



فعالیت ضد میکروبی ۵ گونه جلبک سبز - آبی و ۳ گونه جلبک سبز جمع آوری شده از مشهد و حومه

سمانه رحیمی^{۱*}، محمود ذکایی^۲، ندا سلطانی^۳

۱. کارشناس ارشد سیستماتیک علوم گیاهی (samanta_rah@yahoo.com)؛

۲. استاد گیاه‌شناسی، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه فردوسی مشهد؛

۳. استادیار گیاه‌شناسی، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه شهید بهشتی؛

چکیده

مقدمه و هدف: جلبک‌ها دارای تنوع و گستردگی فراوانی هستند و روز به روز با توجه به ارزش دارویی و غذایی آن‌ها مطالعات فراوانی بر روی خواص آن‌ها انجام می‌شود. در تحقیق حاضر نیز فعالیت ضد میکروبی جلبک‌های سبز-آبی و سبز جمع آوری شده از مشهد و حومه، مورد بررسی قرار گرفتند.

روش تحقیق: اثر عصاره‌های آبی، اتری و متانولی، گونه‌های جلبک شناسایی شده در برابر دو باکتری گرم مثبت و دو باکتری گرم منفی و دو قارچ مطالعه شد.

نتایج و بحث: نتایج نشان داد که خاصیت ضد میکروبی در دو گونه از خانواده‌ی Nostocaceae، یک گونه از خانواده‌ی Scytonemataceae، یک گونه از خانواده‌ی Heylaceae و یک گونه از خانواده‌ی Scenedesmataceae و یک گونه از خانواده‌ی Zygnemataceae بوده‌است. مشاهده‌ها حاکی از آن است که باکتری گرم مثبت *Bacillus subtilis*، به وسیله‌ی دو گونه جلبک سبز-آبی و یک گونه جلبک سبز، مهار شد و باکتری گرم مثبت *Staphylococcus epidermidis*، به وسیله‌ی دو گونه از جلبک‌های سبز-آبی و یک گونه جلبک سبز مهار شد، در حالی که باکتری‌های گرم منفی، نسبت به جلبک‌های موجود، هیچ حساسیتی نشان ندادند. دو سیانو باکتری و یک گونه از جلبک‌های سبز شناسایی شده، رشد قارچ *Candida albicans* را مهار کردند ولی بر قارچ *Candida kefyr* هیچ تأثیری دیده نشد. می‌توان گفت در این تحقیق باکتری‌های گرم مثبت حساس‌تر از گرم منفی نشان داده شده‌اند.

توصیه کاربردی/صنعتی: با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق می‌توان از عصاره برخی از جلبک‌ها سبز-آبی و سبز جمع آوری شده از مشهد به عنوان ترکیبات ضد باکتریایی طبیعی استفاده کرد.

شناسه‌ی مقاله

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۸/۱۲/۲۰

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۸۹/۱/۲۰

نوع مقاله: کوتاه علمی- پژوهشی

موضوع: بهداشت مواد غذایی

کلیدواژگان:

- ✓ فعالیت ضد میکروبی
- ✓ جلبک سبز-آبی
- ✓ جلبک سبز

۱. مقدمه

مختلف علمی، از اهمیت بسیاری برخوردار است که یکی از مهم‌ترین فواید آن‌ها برای انسان، خواص دارویی آن‌ها است. جلبک‌ها در طی هزاران سال، منبع مهمی از دارو بوده‌اند. بیش از دو هزار سال است که از جلبک‌ها، هم به عنوان غذای جانبی بشر و هم در

با توجه به این‌که جلبک‌ها دارای تنوع زیادی بوده، به طور گسترده‌ای در تمام دنیا پراکنده‌اند و هر گروه نیز از لحاظ ویژگی‌های اختصاصی، در خور توجه می‌باشند. بررسی آن‌ها در زمینه‌های

نمونه برداری جلبک‌ها مستقیماً با جمع‌آوری آب در هر ایستگاه از زیر سطح آب بود. نمونه‌های جلبکی، پس از انتقال به آزمایشگاه در یخچال نگهداری شدند.

