مقاله علمی - پژوهشی:

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

فاطمه خوگر[1]، پریا اکبری[1]*

*paria.akbary@gmail.com

۱-دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، دانشکده علوم دریایی، گروه شیلات، چابهار، ایران، صندوق پستی: ۹۹۷۱۷۷۸۶۳۱

تاریخ دریافت: شهریور ۱۴۰۴ تاریخ پذیرش: دی ۱۴۰۴

چکیده

افزایش تقاضا برای عوامل ضدمیکروبی طبیعی، توجه به ترکیبات جایگزین آنتی‌بیوتیک‌های متداول در آبزی‌پروری را افزایش داده است. در این مطالعه، فعالیت ضدباکتریایی عصاره اتانولی تهیه‌شده از مخلوط سه ماکروجلبک 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 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر علیه باکتری‌های *Vibrio parahaemolyticus*، *Vibrio harveyi*، *Vibrio alginolyticus*، سویه مثبت بیماری نکروز حاد هپاتوپانکراس (*AHPND*+) و باکتری پروبیوتیک *Lactobacillus plantarum* با استفاده از روش انتشار دیسک در آگار ارزیابی شد. در هیچ‌یک 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 ($P<۰/۰۵$). در میان پاتوژن‌های مورد مطالعه، *V. harveyi* کمترین حساسیت را نشان داد و بیشترین قطر هاله عدم رشد آن در غلظت ۸۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر برابر با ۳/۲۰ ± ۰/۲۰ میلی‌متر بود. اگرچه فعالیت ضدباکتریایی عصاره ماکروجلبک‌های قهوه‌ای در مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌های رایج محدود بود، نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که این ماکروجلبک‌ها 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.

[DOI: 10.22034/JOA.13.1.1]

مقدمه

در حال حاضر، در دنیا، آبزی‌پروری دریایی تقریباً یک سوم کل تولیدات آبزی‌پروری را شامل می‌شود و با توجه به ثابت‌ماندن میزان صید جهانی آبزیان، این صنعت توجه زیادی را در تأمین پروتئین باکیفیت را به‌خود جلب نموده است (FAO, 2020). گزارش‌های فراوان، از بروز بیماری‌ها به‌خصوص بیماری‌های باکتریایی و تلفات ناشی از آنها و در نتیجه خسارت اقتصادی در آبزی‌پروری ماهیان دریایی، نشان می‌دهد که بیماری‌ها به عنوان چالش بزرگ پیش‌روی این توسعه خواهند بود. باکتری‌های جنس *Vibrio* در خانواده Vibrionaceae قرار دارند و بیشتر اعضای این خانواده فرصت‌طلب و بیماری‌زا هستند (Woo and Gregory , 2014). باکتری‌های *Vibrio* بیشتر سپتی‌سمی باکتریایی را در ماهیان دریایی ایجاد می‌کنند. این باکتری‌ها فرصت‌طلب هستند و در شرایط استرس‌زا، بیماری‌زا می‌شوند. بر اساس سوابق موجود بیش از ۵۰ گونه ماهی دریایی، به عفونت ناشی از گونه‌های مختلف *Vibrio* حساس هستند (Buller, 2014; Woo and Gregory, 2014). بیماری ایجادشده به‌وسیله این باکتری‌ها vibriosis نامیده می‌شود که باعث تلفات و ضرر اقتصادی زیادی درسیستم آبزی‌پروری دریایی می‌شود (Chin *et al*., 2020).

افزایش مقاومت باکتری‌های بیماری‌زا به آنتی‌بیوتیک و پیدایش بیماری‌های جدید، از چالش‌های بشر است. مقاومت باکتری‌ها در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها معمولاً براساس سازوکارهایی نظیر تولید تخریب‌کننده دارو، تغییر در گیرنده‌های دارو در سطح باکتری، تغییر در ساختار دیواره سلولی باکتری و دستیابی به مسیرهای متابولیک فرعی صورت می‌گیرد که جبران‌کننده واکنش مهارشده دارو هست که به صورت جهش خودبه‌خودی بر ژن‌های کنترل‌کننده حساسیت باکتری یا از طریق پلاسمید، از یک باکتری به باکتری دیگر منتقل می‌شود (Ghafari and Taheri, 2018)، همچنین آنتی‌بیوتیک‌های باقی‌مانده در غذاهای دریایی و آبزیان بر سلامت انسان تأثیر منفی می‌گذارد (Qi *et al*., 2009).

امروزه شناسایی ترکیبات ضدمیکروبی با منشأ طبیعی برای مقابله با باکتری‌های بیماری‌زامورد توجه فراوان قرار گرفته است. افزایش روزافزون مقاومت باکتری‌ها به آنتی‌بیوتیک‌های معمول منجر به ایجاد انگیزه‌ای برای یافتن ترکیبات جدید ضدمیکروبی است و با توجه به این‌که گیاهان دارویی دارای عوارض و هزینه کمتری هستند، می‌تواند یکی از منابع داروهای ضدمیکروبی به‌حساب آید (Gharekhan Taghar Tapeh *et al*., 2020)، همچنین متابولیت‌های ثانویه به علت به چالش کشیدن بحث هدف‌گیری و ساخت داروهای طبیعی و ارتقاء کیفی علوم زیست‌پزشکی، حوزه جذابی برای بسیاری از محققین علوم زیستی محسوب می‌شوند (Hassan *et al*., 2024).

