



## بررسی اثرات بیواکتیویته برخی جلبک‌های دریایی از جنوب ایران

رضا شیخ اکبری مهر\*

گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه قم، قم، ایران

|                  |       |
|------------------|-------|
| نوع مقاله:       | چکیده |
| پژوهشی           |       |
| تاریخچه مقاله:   |       |
| دریافت: ۹۴/۱۲/۱۵ |       |
| اصلاح: ۹۵/۰۲/۰۷  |       |
| پذیرش: ۹۵/۰۲/۰۹  |       |
| کلمات کلیدی:     |       |
| جلبک             |       |
| ضدباکتری         |       |
| عصاره            |       |
| MIC              |       |

جلبک‌ها گروه بسیار متنوعی از گیاهان آبرزی هستند که در طیف وسیعی از زیستگاه‌های آبی یافت می‌شوند. علاوه بر نقشهای اکولوژیک، ماکروجلبک‌ها دارای متابولیت‌های ثانویه بسیاری با خواص آنتی‌اکسیدان، ضد میکروبی و ضدتومور هستند که با توجه به شیوع مقاومت‌های میکروبی نسبت به داروهای سینتتیک در سال‌های اخیر، شناخت و معرفی منابع دارویی جایگزین از اهمیت بسیاری برخوردار می‌باشد. در تحقیق حاضر، پس از جمع‌آوری و شناسایی برخی از درشت‌جلبک‌های خلیج فارس، خواص ضد میکروبی ۴ گونه: *Ulva lactuca*، *Colpomenia sinuosa*، *Padina pavonica* و *Cystoseira myrica* متعلق به جلبک‌های سبز و قهوه‌ای، مورد ارزیابی قرار گرفت. برای این منظور پس از عصاره‌گیری از جلبک‌های مذکور، تست حساسیت میکروارگانیسم‌ها به عصاره و تعیین کمترین غلظت بازدارنده رشد (MIC) انجام گردید. نتایج حاصل نشان داد که عصاره جلبک سبز *Ulva lactuca* دارای فعالیت زیستی مؤثرتری نسبت به دیگر گونه‌ها می‌باشد. همچنین نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که باکتری‌های گرم مثبت نسبت به باکتری‌های گرم منفی در برابر عصاره‌های جلبکی حساس‌تر می‌باشند. به طور کلی یافته‌های این تحقیق، آشکار نمود که جلبک‌های مطالعه شده دارای ترکیبات زیست‌فعال مؤثر بر میکروارگانیسم‌های پاتوژن و قابل مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌های رایج بوده و لذا به عنوان منابعی جهت استفاده در تولید داروهای نوین آنتی‌بیوتیک معرفی می‌گردند.

### مقدمه

در سالهای اخیر تمایل عمومی به استفاده از ترکیبات طبیعی در درمان بیماریها و عفونت‌ها، به دلیل شیوع مقاومت‌های عوامل بیماریزا به داروهای شیمیایی، افزایش یافته است. یافتن ترکیباتی با توانایی شفا بخشی از طبیعت، همواره جزو تلاش‌های بشر بوده است (Evans and Cowan, 2006). با توجه به شواهد و اطلاعات به دست آمده، استفاده از گیاهان دارویی به صورت دمنوش و یا به صورت مرهم برای زخم‌ها، در سراسر جهان و حتی در ادوار ماقبل تاریخ مرسوم و مورد توجه اقوام بسیاری از تمدن‌های بشری به‌ویژه در کشورهای ایران، مصر و چین بوده است (Borchardt *et al.*, 2008). موجودات دریازی، منبع غنی از متابولیت‌های فعال بیولوژیکی با ساختار نوین می‌باشند. متابولیت‌های اولیه و ثانویه تولید شده توسط این موجودات، می‌توانند به عنوان مواد زیستی فعال در صنایع داروسازی مورد توجه قرار گیرند (Tüney *et al.*, 2006). مطالعات اخیر نشان داده که جلبک‌ها سرشار از ترکیباتی

\* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: [r.sheikhakbari@qom.ac.ir](mailto:r.sheikhakbari@qom.ac.ir)

