



تأثيرات المضادات البكتيرية لمستخلصات طحلب  
*Cystoseira spp* (الطحالب البنية) من شاطئ

توكرة

قدمت من قبل:

سمية فرج سالم

اشراف الأستاذ الدكتور:

مسعود محمد أقديح

قدمت هذه الرسالة استكمالاً لمتطلبات درجة الاجازة العليا (الماجستير) بقسم

النبات، كلية العلوم

جامعة بنغازي

اكتوبر 2019

Copyright © 2018. All rights reserved, no part of this thesis may be reproduced in any form, electronic or mechanical, including photocopy , recording scanning , or any information , without the permission in writhing from the author or the Directorate of Graduate Studies and Training university of Benghazi .

حقوق الطبع 2018 محفوظة . لايسمح اخذ اى معلومة من اى جزء من هذه الرسالة على هيئة نسخة الكترونية او ميكانيكية بطريقة التصوير او التسجيل او المسح من دون الحصول على اذن كتابي من المؤلف أو إدارة الدراسات العليا والتدريب جامعة بنغازي.



قسم النبات

## تأثيرات المضادات البكتيرية لمستخلصات طحلب

### *Cystoseira* spp (الطحالب البنية) من شاطئ توكرة

اعداد

سمية فرج سالم

نوقشت هذه الرسالة واجيزت بتاريخ: 2019.10.12

تحت اشراف

ا.د.مسعود محمد اقدح

.....التوقيع:

الأستاذ الدكتور:..صالحة فرج بن جويرف (ممتحنا داخليا)

.....التوقيع:

الأستاذ الدكتور:..فرج محمد شعيب (ممتحنا خارجيا)

.....التوقيع:

مدير ادارة الدراسات العليا والتدريب بالجامعة

عميد الكلية

بسم الله الرحمن الرحيم

قل لو كان البحر مدادا لكلمات ربي لنفد البحر قبل ان تنفذ كلمات ربي ولو جئنا بمثله مددا

صدق الله العظيم

سورة الكهف

## الإهداء

إلي والدي ووالدتي وإخوتي عرفانا بجميلهم وعطائهم ، وإلي أساتنتي الأفاضل وأصدقائي

تقديرًا واحترامًا ، أهدي جهدي هذا .

## الشكر والتقدير

أشكر الله سبحانه وتعالى الذي ألهمني الطموح وسدد خطاي وأتقدم بجزيل الشكر والعرفان للأستاذ الدكتور مسعود محمد اقدح أستاذ علم الطحالب الذي أشرف على هذا العمل ولم يبخل بالجهد أو النصيحة كما أشكر الدكتور طارق المقصبي الذي أبدى الكثير من النصح حول المعالجة الإحصائية والذي ساعدني في التحليل الإحصائي.

## قائمة المحتويات

الموضوع	الصفحة
حقوق الطبع .....	ب
قرار لجنة المناقشة.....	ج
الآيه.....	د
الإهداء.....	هـ
الشكر والتقدير.....	و
قائمة المحتويات.....	ز
قائمة الجداول.....	ط
قائمة الأشكال.....	ك
ملخص اللغة العربية .....	س

### الباب الأول

المقدمة.....	2
الهدف من الدراسة.....	6

### الباب الثاني

الدراسات السابقة.....	8
-----------------------	---

## الباب الثالث

17.....	المواد وطرق العمل
17.....	منطقة الدراسة
17.....	الطحاب المستخدم
19.....	تحضير مستخلصات الطحاب
19.....	تحضير محلول اختبار العكارة القياسي
22.....	تحضير المعلق البكتيري
23.....	دراسة تأثير المستخلصات
23.....	البكتيريا المستخدمة
24.....	الأوساط المستخدمة لزراعة السلالات البكتيرية المستخدمة

## الباب الرابع

27.....	النتائج
103 .....	المناقشة
108.....	المراجع العربية
109.....	المراجع الاجنبية
115.....	الملاحق
128.....	ملخص اللغة الانجليزية Abstract

## قائمة الجداول

- جدول (1) تأثير مستخلصات طحلب *C. crinita* باستخدام خمسة مذيبات عضوية مختلفة على نمو خمسة انواع من البكتيريا الممرضة..... 29
- جدول (2) تأثير مستخلصات طحلب *C. compressa* باستخدام خمسة مذيبات عضوية مختلفة على نمو خمسة انواع من البكتيريا الممرضة..... 43
- جدول (3) تأثير زمن الاستخلاص وتركيز مستخلصات الميثانول لطحلب *C. crinita* على نمو البكتيريا المستخدمة..... 47
- جدول (4) تأثير زمن الاستخلاص وتركيز مستخلصات الميثانول لطحلب *C. compressa* على نمو البكتيريا المستخدمة..... 52
- جدول (5) تأثير زمن الاستخلاص وتركيز مستخلصات الايثانول لطحلب *C. crinita* على نمو البكتيريا المستخدمة..... 58
- جدول (6) تأثير زمن الاستخلاص وتركيز مستخلصات الايثانول لطحلب *C. compressa* على نمو البكتيريا المستخدمة..... 64
- جدول (7) تأثير زمن الاستخلاص وتركيز مستخلصات أسيتون لطحلب *C. crinita* على نمو البكتيريا المستخدمة..... 69
- جدول (8) تأثير زمن الاستخلاص وتركيز مستخلصات أسيتون لطحلب *C. compressa* على نمو البكتيريا المستخدمة..... 75

جدول (9) تأثير زمن الاستخلاص وتركيز مستخلصات ايثيل استيت لطحاب

81.....*C. crinita* على نمو البكتيريا المستخدمة.

جدول (10) تأثير زمن الاستخلاص وتركيز مستخلصات ايثيل استيت لطحاب

87.....*C. compressa* على نمو البكتيريا المستخدمة.

جدول (11) تأثير زمن الاستخلاص وتركيز مستخلصات الهكسان لطحاب *C. crinita*

93.....على نمو البكتيريا المستخدمة.

جدول (12) تأثير زمن الاستخلاص وتركيز مستخلصات الهكسان لطحاب

99.....*C. compressa* على نمو البكتيريا المستخدمة.

