

بررسی فعالیت ضدباکتریایی و ضدقارچی عصاره جلبک دریایی (*Sargassum glaucescen*)

مریم امیرشریفی^۱، شهلا جمیلی^{۱*}، کامبیز لاریجانی^۳، علی ماشینچیان مرادی^۱، کیومرث امینی^۴

* Shahlajamili45@yahoo.com

- ۱- گروه زیست شناسی دریایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
- ۲- موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران
- ۳- گروه شیمی، دانشکده علوم پایه و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
- ۴- گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد ساوه، دانشگاه آزاد اسلامی، ساوه، ایران

تاریخ پذیرش: شهریور ۱۳۹۵

تاریخ دریافت: اردیبهشت ۱۳۹۵

چکیده

در دهه های اخیر استفاده از جلبک ها در صنایع غذایی و دارویی از اهمیت فراوانی برخوردار شده است. فعالیت ضد میکروبی عصاره های متانولی، اتیل استات، هگزانی و کلروفرم جلبک قهوه ای علیه باکتریهای گرم مثبت، گرم منفی، و قارچ با استفاده از روش ماکرو دایلوژن مورد ارزیابی قرار گرفت. جمع آوری جلبک *Sargassum glaucescen* از مناطق آبهای ساحلی چابهار، دریای عمان از فروردین تا اردیبهشت سال ۱۳۹۴ انجام شد. ۶ پاتوژن میکروبی انتروکوکوس فاسیوم ATCC 51299، استرپتوکوکوس موتانس ATCC 35668، شیگلا بویدی ATCC 25923، سودوموناس آئروژینوزا ATCC 27853، کلبسیلا پنومونیه ATCC 13883، سالمونلا انترتیتیدیس PTCC 1709 و دو پاتوژن قارچی کانیدیدا آلیکنس ATCC 10231 و اسپرژیلوس فومیگاتوس PTCC 5009 با استفاده از روش براث دایلوژن مورد بررسی قرار گرفت. عصاره متانولی برای شش گونه از هشت گونه میکروبی دارای اثرات بازدارندگی خوبی نشان دادند. عصاره هگزانی بعد از عصاره متانولی دارای اثرات ضد میکروبی علیه پنج میکروب پاتوژن داشته است. همه سویه های میکروبی نسبت به عصاره اتیل استات و عصاره کلروفرمی مقاومت نشان دادند. دو پاتوژن قارچی نسبت به هر چهار نوع عصاره جلبک *Sargassum glaucescen* حساس بودند. نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره متانولی جلبک *Sargassum glaucescen* دارای اثرات ضد قارچی و ضد باکتریایی بالقوه بودند. لذا تحقیقات بیشتری به منظور جداسازی، تخلیص و شناسایی عناصر موثر و فعال با خاصیت ضد قارچی و ضد باکتریایی مورد نیاز می باشد.

واژه های کلیدی: فعالیت ضدباکتریایی، فعالیت ضد قارچی، *Sargassum glaucescen*، براث دایلوژن.

