



مقاله پژوهشی

جداسازی باکتری‌های همزیست جلبک *Enteromorpha flexuosa* و بررسی ویژگی‌های ضدباکتریایی آنها

حامد سنجولی^۱، آرش شکوری^{۲*}، فاطمه ناصری^۳

DOI: 10.22124/japb.2025.30752.1574

تاریخ پذیرش: آذر ۱۴۰۴

تاریخ دریافت: خرداد ۱۴۰۴

چکیده

در محیط دریایی، تمام سطوح از جمله انواع جانداران دریایی مانند ماکروجلبک‌های دریایی توسط میکروارگانیسم‌ها کلونیزه می‌شوند. میکروارگانیسم‌های مرتبط با ماکروجلبک‌های دریایی پتانسیل فوق العاده‌ای از جهت متابولیت‌های فعال زیستی ارائه می‌دهند. فولینگ مشکلی مداوم در بخش‌های دریایی است که نیاز به فرایندهای کنترل و تمیز کردن دارد. جستجوی باکتری‌های آنتی‌فولینگ به دلیل آلودگی محیطی مرتبط با استفاده از مواد شیمیایی سمی برای کنترل فولینگ ضروری است. از ماکروجلبک *Enteromorpha flexuosa* جمع‌آوری شده از دریای عمان، تعداد ۴ باکتری همزیست جداسازی و خالص شد. شناسایی مولکولی این باکتری‌ها بر اساس توالی‌های ژن 16S rRNA باکتری‌های *Bacillus zhangzhouensis* سویه Chabahar 1، *Virgibacillus dokdonensis* سویه Chabahar 2، *Micrococcus endophyticus* سویه Chabahar 3 و *Bacillus subtilis* سویه Chabahar 4 را نشان داد. این توالی‌ها در بانک جهانی ژن به ترتیب با شماره دسترسی OL472895، OL514166، OL514165 و OL514183 ثبت شدند. از این باکتری‌ها عصاره اتانولی استخراج شد و به روش انتشار چاهک مورد غربالگری قرار گرفت. این باکتری‌ها هیچ اثر ممانعت کننده رشد را بر یکدیگر نشان ندادند.

واژگان کلیدی: *Enteromorpha flexuosa*، *Bacillus zhangzhouensis*، *Virgibacillus*، *Bacillus subtilis*، *Micrococcus endophyticus*، *dokdonensis*

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد زیست‌شناسی دریا، گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، ایران.

۲- دانشیار گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، ایران.

۳- کارشناس ارشد زیست‌شناسی دریا، گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، ایران.

* نویسنده مسئول: aarash220@gmail.com

مقدمه

flexuosa از رده Chlorophyceae، راسته Ulvales و خانواده Ulvaceae برای اولین بار توسط Agadh در سال ۱۸۸۳ معرفی شد. این جلبک منبع غنی و از محصولات طبیعی فعال زیستی بوده و دارای خواص ضدباکتریایی، ضدقارچی و ضدویروسی است (Senthilkumar et al., 2014). مطالعات بر روی عصاره‌های سلولی و ساختارهای فعال جلبک‌های مختلف نشان داده است که در شرایط آزمایشگاهی، فعالیت‌های ضدباکتریایی علیه باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی و فعالیت‌های گسترده آنها، به باکتری‌های چسبیده به سطوح جلبک مربوط می‌شود. باکتری‌های موجود بر سطوح جلبک دریایی، به دلیل نقش مهمی که در سلامت انسان و جانوران ایفا می‌کنند به عنوان منابعی برای مواد زیست‌فعال در نظر گرفته می‌شوند. بررسی گروه‌های باکتریایی همزیست برخی از جلبک‌های سبز، قرمز و قهوه‌ای، با تنوع بالا مربوط به چندگونه جلبک دریایی و فعالیت‌های آنتی‌بیوتیکی آنها علیه چندین عامل بیماری‌زا میکروبی نشان می‌دهد که بیشتر این باکتری‌های سطحی، ترکیبات فعال زیستی را تولید می‌کنند که نقشی محافظتی را برای

