فصلنامه علمی ـ پژوهشی دورهٔ ٤، شمارهٔ ۲، تابستان ۱۳۹٤، صفحه ۷۹-۸۹

بررسی خاصیت ضدمیکروبی سیانوباکترهای جدا شده از تالاب انزلی

مریم فلاحی کپورچالی

دانشیار، پژوهشکده آبزی پروری آبهای داخلی، بندرانزلی

تاریخ دریافت: ۹۳/۰۷/۲۵ تاریخ پذیرش: ۹٤/۰٤/۳۰

نویسنده مسئول مقاله: m_fallahi2011@yahoo.com

چکیده:

خاصیت ضد میکروبی هشت گونه جلبک سبز- آبی (سیانوباکتر) تالاب انزلی به دو روش تقطیر در خلاء و مکانیکی ساده بر روی چند گونه باکتری بررسی شد. نتایج نشان داد که گونه‌های جلبکی *Anabaena* sp. ،*Anabaena variabilis* ،*Anabaena flos-aquae* و-*Aphanizomenon flos aquae* برروی کاهش رشد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و گونه‌های *Anabaena flos-aquae* و *Anabaena oscillaroides*. بر روی کاهش رشد باکتری اشرشیاکلی مؤثر بودند. رشد مخمر کاندیدا آلبیکانس تحت تأثیر جلبک‌های *Aphanizomenon flos-aquae*، *Anabaena variabilis* و *Anabaena* sp2. به میزان زیادی کاهش یافت. از بین جلبک‌های مورد بررسی تنها *Anabaena oscillaroides* توانست رشد باکتری سودوموناس را کاهش دهد.

کلید واژگان: سیانوباکتر، جلبک‌های سبز- آبی، خاصیت ضد میکروبی، تالاب انزلی

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-24]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1394.4.2.6.6]

مقدمه

کاربرد جلبک‌ها به‌صورت مستقیم در برخی از کشورها مانند چین، ژاپن، کره، تایوان و فیلیپین معمول و خواص دارویی آن بسیار است. از جمله به‌عنوان مسهل در یبوست‌های دستگاه گوارش، التیام‌دهنده زخم‌های دستگاه گوارش، داروهای ضد انگلی دستگاه گوارشی و همچنین در کاهش فشار خون، کاهش چربی خون، کاهش وزن زیاد، جلوگیری از بیماری تصلب شرایین و التیام‌دهندهٔ عفونت‌های میکروبی از جلبک‌ها استفاده می‌شود. همچنین در خصوص بیماری‌های گیاهی نیز برخی جلبک‌ها، در کاهش آلودگی‌های ویروسی، مقابله با بیماری‌های قارچی و دفع آفات و حشرات از اندام‌های هوایی و زمینی گیاه مؤثرند (Kulik,1995).

فعالیت ضد باکتری اثر بازدارندگی است که به‌وسیلهٔ میکروب‌ها بر گونه‌های دیگر اعمال می‌شود. سیانوباکترها تمایل به تولیدات ثانویه‌ای دارند که از رشد باکتری جلوگیری می‌کند. سیانوباکتر با مداخله در سنتز پروتئین، به تعویق انداختن متابولیسم و پارگی دیواره سلول رشد باکتری را مهار می‌کند (Tiwari and Sharma,2013)

برخی از جلبک‌ها مانند سیانوباکترهای پروکاریوت یک منبع بالقوه جدیدی هستند که انواعی از متابولیت‌های ثانویه مانند آنتی‌بیوتیک، جلبک کش، سیتو توکسیک و فعالیت‌های آنزیمی مهاری تولید می‌کنند(Mundt et al.,2001). شکوفایی وسیع آنها در دریاچه‌ها، استخرها و برخی نواحی اقیانوس‌ها آب را دچار مشکل می‌کند(Skulberg et al.,1984; Chorus and Bartram,1999; Duy et al., 2000). جلبک‌ها ممکن است طی دفع ترکیبات فرار باعث طعم و بوی بد و نامطبوع شوند(Jones and Korth ,1995).

سیانوباکترها منبع غنی از متابولیت‌های فعال بیولوژیک به‌شمار می‌آیند (Ghasemi *et al.,* 2003) و به‌عنوان ترکیبات بیواکتیوشناخته شده‌اند(Carmichael,2001). از ویژگی‌های آنها تثبیت نیتروژن و فتوسنتز است. سیانوباکترها به تولید متابولیت‌های ثانویه با فعالیت بیولوژیکی متنوع مثل آنتی‌بیوتیک (Browitzka,1995 ، Jaki et al.,2000)، ضد قارچ (Browitzka,1998 ، Kajiyama et al.,1992)، آنتی پلاسموزیدال (Papendorf et al.,1998)، ضد جلبک (Panke et al.,1997)، ضد تجمع پلاکت (Rho,1996) و سرکوب کننده سیستم ایمنی (Koehn,1992) شناخته شده‌اند.

Zarrini و همکاران (2011) طی بررسی‌های خود گزارش کردند که برخی سیانوباکترها مانند *Nodularia sp.* ، *Anabaena sp.*و*Leptolyngbya sp.* می‌توانند به‌عنوان یکی از منابع تولید ترکیبات ضدمیکروبی مطرح شوند. نتایج آنها نشان داد که سیانوباکتری‌های رشته‌ای ترکیبات مؤثرتری را علیه باکتری‌های گرم مثبت و قارچ‌های مخمری تولید می‌کنند.

چندین جنس از سیانوباکتر تشکیل بلوم‌های سمی می‌دهند و سموم سیانوباکترهای مختلف تخصیص یافته است (Carmichael,1992 و Rinehart et al.,1994).احتمالاً سنتز خیلی فعال سموم یک نقطه دفاعی سیانوباکترها در مقابله حمله ارگانیسم‌های دیگر مثل باکتری‌ها، قارچ‌ها، زئوپلانکتون و میکروجلبک‌های یوکاریوت است.

