



University of Hormozgan



Evaluation of the antimicrobial and antioxidant effects of *Padina* and *Sargassum* algae extracts against *Vibrio* species causing acute hepatopancreatic necrosis disease in shrimp

Pariya Keshavarz¹, Ahmad Zaheri^{2✉}, Poorya Keshavarz³

1. Department of Biology, Payame Noor University, PO BOX 19395-3697, Erbil, Iraq.

2. Department of Biology, Payame Noor University, PO BOX 19395-3697, Tehran, Iran.

3. Kherad Institute of Higher Education, Bushehr, Iran.

Article Info

Article type:

Research Article

Article history:

Received: 13 April 2025

Accepted: 5 August 2025

Published: 9 August 2025

✉Corresponding Author:

zaheri@pnu.ac.ir

Keywords:

Antioxidant activity,

Antimicrobial activity,

Acute hepatopancreatic

necrosis disease,

Brown algae,

Phytobiotic,

ABSTRACT

The present study aimed to evaluate the antimicrobial and antioxidant activities of *Padina* sp. and *Sargassum* sp. algae collected from the Gulf of Oman. Samples were obtained from the coast of Jask city in spring 2024. Algal extracts were prepared using a combination of soaking and ultrasonic bath methods. Antioxidant activity was assessed using the diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) free radical scavenging assay, while antimicrobial activity was determined by broth microdilution to measure the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC). The median antioxidant activities of aqueous and organic extracts were 80.93 ± 6.64 and 474.3 ± 41.53 $\mu\text{g/mL}$ for *Padina*, and 65.87 ± 4.11 and 325.2 ± 2.26 $\mu\text{g/mL}$ for *Sargassum*, respectively. The MICs of *Padina* organic extracts against *Vibrio parahaemolyticus*, *V. alginolyticus*, and *V. harveyi* were 256, 64, and 64 $\mu\text{g/mL}$, with MBCs of 512, 256, and 128 $\mu\text{g/mL}$, respectively. Aqueous extracts of *Padina* were less effective, with MICs of 512, 256, and 128 $\mu\text{g/mL}$ and MBCs of 512 and 256 $\mu\text{g/mL}$. For *Sargassum*, the organic extract exhibited stronger antimicrobial activity, with MICs of 128, 64, and 128 $\mu\text{g/mL}$ and MBCs of 256, 128, and 128 $\mu\text{g/mL}$, respectively. The MICs of aqueous *Sargassum* extracts were 256, 256, and 128 $\mu\text{g/mL}$. Overall, these findings confirm the antioxidant and antibacterial potential of *Padina* and *Sargassum* extracts, particularly their activity against pathogenic *Vibrio* species. These algae therefore represent promising candidates for development as dietary supplements in aquaculture.



Publisher: University of Hormozgan

EXTENDED ABSTRACT

Introduction

Bacterial infectious diseases are among the major challenges in aquaculture worldwide (Samsing & Barnes, 2024). Over the past decade, the global shrimp farming industry has faced significant losses due to acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND), caused by *Vibrio parahaemolyticus*. In 2023, the presence of this pathogen was confirmed in Iranian shrimp farms, resulting in decreased production and economic losses. Recently, the use of phytobiotic compounds in aquaculture has gained attention, with numerous studies highlighting their potential to enhance disease resistance and improve health management (Ghosh et al., 2021; Wei et al., 2024). Algal extracts, owing to their antibacterial and antioxidant properties, may reduce microbial load and strengthen the immune system of cultured species. This study evaluates the antimicrobial and antioxidant potential of native algal extracts from the Gulf of Oman as a sustainable tool for improving shrimp aquaculture practices.

Materials and Methods

Two algal species, *Padina* sp. and *Sargassum* sp., were collected from the intertidal zone of Jask city (Gulf of Oman) during spring 2024 at maximum tide. Species identification was performed morphologically using taxonomic keys. Dried algal samples were extracted with methanol by soaking and ultrasonic bath, while aqueous extracts were prepared by boiling powdered material in double-distilled water. Antioxidant activity was assessed by the DPPH free radical scavenging assay (Leong & Shui, 2002), and antimicrobial activity was evaluated using the broth microdilution method (Humphries et al., 2018). Minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) were determined against *Vibrio parahaemolyticus*, *V. alginolyticus*, and *V. harveyi*.

Results

Both *Padina* and *Sargassum* extracts exhibited notable antioxidant and antimicrobial activity. The IC₅₀ values of *Padina* extracts were 80.93 ± 6.64 µg/mL (organic) and 474.3 ± 41.53 µg/mL (aqueous), while *Sargassum* extracts showed IC₅₀ values of 65.87 ± 4.11 µg/mL (organic) and 325.2 ± 2.26 µg/mL (aqueous). Organic extracts demonstrated stronger antibacterial activity compared to aqueous extracts. The MICs of *Padina* organic extract against *V. parahaemolyticus*, *V. alginolyticus*, and *V. harveyi* were 256, 64, and 64 µg/mL, with corresponding MBCs of 512, 256, and 128 µg/mL. Aqueous *Padina* extracts showed weaker activity, with MICs of 512, 256, and 128 µg/mL and limited lethality against the tested strains. *Sargassum* organic extracts were particularly effective, with MICs of 128, 64, and 128 µg/mL and MBCs of 256, 128, and 128 µg/mL, respectively.

Conclusion

The results demonstrate that organic extracts of *Padina* and *Sargassum* algae from the Gulf of Oman possess strong antioxidant and antimicrobial activities, particularly against pathogenic *Vibrio* species associated with AHPND. These findings suggest that indigenous algal extracts can serve as promising phytobiotic candidates in shrimp aquaculture, acting as immune enhancers to improve health management and reduce disease-related losses. Harnessing these natural resources offers a sustainable approach to responsible aquaculture and supports the long-term development of the shrimp farming industry.



ارزیابی اثرات ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی عصاره جلبک‌های *Sargassum* و *Padina* بومی خلیج عمان در مقابل باکتری‌های ویبریو عامل بیماری نکروز حاد هیپاتوپانکراس میگو

پریا کشاورز^۱، احمد زاھری^۲✉، پورییا کشاورز^۱

۱. گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور، اربیل، عراق.

۲. گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران.

