



مقاله علمی - پژوهشی:

فعالیت ضدباکتریایی عصاره اتانولی پرمیکس جلبک‌های ماکروی قهوه‌ای علیه باکتری‌های بیماری‌زای دریایی

فاطمه خوگر^۱، پریا اکبری^{*}

*paria.akbary@gmail.com

۱- دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، دانشکده علوم دریایی، گروه شیلات، چابهار، ایران، صندوق پستی:

۹۹۷۱۷۷۸۶۳۱

تاریخ پذیرش: دی ۱۴۰۴

تاریخ دریافت: شهریور ۱۴۰۴

چکیده

افزایش تقاضا برای عوامل ضد میکروبی طبیعی، توجه به ترکیبات جایگزین آنتی‌بیوتیک‌های متداول در آبی پروری را افزایش داده است. در این مطالعه، فعالیت ضدباکتریایی عصاره اتانولی تهیه‌شده از مخلوط سه ماکرو جلبک قهوه‌ای شامل *Padina* *australis*، *Sargassum ilicifolium* و *Stoechospermum marginatum* علیه تعدادی از باکتری‌های بیماری‌زای دریایی بررسی شد. نمونه‌های جلبکی پس از شست‌وشو، خشک شدن و اختلاط در نسبت‌های مساوی، آسیاب شده و با اتانول استخراج شدند. عصاره در غلظت‌های ۱۰، ۲۰، ۴۰ و ۸۰ میلی گرم بر میلی لیتر علیه باکتری‌های *Vibrio parahaemolyticus*، *Vibrio harveyi*، *Vibrio alginolyticus*، سویه مثبت بیماری نکروز حاد هیپاتوپانکراس (AHPND+) و باکتری پروبیوتیک *Lactobacillus plantarum* با استفاده از روش انتشار دیسک در آگار ارزیابی شد. در هیچ یک از غلظت‌های مورد بررسی، اثری بازدارنده علیه *L. plantarum* و *V. alginolyticus* مشاهده نشد. عصاره اتانولی در برابر *V. parahaemolyticus*، *V. harveyi* و AHPND+ فعالیت ضدباکتریایی ضعیفی نشان داد و قطر هاله‌های عدم رشد آن به‌طور معنی‌داری کمتر از آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد بود ($P < 0.05$). در میان پاتوژن‌های مورد مطالعه، *V. harveyi* کمترین حساسیت را نشان داد و بیشترین قطر هاله عدم رشد آن در غلظت ۸۰ میلی گرم بر میلی لیتر برابر با 0.20 ± 0.30 میلی متر بود. اگرچه فعالیت ضدباکتریایی عصاره ماکرو جلبک‌های قهوه‌ای در مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌های رایج محدود بود، نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که این ماکرو جلبک‌ها می‌توانند به‌عنوان منبع مکملی از ترکیبات زیست‌فعال برای کاربردهای دارویی و نوتراسیوتیکی آینده مورد توجه قرار گیرند.

کلمات کلیدی: جلبک‌های ماکروی قهوه‌ای؛ عصاره اتانولی؛ باکتری‌های بیماری‌زای دریایی؛ گونه‌های *Vibrio*؛ آزمون انتشار دیسکی.

مقدمه

در حال حاضر، در دنیا، آبی پروری دریایی تقریباً یک سوم کل تولیدات آبی پروری را شامل می شود و با توجه به ثابت ماندن میزان صید جهانی آبزیان، این صنعت توجه زیادی را در تأمین پروتئین باکیفیت را به خود جلب نموده است (FAO, 2020). گزارش های فراوان، از بروز بیماری ها به خصوص بیماری های باکتریایی و تلفات ناشی از آنها و در نتیجه خسارت اقتصادی در آبی پروری ماهیان دریایی، نشان می دهد که بیماری ها به عنوان چالش بزرگ پیش روی این توسعه خواهند بود. باکتری های جنس *Vibrio* در خانواده *Vibrionaceae* قرار دارند و بیشتر اعضای این خانواده فرصت طلب و بیماری زا هستند (Woo and Gregory, 2014). باکتری های *Vibrio* بیشتر سپتی سمی باکتریایی را در ماهیان دریایی ایجاد می کنند. این باکتری ها فرصت طلب هستند و در شرایط استرس زا، بیماری زا می شوند. بر اساس سوابق موجود بیش از ۵۰ گونه ماهی دریایی، به عفونت ناشی از گونه های مختلف *Vibrio* حساس هستند (Buller, 2014; Woo and Gregory, 2014). بیماری ایجاد شده به وسیله این باکتری ها vibriosis نامیده می شود که باعث تلفات و ضرر اقتصادی زیادی در سیستم آبی پروری دریایی می شود (Chin et al., 2020).

افزایش مقاومت باکتری های بیماری زا به آنتی بیوتیک و پیدایش بیماری های جدید، از چالش های بشر است. مقاومت باکتری ها در برابر آنتی بیوتیک ها معمولاً براساس سازوکارهایی نظیر تولید تخریب کننده دارو، تغییر در گیرنده های دارو در سطح باکتری، تغییر در ساختار دیواره سلولی باکتری و دستیابی به مسیرهای متابولیک فرعی صورت می گیرد که جبران کننده واکنش مهار شده دارو هست که به صورت جهش خودبه خودی بر ژن های کنترل کننده حساسیت باکتری یا از طریق پلاسمید، از یک باکتری به باکتری دیگر منتقل می شود (Ghafari and Taheri, 2018). همچنین آنتی بیوتیک های باقی مانده در غذاهای دریایی و آبزیان بر سلامت انسان تأثیر منفی می گذارد (Qi et al., 2009).

امروزه شناسایی ترکیبات ضد میکروبی با منشأ طبیعی برای مقابله با باکتری های بیماری زامورد توجه فراوان قرار گرفته است. افزایش روزافزون مقاومت باکتری ها به آنتی بیوتیک های معمول منجر به ایجاد انگیزه ای برای یافتن ترکیبات جدید ضد میکروبی است و با توجه به این که گیاهان دارویی دارای عوارض و هزینه

کمتری هستند، می تواند یکی از منابع داروهای ضد میکروبی به حساب آید (Gharekhan Taghar Tapeh et al., 2020). همچنین متابولیت های ثانویه به علت به چالش کشیدن بحث هدف گیری و ساخت داروهای طبیعی و ارتقاء کیفی علوم زیست پزشکی، حوزه جذابی برای بسیاری از محققین علوم زیستی محسوب می شوند (Hassan et al., 2024).

بسیاری از مواد شیمیایی زیست فعال و داروشناختی به ویژه ترکیبات ضدباکتری را به طور بالقوه جلبک های دریایی تولید می کنند (Prasetya et al., 2020; Soto-Rodriguez et al., 2024). علاوه بر این، جلبک ها به دلیل توانایی در تولید متابولیت های زیست فعال با اثرات ضدسرطانی، ضد التهابی، ضدباکتری و آنتی اکسیدانی، محبوبیت روزافزونی یافته اند (Barone et al., 2021; Khavari et al., 2021). در میان ترکیبات جلبک دریایی، پلی ساکاریدهای سولفاته، پلیمرهای فعال زیستی حاوی گروه سولفات همی استر، در واحدهای ساده مونوساکارید که با پیوندهای گلیکوزیدی به هم متصل می شوند به خوبی خاصیت آنتی اکسیدانی، ضد انعقاد، ضد میکروبی، ضد سرطان و ضد پیری از خود نشان می دهند (Lekshmi et al., 2018). جلبک ها برای تولید صنعتی برخی ترکیبات همچون آلژینات، کاراگینان و آگار نیز استفاده می شود (Rajasulochana et al., 2009). همچنین برخی از ترکیبات متابولیک زیست فعال ریز جلبک ها و جلبک ها مانند Brominates، ترکیبات آروماتیک، نیتروژن های ناجور حلقه^۱، استرول ها، پروتئین ها و پلی ساکاریدهای سولفاته، بسیار مورد توجه هستند (Kolanjinathan and Stella., 2009).

