تغــذیه و بیــوشیمی آبزیــان
سال دوم، شماره دوم،
تابستان ۱۳۹۴

ارزیابی خواص ضدباکتریایی عصاره الکلی و اتری جلبک *Scenedesmus dimorphus* بر گونه‌های باکتری‌های *Micrococcus luteus* و *Aeromonas hydrophila*

زهرا حبیبی[1*]، جاوید ایمان‌پور نمین[1]، زهره رمضانپور[2]
۱- گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه سرا، گیلان
۲- موسسه تحقیقات بین المللی تاسماهیان دریای خزر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، گیلان

تاریخ دریافت: ۹۳/۱۰/۱ تاریخ پذیرش: ۹۴/۳/۲۸

چکیده
هدف از این مطالعه تعیین خواص ضدباکتریایی موجود در عصاره‌های الکلی و اتری (دی‌اتیل‌اتر و متانولی) جلبک *Scenedesmus dimorphus* علیه باکتری گرم مثبت *Micrococcus luteus* و باکتری گرم منفی *Aeromonas hydrophila* بود. این جلبک به صورت خالص کشت داده شده و پس از تأمین حجم مناسب جلبک، عصاره‌های دی‌اتیل‌اتر و متانولی آن با استفاده از روش انتشار در آگار استخراج گردید. ارزیابی خاصیت ضدباکتریایی با استفاده از روش چاهک انجام شد. در این مطالعه از دو تیمار دی‌اتیل اتر و متانول با سه تکرار استفاده شد. نتایج به دست آمده نشان داد که عصاره متانولی جلبک *S. dimorphus* (۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر) دارای خاصیت مهارکنندگی علیه باکتری‌های *M. luteus* و *A. hydrophila* با هاله عدم رشد به ترتیب در دامنه ۱۱-۱۳ و ۱۳-۲۱ میلیمتر بود. در مورد عصاره دی‌اتیل اتر (۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر) نیز هاله عدم رشد در دامنه ۲۳/۷-۹ و ۶/۳-۲۱/۶ میلیمتر مشاهده شد. برای شناسایی ترکیبات موجود در عصاره‌ها گاز-کروماتوگرافی عصاره‌های متانولی و دی‌اتیل‌اتری انجام شد و نتایج نشان داد که بیشترین ترکیبات در عصاره‌های متانولی و دی-اتیل‌اتری، هیدروکربن‌ها و استرها با غلظت مؤثر ۲۰۰ بودند. عصاره اتری بر باکتری گرم مثبت و عصاره متانولی بر باکتری گرم منفی بیشترین تأثیر را داشت. این نتایج حضور ترکیبات ضد باکتریایی را علیه این دو گونه باکتری در جلبک *S. dimorphus* نشان می‌دهد.

کلمات کلیدی: ریزجلبک، ضدباکتری، عصاره، باکتری گرم مثبت، باکتری گرم منفی

* نویسنده مسئول: z.habibi91@yahoo.com

مقدمه

جلبک‌ها علاوه بر نقش‌های بوم‌شناختی بسیار مهمی که در طبیعت دارند، به دلیل غنی بودن از مواد معدنی و ویتامین‌ها، قرن‌ها به عنوان غذایی سالم در رژیم غذایی انسان و یا برای مصارف دارویی مورد استفاده قرار گرفته‌اند (Khan and Satam, 2003). این ارگانیسم‌ها منبع غنی از ترکیبات مفید و فعال زیستی هستند و تاکنون ترکیبات زیستی متعددی و با گستره کاربردی متنوع از قبیل اثرات آنتی‌بیوتیکی، ضدقارچی، ضدویروسی و ضدسرطانی از جلبک‌های پرسلولی شناسایی و مشتق شده‌اند از این رو بسیاری از ترکیبات حاصل از سوخت و ساز یا متابولیسم در این جانداران می‌توانند به عنوان مواد فعال و کاربردی در صنایع دارویی تبدیل شوند (Bansemir et al. 2006). *Aeromonas hydrophila* یک نوع باکتری گرم منفی متحرک هوازی و بی‌هوازی اختیاری است که در محیط‌های آبی و دستگاه گوارش ماهیان سالم یافت می‌شود. این باکتری در شرایط استرس‌زا عامل اصلی مرگ و میر در ماهیان آب شیرین بوده و موجب سپتی سمی همراه با خونریزی‌های جلدی و احشایی، تورم روده و مرگ می‌گردد. بیماری حاصله از این باکتری در سراسر دنیا مشاهده شده است (توکلی و اخلاقی، ۱۳۸۸). *Micrococcus luteus* کوکسی گرم مثبت و هوازی است که از پوست انسان، محصولات لبنی و حیوانی جدا شده و قادر است در خیلی از محیط‌ها مثل آب، گرد و غبار و خاک حضور داشته باشد و در دمای ۳۷ درجه رشد می‌کنند. بر روی پوست انسان باعث شکسته شدن ترکیبات عرق و تبدیل آن‌ها به بوی بد می‌شود و گمان می‌شود که باکتری مضری نباشد اما این باکتری می‌تواند سیستم ایمنی بدن انسان را مثل بیماری HIV به خطر بیاندازد. در سال‌های اخیر با توجه به مقاومت باکتری‌های پاتوژن در برابر آنتی‌بیوتیک‌های سنتتیک، مطالعه بر روی ترکیبات طبیعی نظیر اسانس و عصاره گیاهان، مواد جانوری و معدنی مورد توجه ویژه برای ساخت مواد ضد میکروبی قرار گرفته است. در بررسی انجام شده توسط Dhanalakshmi و همکاران در سال ۲۰۱۳ جلبک‌های Chlorophycea بیشترین فعالیت ضدباکتریایی را در برابر پاتوژن‌های انسانی نشان دادند و عصاره متانولی به عنوان یک حلال درمانی امیدوارکننده برای ترکیبات ضدمیکروبی توصیه شد. در بررسی دیگری که Uma و همکاران در سال ۲۰۱۱ بر روی ریزجلبک سبز *Desmoccus olivaceous*، *Chlorococcum humicola* و *Chlorolla vulgaris* با استفاده از عصاره‌های استونی، متانولیک، اتانولیک و Dimethyl sulfoxide (DMSO) علیه ۵ باکتری گرم منفی و یک باکتری گرم مثبت انجام دادند مشاهده شد که باکتری گرم مثبت *Staphylococcus aureus* و باکتری گرم منفی *Escherichia coli* حداکثر حساسیت به عصاره استونی از *Chlorococcum humicola* نشان دادند. از این رو بررسی حاضر با هدف ارزیابی عملکرد آنتی باکتریایی عصاره الکلی متانولی و اتری عصاره *Scenedesmus dimorphus* بر روی دو نوع باکتری انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