## قائمة الأشكال

- شكل (1) منطقة الدراسة ( شاطئ توكرة ) ..... 18
- شكل (2.أ) طحلب *C. compressa* ..... 20
- شكل (2.ب) طحلب *C. crinita* ..... 21
- شكل (3) تأثير مستخلصات طحلب *C. crinita* على نمو خمسة أنواع من البكتيريا باستخدام خمسة مذيبات عضوية مختلفة..... 30
- شكل (4) تأثير مستخلصات الميثانول لطحلب *Cystoseira sp.* على نمو بكتيريا *S. aureus* ..... 31
- شكل (5) تأثير مستخلصات الميثانول لطحلب *Cystoseira sp.* على نمو بكتيريا *S. pyogenic* ..... 32
- شكل (6) تأثير مستخلصات الإيثانول لطحلب *Cystoseira sp.* على نمو بكتيريا *S. aureus* ..... 33
- شكل (7) تأثير مستخلصات الإيثانول لطحلب *Cystoseira sp.* على نمو بكتيريا *S. Pyogenes* ..... 34
- شكل (8) تأثير مستخلصات أسيتون لطحلب *Cystoseira sp.* على نمو بكتيريا *S. aureus* ..... 35

- شكل (9) تأثير مستخلصات أسيتون لطحلب *Cystoseira* sp. على نمو بكتيريا  
 36..... *S. Pyogenes*
- شكل (10) تأثير مستخلصات ايثيل استيت لطحلب *Cystoseira* sp. على نمو بكتيريا  
 37..... *S. aureus*
- شكل (11) تأثير مستخلصات ايثيل استيت لطحلب *Cystoseira* sp. على نمو بكتيريا  
 38..... *S. Pyogenes*
- شكل (12) تأثير مستخلصات الهكسان لطحلب *Cystoseira* sp. على نمو بكتيريا  
 39..... *S. aureus*
- شكل (13) تأثير مستخلصات الهكسان لطحلب *Cystoseira* sp. على نمو بكتيريا  
 40..... *S. Pyogenes*
- شكل (14) تأثير مستخلصات طحلب *C. comperssa* على نمو خمسة من أنواع البكتيريا  
 44..... الممرضة باستخدام خمسة مذيبات عضوية مختلفة.
- شكل (15) تأثير زمن الاستخلاص لطحلب *C. crinita* لمذيب الميثانول على نمو  
 48..... البكتيريا المستخدمة.
- شكل (16) تأثير مستخلصات الميثانول لطحلب *C. crinita* على نمو بكتيريا  
 49..... *S. Pyogenes*

- شكل (17) تأثير مستخلصات الميثانول لطحلب *C. crinita* على نمو بكتيريا  
50.....*S. aureus*
- شكل (18) تأثير زمن الاستخلاص لطحلب *C. compressa* لمذيب الميثانول على  
53.....البكتيريا المستخدمة
- شكل (19) تأثير مستخلصات الميثانول لطحلب *C. compressa* على نمو بكتيريا  
54.....*S. Pyogenes*
- شكل (20) تأثير مستخلصات الميثانول لطحلب *C. compressa* على نمو بكتيريا  
55.....*S. aureus*
- شكل (21) تأثير زمن الاستخلاص لطحلب *C. crinita* لمذيب الايثانول على البكتيريا  
59.....المستخدمة
- شكل (22) تأثير مستخلصات الايثانول لطحلب *C. crinita* على نمو بكتيريا  
60.....*S. Pyogenes*
- شكل (23) تأثير مستخلصات الايثانول لطحلب *C. crinata* على نمو بكتيريا  
61.....*S. aureus*
- شكل (24) تأثير زمن الاستخلاص لطحلب *C. compressa* لمذيب الايثانول على  
65.....البكتيريا المستخدمة

- شكل (25) تأثير تركيز مستخلصات الميثانول لطحلب *C. crinata* على نمو بكتيريا  
66..... *S. Pyogenes*
- شكل (26) تأثير مستخلصات الايثانول لطحلب *C. comperssa* على نمو بكتيريا  
67..... *S. aureus*
- شكل (27) تأثير زمن الاستخلاص لطحلب *C. crinata* لمذيب أسيتون على البكتيريا  
70..... المستخدمة.
- شكل (28) تأثير مستخلصات أسيتون لطحلب *C. crinata* على نمو بكتيريا  
71..... *S. Pyogenes*
- شكل (29) تأثير مستخلصات أسيتون لطحلب *C. crinata* على نمو بكتيريا  
72..... *S. aureus*
- شكل (30) تأثير زمن الاستخلاص لطحلب *C. comperssa* لمذيب أسيتون على  
76..... البكتيريا المستخدمة.
- شكل (31) تأثير مستخلصات أسيتون لطحلب *C. comperssa* على نمو بكتيريا  
77..... *S. aureus*
- شكل (32) تأثير مستخلصات أسيتون لطحلب *C. comperssa* على نمو بكتيريا  
78..... *S. Pyogenes*
- شكل (33) تأثير زمن الاستخلاص لطحلب *C. crinata* لمذيب ايثيل اسيتيت على  
82..... البكتيريا المستخدمة.

- شكل (34) تأثير مستخلصات ايثيل اسيتيت لطحاب *C. crinata* على نمو بكتيريا  
83..... *S. Pyogenes*
- شكل (35) تأثير مستخلصات ايثيل اسيتيت لطحاب *C. crinata* على نمو بكتيريا  
84..... باستخدام الجرعات المختلفة
- شكل (36) تأثير زمن الاستخلاص لطحاب *C. comperssa* لمذيب ايثيل اسيتيت على  
88..... البكتيريا المستخدمة
- شكل (37) تأثير مستخلصات ايثيل اسيتيت لطحاب *C. comperssa* على نمو بكتيريا  
89..... *S. Pyogenes*
- شكل (38) تأثير مستخلصات ايثيل اسيتيت لطحاب *C. comperssa* على نمو بكتيريا  
90..... *S. aureus*
- شكل (39) تأثير زمن الاستخلاص لطحاب *C. crinita* لمذيب الهكسان على  
94..... البكتيريا المستخدمة
- شكل (40) تأثير مستخلصات الهكسان لطحاب *C. crinita* على نمو بكتيريا  
95..... *S. Pyogenes*
- شكل (41) تأثير مستخلصات الهكسان لطحاب *C. crinita* على نمو بكتيريا  
96 ..... *S. aureus*
- شكل (42) تأثير زمن الاستخلاص لطحاب *C. comperssa* لمذيب الهكسان على  
100..... البكتيريا المستخدمة

