مجله علمی ـ پژوهشی زیست‌شناسی جانوری تجربی
سال هفتم، شماره اول، پیاپی بیست و پنجم، تابستان ۱۳۹۷ (۲۵-۱۷)

بررسی اثر ضد باکتریایی عصاره متانولی جلبک دریایی قهوه‌ای (*Padina gymnospora*) بر برخی باکتری‌های گرم منفی

مریم زبیدی‌نژاد[۱*]، مصطفی غفاری[۲]، علی طاهری[۳]
۱. دانشجوی کارشناسی ارشد فرآوری محصولات شیلاتی، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار
۲. دانشیار بهداشت و بیماری‌های آبزیان، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار
۳. دانشیار فرآوری محصولات شیلاتی، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی
(تاریخ دریافت: ۱۳۹٤/۹/۱۰- تاریخ تصویب: ۱۳۹۷/۵/۱۳)

چکیده

امروزه به دلیل تغییر مقاومت باکتری های بیماری زا، یافتن مواد ضد میکروبی نوین از منابع طبیعی دریایی از اهمیت زیادی برخوردار است. این مطالعه با هدف بررسی اثر ضد باکتریایی عصاره متانولی جلبک دریایی قهوه‌ای (*Padina gymnospora*) بر برخی باکترهای گرم منفی بود. پس از انجام نمونه برداری و انتقال نمونه‌ها به آزمایشگاه، نمونه جلبکی شستشو، خشک و آسیاب شد و توسط حلال متانول عصاره‌گیری صورت گرفت. عصاره متانولی در ٤ غلظت ۸۰-۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تهیه شد و جهت بررسی اثر ضد باکتریایی آن، روی ٤ گونه باکتری‌های گرم منفی *Vibrio cholerae*، *Morganella morganii*، *Proteus mirabilis* و *Proteus vulgaris* از تست انتشار دیسک در آگار استفاده شد. نتایج نشان داد که باکتری *P. vulgaris* بیشترین حساسیت را نسبت به عصاره جلبکی با قطر هاله عدم رشد ۰/۲۵ ±۱۱/۲۳ میلی‌متر در غلظت ۸۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از خود نشان داد، این میزان دارای اختلاف معنی‌داری با آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد جنتامایسین و نئومایسین و سایر غلظت‌ها بود (p <۰/۰۵). همچنین اثر عصاره جلبکی بر باکتری‌های مورد آزمایش در غلظت‌های ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، اختلاف معنی‌داری نبود (p >۰/۰۵). نتایج رقت لوله‌ای نشان داد که حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی ۰/۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. در مجموع، نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره متانولی جلبک قهوه‌ای *Padina gymnospora* یک منبع بالقوه‌ای برای ترکیبات ضد میکروبی نوین با هدف جایگزینی داروهای شیمیایی می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: خواص ضد باکتریایی، جلبک دریایی، *Padina gymnospora*، انتشار از دیسک.

The investigation of anti-bacterial activity of methanolic extract of brown algae (*Padina gymnospora*) against some gram negative bacteria

Maryam Zobeidinezhad[1*], Mostafa Ghaffari[2], Ali Taheri[3]
1. M.Sc. Student of Fisheries Products Processing, Faculty of Marine Sciences, Chabahar Maritime University, Chabahar, Islamic Republic of Iran
2. Associate Professor of Aquatic health and diseases, Faculty of Marine Sciences, Chabahar Maritime University, Chabahar, Islamic Republic of Iran
3. Associate Professor of Fisheries Products Processing Faculty of Marine Sciences, Chabahar Maritime University, Chabahar, Islamic Republic of Iran
(Received: Dec. 1, 2015 - Accepted: Aug. 4, 2018)

Abstract

Nowadays due to the emergence of resistant forms of pathogenic bacteria, discovering new antimicrobial substances from marine natural resources is considered very important. This study aims to investigate the antibacterial activity of methanolic extract of brown algae against some Gram negative bacteria. After sampling and transferring the samples to the laboratory, algae samples were washed, dried and pulverized; then, the extraction was conducted using methanol solvent. Methanolic extracts of algae (*padina gymnospora*) were prepared in four concentrations of 10 to 80 mg/ml and were tested against 4 strains of Gram negative bacteria *Vibrio cholerae*, *Morganella morganii*, *Proteus mirabilis* and *Proteus vulgaris* using disc diffusion technique and inhibition growth zone measurement. The results revealed that *P. vulgaris*, with growth inhibition zone diameter of 11.23±0.25 mm in 80 mg/ml concentration, showed the maximum sensitivity to algae extract. This value had a significant difference compared to reference antibiotics of gentamycin and neomycin and all other concentrations ($p<0.05$). However, in 10 and 20 mg/ml concentration of algae extract, there was not seen any significant effect on tested bacteria. In vitro serial dilution results showed that MIC and MBC were 0.8 mg/ml. Totally, the results of the study showed that methanolic extract of brown algae, *padina gymnospora*, can be considered a potential resource of antimicrobial compounds aiming to replace chemical medicines.

