الفعالية الضد بكتيرية لبعض السيانوبكتريا في محافظة البصرة في العراق

ISSN 1817 – 2695

علي عبود شريف أمين عبدالجبار عبدالله السلمي
قسم علوم الحياة /كلية التربية /جامعة البصرة

((الاستلام 2009/12/31، القبول 2011/2/1))

الخلاصة

عزل و نقي و شخص ستة أنــواع مــن الــسيانوبكتريا هــي *Chroococcus limneticus* و *Microcystis aeruginosa* و *Merismopedia Tolleri* و *Oscilatoria* س.p و *Anabaena cylindrica* و *Tolypothrix nodosa* من مناطق متعددة في محافظة البصرة. حضرت مستخلصات الهكسان و الكلوروفورم و الميثانول لجميع الأنــواع أعــلاه، ثــم أختبرت قابليتها التثبيطية في نمو أنواع من البكتريا السالبة و الموجبة لصبغة گرام. أظهر مستخلص الميثانول للسيانوبكتريا *T. nodosa* فعالية تثبيطية عالية، يليه مــستخلص الهكــسان للنــوعين *M. tolleri* و *Oscilatoria* sp. و كــان مــستخلص الكلوروفورم للنوع *A. cylindrical* أقلها تأثيراً ، اختير النوع *T. nodosa* لتنقية مستخلص الميثانول لأنه أعطى أعلى تثبيط لغرض الوقوف على المركبات الفعالة باستخدامات كشوفات المجاميع الفعالة و الطرق الطيفية و هي طيف الأشعة تحت الحمراء IR و طيف الرنين النووي المغناطيسي NMR و طيف الكتلة GC/MS. أشارت تلك التحليلات إلى أن المــادة الفعالــة هــي نيوكليوسايد من مشتقات Tubercidin، أستخدمت أشعة گاما وبجرع مختلفة لزيادة إنتاجية هذا النوع وكانت الجرعة 2.8 كراي هي الاكثر فائدة وتم إكثار العزلة التي أعطت أعلى فعالية ضد بكتيرية و إنتاجية و رمز لها بـــ TG4 و باستخدام الطرق السابقة لمعرفة المركب الفعال اذ تبين أنه مركب قلويدي. و حددت التراكيز المثبطة الدنيا MIC لكلا المركبين أعلاه بالإضافة إلى تحديد السمية الخلوية.

الكلمات المفتاحية :السيانوبكتريا ، الفعالية ضد بكتيرية ،زيادة الإنتاجية

المقدمة

السيانوبكتريا هي أحياء اشتق اسمها من اصل اغريقي Kavavos (Kyanos) التي تعني بكتريا+ازرق وهي قادرة على القيام بعملية التركيب الضوئي [1]، تنتج بعضها مواد تثبط أو تحفزنمو أفرادها أو الكائنات المجهرية الأخرى كالبكتريا و الفطريات[2]. ذكر [3] بان السيانوبكتريا تنتج مركبات مثل borophycin و cryptophycin و nodularin و cyanovirin تمتلك العديد من الفعاليات الحيوية المضادة للبكتريا والفطريات والأورام. تمكن[4] من عزل المركب bacteriocin من النوع *Nostoc* sp. و الذي له فعالية تثبيطية عالية تجاه السيانوبكتريا، بينما درس [5] إمكانية إنتاج مضاد حيوي من النوع السابق ذكره يثبط السيانوبكتريا لكنه ذو فعالية ضعيفة ضد الطحالب الخضر و غير فعال تجاه الفطريات و البكتريا. تمكن [6]من إختبار الفعالية الضد بكتيرية لثلاث عزلات تابعة للنوع *Oscillatoria amoena* و سجلوا بأن لها القابلية على تثبيط البكتريا السالبة و الموجبة لصبغة كرام، ثم قاموا بتحسين إنتاجية السلالة الأكثر فعالية بإستخدام مطفرات فيزيائية و كيميائية. و في دراسة جرت في إيران وجد [7] أن مستخلصات الميثانول و الهكسان لبعض السيانوبكتريا المعزولة من حقول الرز ذات فعالية عالية ضد البكتريا و الفطريات. أظهرت دراسة [8]بأن السيانوبكتريا *Nostoc muscorum* لها فعالية تثبيطية ضد البكتريا السالبة و الموجبة لصبغة گرام. و أستطاعت[9] من إستخلاص و تنقية المضاد الحيوي Cryptophycin من السيانوبكتريا *Nostoc muscorum* و الذي يثبط بعض السلالات البكتيرية الممرضة. أما [10]فهي الأخرى تمكنت من عزل قلويد يدعى n-methylcystine من السيانوبكتريا *Hapalosiphon* و أثبتت بأن له فعالية ضد بكتيرية و فطرية. أما [11]فقد درسوا الفعالية الضد بكتيرية لمستخلصات بعض السيانوبكتريا و الطحالب الخضر في الهند. هدفت الدراسة الحالية إلى إيجاد مركبات فعالة ضد بكتيرية و من بينها التي تمتلك مقاومة للمضادات الحيوية و ذلك لظهور مقاومة لبعض المضادات الحيوية مما شكل تحد حقيقي للعاملين في هذا المجال. لذا لا بد من البحث عن مصادر أخرى لغرض الحصول على مركبات ذات فعالية ضد بكتيرية لم تكتشف أو تستعمل سابقاً. و نظراً إلى امتلاك السيانوبكتريا القابلية على إنتاج العديد من المركبات الفعالة بايولوجياً، لذا استخدمت هذه الكائنات لإنتاج تلك المركبات .

