Archive of SID

مجلـه دانشگـاه علـوم پـــزشکـی اردبیـل

دوره یازدهم، شماره چهارم، زمستان ۱۳۹۰، صفحات ۳۲۹ الی ۳۳۶

بررسی فعالیت ضدمیکروبی سیانوباکتری‌های جدا شده از حوضه آبریز دریاچه ارومیه

دکتر غلامرضا زرینی[۱]، دکتر ایرج رسولی[۲]، محسن اباذری[۳]، دکتر یونس قاسمی[٤]

[۱]نویسنده مسئول: استادیار گروه زیست شناسی، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران **E-mail:** zarrini@tabrizu.ac.ir

[۲] استاد گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شاهد، تهران، ایران [۳] دانشجوی کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شاهد، تهران، ایران [٤] دانشیار گروه بیوتکنولوژی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران

چکیده

زمینه و هدف: گسترش مشکل مقاومت میکروبی، نیاز به تحقیقات دارویی را، برای جایگزینی داروهای شیمیایی ضروری کرده است؛ که از ارزنده ترین جایگزین‌ها، متابولیت‌های ثانویه آنتی بیوتیکی سیانوباکتری‌ها است. از آن جایی که تاکنون گزارشی از بررسی فعالیت ضدمیکروبی سیانوباکتری‌های حوضه آبریز دریاچه ارومیه صورت نگرفته است؛ لذا در این تحقیق به بررسی خواص ضدباکتریایی و ضدقارچی سیانوباکتری‌های جدا شده از دریاچه ارومیه و شناسایی سویه‌های پرتوان پرداخته ایم.

روش کار: انواع نمونه‌های محیطی برای جداسازی سویه‌های سیانوباکتری غربالگری شد؛ علاوه بر سوپرناتانت محیط‌های کشت، عصاره‌های سیانوباکتری‌ها با استفاده از انواع حلال‌ها تهیه گردید. اثر سوپرناتانت و عصاره‌های سیانوباکتری با استفاده از روش انتشار از دیسک و همچنین اندازه‌گیری حداقل غلظت بازدارندگی (MIC; Minimum Inhibitory Concentration) علیه باکتری‌های گرم مثبت و منفی و قارچ‌ها بررسی شد؛ سیانوباکتری‌های دارای فعالیت ضدمیکروبی بالا بر اساس ویژگی‌های ماکروسکوپیک و میکروسکوپیک و همچنین توالی 16SrRNA مورد شناسایی قرار گرفتند.

یافته ها: در این بررسی تعداد ٥٤ سویه مختلف سیانوباکتری جداسازی شد که شش سویه با داشتن اثرات ضدمیکروبی قابل توجه شناسایی شدند که مربوط به جنس‌های Synechococcus sp., Gloeocapsa sp., Anabaena sp., Nodularia sp., Leptolyngbya sp. و گونه *Chroococcus disperses* بودند. بهترین اثر ضدمیکروبی با عصاره‌های کلروفرمی حاصل شد که روی باکتری‌های گرم مثبت و قارچ‌ها بیشترین اثر مشاهده شد. مقادیر MIC در سویه‌های سیانوباکتریایی مورد مطالعه بین۲۰ تا ۸۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر متغیر بود و سویه لپتولینگبیا با داشتن MIC حدود ۲۰µg/ml روی کاندیدا کروزئی بالاترین فعالیت ضدمیکروبی را در بین سیانوباکتری‌ها نشان داد.

نتیجه گیری: بر اساس نتایج بدست آمده سیانوباکتری‌ها می‌توانند به عنوان یکی از منابع تولید ترکیبات ضدمیکروبی مطرح شوند. نتایج حاصل نشان داد که سیانوباکتری‌های رشته‌ای Anabaena sp., Nodularia sp., و Leptolyngbya sp. ترکیبات موثرتری را علیه باکتری‌های گرم مثبت و قارچ‌های مخمری تولید می‌کنند.

