مجله علوم وفنون دریایی، فصل نامه ی علمی پژوهشی

دوره ۲۲، شماره۱، بهار ۱۴۰۲، صفحات ۴۴ تا ۵۵

مقاله پژوهشی

Available Online: *http://jmst.kmsu.ac.ir*

بررسی فعالیت ضدجلبکی عصاره‌های گیاه دارویی پونه کوهی (*Mentha longifolia (L.)*)

زینب توکل [۱]، غلامرضا شریفی سیرچی [۲*]، مرتضی یوسف‌زادی [۳]

۱. دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران.
۲. بخش مهندسی بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران.
۳. گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه قم، قم، ایران.

نویسنده مسئول، پست الکترونیک: Sharifisirchi@yahoo.com

تاریخ دریافت:۱۳۹۹/۰۲/۲۸ **تاریخ بازنگری:**۱۳۹۹/۰۶/۱۸ **تاریخ پذیرش:** ۱۴۰۱/۰۹/۰۷

شناسه دیجیتال (DOI): 10.22113/JMST.2023.231614.2372

چکیده

بیوفولینگ مشکلی است که توسط بیوفیلم‌های میکروبی ایجاد می‌شود. امروزه مطالعات بسیاری در مورد رفع معضلات بیوفولینگ صورت گرفته است. مهم‌ترین بررسی‌ها روی شناسایی ترکیبات آنتی‌فولینگی طبیعی در محیط زیست دریا صورت گرفته است. در این مطالعه، خواص ضدجلبکی عصاره‌های الکلی و آبی گیاه دارویی پونه کوهی (*Mentha longifolia*)، با استفاده از حلال‌های ان‌هگزان، اتیل‌استات، متانول و آبی بررسی شدند. ریزجلبک *Chlorella vulgaris* و ریزجلبک *Chaetoceros muelleri* در محیط کشت تغییر یافته F2 به کشت انبوه رسیدند. عصاره‌ها به میزان مشخص، در حلال (DMSO) حل شده و در غلظت‌های مختلف به لوله‌های آزمایش حاوی محیط کشت ریزجلبک اضافه گردید. آزمایش در سه تکرار انجام شد. پس از ۲۴ ساعت، در زیر میکروسکوپ نوری، تعداد جلبک‌ها به وسیله لام نئوبار شمارش گردید. آنالیز داده‌ها به وسیله برنامه SAS و مقایسه داده‌ها به وسیله آزمون چند دامنه‌ای دانکن صورت گرفت. بررسی تجزیه آماری عصاره‌های گیاه دارویی پونه کوهی روی ریزجلبک *C. vulgaris* و *C. muelleri*، نشان داد که در سطح احتمال ۰/۰۰۱، بین تیمارها از نظر آماری اختلاف معنی‌دار وجود دارد. عصاره ان‌هگزانی پونه کوهی، با غلظت ۲۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر برای ریزجلبک *C. Vulgaris* و برای ریزجلبک *C. muelleri*، عصاره با غلظت ۱۰میلی‌گرم بر میلی‌لیتر برای گیاه پونه کوهی دارای بیشترین مهارکنندگی بود.

واژگان کلیدی: پونه کوهی، بیوفولینگ، ضدجلبک، *C. vulgaris* و *C. muelleri*.

Copyrights:

Copyright for this article is retained by the author(s), with publication rights granted Journal of Marine Science and Technology. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons. org/licenses/ by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

۱. مقدمه

رسوب زیستی (بیوفولینگ) مشکلی است که توسط بیوفیلم‌های میکروبی ایجاد می شود. لایه لجن ایجاد شده روی سطوح به عنوان نمایش معمول از پدیده‌ای به نام بیوفولینگ می‌باشد (Bahrami et al., 2013). میکروجلبک‌ها، میکروارگانیسم‌های پریوکاریوتی یا یوکاریوتی فتوسنتزکننده‌ای هستند که به‌سرعت رشد می‌کنند و با توجه به ساختار تک‌سلولی یا چندسلولی ساده‌ای که دارند در محیط‌های مختلف رشد می‌کنند. سیانوباکتری‌ها نمونه‌های از ریزجلبک‌های پریوکاریوتی و جلبک سبز و دیاتوم‌ها نمونه‌های از یوکاریوت‌ها هستند (Mata et al., 2010). تشکیل بیوفیلم باعث مشکلات در بسیاری از شاخه‌های صنعت از قبیل سیستم‌های صنایع آب و صنایع پزشکی و فرآوری می‌شود. علاوه بر ایجاد مشکلات در تصفیه و بهداشت، بیوفیلم می‌تواند باعث تلف کردن انرژی و انسداد در لوله‌های کندانسور، مواد خنک کننده، مدارهای آب و فاضلاب، لوله‌های انتقال حرارت و کشتی‌ها شود. بیوفیلم هم‌چنین می‌تواند باعث ایجاد خطرات میکروبی به دلیل انتشار پاتوژن از برج‌های خنک کننده یا کاهش کیفیت آب در سیستم‌های توزیع آب آشامیدنی گردد (Tiina et al., 2009). انباشت بیوفیلرها روی بدنه‌ها می‌تواند حجم هیدرودینامیکی یک مخزن و اصطکاک هیدرودینامیکی را افزایش دهد، که منجر به افزایش کشش تا ۶۰ درصد می‌شود (Yousef zadi et al., 2013). با آگاهی عمومی از مشکلاتی که پوشش‌های مسی و زیست‌کش‌ها برای محیط زیست دریایی ایجاد می‌کردند و هم‌چنین توجه به هزینه‌های تحمیلی به کشتی‌ها بر اثر فولینگ‌ها، تلاش‌ها بر دست‌یابی به پوشش‌هایی موثر و با سمیتی پایین تمرکز یافت (Qian et al., 2011).

تحقیقات نشان داده است که برخی از گیاهان دارویی می‌توانند رشد جلبک‌ها را به سرعت مهار کنند، بنابراین فعالیت‌های ضدجلبکی گیاهان خشکی، یک راه برای کنترل جلبکی آب‌های یوتروف است (Lixiao et al., 2010). گیاهان دارویی خانواده نعنا به دلیل غنی بودن از ترکیبات فنولی توجه اکثر محققان را به خود جلب نموده‌اند. عامل اصلی بروز اثرات پاداکسایشی، ضدمیکروبی و خواص دارویی گیاهان خانواده نعنا ناشی از اسانس‌ها و اسیدهای فنولی گزارش شده است (Sajadi et al., 2004; Kamkar et al., 2010). نتایج حاکی از این بررسی نشان می‌دهد که رشد میکروجلبک *Cochlodinium polykrikoides* با استفاده از غلظت‌های مختلف اسانس‌های گیاهی مهار شد. با توجه به اینکه اسانس‌های گیاهی خاصیت ضدجلبکی بسیار عالی از خود نشان داده اند (Barani et al., 2014)، در مطالعه حاضر، بررسی سمیت عصاره‌های گیاهی پونه کوهی، روی ریزجلبک *Chlorella vulgaris* و *Chaetoceros muelleri* مورد بررسی قرار گرفتند.

