

مقاله پژوهشی

بررسی مقایسه‌ای خاصیت ضدباکتریایی عصاره آبی ترکیبی ماکرو جلبک‌های
قهوه‌ای و برخی آنتی‌بیوتیک‌ها علیه باکترهای *Vibrio* در آریان دریایی

شیدا بیگزاده‌دهخوارقانی^۱، پریا اکبری^{۲*}

DOI: 10.22124/japb.2026.32759.1583

تاریخ پذیرش: خرداد ۱۴۰۵

تاریخ دریافت: دی ۱۴۰۴

چکیده

این پژوهش با هدف بررسی مقایسه‌ای اثر ضدباکتریایی عصاره آبی ترکیبی ماکرو جلبک‌های قهوه‌ای (*Sargassum ilicifolium*, *Nizimuddinina zanardini*, *Cystoseira indica* و *Padina australis*) و آنتی‌بیوتیک‌ها (اکسی‌تراسایکلین، سفالکسین، اریترومایسین و نیتروفوران‌توئین) در برابر باکتری‌های بیماری‌زای گرم منفی (*Vibrio parahaemolyticus*, *V. alginolyticus* و *V. alginolyticus*) و باکتری عامل بیماری حاد نکروز هپاتوپانکراس ((AHPND)) و باکتری پروبیوتیک *Lactobacillus plantarum* در آریان دریایی انجام شد. نمونه‌های ماکرو جلبک‌های قهوه‌ای جمع‌آوری شده پس از شستشو و خشک شدن با نسبت مساوی مخلوط و آسیاب شدند و توسط حلال آب عصاره‌گیری انجام شد. برای بررسی اثر ضدباکتری عصاره آبی ترکیبی ماکرو جلبک‌ها روی ۴ گونه باکتری گرم منفی و باکتری پروبیوتیک *L. plantarum* از روش انتشار دیسک در آگار (۲۰ میکرولیتر عصاره ترکیبی در هر دیسک) و از آنتی‌بیوتیک‌ها به عنوان شاهد مثبت استفاده شد. نتایج نشان داد که عصاره آبی ترکیبی ماکرو جلبک‌های قهوه‌ای بر روی رشد باکتری‌های گرم منفی (*V. parahaemolyticus*, *V. harveyi*, *V. alginolyticus* و AHPND+) اثر مهاری داشت. در بین این باکتری‌های گرم منفی، تاثیر عصاره آبی ترکیبی ماکرو جلبک‌های قهوه‌ای بر روی مهار رشد باکتری‌های *V. alginolyticus* و *V. harveyi* AHPND+ (به ترتیب $8/43 \pm 0/11$ ، $8/16 \pm 0/15$ و $8/63 \pm 0/15$ میلی‌متر) به طور معنی‌داری بیشتر از باکتری *V. parahaemolyticus* (7 ± 1 میلی‌متر) بود ($P < 0/05$). عصاره ترکیبی ماکرو جلبک‌های قهوه‌ای هیچ اثر بازدارندگی بر روی رشد باکتری گرم مثبت *L. plantarum* نداشت و هاله عدم رشد مشاهده نشد. باکتری *V. alginolyticus* حساسیت بیشتری را نسبت به عصاره ترکیبی ماکرو جلبک‌های قهوه‌ای ($8/43 \pm 0/06$ میلی‌متر) نسبت به سفالکسین (عدم تشکیل هاله عدم رشد) از خود نشان داد ($P < 0/05$). در کل، هرچند طبق نتایج، خاصیت ضدباکتریایی عصاره آبی ترکیبی ماکرو جلبک‌های قهوه‌ای مورد مطالعه کمتر از آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد (به استثنای سفالکسین در برابر باکتری *V. alginolyticus*) بود، اما می‌توان عصاره ترکیبی ماکرو جلبک قهوه‌ای را به عنوان یک منبع بالقوه‌ای برای ترکیبات طبیعی ضد میکروبی جدید پیشنهاد کرد.

واژگان کلیدی: خواص ضدباکتریایی، ترکیب ماکرو جلبک‌های قهوه‌ای، انتشار دیسک، سفالکسین.

۱- کارشناس ارشد شیلات، گروه شیلات، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، ایران.

۲- استاد گروه شیلات، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، ایران.

* نویسنده مسئول: paria.akbary@gmail.com

مقدمه

آبزی پروری دریایی می شود (Chin et al., 2020).

امروزه شناسایی ترکیبات ضد میکروبی با منشا طبیعی برای مقابله با باکتری های بیماری زا مورد 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 توانند یکی از منابع داروهای ضد میکروبی به حساب آیند (Barone et al., 2021).

با توجه به این که بیماری ها و اختلالات جدید همواره در حال ظهور هستند، جستجوی ترکیبات جدید از منابع طبیعی دریایی می تواند به شناسایی داروهای موثر و ایمن منجر شود (Gharekhan Taghar Tapeh et al., 2020). در نتیجه، غنای اکولوژیکی و تنوع جانداران دریایی منبع ارزشمندی برای علم داروسازی و توسعه درمان های جدید محسوب می شود (Hassan et al., 2024). از آنجایی که بسیاری از این ترکیبات هنوز ناشناخته هستند، پژوهش های بیشتر در این حوزه می تواند به

در حال حاضر، آبزی پروری دریایی تقریباً یک سوم کل تولیدات آبزی پروری را در دنیا شامل می شود و با توجه به ثابت ماندن میزان صید جهانی آبزیان، این صنعت توجه زیادی را در تامین پروتئین باکیفیت را به خود جلب کرده است (FAO, 2020). گزارش های فراوان از بروز بیماری ها به ویژه بیماری های باکتریایی و تلفات ناشی از آنها و در نتیجه خسارت اقتصادی در آبزی پروری ماهیان دریایی نشان می دهد که بیماری ها به عنوان چالش بزرگ پیش روی این توسعه هستند (Woo and Gregory, 2014). باکتری های جنس *Vibrio* در خانواده *Vibrionaceae* قرار دارند و بیشتر اعضای این خانواده فرصت طلب و بیماری زا هستند (Barone et al., 2021). *Vibrio* ها، 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 ویبریوز نامیده می شود که باعث تلفات و ضرر اقتصادی زیادی در سیستم

کشف‌های برجسته‌ای در علم پزشکی منجر شود (Verissimo et al., 2021).

جلبک‌ها غنی از چندین متابولیت ثانویه مانند ترکیبات فنلی، فیکوبیلی پروتئین‌ها، کاروتنوئیدها، آلکالوئیدها، ترپن‌ها، پلی‌ساکاریدهای سولفاته و فیتواسترول‌ها هستند (Frikha et al., 2011; Michalak and Chojnacka, 2015; Ghadiryanfar et al., 2016; Silva et al., 2020). همچنین ماکروجلبک‌های دریایی سرشار از متابولیت‌ها و ترکیباتی مانند لک‌تین‌ها، ترپن‌ها، ترکیبات فنلی و پلی‌ساکاریدهای سولفاته هستند. علاوه بر این، جلبک‌های بزرگ دریایی برای اهداف مختلفی از جمله محرک‌های زیستی، کودها و کنترل آفات و میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا استفاده می‌شوند. برخی از پلی‌ساکاریدها در صنایع دارویی، غذایی و بیوتکنولوژی کاربردهای متعددی دارند (Dapper et al., 2014; Vasconcelos et al., 2015). علاوه بر این، مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها یکی از نگرانی‌های اصلی بهداشت عمومی در سراسر جهان است. الگوهای مقاومت در میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا برای انسان و همچنین برای جانوران یافت می‌شود. این وضعیت منجر به افزایش علاقه به مواد فعال زیستی جدید استخراج شده از ماکروجلبک‌های دریایی می‌شود که ممکن است به عنوان جایگزینی برای داروهای صنعتی عمل کنند (Al-Haj et al., 2010).

