مجله علوم وفنون دریایی، فصل نامه ی علمی پژوهشی

دوره ۲۱، شماره۳، پاییز ۱۴۰۱، صفحات ۱۲ تا ۲۲

مقاله پژوهشی

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

تاثیر عصاره حنا (*Lawsonia inermis*) بر میکروجلبک *Chlorella vulgaris*

محبوبه محمدی [۱]، غلامرضا شریفی سیرچی [۲*]، مرتضی یوسف‌زادی [۳]

۱. دانشکده منابع طبیعی و کشاورزی، 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 مسؤل، پست الکترونیک: sharifi-sirchi@uk.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۶/۲۲ **تاریخ بازنگری:** ۱۴۰۰/۰۱/۰۲ **تاریخ پذیرش:** ۱۴۰۰/۰۱/۱۸

شناسه دیجیتال (DOI): 10.22113/JMST.2021.245675.2390

چکیده

پدیده بیوفولینگ خسارت اقتصادی بزرگی را روی ساخت و سازهای مصنوعی ایجاد می‌نماید به‌طوری‌که با کاهش قدرت مانور شناورها و در نتیجه کاهش سرعت آن‌ها موجب افزایش مصرف سوخت و هم‌چنین افزایش هزینه‌های تعمیر و نگهداری می‌شود. امروزه مطالعات بسیاری در مورد رفع معضلات بیوفولینگ صورت گرفته است که مهم‌ترین آن‌ها، شناسایی ترکیبات آنتی‌فولینگی طبیعی است. در این مطالعه، خواص ضد فولینگ گیاه دارویی حنا با (*Lawsonia inermis*) استفاده از حلال‌های آن‌هگزان، اتیل‌استات، متانول و آبی بررسی شدند. تیمارها در ۳ تکرار انجام شد. پس از ۲۴ ساعت، در زیر میکروسکوپ نوری، تعداد جلبک‌ها به‌وسیله لام نئوبار شمارش گردید. آنالیز داده‌ها با نرم‌افزار SAS انجام شد و مقایسه داده‌ها به‌وسیله آزمون چند دامنه‌ای دانکن صورت گرفت. بررسی تجزیه آماری عصاره‌های گیاه دارویی حنا روی میکروجلبک *Chlorella vulgaris*، نشان داد که در سطح احتمال ۰/۰۰۱، بین تیمارها از نظر آماری اختلاف معنی‌دار وجود دارد. بررسی نتایج مربوط به تغییرات رشد نشان داد که با اعمال تیمارها، رشد این جلبک به‌میزان قابل توجهی مهار شده است. عصاره اتیل‌استاتی با غلظت ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، عصاره ان‌هگزانی با غلظت ۲۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و عصاره متانولی با غلظت ۸۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و عصاره آبی با غلظت ۱۶۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به‌ترتیب بیشترین اثر بازدارندگی بر زنده‌مانی میکروجلبک *Chlorella vulgaris* را دارا بودند.

واژگان کلیدی: حنا، عصاره، بیوفولینگ‌های دریایی، ضدجلبک

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

بیوفولینگ دریایی، استقرار ارگانیسم‌ها در سطوح ساختارهای غوطه‌ور در آب دریا، چالش‌هاای مختلف و گسترده‌ای را برای صنایع در حال توسعه فن‌آوری محیط دریایی در سراسر جهان ایجاد می‌کند. بسیاری از این صنایع شامل تاسیسات دریایی و تجهیزات غوطه‌ور با اندازه و شکل مختلف برای مدت طولانی در دریا مستقر هستند. غلبه بر بیوفولینگ یک چالش اساسی برای حفظ عمر عملیاتی طولانی و کارآمد بر تجهیزات دریایی است (Titah-Benbouzi et al., 2017; Loxton et al., 2017). رسوب زیستی (بیوفولینگ) مشکلی است که توسط بیوفیلم‌های میکروبی ایجاد می‌شود. پدیده بیوفولینگ خسارت اقتصادی بزرگی را روی ساخت و سازهای مصنوعی از جمله کشتی‌ها و سکوهای دریایی هم‌چنین تجهیزات موجود در ساحل و اسکله‌ها ایجاد می‌نماید به‌طوری‌که با کاهش قدرت مانور شناورها و در نتیجه کاهش سرعت آن‌ها موجب افزایش مصرف سوخت و هم‌چنین افزایش هزینه‌های تعمیر و نگهداری می‌شود. بیوفیلم هم‌چنین می‌تواند علاوه‌بر مشکلات در تصفیه و بهداشت، باعث تلف کردن انرژی و انسداد در لوله‌های کندانسور، مواد خنک‌کننده، مدارهای آب و فاضلاب، لوله‌های انتقال حرارت و کشتی‌ها شود. بیوفیلم هم‌چنین می‌تواند باعث ایجاد خطرات میکروبی به‌دلیل انتشار پاتوژن از برج‌های خنک‌کننده یا کاهش کیفیت آب در سیستم‌های توزیع آب آشامیدنی گردد.

