

## بررسی فعالیت ضد باکتریایی عصاره آبی و اتانولی

### جلبک قهوه‌ای (*Sargassum glaucescens*)

#### در سواحل چابهار

جواد پیمانی<sup>(۱)</sup>، احمد قرایی<sup>(۲)\*</sup>، مصطفی غفاری<sup>(۳)</sup>، علی طاهری<sup>(۴)</sup>

\* agharaei551@gmail.com

۱-دانشجوی کارشناسی ارشد شیلات، گروه شیلات، دانشگاه زابل، 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 دریانوری و علوم دریایی چابهار، چابهار، چابهار، صندوق پستی ۹۹۷۱۷-۵۶۴۹۹

تاریخ دریافت: فروردین ۱۳۹۲ | تاریخ پذیرش: شهریور 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 می‌باشد. در این پژوهش اثرات ضد باکتری عصاره‌های الکلی و آبی جلبک سارگاسوم گلیسینس (*Sargassum glaucescens*)، جمع آوری شده از سواحل چابهار روی ۳ سویه باکتری گرم منفی ایشیرشیا کولی، پروٹنوس ولگاریس، ویبریو کلرا و ۲ سویه باکتری گرم مشبت لیستریا مونوستیوژنر 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 رقت‌های متوالی در لوله جهت تعیین حداقل غالب غلظت بازدارنده عصاره بررسی شد. عصاره اتانولی جلبک مورد نظر بیشترین تأثیر را بر باکتری لیستریا مونوستیوژنر 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 پروٹنوس ولگاریس نیز تأثیری نداشت. عصاره اتانولی جلبک سارگاسوم گلیسینس دارای اثر ضد باکتری خوبی بر لیستریا مونوستیوژنر، ویبریو کلرا، ایشیرشیا کولی و استافیلوکوکوس اورئوس می‌باشد.

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

\*نویسنده مسئول

## مقدمه

غیر مستقیم مورد استفاده قرار می‌گیرند (& Kaladhran, 1999). تا کنون ترکیبات زیستی متعددی با گستره کاربردی متنوعی همچون اثرات آنتی بیوتیکی، ضد ویروسی، ضد قارچی و ضد سلطانی از جلبک‌های پرسلوی شناسایی و استخراج شده اند و بسیاری از متabolیت‌های اولیه و یا ثانویه این جانداران می‌توانند به مواد زیست فعال مورد استفاده در صنایع دارویی تبدیل شوند (ربیعی و همکاران, ۱۳۸۴؛ درخشش و Kanjana *et al.*, 2011; Kumaran *et al.*, ۱۳۹۰؛ 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 گرفته اند 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 Bansemir *et al.*, 2006; Al-Haj *et al.*, ۱۳۸۵؛ Choudhury *et al.*, 2005 در بررسی‌های شیمیایی انجام شده بر روی جلبک‌ها وجود ترکیباتی مانند فنول، تانن، ساپونین، فلاووین، 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 جزیره 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

در سال‌های اخیر استفاده گسترده از آنتی بیوتیک‌ها باعث به وجود آمدن سوبه‌های مقاوم میکرووارگانیسم و افزایش روزافزون مقاومت آنتی بیوتیکی در سراسر جهان شده است. امروزه یافتن مواد ضد میکروبی جدید به دلیل تغییر فرم مقاومتی باکتری‌های بیماریزا 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 مدنی و تولیدکنندگان اولیه اکوسیستم‌های دریایی هستند که تنوع آن‌ها در نواحی جزر و مدنی اقیانوس‌ها و دریاها تابع عوامل جغرافیایی و اقلیمی حاکم بر آن مناطق می‌باشد. گزارش شده است که میزان تولیدات اولیه در بسترها مرجانی و جلبکی می‌تواند از میزان تولیدات اولیه در جنگلهای پر باران 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 (ربیعی, ۱۳۷۷؛ Dhargalkar & Verlecar, 2009؛ Rajasulochana *et al.*, 2009؛ Vallinayagam *et al.*, 2009؛ Srivastava *et al.*, 2010) مقادیر بالایی ویتامین، مواد معدنی، پروتئین، کاروتونوئید، 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 آلزینات 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 تقدیم بطور مستقیم و

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

## مواد و روش کار

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

جدول ۱: مشخصات ایستگاه های 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 کل ساحل صخره ای مطالعه (Km)
۱	بریس	۱۰°۰۸'	۶۱°۱۱'	۲۵°۲۵'	۶۰	۲	۱/۲
۲	رمین	۱۴°۰۶'	۴۵°۶۰'	۱۲	۱۲	۱/۱۹۵	۱/۵
۳	دریا بزرگ	۱۷°۰۶'	۳۹°۶۰'	-	-	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

به مدت ۳۵ دقیقه به هم زدند 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 *S. aureus* (PTCC1163) *L. monocytogenes* (PTCC1763) و *E. coli* (PTCC1431) و باکتریهای گرم منفی *P. vulgaris* (PTCC1182) از مرکز کلکسیون قارچ و باکتریهای ایران بود و *V. cholerae* از بیمارستان امام علی چابهار جداسازی و تخلیص شد و پس از تست های 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 رقت های متوالی استفاده گردید.