با توجه به ازدیاد باکتری‌ها ، قارچ‌ها و ویروس و مقاومت آنها به آنتی‌بیوتیک‌های تجاری، سیانوباکترها به‌عنوان منبع غنی از متابولیت‌های فعال زیستی و جدید مطرح هستند که این متابولیت‌های ثانویه و اولیه تولید شده از آنها پتانسیل بالایی را

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-24]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1394.4.2.6.6]

در صنعت داروسازی داشته است. برخی از این متابولیت‌ها شامل ترکیبات ضد باکتری هستند که با تست‌های آزمایشگاهی قابل اثبات بوده و بسیاری از بیماری‌های انسان را علاج می‌کنند (Hajimahmoodi *et al*., 2009).

Kulik, (1995) دریافت که قارچ‌هایی که گرایش به بیماری‌های گیاهی دارند، رشدشان در آزمایشگاه به‌وسیله ماده زمینه تولید شده توسط انواع سیانوفیت‌ها، جلوگیری به‌عمل آمده است و آنها کاندید مناسبی برای بهره‌برداری به‌عنوان کنترل بیولوژیکی در مقابل باکتری‌ها و قارچ‌های پاتوژن گیاهی هستند.

طی سال‌های اخیر از سیانوباکترها ترکیبات ضدمیکروبی متعددی جداسازی شده‌اند که هر یک طیف اثر متنوعی روی باکتری‌ها و قارچ‌ها داشته‌اند. ترکیبات ضد قارچ و ضد باکتری مانند fishorellin A، hapalindole، tjipanazole، tolytoxin، cavazostatin، nostocyclamide، scytophycin، toyocamycin ازسیانوباکترهای خانواده استیگونماتال، نوستوکال واوسیلاتوریال گزارش شده است (Dahms and Mundt et ،Ozdemir et al.,2004 ،Pfeiffer,2006 al.,2003، Shanab,2007 و Abed et al.,2009).

Arman و همکاران (2014) خواص ضد میکروبی سیانوباکترهای چشمه آب گرم کنو را بررسی و گزارش کردند که عصاره متانولی *Oscillatoria subbrevis*، *O. tenuis*، *O. limentica*، *O. limentica*، *O. angusta*، *O. articulate*، *Synechocystis aquatilis* ، *Synechoccous cerdorum*خواص ضد میکروبی قوی علیه باکتری‌های گرم مثبت به‌ویژه *Bacillus subtilis*، همچنین تأثیرات متوسطی علیه باکتری‌های گرم منفی به‌ویژه *Escherichia coli* و ضد قارچ مثل *S. cerevisiae* دارد.

در ایران چندین تحقیق در این زمینه انجام شده است از جمله Hosseini و همکاران (2011) بر روی اثرهای ضدباکتریایی عصارهٔ متانولی سویه‌های سیانوباکتر جدا شده از آب بر روی باکتری‌های عامل گاستروانتریت انسان را مطالعه و نتیجه‌گیری نمود که عصاره متانولی سویه‌های Oscillatoria دارای بیشترین اثر برروی باکتری‌های بیماری‌زا بوده است. بنابراین در این بررسی هدف بررسی خاصیت آنتی‌بیوتیکی جلبک‌های سبز- آبی تالاب انزلی است که تاکنون بر روی آنها مطالعه‌ای صورت نگرفته است.

مواد و روش کار

مواد لازم:

- سیستم کشت جلبک، محیط کشت مولر هینتون آگار، دستگاه هموژنایزر، سوش‌های باکتری، قارچ و مخمر، دستگاه انکوباتور، دستگاه ویال‌های کوچک، دستگاه تقطیر در خلأ.

روش کار

نمونه‌های پلانکتونی از تالاب انزلی با روتنر گرفته و پس از انتقال به آزمایشگاه، شناسایی جلبک‌ها به روش مورفولوژی از کلیدهای شناسایی Tiffany ،Prescott,1970 and Britton,1971، Bellinger,1992، Maosen,1983 ، Minelli,1994زیر میکروسکوپ وارونه (invert) صورت گرفت. جداسازی توسط پی‌پت پاستور استریل با نوکی به قطر ۱۰۰– ۷۵ آگستروم داخل پلیت حاوی چنین قطره آب مقطر و زیر میکروسکوپ اینورت انجام شد. بنابراین گونه مورد نظر از قطره اول برداشته به قطرهای بعدی انتقال داده شد و این عمل تا مرحله نهایی که فقط گونه مورد نظر وجود داشته باشد، ادامه یافت.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-24]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1394.4.2.6.6]

