

مطالعه اثر ضد باکتریایی عصاره ریزجلبک (*Scenedesmus obtusus* (Meyen, 1829)

## در شرایط آزمایشگاهی

عصمت منصوری<sup>۱</sup>، مریم آخوندیان<sup>۱\*</sup>، شیلا امیدظهير<sup>۱</sup>، عبدالعلی موحدی نیا<sup>۱</sup>

۱. گروه زیست دریا، دانشکده علوم دریایی و محیطی، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران

۲. گروه علوم و مهندسی خزر، مرکز پژوهشی حوضه اقلیمی خزر، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران

## چکیده

## نوع مقاله

## پژوهشی

پژوهش حاضر با هدف مطالعه اثرات ضد باکتری ریز جلبک (*Scenedesmus obtusus* (Meyen 1829) بر روی باکتری‌های بیماری‌زا صورت گرفت. به این منظور پس از تهیه‌ی ریز جلبک مذکور از بانک جلبک ایران، عصاره‌های متانولی، اتیل استاتی، کلروفومی و آن-هگزانی آن‌ها به روش خیساندن (ماسیراسیون) تهیه شد. در ادامه با کشت سویه‌های باکتریایی تهیه شده در محیط کشت جامد، فعالیت ضد باکتریایی عصاره‌های مذکور ریزجلبک *Scenedesmus obtusus* در برابر دو باکتری گرم مثبت *Staphylococcus aureus* و *Streptococcus agalactiae* و دو باکتری گرم منفی *Escherichia coli* و *Klebsiella pneumoniae* به روش چاهک، تعیین حداقل غلظت مهارکننده (MIC) و حداقل غلظت کشنده (MBC) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که عصاره‌ی متانولی و اتیل استاتی ریز جلبک *S. obtusus* در غلظت‌های ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر روی هر چهار باکتری تأثیر مهاری داشتند، عصاره کلروفومی تنها روی باکتری‌های *S. aureus* و *E. coli* تأثیرگذار بود ولی عصاره‌ی آن-هگزانی روی هیچ کدام از باکتری‌ها اثر مهارکنندگی نداشت. بیش‌ترین اثر مهاری ریزجلبک *S. obtusus* مربوط به عصاره‌ی متانولی روی باکتری *E. coli* (۱۶ میلی‌متر) و کم‌ترین اثر مهاری را عصاره‌ی اتیل استاتی روی *S. aureus* (۶/۸ میلی‌متر) نشان دادند. نتایج نشان داد که عصاره‌ی ریزجلبک مورد مطالعه، حاوی ترکیبات ضد میکروبی بوده، و نوع حلال مورد استفاده برای استخراج عصاره جلبکی تأثیر معناداری بر میزان فعالیت ضد میکروبی عصاره دارد.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۹/۲۷

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۳/۱۶

تاریخ چاپ الکترونیک:

\*نویسنده مسئول: ۱۴۰۱/۱۲/۲۱

m.akhoundian@umz.ac.ir

کلید واژه‌ها: ترکیبات زیست فعال، جلبک سبز، عصاره، فعالیت ضد باکتریایی

## مقدمه

درمان بیماری‌های عفونی، به ویژه بیماری‌های ناشی از عوامل بیماری‌زای مقاوم، به یکی از بزرگ‌ترین چالش‌های سلامتی در سراسر جهان تبدیل شده است. مقاومت در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها در اغلب گونه‌های باکتری قابل مشاهده می‌باشد و "بحران مقاومت آنتی‌بیوتیکی" سلامت جوامع انسانی را تهدید می‌کند (Rossolini et al., 2014). برای پرداختن به این موضوع، توجه به منابع جایگزینی از جمله آبزیان معطوف شده است، که مجموعه‌ای متنوع و غنی از ترکیبات فعال زیستی را ارائه می‌دهد. به همین دلیل اخیراً، تحقیقات بر روی آبزیان جهت شناسایی و استخراج متابولیت‌های فعال زیستی با اثرات ضد باکتری در

بازارهای تحقیقاتی افزایش یافته است (Jena and Subudhi, 2019). بوم سامانه‌های آبی با توجه به تنوع زیستی قابل توجهی که دارند امیدهای انسان را در یافتن منابعی طبیعی برای انواع جدیدی از ترکیبات ضد میکروبی در برابر بیماری‌های عفونی و باکتریایی زنده می‌کنند. به ویژه در دهه‌های اخیر، ترکیبات جدید متعددی از زیست‌مندان دریایی جدا شده است، که بسیاری از این مواد دارای فعالیت‌های زیستی قابل توجهی هستند (Zbakh *et al.*, 2021). از جمله این آبریان می‌توان به ریزجلبک‌ها اشاره نمود تنوع بی نظیر آن‌ها در بوم سامانه‌های آبی، از عواملی است که آن‌ها را به منابع ارزشمندی از ترکیبات زیست فعال با پتانسیل‌های زیست فناورانه تبدیل کرده است، و مورد توجه دانشمندان قرار گرفته است (Ishaq *et al.*, 2015). ریزجلبک‌ها شامل اعضای شاخه‌های مختلف شامل یوکاریوت‌ها و پروکاریوت‌ها (سیانوفیت‌ها) می‌باشند (Makandar and Bhatnagar, 2010). آن‌ها جلبک‌های تک سلولی هستند که در محدوده‌ی وسیعی از زیستگاه‌های متفاوتی از آب شیرین تا دریایی و بیش از حد شور یافت می‌شوند (Chronakis, 2000). تحقیقات نشان داده است که ریزجلبک‌ها منابع ترکیبات ارزشمند مختلفی مانند کاروتنوئیدها، فیکوسیانین، پلی فنول‌ها، آمینواسیدها، اسیدهای چرب غیراشباع و پلی‌ساکاریدهای سولفات‌ها هستند که به عنوان مواد خام برای تولید سوخت‌های زیستی، خوراک دام، مکمل‌های غذایی، آرایشی و دارویی استفاده می‌شوند (Marrez *et al.*, 2014; Sallam *et al.*, 2017). همچنین دارای منابعی غنی از کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها، فیبر و آنزیم‌ها می‌باشند. علاوه بر این دارای مواد معدنی و ویتامین‌های بسیاری مانند A, B1, B2, B6, C و ید، نیاستین، آهن، کلسیم، پتاسیم و منیزیم هستند (Apak *et al.*, 2013). متابولیت‌های اولیه یا ثانویه تولید شده توسط این ارگانیسم‌ها از مواد فعال زیستی بالقوه قابل استفاده در صنعت داروسازی هستند (Ely *et al.*, 2004). این ترکیبات فعالیت‌های مختلف زیستی بسیار ارزشمندی از جمله خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد میکروب، ضد ویروس، ضد توموری، ضد التهاب و ضد حساسیت را نشان می‌دهند (Abd El Bakry and El-Baroty, 2013). تنوع بی نظیر ریزجلبک‌ها عاملی است که می‌تواند منبع ارزشمندی از ترکیبات دارای ظرفیت‌های زیست فناورانه باشد (Pulz and Gross, 2004; Olaizola, 2003). از جمله این جلبک‌ها می‌توان به جلبک‌های سبز اشاره کرد که از گروه‌های اصلی جلبک‌ها هستند که بیش‌ترین تعداد جنس و گونه به همراه بالاترین پراکنش جهانی را دارا می‌باشند (Singh and Gu, 2010). در سیستم‌های رده بندی قدیمی، کلروفیتا شامل گروه بزرگی متشکل از ۷۰۰۰ گونه‌ی فتوسنتز کننده آبی بوده است؛ اما در رده بندی‌های جدید، این روند تغییر نموده و اعضای این شاخه با دقت بیش‌تری سازمان یافته‌اند. در این رده بندی‌ها، کلروفیتا در حدود ۴۵۰۰ گونه‌ی ماکروسکوپی و میکروسکوپی است. ریزجلبک *S. obtusus* از جلبک‌های سبز متعلق به رده‌ی Chlorophyceae و دارای کلروپلاست‌های حاوی کلروفیل a و b می‌باشد (Akhoundian *et al.*, 2019). این ریزجلبک عمدتاً دربرکه‌ها و دریاچه‌های یوتروف و به ندرت در آب شور زیست می‌نماید (Giraldo-Zuluaga *et al.*, 2018). جنس *Scenedesmus* از رایج‌ترین جلبک‌های سبز در آب شیرین است که به دلیل سهولت در کشت، برداشت و خشک کردن، به یکی از گونه‌های محبوب در مطالعات زیست فناوری ریزجلبک تبدیل شده است و در حال حاضر، بیش از یک صد گونه از این جنس معرفی شده است (Guiry and Guiry, 2014). امروزه، به دلیل افزایش روز افزون جمعیت و نیاز انسان به مواد غذایی و دارویی، کشف ترکیباتی با منشاء طبیعی که دارای خواص درمانی نیز باشند، ضروری به نظر می‌رسد. با توجه به موارد ذکر شده در این پژوهش، به بررسی خواص ضد باکتریایی عصاره ریزجلبک *Scenedesmus obtusus* در شرایط آزمایشگاهی پرداخته شد تا امکان استفاده از آن در تأمین منابع جدید داروهای ضدباکتریایی مورد سنجش قرار گیرد.