پس از تهیه *Scenedesmus dimorphus*، کلنی‌های سبز رنگ موجود در پتری دیش، در لوله‌های آزمایش کشت داده شدند. بدین منظور ۵ میلی‌لیتر از محیط کشت مایع Zehnder (Kotai, 1972) به هر لوله آزمایش تزریق شدند. سلول‌های جلبک پس از تهیه از موسسه تحقیقات بین المللی تاسماهیان دریای خزر که از قبل مورد شناسایی قرار گرفته بودند، با استفاده از آنس استریل شده روی شعله به هر لوله آزمایش منتقل شد. نمونه‌ها زیر لامپ فلورسنت (با شدت نوری ۲۵۰۰ لوکس) به مدت ۱۰ روز در دمای ۰/۵ ± ۲۴ درجه سانتیگراد پرورش یافتند. مراحل بعدی کشت به ترتیب در ارلن مایرهای ۲۵۰ و ۱۰۰۰ میلی‌لیتر انجام شد. سرانجام کشت در داخل ارلن مایرهای ۴۰۰۰ میلی‌لیتر با اعمال هوادهی صورت گرفت. تراکم سلولی (۵×۱۰^{۴} سلول در میلی‌لیتر) و حجم مناسب به دست آمد. برای عصاره‌گیری ریزجلبک از روش Cannell و همکاران (۱۹۸۸)، استفاده شد. تغلیظ جلبک به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۰۰ دور در دقیقه با سانتریفوژ انجام شد. برای تهیه پودر جلبکی نمونه‌ها به مدت ۸ ساعت در دستگاه فریزدرایر قرار داده شدند. سپس در هاون ساییده و برای انجام مراحل

بعدی آزمایش در دمای ۱۶- درجه سانتیگراد نگهداری شدند. در این مطالعه از دو تیمار دی‌اتیل اتر و متانول با سه تکرار استفاده شد. مقدار ۰/۲ گرم از پودر جلبک با ۵ میلی‌لیتر از حلال‌های متانول و دی‌اتیل‌اتر به صورت جداگانه به مدت ۲ ساعت در دمای ۴۰ درجه سانتیگراد بر روی دستگاه هیتر استیرر قرار داده شد. عصاره رویی با سانتریفوژ جدا و برای خارج شدن حلال در دمای محیط قرار داده شد. برای مشخص کردن فعالیت ضدمیکروبی از باکتری‌های بیماری‌زای *Micrococcus luteus* و *A. hydrophila* استفاده گردید. باکتری‌ها به ترتیب از شرکت پژوهش علمی صنعتی ایران و انستیتو بین‌المللی ماهیان خاویاری به صورت کددار تهیه شدند. محیط نوترینت آگار (NA) و تریپتون سوی آگار (TSA) برای رشد باکتری‌ها استفاده شد. محیط کشت باکتری‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه شد. فعالیت ضدمیکروبی با استفاده از روش چاهک گذاری تعیین شد. سپس برای رشد باکتری‌ها از محیط نوترینت براث و تریپتون سوی براث استفاده شد. به این منظور ۴۰ میکرولیتر از هر باکتری بر روی محیط کشت نوترینت آگار و تریپتون سوی آگار اضافه و با استفاده از سوآپ پنبه‌ای به صورت سفره‌ای کشت داده و در هر پلیت به وسیله انتهای پیپت پاستور سه چاهک در وسط محیط کشت ایجاد شد. از غلظت‌های متفاوت عصاره (۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) در چاهک‌ها ریخته و پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه شدند. برای تهیه غلظت‌های مختلف عصاره جلبکی ابتدا مقدار مشخص نمونه با ترازوی حساس وزن شد و در حلال DMSO حل شد. سپس غلظت‌ها در میکروتیوپ‌های استریل کدگذاری شد و برای انجام فعالیت‌های زیستی در دمای ۱۷- درجه سانتیگراد نگهداری شد. پس از ۲۴ ساعت هاله عدم رشد باکتری‌ها بررسی و با خط‌کش شفاف در حد میلیمتر اندازه‌گیری شد. تمام مراحل در کنار شعله و شرایط استریل انجام پذیرفت (Tuney et al. 2006; Nair et al. 2011; Sharma et al. 2011). شناسایی و تخمین ترکیبات موجود در عصاره‌ها با استفاده از آنالیز GC/MS (Chromatography-Mass Spectrum Gas) با دستگاه 5975c Agilent انجام شد. ستون HP-5MS استفاده شد. برای آشکارسازی از سیستم یونیزاسیون الکترون با انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت استفاده شد.