۲. مواد و روش‌ها

برای تهیه عصاره‌های گیاهی، برگ تازه گیاه پونه کوهی از منطقه سیرچ استان کرمان جمع‌آوری و انجام پروژه در آزمایشگاه بیوتکنولوژی دانشکده کشاورزی دانشگاه هرمزگان صورت گرفت. پس از پاک‌سازی برگ‌ها و شست‌وشو با آب مقطر، نمونه‌ها در شرایط سایه و دمای اتاق خشک و آسیاب شدند. عصاره‌گیری با استفاده از آب مقطر و حلال‌های آلی (ان‌هگزان، اتیل‌استات و متانول) به‌ترتیب افزایش قطبیت با دخیل نمودن کلیه پارامترهای موجود برای حفظ تکرارپذیری (تعیین وزن خشک عصاره‌ها، تعیین وزن عصاره به وزن پودر و غیره) انجام گرفت (Saednia et al., 2006; Murray et al., 2001; Ismail et al., 2008; Gohari et al., 2005 and Yousefzadi et al., 2013). ابتدا ۷۰ گرم برگ را وزن و حلال ان‌هگزان تا اندازه‌ای که روی سطح گیاه را بپوشاند، بر روی نمونه‌ها ریخته شد و در محیط تاریک به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد. پس از آن یک‌بار به وسیله کاغذ صافی معمولی و سپس، با کاغذ واتمن صاف شدند. عصاره‌ها در زیر هود شیمیایی قرار داده شد تا حلال آن‌ها تبخیر شود. سپس، روی تفاله نمونه‌ها، حلال اتیل‌استات اضافه نموده، بعد از گذشت ۲۴ ساعت، عمل عصاره‌گیری انجام گرفت. در مرحله سوم، با استفاده از حلال متانول و پس از ۲۴ ساعت، عمل عصاره‌گیری انجام شد. در ارلن‌جداگانه‌ای برای به‌دست آوردن عصاره آبی، روی ۵۰ گرم از نمونه گیاهی، آب مقطر به میزانی که روی گیاه را بپوشاند، ریخته و پس از ۲۴ ساعت، مراحل عصاره‌گیری انجام شد.

به منظور تهیه استوک اولیه مورد نیاز جهت شروع کشت با شوری مورد نیاز و محیط کشت F2، ریز جلبک‌های *Chaetoceros muelleri* از ایستگاه تحقیقات کلاهی میناب و *Chlorella vulgaris* از مرکز تحقیقات شیلات بندرلنگه استان هرمزگان تهیه شد. در این مرحله آب دریا از پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان در بندرعباس تهیه گردید و شوری آن توسط آب مقطر به اندازه موردنظر کاهش داده شد. برای درست کردن این محیط کشت، ترکیبات ذکر شده در جدول ۱ را به دقت در آب مقطر حل کرده و به حجم یک لیتر رسانده و از دستگاه اتوکلاو برای استریل کردن محیط کشت استفاده گردید (Suresh et al., 2016).

برای کشت و انبوه‌سازی میکروجلبک‌های *Chlorella vulgaris* و *Chaetoceros muelleri*، استوک خالص میکروجلبک *Chaetoceros muelleri* و *Chlorella vulgaris* در محیط کشت F_2 تغییر یافته مطابق (جدول ۱) کشت شدند (Adham, 2015).

ابتدا به منظور جلوگیری از آلودگی، تمام وسایل مورد نیاز آزمایش را در محلول H_2SO_4 با غلظت ۵ درصد استریل و با آب‌مقطر شسته شدند.

جدول ۱-. ترکیبات مورد استفاده در محیط کشت تغییریافته (مقادیر مورد نیاز برحسب (*mg L^{-1}*))
Table 1-. Compounds used in the modified culture medium (*mg L^{-1}*)

نام ترکیب	مقادیر	نام ترکیب	مقادیر
$NaNO_3$	۷۵	$FeCl_3.6H_2O$	۳/۱۶
$NaH_2PO_4.2H_2O$	۵	$CuSO_4.5H_2O$	۰/۰۱
$Na_2SiO_3.9H_2O$	۴/۳۶	$ZnSO_4.7H_2O$	۰/۰۲۳
Na_2EDTA	۲۰	$CoCl_2.6H_2O$	۰/۰۱۲
$MnCl_2.4H_2O$	۰/۱۸	Vitamin B12	۰/۵
Vitamin B1	۰/۱	Biotin	۰/۵
$Na_2MoO_4.2H_2O$	۰/۵		

آب‌دریا با شوری ۲۵ ppm تهیه و فیلتر شده و در دستگاه اتوکلاو استریل گردید. پس از سرد شدن آب دریا و رسیدن به دمای اتاق، با افزودن مقدار معینی موادمغذی (یک میلی‌لیتر برای ۵۰۰ میلی‌لیتر آب)، ویتامین (۲۵۰ میکرولیتر برای ۵۰۰ میلی‌لیتر آب) و سیلیکات برای ریزجلبک *Chaetoceros muelleri* (۵۰۰ میکرولیتر برای ۵۰۰ میلی‌لیتر آب)، استوک میکروجلبک به میزان ۵ درصد به آن اضافه گردید. میکروجلبک‌های کشت داده شده با نوری به روشنایی ۷۵۰±۱۰۰۰ لوکس و دوره‌ی نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، دمای۲±۲۵ درجه سانتی‌گراد، شوری ۲۵–۲۷ppm و pH =۷–۸ به کشت انبوه رسانده شد (Banerjee et al., 2014). پس از گذشت ۱۰ روز از کشت، به وسیله دستگاه اسپکتوفتومتر OD جلبک‌ها خوانده شد. طول موج مناسب برای ریزجلبک *Chlorella vulgaris* (۶۸۵ نانومتر) و برای ریزجلبک*Chaetoceros muelleri* (۶۸۰ نانومتر) می‌باشد.

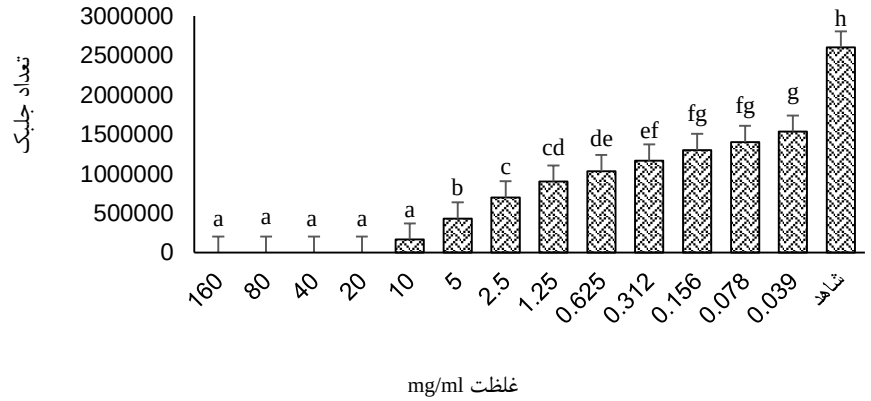
برای بررسی اثر عصاره‌ها بر بازدارندگی رشد میکرو جلبک‌های *Chlorella vulgaris* و *Chaetoceros muelleri* عصاره‌های به دست آمده وزن و با یک نسبت یکسان در حلال دی‌متیل‌سولفوکسید (DMSO)، به غلظت مشخصی رسانده شد. برای انجام آزمایش محیط کشت F_2 تغییر یافته به میزان ۲ میلی‌لیتر برای هر لوله اضاف شد. رقیق سازی بر پایه یک دوم انجام گرفت. یک لوله نیز به‌عنوان شاهد، بدون عصاره و حاوی DMSO در نظر گرفته، سپس، در همه لوله ها جلبک کشت داده شده، به میزان ۱ میلی‌لیتر اضافه گردید. تراکم نهایی جلبک در هر لوله آزمایش در روز اول آزمایش 1×10^3 cell.mL^{-1} خواهد بود. هر تیمار به صورت سه تکرار انجام شد. تراکم جلبک‌ها بعد از ۲۴ ساعت و به وسیله‌ی لام هموسیتومتر و با روش پیشنهاد شده توسط (Sorgeloos et al., 2001) مورد ارزیابی قرار گرفت. نمونه‌هایی که از نظر شکل ظاهری سالم هستند به وسیله میکروسکوپ نوری شمارش شدند.