## مواد و روش‌ها

## عصاره‌گیری از ریزجلبک‌ها

به منظور ارزیابی اثر ضد باکتریایی *S. obtusus* پس از تهیه‌ی زیست توده‌ی مورد نیاز از ارگانسیم‌های مذکور از بانک جلبک ایران، عصاره‌های متانولی، اتیل استاتی، کلروفومی و آن-هگزانی آن به روش ماسراسیون تهیه شد (Kolahi et al., 2016). برای تهیه‌ی عصاره، ۵ گرم از پودر خشک هر ریزجلبک را درون ظرف شیشه‌ای دهان گشاد ریخته و پس از افزودن ۵۰ میلی لیتر حلال مورد نظر روی آن، دهانه‌ی ظرف با پارافیلیم و سطح خارجی ظروف شیشه‌ای برای جلوگیری از برخورد نور به زیست توده، با فویل آلومینیومی پوشانده شد. ظروف مذکور به مدت ۷۲ ساعت روی شیکر با ۸۵ دور در دقیقه قرار گرفت تا به طور یکنواخت مخلوط گردد. مخلوط حاصل صاف شده و فاز مایع آن فیلتر گردید (با استفاده از کاغذ صافی واتمن ۴۲). مراحل عصاره‌گیری برای هر جلبک سه بار تکرار شد و یک بار فیلتر گردید تا حداکثر بازده عصاره‌گیری به دست آید. برای تهیه‌ی پودر خشک عصاره، مایعات فیلتر شده توسط دستگاه روتاری با توجه به نقطه‌ی جوش هر حلال، حلال پرانی شد. پودر خشک عصاره‌های حاصل، درون فریزر با دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا پایان آزمایشات نگهداری گردید.

## آزمایشات باکتریایی

## کشت باکتری‌ها در محیط بلاد آگار

جهت آماده‌سازی باکتری‌ها برای کشت روی محیط بلاد آگار، ابتدا سویه‌های باکتری‌های (شرکت دانش بنیان زیست رویش) *E. coli* (ATCC 25922)، *K. pneumonia* (ATCC 13883)، *S. aureus* (ATCC 25923)، *S. agalactiae* صورت جداگانه درون محیط غنی کننده TSB قرار داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرماگذاری شد. بعد از ۲۴ ساعت باکتری آماده برای کشت روی بلاد آگار شد. پس از استریل نمودن لوپ روی شعله کشت خطی باکتری‌ها روی محیط کشت بلاد آگار انجام شد. پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت، درون انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت.

## تعیین غلظت مناسب عصاره

ابتدا محلول‌های آبی از پودر عصاره‌های تهیه شده از مرحله‌ی قبل با غلظت‌های ۱۰، ۲۰، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۱۸۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر ساخته شدند و به روی باکتری‌ها آزمایش شدند. نخستین هاله‌ی عدم رشد در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر دیده شد و در نهایت غلظت‌های ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر برای این آزمون انتخاب گردید.

## روش انتشار چاهک

بررسی فعالیت ضد میکروبی عصاره‌های مختلف *S. obtusus* در برابر باکتری‌های بیماری‌زا *E. coli*، *K. pneumonia*، *S. aureus* از طریق سنجش قطر هاله‌ی عدم رشد باکتری و به روش انتشار چاهک مورد بررسی قرار گرفت (Ishag et al., 2015). در این روش بعد از کشت بلاد آگار و تشکیل کلنی، کشت باکتری روی محیط کشت مولر هینتون آگار به صورت چمنی انجام شد. ابتدا سویه باکتری به کدورت نیم مک فارلند (معادل  $10^8 \times 1/5$ ) رسانده شد. برای این کار حدود ۳ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی با سرنگ درون یک لوله‌ی آزمایش ریخته شد. سپس به وسیله‌ی لوپ استریل مقداری کلنی باکتری از پلیت

بلاد آگار برداشته شد و درون لوله‌ی آزمایش محتوی سرم فیزیولوژی ریخته شد، سپس با استفاده از ورتکس مخلوط شده و به کدورت نیم مک فارلند رسانده شد. سپس با استفاده از سوآب پنبه‌ای استریل و در مجاورت شعله، بر سطح محیط کشت مولر هینتون آگار، کشت یکنواختی از باکتری انجام شد. در سطح محیط کشت هر پلیت با سر سمپلر استریل ۵ چاهک هر یک به قطر ۵ میلی‌متر ایجاد شد (فاصله چاهک‌ها با دیواره‌ی پلیت ۱/۵ سانتی‌متر و فاصله‌ی چاهک‌ها با یکدیگر ۲/۵ سانتی‌متر در نظر گرفته شد). سپس از هریک از عصاره‌ها سه غلظت ۲۰۰، ۳۰۰، ۴۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تهیه شد و به مقدار ۵۰ میکرولیتر توسط سمپلر درون چاهک‌ها ریخته شد. از آب مقطر به عنوان شاهد منفی نتایج و به عنوان شاهد مثبت، از آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین استفاده شد. پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد درون انکوباتور قرار گرفت. پس از این مدت، با اندازه‌گیری قطر هاله‌های عدم رشد، میزان حساسیت یا مقاومت باکتری‌ها نسبت به عصاره‌های مختلف ریزجلبکی مورد سنجش قرار گرفت. کلیه مراحل مذکور در سه تکرار انجام شد.