با خواص ضدباکتریایی (Bouhlal et al., 2010)، ضدویروس (Bouhlal et al., 2011; Kim and Karadeniz, 2011)، ضدقارچ (de Felício et al., 2010)، ضدسرطان (Kim et al., 2011)، ضد انعقاد خون (Shi et al., 2008)، ضد حساسیت (Na et al., 2005) و آنتی‌اکسیدانی (Devi et al., 2011) می‌باشند. بسیاری از ترکیبات طبیعی دریایی دارای ساختارهای مولکولی و گروه‌های فعال جدیدی، نسبت به ترکیبات مشابه در منابع خشکی‌زی می‌باشند (MarinLit, 2003; MarinLit, 2011) و تا به امروز حدود ۲۲۰۰۰ ترکیب طبیعی از موجودات دریازی شناسایی و شرح داده شده است (Blunt et al., 2013). متابولیت‌های ثانویه موجودات دریایی منبع مهمی از مولکول‌های زیستی، برای کشف و توسعه داروهای جدید با منشاء طبیعی محسوب می‌شوند (Newman and Cragg, 2004). در سال‌های اخیر، هزاران ترکیب جدید مشتق شده از موجودات دریازی با اسکلت کربنی منحصر به فرد، که هرگز تاکنون از گیاهان خشکی‌زی گزارش نشده، کشف و شناسایی شده است. تعدادی از این ترکیبات طبیعی دارای خواص بالقوه بیولوژیکی بوده و هم‌اکنون در مرحله تست‌های آزمایشگاهی و یا بالینی، جهت درمان بیماری‌های انسانی می‌باشند (Kannan et al., 2010). شایان ذکر است که گیاهان (جلبک‌ها) دریایی برای قرن‌ها به طور مستقیم و غیر مستقیم مورد استفاده قرار می‌گیرند. این جلبک‌ها به دلیل دارا بودن مواد مهم و با ارزش از قبیل، آگار و اسید آلژینیک، مصارف زیادی در صنایع کشور مانند کاغذ سازی، نساجی، چرم‌سازی، رنگ‌سازی، لاستیک سازی و تهیه مواد بهداشتی - آرایشی و همچنین تغذیه انسان، دام و طیور، تهیه کودهای آلی و در داروسازی و دندانپزشکی جهت ساخت شربت‌ها، قرص‌ها، کپسول‌های آنتی‌بیوتیک و تهیه قالب‌های اولیه دندان دارند (Chapman, 2012). همچنین، این گیاهان دارای خواص دارویی و درمانی فراوانی از جمله، ضد قارچی، ضد میکروبی، ضد انگلی، التیام سوختگی‌ها، درمان دردهای مفاصل، زخم‌ها و سوءهاضمه، پایین آوردن فشار خون و تب در کودکان، آرام بخشی و بسیاری موارد دیگر می‌باشند (Rajasulochana et al., 2009). از طرف دیگر، شاهد وجود منابع غنی این جلبک‌ها به ویژه در سواحل جنوبی کشور هستیم که کمتر به آن پرداخته شده است. کشور ایران به واسطه دارا بودن زیستگاه‌های وسیع دریایی در جنوب، از منابع غنی موجودات دریازی بویژه جلبک‌ها، بهره‌مند بوده، به طوری که تاکنون بیش از ۳۰۰ گونه و واحدهای تحت گونه‌ای از جلبک‌های ماکروسکوپی دریازی از خلیج فارس و دریای عمان شناسایی و معرفی شده است (Kokabi and Yousefzadi, 2015). اگرچه برخی از محققین به بررسی اثرات دارویی این موجودات دریازی در ایران پرداخته‌اند (Ebrahiminezhad et al., 2014; Rahimi et al., 2011; Derakhshesh et al., 2010)، اما با توجه به فراوانی زیستگاه‌های دریایی در کشور، همچنان پتانسیل‌های فراوانی برای انجام چنین تحقیقاتی وجود دارد.

بنابراین، هدف از تحقیق حاضر، ارزیابی فعالیت ضدباکتریایی و ضدقارچی عصاره برخی از جلبک‌های ماکروسکوپی دریازی، متعلق به جلبک‌های سبز و قهوه‌ای و مقایسه آن با نمونه‌هایی از آنتی‌بیوتیک‌های مرسوم می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

در این تحقیق چهار گونه از جلبک‌های ماکروسکوپی دریازی مورد استفاده قرار گرفت. نمونه‌برداری از سواحل خلیج فارس در استان هرمزگان، در ناحیه جزر و مدی و در زمان جزر بیشینه انجام شد. این چهار گونه عبارتند از: *Ulva lactuca* (متعلق به جلبک‌های سبز) و *Colpomenia sinuosa*، *Padina pavonica* و *Cystoseira myrica* (متعلق به جلبک‌های قهوه‌ای). نمونه‌ها پس از جمع‌آوری داخل کیسه‌های پلاستیکی با مقداری از آب دریا به آزمایشگاه منتقل و پس از تفکیک گونه‌ها به منظور شناسایی، در فرمالین ۳ درصد فیکس گردید. نمونه‌های جلبکی که به منظور عصاره‌گیری جمع‌آوری شدند، ابتدا در محل جمع‌آوری توسط آب دریا شستشو داده شد و در سریع‌ترین زمان ممکن به آزمایشگاه منتقل گردید. در آزمایشگاه چندین بار با آب مقطر شستشو شد تا نمک و سایر جلبک‌های اپی‌فیت حذف گردند (Val et al., 2001). از هر نمونه پس از خشک شدن توسط آون در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد، ۲۰ گرم وزن کرده و با استفاده از ۲۰۰ سی‌سی از حلال‌هایی با قطبیت مختلف نظیر آن هگزان، اتیل استات و متانول عصاره‌گیری صورت گرفت (Cos et al., 2006). عصاره‌ها پس از صاف کردن، توسط دستگاه روتاری

تغلیظ شدند. در نهایت عصاره هر جلبک در غلظت مناسب، در دی متیل سولفوکساید حل و پس از عبور از فیلتر میکروبی به قطر ۰/۲۲ میکرون، برای تست‌های بعدی مورد استفاده قرار گرفت (Jassbi et al., 2013).

### میکروارگانسیم‌های مورد استفاده

به منظور ارزیابی فعالیت ضد میکروبی عصاره های ۴ گونه مختلف از جلبک‌های ماکروسکوپی، از دو گونه قارچ و هفت گونه باکتری استاندارد آزمایشگاهی ATCC (American Type Collection Culture) شامل ۴ باکتری گرم مثبت و ۳ باکتری گرم منفی استفاده شد. نام و مشخصات میکروارگانسیم‌های استفاده شده، به این ترتیب می باشد: *Candida albicans* ATCC 10231 (Ca), *Bacillus subtilis* ATCC 465 (Bs), *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 (Sc), *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 9763 (Se), *Escherichia coli* ATCC 25923 (Sa), *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 (Se), *Staphylococcus aureus* ATCC 25922 (Ef), *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031 (Kp) and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 85327 (Pa).