جلبک‌های دریایی از اعضای اکوسیستم‌های بزرگ و متنوعی هستند که نقش اساسی در محیط زیست دریایی دارند. جلبک‌های دریایی به طور کلی در تولید و تامین غذا و سرپناه برای موجودات گوناگون نقش دارند. سطح جلبک‌های دریایی شرایط مناسب و سرشار از مواد مغذی را برای رشد میکروارگانیسم‌ها از جمله باکتری‌ها فراهم می‌کند (Susilowati et al., 2015). جلبک‌های دریایی در مقایسه با موجودات دیگر چندسلولی دارای تنوع غنی از میکروارگانیسم‌های متنوع است. این میکروارگانیسم‌ها ممکن است برای جلبک‌های دریایی مفید یا مضر باشند. جوامع باکتریایی اپی‌فیت برای رشد ریخت‌شناختی جلبک دریایی حیاتی گزارش شده‌اند و تصور می‌شود باکتری‌هایی با خواص ضدباکتریایی از جلبک‌های دریایی در برابر عوامل بیماری‌زا و موجودات رقیب دیگر محافظت می‌کنند (JanakiDevi et al., 2013). برخی از گونه‌های باکتری خاصیت میزبان و فعالیت باکتری‌کشی را در برابر عوامل بیماری‌زای خاص نشان می‌دهند. این ویژگی تعاملات بیوشیمیایی پیچیده بین جلبک دریایی و باکتری را نشان می‌دهد. جلبک سبز دریایی *Enteromorpha*

flexuosa که با کلیدهای شناسایی جلبک مورد تایید قرار گرفته بودند، در دی‌ماه سال ۱۳۹۹ از بسترهای جلبکی تیس، چابهار در استان سیستان و بلوچستان نمونه‌برداری صورت گرفت. نمونه‌های مورد مطالعه به طور مستقیم از منطقه بین جزر و مدی برداشت شد و به محض جمع‌آوری در کیسه‌های پلاستیکی استریل قرار داده شد. کلنی‌های جمع‌آوری شده روی یخ به آزمایشگاه دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار منتقل شد (Wang et al., 2017).

برای مشخص شدن جد مشترک از باکتری دریایی *Vibrio cholera* با شماره دسترسی LC487865 به عنوان خارج گروهی استفاده شد.

روش آزمایش

جلبک دریایی *E. flexuosa* جمع‌آوری شده در کیسه‌های پلاستیکی استریل قرار داده شدند و به آزمایشگاه زیست‌شناسی دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار منتقل شدند. جلبک‌ها سه بار با آب دریا اتوکلاو شده شسته شدند تا اپی‌فیت‌ها، ذرات شن و دیگر رسوبات چسبیده روی سطح آن حذف شوند. پس از شستشو، جلبک با قیچی استریل به قطعات کوچک بریده شد و مقدار ۲۵ گرم از آن در ۲۲۵

میزبان خود ایفا می‌کنند و باید پتانسیل زیست‌شناختی جلبک‌ها مورد بررسی واقع شود. در بررسی باکتری‌های سطحی جلبک‌ها، گونه‌های شناخته شده با خاصیت تولید متابولیت‌های زیست‌فعالانه و عصاره‌های استخراج شده به طور ویژه می‌تواند در صنعت داروسازی مورد استفاده قرار گیرند (Shakouri et al., 2018).

مقاومت باکتری‌ها به آنتی‌بیوتیک‌های مهم بالینی معضلی اساسی در دنیا است. افزایش مقاومت جهانی باکتری‌های بیماری‌زا به آنتی‌بیوتیک‌های موجود به یک مشکل بهداشت عمومی تبدیل شده است و تلاش‌های پژوهشی اکنون به کشف ترکیبات ضدباکتریایی جدید و کارآمد می‌پردازد (Susilowati et al., 2015). این مطالعه با هدف جداسازی باکتری‌های همزیست با ماکروجلبک *Enteromorpha flexuosa* و بررسی اثر ضدباکتریایی آنها بر روی هم انجام شد و علاوه بر این، برای بررسی ویژگی‌های مولکولی از ناحیه 16S rRNA برای تعیین توالی و رسم درخت فیلوژنی استفاده شد.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونه‌ها