* نویسنده مسئول

مقدمه

در دهه های اخیر استفاده از جلبک هادر صنایع غذایی و دارویی از اهمیت فراوانی برخوردار شده است. مطالعات گسترده ای جهت استفاده از جلبک ها در علم پزشکی برای محققین انگیزه و اشتیاق فراوانی در کشور های مختلف جهت انجام مطالعات گسترده در مورد مطالعات ریخت شناسی و اجزاء مختلف این میکروارگانیسم ها را فراهم آورده است (Vasconcelos *et al.*, 2014). در بررسی های مختلف معین گردید که عصاره جلبک ها دارای خواص ضد قارچی، ضدباکتریال، ضدویروس و ضد سرطان می باشد (Peymani *et al.*, 2014). به همین منظور از روش های مختلفی جهت مشخص نمودن ترکیبات مختلف عصاره های جلبکی استفاده گردیده است. در مطالعات مختلف مشخص گردید که عصاره جلبک دریایی حاوی ترکیبات مختلفی از جمله آمینواسیدها، آلکالوئید ها، گالیک اسید، ترکیبات استروئیدی، اسید های چرب، فنول ها، ترکیبات آروماتیک نظیر آلکان ها و کتون های هالوژن، و نهایتاً پلی سولفات های مختلف می باشد (Huang *et al.*, 2014; Payghami *et al.*, 2014). در سال های استفاده بی رویه از آنتی بیوتیک ها باعث ظهور میکروارگانیسم های مقاوم به آنتی بیوتیک در سراسر جهان شده است. از طرفی مصرف آنتی بیوتیک های مختلف منجر به پیدایش عوارض مختلف در انسان شده است از اینرو یافتن ترکیبات مؤثر علیه پاتوژن های میکروبی مقاوم و غیر مقاوم مورد تحقیق و بررسی می باشد (Hussain *et al.*, 2010; Andersson *et al.*, 2008). خواص درمانی جلبک ها بسیار می باشد؛ از جمله به عنوان مسهل در یبوست ها و التیام دهنده زخم های دستگاه گوارش، کاهش فشار خون، کاهش چربی خون، کاهش وزن و جلوگیری از بیماری های تصلب شرائین استفاده می شوند (Wijesekara *et al.*, 2011). سارگاسوم گلوسسنس از جلبک های بسیار معروف سواحل جنوب ایران می باشد، که در گذشته به علت علف هرز دریا یا صخره ای معروف شده است. این جلبک در اواخر پاییز و اوایل زمستان به حداکثر رویش خود می رسد. در این موقع از سال جلبک با جریانات و تلاطم دریا از بستر

صخره ای خود کنده شده و بصورت توده های بزرگی در سواحل خشکی ریخته می شوند. رنگ جلبک قهوه ای متمایل به سبز بوده، دارای محور استوانه ای، کوتاه و صاف با ۵-۳ میلی متر طول و ۲ میلی متر قطر می باشد و دارای برگ های کشیده و بیضوی یا نیزه ای با ۳-۲ میلی متر طول و ۷-۵ میلی متر عرض، رئوس کند، قاعده گوه ای با پایه کوتاه و حاشیه برگ ها موجدار یا دارای دندان های مشخص می باشد (Montazer-Rahmati *et al.*, 2011; Noormohammadi *et al.*, 2011; May-Lin *et al.*, 2013; Santiañez *et al.*, 2013). توجه به نقش مهم جلبک هادر کنترل باکتری های بیماریزا، تحقیقات وسیعی بر روی گونه های مختلفی از آنها انجام شده است. هدف از مطالعه حاضر، بررسی اثرات ضدباکتریایی و ضدقارچی عصاره های متانولی، اتیل استات، هگزان و کلروفرم جلبک سارگاسوم گلوسسنس بود.

مواد و روش ها

جمع آوری جلبک

نمونه های جلبک قهوه ای دریایی *Sargassum glaucescens* از منطقه جزر و مدی آب های چاهبار که به دلیل دارا بودن سواحل صخره ای با شیب کم دارای وسعت بیشتری است در طی ماههای آبان تا آذر سال ۱۳۹۴ جمع آوری شد. نمونه ها پس از جمع آوری سریعاً به آزمایشگاه منتقل شدند. در آزمایشگاه ابتدا چند بار با آب دریا و سپس با آب شیرین به خوبی شسته شدند تا از نمک، شن، ماسه و سایر موارد تمیز شوند، سپس سمت قسمت های پوسیده و نکروز شده از بدنه جلبک جداسازی و جلبک ها به مدت ۱۰ روز روی پارچه ای تمیز و استریل در سایه و دمای اتاق خشک شدند. پس از خشک شدن توسط آسیاب برقی به صورت پودر در آمدند.

عصاره گیری و تهیه فراکشن ها

به منظور جلوگیری از تغییر در ساختار شیمیایی مواد موثر موجود در جلبک قرمز تهیه شده بلافاصله پس از جمع آوری تحت شرایط مناسب و دور از نور و رطوبت خشک شدند. برای عصاره گیری از روش سوکسله

