

بررسی اثرات ضدباکتریایی و ضدقارچی جلبک دریایی (*Gracilaria arcuata*) از سواحل چابهار

جواد پیمانی^۱، احمد قرایی^{۲*}، مصطفی غفاری^۳، علی طاهری^۴

چکیده

زمینه و هدف: با توجه به افزایش روزافزون سویه‌های مقاوم به دارو در میان انواع میکروارگانیسم‌ها، یافتن ترکیبات ضد میکروبی و ضدقارچی از مواد طبیعی که قطعاً اثرات جانبی کمتری دارد، از دیرباز مورد توجه محققین بوده است، لذا این مطالعه با هدف بررسی اثر ضد میکروبی و ضدقارچی عصاره اتانولی جلبک قرمز (*Gracilaria arcuata*) از سواحل چابهار انجام شد.

روش بررسی: پس از نمونه برداری عصاره اتانولی جلبک قرمز گراسیلاریا آرکوآتا، خاصیت ضد میکروبی و ضدقارچی آن بر روی ۵ سویه باکتری *Vibrio cholera*، *Proteus vulgari*، *Escherichia coli*، *Listeria monocytogene*، *Staphylococcus aureus* و یک گونه قارچ *Aspergillus flavus* مورد بررسی قرار گرفت و نتایج آن با آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد مقایسه گردید. جهت مقایسه بین گروه‌ها از روش آزمون تی مستقل، آنالیز واریانس یک طرفه و برای بررسی اختلاف بین میانگین‌ها از آزمون دانکن استفاده شد.

یافته‌ها: باکتری *V. cholera* بیشترین حساسیت را با قطر هاله عدم رشد $11/25 \pm 0/35$ نسبت به جلبک قرمز دریایی از خود نشان داد، به طوری که نسبت به آنتی‌بیوتیک تجاری نشومایسین، اختلاف آماری معنی‌داری داشت ($p < 0/05$). باکتری *E. coli* نیز بیشترین مقاومت را نسبت به عصاره اتانولی جلبک این آزمون از خود نشان داد.

نتیجه‌گیری: طبق نتایج این مطالعه، جلبک قرمز (*Gracilaria arcuata*) از سواحل چابهار دارای خواص ضدباکتریایی و ضدقارچی بالایی است.

کلید واژه‌ها: *Gracilaria arcuata*؛ ضدباکتریایی؛ ضدقارچی؛ عصاره؛ چابهار، ایران.

^۱دانش آموخته کارشناسی ارشد شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه زابل، زابل، ایران.

^۲دانشیار شیلات، دانشکده منابع طبیعی و پژوهشکده تالاب بین‌المللی هامون، دانشگاه زابل، زابل، ایران.

^۳دانشیار بهداشت و بیماری‌های آبزیان، گروه شیلات، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، ایران.

^۴استادیار فرآوری محصولات شیلاتی، مرکز تحقیقات علوم زیستی دریای عمان، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، ایران.

*نویسنده مسئول مکاتبات:

احمد قرایی، دانشکده منابع طبیعی و پژوهشکده تالاب بین‌المللی هامون، دانشگاه زابل، زابل، ایران؛

آدرس پست الکترونیکی:

agharaei551@gmail.com

تاریخ دریافت: ۹۱/۶/۱۳

تاریخ پذیرش: ۹۲/۶/۱۰

لطفاً به این مقاله به صورت زیر استناد نمایید:

Peymani J, Gharaei A, Ghafari M, Taheri A. Evaluation of antibacterial and antifungal effects of marine algae (*Gracilaria arcuata*) of chabahar coasts, Iran. Qom Univ Med Sci J 2014;8(1):69-75. [Full Text in Persian]

مقدمه

مصرف روزافزون داروهای شیمیایی باعث ایجاد خودایمنی و عوارض جانبی دیگر می‌شود که از خود بیماری خطرناک‌تر است (۱). امروزه، به دلیل تغییر فرم مقاومتی باکتری‌ها و مقاوم شدن آنها به آنتی‌بیوتیک‌های معمول، گرایش به جایگزینی آنها با آنتی‌بیوتیک‌های نوین وجود دارد (۲). جلبک‌ها منبعی از ترکیبات مفید و فعال زیستی هستند و تاکنون ترکیبات زیستی متعدد و با گستره کاربردی متنوعی همچون اثرات آنتی‌بیوتیکی، ضدویروسی، ضدقارچی و ضدسرطانی از جلبک‌های پرسولوی شناسایی و مشتق شده‌اند که بسیاری از متابولیت‌های اولیه و ثانویه این جانداران می‌توانند به مواد فعال مورد علاقه صنایع دارویی تبدیل شوند (۳).