المواد و طرائق العمل

جمع العينات

جمعت عينات السيانوبكتريا من مختلف أنحاء البصرة بوساطة قناني بلاستيكية سعة كل منها 250 مل، و نقلت إلى المختبر لغرض عزل و تنقية السيانوبكتريا الموجودة في تلك النماذج.

عزل و تشخيص السيانوبكتريا

عزل و نقي السيانوبكتريا حسب ما ذكره [12]مع إجراء بعض التحويرات. أما بالنسبة لسيانوبكتريا الترب الرطبة فقد أتبعت طريقة [13] في عزلها، و في كلتا الحالتين تم الوصول إلى المزارع وحيدة الطحلب Unialgal cultures ،بعد ذلك تم تنقيتها الغرض الحصول على مزارع نقية Axenic cultures اعتمادا على[14] ثم شخصت السيانوبكتريا بالاستناد إلى[15و 16] .

إنماء وإكثار السيانوبكتريا

نميت السيانوبكتريا المستحصل عليها من الخطوات السابقة باستخدام الوسط ألزرعي Chu-10 المحور من قبل [17]و بعد الحصول على كميات كافية نقلت إلى عبوات سعة 5 لتر ملئت بثلاثة ألتار من الوسط ألسابق وحضنت بدرجة حرارة تراوحت بين (30 – 35) ْم.

حصاد العينات

حصدت العينات في نهاية الطور اللوغارتمي ثم جفدت و حفظت في الثلاجة لحين الاستخلاص.

تحضير المستخلصات

أستخدمت طريقة [18] مع إجراء بعض التحويرات وكالآتي:

1-مستخلص الهكسان :

تم الحصول على مستخلص الهكسان بطريقة الاستخلاص المستمر Soxhlet Continuous extraction، وباستخدام الهكسان (n-hexane) كمذيب حيث أجريت عملية الاستخلاص لمدة 24 ساعة . بعدها ركز المستخلص وركز بدرجة حرارة الغرفة .

2-مستخلص الكلوروفورم :

تم الحصول على مستخلص الكلوروفورم وذلك بمزج المتبقي من الفقرة السابقة مع الكلوروفورم بنسبة 5:1 ولمدة 24 ساعة باستخدام القلاب المغناطيسي .بعدها ركز المستخلص بدرجة حرارة الغرفة .

3- مستخلص الميثانول :كررت الخطوة السابقة ولكن باستبدال الكلوروفورم بالميثانول .

دراسة تأثير المستخلصات على النمو البكتيري :

تم دراسة التأثير التثبيطي للمستخلصات ضد الأنواع البكتيريةالقياسية *Staphylococcus aureus* ATCC25923 و *Escherichia coli* ATCC25922 و من الدكتورة عواطف كلية العلوم – جامعة البصرة ، و النوع *Brucella* sp. من السيد سعد شاكر مهدي كلية العلوم – جامعة البصرة ، أما البكتريا *Pseudomonas aeruginosa* و *Proteus* sp. و *Klebsiela pneumoneae* من السيدة شيماء جبار كلية التربية – جامعة البصرة . واستخدمت طريقة الانتشار بالاكار استنادا إلى [19]و ذلك بصب 20 مل من الوسط Mueller Hinton Agar لكل طبق زجاجي، ثم لقح الوسط بـ 0.1مل من العالق الجرثومي ذو كثافة ضوئية 0.1 عند طول موجي 540 نانوميتر بإستخدام جهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer و ذلك باستخدام قطيلة قطنية معقمة، تركت بعدها الأطباق لمدة (15 – 30) دقيقة ، ثم عملت حفر باستخدام ثاقب معدني معقم و أخيراً أضيف 0.1 مل من المستخلص بتركيز (150 ملغم/مل) لكل حفرة. حضنت بعدها الأطباق بدرجة حرارة 37 °م لمدة 24 ساعة ثم قيس قطر منطقة التثبيط Inhibition zone بالمليمتر.

