Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics

Online ISSN: 2345-427X
Print ISSN: 2345-4288

Antibacterial activity of microalgae *Scenedesmus* sp. and *Spirulina platensis* extracts grown in the effluent of desalination plants

Nikta Mehdipour[*1], Seyed Abbas Hosseini[2], Seyed Aliakbar Hedayati[3], Mehdi Zolfaghari[4], Hamide Kurdi[5], Sarah Haghparast[6]

1. Corresponding Author, Ph.D. Student of Aquatics Production and Exploitation, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: mehdipournikta@gmail.com
2. Professor, Dept. of Aquatics Production and Exploitation, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: seyedabbas_hosseini@yahoo.com
3. Professor, Dept. of Aquatics Production and Exploitation, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: hedayati@gau.ac.ir
4. Assistant Prof., Dept. of Fishery Processing, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: zolfaghari.mz@gmail.com
5. Ph.D. in Aquaculture, National Fisheries Science Research Institute, Rasht, Iran. E-mail: hamide_kordi@yahoo.com
6. Assistant Prof., Dept. of Fisheries, Faculty of Animal Sciences and Fisheries, Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Sari, Iran. E-mail: sarah_haghparast.yahoo.com

Article Info

Article type:
Full Length Research Paper

Article history:
Received: 03.16.2022
Revised: 07.10.2022
Accepted: 09.05.2022

Keywords:
Biological Treatment,
Desalination plant,
Effluent,
Microalgea

ABSTRACT

The purpose of this research is to investigate the antimicrobial activity of the microalgae *Scenedesmus* sp. and *Spirulina platensis* cultivated in BG-11 culture medium and the effluent of desalination facilities of Bandar Turkmen unit, Golestan province in inhibiting the growth and proliferation of gram-positive *Staphylococcus aureus* bacteria. And gram-negative *Escherichia coli*. Algae were extracted by water-alcohol method in proportion (500 cc of alcohol and 50 cc of distilled water) and determination of minimum inhibitory concentration (MIC) was checked by broth micro dilution method (96 plates) and with The amount of antibacterial activity grown in the water of their usual environment was compared. The results of the two mentioned bacteria in the presence of different concentrations of water-ethanol extract within 24 hours showed that in the extracted extract of the genus *Scenedesmus* sp. and *Spirulina platensis* cultivated in BG-11 culture medium and 50 and 100% dilutions of wastewater, against the bacteria There was no minimum inhibitory concentration (MIC) of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* during (24 hours). The extract of *Scenedesmus* sp. grown in BG-11 with a concentration of 25 and 50 mg/ml has a higher concentration of *Escherichia coli* than *spirulina platensis* in the early hours. As the concentration increases, the amount of bacteria decreases in the early hours. The extract of *Spirulina platensis* grown in BG-11 showed high control properties to Staphylococcus bacteria in the early hours compared to *Scenedesmus* sp. extract grown in 50% wastewater compared to *spirulina platensis* had the highest concentration of *Escherichia coli* bacteria in the final hours, so that it showed higher controlling properties than *spirulina platensis* against *Escherichia coli*. Also, in the extract of *Scenedesmus* sp. grown in 50% wastewater at concentrations of 25, 100 and 200 mg/ml in the last hours, the concentration of *Staphylococcus* bacteria is higher than the concentration of 50 mg/ml and in *spirulina* in the last hours It has had a steady trend. In both extracts grown in 100% wastewater, they showed the highest concentration of bacteria in all concentrations within 4 hours. Therefore, in all concentrations of the

two extracts, they showed an increase in the concentration of *Staphylococcus* bacteria over time (2-4 hours). Therefore, *spirulina* cultivated in 100% wastewater had a stable trend in the final hours compared to *Scenedesmus* sp. and showed more controlling properties against *staphylococcus*.

Cite this article: Mehdipour, Nikta, Hosseini, Seyed Abbas, Hedayati, Seyed Aliakbar, Zolfaghari, Mehdi, Kurdi, Hamide, Haghparast, Sarah. 2023. Antibacterial activity of microalgae *Scenedesmus* sp. and *Spirulina platensis* extracts grown in the effluent of desalination plants. *Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics*, 12 (3), 49-67.

© The Author(s).
DOI: 10.22069/japu.2022.20042.1639
Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

نشریه بهره‌برداری و پرورش آبزیان

شاپا آنلاین: ۲۳۴۵-۴۲۷X
شاپا چاپی: ۲۳۴۵-۴۲۸۸

بررسی فعالیت ضدباکتریایی عصاره ریزجلبک‌های *Scenedesmus* sp. و *Spirulina platensis* پرورش‌یافته در پساب تأسیسات آب‌شیرین‌کن

نیکتا مهدی‌پور*[۱]، سید عباس حسینی[۲]، سیدعلی‌اکبر هدایتی[۳]، مهدی ذوالفقاری[۴]، حمیده کردی[۵]، سارا حق‌پرست[۶]

۱. نویسنده مسئول، دانشجوی دکتری تولید و بهره‌برداری آبزیان، دانشکده شیلات و محیط‌زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: mehdipournikta@gmail.com

۲. استاد گروه تولید و بهره‌برداری آبزیان، دانشکده شیلات و محیط‌زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: seyedabbas_hosseini@yahoo.com

۳. استاد گروه تولید و بهره‌برداری آبزیان، دانشکده شیلات و محیط‌زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: hedayati@gau.ac.ir

۴. استادیار گروه عمل‌آوری محصولات شیلاتی، دانشکده شیلات و محیط‌زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: zolfaghari.mz@gmail.com

۵. دکتری تکثیر و پرورش آبزیان، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، رشت، ایران. رایانامه: hamide_kordi@yahoo.com

۶. استادیار گروه شیلات، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران. رایانامه: sarah_haghparast.yahoo.com

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:
مقاله کامل علمی- پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۲/۲۵
تاریخ ویرایش: ۱۴۰۱/۰۴/۱۹
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۶/۱۴

واژه‌های کلیدی:
آب‌شیرین‌کن،
پساب،
تصفیه زیستی،
میکروجلبک

چکیده

پژوهش حاضر به‌منظور بررسی فعالیت ضدمیکروبی ریزجلبک جنس سندسموس *Scenedesmus* sp. و اسپیرولینا پرورش‌یافته *Spirulina platensis* در محیط کشت BG-11 و پساب تأسیسات آب‌شیرین‌کن واحد بندرترکمن- استان گلستان در ممانعت از رشد، تکثیر باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس *Staphylococcus aureus* و گرم منفی اشرشیا کلی *Escherichia coli* صورت گرفت. جلبک‌ها به روش آبی- الکلی به نسبت (۵۰۰ سی‌سی الکل و ۵۰ سی‌سی آب مقطر) عصاره‌گیری شده و تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) با روش Broth micro dilution (پلیت‌های ۹۶ خانه) بررسی شد و با میزان فعالیت ضدباکتریایی رشد یافته در آب محیط زیست معمول خود مقایسه شدند. نتایج دو باکتری مذکور در حضور غلظت‌های مختلف عصاره آبی- اتانولی طی ۲۴ ساعت نشان داد که در عصاره استخراج شده جنس سندسموس و اسپیرولینا پرورش یافته در محیط‌کشت BG-11 و رقت‌های ۵۰ و ۱۰۰ درصد پساب، در برابر باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و اشرشیا کلی طی (۲۴ ساعت) حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) وجود نداشت. عصاره سندسموس پرورش یافته در BG-11 با غلظت ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر نسبت به اسپرولینا در ساعات

اولیه میزان غلظت باکتری اشرشیا کلی بیش‌تری دارد. با افزایش غلظت میزان باکتری در ساعات اولیه کم‌تر می‌شود. عصاره اسپیرولینا پلاتنسیس پرورش یافته در BG-11 نسبت به سندسموس در ساعات اولیه خواص کنترل‌کنندگی بالایی به باکتری استافیلوکوکوس نشان دادند. عصاره سندسموس پرورش‌یافته در پساب ۵۰ درصد نسبت به اسپیرولینا بیش‌ترین غلظت باکتری اشرشیاکلی در ساعات پایانی داشته است، به‌طوری‌که خواص کنترل‌کنندگی بالایی نسبت به اسپیرولینا در برابر اشرشیاکلی نشان دادند. هم‌چنین در عصاره سندسموس پرورش یافته در پساب ۵۰ درصد در غلظت‌های ۲۵، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر در ساعات پایانی میزان غلظت باکتری استافیلوکوکوس بالاتری نسبت به غلظت ۵۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر دارد و در اسپیرولینا در ساعات پایانی روند ثابتی داشته است. در هر دو عصاره پرورش یافته در پساب ۱۰۰ درصد در برابر باکتری اشرشیاکلی در همه غلظت‌ها طی زمان ٤ ساعت بیش‌ترین میزان غلظت باکتری نشان دادند. بنابراین در همه غلظت‌های دو عصاره طی زمان (۲-٤ ساعت) افزایش میزان غلظت باکتری استافیلوکوکوس نشان دادند. بنابراین اسپیرولینا پرورش یافته در پساب ۱۰۰ درصد نسبت به سندسموس در ساعات پایانی روند ثابتی را داشته و خواص کنترل‌کنندگی بیش‌تری در برابر استافیلوکوکوس را نشان دادند.

استناد: مهدی‌پور، نیکتا، حسینی، سید عباس، هدایتی، سیدعلی‌اکبر، ذوالفقاری، مهدی، کردی، حمیده، حق‌پرست، سارا (۱۴۰۲). بررسی فعالیت ضدباکتریایی عصاره ریزجلبک‌های *Scenedesmus* sp. و *Spirulina platensis* پرورش‌یافته در پساب تأسیسات آب‌شیرین‌کن. *نشریه بهره‌برداری و پرورش آبزیان*، ۱۲ (۳)، ۶۷-۴۹.

DOI: 10.22069/japu.2022.20042.1639

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

© نویسندگان.