بسیاری از مواد شیمیایی زیست‌فعال و داروشناختی به‌ویژه ترکیبات ضدباکتری را به طور بالقوه جلبک‌های دریایی تولید می‌کنند (Prasetiya *et al*., 2020; Soto- Rodriguez *et al*., 2024). علاوه‌براین، جلبک‌ها به دلیل توانایی در تولید متابولیت‌های زیست‌فعال با اثرات ضدسرطانی، ضدالتهابی، ضدباکتری و آنتی‌اکسیدانی، محبوبیت روزافزونی یافته‌اند (Barone *et al*., 2021; Khavari *et al*., 2021). در میان ترکیبات جلبک دریایی، پلی‌ساکاریدهای سولفاته، پلیمرهای فعال زیستی حاوی گروه سولفات همی‌استر، در واحدهای ساده مونوساکارید که با پیوندهای گلیکوزیدی به‌هم متصل می‌شوند به‌خوبی خاصیت آنتی‌اکسیدانی، ضدانعقاد، ضدمیکروبی، ضدسرطان و ضدپیری از خود نشان می‌دهند (Lekshmi *et al* ., 2018). جلبک‌ها برای تولید صنعتی برخی ترکیبات همچون آلژینات، کاراگینان و آگار نیز استفاده می‌شود (Rajasulochana *et al*., 2009).همچنین برخی از ترکیبات متابولیک زیست فعال ریزجلبک‌ها و جلبک‌ها مانند Brominates، ترکیبات آروماتیک، نیتروژن‌های ناجور حلقه[1]، استرول‌ها، پروتئین‌ها و پلی‌ساکاریدهای سولفاته، بسیار مورد توجه هستند (Kolanjinathan and Stella., 2009).

مطالعات متعددی در ارتباط با فعالیت ضدمیکروبی جلبک‌های قهوه‌ای پادینا و سارگاسوم علیه باکتری‌های گرم منفی *V. parahaemolyticus* (Latifah *et al*., 2019; Rahma, 2020; Datu *et al*., 2024; Keshavarz *et al*., 2025)، *V. 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 آنتی‌باکتری جلبک‌های قهوه‌ای 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

[DOI: 10.22034/JOA.13.1.1]

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. harveyi*، *V.alginolyticus* 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 آن‌جایی‌که پراکنش جلبک‌های ماکروسکوپی در سواحل خلیج فارس و دریای عمان زیاد است و آبزی‌پروری پایدار و موفق در گرو حفظ سلامت موجود آبزی و ایده‌آل‌سازی شرایط پرورشی برای کسب حداکثری رشد آبزیان و کاهش هزینه‌های جانبی فرآیند تولید است، از محققان و پرورش‌دهندگان در پی‌یافتن راه‌کارهای نوین و بهتر برای تحقق هدف آبزی‌پروری هستند.

تحقیق حاضر، با هدف بررسی خاصیت آنتی‌باکتریایی چهار غلظت مختلف عصاره اتانولی پرمیکس ماکروجلبک‌های قهوه‌ای (*Padina australis*، *Sargassum ilicifolium* و *Stoechospermum marginatum*) و آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد جنتامایسین (۱۰ میکروگرم)، سیپروفلوکساین (۵ میکروگرم) و قلورفنیکل (۳۰ میکروگرم) بر باکتری‌های بیماری‌زا (*Vibrio parahemolyticus*، *V.harveyi*، *V.alginolyticus* و بیماری حاد نکروز هپاتوپانکراس (AHPND)[1] و باکتری پروبیوتیک *Lactobacillus plantarum* در آبزیان دریایی انجام گرفت

مواد و روش کار

جمع‌آوری ماکروجلبک‌ها

جمع‌آوری دستی ماکروجلبک‌های قهوه‌ای *Padina australis*، *Sargassum ilicifolium* و *Stoechospermum marginatum* از سواحل چابهار (دریا بزرگ و تیس) در فاصله 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 اپی‌فیت 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 خشک‌شدن، شناسایی هر سه گونه جلبک نیز صورت گرفت (Gharanjik and Rouhani Qadikelayi, ,2010).

تهیه و آماده‌سازی عصاره پرمیکس ماکروجلبک‌ها

برای تهیه عصاره اتانولی از پرمیکس ماکروجلبک‌ها (سه تکرار)، ابتدا سه ماکروجلبک‌های خشک‌شده (*Sargassum ilicifolium*، *Padina australis* و *Stoechospermum marginatum*) با آسیاب برقی پودر شدند. سپس مقدار ۲۰۰ گرم پودر مخلوط حاصل از سه گونه ماکروجلبک مذکور (۱:۱:۱) تهیه شد. سپس مقدار ۲۰ گرم پودر حاصله ازپرمیکس با ۲۰۰ میلی‌لیتر اتانول مخلوط و به مدت ۴۸ ساعت در تاریکی قرار داده شد. هر ۱۶ ساعت یک‌بار به مدت ۲۵ دقیقه به‌خوبی 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 دی متیل 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.harveyi*، *V.alginolyticus* از انجمن ذخایر ژنتیکی تهران، +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 درجه‌سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت نگهداری گردید (Assegaf, 2023).