شكل (43) تأثير مستخلصات الهكسان لطحلب *C. comperssa* على نمو بكتيريا

101..... *S. Pyogenes*

شكل (44) تأثير مستخلصات الهكسان لطحلب *C. comperssa* على نمو بكتيريا

102..... *S. aureus*

## تأثير المضادات البكتيرية لمستخلصات طحلب *Cystoseira* spp. (الطحالب)

### البنية) من شاطئ توكرة.

اعداد

سمية فرج سالم

المشرف

ا.د:مسعود محمد اقديح

الملخص

تمت دراسة مستخلصات نوعين من الطحالب البنية *Cystoseira compressa* (Duby, 1930) و *Cystoseira crinite* (Gerloff and Nizamuddin, 1975) (Desfonaines) التي تم تجميعهما من شاطئ توكرة لمعرفة تأثيراتهما المثبطة لنمو خمسة أنواع من البكتيريا (*Klebsiella pneumoniae*, *Esherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Streptococcus pyogenes*)، تم استخدام خمسة أنواع من المذيبات العضوية المختلفة (الميثانول، الإيثانول، أسيتون، ايثيل استيت، الهكسان)، وبتراكيز مختلفة (25، 50، 100، 150 و 200 ميكرو لتر) مستخدمين اقراص المضاد الحيوى 15Azithromycin (AZM 15) كشاهد إيجابي والمذيب Dimethyl sulfoxide (DMSO) كشاهد سلبي، واستخدم أيضا مولرهننون (M.H) كوسط غذائي لاختبار حساسية البكتيريا للمستخلص الطحلي والوسط Nutrient Agar (N.A) لتنشيط البكتيريا المستخدمة، تم اتباع طريقة الانتشار بالحفر (Hole Plate

(Diffusion Method) فى اختبار حساسية البكتيريا لمستخلصات الطحلب (*Cystoseira* و *Cystoseira crinita* و *compressa*) التى تم تحضيرها بطريقة الاستخلاص على البارد.

اعتبرت الزيادة فى اقطار مناطق التنشيط مقارنة مع الشاهد السلبى (4-6 مم) بالتنشيط الفعلى لنمو البكتيريا لهذه المستخلصات و اعطت مستخلصات طحلب *Cystoseira* spp تأثيرا مثبتا متفاوت لنمو البكتيريا الموجبة لصبغة جرام (*S. aureus* , *S. pyogenes*) وازداد هذا التأثير طرديا بزيادة تركيز المستخلص أو زمن الإستخلاص باستثناء مستخلص ايثيل استيت لطحلب *Cystoseira compressa* عند تركيز 50 ميكرو لتر و الزمن 14 و 21 يوم لنمو البكتيريا *S. pyogenes* .

اظهرت مستخلصات طحلب *Cystoseira compressa* اعلى متوسط قراءة لأقطار مناطق تثبيط نمو للبكتيريا *S. pyogenes* , و *S. aureus* مقارنة بطحلب *C. crinita* ، وكان لمذيب الايثانول التأثير الاعلى لتنشيط نمو البكتيريا الموجبة لصبغة جرام مقارنة مع بقية المذيبات الاخرى المستخدمة ، والجدير بالذكر ان مستخلصات هذا الطحلب *Cystoseira* spp لم تعطى اى تأثير مثبت لنمو البكتيريا السالبة لصبغة جرام (*Pseudomonas aeruginosa* , *Klebsiella pneumoniae*, *Esherichia coli*).

## الباب الاول

## الباب الأول

### 1. المقدمة

الطحالب مجموعة من النباتات الthalوسية ذاتية التغذية خلاياها التكاثرية غير محاطة بخلايا عقيمة عدا مجموعة الطحالب الكارية و تصنف تحت مملكة النباتات الthalوسية حقيقة النواة عدا مجموعة الطحالب الخضراء المزرقة فهي بدائية و تنتمي تحت مملكة النباتات الأولية.

الطحالب كثيرة التباين في الحجم والشكل، بعضها كبيرة الحجم مثل بعض مجموعات من الطحالب الخضراء والحمراء والبنية والبعض الاخر منها صغير الحجم (ميكروسكوبي) وأيضاً كثيرة التباين في اللون وطرق المعيشة و التكاثر، تعيش الطحالب في بيئات مختلفة أهمها بيئة المائية ( المياه العذبة أو مياه البحار والمحيطات) حرة أو طافية على سطح الماء أو مثبتة على القيعان ( اقديح وسعيد، 2014) .

منذ أكثر من 4000 عام والطحالب تستخدم في العالم بأمان لأغراض وفوائد اقتصادية كثيرة من أهمها استخدامها كغذاء للإنسان والحيوان و يوجد أكثر من 160 نوع بحري يؤكل مباشرة بواسطة الانسان خاصة في دول جنوب وشرق قارة آسيا التي تمتلك مساحات شاطئية كبيرة جداً ولديهم ثقافة عالية بمدى قيمتها الغذائية وفوائدها، فمثلاً يعتبر طحلب *Spirolina* (التابع للطحالب الخضراء المزرقة) من الغذاء المثالي لإحتوائه على أكثر من 60% من وزنه الجاف بروتين معظمها أحماض أمينية أساسية إضافة إلى الدهون والكاربوهيدرات والفيتامينات والمواد الغير عضوية مثل اليود وله مستقبل واعد في عالم الغذاء والدواء فهو يعمل على خفض نسبة الكولسترول وتقليل الضغط ويعالج السمنة والنحافة وهشاشة العظام والأورام والايبرز والفشل

الكلي والكبدى وفيرس سى والشيوخوخة والإعياء ومقوى عام وينشط الجهاز المناعى لجسم الانسان مما يجعله أكثر قدرة على مقاومة العديد من الأمراض ( اقدىح وسعيد، 2014 ) .

تدخل الطحالب فى السلسلة الغذائىة سواء الطحالب الميكروسكوبىة أو الكبيرة فهى تدخل فى غذاء الانسان بطرىقة مباشرة أو غير مباشرة ، مثل تناول الإنسان للحوم الحيوانات التى تتغذى على الطحالب أو تثبيتها للنتروجين عن طريق الحويصلات المغايرة لبعض الطحالب الخضراء المزرقة ، مما يزيد فى خصوبة التربة ، كذلك للطحالب بعض الاستخدامات الطبية والعلاجية مثل استخدام ما تنتجه الطحالب من اليود لعلاج الغدة الدرقية ( اقدىح وسعيد، 2014 ) .