کلمات کلیدی: سیانوباکتری‌ها؛ اثرات ضدمیکروبی؛ دریاچه ارومیه؛ لپتولینگبیا

دریافت: ۹۰/۵/۲۷ **پذیرش:** ۹۰/۸/۲۵

مقدمه

با توجه به گسترش روزافزون مقاومت‌های آنتی بیوتیکی در بین سویه‌های بیماریزای باکتریایی و همچنین محدود بودن داروهای ضدقارچی، جستجو برای یافتن ترکیبات جدید ضدمیکروبی هنوز هم به عنوان یکی از راهکارهای مورد توجه برای حل این

لطفا به این مقاله به شکل زیر ارجاع دهید:

Zarrini G, Rasooli I, Abazari M, Ghasemi Y. Investigation of Antimicrobial Activity of Cyanobacteria Isolated from Urmia Lake Catchment Area. J Ardabil Univ Med Sci. 2011; 11(4): 329-336. (Full Text in Persain)

www.SID.ir

Archive of SID

معضل مطرح است. از اینرو یکی از روش‌های دستیابی به ترکیبات جدید، غربالگری و جداسازی میکروارگانیسم های جدید است.

سیانوباکتری‌ها گروه بسیار بزرگی از ارگانیزم‌ها هستند که در زیستگاه‌های مختلف از جمله آب‌های شیرین، شور و خشکی وجود دارند[۱].

سیانوباکتری‌ها که پیش‌تر به جلبک سبز- آبی نیز معروف بودند یوباکتری‌های گرم منفی هستند که در سر تا سر جهان پراکنده‌اند [۲].

فتوتروف بودن و عدم نیاز به مواد آلی در کشت سیانوباکتری‌ها، از نظر بیوتکنولوژی یک مزیت اقتصادی محسوب می‌شود که سیانوباکتری‌ها را نسبت به میکروارگانیسم‌های دیگر برتری می‌بخشد. از طرفی داشتن مسیرهای متابولیکی ویژه و اطلاعات محدود ما از این ارگانیسم‌ها امکان دستیابی به ترکیبات جدید در این میکروارگانیسم‌ها را قوت می‌بخشد [۳].

از اینرو سیانوباکتری‌ها از جمله میکروارگانیسم‌هایی هستند که امروزه به طور گسترده‌ای جهت تولید ترکیبات جدید مورد غربالگری قرار می‌گیرند [٤] و ترکیبات بسیاری با قابلیت‌های بیولوژیک مختلف از آن‌ها شناسایی شده است که از آن جمله ترکیبات ضدمیکروبی است[۸-۵].

در سال‌های اخیر ترکیبات ضدمیکروبی متعددی از سیانوباکتری ها جداسازی شده‌اند که هرکدام دارای طیف اثر متنوعی روی باکتری‌ها و قارچ‌ها بودند. از سیانوباکترهای خانواده استیگونماتال، نوستوکال و اوسیلاتوریال ترکیبات ضد قارچی و ضد باکتریایی مختلفی مانند fishorellin A، hapalindole، cavazostatin، tolytoxin، tjipanazole، toyocamycin، scytophycin، nostocyclamide گزارش شده است [۱۳-۹] .

در بررسی دیگری از عصاره اتیل استات اسپیرولینا پلاتنسیس[1] ترکیبات هپتادکان و تترادکان جداسازی شد که بازدارنده رشد باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی و کاندیدا آلبیکنس است [۱۰].

سیانوباکتری اوسیلاتوریا[2] اسیدهای چرب، تترا آمین، مشتقات اسپرمین و پیپیرازین را تولید می‌کند که دارای فعالیت ضدمیکروبی است [۱۱،۱۲].

در این راستا، محیط‌های حوزه دریاچه ارومیه به واسطه داشتن شرایط محیطی ویژه و امکان جداسازی سیانوباکتری‌هایی با توانایی تولید ترکیبات ضدمیکروبی جدید در این مطالعه مدنظر قرار گرفت.

روش کار

غربالگری، کشت و جداسازی سیانوباکتری ها

نمونه‌برداری از مناطق آبی، رسوبات کناری و نمک دریاچه ارومیه و نواحی اطراف آن به عنوان مناطق اکولوژیکی خاص، انجام شد. نمونه‌های جمع‌آوری شده به آزمایشگاه منتقل گردید. نمونه‌های تهیه شده روی محیط کشت سنتتیک BG-11 کشت داده شدند؛ این محیط که از رایج‌ترین محیط‌های مورد استفاده برای سیانوباکتری‌ها است در هر لیتر حاوی: ۰/۰۷۵ میلی‌گرم $MgSO_4.7H_2O$، ۳۶ میلی‌گرم $CaCl_2.2H_2O$، ۱۵۰۰ میلی‌گرم $NaNO_3$، ۳۰ میلی‌گرم K_2HPO_4، ۲۰ میلی‌گرم Na_2CO_3، ۱ میلی‌گرم $Na_2EDTA.2H_2O$، ۶ میلی‌گرم فریک آمونیوم سیترات و ۱ میلی‌لیتر محلول میکرونوترینت (A_5+CO) بود. ترکیب (A_5+CO) شامل ۲۸۶ میلی‌گرم H_3BO_3، ۱۸۱ میلی‌گرم $MnCl_2.4H_2O$، ۲۲ میلی‌گرم $ZnSO_4.7H_2O$، ۳۹ میلی‌گرم $NaMoO_4.2H_2O$، ۷۹ میلی‌گرم $CuSO_4.5H_2O$ بود که با ۱۰۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه به حجم نهایی رسیده شد. برای حفظ عناصر و ترکیبات محیط کشت به جای اتوکلاو از فیلتر استفاده گردید.