در دهه‌های گذشته مرگ و میر دسته جمعی ناشی از *Vibrio harveyi* در مزارع پرورش گزارش شده است. از سویی دیگر، استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها برای پیشگیری از بیماری‌های باکتریایی منجر به بروز مشکلاتی از جمله باکتری‌های بیماری‌زای مقاوم شده است (Dashtiannasab and Yeganeh, 2017; Silva et al., 2020). پایداری پرورش میگو به سلامت میگو و پیشگیری کارآمد از بیماری میگو بستگی دارد. بنابراین کنترل بیماری و مدیریت سلامت به عنوان اولویت‌های صنعت آبی‌پروری میگو در نظر گرفته شده است. در میان جایگزین‌های مختلف در آبی‌پروری میگو، استفاده از محصولات طبیعی مانند مواد ضد میکروبی به عنوان راه حل این مشکل گزارش شده است (Dashtiannasab and Yeganeh, 2017). برخی تلاش‌ها برای یافتن آنتی‌بیوتیک‌های جدید از موجودات دریایی مانند ماکروجلبک برای کنترل باکتری‌های بیماری‌زا انجام شده است (Dashtiannasab et al., 2014). نگرانی در مورد سلامت انسان و ایمنی زیست‌محیطی به دلیل استفاده از برخی

ضدباکتریایی جلبک‌های قهوه‌ای سارگاسوم و پادینا روی باکتری *V. harveyi* نشان داد که عصاره پادینا در مهار رشد این باکتری موثرتر است، زیرا شش تیمار و شاهد مثبت در سه بار مشاهده، قطر هاله بیشتری از سارگاسوم نشان داد. Rahma (۲۰۲۰) با بررسی اثربخشی عصاره *Sargassum polycystum* به عنوان یک ضدباکتری با استفاده از روش خیساندن با حلال ان-هگزان، کلروفرم، اتیل‌استات و متانول علیه باکتری‌های *V. harveyi*، *V. alginolyticus* و *V. parahaemolyticus* نشان داد که عصاره سارگاسوم اثر معنی‌داری بر سه نوع باکتری بیماری‌زای *Vibrio* داشت و عصاره کلروفرمی سارگاسوم پتانسیل ضدباکتریایی طبیعی در برابر باکتری‌های بیماری‌زای *Vibrio* را نشان داد.

به نظر می‌رسد استفاده از این ترکیبات طبیعی یک راهبرد عالی برای کنترل بیماری در آبزیان باشد. اما مطالعات کمی در توسعه محصولات طبیعی در پیشگیری و کنترل درمانی بیماری آبزیان انجام شده است. در واقع، ماکروجلبک‌ها به عنوان منابع مواد زیست‌فعال هستند که در زمینه‌های پزشکی و داروسازی توجه زیادی را به خود جلب کرده‌اند (Frikha et al., 2011; Michalak and Chojnacka,

مواد شیمیایی و آنتی‌بیوتیک‌ها، علاقه فزاینده‌ای را برای یافتن جایگزین‌های «طبیعی-سبز» بیشتر به عنوان آنتی‌بیوتیک ترغیب کرده است (Dashtiannasab and Yeganeh, 2017). جلبک‌های دریایی به عنوان منبع موثری از ترکیبات زیست‌فعال در نظر گرفته می‌شوند که توانایی تولید متابولیت‌های ثانویه مهم را دارند و با فعالیت‌های زیستی بزرگ توصیف شده‌اند. استفاده از ترکیبات زیست‌فعال جلبک دریایی برای افزایش مقاومت بیماری و بهبود رشد در آبی‌پروری نیز گزارش شده است (Kanjana et al., 2011).

مطالعات متعددی در ارتباط با فعالیت ضد میکروبی جلبک‌های قهوه‌ای پادینا (*Padina*) و سارگاسوم (*Sargassum*) علیه باکتری‌های گرم منفی *Vibrio parahaemolyticus* (Latifah et al., 2019; Rahma, 2020; Datu et al., 2024; Keshavarz et al., 2025)، *Vibrio alginolyticus* (Rahma, 2020;) و *V. harveyi* (Keshavarz et al., 2025; Ba-Akdah, 2018; Latifah et al., 2019;)، Assegaf, 2023; Rahma, 2020; Keshavarz et al., 2025) انجام شده است. به عنوان مثال، Assegaf (۲۰۲۳) با بررسی اثر

آنتی‌بیوتیک‌ها (اکسی‌تتراسایکلین، سفالکسین، اریتروماکسین و نیتروفرانتوئین) در برابر باکتری‌های بیماری‌زا (*V. harveyi*، *V. alginolyticus* و *V. parahaemolyticus*) و بیماری حاد نکروز هپاتوپانکراس (Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease: AHPND) و باکتری پروبیوتیک *Lactobacillus plantarum* در آبزیان دریایی انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری ماکروجلبک‌ها

جمع‌آوری دستی ماکروجلبک‌های قهوه‌ای *Nizimuddin*، *Sargassum ilicifolium*، *Padina* و *Cystoseira indica zanardini* *australis* از سواحل چابهار (دریا بزرگ و تیس) در فاصله ماه‌های آذر تا اسفند ۱۴۰۳ هنگام جزر صورت گرفت و پس از انتقال به آزمایشگاه، با آب شیرین چندین بار شستشو شدند تا گل و لای و موجودات اپی‌فیت آنها کاملاً از بین برود. 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 چهار گونه جلبک نیز صورت گرفت (Gharanjik and Rouhani).

ترکیباتی که این جلبک‌ها تولید می‌کنند، می‌توانند به عنوان جایگزین‌های طبیعی برای درمان‌های شیمیایی مورد استفاده قرار گیرند. متابولیت‌های ثانویه‌ای که از ماکروجلبک‌ها به دست می‌آید، می‌تواند شامل ترکیباتی باشد که فعالیت‌های ضد میکروبی، ضد سرطانی، ضد انعقادی، ضد ویروسی و آنتی‌اکسیدانی دارند. این ترکیبات می‌توانند در پیشگیری و درمان بیماری‌ها و نیز بهبود عملکرد سیستم ایمنی موثر باشند (Michalak and Chojnacka, 2015). از طرف دیگر، از آنجایی که پراکنش ماکروجلبک‌ها 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 بیشترین رشد آبزیان و همچنین کاهش هزینه‌های جانبی فرایند تولید است، از این رو پژوهشگران و پرورش‌دهندگان در پی یافتن راه‌کارهای نوین و بهتر برای تحقق هدف آبی‌پروری هستند.

این پژوهش، با هدف بررسی اثر مقایسه‌ای خاصیت ضدباکتریایی عصاره آبی ترکیبی ماکروجلبک‌های قهوه‌ای (*Sargassum ilicifolium*، *Nizimuddin zanardini*، *Padina australis* و *Cystoseira indica*) و

Chouhury et al.,) در میلی‌لیتر آماده شد (2005).