مقدمه

ریزجلبک‌ها منابع بیولوژیکی مهمی هستند که طیف گسترده‌ای از برنامه‌های کاربردی زیست فناوری را به خود اختصاص داده‌اند (۱). امروزه در سراسر جهان جلبک‌ها نشان‌دهنده منبع پایان‌ناپذیری از مواد اولیه مورد استفاده در صنعت داروسازی، صنایع غذایی و لوازم آرایشی محسوب می‌شوند. از این جلبک‌ها برای تهیه آگار، کلاژن، ویتامین‌ها و استرول‌های مورد نیاز در صنعت داروسازی استفاده می‌شود. هم‌چنین جلبک‌ها طیف وسیع و جدیدی از ترکیبات با فعالیت ضدمیکروبی، ضدویروسی و فعالیت‌های ضدسرطانی از خود نشان می‌دهند (۲). به‌نظر می‌رسد تولید متابولیت‌های ثانویه در سویه‌های مختلف ریزجلبک‌ها متفاوت باشد و احتمالاً به شرایط محیطی نیز وابسته است. بنابراین تولید مواد فعال زیستی تحت عنوان متابولیت‌های ثانویه، در ریزجلبک‌ها، به منظور کمک به زنده ماندن آن‌ها در شرایط نامطلوب محیطی، به‌ویژه پساب‌ها رخ می‌دهد (۳). بنابراین تغییر در درجه حرارت، اسیدیته و شوری ترکیبات آلی و غیرآلی محیط‌کشت و نیز در دسترس بودن مواد غذایی، به‌طور مؤثری بر سنتز مواد فعال زیستی و خواص ضدباکتریایی در ریزجلبک‌ها اثر می‌گذارد (٤). امروزه بهره‌برداری ریزجلبک‌هایی هم‌چون کلرلا (*Chlorella* sp.)، اسپیرولینا (*Spirulina* sp.)، نانوکلروپسیس پورفیریدیم (*Nanochloropsis porphyridium*)، نوستوک (*Nostoc* sp.)، آنابنا (*Anabaena* sp.) و دونالیلا (*Dunaliella* sp.) به‌دلیل پتانسیل بالا و کاربرد فراوان در زمینه‌های خواص‌های ضد اکسیداتیو، ضدالتهابی، ضدباکتریایی در بخش‌های صنعتی، کشاورزی، دارویی و غذایی ابعاد بسیار گسترده‌ای یافته و در کشورهای صنعتی و پیشرفته جهان مورد استفاده قرار گرفته است (۵). در این راستا، پژوهش‌گران بیان نمودند که، ترکیبات به‌دست آمده از عصاره خالص‌سازی‌شده ریزجلبک *Scenedesmus costatum*، اثرات ضدباکتریایی بالا را نشان داده است (٦). بنابراین به‌دلیل ماهیت پیچیده محیط‌زیست دریایی، میکروارگانیسم‌های دریایی سیستم‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی پیچیده دارند که باعث سازگاری آن‌ها با زیستگاه‌هایی با شرایط نامساعد می‌گردد. این میکروارگانیسم‌ها در یک محیط بیولوژیکی رقابتی با شرایط منحصربه‌فرد از نظر شوری، و مواد مغذی، pH، فشار، دما، کاهش نور، اکسیژن زندگی می‌کنند و هم‌چنین برای حفظ بقا و دفاع قادر به تولید متابولیت‌های ثانویه منحصربه‌فرد هستند. این ترکیبات فعال بیولوژیکی در پاسخ به استرس تولید می‌شوند و فعالیت بسیار ارزشمندی در برنامه‌های کاربردی دارویی و بیوتکنولوژی از خود نشان داده‌اند (۷). پژوهش‌گران گزارش کردند که عصاره *Spirulina platensis* از رشد *Staphylococcus aureus*، *E. coli*، *Pseudomonas aeruginosa*، *Salmonella Typhi* و *Klebsiella pneumoniae* جلوگیری به‌عمل می‌آورد (۸).

وینی و همکاران (۹) در مطالعاتشان بیان نمودند که، عصاره بیش‌تر جلبک‌ها در شرایط آزمایشگاهی از نظر اثرات فعالیت ضد باکتریایی بر علیه استافیلوکوکوس اورئوس (*Staphylococcus aureus*) و سالمونلا تیفی موریوم (*Salmonella Typhimurium*)، قادرند از رشد این عصاره‌ها جلوگیری کنند. اوشارانی و همکاران (۱۰) در پژوهش‌های خود بیش‌ترین فعالیت ضدمیکروبی *Spirulina platensis* با روش متانولی بر روی سویه‌های باکتریایی و قارچی بیماری‌زا گزارش نمودند. مارز و همکاران (۱۱) گزارش کردند که عصاره *Scenedesmus obliquus* با روش اتانولی دارای فعالیت ضد باکتریایی بر علیه *S. aureus*،

Pseudomonas aeruginosa، *E. coli*، *Bacillus cereus* و *S. Typhi* با مقادیر MIC[1] در محدوده ۰/۳تا ۳ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بوده است. در این راستا، با گسترش روزافزون مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی در بین سویه‌های بیماری‌زای باکتریایی، جستجو برای یافتن ترکیبات جدید ضدمیکروبی هنوز هم به عنوان یکی از راهکارهای مورد توجه برای حل این معضل مطرح و ضروری است. این پژوهش با هدف بررسی تأثیر عصاره‌های (آبی- الکلی) ریزجلبک‌های *Scenedesmus* sp.، *Spirulina platensis* پرورش یافته در محیط کشت BG-11 و پساب خروجی تأسیسات آب‌شیرین‌کن با رقت (۱۰۰ و ۵۰ درصد) و مقایسه با محیط‌زیست معمول خود به‌منظور فعالیت ضدمیکروبی در برابر دو سویه باکتری گرم مثبت *Staphylococcus aureus* سویه (ATCC9144) و گرم منفی *Escherichia coli* سویه (ATCC25922) پرداخته می‌شود.

مواد و روش‌ها

شرایط رشد ریزجلبک: استوک ریزجلبک اسپیرولینا پلاتنسیس و جنس سندسموس از کلینیک تخصصی ریزجلبک کاسپین ساری تهیه و به آزمایشگاه فایکولب دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان منتقل شد. ریزجلبک‌ها برای کشت اولیه با محیط کشت BG-11 در دمای ۲ ± ۲۷ درجه سانتی‌گراد، شدت نور ۳۵۰۰ ± ۳۵۰ لوکس و دوره نوری (تاریکی: روشنایی) (۱۲:۱۲) به ترتیب طی ۲۱ و ۱٤ روز کشت داده شد (۱۲ و ۱۳). در ادامه نمونه پساب تهیه شده از تأسیسات آب‌شیرین‌کن استان گلستان- واحد بندرترکمن به مدت ۲۰ دقیقه اتوکلاو شد. سپس در رقت ۱۰۰ درصد و به کمک آب مقطر به صورت ۵۰ درصد رقیق کرده، سپس ریزجلبک را در آن، کشت داده شد (۱٤). قبل از عصاره گیری نمونه‌ها بعد از گذراندن طول دوره کشت از طریق سانتریفیوژ یخچالدار جلبک از محیط کشت مورد آزمایش (BG-11) و (پساب تاسیسات آب‌شیرین‌کن با رقت ۵۰ و ۱۰۰ درصد) با سرعت ٤۰۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد جداسازی به عمل آمد. سپس، نمونه‌ها با استفاده از دستگاه فریزدرایر خشک و جمع‌آوری شدند و تا زمان عصاره‌گیری، در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

تهیه و کشت باکتری: آمپول لیوفیلیزه باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس سویه (ATCC9144) و گرم منفی اشرشیاکلی سویه (ATCC25922) از بانک ملی ذخایر ژنتیکی ایران تهیه و مقدار ۱۵ گرم از محیط کشت مولر هینتون براث[2] (Merk, Darmstadt, Germany) در ۵۰۰ سی‌سی آب مقطر حل شد و بر روی شعله تا زمانی که رنگ محیط شفاف شود تکان و حرارت داده شد. سپس محیط‌کشت در اتوکلاو با درجه حرارت ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه استریل و به مدت ۲٤ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید. پس از رسیدن به کدورت مناسب (نیم مک‌فارلند که معادل با $۱/۵ \times ۱۰^{۸}$ باکتری) (۱۵)، جهت ایجاد تک کلنی بر روی (MHB) کشت داده شد و تا زمان بررسی فعالیت ضد میکروبی عصاره در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

تهیه عصاره: عصاره‌گیری به روش آبی- اتانولی (محلول هیدروالکی) انجام شد. ابتدا بر طبق اصلاحات جزیی، مطابق روش Espinel-Ingroff and Pfaller (۱٦)، پودر جلبک بر اساس نسبت (۵۰۰ سی‌سی الکل و ۵۰ سی‌سی آب مقطر) مخلوط گشت. سپس برای مقادیر پودر سندسموس پرورش‌یافته در BG-11 به‌میزان ۳/۳۵ گرم، اسپیرولینا پرورش‌یافته در BG-11