---

[1] Acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND)

[DOI: 10.22034/JOA.13.1.1]

بررسی اثرات ضدباکتری به‌روش انتشار دیسک

اثرات ضدباکتریایی غلظت‌های مختلف عصاره اتانولی پرمیکس ماکروجلبک‌های 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 مولرهینتون آگار کشت داده شد. سپس دیسک‌های بلانک استریل به‌وسیله پنس استریل‌شده (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 هریک از غلظت‌های عصاره استریل روی دیسک بلانک به‌وسیله سمپلر ۱۰-۱۰۰ 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 آنتی‌بیوتیک‌های 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 تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌ها

ابتدا نرمال بودن داده‌ها با آزمون شاپیرو-ویلک و همگنی واریانس‌ها با آزمون Leven بررسی شد. تجزیه‌وتحلیل داده‌ها با استفاده از روش آنالیز واریانس یک‌طرفه و برای مقایسه میانگین‌های (میانگین±خطای معیار) حاصل از غلظت مختلف عصاره اتانولی پرمیکس ماکروجلبک‌های قهوه‌ای و آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد از آزمون دانکن در سطح اعتماد ۵ درصد ($p=۰/۰۵$) استفاده شد. تجزیه داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۴ انجام گرفت.نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel ۲۰۱۶ انجام شد.

نتایج

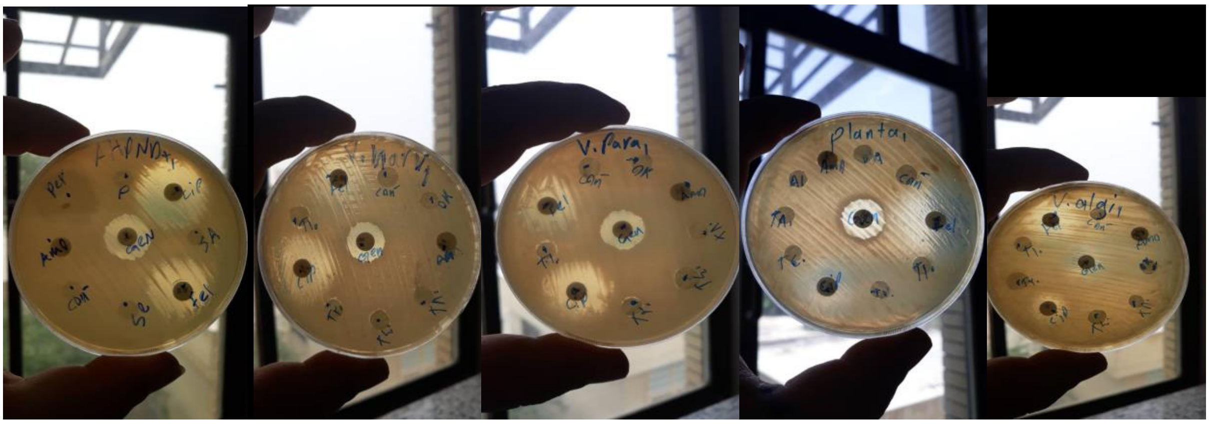
فعالیت ضدباکتریایی عصاره اتانولی پرمیکس ماکروجلبک‌های قهوه‌ای به‌روش انتشار دیسک

اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد باکتری در پلیت‌های مورد آزمایش نشان داد که غلظت‌های ۱۰، ۲۰، ۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره اتانولی پرمیکس ماکروجلبک‌های قهوه‌ای (*Padina australis*، *Sargassum ilicifolium* و *Stoechospermum marginatum*) بر رشد باکتری‌های گرم منفی (*V. parahemolyticus*، *V. harveyi* 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).