[1]Spirulina platensis

[2]Oscillatoria

www.SID.ir

Archive of SID

پس از رشد اولیه، نمونه‌ها در محیط جدید واکشت شدند و خالص سازی گردیدند. نمونه‌های خالص در محیط مایع در دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد با نور ۳۵۰۰ لوکس در دوره‌های روشنایی/ تاریکی ۱۶ ساعت/ ۸ ساعت و با چرخش ۱۰۰ دور در دقیقه گرماگذاری شدند.

عصاره گیری

نمونه‌های سیانوباکتریایی در محیط کشت مایع BG-11 تا اواخر مرحله لگاریتمی که بسته به سرعت رشد نمونه از ۱۰ تا ۲۰ روز می‌باشد کشت داده شدند. سپس محیط کشت سانتریفوژ شده و رسوب‌های سلولی به مدت یک شب با حلال‌های شیمیایی مجاور و عصاره‌گیری شدند. عصاره‌های اتیل استات، دی اتیل اتر، متانول، کلروفرم و همچنین مایع رویی خام محیط کشت‌ها از نظر وجود ترکیبات ضدمیکروبی بررسی گردیدند.

تعیین فعالیت ضد میکروبی

فعالیت ضدمیکروبی عصاره‌های سیانوباکتریایی روی استافیلوکوکوس اورئوس[۱]، میکروکوکوس لوتئوس[۲]، اشریشیا کولی[۳]، اروینیا کاروتوورا[٤]، کاندیدا کفیر[۵]، کاندیدا کروزئی[۶] و آسپرژیلوس نایجر[۷] آزمایش شد. برای این منظور از روش استاندارد انتشار از دیسک (Disk Diffusion Method) و روش رقت سازی در لوله (Tube Dilution Method) استفاده شد. در روش انتشار از دیسک هر یک از عصاره‌ها ابتدا خشک و رسوب آن توزین شد و سپس در حجم مشخصی از حلال مجددا حل گردید تا غلظت ۳۰µg/Disc از هر یک از عصاره‌ها در دیسک‌های استاندارد تهیه شود که به همراه جنتامیسین و آمفوتریسین B در محیط کشت مولر هینتون آگار برای باکتری‌ها و محیط سابرود دکستروز آگار برای قارچ‌ها مورد ارزیابی قرار گرفتند. غلظت نیم مک فارلند از باکتری‌های آزمون (۱/۵ $۱۰^{۸}$cfu/ml) تهیه شد و در سطح محیط‌ها با سواب استریل کشت داده شدند و دیسک‌ها روی محیط در فواصل منظم قرار داده شدند. نتایج بعد از ۱۸ ساعت گرماگذاری در ۳۷ درجه سانتی‌گراد برای باکتری‌ها و ۳۶ ساعت در ۲۵ درجه سانتی‌گراد برای قارچ‌ها به صورت قطر هاله عدم رشد برحسب میلی‌متر اندازه‌گیری شد. برای تعیین MIC به روش رقت‌سازی در لوله مقدار $۱۰^{۵}$ cfu/ml از میکروارگانیسم‌های مورد آزمون در لوله‌ها وارد شد و به ترتیب پس از ٢٤ ساعت و ۳۶ ساعت برای باکتری‌ها و قارچ‌ها میزان کدورت لوله‌ها مقایسه شد و کمترین غلظتی از عصاره که از ایجاد کدورت جلوگیری می‌کند مشخص شد. از لوله‌هایی که رشد در آن‌ها اتفاق نیفتاده بود به محیط فاقد ماده بازدارنده برده شد تا حداقل غلظت باکتری کش[۷] (MBC) و قارچ کش[۸] (MFC) تعیین گردد.

شناسایی سویه های سیانوباکتریایی

شناسایی بر اساس ویژگی‌های مورفولوژیکی و مولکولی انجام شد. در روش مورفولوژیک مشخصات میکروسکوپیک و ماکروسکوپیک سویه‌های مورد نظر با کلیدهای شناسایی سیانوباکتری‌ها استفاده گردید [۱۷-١٤].