۳. موسسه آموزش عالی خرد، بوشهر، ایران

اطلاعات مقاله	چکیده
<p>نوع مقاله: مقاله پژوهشی</p> <p>تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۱/۲۴</p> <p>تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۵/۱۴</p> <p>تاریخ انتشار: ۱۴۰۴/۰۵/۱۸</p> <p>✉ نویسنده مسئول: zaheri@pnu.ac.ir</p> <p>کلیدواژه‌ها: بیماری نکروز حاد هیپاتوپانکراس، جلبک‌های قهوه ای، فعالیت ضد میکروبی، فعالیت آنتی اکسیدانی، فیتوبیوتیک.</p>	<p>هدف مطالعه حاضر ارزیابی فعالیت‌های ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی جلبک‌های <i>Padina</i> sp. و <i>Sargassum</i> نمونه برداری شده از خلیج عمان بود. بدین منظور در بهار ۱۴۰۳ نمونه برداری از جلبک‌های <i>Sargassum</i> و <i>Padina</i> در سواحل شهرستان جاسک انجام شد. عصاره‌گیری از نمونه‌های جلبک توسط ترکیب روش‌های خیساندن و حمام اولتراسونیک انجام شد. سپس میزان فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌ها به روش مهار رادیکال‌های آزاد دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل انجام شد. تعیین کمترین غلظت بازدارندگی (MIC) و کشندگی باکتری (MBC) به روش مایکرودايلوشن برات ارزیابی شد. نتایج میانه فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌های آبی و آلی جلبک <i>Padina</i> بترتیب معادل $۸۰/۶ \pm ۹۳/۶۴ \mu\text{g/mL}$ و $۴۷۴/۴۱ \pm ۳/۵۳ \mu\text{g/mL}$ و <i>Sargassum</i> معادل $۶۵/۴ \pm ۸۷/۱۱ \mu\text{g/mL}$ و $۳۲۵/۲۶ \pm ۲/۲۳ \mu\text{g/mL}$ بود. نتایج نشان داد MIC عصاره آلی <i>Padina</i> در مقابل <i>V. harveyi</i> و <i>V. alginolyticus</i>، <i>V. parahaemolyticus</i>، $۲۵۶ \mu\text{g/mL}$ و ۶۴ و ۶۴ ثابت شد. MBC آن‌ها بترتیب معادل $۵۱۲ \mu\text{g/mL}$، ۲۵۶ و ۱۲۸ ثابت شد. در حالیکه میزان MIC عصاره آبی <i>Padina</i> در مقابل این باکتری‌ها در غلظت‌های ۵۱۲، ۲۵۶ و ۱۲۸ و MBC آن بترتیب بدون فعالیت، $۵۱۲ \mu\text{g/mL}$ و ۲۵۶ ثابت شد. نتایج نشان داد MIC عصاره آلی <i>Sargassum</i> در مقابل باکتری‌های مذکور بترتیب ۱۲۸، ۶۴ و $۱۲۸ \mu\text{g/mL}$، ۱۲۸ و ۶۴ و MBC آن معادل $۲۵۶ \mu\text{g/mL}$، ۱۲۸، ۲۵۶ و ۱۲۸ ثابت شد. میزان MIC عصاره آبی <i>Sargassum</i> نیز در مقابل این باکتری‌ها معادل $۲۵۶ \mu\text{g/mL}$، ۲۵۶ و ۱۲۸ تعیین شد. این نتایج فعالیت عصاره جلبکی را در مهار رشد باکتری‌های ویبریو ثابت کرد. از اینرو جلبک‌های مورد مطالعه می‌توانند در جیره غذایی آبریزان مورد مطالعه تکمیلی قرار گیرند.</p>



مقدمه

میگوی پاسبید غربی (*Penaeus vannamei*) گونه اصلی میگوی پرورشی در دنیا محسوب می شود. توسعه پایدار پرورش میگو در نواحی ساحلی کشور می‌تواند موجب اشتغال زایی و بهبود وضعیت اقتصادی جامعه بهره بردار شود (Vergara-Solana, 2024). لیکن چالش‌هایی مانند شیوع بیماری‌های عفونی توسعه این صنعت را تهدید می‌کنند. از اینرو روش‌های پیشگیری و کنترل بیماری‌ها مانند استفاده از فناوری‌های فیتوبیوتیک، پروبیوتیک، پاراپروبیوتیک، پست بیوتیک، سین بیوتیک مورد توجه پژوهشگران قرار دارد. باکتری‌های ویبریو به عنوان عوامل عمده بیماری‌زا در آبی پروری مطرح می‌باشند. باکتری *Vibrio parahaemolyticus* در دهه اخیر صنعت پرورش میگو را در دنیا با چالش بیماری نکرز حاد هپاتوپانکراس (AHPND) مواجه نموده است. سویه‌های سم‌زای این باکتری حاوی پلاسمید pVA1 می‌باشند. پلاسمید مذکور یک سم دوتایی (Binary toxin) شامل PirA و PirB تولید می‌کند. این سم با نفوذ به هپاتوپانکراس میگو موجب ایجاد نکرز می‌شود. این بیماری می‌تواند به پست لاروها آسیب رسانده و باعث تلفات کامل میگو در طی یک ماه پس از اولین آلودگی شود (Narsale et al., 2024). علاوه بر این، ایمنی ضعیف میگو در مرحله لاروی حساسیت آبی به عفونت توسط پاتوژن‌های مختلف را افزایش می‌دهد.

باکتری‌های ایجاد کننده AHPND در ابتدا محفظه معده ای میگوهای آلوده را درگیر می‌کنند. علائم این بیماری شامل بی‌حالی، کاهش اشتها، و هپاتوپانکراس رنگ‌پریده یا سفید و آتروفی شده می‌باشد (Kumar et al., 2021). پلاسمید pVA1 در گونه‌های دیگر ویبریو از جمله *V. campbellii*، *V. owensii*، *V. harveyi* و *V. alginolyticus* نیز شناسایی شده و باعث ایجاد AHPND شده‌اند (Soto-Rodriguez et al., 2024). اولین شیوع AHPND در سال ۲۰۰۹ در چین رخ داد. بدنبال آن شیوع بیماری در مکزیک، مالزی، تایلند، فیلیپین، ویتنام، بنگلادش و ایالات متحده آمریکا گزارش شده و تولید میگو در این کشورها به شدت کاهش یافت (Hassan et al., 2024). حضور این باکتری در مزارع پرورش میگوی ایران نیز در سال ۱۴۰۲ گزارش شد و باعث تلفات و افت تولید میگوی پرورشی در کشور گردید (Pazir et al., 2025). استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در آبی پروری بدلیل اثرات بقایای شیمیایی آنها و ایجاد سویه‌های باکتریایی مقاوم به دارو در بسیاری از کشورها ممنوع شده است (Luthman et al., 2024).