تنوع جلبک‌ها به‌عنوان بخش مهمی از فلور سواحل جزر و مدی اقیانوس‌ها، دریاها و تولیدکنندگان اولیه اکوسیستم‌های دریایی، تابع عوامل جغرافیایی و اقلیمی حاکم بر آن مناطق می‌باشد. در مطالعه‌ای گزارش شده است میزان تولیدات اولیه در بسترهای مرجانی و جلبکی می‌تواند از میزان تولیدات اولیه در جنگل‌های پرباران مناطق حاره‌ای بیشتر باشد (۴). این منبع پرارزش بیولوژیکی دارای کاربردهای گوناگونی است که استفاده از جلبک‌ها به‌عنوان غذا و دارو بیش از سایر جنبه‌ها، نظر انسان را به‌خود جلب کرده است (۵، ۶). جلبک‌های دریایی حاوی مقادیر بالایی ویتامین، مواد معدنی، پروتئین، کاروتنوئید، فیبر و اسیدهای چرب ضروری هستند و کاربرد غذایی دارند. جلبک‌ها علاوه بر غذا می‌توانند کاربرد صنعتی، آرایشی و پزشکی نیز داشته باشند (۷). جلبک‌ها به‌واسطه داشتن پلی‌ساکاریدهای ارزشمندی مانند (آگار، کاراژینان و آلژینات) دارای ارزش و اهمیت اقتصادی زیادی هستند (۸). همچنین جلبک‌ها در سه گروه اصلی سبز، قرمز و قهوه‌ای طبقه‌بندی می‌شوند (۹). جلبک قرمز، به‌ویژه جنس گراسیلاریا از منابع اصلی استخراج آگار محسوب شده، که به‌واسطه رشد سریع و داشتن خاصیت ژل زیاد بیش از سایر آگاروفیت‌ها مورد توجه می‌باشد (۱۰). همچنین اکثر اعضای جنس گراسیلاریا دارای کاربردهای زیادی هستند. این جلبک در برخی از کشورها به‌عنوان ماده خام برای استخراج مواد پلی‌ساکارید و یا به‌صورت مستقیم به‌عنوان سبزی تازه مورد

استفاده قرار می‌گیرد (۱۱). از لحاظ دارویی نیز وجود ترکیبات ضدویروسی و ضدتوموری برای اعضای این جنس گزارش شده است (۱۲). در کشور ایران جلبک‌های دریایی از سه خانواده جلبک‌های سبز، قهوه‌ای و قرمز در سواحل جزر و مدی چابهار یافت می‌شود و تمامی این جلبک‌ها در فصول مختلفی از سال قابل بهره‌برداری هستند (۱۳). متأسفانه در ایران مطالعات کمی روی خواص زیست‌فعال این منابع ارزشمند انجام گرفته است و مطالعات متعدد زیست فناوری در این زمینه ضروری می‌باشد، لذا در این تحقیق به بررسی اثرات ضدباکتریایی و ضدقارچی جلبک قرمز *Gracilaria arcuata* سواحل جزر و مدی چابهار علیه ۵ سویه باکتری و یک گونه قارچ پرداخته شد.