۲-۱. کشت و خالص سازی جلبک‌ها

ابتدا نمونه‌ها به مدت ۵ دقیقه با دور ۶۰۰۰ (rpm) سانتریفوژ شدند و در زیر اتاقک کشت (لامین ایر) در محیط استریل در پیلت کشت شدند. در این تحقیق از محیط کشت BG11 که به طور معمول در مطالعات از آن یاد شده است، برای سیانوباکتری‌ها و N8 برای جلبک‌های سبز استفاده شد.

۲-۲. کشت ریز جلبک‌ها

به منظور انجام آزمایش‌های آنتی‌بیوگرام، ابتدا از هر کدام از ریز جلبک‌های جدا شده، به صورت جداگانه کشت مایع انجام شد. به این کشت‌ها در حدود ۳۰ روز اجازه رشد داده شد. سپس عصاره‌های تغلیظ شده آبی، متانولی و اتری - قطبی و غیر قطبی از این جلبک‌ها با استفاده روتاری در خلاء به دست آمد.

به منظور بررسی خاصیت ضد میکروبی عصاره‌ها از روش انتشار دیسک استفاده شد. در همین راستا از میزان ۶۰ میکرولیتر عصاره بر روی هر دیسک با قطر ۶ میلی لیتر استفاده شد.

۲-۳. مرحله و انجام تست ضد میکروبی میکروب‌ها

در این مرحله ۶ میکروب انتخاب شد. دو باکتری گرم مثبت *Bacillus subtilis* و *Staphylococcus epidermidis*، دو باکتری گرم منفی *Pseudomonas aeruginosa* و *Klebsiella* و دو قارچ *Candida albicans* و *Candida Kefyr*، محیط کشت مولر هیلتون^۱ برای کشت باکتری‌ها و محیط ساپروکتروز^۲ نیز برای کشت قارچ‌های مورد نظر انتخاب شدند. هر کدام از میکروب‌ها روی پلیت‌ها کشت داده شد و بلافاصله هر کدام از دیسک‌های تهیه شده از عصاره‌ها به صورت جداگانه روی این پلیت‌ها گذاشته شدند.

پلیت‌های حاوی دیسک، به انکوباتورهای مخصوص کشت قارچ و میکروب منتقل گردیدند. دمای اختصاصی انکوباتور برای قارچ‌ها ۲۵ درجه سانتی‌گراد و برای باکتری‌ها ۳۵ درجه سانتی‌گراد بود. پس از گذشت ۲۴ ساعت که میکروب‌های مورد نظر روی محیط‌های جامد رشد کردند، پلیت‌ها از درون گرم‌خانه‌ها بیرون آورده شد و سپس وضعیت هاله‌های عدم رشد تشکیل شده، مورد بررسی و اندازه‌گیری قرار گرفت. شاهد برای باکتری‌ها، جنتامایسین و برای قارچ‌ها، نیستاتین (۱۰ میکروگرم) در نظر گرفته شد.

پزشکی استفاده می‌شوند. به عبارت دیگر طب دارویی با استفاده از متابولیت‌های ثانویه جلبک‌ها، امروزه در سرتاسر جهان شناخته شده است (Kreitlow et al., 1999). جلبک‌ها دارای کاربردهای فراوانی هستند از جمله استفاده‌هایی که می‌توان از جلبک‌ها کرد کاربرد آن‌ها به عنوان درمان بسیار زیادی از امراض است (Browitzka, 1995; Mtolera et al., 1996). جلبک‌ها محتوی پروتئین کاملی هستند و برخلاف اکثر غذاهای گیاهی، تمامی اسیدآمین‌های ضروری مورد نیاز انسان را دارند و می‌توان گفت در فرآیندهای متابولیسمی اصلی، مانند تولید انرژی، ترمیم و تولید آنزیم، دخالت دارند. این موجودات محتوی مقادیر زیادی از هر دو نوع کربوهیدرات‌های ساده و پیچیده‌اند و منبع سوخت اضافی برای بسیاری از نیازهای انرژی فوری بدن هستند. همچنین اسیدهای چرب آزاد زیادی از جمله امگا ۳ و امگا ۶ دارند که این اسیدهای چرب آزاد ضروری، نقشی کلیدی در تولید انرژی قابل دسترس برای بدن ایفا می‌کنند. جلبک‌ها مقادیر فراوانی ویتامین، مواد معدنی و عناصر به شکل قابل استفاده و طبیعی دارند. همچنین می‌توان متذکر شد که جلبک‌ها غنی از مواد فعال زیستی هستند.