تحلیل آماری نتایج با استفاده از نرم افزار SAS و با به کارگیری آزمون های پارامتری آنالیز واریانس یک طرفه ANOVA در قالب آزمون یکطرفه و آزمون مقایسه میانگین چند دامنه‌ای دانکن جهت مقایسه میانگین داده‌ها انجام شد و سطح معنی‌دار برای داده $P<0.05$ در نظر گرفته شد.

۳. نتایج

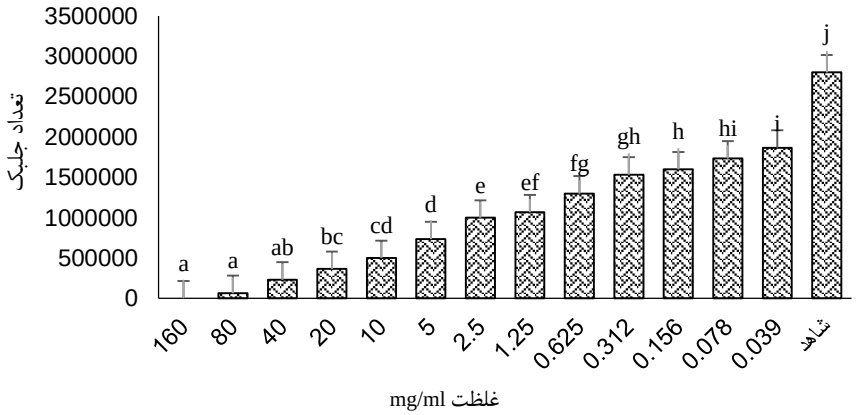
مقایسه میانگین اثر تیمارها، به منظور بررسی تأثیر دوزهای مختلف عصاره ان‌هگزانی گیاه دارویی پونه کوهی (*Mentha longifolia*) بر روی ریزجلبک *Chlorella vulgaris*، نشان داد که بیشترین مقدار بازدارندگی و یا کشندگی متعلق به غلظت‌های ۱۶۰، ۸۰، ۴۰، ۲۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود برابر صفر، غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر با میانگین زنده‌مانی ۱۶۶۶۶۷ سلول در ۲ میلی‌لیتر در حجم نمونه کل در کلاس a، غلظت ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر با میانگین زنده‌مانی۱۵۳۳۳۳سلول در ۲ میلی لیتر حجم نمونه کل در کلاس b، غلظت ۲/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر با میانگین زنده‌مانی ۷۰۰۰۰۰ در کلاس c، غلظت ۱/۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر با میانگین زنده‌مانی ۹۰۰۰۰۰ در کلاس cd و غلظت ۰/۶۲۵ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر با میانگین زنده‌مانی ۱۰۳۳۳۳۳، غلظت ۰/۳۱۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتربا میانگین زنده‌مانی ۱۱۶۶۶۶۷ در کلاس ef،

غلظت ۰/۱۵۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر با میانگین زنده‌مانی ۱۳۰۰۰۰۰ در کلاس fg، غلظت ۰/۰۷۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر با میانگین زنده‌مانی ۱۴۰۰۰۰۰ در کلاس fg و کمترین اثر بازدارندگی با غلظت ۰/۰۳۹ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در کلاس g با میانگین تعداد جلبک‌های زنده۱۵۳۳۳۳۳ و شاهد (DMSO) با بیشترین میانگین تعداد جلبک‌های زنده با ۲۶۰۰۰۰۰ میلی‌لیتر حجم نمونه کل در کلاس h قرار گرفت (شکل ۱).



شکل ۱- تاثیر عصاره ان‌هگزانی گیاه دارویی پونه کوهی روی ریز جلبک *Chlorella vulgaris*

Fig.1- The effect of n-hexane extract of oregano medicinal plant on microalgae Chlorella vulgaris



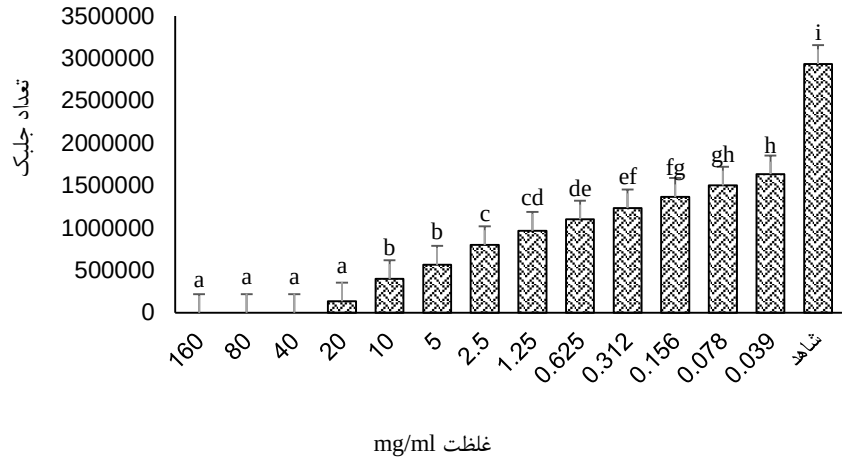
شکل۲- تاثیر عصاره اتیل‌استاتی گیاه دارویی پونه کوهی روی ریز جلبک *Chlorella vulgaris*

Fig.2- Effect of ethyl acetate extract of oregano medicinal plant on *Chlorella vulgaris* microalgae

مقایسه میانگین اثر تیمارها به منظور بررسی تاثیر دوزهای مختلف عصاره اتیل‌استاتی گیاه دارویی پونه کوهی (*Mentha longifolia*) بر ریزجلبک *Chlorella vulgaris* نشان داد که بیشترین مقدار بازدارندگی و یا کشندگی متعلق به غلظت‌های ۱۶۰ و ۸۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود به طوری که میانگین تعداد جلبک‌های زنده در میلی‌لیتر حجم نمونه کل، به ترتیب برابر با صفر و ۶۶۶۶۷ بود که این غلظت‌ها در کلاس a قرار گرفتند. کمترین اثر بازدارندگی در غلظت‌های ۰/۰۳۹ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر با میانگین زنده‌مانی ۱۸۶۶۶۶۷سلول در ۲ میلی‌لیتر حجم نمونه کل در کلاس i قرار گرفتند و شاهد (DMSO) با بیشترین تعداد جلبک‌های زنده با ۲۸۰۰۰۰۰میلی‌لیتر حجم نمونه کل در کلاس j قرار گرفت (شکل ۲).