1- Minimum Inhibitory Concentration

2- MHB

به‌میزان ٤/٤٦ گرم، سندسموس پرورش‌یافته در رقت ٥٠ درصد به‌میزان ٢/٧٣ گرم، سندسموس پرورش‌یافته در رقت ١٠٠ درصد، به‌میزان ٣/٨٥ گرم، اسپیرولینا پرورش‌یافته در رقت ٥٠ درصد، به‌میزان ٣/٢٦ گرم و اسپیرولینا پرورش یافته در رقت ١٠٠ درصد به‌میزان ٢/٣٦ گرم بر اساس نسبت مذکور جهت تهیه عصاره جلبکی نسبت‌ها محاسبه شد و سوسپانسیون در دمای ٢٥ درجه سانتی‌گراد و به‌مدت ٢٤ ساعت در دستگاه shaker هموژنیزه گشت. سپس مخلوط در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد با دور ٨٠٠٠ rpm به مدت ١٠ دقیقه داخل سانتریفیوژ یخچال‌دار (Eppendorf Centrifuge 5810 R ساخت آلمان) سانتریفیوژ شد. مایع رویی (عصاره) به‌وسیله کاغذ واتمن شماره ١ فیلتر و توسط دستگاه فریزدرایر به پودر تبدیل شد. ماده ته‌نشین شده خشک و وزن شد و به نسبت (١ به ٢٠) با آب مقطر ترکیب شد. به‌طوری‌که، به‌ازای هر ١ گرم حدود ٢٠ سی‌سی آب مقطر اضافه شد و مجدداً روی دستگاه shaker در دمای ٢٥ درجه سانتی‌گراد و به‌مدت ٢٤ ساعت قرار داده شد. سپس مخلوط در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد با دور ٣٥٠٠ rpm به مدت ١٠ دقیقه در سانتریفیوژ یخچال‌دار مایع رویی جدا و توسط فریزدرایر پودر شد. سپس ماده ته‌نشین شده خشک مجدداً به نسبت (١ به ٢٠) با آب مقطر مخلوط گردید و مجدداً به‌مدت ٢٤ ساعت شیک و پس از سانتریفیوژ، مایع رویی (عصاره) به وسیله کاغذ واتمن شماره ١ فیلتر و سپس عصاره حاصل توسط دستگاه فریزدرایر به پودر تبدیل شد. (لازم به ذکر است که در هر مرحله برای خارج شدن حلال مایع رویی در دستگاه روتاری Rotary Evaporator DV-42N-250 قرار داده شد و سپس به پودر تبدیل گردید). در پایان تمام عصاره‌های پودر شده به دست آمده از مراحل فوق در فریزر ٢٠- درجه سانتی‌گراد تا زمان مرحله بعدی آزمایش نگه‌داری شدند. برای ساختن غلظت‌های عصاره‌ها ابتدا سندسموس پرورش‌یافته با BG-11 با ٣/٣٥ گرم، اسپرولینا پلاتنسیس پرورش‌یافته با BG-11 با ٤/٤٦ گرم، سندسموس پرورش‌یافته در رقت ٥٠ درصد پساب با ٢/٧٣ گرم، اسپیرولینا پرورش‌یافته در رقت ٥٠ درصد پساب با ٣/٢٦ گرم، سندسموس پرورش‌یافته در رقت ١٠٠ درصد پساب با ٣/٨٥ گرم و اسپیرولینا پرورش‌یافته در رقت ١٠٠ درصد پساب با ٢/٣٦ گرم از وزن خشک هر کدام از فازها را در ٢ میلی‌لیتر آب مقطر حل شد تا محلول استوک با غلظت‌های ٢٥، ٥٠، ١٠٠ و ٢٠٠ میلی‌گرم در میلی‌لیتر به‌دست آید. هر آزمایش در سه تکرار انجام گردید (١٧).

تیمارهای عصاره‌گیری آزمایش به‌صورت زیر می‌باشد: تیمارها شامل ١- ریزجلبک رشدیافته در پساب ٥٠ درصد آب‌شیرین‌کن، ٢- ریزجلبک رشدیافته در پساب ١٠٠ درصد آب‌شیرین‌کن، ٣- ریزجلبک رشد یافته در BG-11 و شاهد مثبت بود. پس از مقایسه تیمارها و شاهد با یکدیگر، سپس در قسمت بحث با ریزجلبک رشدیافته در آب محیط‌زیست معمول خود مقایسه گردید که محیط‌زیست معمول این دو ریزجلبک مورد مطالعه در سواحل جنوب شرقی دریای خزر، خلیج گرگان (منطقه نزدیک تأسیسات آب‌شیرین‌کن بندرترکمن) است. طبق مطالعات پیشین، این محیط شامل پارامترهای شیمیایی هم‌چون (Po_4، TP، total Phosphorus، NH_4، No_3، No_2) (TN (total nitrogen) و Sio_2) (١٨).

بررسی فعالیت ضد باکتریایی عصاره ریزجلبک

تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) با روش Broth micro dilution: برای تعیین حداقل غلظت بازدارنده (MIC) رشد باکتری‌ها توسط عصاره‌ها، از روش Broth micro dilution سنجش

گردید. برای این منظور از میکروپلیت‌های ۹۶ چاهکی استفاده شد (۱۹). این میکروپلیت‌ها دارای ۸ ردیف ۱۲ چاهکی به حجم ۲۵۰ میکرولیتر هستند که می‌توان هم‌زمان ۸ نمونه عصاره را تست MIC گذاشت. در چاهک اول هر ردیف میکروپلیت ۱۰۰ میکرولیتر و در بقیه چاهک‌ها از خانه ۲ تا ۱۲ میزان ۵۰ میکرولیتر محیط کشت مولر هینتون براث ریخته شد. سپس از چاهک ۱ تا ۱۰ رقیق‌سازی افقی صورت گرفته و ۵۰ میکرولیتر از چاهک اول را برداشته و در چاهک دوم ریخته و بعد از چند بار پر و خالی کردن به منظور مخلوط شدن عصاره با محیط کشت، از چاهک دوم برداشته و به چاهک سوم می‌ریزیم. این کار را تا چاهک شماره ۱۰ ادامه می‌دهیم و سپس از چاهک شماره ۱۰ میزان ۵۰ میکرولیتر به بیرون می‌ریزیم. در ادامه از محلول استوک تهیه شده از باکتری‌ها مطابق با استاندارد نیم مک فارلند با غلظت 1×10^{6} میزان ۵۰ میکرولیتر به تمام میکروپلیت به استثنای چاهک‌های شماره ۱۲ هر ردیف اضافه شد. چاهک‌های شماره ۱۲ هر ردیف به عنوان شاهد مثبت عصاره فقط حاوی محیط کشت و چاهک شماره ۱۱ به‌عنوان شاهد منفی شامل باکتری و محیط‌کشت است و در مرحله آخر میکروپلیت در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد و در نهایت میزان جذب کدورت چاهک‌های میکروپلیت در طول موج ۴۹۲ نانومتر توسط دستگاه الایزا ریدر مدل (HOSPITEX DIAGNOSTICS) خوانده شد. برای تعیین حداقل غلظت بازدارنده رشد، اولین چاهکی که کدورتی نداشته و به عبارت دیگر رشد باکتری در آن مشاهده نشد به عنوان MIC (میلی‌گرم در میلی‌لیتر) منظور شد. برای جلوگیری از آلودگی تمامی کارها در زیر هود انجام شد (۲۰).

آنالیز آماری: نتایج کمی حاصل از سنجش اثر عصاره‌های هر دو ریزجلبک به‌طور جداگانه بر افزایش یا کاهش حجم باکتری‌های اشرشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس طی بازه‌های زمانی از آزمون تکرار سنجش (Repeated measures) با استفاده از نرم‌افزار spss20 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و هم‌چنین برای رسم شکل‌ها از نرم‌افزار Excel 2010 استفاده شد.

نتایج و بحث

تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (MIC)

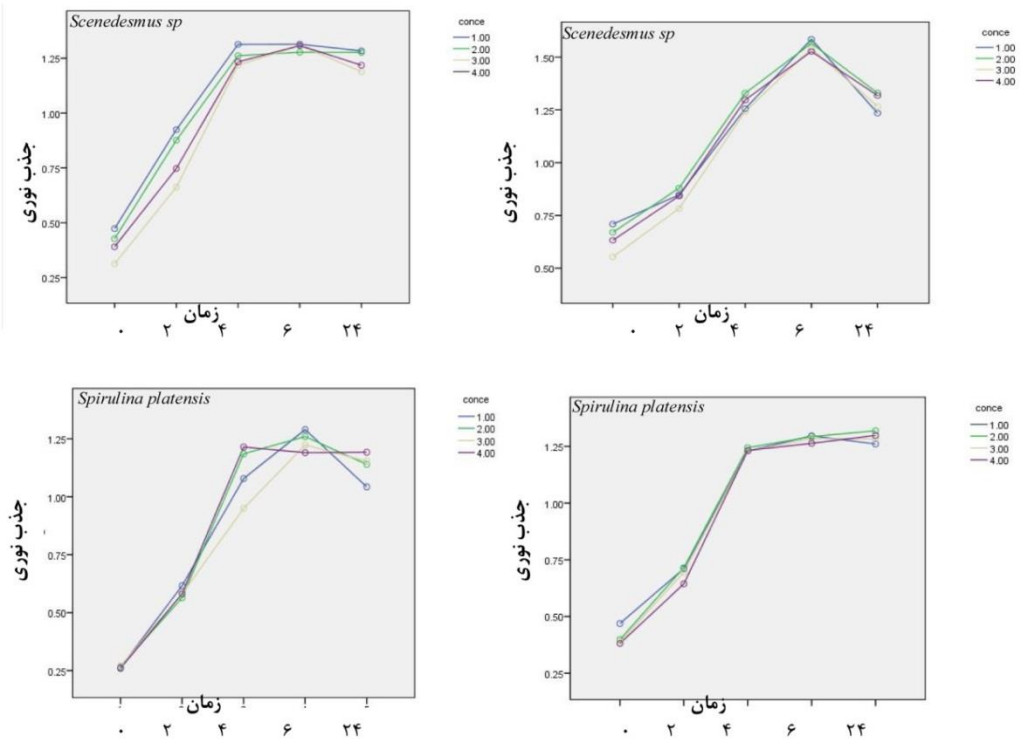
ارزیابی حداقل غلظت مهارکننده رشد (MIC) عصاره جلبکی پرورش‌یافته در محیط کشت BG-11 و پساب (رقت ۵۰ و ۱۰۰ درصد): شواهد عینی MIC در میکروپلیت‌های ۹۶ خانه‌ای و نتایج میزان غلظت باکتری حاصل جذب در دستگاه الایزا ریدر در بازه‌های زمانی (۰، ۲، ٤، ٦، ٢٤ ساعت) نشان داد که، در عصاره آبی- اتانولی عصاره سندسموس و اسپیرولینا پلاتنسیس درغلظت‌های ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر پرورش‌یافته در BG-11، پساب (۵۰ و ۱۰۰ درصد) طی مدت ٢٤ ساعت در برابر باکتری‌های گرم مثبت (*S. aureus*) و گرم منفی (*E. coli*) خاصیت ضدباکتریایی وجود ندارد. طبق شکل ۱، بیش‌ترین میزان غلظت باکتری *E. coli* در غلظت ۲۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره سندسموس پرورش‌یافته در BG-11 به میزان ۱/۳۱±۰/۱۳ در زمان ٦ ساعت و کم‌ترین میزان باکتری در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر به میزان ۰/۰۹ ± ۰/۳۱ در زمان صفر نشان داد و هم‌چنین بیش‌ترین میزان باکتری (*E. coli*) در غلظت ۲۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره اسپیرولینا پلاتنسیس به میزان ۰/۰۰ ± ۱/۲۸ در

زمان ٦ ساعت افزایش غیرمعناداری داشته و افزایش غلظت‌ها با افزایش زمان بر میزان غلظت باکتری تفاوتی با هم ندارند و کم‌ترین میزان در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر به میزان ۰/۰٦ ± ۰/۲۵ در زمان صفر ساعت نشان داد. میزان باکتری در غلظت ۲۰۰ عصاره اسپیرولینا از زمان ٤ تا ۲٤ ساعت روند ثابتی داشته است.

