

بررسی فعالیت ضد باکتریایی عصاره آبی و اتانولی

جلبک قهوه‌ای (*Sargassum glaucescens*)

در سواحل چابهار

جواد پیمانی^(۱)، احمد قرایی^{(۲)*}، مصطفی غفاری^(۳)، علی طاهری^(۴)

* agharaei551@gmail.com

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد شیلات، گروه شیلات، دانشگاه زابل، زابل، ایران.

۲- گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی و پژوهشکده تالاب بین المللی هامون، دانشگاه زابل، صندوق پستی ۹۸۶۱۵-۵۳۸

۳ و ۴- گروه شیلات، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، صندوق پستی ۹۹۷۱۷-۵۶۴۹۹

تاریخ پذیرش: شهریور ۱۳۹۲

تاریخ دریافت: فروردین ۱۳۹۲

چکیده

امروزه استفاده گسترده از آنتی بیوتیک‌ها باعث به وجود آمدن سویه‌های مقاوم میکروارگانیسم‌ها و افزایش مقاومت آنتی بیوتیکی شده است. از این رو تحقیقات روی عوامل ضد میکروبی طبیعی، برای دستیابی به منابع نوین دارویی از اهمیت فراوانی برخوردار است. بر اساس پژوهش‌های انجام شده جلبک‌های پرسلولی دریایی یکی از منابع با خواص ضد میکروبی قابل ملاحظه می باشند. در این پژوهش اثرات ضد باکتری عصاره‌های الکلی و آبی جلبک سارگاسوم گل‌سینس (*Sargassum glaucescens*)، جمع آوری شده از سواحل چابهار روی ۳ سویه باکتری گرم منفی ایشیرشیا کولی، پروتئوس ولگاریس، ویبریو کلرا و ۲ سویه باکتری گرم مثبت لیستریا مونوسیتوژنز و استافیلوکوکوس اورئوس مورد آزمایش قرار گرفت. عصاره گیری به روش غوطه وری انجام شد و عصاره‌های اتانولی و آبی طی ۴۸ ساعت به دست آمدند. اثرات ضد باکتری به دو روش انتشار در آگار به وسیله دیسک و روش رقت های متوالی در لوله جهت تعیین حداقل غلظت بازدارنده عصاره بررسی شد. عصاره اتانولی جلبک مورد نظر بیشترین تأثیر را بر باکتری لیستریا مونوسیتوژنز نشان داد که اختلاف معنی داری با آنتی بیوتیک تجاری نئومایسین داشت. اما عصاره آبی آن هیچ گونه اثری از خود نشان نداد. از طرف دیگر عصاره اتانولی جلبک بر باکتری پروتئوس ولگاریس نیز تأثیری نداشت. عصاره اتانولی جلبک سارگاسوم گل‌سینس دارای اثر ضد باکتری خوبی بر لیستریا مونوسیتوژنز، ویبریو کلرا، ایشیرشیا کولی و استافیلوکوکوس اورئوس می باشد.

کلمات کلیدی: *Sargassum glaucescens*، خواص ضد باکتریایی، عصاره، چابهار، ایران

*نویسنده مسئول

مقدمه

در سال‌های اخیر استفاده گسترده از آنتی بیوتیک‌ها باعث به وجود آمدن سویه‌های مقاوم میکروارگانیسم و افزایش روزافزون مقاومت آنتی بیوتیکی در سراسر جهان شده است. امروزه یافتن مواد ضد میکروبی جدید به دلیل تغییر فرم مقاومتی باکتری‌های بیمارزا به خصوص باکتری‌های عامل ایجاد بیماری‌های غذا زاد و باکتری‌های بیمارستانی مورد تحقیق است (طاهری و همکاران، ۱۳۹۱).