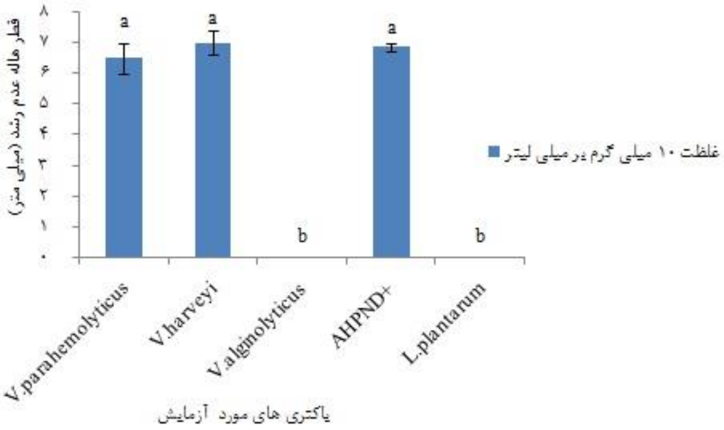
در بین باکتری‌های گرم منفی مذکور، تاثیر غلظت‌های ۲۰ و ۴۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره اتانولی پرمیکس ماکروجلبک‌های قهوه‌ای بر باکتری‌های *V. harveyi* به طور معنی‌داری بیشتر از باکتری *V. parahemolyticus* بود ($p<۰/۰۵$)، ولی اختلاف‌معنی‌داری بین مهار رشد باکتری‌های *V. harveyi* و AHPND در این دو غلظت (۲۰ و ۴۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) مشاهده نشد ($p>۰/۰۵$). همچنین بین مهار رشد باکتری‌های *V. parahemolyticus*، *V. harveyi* و AHPND با غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره اتانولی پرمیکس مورد آزمایش، اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($p>۰/۰۵$). باکتری AHPND حساسیت بیشتری را به غلظت ۸۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره اتانولی پرمیکس نسبت به باکتری *V. harveyi* نشان داد درحالی‌که در غلظت مذکور اختلاف معنی‌داری بین قطر هاله عدم رشد باکتری *V. parahemolyticus* و *V. harveyi* مشاهده نشد ($p>۰/۰۵$). تاثیر آنتی‌بیوتیک جنتامایسین بر باکتری گرم مثبت *L. plantarum* از نظر عددی بیشتر بود، ولی اختلاف معنی‌داری بین حساسیت باکتری‌های *V. parahemolyticus*، *V. harveyi*، AHPND و *L. plantarum* به آنتی‌بیوتیک جنتامایسین مشاهده نشد ($p>۰/۰۵$). آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساین بر رشد ۵ باکتری مورد آزمایش اثر مهاری داشت و تاثیر آن بر باکتری‌های *V. harveyi* و AHPND به طور معنی‌دار بیشتر و بر باکتری گرم مثبت *L. plantarum* و گرم منفی *V. alginolyticus* به طور معنی‌دار کمتر بود ($p<۰/۰۵$). همچنین اختلاف معنی‌داری بین حساسیت باکتری گرم مثبت *L. plantrum* و گرم منفی *V.*

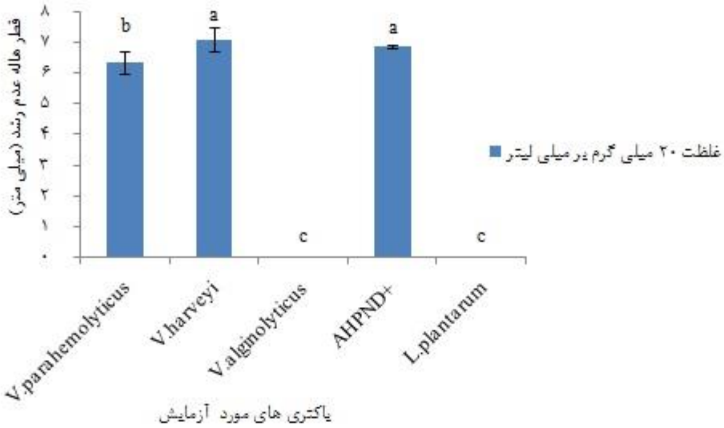
[DOI: 10.22034/JOA.13.1.1]

alginolyticus به آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساین وجود نداشت ($p>$۰/۰۵). فلورفنیکل بر رشد ۵ باکتری مورد آزمایش اثر مهاری داشت و اختلاف معنی‌داری نشان نداد ($p>$۰/۰۵) (شکل ۲).

