1995; 7: 3-15.
11. Berkelye.photosynthetic bacteril.Life History and Ecology; 2007.
12. Moore RE. *Constituents of blue-green algae*. In:Marine Natural Products: Chemical and Biological Perspectives. New York: (Ed.): P.J. Scheuer. AcademicPress New York.1981; 4: 1-52.
13. Siddiqui BA. *Characterization offive marine cyanobacterial species with respect to their Ph and salinity requirements*. Pak. J. Bot. 2004; 36(1): 133-143.
14. Carmichael WW. *Cyanobacteria secondary metabolites--the cyanotoxins.* J. Appl. Bacterio.1992; 72(6): 445-459
15. Patterson GML, Baker KK, Baldwin CL, Bolis CM, Caplan FR, Larsen LK, et al. *Antiviral activity of cultured blue-green algae (Cyanophyta).* Journal of phycology. 1993; 29: 125-130.
16. Chacon-de-Popoici G. *Plankton blooms, their efects on the marine organisms for the quantitativeanalysis of microcystins in cyanobacterial cells.* Phycologi. 1994; 35(6): 57-61.
17. Miura Y, Sode K, Narasaki Y, Matsungaga T. *Light induced antimicrobial activity of extract fom marine Chlorella.* J. Mar. Biotechnol. 1993; 1(3): 143- 146.
18. Mundt S, Kreitlow S, Nowotny A, Effmert U. *Biochemical and pharmacological investigations of selected cyanobacteria.* Int. J. Hyg. Environ. Health. 2001; 203: 327-334.
19. Glombitza KW, Koch M. *Secondary metabolites of pharmaceutical potential*. In: Cress Well R.C, Rees T.A.V, Shah. Algal and Cyanobacterial. Book of Biotechnology, Longman Scientific Technical, Harlow, UK.1989;161-238
20. Schwartz RE, Hirsch CF, Sesin DF. *Pharmaceuticalsfrom cultured algae*. Journal of Industrial Microbiology. 1990; 5: 113-124.
21. El-Sheekh MM, Osman ME, Dyab M, Amer MS. *Production and characterization of antimicrobial active substance from the cyanobacterium Nostoc muscorum Toxicol.* Pharmacol. 2006; 21: 42-50.
22. Noaman NH, Fattah A, Khaleafa M, Zaky SH. *Factors affecting antimicrobial activity of Synechococcus leopoliensis*. Microbiological Research. 2004; 159: 395-402.
23. Singh S, Bhushan K, Banerjee U. *Bioactive Compounds from Cyanobacteria and Microalgae: An Overview*. Critical Reviews in Biotechnology. 2005; 25 (3): 73-95.
24. Tuney I, Cadirci BH, Nal D, Sukatar A. *Antimicrobial activiters of the extracts of marine algae from the coast of Urla (Izmir,Turkey).Turk.* J.Biologhy. 2006; 30: 171-175.
25. Kulik MM. *The potential for using cyanobacteria and algae in the biological control of plant pathogenic bacteria and fungi.* Eur. J. Plant Path. 1995; 101(6), 585-599.
26. Brooks G, Butel G, Morse S. *jawets Melnick Adelbergs medicamicrobiolog*, 23nd Naslefarda. 1383; 328-346.
27. Summer MI, Wallisg G, Campbell EL, Meeks JC. *Genetic evidence of a magor role for glucose-6-phosphate dehyrogenase in nitrogen fixating and dark growth of the cyanobacterunm Notoc.strain ATCC29133.* J Bacteriol. 1995:177(21):6184-6194.
28. Castenholz Richard W. *Thermophilic cyanobacteria, Methods in enzymology*. 1988; 167:96-100.
29. Desickachary TV. *Cyanophyta.indian council of agricultural research*. New dehli. 1959; 198-243.
30. Sorina A. *Phtoplankton manual*. Published by the united nation educational scientific of cultured organization.1978; pp: 329.
31. Miamoto H, Yoshida WY, Moore RE, Paul VG, Mooberry SL. *Isolation structure determination and biologicalactivity of lyngbyabellinA from the Marine cyanobacterium lyngbiamaguscule.* Ibid; 1988.
32. Vlachos V, Critchley AT, Von Holy A. *Establishment of a protocol for testing antimicrobial activity in southern African macroalgae.* Microbios.1996; 88: 115-123.
33. Perez C, Paul M, Bezique P. *An Antibiotic assay by the agar well diffusion method*. Acta Biologiae et Medecine Experimentaalis. 1990; 5: 113-115.
34. Samsam shariat H. *Extraction of effective componentsfrom medicinal plants and theirdiagnostic and evaluation methods*.1st ed.Mani press.Esfehan. 1992; pp: 8-20.
35. Stanier RY, Kunisawa R, Mandael M, Cohen-BlazireG. *Purification pr operties of unicellular blue- green algae (order Chlorococcaies).*Bacteriol Rev; 1971; 35(2):171-205.
36. Castenholz RW. *Culturing Methods of cyanobacteria, Methods in enzymology.* Academic Press, San Diego.1988; 167:68-93.
37. Asthana RK, Srivastava A, Singh AP, Singh SP, Nath G, Srivastava R, Brahm S. *Identification of an antimicrobial entity from a cyanobacterium Fischerella sp. isolated from bark of Azadirachta indica (Neem) tree.* Journal of Applied Phycology; 2006; 18:33-39.