روش بررسی

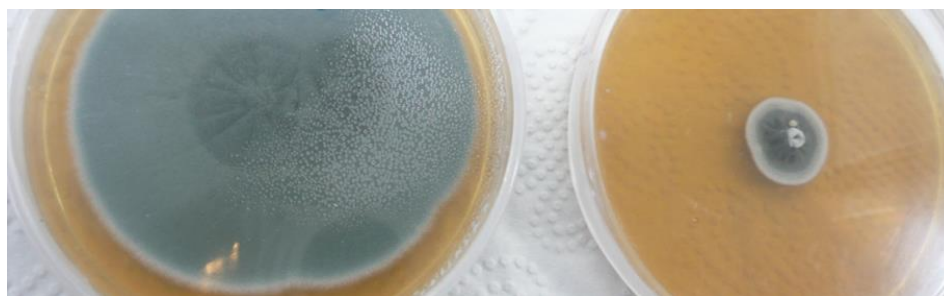
جلبک دریایی *Gracilaria arcuata* در فصل زمستان از نواحی صخره‌ای ساحل چابهار جمع‌آوری و بعد از انتقال به آزمایشگاه میکروبی‌شناسی دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار و شستشو، در آون در دمای ۶۰°C خشک گردید. ۲۰g پودر آسیاب‌شده با ۲۰۰ml اتانول ۹۶ درجه مخلوط و به مدت ۴۸ ساعت در تاریکی نگهداری شد. هر ۱۶ ساعت محتویات ارلن به مدت ۲۵ دقیقه هم زده شد و پس از ۴۸ ساعت این محتویات به‌وسیله کاغذ صافی واتمن شماره ۱ صاف و عصاره تغلیظ‌شده توسط فیلتر ۰/۲۲ میکرون استریل شد (۱۴).

باکتری‌های *S. aureus*، *E. coli*، *P. vulgaris*، *V. cholera* و *L. monocytogenes* مورد استفاده در این تحقیق از مرکز کلکسیون قارچ و باکتری‌های ایران خریداری شد. یک روز قبل از آزمون ضد میکروبی، از کشت مادر مقداری به محیط مولر هینتون براث اضافه و پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در فاز لگاریتمی رشد باکتری با استفاده از اسپکتروفوتومتر، غلظت باکتری‌ها با لوله استاندارد مک‌فارلند شماره ۰/۵ برابر شد. در ادامه، با استفاده از یک سواپ پنبه استریل، سوسپانسیون باکتریایی روی محیط آگار کشت داده شد، و سپس روی محیط آگار، دیسک‌های آماده بلانک (محصول شرکت ایران دارو) به ظرفیت ۲۵µl به فاصله حداقل ۲۵ml از یکدیگر و از لبه پلیت به‌وسیله یک پنس استریل به‌دقت قرار گرفت.

آخرین لوله‌ای که هیچ کدورتی در آن دیده نشد، به‌عنوان حداقل غلظت ممانعت‌کنندگی رشد در نظر گرفته شد. از تمام لوله‌های فاقد کدورت رشد جهت تعیین حداقل غلظت کشندگی عصاره جلبکی، به روش پور پلیت کشت داده شد و آخرین غلظت از عصاره که قادر به مرگ ۹۹/۹٪ از باکتری‌های زنده اولیه بود، به‌عنوان حداقل غلظت کشندگی میکروارگانیسم در نظر گرفته شد، این آزمایشها ۳ بار تکرار گردید.

برای انجام آزمون ضدقارچی از روش کاشت قارچ مورد در محیط کشت Saburud dextrose agar استفاده شد؛ بدین صورت که ۵۰۰µl عصاره جلبک قبل از سرد شدن محیط کشت، اتوکلاو و درون پلیت استریل ریخته شد و پس از اضافه شدن محیط کشت به آن در جهت عقربه‌های ساعت با دقت هم زده شد. در ادامه بعد از سرد شدن محیط کشت، قارچ *A. flavus* خریداری‌شده از مرکز کلکسیون قارچ و باکتری‌های ایران به‌وسیله یک پیپت پاستور استریل در وسط محیط کشت داده شد، سپس به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۳۷°C انکوبه شد. از یک محیط کشت جداگانه حاوی قارچ نیز جهت کنترل مثبت (شاهد) استفاده گردید. پس از این مدت، رشد بسیار اندکی در محیط کشت مشاهده شد (شکل).