لذا کنترل و پیشگیری از رشد میکروارگانیسم‌ها در محیط‌های صنعتی، نقش مؤثری در کاهش هزینه‌ها و جلوگیری از اتلاف زمان خواهد داشت. امروزه از روش‌های زیستی و شیمیایی برعلیه بیوفیلم‌ها استفاده می شود. از روش‌های زیستی می‌توان به استفاده از ترکیبات آنتی‌فولینگی طبیعی در محیط زیست دریا و خشکی اشاره نمود. پوشش‌های آنتی‌فولینگ متنوعی با مکانیزم‌های مختلف وجود دارند که هر کدام کیفیت و طول عمر مشخصی دارند. یکی از مکانیزم‌ها پوشش‌های ضدجلبک برای جلوگیری از نشستن رسوبات دریایی روی شناورها استفاده از انواع مواد سمی مانند ترکیبات سرب و جیوه، آرسنیک، قلع و مس می‌باشد معروف ترین نوع رنگ‌های ضدجلبک حاوی Tributyltin، قلع و مس هستند. بسیاری از محققان زیست محیطی در حوزه دریا، دریافته‌اند که استفاده از این مواد آلودگی‌های زیست محیطی مخربی ایجاد کرده و آثار بسیار نامطلوبی روی بسیاری از جانداران دریایی به‌ویژه پستانداران دریایی از جمله دلفین‌ها دارد. این مواد در چرخه غذایی سایر موجودات دریایی از قبیل ماهی‌ها و صدف‌های خوراکی نیز قرار گرفته و به‌دلیل حضور این آبزیان در زنجیره غذایی انسان، به انسان نیز آسیب می‌زنند. با آگاهی عمومی از مشکلاتی که پوشش‌های مسی و زیست‌کش‌ها برای محیط‌زیست دریایی ایجاد می‌کردند و با توجه به هزینه‌های تحمیلی به‌کشتی‌ها بر اثر فولینگ‌ها، تلاش‌ها برای دست‌یابی به پوشش‌هایی موثر با سمیتی کمتر تمرکز یافت (Yu et al., 2011). تحقیقات نشان داده است که برخی از گیاهان دارویی می‌توانند رشد جلبک‌ها را به‌سرعت مهار کنند، بنابراین فعالیت‌های ضدجلبکی گیاهان خشکی، یک راه برای کنترل جلبکی آب‌ها هستند (Lixiao et al., 2010).

حنا، گیاه دارویی درختچه‌ای با نام علمی (*Lawsonia inermis*) از تیره حنائیان (Lythraceae) و با نام انگلیسی (Henna) است (Evans., 2009).

درمان‌گران سنتی از مدت‌ها قبل از این گیاه برای پیشگیری یا درمان بیماری های عفونی استفاده می‌کردند (González-Lamothe et al., 2009; Habbal et al., 2007). برگ و گل حنا هر دو نقش دارویی دارند. برگ حنا نیز به‌واسطه داشتن ماده‌هایی به‌نام (Lawsone) حاوی مانیتول (Mannitol)، اسیدتانیک (Tannic acid)، موسیلاژ (Mucilage) و گالیک اسید (Gallic acid) می‌باشد. اما مهم‌ترین ماده تشکیل دهنده آن ۲- هیدروکسی ناپتوکوینون (2 Hydroxy Naputoquinone) یا لاوسون است که به‌عنوان یک عامل فعال زیستی و ماده اصلی مربوط به خاصیت رنگی حنا می‌باشد (Guha et al., 2011). در این مطالعه، خواص ضدفولینگ عصاره‌های الکلی و آبی گیاه دارویی حنا (*Lawsonia inermis*) با استفاده از حلال‌های ان‌هگزان، اتیل‌استات، متانول و آبی بر روی میکروجلبک *C. vulgaris* بررسی شد.

۲. مواد و روش‌ها

نمونه‌ها از برگ تازه گیاه حنا از منطقه استان هرمزگان، رودان، رودخانه زیارتعلی روستای باجانی با طول و عرض جغرافیایی (27°74'53.9"N و 57°22'.44. 8"E) جمع‌آوری و انجام پروژه در آزمایشگاه کشت بافت، بیوتکنولوژی و آب و خاک دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه هرمزگان صورت گرفت.

جهت تهیه عصاره گیاهان حنا، پس از پاک‌سازی برگ‌ها و شست‌وشو با آب مقطر، نمونه‌ها در شرایط سایه و دمای اتاق خشک و سپس 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 گیاه، تعیین وزن عصاره استخراج شده با استفاده از حلال‌ها) انجام گرفت (Gohari et al., 2005; Ismail et al., 2008; Murray et al., 2001; Saednia et al., 2006; Yousefzadi et al., 2013). ۷۰ گرم برگ حنا برای هر حلال وزن نموده، حلال‌های ان‌هگزان، اتیل‌استات، متانولی و آبی تا اندازه‌ای که روی سطح گیاه را بپوشانند، بر روی نمونه‌ها ریخته شد.

جدول ۱- ترکیبات مورد استفاده در محیط کشت تغییریافته F_2
Table 1- Compounds used in modified culture medium F

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

*** مقادیر مورد نیاز برحسب (mg/L)**

در ظرف بسته شد و در محیط تاریک به‌مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد. پس از آن یک‌بار به‌وسیله کاغذ صافی معمولی و سپس با کاغذ واتمن صاف شدند. عصاره‌ها در زیر هود شیمیایی قرار داده شد تا حلال آن‌ها تبخیر شود.

جهت کشت میکروجلبک *Chlorella vulgaris* از محیط کشت F_2 استفاده شد. برای تهیه این محیط کشت کافی است ترکیبات ذکر شده در (جدول۱) را به‌دقت در آب مقطر حل کرده و به حجم یک لیتر رسانده و از دستگاه اتوکلاو برای استریل کردن محیط کشت استفاده گردد (Guillard and Ryther, 1962).