آنالیز آماری

به منظور تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ استفاده شد. تجزیه‌ی واریانس داده‌ها با استفاده از آزمون واریانس یک طرفه ANOVA و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون Duncan در سطح ۵٪ انجام شد. همچنین، برای توصیف متغیرهای پژوهش از آمار توصیفی مانند میانگین و انحراف معیار استفاده شد.

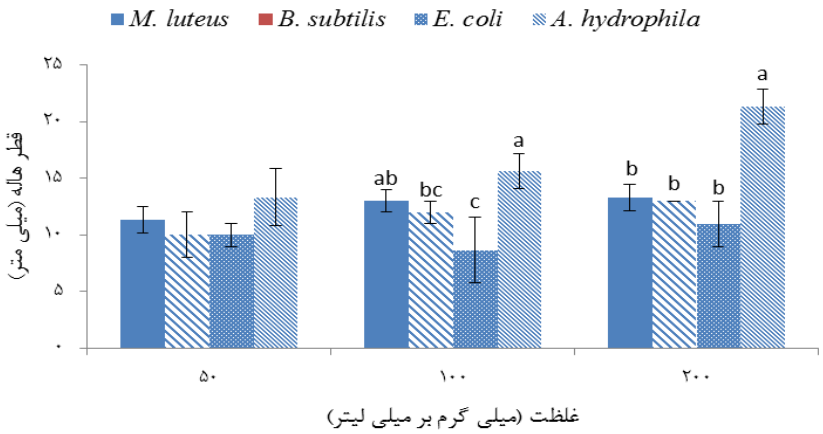
نتایج

اثرات ضدباکتری عصاره *Scenedesmus dimorphus* علیه گونه‌های باکتریایی *M. luteus* و *A. hydrophila* به وسیله ارزیابی قطر هاله مورد سنجش قرار گرفت (شکل ۱). نتایج نشان داده است که عصاره متانولی و دی‌اتیل‌اتری ریزجلبک *S. dimorphus* فعالیت ضدباکتری بر علیه باکتری‌های *M. luteus* و *A. hydrophila* را دارد. چنانچه در جدول ۱ مشاهده می‌شود فعالیت ضدباکتری با افزایش غلظت عصاره افزایش می‌یابد، بنابراین این فعالیت را می‌توان به عنوان یک عامل وابسته به دوز تا غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر معرفی کرد.

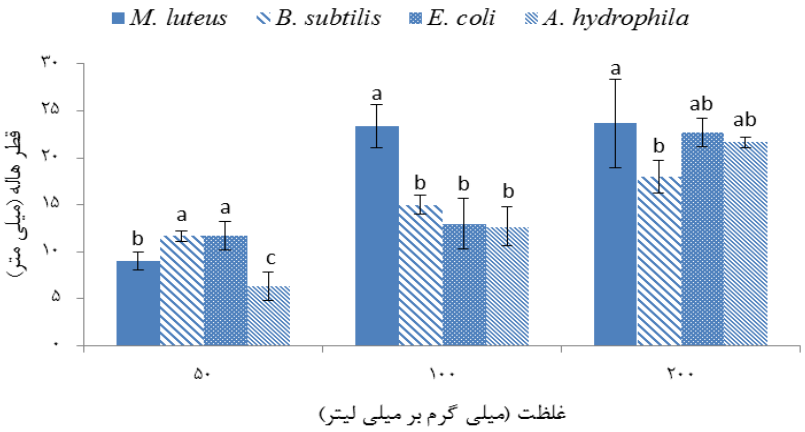
شکل ۱- هاله عدم رشد عصاره دی‌اتیل‌اتری *S. dimorphus* علیه باکتری *A. hydrophila*

جدول ۱- نتایج حاصل از فعالیت ضدباکتری عصاره متانولی و دی‌اتیل‌اتری ریزجلبک *S. dimorphus*