در مرحله آخرگونه جداسازی شده توسط پی‌پت پاستور تمیزی در کنار شعله به داخل لوله حاوی محیط کشت Z-8-N (Kotai, 1972) طبق روش Felfoldy, 1962 تلقیح و با روش Miller et al.,1978 و Ordog,1981 کشت شدند. نمونه‌ها به میزهای کشت با نور ۳۵۰+ ۳۵۰۰ لوکس (Stewart,1974) و دمای ۲+ ۲۵ (Rennold,1975) درجه سانتی‌گراد در اتاق کشت و پرورش با ۱۰ ساعت تاریکی و ١٤ ساعت روشنایی (Nelson and steeman,1978) منتقل شدند. ۸ گونه از جلبک‌های سبز- آبی (*Anabaena* sp.، *Anabaena bergii*، *Anabaena Variabilis*، *Oscillatoria agardhii*، *Anabaena flos-aquae*، *Nostoc Carneum*، *Aphanizomenon flos-aquae*، *Anabaena oscillaroides*) به این ترتیب جداسازی و پس از رشد مناسب به محیط کشت‌های بزرگ‌تر منتقل شدند. برای بررسی خاصیت ضدمیکروبی سویه باکتری‌های *اشرشیاکلی* (*Escherichia* coli)، *باسیلوس سوبتلیس* (*Bacillus subtilis*)، *شیگلا فلکسنری* (*Shigella flexneri*)، کلبسیلا (*Klebsiella* sp.) سالمونلا (*Salmonella* sp.)، پرتئوس ولگاریس (*proteus volgaris*)، *پسودوموناس ایروگینوسا* (*Pseudomonas aeruginosa*)، *استافیلوکوکوس اورئوس* (*Staphylococcus aureus*)، *مخمر کاندیدا آلبیکانس* (*Candida albicans*) و قارچ *آسپرژیلوس نایژر* (*Aspergillus niger*) از پژوهشکده آبزی‌پروری آب‌های داخلی (بندرانزلی) تهیه شده و از روش چاهک‌گذاری (Perez et al.,1990) برای این بررسی‌ها استفاده شد. بدین منظور نمونه کشت شده از گونه‌های مورد مطالعه از صافی گذرانده و عصاره جامد به روش مکانیکی خرد و پس از اضافه کردن آب دوبار تقطیر به ویال‌های کوچک منتقل گردید. محتوای آب عبور کرده از صافی نیز به دستگاه تقطیر در خلأ وصل و پس از ٤٥ دقیقه عصاره جمع‌آوری شده خشک شد. در ادامه پس از اضافه کردن ۵ تا ۱۰ سی‌سی آب دوبار تقطیر عصاره به‌دست آمده به ویال‌های کوچک منتقل گردید.

باکتری‌ها، قارچ و مخمر را پس از ساب کالچر در محیط کشت مولر هینتون آگار به مدت ٢٤ ساعت در دمای ۳۵±۳۷ درجه سانتی‌گراد (باکتری‌ها) و دمای ۲۵±۲۲ درجه سانتی‌گراد (قارچ‌ها) در انکوباتور نگهداری شدند. پس از تهیه رقت از این میکروارگانیسم‌ها و مقایسه با استاندارد مک فارلند مجدد به محیط‌های مولر هینتون آگار با سوآپ پنبه‌ای استریل کشت شده و چاهک‌هایی نیز داخل این محیط‌ها تعبیه گردید. سپس مقادیر مشخصی از عصاره گونه‌های جلبکی به میزان ۱۰۰، ۱۵۰و ۲۰۰ میکرولیتر را در چاهک‌ها ریخته و در پایان محیط‌های باکتریایی در دمای ۳۵±۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ٢٤ ساعت و محیط‌های قارچی در دمای ۲۵±۲۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت در انکوباتور نگهداری و نتایج به‌دست آمده قرائت و ثبت شد.

نتایج

عصاره گونه‌های *Anabaena flos-aquae*، *Anabaena* sp.، *Aphanizomenon flos-aquae* و *Anabaena variabilis* به میزان ۱۰۰ میکرولیتر بر روی باکتری گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* هاله ممانعت از رشد تشکیل داد (جدول ۱)، ولی گونه‌های سوم و چهارم به‌ترتیب تأثیری بیش از گونه‌های دیگر داشتند. گونه‌های *Oscillatoria agardhii* و *Anabaena bergii* با غلظت ۱۵۰ میکرولیتر و ۲۰۰ میکرولیتر بر روی قارچ آسپرژیلوس نایژر هاله ممانعت از رشد تشکیل دادند (جدول ۱).

عصاره گونه‌های *Anabaena oscillaroides*. و *Anabaena flos-aquae* به‌میزان ۱۰۰ میکرولیتر بر روی

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-24]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1394.4.2.6.6]

باکتری گرم منفی *اشرشیا کلی* مؤثربوده و هاله ایجاد کردند. گونه‌های *Aphanizomenon flos-aquae* و *Anabaena flos-aquae* در غلظت‌های ۱۰۰ میکرولیتر تأثیر کمی بر آسپرژیلوس داشته، ولی در غلظت ۱۵۰ و ۲۰۰ میکرولیتر هاله ممانعت از رشد تشکیل دادند (جدول ۱).

گونه‌های *Anabaena variabilis* و *Aphanizomenon flos-aquae* با میزان ۱۰۰ میکرولیتر بر روی مخمر *کاندیدا آلبیکنس* هاله ممانعت از رشد تشکیل داده، ولی گونه *Nostoc carneum* با میزان ۱۵۰ و ۲۰۰ میکرولیتر بر روی این مخمر هاله ایجاد کرد.

جدول ۱ میزان تأثیر ضد میکروبی جلبک‌های سبز- آبی خالص‌سازی شده بر میکروارگانیسم‌های پاتوژن

نوع باکتری	*استافیلوکوکوس اورئوس*		*اشرشیا کلی*		*کاندیدا آلبیکنس*		*آسپرژیلوس نایژر*		*پنسیلیوم دومیناس*	
	۱۰۰ µl	۱۵۰و۲۰۰ µl	۱۰۰ µl	۱۵۰و۲۰۰ µl	۱۰۰ µl	۱۵۰و۲۰۰ µl	۱۰۰ µl	۱۵۰و ۲۰۰ µl	۱۰۰ µl	۱۵۰و ۲۰۰ µl
Anabaena sp.	کم	+	−	−	−	−	−	−	−	−
Anabaena bergii	−	−	−	−	−	−	−	+	−	−
Anabaena Variabilis	+	++	−	−	+	++	کم	+	−	−
Oscillatoria agardhii	−	−	−	−	−	−	−	+	−	−
Anabaena flos-aquae	کم	+	+	++	−	−	کم	+	−	−
Nostoc Carneum	−	−	−	−	−	+	−	−	−	−
Anabaena oscillaroides	−	−	+	++	−	−	−	−	−	−
Aphanizomenon flos-aquae	+	++	−	−	+	++	کم	+	−	+