از کلنی‌های ماکروجلبک *Enteromorpha*

میلی‌لیتر محیط کشت زوبل مارین براث (Zobell Marine Agar) ریخته شد و به مدت ۱۵ دقیقه در این محیط کشت گرمخانه‌گذاری شد. سپس با استفاده از سواب پنبه‌ای استریل از کشت انجام شده، دوباره در پلیت‌های حاوی زوبل مارین آگار کشت انجام شد و پلیت‌ها به مدت ۵ روز در دمای ۳۲ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شدند. پس از گرمخانه‌گذاری، کلنی‌ها برای خالص‌سازی انتخاب و دوباره کشت داده شدند. این باکتری‌ها در محیط کشت تریپتیکاز سوی آگار با ۳ درصد نمک خالص‌سازی شدند. خلوص جدایه‌ها از نظر ریخت‌شناختی به صورت تکی، بعد از رنگ‌آمیزی گرم، زیر میکروسکوپ بررسی شد. این کشت‌های خالص به دست آمده، در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد در زوبل مارین براث حاوی ۲۰ درصد گلیسرول استوک شدند (Karthick and Mohanraju, 2018). برای شناسایی باکتری‌های خالص شده، ابتدا رنگ‌آمیزی گرم انجام شد و باکتری‌ها از نظر ریخت‌شناسی و واکنش گرم جدا شدند. سپس برای بررسی این که باکتری‌ها از سویه‌های متفاوتی هستند آزمون‌های بیوشیمیایی اکسیداز، کاتالاز و آزمون حرکت انجام شد. کشت‌ها در گرمخانه ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند و باکتری‌های مشابه جدا شدند (Dalton et al., 1994). برای اطمینان آزمایش‌ها با سه تکرار انجام شد. استخراج DNA ژنومی از جدایه‌های باکتری به وسیله کیت Lysis Buffer (IQ2000، تایوان) انجام شد. واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) برای ژن 16S rRNA از DNA استخراجی از باکتری‌ها با استفاده از آغازگر عمومی (Universal) 27F برای واکنش پیش‌رو و آغازگر پس‌روی 1492R انجام شد (Hou et al., 2018). آزمایش PCR در حجم نهایی ۵۰ میکرولیتر حاوی ۵ میکرولیتر بافر، ۴ میکرولیتر مخلوط dNTP، ۱/۲ میکرولیتر آغازگر پیش‌رو و ۱/۲ میکرولیتر آغازگر پس‌رو انجام شد. ۰/۵ میکرولیتر Taq DNA پلیمرز و ۲ میکرولیتر DNA استخراج شده (۲۰ نانوگرم در لیتر) و در نهایت با آب مقطر استریل به حجم کل ۵۰ میکرولیتر رسانده شد. این معرف‌ها از شرکت سیناکلون (تهران، ایران) تهیه شدند. واکنش PCR با استفاده از ترموسایکلر (5331 Eppendorf Mastercycler Gradient آلمان) با برنامه‌ای به شرح زیر انجام شد: پیش‌دنا‌توراسیون (Pre-denaturation) در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه، سپس ۳۰ چرخه (Cycle) دنا‌توراسیون

مدل p-distance استفاده شد (Tamura et al., 2011).

اثر ضدباکتریایی این باکتری‌ها بر روی هم، به روش اندازه‌گیری هاله عدم رشد بررسی شد.

نتایج

در این پژوهش تعداد ۴ باکتری همزیست از ماکرو جلبک *E. flexuosa* جمع‌آوری شده از دریای عمان در چابهار، جداسازی و خالص شد و با کدهای CH1، CH2، CH3 و CH4 مورد مطالعه قرار گرفتند. باکتری‌های جدا شده در این مطالعه و مشخصات به دست آمده از آنها در جدول ۱ آورده شده است. این باکتری‌ها با سویه‌های 1-4 Chabahar در بانک جهانی ژن ثبت شده‌اند. تعیین سویه به مفهوم بومی بودن این باکتری‌های جدا شده در منطقه مورد مطالعه است.