در مرحله بعد، مقدار ۲۰µl از عصاره اتانولی به دیسک‌ها توسط سمپلر ۲۰ تزریق گردید. همچنین از دیسک‌های استاندارد نومایسین و جنتامایسین (ساخت شرکت ایران دارو) به‌عنوان استاندارد استفاده شد. در ادامه، پلیت‌ها در دمای ۳۷°C انکوبه شدند و هاله عدم رشد باکتری‌ها با استفاده از کولیس ورنیه اندازه‌گیری و ثبت گردید. آزمایش با ۳ بار تکرار انجام شد. جهت تعیین حداقل غلظت بازدارنده، روش رقت‌های متوالی در لوله برای عصاره جلبکی به کار برده شد. برای هر باکتری از یک سری لوله آزمایش ۹ تایی استفاده گردید که شامل ۷ عدد لوله برای رقت‌های مختلف، یک لوله شاهد مثبت و یک لوله شاهد منفی بود. به لوله‌های آزمایشی، ۹ml محلول نوترینت براث اضافه و استریل گردید. بعد از فیلترکردن عصاره توسط فیلتر میکروبی ۰/۲۲ میکرون، مقدار ۱ml از عصاره به لوله شماره ۱ اضافه و بعد از هموژن کردن آن، ۱ml از مایع هموژن به لوله شماره ۲ و به ترتیب تا لوله شماره ۷ منتقل گردید، ۱ml از لوله شماره ۷ نیز دور ریخته شد. به لوله‌های (۱-۷) غیر از شاهد منفی، ۱۰µl از کشت رقیق‌شده در محیط مایع (کشت استانداردشده با ۰/۵ مک فارلند، که به نسبت ۱/۵۰۰ رقیق شده است) اضافه شد. در ادامه تمامی لوله‌ها پس از انکوباسیون در دمای ۳۷°C و به مدت ۲۴ ساعت، از نظر کدورت ناشی از باکتری بررسی شدند.



شکل: کشت *A. flavus* در دو محیط کشت حاوی عصاره جلبک و فاقد عصاره الف) کشت قارچ *A. flavus* در محیط کشت حاوی عصاره جلبکی ب) کشت شاهد در محیط فاقد عصاره جلبکی

عصاره جلبک با قطر هاله عدم رشد $11/25 \pm 0/35$ mm از خود نشان داد که در مقایسه با نتایج آنتی‌بیوتیک‌ها عصاره جلبک از تأثیر بالایی برخوردار بود ($p < 0/05$). همچنین تأثیر مثبت عصاره بر روی دیگر باکتری‌های مورد پژوهش به‌خوبی مشخص گردید. اثر عصاره مذکور در تمام موارد بجز باکتری گرم منفی *E. coli* نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های تجاری بیشتر بود. تأثیر عصاره بر روی

جهت تحلیل داده‌ها از آزمون‌های آماری تی مستقل و آنالیز واریانس یک‌طرفه و برای بررسی اختلاف میانگین‌ها از آزمون دانکن استفاده شد.

یافته‌ها

در این مطالعه باکتری *V. cholera* بیشترین حساسیت را نسبت به

باکتری‌های *P. Vulgaris*، *L. monocytogenes*، *E. coli* اختلاف معنی‌داری با آنتی‌بیوتیک نئوماکسین نشان داد ($p < 0.05$)، اما تفاوت معنی‌داری با آنتی‌بیوتیک جنتامایسین در باکتری‌های *S. aureus* و *V. cholera* مشاهده نشد ($p > 0.05$). از طرفی، بین تأثیر عصاره مذکور روی باکتری *L. monocytogenes*

باکتری‌های *P. Vulgaris*، *L. monocytogenes*، *E. coli* اختلاف معنی‌داری با آنتی‌بیوتیک نئوماکسین نشان داد ($p < 0.05$)، اما تفاوت معنی‌داری با آنتی‌بیوتیک جنتامایسین در باکتری‌های *S. aureus* و *V. cholera* مشاهده نشد ($p > 0.05$). از طرفی، بین تأثیر عصاره مذکور روی باکتری *L. monocytogenes*

جدول: مقایسه قطر هاله عدم رشد (mm) عصاره مورد و آنتی‌بیوتیک استاندارد روی میکروارگانیسم‌های مورد مطالعه