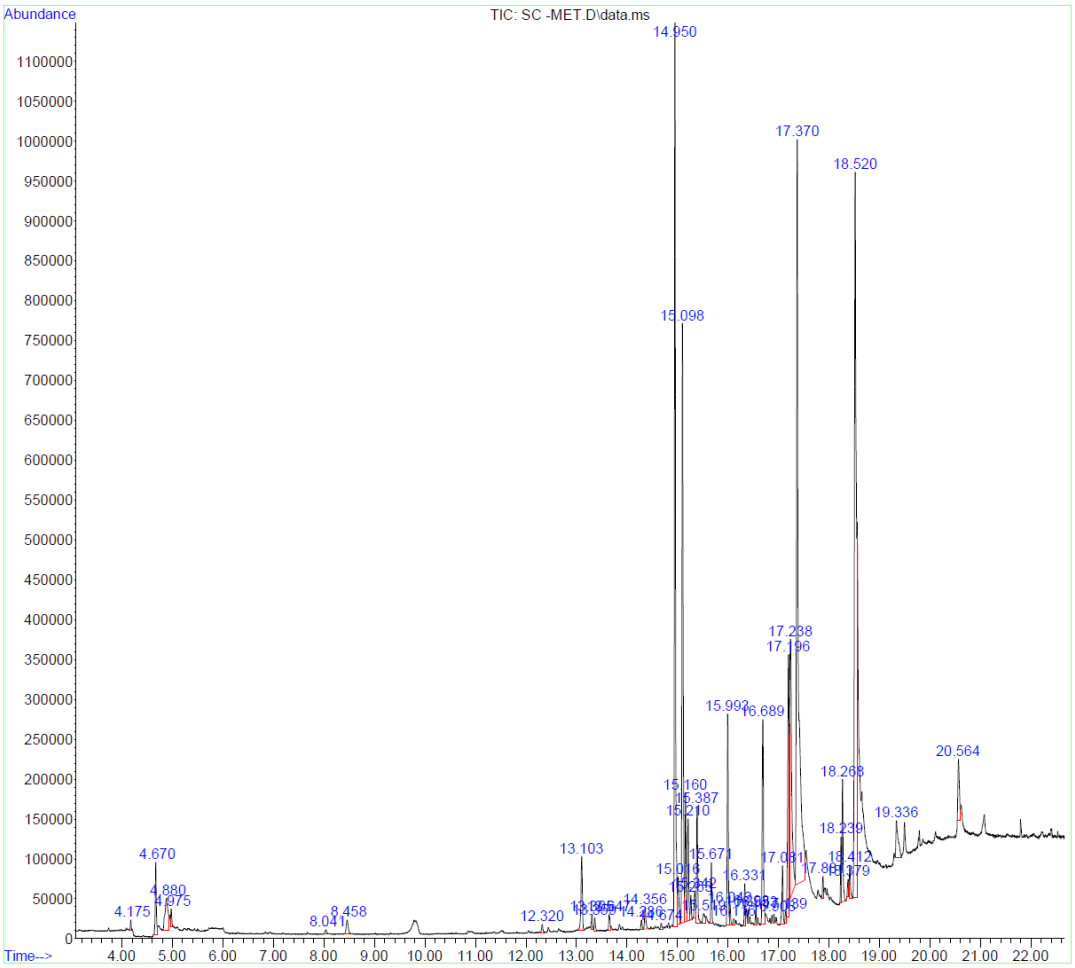
	عصاره دی اتیل اتر (mg/L)			عصاره متانولی (mg/L)		
غلظت	۲۰۰	۱۰۰	۵۰	۲۰۰	۱۰۰	۵۰
M. luteus	۲۳/۷	۲۳/۳	۹	۱۳/۳	۱۳	۱۱/۳
A. hydrophila	۲۱/۶	۱۲/۶	۶/۳	۲۱/۳	۱۵/۶	۱۳/۳



شکل ۲- مقایسه فعالیت ضدباکتریایی غلظت‌های مختلف عصاره متانولی (mg/mL) جلبک *S. dimorphus* در مقابل باکتری‌های *M. luteus* و *A. hydrophila*