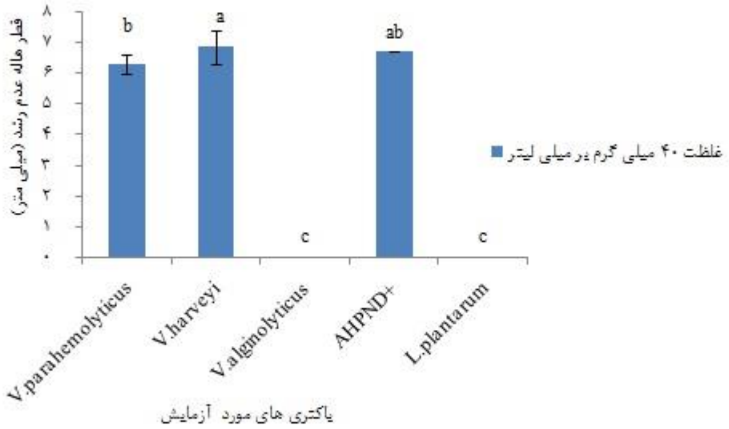


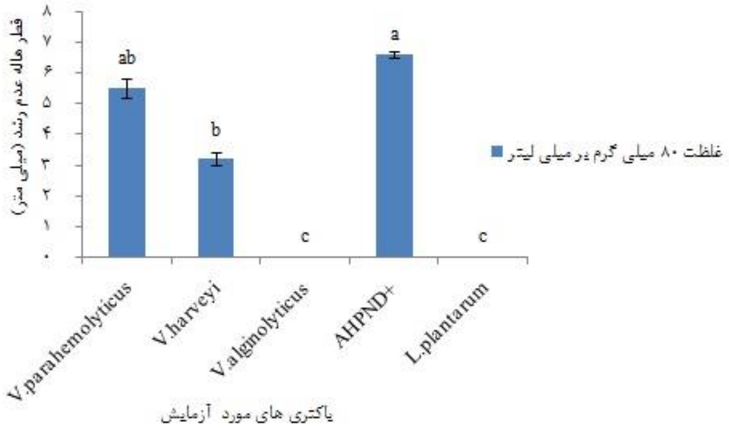
شکل ۱: هاله عدم رشد غلظت‌های مختلف (۱۰، ۲۰، ۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) عصاره اتانولی پرمیکس ماکروجلبک‌های قهوه‌ای (*Padina australis*، *Sargassum ilicifolium* و *Stoechospermum marginatum*) و آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد جنتامایسین (۱۰ میکروگرم)، سیپروفلوکساین (۵ میکروگرم) و فلورفنیکل (۳۰ میکروگرم) بر رشد باکتری‌های گرم منفی (*V.parahemolyticus*، *V.harveyi*، *V.alginolyticus* و AHPND) و باکتری پروبیوتیک *Lactobacillus plantarum*

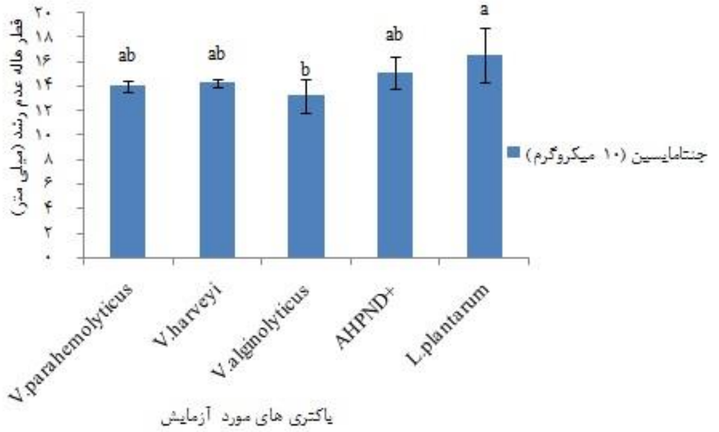




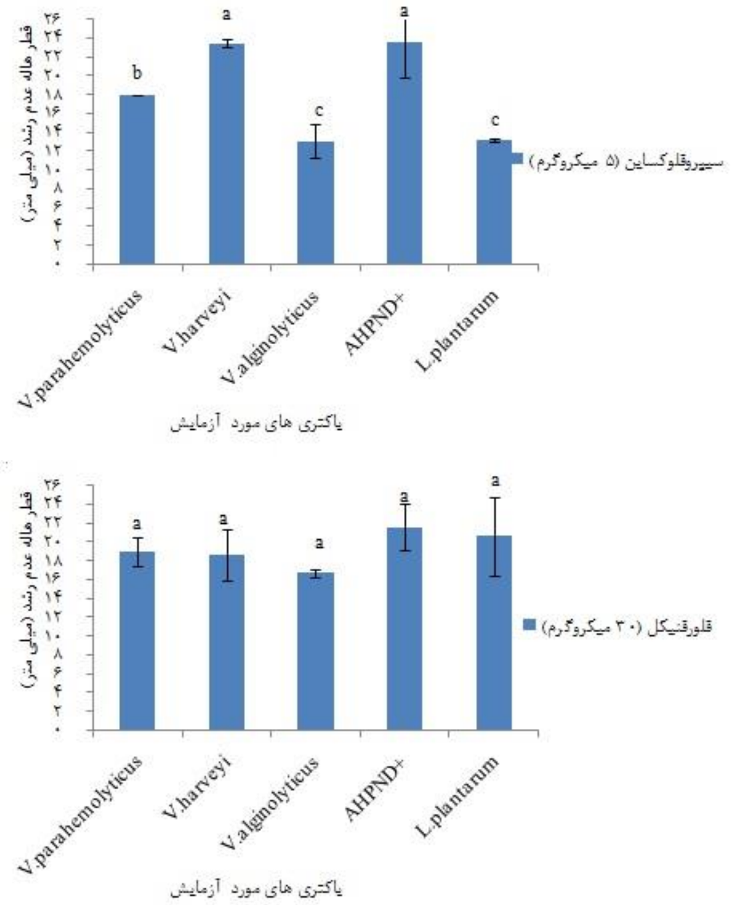
[DOI: 10.22034/JOA.13.1.1]







[DOI: 10.22034/JOA.13.1.1]



شکل ۲: مقایسه حساسیت باکتری‌های مورد آزمایش به‌وسیله عصاره اتانولی پرمیکس ماکروجلبک‌های قهوه‌ای (*Padina australis*، *Sargassum ilicifolium* و *Stoechospermum marginatum*) و آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد. حروف نامشابه بر روی ستون هر نمودار نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین باکتری‌های مورد آزمایش است ($p<۰/۰۵$). نتایج حاصل سه‌تکرار است.