### تعیین خاصیت ضد میکروبی عصاره‌ها

#### تست حساسیت نسبت به دیسک آغشته به عصاره

به منظور ارزیابی اثرات بیواکتیویته عصاره حاصل از جلبک‌های مطالعه شده، از روش انتشار در دیسک و به شیوه استاندارد Kirby-Bauer استفاده شد (Bauer et al., 1966). محیط کشت مولر هینتون آگار برای باکتری و محیط سابروود دکستروز ۲٪ برای قارچ مورد استفاده قرار گرفت. آزمون حساسیت ضد میکروبی به روش انتشار در دیسک، با سه مرتبه تکرار انجام شده و از نتایج حاصله میانگین گرفته شد. به منظور کنترل حساسیت میکروب‌ها به عصاره، از آنتی بیوتیک‌های رایج نیستاتین (مؤثر بر قارچ‌ها)، جنتامایسین (مؤثر بر باکتری‌های گرم منفی) و تتراسایکلین (مؤثر بر باکتری‌های گرم مثبت) استفاده گردید. به کمک یک سوآپ استریل مقداری از هر کشت میکروبی، بر روی محیط مولر هینتون آگار و سابروود دکستروز برده و به طور یکنواخت در سه جهت مختلف بر روی تمام سطح آگار در پلیت پخش گردید.

برای تهیه دیسک‌های حاوی عصاره از غلظت ۱۰٪ هر عصاره، ۳۰ میکرولیتر به دیسک‌های کاغذی استریل به قطر ۶ میلی متر منتقل شد. سپس دیسک‌ها در دمای اتاق و زیر هود خشک شدند تا حلال اضافی تبخیر شود. دیسک‌های حاوی عصاره، با فواصل مناسب روی محیط کشت قرار داده شدند و پلیت‌ها به مدت ۱۸-۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ و ۲۵ درجه سانتی گراد (به ترتیب: باکتری و قارچ) گرماگذاری گردیدند. در پایان مدت گرماگذاری، فعالیت ضد میکروبی عصاره‌ها، با تشکیل هاله عدم رشد مشخص شد (Jassbi et al., 2013). قطر هاله‌ها با خط کش، بر حسب میلی‌متر اندازه‌گیری و با جدول حساسیت میکروب‌ها به آنتی‌بیوتیک‌های معمول، سنجیده شد.

### اندازه گیری کمترین غلظت بازدارنده رشد یا Minimum Inhibitory Concentration (MIC)

عصاره جلبک‌هایی که در تست انتشار به وسیله دیسک، اثر ضد میکروبی قابل قبول نشان داده بودند، مورد استفاده در آزمون تعیین کمترین غلظت بازدارنده رشد (MIC) قرار گرفتند (Jorgensen and Turnidge, 2015) تا میزان حساسیت باکتری‌ها و قارچ‌های مورد آزمایش، نسبت به آنها تعیین شود. در این روش از میکروپلیت‌های ۹۶ چاهکی استفاده شد. به چاهک اول هر ردیف ۱۲ تایی، ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت مایع در شرایط استریل ریخته شد (هر میکروپلیت از ۱۲ ردیف عمودی و ۸ ردیف افقی تشکیل شده است). سپس در بقیه چاهک‌ها، ۵۰ میکرولیتر محیط کشت مایع اضافه شد. در مرحله بعد به چاهک‌های ردیف اول ۱۰۰ میکرولیتر عصاره ۱۰٪ اضافه شد. سپس ۵۰ میکرولیتر از چاهک اول به چاهک دوم انتقال داده شد و به همین روش، عصاره به صورت ۲ برابر تا چاهک آخر رقیق شد. در نهایت ۵۰ میکرولیتر از چاهک آخر به خارج از آن ریخته شد تا رقت‌های سریال با حجم یکسان تهیه شود. در مرحله آخر به تمام ۹۶ چاهک ۵۰ میکرولیتر از هر میکروب اضافه کرده و به مدت ۲۴ ساعت،

میکروپلیت در انکوباتور قرار داده شد. در پایان مدت گرماگذاری، نتایج با بررسی شفافیت محیط که نشان‌دهنده عدم رشد میکروارگانیسم می‌باشد، کمترین غلظت بازدارنده رشد (MIC) برای هر عصاره گزارش شد.

### نتایج

عصاره متانولی، هگزانی و اتیل استاتی ۴ گونه جلبک ماکروسکوپی بر روی ۷ سویه باکتری گرم مثبت و منفی و ۲ گونه قارچ استاندارد، از نظر فعالیت ضد میکروبی، تست شد. اندازه هاله عدم رشد و نتایج حاصله در جدول شماره ۱ نشان داده شده است. براساس نتایج به دست آمده، هیچیک از عصاره‌های جلبکی، اثر آنتی‌بیوتیکی بر باکتری سودوموناس آئروجینوزا (Pa) نداشتند. در بین عصاره‌های جلبکی تست شده، مؤثرترین عصاره روی کلیه میکروب‌ها، عصاره مربوط به *Ulva lactuca* و پس از آن *Cystoseira myrica* می‌باشد. با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه، عصاره *Colpomenia sinuosa* اثر قابل توجهی روی میکروارگانیسم‌ها نداشته است. همچنین مشاهدات جدول ۱ بیان می‌دارد که عصاره‌های به دست آمده در حلال اتیل استات، نسبت به دیگر حلال‌ها، اثرات ضد میکروبی بیشتری را نشان می‌دهند. نتایج مربوط به تست حساسیت میکروارگانیسم‌ها به آنتی‌بیوتیک‌های مرسوم، به روش انتشار در دیسک، در جدول ۲ ارائه شده است. مقایسه دو جدول ۱ و ۲ نشان می‌دهد که در برخی از عصاره‌ها، هاله‌های عدم رشد میکروب، قابل مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌های رایج به دست آمده است. در میان باکتری‌های استفاده شده، به ترتیب دو باکتری *Bacillus subtilis* و *Staphylococcus epidermidis* بیشترین حساسیت را نسبت به عصاره‌های جلبکی، از خود نشان دادند.