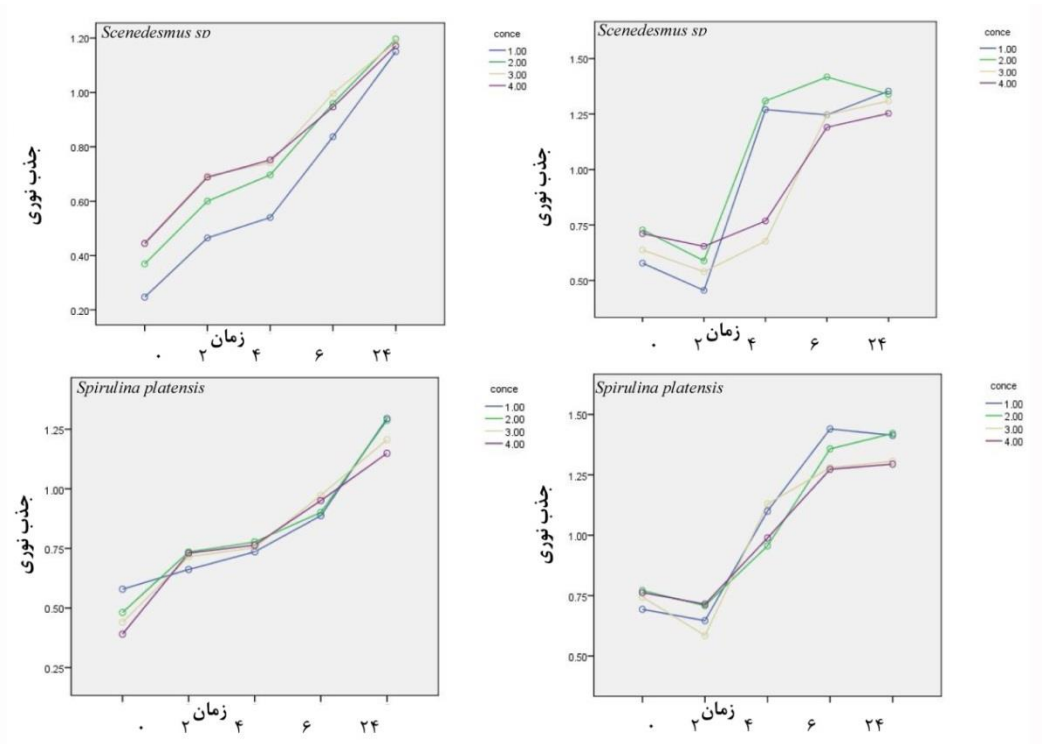
بر طبق نتایج عصاره سندسموس BG-11 در غلظت ۲۵ و ۲۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر به ترتیب در زمان ٤ و ٦ ساعت باعث افزایش معناداری رشد اشرشیاکلی می‌گردد (P<۰/۰۵). رشد باکتری در غلظت‌های ۲۵ و ۵۰ عصاره سندسموس در مقایسه با کنترل، میزان باکتری روند ثابتی داشته و تغییر محسوسی از خود نشان نداده است (P>۰/۰۵). هم‌چنین عصاره اسپیرولینا نیز توانست در بازه زمانی (٦ تا ۲٤ ساعت) در غلظت ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر رشد باکتری اشرشیاکلی را کاهش دهد (P<۰/۰۵). طبق شکل ۱، افزایش غیرمعنادار باکتری (*S. aureus*) در غلظت ۲۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره سندسموس پرورش‌یافته در BG-11 به‌میزان ۱/۵۸±۰/۰۰ در زمان ٦ ساعت (P>۰/۰۵) و کم‌ترین میزان در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر حدود ۰/۵۵±۰/۲۱ در زمان صفر ساعت نشان داد به‌طوری‌که، افزایش غلظت و زمان بر میزان باکتری اثرات غیرمعناداری داشته و هم‌چنین بیش‌ترین باکتری (*S. aureus*) در غلظت ۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره اسپیرولینا پلاتنسیس به‌میزان ۱/۳۱±۰/۱۲ در زمان ۲٤ ساعت افزایش غیرمعناداری داشته (P>۰/۰۵) و میزان باکتری در غلظت ۲۵ و ۱۰۰ در زمان ۲٤ ساعت کاهش غیرمعناداری دارد. کم‌ترین میزان باکتری در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر به‌میزان ۰/۱٤ ± ۰/۳۸ در زمان صفر نشان داده است، به‌طوری‌که با افزایش غلظت باعث کاهش معنادار غلظت باکتری شده است. طبق شکل ۲، غلظت بر میزان باکتری در طول زمان اثر معناداری دارد (P<۰/۰۵). بیش‌ترین میزان باکتری (*E. coli*) در غلظت ۲۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره سندسموس پرورش‌یافته در پساب ۵۰ درصد به‌میزان ۱/۲۷±۰/۰٤ در زمان ۲٤ ساعت افزایش غیرمعناداری داشته و کم‌ترین میزان در غلظت ۲۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر به‌میزان ۰/۲٤±۰/۰۱ در زمان صفر ساعت کاهش غیرمعناداری نشان داد و رشد باکتری در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر طی زمان ٦ ساعت افزایش معناداری داشته است (P<۰/۰۵) و بیش‌ترین میزان باکتری (*E. coli*) در غلظت ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره اسپیرولینا پلاتنسیس پرورش‌یافته در پساب ۵۰ درصد در زمان ۲٤ ساعت به‌ترتیب میزان (۱/۲۰±۰/۱۰، ۱/۲٦±۰/۰۹ و ۱/۲٤±۰/۰۷) افزایش غیرمعناداری داشته و کم‌ترین میزان در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر به‌میزان ۰/٤٤±۰/۰٤ در زمان صفر کاهش معناداری نشان داد (P<۰/۰۵). طبق شکل ۲، اثر تعاملی بین زمان و غلظت عصاره در سطح خطای ۰/۰۵ تفات معناداری دارد. بیش‌ترین میزان باکتری (*S. aureus*) در غلظت ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره سندسموس پرورش‌یافته در پساب ۵۰ درصد به‌ترتیب ۰/۰۸ ± ۱/۳٤ و ۰/۰۵ ± ۱/۲۸ به‌ترتیب در زمان ۲٤ و در ٦ ساعت به‌ترتیب ۱/۳۱±۰/۰۷ و ۱/۲٦±۰/۰٤ افزایش غیرمعناداری داشته و کم‌ترین میزان باکتری در غلظت ۲۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر به میزان ۰/۰۳ ± ۰/٤۰ در زمان ۲ ساعت کاهش غیرمعناداری نشان داد (P>۰/۰۵) و رشد باکتری طی زمان ٦ ساعت در غلظت ۲۵ میلی‌گرم در

میلی‌لیتر روند ثابتی داشته و در سایر غلظت‌ها افزایش معناداری نشان دادند. هم‌چنین بیش‌ترین میزان باکتری (*S. aureus*) در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره اسپیرولینا پلاتنسیس پرورش‌یافته در پساب ۵۰ درصد به‌میزان ۱/۴۳±۰/۰۹ در زمان ۲۴ ساعت افزایش معناداری داشته و کم‌ترین میزان باکتری در غلظت ۲۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره به‌میزان ۰/۴۸ ±۰/۰۴ در زمان ۲ ساعت کاهش غیرمعناداری نشان داد. به‌طوری‌که، طی زمان صفر تا ۲ ساعت همه مقادیر غلظت به‌خصوص ۱۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر به‌میزان ۰/۷۳±۰/۰۹ باعث کاهش غیرمعناداری در غلظت باکتری داشته و سپس از زمان ۲ به ٤ و ٦ ساعت افزایش معناداری چشمگیری داشته و در غلظت ۱۰۰ و ۲۰۰ طی زمان ۲٤ ساعت روند ثابتی داشته است.