تهیه و کشت سویه باکتری‌ها

سویه‌های باکتری *Vibrio alginolyticus* و باکتری *Vibrio parahaemolyticus* از انجمن ذخایر ژنتیکی تهران، *Vibrio harveyi*، عامل بیماری AHPND+، سویه باکتری *V. parahaemolyticus*، ایجادکننده بیماری که حامل پلاسمید (pVA1) با وزن تقریبی ۶۳-۷۰ کیلودالتون است و باعث کد شدن دو سم $PirA^{VP}$ و $PirB^{VP}$ می‌شود که از چند سایت استان هرمزگان ثبت و به طور رسمی از طریق سازمان دامپزشکی کشور در ایران تایید شد 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 شدند. از سوسپانسیون به دست آمده در محیط‌های آگار مغذی و محیط کشت انتخابی TCBS کشت خطی داده شد و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت نگهداری شد (Assegaf, 2023).

(Qadikelayi, 2010). پس از آسیاب کردن هر یک از ماکروجلبک‌ها توسط آسیاب برقی، پودر مخلوط از چهار گونه ماکروجلبک (۱:۱:۱:۱) آماده شد و تا زمان استفاده بعدی در دمای ۴- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

تهیه و آماده‌سازی عصاره ترکیبی ماکروجلبک‌ها

برای تهیه عصاره آبی از مخلوط ماکروجلبک‌ها (سه تکرار)، مقدار ۱۰۰ گرم پودر به دست آمده از ترکیب ماکروجلبک‌ها، با ۵۰۰ میلی‌لیتر آب مخلوط و به مدت ۲۰ دقیقه به خوبی تکان داده شد و سپس درب ظروف بسته و به مدت ۷۲ ساعت در تاریکی نگهداری شدند. سپس محلول رویی با دقت جمع‌آوری شد و پس از عبور از کاغذ صافی (کاغذ واتمن شماره ۱)، از دستگاه تبخیرکننده چرخان (IKA، آلمان) برای حذف حلال استفاده شد. عصاره آبی در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶ ساعت در انکوباتور تغلیظ شد و تا زمان استفاده در دسیکاتور نگهداری شد. عصاره جمع‌آوری شده با حلال دی‌متیل سولفید اکسید (DMSO) در غلظت ۲۵۰ میکروگرم

بررسی اثرات ضدباکتریایی به روش انتشار دیسک

اثرات ضدباکتریایی عصاره آبی ترکیبی ماکروجلبک‌های قهوه‌ای بر 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 توسط سواب استریل به صورت خطی در پلیت‌های حاوی محیط کشت مولر هینتون آگار کشت داده شدند. سپس دیسک‌های بلانک استریل توسط پنس استریل شده (با استفاده از الکل و شعله) با فاصله مناسب از لبه پلیت و با یکدیگر روی پلیت‌ها قرار داده شدند. پس از آن مقدار ۲۰ میکرولیتر از عصاره استریل (با غلظت ۲۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر) بر روی دیسک بلانک (قطر ۶ میلی‌متر) توسط سمپلر ۱۰-۱۰۰ میکرولیتر چکانده شد. سپس پلیت‌ها به مدت ۳۰ دقیقه پیش از انتشار، درون یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. پس از گذشت این زمان، پلیت‌ها در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفتند. پس از ۲۴ ساعت قطر هاله عدم رشد اطراف دیسک توسط کولیس ورنیه (Asimeto، چین)

اندازه‌گیری و ثبت شد (Mole and Sabale, 2014). به منظور کنترل نتایج آزمون، از آنتی‌بیوتیک‌های اکسی‌تتراسایکلین (TE30)، سفالکسین (CN30)، اریترومايسين (E15) و نیتروفرانتوئین (FM300) به عنوان شاهد مثبت و از آب استریل به عنوان شاهد منفی استفاده شد. بررسی اثر ضدباکتریایی عصاره ترکیبی به روش انتشار دیسک با سه تکرار انجام گرفت و از نتایج به دست آمده در هر مرحله میانگین گرفته شد (Peymani et al., 2014).

تجزیه تحلیل آماری

ابتدا نرمال بودن داده‌ها با آزمون شاپیرو-ویلک و همگنی واریانس‌ها با آزمون لون (Leven) بررسی شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) انجام شد و برای مقایسه میانگین‌ها از پس‌آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد ($P < 0.05$) استفاده شد. تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۴ انجام گرفت و نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Microsoft Excel 2016 رسم شد. نتایج نیز به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار ارائه شد.

C. indica, *N. zanardini*, *S. ilicifolium*)

نتایج

و *P. australis* بر روی رشد باکتری‌های گرم منفی *V. harveyi*, *V. parahaemolyticus* و *V. alginolyticus* اثر مهاری داشت، ولی بر روی رشد باکتری گرم مثبت *L. plantarum* اثر مهاری نداشت (شکل ۱).

فعالیت ضدباکتریایی عصاره آبی ترکیبی ماکروجلبک‌های قهوه‌ای اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد باکتری در پلیت‌های مورد آزمایش نشان داد که عصاره آبی ترکیبی ماکروجلبک‌های قهوه‌ای