### تعیین حداقل غلظت مهارکننده (MIC)

از روش رقت لوله‌ای برای به دست آوردن حداقل غلظت بازدارندگی استفاده شد به این صورت که، برای هر عصاره یک سری ۹ تایی لوله‌های استریل حاوی ۱ میلی‌لیتر محیط کشت نوترینت براث استریل را تهیه و شماره‌گذاری گردید. لوله‌ی شماره‌ی ۸ (حاوی ۱ میلی‌لیتر سوسپانسیون میکروبی و ۱ میلی‌لیتر نوترینت براث) به عنوان شاهد مثبت رشد و لوله‌ی شماره‌ی ۹ (حاوی ۱ میلی‌لیتر عصاره‌ی جلبکی و ۱ میلی‌لیتر نوترینت براث) به عنوان شاهد منفی رشد این آزمون در نظر گرفته شد. در ادامه، ۱ میلی‌لیتر از عصاره با غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به لوله‌ی اول اضافه شده و محلول توسط ورتکس به طور کامل مخلوط گردید. ۱ میلی‌لیتر از محلول لوله‌ی اول به لوله‌ی دوم اضافه کرده و به همین ترتیب تا لوله‌ی شماره‌ی ۷ ادامه یافت. در پایان ۱ میلی‌لیتر از محلول لوله‌ی شماره ۷ دور ریخته شد. به این ترتیب تمام لوله‌ها حاوی ۱ میلی‌لیتر محلول بوده با این تفاوت که یک شیب غلظت از لوله‌ی اول به سمت لوله‌ی ۷ ایجاد شد و هر لوله حاوی نصف رقت عصاره در لوله‌ی قبل از خود بود. سپس به میزان ۱۰ میکرولیتر سوسپانسیون سویه باکتری مورد نظر (معادل کدورت نیم مک فارلند) به لوله‌های شماره ۱ تا ۷ اضافه گردید. سپس لوله‌های در بسته به مدت ۱۸ تا ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد گرماگذاری گردید. آخرین لوله‌ای که هیچ کدورتی در آن مشاهده نشد به عنوان حداقل غلظت مهارکنندگی رشد (MIC) باکتری در نظر گرفته شد (Attaran Fariman *et al.*, 2015; AL-ghanayem, 2017).

### تعیین حداقل غلظت کشنده (MBC)

برای به دست آوردن حداقل غلظت کشنده، از لوله‌های شفاف MIC که کدورتی مشاهده نشد استفاده گردید (Farjami *et al.*, 2014). به این صورت که با استفاده از لوپ استاندارد استریل از هر یک به روی پلیت مولر هینتون آگار کشت داده شد. سپس پلیت‌ها ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه گرماگذاری شدند. کم‌ترین غلظت عصاره که در کشت مجدد به روی محیط جامد مولر هینتون آگار، هیچ رشدی در پلیت مشاهده نشد به عنوان MBC در نظر گرفته شد (Raj *et al.*, 2015; Attaran Fariman *et al.*, 2015).

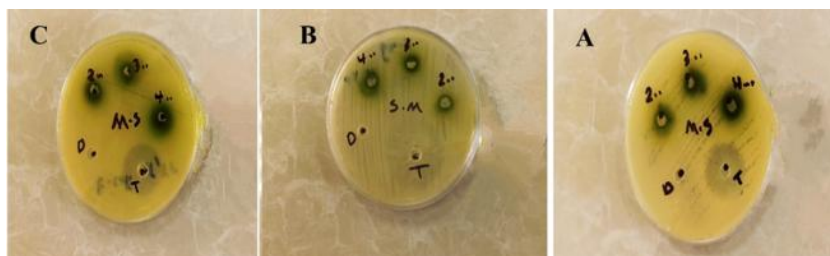
## تجزیه و تحلیل داده‌ها

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار Spss نسخه ۲۴ انجام گرفت. ابتدا نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون شاپیرو-ویلک و همگن بودن واریانس با استفاده از آزمون لون مورد بررسی قرار گرفت. مشخص کردن اختلاف معنی‌داری بین سه غلظت مختلف، با استفاده از آزمون واریانس یک طرفه صورت گرفت و برای بررسی اختلاف بین میانگین‌ها از پس آزمون توکی استفاده شد. همچنین برای بررسی رابطه‌ی بین غلظت و مهارکنندگی از آزمون همبستگی پیرسون استفاده شد. رسم نمودارها هم با استفاده از نرم افزار Microsoft Excel 2016 انجام شد.

## نتایج

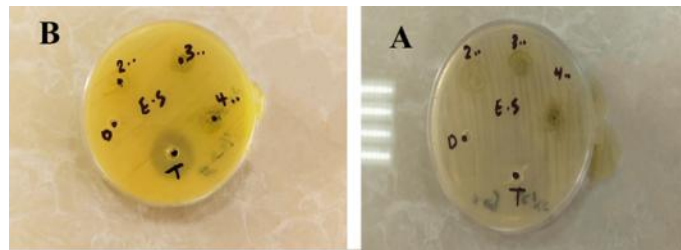
فعالیت ضدباکتریایی غلظت‌های مختلف عصاره جلبک *S. obtusus*

اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد باکتری (IZD) در پلیت‌های مورد آزمایش نشان داد که، عصاره‌های متانولی جلبک *S. obtusus* در هر سه غلظت ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بر روی رشد هر چهار باکتری *S. aureus*، *S. agalactiae*، *E. coli* و *K. pneumoniae* اثر مهارتی دارد (شکل ۱) و در هر چهار باکتری مذکور، تاثیر عصاره متانولی *S. obtusus* در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به طور معنی‌داری کمتر از سایر غلظت‌ها و در غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به طور معنی‌داری بیش تر از سایر غلظت‌ها بود ( $p < 0.05$ ) همچنین بین غلظت عصاره و میزان مهارکنندگی رشد در هر چهار باکتری مورد آزمایش همبستگی قوی وجود دارد ( $R \geq 0.95$ ) (شکل ۳). بیش‌ترین اثر مهارتی عصاره‌های متانولی روی باکتری *E. coli* در غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر (۱۶ میلی‌متر) و کم‌ترین اثر مهارکنندگی رشد (۸/۱ میلی‌متر) بر باکتری *S. aureus* در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از عصاره جلبکی مشاهده گردید (جدول ۱).