اثرات ضد میکروبی

برای تعیین حساسیت باکتری ها و قارچ ها نسبت به هر یک از عصاره های مورد بررسی از روشی براه و همکاران (۲۰۱۳) استفاده گردید (Borah *et al.*, 2013). غلظت اولیه هر یک از عصاره های متانولی، اتیل استات، هگزان و کلروفرم ۵۰ میلی گرم/میلی لیتر بود. غلظت اولیه (۵۰ میلی گرم/میلی لیتر) از عصاره های مختلف جلبک با استفاده از دو برابر رقت با انتقال 2/5 میلی لیتر از محلول استریل هر یک از عصاره های مورد بررسی به لوله های حاوی 2/5 میلی لیتر از مولر هینتون برات استریل برای باکتریها و 2/5 میلی لیتر از محیط RPMI (شرکت مرک، آلمان) غلظت اولیه ۲۵ میلی گرم/میلی لیتر بدست آمد. این فرآیند رقیق سازی با نسبت ۱/۲ بصورت متوالی انجام و رقت های ۰/۰۲۵mg/mL - ۲۵ بدست آمد. از دو لوله بعنوان شاهد مثبت (حاوی میکروب) و شاهد منفی (حاوی محیط مولر هینتون برات برای باکتریها و محیط RPMI برای قارچ ها و عدم سوسپانسیون میکروبی) بعنوان کنترل تست استفاده شد. همچنین از جنتامایسین، پیپراسیلین/تازوباکتام (۵ - ۰.۶۲ میلی گرم / میلی لیتر)، فلوکونازول و ایتراکونازول (۲۵۶-۰/۱۶ میلی گرم/میلی لیتر) بعنوان شاهد تست استفاده شد (Andrews *et al.*, 2001; Borah *et al.*, 2013).

تعیین MIC و MBC

برای شمارش سلول های مخمری کاندیدا آلبیکنس با اسپکتروفتومتر سوسپانسیون میکروبی معادل $10^5 \times 0/5$ و برای قارچ اسپرژیلوس فومیگاتوس اسپور قارچی معادل $10^3 \times 2.5$ میلی گرم/میلی لیتر تهیه شد (Doughari *et al.*, 2007). سوسپانسیونی از میکروب و معادل غلظت نیم مک فارلند به هر یک از لوله های حاوی عصاره و محیط مولر هینتون برات (کشت باکتری) یا محیط RPMI (کشت قارچ ها) اضافه شد. سپس با بستن سر تمامی لوله ها با پنبه استریل، لوله ها در گرمخانه در دمای 37°C به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شدند. کمترین غلظتی از عصاره که به طور کامل سبب مهار رشد باکتری و یا کشته شدن میکروارگانیسم های باکتری یا قارچی شده نسبت به گروه شاهد (کنترل مثبت) به ترتیب بعنوان

۱۱۵

(Soxhlet extraction) استفاده شد. برای تهیه عصاره آبی، ابتدا در دو ارلن، به طور جداگانه مقدار 50 گرم از جلبک را با 200 میلی لیتر اتر دوپترول مخلوط شدند. ارلن ها به مدت دو روز در دمای اتاق و شرایط عاری از نور، نگهداری شده که پس از گذشت 24 ساعت اول، محتویات ارلن به مدت 20 دقیقه به وسیله شیکر، به خوبی با هم مخلوط شدند. سپس، محتویات ارلن به وسیله کاغذ صافی واتمن شماره یک صاف گردید. در نهایت، فرایند عصاره گیری از مایع صاف شده آبی توسط دستگاه در دمای 50 درجه سلیسیوس و Rotary evaporator تحت شرایط خلاء انجام گردید. به طور مشابهی، عصاره هیدروالکلی نیز طی فرایند سوکسله و با استفاده از اتانول 80 درصد و دی اتیل اتر به دست آمد. در نهایت، هر دو نوع عصاره حاصله پس از توزین، درون ظرف شیشه ای استریل در یخچال نگهداری شدند. به پودر تهیه شده مقدار ۵ میلی لیتر از حلال های متانولی، اتیل استات، هگزان و کلروفرم اضافه شد و به مدت پنج روز در این شرایط ماند. سپس عصاره را صاف نموده و حلال توسط دستگاه تقطیر در خلاء جداسازی شد تا عصاره غلیظ به دست آید. سپس عصاره حاصله را صاف نموده و به منظور استریل نمودن از فیلترهای میکروپور 0/2 میکرون استفاده شد (Payghami *et al.*, 2014).