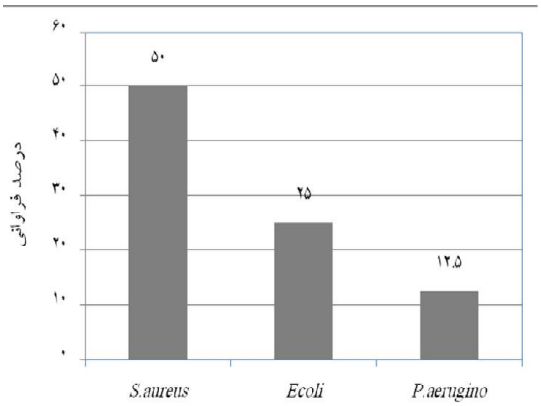
قطر هاله‌ها : کم: کمتراز ٦ میلی‌متر +: ۱۰-٦ میلی‌متر ++ : ۱۵-۱۱ میلی‌متر

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-24]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1394.4.2.6.6]

شکل ١ تشکیل هاله ممانعت از رشد توسط جلبک‌ها در مقابل میکروارگانیسم‌ها

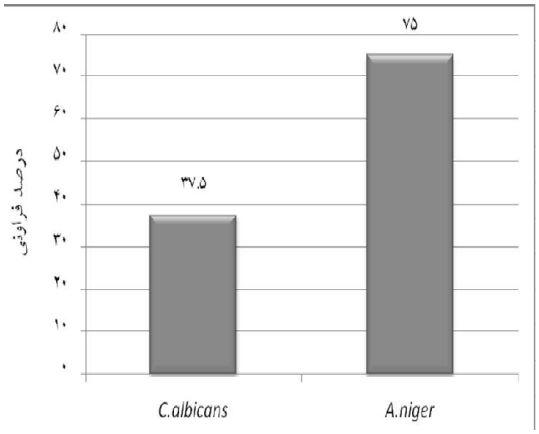
به‌طور کلی ٥٠ درصد میکروجلبک‌های سبز- آبی بر روی باکتری *S.aureus* هاله ممانعت از رشد تشکیل دادند(شکل ٢). درحالی‌که اثر آنها بر روی باکتری‌های *E.coli* و *P.aeruginosa* به‌ترتیب ٢٥ و ١٢/٥ درصد بود.



شکل ٢ درصد فراوانی میکروجلب‌های سبز- آبی مؤثر بر کاهش رشد باکتری‌های مختلف

همچنین طبق نتایج کسب شده ٧٥ درصد از جلبک‌های سبز-آبی در مقابل قارچ *آسپرژیلوس نایژر* و فقط ٣٧/٥ درصد از آنها در مقابل *کاندیدا آلبیکنس* هاله ممانعت از رشد ایجاد کردند(شکل ٣). شایان ذکر است که ٢٥ درصد گونه‌های سبز- آبی بر روی قارچ آسپرژیلوس و مخمر *کاندیدا البکانس* به‌طور مشترک تأثیرگذار بودند.

جلبک‌های سبز- آبی مورد مطالعه در این بررسی بر روی باکتری گرم مثبت *باسیلوس سوبتلیس* (*Bacillus subtilis*) و باکتری‌های گرم منفی *شیگلا فلکسنری* (*Shigella flexneri*) ،کلبسیلا(*Klebsiella* sp.)، سالمونلا (*Salmonella* sp.) تأثیری نداشتند. در ضمن آب محیط کشت پس از برداشت جلبک و عبارتی دیگر تولیدات برون سلولی میکروجلبک‌های مورد بررسی خاصیت ضد میکروبی از خود نشان نداد.



شکل ٣ درصد فراوانی میکروجلب‌های سبز- آبی مؤثر بر کاهش رشد مخمر و قارچ

بحث

بررسی‌های حاضر نشان داد که ٧٥ درصد گونه‌ها برروی کاهش رشد قارچ و مخمر و ٥/ ٦٢ درصد بر روی کاهش رشد باکتری مؤثر بودند. همچنین طبق نتایج به‌دست آمده ٢٥ درصد گونه‌ها به‌طور مشترک در کاهش باکتری، قارچ و مخمر و ٣٧/٥ درصد از گونه‌ها در کاهش توأم رشد باکتری و قارچ نقش داشتند. از میان جلبک‌های مورد مطالعه دو جنس *Anabaena variabilis* و *Aphanizomenon flos-aquae*، خاصیت ضد میکروبی بیشتری نسبت به سایرین داشتند. زیرا در غلظت ١٠٠ میکرولیتر توانستند هاله ممانعت از رشد به قطر ٦ تا ١٠ میلی‌متر در *استافیلوکوکوس اورئوس*، *کاندیدا آلبیکنس* و هاله کمتر از ٦ میلی‌متر در مقابل *آسپرژیلوس نایژر* ایجاد

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-24]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1394.4.2.6.6]

کنند. همچنین این گونه‌ها در غلظت‌های ۱۵۰ و ۲۰۰ میکرون هاله‌ای به قطر ۱۵-۱۱ میلی‌متر در مقابل *استافیلوکوکوس اورئوس و کاندیدا آلبیکنس* و هاله‌ای به قطر ٦-۱۰ میلی‌متر در مقابل *آسپرژیلوس نایژر* تولید کردند. پس از دو گونه یاد شده جلبک *Anabaena flos-aquae* خاصیت ضد میکروبی بهتری از خود نشان داده اما بیشترین تأثیر آن بر روی اشرشیاکلی بوده است.