یکی از راهبردهای جدید پیشگیری و مقابله با بیماری استفاده از محرک‌های سیستم ایمنی و ترکیبات دارای فعالیت ضد میکروبی است. امروزه استفاده از ترکیبات فیتوبیوتیک در آبی‌پروری رایج گردیده و مطالعات گسترده‌ای در این زمینه انجام شده است. فیتوبیوتیک‌ها ترکیبات گیاهی هستند که در تحریک و تقویت سیستم ایمنی و مقابله با بیماری نقش ایفا (Wei et al., 2024). می‌کنند. از دیگر مزایای اصلی استفاده از مکمل‌های خوراکی مبتنی بر ترکیبات جلبکی در آبی‌پروری سازگاری آنها با محیط زیست بوده و فاقد عوارض جانبی سوء در آبزیان می‌باشند. این ویژگی‌ها، فیتوبیوتیک‌ها را به عنوان جایگزینی برای آنتی‌بیوتیک‌ها و سایر ترکیبات شیمیایی و یک افزودنی مؤثر مطرح نموده است (Fawole et al., 2024). امروزه ماکرو جلبک‌ها به عنوان یکی از منابع پایدار برای استخراج ترکیبات طبیعی دریایی محسوب می‌شوند و به دلیل کاربردهای مختلف آنها مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته است. عصاره‌های جلبکی بدلیل دارا بودن ویژگی‌های ضد باکتریایی و آنتی‌اکسیدانی می‌توانند موجب کاهش بار میکروبی و همچنین تقویت سیستم ایمنی آبی در طول دوره پرورش گردد (Wei et al., 2024). با استفاده از این توانمندی طبیعی می‌توان میکروبیوم اکوسیستم آبی پروری را مدیریت نموده و احتمال شیوع بیماری را کاهش داد. هدف مطالعه حاضر ارزیابی فعالیت‌های ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های جلبکی بومی سواحل خلیج عمان در مقابل باکتری‌های ویبریو عامل بیماری AHPND می‌باشد. عصاره‌های جلبکی ارزیابی شده در این مطالعه، گزینه‌های نوید بخشی را برای مطالعات تکمیلی اثربخشی و ایمنی درون تنی فراهم خواهند کرد.

مواد و روش‌ها

گونه‌های جلبکی *Padina sp.* و *Sargassum sp.* در بازه زمانی ۷ لغایت ۱۰ اردیبهشت ۱۴۰۳ از سواحل شهرستان جاسک در وضعیت حداکثر جزر جمع‌آوری شدند. نمونه‌های جلبک *Padina sp.* از مختصات 57°46'E/25°41'N و نمونه‌های *Sargassum*

sp. از مختصات $57^{\circ}48'E/25^{\circ}41'N$ جمع آوری شدند. بخشی از هر نمونه برای تهیه ورق هرباریومی و شناسایی مرفولوژیکی نگهداری گردید و باقیمانده نمونه در فریزر $-20^{\circ}C$ درجه سلسیوس نگهداری شدند (Stephenson, 1994).

شناسایی نمونه‌ها با استفاده از روش‌های مرفولوژیکی انجام شد. پس از تایید خلوص نمونه‌ها با استفاده از مشاهده زیر لوپ، شناسایی مرفولوژیکی نمونه‌ها بر مبنای شکل ظاهری شامل اندازه، رنگ، ساختار و نحوه رشد جلبک‌ها در محیط طبیعی و همچنین بررسی ساختار و چیدمان سلولی، بافت‌ها و اندامک‌های جلبک‌ها توسط میکروسکوپ نوری انجام و مطابقت آن با کلید شناسایی صورت گرفت (Sohrabipour and Rabiei, 2007). نمونه‌های جلبکی خشک و پودر شده و از الک با اندازه منفذ $100 \mu m$ میکرومتر غربال شدند. عصاره گیری به روش خیساندن انجام شد. به منظور تهیه عصاره آلی متانولی 100 گرم از هر نمونه با یک لیتر متانول خالص مخلوط و به مدت 48 ساعت در دمای اتاق خیسانده شد. سپس به مدت 20 دقیقه در حمام اولتراسونیک با جریان 100 کیلوهرتز و در دمای $40^{\circ}C$ درجه سلسیوس قرار داده شد و پس از 30 دقیقه ورتکس در 200 دور بر دقیقه متانول جمع آوری شد. متانول جمع آوری شده به مدت 10 دقیقه با 5000 دور بر دقیقه سانتریفیوژ شده و سپس توسط کاغذ واتمن شماره 1 فیلتر شد. به دنبال آن عصاره‌های آلی در دستگاه تبخیر کننده چرخان خشک شدند (Rostagno and Prado, 2013). عصاره آبی پس از جوشاندن 100 گرم از جلبک در 1 لیتر آب مقطر دوبار تقطیر در $100^{\circ}C$ درجه سلسیوس تهیه شد.

عصاره‌های مورد آزمون با استفاده از روش میزان مهار رادیکال‌های آزاد DPPH در مقیاس میکرودايلوشن مورد سنجش قرار گرفتند. غلظت‌های متوالی با غلظت نهایی بترتیب $19/5$ ، 39 ، $78/12$ ، $156/25$ ، $312/5$ و 625 میکروگرم بر میلی‌لیتر آماده سازی شد. بدنیال آن به میزان 195 میکرولیتر از محلول DPPH با غلظت 100 میکرومولار به هر چاهک در میکروپلیت 96 خانه ریخته شد. سپس 5 میکرولیتر از هر غلظت از عصاره به هر چاهک با سه تکرار اضافه شد. سپس میکروپلیت‌ها در تاریکی به مدت 30 دقیقه در دمای اتاق نگهداری شدند. در نهایت با استفاده از میکروپلیت ریدر جذب نوری هر چاهک در طول موج 517 نانومتر ثبت شد. با استفاده از رابطه (۱) درصد مهار رادیکال‌های آزاد DPPH به عنوان شاخص فعالیت آنتی اکسیدانی محاسبه شد (Leong and Shui, 2002). نمونه شاهد حاوی آسکوربیک اسید بود. همچنین به عنوان کنترل منفی از متانول استفاده شد. میانه بازدارندگی (IC_{50}) هر ترکیب با استفاده از برنامه نرم افزاری Graphpad prism 6 محاسبه شد.

$$\text{رابطه (۱)} \quad = (I_0) - (I_{\text{sample}})/I_0 \times 100 = \text{درصد فعالیت مهار رادیکال‌های آزاد DPPH}$$