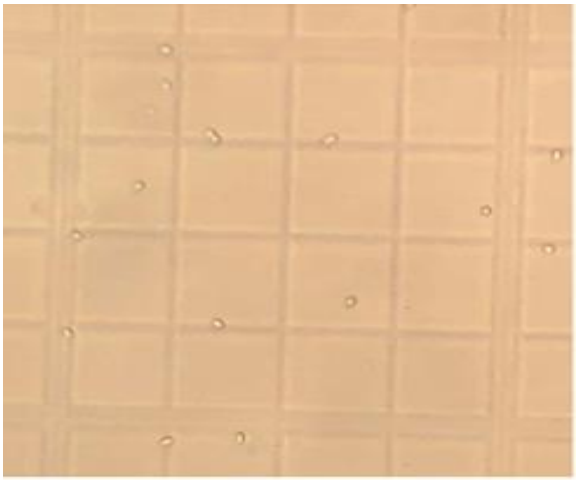
جهت کشت و انبوه‌سازی میکروجلبک‌های *Chlorella vulgaris*، استوک خالص این میکروجلبک (تهیه شده از مرکز تحقیقات شیلات بندرلنگه استان هرمزگان) در محیط کشت F_2 تغییر یافته مطابق (جدول۱) کشت داده شد (An et al., 2008). ابتدا به‌منظور جلوگیری از آلودگی، تمام ارلن‌ها و وسایل شیشه‌ای مورد نیاز آزمایش را در محلول اسید سولفوریک با غلظت ۵ درصد استریل و سپس با آب‌مقطر شسته شدند. آب‌دریا با شوری ۲۵ ppm تهیه و فیلتر گردید. وسایل مورد نیاز جهت کشت جلبک به‌مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد در دستگاه اتوکلاو به صورت خودکار استریل گردید. پس از سرد شدن آب دریا و رسیدن به دمای اتاق، طبق جدول ۲، مقدار معینی موادمغذی (یک میلی‌لیتر برای ۵۰۰ میلی‌لیتر آب) و ویتامین (۲۵۰ میکرولیتر برای ۵۰۰ میکرولیتر آب) برای استوک میکروجلبک به‌میزان 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 ppm ۲۵-۲۷ و pH =۷-۸ به کشت انبوه رسانده شد (Gorman and Levine, 1965). پس از گذشت ۱۰ روز از کشت، زمانی که تراکم این جلبک‌ها به‌میزان مورد نیاز رسید از آن به‌عنوان استوک اولیه جهت کشت تمامی تیمارهای آزمایش استفاده گردید. برای انجام تست‌های مورد نظر، روز قبل از انجام تست، به‌همین روش، جلبک‌ها واکشت داده شده و قبل از انجام تست، به‌وسیله دستگاه اسپکتوفتومتر OD جلبک‌ها خوانده شد. طول موج مناسب برای میکروجلبک *C. vulgaris* (۶۸۵ نانومتر) می‌باشد.

جهت بررسی اثر عصاره‌ها بر بازدارندگی رشد میکرو جلبک *Chlorella vulgaris*، عصاره‌های به‌دست 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 به‌میزان ۲ میلی‌لیتر ریخته شد. یک لوله نیز به‌عنوان شاهد، بدون عصاره و حاوی DMSO در نظر گرفته، سپس، به همه لوله‌ها جلبک کشت داده شده، به‌میزان یک میلی‌لیتر اضافه گردید. تراکم نهایی جلبک در هر لوله آزمایش در روز اول آزمایش 1×10^{3} cell.ml^{-} خواهد بود. پنبه اتوکلاو شده، سر لوله‌ها قرار داده و در قفسه، با همان شرایط کشت جلبک، به‌مدت ۲۴ ساعت قرار گرفت. شرایط کشت در طول تمام آزمایش یکسان در نظر گرفته شد. هر تیمار به‌صورت سه تکرار در آزمایش مورد بررسی قرار گرفت. تراکم جلبک‌ها بعد از ۲۴ ساعت و به‌وسیله‌ی لام نئوبار و با روش پیشنهاد شده توسط (Sorgeloos and Laren, 1997) مورد ارزیابی قرار گرفت (شکل۱).

تحلیل آماری نتایج در برنامه SAS نسخه ۹/۴ با به‌کارگیری آزمون های پارامتری آنالیز واریانس یک‌طرفه ANOVA در قالب طرح کاملا تصادفی و آزمون چند دامنه‌ای دانکن جهت مقایسه میانگین داده‌ها و سطح معنی‌دار برای داده $P<0.05$ در نظر گرفته شد.

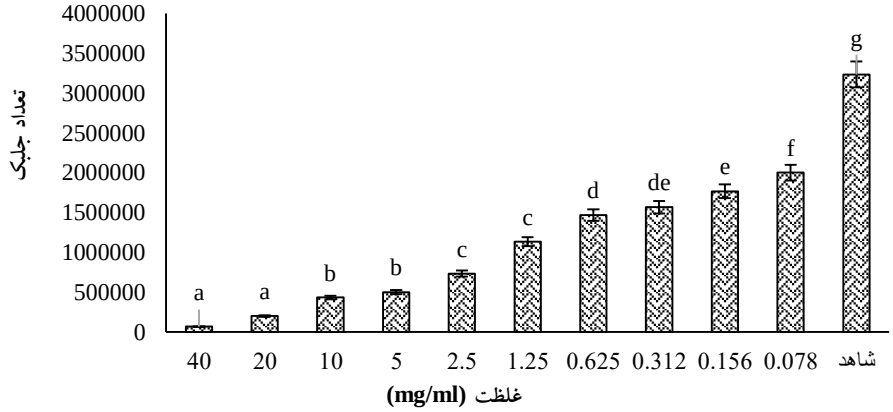
۳. نتایج

شمارش با استفاده از لام نئوبار برای مقایسه دوزهای مختلف عصاره ان‌هگزانی گیاه دارویی حنا روی میکروجلبک *C. vulgaris*، جهت مقایسه میانگین اثر تیمارهای مختلف با استفاده از آزمون مقایسه‌ای چند دامنه‌ای دانکن، نشان داد که بیشترین مقدار بازدارندگی و یا کشندگی متعلق به غلظت‌های ۴۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. به‌طوری که میانگین تعداد جلبک‌های زنده در میلی‌لیتر حجم نمونه کل، برابر ۶۶۶۶۶/۶۶ و ۲۰۰۰۰۰ بود که در کلاس a قرار گرفتند. در غلظت‌های ۱۰ و ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر با میانگین زنده‌مانی ۴۳۳۳۳۳/۳۳، ۵۰۰۰۰۰ سلول در ۲ میلی‌لیتر حجم نمونه کل در کلاس b قرار گرفتند و در غلظت‌های ۲/۵ و ۱/۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر با میانگین زنده‌مانی ۷۳۳۳۳۳/۳۳ و ۱۱۳۳۳۳۳/۳۳ در کلاس c و کمترین اثر بازدارندگی با غلظت ۰/۰۷۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در کلاس f با میانگین تعداد جلبک‌های زنده ۲۰۰۰۰۰۰ قرار گرفته‌اند و شاهد دی‌متیل سولفوکسید (DMSO) با بیشترین میانگین تعداد جلبک‌های زنده با ۳۲۳۳۳۳۳/۳۳ میلی‌لیتر حجم نمونه کل در کلاس g قرار گرفت (شکل ۲).