مواد فعال زیستی در جلبک‌ها شامل متابولیت‌های اولیه و ثانویه است. این متابولیت‌ها در صنایع مختلف از جمله کشاورزی (Biondi et al, 2004)، صنعت و به خصوص داروسازی و پزشکی، کاربرد فراوان دارند. از جمله استفاده‌هایی که در علم داروسازی و پزشکی می‌توان از جلبک‌ها کرد، به کار گیری آن‌ها به عنوان داروهای مختلف ضد سرطان (Luesch et al., 2000)؛ ضد ویروس، ضد قارچ (Gerwick et al., 1994; Kajiya et al., 1998 ; Patterson & Carmeli, 1992)؛ آنتی پلاسمودیال (Browitzka, 1995; Jaki et al., 2000)؛ آنتی (Papendorf et al, 1998) ، ایمنی (Koehn et al., 1992) ، سیتوتوکسینی (Rosario et al., 2008) مهار آنزیمی و غیره می‌باشد. در سال‌های اخیر با توجه به مقاومت پاتوژنی باکتری‌ها علیه آنتی بیوتیک‌های سنتزی، مطالعه بر روی ترکیبات طبیعی نظیر اسانس و عصاره گیاهان، مواد جانوری و معدنی از ارزش چندانی جهت ساخت مواد ضد میکروبی طبیعی برخوردار اند (قاسمی، ۱۳۸۸) بنابراین تحقیق حاضر به منظور بررسی فعالیت ضد میکروبی عصاره قطبی و غیر قطبی گونه‌های مختلف جلبک مورد آزمایش قرار گرفته شد.

۲. مواد و روش‌ها

نمونه برداری‌ها از ایستگاه‌های، پردیس دانشگاه فردوسی، پارک ملت، ابرده، شان‌دیز، حصار، مایان، زشک، نغندر، سد کارده، طرق، توس، ضابطیان، و ازغد انجام شد. در این مطالعه،

¹ Muler – Hinton

² Saubourauds dextrose

۳. نتایج و بحث

باکتری‌های گرم مثبت و منفی مورد بررسی قرار دادند و مشاهده کردند که باکتری‌های گرم منفی حساسیت بسیار کم‌تری نسبت به باکتری‌های گرم مثبت دارند. انسی و هم‌کاران (Inci et al., 2006) سه عصاره‌ی متانولی، دی اتیل اتر و استونی ۱۱ گونه جلبک سواحل اورلا را در برابر میکروب‌های مختلف از جمله کاندیدا^۱، استفایکوکوس^۲، اینترکوکوس^۳، استرپتوکوکوس^۴ و اشرشیا به روش دیسک روی پلیت مورد بررسی قرار دادند و دریافتند که در بین عصاره‌های مورد آزمایش، دی اتیل اتر بهترین حلال برای اثر ضد میکروبی عصاره‌های مختلف گونه‌های جلبکی بوده است و حلال‌های استونی و متانولی هیچ گونه فعالیت ضد میکروبی از خود نشان ندادند و باکتری‌های گرم مثبت، نسبت به گرم منفی حساس‌تر بودند.

سالوادور و هم‌کاران (Salvador et al., 2007) در کشور اسپانیا به شناسایی و بررسی اثر ضد میکروبی ۸۴ جلبک دریایی در سواحل دریایی کشور پرداختند. از این ۸۴ جلبک، ۱۸ گونه متعلق به گروه جلبک‌های سبز، ۲۶ گونه متعلق به جلبک‌های قهوه‌ای و ۳۹ گونه متعلق به جلبک‌های قرمز بودند. آنان مطالعات ضد میکروبی خود را در برابر دو باکتری گرم مثبت و دو باکتری گرم منفی و دو قارچ بررسی کردند. بیش‌ترین حساسیت در بین باکتری‌ها، متعلق به *B. cereus* و کم‌ترین حساسیت متعلق به *S. aeruginosa* بوده است. در فصل پاییز جلبک‌های قرمز و قهوه‌ای بیش‌ترین فعالیت را نشان دادند و در فصل تابستان بیش‌ترین فعالیت متعلق به جلبک‌های سبز بوده‌است.