I_0 : جذب در چاهک حاوی DPPH $195 \mu l + 5 \mu l$ متانول

I_{sample} : جذب در چاهک نمونه یا کنترل

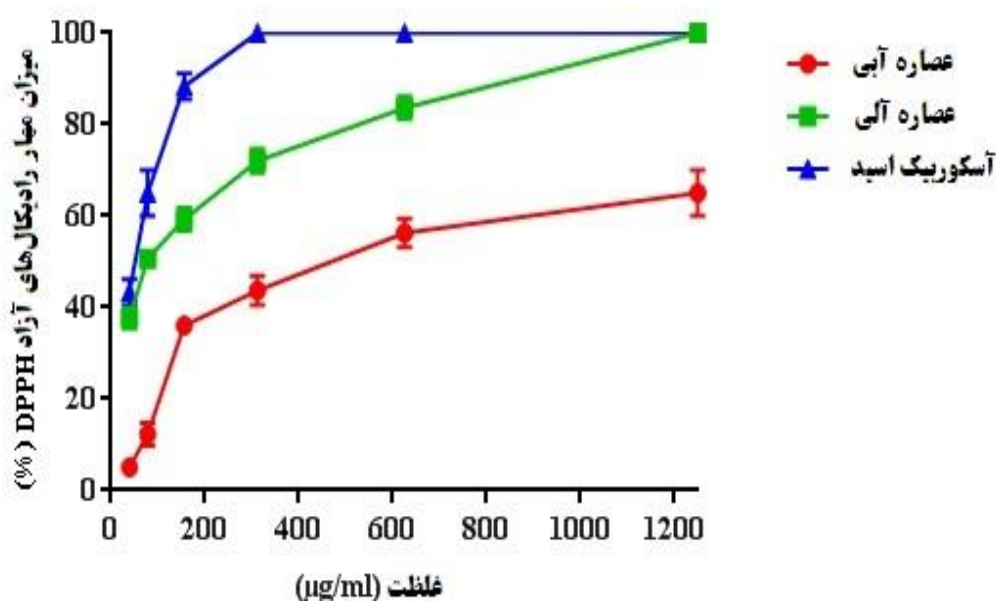
تعیین MIC و MBC عصاره‌ها از روش استاندارد میکرودايلوشن استفاده شد (Azm and Gozari, 2024; Rastegar and Gozari, 2016). گونه‌های بیماریزای بومی *V. parahaemolyticus* و *V. harveyi*، *V. alginolyticus* از کلکسیون باکتریهای پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان تهیه شد. غلظت‌های 10^1 ، 5 ، $2/5$ ، $1/25$ ، $1/512$ ، $1/256$ ، $1/128$ و $1/64$ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به روش سریال دایلویشن تهیه شد. سپس از هر غلظت‌های عصاره به میزان 50 میکرولیتر به هر چاهک در میکروپلیت افزوده شد. سپس از هر نمونه باکتری با غلظت $10^8 \times 1/5$ CFU/ml به میزان 50 میکرولیتر به چاهک‌ها اضافه شد. گرماگذاری در دمای $37^{\circ}C$ درجه سلسیوس به مدت 18 ساعت انجام شد. کم‌ترین غلظتی که رشد باکتری در آن متوقف شده بود به عنوان MIC گزارش شد. کمترین غلظت بدون رشد چاهک در محیط بلاذ آگار به‌عنوان میزان MBC ثبت شد. به منظور تضمین کیفیت و اعتبار بخشی به نتایج از آنتی بیوتیک تجاری استرپتومایسین (شرکت سیگما-آلدریج S6501) با خلوص $99/9$ درصد به عنوان کنترل مثبت استفاده شد. کنترل منفی شامل چاهک‌های تلقیح شده با باکتری بدون افزودن عصاره یا آنتی بیوتیک در نظر گرفته شد.

در این مطالعه تمام تست های زیست سنجی با سه تکرار انجام شد. نتایج فعالیت آنتی اکسیدانی بصورت میانگین \pm انحراف استاندارد بیان شد. محاسبات آماری با استفاده از نرم افزار Microsoft TM Excell 2013 (Microsoft, Seattle, WA) انجام شد. این نتایج بصورت آنالیز نتایج سنجش فعالیت آنتی اکسیدانی با استفاده از نرم افزار Graphpad prism 6 انجام شد. میانگین $IC_{50} \pm$ خطای استاندارد (SE) ارائه شد. میانگین داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس (ANOVA) و آزمون دانکن (در سطح

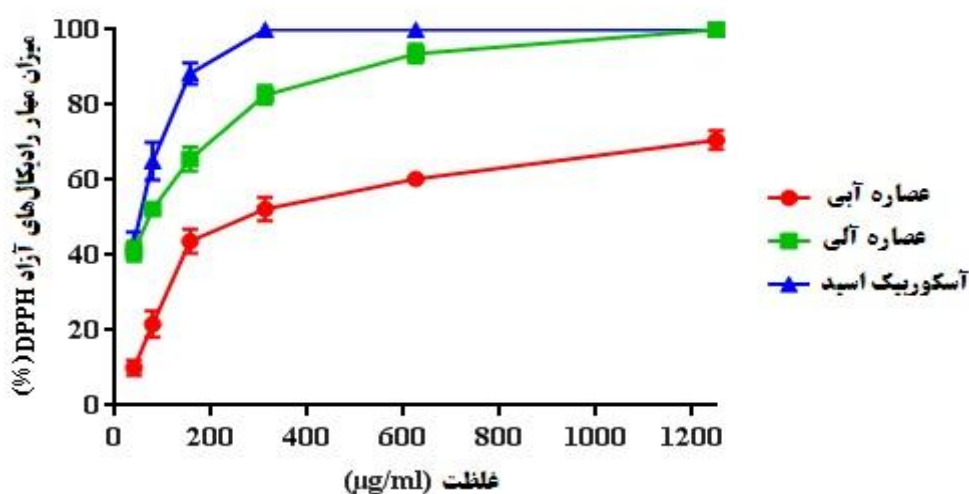
۵ درصد) توسط نرم افزار SPSS مورد مقایسه قرار گرفت. آنالیز فعالیت ضد میکروبی بر اساس MIC و MBC با سه تکرار انجام شد.

نتایج

میزان عصاره متانولی استخراج شده از جلبک‌های *Sargassum sp.* و *Padina sp.* بترتیب معادل ۸/۴۵ و ۵/۲۱ گرم از ۱۰۰ گرم جلبک ثبت شد. در حالیکه میزان عصاره آبی بترتیب ۴/۱۸ و ۲/۷۰ گرم از ۱۰۰ گرم جلبک بدست آمد. بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های استخراج شده از جلبک‌های *Sargassum sp.* و *Padina sp.* در آزمون سنجش مهار رادیکال‌های آزاد DPPH نشان داد روند فعالیت عصاره‌های مورد آزمون وابسته به دوز بود. به‌طوریکه با افزایش غلظت عصاره، درصد بازدارندگی DPPH افزایش یافت (شکل ۱). محاسبات آماری نشان داد عصاره آلی استخراج شده از جلبک *Padina sp.* در غلظت $80/6 \pm 93/64 \mu\text{g/mL}$ به میزان ۵۰ درصد رادیکال‌های آزاد DPPH را مهار کرد. در حالیکه میانه فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره آبی استخراج شده در غلظت $474/41 \pm 3/53 \mu\text{g/mL}$ ثبت شد. این نتایج نشان داد عصاره آلی جلبک *Sargassum* با میانه مهارکنندگی در غلظت $65/87 \pm 4/11 \mu\text{g/mL}$ بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را نشان داد. در حالی که میانه مهارکنندگی عصاره آبی این جلبک در غلظت $325/2 \pm 26/23$ ثبت شد (شکل ۲). مقایسه فعالیت بازدارندگی عصاره‌های استخراج شده با اسکوربیک اسید، بیانگر فعالیت پایین‌تر عصاره‌های جلبکی بود. میزان IC_{50} اسکوربیک اسید معادل $48/1 \pm 37/92 \mu\text{g/mL}$ بدست آمد (جدول ۱). آنالیز واریانس فعالیت مهارکنندگی عصاره‌های استخراج شده و اسکوربیک اسید بیانگر اختلاف معنادار فعالیت آنها در مهار رادیکال‌های DPPH در سطح $p < 0/05$ بود.