بسیاری از گونه‌های سیانوباکتر دارای ترکیبات لیپوپپتیدی هستند به‌طوری‌که *Anabaena flos-aquae* دارای ترکیبات لیپوپپتیدی و آلکالوئیدی، آناتوکسین ـ a، سیاتوکسین و ساکسی توکسین بوده و این ترکیبات باعث فعالیت ضد باکتریایی، ضد سرطانی و سمی آن است (Domingos et al.,1999).

تحقیقات سایر محققان در مورد فعالیت ضدمیکروبی سیانوباکترها تأییدی بر بررسی‌های حاضر است. (2000) Ma and Led دریافتند که ترکیبات گروه لیپوپپتیدی به‌نام پلاستوسیانین و Xbutyrolactones در *Anabaena variabilis*، باعث فعالیت آنتی‌بیوتیکی آن شده است. *Nostoc muscorum* به‌دلیل داشتن ترکیبات Muscoride از گروه لیپوپپتید خاصیت آنتی‌بیوتیکی دارد (Nagatsu et al.,1995). آنها بیان داشتند که استخراج‌های اتری این گونه یک اثر بازدارندگی را بر روی رشد کاندیدا البیکانس (۱۸/۳۳ درصد)و *استافیلوکوکوس اورئوس* (۲۸/۷۷ درصد) نشان داد در حالی‌که تولیدات برون سلولی هیچ اثری را بروز نداد.

بررسی‌های حاضر نشان داد که در تولیدات برون سلولی کلیه سیانوباکترها فعالیت میکروبی وجود ندارد. ترکیبات سیتوتوکسیک با فعالیت ضدجلبکی، ضدقارچی، ضدباکتریایی و ضدپروتوزوآ از سیانوباکتر آسیلاتوریا گزارش شده است (Samab and Deka,1990).

طبق نتایج حاضر با افزایش حجم عصاره جلبک از ۱۰۰ به ۱۵۰ و ۲۰۰ میکرولیتر، میزان تأثیر بر روی باکتری، قارچ و مخمر افزایش یافت.

Hosseini و همکاران (2011) گزارش کردند که عصاره متانولی سیانو باکتر اثر ضدباکتریایی مشخصی دارد که با افزایش غلظت یا با افزایش ماده مأثر این اثر بیشتر می‌شود.

Zarrini و همکاران (2011) طی بررسی‌های خود گزارش نمودند که برخی سیانوباکترها مانند *Anabaena* sp., *Nodularia* sp., *Leptolyngbya* sp. می‌توانند به‌عنوان یکی از منابع تولید ترکیبات ضدمیکروبی مطرح شوند. نتایج حاصل نشان داد که سیانوباکتری‌های رشته‌ای ترکیبات مؤثرتری را علیه باکتری‌های گرم مثبت و قارچ‌های مخمری تولید می‌کنند.

در مطالعات حاضر جلبک *Nostoc Carneum* تنها بر روی *کاندیدا آلبیکنس* مؤثر بوده است. Cano و همکارانش نیز در سال 1990 بیان نمودندکه اثر بازدارندگی قوی *Nostoc muscorum* بر روی *کاندیدا البیکانس* و *استافیلوکوکوس اورئوس* از نظر دارویی با ارزش است.

طبق نتایج حاضر بیشتر میکروجلبک‌ها بر روی قارچ *آسپرژیلوس نایژر* تأثیرگذار بوده‌اند و یافته‌های محققان دیگر نیز تأییدی بر نقش سیانوباکترها در کنترل قارچ است. به‌طوری‌که Kulik,M.M.1995 دریافت قارچ‌هایی که گرایش به بیماری‌های گیاهی دارند، از رشدشان در آزمایشگاه به‌وسیله ماده زمینه تولید شده توسط انواع سیانوفیت‌ها جلوگیری به‌عمل آمده است و آنها کاندید مناسبی برای بهره‌برداری به‌عنوان کنترل بیولوژیکی در مقابل باکتری ها و قارچ های پاتوژن گیاهی هستند.

Rania و همکاران (2008) جهت مطالعه تولید عوامل ضدمیکروبی و ضدقارچی عصاره متانولی سه سیانوباکتر *Anabaena oryzae , Tolypothrix ceytonica*

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-24]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1394.4.2.6.6]

و *Spirulina platensis* را به روش چاهک‌گذاری بـر روی طیف گسترده‌ای از میکروارگانیسم‌ها مانند *استافیلوکوکوس اورئوس و اشرشیا کلی* کـه محـرک بیمـاری انسـان اسـت، بررسی کردند. طبق نتایج آنها بیشترین اثـر ضـدمیکروبی و ضدقارچی در *Spirulina platensis* و *Anabaena oryzae* مشاهده شد. آنها گزارش نمودند که هاله عدم رشد عصـارهٔ متانولی سیانوباکتر *Anabaena oryzae* بر روی باکتری‌های *اشرشیا کلی باسیلوس سوبتیلیس، استافیلوکوکوس اورئوس و سودوموناس آروژینـازا* بـه‌ترتیـب ٢، ١/٥، ٢ *و١* و بـرای سـیانوباکتر *Spirulina platensis* بـر روی بـاکتری‌هـای *استافیلوکوکوس اورئوس* و *سودوموناس آروژینازا* به‌ترتیب ١ و ٢/٥ سانتی‌متر بوده است (Rania and Abedin,2008).