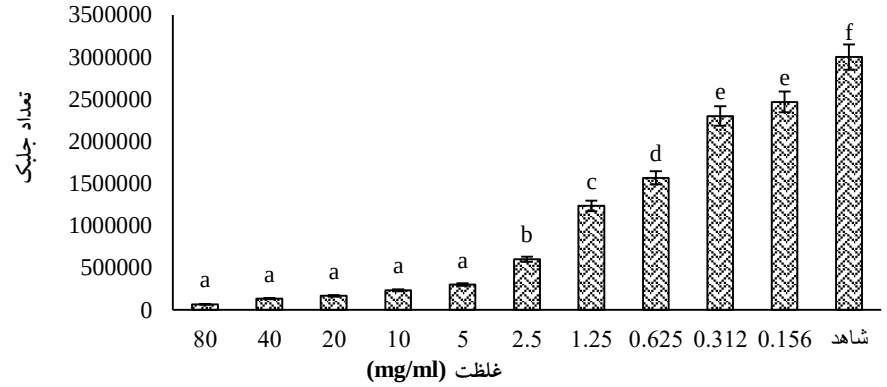
شکل ۱- میکروجلبک *Chlorella vulgaris*

Fig. 1- *Chlorella vulgaris* microalgae



شکل ۲: تاثیر عصاره ان‌هگزانی گیاه دارویی حنا روی میکروجلبک *Chlorella vulgaris*

Fig. 2- Effect of n-hexane extract of henna on *Chlorella vulgari*



شکل ۳ - اثیر عصاره اتیل‌استاتی گیاه دارویی حنا روی میکروجلبک *Chlorella vulgaris*

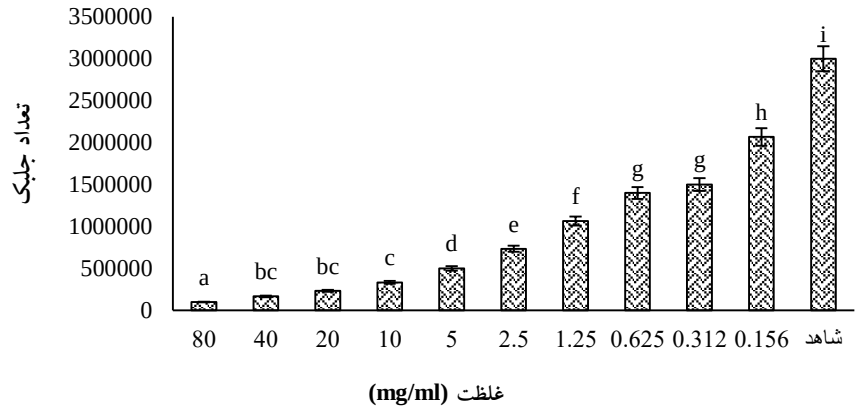
Fig. 3- Effect of henna ethyl acetate extract on *Chlorella vulgaris* microalgae

جهت مقایسه تاثیر دوزهای مختلف عصاره اتیل‌استاتی گیاه دارویی حنا (*Lawsonia inermis*) بر میکروجلبک *Chlorella vulgaris*، میانگین اثر تیمارها با استفاده از آزمون مقایسه‌ای چند دامنه‌ای دانکن بررسی شد. شمارش با استفاده از لام نئوبار برای مقایسه دوزهای مختلف عصاره اتیل‌استاتی گیاه دارویی حنا روی میکروجلبک *C. vulgaris* نشان داد که بیشترین مقدار بازدارندگی و یا کشندگی متعلق به غلظت‌های ۸۰، ۴۰ ، ۲۰، ۱۰ و ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود به‌طوری که میانگین تعداد جلبک‌های زنده در میلی‌لیتر حجم نمونه کل، به‌ترتیب برابر با ۶۶۶۶۶/۶۶، ۱۳۳۳۳۳/۳۳، ۱۶۶۶۶۶/۶۶، ۲۳۳۳۳۳/۳۳ و ۳۰۰۰۰۰ بود که این غلظته در کلاس a قرار گرفتند. کمترین اثر بازدارندگی در غلظت‌های ۰/۳۱۲ و ۰/۱۵۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر با میانگین زنده-مانی ۲۳۰۰۰۰۰ و ۲۴۶۶۶۶۶/۶۶ سلول در دو میلی‌لیتر حجم نمونه کل در کلاس e قرار گرفتند و شاهد (DMSO) با بیشترین تعداد جلبک‌های زنده با ۳۰۰۰۰۰۰ میلی‌لیتر حجم نمونه کل در کلاس f قرار گرفت (شکل ۳). .

جهت بررسی تاثیر دوزهای مختلف عصاره متانولی گیاه دارویی حنا (*Lawsonia inermis*) بر میکروجلبک *Chlorella vulgaris*، مقایسه میانگین اثر تیمارها با استفاده از آزمون مقایسه‌ای چند دامنه ای دانکن، شمارش با استفاده از لام نئوبار برای مقایسه دوزهای مختلف عصاره متانولی گیاه دارویی حنا روی میکروجلبک *C. vulgaris* انجام شد و نتایج نشان داد که بیشترین مقدار بازدارندگی و یا کشندگی متعلق به غلظت ۸۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود به‌طوری که میانگین تعداد جلبک‌های زنده در میلی‌لیتر حجم نمونه کل، برابر ۱۰۰۰۰۰ بود که این تیمار در کلاس a قرار گرفت. در غلظت‌های ۴۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر با میانگین زنده‌مانی ۱۶۶۶۶۶/۶۶ و ۲۳۳۳۳۳/۳۳ سلول در دو میلی‌لیتر حجم نمونه کل در کلاس bc قرار گرفتند و در غلظت‌های ۰/۶۲۵ و ۰/۳۱۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر با میانگین زنده‌مانی ۱۴۰۰۰۰۰ و ۱۵۰۰۰۰۰ سلول در دو میلی‌لیتر حجم نمونه کل در کلاس g قرار گرفتند. کمترین اثر بازدارندگی در غلظت ۰/۱۵۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر با میانگین زنده‌مانی ۲۰۶۶۶۶۶/۶۶ سلول در ذو میلی‌لیتر حجم نمونه کل در کلاس h قرار گرفت و شاهد (DMSO) با بیشترین میانگین تعداد جلبک‌های زنده با ۳۰۰۰۰۰۰ میلی‌لیتر حجم نمونه کل در کلاس i قرار گرفت (شکل ۴).