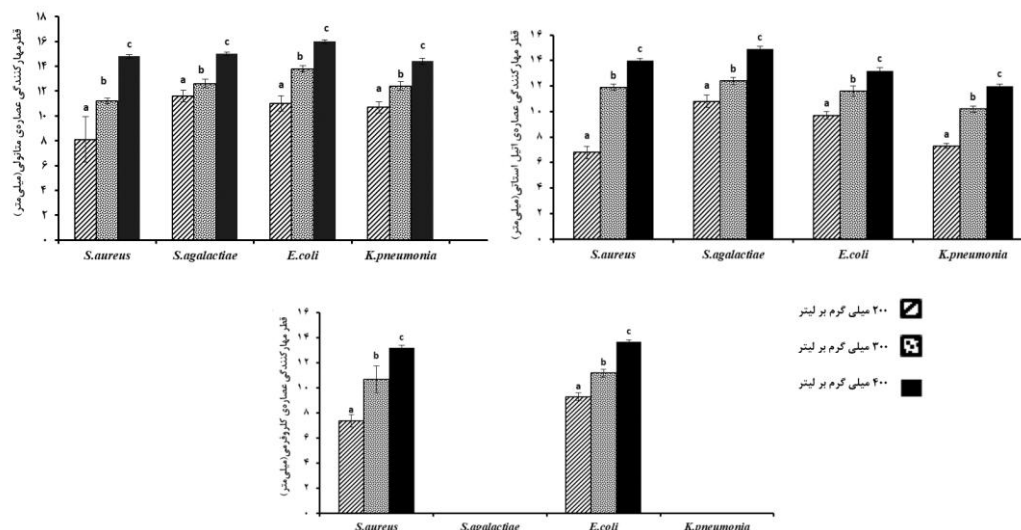
شکل ۱. هاله‌های عدم رشد ناشی از اثر عصاره‌ی متانولی جلبک *S. obtusus* بر باکتری‌های (A) *K. pneumoniae*، (B) *S. agalactiae* و *E. coli* (C). (T: تتراسایکلین و D: آب مقطر)

عصاره‌ی اتیل استاتی جلبک *S. obtusus* در غلظت‌های ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر روی رشد باکتری‌های *S. aureus*، *S. agalactiae*، *E. coli* و *K. pneumoniae* اثر مهارتی داشت (شکل ۲) و تاثیر این عصاره در هر چهار باکتری مورد آزمون در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به طور معنی‌داری کمتر و در غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به طور معنی‌داری بیش‌تر از سایر غلظت‌ها بود ( $p < 0.05$ ) (شکل ۳). همچنین بین غلظت عصاره و اثر مهارکنندگی رشد در هر چهار باکتری مذکور همبستگی قوی وجود داشت ( $R \geq 0.96$ ). بیش‌ترین تاثیر مهارتی روی رشد باکتری *S. agalactiae* در غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر (۱۴/۹ میلی‌متر) و کم‌ترین اثر مهارکنندگی بر روی رشد باکتری *S. aureus* در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود (۶/۸ میلی‌متر) (جدول ۱).



شکل ۲. هاله‌های عدم رشد ناشی از اثر عصاره‌ی اتیل استاتی جلبک *S. obtusus* بر باکتری‌های *S. agalactiae* (A) و *E. coli* (B) (T: تتراسایکلین و D: آب مقطر)

نتایج نشان داد عصاره‌ی کلروفومی جلبک *S. obtusus* در غلظت‌های ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر روی باکتری‌های *S. aureus* و *E. coli* تاثیر مهاری داشت، اما روی باکتری‌های *S. agalactiae* و *K. pneumonia* در هیچ یک از غلظت‌ها اثر مهارکنندگی نداشته است. تاثیر این عصاره در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بر روی باکتری‌های *S. aureus* و *E. coli* به طور معناداری کم‌تر از سایر غلظت‌ها بود و در غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر افزایش معناداری را نسبت به سایر غلظت‌ها نشان داد ( $p < 0.05$ ) همچنین بین غلظت عصاره و اثر مهارکنندگی رشد باکتری‌های *S. aureus* و *E. coli* همبستگی قوی وجود داشت ( $R \geq 0.96$ ) (شکل ۳). بیش‌ترین اثر مهارکنندگی عصاره بر رشد باکتری *E. coli* در غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر (۱۳/۷ میلی‌متر) از عصاره‌ی کلروفومی جلبک و کم‌ترین اثر مهارکنندگی بر رشد باکتری *S. aureus* در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر (۷/۴ میلی‌متر) از این عصاره بود (جدول ۱). عصاره‌های ان هگزانی جلبک *S. obtusus* در غلظت‌های مختلف ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، اثر بازدارندگی رشد بر روی هیچ یک از باکتری‌های مورد آزمون نشان نداده و هاله عدم رشد باکتری در پلیت‌های مورد آزمایش مشاهده نگردید.



شکل ۳. مقایسه اثر مهار کنندگی عصاره بر اساس قطر هاله عدم رشد باکتری ناشی از اثر غلظت‌های مختلف (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) عصاره‌های متانولی، اتیل استاتی، ان هگزانی و کلروفومی ریزجلبک *S. obtusus* بر باکتری‌های *S. aureus*، *S. agalactiae*، *E. coli* و *K. pneumonia*

جدول ۱. مقایسه میانگین  $\pm$  انحراف معیار قطر هاله عدم رشد (میلی متر) باکتری های مورد آزمون تحت تأثیر عصاره های متانولی، اتیل استاتی، ان هگزانی و کلروفومی ریزجلبک *S. obtusus*