شکل ۱- مقایسه روند فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های آلی و آبی جلبک *Padina sp.*



شکل ۲- مقایسه روند فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌های آلی و آبی جلبک *Sargassum sp*

جدول ۱- میزان مهار رادیکال‌های آزاد DPPH توسط عصاره‌های استخراج شده

نمونه	IC ₅₀ ± SE* (µg/ml)	سطح اطمینان ۹۵ درصد
عصاره آلی <i>Padina</i>	۸۰/۹۳±۶/۶۴ ^a	۶۶/۸۴ تا ۹۵/۰۳
عصاره آبی <i>Padina</i>	۴۷۴/۴۱±۳/۵۳ ^b	۳۸۶/۳۰ تا ۵۶۲/۳۰
عصاره آلی <i>Sargassum</i>	۶۵/۸۷±۴/۱۱ ^c	۵۷/۱۶ تا ۷۴/۵۹
عصاره آبی <i>Sargassum</i>	۳۲۵/۲۶±۲/۲۳ ^d	۲۶۹/۶۰ تا ۳۸۰/۸۰
آسکوربیک اسید	۴۸/۱±۳۷/۹۲	۴۴/۲۸ تا ۵۲/۴۶

حروف انگلیسی متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی دار بین تیمارها است.

نتایج ارزیابی اثر ضد میکروبی عصاره‌های آبی و آلی استخراج شده از جلبک‌های *Sargassum sp.* و *Padina sp.* بر باکتری‌های ویبریو بیماریزای میگو پتانسیل فعالیت ضد میکروبی آنها را نشان داد. نتایج حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد (MIC) عصاره آلی استخراج شده از جلبک *Padina* معادل ۲۵۶ µg/ml در مقابل *V. parahaemolyticus* ثبت شد. کمترین غلظت ممانعت کننده این عصاره در مقابل باکتری‌های *V. alginolyticus* و *V. harveyi* ۶۴ µg/ml گزارش شد. در حالی که عصاره آبی این جلبک در حداقل غلظت ۵۱۲ µg/ml از رشد *V. parahaemolyticus* ممانعت کرد. عصاره آبی *Padina* همچنین رشد باکتری‌های *V. alginolyticus* و *V. harveyi* را در بترتیب در حداقل غلظت‌های ۲۵۶ و ۱۲۸ ممانعت نمود. اگرچه این مقادیر فعالیت ضد میکروبی در مقایسه با آنتی بیوتیک استرپتومایسین بطور معناداری کمتر بود. بطوریکه میزان MIC این آنتی بیوتیک تجاری در مقابل باکتری‌های ویبریو ۸ µg/ml ثبت شد. این نتایج نشان داد MIC عصاره آلی جلبک *Sargassum* در مقابل باکتری *V. parahaemolyticus* در غلظت ۱۲۸ µg/ml ثبت شد. در حالیکه کمترین غلظت بازدارندگی از رشد *V. harveyi* در غلظت ۶۴ µg/ml و *V. alginolyticus* معادل ۱۲۸ µg/ml بدست آمد. نتایج این ارزیابی برای عصاره آبی استخراج شده از جلبک *Sargassum* بیانگر فعالیت ضد میکروبی کمتری بود. بطوریکه کمترین غلظت بازدارنده عصاره آبی جلبک *Sargassum* در مقابل باکتری *V. parahaemolyticus* و *V. alginolyticus* معادل ۲۵۶ µg/ml ثبت شد. در حالی که MIC عصاره آبی این جلبک در مقابل *V. harveyi* در غلظت ۱۲۸ µg/ml تعیین شد (جدول ۲).

نتایج ارزیابی کمترین غلظت کشنده باکتریها (MBC) توسط عصاره‌های مورد مطالعه نشان داد MBC عصاره آلی استخراج

شده از جلبک *Padina* در مقابل باکتری *V. parahaemolyticus* به میزان $512 \mu\text{g/ml}$ ثبت گردید. در حالی که این عصاره بترتیب در غلظت‌های $256 \mu\text{g/ml}$ و $128 \mu\text{g/ml}$ باکتریهای *V. alginolyticus* و *V. harveyi* کمترین غلظت کشندگی خود را نشان دادند. این نتایج برای عصاره آبی استخراج شده از جلبک *Padina* بیانگر فعالیت ضعیف تر این عصاره بود. بطوری که این عصاره در مقابل باکتری *V. parahaemolyticus* در غلظت‌های مورد آزمون فعالیت کشندگی نشان نداد اما در مقابل باکتریهای *V. alginolyticus* و *V. harveyi* بترتیب در غلظت‌های $512 \mu\text{g/ml}$ و $256 \mu\text{g/ml}$ کمترین غلظت کشنده عصاره آبی استخراج شده از جلبک *Sargassum* در مقابل باکتری *V. parahaemolyticus* به میزان $256 \mu\text{g/ml}$ بود. همچنین این عصاره در غلظت $128 \mu\text{g/ml}$ باکتریهای *V. alginolyticus* و *V. harveyi* را از بین برد. نتایج این سنجش برای عصاره آبی جلبک *Sargassum* نشان داد MBC بدست آمده دارای فعالیت ضد میکروبی کمتری بود. این نتایج نشان داد کمترین غلظت کشنده این عصاره آبی در مقابل باکتری *V. parahaemolyticus* معادل $512 \mu\text{g/ml}$ ثبت شد. لیکن در مقابل باکتریهای *V. alginolyticus* و *V. harveyi* میزان MBC این عصاره بترتیب در غلظت‌های $256 \mu\text{g/ml}$ و $128 \mu\text{g/ml}$ ثبت شد (جدول ۳). مقایسه آماری میزان MBC عصاره‌های جلبکی نسبت به آنتی بیوتیک استرپتومایسین با MBC معادل $8 \mu\text{g/ml}$ تا $16 \mu\text{g/ml}$ ثبت شد و بیانگر اختلاف معنادار فعالیت ضد میکروبی بود.