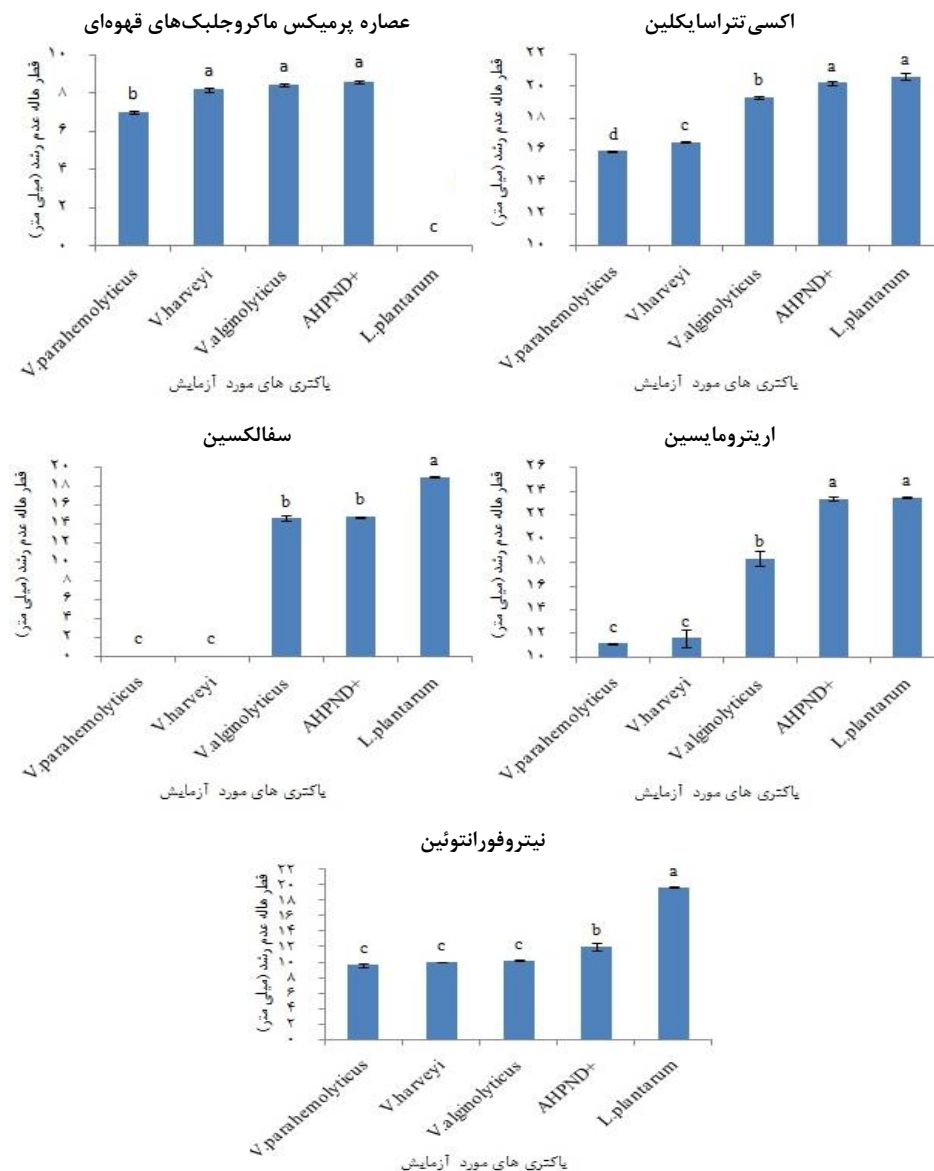


شکل ۱: هاله عدم رشد عصاره آبی ترکیبی ماکروجلبک‌های قهوه‌ای (*Sargassum ilicifolium*، *Nizimuddin zanardini*، *Cystoseira indica* و *Padina australis*) و آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد (اکسی‌تتراسایکلین (TE30)، سفالکسین (CN30)، اریترومايسين (E15) و نیتروفرانتوئین (FM300)) بر

روی رشد باکتری‌های گرم منفی (*Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio harveyi*, *Vibrio alginolyticus* و AHPND+) و گرم مثبت (*Lactobacillus plantarum*).

پنج باکتری مورد آزمایش اثر مهاري داشت (شکل ۱) و تاثیر آن بر روی باکتری‌های *L. plantarum* و AHPND+ به طور معنی‌داری بیشتر و بر روی باکتری *V. parahaemolyticus* و *V. harveyi* به طور معنی‌داری کمتر بود ($P < 0.05$). بیشترین تاثیر مهار رشد در باکتری‌های *L. plantarum* و AHPND+ به ترتیب با قطر هاله عدم رشد ۲۳/۴۰ و ۲۳/۲۰ میلی‌متر بود که اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نشان ندادند ($P > 0.05$). نیتروفرورانتوئین بر روی رشد باکتری گرم مثبت *L. plantarum* اثر مهاري بیشتری در مقایسه با چهار باکتری گرم منفی مورد آزمایش نشان داد و تاثیر آن بر مهار رشد باکتری گرم منفی AHPND+ به طور معنی‌داری بیشتر از باکتری‌های گرم منفی دیگر بود ($P < 0.05$; شکل ۲). همچنین بین مهار رشد باکتری‌های گرم منفی *V. parahaemolyticus*، *V. harveyi* و *V. alginolyticus* به وسیله نیتروفرورانتوئین اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P > 0.05$).

در بین باکتری‌های گرم منفی، تاثیر عصاره آبی ترکیبی ماکروجلبک‌های قهوه‌ای بر روی باکتری‌های *V. parahaemolyticus*، *V. harveyi* و AHPND+ به طور معنی‌داری بیشتر از باکتری *V. alginolyticus* بود ($P < 0.05$; شکل ۲). اکسی‌تتراسایکلین بر روی رشد هر پنج باکتری مورد آزمایش اثر مهاري داشت و تاثیر آن بر روی باکتری‌های *L. plantarum* و AHPND+ به طور معنی‌داری بیشتر و بر روی باکتری *V. parahaemolyticus* به طور معنی‌داری کمتر بود ($P < 0.05$; شکل ۲). همچنین اختلاف معنی‌داری بین حساسیت باکتری گرم مثبت *L. plantarum* و گرم منفی AHPND+ به اکسی‌تتراسایکلین وجود نداشت ($P > 0.05$; شکل ۲). سفالکسین بر روی رشد باکتری‌های *V. harveyi* و *V. parahaemolyticus* اثر مهاري نداشت و تاثیر این آنتی‌بیوتیک بر روی باکتری گرم مثبت *L. plantarum* به طور معنی‌داری بیشتر از باکتری‌های گرم منفی *V. alginolyticus* و AHPND+ بود ($P < 0.05$). اریترومايسين بر روی رشد هر



شکل ۲: مقایسه حساسیت باکتری‌های مورد آزمایش به عصاره آبی ترکیبی ماکرو جلبک‌های قهوه‌ای *Padina australis* و *Cystoseira indica*، *Nizimuddin zanardini*، *Sargassum ilicifolium* و آنتی‌بیوتیک‌های مورد آزمایش (میانگین $\pm$ انحراف معیار؛ سه تکرار). حروف نامشابه بر روی ستون‌های هر نمودار نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین باکتری‌های مورد آزمایش است ($P < 0.05$).

پروبیوتیک *L. plantarum* از خود نشان دادند. باکتری‌های AHPND+ و *V. harveyi* بیشترین حساسیت را نسبت به اریترومایسین در مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌های مورد مطالعه دیگر نشان دادند ($P < 0.05$). در حالی که *V. parahaemolyticus*، *V. alginolyticus* و *L. plantarum* بیشترین حساسیت را نسبت به اکسی‌تتراسایکلین نشان دادند ($P < 0.05$). بر اساس نتایج گزارش شده در جدول ۱، تمام آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد به کار برده شده اثر بازدارندگی بیشتری در مقابل باکتری‌های گرم منفی و باکتری گرم مثبت مورد آزمایش نشان دادند (به استثنای سفالکسین).

بحث

بیماری‌های باکتریایی مسئول مرگ و میر شدید در ماهیان وحشی و پرورشی هستند. مشکلات در مزارع معمولاً با پیشگیری از شیوع بیماری یا درمان بیماری موجود با داروها یا مواد شیمیایی حل می‌شوند. کاهش اثربخشی و مقاومت عوامل بیماری‌زا نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها نیاز به توسعه جایگزین‌های جدید را ضروری ساخته است (Nassar et al., 2025).

همان‌طور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود عصاره ترکیبی ماکروجلبک‌های قهوه‌ای هیچ اثر بازدارندگی بر روی رشد باکتری گرم مثبت *L. plantarum* نداشت و قطر هاله عدم رشد مشاهده نشد.