گونه های میکروبی

فعالیت های ضد باکتری و ضد قارچی عصاره های مختلف جلبک سارگاسوم گلوسسنس در برابر شش باکتری بیماری زا (انتروکوکوس فاسیوم ATCC 51299، استرپتوکوکوس موتانس ATCC 35668، شینگلا بویدی ATCC 25923، سودوموناس آئروژینوزا ATCC 27853، کلبسیلا پنومونیه ATCC 13883 و سالمونلا PTCC 1709) و دو قارچ بیماری زا (کاندیدا آلبیکنس ATCC 10231 و اسپرژیلوس فومیگاتوس PTCC 5009)، به روش رقیق سازی در آبگوشت مورد بررسی قرار گرفت. تمام ایزوله های استاندارد از گروه میکروبیولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی ایران تهیه گردید (Payghami *et al.*, 2014).

مطالعه مشخص شد که در بین ۴ عصاره جلبک سارگاسوم گلووسنس تنها عصاره متانولی قادر به مهار رشد سودوموناس آئروژینوزا ATCC 27853 بوده است. شاخص MIC عصاره اتانولی بدست آمده برای باکتری های گرم مثبت و گرم منفی به ترتیب برابر ۱/۵۶ و ۱۲/۵ میلی گرم / میلی لیتر بود (جدول ۱). دو قارچ کاندیدا آلبیکنس ATCC 10231 و اسپرژیلوس فومیگاتوس PTCC 5009 یک پاسخ خوب به ۴ نوع عصاره جلبک سارگاسوم گلووسنس نشان دادند. اگر چه اسپرژیلوس فومیگاتوس PTCC 5009 در مقایسه با کاندیدا آلبیکنس ATCC 10231 واجد MIC و MFC بالاتری برای ۴ نوع عصاره مورد مطالعه بودند. عصاره اتیل استات دارای کمترین میزان MIC و MBC به ترتیب ۰/۴ و ۱/۵۶ میلی گرم/میلی لیتر و ۰/۸ و ۳/۱۲ میلی گرم/میلی لیتر برای کاندیدا آلبیکنس ATCC 10231 و اسپرژیلوس فومیگاتوس PTCC 5009 بدست آمد (جدول ۲). یافته های مطالعه نشان داد عصاره متانولی نسبت به سایر عصاره ها دارای اثر بخشی بیشتری بوده است. اثربخشی در مقایسه با گروه شاهد داروی ضد باکتریال و ضد قارچی در جدول ۳ نشان داده شده است و MIC و MBC در دامنه رنج تعریف شده CLSI بوده است.

MIC, MBC و MFC در نظر گرفته شد (Borah et al., 2013).

نتایج

در این مطالعه به ارزیابی چهار نوع عصاره مختلف جلبک سارگاسوم گلووسنس (متانولی، اتیل استات، هگزان و کلروفورم) در برابر دو باکتری گرم مثبت، چهار باکتری گرم منفی و دو گونه قارچ مخمری و رشته ای با روش رقیق سازی در لوله و نتایج پس از ۴۸ ساعت گرمخانه گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد ثبت شد. برخی عصاره ها فعالیت های قابل توجهی بر روی باکتری های گرم مثبت داشته اند در حالیکه بر روی باکتریهای گرم منفی تأثیر چندانی نداشتند. عصاره متانولی این جلبک قهوه ای بر روی شش گونه میکروبی فعالیت مہاری قابل توجه ای در میان هشت ایزوله مورد بررسی از خود نشان داد. عصاره هگزان، پس از عصاره متانولی اثر خوبی بر روی فعالیت ضد میکروبی در برابر پنج سویه مورد بررسی داشت. تمام باکتری های گرم منفی و گرم مثبت در برابر عصاره اتیل استات و کلروفورمی این جلبک از خود مقاومت نشان دادند. شایان ذکر است باکتری کلبسیلا پنونیه ATCC 13883 و سالمونلا اینتریتیدیس PTCC 1709 در برابر فعالیت ضد میکروبی ۴ نوع عصاره جلبک سارگاسوم گلووسنس مقاومت از خود نشان دادند. در این

جدول ۱: مقادیر MIC و MBC برای عصاره های مختلف سارگاسوم گلووسنس علیه سویه های باکتریایی بر حسب میلی گرم/میلی لیتر