Mathivanan و همکاران (2010) نیز در برابر سویه‌های مورد آزمون بـین قطـر هالـه عـدم رشـد و غلظـت عصـاره *Lyngbiya maguscula* و *oscillatoria princeps* رابطـه مستقیمی یافتند و از عصاره سیانوباکتری‌های *oscillatoria princeps* و *Lyngbya maguscule* بـر روی بـاکتری‌هـای *باسیلوس سوبتیلیس، اسـتافیلوکوکوس اورئـوس، کاندیـدا آلبیکنس، آسپرژیلوس نایژر و پسودوموناس آروژینازا* قطـر هالـه عـدم رشـد بـه‌ترتیـب ١٦و ١٥، ٢١و ١٨، ١٢ و ١١، ١٤و١٣، ١٧و١٥ میلی‌متر گزارش نمودند. مقایسه این نتایج با نتایج حاضر نشان داد که جلبـک *oscillatoria princeps* از خواص ضدمیکروبی بیشـتری نسـبت بـه *Oscillatoria agardhii* برخـوردار اسـت، زیـرا در نتـایج حاضـر گونـه *Oscillatoria agardhii* تنها به میزان ٦ تا ١٠ میلـی‌متـر در *آسپرژیلوس نایژر* هاله ممانعت از رشد تشـکیل داده و بـر روی سایر باکتری‌ها و مخمر بی‌اثر بوده است.

Ritika و همکاران (2011) انـواعی از سـیانوباکتر را از مکـان‌هـای متفـاوتی از سـواحل دریـا Nagappattinum جداسازی و برای آزمایش‌های ضدمیکروبی استفاده کردنـد. از جملـه سـیانوباکترهای جـدا شـده *Lynbya majuscule* و *Oscillatoria boryanum* را مـی‌تـوان نـام بـرد کـه *براستافیلوکوکوس اورئوس* قطر هاله عدم رشد به‌ترتیب ١٢ و ١٧میلی‌متر را گزارش نمودند. باز هم مشاهده می‌شود که گونـه *Oscillatoria agardhii* مـورد اسـتفاده در مطالعـه حاضر از خاصیت ضدمیکروبی کمتری نسبت به گونه ذکر شده برخوردار بوده است.

در مطالعه دیگری Chestumon و همکـاران (1993) از سـیانوباکترهای جـدا شـده از دریاچـه‌ای از شـمال تایلنـد خاصیت آنتی‌بیوتیکی علیه باسـیلوس سـرئوس را گـزارش نمودند. در این بررسی نیز خاصیت آنتی‌بیوتیکی عصاره‌های متـــــانولی *Oscillatoria* sp2.، *Oscillatoria* sp1.، *Lyngbya* sp. و *Anabaena* sp. بـر روی بـاکتری هـای *سالمونلاتیفی* و *باسیلوس سرئوس و پروتئوس ولگاریس* به اثبات رسـید، در حـالی‌کـه ایـن سـیانوباکتری‌هـا بـر روی باکتری‌های اشرشیا کلی و*استافیلوکوکوس اورئوس* بی‌تأثیر بودند. در این تحقیق بیشترین هاله عدم رشد را *Lyngbya* sp قطر هاله عدم رشد ٢٠ میلی‌متـر و کمتـرین هالـه عـدم رشد را *Anabaena* sp. با قطر هاله عدم رشد ٥ میلی‌متر بر *باسیلوس سرئوس* مشاهده گردید. حداکثر قطر عدم رشد با عصاره متانولی *Oscillatoria* sp1.(١٩ میلی متر) در مورد *استافیلوکوکوس اورئوس* مشاهده شد.

این موضوع تأییدی بر نتایج این مطالعه است، زیـرا در نتـایج حاضـر نیـز جلبـک Oscillatoria فقـط بـر روی *آسپرژیلوس نایژر* مؤثر بوده و بر روی سـایر بـاکتری‌هـا و مخمر تأثیری نداشته است.

سنتز سموم فعال و مؤثر توسـط سـیانوباکتری‌هـا یـک راهکـار و اسـتراتژی دفـاعی از سـوی آنهـا در مقابـل ارگانیسم‌های دیگری همچـون بـاکتری، قـارچ، ویـروس و

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-24]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1394.4.2.6.6]

میکروجلبک‌های یوکاریوت است و همه موجودات یوکاریوت شامل پروتیستا، حیوانات، میکروجلبک و ماکروفیت‌ها تحت تأثیر میکروسیستین‌ها و نودولارین های سیانوباکتریایی حتی تا سطح مولکولی قرار می‌گیرند (Codd, 1995).

بنابراین با توجه به اینکه نتایج پروژه حاضر نیز اثبات فعالیت ضدمیکروبی را در جلبک‌های بومی تالاب انزلی را تأیید می‌کند، لازم است که تحقیقات بیشتری در سایر سیاباکترها و میزان تولید آنتی‌بیوتیک صورت گیرد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از همکاری خوب دانشکده داروسازی دانشگاه تهران و مسئولان محترم پژوهشکده آبزی‌پروری و همکاران بخش بهداشت و بیماری‌های آن که در این بررسی مرا یاری دادند، کمال سپاس و تشکر را دارم .

منابع

Abed, R. M. M., Dobretsov S. and Sudesh K. 2009. Applications of cyanobacteria in biotechnology. *Journal Of Applied Microbiology*, 106(1):1-12.

Arman, M, Riyahi, H., Heidari, F. and Sonboli, A. 2014. Antimicrobial activity of Cyanobacteria isolated from hot spring of Geno. *Journal of Aquatic Ecology*, 3 (3) :19-24. (Abstract in English).

Bellinger, E. G. 1992. A Key to Common British Algae. 4th edn. The Institution of Water and Environmental Management. 138 pp.

Browitzka, M.A. and Browitzka, L.J. 1988. Micro-algal Biotechnology. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 456-458.

Browitzka, M. A. 1995. Microalgae as sources of pharmaceuticals and other biologically

active compounds. *Journal of Applied Phycol*ogy, **7**: 3-15 (1995).