تحسين الإنتاجية

حسنت إنتاجية النوع الذي أظهر أعلى تثبيط ضد البكتريا المدروسة ، بتعريض هذه السيانوبكتريا إلى أشعة كاما الموجودة في قسم الفيزياء- كلية التربية – جامعة البصرة و بالجرع (0.28 و 0.56 و 1.86 و 2.8 و 5.6 و 8.4 و 16.8 و 25.2 و 33.6) كري . كثرت بعد ذلك بكميات تكفي لاستخلاص مركباتها و قياس فعاليتها كما سبق ذكره مع السلالة الأم.

الكشف التمهيدي عن المركبات الفعالة

كشف عن المركبات الفعالة للمستخلصات التي أعطت أعلى فعالية و تضمنت الكشوفات الكشف عن الكاربوهيدرات و القلويدات و الفلافينويدات و الفينولات و و الأعفاص و السترولات و الستيرويدات و الأحماض النووية إضافة إلى كشوفات المجاميع الفعالة.

فصل و تنقية المركبات الفعالة

فصلت المركبات الفعالة من الأنواع أعلاه باستخدام تقنية الفصل بالعمود Column chromatography اعتمادا على [20] .

تشخيص المركبات الفعالة

أعتمد على الكشف عن المجاميع الفعالة و الطرق الطيفية (مطيافية الأشعة تحت الحمراء IR و طيف الرنين النووي المغناطيسي NMR و طيف الكتلة GC/MS) لغرض تشخيص المكونات الفعالة المستحصل عليها من الخطوة السابقة.

الفعالية البيولوجية

تضمنت الفعالية البيولوجية حساب التركيز المثبط الأدنى MIC استنادا إلى [21]وكالاتي :-

نميت البكتريا على الوسط الزرعي المغذي nutrient agar لمدة ست ساعات بعد ذلك اخذ 0,1 مل من العالق البكتيري الحاوي على $10x1^{6}$ خلية بكتيرية/مل ووضعت على شكل قطرات على سطح إطباق بتري حاوية على الوسط ألزرعيMueller-Hinton agar مضاف إليه المادة الفعالة وبتراكيز (40و35و30و25و20و15و10و5و3و1) ملغرام /مل ثم حضنت الإطباق بدرجة حرارة 37 درجة مئوية ولمدة 24 ساعة .وحسب التركيز المثبط الأدنى على انه اقل تركيز من المادة الفعالة يثبط نمو البكتريا .

أما السمية الخلوية ضد كريات الدم الحمر للإنسان حسب طريقة [22] وكالاتي :-

حددت السمية الخلوية للمركبات الفعالة وذلك بتحضير سلسلة من التراكيز اذ اذيب 200 ملغرام في 1 مل من DMSO ثم خففت بالنسب الاتية (1:1 و10:1 و100:1 و1000:1) V/V ،استخدم معامل سيطرة سالب يحتوي على ال DMSO ومعامل سيطرة موجب يحتوي على ماء

الحنفية ،ثم وضع 0,8 مل من كل تركيز في انبوبة اختبار نظيفة من نوعEppendroff tube واضيف لكل انبوب 0,2 مل من الدم .ثم حضنت الانابيب بدرجة حرارة 37 درجة مئوية ولمدة نصف ساعة ثم نبذت مركزيا لمدة خمس دقائق بسرعة 3000 دورة بالدقيقة ،وبعد ذلك فحصت لملاحظة التحلل الدموي .

النتائج

شخصت ستة أنواع للسيانوبكتريا بعد العزل و التنقية و هي *Chroococcus limneticus* و *Microcystis aeruginosa* و *Tolleri* و *Merismopedia* sp. و *Oscilatoria cylindrica* و *Anabaena* و *Tolypothrix nodosa*.

أظهرت النتائج أن مستخلص الميثانول للنوع *T. nodosa* إمتلك أعلى فعالية تثبيطية لنمو البكتريا المدروسة، تلاه مستخلصات الهكسان للنوعين *M. Tolleri* و *Oscilatoria* sp. و أقلها تثبيطاً هو مستخلص الكلوروفورم للنوع *A. cylindrica* (جدول – 1).