از مشخصات مهم میکروسکوپیک می‌توان به تک سلولی و رشته‌ای بودن، شکل سلول، اندازه و ابعاد آن‌ها، آرایش سلول‌ها در کلنی‌ها، داشتن یا نداشتن غلاف لعابی، در انواع رشته‌ای (تریکومی) منشعب یا ساده بودن تریکوم، داشتن سلول‌های تخصص یافته مثل هتروسیست، آکاینت و واکوئل‌های گازی، داشتن یا نداشتن حرکت لغزشی و از مشخصات ماکروسکوپیک می‌توان به شکل کلنی و رنگ آن در محیط‌های جامد و مایع اشاره کرد. همچنین

[1] Staphylococcus aureus
[2] Micrococcus luteus
[3] Escherichia coli
[4] Erwinia carotovora
[5] Candida kefyr
[6] C. krusei
[7] Aspergillus niger

www.SID.ir

Archive of SID

ویژگی‌های بیوشیمیایی و قابلیت رشد در محیط‌های مختلف ارزش شناسایی دارند.

در روش مولکولی از تعیین توالی RNA ریبوزومی S ۱۶ استفاده شد. به منظور جداسازی ژن 16S rRNA از واکنش PCR با پرایمرهای اختصاصی سیانوباکتری ها استفاده شد [۱۹-۱۸].

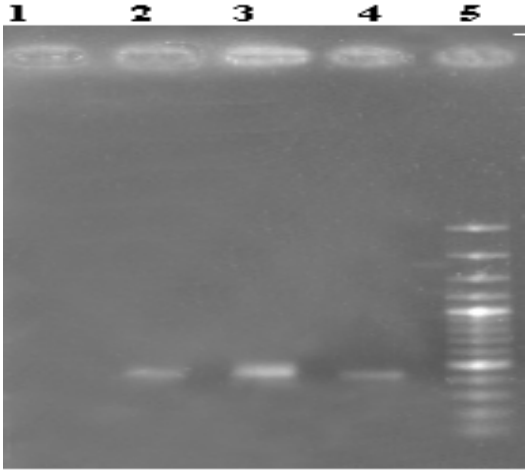
CYR359: 5′-GGG GAA TYT TCC GCA ATG GG-3′

CYR781: 5′-GAC TAC WGG GGT ATC TAA TCC CWTT-3′

مخلوط واکنش PCR شامل ۲/۵µl بافرx۱۰، ۰/۵µl dNTP (10mM)، ۱µl از هریک از پرایمرها (10 pmol)، ۰/۷۸µl MgCl2، ۵µl از DNA ژنومی سیانوباکتری و ۰/۲۵µl آنزیم Taq polymerase بودکه با آب مقطر استریل به حجم نهایی ۲۵µl رسانده شد. واکنش با دمای ۹٤ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ دقیقه شروع شد و در ۳۰ چرخه با برنامه دمایی ۹٤ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ ثانیه، ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ ثانیه و ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۹۰ ثانیه دنبال شد و نهایتا با یک زمان ۵ دقیقه ای در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد واکنش تکمیل شد. محصول PCR روی ژل آگاروز ۱٪ الکتروفورز گردید و پس از تایید اولیه برای تعیین توالی ارسال گردید. توالی‌های بدست آمده با توالی‌های ثبت شده در NCBI انطباق داده شد تا بیشترین قرابت نمونه‌ها تعیین گردد.

یافته ها

در این بررسی تعداد ٥٤ سویه مختلف سیانوباکتری از نمونه‌های مختلف محیطی جداسازی و خالص شد و برای بررسی فعالیت ضدمیکروبی مورد ارزیابی قرار گرفت. در بین نمونه‌های مورد بررسی ۶ نمونه سیانوباکتریایی اثرات ضدمیکروبی قابل توجهی را نشان دادند. برای شناسایی این نمونه‌ها با استفاده از PCR قطعه‌ای به طول ٤٨٧ جفت باز تکثیر و تعیین توالی شد و با انطباق این توالی‌ها با اطلاعات موجود در بانک ژنی NCBI قرابت این سویه‌ها با نمونه‌های ثبت شده تعیین گردید. سپس با بررسی ویژگی‌های مورفولوژیک ماکروسکوپیک و میکروسکوپیک و مقایسه آن با کلیدهای شناسایی نمونه‌های مورد نظر شناسایی شدند. با توجه به نتایج بدست آمده سیانوباکتری‌های شناسایی شده شامل گونه‌هایی از Synechococcus sp., Gloeocapsa sp., Anabaena sp., Nodularia sp., Leptolyngbya sp. و گونه Chroococcus disperses بودند. شکل ۱ ژل الکتروفورز محصولات PCR سه نمونه از سیانوباکتری های مورد بررسی را نشان می‌دهد.