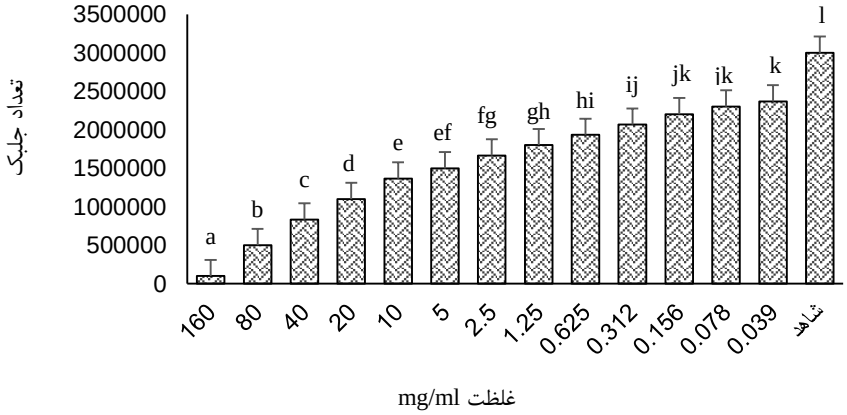
مقایسه میانگین اثر تیمارها جهت بررسی تاثیر دوزهای مختلف عصاره متانولی گیاه دارویی پونه کوهی (*Mentha longifolia*) بر ریزجلبک *Chorella vulgaris*، نشان داد که بیشترین مقدار بازدارندگی و یا کشندگی متعلق به غلظت‌های ۱۶۰، ۸۰، ۴۰ ، میلی گرم بر میلی‌لیتر بود صفر، غلظت ۲۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر که این تیمار با میانگین تعداد جلبک‌های زنده در میلی لیتر حجم نمونه کل

برابر ۱۳۳۳۳۳در کلاس a، غلظت‌های ۱۰ و ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر با میانگین زنده‌مانی ۴۰۰۰۰۰، ۵۶۶۶۶۷ سلول در ۲ میلی‌لیتر حجم نمونه کل در کلاس b وکمترین اثر بازدارندگی در غلظت ۰/۰۳۹ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر با میانگین زنده‌مانی ۱۶۳۳۳۳۳ سلول در ۲ میلی‌لیتر حجم نمونه کل در کلاس h و شاهد (DMSO) با بیشترین میانگین تعداد جلبک‌های زنده با ۲۹۳۳۳۳۳ میلی‌لیتر حجم نمونه کل در کلاس i قرار گرفت (شکل ۳).



شکل ۳- تاثیر عصاره متانولی گیاه دارویی پونه کوهی روی ریز جلبک *Chlorella vulgaris*

Fig. 3 - Effect of methanol extract of oregano medicinal plant on *Chlorella vulgaris* microalgae



شکل٤- تاثیر عصاره آبی گیاه دارویی پونه کوهی روی ریزجلبک *Chlorella vulgaris*.

Fig. 4 - The effect of aqueous extract of oregano medicinal plant *on Chlorella vulgaris* microalgae.

مقایسه میانگین اثر تیمارها به منظور بررسی تاثیر دوزهای مختلف عصاره آبی گیاه دارویی پونه کوهی (Mentha longifolia) بر ریز جلبک Chlorella vulgaris، نشان داد که بیشترین مقدار بازدارندگی و یا کشندگی متعلق به غلظت ۱۶۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود به‌طوری که میانگین تعداد جلبک‌های زنده در میلی‌لیتر حجم نمونه کل، ۱۰۰۰۰۰ بود که در کلاس a، و کمترین اثر بازدارندگی در تیمارهای ۰,۰۳۹میلی‌گرم بر میلی‌لیتر با میانگین زنده‌مانی ۲۳۶۶۶۶۷ سلول در ۲ میلی‌لیتر حجم نمونه کل در کلاس k و شاهد (DMSO) با بیشترین میانگین تعداد جلبک‌های زنده با ۳۰۰۰۰۰۰ میلی‌لیتر حجم نمونه کل در کلاس اقرار گرفت (شکل ۴).

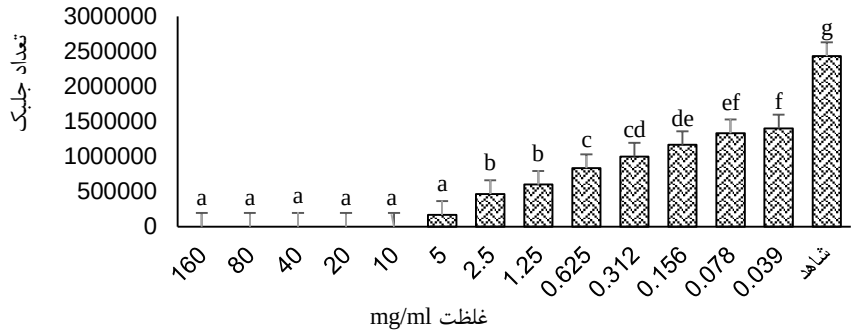
مقایسه میانگین اثر تیمارها برای بررسی تاثیر دوزهای مختلف عصاره ان‌هگزانی گیاه دارویی پونه کوهی (Mentha longifolia) بر ریزجلبک Chaetoceros muelleri، نشان داد که بیشترین مقدار بازدارندگی و یا کشندگی متعلق به تیمار ۱۶۰، ۸۰، ۴۰، ۲۰، ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر برابر صفر، غلظت ۵ میلی‌گرم بر میلی لیتر برابر۱۶۶۶۶۷ که در کلاس a، غلظت‌های ۲/۵ و ۱/۲۵ با تعداد میانگین جلبک‌های زنده به ترتیب برابر با ۴۶۶۶۶۷ و ۶۰۰۰۰۰ در کلاس b و کمترین اثر بازدارندگی در تیمار ۰/۰۳۹

میلی‌گرم بر میلی‌لیتر با میانگین زنده مانی ۱۴۰۰۰۰۰ سلول در ۲ میلی‌لیتر در کلاس f و شاهد (DMSO) با بیشترین میانگین تعداد جلبک‌های زنده با ۲۴۳۳۳۳۳ میلی‌لیتر در کلاس g قرار گرفت (شکل ۵).

مقایسه میانگین اثر تیمارها جهت مطالعه تاثیر دوزهای مختلف عصاره اتیل‌استاتی گیاه دارویی پونه کوهی (Mentha longifora) بر ریزجلبک Chaetoceros muelleri، نشان داد که بیشترین مقدار بازدارندگی و یا کشندگی متعلق به غلظت‌های ۱۶۰، ۸۰، ۴۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود برابر صفر بود که این تیمار در کلاس a و کمترین اثر بازدارندگی در تیمار ۰/۰۳۹ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر میانگین تعداد جلبک‌های زنده در میلی‌لیتر حجم نمونه کل، برابر با ۱۵۶۶۶۶۷ و در کلاس i و شاهد (DMSO) با بیشترین میانگین تعداد جلبک‌های زنده با ۲۵۰۰۰۰۰ میلی‌لیتر حجم نمونه کل در کلاس j قرار گرفت (شکل ۶).

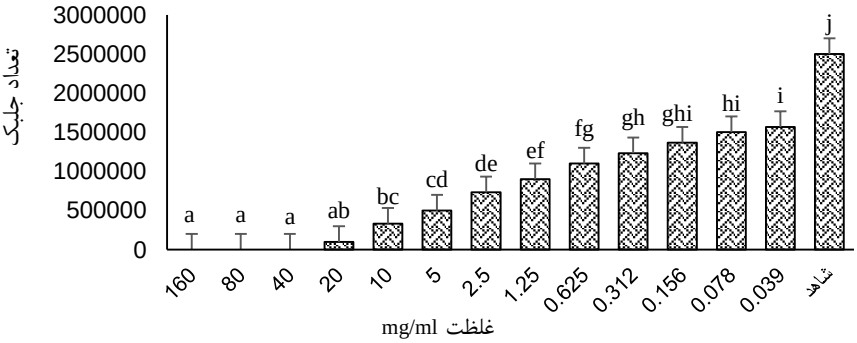
به منظور مطالعه اثر دوزهای مختلف عصاره متانولی گیاه دارویی پونه کوهی (Mentha vulgaris) بر ریزجلبک Chaetoceros muelleri، مقایسه میانگین اثر تیمارها نشان داد که بیشترین مقدار بازدارندگی و یا کشندگی متعلق به غلظت‌های ۱۶۰، ۸۰ و ۴۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود برابر صفر، غلظت ۲۰ میلی گرم بر میلی لیتر با میانگین تعداد جلبک‌های زنده در میلی‌لیتر حجم نمونه کل برابر ۶۶۶۶۷ در کلاس a و کمترین اثر بازدارندگی با تیمار ۰/۰۳۹ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در کلاس h با تعداد جلیک‌های زنده ۱۵۰۰۰۰۰ و شاهد (DMSO) با بیشترین میانگین تعداد جلبک‌های زنده با.۲۳۰۰۰۰۰ میلی‌لیتر حجم نمونه کل در کلاس I قرار گرفت (شکل ۷).