بررسی اثر ضدباکتریایی این باکتری‌ها بر روی هم، خواص ضدباکتریایی را نشان نداد و هاله عدم رشد برای آنها مشاهده نشد.

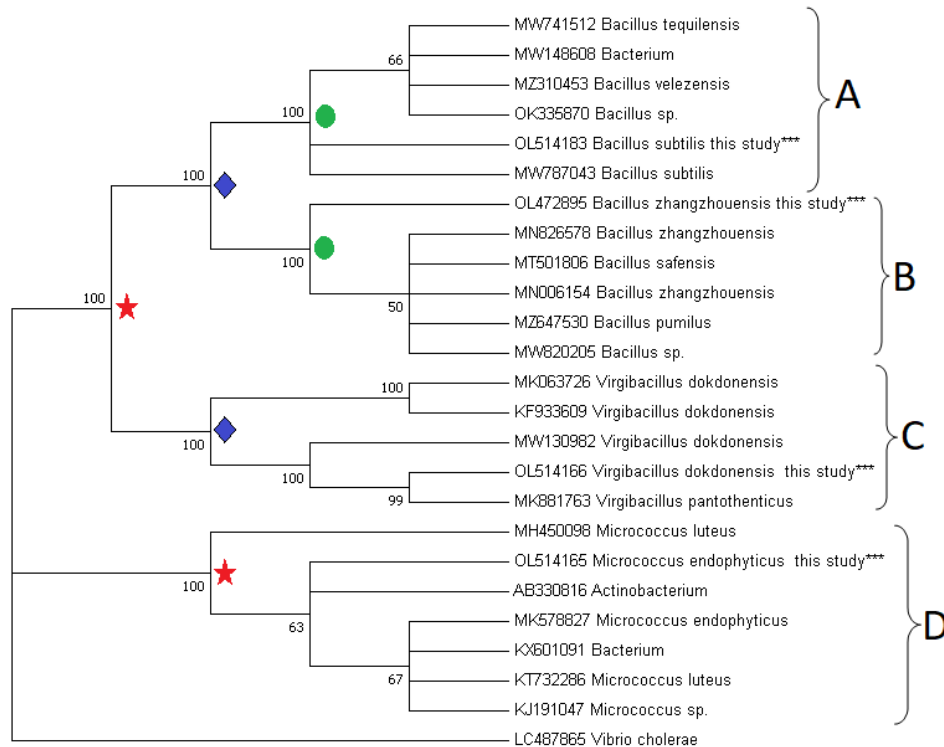
درخت فیلوژنی که برای بررسی ارتباط ژنتیکی ۴ گونه باکتری جدا شده رسم شد، در شکل ۱ آورده شده است.

(Denaturation) در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، اتصال آغازگر (Annealing) به مدت ۱ دقیقه و گسترش (Extension) در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱/۵ دقیقه انجام شد. آخرین چرخه ۷ دقیقه در دمای ۷۲ درجه بود (Hou et al., 2018). میزان ۵۰ میکرولیتر از محصولات PCR تایید شده با الکتروفورز به همراه ۲۰ میکرولیتر از آغازگرهای رفت و برگشت با غلظت ۱۰ میکرومول به شرکت زیست‌فناوری کوثر برای تعیین توالی ارسال شد. روش توالی‌یابی به روش تعیین توالی سانگر (Sanger Sequencing, 3130 ABI, DNA، ایران) تعیین شد. نتایج توالی‌های به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) در پایگاه داده NCBI هم‌تراز و آنالیز شد. هم‌ترازی و مقایسه باکتری‌ها با برنامه Mega نسخه ۵، بخش Clustal W انجام گرفت (Thompson et al., 1994).