Keywords: Antibacterial activity, marine algae, *Padina gymnospora*, disc diffusion.

* نویسنده مسئول: E-mail: zobeidy.maryam92@gmail.com

مقدمه

جلبک‌های دریایی یکی از اکوسیستم‌های بزرگ و متنوع دریایی به‌شمار می‌آیند و نقش اساسی را در محیط زیست دریایی ایفا می‌کنند. جلبک‌های دریایی منابع غنی از متابولیت‌های اولیه و ثانویه هستند و توانایی تولید ترکیبات فعال بیولوژیکی را دارند که قادر به مرگ باکتری‌ها و یا مهار رشد میکروارگانیسم‌ها شوند (Susilowati *et al*., 2015).

با توجه به پتانسیل بالای جلبک‌های دریایی و کاربرد آنها در پزشکی سنتی، علاقه ی رو به رشدی را برای پژوهشگران به وجود آورده است تا مطالعات گسترده‌ای را در زمینه خواص ضد میکروبی جلبک‌ها آغاز کنند. در این راستا، ترکیبات مختلفی مثل اسیدهای آمینه، ترپنوئیدها، فلورانتین‌ها، آلکان‌ها، کتون‌های هالوژنه، ترکیبات استروئیدی، پلی‌سولفیدهای حلقوی، اسیدهای چرب و فنل‌ها از جلبک‌ها جدا شده‌اند که برخی از آن‌ها تأثیر ضدباکتریایی دارند (Taskin *et al*., 2007).

جلبک‌های دریایی به‌عنوان منبع اصلی در مواد غذایی، رنگدانه‌ها و پلی‌ساکاریدهای سولفاته شناخته شده‌اند. همچنین در مقایسه با گیاهان خشکی‌زی و غذاهای حیوانی، برخی از آن‌ها سرشار از امگا ۳، اسیدهای چرب ضروری، مواد معدنی، اسیدهای آمینه و ویتامین‌های A، B، C با خواص ضد میکروبی می‌باشند (Mendez *et al*., 2013). علاوه بر این خواص ضد میکروبی جلبک‌های دریایی در مطالعات متعددی گزارش شده است از جمله (Osman *et al*., 2010; Rhimou *et al*., 2010; Tajbakhsh *et al*., 2011; Rebecca *et al*., 2012; Renukabai *et al*., 2013; Sangeetha *et al*., 2014). از بین مطالعات انجام شده، مطالعه‌ای که توسط Rhimou *et al.* (2010) در زمینه اثر ضد باکتریایی ۲۶ گونه جلبک دریایی قرمز را بر برخی باکتری های گرم مثبت و برخی باکتری‌های گرم منفی انجام دادند نتایج قابل‌توجهی به‌دست آمد. در این مطالعه، عصاره متانولی *H. musciformi* بالاترین حد مهاری را از خود نشان داد. همچنین از بین ۲۶ گونه جلبک مورد مطالعه، ۲۵ گونه (۹۶٪) اثر ضد باکتریایی را نشان دادند. همچنین عصاره‌های جمع‌آوری‌شده در فصل بهار نسبت به فصل زمستان فعال‌تر بودند (Rhimou *et al*., 2010).

سویه‌های باکتریایی در مطالعه حاضر، باکتری‌های گرم منفی از خانواده ویبریونایسه (*Vibrio cholerae*) و آنتروباکتریاسه (*Proteus vulgaris*، *Proteus mirabilis* و *Morganella morganii*) هستند که از عوامل شایع بیماری‌های روده‌ای، عفونت‌های مجاری ادراری، پنومونی، باکترمی و ضایعات موضعی در افراد مبتلا هستند. همچنین *Proteus vulgaris* و *Morganella morganii* از پاتوژن‌های عمده بیمارستانی هستند (Brooks *et al*., 2007).

سواحل چابهار منبع غنی از جلبک‌های دریایی سبز، قهوه‌ای و قرمز بوده که در تمام فصول سال، قابل بهره‌برداری می‌باشند. جلبک قهوه‌ای *Padina gymnospora* از جلبک‌های سواحل ماسه‌ای جنوب ایران می‌باشد. رنگ جلبک *Padina gymnospora*، قهوه‌ای متمایل به زرد، معمولاً دارای چند لوب بادبزنی شکل است. بخش‌های قاعده‌ای قطعات باریک و پوشیده‌شده با مو با فواصل مساوی از یکدیگر. سوری‌های غیر پوشنده مستقیماً پراکنده روی هر خطوط مویی. همچنین چسبیده به بستر با نگاهدارنده صفحه‌ای هستند (Ghranjic *et al*., 2009).