مقایسه میانگین اثر تیمارها به منظور بررسی تاثیر دوزهای مختلف عصاره آبی گیاه دارویی پونه کوهی(Mentha longifolia) بر ریزجلبک Chaetoceros muelleri، نشان داد که بیشترین مقدار بازدارندگی و یا کشندگی متعلق به غلظت‌های ۱۶۰ و ۸۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود به ترتیب برابر با صفر و ۱۰۰۰۰۰ بود که این تیمارها در کلاس a، غلظت‌های ۲/۵ و ۱/۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، به ترتیب برابر ۱۳۶۶۶۶۷ و ۱۵۰۰۰۰۰ بود که این تیمارها در کلاس f و کمترین میزان بازدارندگی با غلظت‌های ۰/۰۷۸ و ۰/۰۳۹ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود که برابر با ۲۱۳۳۳۳۳، ۲۲۰۰۰۰۰ این تیمارها در کلاس j و هم‌چنین شاهد (DMSO) هم با بیشترین تعداد جلبک‌های زنده با ۲۲۰۰۰۰۰ میلی‌لیتر حجم نمونه کل در کلاس j قرار گرفت (شکل ۸)



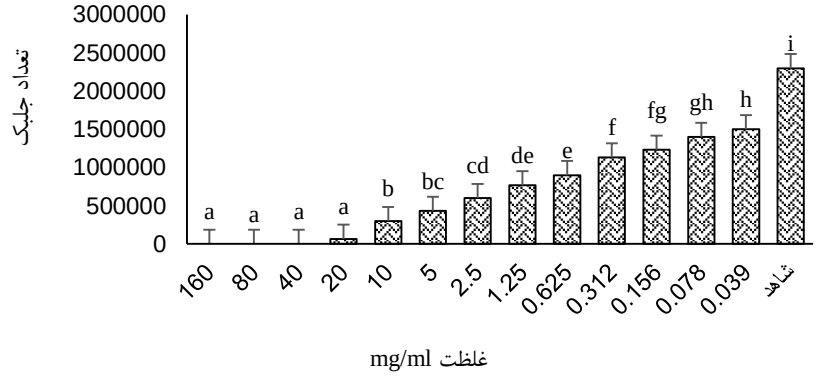
شکل ۵- تاثیر عصاره آبی گیاه دارویی پونه کوهی روی ریزجلبک*Chlorella vulgaris*

Fig. 5-. Effect of aqueous extract of Oregano medicinal plant *on Chlorella vulgaris* microalgae



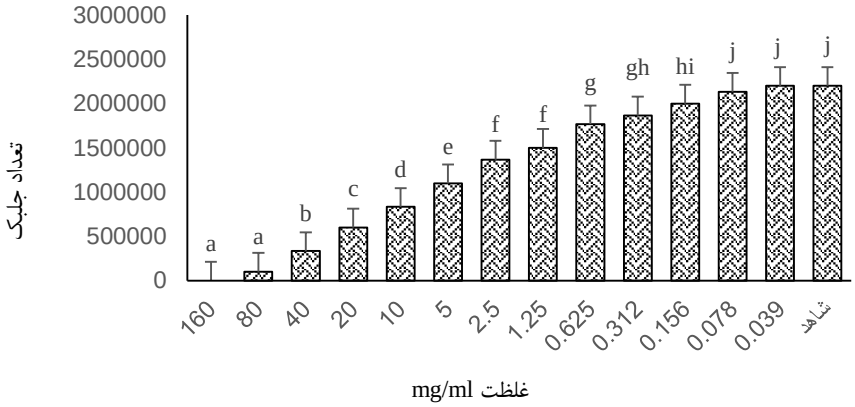
شکل٦- تاثیر عصاره اتیل‌استاتی گیاه دارویی پونه کوهی روی ریزجلبک *Chaetoceros muelleri*

Fig. 6- The effect of ethylacetate extract of the oregano medicinal plant on the microalgae *Chaetoceros muelleri*



شکل۷- تاثیر عصاره متانولی گیاه دارویی پونه کوهی روی ریزجلبک *Chaetoceros muelleri*

Fig.7- The effect of the methanolic extract of oregano on the microalgae *Chaetoceros muelleri*



شکل ۸- تاثیر عصاره آبی گیاه دارویی پونه کوهی روی ریزجلبک *Chaetoceros muelleri*

Fig. 8- The effect of oregano medicinal plant aqueous extract on the microalgae Chaetoceros muelleri

جدول ۲- مقایسه اثر عصاره های مختلف گیاه دارویی پونه کوهی بر ریز جلبک بر ریزجلبک *Chorella vulgaris* و *Chaetoceros muelleri*

Table 2- Comparison of the effects of different oregano medicinal plant extracts on microalgae on *Chorella vulgaris* and *Chaetoceros muelleri*

تیمارها	ان هگزانی	متانولی	اتیل استاتی	آبی
Chorella vulgaris	۸۰۲۳۸۰±۰/۷۶a	۹۰۲۳۸۰±۰/۸۲b	۱۰۵۷۱۴۰±۰/۶۹c	۱۶۲۷۳۸۰±۰/۷۹d
Chaetoceros muelleri	۶۷۱۴۳۰±۰/۷۲a	۷۵۹۵۲۰±۰/۶۹b	۸۴۵۲۰±۰/۹۰c	۱۲۸۵۷۱۰±۰/۷۹d

واحد اعداد به صورت میلی‌گرم/میلی لیتر می‌باشد. مقادیر نشان دهنده خطاهای استاندارد با سه تکرار مستقل است (n=3). حروف مشابه در هر ستون و گروه تیماری نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون دانکن است.

مقایسه میانگین اثر تیمارها به منظور مطالعه مقایسه فعالیت ضدجلبکی عصاره‌های مختلف گیاه دارویی پونه کوهی (*Mentha longifolia*) بر ریزجلبک *Chlorella vulgaris* و *Chaetoceros muelleri*، نشان داد که بیشترین مقدار بازدارندگی و یا کشندگی متعلق به عصاره‌های ان‌هگزانی که میانگین تعداد جلبک‌های زنده در میلی‌لیتر حجم نمونه کل در هر دو جلبک در کلاس a، عصاره‌های متانولی در کلاس b، عصاره‌های اتیل‌استاتی در کلاس c و کمترین اثر بازدارندگی در عصاره‌های آبی در کلاس d قرار گرفتند که این عصاره‌ها از نظر بازدارندگی اختلاف معنی‌داری با یکدیگر و نسبت به هر دو جلبک داشتند (جدول ۲).