۴. منابع

قاسمی، ع. ۱۳۸۸. گیاهان دارویی و معطر شناخت و بررسی اثرات آن‌ها. انتشارات نشر سامان دانش، چاپ اول.

Biondi, N., Piccardi, R., Margheri, M.C., Rodolfi, L., Smith, G.D. and Tredici M.R. 2004. Evaluation of *Nostoc* strain ATCC 53789 as a potential source of natural pesticides. *Appl. Environ. Microbiol*, 70: 3313-3320.

Browitzka, M.A. 1995. Microalgae as sources of pharmaceuticals and other biologically active compounds. *J. Appl. Phycol*, 7: 3-15.

Chetsumon, A., Miyamoto, K., Hirata, K., Miura, Y., Ikuta, Y. and Hamsaki, A. 1993. Factors affecting antibiotic production

در تحقیق حاضر تعدادی از جلبک‌های سبز-آبی و سبز جمع آوری شده از مشهد و حومه پس از شناسایی برای فعالیت ضد میکروبی آزمایش شدند. نتایج به دست آمده از کشت جلبک‌های شناسایی شده در این تحقیق در برابر دو باکتری گرم مثبت *B. subtilis* و *S. epidermidis* و دو قارچ *C. albicans*، *C. kefyr* و دو قارچ *S. aerogenaz* و *Klebsiella* برای فعالیت ضد میکروبی مورد بررسی قرار گرفت. در میان جلبک‌های سبز - آبی، ۱۲ جنس متعلق به ۵ خانواده از ۳ راسته‌ی شناسایی شدند. مشاهدات حاکی از آن است که خاصیت ضد میکروبی، به دو گونه از خانوادگی Nostocaceae یک گونه از خانواده‌ی Chroococaceae، یک گونه از خانواده‌ی Heylaceae و یک گونه از خانواده‌ی Scytonemataceae متعلق اند. جلبک‌های سبز شناسایی شده، به ۱۵ جنس از ۳ خانواده و ۵ راسته متعلق بودند که در همین خصوص دو گونه متعلق به خانواده‌ی Scenedesmaceae و یک گونه از خانواده‌ی Zygnemataceae دارای خاصیت ضد میکروبی قوی تری بودند.

در این تحقیق عصاره‌های مختلف جلبک‌های مورد بررسی، در برابر دو باکتری گرم مثبت (*B. subtilis* و *S. epidermidis*) و قارچ *C. albicans* بیش‌ترین حساسیت را نشان دادند و در مقابل دو باکتری گرم منفی (*S. aerogenza* و *Klebsiella*) و قارچ *C. kefyr* هیچ حساسیتی نداشتند. فعالیت ضد میکروبی جلبک‌ها بسته به نوع جلبک و زمان جمع آوری آن متفاوت است، به شکلی که در فصل تابستان سیانوباکتری‌ها و جلبک‌های سبز و در فصل پاییز و در فصل زمستان جلبک‌های قهوه‌ای و جلبک‌های قرمز بیش‌ترین فعالیت را از خود نشان می‌دهند. در این تحقیق از مجموعه‌ی ۴۴ گونه‌ی شناسایی شده از سیانوباکتری‌ها و جلبک‌های سبز، ۵ گونه جلبک سبز - آبی و ۳ گونه جلبک سبز فعالیت مهاری در برابر میکروارگانیسم‌های موجود نشان دادند. فعالیت ضد میکروبی مربوط به عصاره‌های اتر (قطبی) و متانولی (غیر قطبی) استخراج شده از جلبک‌ها بوده است و عصاره‌های آبی هیچ گونه فعالیت مهاری از خود نشان ندادند. بیش‌ترین فعالیت مهاری ضد باکتری مربوط به جلبک *Scytonema ocellatum* در برابر *S. epidermidis* است که این نتیجه با گزارش رینر و فرانز (Rainer & Franz, 2008) مشابهت دارد. همچنین کم‌ترین فعالیت مهاری را جلبک *Nostoc sp.* در برابر *B. subtilis* نشان داد که نتیجه حاصل با نتایج سایرین (Chetsumon et al., 1993) مطابقت دارد.