جدول ۱. حساسیت باکتری‌ها نسبت به عصاره جلبک‌های دریایی مطالعه شده به روش انتشار دیسک (اعداد مربوط به قطر هاله عدم رشد بر حسب میلی‌متر می‌باشد).

| جلبک                      | نوع عصاره  | میکروارگانیسم |          |          |          |          |          |    |          |          |
|---------------------------|------------|---------------|----------|----------|----------|----------|----------|----|----------|----------|
|                           |            | Bs            | Ef       | Sa       | Se       | Ec       | Kp       | Pa | Ca       | Sc       |
| <i>Ulva lactuca</i>       | متانول     | ۱۷ ± ۰/۹      | ۱۵ ± ۰/۳ | ۱۶ ± ۰/۶ | ۱۹ ± ۰/۵ | ۱۷ ± ۰/۴ | ۱۰ ± ۰/۷ | -  | ۱۱ ± ۰/۲ | ۱۴ ± ۰/۶ |
|                           | اتیل استات | ۲۰ ± ۰/۴      | ۱۹ ± ۰/۷ | ۱۸ ± ۰/۶ | ۲۲ ± ۰/۳ | ۲۱ ± ۰/۵ | ۱۲ ± ۰/۹ | -  | ۱۲ ± ۰/۴ | ۱۷ ± ۰/۶ |
|                           | هگزان      | ۱۳ ± ۰/۴      | ۱۱ ± ۰/۵ | ۱۲ ± ۰/۹ | ۱۴ ± ۰/۶ | ۱۰ ± ۰/۲ | -        | -  | -        | -        |
| <i>Colpomenia sinuosa</i> | متانول     | ۱۲ ± ۰/۶      | -        | -        | ۱۳ ± ۰/۳ | ۱۱ ± ۰/۸ | -        | -  | -        | -        |
|                           | اتیل استات | ۱۵ ± ۰/۳      | ۱۲ ± ۰/۴ | ۱۳ ± ۰/۹ | ۱۶ ± ۰/۷ | ۱۴ ± ۰/۲ | -        | -  | -        | -        |
|                           | هگزان      | -             | -        | -        | -        | -        | -        | -  | -        | -        |
| <i>Padina pavonica</i>    | متانول     | ۱۵ ± ۰/۶      | ۱۳ ± ۰/۸ | ۱۳ ± ۰/۹ | ۱۶ ± ۰/۵ | ۱۵ ± ۰/۷ | -        | -  | -        | -        |
|                           | اتیل استات | ۱۹ ± ۰/۲      | ۱۷ ± ۰/۶ | ۱۵ ± ۰/۸ | ۱۸ ± ۰/۵ | ۱۸ ± ۰/۶ | ۱۲ ± ۰/۷ | -  | ۱۲ ± ۰/۴ | ۱۶ ± ۰/۹ |
|                           | هگزان      | ۱۲ ± ۰/۵      | -        | -        | ۱۲ ± ۰/۹ | -        | -        | -  | -        | -        |
| <i>Cystoseira myrica</i>  | متانول     | ۱۵ ± ۰/۷      | ۱۳ ± ۰/۸ | ۱۲ ± ۰/۶ | ۱۷ ± ۰/۵ | ۱۵ ± ۰/۳ | -        | -  | -        | ۱۲ ± ۰/۲ |
|                           | اتیل استات | ۱۸ ± ۰/۷      | ۱۷ ± ۰/۹ | ۱۶ ± ۰/۵ | ۲۰ ± ۰/۸ | ۱۹ ± ۰/۵ | -        | -  | -        | ۱۴ ± ۰/۳ |
|                           | هگزان      | ۱۰ ± ۰/۶      | ۹ ± ۰/۹  | ۱۰ ± ۰/۸ | ۱۲ ± ۰/۵ | -        | -        | -  | -        | -        |

عصاره‌هایی که در تست انتشار دیسک، دارای پتانسیل بازدارندگی رشد بر روی میکروارگانیسم‌ها بودند، در آزمون تعیین کمترین غلظت بازدارندگی (MIC) استفاده شدند (جدول ۳). کمترین میزان MIC به دست آمده مربوط به عصاره جلبک سبز *Ulva lactuca* می باشد که این غلظت مطابق با هاله‌های به دست آمده در تست تعیین حساسیت بود. مقادیر کمترین غلظت بازدارندگی به دست آمده برای باکتری‌های گرم منفی بالاتر از MIC به دست آمده برای باکتری‌های گرم مثبت می‌باشد که این موضوع نشان‌دهنده حساسیت بیشتر باکتری‌های گرم مثبت نسبت به عصاره‌های جلبکی است. پائین‌ترین MIC‌های به دست آمده، عمدتاً مربوط به باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس می‌باشد (جدول ۳). کمترین غلظت بازدارندگی اندازه‌گیری شده برای باکتری‌های گرم منفی، مربوط به عصاره جلبک سبز مطالعه شده می‌باشد که بر روی باکتری اشیریشیاکلی به دست آمده است. همچنین کمترین غلظت بازدارندگی محاسبه شده بر روی قارچ‌ها، مربوط به عصاره اتیل استاتی *Ulva lactuca* و متعلق به مخمر مطالعه شده می‌باشد.