برای رسم درخت فیلوژنی برای باکتری‌های مورد مطالعه از نرم‌افزار Mega نسخه ۵ با Neighbor-joining و روش Bootstrap با

جدول ۱: باکتری‌های جدا شده از ماکرو جلبک *Enteromorpha flexuosa*

سویه	باکتری همزیست	شماره ثبت ژن
Chabahar 1	<i>Bacillus zhangzhouensis</i>	OL472895.1
Chabahar 2	<i>Virgibacillus dokdonensis</i>	OL514166.1
Chabahar 3	<i>Micrococcus endophyticus</i>	OL514165.1
Chabahar 4	<i>Bacillus subtilis</i>	OL514183.1



شکل ۱: بررسی ارتباط فیلوژنتیکی سویه‌های همزیست جدا شده از ماکرو جلبک *Enteromorpha flexuosa* بر اساس توالی ژنی 16S rRNA با روش Neighbor-joining و روش فیلوژنی Bootstrap و مدل p-distance با ۵۰۰ تکرار.

بحث

بررسی درخت فیلوژنی رسم شده (شکل ۱)، ۴ کلاد مجزا را نشان داد که باکتری *Bacillus subtilis* در کلاد A، باکتری *Bacillus zhangzhouensis* در کلاد B، باکتری *Virgibacillus dokdonensis* در کلاد C و باکتری *Micrococcus endophyticus* در کلاد D دسته‌بندی شدند. بررسی این کلادها از خارج درخت به سمت داخل درخت، نشان داد ارتباط این ۴ کلاد به صورت پارافیلیتیک است، گونه‌های هم نوع در کنار هم قرار گرفته‌اند و ارتباط خواهری بین کلادها وجود ندارد. این ۴ کلاد به صورت جداگانه با ۱۰۰ درصد بازنمونه‌گیری (Bootstrap) حمایت می‌شود. با ورود به درخت از سمت جد، مشخص شد از گره ایجاد شده جد، ۲ کلاد مشتق می‌شود که با ۱۰۰ درصد بازنمونه‌گیری حمایت می‌شود. این کلادها با ستاره قرمز مشخص شده‌اند. در یکی از کلادها (کلاد بالایی)، کلادهای A، B و C قرار دارند که شامل باکتری‌های خانواده باسیل‌ها، باکتری *Bacillus subtilis* در کلاد A، باکتری *Bacillus zhangzhouensis* در کلاد B و باکتری *Virgibacillus dokdonensis* در کلاد C است و در کلاد پایینی تنها باکتری *Micrococcus endophyticus* در کلاد D قرار دارد.

باکتری‌های جدا شده در این مطالعه برای اولین بار در ایران از ماکرو جلبک *E. flexuosa* جداسازی شد و باکتری‌های بسیار مهمی از نظر تولید متابولیت‌های ثانویه محسوب می‌شوند. این باکتری‌های دریایی در محیط کشت تریپتیکاز سوی آگار با ۳ درصد نمک خالص‌سازی و مورد مطالعه قرار گرفت، آزمون‌های بیوشیمیایی روی آنها انجام شد و برای تعیین دقیق گونه باکتری و بررسی فیلوژنی، واکنش PCR بر روی ناحیه ژنی 16S rRNA بر روی تعداد ۴ باکتری انجام شد. سپس محصولات PCR به دست آمده تعیین توالی و بررسی شد. نتایج فیلوژنی، ۳ باکتری را در گروه باسیل‌ها قرار داد. اما ۱ باکتری به خانواده میکروکوکوس‌ها تعلق داشت که در درخت فیلوژنی ارتباط پارافیلیتیک با ۳ سویه دیگر نشان داد. ۳ سویه باسیلی در درخت فیلوژنی در یک کلاد مادر با کلادهای فرزندان جداگانه تشکیل داد که نشان‌دهنده تفاوت‌های ژنتیکی این ۳ سویه است. تفاوت گونه‌ای در این ۴ باکتری به وضوح دیده می‌شود. این باکتری‌های همزیست در بانک ژن با سویه‌های جدید ثبت شدند. بررسی اثر ضدباکتریایی این باکتری‌ها نشان داد آنها اثر ممانعت‌کننده رشد

بررسی درخت فیلوژنی رسم شده با ۴ باکتری مورد مطالعه ارتباط خواهری بین این گونه‌ها را نشان نداد و هر باکتری در کلاذ پارافیلیتیک جداگانه قرار گرفت.