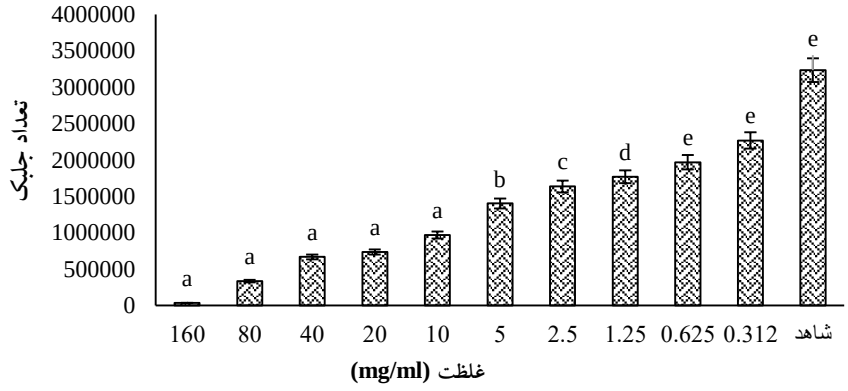
جهت بررسی تاثیر دوزهای مختلف عصاره آبی گیاه دارویی حنا (*Lawsonia inermis*) بر میکروجلبک *Chlorella vulgaris*، مقایسه میانگین اثر تیمارها با استفاده از آزمون مقایسه‌ای چند دامنه ای دانکن انجام شد. شمارش با استفاده از لام نئوبار برای مقایسه دوزهای مختلف عصاره آبی گیاه دارویی حنا روی میکروجلبک *C. vulgaris* نشان داد که بیشترین مقدار بازدارندگی و یا کشندگی متعلق به غلظت‌های ۱۶۰، ۸۰، ۴۰، ۲۰ و ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. به‌طوری که میانگین تعداد جلبک‌های زنده در میلی‌لیتر حجم نمونه کل، در غلظت‌های ۱۶۰ و ۸۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر برابر ۳۳۳۳۳/۳۳ و تیمارهای ۴۰، ۲۰ و ۱۰ به‌ترتیب برابر با ۶۶۶۶۶/۶۶، ۷۳۳۳۳۳/۳۳ و ۹۶۶۶۶۶/۶۶ بود که این غلظت‌ها در کلاس a قرار گرفتند. کمترین اثر بازدارندگی در تیمارهای ۰،۶۲۵ و ۰،۳۱۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر با میانگین زنده‌مانی ۱۹۶۶۶۶۶/۶۶ و ۲۶۶۶۶۶/۶۶ سلول در دو میلی‌لیتر حجم نمونه کل در کلاس e و شاهد (DMSO) با بیشترین میانگین تعداد جلبک‌های زنده با ۳۰۶۶۶۶۶/۶۶ میلی‌لیتر حجم نمونه کل در کلاس f قرار گرفت (شکل۵).

جهت مقایسه فعالیت ضدجلبکی عصاره‌های مختلف ان‌هگزانی، اتیل‌استاتی، متانولی و آبی گیاه دارویی حنا (Lawsonia inermis) بر میکروجلبک Chlorella vulgaris، مقایسه میانگین اثر تیمارها با استفاده از آزمون مقایسه‌ای چند دامنه‌ای دانکن انجام شد.



شکل ٤: تاثیر عصاره متانولی گیاه دارویی حنا روی میکروجلبک *Chlorell vulgaris*

Fig. 4- Effect of methanolic extract of henna on *Chlorella vulgaris*



شکل ٥ - تاثیر عصاره آبی گیاه دارویی حنا روی میکروجلبک *Chlorella vulgaris*

Fi g. 5- Effect of aqueous extract of henna on *Chlorella vulgari*

شمارش با استفاده از لام نئوبار برای مقایسه دوزهای مختلف عصاره‌های ان‌هگزانی، متانولی و آبی گیاه دارویی حنا روی میکروجلبک *C. vulgaris* نشان داد که بیشترین مقدار بازدارندگی و یا کشندگی متعلق به عصاره‌های آبی، ان‌هگزانی و اتیل‌استاتی با تیمارهای ۱۶۰، ۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود به‌طوری که میانگین تعداد جلبک‌های زنده در میلی‌لیتر حجم نمونه کل، به‌ترتیب ۳۳۳۳۳ و در عصاره‌های ان‌هگزانی و اتیل‌استاتی ۶۶۶۶۷ بود که این تیمار در کلاس a قرار گرفتند و عصاره‌های اتیل‌استاتی با غلظت ۴۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر با میانگین تعداد جلبک‌های زنده ۱۳۳۳۳۳، عصاره‌های اتیل‌استاتی و متانولی با غلظت‌های ۲۰ و ۴۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود به‌طوری که میانگین تعداد جلبک های زنده در میلی لیتر حجم نمونه کل، ۱۶۶۶۶۷ و عصاره ان‌هگزانی با تیمار ۲۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر با تعداد جلبک‌های زنده ۲۰۰۰۰۰ در کلاس abc قرار گرفتند و عصاره‌های متانولی و اتیل‌استاتی با تیمارهای ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر میانگین تعداد جلبک‌های زنده در میلی‌لیتر حجم نمونه کل ۲۳۳۳۳۳ در کلاس abcd، عصاره متانولی و آبی با تیمارهای ۱۰ و ۸۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر میانگین تعداد جلبک‌های زنده در میلی‌لیتر حجم نمونه کل ۳۳۳۳۳ در کلاس cde، عصاره متانولی و ان‌هگزانی با غلظت ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر میانگین تعداد جلبک‌های زنده در میلی‌لیتر حجم نمونه کل ۵۰۰۰۰۰ در کلاس efg قرار گرفتند. عصاره‌های ان‌هگزانی، آبی و متانولی با غلظت‌های ۲۰ و ۲/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر میانگین تعداد

جلبک‌های زنده در میلی‌لیتر حجم نمونه کل ۷۳۳۳۳۳در کلاس h قرار گرفتند. عصاره‌های متانولی و ان‌هگزانی با غلظت ۱/۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر میانگین تعداد جلبک‌های زنده در میلی‌لیتر حجم نمونه کل به‌ترتیب ۱۰۶۶۶۶۷ و ۱۱۳۳۳۳۳برابر با در کلاس efg قرار گرفتند. عصاره‌های آبی و متانولی با تیمار ۰/۶۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیترتعداد جلبک زنده در میلی‌لیتر حجم نمونه کل، ۱۴۰۰۰۰۰ در کلاس kl قرار گرفتند.