مطالعات متعددی در ارتباط با فعالیت ضد میکروبی جلبک های قهوه ای پادینا و سارگاسوم علیه باکتری های گرم منفی *V. parahaemolyticus* (Latifah et al., 2019; Rahma, 2020; Keshavarz et al., 2025) *alginolyticus* (Rahma, 2020; Keshavarz et al., 2025) و *V. harveyi* (Ba Akdah, 2018; Latifah et al., 2019; Rahma, 2020; Assegaf, 2023; Keshavarz et al., 2025) انجام شده است. برای مثال، Assegaf (۲۰۲۳) با بررسی اثر آنتی باکتری جلبک های قهوه ای سارگاسوم و پادینا بر باکتری *V. harveyi* نشان داد که عصاره پادینا در مهار رشد این باکتری موثرتر است، زیرا شش تیمار و کنترل مثبت در ۳ بار

¹ Nitrogen heterocyclic

ماه‌های آذر و اسفند ماه ۱۴۰۳ هنگام جزر صورت گرفت و پس از حمل به آزمایشگاه، با آب شیرین چندین بار شستشو شدند تا گل و لای و موجودات اپی فیت آن‌ها کاملاً از بین رفت. سپس به مدت ۱۰ روز در دمای اتاق (۲۵ درجه سانتی‌گراد) به دور از نور مستقیم خورشید خشک شد. در ضمن، قبل از خشک شدن، شناسایی هر سه گونه جلبک نیز صورت گرفت (Gharanjik and Rouhani Qadikelayi, 2010).

تهیه و آماده‌سازی عصاره پرمیکس ماکرو جلبک‌ها

برای تهیه عصاره اتانولی از پرمیکس ماکرو جلبک‌ها (سه تکرار)، ابتدا سه ماکرو جلبک‌های خشک شده (*Sargassum marginatum* و *Padina australis ilicifolium*) با آسیاب برقی پودر شدند. سپس مقدار ۲۰۰ گرم پودر مخلوط حاصل از سه گونه ماکرو جلبک مذکور (۱:۱:۱) تهیه شد. سپس مقدار ۲۰ گرم پودر حاصله از پرمیکس با ۲۰۰ میلی‌لیتر اتانول مخلوط و به مدت ۴۸ ساعت در تاریکی قرار داده شد. هر ۱۶ ساعت یک‌بار به مدت ۲۵ دقیقه به خوبی تکان داده شد. سپس محلول رویی به‌دقت جمع‌آوری و پس از عبور از کاغذ صافی (کاغذ واتمن شماره ۱)، با استفاده از دستگاه تبخیرکننده چرخان (IKA, Germany) در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶ ساعت عصاره تغلیظ گردید و تا زمان استفاده در دسیکاتور نگهداری شد. عصاره جمع‌آوری شده با حلال دی‌متیل سولفید اکساید (DMSO) در غلظت‌های ۱۰، ۲۰، ۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر آماده شد (Chouhury et al., 2005).

تهیه و کشت سویه باکتری‌ها

سویه‌های باکتری‌های *V. parahemolyticus* و *V. alginolyticus* از انجمن ذخایر ژنتیکی تهران، *V. harveyi*، AHPND+ از دانشگاه دامپزشکی تهران و *Lactobacillus plantarum* از دانشکده دامپزشکی شهید چمران اهواز تهیه شد. تمام سویه‌های باکتری لیوفیلیزه به منظور تهیه یک سوسپانسیون یکنواخت در محیط کشت مایع TSB حاوی ۳ درصد NaCl حل گردید و از سوسپانسیون حاصله در محیط‌های آگار مغذی و محیط کشت انتخابی TCBS کشت خطی داده شد و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت نگهداری گردید (Assegaf, 2023).

مشاهده، قطر هاله بیشتری از *Sargassum* sp. نشان داد. Rahma (۲۰۲۰) با بررسی اثربخشی عصاره *Sargassum poycystum* به عنوان یک ضدباکتری با استفاده از روش خیساندن با حلال n هگزان، کلروفرم، اتیل‌استات و متانول علیه باکتری‌های *V. alginolyticus*، *V. harveyi* و *V. parahemolyticus* نشان دادند که عصاره سارگاسوم اثر معنی‌داری بر سه نوع باکتری بیماری‌زای *Vibrio* و عصاره کلروفرمی سارگاسوم نیز پتانسیل ضدباکتری طبیعی را در برابر باکتری‌های بیماری‌زای *Vibrio* نشان داد.

شایان ذکر است، چون جلبک‌های سبز، قهوه‌ای و قرمز حاوی انواع ترکیبات مغذی و پلی‌ساکاریدهای سولفات‌ه بوده، دارای فعالیت‌های آنتی‌بیوتیک قوی بوده که جایگزینی برای آنتی‌بیوتیک‌های مبتنی بر مواد شیمیایی هستند (Lekshmi et al., 2018). به‌علاوه، از آنجایی که پراکنش جلبک‌های ماکروسکوپی در سواحل خلیج فارس و دریای عمان زیاد است و آبی‌پروری پایدار و موفق در گرو حفظ سلامت موجود آبی و ایده‌آل‌سازی شرایط پرورشی برای کسب حداکثری رشد آبیان و کاهش هزینه‌های جانبی فرآیند تولید است، از محققان و پرورش‌دهندگان در پی یافتن راه‌کارهای نوین و بهتر برای تحقق هدف آبی‌پروری هستند.

تحقیق حاضر، با هدف بررسی خاصیت آنتی‌باکتریایی چهار غلظت مختلف عصاره اتانولی پرمیکس ماکرو جلبک‌های قهوه‌ای (*Sargassum ilicifolium*، *Padina australis*) و آنتی‌بیوتیک‌های (*Stoechospermum marginatum*) و آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد جنتامایسین (۱۰ میکروگرم)، سیپروفلوکسایین (۵ میکروگرم) و کلورفنیکل (۳۰ میکروگرم) بر باکتری‌های بیماری‌زا (*V. alginolyticus*، *V. harveyi*، *Vibrio parahemolyticus*) و بیماری حاد نکروز هپاتوپانکراس (AHPND)^۱ و باکتری پروبیوتیک *Lactobacillus plantarum* در آبیان دریایی انجام گرفت

مواد و روش کار

جمع‌آوری ماکرو جلبک‌ها

جمع‌آوری دستی ماکرو جلبک‌های قهوه‌ای *Padina australis*، *Sargassum ilicifolium* و *Stoechospermum marginatum* از سواحل چابهار (دریا بزرگ و تیس) در فاصله

^۱ Acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND)

نتایج

فعالیت ضدباکتریایی عصاره اتانولی پرمیکس ماکرو جلبک‌های قهوه‌ای به‌روش انتشار دیسک

اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد باکتری در پلیت‌های مورد آزمایش نشان داد که غلظت‌های ۱۰، ۲۰، ۴۰ و ۸۰ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره اتانولی پرمیکس ماکرو جلبک‌های قهوه‌ای *Sargassum ilicifolium*، *Padina australis* و *Stoechospermum marginatum* بر رشد باکتری‌های گرم منفی (*V. harveyi*، *V. parahemolyticus* و AHPND) اثر مهاری داشت ولی در هیچ‌یک از غلظت‌های مورد آزمایش، بر رشد باکتری گرم مثبت *L. plantarum* و گرم منفی *V. alginolyticus* اثر مهاری نداشت (شکل ۱).

در بین باکتری‌های گرم منفی مذکور، تاثیر غلظت‌های ۲۰ و ۴۰ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره اتانولی پرمیکس ماکرو جلبک‌های قهوه‌ای بر باکتری‌های *V. harveyi* به طور معنی داری بیشتر از باکتری *V. parahemolyticus* بود ($p < 0.05$)، ولی اختلاف معنی داری بین مهار رشد باکتری‌های *V. harveyi* و AHPND در این دو غلظت (۲۰ و ۴۰ میلی گرم بر میلی لیتر) مشاهده نشد ($p > 0.05$). همچنین بین مهار رشد باکتری‌های *V. parahemolyticus* و AHPND با غلظت ۱۰ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره اتانولی پرمیکس مورد آزمایش، اختلاف معنی داری مشاهده نشد ($p > 0.05$). باکتری AHPND حساسیت بیشتری را به غلظت ۸۰ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره اتانولی پرمیکس نسبت به باکتری *V. harveyi* نشان داد درحالی که در غلظت مذکور اختلاف معنی داری بین قطر هاله عدم رشد باکتری *V. parahemolyticus* و *V. harveyi* مشاهده نشد ($p > 0.05$). تاثیر آنتی بیوتیک جنتامایسین بر باکتری گرم مثبت *L. plantarum* از نظر عددی بیشتر بود، ولی اختلاف معنی داری بین حساسیت باکتری‌های *V. parahemolyticus*، AHPND و *L. plantarum* به آنتی بیوتیک جنتامایسین مشاهده نشد ($p > 0.05$). آنتی بیوتیک سیپروفلوکساین بر رشد ۵ باکتری مورد آزمایش اثر مهاری داشت و تاثیر آن بر باکتری‌های *V. harveyi* و AHPND به طور معنی دار بیشتر و بر باکتری گرم مثبت *L. plantarum* و گرم منفی *V. alginolyticus* به طور معنی دار کمتر بود ($p < 0.05$). همچنین اختلاف معنی داری بین حساسیت باکتری گرم مثبت *L. plantarum* و گرم منفی *V.*