باکتری‌ها	عصاره اتانولی	نئوماکسین	جنتاماسین
<i>L. monocytogenes</i>	11/07 ± 0/20 ^a	6/74 ± 0/41 ^c	8/31 ± 0/14 ^b
<i>S. aureus</i>	10/35 ± 0/75 ^a	*	10 ± 0/2 ^a
<i>E. coli</i>	7/8 ± 0/4 ^b	10/85 ± 0/55 ^a	-
<i>P. vulgaris</i>	10/5 ± 0/79 ^a	7/25 ± 0/15 ^b	-
<i>V. cholerae</i>	11/25 ± 0/35 ^a	-	7/4 ± 0/1 ^b

هاله عدم رشد مشاهده نشد.

حروف لاتین هم‌نام در هر ردیف نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در تیمارها می‌باشد.

بحث

در مطالعه حاضر عصاره اتانولی جلبک *Gracilaria arcuata* بیشترین تأثیر را بر باکتری *V. cholerae* نشان داد، که اختلاف معنی‌داری با آنتی‌بیوتیک نئوماکسین داشت. همچنین این عصاره از رشد سایر باکتری‌های مورد بررسی جلوگیری کرد. در سالهای اخیر استفاده گسترده از آنتی‌بیوتیک‌ها باعث به وجود آمدن سویه‌های مقاوم میکروارگانیسم و افزایش روزافزون مقاومت آنتی‌بیوتیکی در سراسر جهان شده است (۱۵).

جلبک‌های دریایی در صنایع کاغذسازی، نساجی، رنگ‌سازی، تهیه فیلم‌های عکاسی، لوازم آرایشی و بهداشتی، علوم پزشکی، داروسازی و دندانپزشکی، تهیه محیط‌های کشت میکروبی، تهیه قرص‌ها، شربت‌های دارویی، قالب‌های اولیه دندان و در تغذیه به‌طور مستقیم و غیرمستقیم مورد استفاده قرار می‌گیرند (۱۶). تاکنون، ترکیبات زیستی متعددی با گستره کاربردی متنوعی همچون اثرات آنتی‌بیوتیکی، ضدویروسی، ضدقارچی و ضدسرطانی از جلبک‌های پرسلولی شناسایی و استخراج شده است و بسیاری از متابولیت‌های اولیه و یا ثانویه این جانداران می‌توانند به مواد زیست فعال مورد استفاده در صنایع دارویی تبدیل شوند (۲۰-۱۷). Rosaline و همکاران (سال ۲۰۱۲) خواص ضدباکتریایی تعدادی از جلبک‌های سواحل Tamil Nadu جنوب هند را مورد مطالعه قرار دادند (۲۱).

در این تحقیق از هگزان، اتیل استات، استون و متانول جهت عصاره‌گیری استفاده شد. نتایج بررسی نشان داد عصاره استونی به‌دست آمده از جلبک‌های مورد نظر اثر ضدباکتریایی بیشتری نسبت به روش‌های دیگر عصاره‌گیری دارد. همچنین در تحقیق دیگری از عصاره جلبک قرمز *G. fisheri* برای پیشگیری از عفونت با *Vibrio harveyi* در میگوی ببری سیاه *monodonpenaeus* استفاده شد. در این بررسی عصاره جلبک از موادی مانند اتانول، متانول، کلروفرم و هگزان تشکیل شده بود. نتایج نشان داد عصاره متانولی *G. fisheri* دارای اثرات ضدباکتریایی بوده و می‌تواند از میگو در برابر *V. haveyi* محافظت کند (۲۲). در اکثر مطالعات انجام‌شده عصاره‌های به‌دست آمده از جلبک‌های قرمز، خواص ضدباکتریایی بیشتری نسبت به سایر جلبک‌ها (قهوه‌ای و سبز) دارند (۲۵-۲۳)، در صورتی که بررسی Caccamese و همکاران در سالهای ۱۹۸۰ و ۱۹۸۵ نشان داد عصاره جلبک‌های قهوه‌ای دارای تأثیر ضدباکتریایی بیشتری نسبت به جلبک‌های قرمز می‌باشد (۲۶، ۲۷). Manivannan و همکاران (سال ۲۰۱۱) نیز فعالیت ضدباکتریایی جلبک‌های قهوه‌ای سواحل Vedralai را مورد بررسی قرار دادند. در این مطالعه از ۷ روش عصاره‌گیری متانولی، استونی، پترولیوم اتر، اتانولی، اتیل استات، کلروفرمی و دی‌اتیل اتر استفاده شد. نتایج نشان داد عصاره متانولی دارای تأثیر بیشتری نسبت به