در این زمینه مطالعات بسیار زیادی روی منابع خشکی‌زی و دریایی انجام شده است. مطالعات متعدد نشان داده است که منابع دریایی مختلف از قدرت ضد ویروسی، ضد قارچی و ضد باکتریایی بسیار خوبی برخوردارند (Manivannan et al., 2011). به همین جهت تحقیقات به منظور دست یابی به منابع نوین دارویی با منشأ دریایی که خواص ضد میکروبی دارند اهمیت فراوانی دارد (درخشش و همکاران، ۱۳۹۰). از سوی دیگر جلبک‌ها به عنوان بخش مهمی از فلور سواحل جزر و مدی و تولیدکنندگان اولیه‌ی اکوسیستم‌های دریایی هستند که تنوع آن‌ها در نواحی جزر و مدی اقیانوس‌ها و دریاها تابع عوامل جغرافیایی و اقلیمی حاکم بر آن مناطق می باشد. گزارش شده است که میزان تولیدات اولیه در بسترهای مرجانی و جلبکی می‌تواند از میزان تولیدات اولیه در جنگل‌های پرباران مناطق حاره‌ای تجاوز نماید (ربیعی و همکاران، ۱۳۸۴). این منبع پر ارزش بیولوژیکی دارای کاربردهای گوناگونی است که استفاده از جلبک‌ها به عنوان غذا و دارو بیش از سایر جنبه‌ها، نظر انسان را به خود جلب کرده است (ریاحی، ۱۳۷۷؛ Dhargalkar & Verlecar, 2009; Rajasulochana et al., 2009; Vallinayagam et al., 2010; Srivastava et al., 2009). جلبک‌های دریایی حاوی مقادیر بالایی ویتامین، مواد معدنی، پروتئین، کاروتنوئید، فیبر و اسیدهای چرب ضروری‌اند و کاربرد غذایی دارند. جلبک‌ها علاوه بر غذا می‌توانند کاربرد صنعتی، آرایشی و پزشکی داشته باشند (Kolanjinathan et al., 2009; Kotnala et al., 2009). جلبک‌ها به واسطه‌ی داشتن پلی ساکاریدهای ارزشمندی مانند آگار، کاراژینان و آلژینات دارای ارزش و اهمیت اقتصادی زیادی می‌باشند (Taskin et al., 2007; Kanjana et al., 2011). کاربردهای فراوانی در صنایع کاغذ سازی، نساجی، رنگ سازی، تهیه فیلم‌های عکاسی، لوازم آرایشی و بهداشتی، علوم پزشکی، داروسازی و دندانپزشکی، تهیه محیط‌های کشت میکروبی، تهیه قرص‌ها، شربت‌های دارویی، قالب‌های اولیه دندان و در تغذیه بطور مستقیم و

غیر مستقیم مورد استفاده قرار می‌گیرند (Kaladhnan & Kaliaperumal, 1999). تا کنون ترکیبات زیستی متعددی با گستره کاربردی متنوعی همچون اثرات آنتی بیوتیکی، ضد ویروسی، ضد قارچی و ضد سرطانی از جلبک‌های پرسلولی شناسایی و استخراج شده‌اند و بسیاری از متابولیت‌های اولیه و یا ثانویه این جانداران می‌توانند به مواد زیست فعال مورد استفاده در صنایع دارویی تبدیل شوند (ربیعی و همکاران، ۱۳۸۴؛ درخشش و همکاران، ۱۳۹۰؛ Kanjana et al., 2011; Kumaran et al., 2010; Vairappn, 2003; Bansemir et al., 2006; Rajasulochana et al., 2009; Vallinayagam et al., 2009; Al-Haj et al., 2009; Kolanjinathan et al., 2009; Gonzale del val et al., 2001; Choudhury et al., 2005; Tuney et al., 2006; Taskin et al., 2007; Engel et al., 2006).

بر اساس پژوهش‌های انجام شده برخی از جلبک‌های ماکروسکوپی دارای خواص ضد باکتریایی و ضد قارچی قابل ملاحظه‌ای می‌باشند، لذا برای بررسی این اثر تاکنون عصاره سلولی گونه‌های جلبکی فراوانی در محیط آزمایشگاه علیه پاتوژن‌های مختلف مورد آزمایش قرار گرفته‌اند و اطلاعات بدست آمده در این مقطع برای شناسایی آن ترکیبات خاص سلولی و در نهایت تهیه داروها در پروژه‌های آینده استفاده می‌شوند (درخشش و همکاران، ۱۳۹۰؛ زندی و همکاران، ۱۳۸۵؛ Al-Haj et al., 2006; Bansemir et al., 2006; Choudhury et al., 2005). فعالیت ضدباکتریایی جلبک‌ها به فاکتورهایی از قبیل فصل جمع‌آوری آن‌ها، محیط و مراحل مختلف رشد جلبک بستگی دارد (Manivannan et al., 2011). در بررسی‌های شیمیایی انجام شده بر روی جلبک‌ها وجود ترکیباتی مانند فنول، تانن، ساپونین، فلاوونین، استروئید به اثبات رسیده است (Kotnala et al., 2009).

در کشور ایران جلبک‌های دریایی از سه خانواده جلبک‌های سبز و جلبک‌های قهوه‌ای و جلبک‌های قرمز در سواحل جزر و مدی چابهار یافت می‌شوند و تمامی این جلبک‌ها در فصول مختلفی از سال قابل بهره برداری می‌باشند. متأسفانه در کشور ایران مطالعات کمی روی خواص زیست فعال این منابع ارزشمند انجام گرفته است و مطالعات متعدد زیست فناوری در این زمینه ضروری می‌باشد. جلبک قهوه‌ای سارگاسوم، از جلبک‌های بسیار معروف سواحل

aureus, *Escherchia coli*, *Proteus vulgaris*, *Vibrio cholerae* بود.