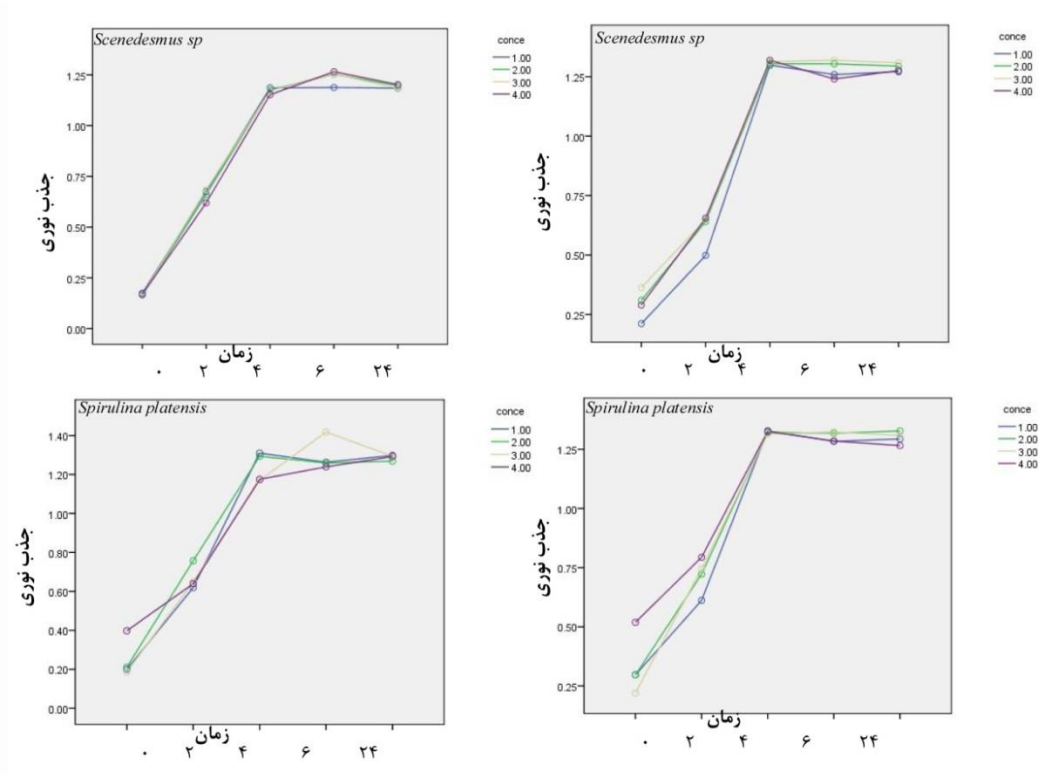
طبق شکل ۳، در همه غلظت‌ها طی بازه زمانی ٤ ساعت باعث افزایش معنادار رشد باکتری بوده به‌طوری‌که، بیش‌ترین میزان باکتری (*E. coli*) در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره سندسموس پرورش‌یافته در پساب ۱۰۰ درصد به میزان ۰/۰۰ ± ۱/۲٦ در زمان ٦ ساعت افزایش معناداری داشته و کم‌ترین میزان باکتری در غلظت ۵۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر حدود ۰/۱٦ ±۰/۰۲ در زمان صفر نشان داد. هم‌چنین میزان باکتری در غلظت ۲۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر طی زمان ۲٤-٤ ساعت روند ثابتی داشته در غلظت ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ طی زمان ۲٤-٦ روند کاهش غیرمعناداری نشان دادند و بیش‌ترین میزان باکتری (*E. coli*) در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره اسپیرولینا پلاتنسیس پرورش‌یافته در پساب ۱۰۰ درصد به میزان ۱/٤۱±۰/۲۰ در زمان ٦ ساعت افزایش معناداری داشته و پس از آن تا زمان ۲٤ ساعت روند نزولی داشته و کم‌ترین میزان باکتری در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره اسپیرولینا پلاتنسیس ۰/۱۸ ± ۰/۰٤ در زمان صفر کاهش غیرمعناداری نشان داد. در غلظت ۵۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر طی زمان (۲٤-٤ ساعت) روند کاهشی- ثابتی داشته است. طبق شکل ۳، بیش‌ترین میزان باکتری (*S. aureus*) در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره سندسموس پرورش‌یافته در پساب ۱۰۰ درصد حدود ۱/۳۱ ± ۰/۰۱ در زمان ٦ ساعت افزایش معناداری داشته و در غلظت ۲۰۰ طی زمان ۲٤-٦ ساعت روند افزایش غیرمعناداری نشان داد و میزان باکتری در غلظت ۵۰ و ۱۰۰ طی زمان ٤-۲٤ ساعت روند ثابتی داشته و سپس کم‌ترین میزان باکتری در غلظت ۲۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره به میزان ۰/۲۱ ± ۰/۰۵ در زمان صفر کاهش معناداری نشان داد و هم‌چنین بیش‌ترین میزان باکتری (*S. aureus*) در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره اسپیرولینا پلاتنسیس پرورش‌یافته در پساب ۱۰۰ درصد به میزان ۱/۳۲±۰/۰۱ در زمان ٤ ساعت افزایش معناداری داشته و کم‌ترین میزان باکتری در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر حدود ۰/۲۲ ± ۰/۰۵ در زمان صفر کاهش معناداری نشان داد و میزان رشد باکتری در غلظت ۵۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر طی زمان (۲٤-٤ ساعت) روند ثابتی را داشته است. با افزایش غلظت و مدت زمان میزان غلظت باکتری کاهش می‌یابد.



شکل ۱- رشد باکتری اشرشیا اکولای و استافیلوکوکوس اورئوس به‌ترتیب چپ و راست تحت‌تأثیر غلظت‌های عصاره سندسموس و اسپیرولینا پلاتنسیس (۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) در BG-11 طی ۲٤ ساعت.



شکل ۲- رشد باکتری اشرشیا کلای و استافیلوکوکوس اورئوس به‌ترتیب سمت چپ و راست تحت‌تأثیر غلظت‌های عصاره سندسموس و اسپیرولینا پلاتنسیس (۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) در پساب ۵۰ درصد طی ۲٤ ساعت.



شکل ۳- رشد باکتری اشرشیا کلای و استافیلوکوکوس اورئوس به‌ترتیب سمت چپ و راست تحت‌تأثیر غلظت‌های عصاره سندسموس و اسپیرولینا پلاتنسیس (۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) در پساب ۱۰۰ درصد طی ۲٤ ساعت.

در دهه‌های اخیر پژوهش‌گران مواد فعال زیستی از چندین گونه ریزجلبک را به عنوان عصاره سلولی و فرآورده خارج سلولی مانند کاروتنوئیدها، لیپیدها، پلی‌ساکاریدها، ترپنوئیدها و کلروفیل که دارای خاصیت ضدمیکروبی هستند را استخراج نمودند (۲۱ و ۲۲). از این‌رو، تنوع منحصربه‌فرد ریزجلبک‌ها توانایی بالای آن‌ها را در جهت تبدیل شدن به یک منبع غنی از ترکیبات با پتانسیل‌های بیوتکنولوژیکی تبدیل نموده است (۲۳). از آنجایی‌که ریزجلبک‌ها در شرایط استرس‌زا نیاز به مقاومت و سازگاری دارند تا بقای خود را حفظ کنند، ممکن است به علت تغییرات متابولیکی، ترکیبات منحصربه‌فردی تولید کنند (۲٤ و ۲۵). در این پژوهش با توجه به شکل ۱، نتایج حاصل از تست MIC نشان داد که، عصاره آبی- اتانولی عصاره سندسموس و اسپیرولینا پلاتنسیس در غلظت‌های ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر پرورش‌یافته در BG-11 طی مدت ۲٤ ساعت در برابر باکتری‌های گرم مثبت (*S. aureus*) و گرم منفی (*E. coli*)، در مقایسه با (محیط معمول زیست خود)، خواص ضدباکتریایی در پژوهش حاضر وجود ندارد. با توجه به استفاده از حلال‌های مختلف برای فعالیت‌های ضدباکتریایی، هنوز بهترین نوع حلال برای استخراج عصاره نامشخص است (۲٦). از این‌رو تأثیر نوع حلال در عصاره‌گیری جلبک بر روی میزان خواص ضدباکتریایی در پژوهش رانیا و همکاران (۲۷) به خوبی مشهود است. آن‌ها سه گونه سیانوباکتری *Spirulina platensis*، *Anabaena oryzae*، *Tolypothrx ceitonica* و دو ریزجلبک *Scenedesmus quadricauda* و *Chlorella* sp. را با چهار حلال متانول، اتانول، دی اتیل اتر و استون

عصاره‌گیری کردند که این عصاره‌ها خواص ضدباکتریایی علیه باکتری *Bacillus subtilis* نشان دادند. با توجه به نتایج شکل ۱، بیش‌ترین میزان باکتری *E. coli* در غلظت ۲۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره سندسموس پرورش‌یافته در BG-11 به میزان ۱/۳۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر در زمان ٦ ساعت و کم‌ترین در غلظت ۱۰۰ در زمان صفر به میزان ۰/۳۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر نشان داد. بیش‌ترین میزان باکتری (*E. coli*) در غلظت ۲۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره اسپیرولینا پلاتنسیس به میزان ۱/۲۸ میلی‌گرم در میلی‌لیتر در زمان ٦ ساعت افزایش غیرمعناداری داشته و افزایش غلظت‌ها با افزایش زمان بر میزان باکتری تفاوتی با هم ندارند و کم‌ترین در غلظت ۲۰۰ به‌میزان ۰/۳۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر در زمان صفر ساعت نشان داد. با توجه به نتایج شکل ۱، میزان باکتری (*S. aureus*) در غلظت ۲۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره سندسموس پرورش‌یافته در BG-11 در زمان ٦ ساعت افزایش غیرمعناداری داشته (P>۰/۰۵) و کم‌ترین در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر در زمان صفر ساعت نشان داد به‌طوری‌که، افزایش غلظت و زمان بر میزان باکتری اثرات غیرمعناداری داشته و هم‌چنین بیش‌ترین میزان باکتری (*S. aureus*) در غلظت ۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره اسپیرولینا پلاتنسیس در زمان ٢٤ ساعت افزایش غیرمعناداری داشته (P>۰/۰۵) و میزان باکتری در غلظت ۲۵ و ۱۰۰ در زمان ٢٤ ساعت کاهش غیرمعناداری دارد. لای و همکاران (۲۸) آزمایشی روی گونه کلرلا پیرنوئیدوزا *pyrenoidosa* (*Chlorella*) انجام داده و بیان نمودند که، عصاره اتانولی این جلبک از رشد باکتری *Bacillus subtilis* و *Bacillus cereus* ممانعت می‌کند. دیا و همکاران (۲۹) بیان نمودند که، بیش‌ترین فعالیت ضد باکتریایی ریزجلبک *S. obliquus* پرورش‌یافته در محیط کشت BG-11 در برابر (*S. aureus*) و *Aspergillus steynii* با مقادیر به‌ترتیب ۰/۵ و ۰/٦ میلی‌گرم در میلی‌لیتر ثبت شده است، در حالی‌که کم‌ترین فعالیت در برابر *A. ochraceus* و *A. carbonarus* با مقدار ۱/۸ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بوده است که با پژوهش حاضر همخوانی ندارد. هم‌چنین جعفری و همکاران (۳۰) طبق نتایج حاصل از انتشار چاهک نشان دادند که، اختلاف معناداری بین خواص ضدمیکروبی عصاره استخراج شده کلرلا ولگاریس پرورش‌یافته در محیط کشت BG-11 وجود ندارد که در مطالعات حاضر عصاره دو ریزجلبک پرورش‌یافته در محیط کشت BG-11 نیز خواص ضدباکتریایی نشان ندادند. پژوهش‌گران در مطالعه تأثیر وضعیت تامین مواد مغذی بر ترکیب زیست‌توده ریزجلبک سبز یوکاریوتی، بیان نمودند که، هر یک از درشت مغذی‌ها نقش زیادی در متابولیسم اولیه دارند. هم‌چنین با تغییر متابولیسم اولیه ریزجلبک سبز، منجر به تولید متابولیت‌های ثانویه مختلف گردیده و در نتیجه تغییر در فعالیت ضد باکتریایی وجود دارد (۳۱).