باکتری *V. alginolyticus* حساسیت بیشتری را نسبت به عصاره ترکیبی ماکروجلبک‌های قهوه‌ای با قطر هاله عدم رشد ۸/۴۳ میلی‌متر نسبت به سفالکسین با عدم تشکیل قطر هاله عدم رشد از خود نشان داد ($P < 0.05$). همچنین عصاره ترکیبی ماکروجلبک‌های قهوه‌ای بر باکتری گرم منفی *V. parahaemolyticus* اثر مهار رشد کمتری در مقایسه با باکتری‌های گرم منفی مورد مطالعه دیگر نشان داد ($P < 0.05$). نتایج حاکی از آن است که در بین سویه‌های باکتریایی این پژوهش، باکتری *L. plantarum* بیشترین مقاومت و باکتری‌های AHPND+، *V. parahaemolyticus* و *V. harveyi* کمترین مقاومت را در برابر عصاره آبی ترکیبی ماکروجلبک‌های قهوه‌ای مورد آزمایش از خود نشان دادند. به طور کلی، می‌توان گفت که باکتری‌های گرم منفی حساسیت بیشتری به عصاره ترکیبی ماکروجلبک نسبت به باکتری

جدول ۱: مقایسه قطر هاله عدم رشد عصاره آبی ترکیبی ماکرو جلبک‌های قهوه‌ای *Sargassum ilicifolium*، *Nizimuddinina zanardini*، *Cystoseira indica* و *Padina australis* و آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد بر روی باکتری‌های مورد آزمایش (میانگین $\pm$ انحراف معیار؛ سه تکرار)

باکتری	تیمار	قطر هاله عدم رشد (میلی‌متر)
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	عصاره ترکیبی ماکرو جلبک	$7/0 \pm 0/05^e$
	اکسی تتراسایکلین	$20/60 \pm 0/20^a$
	سفالکسین	$14/53 \pm 0/29^c$
	اریترومایسین	$18/26 \pm 0/63^b$
	نیتروفورانثوئین	$9/66 \pm 0/28^d$
<i>Vibrio harveyi</i>	عصاره ترکیبی ماکرو جلبک	$8/16 \pm 0/08^e$
	اکسی تتراسایکلین	$20/20 \pm 0/11^b$
	سفالکسین	$18/93 \pm 0/06^d$
	اریترومایسین	$23/30 \pm 0/15^a$
	نیتروفورانثوئین	$19/70 \pm 0/05^c$
<i>Vibrio alginolyticus</i>	عصاره ترکیبی ماکرو جلبک	$8/43 \pm 0/06^d$
	اکسی تتراسایکلین	$19/30 \pm 0/15^a$
	سفالکسین	0 ± 0^e
	اریترومایسین	$11/10 \pm 0/10^b$
	نیتروفورانثوئین	$10/26 \pm 0/14^c$
<i>(Vibrio sp.) AHPND+</i>	عصاره ترکیبی ماکرو جلبک	$8/60 \pm 0/08^e$
	اکسی تتراسایکلین	$16/50 \pm 0/05^b$
	سفالکسین	$14/70 \pm 0/05^c$
	اریترومایسین	$23/40 \pm 0/05^a$
	نیتروفورانثوئین	$10/03 \pm 0/03^d$
<i>Lactobacillus plantarum</i>	عصاره ترکیبی ماکرو جلبک	0 ± 0^c
	اکسی تتراسایکلین	$15/93 \pm 0/06^a$
	سفالکسین	0 ± 0^c
	اریترومایسین	$11/56 \pm 0/78^b$
	نیتروفورانثوئین	$12/02 \pm 0/57^b$

برای هر باکتری، حروف لاتین متفاوت نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار آماری بین تیمارها است ($P < 0/05$).

اگرچه مطالعات متنوعی در زمینه فعالیت زیستی فلور دریایی وجود دارد، مطالعه حاضر، در زمینه آزمایش اثربخشی ضدباکتریایی این ماکروجلبک‌های قهوه‌ای بر عوامل بیماری‌زای آبزیان دریایی به طور نسبی یک مفهوم جدید بود و پیش‌تر تلاش زیادی در این زمینه صورت نگرفته است.

نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره آبی ترکیبی ماکروجلبک‌های قهوه‌ای هیچ اثر بازدارندگی بر روی رشد باکتری گرم مثبت *L. plantarum* نداشت و هاله عدم رشد تشکیل نشد. گزارش‌های قبلی حاکی از این است که فعالیت ضدباکتری ارتباط معنی‌داری با نوع گونه ماکروجلبک، روش استخراج به کار برده شده و مقاومت باکتری مورد سنجش دارد (Seenivasan et al., 2012).

Rahma (۲۰۲۰) با بررسی اثربخشی عصاره *S. polycystum* به عنوان یک ضدباکتری با استفاده از روش خیساندن با حلال ان-هگزان، کلروفرم، اتیل‌استات و متانول علیه باکتری‌های *V. alginolyticus*، *V. harveyi* و *V. parahaemolyticus* نشان دادند که عصاره سارگاسوم اثر معنی‌داری بر سه نوع باکتری بیماری‌زای *Vibrio* نشان داد. بیشترین قطر هاله عدم رشد عصاره کلروفرمی در برابر سه باکتری *V. alginolyticus*، *V. harveyi* و *V. parahaemolyticus* به ترتیب ۱۱، ۱۰/۰۲ و ۹/۳۳ میلی‌متر گزارش شد. در کل نتیجه گرفتند که عصاره کلروفرمی سارگاسوم پتانسیل ضدباکتریایی طبیعی را در برابر باکتری‌های بیماری‌زای *Vibrio* دارد (Rahma, 2020).

همچنین Latifah و همکاران (۲۰۱۹) با بررسی فعالیت ضدباکتریایی *Padina australis* Hauck در برابر باکتری‌های بیماری‌زای میگو نشان دادند که عصاره اتیل‌استات *P. australis* دارای خاصیت بازدارندگی در برابر سه باکتری گرم منفی (*V. harveyi*، *Aeromonas* و *V. parahaemolyticus*) بود که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت داشت. لازم به ذکر است Azhdari (۲۰۲۳) با آزمایش فیتوشیمیایی عصاره ترکیبی ماکروجلبک‌های قهوه‌ای مطالعه حاضر نشان داد که عصاره غنی از ترکیبات اسیدهای آمینه، ترکیبات اسیدهای چرب چندغیراشباع، پلی‌فنول‌ها، استرول و فلاونوئید هستند که با مطالعه Latifah و همکاران (۲۰۱۹) همخوانی داشت و شامل استروئید، تریپنوئید، فنولیک، تانن و آلکالوئید بودند. Mohammadi و همکاران (۲۰۱۹) نشان دادند که عصاره آبی *N. zanardini* در هیچ غلظتی (۱۲/۵، ۲۵ و

برابر سویه‌های *V. parahaemolyticus*، *V. alginolyticus* و *V. harveyi* گزارش کردند که عصاره آلی سارگاسوم دارای بیشترین فعالیت ضد میکروبی علیه سویه‌های بیماری‌زای *Vibrio* بود. با توجه به گرم منفی بودن این باکتری‌ها و مقاومت بیشتر آنها نسبت به باکتری‌های گرم مثبت در مقابل ترکیبات ضد میکروبی نتایج به دست آمده می‌تواند نویدبخش باشد. مقاومت بیشتر باکتری‌های گرم منفی به دلیل ساختار مقاوم‌تر آنها در برابر عوامل ضد میکروبی است. این باکتری‌ها دارای غشای خارجی هستند و از عبور ملکول‌های آب‌گریز و درشت جلوگیری می‌کنند (Keshavarz et al., 2025). مکانیزم دقیق اثر اسیدهای چرب هنوز ناشناخته است، ممکن است بر چندین هدف سلولی تاثیر بگذارند. اگرچه غشاهای سلولی محتمل‌ترین اهداف هستند، زیرا آسیب به غشا احتمالا منجر به نشت سلولی و کاهش جذب مواد مغذی می‌شود. تولید آنتی‌بیوتیک‌ها به شدت به گونه‌های ماکرو جلبکی وابسته است (Falaise et al., 2016). علاوه بر این، در دسترس بودن عوامل آنتی‌بیوتیکی می‌تواند به طور قابل توجهی بین گونه‌های مختلف در یک رده یا حتی در یک گونه واحد متفاوت باشد، بسته به این که کدام