مواد و روش کار

نمونه برداری جلبک قهوه ای *Sargassum glaucescens* (از شاخه‌ی Phaeophyta) در فاصله زمانی ۱۵ دی ماه الی ۱۹ اسفند ماه ۱۳۹۰ از منطقه جزر و مدی سواحل چابهار در ۳ ایستگاه انجام گردید (جدول ۱).

جنوب ایران می باشد، که از سال‌ها پیش به علف هرز دریا یا صخره‌ای معروف شده اند. این جلبک در سواحل صخره‌ای جنوب کشور، اواخر پاییز و اوایل زمستان به حداکثر رویش خود می رسد (فرپودنیا، ۱۳۸۷؛ کیانمهر، ۱۳۷۱).

هدف از این تحقیق، بررسی اثرات ضد باکتریایی جلبک قهوه ای *Sargassum glaucescens* سواحل جزر و مدی چابهار علیه ۵ سویه باکتری *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus*

جدول ۱: مشخصات ایستگاه‌های نمونه برداری

ایستگاه	نام منطقه	عرض جغرافیایی	طول جغرافیایی	فاصله خشکی تا چابهار (Km)	فاصله دریائی تا چابهار (Km)	طول کل ساحل صخره ای (Km)	طول ساحل صخره ای مورد مطالعه (Km)
۱	بریس	۲۵ ° ۰۸'	۶۱ ° ۱۱'	۶۰	۶۰	۲	۱/۲
۲	رمین	۲۵ ° ۱۴'	۶۰ ° ۴۵'	۱۲	۱۲	۱/۵	۱/۱۹۵
۳	دریا بزرگ	۲۵ ° ۱۷'	۶۰ ° ۳۹'	-	-	۳	۱/۵

تهیه عصاره آبی) به آن‌ها افزوده و پس از تکان دادن به مدت ۴۸ ساعت در تاریکی نگه داری گردیدند. هر ۱۶ ساعت محتویات ارلن

به مدت ۲۵ دقیقه به هم زده شد و در پایان محتویات ارلن به وسیله کاغذ صافی واتمن شماره ۱ صاف و مایع صاف شده در دستگاه تبخیر گر چرخان تحت خلاء در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد عصاره گیری گردید (Srivastava et al., 2010).

سویه‌های باکتریایی مورد استفاده در این تحقیق شامل باکتری‌های گرم مثبت *L. monocytogenes* (PTCC1163) و *S. aureus* (PTCC1431) و باکتری‌های گرم منفی *E. coli* (PTCC1763)، *P. vulgaris* (PTCC1182) خریداری شده از مرکز کلکسیون فارچ و باکتری‌های ایران بود و *V. cholerae* از بیمارستان امام علی چابهار جداسازی و تخلیص شد و پس از تست‌های تاییدی تشخیصی مورد استفاده قرار گرفت. برای بررسی اثرات ضد باکتریایی از آزمون حساسیت ضد میکروبی (تست آنتی بیوگرام) به روش اصلاح شده انتشار دیسک و آزمون کمی حداقل غلظت بازدارنده به روش رقت‌های متوالی استفاده گردید.

نمونه‌های جمع آوری شده در کیسه‌های پلاستیکی حاوی مقدار کمی آب دریا نگه‌داری و سپس به آزمایشگاه فرآوری محصولات شیلاتی دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار منتقل شدند. مقداری از نمونه‌ها نیز جهت شناسایی و تأیید نهایی در یخچال درون کیسه‌های پلاستیکی در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگه داری شد.

ابتدا جلبک‌ها کاملاً شسته و از شن و ماسه و جانداران اپیفیت‌عاری گردیدند. سپس درون آب مقطر غوطه ور گردیدند تا املاح آن خارج گردد و هر چند ساعت آب آن‌ها تعویض گردید. سپس درون آون با دمای ۶۰ درجه سانتی گراد به مدت یک روز خشک و توسط آسیاب برقی کاملاً پودر شدند (درخشش و همکاران، ۱۳۹۰).