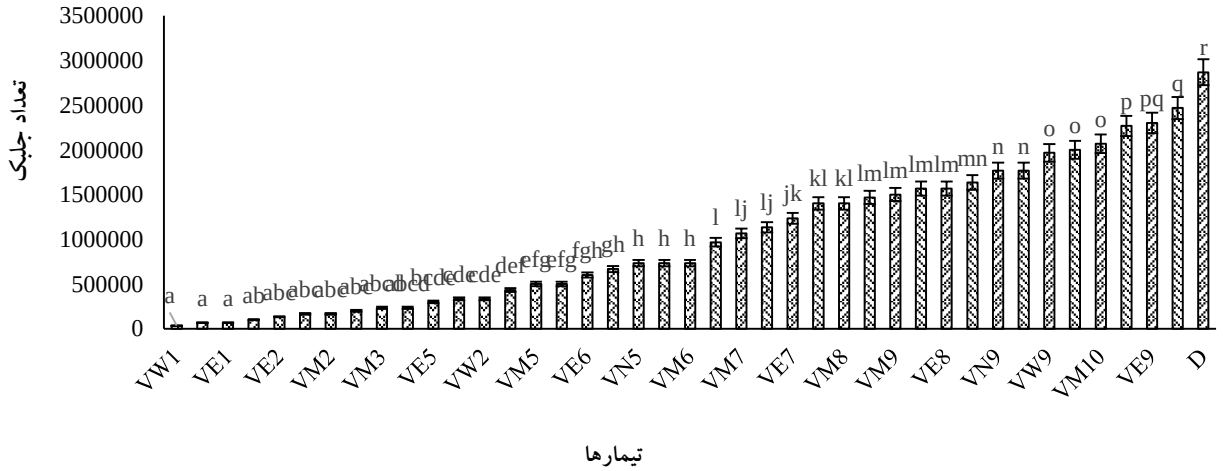
عصاره‌های ان‌هگزانی با تیمار ۰/۶۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر میانگین تعداد جلبک‌های زنده در میلی‌لیتر حجم نمونه کل ۱۴۶۶۶۶۷، متانولی و ان‌هگزانی با تیمار ۰/۳۱۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر میانگین تعداد جلبک‌های زنده در میلی‌لیتر حجم نمونه کل به‌ترتیب در ۱۵۰۰۰۰۰ و ۱۵۶۶۶۶۷ و عصاره اتیلی با تیمار ۰/۶۲۵ میانگین تعداد جلبک زنده ۱۵۶۶۶۶۷ در کلاس lm بودند. عصاره ان‌هگزانی و آبی با غلظت‌های ۰/۱۵۶ و ۱/۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر میانگین تعداد جلبک‌های زنده در میلی‌لیتر حجم نمونه ۱۷۶۶۶۶۷ در کلاس n بوده و عصاره آبی با تیمار ۰/۶۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر با میانگین تعداد جلبک زنده در میلی‌لیتر حجم نمونه کل ۲۰۳۳۳۳۳، عصاره ان‌هگزانی با تیمار ۰/۰۷۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و عصاره متانولی با تیمار ۰/۱۵۶ میانگین تعداد جلبک‌های زنده در میلی‌لیتر حجم نمونه کل میانگین تعداد جلبک‌های زنده در میلی‌لیتر حجم نمونه کل، به‌ترتیب برابر با ۱۹۶۶۶۶۷، ۲۰۰۰۰۰۰، ۲۰۶۶۶۶۷ و کمترین اثر بازدارندگی در عصاره‌های اتیل‌استاتی با تیمار ۰/۱۵۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در کلاس q قرار گرفته‌اند و شاهد (DMSO) با بیشترین میانگین تعداد جلبک‌های زنده با ۲۸۶۶۶۶۷ میلی‌لیتر حجم نمونه کل در کلاس r قرار گرفت (شکل-۶).

٤. بحث و نتیجه‌گیری

بررسی نتایج مربوط به تغییرات رشد نشان داد که با اعمال تیمارهای عصاره‌های (ان‌هگزانی، اتیل‌استاتی، متانولی و آبی) حنا *Lawsonia inermis* روی رشد میکروجلبک *C. vulgaris* به‌میزان قابل توجهی مهار شد. این مهار رشد تحت تاثیر عصاره اتیل‌استاتی با غلظت ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، عصاره ان هگزانی با غلظت۲۰میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و عصاره متانولی با غلظت ۸۰ میلی گرم بر میلی‌لیتر و عصاره آبی با غلظت ۱۶۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به ترتیب بیشترین اثر بازدارندگی بر زنده‌مانی میکروجلبک *C. vulgaris* را دارا بود.

بیوفولینگ فرآیندی است که 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 و می‌تواند یکی از بهترین گزینه‌های جایگزینی به‌عنوان ضدانحلال طبیعی بر روی رنگ‌های متشکل از فلزات سنگین فلز است. مانگروها دارای مجموعه‌ای از ترکیبات زیست فعال هستند. از این‌رو، تلاش برای پتانسیل ضدفولینگ (AF) مورد ارزیابی قرار گرفت.

در این مطالعه، یک نمونه biofoulant از قایق‌ها جمع‌آوری شد و باکتری‌های کشت شده بر روی محیط آگار دریایی Zobell's جداسازی شدند.