Microbial isolation	عصاره کلروفورمی		عصاره متانولی		عصاره هگزانی		عصاره اتیل استات	
	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
<i>Enterococcus faecium</i> ATCC 51299	-	-	۱.۵۶	۳.۱۲	۶.۲۵	۱۲.۵	-	-
<i>Streptococcus mutans</i> ATCC 35668	-	-	۱.۵۶	۳.۱۲	۶.۲۵	۲.۱۵	-	-
<i>Shigellaboydii</i> ATCC25923	-	-	۱۲.۵	۲۵	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC27853	-	-	۱۲.۵	۲۵	-	-	-	-
<i>Klebsiellapneumoniae</i> ATCC 13883	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Salmonella enteritidis</i> PTCC1709	-	-	-	-	-	-	-	-

جدول ۲: مقادیر MIC و MBC برای عصاره های مختلف سارگاسوم گلوکوسنس علیه سویه های قارچی بر حسب میلی گرم/میلی لیتر

عصاره ایتیل استات	عصاره هگرنانی		عصاره متانولی		عصاره کلروفرمی		ایزوله های قارچی	
	MIC	MFC	MIC	MFC	MIC	MFC	MIC	MFC
<i>Candida albicans</i> ATCC10231	۰.۴	۰.۸	۶.۲۵	۱۲.۵	۶.۲۵	۱۲.۵	۱۲.۵	۲۵
<i>Aspergillus fumigatus</i> PTCC5009	۱.۵۶	۳.۱۲	۱۲.۵	۲۵	۱۲.۵	۲۵	۲۵	۵۰

جدول ۳: مقادیر مختلف MIC، MBC و MFC بر حسب میلی گرم / میلی لیتر عوامل آنتی بیوتیک و داروهای ضد قارچ

ایزوله میکروبی	فلوکونازول		جنتامایسین		پیپراسیلین / تازوباکتام		ایتراکونازول	
	MIC	MFC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MFC
<i>Enterococcus faecium</i> ATCC 51299	-	-	۰.۲۵	۲	-	-	-	-
<i>Streptococcus mutans</i> ATCC 35668	-	-	۰.۱۲۵	۲.۱۵	-	-	-	-
<i>Shigella boydii</i> ATCC25923	-	-	-	-	۲.۱	۳.۱۳	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC27853	-	-	-	-	۳۲	۶۸	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 13883	-	-	-	-	۴	۸	-	-
<i>Salmonella enteritidis</i> PTCC1709	-	-	-	-	۲	۴.۱	-	-
<i>Candida albicans</i> ATCC10231	-	-	-	-	-	-	۰.۶۴	۰.۵
<i>Aspergillus fumigatus</i> PTCC5009	-	-	-	-	-	-	۰.۳۲	۰.۶۴

بحث

عصاره بر روی گونه مخمری نسبت به گونه رشته ای مؤثرتر بوده است. از این نظر نتایج این محقق با مطالعه حاضر مطابقت داشته است (Manivannan et al., 2011). در مطالعه Manivannan و همکاران عصاره کلروفرمی جلبک های قهوه ای دارای بیشترین اثر بر روی اسپرژیلوس ترئوس و کمترین اثر بر روی کاندیدا آلبیکنس بوده است (Manivannan et al., 2011)، در حالیکه در مطالعه حاضر تأثیر عصاره کلروفرمی بر روی کاندیدا آلبیکنس نسبت به اسپرژیلوس فومیگاتوس بیشتر بوده است. علت این اختلاف می تواند نوع عصاره جلبکی، نوع گونه قارچی و اجزاء موجود و ماده مؤثره سارگاسوم گلسیسنس می باشد (Noormohammadi et al., 2011). اثرات ضد باکتریایی عصاره های مختلف سارگاسوم گلوکوسنس نشان داد که باکتری های گرم مثبت از حساسیت بالاتری نسبت به باکتری های گرم منفی برخوردار بود. دلایل این امر می تواند وجود لایه های چربی متعدد و وجود ساختار لیپوپلی ساکاریدی باشد که از نفوذ ترکیبات مؤثر موجود در عصاره جلبک به داخل سلول باکتریایی جلوگیری می کند (Kandhasamy et al., 2008). در بین عصاره های مختلف سارگاسوم