٤. بحث

طبق بررسی‌های انجام شده اثبات شده است که برخی گیاهان آبزی و خشکی‌زی دارای تغییرات ریشه‌ای با خاصیت جلبک‌کشی هستند (Nakai et al., 2001). از این‌رو می‌توان با استخراج مواد طبیعی آللوشیمی (allelochemicals) از موجودات مختلف آن‌ها را به عنوان منبعی با پتانسیل جلبک‌کشی مناسب به کار گرفت (Hu and Hong, 2008). بیوفولینگ فرایندی است که طی آن الصاق و رشد میکرو و ماکروفلورها در سازه‌های دریایی طبیعی و آهنی، موجب زیان‌های بزرگ اقتصادی و زیست محیطی در سراسر جهان می‌شود. موجودات دریایی غنی از ساختار جدید و متابولیت‌های فعال بیولوژیکی بوده و می‌تواند یکی از بهترین گزینه‌های جایگزینی به عنوان ضدانحلال طبیعی بر روی رنگ‌های متشکل از فلزات سنگین باشد. مانگروها دارای مجموعه‌ای از ترکیبات زیست فعال هستند. از این‌رو، تلاش محققین برای بررسی پتانسیل ضدفولینگ (AF) مورد ارزیابی قرار گرفت (Nandhini and Revathi., 2016). در تحقیق ما می توان به تاثیر خوب عصاره ان هگزانی گیاه دارویی پونه کوهی اشاره نمود. این عصاره دارای ترکیبات موثره آلکالوئید، ساپونین، ترپنوئید، Cardio Glycosides active می باشد (Adham., 2015) که مسئول فعالیت‌های فارماکولوژیکی و بیولوژیکی این گیاه است. یکی از عملکردهای اصلی آن‌ها دفاع شیمیایی در برابر گیاه خواران یا شکارچیان، به سبب داشتن مزه‌ی تلخ و سمیت است. برخی از آلکالوئیدها در گیاهان، نقش حفاظت از آن‌ها را در مقابل عوامل بیماری‌زا یا انگل‌های گیاهی نظیر باکتری‌ها، قارچ‌ها، نماتدها و ویروس‌ها دارند (Dewick, 2002; Fattorusso and Taglialatela-Scafati, 2008; Kitamura et al., 2004).

در تحقیقی اثرات اسانس‌های گیاهان عالی روی کنترل کشند قرمز جلبک *Cochlodinium polykrikoides* در شرایط آزمایشگاهی مورد ارزیابی قرار گرفت. در این بررسی فعالیت ضدجلبکی برخی از گیاهان خانواده نعنائیان مانند آویشن شیرازی (*Zataria multiflor*)، مرزه خوزستانی (*Satureja khuzistanica*) و مرزه رشینگری (*S.rechingeri*) را مورد بررسی قرار دادند. نتایج حاکی از این بررسی نشان می‌دهد که رشد میکروجلبک *Cochlodinium polykrikoides* با استفاده از غلظت‌های مختلف اسانس‌های گیاهی مهار شد. روغن‌های ضروری اسانس سه گیاه مورد استفاده در این مطالعه اثربخشی بالایی، با میزان کم در یک زمان بسیار کوتاه داشتند (کمتر از ۲۴ ساعت در آزمایشگاه). با توجه به ماهیت روغن‌های ضروری اسانس و نتیجه این مطالعه، روغن‌های ضروری اسانس گیاهان عالی تر می‌توانند به عنوان منبع جدید ترکیبات آلژینیکی با حداقل تاثیرات مضر موجود در محیط دریایی معرفی شوند. در میان اسانس روغن‌های ضروری، بین غلظت روغن اسانس و فعالیت ضدجلبکی همبستگی مثبت وجود دارد (Barani et al., 2014). در نتایج ما نیز اثر غلظت‌های مختلف عصاره‌های پونه کوهی، مهار میکروجلبک ها را اثبات کرد. به این دلیل که جریانات و امواج آب می‌توانند اثرات آلژینیکی را کاهش دهند، پایداری مهار کننده‌ها مهم است (Zhou et al., 2007). از سوی دیگر، ثبات ترکیبات آلژینیکی می‌تواند اثرات غیر قابل پیش‌بینی بر محیط زیست و موجودات آن (به عنوان برخی از روش‌های فعلی) بگذارند. بنابراین، واکنش سریع و اثربخشی بالای مهار کننده‌ها نقش مهمی را در کنترل جلبک‌ها بازی می‌کنند. ترکیبات مورد استفاده در این مطالعه فرار می باشند، بنابراین در محیط کمتر پایدار هستند. این وضعیت با روش‌های دیگر قابل مقایسه است، که ترکیبات در آب پایدارتر هستند و ممکن است اثرات غیر قابل پیش بینی را ایجاد کنند (Barani et al., 2014). توضیح ممکن برای فعالیت بهتر روغن اسانس می‌تواند به دلیل جذب اسانس و عصاره‌های لیپوفیلیک به بدن سلولی جلبک‌ها باشد (Yu et al., 2011). در مطالعه‌ای روغن اسانس *S. khuzistanica*، *S. rechingeri* و *Z. multiflora* روی ریزجلبک، شکوفایی جلبکی را در شرایط آزمایشگاهی کاهش می‌دهد. شباهت اثر ضدجلبکی در *S. khuzistanica* و *S. rechingeri* به رابطه تاکسونومیکی این گونه‌ها و این واقعیت است که متابولیت‌های آنها احتمالا یکسان هستند (Zhou et al., 2007). با توجه به اینکه پونه کوهی نیز از خانواده نعنائیان می‌باشد، نتایج حاصل از تحقیق حاضر نیز به تاثیر خوب پونه کوهی بر کنترل جلبک‌ها تاکید دارد و این مهم، نیاز به تحقیقات بیشتر بر روی این گیاه را نشان می‌دهد. در بررسی ازگیاه نی *Phragmites communis Tris* آللوئیک شیمیایی ضدجلبک جداسازی شده است. فراوانی آللوپاتی جدا شده فعالیت مهاری شدیدی را بر رشد جلبک *Chlorella pyrenoidosa* و *Microcystis aeruginosa* نشان داد اما هیچ گونه مهاری در *Chlorella vulgaris* نداشت (Feng- Min, 2005). در نتایج تحقیقات ما عصاره‌های ان‌هگزانی در گیاه پونه کوهی، روی ریزجلبک‌های