جدول ۲- حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد عصاره‌های جلبکی در مقابل گونه‌های بیماری‌زای باکتری ویبریو

حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد ($\mu\text{g/ml}$)			عصاره‌ها
<i>V. alginolyticus</i>	<i>V. harveyi</i>	<i>V. parahaemolyticus</i>	
۶۴	۶۴	۲۵۶	عصاره آبی <i>Padina</i>
۱۲۸	۲۵۶	۵۱۲	عصاره آبی <i>Padina</i>
۱۲۸	۶۴	۱۲۸	عصاره آبی <i>Sargassum</i>
۲۵۶	۱۲۸	۲۵۶	عصاره آبی <i>Sargassum</i>
۸	۸	۸	<i>Streptomycin</i>

جدول ۳- حداقل غلظت کشندگی عصاره‌های جلبکی در مقابل گونه‌های بیماری‌زای باکتری ویبریو

حداقل غلظت کشنده باکتری ($\mu\text{g/ml}$)			عصاره‌ها
<i>V. alginolyticus</i>	<i>V. harveyi</i>	<i>V. parahaemolyticus</i>	
۱۲۸	۲۵۶	۵۱۲	عصاره آبی <i>Padina</i>
۲۵۶	۵۱۲	-	عصاره آبی <i>Padina</i>
۱۲۸	۱۲۸	۲۵۶	عصاره آبی <i>Sargassum</i>
۱۲۸	۲۵۶	۵۱۲	عصاره آبی <i>Sargassum</i>
۸	۸	۱۶	<i>Streptomycin</i>

با توجه به ممنوعیت مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها در آبی پروری تمرکز مطالعات جدید بر یافتن راهبردهایی سازگار با محیط‌زیست و دارای قابلیت استفاده پایدار است. جمعیت‌های جلبک بومی خلیج عمان در محدوده سواحل جاسک بدلیل بکر بودن در مطالعه حاضر مورد مطالعه قرار گرفتند. اگرچه تغییرات فصلی از قبیل تغییرات دمایی، نور، مواد مغذی، پدیده مونسون و نوع بستر ساحلی در فراوانی حضور آنها در ساحل دریای عمان تأثیرات گسترده و محدودیت‌هایی از نظر تامین منابع جلبکی ایجاد می‌نماید (Nassar et al., 2025).

نتایج فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های آبی و آلی استخراج شده از جلبک *Padina* میانه فعالیت مهارکنندگی عصاره‌های آلی و آبی این جلبک را بترتیب در غلظت‌های $80/93 \pm 6/64 \mu\text{g/mL}$ و $474/3 \pm 41/53 \mu\text{g/mL}$ نشان داد. با توجه به فعالیت آنتی‌اکسیدانی وابسته به دوز این عصاره‌ها می‌توان عملکرد مهارزیستی را در این واکنش تأیید نمود. در همین زمینه Praveen و Chakraborty (۲۰۱۳) گزارش دادند میزان بازدارندگی رادیکالهای آزاد DPPH توسط عصاره‌های آبی دو گونه *Padina* در غلظت $500 \mu\text{g/ml}$ بین ۴۰ تا ۴۵ درصد متغیر ثبت شد. در مطالعه دیگری عصاره متانولی جلبک‌های *Padina sp.* سواحل مالزی در غلظت $500 \mu\text{g/ml}$ معادل ۳۰ درصد رادیکالهای آزاد DPPH را مهار کرد (Foon et al., 2013). در مطالعه دیگری شیرانی بیدآبادی و همکاران (۲۰۲۳) میزان میانه فعالیت آنتی‌اکسیدانی جلبک *Padina* خلیج چابهار را $92 \mu\text{g/ml}$ گزارش دادند. نتایج مطالعه حاضر نشان داد عصاره آلی و آبی استخراج شده از جلبک *Sargassum* با فعالیت آنتی‌اکسیدانی نسبتاً بالاتری بترتیب با میانه مهارکنندگی (IC_{50}) در غلظت $65/87 \pm 4/11 \mu\text{g/mL}$ و $325/2 \pm 26/23 \mu\text{g/mL}$ رادیکالهای آزاد DPPH را مهار کردند. بالاتر بودن فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های جلبکی *Sargassum* نسبت به *Padina* می‌تواند به دلیل محتوای بیشتر ترکیبات فنولی در عصاره *Sargassum* باشد. افزایش محتوای ترکیبات فنولی ممکن است بدلیل عوامل ذاتی مانند سن جلبک، مرحله تولید مثلی و محتوای ژنتیکی آن باشد یا منشاء خارجی داشته باشد. عواملی مانند میزان شوری آب دریا، عمق زیستگاه و فشار ناشی از آن از جمله عوامل خارجی محتمل محسوب می‌شوند. البته با توجه به یکسان بودن زیستگاه نمونه‌های جلبکی مورد مطالعه احتمال وجود عوامل خارجی کمتر می‌باشد (Ganesan et al., 2008). ترکیبات فنولی حاوی گروه هیدروکسیل بوده که با پیوندهای ضعیفی به حلقه‌های آروماتیک فنول متصل است. به همین دلیل به سهولت امکان اشتراک یک اتم هیدروژن یا الکترون برای غیرفعال کردن رادیکال‌های آزاد DPPH دارد (Liu, 2015). نتایج بدست آمده بالاتر بودن فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های آلی متانولی نسبت به عصاره‌های آبی را نشان داد. قطبیت حلال‌ها نقش مهمی در استخراج ترکیبات آنتی‌اکسیدان دارد و مهارکنندگی عصاره را تعیین می‌کند. نتایج مطالعات Wang و همکارانش (۲۰۰۹) نشان داد حلال‌های آلی قطبی مانند متانول استخراج ترکیباتی مانند فلوروتانین را نسبت به آب و حلال‌های غیرقطبی با کارایی بالاتری انجام داد. اگرچه بدلیل متغیر بودن فاکتورهای استخراج و عصاره‌گیری مقایسه کمی و سنجش فعالیت‌های زیستی حتی در گونه‌های مشابه نیز دارای پیچیدگی می‌باشد (Moon and Shibamoto, 2009). یکی از دلایل بالاتر بودن فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های آلی را می‌توان به استفاده از متانول در مطالعه حاضر و بهره‌برداری از ترکیبی از روش‌های خیساندن و اولتراسونیک مرتبط نمود. دلیل انتخاب متانول برای استخراج قطبیت بالای آن و قدرت شویندگی زیاد این حلال در استخراج متابولیت‌های طبیعی بود (Taranto et al., 2017). متانول قابلیت انحلال دسته‌گسترده‌ای از متابولیت‌های فعال طبیعی را دارد. علاوه بر این، در این روش حضور اجزاء فرار، همچنین برخی ترپنوئیدها و استروئیدها به میزان قابل توجهی حضور دارند. نتایج مطالعات مختلف نیز بیانگر کارایی بالای متانول در استخراج ترکیبات آنتی‌اکسیدان از جلبک‌هاست. با این حال باید در نظر داشت اگرچه نوع حلال مورد استفاده برای استخراج تأثیر زیادی بر کارایی استخراج متابولیت‌های تولید شده توسط جلبک از جمله ترکیبات آنتی‌اکسیدان دارد اما لزوماً استخراج مقادیر بیشترین ترکیبات فنولی و دیگر ترکیبات منجر به افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمی‌گردد. برای مثال در مطالعات مختلف متانول بیشترین بازده استخراج ترکیبات فنولی را ارائه داده است (Fazeli-nasab et al., 2019). اما فعالیت آنتی‌اکسیدانی ثبت شده عصاره متانولی از عصاره استونی کمتر بوده است. دلیل این نتایج استخراج ترکیبات فنولی غیر فعال بوسیله متانول می‌باشد. با استخراج این ترکیبات غیر فعال غلظت ترکیبات فعال آنتی‌اکسیدان در عصاره کاهش یافته و در نتیجه فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره کاسته می‌شود.