خشکی‌زی؛ انجام تیمار گرمایی می‌تواند خاصیت ضدباکتری عصاره گیاهان دریایی را از بین ببرد، که این مسئله شاید به دلیل شکستن ساختار بیوشیمیایی ماده فعال ضدباکتری عصاره در اثر تیمار گرمایی باشد. بر همین اساس، عصاره بدون خشک شدن و تنها با استفاده از فیلتر میکروبی ۰/۲۲ میکرون و امتزاج با محیط کشت مایع (نوترینت براث)، مورد بررسی حداقل غلظت کشندگی قرار گرفت و مشخص گردید با افزایش غلظت عصاره، تعداد کلنی‌های باکتریایی به شدت کاهش می‌یابد. بر این اساس در صورتی که امکان خشک کردن عصاره با روشی غیر از روش گرمایی مانند خشک کردن انجمادی انجام شود، میزان حداقل غلظت کشندگی قابل بررسی دقیق‌تر خواهد بود. لذا در مطالعه حاضر عصاره مذکور با داشتن خواص ضدقارچی بالا توانست از رشد قارچ *A. flavus* تا ۷۲ ساعت جلوگیری کند. پیشنهاد می‌شود از دیگر روش‌های عصاره‌گیری مانند متانولی، کلروفرمی، استونی برای بررسی خواص ضدباکتریایی و ضدقارچی این جلبک استفاده شود.

نتیجه‌گیری

طبق نتایج این مطالعه، جلبک قرمز *Gracilaria arcuata* از سواحل چابهار دارای خواص ضدباکتریایی و ضدقارچی بالایی است.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله نویسندگان این مقاله از آقای مهندس امیرسیفان و کارشناسان محترم مرکز تحقیقات شیلات آبهای سواحل دور چابهار به خاطر همکاری در این بررسی و دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار برای فراهم آوردن امکانات آزمایشگاهی و حمایت معنوی این تحقیق و دانشگاه زابل به جهت حمایت مالی تقدیر و تشکر می‌کنند.

دیگر روش‌های عصاره‌گیری می‌باشد، همچنین باکتری *Bacillus subtilis* بیشترین حساسیت را نسبت به عصاره متانولی جلبک *Padinagymnospora* از خود نشان داد. دلیل این تفاوت را می‌توان به فاکتورهایی از قبیل فصل جمع‌آوری آنها، محیط و مراحل مختلف رشد جلبک، روش‌های عصاره‌گیری و گونه جلبک نسبت داد (۲۸).

در مطالعه حاضر تأثیر عصاره اتانولی جلبک بر روی باکتری‌های *S. aureus* و *E. coli* با پژوهش Kolanjinathan و همکاران (سال ۲۰۰۹) مطابقت داشت (۲۹). در مطالعه Vallinayagam و همکاران (سال ۲۰۰۹) نیز عصاره کلروفرمی جلبک قرمز *G. edulis* از رشد باکتری‌های *S. aureus* و *V. cholerae* به ترتیب با قطر هاله عدم رشد $8/8 \pm 0/21$ و $5/63 \pm 0/35$ mm جلوگیری کرد، در صورتی که عصاره اتانولی جلبک در پژوهش حاضر روی باکتری‌های مذکور تأثیر بیشتری داشت که می‌توان در این رابطه گونه جلبک و روش عصاره‌گیری را مؤثر دانست (۳۰). این تفاوت در بررسی ضدباکتریایی جلبک‌های جنوب شرقی هند نیز مشاهده شده است. برخلاف نتایج مطالعه حاضر در پژوهش وی عصاره متانولی جلبک قرمز *G. folifera* تأثیری روی باکتری *E. coli* نداشت (۳۱). همچنین عصاره متانولی جلبک‌های قرمز *G. corticata* و *G. foliifera* سواحل کراچی پاکستان نیز تأثیری روی باکتری‌های *S. aureus* و *E. coli* از خود نشان نداد (۳۲). در حالی که جلبک قرمز مورد بررسی به خوبی باعث عدم رشد باکتری‌های مذکور شد، که می‌توان عواملی مانند فصل جمع‌آوری، محیط و مراحل مختلف رشد جلبک، روش‌های عصاره‌گیری و گونه جلبک را از دلایل این تفاوت دانست. اما در مورد حداقل غلظت کشندگی در مطالعه حاضر باید عنوان نمود با توجه به پیش تیمار انجام‌شده جهت خشک کردن عصاره به دست آمده و حداقل غلظت کشندگی مشخص است برخلاف روش‌های معمول برای خشک کردن عصاره گیاهان دارویی