شکل ۱. ژل الکتروفورز محصولات PCR سه نمونه از سیانوباکتری های انتخابی که باندهایی در bp ٤٨٧ ایجاد کرده اند.
۱ شاهد منفی، ۲ نمونه لپتولینگبیا، ۳ نمونه آنابنا، ٤ نمونه ندولاریا و ۵ 100bp DNA ladder

در بررسی فعالیت ضدمیکروبی سیانوباکتری‌های خالص شده اثر ضدمیکروبی قابل توجهی در سوپرناتانت محیط کشت سیانوباکتری‌ها بدست نیامد. بررسی عصاره سیانوباکتری‌ها نیز نشان داد که برای برخی از سیانوباکتری‌ها فعالیت ضدمیکروبی مشاهده شده در طی عصاره‌گیری از یک سویه در زمان‌های مختلف تکرارپذیری کاملی را نشان نمی‌دادند و در برخی موارد نیز با نگهداری عصاره‌ها در یخچال و گذشت زمان فعالیت مشاهده شده کاهش پیدا می‌کرد ولی عصاره‌های کلروفرمی دارای بیشترین و پایدارترین اثرات ضد میکروبی

www.SID.ir

Archive of SID

بودند. جدول ۱ نتایج بدست آمده از عصاره کلروفرمی نمونه‌ها را به روش انتشار از دیسک نشان می‌دهد که از بین ٥٤ نمونه سیانوباکتری مورد بررسی تعداد ۶ نمونه دارای اثرات ضدمیکروبی بوده اند که از این بین سویه‌های نودولاریا و آنابنا طیف اثر وسیع تری نسبت به بقیه روی باکتری‌های گرم مثبت و قارچ‌ها نشان می‌دهند. سویه لپتولینگبیا با وجود آن که اثر قابل توجهی روی نمونه‌های باکتریایی نداشت ولی روی نمونه‌های کاندیدا با داشتن قطر هاله عدم رشد ۱۲ و ١٤ میلی‌متر اثر قابل توجهی را نشان داد. نتایج MIC، MBC و MFC که در جدول ۲ آورده شده است نیز نتایج بدست آمده از روش انتشار از دیسک را تایید می‌کند.

تعیین MIC عصاره کلروفرمی لپتولینگبیا روی کاندیدا کروزئی و کاندیدا کفیر بترتیب مقادیر ۲۰ و ٤٠ میکروگرم در میلی‌لیتر را نشان داد که در مقایسه با سیانوباکتری‌های دیگر معنی‌دار بود ولی در مورد استافیلوکوکوس اورئوس و میکروکوکوس لوتئوس مقادیر MIC به حدود ۸۰ میکروگرم در میلی‌لیتر می‌رسید. بررسی فعالیت ضدمیکروبی عصاره‌ها و سوپرناتانت کشت سیانوباکتری‌ها روی باکتری‌های گرم منفی و قارچ آسپرژیلوس نایجر فعالیت قابل توجهی را نشان ندادند.

بحث

سیانوباکتری‌ها توانایی رشد در محیط‌هایی با شرایط مختلف را دارند. نمونه‌های جمع شده در این کار تحقیقی که مربوط به حوضه آبریز دریاچه ارومیه می‌باشد دارای شرایط مختلف رشدی هستند که برخی در محیط‌های بسیار شور آب دریاچه ارومیه و یا خاک‌های اطراف دریاچه و برخی نیز در ورودی‌های رودخانه‌های منتهی به دریاچه وجود دارند. محبی و همکارانش، سه جنس سیانوباکتری به نام‌های آنابنا، اوسیلاتوریا و سینه کوکوس را گزارش کرده‌اند. رهایی و همکاران نیز شش جنس از خانواده سیانوباکتری‌ها به نام‌های آنابنا، آناسیستیس، لینگبیا، کروکوکوس، اوسیلاتوریا و سینه کوکوکوس را در بندر گلمانخانه از این دریاچه گزارش کرده‌اند؛ این بررسی‌ها و نیز کار حاضر موید این مطلب است که دریاچه ارومیه حداقل از لحاظ سویه‌های سیانوباکتری در حالت فعال قرار دارد. با توجه به تولید مواد ضد میکروبی توسط سیانوباکتری‌ها احتمالا" سنتز این متابولیت‌ها نتیجه دفاع سیانوباکتری‌ها در محیط علیه ارگانیزم‌های دیگر مثل قارچ، ویروس و میکروآلگ یوکاریوتی است [۲۰,۲۱]. که می‌تواند یک مزیت برای بقاءِ درمحیط طبیعی باشد [۲۲].