تستخدم بعض أنواع الطحالب فى علاج الكلى والمثانة والرئة والمعدة، وايضا تستخدم كمضادات لتجلط الدم كما تستخدم مادة الآجار المستخرجة من بعض الطحالب الحمراء لتصليب الأوساط الغذائىة للكائنات الدقيقة وغيرها، كذلك تستخدم الطحالب كمدلولات حيوية لتقييم جودة المياه وتلوثها لذا يمكن استخدامها ككواشف بيولوجية حيوية للحكم على مدى جودة المياه أو صلاحيتها لأي نوعية من الاستخدامات كالشرب والري وكذلك كيفية استخدامها فى المعالجة البيولوجية وتقليل نسب نوعية التلوث ، وتدخل فى التجميل لمعالجة تساقط الشعر وتجديد شباب البشرة كما تدخل فى إزالة ثاني أكسيد الكربون من الأوساط المائية المناسبة لنمو الطحالب التى تقوم بعملية البناء الضوئى مستهلكة ثاني أكسيد الكربون فتزيد من نسبة الأكسجين اللازم لتنفس الأحياء المائية الأخرى ، إضافة إلى استهلاك فضلات الأسماك التى تعتبر من المسمدات العضوية المناسبة لتغذية الطحالب ، وزيادة خصوبة التربة وتماسك حبيباتها حيث تثبت النيتروجين الجوى وتحفظ رطوبة الطبقة السطحية إضافة الى زيادة نسبة المادة الهلامية بالتربة مما يحسن من صفات التربة وقدرتها على الاحتفاظ بالمياه وتقلل نسبة التبخر كما تقوم

بعملية ضبط لدرجة الحموضة والقلوية لدرجة قريبة من المتعادلة وشبه القلوية ، ومعالجة مياه الصرف الصحي والزراعي بواسطة أكسدة هذه المياه وتكسير المواد المعقدة الضارة ، ومادة خصبة للدراسات والأبحاث الفسيولوجية والوراثية والبيئية مثل التمثيل الضوئي وتخزين الأكسجين وتثبيت النيتروجين الجوي وحركة السيتوبلازم ونقل الجينات وتراكم العناصر والنفاذية وغير ذلك من العمليات الحيوية ، ومصدرا للمضادات الحيوية فبعض الطحالب الخضراء مثل *Chlorella* تفرز مضادات حيوية (كلوريلين) مثبطة لنمو البكتيريا والطحالب الأخرى من حولها كنوع من الدفاع والسيطرة على البيئة ، كما يوجد طحلب *Nitzschia palea* من الدياتومات الذهبية العسوية تثبط نمو بكتيريا *E.coli* المنتشرة بكثرة في مياه الصرف الصحي والمسببه للعديد من الأمراض، والمنتجات الأيضية الثانوية للطحالب لها قيمة دوائية فعالة ، فهناك حوالي 2400 منتج تم عزله من الطحالب الحمراء والبنية والخضراء وغيرها ، تميزت بنشاطها المضاد لنمو الميكروبات وهذا مؤشرا للكشف عن القدرة الدوائية القوية للطحالب واستخداماتها في تطوير المضادات الحيوية الجديدة، وتستهلك الطحالب الطازجة والجافه على نطاق واسع من قبل البشر وعلى وجه الخصوص الذين يعيشون في المناطق الساحلية ، ولوحظ أن الطحالب البحرية الصالحة للأكل تحتوى على كميات كبيرة من البروتينات والفيتامينات والمعادن الأساسية لتغذية

وغيرها من المركبات مثل القلويدات ومركبات الفينول والكتيونات المهلجنة والالكانات

واندول والكاروتينات وغيرها من المركبات (Alshalmani *et al.*, 2014).

تعد الأدوية المضادة للأحياء المجهرية (Antimicrobial drugs) من أهم اكتشافات الباحثين خلال القرن العشرين اذا أنها قللت من نسب الوفيات بدرجة كبيرة كما أنها عالجت الكثير من المشاكل الصحية الناتجة عن الأحياء المجهرية الا أنه في أواخر القرن أثبتت الدراسات أن البكتيريا بإمكانها أن تكتسب المقاومة لمثل هذه الأدوية بعد عدة أجيال اذا أنها

تنقل جينات مقاومة فيما بينها واستنتج العلماء أن التعاطي المفرط لمثل هذه الأدوية هو السبب الأساسي لظهور السلالات المقاومة للأدوية ( Uwaezuoke and Aririatu , 2004 ).

ان ظهور وانتشار المقاومة للمضادات الحيوية الكيمائية بين البكتيريا الموجبة والسالبة لصبغة جرام لها دفع الباحثين المهتمين بمجال العلاج الى البحث عن بدائل علاجية للمضادات الحيوية والرجوع الى النباتات الطبية وما تحتويه من مكونات فعالة مضادة للأحياء الدقيقة مثل الفينولات والفلويدات والفلافونويدات وغيرها من المواد الطبيعية التي اكدت جدارتها في علاج او كبح نموها من هذه البكتيريا (Essawi and Srour , 2000).

يوجد العديد من الدراسات على مستخلصات الطحالب لإظهار نشاطاتها المضادة للكائنات الحية الدقيقة وفي السنوات الأخيرة ركزت العديد من البحوث على المنتجات المشتقة من الطحالب لما لها من الأنشطة البيولوجية مثل مضادات البكتيريا و الفطريات والفيروسات وغيرها وان استخدام هذه المضادات الميكروبية تسبب في تغيير الأدوية وبعض أنماط الميكروبات الناجمة عنها ويتطلب تحسين خصائصه الدوائية مما يستلزم مواصلة البحث عن مركبات جديدة مضادة للميكروبات لتطوير الأدوية واعتبرها مؤشر فعالا في مجال الصيدلة .

## الهدف من الدراسة

تهدف هذه الدراسة الى اختبار تأثير مستخلصات نوعين من طحلب البنى سيستوسيرا *Cystoseira crinata* و *Cystoseira compressa* ضد نمو بعض الانواع من البكتيريا الممرضة الموجبة وهي *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*، والسالبة لصبغة جرام *Escherichia coli*، *Klebsiella pneumonia*، *Pseudomonas aeruginosa*، باستخدام خمسة مذيبات عضوية وهي الميثانول والايثانول وايثيل استيت والهكسان وأسيتون.