جدول ۲. حساسیت میکروارگانیسم‌های مطالعه شده نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های معمول (اعداد مربوط به قطر هاله رشد بر حسب میلی‌متر می باشد).

| آنتی‌بیوتیک  | میکروارگانیسم |         |          |          |          |          |          |          |          |
|--------------|---------------|---------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
|              | Bs            | Ef      | Sa       | Se       | Ec       | Kp       | Pa       | Ca       | Sc       |
| Tetracycline | 21 ± 0/8      | 9 ± 0/4 | 20 ± 0/4 | 34 ± 0/8 | -        | -        | -        | -        | -        |
| Gentamicin   | -             | -       | -        | -        | 22 ± 0/8 | 20 ± 0/5 | 12 ± 0/4 | nt       | nt       |
| Nystatin     | nt*           | nt      | nt       | nt       | nt       | nt       | nt       | 18 ± 0/5 | 20 ± 0/9 |

nt\*: تست نشده.

جدول ۳. مقادیر کمترین غلظت بازدارنده رشد (MIC) به دست آمده از عصاره جلبک‌های مطالعه شده (اعداد بر حسب میلی گرم بر میلی لیتر می باشند). هر چه عدد به دست آمده کمتر باشد، فعالیت عصاره مربوطه در جهت جلوگیری از رشد میکروارگانیسم بیشتر خواهد بود.

| جلبک                      | نوع عصاره  | میکروارگانیسم |      |     |      |      |    |    |    |      |
|---------------------------|------------|---------------|------|-----|------|------|----|----|----|------|
|                           |            | Bs            | Ef   | Sa  | Se   | Ec   | Kp | Pa | Ca | Sc   |
| <i>Ulva lactuca</i>       | متانول     | 7/5           | 15   | 15  | 3/75 | 7/5  | 15 | nt | 15 | 15   |
|                           | اتیل استات | 3/75          | 3/75 | 7/5 | 1/87 | 1/87 | 15 | nt | 15 | 3/75 |
|                           | هگزان      | 15            | 15   | 15  | 15   | nt   | nt | nt | nt | nt   |
| <i>Colpomenia sinuosa</i> | متانول     | 15            | nt   | nt  | 15   | 15   | nt | nt | nt | nt   |
|                           | اتیل استات | 7/5           | 15   | 15  | 7/5  | 15   | nt | nt | nt | nt   |
|                           | هگزان      | nt            | nt   | nt  | nt   | nt   | nt | nt | nt | nt   |
| <i>Padina pavonica</i>    | متانول     | 7/5           | 15   | 15  | 7/5  | 15   | nt | nt | nt | nt   |
|                           | اتیل استات | 3/75          | 7/5  | 15  | 3/75 | 3/75 | 15 | nt | 15 | 15   |
|                           | هگزان      | 15            | nt   | nt  | 15   | nt   | nt | nt | nt | nt   |
| <i>Cystoseira myrica</i>  | متانول     | 15            | 15   | 15  | 3/75 | 15   | nt | nt | nt | 15   |
|                           | اتیل استات | 7/5           | 7/5  | 15  | 3/75 | 3/75 | nt | nt | nt | 15   |
|                           | هگزان      | nt            | nt   | nt  | 15   | nt   | nt | nt | nt | nt   |

## بحث

جلبک‌های دریایی تولید کننده متابولیت‌های مختلف ثانویه و با ارزش تجاری بالقوه می‌باشند. در چند دهه اخیر، خواص ضد میکروبی این ارگانسیم‌ها مورد علاقه پژوهشگرانی در نقاط مختلف دنیا قرار گرفته است و باتوجه به نیاز جهانی به ترکیبات زیست‌فعال جدید، به دلیل مقاوم شدن باکتری‌ها و دیگر میکروارگانسیم‌های پاتوژن به آنتی بیوتیک‌های رایج، بررسی چنین ترکیباتی با منشاء دریایی، ضروری به نظر می‌رسد (Cabrita *et al.*, 2010). اگرچه کاوش در میان گیاهان دریایی و به ویژه جلبک‌های ماکروسکوپی در دهه‌های اخیر در دیگر کشورها متداول شده، اما در کشور ایران علیرغم وجود منابع ارزنده‌ای از این موجودات، چنین مطالعاتی کمتر انجام پذیرفته است.

براساس گزارشات قبلی، فعالیت ضد میکروبی جلبک‌ها، به گونه جلبکی مطالعه شده، کارآمدی شیوه‌های عصاره‌گیری و میزان مقاومت میکروارگانسیم‌های تست شده بستگی دارد (Seenivasan *et al.*, 2010). کلیه جلبک‌های استفاده شده در تحقیق حاضر، به جز گونه *Colpomenia sinuosa*، دارای اثرات ضد میکروبی قابل توجهی بودند (جدول ۱). همچنین مقایسه میان فعالیت ضد میکروبی جلبک‌های مطالعه شده، نشان‌دهنده تأثیر بیشتر عصاره *Ulva lactuca* در مهار رشد میکروارگانسیم‌ها می‌باشد.