متأسفانه در کشور ایران، مطالعات کمی در زمینه خواص زیست‌فعال این منابع ارزشمند صورت گرفته است و مطالعات زیست فناوری در این زمینه ضروری می‌باشد. لذا، مطالعه حاضر با هدف شناخت اثر مهاری عصاره متانولی جلبک دریایی قهوه‌ای *Padina gymnospora* بر باکتری‌های گرم منفی *V. cholerae* (PTCC1611)، *M. morganii* (PTCC1078)، *P. vulgaris* (PTCC1079) و *P. mirabilis* (PTCC1776) انجام شده است.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونه

نمونه‌برداری از جلبک قهوه‌ای *Padina gymnospora* در ماه آذر سال ۱۳۹۳ با موقعیت جغرافیایی "۴۲/۴ ′۲۱ °۲۵ =N و "۳۰/۵ ′۳۶ °۶۰ =E از منطقه جزر و مدی پلاژ تیس در چابهار صورت گرفت و با همکاری سازمان علوم تحقیقات چابهار شناسایی شد. نمونه‌های جمع‌آوری‌شده در کیسه‌های نایلونی حاوی مقداری آب دریا نگهداری شدند، سپس به آزمایشگاه، منتقل گردیدند. مقداری از نمونه‌ها نیز جهت شناسایی و تأئید نهایی در یخچال درون کیسه‌های نایلونی در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. ابتدا جلبک‌ها را شسته و از شن و ماسه و جاندران اپی‌فیت پاک شدند. سپس در دمای اتاق به مدت ۲۱ روز سایه خشک شدند و سپس توسط آسیاب برقی کاملاً پودر شدند (Alghazeer *et al*., 2013).

عصاره‌گیری

عصاره‌گیری به روش غوطه وری ۱۰ درصد جرمی–حجمی با استفاده از حلال متانول به این ترتیب صورت پذیرفت. ابتدا ۲۰ گرم از پودر خشک شده، توزین و به ارلن مایر ۲۵۰ سی‌سی منتقل شد. سپس ۲۰۰ میلی‌لیتر از حلال متانول به آن افزوده و پس از تکان دادن، به مدت ۴۸ ساعت در تاریکی نگهداری شدند. هر ۱۶ ساعت محتویات ارلن به مدت ۲۵ دقیقه هم زده شد و در پایان محتویات ارلن به‌وسیله کاغذ صافی وایتمن شماره ۱ صاف و مایع صاف شده در دستگاه تبخیرگر چرخان تحت خلاء (Rotary) در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد عصاره‌گیری گردید (Srivastava *et al*., 2010). عصاره جمع‌آوری شده، با حلال DMSO (دی میتیل سولفا اکساید) در غلظت‌های ۱۰، ۲۰، ۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر آماده گردید.

میکروارگانیسم‌ها و محیط کشت

اثرات ضد باکتریایی غلظت‌های تهیه شده از عصاره جلبکی بر برخی باکتری‌های گرم منفی از قبیل *Vibrio cholerae*، *Morganella morganii*، *Proteus vulgaris* و *Proteus mirabilis* خریداری شده از مرکز کلکسیون قارچ و باکتری ایران (سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران) مطالعه شد. ابتدا این باکتری‌ها در محیط کشت نوترینت براث، کشت داده شدند و پس از آن جهت کشت این میکروارگانیسم‌ها در پلیت، از محیط کشت نوترینت آگار استفاده شد (Forbes *et al*., 2007).

بررسی اثرات ضد باکتریایی

اثرات باکتریایی غلظت‌های تهیه‌شده از عصاره جلبکی از آزمون انتشار از دیسک بررسی گردید. برای انجام روش انتشار از دیسک، از محیط کشت مولر هینتون آگار استفاده شد. باکتری‌ها با غلظت ۰/۵ مک فارلند توسط سوآب پنبه استریل به‌صورت چمنی در پتری دیش‌های حاوی محیط کشت مولر هینتون آگار کشت داده شدند. سپس دیسک‌های بلانک استریل توسط پنس استریل‌شده (با استفاده از الکل و شعله) روی پلیت‌ها و با فاصله مناسب از لبه پلیت و یکدیگر قرار داده شدند. پس از آن مقدار ۲۰ میکرولیتر از عصاره استریل با غلظت‌های مشخص روی دیسک بلانک توسط سمپلر ۱۰۰–۱۰μl چکانده شد. سپس پلیت‌ها را به مدت ۳۰ دقیقه برای پیش انتشار، درون یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. بعد از گذشت این زمان، پلیت‌ها را به انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت منتقل شدند. پس از گذشت ۲۴ ساعت قطر هاله‌های عدم رشد اطراف دیسک توسط کولیس ورنیه اندازه‌گیری و ثبت شد (Megha *et al*., 2014).