شکل ٦ : مقایسه عصاره‌های ان‌هگزانی، اتیل‌استاتی، متانولی و آبی گیاه دارویی حنا روی میکروجلبک *Chlorella vulgaris*

Fig. 6- Comparison of n-hexane, ethyl acetate, methanolic and aqueous extracts of the medicinal plant henna on the microalgae *Chlorella vulgaris*

نعیین توالی از پنج جدایه انجام شد و *Vibrio Parahemolyticus*، *Vibrio nereis*، *Micrococcus luteus*، *Exiguobacterium profundum* و *Salinicocoocu shispanicus* تایید شد. غربالگری درون آزمایشگاهی برای عصاره متانولی AF از مانگروها (برگ‌ها ، پوست و ریشه) ، به‌عنوان مثال، *Bruguiera cylindrical* و *Rhizophora apiculata* از *Pichavaram* در برابر باکتری‌های بیوفیلینگ با روش انتشار آگار انجام شد نتایج نشان داد که مانگروهای دارای ترکیبات بالقوه AF هستند و می‌تواند به‌عنوان منبع طبیعی ضدفولینگ مورد استفاده قرار گیرند (Nandhini and Revathi., 2016). در تحقیقی روی جداسازی و شناسایی ترکیبات ضدجلبک از برگ‌های گیاه آبزی *Vallisneria spiralis* L. تقسیم بندی عملکردهای هدایت شده نتایج آن نشان داد که چهار عصاره از برگ‌های *V. spiralis* به‌دست آمد. فعالیت های ضدجلبک نشان داد که اثر بازدارنده عصاره کلروفرم که میزان مهار رشد آن تا ۹۱٪ بود، قوی‌ترین بود. با این‌حال، اثرات مهاری عصاره ان‌بوتانول ضعیف‌ترین و تنها ۱۵٪ بود (Qiming et al., 2006) و نتایج تحقیقات ما در فعالیت‌های ضدجلبک قوی‌ترین بازدارنده در عصاره اتیل استاتی و ضعیف‌ترین مربوط به عصاره آبی بود.

در مطالعه ما روی میکروجلبک‌های *C. vulgaris* با اعمال عصاره‌های ان هگزان، متانولی، اتیل‌استاتی و آبی،عصاره حنا را می‌توان به عنوان یک جلبک‌کش موثر بیان کرد در مقایسه با دیگر مهارکننده‌های جلبکی مثل مواد شیمیایی، حنا به‌دلیل کاربرد گسترده‌ش کاربرد مناسبی خواهد داشت به‌عنوان یک جلبک‌کش با این فایده که اثر جانبی سمی ندارد و بقایایی از خود باقی نمی‌گذارد ، اقتصادی است و آلودگی ثانویه‌ی نیز ایجاد نمی‌کند. بنابراین بررسی‌های بیشتری برای مهارکنندگی جلبکی ارزشمند به‌نظر می‌رسد که با تحقیقات Zhou et al. (2007) مطابقت داشت.

در تحقیقی اثرات اسانس‌های گیاهان عالی روی کنترل کشند قرمز جلبک *Cochlodinium polykrikoides* در شرایط آزمایشگاهی مورد ارزیابی قرار دادند. 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. (Barani et al., 2014) و در نتایج ما اثر غلظت‌های مختلف عصاره‌های حنا مهار میکروجلبک‌ها را اثبات کرد و می‌توان توضیح داد که اثرات آلرژینیکی توسط جریان و امواج آب به حداقل می‌رسد، که ثبات نوع مهار کننده‌ها برای میکروجلبک‌ها مهم می‌باشد (Zhou et al., 2007). با توجه به اینکه حنا نیز از خانواده نعنائیان می‌باشد، نتایج حاصل از تحقیق حاضر نیز به تاثیر خوب حنا بر کنترل جلبک‌ها تاکید دارد و این امر مهم، نیاز به تحقیقاتی بر روی اسانس‌ها و ترکیبات این گیاه دارد.

توضیح ممکن برای فعالیت بهتر روغن اسانس می‌تواند به دلیل جذب اسانس و عصاره‌های لیپوفیلیک به بدن سلولی جلبک‌ها باشد (Yu et al., 2011) و در مطالعه‌ای روغن اسانس *S. khuzistanica*، *S. rechingeri* و *Z. multiflora* روی میکروجلبک، 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). در تحقیقاتی بر ماکروجلبک *Gracilaripsis persica* و *Hypnea flagelliformis* نشان داد که عصاره ان‌هگزانی دارای بیشترین میزان قدرت احیاکنندگی می‌باشد (جلیانی و همکاران، ۱۳۹۷). با توجه به اینکه حنا نیز از خانواده نعنائیان می‌باشد، نتایج حاصل از تحقیق حاضر نیز به تاثیر خوب حنا 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 هیچ‌گونه مهاری در *C. vulgaris* نداشت (Feng- Min, 2005) در نتایج تحقیقات ما عصاره‌های ان‌هگزانی در گیاه روی میکروجلبک *C. vulgaris* 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* به‌دست 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 *Microcystis aeruginosa cyanobacterium* بود. عصاره متانولی از بیومس خشک از giant reed به‌سرعت رشد را مهار می‌کند. از طریق استخراج حلال، عصاره متانول به بخش های خنثی و اسیدی تقسیم شد، هر دو این بخش‌ها هم‌چنین رشد *M. aeruginosa* را مهار کردند اما 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، کتون ها ، استرها ، الکل‌ها و غیره بود. در میان آن‌ها ۳-اندول (dimethylaminomethyl) (مثال، گرامین، آلکالوئید) در بخش خنثی مشاهده شد. گرامین مهارکننده، *M. aeruginosa* را در محدوده موثر محیطی ۰/۴۷ $mg\ L^{-1}$ مهار کرد و یکی از قوی‌ترین آللوشیمیایی‌های ضدجلبک از گیاهان آب‌زی بود (Hong, 2010). در گیاه حنا از حلال متانول برای استخراج برگ‌های آن به‌عنوان بازدارنده برای میکروجلبک‌های *C. vulgaris* استفاده شد که نتایج نشان داد حد متوسط بازدارندگی در هر دو میکروجلبک را نشان داد.