## الباب الثانى

## الباب الثاني

### 2. الدراسات السابقة

تركزت أغلب الدراسات التي أُقيمت في ليبيا والوطن العربي منذ القرن التاسع عشر لتعريف وتصنيف وانتشار و توزيع الطحالب لهذه المنطقة ( , 1913 , De Toni,1892, , 1893, Ardisson, 1914)، وفي القرن العشرين قام Nizamuddin وآخرون (Nizamuddin *et al.*,1979) بجمع منشورات الطحالب الليبية البحرية القديمة في قائمة واحدة ، الأمر الذي سهل فيما بعد ظهور العديد من الدراسات شملت الساحل الليبي بالكامل لجمع وتعريف وحصر الطحالب الليبية ونتج عن هذه الدراسات العديد من الأنواع الطحلبية التي لم تكن معروفة للعالم إضافة إلى التسجيلات المحلية ( , 2009, 2017, Godeh *et al.*,1992, 2010, 2012, Said *et al.*).

في نهاية القرن العشرين ظهر نوع اخر من الدراسات على الطحالب الليبية تركزت على دراسة الأهمية الاقتصادية لهذه الطحالب من قبل عدد من طلاب الدراسات مثل البغدادي (2001) ، طوقان (2003) ، الفرجاني (2001) ، المحجوب (2015) ، الوجنقي (2019) وغيرهم.

اهتم العديد من العلماء في العالم مع بداية القرن التاسع عشر بدراسة تأثيرات المضادات الحيوية للكائنات الحية الدقيقة ، حيث أعتبر Harder وآخرون (1917) أول من أشار إلى وجود مواد مفرزة من الطحالب تؤثر على نمو نشاط الكائنات الحية الدقيقة حيث لاحظ أن لطحلب *Nostoc punctiforme* القدرة على إفراز مواد ذات سمية على الكائنات الحية المائية الدقيقة .

كما أوضح Akehurst وآخرون (1931) أن الطحالب تستطيع أن توقف نمو الكائنات الحية المائية الأخرى من خلال إفرازها مواد كيميائية تسبب في عرقلة العمليات الحيوية للكائنات الأخرى وسيادتها على المناطق .

بينت دراسة Sleburth وآخرون (1960) وجود حامض Acrylic acid وهو حمض يشبه في تأثيره تأثير المضادات الحيوية للكائنات الحية وهو من ضمن المواد التي يفرزها الطحلب الميكروسكوبي *Phaeocystis pouchetii* ، وفي كاليفورنيا قام James وآخرون (1975) باستخلاص خمسة مركبات من الطحالب البحرية وتم اختبارها ضد البكتيريا الممرضة (*Salmonella sp., E.coli, S. aureus*) حيث أظهرت ثلاثة من هذه المركبات نشاطا مثبطا لنموها.

تولت الأبحاث خاصة في الدول المتقدمة بغرض معرفة واكتشاف المواد الفعالة التي تفرزها الطحالب كنواتج أيضية ثانوية ومعرفة تأثيرها على نمو الكائنات الحية الدقيقة وفي منطقة حوض البحر المتوسط من شاطئ صقلية بإيطاليا قام كل من Coccumese و Azzolina (1979) بدراسة فاعلية مستخلصات ثلاثة وستون نوعا من الطحالب البحرية ( البنية والخضراء والحمراء ) ضد نمو العديد من البكتيريا الممرضة حيث أعطت نتائج ذات فعالية كبيرة .

أشارت دراسة Caccumese وآخرون (1980) تأثيرات مستخلصات عشرون نوع من الطحالب الخضراء والحمراء والبنية على نمو الفيروسات والبكتيريا والفطريات حيث ثبتت مستخلصات الطحالب البنية نمو الفيروسات والفطريات فقط بينما لم تظهر أي تثبيط يذكر على هذه الكائنات الدقيقة لمستخلصات الطحالب الأخرى (الخضراء والحمراء) على نمو أربعة انواع من البكتيريا السالبة والموجبة لصبغة جرام (*E.coli, B.subtilis, P .digatum, S*)

*cerevisiae*) التي كان لها تأثيرات بيولوجية مختلفة بين الانواع افضلها كانت في رتبة *Dictyotales* من الطحالب البنية.

بينت دراسة Rao و Parekh (1981) بأن لمستخلصات عدد من الطحالب الخضراء تأثير واسع على نمو البكتيريا الموجبة لصبغة جرام فقط بخلاف البكتيريا السالبة لصبغة جرام التي لم تتأثر بأى من المستخلصات المختبرة.

كما بينت الدراسة التي قام بها Lustigman وآخرون (1988) أن تأثيرات مستخلصات عدد من الطحالب المجهرية تختلف من نوع لآخر بسبب طبيعة التنافس البيئي، فالبيئة ذات التنافس العالي تختلف عن ذات التنافس المنخفض ، اما الطحالب التي تعيش في البيئة ذات التركيز العالي من البكتيريا تشجع الطحالب لإنتاج مواد مضادة لنموها لمنع منافستها على الغذاء.

في سيريلانكا قام Bandara وآخرون (1988) بدراسة تأثيرات مستخلصات خمسة وثلاثون نوعا من الطحالب البحرية ضد نمو البكتيريا السالبة والموجبة لصبغة جرام (*E. coli*, *S. aureus*) حيث أظهرت مستخلصات ستة وعشرون نوعا فقط من هذه الطحالب اعطت تأثيرا مثبتا لجميع البكتيريا المختبرة .

أوضحت دراسة Cannella وآخرون (1993) أن عدد من مركبات الطحالب تمتلك أنشطة بيولوجية مثل السمية ومضادات للبكتيريا وغيرها من الكائنات الحية الدقيقة.

بينت دراسة Chang وآخرون (1993) أن مستخلصات طحلب *Dunaliella primolecta* لها تأثيرا مثبتا لنمو اربعة انواع من البكتيريا المختبرة *B. subtilis*, *B. cereus*, *S. aureus*, *E. aerogenes*).

اختبر Alam وآخرون (1994) فعالية سبعة أنواع من مستخلصات الطحالب على نمو أربعة أنواع من البكتيريا السالبة والموجبة لصبغة جرام وذلك باستخدام ثلاثة أنواع من المذبيات الميثانول والإيثانول والهكسان حيث اظهرت تأثيرا مثبتا على نمو البكتيريا الموجبة لصبغة جرام باستخدام مذيبان الميثانول والهكسان ولم تؤثر على البكتيريا السالبة لصبغة جرام *Klebsiella pneumoniae* بأى من المستخلصات المختبرة وبينت نتائج تأثيرها على البكتيريا *P. aeruginosa* بمستخلص الميثانول ولم يسجل أى تأثير باستخدام مذيب الإيثانول.