| شاهد (میلی گرم بر میلی لیتر) |      | غلظت های مختلف عصاره ریزجلبک (میلی گرم بر میلی لیتر) |                    |                    |                    |                    |                    |                   |                    |                    |          |     |     | باکتری               |
|------------------------------|------|--|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|-------------------|--------------------|--------------------|----------|-----|-----|----------------------|
| مثبت                         | منفی | متانول   |                    |                    | اتیل استات         |                    |                    | کلروفوم           |                    |                    | ان هگزان |     |     |                      |
|                              |      | ۲۰۰  | ۳۰۰                | ۴۰۰                | ۲۰۰                | ۳۰۰                | ۴۰۰                | ۲۰۰               | ۳۰۰                | ۴۰۰                | ۲۰۰      | ۳۰۰ | ۴۰۰ |                      |
| ۲۵/۴                         | -    | ۸/۱<br>$\pm ۱/۸$                                     | ۱۱/۲<br>$\pm ۰/۲$  | ۱۴/۸<br>$\pm ۰/۱$  | ۶/۸<br>$\pm ۰/۴$   | ۱۱/۹<br>$\pm ۰/۲$  | ۱۴<br>$\pm ۰/۱$    | ۷/۴<br>$\pm ۰/۵$  | ۱۰/۷<br>$\pm ۱/۰$  | ۱۳/۲<br>$\pm ۰/۲$  | -        | -   | -   | <i>S. aureus</i>     |
| ۲۶/۲                         | -    | ۱۱/۶<br>$\pm ۰/۴۵$                                   | ۱۲/۶<br>$\pm ۰/۳۵$ | ۱۵<br>$\pm ۰/۱۵$   | ۱۰/۸<br>$\pm ۰/۴۷$ | ۱۲/۴<br>$\pm ۰/۳$  | ۱۴/۹<br>$\pm ۰/۲$  | -                 | -                  | -                  | -        | -   | -   | <i>S. agalactiae</i> |
| ۲۱/۷                         | -    | ۱۱<br>$\pm ۰/۶۱$                                     | ۱۳/۸<br>$\pm ۰/۲۶$ | ۱۶<br>$\pm ۰/۱۵$   | ۹/۷<br>$\pm ۰/۳۰$  | ۱۱/۶<br>$\pm ۰/۴۰$ | ۱۳/۲<br>$\pm ۰/۲۵$ | ۹/۳<br>$\pm ۰/۶۱$ | ۱۱/۲<br>$\pm ۰/۲۶$ | ۱۳/۷<br>$\pm ۰/۱۵$ | -        | -   | -   | <i>E. coli</i>       |
| ۲۰/۳                         | -    | ۱۰/۷<br>$\pm ۰/۴۵$                                   | ۱۲/۴<br>$\pm ۰/۳۵$ | ۱۴/۴<br>$\pm ۰/۲۶$ | ۷/۳<br>$\pm ۰/۲۰$  | ۱۰/۲<br>$\pm ۰/۲۵$ | ۱۲<br>$\pm ۰/۱۵$   | -                 | -                  | -                  | -        | -   | -   | <i>K. pneumonia</i>  |

نتایج سنجش حداقل غلظت مهارکننده (MIC) و حداقل غلظت کشنده (MBC) عصاره جلبکی نشان داد که کمترین غلظت مهارکنندگی مربوط به عصاره های متانولی و اتیل استاتی با مقدار ۶۲/۵ میلی گرم بر میلی لیتر به روی باکتری گرم مثبت *S. agalactiae* است، که نشان دهنده قوی تر بودن اثر مهارکنندگی عصاره های مذکور نسبت به سایر عصاره های *S. obtusus* است. در حالی که عصاره ای ان هگزانی تنها به روی دو باکتری گرم مثبت *S. aureus* و *S. agalactiae* در غلظت ۲۵۰ میلی گرم بر میلی لیتر اثر مهارکنندگی داشت، که این خود نشان دهنده اثر مهارکنندگی ضعیف تر این عصاره نسبت به سایر عصاره ها است. همچنین عصاره ای ان هگزانی در غلظت های مورد آزمون هیچ اثر مهارکنندگی به روی باکتری ها نشان نداد (جدول ۲).

جدول ۲. حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشنده (MBC) عصاره های مختلف جلبک *S. obtusus* بر باکتری های مورد آزمون (میلی گرم بر میلی لیتر)

| باکتری               | عصاره ای متانولی |      | عصاره ای اتیل استاتی |     | عصاره ای ان هگزانی |      | عصاره ای کلروفومی |     |
|----------------------|------------------|------|----------------------|-----|--------------------|------|-------------------|-----|
|                      | MBC              | MIC  | MBC                  | MIC | MBC                | MIC  | MBC               | MIC |
| <i>S. aureus</i>     | ۲۵۰              | ۱۲۵  | N/A*                 | ۲۵۰ | ۲۵۰                | ۱۲۵  | ۲۵۰               | ۱۲۵ |
| <i>S. agalactiae</i> | ۲۵۰              | ۶۲/۵ | N/A                  | ۲۵۰ | ۲۵۰                | ۶۲/۵ | N/A               | ۲۵۰ |
| <i>E. coli</i>       | ۲۵۰              | ۱۲۵  | N/A                  | N/A | ۲۵۰                | ۱۲۵  | ۲۵۰               | ۱۲۵ |
| <i>K. pneumoniae</i> | ۲۵۰              | ۱۲۵  | N/A                  | N/A | ۲۵۰                | ۱۲۵  | N/A               | N/A |

غلظت هایی از عصاره که هیچ اثر مهارکننده یا کشنده مشاهده نشد با N/A نشان داده شده است.

## بحث

نتایج به دست آمده از بررسی اثر مهارکنندگی عصاره ای جلبک *S. obtusus* بر روی باکتری های *S. aureus*، *S. agalactiae*، *E. coli* و *K. pneumonia* نشان داد که عصاره متانولی این ریزجلبک، بر روی هر چهار باکتری مورد آزمون به ویژه در غلظت های