به منظور کنترل نتایج آزمون از آنتی‌بیوتیک‌های تجاری نئومایسین و جنتامایسین پادتن طب به‌عنوان کنترل مثبت استفاده شد. آزمون‌های حساسیت ضد باکتریایی به روش انتشار از دیسک با ۳ تکرار انجام گردید و از نتایج به‌دست آمده در هر مرحله میانگین گرفته شد.

تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی

در این بررسی جهت تعیین حداقل عصاره بازدارنده از روش رقت‌های متوالی در لوله آزمایش برای عصاره جلبکی استفاده شد. برای هر باکتری یک سری لوله آزمایش ۹ تایی استفاده شد که در آن ۷ لوله برای رقت‌های مختلف، یک لوله شاهد مثبت و یک لوله به‌عنوان شاهد منفی در نظر گرفته شد. به لوله‌های آزمایش ۹ میلی‌لیتر محلول آبگوشت مغذی (Nutrient broth) افزوده و استریل شد. بعد از فیلتر کردن عصاره توسط فیلتر میکروبی ۰/۲۲ میکرون، مقدار ۱۰۰۰ میکرولیتر از عصاره به لوله شماره ۱ اضافه شد و بعد از هموژن کردن آن ۱۰۰۰ میکرولیتر از مایع هموژن شده را برداشته و به لوله شماره ۲ منتقل گردید و این کار ادامه یافت و ۱۰۰۰ میکرولیتر از لوله شماره ۷ دور ریخته شد. به همه لوله‌ها به غیر از شاهده منفی ۲۰ میکرولیتر از کشت رقیق‌شده در محیط مایع (کشت رقیق شده با کشت استاندارد شده با ۰/۵ مک فارلند) به تمام لوله‌های آزمایش افزوده شد. همه لوله‌ها به مدت ۲۴ ساعت و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. پس از آن لوله‌ها از نظر کدورت ناشی از رشد باکتری ها بررسی شدند. آخرین لوله ای که هیچ کدورتی در آن دیده نشد به‌عنوان غلظت ممانعت‌کنندگی رشد در نظر گرفته شد. از همه لوله‌های فاقد کدورت رشد جهت تعیین حداقل غلظت کشندگی عصاره جلبک *Padina gymnospora*، به روش پورپلیت کشت داده شد و آخرین غلظتی که عصاره قادر به مرگ ۹۹/۹ درصد از باکتری‌های اولیه بود، به‌عنوان حداقل غلظت کشندگی میکروارگانیسم‌ها در نظر گرفته شد. کلیه آزمایش‌ها در ۳ بار تکرار صورت گرفت (Forbes *et al*., 2007).

تجزیه و تحلیل داده‌ها

در این پژوهش جهت ترسیم جدول داده‌ها از نرم‌افزار Excell 2010 از بسته نرم‌افزاری Office استفاده گردید و تجزیه و تحلیل داده‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS 21 انجام شد. همچنین اختلاف معنی‌داری غلظت‌های مختلف عصاره متانولی جلبک دریایی قهوه‌ای بر باکتری‌های مورد مطالعه، توسط آنالیز واریانس یک طرفه و مقایسه داده‌ها در سطح آلفای ۰/۰۵ بررسی شدند.

نتایج

در پژوهش حاضر به بررسی اثر ضد باکتریایی عصاره متانولی جلبک دریایی قهوه‌ای (*Padina gymnospora*) با استفاده از آزمون انتشار از دیسک پرداخته شد و نتایج این آزمون در جدول ۱ آورده شده است. میزان تأثیر عصاره متانولی در غلظت‌های مختلف، بر باکتری‌های مورد آزمون دارای اختلاف معنی‌داری بودند ($p<۰/۰۵$). در این مطالعه باکتری *P. Vulgaris*، بیشترین حساسیت را نسبت به عصاره جلبکی با قطر هاله عدم رشد ۰/۲۵ ±۱۱/۲۳ میلی‌متر، در غلظت ۸۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از خود نشان داد که این میزان دارای اختلاف معنی‌داری با آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد جنتامایسین و نئومایسین و سایر غلظت‌ها بود ($p<۰/۰۵$). نتایج اثرات عصاره متانولی جلبک دریایی *P. gymnospora* بر باکتری‌های *P. mirabilis*، *Morganella morganii* و *V. cholerae* (با قطر هاله عدم رشد به‌ترتیب ۰/۲۴±۱۰/۷۲، ۰/۴۵±۱۰/۳۷ و ۰/۲۶ ± ۹/۴۸ میلی‌متر) مشاهده شد که از حساسیت کمتری نسبت به باکتری *P. vulgaris* برخوردارند و مقادیر آن‌ها در مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد دارای اختلاف معنی‌داری بودند ($p<۰/۰۵$). باکتری *V. cholerae* بیشترین مقاومت را نسبت به عصاره متانولی جلبک *Padina gymnospora* از خود نشان داد. همان‌طورکه در جدول ۱ مشاهده می‌شود باکتری ویبریو کلرا و مورگانلا مورگانی، در غلظت‌های ۱۰،

۲۰ و ۴۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، اختلاف معنی‌داری از خود نشان ندادند. همچنین در باکتری پروتئوس ولگاریس در غلظت‌های ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اختلاف معنی‌داری نبود ($p > ۰/۰۵$).