۱۵

جنوب ایران می باشد، که از سال ها پیش به علف هرز دریا یا صخره ای معروف شده اند. این جلبک در سواحل صخره ای جنوب کشور، اوخر پاییز و اوائل زمستان به حد اکثر رویش خود می رسد (فریدنیا، ۱۳۷۱؛ کیانمهر، ۱۳۸۷).

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

گردید (جدول ۱).

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

ابتدا جلبک ها کاملاً شسته و از شن و ماسه و جانداران اپیفیت عاری 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 جلبک ها به روش غوطه وری ۱۰ درصد جرمی- حجمی با استفاده از حلال های 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

سویه‌های 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 ممانعت کنندگی 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-ویکل و همگنی واریانس‌ها با تست لوون 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 گلیسیسنس 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  $0.079 \pm 0.07$  میلی متر از خود نشان داده است که در مقایسه با نتایج آنتی بیوتیک‌ها عصاره جلبک از تأثیر بالایی برخوردار می‌باشد. تأثیر عصاره اتانولی جلبک مورد نظر بر روی باکتری لیستریا مونوسیتوژنز اختلاف معنی داری با آنتی بیوتیک نئومایسین 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 اروئوس و جنتامایسین ( $t=-9.915, P \leq 0.05$ ) و نیز باکتری اشريشیا کولی با نئومایسین وجود داشت، ( $t=-7.971, P \leq 0.05$ ). نتایج اثرات ضد باکتریایی عصاره اتانولی جلبک سارگاسوم گلیسیسنس روی باکتری وبریو 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 فارلنده از کشت‌های یک روزه آزمون‌های آنتی بیوگرام شامل مولر-هینتون آکار 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 آمده بلانک مخصوص 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 ۰۰ میکرولیتر از هر کدام از عصاره‌های استریل (آبی و الکلی) برداشته و به دقت به دیسک‌های بلانک توسط سملپر 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 نئومایسین (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 براث اضافه شده و استریل گردید. بعد از فیلتر کردن عصاره توسط فیلتر میکروی ۰/۲۲ میکرون، مقدار ۱ میلی لیتر از عصاره به لوله شماره ۱ اضافه شد و بعد از هموزن کردن آن یک میلی لیتر از مایع هموزن 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 فارلنده 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 گلسمینسن و آنتی بیوتیک های استاندارد روی میکرووارگانیسم های مورد مطالعه (*Sargassum glaucescens*)

باکتری ها	عصاره اتانولی	عصاره آبی	نئومایسین	جنتاماسین
<i>Listeria monocytogenes</i>	۹/۰۷ $\pm$ ۰/۰۷۹ <sup>a</sup>	*	۶/۷۵ $\pm$ ۰/۰۵ <sup>b</sup>	۸/۳۱ $\pm$ ۰/۰۱ <sup>a</sup>
<i>Staphylococcus aureus</i>	۶/۶۵ $\pm$ ۰/۰۵۵ <sup>b</sup>	-	-	۱۰ $\pm$ ۰/۰۲ <sup>a</sup>
<i>Escherichia coli</i>	۷/۸۵ $\pm$ ۰/۰۳۵ <sup>b</sup>	-	۱۰/۸۵ $\pm$ ۰/۰۵۵ <sup>a</sup>	-
<i>Proteus vulgaris</i>	-	-	۷/۲۵ $\pm$ ۰/۰۱۵	-
<i>Vibrio cholerae</i>	۸/۸ $\pm$ ۰/۰۲ <sup>a</sup>	-	-	۷/۴ $\pm$ ۰/۰۱ <sup>b</sup>

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

موافق دارد. در این تحقیق عصاره اتانولی جلبک *tenerrium* 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 متabolیکی 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 کلروفرم دارند. Srivastava و Rosell (۱۹۸۷) اثر ضد باکتری عصاره استونی، کلروفرمی، دی اتیل اتر، متنالو و استیک اسید جلبک قوههای کاندا را مورد بررسی قرار دادند و نتیجه گرفتند که عصاره های کلروفرمی و متنالو تاثیر بیشتری دارند. Sastry و Rao (۱۹۹۴) برای عصاره گیری از بنزن، کلروفرم و متنالو استفاده کردند و بیان کردند که عصاره کلروفرم اثر ضد باکتری قوی تری دارد. درخشش و همکاران (۱۳۹۰) اثرات ضد باکتریایی جلبک های دریایی *Sargassum angustifolium* و *Laurenica syderia* 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 کلروفرمی) که در بیان باکتری گرم منفی بیشترین مقاومت را نسبت به عصاره آلی جلبکها از خود نشان داد. اما در مورد حداقل غلظت کشنده ای باید عنوان نمود که با توجه به پیش تیمار انجام شده جهت خشک کردن عصاره بدست آمده و حداقل غلظت کشنده ای 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 کشنده ای قابل محاسبه نشد عددی گزارش نمی گردد.