عصاره گیری از جلبک‌ها به روش غوطه وری ۱۰ درصد جرمی-حجمی با استفاده از حلال‌های آب و الکل به این ترتیب انجام پذیرفت که در ابتدا ۲۰ گرم از پودر خشک شده توزین شده و به ارلن ۲۵۰ سی سی منتقل شدند سپس به طور جداگانه ۲۰۰ میلی لیتر اتانول (برای تهیه عصاره الکلی) و ۲۰۰ میلی لیتر آب (برای

سویه های باکتریایی تهیه گردیدند. محیط کشت مورد استفاده در اضافه شد. پس از انکوباسیون لوله‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و به مدت ۲۴ ساعت، همه لوله‌ها از نظر کدورت ناشی از باکتری بررسی شدند. آخرین لوله‌ای که هیچ کدورتی در آن دیده نشد به عنوان حداقل غلظت ممانعت‌کنندگی رشد در نظر گرفته شد. کلیه آزمایش‌ها در ۳ تکرار انجام شدند. آنالیز داده‌ها با استفاده از روش آزمون T مستقل و بررسی اختلاف میانگین‌ها از آزمون دانکن استفاده شد. نرمالیتی با تست شاپیرو-ویلک و همگنی واریانس‌ها با تست لون انجام شد. تمامی آنالیزها با استفاده از نرم افزار SPSS 18 انجام گرفت.

نتایج

نتایج مربوط به آزمون حساسیت به روش انتشار دیسک عصاره‌های آبی و اتانولی جلبک سارگاسوم گل‌سیسنس در جدول شماره ۲ ارائه شده است.

بر اساس نتایج بدست آمده باکتری *L. monocytogenes* بیشترین حساسیت را نسبت به عصاره اتانولی جلبک *S. glaucescens* با میانگین (\pm SD) قطر هاله عدم رشد 0.79 ± 0.07 میلی متر از خود نشان داده است که در مقایسه با نتایج آنتی بیوتیک‌ها عصاره جلبک از تأثیر بالایی برخوردار می باشد. تأثیر عصاره اتانولی جلبک مورد نظر بر روی باکتری لیستریا مونوسی‌توزنز اختلاف معنی داری با آنتی بیوتیک نئوماپسین داشت ($t=9.665, P \leq 0.05$) در صورتی که هیچ اختلاف معنی داری با آنتی بیوتیک جنتامایسین از خود نشان نداد ($t=2.251, P > 0.05$). همچنین اختلاف معنی داری بین تأثیر عصاره اتانولی جلبک مورد نظر بر روی باکتری استافیلوکوکوس ارونوس و جنتامایسین ($t=-9.915, P \leq 0.05$) و نیز باکتری اشریشیا کولی با نئوماپسین وجود داشت ($t=-7.971, P \leq 0.05$). نتایج اثرات ضد باکتریایی عصاره اتانولی جلبک سارگاسوم گل‌سیسنس روی باکتری ویبریو کلرا نیز اختلاف معنی داری را با آنتی بیوتیک جنتامایسین از خود نشان داد ($t=10.844, P < 0.05$).

عصاره آبی جلبک مورد نظر هیچ تأثیری روی تیمارها و عصاره اتانولی آن هیچ تأثیری بر روی باکتری پروتئوس ولگاریس از خود نشان نداد.

سوسپانسیون‌های باکتریایی مورد استفاده در آزمون‌های آنتی بیوگرام مطابق با استاندارد ۰/۵ مک فارلند از کشت‌های یک روزه آزمون‌های آنتی بیوگرام شامل مولر-هینتون آگار بود (درخشش و همکاران، ۱۳۹۰).

در روش انتشار دیسک پس از تلقیح باکتریایی (کشت خطی سوسپانسیون‌های باکتریایی به وسیله سوآب استریل) روی محیط آگار، دیسک‌های آماده بلانک محصول شرکت ایران دارو به ظرفیت ۲۵ میکرولیتر به فاصله حداقل ۲۵ میلی متر از یکدیگر و از لبه پلیت و به وسیله یک پنس استریل به دقت روی سطح آگار قرار گرفتند. سپس مقدار ۲۰ میکرولیتر از هر کدام از عصاره‌های استریل (آبی و الکلی) برداشته و به دقت به دیسک‌های بلانک توسط سمپلر ۲۰ تزریق شدند. سپس پلیت‌ها به مدت ۳۰ دقیقه برای پیش انتشار درون یخچال با دمای ۴ درجه سانتی گراد قرار گرفتند. بعد از این مرحله پلیت‌ها به انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت منتقل شدند. پس از این مدت قطر هاله عدم رشد اطراف دیسک توسط کولیس ورنیه به دقت اندازه گیری شد (درخشش و همکاران، ۱۳۹۰). به منظور کنترل نتایج آزمون از آنتی بیوتیک‌های تجاری نئوماپسین (N30) و جنتامایسین (GM10) (پادتن طب) (اعداد داخل پرانتز میزان آنتی بیوتیک برحسب میکروگرم یا واحد در دیسک) به عنوان کنترل مثبت در این پژوهش استفاده گردید.