سارگاسوم گلوکوسنس دارای ویژگی های فارماکولوژیک خاصی است (Noormohammadi et al., 2011). اثرات ضد قارچی آن در مطالعه حاضر بسیار قابل توجه بود. در بین قارچ های بررسی شده در مطالعه حاضر، کاندیدا آلبیکنس نسبت به اسپرژیلوس فومیگاتوس از حساسیت بالاتری برخوردار بود. MIC بدست آمده برای کاندیدا آلبیکنس در مقابل عصاره متانولی (۶/۲۵ میلی گرم/میلی لیتر)، کلروفرمی (۱۲/۵ میلی گرم/میلی لیتر)، هگرنانی (۶/۲۵ میلی گرم/میلی لیتر) و ایتیل استات (۰/۴ میلی گرم/میلی لیتر) بود در حالیکه برای اسپرژیلوس فومیگاتوس عصاره متانولی (۱۲/۵ میلی گرم/میلی لیتر)، کلروفرمی (۲۵ میلی گرم/میلی لیتر)، هگرنانی (۱۲/۵ میلی گرم/میلی لیتر) و ایتیل استات (۱/۵۶ میلی گرم/میلی لیتر) بدست آمد. Manivannan و همکاران در سال ۲۰۱۱ به بررسی اثرات ضد قارچی سه نوع جلبک قهوه ای *Sargassum tenerrimum* بر روی کریپتوکوکوس نئوفورمنس و اسپرژیلوس نایجر پرداختند نتایج مطالعه آنها نشان داد که این عصاره متانولی جلبک قهوه ای اثر بخشی علیه این دو قارچ داشته است با این حال اثرات

گردید (Dashtiannasab *et al.*, 2012). در حالی که در مطالعه حاضر تمامی ایزوله های باکتریایی نسبت به عصاره کلروفورمی جلبک قهوه ای سارگاسوم گلوسسنس مقاوم بود. نتایج این مطالعه نشان می دهد که عصاره متانولی جلبک قهوه ای دارای اثرات بازدارندگی بر روی میکروارگانسیم های پاتوژن انسانی نسبت به گروه شاهد (آنتی بیوتیک) می باشد که می تواند با تحقیقات بیشتر جایگزین مناسبی برای آنتی بیوتیک های تجاری باشد. باتوجه به افزایش روزافزون مقاومت میکروبی نسبت به آنتی بیوتیک های رایج، یکی از اولویت های کارمحققان یافتن ترکیبات جدید ضد میکروبی است و باتوجه به اینکه گیاهان دارویی دارای عوارض و هزینه کمتری می باشند، می توانند یکی از منابع داروهای ضد میکروبی باشند. برطبق نتایج این مطالعه ثابت شد جلبک قهوه ای سارگاسوم گلوسسنس دارای اثرات ضد میکروبی قابل توجهی علیه باکتری های گرم مثبت و عوامل مخمری و رشته ای قارچ ها داشته است و می تواند به عنوان یک منبع طبیعی برای استفاده در درمان عفونت ها باشد. لذا جداسازی ترکیبات موثره، خالص سازی، بررسی اثرات ضد میکروبی بیشتر آنها برای تهیه فرمولاسیون دارویی پیشنهاد می گردد.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله تمامی مولفین از گروه زیست شناسی دریا دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات که ما را در اجرای این پروژه یاری رساندند و همچنین مدیریت و پرسنل گروه میکروبیولوژی دانشگاه علوم پزشکی ایران به دلیل تهیه سوش های میکروبی تقدیر و تشکر می نمایم.

منابع

- Andersson, D.I. and Hughes, D., 2010. Antibiotic resistance and its cost: is it possible to reverse resistance. *Nature Reviews Microbiology*. 8(4): 260-71.
- Andrews, J.M., 2001. Determination of minimum inhibitory concentrations.