هر ۳ باکتری *B. zhangzhouensis*، *V. dokdonensis* و *B. subtilis* در این درخت (شکل ۱) یک کلاذ داخلی باهم تشکیل دادند که به خاطر باسیلی بودن این سه گونه است. بررسی اثر ضدباکتریایی این باکتری‌ها بر روی هم خواص ضدباکتریایی را نشان نداد و هاله عدم رشد برای این باکتری‌ها مشاهده نشد.

Bacillus zhangzhouensis برگرفته از Zhang.zhou.en'sis با تلفظ ژانگ ژو ان سپس برای اولین بار از شهر Zhangzhou در فوجیان چین از آب مزارع پرورش میگو جدا شد این باکتری از منابع مختلفی در کشورهای مختلف جداسازی شده است. سویه DW5-4 باکتری *B. zhangzhouensis*، یک باکتری گرم مثبت هوازی اجباری، دارای اسپور است که کلنی‌های دایره‌ای شکل می‌دهد و از آب مزارع آبی‌پروری یک مزرعه پرورش میگو در چین جدا شده است. باکتری *B. zhangzhouensis* جداسازی شده در این مطالعه همزیست جلبک *E. flexuosa* است و مطابق با مطالعات انجام شده برای جداسازی این باکتری، نتیجه این

بر روی یکدیگر نداشتند که نشان می‌دهد اثر ضدباکتریایی و آنتی‌فولینگی این باکتری‌ها باید به روش‌های دیگر نیز مورد بررسی قرار بگیرند. از آنجایی که این باکتری‌ها از ماکرو جلبک جدا شده‌اند و مطالعه مشابهی با آن دیده نشد نیاز به بررسی بیشتر و جداسازی متابولیت‌های موثر باکتری‌ها و اثرات خاص آنها است.

باکتری‌های همزیست جلبک *E. flexuosa* خالص‌سازی و بعد از بررسی مولکولی در حد گونه شناسایی شدند. باکتری‌ها با نام‌های باکتری *Bacillus zhangzhouensis* با کد شناسایی OL472895 و سویه 1 Chabahr، باکتری *Virgibacillus dokdonensis* با کد شناسایی OL514166 و سویه 2 Chabahr، باکتری *Micrococcus endophyticus* با کد شناسایی OL514165 و سویه 3 Chabahr و باکتری *Bacillus subtilis* با کد شناسایی OL514183 و سویه 4 Chabahr در بانک جهانی ژن ثبت و نمایه شد. درخت فیلوژنی برای این باکتری‌ها به صورت جداگانه رسم شد و بررسی درخت فیلوژنی برای باکتری‌های مورد مطالعه شباهت و هم‌ترازی بالای این باکتری‌ها با گونه‌های هم‌نوع خود را نشان داد. ارتباط این باکتری‌ها با گونه‌های هم‌نوع خود مونوفیلیتیک است و فاصله ژنتیکی در بین آنها مشاهده نشد.

ارزیابی قرار گرفت. با توجه به نتایج، باکتری‌ها به‌ویژه باکتری‌های گرم مثبت نسبت به کپک‌ها حساسیت بیشتری به رنگدانه‌های استخراج شده از *M. roseus* (PEM) و *R. glutinis* (PER) داشتند (Rostami et al., 2016).

مطالعاتی مبنی بر بررسی فعالیت‌های متابولیتی باکتری *Micrococcus* انجام شده است. در مطالعه Mondol و همکاران (۲۰۱۳) متابولیت‌های ثانویه فعال زیستی شناخته شده از *B. subtilis* معرفی و کاربردهای بالقوه آن به عنوان عوامل کنترل بیماری‌زای گیاهی، داروها و بیوسورفکتانت‌ها برجسته شده است. *B. subtilis* به دلیل تولید لیپوپپتیدهای حلقوی با فعالیت سورفکتانت قوی و ضد میکروبی مانند سورفاکتین‌ها، ایتورین‌ها و فنژیسین‌ها شناخته شده است. گزارش تولید چندین ماکرولید با خواص ضد میکروبی، بیانگر پتانسیل بالای این باکتری در تولید ترکیبات زیستی است. تلاش‌های امیدوارکننده‌ای برای کاربرد سویه‌های *B. subtilis* و محصولات طبیعی آنها در حوزه‌های کشاورزی و پزشکی در حال انجام است (Mondol et al., 2013).