Chlorella vulgaris و *Chaetoceros muelleri* دارای قدرت مهاری خوبی بود. در تحقیقی روی جداسازی و شناسایی ترکیبات ضدجلبک از برگ‌های گیاه آبزی *Vallisneria spiralis L* نشان داد که چهار عصاره از برگ‌های *V. spiralis*. به دست آمده دارای فعالیت‌های ضدجلبک متفاوت بودند که اثر بازدارنده عصاره کلروفرم که میزان مهار رشد آن تا ٪ ۹۱ بود، قوی‌ترین بود. با این حال ، اثرات مهاری عصاره ان‌بوتانول ضعیف‌ترین و تنها ٪۱۵ بود (Qiming et al., 2006) و نتایج تحقیقات ما در فعالیت‌های ضدجلبک، قوی‌ترین بازدارنده در عصاره ان‌هگزانی و ضعیف‌ترین مربوط به عصاره اتیل‌استاتی و آبی بود. در تحقیقی در جداسازی و مشخص کردن آللوشیمیایی ضدجلبک گیاه قمیش (giant reed) *Arundo donax L*. نشان داده شد که مهارکننده شدید سم و تشکیل بلوم *cyanobacterium Microcystis aeruginosa* بود. عصاره متانولی از بیومس خشک از giant reed به سرعت رشد را مهار می‌کند. از طریق استخراج حلال، عصاره متانول به بخش‌های خنثی و اسیدی تقسیم شد، هر دو این بخش‌ها رشد *M. aeruginosa* را مهار کردند اما تاثیر بخش‌های خنثی بیشتر از بخش‌های اسیدی بود. بخش خنثی با استفاده از اسپکتروفتومتری کروماتوگرافی/ جرمی گازی(GC/MS) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و حاوی چندین آللوئیک شیمیایی بالقوه شامل اندول‌ها، کتون‌ها ، استرها ، الکل‌ها و غیره بود. در میان آن‌ها ۳-(dimethylaminomethyl) اندول (مثال، گرامین، آلکالوئید) در بخش خنثی مشاهده شد. گرامین مهارکننده، *M.aeruginosa* را در محدوده موثر محیطی mg·L-1 ۰/۴۷ مهار کرد و یکی از قوی‌ترین آللوشیمیایی‌های ضدجلبک از گیاهان آبزی بود (Hong, 2010). در گیاه پونه کوهی از حلال متانول برای استخراج برگ‌های آن به عنوان بازدارنده برای ریزجلبک‌های *Chlorella vulgaris* و *Chaetoceros muelleri* استفاده شد که نتایج، حد متوسط بازدارندگی در هر دو ریزجلبک را نشان داد. در این میان، مطالعات متعدد بر روی گیاهان و جلبک‌های مختلف بیان کردند که، حلال هایی با قطبیت کمتر، نتایج بهتری نسبت به حلال‌هایی با قطبیت بیشتر دارند (Kandhasamy and Arunachalam., 2008) احتمال دادند که این حلال ها به علت قطبیت کمتر، اکثر ترکیبات و اجزاء جلبکی دیگر (از جمله مقدار فراوانی کلروفیل) را همراه ماده فعال استخراج می‌کنند (Arman et al., 2015). که در نتایج ما نیز بهترین بازدارندگی مربوط به عصاره ان هگزانی با کمترین میزان قطبیت می باشد. براساس یافته‌های تحقیقی دیگر آشکار شده است ترکیبات طبیعی گیاهان هم‌چون اسانس‌ها (EO) ، ساپونین‌ها، تانن‌ها و ترکیبات ارگانوسولفوری به طور اختصاصی جمعیت میکروبی را تنظیم می‌کنند. مونوترپن‌ها از مهم‌ترین ترکیبات اسانس‌ها که به عنوان مواد اصلی آللوشیمی در گیاهان عالی شناخته شده‌اند و اثرات سمی بر جوانه‌زنی دانه، رشد برخی گونه‌های باکتری‌ها، رشد و نمو برخی حشرات و رشد قارچ‌های بیماری‌زا دارند. pulegone نیز به عنوان یکی از ترکیبات اصلی در اسانس پونه، یکی از قدرتمندترین آللوشیمی‌هایی است که مورد بررسی قرار گرفته تا آنجا که تخمین زده شده درحدود دو برابر سمیت سیانید هیدروژن را دارا باشد. با ارائه اسانس پونه در محیط کشت جلبک‌های تک سلولی، رشد سلول‌های جلبکی در غلظت ۱۰ درصد به بالا مهار شد. این مهار رشد در هر چهار گونه جلبکی مورد مطالعه در این تحقیق مشاهده شد (Patra and Saxena., 2010). در مطالعه ما روی ریزجلبک‌های *Chlorella vulgaris* و *Chaetoceros muelleri* با اعمال عصاره‌های ان‌هگزانی، متانولی، اتیل‌استاتی و آبی، عصاره پونه کوهی را می‌توان به عنوان یک جلبک‌کش موثر بیان کرد. در مقایسه با دیگر مهارکننده‌های جلبکی مثل مواد شیمیایی، پونه کوهی به دلیل ایمنی زیستی بالاتر، از پایه گیاهی بودن، ماندگاری کمتر نسبت به سموم شیمیایی و کارکرد راحت‌تر، به عنوان یک جلبک‌کش با اثر جانبی سوء کمتر، اقتصادی و دوستدار طبیعت است.

۵. نتیجه‌گیری کلی

بررسی نتایج مربوط به تغییرات رشد نشان داد که با اعمال تیمارهای عصاره‌های (ان‌هگزانی، اتیل‌استاتی، متانولی و آبی) پونه کوهی، رشد ریزجلبک *Chlorella vulgaris* نشان داد که این مهار رشد تحت تاثیر عصاره ان‌هگزانی برای گیاه پونه با غلظت ۲۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بیشترین میزان بازدارندگی و کمترین میزان بازدارندگی را عصاره آبی با غلظت ۰/۰۷۸ و ۰/۰۳۹ میلی‌گرم بر بود. هم چنین، بررسی نتایج روی ریزجلبک *Chaetoceros muelleri* نشان دادکه مهار رشد تحت تاثیر عصاره ان‌هگزانی گیاه پونه با غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، بیشترین اثر بازدارندگی بر زنده‌مانی و کمترین اثر بازدارندگی بر زنده‌مانی را عصاره آبی با غلظت ۰/۰۷۸ و ۰/۰۳۹ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بر ریزجلبک*Chaetoceros muelleri* دارا بود. در تحقیق حاضر، عصاره‌های گیاه دارویی پونه کوهی اثربخشی بالایی، با دوز پایین، در یک زمان بسیار کوتاه داشتند (کمتر از ۲۴ ساعت در آزمایشگاه). با توجه به ماهیت عصاره‌های گیاهی و نتیجه این مطالعه، این گیاهان می‌توانند به عنوان منبع جدید ترکیبات ضدفولینگ، با حداقل تاثیرات مضر بر سایر جانوران موجود در محیط دریایی معرفی شوند.

Refrences:

Adham, A.N., 2015. Comparative extraction methods, phytochemical constituents, fluorescence analysis and HPLC validation of rosmarinic acid content in Mentha piperita, Mentha longifolia and Osimum basilicum. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, *3*(6), pp.130-139.

Arman, M., Soleimani, S., Zarei, Z., Sohrabipour, J. And Asadzadeh, M., 2015. Evaluation of antibacterial effects of some marine macroalgae against human pathogens. *Journal of Aquatic Ecology*, 5(2), pp.139-144. (In Persian)

Bahrami, A. Momeni, and. Khani, M., 2013. Investigating the effect of surface properties on biofilm formation and how to prevent biofilming. *Scientific Journal for the Promotion of Studies in the World of Color*, 4(3), pp 3-11. (In Persian)

Banerjee, C., Ghosh, S., Sen, G., Mishra, S., Shukla, P. and Bandopadhyay, R., 2014. Study of algal biomass harvesting through cationic cassia gum, a natural plant based biopolymer. *Bioresource technology*, *151*, pp.6-11.

Barani, M., Yousefzadi, M., Moezi, M. and Pejmanmehr, P., 2014. Effect of Higher Plant Essential Oils for the Control of Red Tide Algae Cochlodinium polykrikoides under Laboratory Conditions. *Journal of the Persian Gulf*, *5*(15), pp.41-50. Dewick, P.M., 2002. Medicinal natural plants, a biosynthetic approach, John Wiley and S ons Ltd., third edition, 316- 320.

Fattorusso, E. and Taglialatela-Scafati, O. eds., 2007. *Modern alkaloids: structure, isolation, synthesis, and biology*. John Wiley & Sons.

Gouhari, A.R., HAJI, A.A., SAEIDINIA, S., Shafiei, A. and Ebrahimi, E.S., 2005. Cytotoxic terpenoids from Satureja macrantha CA Mey.

Guillard, R.R. and Ryther, J.H., 1962. Studies of marine planktonic diatoms: I. Cyclotella nana Hustedt, and Detonula confervacea (Cleve) Gran. *Canadian journal of microbiology*, *8*(2), pp.229-239.

Hong, Y., Hu, H.Y. and Li, F.M., 2008. Growth and physiological responses of freshwater green alga Selenastrum capricornutum to allelochemical ethyl 2-methyl acetoacetate (EMA) under different initial algal densities. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, *90*(3), pp.203-212.

Hu, H. and Hong, Y., 2008. Algal-bloom control by allelopathy of aquatic macrophytes—a review. *Frontiers of Environmental Science & Engineering in China*, *2*, pp.421-438.