گلوسسنس عصاره متانولی دارای بیشترین خاصیت مهار کنندگی بر روی باکتری های گرم مثبت و گرم منفی بود. پیمانی و همکارانشان در سال ۱۳۹۳ (Peymani *et al.*, 2014) به ارزیابی اثرات ضدباکتریایی و ضدقارچی نوع دیگری از جلبک دریایی به نام *Gracilaria arcuata* از سواحل چابهار پرداختند. آنها به بررسی خاصیت ضد میکروبی و ضد قارچی بر روی ۵ سویه باکتری پروتئوس ولگاریس، ویبریو کلره، اشیریشیا کلی، استافیلوکوکوس اورئوس و لیستریا منوسیتوژنز و قارچ اسپرژیلوس فلاووس پرداختند. رشد اسپرژیلوس فلاووس در مطالعه پیمانی توسط *Gracilaria arcuata* در طی ۷۲ ساعت مهار شد در حالیکه در این مطالعه اسپرژیلوس فومیگاتوس در مجاورت سارگاسوم گلوسسنس در طی ۴۸ ساعت رشد آن مهار شد که نتایج آنها با مطالعه حاضر سازگار بود. در مطالعه پیمانی و همکاران اشیریشیا کلی (گرم منفی) دارای بیشترین مقاومت نسبت به عصاره اتانولی جلبک قرمز بود (Peymani *et al.*, 2014). Chowdhury و همکاران در سال ۲۰۱۵ (Chowdhury *et al.*, 2015) به بررسی اثرات ضد قارچی و ضد باکتریایی جلبک قهوه ای *Sargassum vulgare* علیه استافیلوکوکوس اورئوس ATCC 25923، باسیلوس سوبتیلیس ATCC 6633، اشیریشیا کلی ATCC 25922، کلبسیلا پنومونیه ATCC 13883، سودوموناس آئروژینوزا ATCC 27853، سالمونلا تیفی ATCC 33459 و کاندیدا آلبیکنس (ATCC 60192) با سه نوع عصاره متانولی، اتانولی و کلرفرمی پرداختند. در مطالعه آنها اشیریشیا کلی نسبت به همه عصاره مقاوم بود در حالی که سایر میکروارگانسیم ها نسبت به عصاره *Sargassum vulgare* حساس بودند (Chowdhury *et al.*, 2015). Dashtiannasab و همکاران در سال ۲۰۱۲ به بررسی اثرات اتانولی و کلروفورمی *Sargassum latifolium* علیه سه پاتوژن میکروبی میگو در شرایط آزمایشگاهی پرداختند. نتایج MIC بدست آمده از عصاره کلروفورمی جلبک قهوه ای *Sargassum latifolium* علیه ویبریو آلژینولیتیکوس، ویبریو پاراهمولیتیکوس و ویبریو هارویه به ترتیب ۵، ۱۰ و ۱۰ میلی گرم/میلی لیتر گزارش

- Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 48(1): 5-16.
- Borah, M., Das, S. and Ahmed, S., 2013.** Antibacterial activity of the ethanolic extract of leaves of *Citrus maxima* (Burm.) Merr. on *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research. 6: 4.
- Chowdhury, M.M.H., Kubra, K., Hossain, M.B., Mustafa, M.G., Jainab, T. and Karim, M.R., 2015.** Screening of Antibacterial and Antifungal Activity of Freshwater and Marine Algae as a Prominent Natural Antibiotic Available in Bangladesh. International Journal of Pharmacology. 11(7): 828-33.
- Doughari, J., 2007.** Antimicrobial activity of *Tamarindus indica* Linn. Tropical Journal of Pharmaceutical Research. 5(2): 597-603.
- Dashtiannasab, A., Kakoolaki, S., Sharif Rohani, M. and Yeganeh, V., 2012.** In vitro effects of *Sargassum latifolium* (Agardeh, 1948) against selected bacterial pathogens of shrimp. Iranian Journal of Fisheries Sciences. 11(4): 765-775.
- Huang, C.Y., Wu, S.J., Yang, W.N., Kuan, A.W., Chen, C.Y., 2016.** Antioxidant activities of crude extracts of fucoidan extracted from *Sargassum glaucescens* by a compressional-puffing-hydrothermal extraction process. Food Chemistry. 197:1121-9.
- Hussain, A.I., Anwar, F., Sherazi, S.T.H., Przybylski, R., 2008.** Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. Food Chemistry. 108(3): 986-95.
- Kandhasamy, M., and Arunachalam, K., 2008.** Evaluation of in vitro antibacterial property of seaweeds of southeast coast of India. African Journal of Biotechnology. 7: 12.
- Montazer-Rahmati, M.M., Rabbani, P., Abdolali, A., Keshtkar, A.R., 2011.** Kinetics and equilibrium studies on biosorption of cadmium, lead, and nickel ions from aqueous solutions by intact and chemically modified brown algae. Journal of hazardous materials. 185(1):401-7.
- May-Lin, B.Y., and Ching-Lee, W., 2013.** Seasonal growth rate of *Sargassum* species at Teluk Kemang, Port Dickson, Malaysia. Journal of applied phycology. 25(3):805-14.
- Manivannan, K., Anantharaman, P. and Balasubramanian, T., 2011.** Antimicrobial potential of selected brown seaweeds from Vedalai coastal waters, Gulf of Mannar. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. 1(2): 114-20.
- Noormohammadi, Z., Ghasemzadeh Baraki, S., Sheidai, M., Rafiee, F. and Gharanjik, B.M., 2011.** Morphological diversity of *Sargassum*