در مجموع، با توجه به پتانسیل بالای باکتری‌های دریایی در تولید متابولیت‌های ثانویه و اثرات آن، بررسی متقابل جلبک‌ها و

مطالعه در مورد دریایی بودن این باکتری مطابقت دارد.

باکتری *V. dokdonensis* جدا شده در این مطالعه از نظر ویژگی‌های بیوشیمیایی مشابه باکتری‌های *V. dokdonensis* در منابع دیگر است. اما اثر ضدباکتریایی این باکتری تقریباً مورد بررسی قرار نگرفته است و برای همین نمی‌توان اظهار نظر کرد که تنها با مطالعه حاضر این باکتری اثر ضدباکتریایی ندارد. به طور مثال در مطالعه Marhaeni و همکاران در سال ۲۰۱۱ همزیست‌های باکتریایی زیست‌فعال را متعلق به اعضای جنس‌های *Bacillus* و *Virgibacillus* دانستند، ولی سویه باکتری را مشخص نکردند.

بر روی باکتری *Micrococcus* مطالعات مختلفی انجام شده است. برخی از این مطالعات به بررسی استفاده از رنگدانه کاروتنوئیدی این باکتری به جای رنگ خوراکی پرداخته است. نمونه‌ای از این مطالعات، مطالعه Rostami و همکاران در سال ۲۰۱۶ بوده است. در این مطالعه، رنگدانه‌های کاروتنوئیدی توسط *Micrococcus roseus* و *Rhodotorula glutinis* تولید شد و برخی از خواص زیستی آنها مانند فعالیت‌های ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدانی، ضدسرطانی و ضدالتهابی مورد

گرایش جانوران دریا است. نویسندگان بر خود لازم می‌دانند از آزمایشگاه چابهار معاونت اداره کل و اداره دامپزشکی چابهار جهت همراهی در انجام این پژوهش قدردانی نمایند.

باکتری‌های همزیست آنها در محیط و اطراف آنها بسیار مهم است. شناسایی بیوشیمیایی و به دنبال آن شناسایی مولکولی منجر به شناخت بیشتر جوامع میکروبی می‌شود و بررسی متابولیت‌های آنها می‌تواند منجر به یافتن ترکیبات مفید جدیدی بشود.

تشکر و قدردانی

مطالعه حاضر مستخرج از پایان‌نامه کارشناسی ارشد رشته زیست‌شناسی دریا

منابع

- Dalton H., Poulsen L., Halasz P., Angles M., Goodman A. and Marshall K. 1994.** Substratum-induced morphological changes in a marine bacterium and their relevance to biofilm structure. *Journal of Bacteriology*, 176(22): 6900–6906. doi: 10.1128/jb.176.22.6900-6906.1994
- Hou Q., Bai X., Li W., Gao X., Zhang F., Sun Z. and Zhang H. 2018.** Design of primers for evaluation of lactic acid bacteria populations in complex biological samples. *Frontiers in Microbiology*, 2045: 1–10. doi: 10.3389/fmicb.2018.02045
- JanakiDevi V., YokeshBabu M., Umarani R. and Kumaraguru A. 2013.** Antagonistic activity of seaweed associated bacteria against human pathogens. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 2(12): 140–147. doi: 10.20546/ijcmas
- Karthick P. and Mohanraju R. 2018.** Antimicrobial potential of epiphytic bacteria associated with seaweeds of Little Andaman, India. *Frontiers in Microbiology*, 9(611): 1–11. doi: 10.3389/fmicb.2018.00611
- Marhaeni B., Radjasa O., Khoeri M., Sabdono A., Bengen D. and Sudoyo H. 2011.** Antifouling activity of bacterial symbionts of seagrasses against marine biofilm-forming bacteria. *Journal of Environmental Protection*, 2: 1–5. doi: 10.4236/jep.2011.29143
- Mondol M., Shin H. and Islam M. 2013.** Diversity of secondary metabolites from marine *Bacillus* species: Chemistry and biological activity. *Marine Drugs*, 11(8): 2846–2872. doi: 10.3390/md11082846
- Rostami H., Hamed H. and Yolmeh M. 2016.** Some biological activities of pigments extracted from *Micrococcus roseus* (PTCC 1411) and *Rhodotorula glutinis* (PTCC 5257). *International Journal of Immunopathology and Pharmacology*, 29(4): 684–695. doi: 10.1177/0394632016673846
- Senthilkumar P., Durga Devi V., Minhajdeen A., Saranya R., Sree Jaya S. and Sudha S. 2014.** Antibacterial properties of *Enteromorpha flexuosa* (Wulfen) from the Gulf of Mannar-Southeast Coast of India. *American Journal of Ethnomedicine*, 1(1): 1–6. doi: 10.33714/masteb.640614
- Shakouri A., Reisi J. and Zadabbas Shahabadi H. 2018.** Biological activity of marine algal symbiotic bacteria. The first National Conference on Recent Advances in Engineering and Modern Sciences, Iran. 3427P. [In Persian].
- Susilowati R., Sabdono A. and Widowati I. 2015.** Isolation and characterization of bacteria