References:

1. Mimica-Dukie N, Bugarin D, Grbovic S, Mitic-Culafic D, Vukovic-Gacic B, Orcic D. et al. Essential oil of *Myrtus communis* L. As a potential antioxidant and antimutagenic. *Molecules* 2010 Apr 15;15(4):2759-70.
2. Gonzalez del Val A, Platas G, Basillio A, Cabello A, Gorrochategui J, Suay I, et al. Screening of antimicrobial activities in red, green and brown macroalgae from Gran Canaria (Canary Islands, Spain). *Int Microbiol* 2001 Mar; 4(1):35-40.
3. Al-Haj NA, Mashan NI, Shamsudin MN, Mohamad H, Vairappan CS, Sekawi Z. Antibacterial activity in marine algae *Eucheumadenticulatum* against *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus pyogenes*. *Res J Biol Sci* 2009;4(4): 519-524.
4. Rabei R, Assadi M, Nejad Sattari T, Majd AT, Sohrabipour J. The study of species diversity in association of *Gracilariasalicornia* in northeast of Qeshm Island. *Pajouhesh Sazandegi* 2005;17(1):85-92. [Full Text in Persian]
5. Dhargalkar VK, Verlecar XN. Southern Ocean seaweed: A resource for exploration in food and drugs. *Aquaculture* 2009;287:229-242.
6. Rajasulochana P, Dhamotharan R, Krishnamoorthy P, Murugasan S. Antibacterial activity of the extracts of marine red and brown algae. *Marsland Press J Am Sci* 2009;5(3):20-25.
7. Kotnala S, Garg A, Chatterji A. Screening for the presence of antimicrobial activity in Few Indian seaweeds. *Pertanika J Trop Agric Sci* 2009 Feb; 32(1):69-75.
8. Taskin E, Ozturk M, Kurt O. Antibacterial activities of some marine algae from the Aegean Sea (Turkey). *African J Biotechnol* 2007;6(24):2746-51.
9. Cox S, Abu-Ghannam N, Gupta S. An assessment of the antioxidant and antimicrobial activity of six species of edible Irish seaweeds. *Int Food Res J* 2010;17:205-220.
10. Chapman VJ, Chapman DJ. Seaweeds and their uses. 3rd ed. London: Chapman and Hall Pub; 1980. p. 331.
11. Mchugh D. Production and utilization of products from commercial seaweeds. New York: Food & Agriculture Organization of the United Nations (FAO); 1987. p. 189.
12. Molles MC. Ecology, concepts and application. University of New Mexico Albuquerque: McGraw Hill Pub; 1999. p. 509.
13. Gharanjik BM, Abkenar AM. The marine algae of the Sistan and Baluchestan Province, Iran. *Iran Sci Fish J* 2000;9(1):37-49. [Full Text in Persian]
14. Derakhshesh B, Yousefzadi M, Afsharnasab M, Yeganeh V, Dashtian Nasab A. In vitro antibacterial activities of the marine macroalgae *Laurencia snyderiae* and *Sargassum angustifolium* against human pathogens. *Iran South Med J* 2011;4(1):17-22. [Full Text in Persian]
15. Taheri A, Seyfan A, Jalalinezhad S, Nasery F. Antibacterial effect of *Myrtus communis* Hydro-alcoholic extract on some pathogenic bacteria. *Zahedan J Res Med Sci* 2013;15(6):19-24. [Full Text in Persian]
16. Kaladhran P, Kaliaperumal N. Seaweed industry in India Naga. *The Iclarm Quarterly* 1999;22(1):11-14.
17. Choudhury S, Sree A, Mukherjee SC, Pattnaik P, Bapuji M. In vitro antibacterial activity of extracts of selected marine algae and mangroves against fish pathogens. *Asian Fish Sci* 2005;18:285-94.
18. Puglisi MP, Engel S, Jensen PR, Fenical W. Antimicrobial activities of extracts from tropical Atlantic marine plants against marine pathogens and saprophytes. *Mar Biol* 2006;149:991-1002.
19. Kumaran S, Deivasigamani B, Alagappan K, Sakthivel M, Karthikeyan R. Antibiotic resistant *Escherichia coli* strain from seafood and its susceptibility to seaweed extracts. *Asian Pac J Trop Med* 2010;12(2):977-981.