آزمون‌های حساسیت ضدباکتریایی به روش انتشار دیسک با ۳ مرتبه تکرار انجام گرفتند و از نتایج به دست آمده در هر مرحله میانگین گرفته شد. در این بررسی جهت تعیین حداقل غلظت بازدارنده از روش رقت‌های متوالی در لوله برای عصاره جلبکی استفاده شد. برای هر باکتری یک سری لوله آزمایش ۹ تایی استفاده شد. هفت لوله برای رقت‌های مختلف، یک لوله شاهد مثبت و یک لوله شاهد منفی بود. به لوله‌های آزمایش، ۹ میلی لیتر محلول نوترینت برات اضافه شده و استریل گردید. بعد از فیلتر کردن عصاره توسط فیلتر میکروبی ۰/۲۲ میکرون، مقدار ۱ میلی لیتر از عصاره به لوله شماره ۱ اضافه شد و بعد از هموژن کردن آن یک میلی لیتر از مایع هموژن برداشته و به لوله شماره ۲ منتقل گردید و این کار تا لوله شماره ۷ انجام پذیرفت و ۱ میلی لیتر از لوله شماره ۷ دور ریخته شد به همه لوله‌ها به غیر از شاهد منفی، ۱۰ میکرولیتر از کشت رقیق شده در محیط مایع (کشت رقیق شده، کشت استاندارد شده با ۰/۵ مک فارلند است که به نسبت ۱/۵۰۰ رقیق شده است)

جدول ۲: مقایسه میانگین ($\pm SD$) قطر هاله عدم رشد (میلی متر) عصاره های اتانولی و آبی جلبک سارگاسوم گلسیسنس (*Sargassum glaucescens*) و آنتی بیوتیک های استاندارد روی میکروارگانیسم های مورد مطالعه

بakteriya ha	عصاره اتانولی	عصاره آبی	نئومایسین	جنتاماسین
<i>Listeria monocytogenes</i>	۹/۰۷ ± ۰/۰۷۹ ^a	*	۶/۷۵ ± ۰/۵ ^b	۸/۳۱ ± ۰/۱ ^a
<i>Staphylococcus aureus</i>	۶/۶۵ ± ۰/۵۵ ^b	-	-	۱۰ ± ۰/۳ ^a
<i>Escherchia coli</i>	۷/۸۵ ± ۰/۳۵ ^b	-	۱۰/۸۵ ± ۰/۵۵ ^a	-
<i>Proteus vulgaris</i>	-	-	۷/۲۵ ± ۰/۱۵	-
<i>Vibrio cholerae</i>	۸/۸ ± ۰/۳ ^a	-	-	۷/۴ ± ۰/۱ ^b

نتایج حاصل ۳ تکرار است، * هاله عدم رشد مشاهده نشد. حروف غیر هم نام در هر ردیف نشانه وجود اختلاف معنی دار است

موافقت دارد. در این تحقیق عصاره اتانولی جلبک *tenerrium* *Sargassum* بر روی باکتری پروتئوس هم اثر بازدارندگی دارد در حالی که در بررسی حاضر هیچ عدم رشدی بر روی این باکتری مشاهده نشد که می توان مقاومت باکتریایی و فعالیت متابولیکی جلبک و گونه جلبک را مؤثر دانست. نوع عصاره گیری هم یکی از مؤثرترین موارد در فعالیت ضد باکتریایی جلبک ها می باشد. Nadal و همکاران (۱۹۶۶) از بنزن برای عصاره گیری استفاده کردند. Parekh و همکاران (۱۹۸۴) گزارش دادند که عصاره استونی و اتیل الکل اثر ضد باکتری بیشتری نسبت به کلروفوم دارند. Rosell و Srivastava (۱۹۸۷) اثر ضد باکتری عصاره استونی، کلروفومی، دی اتیل اتر، متانول و استیک اسید جلبک قهوه ای کانا را مورد بررسی قرار دادند و نتیجه گرفتند که عصاره های کلروفومی و متانولی تاثیر بیشتری دارند. Rao و Sastry (۱۹۹۴) برای عصاره گیری از بنزن، کلروفوم و متانول استفاده کردند و بیان کردند که عصاره کلروفوم اثر ضد باکتری قوی تری دارد. درخشش و همکاران (۱۳۹۰) اثرات ضد باکتریایی جلبک های دریایی *Laurenica syderia* و *Sargassum angustifolium* جمع آوری شده از سواحل بندر بوشهر را علیه پاتوژن های انسانی مورد مطالعه قرار دادند. در این بررسی از دو روش عصاره گیری استفاده شد (آلی و کلروفومی) که در پایان باکتری گرم منفی بیشترین مقاومت را نسبت به عصاره آلی جلبک ها از خود نشان داد. اما در مورد حداقل غلظت کشندگی باید عنوان نمود که با توجه به پیش تیمار انجام شده جهت خشک کردن عصاره بدست آمده و حداقل غلظت کشندگی مشخص شد برخلاف روش های معمول برای خشک کردن عصاره گیاهان دارویی خشکی زی، انجام تیمار