در این مورد می‌توان چنین فرض کرد که این عمکرد

جدول ۱. قطر هاله عدم رشد (میلی متر) عصاره های کلروفرمی ۶ نمونه سیانوباکتری در غلظت ۳۰ میکروگرم به ازای هر دیسک

	Leptolyngbya sp.	*Nodularia* sp.	*Anabaena* sp.	*Gloeocapsa* sp.	*Synechococcus* sp.	*Chroococcus disperses*
Micrococcus luteus	۹	۱۲	۱۲	۱۱	۱۰	۱۲
Staphylococcus aureus	۹	۹	۱۱	۱۰	۱۲	۹
Candida kefyr	۱۲	۱۲	۱۲	۱۱	۱۱	۱۰
Candida krusei	١٤	١٤	۱۳	۱۲	۱۲	١٤

جدول ۲. مقادیر MIC (در بالای کسرها) و MBC و MFC (در پایین کسرها) بر حسب میکروگرم بر میلی لیتر

	Leptolyngbya sp.	*Nodularia* sp.	*Anabaena* sp.	*Gloeocapsa* sp.	*Synechococcus* sp.	*Chroococcus disperses*
Micrococcus luteus	۸۰/۶۰	۸۰/>۶۰	۸۰/٤۰	۸۰/۲۰	۸۰/>۸۰	۸۰/٤۰
Staphylococcus aureus	۸۰/۸۰	۸۰/>۸۰	۸۰/>٤۰	۸۰/>۶۰	۸۰/۶۰	۸۰/۸۰
Candida kefyr	۶۰/٤۰	۶۰/۶۰	۸۰/۸۰	۸۰/>۸۰	۸۰/۶۰	۸۰/٤۰
Candida krusei	۸۰/۲۰	۸۰/٤۰	۶۰/۶۰	۸۰>۶۰	۸۰/۶۰	۸۰/٤۰

www.SID.ir

Archive of SID

به عنوان نوعی سیستم ایمنی برای میکروارگانیزم‌ها باشد. استعداد سیانوباکتری بعنوان منبع ترکیبات آنتی بیوتیکی، نشانگر اهمیت این ارگانیزم‌ها بعنوان عوامل دارویی بالقوه است. فعالیت ضدباکتریایی سیانوباکتری‌ها بیشتر علیه باکتری‌های گرم مثبت‌ها دیده شد و دلیل برای این، مقاوم بودن بیشتر باکتری‌های گرم منفی به عوامل سمی محیطی است و این مقاومت می‌تواند به علت سد لیپوپلی ساکاریدی غشای بیرونی آنها باشد [۲۳] که در مکانیزم ورود این ترکیبات از غشای بیرونی اختلال ایجاد می‌کند. خاصیت ضد قارچی سیانوباکتری‌ها بیشتر علیه مخمرهای کاندیدا دیده شد و تاثیر ترکیبات ضد میکروبی بر قارچ‌های رشته‌ای کمتر از باکتری‌های گرم مثبت و بیشتر از باکتری‌های گرم منفی بود. تناسب سویه‌های جداسازی شده با فعالیت ضد باکتریایی و ضد قارچی به ترتیب ۱٤ و ۹٪ است [۲۳] که در مقایسه با برنامه‌های غربالگری اولیه ما که از ٥٤ نمونه در ۶ مورد اثرات ضدمیکروبی مشاهده شد همخوانی دارد. در این بررسی سویه‌های سیانوباکتری رشته‌ای آنابنا، نودولاریا و لپتولینگبیا اثرات ضدمیکروبی قابل توجهی را از خود نشان دادند که با گزارشات ارائه شده توسط مور و همکاران مشابهت دارد [۲۳].

سویه لپتولینگبیا با داشتن MIC ۲۰-٤۰ میکروگرم در میلی‌لیتر برای کاندیدا اثر ضد قارچی قابل توجهی از خود نشان داد که با نتایج بدست آمده توسط شیمیزو قابل مقایسه است [۲٤].