بررسی اثرات ضدباکتری به‌روش انتشار دیسک

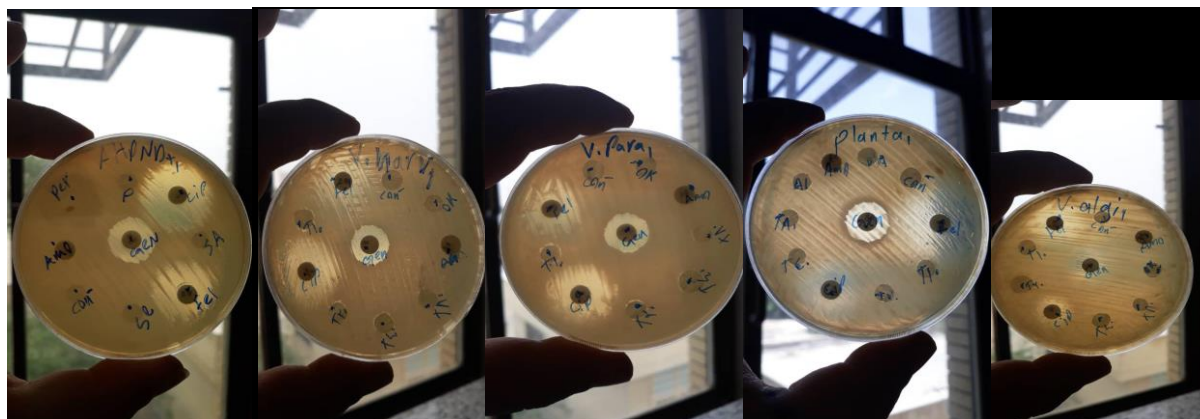
اثرات ضدباکتریایی غلظت‌های مختلف عصاره اتانولی پرمیکس ماکرو جلبک‌های قهوه‌ای بر ۵ باکتری‌های مورد آزمایش از روش انتشار دیسک در آگار بررسی شد. در این روش از محیط کشت مولر هینتون آگار استفاده شد. باکتری‌ها با غلظت ۰/۵ مک‌فارلند با سوآپ استریل به صورت خطی در پتری‌دیش‌های حاوی محیط کشت مولر هینتون آگار کشت داده شد. سپس دیسک‌های بلانک استریل به‌وسیله پنس استریل شده (با استفاده از الکل و شعله) روی پلیت‌ها و با فاصله مناسب از لبه پلیت و با یکدیگر قرار داده شدند. پس از آن مقدار ۲۰ میکرولیتر از هر یک از غلظت‌های عصاره استریل روی دیسک بلانک به‌وسیله سمپلر ۱۰۰-۱۰ میکرولیتر چکانده شد. سپس پلیت‌ها را به مدت ۳۰ دقیقه پیش از انتشار، درون یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. پس از گذشت این زمان، پلیت‌ها را به انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفتند. پس از ۲۴ ساعت قطر هاله عدم رشد اطراف دیسک با کولیس ورنیه اندازه‌گیری و ثبت شد (Mole and Sabale, 2014) به منظور کنترل مثبت نتایج آزمون، از آنتی بیوتیک‌های جنتامایسین (۱۰ میکروگرم)، سیپروفلوکساین (۵ میکروگرم) و فلورفنیکل (۳۰ میکروگرم) به عنوان کنترل مثبت و از دی‌متیل اکساید به عنوان کنترل منفی استفاده شد. آزمون حساسیت ضدباکتریایی به‌روش انتشار دیسک با سه تکرار انجام گرفت و از نتایج به‌دست آمده در هر مرحله میانگین گرفته شد (Peymani et al., 2014).

روش تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

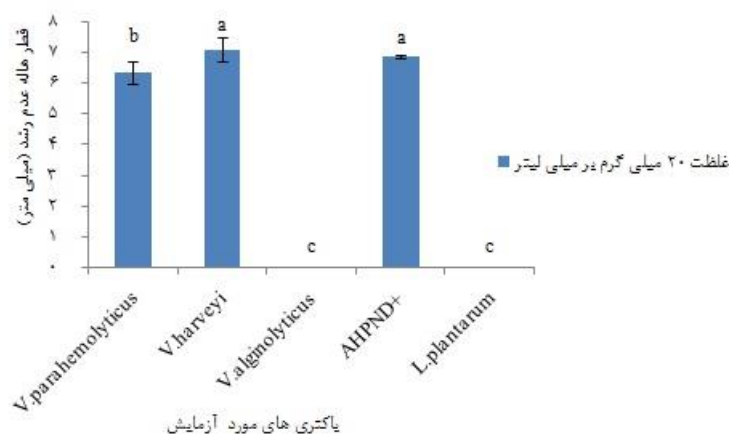
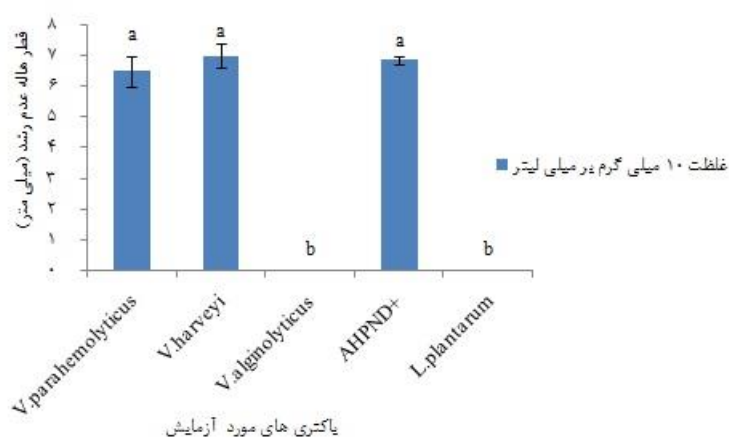
ابتدا نرمال بودن داده‌ها با آزمون شاپیرو-ویلک و همگنی واریانس‌ها با آزمون Leven بررسی شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از روش آنالیز واریانس یک طرفه و برای مقایسه می‌انگین‌های (می‌انگین $\pm$ خطای معیار) حاصل از غلظت مختلف عصاره اتانولی پرمیکس ماکرو جلبک‌های قهوه‌ای و آنتی بیوتیک‌های استاندارد از آزمون دانکن در سطح اعتماد ۵ درصد ($p = 0.05$) استفاده شد. تجزیه داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۴ انجام گرفت. نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel ۲۰۱۶ انجام شد.

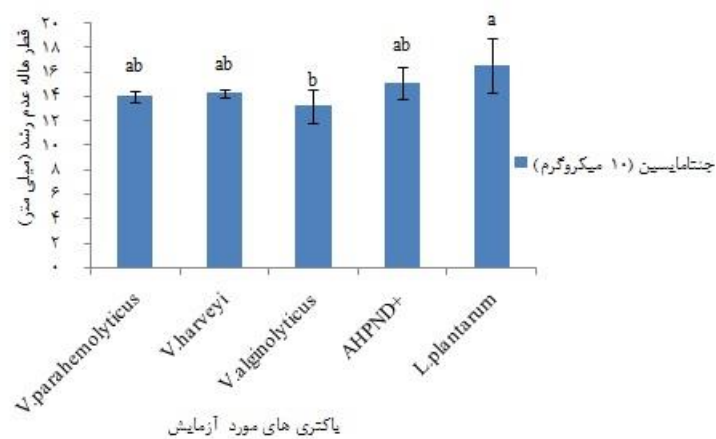
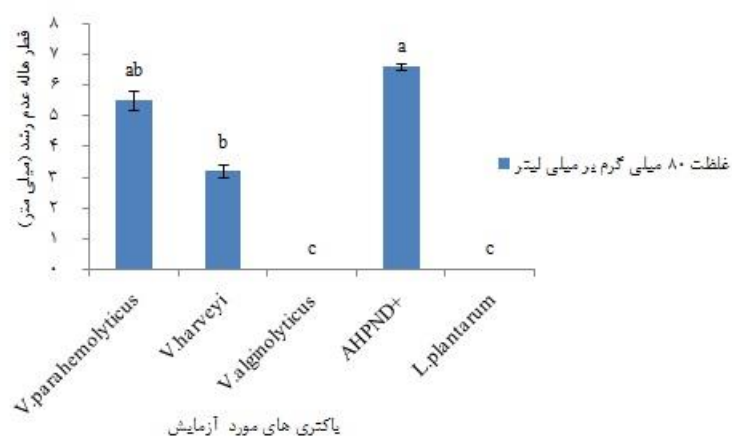
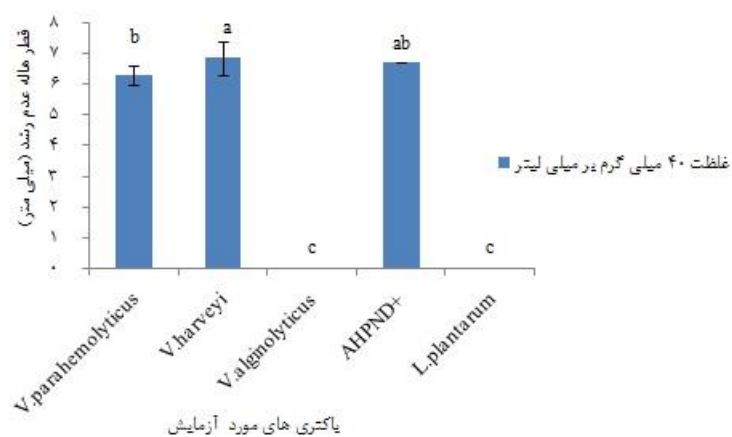
داشت و اختلاف معنی داری نشان نداد ($p > 0.05$) (شکل ۲).