در مطالعه آزمون حساسیت، لوله ای که فاقد کدورت کامل باشد مشاهده نشد اما مشخص شد که با افزایش غلظت عصاره کدورت نیز کم می گردد و در کشت لوله های دارای کدورت کاهشی، کاهش تعداد کلنی باکتری با افزایش غلظت مشاهده گردید اما به دلیل اینکه بدین روش حداقل غلظت ممانعت کنندگی و حداقل غلظت کشندگی قابل محاسبه نشد عددی گزارش نمی گردد.

بحث

در این بررسی عصاره اتانولی جلبک سارگاسوم گلسیسنس (*Sargassum glaucescens*)، بیشترین تأثیر را بر باکتری لیستریا مونوسیژنوز از خود نشان داد که اختلاف معنی داری با آنتی بیوتیک نئومایسین داشت. تأثیر مثبت عصاره اتانولی نیز بر دیگر باکتری ها به جز پروتئوس ولگاریس نیز به خوبی دیده شد. نتایج مطالعه Vallinayagam و همکاران (۲۰۰۹) نشان داد که عصاره کلروفومی جلبک *Sargassum wightii* هیچ اثر بازدارندگی روی رشد باکتری *Staphylococcus aureus* ندارد در صورتی که در تحقیق حاضر عصاره اتانولی جلبک مورد نظر بر روی این باکتری اثر بازدارندگی با قطر هاله $6/65 \pm 0/55$ میلی متر داشت. در این مورد می توان گونه جلبک و روش عصاره گیری آن را مؤثر دانست (Cox et al., 2010). همچنین نتایج بدست آمده در ارتباط با اثر عصاره اتانولی جلبک سارگاسوم گلسیسنس در عدم رشد باکتری های *Escherchia coli* و *Staphylococcus aureus* بررسی که Manivannan و همکاران (۲۰۱۱) بر روی خواص ضد باکتری جلبک های قهوه ای خلیج منار انجام دادند

رویشگاه جلبک قرمز *Gracilaria salicornia* در سواحل جزیره قشم. پژوهش و سازندگی. شماره ۶۶. صفحه ۸۶.

زندى، ك.، بهمنيار، م. و سرطاوى، ك.، ۱۳۸۵. اثر عصاره جلبک سبز گونه *Caulerpa sertularioides* بر رشد و عفونت زایی ویروس هرپس سیمپلکس تیپ یک انسانی در کشت سلولی Vero. فصلنامه طب جنوب. مرکز پژوهش های سلامت خلیج. ۸-۱: ۹(۱).

طاهری، ع.، سیفان، ا.، جلالی نژاد، س. و ناصری، ف.، ۱۳۹۱. تأثیر ضد میکروبی عصاره هیدروالکلی برگ مورد (*Myrtus communis*) روی چند سویه باکتری بیماری زا. مجله تحقیقات علوم پزشکی زاهدان. ۱۹-۲۴: ۱۵(۶).

فربودنیا، ط.، ۱۳۸۷. جلبک شناسی. ارومیه: دانشگاه. صفحه ۲۲۲.

کیانمهر، ه.، ۱۳۷۱. مبانی جلبک شناسی. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد. صفحه ۲۵۱.

Al-Haj, N. A., Mashan, N. I., Shamsudin, M. N., Mohamad, H., Vairappan, C. S. and Sekawi Z., 2009. Antibacterial activity in marine algae *Eucheuma denticulatum* against *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus pyogenes*. Research Journal of Biological Sciences, 4(4): 519-524.

Bansemir, A., Blume, M., Schroder, S. and Lindequist, U., 2006. Screening of cultivated seaweeds for antibacterial activity against fish pathogenic bacteria. Aquaculture, 252: 79-84.

Choudhury, S., Sree, A., Mukherjee, S. C., Pattnaik, P. and Bapuji, M., 2005. In vitro antibacterial activity of extracts of selected marine algae and mangroves against fish pathogens. Asian Fisheries Science, 18: 285-294.

Cox, S., Abu-Ghannam, N. and Gupta, S., 2010. An assessment of the antioxidant and antimicrobial activity of six species of edible Irish seaweeds. International Food Research Journal, 17: 205-220.