Cano, M. M. S., Mule, M.C.Z., Caire, G.Z. and Haiperin, D.R. 1990. Inhibition of candida albicans and staphylococcus qureus by phenolic compounds from the terresterial cyanobacterium Nostoc mascorum .*Journal of Applied Phycol*ogy, 2:79-81.

Carmichael,W.W. 1992. Cyanobacteria secondary metabolites the Cyanotoxins:A review . Freshwater Biology vol .15, pp. 1453.

Carmichael, W. W. 2001. Health effects of toxin producing cyanobacteria: "*The cyanoHABs Human and Ecological Risk Assessment*, 7(5): 1393-1407.

Chetsumon, A., Ujieda, K. , Hirata, K., Yagi, K. and Miura, Y. 1993. Optimization of antibiotic production by cyanobacterium skytonema sp.TTs TR8 208 immobilized on pdyurothane.*Journal of applied Phycology*, 5:615-622.

Chorus, I. and Bartram, j. 1999. Toxic Cyanobacteria in the water .E & F.N. spon , London.

Codd, G.A. 1995. Cyanobacterial toxins: occurrence, properties and biological significance. *Water Science and Technol*ogy.32: 149-156

Dahms, H.U, Xu, Y. and Pfeiffer, C. 2006. Antifouling potential of cyanobacteria: a mini-review.

Biofouling, : 22(5); 317-327.

Domingos, P., Rubium, T.K., Melica, R.J.R.,.Azevedo, S.M.F.O and Carmichael , W.W. 1999.*Environental Toxicology*, 14:31-35.

Duy, T.N., Lam, P.K., Shaw, G.R. and Connella,D.W. 2000. Toxicology and risk assessment of freshwater cyanobacteria(blue- green algal) toxins in water. *Reviews of* ***Environmental Contamination*** and ***Toxicolog*** ,163,113-185 .

Felfoldy, L. J. M., 1962. On the rol of pH and inorganic carbon sources in photosynthes in unicellular algae.Acta Biol.Hung.,Vol.13.pp.207-214.

Ghasemi, Y., Tabatabaei Yazdi., M, Shokravi., S. Soltani., N. and Zarrini., G. 2003. Antifungal and antibacterial activity of paddy-fields cyanobacteria from the north of Iran. *Journal of Sciences*, Islamic Republic of Iran. 14(3): 203- 209.

Hajimahmoodi, M., faramarzi, M., Mohammadi, N., Soltani, N., Oveisi, M. and Nafissi-Varche, N. 2009. Evaluation of antioxidant properties and total phenolic contents of some strains of microalgae.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-24]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1394.4.2.6.6]

Mathivanan, K., Ramamuthy, V., Rajaram, R. 2010. Antimicrobial activity of Oscillatoria princeps AND Lyngbya majuscule against pathogenic microbes. International jornal of Current Research.2010; 5:097-101.

Miller, w. E., Greene, J. C.,.and Shiro Yama,T. 1978. The selenastum capricornatum printz algal assay bottle test . EPA-600/9-78-018:1-126.

Minelli, A. 1994. Biological systematic. Chapman & Hall, London, UK.387p.

Miller, W.E., Greene, J.C. and Shiro Yama, T. 1978. The selenastum capricornatum printz algal assay bottle test . EPA-600/9-78-018:1-126.

Mundt, S., Kreitlow, S., Nowotny, A. and Effmert, U. 2001. Biological and pharmacological investigation of selected cyanobacteria. *International Journal of Hygiene* and *Environmental Health*, 203: 327-334.

Mundt, S., Kreitlow, S. and Jansen, R. 2003. Fatty acids with antibacterial activity from the

cyanobacterium Oscillatoria redekei HUB 051. *Journal of Applied Phycology*, 15(2): 263-267.

Nagatsu, A., Kajitani, H. and Sakakibara, J. 1995. *Tetrahedron letter*, 36:1097-41000.

Nelson,J.H., Steeman, D.L.1978. Diatom diversity as a function of insecticidal treatment with controlled release formulation of chlorpyrifos, Bull. Environ.contam. Toxical .15: 630.

Ordog,V.1981. Apparatus for laboratory algal bioassay . Int. Revueges , Hydrobiol. 67: 127-136.

Ozdemir, G., Karabay, N. U., Dalay, M. C. and Pazarbasi, B. 2004. Antibacterial Activity of Volatile Component and Various Extracts of Spirulina platensis. *Phytother Research*, 18(9): 754-757.

Papke, U., Gross, E. M. and Francke, W. 1997. Isolation, identification and detrmination of the absolute configuration of Fischerellin B. A new algicide from the freshwater cyanobacterium *Fischerella muscicola* (Thuret). *Tetrahedron Letter*, 38: 379-382

Papendorf, O., König, G.M. and Wright, A.D. 1998. Hirridin B and 2,4-dimethoxy-6-heptadecylphenol, secondary metabolites from the cyanobacterium *Phormidium ectocarpi* with antiplasmodial activity.*Phytochem*., 49: 2383-86.

Journal of Applied Phycology, 22: 43-50.(Abstract in English)

Hosseini, F., Maghsood Ahmadi, F. , Khanafari, A. and Samadi, P. 2011. Studying and Comparison of antibacterial methanol extraction effects of isolated Cyanobacteria strains from water on human gastroenteritis causing bacteria. *Journal of Microbial Biotechnology*, 7(2):45-54. (Abstract in English).

Jaki, B., Heilmann, J., Linden, A., Volger, B., and Sticher, O. 2000. Novel extra cellular diterpenoids with biological activity from the cyanobacterium *Nostoc commune. Journal of Natural Product*s, 63: 339-343.

Jaki, B., Heilmann, J., and Sticher, O. 2000. New antibacterial metabolites from the cyanobacterium *Nostoc commune* (EAWAG 122b). *Journal of Natural Product*s, 63: 1283-85.