- species of Iran. Gene Conserve. 10(39): 1-22.
- Peymani, J., Gharaei, A., Ghaffari, M. and Taheri, A., 2014.** Evaluation of antibacterial and antifungal effects of marine algae (*Gracilaria arcuata*) of Chabahar Coasts, Iran. Qom university of medical science journal. 22 (4): 13-20.
- Payghami, N., Jamili, S., Rustaiyan, A., Saeidnia, S., Nikan, M. and Gohari, A.R., 2014.** Alpha-amylase inhibitory activity and sterol composition of the marine algae, *Sargassum glaucescens*. Pharmacognosy Research. 7(4): 314.
- Santiañez, W.J.E., and Trono, G.C., 2013.** Taxonomy of the Genus *Sargassum* (Fucales, Phaeophyceae) from Alabat Island, Quezon, Northeastern Philippines. Science Diliman. 25: 1.
- Vasconcelos, M.A., Arruda, F.V.S., Carneiro, V.A., Silva, H.C., Nascimento, K.S. and Sampaio, A.H., 2014.** Effect of algae and plant lectins on planktonic growth and biofilm formation in clinically relevant bacteria and yeasts. BioMed Research International. 2014: 365272.
- Wijesekara, I., Pangestuti, R. and Kim, S.K., 2011.** Biological activities and potential health benefits of sulfated polysaccharides derived from marine algae. Carbohydrate Polymers. 84(1): 14-21.

Investigation of Antibacterial and antifungal activities of the extract marine algae *Sargassum glaucescens*

Amirsharifi M.¹; Jamili S.^{1,2*}; Larijani K.³; Mashinchian Moradi A.¹; Amini K.⁴

* Shahlajamili45@yahoo.com

1-Department of Marine Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

2-Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Tehran, Iran.

3-Department of Chemistry, Faculty of Basic Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

4-Department of Microbiology, School of Basic Sciences, Saveh Branch, Islamic Azad University, Saveh, Iran.

Abstract

In recent decades the use of algae in the food and pharmaceutical industries is of great importance. The antimicrobial activity of brown alga methanol, ethyl acetate, hexane, and chloroform extracts on bacteria gram positive, gram negative, and fungi was evaluated by using nutrient broth macrodilution test. *Sargassum glaucescense* was collected around the coastal waters of Chabahar (Oman Sea) in Nov and Dec 2015. Six pathogenic organisms including; *Enterococcus faecium* ATCC 51299, *Streptococcus mutans* ATCC 35668, *Shigella boydii* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883, *Salmonella enteritidis* PTCC, 1709, *Candida albicans* ATCC 10231 and *Aspergillus fumigatus* PTCC 5009 were investigated by the broth dilution method. Methanolic Extract for six strains showed good activity amongst eight strains. Hexane extract, after methanolic extract has good effect on antimicrobial activity against five strains. All bacteria strain in this survey has showed resistance against ethyl acetate and chloroformic extracts. All extract of *S. glaucescens* has good inhibition growth against two fungal strains. *S. glaucescens* using four various solution extract against eight different human pathogens showed an important antimicrobial and antifungal activity. However, more investigation has to be done on separation, purification and detection of the active ingredients in order to recognize their antifungal and antibacterial activity.

Keywords: Antibacterial activity, Antifungal activity, *Sargassum glaucescens*, Broth dilution

* Corresponding author