گرمایی می تواند خاصیت ضد باکتری عصاره گیاهان دریایی را از بین برد که این مسئله شاید به دلیل شکستن ساختار بیوشیمیایی ماده فعال ضد باکتری عصاره در اثر تیمار گرمایی باشد. بر این اساس عصاره بدون خشک کردن و تنها با استفاده از فیلتر میکروبی ۰/۲۲ میکرون و امتزاج با محیط کشت مایع (نوترینت براث) مورد بررسی حداقل غلظت کشندگی قرار گرفت و مشخص شد با افزایش غلظت عصاره تعداد کلنی‌های باکتریایی به شدت کاهش می یابد. بر این اساس در صورتی که امکان خشک کردن عصاره با روشی غیر از روش گرمایی مانند خشک کردن بواسطه انجماد تحت خلاء انجام شود میزان حداقل غلظت کشندگی قابل بررسی دقیق تر خواهد بود. در جمع بندی می توان گفت نتایج تحقیق حاضر نشان دهنده تأثیر ضد باکتریایی عصاره اتانولی جلبک مورد مطالعه روی برخی از باکتری‌های بیماری زا بخصوص لیستریا مونوسیتوژنز و ویبریو کلرا می باشد که می تواند با تحقیقات بیشتر جایگزین مناسبی برای آنتی بیوتیک‌های تجاری باشد. بر همین اساس پیشنهاد می شود انواع دیگر عصاره گیری مانند متانول، کلروفرم و استون در فعالیت ضد باکتری این جلبک مورد بررسی قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان از آقای مهندس امیر سیفان و کارشناسان محترم مرکز تحقیقات شیلات آب‌های سواحل دور چابهار بخاطر همکاری در نمونه گیری و دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار برای فراهم آوردن کلیه امکانات آزمایشگاهی و حمایت معنوی این تحقیق و دانشگاه زابل به جهت حمایت مالی تقدیر و تشکر می کنند.

منابع

درخشش، ب.، یوسف زادی، م.، افشارنسب، م.، یگانه، و. و دشتیان نسب، ع.، ۱۳۹۰. بررسی اثر ضد باکتریایی جلبک‌های دریایی *Sargassum* و *Laurencia snyderiae* *angustifolium* علیه پاتوژن‌های انسانی. فصلنامه طب جنوب. پژوهشکده زیست- پزشکی خلیج فارس. ۲۲-۱۷: ۴(۱): ریاحی، ح.، ۱۳۷۷. جلبک شناسی. تهران: دانشگاه الزهرا. صفحات ۲۰۱-۲۰۰. ربیعی، ر.، اسدی، م.، نژاد ستاری، ط.، مجد، ا. و سهرابی پور، ج.، ۱۳۸۴. بررسی تنوع گونه ای جلبک ها در

- Kumaran, S., Deivasigamani, B., Alagappan, K., Sakthivel, M. and Karthikeyan, R., 2010.** Antibiotic resistant *Esherichia coli* strain from seafood and its susceptibility to seaweed extracts. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 3(12): 977-981.
- Manivannan, K., Karthikai, G., Anantharaman, P. and Balasubramanian, T., 2011.** Antimicrobial potential of selected brown seaweeds from Vedalai coastalwaters, Gulf of Mannar. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 1(2): 114-120.
- Martinez-Nadal, N. G. C., Rodriguez-Perrazza, C. J. R. and Torreera, L., 1996.** Antibiotic properties of marine algae *Cymoplia barbata*. *Botanica Marina*, 9: 21-26.
- Parekh, K. S., Parekh, H. H. and Rao, P. S., 1984.** Antibacterial activity of Indian seaweeds. *Phykos*, 23: 216-21.
- Rajasulochana, P., Dhamotharan, R., Krishnamoorthy, P. and Murugasan, S., 2009.** Antibacterial activity of the extracts of marine red and brown algae. *Marsland Press Journal of American Science*, 5(3): 20-25.
- Rosell, K. G. and Srivastava, I. M., 1987.** Fatty acids as antimicrobial substances in brown algae. *Hydrobiol*, 151(152): 471-475.
- Sastry, V. M. V. S. and Rao, G. R. K., 1994.** Antibacterial substances from marine algae: Successive extraction using benzene, chloroform and methanol. *Botanica Marina*, 37: 357-60.
- Srivastava, N., Saurav, K., Mohanasrinivasan, V., Kannabiran, K. and Singh, M., 2010.** Antibacterial potential of macroalgae collected from the Madappam coast, India. *British Journal of Pharmacology and Toxicology*, 1(2): 72-76.
- Dhargalkar, V. K. and Verlecar, X. N., 2009.** Southern ocean seaweed: A resource for exploration in food and drugs. *Aquaculture*, 287: 229-242.
- Engle, S., Puglisi, M. P., Jensen, P. R. and Fenical, W., 2006.** Antimicrobial activities of extracts from tropical Atlantic marine plants against marine pathogens and saprophytes. *Marine Biology*, 149: 991-1002.
- Gonzalez del Val, A., Platas, G., Basillio, A., Cabello, A., Gorrochategui, J., Suay, I., Vicente, F., Portillo, E., Jimenez del Rio, M., Reina, G. G. and Pelaez, F., 2001.** Screening of antimicrobial activities in red, green and brown macroalgae from Gran Canaria (Canary Islands, Spain). *International Microbiology*, 4: 35-40.
- Kanjana, K., Radtanatip, T., Asuvapongpatana, S., Withyachumnarnkul, B. and Wongprasert, K., 2011.** Solvent extracts of the red seaweed *Gracilaria fisheri* prevent *Vibrio harveyi* infections in the black tiger shrimp *Penaeus monodon*. *Fish & Shellfish Immunology*, 30: 389-396.
- Kaladhran, P. and Kaliaperumal, N., 1999.** Seaweed industry in India Naga. *The Iclarm Quarterly*, 22(1): 11-14.
- Kolanjinathan, K., Ganesh, P. and Govindarajan, M., 2009.** Antibacterial activity of ethanol extracts of seaweeds against fish bacterial pathogens. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 13: 173-177.
- Kotnala, S., Garg, A. and Chatterji, A., 2009.** Screening for the presence of antimicrobial activity in few Indian seaweeds. *Pertanika Journal of Tropical Agricultural Science*, 32(1): 69-75.