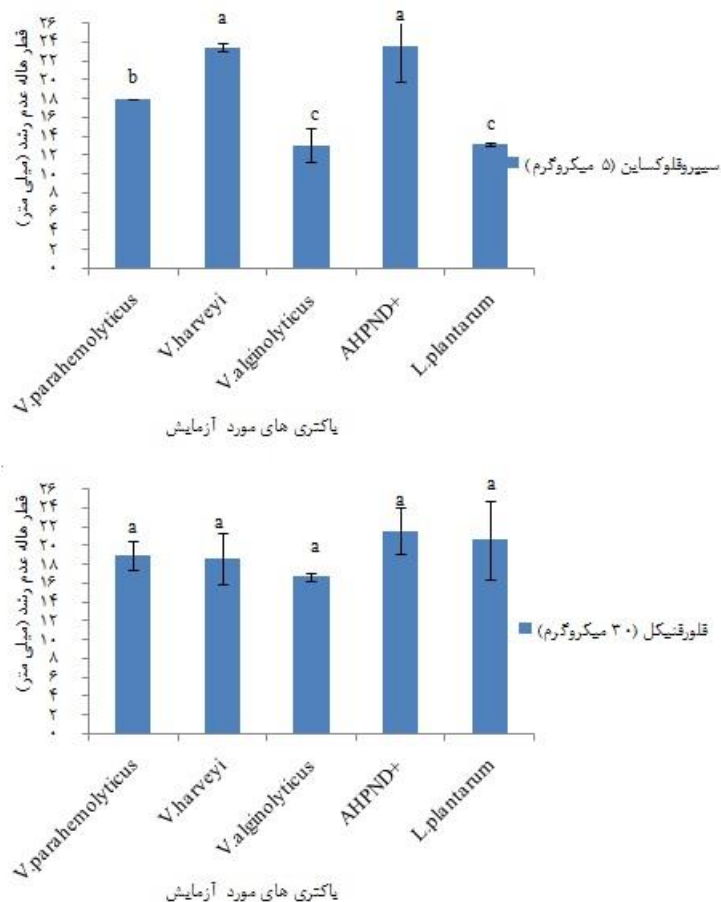
alginolyticus به آنتی بیوتیک سیپروفلوکسایین وجود نداشت ($p > 0.05$). فلورفنیکل بر رشد ۵ باکتری مورد آزمایش اثر مهاری



شکل ۱: هاله عدم رشد غلظت‌های مختلف (۱۰، ۲۰، ۴۰ و ۸۰ میلی گرم بر میلی لیتر) عصاره اتانولی پرمیکس ماکرو جلبک‌های قهوه‌ای (*Padina* *Sargassum ilicifolium* *australis* و *Stoechospermum marginatum*) و آنتی بیوتیک‌های استاندارد جنتامایسین (۱۰ میکروگرم)، سیپروفلوکسایین (۵ میکروگرم) و فلورفنیکل (۳۰ میکروگرم) بر رشد باکتری‌های گرم منفی (*V. alginolyticus*، *V. harveyi*، *V. parahaemolyticus* و *Lactobacillus plantarum* (AHPND) و باکتری پروبیوتیک







شکل ۲: مقایسه حساسیت باکتری‌های مورد آزمایش به وسیله عصاره اتانولی پرمیکس ماکرو جلبک‌های قهوه‌ای (*Sargassum*, *Padina australis*) و *Stoechospermum marginatum* و *ilicifolium* و آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد. حروف نامشابه بر روی ستون هر نمودار نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین باکتری‌های مورد آزمایش است ($p < 0.05$). نتایج حاصل سه تکرار است.

کمتری به غلظت‌های مختلف عصاره اتانولی پرمیکس ماکرو جلبک‌های قهوه‌ای (*S. ilicifolium*, *P. australis* و *S. marginatum*) نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد مورد آزمایش نشان دادند ($p < 0.05$).

با توجه به جدول ۱، غلظت‌های مختلف عصاره اتانولی پرمیکس ماکرو جلبک‌های قهوه‌ای هیچ اثر بازدارندگی بر رشد باکتری گرم مثبت *L. plantarum* و گرم منفی *V. anguillarum* نداشت و هاله عدم رشد مشاهده نشد. همچنین ۳ باکتری دیگر (*V. parahemolyticus*, *V. harveyi* و AHPND) حساسیت

جدول ۱: مقایسه میانگین ($\pm$ انحراف معیار) قطر هاله عدم رشد (میلی متر) عصاره اتانولی پرمیکس ماکرو جلبک‌های قهوه‌ای (*Padina* *Stoechospermum marginatum* و *Sargassum ilicifolium, australis*) و آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد بر باکتری‌های مورد آزمایش

باکتری متغیر	<i>Vibrio parahemolyticus</i>	<i>Vibrio harveyi</i>	<i>Vibrio alginolyticus</i>	AHPND+ (<i>Vibrio</i> sp.)	<i>Lactobacillus plantarum</i>
غلظت ۱۰ میلی گرم بر لیتر	$7/00 \pm 1/00^c$	$7/00 \pm 0/40^d$	$0 \pm 0/00^c$	$6/85 \pm 0/15^c$	$0 \pm 0/00^d$
غلظت ۲۰ میلی گرم بر لیتر	$6/35 \pm 0/35^{cd}$	$7/10 \pm 0/40^d$	$0 \pm 0/00^c$	$6/85 \pm 0/05^c$	$0 \pm 0/00^d$
غلظت ۴۰ میلی گرم بر لیتر	$6/30 \pm 0/30^{cd}$	$6/85 \pm 0/55^d$	$0 \pm 0/00^c$	$6/70 \pm 0/00^c$	$0 \pm 0/00^d$
غلظت ۸۰ میلی گرم بر لیتر	$5/50 \pm 0/30^d$	$3/20 \pm 0/20^e$	$0 \pm 0/00^c$	$6/60 \pm 0/10^c$	$0 \pm 0/00^d$
آنتی‌بیوتیک جنتامایسین (۱۰ میکروگرم) آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکسایین (۵ میکروگرم) آنتی‌بیوتیک فلورفنیکل (۳۰ میکروگرم)	$14/05 \pm 0/45^b$	$23/50 \pm 0/50^a$	$13/25 \pm 2/15^b$	$15/15 \pm 1/35^a$	$16/55 \pm 2/25^b$
دی متیل اکساید	$18/00 \pm 0/00^a$	$18/65 \pm 2/65^d$	$13/10 \pm 1/80^b$	$21/57 \pm 2/45^a$	$13/20 \pm 0/20^c$
	$19/00 \pm 1/60^a$	$9/66 \pm 0/28^d$	$16/70 \pm 0/50^a$	$9/66 \pm 0/28^d$	$20/65 \pm 4/15^a$
	$0 \pm 0/00$	$0 \pm 0/00$	$0 \pm 0/00$	$0 \pm 0/00$	$0 \pm 0/00$

در هر ستون، ارقام نشانه‌گذاری شده با حروف لاتین مختلف دارای اختلاف معنی‌دار آماری هستند ($p < 0/05$). نتایج حاصل سه تکرار است.