با توجه به جدول ۱، غلظت‌های مختلف عصاره اتانولی پرمیکس ماکروجلبک‌های قهوه‌ای هیچ اثر بازدارندگی بر رشد باکتری گرم مثبت *L. plantarum* و گرم منفی *V. angilolyticus* نداشت و هاله عدم رشد مشاهده نشد. همچنین ۳ باکتری دیگر (*V. parahemolyticus*، *V. harveyi* و AHPND) حساسیت کمتری به غلظت‌های مختلف عصاره اتانولی پرمیکس ماکروجلبک‌های قهوه‌ای (*P. australis*، *S. ilicifolium* و *S. marginatum*) نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد مورد آزمایش نشان دادند ($p<۰/۰۵$).

[DOI: 10.22034/JOA.13.1.1]

جدول۱: مقایسه میانگین (± انحراف معیار) قطر هاله عدم رشد (میلی‌متر) عصاره اتانولی پرمیکس ماکروجلبک‌های قهوه‌ای (*Padina australis*، *Sargassum ilicifolium* و *Stoechospermum marginatum*) و آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد بر باکتری‌های مورد آزمایش

باکتری متغیر	*Vibrio parahemolyticus*	*Vibrio harveyi*	*Vibrio alginolyticus*	**AHPND+(*Vibrio* sp.)**	*Lactobacillus plantarum*
غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر	۷/۰۰ ± ۱/۰۰ ^{c}	۷/۰۰ ± ۰/۴۰ ^{d}	۰ ± ۰/۰۰ ^{c}	۶/۸۵ ± ۰/۱۵ ^{c}	۰ ± ۰/۰۰ ^{d}
غلظت ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر	۶/۳۵ ± ۰/۳۵ ^{cd}	۷/۱۰ ± ۰/۴۰ ^{d}	۰ ± ۰/۰۰ ^{c}	۶/۸۵ ± ۰/۰۵ ^{c}	۰ ± ۰/۰۰ ^{d}
غلظت ۴۰ میلی‌گرم بر لیتر	۶/۳۰ ± ۰/۳۰ ^{cd}	۶/۸۵ ± ۰/۵۵ ^{d}	۰ ± ۰/۰۰ ^{c}	^{c} ۶/۷۰ ± ۰/۰۰	۰ ± ۰/۰۰ ^{d}
غلظت ۸۰ میلی‌گرم بر لیتر	۵/۵۰ ± ۰/۳۰ ^{d}	۳/۲۰ ± ۰/۲۰ ^{e}	۰ ± ۰/۰۰ ^{c}	۶/۶۰ ± ۰/۱۰ ^{c}	۰ ± ۰/۰۰ ^{d}
آنتی‌بیوتیک جنتامایسین (۱۰ میکروگرم)	۱۴/۰۵ ± ۰/۴۵ ^{b}	۲۳/۵۰ ± ۰/۵۰ ^{a}	۱۳/۲۵ ± ۲/۱۵ ^{b}	۱۵/۱۵ ± ۱/۳۵ ^{a}	۱۶/۵۵ ± ۲/۲۵ ^{b}
آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساین (۵ میکروگرم)	۱۸/۰۰ ± ۰/۰۰ ^{a}	۱۸/۶۵ ± ۲/۶۵ ^{d}	۱۳/۱۰ ± ۱/۸۰ ^{b}	۲۱/۵۷ ± ۲/۴۵ ^{a}	۱۳/۲۰ ± ۰/۲۰ ^{c}
آنتی‌بیوتیک فلورفنیکل (۳۰ میکروگرم)	۱۹/۰۰ ± ۱/۶۰ ^{a}	^{d} ۹/۶۶ ± ۰/۲۸	۱۶/۷۰ ± ۰/۵۰ ^{a}	۹/۶۶ ± ۰/۲۸ ^{d}	۲۰/۶۵ ± ۴/۱۵ ^{a}
دی متیل اکساید	۰ ± ۰/۰۰	± ۰/۰۰	± ۰/۰۰	± ۰/۰۰	± ۰/۰۰

در هر ستون، ارقام نشانه‌گذاری شده با حروف لاتین مختلف دارای اختلاف معنی‌دار آماری هستند ($p<۰/۰۵$). نتایج حاصل سه تکرار است.

در مطالعه حاضر، میزان تاثیر عصاره اتانولی پرمیکس ماکروجلبک در غلظت‌های مختلف، بر باکتری AHPND اختلاف معنی‌داری نشان نداد ($p>۰/۰۵$). باکتری *V. harveyi* کمترین حساسیت را نسبت به عصاره اتانولی پرمیکس به‌ترتیب با قطر هاله عدم رشد ۳/۲۰±۰/۲۰ میلی‌متر در غلظت ۸۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از خود نشان داد که این میزان دارای اختلاف معنی‌دار با آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد جنتامایسین، سیپزوفلوکساین و فلورفنیکل و سایر غلظت‌ها بود ($p<۰/۰۵$). باکتری گرم منفی *V. parahemolyticus*، در غلظت‌های ۱۰، ۲۰ و ۴۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، اختلاف معنی‌داری از خود نشان ندادند ($p>۰/۰۵$). از نظر عددی بیشترین حساسیت باکتری *V. parahemolyticus*، در غلظت ۱۰میلی‌گرم بر میلی‌لیتر مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری را با غلظت ۸۰ میلی‌گرم بر لیتر عصاره اتانولی پرمیکس از خود نشان داد ($p<۰/۰۵$).