Antibacterial activities of some marine algae from *Ceramiales*. *Biomolecular Engineering*, 20: 255-259.

Vallinayagam, K., Arumugam, R., Ragupathi Raja Kannan, R., Thirumaran, G. and Anantharaman, P., 2009. Antibacterial activity of some selected seaweeds from Pudumadam coastal regions. *Global Journal of Pharmacology*, 3(1): 50-52.

Taskin, E., Ozturk, M. and Kurt, O., 2007. the Aegean Sea (Turkey). *African Journal of Biotechnology*, 6(24): 2746-2751.

Tuney, I., Cadirci, B. H., Unal, D. and Sukatar, A., 2006. Antimicrobial activities of the extracts of marine algae from the coast of Urla (Izmir, Turkey). *Turkish Journal of Biology*, 30: 171-175.

Vairappan, C. S., 2003. Potent antibacterial activity of halogenated metabolites from Malaysian red algae, *Laurencia majuscula* (*Rhodomelaceae*,

**Antibacterial activity of the brown algae (*Sargassum glaucescens*)
ethanolic and aqueous extracts from Chabahar coasts,
Oman Sea, Iran**

Peymani, J⁽¹⁾; Gharaei, A^{*(2)}; Ghaffari, M⁽³⁾; Taheri, A.⁽⁴⁾

agharaei551@gmail.com

1-Ms.C Student of Fisheries, Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources University of Zabol.

2-Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources and International Hamoon Wetland Research Institute, University of Zabol, Iran, P.O.Box: 98615-538.

3,4-Fisheries Dept., Faculty of Marine Sciences, Chabahar Maritime University, Chabahar, Iran, P.O. Box: 99717-56499.

Received: March 2013

Accepted: August 2013

Key words: *Sargassum glaucescens*, Antibacterial effects, Extract, Chabahar, Iran

Abstract

The widespread uses of antibiotics have been resulted in resistant strains of microorganisms and increasing of worldwide antibiotic resistance. Thus the investigations on new natural antibacterial agents as new drugs are important. According to the previous researches, some multicellular marine algae have significant antibacterial properties. In the present study, antibacterial effects of organic and aqueous extracts of *Sargassum glaucescens* (collected from Chabahar's coast, Oman Sea, Iran) were tested on three strains of Gram-negative bacteria: *E. coli*, *Proteus vulgaris*, *Vibrio cholerae* and two strains of Gram-positive bacteria: *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus*. Extractions were obtained by immersion method after 48 hours. Antibacterial effects were investigated by the disk diffusion method and serial dilutions in tube to determine the minimum inhibitory concentration. The ethanolic extract showed the largest impact on the *L. monocytogenes* with significant difference than that by the neomycin. Yet, the aqueous extract showed no effects. Ethanolic extract of algae had no effects on the *Proteus vulgaris*.

The results of present study demonstrated that Ethanolic extract of *S. glaucescens* had reliable antibacterial effects against *L. monocytogenes*, *Vibrio cholerae*, *E. coli* and *Staphylococcus aureus*.