- associated with brown algae *Sargassum* spp. from Panjang Island and their antibacterial activities. *Procedia Environmental Sciences*, 23: 240–246. doi: 10.1016/j.proenv.2015.01.036
- Tamura K., Peterson D., Peterson N., Stecher G., Nei M. and Kumar S. 2011.** MEGA 5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular Biology and Evolution*, 28(10): 1–9. doi: 10.1093/molbev/msr121
- Thompson J., Higgins D. and Gibson T. 1994.** CLUSTAL W: Improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research*, 22: 1–8. doi: 10.1093/nar/22.22.4673
- Wang X., Huang Y., Sheng Y., Su P., Qiu Y., Ke C. and Feng D. 2017.** Antifouling activity towards mussel by small-molecule compounds from a strain of *Vibrio alginolyticus* bacterium associated with sea anemone *Haliplanella* sp. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 27(3): 460–470. doi: 10.4014/jmb.1607.07068



Research Paper

Isolation of symbiotic bacteria from the alga *Enteromorpha flexuosa* and investigation of their antibacterial properties

Hamed Sanchooli¹, Arash Shakouri^{2*}, Fatemeh Naseri³

DOI: 10.22124/japb.2025.30752.1574

Received: June 2025

Accepted: December 2025

Abstract

In the marine environment, all surfaces, including a variety of marine organisms such as marine macroalgae, are colonized by microorganisms. Microorganisms associated with marine macroalgae offer tremendous potential for biologically active metabolites. Fouling is a persistent problem in the marine sector that requires control and cleaning processes. The search for anti-fouling bacteria is essential for controlling fouling due to environmental pollution associated with the use of toxic chemicals. Four symbiotic bacteria were isolated and purified from *Enteromorpha flexuosa* macroalgae collected from the Oman Sea. Molecular identification of these bacteria based on 16 S rRNA gene sequences showed bacteria *Bacillus zhangzhouensis* strain Chabahar 1, *Virgibacillus dokdonensis* strain Chabahar 2, *Micrococcus endophyticus* strain Chabahar 3 and *Bacillus subtilis* strain Chabahar 4. These sequences were registered with the Gene Bank under the access numbers OL472895, OL514166, OL514165 and OL514183, respectively. Ethanol extract was extracted from these bacteria and screened by well diffusion method. These bacteria showed no growth inhibitory effect on each other.

Key words: *Enteromorpha flexuosa*, *Bacillus zhangzhouensis*, *Virgibacillus dokdonensis*, *Micrococcus endophyticus*.

1- M.Sc. Student in Marine Biology, Department of Marine Biology, Faculty of Marine Sciences, Chabahar Maritime University, Chabahar, Iran.

2- Associate Professor in Department of Marine Biology, Faculty of Marine Sciences, Chabahar Maritime University, Chabahar, Iran.

3- M.Sc. in Marine Biology, Department of Marine Biology, Faculty of Marine Sciences, Chabahar Maritime University, Chabahar, Iran.

*Corresponding Author: arash220@gmail.com