بحث

با توجه به ممنوعیت مصرف آنتی‌بیوتیک در آبی‌پروری تمرکز مطالعات جدید بر یافتن راهبردهای سازگار با محیط زیست و دارای قابلیت استفاده پایدار، جمعیت‌های جلبک‌های بومی دریای عمان در محدوده سواحل چابهار به دلیل بکر بودن، در مطالعه حاضر مورد مطالعه قرار گرفتند. اگرچه تغییرات فصلی (تغییرات دمایی، نور، مواد مغذی، پدیده مونسون) و نوع بستر ساحلی از نظر تأمین منابع جلبکی ایجاد می‌نماید (Nassar *et al.*, 2025).

گزارش‌های قبلی حاکی از این بود که فعالیت ضدباکتری ارتباط معنی‌داری با نوع گونه ماکرو جلبک، روش استخراج به کار برده شده و مقاومت باکتری مورد سنجش دارد (Seenivasan *et al.*, 2007). نتایج این مطالعه نشان داد که هیچ یک از غلظت‌های عصاره اتانولی پرمیکس ماکرو جلبک‌های قهوه‌ای مورد آزمایش، هیچ اثر بازدارندگی بر رشد باکتری گرم مثبت *L. plantarum* و گرم منفی *V. alginolyticus* نداشت. در

در مطالعه حاضر، میزان تاثیر عصاره اتانولی پرمیکس ماکرو جلبک در غلظت‌های مختلف، بر باکتری AHPND اختلاف معنی‌داری نشان نداد ($p > 0/05$). باکتری *V. harveyi* کمترین حساسیت را نسبت به عصاره اتانولی پرمیکس به ترتیب با قطر هاله عدم رشد $3/20 \pm 0/20$ میلی‌متر در غلظت ۸۰ میلی گرم بر میلی لیتر از خود نشان داد که این میزان دارای اختلاف معنی‌دار با آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد جنتامایسین، سیپروفلوکسایین و فلورفنیکل و سایر غلظت‌ها بود ($p < 0/05$). باکتری گرم منفی *V. parahemolyticus*، در غلظت‌های ۱۰، ۲۰ و ۴۰ میلی گرم بر میلی لیتر، اختلاف معنی‌داری از خود نشان ندادند ($p > 0/05$). از نظر عددی بیشترین حساسیت باکتری *V. parahemolyticus* در غلظت ۱۰ میلی گرم بر میلی لیتر مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری را با غلظت ۸۰ میلی گرم بر لیتر عصاره اتانولی پرمیکس از خود نشان داد ($p < 0/05$).

مطالعه Mohammadi و همکاران (۲۰۱۹) عصاره آبی *N. zanardini* در هیچ غلظتی (۱۲/۵، ۲۵ و ۵۰ میلی گرم بر میلی لیتر)، فعالیت ضدباکتریایی علیه باکتری گرم منفی *Escherchia coli* از خود نشان نداد که می تواند ناشی از مقاوم بودن این باکتری نسبت به سویه های باکتریایی *Salmonella typhimurium*، *Bcillus cereus* و *Staphylococcus aureus* باشد. در مطالعه Govindasamy و همکاران (۲۰۱۱) عصاره متانولی حاصل از جلبک های *Gracilaria corticata* و *Padina tetrastomatica* فاقد اثر ضدباکتری علیه *E.coli* بودند که می توان در این رابطه گونه جلبک و نوع سویه باکتری را موثر دانست. تفاوت در دیواره باکتری ها می تواند موجب ایجاد مقاومت آنها به عوامل کشنده شود. باکتری ها به گروه گرم مثبت و منفی تقسیم می شوند. در باکتری گرم منفی به دلیل وجود لایه گلیکوپروتئینی مضاعف در دیواره سلولی باکتری، امکان عبور مواد ضدباکتریایی که باعث اختلال در رونویسی DNA، ترجمه آن به پروتئین یا جلوگیری از تکثیر آنها به سختی صورت می گیرد. اما در باکتری های فاقد این نوع دیواره، مواد با وزن مولکولی پایین می توانند ساده تر از دیواره عبور کرده و پس از ورود به داخل سلول با برهم زدن شرایط داخل سلولی، از تقسیم شدن باکتری جلوگیری کنند یا با نفوذ به دیواره سلولی باکتری ها منجر به تغییر در فاز اسمزی بین دو سمت دیواره شوند و در نتیجه باکتری از بین برود (Kandhasamy and Arunahalam, 2008). در مطالعه Keshavarz و همکاران (۲۰۲۵) با بررسی خواص آنتی باکتریال عصاره آبی و آلی ماکرو جلبک های سارگاسوم و پادینا در برابر سویه باکتری های *V. parahemolyticus* و *V. alginolyticus*، گزارش کردند که عصاره آلی سارگاسوم دارای بیشترین فعالیت ضد میکروبی علیه سویه های بیماری زای ویبریو بود. با توجه به گرم منفی بودن این باکتری ها و مقاومت بیشتر این باکتری نسبت به باکتری های گرم مثبت در مقابل ترکیبات ضد میکروبی، نتایج حاصله می تواند نویدبخش باشد. مقاومت بیشتر باکتری های گرم منفی به دلیل ساختار مقاوم تر آنها در برابر عوامل ضد میکروبی است. این باکتری ها دارای غشاء خارجی هستند و از عبور ملکول های آب گریز و درشت جلوگیری می کنند (Kakoullis et al., 2021). نتایج این مطالعه نشان داد که در بین باکتری های گرم منفی مذکور، تاثیر غلظت های ۲۰ و ۴۰ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره اتانولی پرمیکس ماکرو جلبک های قهوه ای بر باکتری های *V. harveyi* به طور معنی داری بیشتر از

باکتری *V. parahemolyticus* بود. همچنین باکتری AHPND+ حساسیت بیشتری را به غلظت ۸۰ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره اتانولی پرمیکس نسبت به باکتری *V. harveyi* نشان داد. Jusidin و همکاران (۲۰۲۲) گزارش کردند که عصاره اتانولی جلبک *Nanochloropsis oceanic* دارای قدرت مهار رشد در برابر باکتری *V. harveyi* بود که با نتایج این تحقیق مطابقت داشت. می توان گفت که مواد هیدروفوبیک موجود در عصاره غیر قطبی جلبک ها، دارای فعالیت آنتی بیوتیک علیه باکتری *V. harveyi*، بسیار بیماری زا است (Jusidin et al., 2022). در مطالعه Keshavarz و همکاران (۲۰۲۵) با عصاره آبی و آلی استخراجی از جلبک های سارگاسوم و پادینا بر باکتری های *Vibrio* بیماری زا میگو، پتانسیل فعالیت ضد میکروبی داشت. حداقل غلظت ممانعت کننده رشد (MIC) عصاره آلی و آبی استخراجی از جلبک پادینا به ترتیب معادل ۲۵۶ و ۵۱۲ $\mu\text{g/ml}$ در مقابل باکتری گرم منفی *V. parahemolyticus* ثبت شد. کمترین MIC این عصاره در مقابل باکتری های *V. alginolyticus* و *V. harveyi* به میزان ۶۴ $\mu\text{g/ml}$ گزارش شد در حالی که عصاره آبی پادینا رشد باکتری های *V. alginolyticus* و *V. harveyi* را به ترتیب در حداقل غلظت های ۲۵۶ و ۱۲۸ $\mu\text{g/ml}$ ممانعت نمود. اگرچه این مقادیر فعالیت ضد میکروبی در مقایسه با آنتی بیوتیک استرپتومایسین به طور معنی داری کمتر بود. حداقل غلظت ممانعت کننده رشد (MIC) عصاره آلی و آبی استخراجی از جلبک سارگاسوم به ترتیب معادل ۵۱۲ و ۱۲۸ $\mu\text{g/ml}$ در مقابل باکتری گرم منفی *V. parahemolyticus* ثبت شد. کمترین MIC این عصاره در مقابل باکتری های *V. alginolyticus* و *V. harveyi* به ترتیب ۲۵۶ و ۱۲۸ $\mu\text{g/ml}$ گزارش شد در حالی که عصاره آبی سارگاسوم رشد باکتری های *V. alginolyticus* و *V. harveyi* را به ترتیب در حداقل غلظت های ۲۵۶ و ۱۲۸ $\mu\text{g/ml}$ ممانعت نمود. اگرچه این مقادیر فعالیت ضد میکروبی عصاره اتانولی پرمیکس این تحقیق، در مقایسه با آنتی بیوتیک های جنتامایسین، سیپروفلوکسایین و فلورفنیکل به طور معنی داری کمتر بود، اما با توجه به وجود سایر ترکیبات غیر موثره در عصاره اتانولی پرمیکس ماکرو جلبک های قهوه ای، مطالعه این میزان فعالیت، قابل ملاحظه ارزیابی می شود. در همین زمینه سایر مطالعات نیز فعالیت ضد میکروبی بالای جلبک سارگاسوم را گزارش کردند (Dip et al., 2024). حضور فنل ها، پلی فنل ها، ترپن ها و فلوروتانین در پرمیکس ماکرو جلبک قهوه ای نیز دلیل

موادی مانند بتائین، لیپیدها، فسفولیپید، اسیدهای چرب چندغیراشباع، فوگوگزانتین (FX) و اسید ایکوزاپنتانوئیک (EPA)، خواص ضدباکتریایی دارد (Marella and Tiwari, 2020).