۳۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر از عصاره، اثر مهارکنندگی رشد کاملاً مشهودی دارد (جدول ۱) و عصاره متانولی این جلبک در غلظت ۴۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر بیشترین اثر مهارکنندگی را بر روی *E. coli* نشان داد (۱۶ میلی متر). عصاره متانولی این جلبک همچنين، تأثیر مهاری قابل توجهی را بر *S. agalactiae* و *K. pneumoniae* (IZD به ترتیب ۱۵ و ۱۴/۴ میلی متر) نشان داد. Najdenski و همکاران (۲۰۱۳) اثر عصاره هیدروالکلی *Scenedesmus* sp. را بر باکتری *S. aureus* با قطر هاله عدم رشد ۱۶ تا ۱۸ میلی متر (بسته به غلظت عصاره) گزارش نمودند که به نتایج تحقیق حاضر بسیار نزدیک است (Najdenski et al., 2013). نتایج در خصوص اثر بخشی بیش تر عصاره متانولی نسبت به سایر حلال های استفاده شده برای استخراج عصاره جلبکی در گزارشات پژوهشگران دیگر نیز بیان شده است. مطالعه فعالیت ضد باکتریایی *Scenedesmus* sp. بر روی سه باکتری بیماری زا با استفاده از حلال های مختلف نشان داد که عصاره های آبی و متانولی، اثرات مهاری بیش تری نسبت به سایر حلال های آلی بر روی رشد باکتری ها دارند (Beena Krishnika, 2011). در پژوهشی مشابه نیز فعالیت ضد باکتریایی عصاره متانولی *S. quadrucanda* بر روی *E. coli*، *B. cereus* و *S. aureus* مورد تأیید قرار گرفته است (Chronakis, 2000). علاوه بر آن، مطالعات متعددی در مورد اثربخشی روش های استخراج عصاره های جلبکی وجود دارد که نشان می دهد عصاره جلبکی استخراج شده با استفاده از حلال متانول، فعالیت ضد میکروبی شدیدتری نسبت به عصاره های استخراج شده با حلال های کلروفرم، ان هگزان و اتیل استات دارد (Zbakh et al., 2021; Kausalya and Rao, 2015; Bhuyar et al., 2020; Varier و همکاران (۲۰۱۳) نیز اثر ضدباکتری عصاره های اتانولی، متانولی و کلروفرمی برخی جلبک های دریایی را استخراج کرده و بیان کردند که عصاره متانولی بهترین نتایج ضدباکتریایی را روی هر دو گروه باکتری های گرم مثبت و گرم منفی نشان داده است (Varier et al., 2013). در حالی که گزارشات محدودی نیز وجود دارد که نشان می دهند عصاره کلروفرمی اثر ضدباکتریایی بهتری نسبت به عصاره های متانولی و بنزنی داشته است (Habibi et al., 2018). برخی مطالعات دیگر نیز استخراج عصاره با راندمان بالاتری با استفاده از حلال های استون (Walter and Mahesh, 2000)، بنزن و اتیل استات (Bhagavathy et al., 2011) یا نفت، اتر و هگزان (Herrero et al., 2006) را توصیه کرده اند؛ که واضح است، کاربرد مورد انتظار برای عصاره استخراج شده، نقش کلیدی در انتخاب بهترین حلال را دارد؛ زیرا برخی از حلال های مذکور با وجود راندمان بالای استخراج عصاره، می توانند تأثیرات نامطلوبی را بر سلامت محصولات جلبکی با کاربرد غذایی یا دارویی داشته باشند. علاوه بر نوع حلال، انتخاب نوع جلبک برای تهیه عصاره نیز رابطه مستقیمی با کاربرد مدنظر دارد؛ به طور مثال، اگرچه سیانوباکتری ها به طور کلی طیف ضد باکتری وسیع تری نسبت به ریزجلبک ها نشان می دهند، اما رشد سیانوباکتری ها در برخی موارد با تولید سم همراه است، که می تواند بر کاربرد عصاره تهیه شده از آن ها در صنایع غذایی اثر گذار باشد (Guedes et al., 2011). نتایج پژوهشی که توسط Zbakh و همکاران (۲۰۲۱) منتشر گردید نشان می دهد که عصاره های متانولی جلبک های *Ulva*، *Entromorpha* و *Caulerpa*، بیش ترین اثر ضدباکتریایی را بر روی *E. coli* و *S. aureus* دارند (Zbakh et al., 2021)، که با نتایج به دست آمده در خصوص عصاره متانولی ریزجلبک های مورد مطالعه در این پژوهش مشابهت دارد. مطالعات انجام شده توسط بسیاری از محققین نشان می دهد که باکتری های گرم مثبت در مقایسه با باکتری های گرم منفی، حساسیت بیش تری نسبت به عصاره های هیدروالکلی جلبک ها نشان می دهند (Asadi et al., 2011; Ghasemi et al., 2003; Soltani et al., 2005). باکتری های گرم مثبت و گرم منفی در ساختار دیواره سلولی خود با یک دیگر متفاوت اند. سطح خارجی سلول در باکتری های گرم منفی شامل غشای خارجی، دیواره سلولی پپتیدوگلیکان و غشای سیتوپلاسمی است (Exner et al., 2017) که مانند سدی از نفوذ آنتی بیوتیک ها به درون سلول جلوگیری می کند (Silhavy et al., 2010). این عملکرد دیواره سلولی توضیح می دهد که چرا باکتری های گرم مثبت نسبت به انواع گرم منفی در برابر آنتی بیوتیک ها حساس تر هستند (Alsenani et al., 2020). اما نکته قابل توجه در نتایج پژوهش حاضر این است که، عصاره متانولی *S. obtusus* بر *E. coli* (گرم منفی) اثر مهارکنندگی با قدرتی مشابه با اثر آن بر *S. agalactiae* (گرم مثبت) نشان داد. مطالعات مشابهی نیز چنین نتایجی را در خصوص عصاره های اتانولی و متانولی *Dunaliella* sp. و *S. subspicatus* بر روی *E. coli*، *S. aureus*، *P. mirabilis* و *K. pneumoniae* و *B. subtilis* گزارش کردند (Cakmak et al., 2014; Dantas et al., 2019). در پژوهشی که بر روی بیش از

۴۰ گونه جلبک دریایی انجام شد، با وجود مشاهده‌ی فعالیت آنتی‌اکسیدانی در عصاره‌ها، عصاره هیدروالکلی هیچ یک از ماکروجلبک‌های مورد مطالعه، خواص ضدباکتریایی نشان ندادند، که این نتایج احتمالاً به دلیل پایین بودن غلظت عصاره‌های مورد آزمایش بوده است، زیرا عصاره‌های هیدروالکلی تنها تا غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بر روی باکتری‌ها تست شدند (Zubia *et al.*, 2007)، در حالی که در پژوهش حاضر، از غلظت‌های بالاتر عصاره استفاده شد. در این پژوهش، همه باکتری‌های مورد آزمایش نسبت به عصاره ان‌هگزانی جلبک سندسوموس کاملاً مقاوم بوده و هاله عدم رشد در هیچ‌کدام از پلیت‌های باکتریایی تیمارشده با این عصاره مشاهده نگردید. بر خلاف نتایج پژوهش حاضر، در تعدادی از گزارشات موجود (Imran *et al.*, 2014; Bashir *et al.*, 2018)، عصاره ان‌هگزانی برخی از جلبک‌های سبز اثر آنتی‌باکتریال بر برخی سویه‌های مورد آزمایش نشان داده‌اند. عدم مشاهده‌ی اثر مهاری در عصاره‌های جلبکی این تحقیق می‌تواند ناشی از اختلاف در جنس جلبکی یا سویه باکتریایی مورد آزمون باشد، چون در پژوهش حاضر به دلیل محدودیت‌های موجود، فقط ۴ سویه باکتریایی مورد آزمایش قرار گرفت. علاوه بر این، عدم مشاهده هاله عدم رشد در پلیت‌های آگار می‌تواند ناشی از قابلیت انتشار محدود عصاره در محیط جامد باشد، لذا لازم است از سایر روش‌های انجام تست‌های آنتی‌باکتریال در محیط کشت مایع نیز برای اطمینان از صحت نتایج به دست آمده استفاده گردد. در مواردی گزارش شده است که عصاره‌هایی که در محیط کشت جامد آگار، هاله عدم رشد باکتریایی نشان ندادند، پس از تکرار آزمایشات در محیط کشت مایع به روش میکرودیولوشن، اثرات مهارکنندگی رشد بر روی باکتری‌ها را نشان دادند (Scorzoni *et al.*, 2007; Najdenski *et al.*, 2013). با این حال، استفاده از هر دو روش مذکور در مطالعات مربوط به صنایع غذایی و دارویی دارای اعتبار و قابل استناد می‌باشد.