۵۰ میلی گرم در میلی لیتر) فعالیت ضد باکتریایی علیه باکتری گرم منفی *Escherichia coli* از خود نشان نداد که می‌تواند ناشی از مقاوم بودن این باکتری نسبت به سویه‌های باکتریایی *Bacillus*، *Salmonella typhimurium*، *cereus* و *Staphylococcus aureus* باشد. تفاوت در دیواره باکتری‌ها می‌تواند موجب ایجاد مقاومت آنها به عوامل کشنده شود. باکتری‌ها به گروه گرم مثبت و منفی تقسیم می‌شود. در باکتری گرم منفی به دلیل وجود لایه پپتیدوگلیکان مضاعف در دیواره سلولی باکتری، امکان عبور مواد ضد باکتریایی که باعث اختلال در رونویسی DNA، ترجمه آن به پروتئین یا جلوگیری از تکثیر آنها به سختی 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 کند یا با نفوذ به دیواره سلولی باکتری‌ها منجر به تغییر در فاز اسمزی بین دو سمت دیواره شود و در نتیجه باکتری از بین برود (Kandhasamy and Arunachalam, 2008) و همکاران (۲۰۲۵) با بررسی خواص ضد باکتریایی عصاره آبی و آلی ماکرو جلبک‌های سارگاسوم و پادینا در

اکوتیپ‌ها به شرایط خاصی سازگار شده‌اند (Falaise et al., 2016). اخیراً نشان داده شده است که عصاره ترکیبی ماکروجلبک‌های قهوه‌ای مورد آزمایش، غنی از ترکیبات اسیدهای آمینه، ترکیبات اسیدهای چرب چندغیراشباع، پلی‌فنول‌ها، استرول و فلاونوئید هستند و قبلاً در آبی‌پروری استفاده شده‌اند (Azhdari, 2023).

هدف نهایی فعالیت آبی‌پروری 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 در باکتری‌های اسید لاکتیکی (دسته مهمی از پروبیوتیک‌ها) نقش مهمی در فلور روده دارد و بر مجرای گوارشی تاثیرگذار است و همچنین غیربیماری‌زا هستند. این میکروارگانیسم‌ها در ناحیه روده با تولید اسیدهای آلی و مواد ضد میکروبی مانع رشد باکتری‌های بیماری‌زا می‌شوند (Flint and Garner, 2009). نتایج به دست آمده از این مطالعه نشان داد که باکتری‌های گرم منفی (*V. parahaemolyticus*, *V. harveyi* و *V. alginolyticus*) قطراله عدم رشد کمتری را به آنتی‌بیوتیک‌های اکسی‌تتراسایکلین، نیتروفرانتوئین و اریترومايسين در مقایسه با باکتری پروبیوتیک *L. plantarum* نشان دادند که حساسیت بیشتر باکتری گرم مثبت (*L. plantarum*) به آنتی‌بیوتیک‌ها ناشی از اختلاف و تفاوت در ساختار دیواره سلولی و ترکیب آن است (Taskin et al., 2007). باکتری‌های گرم منفی به دلیل داشتن لایه لیپوپلی‌ساکاریدی غشا خارجی و همچنین داشتن کانال‌های درگیر در حمل و نقل مواد، ذاتاً نسبت به مواد سمی، رنگ‌های آب‌دوست و آنتی‌بیوتیک مقاومت بیشتری دارند (Kandhasamy and Arunachalam, 2008). در مطالعه حاضر، باکتری پروبیوتیک (*L. plantarum*) قطراله عدم رشدی را در برابر عصاره ترکیبی ماکروجلبک‌های قهوه‌ای تشکیل نداد. Manivannan و همکاران (۲۰۱۱) فعالیت ضدباکتریایی جلبک‌های قهوه‌ای سواحل Vedalai را مورد بررسی قرار دادند. در این مطالعه هفت حلال برای عصاره‌های متانولی، استونی، پترلیوم اتری، اتانولی، اتیل‌استاتی، کلروفرمی و دی‌اتیل‌تری استفاده شد. نتایج نشان داد عصاره متانولی دارای تاثیر ضدباکتریایی بیشتری نسبت به دیگر حلال‌ها بود. همچنین باکتری *Bacillus subtilis* بیشترین حساسیت را نسبت به عصاره

flagelliformis در مقابل سویه *E. coli* دارای فعالیت ضدباکتریایی و عصاره متانولی بدون اثر بودند. در یک قیاس کلی هر چند طبق نتایج، خاصیت آنتی‌کسیدانی و ضدباکتریایی گونه‌های مورد مطالعه کمتر از استاندارد محاسبه شد، اما می‌توان ماکرو جلبک‌های *G. persica* و *H. flagelliformis* را به عنوان گونه‌های واجد خواص زیستی ایمن معرفی کرد و با نظر به وفور آنها، برای مصارف دارویی و مکمل‌های تغذیه‌ای مورد بهره‌برداری قرار داد.

همچنین نتایج این مطالعه نشان داد که باکتری *V. alginolyticus* حساسیت بیشتری را نسبت به عصاره ترکیبی ماکرو جلبک‌های قهوه‌ای با قطر هاله عدم رشد ۸/۴۳ میلی‌متر نسبت به سفالکسین با عدم تشکیل قطر هاله عدم رشد از خود نشان داد ($P < 0.05$). حضور فنول‌ها، پلی‌فنول‌ها، ترپن‌ها و فلوروئانین‌ها در ترکیبی ماکرو جلبک قهوه‌ای نیز دلیل فعالیت ضدباکتریایی است (Sandsdalen et al., 2003). می‌توان گفت دلیل این مغایرت ناشی از نوع آنتی‌بیوتیک، سویه باکتری، گونه جلبک و روش عصاره‌گیری باشد (Jusidin et al., 2022). نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر نشان داد که عصاره ترکیبی ماکرو جلبک‌های قهوه‌ای و سفالکسین در بین باکتری‌های مورد

متانولی جلبک *Padina gymnospora* از خود نشان داد (Manivannan et al., 2011) که با نتایج مطالعه حاضر مغایرت داشت. دلیل این تفاوت، به عواملی مانند 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 که کاربردهای متنوعی نه تنها در آبی‌پروری بلکه در مقابله با عوامل بیماری‌زای انسانی دارد (Pradhan et al., 2012). Mollazahei Sabet و همکاران (۲۰۲۲) با بررسی خواص ضدباکتریایی عصاره آلی جلبک قهوه‌ای *Cystoseira trinodis* و جلبک سبز *Halimeda tuna* دریای عمان بر باکتری‌های *E. coli*، *Listeria monocytogenes* و *Pseudomonas aeruginosa* دریافتند که آنتی‌بیوتیک‌های جنتامایسین، آمپی‌سیلین و نئوماپسین از قدرت مهارکنندگی بیشتری نسبت به عصاره‌ها برخوردار بودند که با نتایج مطالعه حاضر همخوانی داشت. Zarei Jeliani و همکاران (۲۰۱۸) گزارش کردند که عصاره‌های ان-هگزانی *Gracilariopsis persica* در برابر سویه *P. aeruginosa* و اتیل‌استاتی *Hypnea*

فعالیت ضدباکتریایی عصاره آبی ترکیبی ماکروجلبک‌های قهوه‌ای مورد آزمایش در مقابل باکتری‌های *Vibrio* عامل بیماری نکروز حاد هیپاتوپانکراس (+AHPND)، این عصاره می‌تواند به همراه باکتری پروبیوتیک *L. plantarum* گزینه نویدبخشی به عنوان تقویت‌کننده ایمنی میگو باشد (Pradhan et al., 2012).