و استنادا إلى الفعالية التثبيطية للنوع *T. nodosa* شخصت المركبات الفعالة لمستخلص الميثانول و ذلك بإجراء فحص تمهيدي باستخدام الكشوفات النوعية (جدول – 2)، ثم فصلت المركبات باستخدام تقنية الفصل بالعمود و تبين أن لهذا المستخلص ثلاث مكونات هي A و B و C و معدل جريانها Rf factor باستخدام تقنية كروماتوكرافيا الطبقة الرقيقة و هو 0.94 و 0.79 و 0.69 على التوالي. و عند اختبار فعالية هذه المكونات ضد البكتريا *E. coli* و *S. aureus* ظهر بأن المكونة B امتلكت فعالية تثبيطية ، و تم تشخيص هذا المركب على أنه نيوكليوسيد من مشتقات tubercidine وزنه الجزيئي 389 دالتون باستخدام الطرق الطيفية و كشوفات المجاميع الفعالة شكل (1).

حسنت إنتاجية هذا النوع بأشعة كاما و تبين أن الجرعة 2.8 Gray أعطت أفضل النتائج(جدول 3) من حيث زيادة الوزن الجاف و الفعالية التثبيطية للبكتريا المدروسة (جدول –4). و باستخدام نفس الطرق السابقة مع السلالة الأم شخص المركب الفعال على أنه مركب قلويدي ذو وزن جزيئي و قدره 209 دالتون شكل (2). سجلت التراكيز المثبطة الدنيا للنيوكليوسايد و كان 1 ملغم /مل للبكتريا *Staph. aureus* و 10 ملغم /مل لبقية الأنواع البكتيرية. أما المركب القلويدي للعزلة الطافرة التي أعطيت الرمز (TG4) فكان 5 ملغم /مل للبكتريا*Staph. aureus* و 25 ملغم /مل للبكتريا *K. pneumoniae* إضافة إلى ذلك لم يمتلك النيوكليوسايد أي سمية خلوية بينما أمتلك قلويد السلالة TG4 سمية خلوية ضد كريات الدم الحمر عند التراكيز 100 و 20 و 0.2 ملغم/مل .

المناقشة

سجلت الدراسة الحالية أن السيانوبكتريا *T. nodosa*أمتلك فعالية ضد بكتيرية عالية مقارنة بالأنواع الأخرى المدروسة و تبين أن المركب الفعال هو مركب نيوكليوسيدي وهوأحد مشتقات النيوكليوسايد tubercidin، و أن هذا المركب لم يظهر سمية خلوية ضد كريات الدم الحمر للإنسان و هذا يتفق مع ما ذكره [23] .و النيوكليوسايدات هي عبارة عن مركبات طبيعية توجد بهيئة أيضات ثانوية secondary metabolites و هي مركبات تنتجها الأحياء المجهرية يعتقد بأن لها دور في الدفاع عن خلايا تلك الكائنات [24]، و لهذه المركبات فعالية حيوية ضد بكتيرية و ضد فطرية و مضادة للأورام و الفيروسات لذا فهي تعتبر مصدر واعد في تطوير صناعة المضادات الحيوية [25].

إن آلية فعالية النيوكليوسايدات هي قدرتها على تثبيط عملية تصنيع البروتين و ذلك بتداخلها مع عمل tRNA ينتج عنه تثبيط عملية الترجمة translation مؤدياً إلى تثبيط نمو البكتريا، و من ثم موتها [26]، كما أن بعض النيوكليوسايدات ترتبط مع الفص الداخلي للحلزون (144) التابع للـ 16S rRNA مؤدياً إلى زيادة معدل الارتباط الخاطئ للأحماض الأمينية [27] . و قد تتمكن هذه المركبات من تثبيط بناء جدار الخلية البكتيرية و ذلك باستهداف عملية تصنيع طبقة متعددة الببتايد السكري Peptidoglycan من خلال تثبيط عمل الإنزيم translocaseالداخل في عملية تصنيع متعدد الببتايد [28] .

أختير النوع *T. nodosa* لغرض زيادة إنتاجيته و ذلك بتعريضه إلى مطفر فيزيائي هي أشعة گاما لإحداث طفرات تسهم في زيادة إنتاجية هذا النوع لان السيانوبكتريا عموما تكون ذات إنتاجية واطئة ، ذكر [29]بأن الطفرات الصغرى لها دور رئيسي في تطوير السلالات ، و تؤثر هذه الطفرات على كمية المنتوج بينما تبقى الخلية الطافرة مشابهة للخلية الأم من الناحية المظهرية فضلاً عن أنها تعطي نمواً سريعاً.

أن عدداً من الطفرات قد تحدث ليست نتيجة مباشرة لنوع الضرر الذي يسببه العامل المطفر للحامض النووي الرايبوزي المنقوص الأوكسجين DNA و لكنها نتيجة لعمليات الإصلاح لذلك الحامض الذي تقوم به الخلية و تحولها إلى تحويرات ثابتة في تعاقب القواعد النتروجينية على جزيئة الـ DNA ، و العوامل الوراثية التي تعمل من خلال هذا المجال هي أشعة گاما [30]، فمثلاً عند مرور أشعة گاما بخلية ما تؤدي إلى تكوين جذور حرة أو ما يعرف Reactive Oxygen Species (ROS) وهذه الجذور تتداخل مع جزيئه DNA تحطمها بكسر أحد أو كلا الخيطيين [31]. أن نسبة القتل تزداد بزيادة التعرض لأشعة گاما و هذا يتفق مع[32]و[33] .