نتایج آزمون حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی در جدول ۲ آورده شده است. براساس نتایج به‌دست‌آمده، حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی بر باکتری‌های ویبریو کلرا، مورگانلا مورگانی، پروتئوس ولگاریس و پروتئوس میرابلیس ۰/۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر مشاهده شد و با افزایش غلظت عصاره جلبکی، تعداد کلونی‌های باکتریایی به شدت کاهش یافت.

بحث و نتیجه‌گیری

آیا جلبک‌های دریایی منبع بالقوه‌ای جهت استخراج مواد ضد باکتریایی می‌باشند؟ به‌طورکلی موجودات دریایی حاوی منابع بالقوه‌ای از متابولیت‌های ثانویه فعال زیستی هستند که ممکن است در توسعه داروهای نوین مفید واقع شوند (El-Gamal, 2010). در مطالعه حاضر اثر ضد باکتریایی عصاره متانولی جلبک دریایی قهوه‌ای در غلظت‌های مختلف، مورد بررسی قرار گرفت. بررسی فعالیت ضد میکروبی جلبک‌های دریایی توسط محققین بسیاری انجام گرفته است. در بسیاری از مطالعات نشان داده شد که جلبک‌های دریایی منبع غنی از مواد فعال زیستی هستند که دارای ویژگی‌های ساختاری منحصر به فردی نسبت به گیاهان خشکی‌زی هستند (Eom *et al.*, 2012). متابولیت‌های ثانویه مشتق‌شده از جلبک‌های دریایی، متنوع‌اند از جمله مایکوتوکسین‌ها، آلکالوئیدها، کاروتنوئیدها، ترکیبات فنلی و غیره (Kumar *et al.*, 2013).

جدول ۱. مقایسه میانگین (± SD) قطر هاله عدم رشد (میلی‌متر) عصاره متانولی جلبک *Padina gymnospora* و آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد روی میکروارگانیسم‌های مورد مطالعه

باکتری / نوع متغیر	*Vibrio cholerae*	*Morganella morganii*	*Proteus mirabilis*	*Proteus vulgaris*
غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر	۷/۴۰±۰/۱۱^{e}	۸/۴۴ ±۰/۲۳^{e}	۷/۵۳ ±۰/۳۱^{e}	۷/۴۱ ±۰/۲۶^{e}
غلظت ۲۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر	۸/۲۷±۰/۲۵^{d}	۸/۷۵ ±۰/۲۵^{de}	۸/۱۸ ± ۰/۳۱^{e}	۸/۱۸ ±۰/۲۱^{e}
غلظت ۴۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر	۸/۸۰ ± ۰/۱۹^{de}	۹/۵۳ ±۰/۲۲^{d}	۹/۳۸ ±۰/۳۶^{d}	۹/۸۶ ±۰/۴۱^{d}
غلظت ۸۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر	۹/۴۸±۰/۲۶^{c}	۱۱/۳۷ ±۰/۴۵^{c}	۱۰/۷۲ ±۰/۲۴^{c}	۱۱/۲۳ ±۰/۲۵^{c}
آنتی بیوتیک جنتامایسین (10µg)	۱۴/۹۱±۰/۲۲^{a}	۱۵/۵۶ ±۰/۳۱^{a}	۱۳/۴۰ ±۰/۳۶^{a}	۱۳/۵۴ ±۰/۵۰^{a}
آنتی بیوتیک نئومایسین (30µg)	۱۱/۲۳±۰/۲۲^{b}	۱۲/۷۱ ±۰/۲۴^{b}	۱۲/۱۰ ±۰/۳۵^{b}	۱۲/۲۲ ±۰/۳۶^{b}
حلال DMSO	۰±۰/۰۰	۰±۰/۰۰	۰±۰/۰۰	۰±۰/۰۰

نتایج حاصل ۳ تکرار است.

تیمارهای هر ستون با حروف غیر مشابه اختلاف معنی‌داری را نشان می‌دهند.