در مجموع، نتایج این پژوهش نشان داد که عصاره آبی ترکیبی ماکروجلبک‌های قهوه‌ای (*C. indica*, *N. zanardini*, *S. ilicifolium*) و *P. australis* بر روی رشد باکتری‌های گرم منفی (*V. parahaemolyticus*, *V. harveyi*، *V. alginolyticus* و +AHPND) اثر مهاری داشت، ولی هیچ اثر بازدارندگی بر روی رشد باکتری گرم مثبت *L. plantarum* نداشت و قطر هاله عدم رشد مشاهده نشد. باکتری *V. alginolyticus* حساسیت بیشتری را نسبت به عصاره ترکیبی ماکروجلبک‌های قهوه‌ای با قطر هاله عدم رشد ۸/۴۳ میلی‌متر نسبت به سفالکسین با عدم تشکیل قطر هاله عدم رشد از خود نشان داد ($P < 0.05$). همچنین عصاره ترکیبی ماکروجلبک‌های قهوه‌ای بر باکتری گرم منفی *V. parahaemolyticus* اثر مهار رشد کمتری در مقایسه با باکتری‌های گرم منفی

مطالعه، بر باکتری پروبیوتیک *L. plantarum* عملکرد ضعیفی داشتند. در حالی که باکتری *V. alginolyticus* حساسیت بیشتری را به عصاره ترکیبی ماکروجلبک‌های قهوه‌ای در مقایسه با سفالکسین نشان داد که می‌توان دلیل آن را به حضور فنول‌ها، پلی‌فنول‌ها، ترپن‌ها و فلوروتانین‌ها در مخلوط ماکروجلبک قهوه‌ای نسبت داد (Sandsdalen et al., 2003) که نیاز به مطالعه و بررسی بیشتری برای جداسازی، خالص‌سازی و شناسایی ماهیت شیمیایی ترکیبات زیست‌فعال در ماکروجلبک‌ها است (Oumaskour et al., 2013).

علاوه بر گونه‌های جلبک، وجود مواد شیمیایی ضدباکتری در عصاره‌های جلبک نیز به شدت به فرایند استخراج و حلال مورد استفاده بستگی دارد. مغایر با این نتایج، نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره آبی ترکیبی ماکروجلبک‌های قهوه‌ای (*S. ilicifolium*، *C. indica*، *N. zanardini* و *P. australis*) بر روی رشد باکتری‌های گرم منفی (*V. parahaemolyticus*، *V. harveyi*، *V. alginolyticus* و عامل باکتری +AHPND) اثر مهاری داشت، ولی بر روی رشد باکتری گرم مثبت *L. plantarum* اثر مهاری نداشت. همچنین به دلیل

مورد مطالعه دیگر نشان داد ($P < 0.05$). نتایج حاکی از آن است که در بین سویه‌های باکتریایی این پژوهش، باکتری *L. plantarum* بیشترین مقاومت و باکتری‌های AHPND+، *V. parahaemolyticus* و *V. harveyi* کمترین مقاومت را در برابر عصاره آبی ترکیبی ماکروجلبک‌های قهوه‌ای مورد آزمایش از خود نشان دادند. تمام آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد به کار برده شده اثر بازدارندگی بیشتری در مقابل باکتری‌های گرم منفی (به استثنای سفالکسین در برابر باکتری *V. alginolyticus*) و باکتری گرم مثبت (به استثنای سفالکسین) مورد

آزمایش نشان دادند. بنابراین، در صنعت آبی‌پروری، عصاره ترکیبی ماکروجلبک قهوه‌ای می‌تواند به عنوان یک منبع بالقوه‌ای برای ترکیبات طبیعی ضد میکروبی جدید در کنترل بیماری عمل کند.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از کارکنان مرکز تحقیقات شیلات آب‌های دور چابهار برای فراهم کردن امکانات آزمایشگاهی، صمیمانه تشکر و قدردانی می‌نماییم.

منابع

- Al-Haj N.A., Mashan N.I., Shamsudin M.N., Habsah Mohamad H.M., Vairappan C.S. and Zamberi Sekawi Z.S. 2010.** Antibacterial activity of marine source extracts against multidrug resistance organisms. *American Journal of Pharmacology and Toxicology*, 5(2): 34–41. doi: 10.3844/ajptsp.2010.95.102
- Assegaf M. 2023.** Potential extract of brown algae *Sargassum* sp. and *Padina* sp. as antibacterial *Vibrio harveyi*. IOP Conference Series, Earth and Environmental Science, 1251: 1–7 (012034). doi: 10.1088/1755-1315/1251/1/012034
- Azhdari A. 2023.** Effect of different levels of combined macroalgae extract on growth, carcass composition, fatty acid composition, oxidative stress, and survival of western Pacific shrimp. *Iranian Fisheries Research Institute*, Iran. 55P.
- Ba-Akdah M.A. 2018.** Antibiofilm activities of macroalgae *Sargassum* and *Padina* from the Red Sea, Saudi Arabia. *International Journal of Science Humanities*, 4(1): 1–13.
- 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). *International Journal of Molecular Science*, 22: 1–13 (12196). doi: 10.3390/ijms222212196
- Buller N. 2014.** Bacteria and Fungi from Fish and other Aquatic Animals: A Practical Identification Manual. CABI, UK. 361P.
- Chin Y.K., Al-saari N., Zulperi Z., Mohdaris Z., Salleh A., Silvaraj A., Mohamad S., Lee A., Zamri-Saad M. and Ina-Salwany M.Y. 2020.** Efficacy of bath vaccination with live attenuated *Vibrio harveyi* against vibriosis in Asian seabass 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: 285–294. doi: 10.33997/j.afs.2005.18.3.009
- Dapper T.B., Pujarra S., De Oliveira A.J., De Oliveira F.G. and Paulert R. 2014.** Review of the potentialities of sea macroalgae in agriculture. *Revista em Agronegocio e Meio Ambiente*, 7(2): 15–19. [In Portuguese]. doi: 10.17765/2176-9168.2014v7n2p%p
- Dashtiannasab A. and Yeganeh V. 2017.** The effect of ethanol extract of a macroalgae *Laurencia*