نتایج این مطالعه نشان داد میزان MIC عصاره آلی جلبک *Padina* در مقابل *V. alginolyticus*، *V. parahaemolyticus* و *V. harveyi* بترتیب معادل ۲۵۶، ۶۴ و ۶۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر ثابت شد. در حالیکه میزان کشندگی این عصاره در مقابل باکتریهای *V. alginolyticus*، *V. parahaemolyticus* و *V. harveyi* بترتیب ۵۱۲، ۲۵۶ و ۱۲۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر ثابت شد. در حالیکه این نتایج نشان داد کمترین فعالیت ضد میکروبی عصاره آبی جلبک *Padina* در غلظت‌های ۵۱۲، ۲۵۶ و ۱۲۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر در مقابل سویه‌های بیماریزای *V. alginolyticus*، *V. parahaemolyticus* و *V. harveyi* ثابت شد. عصاره آبی استخراج شده از این جلبک در مقابل باکتری *V. parahaemolyticus* در غلظت‌های مورد استفاده کشندگی نشان نداد لیکن در مقابل باکتریهای *V. alginolyticus* و *V. harveyi* حداقل کشندگی را در غلظت‌های ۵۱۲ و ۲۵۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر نشان داد. هم‌راستا با نتایج مطالعه حاضر مطالعه شیرانی بیدآبادی و همکاران (۲۰۲۳) نشان داد حداقل MIC عصاره استخراج شده از جلبک پادینا در مقابل *Staphylococcus aureus* معادل ۱۲/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر ثابت شد. میزان حداقل غلظت کشنده MBC این عصاره معادل ۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر ثابت شد. در مطالعه دیگری Kausalya و همکاران (۲۰۱۵) فعالیت ضد میکروبی عصاره‌های جلبک‌های مختلف از جمله *Padina* را نشان دادند. نتایج مطالعه آنها نشان داد بیشترین فعالیت ضد باکتریایی در مقابل *Klebsiella pneumoniae* ثابت شد. همچنین عصاره آلی این جلبک در مقابل باکتریهای *Staph. Aureus* و *Streptococcus pyogenes* ثابت شد. نتایج مطالعه حاضر همچنین فعالیت ضد میکروبی بالای عصاره آلی استخراج شده از جلبک *Sargassum* را تایید نمود. این نتایج نشان داد عصاره آلی جلبک *Sargassum* کمترین غلظت MIC خود را در مقابل باکتریهای *V. parahaemolyticus*، *V. harveyi* و *V. alginolyticus* بترتیب در غلظت‌های ۱۲۸، ۶۴ و ۱۲۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر نشان داد. در حالیکه کمترین غلظت کشندگی برای این عصاره در مقابل باکتریهای مذکور بترتیب معادل ۲۵۶، ۱۲۸، ۱۲۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر ثابت شد. این نتایج برای عصاره آبی مقداری کمتری را نشان داد بطوریکه MIC عصاره آبی جلبک *Sargassum* در مقابل هر دو باکتری *V. parahaemolyticus* و *V. alginolyticus* برابر با ۲۵۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر و در مقابل *V. harveyi* معادل ۵۱۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر است. بر همین اساس مقادیر MBC عصاره آبی این جلبک نیز در مقابل *V. parahaemolyticus* معادل ۵۱۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر و در مقابل *V. alginolyticus* و *V. harveyi* بترتیب در غلظت‌های ۲۵۶ و ۱۲۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر ثابت شد. این میزان اگرچه از فعالیت آنتی‌بیوتیک تجاری تتراسیکلین پایین‌تر بود اما با توجه به وجود سایر ترکیبات غیر از ماده مؤثره در عصاره آلی جلبک‌های مورد مطالعه این میزان فعالیت قابل ملاحظه ارزیابی می‌باشد. در همین زمینه سایر مطالعات نیز فعالیت ضد میکروبی بالای جلبک *Sargassum* را گزارش کرده‌اند (Dip et al., 2024). در مجموع مقایسه فعالیت ضد میکروبی عصاره‌های استخراج شده از جلبک‌های *Padina* و *Sargassum* بیانگر بیشترین فعالیت ضد میکروبی عصاره آلی جلبک *Sargassum* علیه سویه‌های بیماریزای ویبریو بود. با توجه به گرم منفی بودن این باکتریها و مقاومت بیشتر این باکتریها نسبت به باکتریهای گرم مثبت نسبت به ترکیبات ضد میکروبی نتایج بدست آمده می‌تواند نوید بخش باشد. مقاومت بیشتر باکتری‌های گرم منفی بدلیل ساختار مقاوم‌تر آنها در مقابل عوامل ضد میکروبی است. این باکتریها دارای غشای خارجی بوده و از عبور ملکول‌های آب‌گریز و درشت‌جولگیری می‌کنند (Kakoullis et al., 2021).

نتیجه‌گیری

عصاره آلی جلبک‌های مورد مطالعه می‌توانند به عنوان منبع ترکیبات آنتی‌اکسیدان و ضد میکروبی در جیره غذایی آبزیان مورد بهره‌برداری قرار گیرند. بدلیل فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی آنها در مقابل باکتری‌های ویبریو عامل بیماری‌های AHPND این عصاره‌ها می‌توانند گزینه نویدبخشی به عنوان تقویت‌کننده ایمنی در پرورش میگوی مطرح گردند. نتایج این مطالعه همچنین قابلیت جلبک‌های بومی را به عنوان ابزاری برای تغییر رویکرد به فراورده‌های طبیعی در مدیریت بهینه آبی پروری و فعالیت‌های مسئولانه به منظور توسعه پایدار این صنعت نشان داد. همچنین نتایج این مطالعه قابلیت‌های زیستی جمعیت‌های جلبک بومی و ظرفیت کاربرد صنعتی آنها را در زیست‌فناوری و آبی‌پروری تبیین نمود.

سپاسگزاری

این مقاله پژوهشی برگرفته از پایان‌نامه با عنوان "ارزیابی تاثیر ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی عصاره جلبک‌های بومی خلیج عمان (*Sargassum* و *Padina*) در مقابل باکتری‌های بیماری‌زای میگوی پرورشی" مصوب دانشگاه پیام نور واحد اربیل عراق می‌باشد. همچنین بدین وسیله از مساعدت و راهنمایی آقای دکتر محسن گذری رئیس بخش بهداشت و بیماری‌های آبزیان پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان برای فراهم کردن امکان دسترسی به باکتری‌های ویبریو سپاسگزاری می‌شود.