كما درس Vlachos و Critchley (1996) تأثير مستخلصات ستة أنواع من الطحالب الخضراء والحمراء والبنية واستخدامها كمضادات حيوية ضد بعض انواع من البكتيريا ( *B. subtilis*, *S. aureus*, *A. broffi* ) مستخدما بعض المذبيات العضوية المختلفة مثل الميثانول والإيثانول وأسيتون والكلورفورم وثنائى ايثيل ايثر و تحصل على نتائج ايجابية وكان مذيب الإيثانول هو الأفضل فعالية فى عملية الأستخلاص.

بينت دراسة قام بها Halling وآخرون (2000) أن لمستخلصات الطحالب البنية والحمراء والخضراء تأثيرا مثبتا ضد نمو البكتيريا الممرضة المختبرة .

كما اوضح Lima- Filho وآخرون (2002) فعالية ستة أنواع من الطحالب الخضراء والحمراء ( *Ulva fasciata*, *Caulerpa cupressoides*, *Caulerpaprolifera* , ) وثلاثة أنواع من المذبيات العضوية هي الهكسان والكلورفورم والإيثانول حيث اختبرت فعالية المستخلصات على خمسة عشر نوع من البكتيريا ( *B. subtilis*, *S. epidermidis*, *S. aureus*, *C.* ) الموجبة والسالبة ( *E. coli* , *K. pneumonia*, *P. aeruginosa* , *S. typhi freundii* ,

لصبغة جرام وبينت النتائج ان لمستخلصات طحلب *Amansia multifida* بإستخدام مذيبي الهكسان اعطى أفضل فعالية ضد البكتيريا المستخدمة .

بينت دراسة في تركيا قام بها بعض من الباحثين ( Tuney *et al.*, 2006 , ) (Taskin *et al.*,2007) فعالية أحد عشر نوع من الطحالب ومن ضمنها الطحالب البنية (*C. mediterranea* و *C. barbata* و *D. dictoma* ) وأربعة أنواع من المذيبات وأظهرت النتائج أن المذيب ثنائي إيثيل ايثر أعطى أفضل نتائج ضد البكتيريا المختبرة (*E coli*, *Enterococcus sp.*, *Staphylococcus sp.*, *S. epidermid* ,*P. areaginos* ) .

اشارت دراسة قام بها العديد من الباحثين ( Badea *et al.*, 2009, Demeirl *et al.*, ) (2009, Rajasulochana *et al.*, 2009, Seenivasan *et al.*, 2010, Tajbakhsh *et al.*, 2011, Salem *et al.*, 2011, Zbakh *et al.*, 2012, Omar *et al.*,2012 , Elnabris *et al.*, Kausalya *et al.*, 2015, Maheswari *et al.*, 2016. (2013,

تأثيرات نشاطات مستخلصات الطحالب البنية (*Cystoseira sp.*) المثبطة لنمو بعض من انواع البكتيريا

المستخدمة ( *M. lutens*, *Enterobacter sp.* *E.coli* , *S. aureus* ) ، بإستخدام المذيبات المختلفة وهي الكلوروفورم و وأسيتون والهكسان والميثانول واعطت هذه المستخلصات نتائج ايجابية ضد نمو البكتيريا المختبرة .

قام Fadoul وآخرون (2014) بدراسة التأثير المثبط لمستخلصات الطحالب الخضراء المزرقة ( *Oscillatoria sp.*, *Clorella sp.* , *Chara sp.* , *Dunaliella sp.* ) ضد البكتيريا الممرضة (*E. coli*, *S. aureus*, *Bacillus sp.* *P. aeruginosa*.) وتحصلو على نتائج فعالة.

فى الهند اوضحت دراسة قام بها الباحثين ( Vimala et al., 2017 , Sujatha et al., 2019 ) ان مستخلصات طحلب البنى *Sargassum swarzii* و *Hydroclathras sp.* لهما تأثيرا مثبطا لنمو البكتيريا السالبة والموجبة لصبغة جرام (*E. coli*, *P. aeruginosa*.) باستخدام المذيبات العضوية المختلفة وهى الهكسان والميثانول وأسيتون وايثيل استيت وتحصلو على نتائج فعالة .

أما فى ليبيا دراسة فقد أعتبر البغدادي (2001) أول الباحثين فى ليبيا فى هذا المجال وبينت دراسته تأثيرات مستخلصات بعض من الطحالب البنية من رتبة *Dictyotales* (*Dictyota sp.*, *Dilophus spiralis* , *Padina pavonia*) أن مستخلصات طحلب *Dilophus spiralis*

أكثر فاعلية ضد البكتيريا المختبرة (*Bacillus subtilis*, *S. aureus* , *P. aeruginosa*.) ومستخلصات طحلب *Padina pavoina* أقل فاعلية ضد نمو البكتيريا المختبرة ، يليه الفرجاني (2001) الذى درس تأثير مستخلصات الطحلب الأحمر *Rytiphlaea tunetoria* ضد نمو أنواع من البكتيريا المختبرة ( *Staphylococcus. sp.*, *E. coli*, *Enterococcus sp.* ) وتحصلو على نتائج إيجابية ، كما بين طوقان (2003) مستخلصات الطحالب الخضراء من رتبة *Ulvales* على بعض أنواع البكتيريا الممرضة ( *B. cereus*, *S. albus*, )

باستخدام (*Microoccus* sp., *K. pneumonia*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *S. aureus*)  
أربعة مذيبيات عضوية مختلفة و أوضحت الدراسة أن مستخلصات الطحالب باستخدام مذيبي  
الميثانول له تأثيرات مثبطة على نمو بعض من البكتيريا الممرضة المستخدمة.