در این بررسی کسب مقادیر مختلف از نتایج تست‌های ضد میکروبی نمونه‌های مختلف نشان دهنده آن است که عصاره‌ها حاوی مواد ضد باکتریایی و ضد قارچی مختلف هستند که می‌توانند بازتابی از شرایط محیطی از جمله تغییرات ایجاد شده در محیط کشت با توجه به نحوه رشد سیانوباکتری مربوطه و تغییرات یونی متعاقب آن در محیط و نیز هویت سویه مربوطه باشد.

نتیجه گیری

با توجه به گسترش مقاومت‌های آنتی بیوتیکی و نیاز به دستیابی به ترکیبات ضدمیکروبی جدید و از طرفی آگاهی از این که در میکروارگانیزم‌های جدید احتمال تولید ترکیبات جدید بیشتر است، غربالگری محیط‌های مختلف و بویژه محیط های بکری که کمتر مورد بررسی قرار گرفته اند می‌تواند ما را در دستیابی به سویه‌های جدید با قابلیت‌های متابولیکی جدید کمک کند چراکه در اغلب موارد زیستگاه‌های اکولوژیک می‌توانند ارتباط معنی‌داری با متابولیت‌های ساکن در آن منطقه داشته باشند. نتایج حاصل نشان داد که سیانوباکتری‌های رشته‌ای Anabaena sp., Nodularia sp., و Leptolyngbya sp. ترکیبات موثرتری را علیه باکتری‌های گرم مثبت و قارچ‌های مخمری تولید می‌کنند.

References

1- Mundt S, Teuscher E. Blue-green algae as a source of pharmacologically-active compound. pharmazie. 1988 Dec; 43 (12): 805-816.

2-Vijaya Baskara, Sethubathi G, Ashok Prabu V. Antibacterial Activity of Cyanobacterial Species from Adirampattinam Coast, Southeast Coast of Palk Bay. Curr Res J Biol Sci. 2010 Jan; 2(1): 24-26.

3- Kulik M.M, The potential for using cyanobacteria(blue-green algae)and algae in the biological control of plant pathogenic bacteria and fungi. European J Plant path 1995 Jun; 101(6): 585-599.

4- Trias J, Gordon EM. Innovative approaches to novel antibacterial drug discovery. Curr. Opin. Biotech 1997 Jun; 8(6): 585-599, 757-762.

5- Falch BS, Konig GM, Bachmann H. Biological activities of cyanobacteria: evaluation of extracts and pure compounds. Planta Med. 1995 Agu; 61(4): 321-328.

www.SID.ir

Archive of SID

6- Moore TE. Cyclic peptides and depsipeptides from cyanobacteria; A review. J Ind Microbiol. 1996 Feb; 16(2): 134-143.
7- Patterson G, Baldwin C, Bolis C, Caplan F, Larsen L, Levine I, et al. Antiviral activity of cultured blue green algae(Cyanophyta). J Phycol. 1993 Jan; 29(1): 125-130.
8- Patterson GML, Larsen LK, Moore RE. Bioactive natural products from blue-green algae. J Appl Phycol. 1994 Feb; 6(2): 151-157.
9- Dahms H-U, Xu Y, Pfeiffer C. Antifouling potential of cyanobacteria: a mini-review. Biofouling. 2006 Oct; 22(5); 317-327.
10- Ozdemir G, Karabay NU, Dalay MC, Pazarbasi B. Antibacterial Activity of Volatile Component and Various Extracts of Spirulina platensis. Phytother Res. 2004 Sep; 18(9): 754-757.
11- Mundt S, Kreitlow S, Jansen R. Fatty acids with antibacterial activity from the cyanobacterium Oscillatoria redekei HUB 051. J Appl Phycol. 2003Feb; 15(2): 263-267.
12- Shanab SMM, Bioactive Allelo-chemical Compounds from Oscillatoria Species (Egyptian Isolates). Int J Agric Biol. 2007 Jul; 9(4): 617-621.
13- Abed RMM, Dobretsov S, Sudesh K. Applications of cyanobacteria in biotechnology. J Appl Microbiol. 2009 Jan; 106(1):1-12.
14- Anagnostidis K, Komarek G. Modern approach to the classification system of cyanobacteria. Arch Hydrobiol Suppl. 1988 Sep; 80(5): 372-470.
15- Desikachary TV. Cyanophyta. I. C. A. R., New Delhi. 1959 May; 32: 684-686.
16- Prescott GW. Algae of the Western Great Lake Areas. William C. Brown Company Publisher, Dubuqe. Iowa. 1962 Jun:977-985.
17- Anand NL, Radha RS, Ravati G, Subramianam TD. Perspectives in Phycology. Today andTomorrow's Printers and Publishers New Delhi. 1990 Sep; 383-391.
18- Namikoshi M, Murakami T, Watanabe MF, Oda T, Yamada J, Tsujimura S, et al. Simultaneous production of homoanatoxin-a, anatoxin-a, and a new nontoxic 4-hydroxyhomoanatoxin-a by the cyanobacterium Raphidiopsis mediterranea, Skuja. Toxicon. 2003 Oct; 42(5):533-538.
19- Sueoka E, Sueoka N, Okabe S, Kozu T, Ohta T, Suganuma M, et al. Expression of the tumor necrosis factor alpha gene and early response genes by nodularin, aliver tumor promoter in primary cultured rat hepatocytes. Cancer Res Clin Oncol. 1997 Aug; 123(8):413-419.
20- Thajuddin N, Subramanian G. Cyanobacterial biodiversity and potential applications in biotechnology. Curr Sci. 2005 Jul; 89(1):47-57.
21- Mundt S, Kreitlow S, Nowotny A, Effmert U. Biological and pharmacological investigation of selected cyanobacteria. Hapalosiphon fontinalis. J Org Chem. 2001 Aug; 52(7): 1036-1043.
22- Teuscher E, Lindequist U, Mundt S. Cyanobakterien, Quellen biogener Wirkstoffe. Pharm. Ztg. Wiss. 1992 Feb; 137(2): 57-69.
23- Moore RE, Corbett TH, Patterson GML, Valeriote FA. The Search for New Antitumor Drugs from Blue-Green Algae. Curr Pharm Des. 1996 Mar; 2(4): 317-330.
24- Shimizu Y. Microalgal metabolites. Curr Opin Microbiol. 2003 Jun; 6(3): 236-243.