جدول ۲. مقایسه حداقل غلظت ممانعت‌کنندگی از رشد و حداقل غلظت کشندگی عصاره متانولی جلبک دریایی قهوه‌ای *Padina gymnospora* میکروارگانیسم‌ها

سویه باکتری	حداقل غلظت ممانعت‌کنندگی (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)	حداقل غلظت کشندگی (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)
Vibrio cholerae	۰/۸	۰/۸
Morganella morganii	۰/۸	۰/۸
Proteus mirabilis	۰/۸	۰/۸
Proteus vulgaris	۰/۸	۰/۸

جهت اثبات این‌که آیا فعالیت‌های مشاهده‌شده مربوط به کدام یک از ترکیبات موجود در جلبک است نیاز به مطالعه و بررسی بیشتری دارد. ترکیبات متفاوتی در فعالیت ضد باکتریایی نقش دارند. مهم‌ترین بخش این ترکیبات زیست‌فعال، جداسازی و خالص‌سازی که نیازمند شناسایی ماهیت شیمیایی آن است (Oumaskour *et al*., 2013). Rosalin *et al.* (2012) مطالعه‌ای در زمینه فعالیت ضد باکتریایی عصاره‌های متانولی جلبک‌های قهوه‌ای بر برخی باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی بررسی کردند و نتایج آن‌ها نشان داد که عصاره متانولی جلبک‌های قهوه‌ای *P. gymnospora* و *S. wightii* در غلظت‌های مورد مطالعه هیچ اثر بازدارندگی روی رشد باکتری *P. vulgaris* ندارد درصورتی‌که در تحقیق حاضر عصاره متانولی جلبک مورد نظر بر روی این باکتری تأثیر مثبتی داشت که می‌توان گونه جلبک و روش عصاره‌گیری و فصل را مؤثر دانست (Taskin *et al*., 2010). همچنین نتایج مطالعات El-sheekh *et al.* (2014) بر روی جلبک‌های قهوه‌ای دریای سرخ نشان دادند که حلال متانول- کلروفرم جلبک‌های قهوه‌ای *Sargassum ramifolium*، *Cystoriya myrica* و *Dictyota* sp. بر باکتری *Shigella flexneri* دارای قدرت مهاری بیشتری نسبت به دیگر باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت بود اما باکتری *P. mirabilis* دارای قدرت مهاری برابر با ۱±۹ میلی‌متر در غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر را از خود نشان داد که نسبت به باکتری‌های مورد مطالعه کمتر بود. اما در تحقیق حاضر عصاره متانولی جلبک قهوه‌ای *P. gymnospora*، باکتری *P. mirabilis* دارای قدرت مهاری (۰/۲۴ ± ۱۰/۷۲ میلی‌متر در غلظت ۸۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) بود که می‌توان گونه جلبک، روش‌های استخراج و مقاومت باکتری‌های مورد مطالعه را مؤثر دانست (Seenivasan *et al*., 2010). نتایج حاصل از مطالعات Vallinayagam *et al.* (2009) نشان داد عصاره کلروفرمی جلبک‌های قهوه‌ای *S. wightii* و *P. gymnospora* از رشد باکتری *V. cholerae* (قطر هاله عدم رشد به‌ترتیب ۰/۳۵±۴/۴۶ و ۰/۲۰±۵/۴۶ میلی‌متر) جلوگیری کرد درصورتی‌که عصاره متانولی جلبک در پژوهش حاضر روی باکتری مذکور (۰/۲۶±۹/۴۸ میلی‌متر در غلظت ۸۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) تأثیر بیشتری داشت اما نسبت به باکتری‌های مورد مطالعه کمتر بود که می‌توان گونه جلبک و فعالیت متابولیکی جلبک و روش عصاره‌گیری را مؤثر دانست. همچنین نتایج به‌دست آمده از مطالعات Bibiana *et al.* (2012) نشان داد که عصاره اسید استیک جلبک قهوه‌ای *Sargassum wightii* از بین باکتری‌های مورد مطالعه باکتری *P. aeruginosa* با بالاترین قطر هاله عدم رشد ۱۰ میلی‌متر و عصاره اتری جلبک قهوه‌ای مورد مطالعه، باکتری پروتئوس با قطر هاله عدم رشد ۸ میلی‌متر بود درحالی‌که در تحقیق حاضر عصاره متانولی جلبک قهوه‌ای *P. gymnospora*، بر باکتری *P. vulgaris* نسبت به باکتری‌های مورد مطالعه بالاترین قطر هاله عدم رشد (۰/۲۵±۱۱/۲۳ میلی‌متر) را داشت. نتایج حاصل از مطالعات Derakhshesh *et al.* (2011) نشان دادند که عصاره جلبک قهوه‌ای *S. angustifoilum*، در بین باکتری‌های مورد مطالعه، بر باکتری *P. vulgaris* و آنتی‌بیوتیک آمپی‌سیلین عملکرد ضعیف‌تری داشت و همچنین نتایج قطر هاله‌های عدم رشد عصاره‌های جلبک قرمز و قهوه‌ای در مورد این باکتری اختلاف معنی‌داری نداشت درصورتی‌که در مطالعه حاضر عصاره متانولی جلبک مورد مطالعه بر این باکتری بالاترین قدرت مهاری و نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد دارای اختلاف معنی‌داری را از خود نشان داد ($p<۰/۰۵$).