في مصراته قام الصل (2005) لغرض دراسة تأثير مستخلصات الطحالب (*Cystoseira*  
*montagneci*, *Dictyotapteris tripolitana*, *Padina tenuis*, *Cladophora*  
*glomerata*, *Spyridia filamentosa*, *Gracilaria verrecosa*, *Hypnea*  
*musciiformis Halopteris scopania*.) بينت النتائج ان مستخلصات الكلورفورم  
لجميع الطحالب المدروسة لم يكن لها اي تأثير مثبط على نمو البكتيريا المختبرة وان  
مستخلصات أسيتون وثنائي ايثيل استيت للطحالب كانت اكثر فعالية في تثبيط البكتيريا  
الموجبة لصبغة جرام

(*E. coli*, *K. pneumonia*) لمستخلصات الاستون للطحلين (*Dictyotapteris*  
*tripolitana*, *Halopteris scopania*).

كما قامت الجهمي (2007) بدراسة تأثيرات مستخلصات بعض أنواع الطحالب  
الخصراء (*Ulva fasciata*, *Ulva rigida*, *Ulva taenittia*, *Enteromorpha*)  
*intestinalis*) على نمو البكتيريا (*E. coli*, *K. pneumonia*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*)  
واظهرت مستخلصات الميثانول نتائج ايجابية ، فقد كانت البكتيريا السالبة لصبغة  
جرام *E. coli* هي الاكثر حساسية بينما اظهرت البكتيريا *P. mirabilis* و *K. pneumoniae*  
مقاومتها للأغلب هذه المستخلصات.

اوضح Alghazeer وآخرون ( 2013 ) بدراسة تأثير مستخلصات الطحالب البنية (*Dictyotaperis membracea, Cystoseira barbata*) ضد نمو البكتيريا المختبرة (*E. coli, Salmonella typhi, P. aeruginosa, S. aureus, Bacillus sp., Bacillus subtilis, S. epidmidis*) وتحصلوا على نتائج إيجابية .

أشارت دراسة قام بها عمر ( 2013 ) تأثير مستخلص طحلب (*Calpomenia sinuosa*) ضد نمو بعض الأنواع البكتيرية الممرضة وتحصلت على نتائج إيجابية.

قامت Alshalmani وآخرون ( 2014 ) بدراسة تأثيرات مستخلصات لبعض الطحالب الخضراء والبنية (*Enteromorpha sp., C. compressa*) على نمو البكتيريا الممرضة (*E. coli, S. aureus, P. aeruginosa*) وتحصلوا على نتائج متباينة.

بينت المحجوب ( 2015 ) دراسة طحلبين من الطحالب الخضراء *Ulva lactuca* وطحلب *Enteromorpha intestenais* اظهرت مستخلصات الكلورفورم والميثانول للطحلبين نتائج ايجابية لتنشيط نمو جميع انواع البكتيريا حيث كانت اكثرها حساسية *Staphylococcus aureus, Klebsiella pneumoniae, Pusedomonas areaginosus* وقد تبين ان افضل فترة زمنية لها تأثير على جميع انواع البكتيريا المختبرة وهى ما بين 6-8 ايام ، وتناسب تأثير التركيزات المختلفة طرديا مع تأثير المثبط لبكتيريا ، فكلما زاد التركيز زاد قطر منطقة التنشيط لنمو البكتيريا .

أوضح دراسة قام بها Alghazeer وآخرون ( 2017 ) تأثير مستخلصات نوعان من الطحالب البنية *Padina pavounia* و *Cystosiera compressa* وبينت نتائجها الايجابية ضد البكتيريا المختبرة (*S.aureus, B.cereus, B.pumilus, S.enterica, E.coli*).

## الباب الثالث

## الباب الثالث

### 3. مواد وطرق العمل

#### منطقة الدراسة

تم تجميعطحالب *Cystoseira* من شاطئ توكره وهو شاطئ مفتوح غالبية صخري محاط بالأمواج العالية خلال زيارات متعددة في صيف 2017 من منطقة المد والجزر وبداية المنطقة المغمورة وتم غسلها جيدا بماء البحر ووضعت في أكياس من النايلون للحفاظ عليها ثم وضع القليل من مياه البحر وفي المعمل تم غسلها بالماء العذب عدة مرات لإزالة الشوائب والأملاح والعوالق الملتصقة بها ثم جففت في درجة حرارة الغرفة ، تم الإحتفاظ ببعض العينات في 4% من الفورملين وأخرى على أوراق المعشبة لغرض التصنيف والتعريف والاحتفاظ بها في معشبة قسم النبات كلية العلوم جامعة بنغازي والجزء الأخير من الطحالب حفظ في قنينة العينات في الظل ثم طحنت في المطحنة الكهربائية المنزلية وحفظت على هيئة مسحوق ناعم (بودرة) في عبوات مظلمة جيدة الإغلاق في درجة حرارة الغرفة وعرفت الطحالب من قبل أستاذ علم الطحالب بقسم النبات أ.د.مسعود اقديح فله الشكر والتقدير(الشكل 1).

#### الطحلب المستخدم

يعيش طحلب *Cystoseira* منتشرا حول العالم في البحار والمحيطات الدافئة والباردة ايضا وفي منطقة المد والجزر ( intertidal zone ) او المنطقة المغمورة (subtidal zone) وينتشر بكثرة على الشواطئ الليبية مما مكن الباحثين من تسجيل انواع جديدة علميا ، ويتكون طحلب *Cystoseira* من ثالوس له ما يشبه الساق (Stipe) يحمل في الجزء السفلي بقايا



شكل (1) منطقة الدراسة (شاطئ توكرة).

## تحضير مستخلصات الطحلب

تم تحضير مستخلص الطحلب الخام وذلك بإضافة 5 جرام من مسحوق الطحلب (بودرة) الي 100 مل من المذيبات العضوية المختلفة ( الميثانول ، الايثانول ، أسيتون ، ايثيل استيت ، الهكسان) في دورق مخروطي مغلق بإحكام في درجة حرارة الغرفة وضع في الجهاز الهزاز يعمل بسرعة 100 دورة في الدقيقة (Vlachos *et al.*, 1996) لأزمنة مختلفة (7،14،21 يوم) وتم ترشيح المستخلص باستخدام ورقة الترشيح رقم 1 ووضع الرشيح في جفنة للتبخير في جهاز Rotary evaporator وبعد جفاف الرشيح بالكامل تم اذابته في 2.5 مل من محلول ثنائي ميثيل سلفوكسيد (DMSO (Dimethyl sulf oxide) .