يعزى سبب مقاومة بعض الخلايا للمطفر لوجود أنظمة إصلاح خاصة منها نظام Superoxide Dismutase System(SOD)، يتميز هذا النظام بوجود أنظمة إنزيمية تعادل المركبات الضارة قبل تفاعلها مع الـ DNA و الذي يقوم بتحوير جذور سوبراوكسيد إلى بيروكسيد الهيدروجين، بينما إنزيم catalase بالمقابل يحول بيروكسيد الهيدروجين إلى ماء[34]و[35]و[36]. كما يمكن أن يحدث الإصلاح بإستخدام نظام الإستئصال excision repair ، خلال هذا النظام يتم التعرف على القاعدة النتروجينية المحورة و من ثم إستئصالها [37]و[38] . و باستخدام أشعة گاما كمطفر، تبين أن المركب الفعال الناتج من عملية التطفير هو مركب قلويدي ذو فعالية عالية ضد بكتيرية و السبب هو أن القلويدات لها القدرة على تحطيم الأغشية السايتوبلازمية و ترسيب البروتينات داخل الخلية ، إضافة إلى تثبيطها لعمل الإنزيمات[39]و[40] .و يعد هذا التغيير أو التحول في *T. nodosa* من إنتاج مركب نيوكليوسيدي الى مركب قلويدي وكلاهما مثبط لنمو البكتريا تغيير جذري في الأيض لم يسبق أن أشير إليه في الأدبيات الخاصة بالسيانوبكتريا وأن آلية التغيير و ما حصل على التركيب الوراثي. مما يستدعي دراسة معمقة في استقصاء الأمر.

جدول (1) الفعالية التثبيطية للسيانوبكتريا المدروسة مقاسه بالمليمتر

Proteus sp.			*Klebsiella pneumoniae*			*Brucella* Sp.			*Pseudomonas aeruginosa*			*Staphylococcus aureus* ATCC25923			*Escherichia coli* ATCC25922			البكتريا المختبرية / السيانوبكتريا
M	C	H	M	C	H	M	C	H	M	C	H	M	C	H	M	C	H	
ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	-	-	-	-	-	-	*Chroococcus limneticus*
ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	-	-	-	-	-	-	*Microcystis aeruginosa*
-	-	-	-	-	-	-	-	12	-	-	11	-	-	13	-	-	10	*Merismopedia tolleri*
ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	-	-	12	-	-	11	*Oscilatoria* Sp.
ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	-	11	-	-	9	1	*Anabaena cylindrica*
16	-	-	-	-	-	14	-	-	18	-	-	33	-	-	31	-	-	*Tolypothrix nodosa*

ND: Not Detected; M: Methanol; C: Chloroform; H: Hexane; لايوجد تثبيط:-

جدول (2) الكشوفات النوعية لمستخلصات *T. nodosa* و العزلة الطافرة (TG4) *T. nodosa*

البكتريا المختبرية / السيانوبكتريا	الكاربوهيدرات			القلويدات		الفلافونويدات		الفينولات		التانينات		الصابونيات	الأحماض الأمينية و الببتيدات	البروتينات	التربينات الثلاثية و الستيرولات	التربينات الثلاثية	الستيرويدات	النيوكليوسايدات
	مولش	قبل التحلل	بعد التحلل	دراكدروف	ماير	Alcoholic	خراطة المغنيسيوم	كلوريد الحديديك	فيوكومارينات	خلات الرصاص	كلوريد الحديديك							
T. nodosa	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+
T. nodosa mutant	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-

+: تعني موجود ، - : تعني مفقود

جدول رقم (3) إنتاجية العزلة الطافرة TG4للسيانوبكتريا الـــ *T. nodosa* باستخدام أشعة كاما

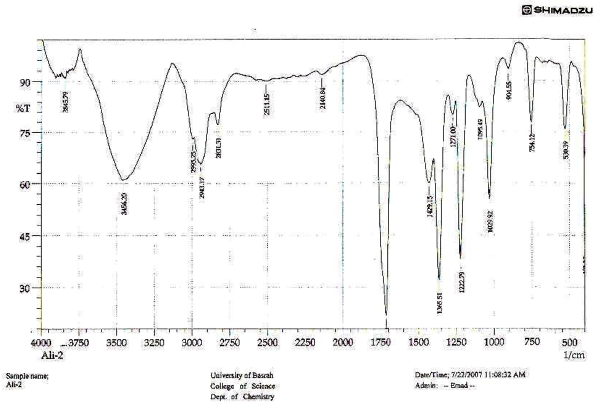
زمن التشعيع(دقيقة)	جرعة الاشعاع (كراي)	الإنتاجية(غم/لتر)
السلالة الأم	0	0.042
0.5	0.28	0.025
1	0.56	0.029
3	1.68	0.047
5	2.8	0.115
10	5.6	0.022
15	8.4	0.078
30	16.8	0.08
45	25.2	0.0828
60	33.6	0.076