مارز و همکاران (۱۱) گزارش کردند که عصاره *Scenedesmus obliquus* با روش اتانولی دارای فعالیت ضدباکتریایی بر علیه *S. aureus*، *B. cereus*، *E. coli*، *P. aeruginosa* و *S. typhi* با مقادیر MIC در محدوده ۰/۳ تا ۳ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بوده است که با مطالعات حاضر مشابهت ندارد.

قنبری (۳۲) در پژوهش خود بیان نمود که، عصاره اتانولی ریزجلبک *Spirulina* sp. جداسازی شده با رقت ۰/۰۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر کم‌ترین فعالیت ضد میکروبی بر علیه باکتری *S. aureus* مشاهده نمودند که در پژوهش حاضر در غلظت ۲۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره سندسموس بیش‌ترین میزان باکتری نشان داده شد، به‌طوری‌که، با افزایش غلظت فعالیت ضدمیکروبی عصاره کم‌تر شده است. به‌نظر

می‌رسد عصاره ریزجلبک اسپیرولینا استخراج شده از محیط بومی خواص ضدمیکروبی قدرتمندی در برابر باکتری‌ها و قارچ‌های بیماری‌زا برخوردار باشند. نتایج بسیاری از مطالعات بر روی ارزیابی اثر آنتی‌بیوتیکی عصاره‌های جلبکی، نشان داده که گونه‌های جمع‌آوری شده از زیستگاه‌های مختلف (اعم از خاک، دریا و رودخانه‌ها) حاوی منابع غنی از مواد مهارکننده رشد و تکثیر باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی هستند (۳۳ و ۳٤). پژوهش‌گران بیان نمودند که اخیراً از ریزجلبک‌های سبز جهت کاهش آلاینده‌های فاضلاب و مواد مغذی اضافی ناشی از دفع فضولات انسان و حیوان استفاده شده است، بنابراین جلبک‌هایی که به‌طور طبیعی در مناطقی با میزان بالای پساب صنعتی یا انسانی یافت می‌شوند، احتمالاً قادرند با سطوح بالایی از اعضای جامعه میکروبی کنار بیایند. مطالعات نشان داده‌اند که محیط‌های آلوده به طور بالقوه می‌توانند سلول‌های ریزجلبکی را تحریک به تولید ترکیبات ضد باکتریایی کنند (۳۵ و ۳٦). این پژوهش در مقایسه با محیط زیست معمول خود در مطالعات پیشین نشان داده که، هر دو ریزجلبک خاصیت ضدباکتریایی بالایی دارند که در این راستای همین موضوع، چتسومن و همکاران (۳۷) خاصیت آنتی‌باکتریال را از سیانوباکترهای جداشده از دریاچه شمال تایلند گزارش کردند. در این بررسی خاصیت آنتی‌باکتریال عصاره جنس‌های اوسیلاتوریا، لینگبیا و آنابنا (*Anabna* sp. ،*Lyngbia* sp. ،*Oscillatoria* sp.) روی باکتری‌های اشرشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس بی‌تأثیر بودند.

از سوی دیگر، محمدی (۳۸) در بررسی تست میکروبی MIC از عصاره ریزجلبک اسپیرولینا (*Arthrospira platensis*) خالص‌سازی‌شده با استفاده از روش مایکروویو بیان نمودند که، این عصاره برای جلوگیری از رشد باکتری‌های باسیلوس سرئوس، استافیلوکوکوس اورئوس، سالمونلا تیفی و اشرشیا کلای مؤثر نبوده است که با مطالعات حاضر همخوانی دارد. آلروبایی و همکاران (۳۹) در مطالعه اثر ضدباکتریایی عصاره‌های اسپیرولینا پلاتنسیس بر زنده ماندن گونه‌های باکتریایی بیان نمودند که، ترکیبات فعال موجود در عصاره *Spirulina platensis* باکتری را به روشی متنوع و قابل‌توجه مهار می‌کند. هم‌چنین بیان نمودند که، اثر بازدارندگی عصاره *S. platensis* با باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت متفاوت است. با توجه به نتایج شکل ۲، بیش‌ترین غلظت باکتری (*E. coli*) در غلظت ۲۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره سندسموس پرورش‌یافته در پساب ۵۰ درصد به میزان ۰/۰٤ ± ۱/۲۷ در زمان ۲٤ ساعت افزایش معناداری نداشته (P>۰/۰۵) و کم‌ترین در غلظت ۲۵ به میزان ۰/۰۱ ± ۰/۲٤ میلی‌گرم در میلی‌لیتر در زمان صفر ساعت کاهش غیرمعناداری نشان داد که در این راستا صفری و همکاران (٤۰) در بررسی پژوهش‌های خود بیان نمودند که، رشد باکتری گرم مثبت *Bacillus subtilis* در غلظت‌های (۰/۳، ۰/٦، ۰/۹، ۱/۵، ۳، ٦، ۹ میکروگرم بر میلی‌لیتر) عصاره اتانولی *Chlorella vulgaris* تغییر محسوسی از خود نشان نداده است که از این‌رو در مطالعات حاضر در غلظت‌های بیش‌تر عصاره پرورش‌یافته در پساب ۵۰ درصد خواص ضدباکتریایی تغییرات چشمگیری مشاهده نشد. و طبق شکل ۲، بیش‌ترین میزان باکتری (*E. coli*) در غلظت ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره اسپیرولینا پلاتنسیس در پساب ۵۰ درصد، در زمان ۲٤ ساعت افزایش غیرمعناداری داشته و کم‌ترین در غلظت ۲۰۰ در زمان صفر کاهش معناداری نشان داد (P<۰/۰۵). بیش‌ترین میزان باکتری (*S. aureus*) در غلظت ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره سندسموس در پساب ۵۰ درصد به‌ترتیب در زمان ۲٤ و ٦ ساعت افزایش غیرمعناداری

داشته و کم‌ترین میزان باکتری در غلظت ۲۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر در زمان ۲ ساعت کاهش غیرمعناداری نشان داد. هم‌چنین بیش‌ترین میزان باکتری (*S. aureus*) در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره اسپیرولینا پلاتنسیس در پساب ۵۰ درصد در زمان ۲٤ ساعت افزایش معناداری داشته و کم‌ترین میزان باکتری در غلظت عصاره ۲۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر در زمان ۲ ساعت کاهش غیرمعناداری نشان داد. به‌طوری‌که، طی زمان صفر تا ۲ ساعت همه دزهای غلظت به‌خصوص در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر باعث کاهش غیرمعناداری در غلظت باکتری داشته و سپس از زمان ۲ به ٤ و ٦ ساعت افزایش معناداری چشمگیری داشته و در غلظت ۱۰۰ و ۲۰۰ طی زمان ۲٤ ساعت روند ثابتی داشته است. در این راستا صفری و همکاران (٤۰)، اثر عصاره اتانولی با غلظت‌های (۰/۳، ۰/٦، ۰/۹، ۱/۵، ۳، ٦، ۹ و ۱۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) جلبک کلرلا ولگاریس بر باکتری باسیلوس سوبتی لیس بررسی نمودند و بیان نمودند که در غلظت ۱۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر باعث کاهش معنی‌دار رشد باسیلوس سوبتی لیس می‌گردد (P<۰/۰۱). هم‌چنین متذکر شدند که، رشد باکتری در غلظت‌های کم‌تر از ۱۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره اتانولی کلرلا در مقایسه با کنترل، تغییر محسوسی از خود نشان نداده است. فعالیت ضدباکتریایی وابسته به عوامل بسیاری از جمله گونه جلبک، حلال‌های مورد استفاده، میکروارگانسیم‌ها، فصل و شرایط رشد و نگهداری جلبک‌ها هستند (٤۱، ٤۲، ٤۳، ٤٤). با توجه به شکل ۳، عصاره با رقت ۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر در اسپیرولینا پلاتنسیس پرورش‌یافته در رقت ۱۰۰ درصد در برابر *S. aureus* به ترتیب بیش‌ترین و کم‌ترین میزان باکتری مشاهده شد. بنابراین بر طبق نتایج عددی میزان غلظت باکتری حاصل از الایزا می‌توان بیان نمود که، مقاومت باکتری گرم مثبت و گرم منفی در برابر عصاره‌های ریزجلبک ممکن است به دلیل ساختار دیواره سلولی چند لایه‌ای پیچیده‌تر آن‌ها باشد، چرا که میزان عددی الایزا با خواص ضدباکتریایی عصاره ریزجلبک‌ها رابطه مستقیم دارد و هرچه غلظت عصاره بیش‌تر باشد، در ساعات اولیه خواص کنترل‌کنندگی عصاره‌ها بیش‌تر و مقاومت باکتریایی کم‌تر می‌گردد. با توجه به شکل ۳، در همه غلظت‌ها طی بازه زمانی ٤ ساعت باعث افزایش معنادار رشد باکتری بوده به‌طوری‌که، بیش‌ترین میزان باکتری (*E. coli*) در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره سندسموس پرورش‌یافته در پساب ۱۰۰ درصد در زمان ٦ ساعت افزایش معناداری داشته و کم‌ترین میزان باکتری در غلظت ۵۰ در زمان صفر نشان داد. هم‌چنین میزان باکتری در غلظت ۲۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر طی زمان ۲٤-٤ ساعت روند ثابتی داشته در غلظت ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ طی زمان ۲٤-٦ روند کاهش غیرمعناداری نشان دادند و بیش‌ترین میزان باکتری (*E. coli*) در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره اسپیرولینا پلاتنسیس پرورش‌یافته در پساب ۱۰۰ درصد در زمان ٦ ساعت افزایش معناداری داشته و پس از آن تا زمان ۲٤ ساعت روند نزولی داشته و کم‌ترین میزان باکتری در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره اسپیرولینا پلاتنسیس در زمان صفر کاهش غیرمعناداری نشان داد. در غلظت ۵۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر طی زمان (۲٤-٤ ساعت) روند کاهشی- ثابتی داشته است. در این راستا مور (٤۵) بیان نمودند که، فعالیت ضدمیکروبی سیانوباکتری‌ها بیش‌تر علیه باکتری‌های گرم مثبت دیده شده و دلیل این امر، مقاوم بودن بیش‌تر باکتری‌های گرم منفی به عوامل سمی محیطی و نیز سد لیپوپلیساکاریدی غشای بیرونی آن‌ها باشد. با توجه به شکل ۳، بیش‌ترین میزان باکتری (*S. aureus*) در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر

عصاره سندسموس پرورش‌یافته در پساب ۱۰۰ درصد در زمان ٦ ساعت افزایش معناداری داشته و در غلظت ۲۰۰ طی زمان ٢٤-٦ ساعت روند افزایش غیرمعناداری نشان داد و میزان باکتری در غلظت ۵۰ و ۱۰۰ طی زمان ٤-٢٤ ساعت روند ثابتی داشته و سپس کم‌ترین میزان باکتری در غلظت ۲۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره در زمان صفر کاهش معناداری نشان داد و هم‌چنین بیش‌ترین حجم باکتری (*S. aureus*) در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره اسپیرولینا پلاتنسیس پرورش‌یافته در پساب ۱۰۰ درصد در زمان ٤ ساعت افزایش معناداری داشته و کم‌ترین میزان باکتری در غلظت ۱۰۰ در زمان صفر کاهش معناداری نشان داد و میزان رشد باکتری در غلظت ۵۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر طی زمان (٢٤-٤ ساعت) روند ثابتی را داشته است. با افزایش غلظت و مدت زمان میزان باکتری کاهش می‌یابد.

اردوگ و همکاران (٤٦)، اثرات ضد باکتریایی بالایی از جلبک سبز *Scenedesmus* sp. گزارش نمودند که با مطالعات حاضر مشابهت دارد و هم‌چنین در مقایسه با محیط‌زیست معمول خود، در مطالعات دیگری رحیمی و همکاران (٤٧)، بررسی اثر فعالیت ضدمیکروبی (MIC) روی تعدادی از جلبک‌های سبز- آبی و سبز جمع‌آوری شده از مشهد و حومه پرداختند و بیان نمودند که، عصاره دو گونه متعلق به خانواده *Scenedesmaceae* دارای خاصیت ضدمیکروبی قوی‌تری بودند و بیش‌ترین فعالیت ضدمیکروبی مربوط به استخراج عصاره با روش اتر (قطبی) و متانولی (غیرقطبی) بوده و عصاره‌های آبی هیچ‌گونه فعالیت مهاری از خود نشان ندادند. تقوی تکیار و همکاران (٤٨)، مقایسه خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره الکلی دو جلبک (*Spirulina platensis*) و (*Chlorella vulgaris*) در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان می‌دهد که با افزایش غلظت در هر دو ریزجلبک، تغییرات میانگین‌های مربوط به میزان باکتری جزئی و محسوس بوده است. به‌طوری‌که، با افزایش میزان عصاره میزان باکتری‌ها کم‌تر بوده و باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس و باکتری گرم منفی اشیرشیا کلی مقاومت نسبتاً بالایی به عصاره‌های ریزجلبک مذکور داشت.

نتیجه‌گیری

عصاره سندسموس پرورش‌یافته در BG-11 نسبت به اسپرولینا در ساعات اولیه میزان باکتری اشرشیا کلی بیش‌تری دارد. بنابراین با افزایش غلظت عصاره‌ها میزان باکتری در ساعات اولیه کم‌تر می‌شود. از سوی دیگر، عصاره اسپیرولینا پلاتنسیس پرورش‌یافته در BG-11 نسبت به سندسموس در ساعات اولیه مقاومت بالایی به باکتری استافیلوکوکوس اورئوس نشان دادند. عصاره سندسموس پرورش‌یافته در پساب ۵۰ درصد نسبت به اسپیرولینا پلاتنسیس بیش‌ترین باکتری اشرشیاکلی در ساعات پایانی داشته است، به‌طوری‌که مقاومت بالایی نسبت به اسپیرولینا در برابر اشرشیاکلی داشتند. در عصاره سندسموس پرورش‌یافته در پساب ۵۰ درصد در غلظت‌های ۲۵، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر در ساعات پایانی میزان باکتری استافیلوکوکوس اورئوس بالاتری نسبت به غلظت ۵۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر دارد و در اسپیرولینا در ساعات پایانی روند ثابتی داشته است. در هر دو عصاره پرورش‌یافته در پساب ۱۰۰ درصد در برابر باکتری اشرشیاکلی در همه غلظت‌ها طی زمان ٤ ساعت بیش‌ترین باکتری نشان دادند. در عصاره سندسموس و اسپیرولینا در پساب ۱۰۰ درصد به‌ترتیب با غلظت ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر طی زمان ٤ ساعت به بعد روند ثابتی نشان دادند و در عصاره سندسموس نسبت به اسپیرولینا با غلظت ۲۰۰ در ساعات پایانی میزان باکتری اشرشیاکلی کم‌تری

داشتند. در همه غلظت‌های دو عصاره طی زمان (٤-٢ ساعت) افزایش باکتری استافیلوکوکوس اورئوس نشان دادند. اسپیرولینا پرورش‌یافته در پساب ١٠٠ درصد نسبت به سندسموس در ساعات پایانی روند ثابتی را داشته و مقاومت بیش‌تری در برابر استافیلوکوکوس را نشان دادند.

منابع

1. Chun, W. L. (2012). Biotechnological applications of microalgae. International e-Journal of Science, *Medicine and Education*, 6, 24-37.
2. Borowitzka, M. A. (1999). Patents. *Journal of Applied Phycology*, 11 (6), 599-603.
3. Leflaive, J., & Ten-Hage, L. (2007). Algal and cyanobacterial secondary metabolites in freshwaters: a comparison of allelopathic compounds and toxins. *Freshwater Biology*, 52 (2), 199-214.
4. Sang, M., Wang, M., Liu, J., Zhang, C., & Li, A. (2012). Effects of temperature, salinity, light intensity, and pH on the eicosapentaenoic acid production of (*Pinguiococcus pyrenoidosus*). *Journal of Ocean University of China*, 11 (2), 181-186.
5. Lourdes, M., Gómez, M., Carmen, P., & Legido, J. L. (2017). The Potential Use of Marine Microalgae and Cyanobacteria in Cosmetics and Thalassotherapy. **www.mdpi.com/ journal/ cosmetics.** *Cosmetics*. 4 (46), 1-14.
6. Mendiola, J. A., Torres, C. F., Toré, A., Martín-Álvarez, P. J., Santoyo, S., & Arredondo, B. O. (2007). Use of supercritical CO_2 to obtain extracts with antimicrobial activity from Chaetoceros muelleri microalga. A correlation with their lipidic content. European Food Research and Technology, 224(4), 505-510.
7. Wenzel, S. C., & Müller, R. (2005). Recent developments towards the heterologous expression of complex bacterial natural product biosynthetic pathways. *Curr. Opin. Biotechnol.* 16 (6), 594-606.
8. Kaushik, P., & Chauhan, A. (2008). In vitro antibacterial activity of laboratory grown culture of (*Spirulina platensis*). *Indian Journal of Microbiology*. 48 (3), 348-52.
9. Vinay, K., Bhatnagar, A. K., & Srivastava, J. N. (2011). Antibacterial activity of crude extracts of (*Spirulina platensis*) and its structural elucidation of bioactive compound. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5 (32), 7043-7048.
10. Usharani, G., Srinivasan, S., Sivasakthi, & Saranraj, P. (2017). Antimicrobial Activity of (*Spirulina platensis*) Solvent Extracts against Pathogenic Bacteria and Fungi. *J. ABR*. 8 (6), 96-101.
11. Marrez, D. A., Sultan, Y. Y., & Embaby, M. A. (2017). Biological activity of the cyanobacterium (*Oscillatoria brevis*) extracts as a source of nutraceutical and biopreservative agents, *Int. J. Pharmacol*. 13, 1010e1019.
12. Piri, Z. M., & Ordog, V. (1997). Effect of some herbicides commonly used in Iranian agriculture on aquatic food chain. Ph.D. thesis to the Hungarian Academy of Science. pp. 19-130. [In Persian]
13. Lu, Q., Liu, H., Liu, W., Ming, C., Zhong, Y., Wei, Qian, W., Wang, Q., & Liu, J. (2017). Pretreatment of brewery effluent to cultivate (*Spirulina* sp.) for nutrients removal and biomass production. Water Science and Technology. 76, 7.
14. El Sergany, F. A. R., El Fadly, M., & El Nadi, M. H. (2014). Brine Desalination by using algae pond under nature condition. *American Journal of Environment Engineering*, 4 (4), 75-79.
15. Abbaszadegan, A., Ghahramani, Y., Gholami, A., Hemmateenejad, B., Dorostkar, S., & Nabavizadeh, M. (2015). The effect of charge at the surface of silver nanoparticles on antimicrobial activity against gram-positive and gramnegative bacteria: a preliminary study. *Journal of Nanomaterials*. 2, 1-8.