References

- m, R. and Gozari, M., 2024. Evaluation of the Antioxidant, Cytotoxic, and Antibacterial Activities of the Ethanolic Extract of Terminalia catappa Against Zoonotic Vibrio Species. *Journal of Marine Medicine*, 5(4), pp. 223-230. <https://doi.org/10.30491/5.4.223>. (In persian)
- 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, p. 100278. <https://doi.org/10.1016/j.fooHum.2024.100278>
- Fawole, F.J., Nazeemashahul, S., Chanu, T.I., Sharma, A., Kazeem, G.O., Ferosekhan, S. and Kinnera, T., 2024. Application of Immunostimulants for Aquaculture Health Management. *Immunomodulators in Aquaculture and Fish Health*. CRC Press. pp. 103-115.
- Fazeli-nasab, B., Moshtaghi, N. and Forouzandeh, M., 2019. Effect of solvent extraction on phenol, flavonoids and antioxidant activity of some Iranian native herbs. *Journal of Ilam University of Medical Sciences*, 27(3), pp. 14-26. <https://doi.org/10.29252/sjimu.27.3.14>
- Foon, T.S., Ai, L.A., Kuppusamy, P., Yusoff, M.M. and Govindan, N., 2013. Studies on in-vitro antioxidant activity of marine edible seaweeds from the east coastal region of Peninsular Malaysia using different extraction methods. *Journal of Coastal Life Medicine*, 1(3), pp. 193-198. <https://doi.org/10.12980/JCLM.1.2013C1189>
- Ganesan, P., Kumar, C.S. and Bhaskar, N., 2008. Antioxidant properties of methanol extract and its solvent fractions obtained from selected Indian red seaweeds. *Bioresource Technology*, 99(8), pp. 2717-2723. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.07.005>
- 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*, p. 741649. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2024.741649>
- 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), p. 415. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10040415>
- Kumar, V., Roy, S., Behera, B.K., Bossier, P. and Das, B.K., 2021. Acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND): virulence, pathogenesis and mitigation strategies in shrimp aquaculture. *Toxins*, 13(8), p. 524. <https://doi.org/10.3390/toxins13080524>
- Leong, L. and Shui, G., 2002. An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets. *Food Chemistry*, 76(1), pp. 69-75. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(01\)00251-5](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(01)00251-5)
- Liu, X., 2015. Extraction and Antioxidant Activity of Phlorotannins from Edible Brown Algae. <http://www.lib.ncsu.edu/resolver/1840.16/10707>
- Luthman, O., Robb, D.H., Henriksson, P.J., Jørgensen, P.S. and Troell, M., 2024. Global overview of national regulations for antibiotic use in aquaculture production. *Aquaculture International*, pp. 1-18. <https://doi.org/10.1007/s10499-024-01614-0>
- Moon, J.-K. and Shibamoto, T., 2009. Antioxidant assays for plant and food components. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(5), pp. 1655-1666. <https://doi.org/10.1021/jf803537k>
- Narsale, S.A., Chrisolite, B., Sivasankar, P., Subash, P., Mansoor, M., Selvamagheswaran, M., Debbarma, S., P, M.K., Baidya, S. and Kadam, R., 2024. Isolation, characterization, virulence genes, antimicrobial resistant genes, and antibiotic susceptibility pattern of Vibrio

- parahaemolyticus in relation to AHPND from shrimp farms in coastal districts of Tamil Nadu. *Aquaculture International*, 32(4), pp. 3835-3851. <https://doi.org/10.1007/s10499-023-01353-8>
- 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), pp. 358-362. <https://doi.org/10.1134/S1547477124702443>
- Pazir, M., Ahmadi, A., Nazari, M., Aein Jamshid, K., Sharifinia, M., Jafari, O. and Pourmozaffar, S., 2025. AHPND disease: An investigation of the pVA1-type plasmid characteristics of pathogenic agents. *International Journal of Veterinary Research*, 5(2), pp. 1-16. <https://doi.org/10.22034/5.2.1>
- Praveen, N.K. and Chakraborty, K., 2013. Antioxidant and anti-inflammatory potential of the aqueous extract and polysaccharide fraction from brown marine macroalgae Padina sp. from Gulf of Mannar of Peninsular India. *Journal of Coastal Life Medicine*, 1(1), pp. 38-48-30. <http://www.jclmm.com/qk/7.pdf>
- Rastegar, S. and Gozari, M., 2016. Antioxidant and antifungal activities of two spices of mangrove plant extract. *Journal of Coastal Life Medicine*, 4(10), pp. 779-783. <https://doi.org/10.12980/jclm.4.2016J6-180>
- Rostagno, M.A. and Prado, J.M., 2013. Natural product extraction: principles and applications. Royal Society of Chemistry.
- Shirani Bidabadi, K., Safaeian, S., Mousavi Nadushan, R. and Rahimifard, N., 2023. Identification of Bioactive Compounds in the Extracts of Brown Algae Sargassum (Sargassum angustifolium) and Padina) Padina distromatic (and Evaluation of Antimicrobial, Antioxidant and Enzymatic Properties. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 19(2), pp. 259-277. <https://doi.org/10.22067/ifstrj.2021.73113.1104>
- Sohrabipour, J. and R. Rabiei, 2007. The checklist of green algae of the Iranian coastal lines of the Persian Gulf and Gulf of Oman. *The Iran Journal of Botany*, 13 (2), pp. 146-149. <https://dor.isc.ac/dor/20.1001.1.1029788.1386.13.2.17.7>
- Soto-Rodriguez, S.A., Gomez-Gil, B., Lozano-Olvera, R., Aguilar-Rendón, K.G. and González-Gómez, J.P., 2024. Identification of new *Vibrio campbellii* strains harboring the pVA1 plasmid isolated from *Penaeus vannamei* postlarvae affected by outbreaks of acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) in Mexico. *Aquaculture*, 579, p. 740221. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2023.740221>
- Stephenson, G.L., 1994. Guidance Document on Collection and Preparation of Sediments for Physicochemical Characterization and Biological Testing. *Environment Canada*. <https://publications.gc.ca/site/eng/9.579583/publication.html>
- Taranto, F., Pasqualone, A., Mangini, G., Tripodi, P., Miazzi, M.M., Pavan, S. and Montemurro, C., 2017. Polyphenol oxidases in crops: biochemical, physiological and genetic aspects. *International journal of molecular sciences*, 18(2), p. 377. <https://doi.org/10.3390/ijms18020377>
- Vergara-Solana, F.J., 2024. Aquaculture and employment: Impact on livelihood and poverty. An Introduction to Sustainable Aquaculture. *Routledge*, pp. 225-239.
- Wang, T., Jónsdóttir, R. and Ólafsdóttir, G., 2009. Total phenolic compounds, radical scavenging and metal chelation of extracts from Icelandic seaweeds. *Food Chemistry*, 116(1), pp. 240-248. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.02.041>
- Wei, L.S., Sukri, S.A.M., Tahiluddin, A.B., Kari, Z.A., Wee, W. and Kabir, M.A., 2024. Exploring beneficial effects of phytobiotics in marine shrimp farming: A review. *Heliyon*, 10(14), e31074. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e31074>