جدول (4) الفعالية ضد بكترية للعزلة الطافرة TG4 للسيانوبكتريا *T. nodosa* باستخدام اشعة كاما

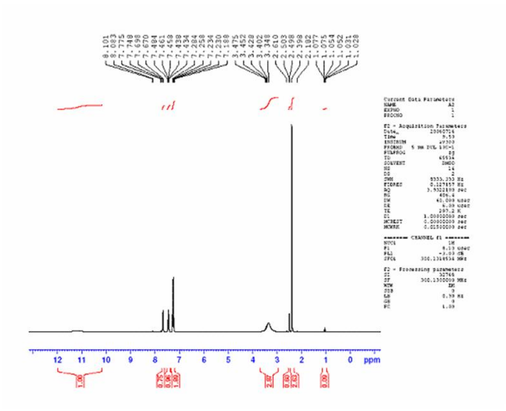
زمن التشعيع(دقيقة)	جرعة الاشعاع (كراي)	قطر التثبيط(ملم)	
		Staph. aureus **ATCC25923**	***E. coli*** **ATCC25922**
السلالة الأم	0	33	31
0.5	0.28	0	0
1	0.56	0	0
3	1.68	0	0
5	2.8	45	34
10	5.6	0	0
15	8.4	0	0
30	16.8	0	0
45	25.2	0	0
60	33.6	0	0

جدول (5) التراكيز المثبطة الدنيا MIC للسانوبكتريا *T. nodosa* والعزلة الطافرة TG4

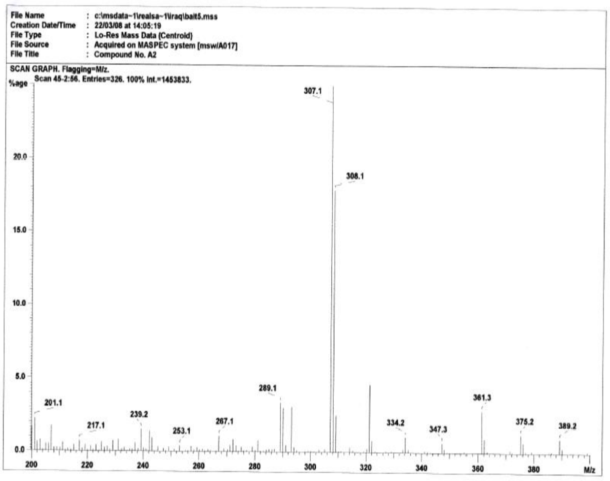
البكتريا	MIC of Alkaloid (mg/ml) TG4	MIC of nucleoside (mg/ml) mother strain
E. coli ATCC25922	10	10
Staph. Aureus ATCC25923	5	1
Brucella sp.	10	10
P. aeruginosa	15	10
K. pneumoniae	25	-
Proteus sp.	15	10