## بحث

در این بررسی عصاره اتانولی جلبک سارگاسوم گلسمینسن (*Sargassum glaucescens*), بیشترین تأثیر را بر باکتری لیستریا مونوسيتوژنر 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 کلروفرمی جلبک *Sargassum wightii* هیچ اثر بازدارندگی *Staphylococcus aureus* ندارد در صورتی که در تحقیق حاضر عصاره اتانولی جلبک مورد نظر بر روی این باکتری اثر بازدارندگی با قطر هاله ۰/۰۵۵ میلی متر داشت. در این مورد می توان گونه جلبک و روش عصاره گیری آن را موثر دانست (Cox et al., 2010). همچنین نتایج بدست آمده در ارتباط با اثر عصاره اتانولی جلبک سارگاسوم گلسمینسن در عدم رشد باکتری های *Staphylococcus aureus* و *Escherichia coli* با بررسی که Manivannan و همکاران (۲۰۱۱) بر روی خواص ضد باکتری جلبک های قوههای خلیج مانار انجام دادند

- رویشگاه جلبک قرمز *Gracilaria salicornia* در سواحل جزیره قشم، پژوهش و سازندگی، شماره ۶۶، صفحه ۸۶.
- زندي، ک. بهمنيار، م. و سرطاوي، ک.، ۱۳۸۵. اثر عصاره جلبک سبز گونه *Caulerpa sertularioides* بر رشد و عفونت زاي و بروس هرپس سیمپلکس تیپ یک انسانی در کشت سلولی Vero. فصلنامه طب جنوب. مرکز پژوهش های سلامت خلیج، ۱-۸.
- طاهری، ع. سیفان، ا.، جلالی نژاد، س. و ناصری، ف.، ۱۳۹۱. تأثیر ضد میکروبی عصاره هیدرولالکلی برگ مورد (*Myrtus communis*) روی چند سویه باکتری بیماری زا. مجله تحقیقات علوم پزشکی زاهدان، ۱۹: ۲۴-۲۶.
- فربودنیا، ط.، ۱۳۸۷. جلبک شناسی. ارومیه: دانشگاه، صفحه ۲۲۲.
- کیانمهر، م.، 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 برات) مورد بررسی حداقل غلظت کشنده‌گی قرار گرفت و مشخص شد با افزایش غلظت عصاره تعداد کلیهای باکتریایی به شدت کاهش می یابد. بر این اساس در صورتی که امکان خشک کردن بواسطه انجام تحت خلاء انجام شود میزان حداقل غلظت کشنده‌گی قابل بررسی دقیق تر خواهد بود. در جمع بندی می‌توان گفت نتایج تحقیق حاضر نشان دهنده تأثیر ضد باکتریایی عصاره اتانولی جلبک مورد مطالعه روی برخی از باکتریهای بیماری زا بخصوص لیستریا مونوستیوئنز و ویبریو کلرا می‌باشد که می‌تواند با تحقیقات بیشتر جایگزین مناسبی برای آنتی بیوتیک‌های تجاری باشد. بر همین اساس پیشنهاد می‌شود انواع دیگر عصاره گیری مانند متانول، کلروفرم و استون در فعالیت ضد باکتری این جلبک مورد بررسی قرار گیرد.

## تشکر و قدردانی

نویسنده‌گان 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 تقدير و تشکر می کنند.

## منابع

- درخشش، ب.، یوسف زادی، م.، افشارنسب، م.، یگانه، و. و دشتیان نسب، ع.، ۱۳۹۰. بررسی اثر ضد باکتریایی جلبک-*Sargassum* و *Laurencia snyderiae* های دریایی پاتوژن‌های انسانی. فصلنامه طب جنوب. پژوهشکده زیست-پزشکی خلیج فارس. ۱۷-۲۲.
- ریاحی، ح.، ۱۳۷۷. جلبک شناسی. تهران: دانشگاه الزهرا. صفحات ۲۰۰-۲۰۱.
- ریبعی، ر.، اسدی، م.، نژاد ستاری، ط..، مجده، 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 *Escherichia 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.
- Sastray, 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 majuscule* (*Rhodomelaceae*,

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

Peymani, J<sup>(1)</sup>; Gharaei, A<sup>\*(2)</sup>; Ghaffari, M<sup>(3)</sup>; Taheri, A.<sup>(4)</sup>

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*.