اگرچه برخی از مطالعات نشان داده‌اند که اثرات ضد میکروبی جلبک‌های قرمز بیشتر از جلبک‌های سبز و قهوه‌ای می‌باشد (Kannapiran and Nithyanandan, 2002; Lavanya and Veerappan, 2011 و Derakhshesh *et al.*, 2011)، اما در مطالعه Caccamese و همکاران (1981) و Alghazeer و همکاران (2013)، جلبک‌های قهوه‌ای مطالعه شده نسبت به جلبک‌های قرمز اثرات ضدباکتریایی بیشتری داشتند. در این راستا، نتایج ما نشان‌دهنده تأثیرات ضد میکروبی قوی‌تر عصاره جلبک سبز نسبت به سه جلبک قهوه‌ای مطالعه شده بود، که این یافته در مطابقت با نتایج برخی از تحقیقات اخیر می‌باشد (Ibraheem *et al.*, 2012; Seenivasan *et al.*, 2010; Al-Saif *et al.*, 2014). وجود چنین تفاوت‌هایی می‌تواند به ارگانسیم مطالعه شده، فصل نمونه‌برداری و شرایط عصاره‌گیری مرتبط باشد.

براساس مطالعه Al-Saif و همکاران (2014)، بر روی خواص ضد میکروبی برخی از جلبک‌های دریایی با استفاده از حلال‌های مختلف در عصاره‌گیری، مشخص شد که حلال‌های آلی راندمان بسیار بالاتری نسبت به آب در استخراج ترکیبات ضدباکتریایی از جلبک‌ها دارند و کلروفورم بعنوان کارآمدترین حلال، نسبت به آب، اتانل و اترنفت معرفی شد. این موضوع می‌تواند به این دلیل باشد که عصاره‌های فعال در اثرات ضد میکروبی جلبک‌ها، معمولاً غنی از اسیدهای چرب اشباع و غیراشباع بوده و خواص زیست‌فعالی این عصاره‌ها علاوه بر ترکیبات فلاونوئیدی، به کمیت و ترکیب این اسیدهای چرب نسبت داده می‌شود (Bazes *et al.*, 2009; Barbosa *et al.*, 2013). نتایج حاصل از تحقیق حاضر نشان می‌دهد که عصاره حاصل از حلال اتیل استات که یک حلال آلی غیرقطبی با توانایی استخراج برخی از ترکیبات قطبی است، دارای بیشترین اثرات ضد میکروبی در بین حلال‌های تست شده می‌باشد و بعد از آن حلال متانول توانسته بیشترین ترکیبات ضد میکروبی جلبک‌ها را استخراج نماید. در پژوهش حاضر، بیشترین قطر هاله عدم رشد به دست آمده، مربوط به عصاره اتیل استات *Ulva lactuca* بر روی باکتری‌های *S. epidermidis* و *E. coli* می‌باشد که این نتیجه با یافته‌های برخی از مطالعات اخیر هماهنگ می‌باشد (Kolanjinathan *et al.*, 2009; Peymani *et al.*, 2014).

در مطالعه‌ای که اخیراً (2013) Jassbi *et al.* بر روی اثرات بیولوژیکی جلبک‌های قرمز و قهوه‌ای جمع‌آوری شده از خلیج فارس انجام دادند، مشخص شد که عصاره آبی این ارگانسیم‌ها دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی بوده و فعالیت ضدباکتریایی مناسبی را در برابر پاتوژن‌های انسانی نشان دادند. بر اساس مشاهدات این مطالعه، انواع اسیدهای چرب و فوکوسترول و دهیدروکسی استرول تشکیل دهنده ترکیبات مؤثره و فعال این جلبک‌های دریازی می‌باشند. بررسی خواص ضد میکروبی نمونه‌هایی از جلبک‌های دریایی جمع‌آوری شده از سواحل بوشهر در ایران نیز نشان داد که جلبک‌های قهوه‌ای اثرات باکتری‌کشی قوی داشته و باکترهای گرم منفی، نسبت به عصاره این موجودات حساس‌تر از باکترهای گرم مثبت هستند (Derakhshesh *et al.*, 2011).

به طور کلی نتایج به دست آمده از این تحقیق حاکی از آن است که باکتری‌های مطالعه شده نسبت به قارچها، حساسیت بیشتری در برابر فعالیت ضد میکروبی عصاره‌های جلبکی از خود نشان می‌دهند که این یافته با نتایج Jassbi و همکاران (2013) و Sushanth و Rajashekhar (2015)، یکسان می‌باشد. مشابه مطالعه Fadoul و Juntawong (2014)، نتایج حاصله از تحقیق حاضر نشان می‌دهد که باکتری‌های گرم مثبت نسبت به باکتری‌های گرم منفی و قارچها، مقاومت کمتری در برابر عصاره‌های استفاده شده، دارند. از بین باکتری‌های گرم مثبت، استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس (Se) و از بین باکتری‌های گرم منفی اشیریشیا کلی (Ec) بیشترین حساسیت را نشان می‌دهند. در مطالعه‌ای که Peymani و همکاران (2014)، بر روی اثرات ضدباکتریایی جلبک قرمز *گراسیلاریا آرکواتا* از سواحل چابهار انجام دادند، مشخص شد که باکتری گرم منفی عامل وبا بیشترین حساسیت را نسبت به عصاره این جلبک دارا می‌باشد. همچنین مطالعه جلبک‌های سبز و سبز-آبی جمع آوری شده از مشهد نیز نشان دهنده خواص ضد میکروبی قوی در سیانوفیت‌ها می‌باشد (Rahimi et al., 2010). بررسی‌های اخیر در ایران نشان داده است که نانوذرات آهن پوشش داده شده توسط عصاره آبی جلبک‌های قهوه‌ای، تأثیرات قابل توجهی در از بین بردن سلولهای سرطانی تخمدان دارا می‌باشند. طبق نتایج به دست آمده در تحقیق مذکور، عصاره آبی این جلبکها، کاندیدای مناسبی جهت افزایش پایداری و کاهش میزان تشکیل محلولهای کلئیدی نانوذرات آهن می‌باشد (Namvar et al., 2015).