### نتیجه‌گیری

براساس یافته‌های این پژوهش می‌توان نتیجه گرفت که عصاره هیدروالکلی ریزجلبک *S. obtusus* حاوی ترکیبات ضدباکتریایی است که اثر مهارکنندگی کاملاً مشهودی بر فعالیت باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی موردآزمون دارد. بدیهی است این مطالعات پایه می‌تواند زمینه را برای انجام مطالعات دقیق‌تر و کارآزمایی‌های بالینی در خصوص پتانسیل‌های دارویی و بهداشتی این گونه ریزجلبک هموار سازد. با توجه به نتایج بدست آمده و افزایش روزافزون مقاومت باکتری‌ها به آنتی‌بیوتیک‌های شیمیایی رایج، پیشنهاد می‌گردد که با مطالعه بیشتر بر روی ترکیبات اصلی و مواد مؤثر عصاره‌ی این ریزجلبک، از پتانسیل آن جهت جایگزینی با آنتی‌بیوتیک‌های شیمیایی استفاده گردد.

### منابع

- Abd El Baky, H. H., El-Baroty, G. S. 2013. Healthy benefit of microalgal bioactive substances. *Journal of Aquatic Science*. 1(1): 11-23.
- Akhoundian, M. 2019. *Fundamentals of planktology*. Mazandaran University Publishers. 326 p. (in Persian)
- Al-ghanayem, A. A. 2017. Antimicrobial activity of *Spirulina platensis* extracts against certain pathogenic bacteria and fungi. *Advances in Bioresearch*. 8(6): 96-101.
- Alsenani, F., Tupally, K. R., Chua, E. T., Eltanahy, E., Alsufyani, H., Parekh, H. S., Schenk, P. M. 2020. Evaluation of microalgae and cyanobacteria as potential sources of antimicrobial compounds. *Saudi Pharmaceutical Journal*. 28(12): 1834-1841.
- Apak, R., Gorinstein, S., Böhm, V., Schaich, K. M., Özyürek, M., Güçlü, K. 2013. Methods of measurement and evaluation of natural antioxidant capacity/activity (IUPAC Technical Report). *Pure and Applied Chemistry*, 85(5): 957-998.
- Asadi, A., Khavari-Nejad, R., Soltani, N., Najafi, F., Molaie-Rad, A. 2011. Physiological and antimicrobial characterizations of some cyanobacteria isolated from the rice fields in Iran. *Journal of Agricultural Technology*, 7(3): 649-663.
- Attaran Fariman, G., Taheri, A., Gafari, R. 2015. Antibacterial activity of purified extracts of microalgae *Chlorella vulgaris* isolated bay. *Journal of Fisheries*. 68(3): 437-445. (in Persian).
- Beena, B. N., Krishnika, A. 2011. Antibacterial activity of freshwater microalga (*Scenedesmus* sp.) against three bacterial strains. *Journal of Bioscience Resources*, 2(4): 160-165.

- Bhagavathy, S., Sumathi, P., Bell, I. J. S. 2011. Green algae *Chlorococcum humicola*-a new source of bioactive compounds with antimicrobial activity. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 1(1): S1-S7.
- Bhuyar, P., Rahim, M. H. A., Maniam, G. P., Ramaraj, R., Govindan, N. 2020. Exploration of bioactive compounds and antibacterial activity of marine blue-green microalgae (*Oscillatoria* sp.) isolated from coastal region of west Malaysia. *SN Applied Sciences*, 2(11): 1-10.
- Cakmak, Y. S., Kaya, M., Asan-Ozusaglam, M. 2014. Biochemical composition and bioactivity screening of various extracts from *Dunaliella salina*, a green microalga. *EXCLI Journal*. 13: 679-690.
- Catarina Guedes, A., Barbosa, C. R., Amaro, H. M., Pereira, C. I., Xavier Malcata, F. 2011. Microalgal and cyanobacterial cell extracts for use as natural antibacterial additives against food pathogens. *International Journal of Food Science Technology*, 46(4): 862-870.
- Chronakis, I. S. 2000. Biosolar proteins from aquatic algae. *Developments in Food Science*. 41: 39-75.
- Dantas, D. M. D. M., Oliveira, C. Y. B. D., Costa, R. M. P. B., Carneiro-da-Cunha, M. D. G., Gálvez, A. O., Bezerra, R. D. S. 2019. Evaluation of antioxidant and antibacterial capacity of green microalgae *Scenedesmus subspicatus*. *Food Science and Technology International*, 25(4): 318-326.
- Ely, R., Supriya, T., Naik, C. G. 2004. Antimicrobial activity of marine organisms collected off the coast of South East India. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 309(1): 121-127.
- Exner, M., Bhattacharya, S., Christiansen, B., Gebel, J., Goroncy-Bermes, P., Hartemann, P., Trautmann, M. 2017. Antibiotic resistance: What is so special about multidrug-resistant Gram-negative bacteria? *GMS Hygiene and Infection Control*, 12: 1-24.
- Farjami, B., Nematollahi, M. A., Noradi, Y., Irajian, G., Nazemi, M. 2014. Study of antibacterial effect of the extracts of the sea cucumber (*Holothuria leucospilota*) of Persian Gulf on the *Escherichia coli*. *Iranian Journal of Medical Microbiology*. 8(1): 27-33.
- Ghasemi, Y., Tabatabaei, Y. S., Zarini, G., Shokravi, S., Soltani, N. 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.
- Giraldo-Zuluaga, J. H., Salazar, A., Diez, G., Gomez, A., Martínez, T., Vargas, J. F., Peñuela, M. 2018. Automatic identification of *Scenedesmus* sp. polymorphic microalgae from microscopic images. *Pattern Analysis and Applications*, 21(2): 601-612.
- Gogoba, A. I., Matias-Peralta, H. M., Basri, H., Nmaya, M. M. 2017. Inhibitory effect of pigment extract from *scenedesmus* sp. on food spiked with foodborne *staphylococcus aureus*. *Journal Clean WAS*. 1(1): 23-25.
- Guiry M.D., Guiry G.M. 2014. *AlgaeBase*. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. Available from <http://www.algaebase.org>.
- Habibi, Z., Imanpour Namin, J., Ramezanpour, Z. 2018. Evaluation of antimicrobial activities of microalgae *Scenedesmus dimorphus* extracts against bacterial strains. *Caspian Journal of Environmental Sciences*. 16: 25-36.
- Herrero, M., Ibáñez, E., Cifuentes, A., Reglero, G., Santoyo, S. 2006. *Dunaliella salina* microalga pressurized liquid extracts as potential antimicrobials. *Journal of Food Protection*, 69(10): 2471-2477.
- Imran Bashir, K. M., Lee, J. H., Petermann, M. J., Shah, A. A., Jeong, S. J., Kim, M. S., Cho, M. G. 2018. Estimation of antibacterial properties of chlorophyta, rhodophyta and haptophyta microalgae species. *Microbiology and Biotechnology Letters*, 46(3): 225-233.
- Ishaq, A. G., Matias-Peralta, H. M., Basri, H., Muhammad, M. N. 2015. Antibacterial Activity of Freshwater Microalga *Scenedesmus* sp. on Foodborne Pathogens *Staphylococcus aureus* and *Salmonella* sp. *Journal of Science and Technology*. 7(2) 1-32.
- Jena, J., Subudhi, E. 2019. Microalgae: An untapped resource for natural antimicrobials. In *The role of microalgae in wastewater treatment*. Springer, Singapore. pp. 99-114.
- Kausalya, M., Rao, G. N. 2015. Antimicrobial activity of marine algae. *Journal of Algal Biomass Utilization*. 6(1): 78-87.
- Kolahi, M., Mokhtari, B., Mirzaee, N. 2016. A Phytochemical Study and Comparison of the Effect of Pomegranate Extracts Spongy Tissue on Colon Cancer Cells Caco-2. *Jundishapur Scientific Medical Journal*. 15(2): 201-215. (in Persian).
- Makandar, M. B., Bhatnagar, A. 2010. Biodiversity of Microalgae and Cyanobacteria from freshwater bodies of Jodhpur, Rajasthan (India). *Journal of Algal Biomass Utilization*. 1(3): 54-69.
- Marrez, D. A., Sultan, Y. Y., Embaby, M. A. E. 2017. Biological activity of the cyanobacterium *Oscillatoria brevis* extracts as a source of nutraceutical and bio-preservative agents. *International Journal of Pharmacology*, 13(8): 1010-1019.