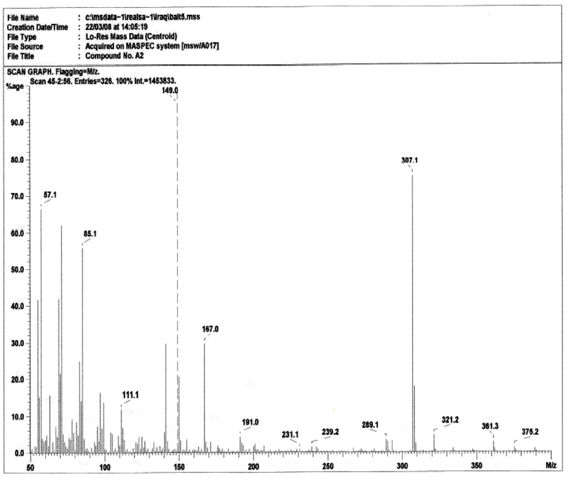


IR



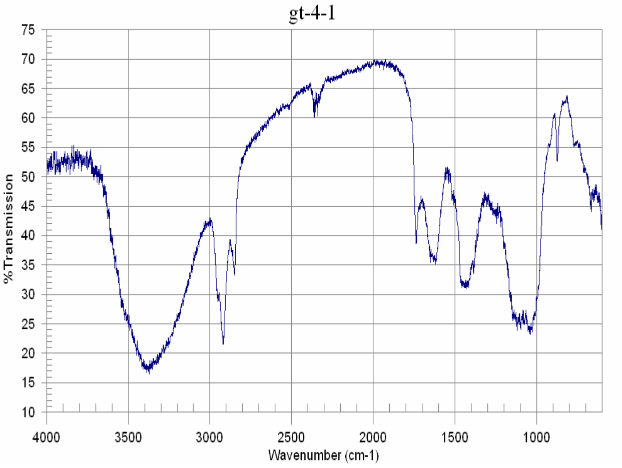
NMR



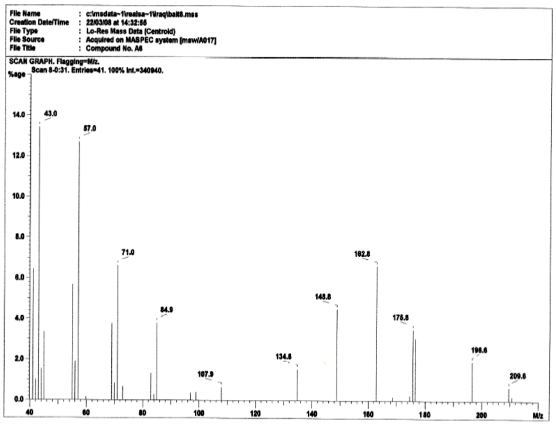


GC/MS

شكل (1) أطياف النيوكليوسايد tubercidin المعزول من السيانوبككتريا ***T.nodos***



IR



GC/MS

شكل (2) أطياف القلويد المعزول من السلالة الطافرة **TG4** .

المصادر

1- A . Oren , Int. J. Syst. Evol. Microbiol., 54 , 1895 , (2004) .

2- G. E., Fogg , Arch. Hydriobiol. Belh . Ergeg. Limnol., 5 , 1 , (1971)

3- R. E. Moore , T. H. Corberrt , G. M. L. Patterson and F. A., Curr. Pharm. Des., 2, 317 , (1996) .

4- E. Flores and C. P. Wolk , Arch. Microbiol., 145 , 215 , (1986) .

5- A. A. Vepritskii , B. V. Gromov , N. N. Titova and K. A. Mamkaeva. Microbiol., 60 , 21 , (1991).

6- K. H. Mehdi , M. M. AL- Hejuje and N. J. AL-Mousawi , Iraqi , J. Biol. , 2, 469 , (2002) .

7- Y. Ghasemi , M. T. Yazdi , S. Shokravi , N. Soltani and G. Zarrini , J. Sci., Isl. Rep. Iran .

8- M. M. EL-Sheekh , M. E. H. Osman , M. A. Dyah and M. S. Amer , Environ. Toxicol. Pharmacol., 2 , 142 , (2006).

9- M. A. I. AL-Mazini , Isolation and identification of antibiotic cryptophycin from cyanobacterium *Nostoc muscorum* isolated from Iraqi soil and study of its antimicrobial activity , M. Sc. Thesis , collosci , Basrah Univ. (2007) .

10- N. J. M. AL- Mousawi , Isolation and identification of some active compounds from blue – green algae and testing for their bioactivity , Ph. D. thesis , coll. Sci., Basrah Univ. (2007) .

11- J. P. Goud , D. Se Shikala and M. A. Singara Charya , Sci. Wor. J., 23 , 19 , (2007) .

12- J. R. Stein . Handbook of Phycological methods . Cambirdge Univ. Press , Cambridge , Uk., 448 pp (1973) .

13- R. W. Hoshaw and J. R. Roswski , Methods for microscopic algae. Pp 53 – 86 . In : J. R. Stein (ed.) Handbook of Physiological methods , culture methods and growth meq Cambridge Univ. press . (1979) .

14- M. J. AL- Aaraji , Studies on the mass culture of some microalgae as food for fish larvae . Ph. D. thesis , coll. Sci., Basrah Univ. (1996) .

15- T. V. Desikachary . Cyanophyta . Indian concil of agricultural research , New Delhi , India (1959) .

16- G. Prescott . Algae of the western lake area , Ellion , C. Brown Co. Pub . Duguguc , Iwoa , USA. (1975) .

17- T. I. Kassim , H. AL-Saadi , A. A. AL-Lami and Y. A. ALwan , Sci. J . Iraqi Atom . ener. Com., 1 , 99 , (1999) .

18- I. J. Rios , M. C. Recio and A. Villar , J. Ethanopharmacol., 21 , 139 , (1987) .

19- C. Perez , M. Pauli and P. Bazerque , J. Aotabiol., 15 , 113 , (1990).