Jones, G.J. and Korth,W. 1995. In situ production of volatile odour comp by river and reservoir phytoplankton populations in *Australia.Water Science Technology*, 31,145-151.

Kajiyama S., Kanzaki H., Kawazu K. and Kobayashi A. 1998. Nostifungicidine, an antifungal lipopeptide from the field-grown terrestrial blue-green alga *Nostoc commune. Tetrahedron Letter*, 39: 3737-40.

Kaushik, P. 2008. Abhishek Ch. In vitro antibacterial activity of laboratory grown culture of pirulina platensis . *Indian Journal Microbiology*, 48:348–352.

Koehn, F.E., Longley, R.E., and Reed, J.K. 1992. Microcolins, A. and B, new immunosuppressive peptide from the blue-green alga *Lyngbya majuscula*. *Journal of Natural Product*s, 55: 613-619.

Kotai, J., 1972. Instruction for preparation of modified nutrient solution Z8 for algae. Publication B-Norwegian institute for water research, Blindern, Oslo. 5: 11-69.

Kulik, M.M. 1995. The potential for using cyanobacterial (blue- green algae) and algae in the biological control of plant pathogenic bacteria and gungi .Eur.J. plant .Pathol.101: 585-59951.Ma ,L.X.X. and J.J.J.Led.2000.Amochem.Soc.122:7823-7824.

Maosen,H. 1978. Freshwater planktons Illustration Agriculture publishing house.85p.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-24]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1394.4.2.6.6]

Tiwari, A and Sharma, D. 2013. Antibacterial Activity of Bloom forming Cyanobacteria against Clinically Isolated Human Pathogenic Microbes. *Journal of Algal Biomass utilization*., 4 (1): 83–89.

Zarrini, G, Rasooli, I, Abazari, M. and Ghasemi, Y. 2011. Investigation of antimicrobial activity of Cyanobacteria isolated from Urmia lake Catchment area. *Journal of Ardebil University of Medical Science*, 11(4): 329-36. (Abstract in English).

Prescott, G. W. 1970. The freshwater algae .w. M.C.Brown. Company publishers.348p. **Perez, C., Paul, M., Bazerque, P. (1990):** An Antibiotic assay by the agar well diffusion method. Acta. Bio. Med. Exp. 15: 113-115.

Rania, M. A. and Abedin, M. 2008. AntIbacterial and Antifungal Activity of Cyanobacterial and Green Microalgae Evaluation Of Medium Components Plackett –Burmam Design for Antimicrobial ActivIity Activity of Spirulina Platensis. Global *Journal of Biotechnology &Biochemistry*, 3(1):22-31.

Reynolds,Y. H., Middlebrooks, E. J., Porcella, J. D.and W.J.Germany. 1975. Effects of temperature on growth constants of selenastrum capricornutum.J.water pollut.Control. Fed 47:p.2420-2436.

Rho, M., Matsunaga, K., Yasuda, K. and Ohizumi, Y. A. 1996. Novel monogalactosylacylglycerol with inhibitory effect on platelet aggregation from the cyanophyceae *Oscillatoria rosea*. *Journal of Natural Product*s, 59: 308-309

Rinehart, K. L., Namikoshi, M. and Choi, B.W. 1994. Structure and biosynthesis of toxins from blue-green algae (Cyanobacteria) . *Journal of Applied Phycology*, 6:159-176.

Ritika, Ch, Silambarasan, S. and Jayanthi, A. 2011. Biodiversity of Marine Cyanobacteria and its Antibacterial Activity. IJPI's *Journal of Biotechnology and Biotherapeutics*. 2011; 1 (4).

Samab, B. K. and Deka, P. C. 1990. Production of Anabaena free Azolla pinnata cultures by antibiotic tretment . *Indian Journal* of *Experimental Biology*, 28:297-299.

Skulberg, O. M., Codd, G. A. and Carmichael, W. W.1984. *Ambio*, 13:244-247.

Shanab S. M. M. 2007. Bioactive Allelo-chemical Compounds from Oscillatoria Species (Egyptian Isolates). *International Journal of Agriculture and Biology*, 9(4): 617-621.

Stewart, W. D. P. 1974. Algal physiology and biochemistry. Botanical monographs .Vol.10.Univ .Calif.Press.989.

Tiffany, L. H., Britton, M. E. 1971: The Algae of Illinois. -Hafner Publishing Company, New York. 407pp.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-24]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1394.4.2.6.6]

Fisheries Science & Technology
TMU
Scientific - Research Journal Vol. 4, No. 2, Summer 2015

Research on antimicrobial properties of Cyanobacteria isolated from the Anzali wetland

Fallahi Kapourchali M

Associate Professor, Inland Waters Aquaculture Institute, Iranian Fisheries Research Organization, Anzali

Corresponding author: m_fallahi2011@yahoo.com

Abstract

The antibiotic properties of eight cyanobacteria (blue-green algae) species from Anzali Wetland was investigated on several bacterial species through vacuum distillation and simple mechanical methods. The result showed that *Anabaena* sp., *A. variabilis, A. flos-aquae and Aphanizomenonflos-aquae*had negative effect on the growth of *Staphylococcus aureus*and*A. flos-aquae*and *A. oscillaroides*had negative effects on the growth of *E. coli.* The growth of *Candida albicans* yeast was greatly reduced by *Aphanizomenonflos-aquae, A. variabilis,* and *A. oscillaroides.* Among the investigated algae only *A. oscillaroides* could reduce the growth of *Pseudomonas*sp.

Keywords: Cyanobacteria, Blue-green algae, Antimicrobial activity, Anzali wetland

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-24]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1394.4.2.6.6]