هدف نهایی فعالیت آبی-پرووری، کنترل بیماری است. استفاده از مکمل‌های غذایی پروبیوتیک به عنوان جایگزین روش درمانی قبلی مانند آنتی‌بیوتیک حائز اهمیت است (Romn et al., 2012). تولید اسید لاکتیک حاصل از باکتری‌های اسید لاکتیکی (دسته مهمی از پروبیوتیک‌ها)، نقش مهمی در فلور روده دارد و بر مجرای گوارشی تاثیرگذار بوده و غیر بیماری‌زا نیز هست. این میکروارگانیسم در ناحیه روده با تولید اسیدهای آلی و مواد ضد میکروبی، مانع رشد باکتری‌های بیماری‌زا می‌گردد (Filint and Garner, 2009). نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که باکتری پروبیوتیک (*L. plantarum*) حساسیت به هیچ‌یک از غلظت‌های عصاره اتانولی پرمیکس ماکروجلبک‌های قهوه‌ای مورد آزمایش نشان نداد. این یافته نشان می‌دهد که مولکول‌های دارای خاصیت ضدباکتری در عصاره پرمیکس ماکروجلبک‌ها عموماً هیدروفیلیک هستند. Manivannan و همکاران (۲۰۱۱) فعالیت ضدباکتریایی جلبک‌های قهوه‌ای سواحل Vedalai (هند) را مورد بررسی قرار دادند. در این مطالعه ۷ حلال برای عصاره‌های متانولی، استونی، پترلیوم اتر، اتانول، اتیل استات، کلروفرمی و دی‌اتیل اتر استفاده شد. نتایج نشان داد، عصاره متانول دارای تاثیر ضدباکتریایی بیشتری نسبت به سایر حلال‌هاست. همچنین باکتری *Bacillus subtilis* بیشترین حساسیت را نسبت به عصاره متانولی جلبک *Padina gynosopora* از خود نشان داد که با نتایج این مطالعه مغایرت داشت. دلیل این تفاوت، به عواملی از قبیل جمع‌آوری جلبک‌ها، محیط، مراحل مختلف رشد جلبک، روش عصاره‌گیری و گونه جلبک مربوط است (Manivannan et al., 2011). بنابراین، انتخاب حلال برای بهینه‌سازی فرآیند استخراج و تولید ترکیبات زیست‌فعال آن، کاربردهای متنوعی نه تنها در آبی‌پرووری بلکه در مقابله با عوامل بیماری‌زا انسانی دارد (Pradhan et al., 2012). همسو با نتایج این تحقیق، Arman و همکاران (۲۰۱۵) نشان دادند که عصاره متانولی عصاره ماکروجلبک‌های قهوه‌ای *Gracilaria corticata* و *Sargassum angustifolium* هیچ اثر بازدارندگی بر رشد باکتری گرم مثبت *Bacillus subtilis* نداشت. Mollazahei Sabet و همکاران (۲۰۲۲) با بررسی

فعالیت ضدباکتریایی است (Sandsdalen et al., 2003) نیاز به مطالعه و بررسی بیشتری برای جداسازی، خالص‌سازی و شناسایی ماهیت شیمیایی ترکیبات زیست‌فعال در ماکروجلبک‌هاست (Oumaskour et al., 2013).

Dashtiannasab و همکاران (۲۰۱۲) گزارش کردند که MIC حاصله از عصاره کلروفرمی عصاره جلبک قهوه‌ای *S. latifolium* علیه باکتری‌های *V. alginolyticus*، *V. parahemolyticus* و *V. harveyi* به ترتیب ۵، ۱۰ و ۱۵ میلی گرم بر لیتر بود که با نتایج تحقیق حاضر، مطابقت داشت. Jusidin و همکاران (۲۰۲۲) درجات متغیر مهار را بر چند گونه از عصاره میکروجلبک‌ها (*Nannochloropsis oceanica*، *Chaetoceros gracilis*، *Isochrysis sp.*، *Thalassiosira weissflogii*) در برابر *V. harveyi* از این تحقیق نشان دادند. در نتیجه، تولید آنتی‌بیوتیک‌ها به شدت به گونه‌های ماکروجلبکی وابسته است. علاوه بر این، در دسترس بودن عوامل آنتی‌بیوتیک می‌تواند به طور قابل توجهی بین گونه‌های مختلف در یک رده یا حتی در یک گونه واحد متفاوت باشد، با توجه به این که کدام اکوتایپ‌ها به شرایط خاصی سازگار شده‌اند (Falaise et al., 2016). برای مثال، میکروجلبک سبز *Dunaliella sp.* که از آبهای به شدت آلوده جدا شده بود، فعال‌تر در برابر باکتری‌ها نسبت به اکوتایپ‌هایی بود که از آبهای کمتر آلوده به دست آمده بودند (Jusidin et al., 2022). Akbary (۲۰۲۴) با بررسی ترکیبات فیتوشیمیایی (استرول، فنل و فلاونوئید) و فعالیت ضداکسایشی (دی‌فنیل پیکریل هیدرازیل) عصاره پرمیکس ماکروجلبک‌های قهوه‌ای *Sargassum Padina australis* و *ilicifolium* نشان داد که میزان فنل، فلاونوئید و فعالیت ضداکسایشی به ترتیب در عصاره اتانولی، اتانولی-آبی و آبی بیشتر بود و اختلاف معنی‌دار با یکدیگر نشان دادند. به طور کلی، سیتوستانول، استرول غالب پرمیکس ماکروجلبک‌های مورد آزمایش بود و عصاره اتانولی پرمیکس ماکروجلبک‌ها بهترین محتوای فلاونوئیدی، فنل و فعالیت ضداکسایشی را نشان داد که می‌تواند به عنوان منابع غنی از استرول و آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی برای صنایع غذایی و دارویی توصیه شود. همسو با این تحقیق، Jusidin و همکاران (۲۰۲۲) گزارش کردند که میکروجلبک‌های جنس *Nannochloropsis* غنی از ترکیبات اسیدهای چرب چندغیراشباع (PUFAs)، کاروتنوئیدها، پلی‌فنول‌ها و ویتامین‌ها هستند و *Thalassiosira weissflogii* به دلیل حضور بالای

اگرچه طبق نتایج، خاصیت ضدباکتریایی عصاره آبی پرمیکس ماکرو جلبک‌های قهوه‌ای مورد مطالعه کمتر از آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد محاسبه گردید، اما می‌توان عصاره پرمیکس ماکرو جلبک قهوه‌ای را به عنوان یک منبع بالقوه‌ای برای ترکیبات طبیعی ضد میکروبی نوین معرفی نمود و با نظر به وفور آنها، برای مصارف دارویی و مکمل‌های غذایی مورد بهره‌برداری قرار داد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله، از کارکنان مرکز تحقیقات شیلات آبهای دور (چابهار)، برای فراهم کردن امکانات آزمایشگاهی، صمیمانه تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

- Akbary, P., 2024. Determination of antioxidant and phytochemical properties of premix extract of brown macroalgae *Padina australis*, *Sargassum licifolium* and *Stoechospermum marginatum* from Chabahar coast, Southeastern Iran. *Aquatic Animals Nutrition*, 10(1), 27-41. DOI:10.22124/janb.2024.26283.1229.
- Arman, M., Soleimani, S., Zarei, Z., Sohrabipour, J. and Asadzadeh, M., 2015. Assessment of antibacterial effect of some marine macroalgae against human pathogen. *Journal of Aquatic Ecology*, 5 (2), 139-144. DOI:20.1001.1.23222751.1394.5.2.14.7.
- Assegaf, M., 2023. October. Potential extract of brown algae *sargassum* sp. and *padina* sp. as antibacterial *vibrio harveyi*. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 1251(1): 012034