Jiang, Z., Peiyong, G., Chang, C., Gao, L., Li, S. and Wan, J., 2014. Effects of allelochemicals from Ficus microcarpa on Chlorella pyrenoidosa. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, *57*, pp.595-605.

Kamkar, A., Javan, A.J., Asadi, F. and Kamalinejad, M., 2010. The antioxidative effect of Iranian Mentha pulegium extracts and essential oil in sunflower oil. *Food and Chemical Toxicology*, *48*(7), pp.1796-1800.

Kandhasamy, M. and Arunachalam, K.D., 2008. Evaluation of in vitro antibacterial property of seaweeds of southeast coast of India. *African journal of Biotechnology*, *7*(12).

Kitamura, Y., Tominaga, Y. and Ikenaga, T., 2004. Winter cherry bugs feed on plant tropane alkaloids and de-epoxidize scopolamine to atropine. *Journal of chemical ecology*, *30*, pp.2085-2090.

Li, F.M. and Hu, H.Y., 2005. Isolation and characterization of a novel antialgal allelochemical from Phragmites communis. *Applied and Environmental Microbiology*, *71*(11), pp.6545-6553.

Mata, T.M., Martins, A.A. and Caetano, N.S., 2010. Microalgae for biodiesel production and other applications: a review. *Renewable and sustainable energy reviews*, *14*(1), pp.217-232.

Mattila-Sandholm, T. and Wirtanen, G. (1992). Biofilm formation in the industry: A review. *Food Reviews International*, 8(4), pp.573–603.

Murray, A.P., Muniaín, C., Seldes, A.M. and Maier, M.S., 2001. Patagonicoside A: A novel antifungal disulfated triterpene glycoside from the sea cucumber Psolus patagonicus. *Tetrahedron*, *57*(47), pp.9563-9568.

Nakai, S., Inoue, Y. and Hosomi, M., 2001. Algal growth inhibition effects and inducement modes by plant-producing phenols. *Water Research*, *35*(7), pp.1855-1859.

Nandhini, S. and Revathi, K., 2016. Antifouling activity of extracts from mangroves against biofouling bacteria isolated from boats in Royapuram, Chennai, India. *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci*, *5*(8), pp.324-335.

Ni, L., Hao, X., Li, S., Chen, S., Ren, G. and Zhu, L., 2011. Inhibitory effects of the extracts with different solvents from three compositae plants on cyanobacterium Microcystis aeruginosas. *Science China Chemistry*, *54*, pp.1123-1129.

Patra, A.K. and Saxena, J., 2010. A new perspective on the use of plant secondary metabolites to inhibit methanogenesis in the rumen. *Phytochemistry*, *71*(11-12), pp.1198-1222.

Saednia, S., Gohari, A.R., Fumiyuki, K., Gisho, H., 2006. In vitro anti epimastigote activity of some Iranian medicinal plants. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 2, pp.101-103. (In Persian)

Sajadi, S.E., Naderi, G., Ziaee, R., 2004. Antioxidant effects of selected medicinal plants of Labiatae family. J Kermanshah Uni Medic sci; 21(2): 1-12 [in Persian].

Shao, J., Wu, Z., Yu, G., Peng, X. and Li, R., 2009. Allelopathic mechanism of pyrogallol to Microcystis aeruginosa PCC7806 (Cyanobacteria): from views of gene expression and antioxidant system. *Chemosphere*, *75*(7), pp.924-928.

Shao, J., Wu, Z., Yu, G., Peng, X. and Li, R., 2009. Allelopathic mechanism of pyrogallol to Microcystis aeruginosa PCC7806 (Cyanobacteria): from views of gene expression and antioxidant system. *Chemosphere*, *75*(7), pp.924-928.

Sorgeloos, P., Dhert, P. and Candreva, P., 2001. Use of the brine shrimp, Artemia spp., in marine fish larviculture. *Aquaculture*, *200*(1-2), pp.147-159.

Suresh, M., Iyapparaj, P. and Anantharaman, P., 2016. Antifouling activity of lipidic metabolites derived from Padina tetrastromatica. *Applied biochemistry and biotechnology*, *179*, pp.805-818.

Yousefzadi, M., Riahi-Madvar, A., Hadian, J., Rezaee, F., Rafiee, R. and Biniaz, M. (2013). Toxicity of essential oil of*Satureja khuzistanica*:*In vitro*cytotoxicity and anti-microbial activity. *Journal of Immunotoxicology*, 11(1), pp.50–55

Yu, Q., Zhang, Y., Wang, H., Brash, J. and Chen, H., 2011. Anti-fouling bioactive surfaces. *Acta biomaterialia*, *7*(4), pp.1550-1557.

Yu, Q., Zhang, Y., Wang, H., Brash, J. and Chen, H., 2011. Anti-fouling bioactive surfaces. *Acta biomaterialia*, *7*(4), pp.1550-1557.

Xian, Q., Chen, H., Zou, H. and Yin, D., 2006. Allelopathic activity of volatile substance from submerged macrophytes on Microcystin aeruginosa. *Acta Ecologica Sinica*, *26*(11), pp.3549-3554.

Zhou, L.H., Zheng, T.L., Wang, X., Ye, J.L., Tian, Y. and Hong, H.S., 2007. Effect of five Chinese traditional medicines on the biological activity of a red-tide causing alga—Alexandrium tamarense. *Harmful algae*, *6*(3), pp.354-360.

Journal of Marine Science and Technology

Spring 2023, Vol. 22, No.1, pp: 44-55.

Available Online: ***http://jmst.kmsu.ac.ir***

Original Article

Investigation of Anti-Algae Activity of Oregano Medicinal Plant Extracts (*Mentha longifolia* (L.))

Zeinab Tavakol [1], Gholam-Reza Sharifi-Sirchi [*2], Morteza Yosefzadi [3]

1- Faculty of Agriculture and Natural Resources, Hormozgan University, Bandar Abbas, Iran.

2. Department of Biotechnology Engineering, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran.

3. Department of Biology, Faculty of Science, University of Qom, Qom, Iran.

Corresponding author: Sharifisirchi@yahoo.com

Received: 17 May 2020 **Revise Date:** 18 September 2020 **Accepted:** 28 November 2022

DOI: 10.22113/JMST.2023.231614.2372

Abstract

Biofoiling is a problem caused by microbial biofilms. Today, many studies have been done to solve the problems of biofouling. The most important studies have been carried out on the identification of natural antibiotic compounds in the marine environment. The most important studies have been performed on the identification of natural antifouling compounds in the marine environment. In this study, the anti-algae properties of organic and aqueous extracts of (*Mentha longifora*) were investigated using n-hexane, ethyl acetate, methanol and aqueous solutions. *Chlorella vulgaris* and *Chaetoceros muelleri* Microalgae, were grown in F2 culture medium. The extracts were dissolved in a certain amount in DMSO solvent and added to test tubes containing microalgae culture medium in different concentrations. After 24 hours, under a light microscope, the number of algae was counted by a neobar slide. Data were analyzed by SAS program and data were compared by Duncan's multiple range test. Statistical analysis of n-hexane extracts on *C. vulgaris* and *C. muelleri* showed that there was a statistically significant difference between the treatments at the probability level of 0.001. Extract of n-hexane with a concentration of (20 mg ml $^{-1}$) for the microalgae *C. vulgaris* and for microalgae *C. muelleri*, an extract of (10 mg ml $^{-1}$) for the n-hexane had the highest inhibitory.

Keywords: *Mentha longifolia*, Biofoiling, Anti- algae, *C. muelleri*, *C. vulgaris*.

Copyrights:
Copyright for this article is retained by the author(s), with publication rights granted Journal of Marine Science and Technology. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons. org/licenses/ by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.