- Najdenski, H. M., Gigova, L. G., Iliev, I. I., Pilarski, P. S., Lukavský, J., Tsvetkova, I. V., ... Kussovski, V. K. 2013. Antibacterial and antifungal activities of selected microalgae and cyanobacteria. *International Journal of Food Science and Technology*, 48(7): 1533-1540.
- Olaizola, M. 2003. Commercial development of microalgal biotechnology: from the test tube to the marketplace. *Biomolecular Engineering*. 20(4-6): 459-466.
- Pulz, O., Gross, W. 2004. Valuable products from biotechnology of microalgae. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 65(6): 635-648.
- Raj, G. A., Chandrasekaran, M., Krishnamoorthy, S., Venkatesalu, V. 2015. Antibacterial activity of different solvent extracts of *Caulerpa chemnitzia* (Esper) JV Lamououx, from Mandapam, Gulf of Mannar Southeast Coast, Tamil Nadu, India. *Journal of Medicinal Herbs and Ethnomedicine*, 1(1): 24-31.
- Rodríguez-Meizoso, I., Jaime, L., Santoyo, S., Cifuentes, A., Garcia-Blairsy Reina, G., Senorans, F. J., Ibáñez, E. 2008. Pressurized fluid extraction of bioactive compounds from *Phormidium* species. *Journal of agricultural and food chemistry*. 56(10): 3517-3523.
- Rossolini, G. M., Arena, F., Pecile, P., Pollini, S. 2014. Update on the antibiotic resistance crisis. *Current Opinion in Pharmacology*. 18: 56-60.
- Sallam, A. E., Mohammed, M. M., Hussein, A. A., Ibrahim, Z. N. 2014. Protective effect of  $\beta$ -carotene extracted from the cyanobacterium *Oscillatoria brevis* against stress-induced alterations in rat's circadian behavioral and oxidative markers. *IOSR J Pharm*. 4: 34-40.
- Scorzoni, L., Benaducci, T., Almeida, A., Silva, D. H. S., Bolzani, V. D. S., Mendes-Giannini, M. J. S. 2007. Comparative study of disk diffusion and microdilution methods for evaluation of antifungal activity of natural compounds against medical yeasts *Candida* spp and *Cryptococcus* sp. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*. 25-34.
- Silhavy, T. J., Kahne, D., Walker, S. 2010. The bacterial cell envelope. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. 2(5): a000414.
- Singh, J., Gu, S. 2010. Commercialization potential of microalgae for biofuels production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 14(9): 2596-2610.
- Soltani, N., Khavari-Nejad, R. A., Tabatabaei Yazdi, M., Shokravi, S., Fernandez-Valiente, E. 2005. Screening of soil cyanobacteria for antifungal and antibacterial activity. *Pharmaceutical Biology*. 43(5): 455-459.
- Varier, K. M., Milton, M. C. J., Arulvasu, C., Gajendran, B. 2013. Evaluation of antibacterial properties of selected red seaweeds from Rameshwaram, Tamil Nadu, India. *Journal of Academia and Industrial Research*. 1(11): 667-670.
- Walter, C. S., Mahesh, R. 2000. Antibacterial and antifungal activities of some marine diatoms in culture. *Indian Journal of Marine Sciences*. 29: 238-242.
- Zbakh, H., Chiheb, H., Bouziane, H., Sánchez, V. M., Riadi, H. 2021. Antibacterial activity of benthic marine algae extracts from the Mediterranean coast of Morocco. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*. 2(1): 219-228.
- Zubia, M., Robledo, D., Freile-Pelegrin, Y. 2007. Antioxidant activities in tropical marine macroalgae from the Yucatan Peninsula, Mexico. *Journal of Applied Phycology*, 19(5): 449-458.



## In vitro antibacterial activity of *Scenedesmus obtusus* (Meyen, 1829) extract

Esmat Mansoori<sup>1</sup>, Maryam Akhoundian<sup>1,2\*</sup>, Shila Omidzahir<sup>1</sup>, AbdolAli Movahedinia<sup>1</sup>

1. Department of Marine Biology, Faculty of Marine and Environmental Science, University of Mazandaran, Babolsar, Iran

2. Research Center for the Caspian Region, University of Mazandaran, Babolsar, Iran

### Abstract

The aim of this study was to assay the antibacterial activity of *Scenedesmus obtusus* on some pathogenic bacteria. Microalgae *S. obtusus* were obtained from Algae Bank of Iran, and the methanol, ethyl acetate, chloroform and n-hexane extract of the microalgae were prepared using the maceration method. Bacterial strains were cultured in a solid culture medium, and antibacterial activity of the the different extracts of *S. obtusus*, were investigated using well diffusion method, and the determination of minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC), against *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* as gram-positive bacteria and *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumonia* as gram-negatives. According to the results, methanolic and ethyl acetate extracts of *S. obtusus*, showed growth inhibitory effects against all examined bacteria at concentrations of 200, 300 and 400 mg/ml. The chloroform extract was effective only against *S. aureus* and *E. coli*, but n-hexane extract had no effect against any of the bacteria. The highest inhibitory effect of *S. obtusus* extract was observed on methanolic extract against *E. coli* (16 mm), while the least inhibitory effect belonged to ethyl acetate extract against *S. aureus* (6.8 mm). The results also showed that the extract of *S. obtusus* contains antibacterial compounds, and the solvent which used for microalgae extraction significantly affected the antibacterial potential of the extract.

### ARTICLE TYPE Research

Received:18 December 2021  
Accepted:6 June 2022  
ePublished: 12 March 2023

\* Corresponding Author:  
[m.akhoundian@umz.ac.ir](mailto:m.akhoundian@umz.ac.ir)

**Keywords:** Antibacterial Activity, Green Algae, Extract, Bioactive Compounds