20. Tüney I, Cadirci BH, Ünal D, Sukatar A. Antimicrobial activities of the extracts of marine algae from the coast of Urla (izmir, Turkey). Turk J Biol 2006;30:171-5.
21. Rosaline XD, Sakthivelkumar S, Rajendran K, Janarthanan S. Screening of selected marine algae from the coastal Tamil Nadu, South India for antibacterial activity. Asian Pac J Trop Biomed 2012;140-146.
22. Kanjana K, Radtanatip T, Asuvapongpatana S, Withyachumnarnkul B, Wongprasert K. Solvent extracts of the red seaweed *Gracilaria fisheri* prevent *Vibrio harveyi* infections in the black tiger shrimp *penaeus monodon*. Fish Shellfish Immunol 2011 Jan; 30(1):389-96.
23. Kannapiran E, Nithyanandan M. Antibacterial activity of different fractions of extracts from Palk Bay seaweeds. Seaweeds Res Utiliz 2002;24(1):177-181.
24. Lavanya R, Veerappan N. Antibacterial potential of six seaweeds collected from Gulf of Mannar of southeast coast of India. Adv Biol Res 2011;5(1):38-44.
25. Vairappan CS. Potent antibacterial activity of halogenated metabolites from Malaysian red algae, *Laurencia majuscule* (Rhodomelaceae, Ceramiales). Biomol Eng 2003 Jul; 20(4-6):255-9.
26. Caccamese S, Toscana RM, Funari G, Cormaci M. Antimicrobial and antiviral activities of some marine algae from southern Italy coast. Bot Mar 1985;28(11):505-7.
27. Caccamese S, Azzolina R, Furnari G, Cormaci M, Grasso S. Antimicrobial and antiviral activities of extracts from Mediterranean algae. Bot Mar 1980;23:285-8.
28. Manivannan K, Karthikai G, Anantharaman P, Balasubramanian T. Antimicrobial potential of selected brown seaweeds from Vedalaicoastal waters, Gulf of Mannar. Asian Pac J Trop Biomed 2011 Apr; 1(2):114-20.
29. Kolanjinathan K, Ganesh P, Govindarajan M. Antibacterial activity of ethanol extracts of seaweeds against fish bacterial pathogens. Eur Rev Med Pharmacol Sci 2009;13(3):173-7.
30. Vallinayagam K, Arumugam R, Ragupathi R, Kannan R, Thirumaran G, Anantharaman P. Antibacterial activity of some selected seaweeds from Pudumadam Coastal Regions. Global J Pharmacol 2009;3(1):50-52.
31. Kandhasamy M, Arunachalam KD. Evaluation of in vitro antibacterial property of seaweeds of southeast coast of India. African J Biotechnol 2008;7(12):1958-61.
32. Rizvi MA. Comparative antibacterial activities of seaweed extracts from Karachi costal, Pakistan. Pakistan J Pharmacol 2010 Jul; 27(2): 53-57.