Archive of SID

www.SID.ir

38. Patil LS, Kulkarni MV, Puranik PR. *Assessment of antibacterial potential of some indigenously isolated cyanobacterial*. Journal of Pharmacy Research. 2009; 2(6):1116-1119.
39. Mathivanan K, Ramamuthy V, Rajaram R. *ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF Oscillatoria princeps AND Lyngbya majuscule AGAINST PATHOGENIC MICROBES.* International jornal of Current Research.2010; 5:097-101.
40. Rania MA, Abedin M. *AntIbacterial and Antifungal Activity of Cyanobacterial and Green Microalgae Evaluation Of Medium Components Plackett – Burmam Design for Antimicrobial ActivIity Activity of Spirulina Platensis*. Global Journal of Biotechnology &Biochemistry.2008; 3(1):22-31.
41. Ritika Ch, Silambarasan S, Jayanthi A. *Biodiversity of Marine Cyanobacteria and its Antibacterial Activity*. IJPI's Journal of Biotechnology and Biotherapeutics. 2011; 1 (4).
42. Kaushik P, Abhishek Ch. *In vitro antibacterial activity of laboratory grown culture of Spirulina platensis* . Indian J. Microbiol. 2008; 48:348–352.
43. Kaushik P , Chauhan A, Chauhan G , Goyal P . *Evaluation of Nostoc commune for potential antibacterial activity and UV-HPLC analysis of methanol extract.* The Internet Journal of Microbiology. 2008; 5 (1):328-340.
44. Chetsumon A, Hirata K, Miura Y, ikuta Y, Hamsaki A. *Factor's affecting antibiotic production in bioreactors with immobilized algal cells.* Appl.Biochem .Biotech. 1993; 39-40(1): 573-586.
45. Abhishek Ch, Garima Ch, Prakesh G, pankaj G. *Labratoary methods for blue –green algae*: Asso.pub;1987.
46. Falch BS, Konig GM, Wright AD, Sticher O, Angerhofer CK, Pezzuto JM, Bachmann H. *Biological activities of cyanobacteria: Evaluation of extracts and pure compounds*. Planta Med. 1995; 61:321-328.
47. Vijaya G, Baskara S, Ashok Prabu V. *Antibacterial Activity of Cyanobacterial Species from Adirampattinam Coast,Southeast Coast of Palk Bay.* Journal of current Research Biological Sciences. 2010; 2(1):24-26.
48. Ghasemi Y, Tabatabaiei yazdi M, Shokravi S, Soltani N, Zarrini G. *Antifungal and antibacterial activity of Paddy- filds Cyanobacteria from the north of Iran. Journal of Sciences,IslamicRepublic of Iran*. 2003; 14: 203- 209.

Archive of SID

www.SID.ir