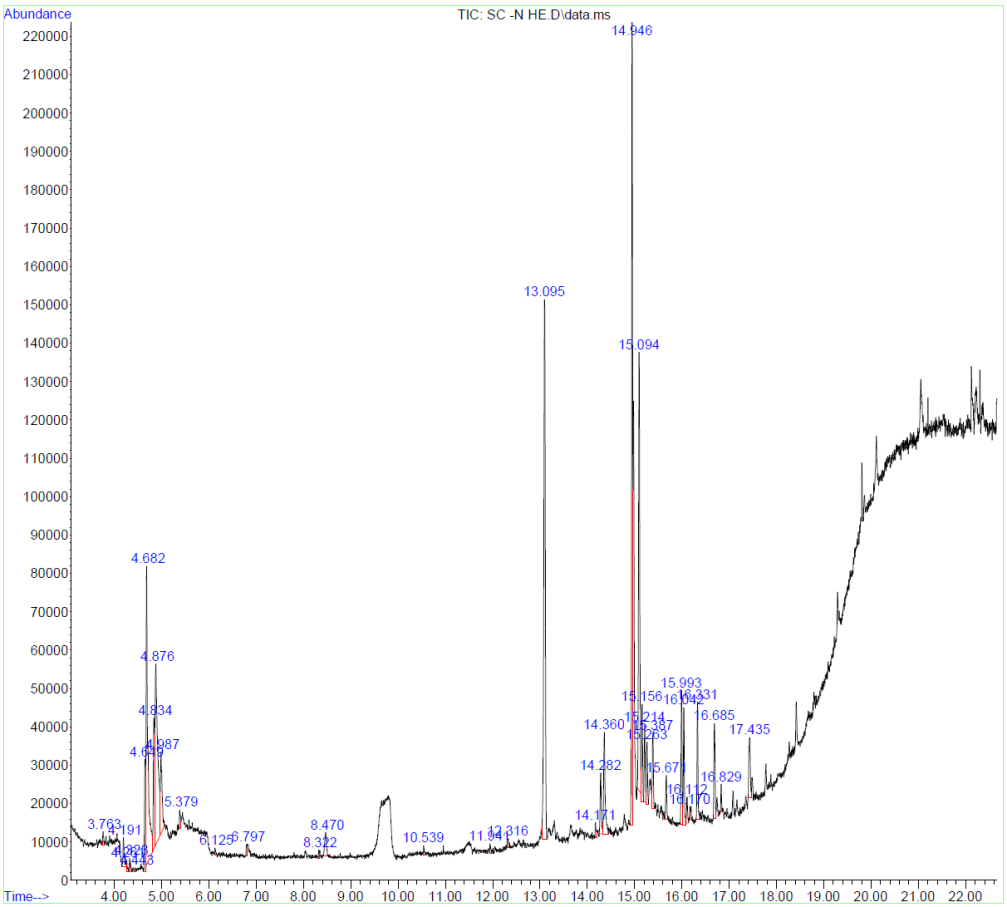
شکل ۳- مقایسه فعالیت ضدباکتریایی غلظت‌های مختلف عصاره دی‌اتیل‌اتری (mg/mL) جلبک *S. dimorphus* در مقابل باکتری‌های *M. luteus* و *A. hydrophila*



شکل ۴- پیک حاصل از گاز-کروماتوگرافی اجزای تشکیل دهنده عصاره متانولی *S. dimorphus*

جدول ۲- ترکیبات استخراج شده در گاز- کروماتوگرافی عصاره متانولی *S. dimorphus*

نام ترکیبات	گروه	ساختار مولکولی	درصد
d-Limonene	ترپن	$C_{10}H_{16}$	۹۸
Azulene	هیدروکربن	$C_{10}H_8$	۹۶
Phenol	ترپن الکلی	C_6H_6O	۹۵
Methyl dihydrojasmonate	استر	$C_{13}H_{22}O_3$	۹۸
Heptadecane	هیدروکربن	$C_{17}H_{36}$	۹۵
Hexadecanoic acid	استر	$C_{16}H_{32}O_2$	۹۹
Hexamethyl-pyranoindane	هتروکسیل	C18H26O	۹۶
9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)	کربوکسیلیک اسید	$C_{18}H_{32}O_2$	۹۹
8-Octadecenoic acid	کربوکسیلیک اسید	$C_{18}H_{34}O_2$	۹۹



شکل ۵- پیک حاصل از گاز-کروماتوگرافی اجزای تشکیل دهنده عصاره دی‌اتیل‌اتری *S. dimorphus*

جدول ۳- ترکیبات استخراج شده در گاز- کروماتوگرافی عصاره دی‌اتیل‌اتری *S. dimorphus*

نام ترکیبات	گروه	فرمول مولکولی	درصد
Cyclopentaneacetic acid	استر	$C_{13}H_{22}O_3$	۸۹
Diethyl Phthalate	استر	$C_{12}H_{14}O_4$	۹۸
Dihydro methyl jasmonate	ترپن	C_6H_6O	۹۸
Eicosane	هیدروکربن	$C_{20}H_{42}$	۹۲