16. Espinel-Ingroff, A. V., & Pfaller, M. A. (2007). Susceptibility test methods yeasts and filamentous fungi. In: Manual of clinical microbiology, 9th ed., Murray, P. R., et al. (Eds.), ASM Press, Washington, DC, 1972p.
17. Salehi, M., Moradi, S., Aghili, T., & Razavipour, R. (2012). Search in Iranian patients in (*Streptococcus Mutans*) isolated I/III and II genes mutacin. *Medical Science Journal of Islamic Azad University*, 21 (2), 89-96. [In Persian]
18. Gharaei, A., Ghafari, M., Karmi, R., Ali Akbarian, A., Alizadeh, A. A., Abbasi Mohammadabadi, M., & Khairabadi, V. (2013). Identification, diversity and density of the phytoplankton community of the coast of Golestan province and Gorgan Bay. *Journal of New Technologies in Aquaculture Development, Islamic Azad University, Azadshahr Branch*, 10 (2), 25-43. [In Persian]
19. Galvão, L. C. dC., Furletti, V. F., Bersan, S. M. F., da Cunha, M. G., Ruiz, A. L. T. G., Carvalho, J., et al. (2012). Antimicrobial activity of essential oils against Streptococcus mutans and their antiproliferative effects. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, pp. 1-12.
20. Clinical and Laboratory Standards Institute, (2012). Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically; Approved Standard, CLSI document M07-A7, Fort Wayne, Ind, USA, 26, 2. 7th edition.
21. Abd, El., Baky, H. H., El Baz, F. K., & El-Baroty, G. S. (2007). Production of carotenoids from marine microalgae and its evaluation as safe food colorant and lowering cholesterol agents. *American Eurasian Journal of Agricultural Environmental Science*, 2, 792-800.
22. Herrero, M., Cifuentes, A., & Ibanez, E. (2006). Supercritical fluid extraction of functional ingredients from different natural sources: Plants, food-by-products, algae and microalgae A review. *Food Chemistry*, 98, 136-148.
23. Olaizola, M. 2003. Commercial development of microalgal Biotechnology: from the test tube to the market place. *Biomolecular Engineering*, 20, 459-466.
24. Gerloff-Elias, A., Spijkerman, E., & Proschold, T. (2005). Effect of external pH on the growth, photosynthesis and photosynthetic electron transport of (*Chlamydomonas acidophila*) Negoro, isolated from an extremely acidic lake (pH 2.6). Plant Cell Environ. 28, 1218-1229.
25. Procházková, G., Brányiková, I., Zachleder, V., & Brányik, T. (2014). Effect of nutrient supply status on biomass composition of eukaryotic green microalgae, *J. Appl. Phycol*. 26, 1359-1377.
26. Zheng, Y., Chen, Y., & Lu, H. (2001). Screening for antibacterial and antifungal activities in some marine algae from the Fujian coast of China with three different solvents. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 19 (4), 327-331.
27. Rania, M., Abedinhala, A., & Taha, M. (2008). Antibacterial and Antifungal Activity of Cyanobacteria and Green Microalgae. *Global Journal of Biotechnology and Biochemistry*, 3 (1), 22-31.
28. Lai Shan, Y., Yao Chu, C., Chun Wei, T., & Ping Lin, L. (2004). Antibacterial Activity of (*Chlorella Pyrenoidosa*) Extracts, *Journal of Applied Phycology*, 42 (3), 224-230.
29. Diaa, A. M., Naguib, M. M., Sultan, Y. Y., & Higazy, A. A. 2019. Antimicrobial and anticancer activities of *Scenedesmus obliquus* metabolites. https://doi.org/ 10.1016/j.heliyon.2019.e01404 http:/ /creativecommons.org/licenses/ by- nc-nd/ 4.0/) *Heliyon*, 5 (3), 1-22.
30. Jafari, S., Mubasher, M. A., Najafipour, S., Ghasemi, Y., Mubasher, N., Naghizadeh, M. M., & Ebrahimi, M. A. 2015. Investigating the inhibitory effect of (*Chlorella vulgaris*) microalgae extract on growth, reproduction and biofilm formation by (*Streptococcus mutans*) and evaluating its toxicity. *Journal of Fasa University of Medical Sciences*, 5th year, 3, 387-398. [In Persian]
31. Grobbelaar, J. U. (2013). Inorganic algal nutrition. *In:* Richmond, A. and Hu, Q. (Eds.) Handbook of Microalgal Culture*:* Applied Phycology and Biotechnology. 2nd ed. Blackwell Publishing Ltd., Hoboken, NJ, pp. 123-133.

32. Ghanbari, H. (2016). Investigating the antioxidant activity of microalgae (*Spirulina* sp.) and measuring the antimicrobial properties of this microalgae and the phycocyanin pigment extracted from it. Master's thesis. Department of Biology (Plant Physiology Major), Faculty of Basic Sciences, Gilan University. [In Persian]
33. Mudimu, O., Rybalka, N., Bauersachs, T., Born, J., Friedi, T., & Schulz, R., (2014). Biotechnological Screening of Microalgal and Cyanobacterial Strains for Biogas Production and Antibacterial and Antifungal Effects. *Metabolites*, **https://doi.org/10.3390/metabo4020373.** 4 (2), 373-393.
34. Volk, R. B., & Furkert, F. H. (2006). Antialgal, antibacterial and antifungal activity of two metabolites produced and excreted by cyanobacteria during growth. 161 (2), 180-186.
35. Zhou, G. J., Ying, G. G., Liu, S., Zhou, L. J., Chen, Z. F., & Peng, F. Q. (2014). Simultaneous removal of inorganic and organic compounds in wastewater by freshwater green microalgae. *Environ. Sci. Process. Impacts.* 16, 2018-2027.
36. Mezzari, M. P., Prandini, J. M., Kich, J. D. & Silva, M. L. B. D. (2017). Elimination of antibiotic multi-resistant *Salmonella typhimurium* from swine wastewater by microalgae-induced antibacterial mechanisms. *J. Bioremediat. Biodegrad.* 8, 379.
37. Chetsumon, A., Hirata, K., Miura, Y., et al. (1993). Factor's affecting antibiotic production in bioreactors with immobilized algal cells *Appl. Biochem. Biotechnol.* 39-40, 573-586.
38. Mohammadi, M. A. (2013). Optimizing the extraction of bioactive compounds from spirulina (*Arthrospira platensis*) with the help of microwave and evaluating its antioxidant and antimicrobial properties. Master's thesis. Shiraz Faculty of Agriculture and Natural Resources. 127 p. [In Persian]
39. Alrubaie, G., Zaki, N. H., Al-Hashimi, A., & Khuyon, A. (2021). Antibacterial Effect of (*Spirulina platensis*) Extracts on the Viability of Bacterial Species Isolated form Acne Patients in Baghdad. Annals of R.S.C.B., ISSN:1583-6258, 25 (2), 3851-3859.
40. Safari, R., Abtahi, B., & Tayibi, P. (2011). Investigating the inhibitory effects of (*Chlorella vulgaris*) algae extract on (*Bacillus subtilis*) bacteria in laboratory culture environment. Scientific Research Journal of Food Science and Technology, third year. Second issue, summer 90. pp. 28-33. [In Persian]
41. Prakash, J., Johnson, M., & Jeeva, S. (2011). Antimicrobial activity of certain fresh water micro-algae from river Thamirabarani, Tamilnadu, South India. *Asian Pac Journal Trop Biomed*. 1, 168-171.
42. Nelson, M., Phleger, C., & Nichols, P. (2002). Seasonal lipid composition in macroalgae of the northeastern Pacific Ocean. *Botanica Marina*. 45 (1), 58-65.
43. Freile-Pelegrin, Y., & Morales, J. (2004). Antibacterial activity in marine algae from the coast of Yucatan, Mexico. Botanica Marina, 47 (2), 140-146.
44. Radhika, D., Veerabahu, C., & Priya, R. (2012). Antibacterial activity of some selected seaweeds from the Gulf of Mannar coast, South India. *Asian Journal Pharm Clinnical Research*, 5 (4), 276-282.
45. Moore, R. E., Corbett, T. H., Patterson, G. M. L., et al. (1996). The Search for New Antitumor Drugs from Blue-Green Algae. *Curr. Pharm Des.* 2 (3), 317-330.
46. Ordog, V., Stirk, R., Lenobel, M., Bancirova, M., Strand, J., & Vanstanden, W. (2004). Screening microalgae for some potentially useful agricultural and pharmaceutical secondary metabolites, *J. Applied phycol.* 16, 309-314.
47. Rahimi, S., Zakai, M., & Soltani, N. (2010). Antimicrobial activity of 5 types of blue-green algae and 3 types of green algae collected from Mashhad and suburbs. Herbal medicines, pre-issue 2/ (summer 2010), pp. 47-50. [In Persian]
48. Taqavi Takyar, M. B., Haghighat Khajovi, Sh., & Safari, R. (2018). Comparison of antioxidant properties of alcoholic extracts of (*Spirulina platensis*) and (*Chlorella vulgaris*) in laboratory conditions. Caspian Sea Aquatic Magazine, 2, 3. [In Persian]