کریتلو و هم‌کاران (Kreitnow et al., 1999) ۱۲ عصاره‌ی قطبی و غیر قطبی سیانوباکتری‌های دریای بالتیک را در برابر

¹ *Candida*

² *Staphylococcus*

³ *Enterococcus*

⁴ *Sterptococcus*

⁵ *Eshershia*

- metabolites produced and excreted by cyanobacteria during growth. *Microb Res*, 121: 180-186.
- Rosario, F., Martins, A., Miguel, F., Ramos, L., Herfindal, Jose A., Sousa Kaja, S. and Vitor, M. 2008. Antimicrobial and cytotoxic assessment of marine cyanobacteria-*Synechocystis* and *Synechococcus*, *Mar. Drugs*, 6: 1-11.
- Salvador, N., Gamenta, A., Lavelli, L. and Ribera, A. 2007. Antimicrobial activity of Iberian macroalgae. *Scientia Marina*, 71: 101-113.
- bioreactors with immobilized algal cells. *Appl. Biochem Biotech*, 37: 573-586
- Gerwick, W.H., Roberts M.A., Proteau P.J. and Chen, J.L. 1994. Screening cultured marine microalgae for anticancer-type activity. *J. Appl. Phycol*, 6: 143-149.
- Inci, T., Bilge, H., Dilek, U. and Atakan, S. 2006. Antimicrobial active of the extracts marine algae from the Coast of Urla (Izmir, Turkey). *Turk J Biol*, 30: 171-175.
- Jaki, B., Heilmann, J. and Sticher, O. 2000. New antibacterial metabolites from the cyanobacterium *Nostoc commune* (EAWAG 122b). *J. Nat. Prod.*, 63: 1283-85
- Kajiyama, S., Kanzaki, H., Kawazu, K. and Kobayashi, A. 1998. Nostifungicidine, an antifungal lipopeptide from the field grownterrestrial blue-green alga *Nostoc commune*. *Tetrahedron Lett*, 39: 3737-40.
- Koehn, F.E., Longley, R.E., and Reed, J.K. 1992. Microcolins A and B, new immunosuppressive peptide from the bluegreenalga *Lyngbya majuscula*. *J. Nat. Prod*, 55: 613-619.
- Kreitlow, S., Mundt, S. and Lindequist, U. 1999. Cyanobacteria - a potential source of new biologically active substances. *J. Biotechnol*, 70: 61-63.
- Luesch, H., Yoshida, W.Y., Moore, R.E., Paul, V.J. and Mooberry, S.L. 2000. Isolation, structure determination, and biological activity of Lyngbyabellin A from the marine cyanobacterium *Lyngbya majuscula*. *Ibid*, 63: 611-615.
- Mtolera, M.S.P. and Semesi, A.K. 1996. Antimicrobial activity of extraxts from six green algae from Tanzania. *Curr. Trends Mar. Bot. Res. East Afr. Reg*, 211-217.
- Papendorf, O., König, G.M. and Wright, A.D. 1998. Hirridin Band 2,4-dimethoxy-6-l, heptadecylpheno secondarymetabolites from the cyanobacterium *Phormidium ectocarpi* with ntiplasmodial activity. *Phytochem*, 49: 2383-86.
- Patterson, G.M.L. and Carmeli, S. 1992. Biological effects of tolytoxin (6-hydroxy-o-methylscytophycin b), a potent bioactive metabolite from cyanobacteria. *Arch Microbiol.*, 157: 406-410
- Rainer, B. and Franz, H. 2006. Antialgal, antibacterial and antifungal of tow