بحث

با توجه به مقاومت روزافزون میکروارگانیسم‌ها به آنتی‌بیوتیک‌ها و گرایش عمومی به ترکیبات طبیعی در نقاط مختلف دنیا، ارزیابی و شناسایی قابلیت میکروارگانیسم‌های آبزی و بررسی اثرات ضدمیکروبی آنها اهمیت پیدا کرده است. در طی دهه اخیر جلبک‌ها به عنوان منبع غنی از ترکیبات آنتی‌بیوتیکی، ویتامین‌ها، سوخت و تولیدات دارویی مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته‌اند (Abed et al. 2009). در بررسی حاضر فعالیت ضدمیکروبی جلبک *S. dimorphus* علیه باکتری گرم مثبت *M. luteus* و گرم منفی *A. hydrophila* مورد مشاهده و اثبات قرار گرفت. عصاره دی‌اتیل‌اتری جلبک در برابر باکتری گرم مثبت *M. luteus* و گرم منفی *A. hydrophila* خاصیت مهارکنندگی نشان داد. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که عصاره اتری و متانولی ریزجلبک *S. dimorphus* فعالیت مهاری بر روی باکتری *M. luteus* و *A. hydrophila* دارد. به طور کلی در این تحقیق با توجه به مقایسه فعالیت ضدباکتریایی دو نوع عصاره بر روی دو سویه باکتری تمامی غلظت‌های عصاره‌های *S. dimorphus* بر علیه باکتری‌های *M. luteus* و *A. hydrophila* فعالیت مهاری نشان دادند. با توجه به مقایسه فعالیت ضدباکتریایی دو نوع عصاره بر روی دو سویه باکتری، عصاره متانولی در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اثر محدودکنندگی متوسطی بر روی باکتری *M. luteus* (میانگین ۱۳/۳ میلیمتر) را نشان داد و این اثر بر روی باکتری *A. hydrophila* (میانگین ۲۱/۳ میلیمتر) فعالیت بالایی را نشان داد. در غلظت ۱۰۰ میلی-گرم در لیتر بر باکتری *M. luteus* (میانگین ۱۳ میلیمتر) فعالیت متوسط نشان داده و بر روی باکتری *A. hydrophila* (میانگین ۱۵/۶ میلیمتر) نشان داد. در غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر نیز بر باکتری *M. luteus* (میانگین ۱۱/۳ میلیمتر) و بر روی باکتری *A. hydrophila* (میانگین ۱۳/۳میلیمتر) فعالیت ضعیف و قابل چشم‌پوشی نشان داد. بیشترین درصد ترکیبات شناسایی شده در عصاره متانولی Limonene، Dihydro methyl jasmonate، 9,12-Octadecadienoic acid، Eicosane، Tetradecanoic acid، Phenol، Heptadecane، Galaxolide، Hexadecanoic acid و 2-Chloroethyl linoleate می‌باشند. عصاره دی‌اتیل‌اتری در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر باکتری *M. luteus* (میانگین ۲۳/۷ میلیمتر)، *A. hydrophila* (میانگین ۲۱/۶ میلیمتر) فعالیت بالایی نشان داد. در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر باکتری *M. luteus* حساسیت بالایی نشان داد و در باکتری *A. hydrophila* (میانگین ۱۲/۶ میلیمتر) فعالیت ضدباکتریایی متوسطی نشان داد. در عصاره دی‌اتیل‌اتری غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر باکتری *A. hydrophila* (میانگین ۶/۳ میلیمتر) و بر روی باکتری *M. luteus* (میانگین ۹ میلیمتر قطر هاله مهارکنندگی) قابل چشم‌پوشی بود. بیشترین درصد ترکیبات شناسایی شده در عصاره اتری Dihydro methyl jasmonate، Eicosane، N-ethyl-1,3-dithioisoindoline و 1,2-Benzenedicarboxylic acid می‌باشند. اثر ضدمیکروبی می‌تواند مربوط به ترکیبات فرار در نمونه مانند ترپونوئید و اسیدهای چرب فرار باشد. Cho و همکاران ۲۰۰۸ نشان دادند که ترکیبات فنولی و ترپونوئیدها دارای فعالیت ضدباکتریایی هستند و قادرند از طریق تخریب غشا از رشد میکروارگانیسم‌ها جلوگیری کنند. طبق نتایج به دست آمده مشخص شد که در تمام عصاره‌های مؤثر بر روی باکتری‌های بیماری‌زا با افزایش غلظت عصاره‌ها میزان قطر