بحث

با توجه به ممنوعیت مصرف آنتی‌بیوتیک در آبزی‌پروری 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 ماکروجلبک، روش استخراج به‌کار برده شده و مقاومت باکتری مورد سنجش دارد (Seenivasan *et al.*, 2007). نتایج این مطالعه نشان داد که هیچ‌یک از غلظت‌های عصاره اتانولی پرمیکس ماکروجلبک‌های قهوه‌ای مورد آزمایش، هیچ اثر بازدارندگی بر رشد باکتری گرم مثبت *L. plantarum* و گرم منفی *V. alginolyticus* نداشت. در

[DOI: 10.22034/JOA.13.1.1]

مطالعه Mohammadi و همکاران (۲۰۱۹) عصاره آبی *N. zanardini* در هیچ غلظتی (۱۲/۵، ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)، فعالیت ضدباکتریایی علیه باکتری گرم منفی *Escherchia coli* از خود نشان نداد که می‌تواند ناشی از مقاوم بودن این باکتری نسبت به سویه‌های باکتریایی *Salmonella typhimurium*، *Bcillus cereus* و *Staphylococcus aureus* باشد. در مطالعه Govindasamy و همکاران (۲۰۱۱) عصاره متانولی حاصل از جلبک‌های *Gracilaria corticata* و *Padina tetrastomatica* فاقد اثر ضدباکتری علیه *E.coli* بودند که می‌توان در این رابطه گونه جلبک و نوع سویه باکتری را موثر دانست. تفاوت در دیواره باکتری‌ها می‌تواند موجب ایجاد مقاومت آنها به عوامل کشنده شود. باکتری‌ها به گروه گرم مثبت و منفی تقسیم می‌شوند. 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 به‌سختی صورت می‌گیرد. اما در باکتری‌های فاقد این نوع دیواره، مواد با وزن مولکولی پایین می‌توانند ساده‌تر 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 باکتری‌ها 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 آنتی‌باکتریال عصاره آبی و آلی ماکروجلبک‌های سارگاسوم و پادینا در برابر سویه باکتری‌های *V. parahemolyticus*، *V. alginolyticus* و *V.harveyi*، گزارش کردند که عصاره آلی سارگاسوم دارای بیشترین فعالیت ضدمیکروبی علیه سویه‌های بیماری‌زای ویبریو بود. با توجه به گرم منفی بودن این باکتری‌ها و مقاومت بیشتر این باکتری نسبت به باکتری‌های گرم مثبت در مقابل ترکیبات ضدمیکروبی، نتایج حاصله می‌تواند نویدبخش باشد. مقاومت بیشتر باکتری‌های گرم منفی به دلیل ساختار مقاوم‌تر آنها در برابر عوامل ضدمیکروبی است. این باکتری‌ها دارای غشاء خارجی هستند و از عبور ملکول‌های آب‌گریز و درشت جلوگیری می‌کنند (Kakoullis *et al.*, 2021). نتایج این مطالعه نشان داد که در بین باکتری‌های گرم منفی مذکور، تاثیر غلظت‌های ۲۰ و ۴۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره اتانولی پرمیکس ماکروجلبک‌های قهوه‌ای بر باکتری‌های *V. harveyi* به طور معنی‌داری بیشتر از باکتری *V. parahemolyticus* بود. همچنین باکتری AHPND+ حساسیت بیشتری را به غلظت ۸۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر 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. می‌توان گفت که مواد هیدروفوبیک موجود در عصاره غیر قطبی جلبک‌ها، دارای فعالیت آنتی‌بیوتیک علیه باکتری *V. harveyi*، بسیار بیماری‌زاست (Jusidin *et al.*, 2022). در مطالعه Keshavarz و همکاران (۲۰۲۵) با عصاره آبی و آلی استخراجی از جلبک‌های سارگاسوم و پادینا بر باکتری‌های *Vibrio* بیماری‌زا میگو، پتانسیل فعالیت ضدمیکروبی داشت. حداقل غلظت ممانعت کننده رشد (MIC) عصاره آلی و آبی استخراجی از جلبک پادینا به‌ترتیب معادل ۲۵۶ و ۵۱۲ µg/ml در مقابل باکتری گرم منفی *V. parahemolyticus* ثبت شد. کمترین MIC این عصاره در مقابل باکتری‌های *V. alginolyticus* و *V. harveyi* به میزان ۶۴ µg/ml گزارش شد درحالی‌که عصاره آبی پادینا رشد باکتری‌های *V. alginolyticus* و *V. harveyi* را به‌ترتیب در حداقل غلظت‌های ۲۵۶ و ۱۲۸ µg/ml ممانعت نمود. اگرچه این مقادیر فعالیت ضدمیکروبی در مقایسه با آنتی‌بیوتیک استرپتومایسین به طور معنی‌داری کمتر بود. حداقل غلظت ممانعت کننده رشد (MIC) عصاره آلی و آبی استخراجی از جلبک سارگاسوم به‌ترتیب معادل ۵۱۲ و ۱۲۸ µg/ml در مقابل باکتری گرم منفی *V. parahemolyticus* ثبت شد. کمترین MICاین عصاره در مقابل باکتری‌های *V. alginolyticus* و *V. harveyi* به‌ترتیب ۲۵۶ و ۱۲۸ µg/ml گزارش شد درحالی‌که عصاره آبی سارگاسوم رشد باکتری‌های *V. alginolyticus* و *V. harveyi* را به‌ترتیب در حداقل غلظت‌های ۲۵۶ و ۱۲۸ µg/ml ممانعت نمود. اگرچه این مقادیر فعالیت ضدمیکروبی عصاره اتانولی پرمیکس این تحقیق، در مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌های جنتامایسین، سیپروفلوکساین و فلورفنیکل به طور معنی‌داری کمتر بود، اما با توجه به‌وجود سایر ترکیبات غیرموثره در عصاره اتانولی پرمیکس ماکروجلبک‌های قهوه‌ای، مطالعه این میزان فعالیت، قابل‌ملاحظه ارزیابی می‌شود. در همین زمینه سایر مطالعات نیز فعالیت ضدمیکروبی بالای جلبک سارگاسوم را گزارش کردند (Dip *et al.*, 2024). حضور فنل‌ها، پلی‌فنل‌ها، ترپن‌ها و فلوروتانین در پرمیکس ماکروجلبک قهوه‌ای نیز دلیل