خواص ضدباکتریایی عصاره آلی جلبک قهوه‌ای *Cystoseira trinodis* و جلبک سبز *Halimeda tuna* دریای عمان بر باکتری‌های *Listeria monocytogenes* *Escherichia coli* و *Pseudomonas aeruginosa* دریافتند که آنتی‌بیوتیک‌های جنتامایسین، آمپی‌سیلین و نئومایسین از قدرت مهارکنندگی بیشتری نسبت به عصاره‌ها برخوردار بودند که با نتایج تحقیق حاضر، همخوانی داشت. در تحقیقی مشابه، عصاره هگزانی جلبک قهوه‌ای *Dictyota cervicorinis* با نسبت ۵:۱ w/v با هاله عدم رشد 10.66 ± 0.8 میلی‌متر بیشترین تاثیر را علیه باکتری *P. aeruginosa* داشت و با آنتی‌بیوتیک نئومایسین اختلاف معنی‌داری نداشت (Ghafari and Taheri, 2018) که با نتایج تحقیق حاضر، همخوانی نداشت. می‌توان گفت که دلیل این مغایرت شاید ناشی از نوع آنتی‌بیوتیک، سویه باکتری، گونه جلبک و روش عصاره‌گیری باشد (Jusidin et al., 2022). علاوه بر گونه‌های جلبک، وجود مواد شیمیایی ضدباکتری در عصاره‌های جلبک نیز به شدت به فرآیند استخراج و حلال مورد استفاده، بستگی دارد. بر اساس یافته‌های Jusidin و همکاران (۲۰۲۲) اتانول بهترین ماده استخراج‌کننده بود، زیرا در روش انتشار در دیسک بیشترین مهار را علیه *V. harveyi* نشان داد. بر اساس تحقیقات قبلی، اتانول برای استخراج تال‌های *Gracilaria fisheri* از هند استفاده شده است که عصاره آن اثر مهاری بالایی علیه *V. harveyi* داشت. عصاره اتانولی *Gracilaria corticata* از هند نیز فعالیت بالایی علیه *V. cholerae* و *V. parahaemolyticus* نشان داد، اما فعالیت کمتری علیه *Pseudomonas aeruginosa* و *Shigella flexneri* داشت (Kanjana et al., 2011) که با نتایج تحقیق حاضر، همخوانی داشت. این یافته نشان می‌دهد، با توجه به گرم منفی بودن این باکتری‌ها و مقاومت بیشتر این باکتری‌ها نسبت به باکتری گرم مثبت نسبت به ترکیبات ضد میکروبی، نتایج حاصله می‌تواند نویدبخش باشد. همچنین به دلیل فعالیت آنتی‌باکتریایی عصاره اتانولی پرمیکس ماکرو جلبک‌های قهوه‌ای مورد آزمایش در مقابل باکتری‌های *Vibrio* عامل بیماری نکروز حاد هپاتوپانکراس (AHPND)، این عصاره می‌تواند به همراه باکتری پروبیوتیک *L. plantarum* گزینه نویدبخشی به عنوان تقویت‌کننده ایمنی میگو مطرح گردد (Pradhan et al., 2012; Keshavarz et al., 2025).

- Barone, M.E., Murphy, E., Parkes, R., Fleming, G.T.A., Campanile, F., Thomas, O.P. and Touzet, N., 2021. Antibacterial Activity and Amphidinol Profiling of the Marine Dinoflagellate *Amphidinium carterae* (Subclade III). *Internatinal Journal of Molecular Science*, 22, 12196. DOI:10.3390/ijms222212196.
- Buller, N., 2014. Bacteria and fungi from fish and other aquatic animals: a practical identification manual, Department of Agriculture and food Western Australia 2_(nd)end. Includes bibliographical references and index CABI, London, UK .361P.
- Chin, Y.K., Al-saari, N., Zulperi, Z., Mohdaris, A., Salleh, A., Silvaraj, S., Mohamad, A., Lee, J., Zamri-Saad, M. and Ina-Salwany, M.Y., 2020. Efficacy of bath vaccination with live attenuated *Vibrio harveyi* against vibriosis in Asian swabass fingerling, *Lates calcarifer*. *Aquaculture Research*, 51(1), 389-399. Doi:10.1111/are.14386
- Chouhury, S., Sree, A., Mukherjee, S.C., Pattnik, P. and Bapuji, M., 2005. In vitro antibacterial activity of extracts of selected marine algae and mangroves against Fish Pathogens. *Asian Fish Science*, 18, 85-294. DOI:10.33997/j.afs.2005.18.3.009.
- Dashtiannasab, A., Kakoolaki, S., Sharif Rohani, M. and Yeganeh, V., 2012. In vitro effects of *Sargassum latifolium* (Agardeh, 1948) against selected bacterial pathogens of shrimp. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 11(4), 765 -775. DOI:20.1001.1.15622916.2012.11.4.6.8
- Datu, S.S., Fatwasari, F., Jarir, D.V. and Sabilah, A.A., 2024. Antibacterial Screening of *Sargassum* sp extract. Opposing *Vibrio parahaemolyticus* bacteria. *MSJ: Majority Science Journal*, 2(1), 288-295. DOI:10.61942/msj.v2i1.94.
- Dip, M.R.R., Sobuj, M.K.A., Islam, M.S., Akter, A., Hasan, M.M., Tasnim, N., Haque, M.A. and Rafiquzzaman, S., 2024. Phytochemicals, antioxidant and antibacterial activity of crude extract of *Sargassum polycystum* collected from Bangladesh. *Food and Humanity*, 2, 100278. DOI:10.1016/j.foohum.2024.100278
- Falaise, C., François, C., Travers, M.A., Morga, B., Haure, J., Tremblay, R., Turcotte, F., Pasetto, P., Gastineau, R. and Hardivillier, Y., 2016. Antimicrobial Compounds from Eukaryotic Microalgae against Human Pathogens and Diseases in Aquaculture. *Marine Drugs*, 14, 159-164. DOI:10.3390/md14090159.
- FAO, 2020. The state of world fisheries and aquaculture, sustainability in action . Rome. 206 P.
- Ghafari, M. and Taheri, A., 2018. Antimicrobial properties of Dictyota cervicornis algae against several bacteria. *Journal of Sabzevar University of Medical Sciences*, 25(2), 241-249.
- Gharanjik, B.M. and Rouhani Qadikelayi, K., 2010. Atlas of Marine Algae of the Coasts of the Persian Gulf and the Sea of Oman. Publications of the Iranian Fisheries Research Institute, 170 pages.
- Gharekhan Taghar Tapeh, R., Kordjazi, M., Ahmad Nasrollahi, S., Shabanpour, B. and Adeli, A., 2020. Investigation of antioxidant properties and antibacterial activity of alginate and fucoidan extracted from *Sargassum boveanum* algae collected from the Persian Gulf coast. *Aquaculture Sciences*, 7(2), 64-76.
- Govindasamy, C., Narayani, S., Arulpriya, M., Ruban, P., Anantharaj, K. and Srinivasan, R., 2011. In vitro antimicrobial activities of seaweed extracts against human pathogens. *Journal of Pharmacy Research*, 4(7), 2076- 2077.