www.SID.ir

Archive of SID

Investigation of Antimicrobial Activity of Cyanobacteria Isolated from Urmia Lake Catchment Area

Zarrini G, PhD[1]; Rasooli I, PhD[2]; Abazari M[3]; Ghasemi Y, PhD[4]

[1] Corresponding Author: Assistant Prof. of Biology Dep., Faculty of Natural Sciences, University of Tabriz, Tabriz, Iran. E-mail: zarrini@tabrizu.ac.ir
[2] Prof. of Biology Dep., Faculty of Sciences, University of Shahed, Tehran, Iran
[3] MSc. Student of Microbiology, Biology Dep., Faculty of Sciences, University of Shahed, Tehran, Iran
[4] Associate Prof. of Biotechnology Dep., Faculty of Pharmacy, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran

ABSTRACT

Background & Objectives: Expansion of microbial drug resistance, have indicated to introduce new source of drugs with antimicrobial properties such as antimicrobial secondary metabolites which produced of Cyanobacteria spp. Antimicrobial activity of Cyanobacteria spp. of Urmia Lake catchment area was not already reported, therefore in this research, antibacterial and antifungal properties of cyanobacteria varieties isolated from this ecosystem and identification of the potent strains were investigated.

Method: Different environmental samples screened for isolation of cyanobacterial strains. Cyanobacterial extracts were prepared by using different solvents. The effect of these extracts was evaluated by disc diffusion method and by measuring minimum inhibitory concentrations (MIC) against some gram positive and gram negative bacteria and fungi. Cyanobacteria spp. with the high antimicrobial activity was identified according to Microscopic and macroscopic characters and 16SrRNA sequences.

Results: In this research, 54 cyanobacterial strains were isolated that six strains with significant antimicrobial activity identified as Gloeocapsa sp., Anabaena sp., Nodularia sp., Synechococcus sp., Leptolyngbya sp. and Chroococcus disperses. the highest antimicrobial activity achieved by the chloroform extract on gram positive bacteria and fungi. Minimum inhibitory concentration (MIC) levels for the cyanobacterial strains were ranged 20 to 80 µg/ml and Leptolyngbya sp. showed the highest effects on Candida krusei with MIC level 20 µg/ml.

Conclusion: According to the results, cyanobacteria can be a source of production new antimicrobial compounds.the results showed that the filamentous cyanobacteria Anabaena sp., Nodularia sp., and Leptolyngbya sp. produce active compounds against gram positive bacteria and yeasts.

Key word: Cyanobacteria; Antimicrobial effect; Urmia Lake; Leptolyngbya

www.SID.ir