در مطالعه حاضر، با اعمال عصاره‌های ان‌هگزان، متانولی، اتیل-استاتی و آبی برگ گیاه حنا، روی میکروجلبک‌های *C. vulgaris* می‌توان عصاره اتیل‌استاتی حنا با غلظت ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر را به‌عنوان یک جلبک‌کش موثر بیان کرد. چرا که در مقایسه با دیگر مهارکننده‌های جلبکی مثل مواد شیمیایی، عصاره اتیل‌استاتی حنا به‌دلیل داشتن پایه گیاهی، ایمنی زیستی بالاتر، سمیت کمتر برای محیط زیست، پایداری کمتر در محیط، ارزان بودن و آلودگی ثانویه کمتر، یک مهارکننده جلبک مطلوب به‌نظر می‌رسد. بررسی نتایج مربوط به تغییرات رشد نشان داد که با اعمال تیمارهای عصاره‌های (ان‌هگزانی، اتیل‌استاتی، متانولی و آبی) حنا روی رشد میکروجلبک *C. vulgaris* به‌میزان قابل توجهی مهار شد. این مهار رشد تحت تاثیر عصاره اتیل‌استاتی با غلظت ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، عصاره ان‌هگزانی با غلظت۲۰میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و عصاره متانولی با غلظت ۸۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و عصاره آبی با غلظت ۱۶۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به‌ترتیب بیشترین اثر بازدارندگی بر زنده‌مانی میکرو جلبک *C. vulgaris* را دارا بود.

Refrences

Aarei Jeliani, Z., Yusef Zadi, M., sohrabipour, J. and toiserkani, H. 2018. Antioxidant and antibacterial assay of two red marine macro-alga of Bandar Abbas coastal. *Journal of Marine Science and Technology*, 17(2), 58-69.

An, Z., Wang, Z., Li, F., Tian, Z. and Hu, H., 2008. Allelopathic inhibition on red tide microalgae Skeletonema costatum by five macroalgal extracts. *Frontiers of Environmental Science & Engineering in China*, *2*, pp.297-305.

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.

Evans, W.C., 2009. *Trease and Evans' pharmacognosy*. Elsevier Health Sciences.

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

González-Lamothe, R., Mitchell, G., Gattuso, M., Diarra, M.S., Malouin, F. and Bouarab, K., 2009. Plant antimicrobial agents and their effects on plant and human pathogens. *International journal of molecular sciences*, *10*(8), pp.3400-3419.

Gorman, D.S. and Levine, R.P., 1965. Cytochrome f and plastocyanin: their sequence in the photosynthetic electron transport chain of *Chlamydomonas reinhardi*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *54*(6), p.1665.

Gorman, D.S. and Levine, R.P., 1965. Cytochrome f and plastocyanin: their sequence in the photosynthetic electron transport chain of Chlamydomonas reinhardi. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *54*(6), pp.1665-1669.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.

El-Hag, A.G., Al-Jabri, A.A. and Habbal, O.A., 2007. Antimicrobial properties of Lawsonia inermis (henna): a review.

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.

Ismail, H., Lemriss, S., Aoun, Z.B., Mhadhebi, L., Dellai, A., Kacem, Y., Boiron, P. and Bouraoui, A., 2008. Antifungal activity of aqueous and methanolic extracts from the Mediterranean Sea cucumber, Holothuria polii. *Journal de Mycologie Médicale*, *18*(1), pp.23-26.

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.

Lixiao, N., XiangYang, H., ShiYin, L., ShiJin, C., GaoXiang, R., Liang, Z., 2010. Inhibitory effects of the extracts different solvents from three compositae plants on *cyanobacterium Microcystis aeruginosa*. Science hina Chemistry, 7: 1123-112.

Loxton, J., Macleod, A.K., Nall, C.R., McCollin, T., Machado, I., Simas, T., Vance, T., Kenny, C., Want, A. and Miller, R.G., 2017. Setting an agenda for biofouling research for the marine renewable energy industry. *International journal of marine energy*, *19*, pp.292-303.

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.

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.

Saeidnia, S., Gouhari, A., Kiuchi, F. and Honda, G., 2005. In vitro anti-epimastigote activity of some Iranian medicinal plants.

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.

Titah-Benbouzid, H. and Benbouzid, M., 2017. Biofouling issue on marine renewable energy converters: A state of the art review on impacts and prevention. International *Journal on Energy Conversion*, *5*(3), pp.67-78.

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.

Yousefzadi, M., Riahi-Madvar, A., Hadian, J., Rezaee, F., Rafiee, R. and Biniaz, M., 2014. 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.

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

Autumn 2022, Vol. 21, No.3, pp. 12-22.

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

Original Article

Effect of *Lawsonia inermis* extract on *Chlorella vulgaris* microalgae

Mahbobeh Mohamadi[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: sharifi-sirchi@hormozgan.ac.ir

Received: 12 September 2020 **Revise Date:** 22 March 2021 **Accepted:** 7 April 2021

DOI: 10.22113/JMST.2021.245675.2390

Abstract

The biofouling phenomenon causes great economic damage to artificial structures, so that by reducing the maneuverability of vessels and thus reducing their speed, it increases fuel consumption as well as increases maintenance costs. Today, many studies have been done to solve the problems of biofouling, the most important of which is to identify natural antifouling compounds. In this study, the anti-folling properties of henna (*Lawsonia inermis*) were investigated using n-hexane, ethyl acetate, methanol and aqueous. Treatments were performed in 3 replications. After 24 hours, under a light microscope, the number of algae was counted by a neobar slide. Data were analyzed using SAS software and data were compared by Duncan's multiple range test. Statistical analysis of henna extracts on *Chlorella vulgaris* showed that there was a statistically significant difference between the treatments at the probability level of 0.001. Examination of the results related to growth changes showed that with the application of treatments, the growth of this algae was significantly inhibited. Ethyl acetate extract with a concentration of 5 mg/ml, deoxygenate extract with a concentration of 20 mg/ml and methanolic extract with a concentration of 80 mg/ml and aqueous extract with a concentration of 160 mg/ml were the most inhibitory effect on the survival of *Chlorella vulgaris*.

Keywords*:* Henna, Extract, Marine Biofouling, Anti-algae.

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.