- Hassan, M.S.A., Elias, N.A., Hassan, M., Mocktar, N.A. and Harun, N.A., 2024.** Integrated overview on status, diagnosis and disease management of Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease (AHPND) in shrimp aquaculture through metallic nanoparticles (MNPs) application –A review. *Aquaculture*, 592(2), 741649. DOI:10.1016/j.aquaculture.2024.741649
- Jusidin, M.R., Othman, R., Shaleh, S.R.M., Ching, F.F., Senoo, S. and Oslan, S.N.H., 2022.** In Vitro Antibacterial activity of marine microalgae extracts against *Vibrio harveyi*. *Applied Science*, 12, 1148. DOI:10.3390/app12031148
- Kakoullis, L., Papachristodoulou, E., Chra, P. and Panos, G., 2021.** Mechanisms of antibiotic resistance in important gram -positive and gram -negative pathogens and novel antibiotic solutions. *Antibiotics*, 10(4), 415-420. DOI:10.3389/fpubh.2014.00145
- Kandhasamy, M. and Arunachalam, K., 2008.** Evaluation of in vitro antibacterial property of seaweeds of southeast coast of India. *African Journal of Biotechnology*, 7, 12-16. DOI:10.5897/AJB08.120.
- Kanjana, K., Radtanatip, T., Asuvapongpatana, S., Withyachumnarnkul, B. and Wongprasert, K., 2011.** Solvent extracts of the red seaweed *Gracilaria fisheri* prevent *Vibrio harveyi* infections in the black tiger shrimp *Penaeus monodon*. *Fish and Shellfish Immunology*, 30, 389–396. DOI:10.1016/j.fsi.2010.11.016.
- Keshavarz, P., Zahedi, A. and Keshavarz, P., 2025.** Evaluation of the antimicrobial and antioxidant effects of *Padina* and *Sargassum* algae extracts against *Vibrio* species causing acute hepatopancreatic necrosis disease in shrimp. *Journal of Aquatic Ecology*, 15(2), 14-22. DOI:10.61882/JAquaEco.15.2.14
- Khavari, F., Saidijam, M., Taheri, M. and Nouri, F., 2021.** Microalgae: Therapeutic potentials and applications. *Molecular Biology Reports*, 48, 4757–4765. DOI: 10.1007/s11033-021-06422-w
- Kolanjinathan, K. Stella, D., 2009.** Antibacterial activity of marine macro algae against human pathogens. *Recent Research in Science and Technology*, 1(1), 020-022
- Latifah, L.A., Soekamto, N.H. and Tahir, A., 2019.** Preliminary study: *Padina australis* Hauck's antibacterial activity and phytochemical test against pathogenic shrimp bacteria. *Journal of Physics: Conference Series*, 1341(2), 022005. DOI:10.1088/1742-6596/1341/2/022005
- Lekshmi, N., Joseph, I., Ramamurthy, T. and Thomas, S., 2018.** Changing facades of *Vibrio cholerae*: An enigma in the epidemiology of cholera. *The Indian Journal of Medical Research*, 147(2), 133-138. DOI:10.4103/ijmr.IJMR_280_17
- Manivannan, K., Karthikai, G., Anantharaman, P. and Balasubramanian, T., 2011.** Antimicrobial potential of selected brown seaweeds from *Vedalai coastalwaters*, Gulf of Mannar. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 1(2), 114-120. DOI:10.1016/S2221-1691(11)60007-5
- Marella, T.K. and Tiwari, A., 2020.** Marine diatom *Thalassiosira weissflogii* based biorefinery for co-production of eicosapentaenoic acid and fucoxanthin. *Bioresources Technology*, 307, 123245. DOI:10.1016/j.biortech.2020.123245
- Mohammadi, A., Shabanpoor, B. and Kordjazi, M., 2019.** Effect of *Nizimuddin* zanardini

- aqueous extract against human pathogenic microbes and evaluating its antioxidant activity. *Marine Biology*, 10, 75-82. <http://jmb.ahvaz.iau.ir/article-1-714-fa.html>
- Mole, N.M. and Sabale, A.B., 2014.** Antimicrobial, antioxidant and haemolytic potential of brown macroalga *Sargassum*. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*; 3(8), 2091-2104.
- Mollazahei Sabet, A., Ghafari, M., Taheri, A. and Arish, Y., 2022.** Antibacterial properties of the organic extract of the brown alga *Cystoseria trinodis* and the green alga *Halimeda tuna* of the Oman Sea against *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Marine Medicine*, 3(4), 188-196. DOI:10.30491/3.4.188
- Nassar, N., Sherif, M., Yushin, N. and Zinicovscaia, I., 2025.** The Elemental Content of Seawater and Algae Collected from the Red Sea, the Arabian Gulf, and the Gulf of Oman: Preliminary Study. *Physics of Particles and Nuclei Letters*, 22(2), 358 -362. <https://doi.org/10.1134/S1547477124702443>
- Oumaskour, K., Boujaber, N., Etahiri, S. and Assobhei, O., 2013.** Anti-inflammatory and antimicrobial activities of twenty – three Marine red algae from the Coast of Sidi Bouzid (El Jadida-Morocco). *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 3, 145-149
- Peymani, J., Gharaei, A., Ghafari, M. and Taheri, A., 2014.** Antibacterial activity of the brown algae (*Sargassum glaucescens*) ethanolic and aqueous extracts from Chabahar coasts, Oman Sea, Iran. *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 22, 13-20. DOI:20.1001.1.10261354.1392.22.4.2.7.
- Pradhan, J., Das, B.K., Sahu, S., Marhual, N.P., Swain, A.K., Mishra, B.K. and Eknath, A.E., 2012.** Traditional antibacterial activity of fresh water microalga *Spirulina platensis* to aquatic pathogens. *Aquaculture Research*, 43: 1287–1295. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2011.02932.x>
- Prasetya, F.S., Sunarto, S., Bachtiar, E., Mochamad, U.K.A., Nathanael, B., Pambudi, A.C., Lestari, A.D., Astuty, S. and Mouget, J.L., 2020.** Effect of the blue pigment produced by the tropical diatom *Haslea nusantara* on marine organisms from different trophic levels and its bioactivity. *Aquaculture Reports*, 17, 100389. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2020.100389>
- Qi, Z., Zhang, X.H., Boon, N. and Bossier, P., 2009.** Probiotics in aquaculture of China current state, problems and prospect. *Aquaculture*, 290: 15–21. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2009.02.012>
- Rahma, N., 2020.** Efektivitas ekstrak rumput Laut *Sargassum polycystum* sebagai antibakteri *Vibrio spp* (Doctoral dissertation, Universitas Hasanuddin. Thesis, <http://repository.unhas.ac.id:443/id/eprint/3224>
- Rajasulochana, P., Dhamotharan, R., Krishnamoorthy, P. and Murugesan, S., 2009.** Antibacterial activity of the extracts of marine red and brown algae. *Journal of American Science*, 5(3), 20-25.
- Romn, L., Real, F., Sorroza, L. and Grasso, V., 2012.** The in vitro effect of probiotic *Vagococcus fluvialis* on the innate immune parameters of *Sparus aurata* and *Dicentrarchus labrax*. *Fish and Shellfish Immunology*, 33, 1071-1075. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2012.06.028>

- Sandsdalen, E., Haug, T., Stensvåg, K. and Styrvold, O. B., 2003. The antibacterial effect of a polyhydroxylated fucophlorethol from the marine brown alga, *Fucus vesiculosus*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 19(8), 777-782.
<https://doi.org/10.1023/A:1026052715260>
- Seenivasan, R., Rekha, M., Indu, H. and Geetha, S., 2007. Antibacterial activity and phytochemical analysis of selected Seaweeds from Mandapam Coast, India. *Journal of Applied pharmacology Science*, 2(10), 159-69.
DOI:10.7324/JAPS.2012.21030
- Soto-Rodriguez, S.A., Lopez-Vela, M. and Soto, M. N., 2024. Inhibitory effect of marine microalgae used in shrimp hatcheries on *Vibrio parahaemolyticus* responsible for acute hepatopancreatic necrosis disease. *Aquaculture Research*, 11, 1-11.
<https://doi.org/10.1111/are.15668>
- Woo, P.T. and Gregory, D.W.B., 2014. Diseases and disorders of finfish in cage culture. 2nd end. CABI, London .UK.874P.

Antibacterial activity of an ethanolic premix extract of brown macroalgae against marine pathogenic bacteria

Khugar F.¹; Akbary P.^{1*}

1-Department of Marine Sciences, Fisheries Group, Chabahar Maritime University, Chabahar, Iran

Abstract

The growing demand for natural antimicrobial agents has increased interest in alternative compounds to conventional antibiotics in aquaculture. This study investigated the antibacterial activity of an ethanolic extract prepared from a premixed combination of three brown macroalgae, *Padina australis*, *Sargassum ilicifolium*, and *Stoechospermum marginatum*, against selected marine pathogenic bacteria. Algal samples were washed, dried, mixed at equal proportions, powdered, and extracted with ethanol. The extract was evaluated at concentrations of 10, 20, 40, and 80 mg/mL against *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio harveyi*, *Vibrio alginolyticus*, an acute hepatopancreatic necrosis disease–positive strain (AHPND+), and the probiotic bacterium *Lactobacillus plantarum* using the agar disk diffusion assay. No inhibitory activity was detected against *L. plantarum* or *V. alginolyticus* at any tested concentration. The extract showed weak antibacterial activity against *V. parahaemolyticus*, *V. harveyi*, and AHPND+, with inhibition zones significantly smaller than those produced by standard antibiotics ($P < 0.05$). Among the tested pathogens, *V. harveyi* exhibited the lowest susceptibility, with a maximum inhibition zone of 3.20 ± 0.20 mm at 80 mg/mL. Although the antibacterial activity of the macroalgal extract was limited compared with conventional antibiotics, the findings indicate that brown macroalgae may represent a potential supplementary source of bioactive compounds for future pharmaceutical and nutraceutical applications.

Keywords: Brown macroalgae; Ethanolic extract; Marine pathogenic bacteria; *Vibrio* spp.; Disk diffusion assay.