20- S. Back J. Liang and J. Yong . Invest. , 13 , 56 , (2005) .

21- NCCLS (National Committe for Clinical Laboratory Standards) , Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests of bacteria that grow aerobically . In Approred Standard M 100 – 512 . Wayne , (2002) .

22- H. Xian – guo and M. Ursula , J. Ethnopharmacol., 43 , 173 , (1994) .

23- A. M. Burja , B. Bernard , A. M. Eliane , B. Grant and C. W. Phillip . Tetrahedron , 57 , 9347 , (2001).

24- S. Knapp , Science , 274 , 1367 , (1995) .

25- S. Ichikawa and A. Matsuda , Nucleic acid symbiosis series ,52 , 77, (2008) .

26- H. C. Neu and T. D. Goolz , Medical microbiology . Texas Univ., Galeston , (1996) .

27- A. P. Carter , W. M. Clemons , D.E. Brodersan , R. J. Warreu , B. T. Wimberty and V. Ramakrishnan , Nature , 40 , 340 (2000).

28- K. Kimura and T. D. H. Bugg , Nat. Prod. Rep., 252 , (2003)

29-العاني ، فائق عزيز ، التكنولوجيا الحيوية . مطبعة دار الكتب للطباعة والنشر ، جامعة الموصل (1993) . .

30 - A. M. Beth , Mutation , mutagens and DNA repair out line , Kansas state Univ.(1998).
31- T. Grune , Northeast Regional Env. Public Health center Univ. Mass achustt , Amherat , 10 (2002) .
32- الاسدي ، زينب طعمه خلف ، عزل المضاد الحيوي المضاد للاورام من العزلة المحلية *Streptromyces alboflavus* وتحسين انتاجة . رسالة ماجستير ، كلية العلوم – جامعة البصرة (2006) .
33- G. Sermonti , Genetic of antibiotic Producing microorganisms , Wiley Inter. Sci. Ltd. London , New york , Sydny , Toronto (1969)

34- J. F. Word , Radiat . Res. 138 , 85 , (1994) .
35- S. C. Marcus , D. E. Mark , D. Miral and L. Joseph , FASEB. J., 17 , 1195 , (2003) .
36- A. R. Ander , A. Dietrich , B. Andre , L. G. Bernard , B. Roland , M. Royer , T. Maurice , V. Alain and D.V. Florent , Dose- effect relationships and estimation of carcinogenic effect of low doses of ionizing radiation National Academy of medicine .
37- V. H. Bennett , A. E. Jonathan and C. H. Phlilp , PNAS , 99 , 2581 , (2002) .
38- W. Cruger and A. Cruger , Biotechnology : A text book in molecular biology 2nd (ed.). Appleton and Lange Nowalk Connecticut , USA., (1984).
39- P. R. Gayon , Plant Phenolies . Oliver and Boyed , Edinburgh , Uk.

40- M. Ogata , T. Munikane , M. Seki , K. Oka, S. Urano , S. Seki , Y. Seki and T. Endo , Biol. Pharm. Bull. , 28 , 1773 , (2005) .

Antibacterial Activity of some Cyanobacteria in Basrah Governorate

Ali A.Shareef **Amin A.A.AL-Salami**
Biology Dept. ,College of Education ,Basrah University

Abstract

Six species of cyanobacteria: *Chroococcus limneticus* , *Microcystis aeruginosa* , *Merismopedia Trolleri* , *Oscillatoria* sp., *Anabaena cylinderica* and *Tolypothrix nodosa*. were isolated from different locations in Basrah.Hexane, chloroform, methanol extracts of those species were tested to detect their ability on growth inhibit of some representatives of Gram-negative and Gram-positive bacteria. Methanol extracts of *T.nodosa* showed higher inhibitory effect, whereas hexane extracts of *M. Trolleri* , *Oscillatoria* sp. showed moderate antibacterial activity. Chloroform extracts present the lowest antibacterial activity of *A. cylindrical* .Methanol extract of *T. nodosa* was selected for the identification of bioactive compounds depending on the bioactive compounds tests and spectroscopic analyses including: Infrared (IR); Nuclear Magnetic Resonance spectroscopy (NMR); and Gas Chromatography/ Mass spectrum (GC/MS) the. Results indicate that one compound is a nucleoside which is derivative of tubercidin .

T. nodosa was selected to improve its productivity by exposing to gamma radiation at different doses, and sub culturing the strain which have high productivity and antibacterial activity ,the results showed that the dose 2.8 gray was the most effective. The symbol TG4 was given to the mutant strain with the highest productivity and antibacterial activity. By using the previous methods of chemical compounds identification, the bioactive compound was alkaloid. MIC and cytotoxicity of both compounds were done.