هاله مهاری و در نتیجه میزان فعالیت ضدباکتریایی عصاره‌ها افزایش می‌یابد. در مطالعه‌ای مشابه Mathivanan و همکاران (۲۰۱۰) نشان دادند که بین قطر هاله عدم رشد و غلظت عصاره رابطه مستقیمی وجود دارد. در مطالعه حاضر اثرگذاری عصاره دی‌اتیل‌اتری جلبک بر روی باکتری گرم مثبت به صورت معنی‌داری بیشتر از باکتری گرم منفی است که این یافته با Rao و همکاران (۱۹۸۱) و Yolanda و همکاران (۲۰۰۴) که خواص مهارکنندگی رشد ۱۰ گونه از جلبک‌های سبز و ۹ گونه جلبک قرمز علیه باکتری‌های گرم مثبت و منفی بررسی و مشاهده شد که اکثر گونه‌ها علیه باکتری‌های گرم مثبت فعال‌اند. نتایج حاصل از مطالعه Kokou و همکاران (۲۰۱۲) نشان داد که تأثیر عصاره اتری بر روی باکتری‌های گرم منفی بیشتر است، در مقابل مطالعه Al-Wathnani و همکاران (۲۰۱۲) نشان داد که تأثیر عصاره اتری بر باکتری گرم مثبت بیشتر از سایر عصاره-هاست که با نتایج این مطالعه موافق است. شاید علت آن طبیعت قطبی ترکیبات ضدمیکروبی جلبک و خاصیت قطبی‌تر دی اتیل اتر می‌باشد. در بین فعالیت‌های ضدباکتری نمونه‌های جلبکی، عصاره دی‌اتیل‌اتری جلبک *S. dimorphus* فعالیت بالایی از خود در برابر باکتری‌های گرم مثبت نشان داد و در عصاره متانولی اثرگذاری بر روی باکتری گرم منفی بیشتر از باکتری گرم مثبت بود. بیواکتیوها و داروهای زیادی از جلبک‌ها جدا شده است و همچنین اثرات فعالیت ضدباکتری گزارش شده است (Sachithananthan et al. 1975; Mahasneh et al. 1995; Siddhanta et al. 1997). در این تحقیق در بین عصاره‌ها، بزرگ‌ترین قطر هاله عدم رشد در باکتری‌های گرم مثبت و منفی، مربوط به عصاره دی‌اتیل-اتری بود. این نتیجه با یافته‌های آزمایش‌های Tuney و همکاران در سال ۲۰۰۶ که به مطالعه فعالیت ضدباکتری عصاره اتانولی، متانولی، استونی و دی‌اتیل‌اتری ۱۱ گونه جلبک دریایی را در برابر باکتری‌های *Staphylococcus epidermidis*، *aureus, Streptococcus Escherichia coli* و *Pseudomonas aeruginosa,* پرداخت و طی بررسی‌های خود به این نتیجه رسید که فعالیت ضدباکتری عصاره دی‌اتیل‌اتری در بیشتر جلبک‌ها شدیدتر است. Ordog و همکاران (۲۰۰۴) اثرات ضدباکتری بالایی از جلبک سبز *Scenedesmus* sp گزارش کردند. اثرگذاری عصاره‌های جلبک‌ها بر روی باکتری‌های گرم مثبت بیشتر از باکتری‌های گرم منفی بوده است. حساسیت بیشتر یک گروه خاص باکتری‌ها ناشی از تفاوت در ساختار دیواره سلولی و ترکیب آن‌ها است. بیشترین حساسیت از باکتری *A. hydrophila* با میانگین قطر هاله عدم رشد ۲۱/۳ میلیمتر در عصاره متانولی گزارش شد. این نتیجه با نتایج آزمایش‌های Gonzalez و همکاران (۲۰۰۱) و Vlachos و همکاران (۱۹۹۶) که بهترین هاله عدم رشد را مربوط به عصاره متانولی گزارش دادند، مشابه است. نتایج حاصل از مطالعه Uma و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند که باکتری‌های گرم منفی به عصاره متانولی جلبک حساس‌تر بودند، در مقابل، Tuney و همکاران (۲۰۰۶) و Taskin و همکاران (۲۰۰۷) گزارش کردند که عصاره جلبک بر روی باکتری‌های گرم مثبت در مقایسه با باکتری‌های گرم منفی مؤثرتر واقع شده‌اند. نتایج حاصله نشان داد که نمی‌توان با یک آزمایش پیشنهاد استفاده از عصاره یا ترکیبات مؤثره آن را در صنعت داروسازی داد. بنابراین پیشنهاد می شود با توجه به نتایج اولیه تحقیقات جدیدی برای استفاده احتمالی در صنعت داروسازی در موجودات زنده انجام شود.

منابع

توکلی، ه.، اخلاقی، م. ۱۳۸۸. بررسی میزان تغییرات لیزوزیم، ایمنوگلبولین، گلبول‌ها و هماتوکریت خون در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به دنبال عفونت تجربی با آئروموناس هیدروفیلای بیماری‌زا. مجله تحقیقات دامپزشکی ۶۴: ۱۶۲-۱۵۷.

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

Al-Wathnani, H., Ara, I., Tahmaz, R.R., Al-Dayel, T.H., Bakir, M.A. 2012. Bioactivity of natural compounds isolated from cyanobacteria and green algae against human pathogenic bacteria and yeast. Journal of Medicinal Plants Research 6: 3425-3433.

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

Cho, W.I., Choi, J.B., Lee, K., Chung, M.S., Pyun, Y.R. 2008. Antimicrobial activity of Toilin Isolated from Torilis japonica Fruit against *Bacillus subtilis*. Journal of Food Science 73: 37-46.

Dhanalakshmi, M., Angayarkanni, J. 2013. Phytochemistry and Antibacterial activity of Chlorosarcinopsis Species. International Journal of Scientific & Technology Research 2: 315-321.

Gonzalez del Val, A., Platas, G., Basilo, A., Cabello, A., Gorrochategui, J., Suay, I., Vicente, F., Portillo, E., Jimenez del Rico, M., Garcia Reina, G., Pelez, F. 2001. Screening of antimicrobial activities in red, green and brown macroalgae from Gran Canaria (Canary Islands, Spain). International Journal of Microbiology 4: 35-40.

Goud, M., Jaya Prakash, D., Seshikala Singara Charya, M.A. 2007. Antibacterial activity and biomolecular composition of certain fresh water microalgae collected from River Godavari (India). International Journal on Algae 9: 350-358.