با توجه به داده‌های حاصل از این تحقیق، می‌توان عصاره‌های جلبک‌های بررسی شده را، دارای فعالیت آنتی بیوتیکی اعلام کرد که این نتایج مکمل دیگر مطالعات انجام شده در این زمینه، توسط محققان مختلف می‌باشد. از نتایج حاصل از چنین تحقیقاتی می‌توان در تولید داروهای با منشأ طبیعی استفاده نمود. به هر حال از آنجائیکه در این مطالعه و مطالعات مشابه، عصاره خام مورد استفاده قرار گرفته، انجام تحقیقات تکمیل کننده برای تشخیص ماده مؤثره و همچنین تعیین و بررسی مکانیسم‌های شیمیایی اثرات ضد میکروبی عصاره این گیاهان، مفید و ضروری به نظر می‌رسد.

### تشکر و قدردانی

بدینوسیله نویسنده، از معاونت و مدیریت محترم پژوهشی دانشگاه قم به دلیل حمایت از این تحقیق در قالب طرح پژوهشی مصوب، به شماره ۳۹۳۲/کپ، تشکر و قدردانی می‌نماید.

### منابع

- Al-Saif, S.S.A.I., Abdel-Raouf, N., El-Wazanani, H.A., Aref, I.A. 2014. Antibacterial substances from marine algae isolated from Jeddah coast of Red sea, Saudi Arabia. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 21(1): 57-64.
- Alghazeer, R., Whida, F., Abduehrman, E., Gammoudi, F., Azwai, S. 2013. Screening of antibacterial activity in marine green, red and brown macroalgae from the western coast of Libya. *Natural Science*. 5(01): 7-14.
- Barbosa, J.P., Fleury, B.G., da Gama, B.A., Teixeira, V.L., Pereira, R.C. 2007. Natural products as antifoulants in the Brazilian brown alga *Dictyota pfaffii* (Phaeophyta, Dictyotales). *Biochemical Systematics and Ecology*. 35(8): 549-553.
- Bauer, A., Kirby, W., Sherris, J.C., Turck, M. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American Journal of Clinical Pathology*. 45(4): 493-496.
- Bazes, A., Silkina, A., Douzenel, P., Fay, F., Kervarec, N., Morin, D., Berge, J.P., Bourgougnon, N. 2009. Investigation of the antifouling constituents from the brown alga *Sargassum muticum* (Yendo) Fensholt. *Journal of Applied Phycology*. 21(4): 395-403.
- Blunt, J.W., Copp, B.R., Keyzers, R.A., Munro, M., Prinsep, M.R. 2013. Marine natural products. *Natural Product Reports*. 30(2): 237-323.
- Borchardt, J.R., Wyse, D.L., Sheaffer, C.C., Kauppi, K.L., Ehlke, R.G.F.N.J., Biesboer, D.D., Bey, R.F. 2008. Antimicrobial activity of native and naturalized plants of Minnesota and Wisconsin. *Journal of Medicinal Plants Research*. 2(5): 098-110.

- Bouhlal, R., Haslin, C., Chermann, J.C., Collic-Jouault, S., Sinquin, C., Simon, G., Cerantola, S., Riadi, H., Bourgougnon, N. 2011. Antiviral activities of sulfated polysaccharides isolated from *Sphaerococcus coronopifolius* (Rhodophyta, Gigartinales) and *Boergeseniella thuyoides* (Rhodophyta, Ceramiales). *Marine Drugs*. 9(7): 1187-1209.
- Bouhlal, R., Riadi, H., Bourgougnon, N. 2010. Antiviral activities of Morocco seaweeds extracts. *African Journal of Biotechnology*. 9: 7968-7975.
- Cabrita, M.T., Vale, C., Rauter, A.P. 2010. Halogenated compounds from marine algae. *Marine Drugs*. 8(8): 2301-2317.
- Caccamese, S., Azzolina, R., Furnari, G., Cormaci, M., Grasso, S. 1981. Antimicrobial and antiviral activities of some marine algae from eastern Sicily. *Botanica Marina*. 24(7): 365-368.
- Chapman, V. 2012. *Seaweeds and Their Uses*. Springer Science & Business Media.
- Cos, P., Vlietinck, A.J., Berghe, D.V., Maes, L. 2006. Anti-infective potential of natural products: how to develop a stronger in vitro 'proof-of-concept'. *Journal of Ethnopharmacology*. 106(3): 290-302.
- de Felício, R., de Albuquerque, S., Young, M.C.M., Yokoya, N.S., Debonsi, H.M. 2010. Trypanocidal, leishmanicidal and antifungal potential from marine red alga *Bostrychia tenella* J. Agardh (Rhodomelaceae, Ceramiales). *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 52(5): 763-769.
- Derakhshesh, B., Yusefzadi, M., Afsharnasab, M., Yeganeh, V., Dashtian-nasab, A. 2011. Antibacterial effects of marine algae extracts (*Laurencia snyderiae* and *Sargassum angustifolium*) on human pathogens. *South Medicine*. 14(1): 17-22.
- Devi, G.K., Manivannan, K., Thirumaran, G., Rajathi, F.A.A., Anantharaman, P. 2011. In vitro antioxidant activities of selected seaweeds from Southeast coast of India. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. 4(3): 205-211.
- Ebrahiminezhad, A., Berenjian, A., Kouhpayeh, A., Khasemi, Y. 2014. Applications of iron oxide nanoparticles in microbiology and the effects on microorganisms. *Journal of Microbial World*. 7(1): 75-86.
- Evans, S.M., Cowan, M.M. 2006. Plant products as antimicrobial agents. *Cosmetic Science and Technology Series*. 31: 205.
- Fadoul, H.E., Juntawong, N. 2014. Antimicrobial activity of extracts from aquatic algae isolated from salt soil and fresh water in Thailand. *International Journal of Research Studies in Biosciences*. 2(11): 149-152.
- Ibraheem, I.B.M., Abdel-Raouf, N., Abdel-Hameed, M.S., El-yamany, K. 2012. Antimicrobial and antiviral activities against Newcastle disease virus (NDV) from marine algae isolated from Qusier and Marsa-Alam Seashore (Red Sea), Egypt. *African Journal of Biotechnology*. 11(33): 8332-8340.
- Jassbi, A.R., Mohabati, M., Eslami, S., Sohrabipour, J., Miri, R. 2013. Biological activity and chemical constituents of red and brown algae from the Persian Gulf. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 12(3): 339-348.
- Jorgensen, J.H., Turnidge, J.D. 2015. *Manual of clinical microbiology*. 11<sup>th</sup> edition. Washington, ASM Press. 2892 p.
- Kannan, R.R.R., Arumugam, R., Anantharaman, P. 2010. In vitro antioxidant activities of ethanol extract from *Enhalus acoroides* (LF) Royle. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. 3(11): 898-901.
- Kannapiran, E., Nithyanandan, M. 2002. Antibacterial activity of different fractions of extracts from Palk Bay seaweeds. *Seaweeds Research and Utilization*. 24(1): 177-181.
- Kim, S.K., Karadeniz, F. 2011. Anti-HIV activity of extracts and compounds from marine algae. *Advances in Food and Nutrition Research*. 64: 255-265.
- Kim, S.K., Thomas, N.V., Li, X. 2011. Anticancer compounds from marine macroalgae and their application as medicinal foods. *Advances in Food and Nutrition Research*. 64: 213-224.
- Kokabi, M., Yousefzadi, M. 2015. Checklist of the marine macroalgae of Iran. *Botanica Marina*. 58(4): 307-320.