نتایج مطالعه Peymani *et al.* (2014) نشان داد که عصاره اتانولی جلبک قهوه‌ای *Sargassum glaucescens* بر باکتری پروتئوس ولگاریس اثر مهاری نداشت و هاله عدم رشد مشاهده نشد.

درصورتی‌که در تحقیق حاضر عصاره متانولی جلبک قهوه‌ای *P. gymnospora*، بر باکتری پروتئوس ولگاریس نسبت به باکتری‌های مورد مطالعه دارای بالاترین قطر هاله عدم رشد بود که می‌توان به گونه جلبک و نوع حلال اشاره کرد (Cox *et al*., 2010).

اما در مورد حداقل غلظت کشندگی باید عنوان نمود که با توجه به مطالعات انجام شده، استفاده از تیمار گرمایی جهت خشک کردن عصاره، می‌تواند خاصیت ضد باکتریایی عصاره جلبک‌های دریایی را از بین ببرد، که این مورد، شاید به دلیل شکستن ساختار بیوشیمیایی ماده فعال ضد باکتریایی عصاره مذکور باشد. از این‌رو بررسی حداقل غلظت کشندگی با استفاده از خشک کردن انجمادی قابلیت بررسی دقیق‌تری را خواهد داشت. لذا در بررسی حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی در مطالعه حاضر، مشخص گردید در غلظت ۰/۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر مشاهده شد. در مجموع می‌توان بیان نمود که حساسیت باکتری‌ها به دلیل ساختار متفاوت دیواره سلولی و ترکیب آنها است. اگرچه غشای خارجی باکتری‌های گرم منفی، به‌عنوان یک مانع برای بسیاری از مواد زیست‌محیطی از جمله آنتی‌بیوتیک‌ها است اما نسبت به عصاره متانولی جلبک قهوه‌ای *P. gymnospora* حساسیت نشان داده است. به‌طورکلی می‌توان بیان نمود که نتایج مطالعه حاضر، نشان‌دهنده تأثیر ضد باکتریایی عصاره متانولی جلبک قهوه‌ای *Padina gymnospora* بر برخی باکتری‌های بیماری‌زای گرم منفی می‌باشد که می‌تواند با انجام مطالعات دقیق‌تر و بررسی بیشتر و خالص‌سازی مواد مؤثره پرداخت و همچنین می‌تواند به‌عنوان آنتی‌بیوتیک گیاهی با عوارض کمتر جایگزین برخی آنتی‌بیوتیک‌های معمولی برای درمان بیماری‌های ناشی از این سویه‌های باکتریایی شود.

سپاسگزاری

نویسندگان از دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار و آقای مهندس زادعباس شاه‌آبادی کارشناس محترم آزمایشگاه دانشکده علوم دریایی این دانشگاه به جهت کمک‌های بی‌دریغ ایشان تشکر و قدردانی می‌نمایند.

REFERENCES

Alghazeer, R.; Whida, F.; Abduelrhman, E.; Gammoudi, F.; & Azwal, S.; (2013). Screening of antibacterial activity in marine green, red and brown macroalgae from the western coast of Libya. Natural Science; 7-14.

Bibiana, M.A.; Nithya, K.; Manikandan, M.S.; Selvamani, P.; Latha, S.; (2012). Antimicrobial Evaluation of the organic extracts of Sargassum wightii (brown algae) and kappaphycus alwarezii (red algae) collected from the Coast oMeemesal, Tamilnadu. International journal of pharmaceutical, chemical and biological Sciences; 2(4), 439-446.

Brooks, GF.; Corroll, K.; Butel, JS.; & Morse, SA.; (2007). Jawetz Melnick and Adelberg's Medical microbiology, 24 th Edition; 232-235.

Cox, S.; Abu-Ghannam, N.; 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.

Derakhshesh, B.; Yousefzadi, M.; Afshar nasab, M.; Yeganeh, V.; Dashtian Nasab, A.; (2011). In vitro Antibacterial Activities of the Marine Macroalgae" Laurencia Snyderiae" and "Sargassum Angustifolium" Against Human Pathogens. ISMJ; 14(1):17-22.

El Gamal, A.A.; (2010). Biological importance of marine algae. Saudi Pharmaceutical Journal; 18: 1-25.

Eom, S.H.; Kim, Y.M.; Kim, S.K.; (2012). Antimicrobial effect of phlorotannins from marine brown algae. Food and Chemical Toxicology; 3251-3255.

El-Sheekh, M.M.; Gharieb, M.M.; El-

Sabbagh, S.M.; Hamza, W.T.; (2014). Antimicrobial Efficacy of some marine Macroalgae of Red Sea. Int J Micr Imm Res; 3(3): 021-028.