- snyderia* on growth parameters and vibriosis resistance in shrimp *Litopenaeus vannamei*. Iranian Journal of Fisheries Sciences, 16(1): 210–221.
- Dashtiannasab A., Mesbah M., Peyghan R. and Kakoolaki S. 2014.** The effects of brown algae *Sargassum angustifolium* extract on growth performance, survival and Vibriosis resistance in shrimp *Litopenaeus vannamei*. Iranian Journal of Fisheries Science, 23(3): 31–40. doi: 10.22092/ISFJ.2014.103539
- Datu S.S., Fatwasari F., Jarir D.V. and Sabilah A.A. 2024.** Antibacterial screening of *Sargassum* sp. extract opposing *Vibrio parahaemolyticus* bacteria. Majority Science Journal, 2(1): 288–295. doi: 10.61942/msj.v2i1.94
- Falaise C., Francois C., Travers M.A., Morga B., Haure J., Tremblay R., Turcotte F., Pasetto P., Gastineau R. and Hardivillier Y. 2016.** Anti-microbial 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. FAO, Italy. 206P.
- Flint J.F. and Garner M.R. 2009.** Feeding beneficial bacteria: A natural solution for increasing efficiency and decreasing pathogens in animal agriculture. Journal of Applied Poultry Research, 18: 367–378. doi: 10.3382/japr.2008-00133
- Frikha F., Kammoun M., Hammami N., Mchirgui R.A., Belbahri L., Gargouri Y. and Ben-Rebah F. 2011.** Chemical composition and some biological activities of marine algae collected in Tunisia. Ciencias Marinas, 37(2): 113–124. doi: 10.7773/cm.v37i2.1712
- Ghadiryannfar M., Rosentrater K. A., Keyhani A. and Omid M. 2016.** A review of macroalgae production, with potential applications in biofuels and bioenergy. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 54: 473–481. doi: 10.1016/j.rser.2015.10.022
- 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, Iran. 170P.
- 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.
- 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 (MNP)s 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 extract against *Vibrio harveyi*. Applied Science, 12: 1148–1552. doi: 10.3390/app12031148
- 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
- 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): 1–6 (022005). doi: 10.1088/1742-6596/1341/2/022005
- Manivannan K., Karthikai G., Anantharaman P. and Balasubramanian T. 2011.** Anti-microbial 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
- Michalak I. and Chojnacka K. 2015.** Algae as production systems of bioactive compounds. Engineering in Life Sciences, 15(2): 160–176. doi: 10.1002/elsc.201400191
- Mohammadi A., Shabanpoor B. and Kordjazi M. 2019.** Effect of *Nizimuddinia zanardini* aqueous extract against human pathogenic microbes and evaluating its

- antioxidant activity. *Marine Biology*, 10: 75–82.
- 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 Zinicoscaia 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. doi: 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*, 5(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.
- 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. doi: 10.1111/j.1365-2109.2011.02932.x
- Rahma N. 2020.** Effectiveness of seaweed *Sargassum polycystum* extract as an antibacterial agent against *Vibrio* spp. Ph.D. Thesis, University of Hasanuddin, Indonesia. 75P. [In Indonesian].
- 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(5): 1071–1075. doi: 10.1016/j.fsi.2012.06.028
- Sandsdalen E., Haug T., Stensvag 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. doi: 10.1023/A:1026052715260
- Seenivasan R., Rekha M., Indu H. and Geetha S. 2012.** Antibacterial activity and phytochemical analysis of selected seaweeds from Mandapam Coast, India. *Journal of Applied Pharmacology Science*, 2(10): 159–169. doi: 10.7324/JAPS.2012.21030
- Silva A., Silva S.A., Carpena M., Garcia-Oliveira P., Gullon P., Barroso M.F., Prieto M.A. and Simal-Gandara J. 2020.** Macroalgae as a source of valuable antimicrobial compounds: Extraction and applications. *Antibiotics*, 9(10): 642–648. doi: 10.3390/antibiotics9100642
- Taskin E., Ozturk M. and Kurt O. 2007.** Antibacterial activities to some marine algae from the Aegean Sea (Turkey). *African Journal of Biotechnology*, 6(24): 2746–2751. doi: 10.5897/AJB2007.000-2439
- Vasconcelos A.G., De Araujo K.V. and Santana L.D.A.B. 2015.** Polysaccharides extracted from seaweed and their applications biotechnological: A Review. *Revista Brasileira de Inovacao Tecnologica em Saude*, 5(3): 27–51. doi: 10.18816/r-bits.v5i3.5898
- Verissimo A.C., Pacheco M., Silva A.M. and Pinto D.C. 2021.** Secondary metabolites from marine sources with potential use as leads for anticancer applications. *Molecules*, 26(14): 1–13 (4292). doi: 10.3390/molecules26144292
- Woo P.T. and Gregory D.W.B. 2014.** Diseases and Disorders of Finfish in Cage Culture. CABI, UK. 874P.
- Zarei Jeliani Z., Yusef Zadi M., Sohrabipour J. and Toiserkani H. 2018.** Antioxidant and antibacterial assay of two red marine macro-alga of Bandar Abbas coastal. *Journal of Marine Science and Technology*, 17(2): 58–69. doi: 10.22113/jmst.2017.43978



Research Paper

Comparative study of the antibacterial properties of aqueous extract of combined brown macroalgae and some antibiotics against certain *Vibrio* sp. bacteria in marine aquatic animals

Sheida Beigzadeh Dehkharghani¹, Paria Akbary^{2*}

DOI: 10.22124/japb.2026.32759.1583

Received: January 2026

Accepted: June 2026

Abstract

This study aimed to comparatively investigate the antibacterial effects of the aqueous extract of a premix of brown macroalgae (*Sargassum ilicifolium*, *Nizimuddinina zanardini*, *Cystoseira indica*, and *Padina australis*) and antibiotics (oxytetracycline, cephalixin, erythromycin, and nitrofurantoin) against pathogenic Gram-negative bacteria (*Vibrio parahaemolyticus*, *V. harveyi*, *V. alginolyticus* and acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND+)) and the probiotic bacterium *Lactobacillus plantarum* in marine aquaculture. Collected brown macroalgae samples, after washing and drying, were mixed in equal proportions and ground. An aqueous solvent was used for extraction. To investigate the antibacterial effect of the aqueous extract of the macroalgae premix on 4 species of Gram-negative bacteria and the probiotic bacterium *L. plantarum*, the agar disk diffusion test (20μL premix for each disk) and antibiotics as positive control were employed. The results showed that the aqueous extract of the brown macroalgae premix had an inhibitory effect on the growth of Gram-negative bacteria (*V. parahaemolyticus*, *V. harveyi*, *V. alginolyticus*, and AHPND+). Among these Gram-negative bacteria, the inhibitory effect of the aqueous extract of the brown macroalgae premix on the growth of *V. alginolyticus*, *V. harveyi* and AHPND+ bacteria (8.43 ± 0.11 , 8.16 ± 0.15 , 8.63 ± 0.15 mm respectively) was significantly greater than *V. parahaemolyticus* (7 ± 1 mm; $P > 0.05$). The extract of the brown macroalgae premix showed no inhibitory effect on the growth of the Gram-positive bacterium *L. plantarum*, and no zone of inhibition was observed. The bacterium *V. alginolyticus* exhibited greater sensitivity to the brown macroalgae premix extract (8.43 ± 0.06 mm) compared to cephalixin (showed no zone of inhibition; $P > 0.05$). Overall, although according to the results, the antibacterial property of the aqueous extract of the studied brown macroalgae premix was found to be lower than that of standard antibiotics (except for cephalixin against *V. alginolyticus*), the brown macroalgae premix extract can be suggested as a potential source of new natural antimicrobial compounds.

Key words: Antibacterial Properties, Brown Macroalgae Premix, Disk Diffusion, Cephalixin.

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

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

*Corresponding Author: paria.akbary@gmail.com