[DOI: 10.22034/JOA.13.1.1]

فعالیت ضدباکتریایی است (Sandsdalen *et al.*, 2003) که 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* به‌ترتیب ۵، ۱۰ و ۱۵ میلی‌گرم 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 به‌شدت به گونه‌های ماکروجلبکی وابسته است. علاوه‌براین، در دسترس بودن عوامل آنتی‌بیوتیک می‌تواند به طور قابل‌توجهی بین گونه‌های مختلف در یک رده یا حتی در یک گونه واحد متفاوت باشد، با توجه به این‌که کدام اکوتایپ‌ها به شرایط خاصی سازگار شده‌اند (Falaise *et al.*, 2016). برای مثال، میکروجلبک سبز *Dunaliella* sp. که از آبهای به‌شدت آلوده جدا شده بود، فعال‌تر در برابر باکتری‌ها نسبت به اکوتایپ‌هایی بود که از آبهای کمتر آلوده به‌دست 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 *Padina australis*، *Sargassum ilicifolium* و *Stoechospermum marginatum* نشان داد که میزان فنل، فلاونوئید و فعالیت ضداکسایشی به‌ترتیب 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 موادی مانند بتائین، لیپیدها، فسفولیپید، اسیدهای چرب چندغیراشباع، فوکوگزانتین (FX) و اسید ایکوزاپنتانوئیک (EPA)، خواص ضدباکتریایی دارد (Marella and Tiwari, 2020).

هدف نهایی فعالیت آبزی‌پروری، 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 قراردادند. 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 نه‌تنها در آبزی‌پروری 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 *Sargassum angustifolium* و *Gracilaria corticata* هیچ اثر بازدارندگی بر رشد باکتری گرم مثبت *Bacillus subtilis* نداشت. Mollazahei Sabet و همکاران (۲۰۲۲) با بررسی

[DOI: 10.22034/JOA.13.1.1]

خواص ضدباکتریایی عصاره آلی جلبک قهوه‌ای *Cystoseira trinodis* و جلبک سبز *Halimedatuna* دریای عمان بر باکتری‌های *Escherichia coli*، *Listeria monocytogenes* 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 ۱۰/۶۶±۰/۸ 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 به‌شدت 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 منفی‌بودن این باکتری‌ها و مقاومت بیشتر این باکتری‌ها نسبت به باکتری گرم مثبت نسبت به ترکیبات ضدمیکروبی، نتایج حاصله می‌تواند نویدبخش باشد. همچنین به دلیل فعالیت آنتی‌باکتریایی عصاره اتانولی پرمیکس ماکروجلبک‌های 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).

اگرچه طبق نتایج، خاصیت ضدباکتریایی عصاره آبی پرمیکس ماکروجلبک‌های قهوه‌ای مورد مطالعه کمتر از آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد محاسبه گردید، اما می‌توان عصاره پرمیکس ماکروجلبک قهوه‌ای را به عنوان یک منبع بالقوه‌ای برای ترکیبات طبیعی ضدمیکروبی 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., Sohrabipoor, 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

[DOI: 10.22034/JOA.13.1.1]

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.

[DOI: 10.22034/JOA.13.1.1]   [Downloaded from ornamentalaquatics.ir on 2026-06-25]

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 andfucoxanthin. *Bioresources Technology*, 307, 123245. DOI:10.1016/j.biortech.2020.123245

Mohammadi, A., Shabanpoor, B. and Kordjazi, M., 2019. Effect of Nizimuddinia zanardini

[DOI: 10.22034/JOA.13.1.1]

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 Sarrgassum. *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 Marin 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

Prasetiya, 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 levelsand 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

[DOI: 10.22034/JOA.13.1.1]

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. 2_nd end. CABI, London .UK.874P.

[DOI: 10.22034/JOA.13.1.1]

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.

[DOI: 10.22034/JOA.13.1.1]