Khan, S.I., Satam, S.B. 2003. Sea weeed mariculture: scope and potential in India. Aquaculture Asia 4: 26-28.

Kokou, F., Makridis, P., Kentouri, M., Divanach, P. 2012. Antibacterial activity in microalgae cultures. Aquaculture Research 43: 1520-1527.

Kotai, J. 1972. Instructions for preparation of modified nutrient solution Z8 for algae. Norwegian Institute for Water Research, Oslo, 5 p.

Mahasneh, I.M., Jamal, M., Kashasneh M., Ziodeh. 1995. Antibiotic activity of marine algae against multiantibiotic resistant bacteria. Microbio 83: 23-26.

Mathivanan, K., Ramamuthy, V., Rajaram, R. 2010. Antimicrobial activity of *Oscillatoria princeps* and *Lyngbya majuscule* against pathogenic microbes. International Journal of Current Research 5: 97-101.

Nair, B.B., Krishnika, A. 2011. Antibacterial activity of freshwater Microalga (*Scenedesmus* sp.) against three bacterial strains. Journal of Biosciences Research 2: 160-165.

Ordog, V., Stirk, W.A., Lenobel, R., Bancířová, M., Strnad, M., Van Staden, J., Szigeti, J., Németh, L. 2004. Screening microalgae for some potentially useful agricultural and pharmaceutical secondary metabolites. Journal of Applied Phycology 16: 309-314.

Rao, P.S., Parekh, K.S. 1981. Antibacterial activity of Indian seaweed extracts. Botanica Marina 24: 577-582.

Sachithananthan, K., Sivapalan, A. 1975. Antibacterial properties of some marine algae of Sri Lanka. Bulletin of Fisheries Research Station, Sri Lanka 26: 5-9.

Sharma, A., Sharma, K. 2011. Should solubility and zone of inhibition be the only criteria for selection of solvent in antimicrobial assay. Advances in Biological Research 5: 241-247.

Siddhanta, A.K.K.H., Mody, B.K. Ramavat, V.D., Chauhan, H.S., Garg, A.K., Goel, M., Jinandra Doss, M.N., Srivastava, G.K., Patnaik Kamboj, V.P. 1997. Bioactivity of marine organisms: Part VIII-Screening of some marine flora of Western coast of India. Indian Journal Experimental Biology 35: 638-643.

Uma, R., Sivasubramanian, V. Niranjali Devaraj, S. 2011. Preliminary phycochemical analysis and *in vitro* antibacterial screening of green micro algae, *Desmococcus olivaceous*, *Chlorococcum humicola* and *Chlorella vulgaris* [J]. Journal of Algal Biomass Utilization 2: 74-81.

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

Tuney, I., Cadirci, B.H., Dilek, U.N.A.L., 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.

Vlachos, V. Critchley, A.T. Von, H.A. 1996. Establishment of a protocol for testing antimicrobial activity in southern African macroalgae. Microbios 88: 115-123.

Yolanda, F., Pelegrin, J., Juan luis, M. 2004. Antibacterial activity in marine algae from the coast of Yucatan, Mexico, Botanica Marina 47: 140-146.

Evaluation of antimicrobial properties of diethyl ether and methanol extracts of *Scenedesmus dimorphus* against bacterial *Micrococcus lutesus* and *Aeromonas hydrophila*

Zahra Habibi[1*], Javid Imanpour Namin[1], Zohreh Remazanpour[2]
1- Fisheries Department, Faculty of Natural Resources, University of Guilan, Sowmeh Sara, Guilan, Iran
2- International Sturgeon Research Organization of the Caspian Sea, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Rasht, Guilan, Iran

Received 22 December 2014; accepted 18 June 2015

Abstract
Antimicrobial properties of diethyl ether and methanol extracts of algae *Scenedesmus dimorphus* against Gram positive bacterium *Micrococcus lutesus* and Gram negative becterium, *Aeromonas hydrophila* were evaluated. The algae was pure cultured and once the required volume and number of cells achieved coli using agar well diffusion method diethylether and hexane extracts of the algae cells were extracted. Antibacterial properties of the extracts were evaluated using well diffusion method. The results showed inhibitory activities of methanol and ether extracts of *Scenedesmus dimorphus* against *M. luteus* and *A. hydrophila* with 11-13 mm and 13-21 mm diameters of inhibition zone, respectively. In case of diethyl ether extracts also the inhibitory activity observed with diamaters of inhibition zone in the range of 9-23.7 mm and 21.6-6.3 mm respectively against *M. luteus* and *A. hydrophila.* Gas chromatography mass spectrophotometry was used to identify different substances within diethyl ether and methanol extracts with hydrocarbon and ester with highest perentage among other substances. The results confirmed antimicrobial activities of extracts from *S. dimorphus* against bacteria used in this study.

Keywords: Microalgae, Antibacterial, Extract, Gram-positive bacterium, Gram-negative bacterium

* Corresponding author: z.habibi91@yahoo.com