Forbes, B.A.; Sahm, D.F.; Weissfeld, A.S.; (2007). Bailey & Scott`s Diagnostic Microbiology. 12th ed. Missouri, Mosby; 323-330.

Qaranjic, B.M.; Rouhani Qadikalaee, K.; (2009). Atlas of Marine algae of Persian Gulf and Oman Sea coasts. Tehran: Irananian Institute of Fisheries Research, Scientific Information Management. [in Farsi]

Kumar, P.; Senthamilselvi, S.; Govindaraju, M.; (2013). GC-MS profiling and antibacterial activity of *Sargassum tenerrimum.* Journal of pharmacy Research; 6: 88-92.

Magha, N.; Mole, and Anjali, B.; Sabale.; (2014). Antimicrobial ,antioxidant and haemolytic potential of brown macroalga Sarrgassum. World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences; 3(8): 2091-2104.

Mendez, M.; Pereira, R.; Sousa Pinto, I.; Carvalho, A.; Gomes, A.; (2013). Antimicrobial activity and lipid profle of Seaweed extracts from the North Portuguese Coast. Int F Res J; 20(6): 3337-3345.

Osman, M.; Abushady, A.; Elshobary, M.; (2010). In vitro screening of antimicrobial activity of extracts of some macroalgae collected from Abu-Qir Bay, Alexandria, Egypt. Afr J Biotechnol; 9(12): 7203 -7208.

Oumaskour, K.; Boujaber, N.; Etahiri, S.; Assobhei, O.; (2013). Anti-inflammatory and antimicrobial activities of twenty – three Marine red algae from the Coast of Sidi Bouzid (El Jadida-Morocco). International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences; 3: 145-149.

Peymani, J.; Qaraee, A.; Ghaffari, M.; Taheri, A.; (2014). Investigation of antibacterial Effect of aqueous and ethanolic extract of brown alga Sargassum glaucescens from Chabahar Coasts. Scientific Journal of Iranian Fisheries; 22(4): 13-21. [in Farsi]

Rebecca, J.L.; Dhanalakshmi, V.; & Sharmila, S.; (2012). Effect of the extract of Ulva sp on pathogenic microorganisms. Journal of Chemical and *Pharmaceutical* Research; 4(11): 4875-4878.

Renukabai, N.; Subitha Shajini, R.; Mary Christi, R.; & Christy Kala, T.; (2013). Antimicrobial activities of Marine green algae from Kurump Anai Coast , Tamil Nadu, India. Plant Archives; 883-886.

Rhimou, B.; Hassane, R.; Jose, M.; & Nathalie, B.; (2010). The antibacterial potential of the seaweeds (Rhodophyceae) of the Strait of Gibraltar and the Mediterranean Coast of Morocco. African Journal of Biotechnology; 9(38): 6365-6372

Rosaline, X.; Sakthivel kumar, S.; Rajendran, K.S.; Janarthanan, S.; (2012). Screening of Selected marine algae from the Coastal Tamil Nadu, South India for Antibacterial Activity . Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine; 140-146.

Sangeetha, S.; Dhayanithi, N.B.; Sivakumar, N.; (2014). Antibacterial activity of Sargassum longifolium and Gracilaria corticata from Gulf of Mannar aginst selected common shrimp pathogens. International Journal of pharma and Bio Sciences; 5(2): 76-82.

Seenivasan, R.; Indu, H.; Archana, G.; Geetha, S.; (2010). Antibacterial activity of some marine algae from South East Coast of India. Am. Eurasian J. Agric. Environ. Sci; 9 (5): 480-489.

Srivastava, N.; Saurav, K.; Mohanasrinivasan, V.; Kannabiran, K.; Singh, M.; (2010). Antibacterial potential of macroalgae collected from the Madappam coast, India. British Journal of Pharmacology and Toxicology; 1(2): 72-76.

Susilowati, R.; Sabdono, A.; Widowati, I.;

(2014). Isolation and Characterization of Bacteria Associated with Brown Algae Sargassum spp from Panjang Island and Their Antibacterial. International Conference on Tropical and activites Coastal Region Eco-Development; 240-246.

Tajbakhsh, S.; Pouyan, M.; Zandi, K.; Bahramian, P.; Sartavi, K.; Fouladvand, M.; et al, (2011). In vitro study of antibacterial activity of the alga *Sargassum oligocystum* from the Persian Gulf. European Review for Mediacal and Pharmcological Sciences; 15: 293-298.

Taskin, E.; Ozturk, M.; Kurt, O.; & Kurt, O.; (2007). Antibacterial activities to some marine algae from the Aegean Sea (Turkey). African Journal of Biotechnology; 6(24): 2746-2751.

Taskin, E.; Caki, Z.; Ozturk, M.; Taskin, E.; (2010). Assessment of in vitro antitumoral and antimicrobial activities of marine algae harvested from the eastern Mediterranean sea. Afr. J. biotechnol; 9(27): 4272-4277.

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