- Kolanjinathan, K., Ganesh, P., Govindarajan, M. 2009. Antibacterial activity of ethanol extracts of seaweeds against fish bacterial pathogens. *European Review of Medical and Pharmacological Sciences*. 13(3): 173-177.
- Lavanya, R., Veerappan, N. 2011. Antibacterial potential of six seaweeds collected from Gulf of Mannar of southeast coast of India. *Advances in Biological Research*. 5(1): 38-44.
- MarinLit, V.S. 2003. A marine literature database produced and maintained by the Department of Chemistry. University of Canterbury, New Zealand.
- MarinLit, V.S. 2011. A marine literature database produced and maintained by the Department of Chemistry. University of Canterbury, New Zealand.
- Na, H.J., Moon, P.D., Lee, H.J., Kim, H.R., Chae, H.J., Shin, T., Seo, Y., Hong, S.H., Kim, H.M. 2005. Regulatory effect of atopic allergic reaction by *Carpopeltis affinis*. *Journal of Ethnopharmacology*. 101(1): 43-48.
- Namvar, F., Baharara, J., Amini, E., Mahdavi, M. 2015. Cytotoxic effect of magnetic iron oxide nanoparticles coated with seaweed aqueous extract against ovarian cancer cells. 19(2): 94-101.
- Newman, D.J., Cragg, G.M. 2004. Marine natural products and related compounds in clinical and advanced preclinical trials. *Journal of Natural Products*. 67(8): 1216-1238.
- Peymani, J., Gharaei, A., Ghaffari, M., Taher, A. 2014. Evaluation of antibacterial and antifungal effects of marine algae (*Gracilaria arcuata*) of chabahar coasts, Iran. *Qom University of Medical Sciences Journal*. 8(1): 69-75.
- Rahimi, S., Zokaei, M., Soltani, N. 2010. Antimicrobial activity of 5 species of blue-green algae and 3 species of green algae from Mashhad and suburb. *Herbal Drugs*. 2: 47-50.
- Rajasulochana, P., Dhamotharan, R., Krishnamoorthy, P., Murugesan, S. 2009. Antibacterial activity of the extracts of marine red and brown algae. *Journal of American Science*. 5(3): 20-25.
- Seenivasan, R., Indu, H., Archana, G., Geetha, S. 2010. The antibacterial activity of some marine algae from south east coast of India. *American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Sciences*. 9(5): 480-489.
- Shi, D., Li, J., Guo, S., Han, L. 2008. Antithrombotic effect of bromophenol, the alga-derived thrombin inhibitor. *Journal of Biotechnology*. 136: 579-588.
- Sushanth, V., Rajashekhar, M. 2015. Antioxidant and antimicrobial activities in the four species of marine microalgae isolated from Arabian Sea of Karnataka coast. *Indian Journal of Geo-Marine Sciences*. 44(1): 1-7.
- TÜney, İ., Cadirci, B.H., Ünal, D., Sukatar, A. 2006. Antimicrobial activities of the extracts of marine algae from the coast of Urla (Izmir, Turkey). *Turkish Journal of Biology*. 30(3): 171-175.
- Val, A., Platas, G., Basilio, A., Cabello, A., Gorrochategui, J., Suay, I., Vicente, F., Portillo, E., Río, M. and Reina, G. 2001. Screening of antimicrobial activities in red, green and brown macroalgae from Gran Canaria (Canary Islands, Spain). *International Microbiology*. 4(1): 35-40.