## تحضير محلول اختبار العكارة القياسي

تكمن اهمية هذا الاختبار من خلال مقارنة عكارة محلول كلوريد الباريوم القياسي (Standard barium Chloride solution) مع عكارة المعلقات البكتيرية حيث من خلاله نتعرف على التركيز الذي نتعامل معه وتتم عملية توحيد التراكيز، ويتم تحضير المحلول القياسي باستخدام طريقة Cheesbrough 2000 كالتالي

1- اضافة 1 مل من حامض الكبريتيك الي 99 مل من الماء المقطر مع الرج .

2- تم اضافة 0.6 مل من محلول كلوريد الباريوم الي 99.4 مل من حامض الكبريتيك

المخفف مع الرج ، ينقل حجم معين من محلول القياسي الي انابيب اختبار من نفس

حجم الانابيب المستخدمة لتحضير المعلقات البكتيرية وتحفظ في مكان مظلم عند درجة

الغرفة.



شكل (أ.2) طحلب *C.compressa*



شكل (2.ب) طحلب *C. crinita*

## تحضير المعلق البكتيري

تم تحضير المعلق البكتيرية من خلال اخذ عدد من المستعمرات 2-3 مستعمرة وحقنها في 3 مل من المحلول الملحي العقم ومقارنتها بمحلول العكارة القياسي (محلول كلوريد الباريوم ) لتحديد التركيز المناسب، تم اتباع طريقة Bauer واخرون (Bauer *et al.*, 1996) وذلك لاختبار حساسية البكتيريا للمضادات الحيوية وهي الطريقة المتبعة في معظم المختبرات والمستشفيات.

اتبعت طريقة الانتشار بالآجار بواسطة الحفر (EL-Masry *et al.*, 2000) في اختبار حساسية البكتيريا للمستخلص الطحلي، وذلك بنشر المعلق البكتيري بواسطة الماسحة القطنية (Swab) من المعلق البكتيري بعد ازالة الفائض من الماسحة القطنية بضغطها دائريا على جدار الانبوب الداخلي ، وتم توزيع المعلق البكتيري عن طريق الماسحة القطنية في جميع اتجاهات الطبقة البترية لضمان توزيع المعلق بالكامل على الطبقة ، لكل نوع من انواع البكتيريا المستعملة في الدراسة ، ثم عمل حفر بأقطار متساوية بقطر 4-6 مم في الوسط الغذائي الصلب مولر هنتون (Muller Hinton Agar) بواسطة الثاقب الفليني (Cork borer) ثم وضع المستخلص الطحلي باستخدام تراكيز مختلفة (25،50،100،150،200 ميكرو لتر) في حفر الطبقة البترية ثم توضع في الحاضنة (Incubator) عند درجة 37 درجة مئوية لمدة 24 ساعة ثم تقرا النتيجة بقياس منطقة التثبيط (Inhibition zone) بواسطة القدمة ذات الورنية ، وتم استخدام المذيب العضوي DMSO كشاهد سلبي للتجربة ، واقرص المضاد الحيوي Azithromycin (AZM15) كشاهد ايجابي لكلا الطحليين ( *Cystoseira crinite* , *Cystoseira compressa*).

## دراسة تأثير المستخلصات

### البكتيريا المستخدمة

تم الحصول على خمسة سلالات من البكتيريا الممرضة (السالبة والموجبة لصبغة جرام) من قسم التحاليل بمستشفى الاطفال بنغازي فلهم جزيل الشكر والتقدير، ومن هذه السلالات هي

#### *Staphylococcus aureus*

بكتيريا موجبة لصبغة جرام غير متحركة لا تكون حافظة (Capsule) وتتميز بالشكل الكروي حيث تتجمع وتأخذ شكل العنقودي وتسبب هذه البكتيريا الالتهابات الجلدية والتهابات الحنجرة والتسمم الغذائي وتتأثر بأغلب المضادات الحيوية المعروفة ولكن بعض السلالات منها تكون مقاومة خاصة للمضاد الحيوي البنسلين (Holt et al., 1994، El-Mishad , 2005).

#### *Streptococcus pyogenes*

بكتيريا موجبة لصبغة الجرام تأخذ الشكل السبجي وغير متحركة وتسبب هذه البكتيريا عدة امراض اهمها التهاب الحنجرة وتعتبر مقاومة لبعض المضادات الحيوية بنسيلين و ارثرومايسين (Holt et al., 1994، El-Mishad , 2005) (Erythromycin, Penicillin)

#### *Escherichia coli*

بكتيريا سالبة لصبغة الجرام وعادة ما تكون متحركة عصوية الشكل وتتواجد في الامعاء كبكتيريا طبيعية (Normal flora) ولكن عند وصولها لجهاز البولي تسبب التهاب المسالك البولية وهي تعتبر من الامراض الشائعة وقد يسبب بعض سلالات هذه البكتيريا

التهابات الامعاء وحالات تسمم تتأثر بغالبية المضادات الحيوية المستعملة ضد البكتيريا سالبة لصبغة الجرام (Holt et al.,1994، El-Mishad , 2005).

### *Pseudomonas aeruginosa*

بكتيريا سالبة لصبغة الجرام لا تكون جراثيم داخلية وخارجية وهى متحركة وعصوية الشكل وبعض السلالات قد تكون كبسولة وتسبب هذه البكتيريا امراض عديدة مثل التهابات الجلد خاصة المنطقة المعرضة للحروق وكذلك اصابة الجهاز البولي والتنفسي وتتميز بمقاومتها لغالبية المضادات الحيوية (Holt et al.,1994، El-Mishad , 2005).

### *Klebsiella pneumoniae*

بكتيريا سالبة لصبغة الجرام غير متحركة عصوية الشكل وتكون حافظة خارجية من اهم الامراض التي تسببها هذه البكتيريا اصابة الجهاز التنفسي وكذلك التهابات الجهاز البولي ومقاومة للمضادات الحيوية خاصة تفرز انزيم بيتا لاكتيميز (beta- lactaases) لمضاد الحيوي امبيسلين (ampicillin) (Holt et al.,1994، El-Mishad , 2005).

### **الايوساط المستخدمة لزراعة السلالات البكتيرية المستخدمة :**

تم استخدام نوعين من الاوساط Mullerhinton و Nutrient agar كوسط غذائي لنمو واختبار حساسية البكتيريا للمستخلصات النباتية (Cheesbrough,1984).

تم تحضير الوسط الغذائي Nutrient agar بإذابة 28 جرام من المسحوق الجاهز للوسط الغذائي Nutrient agar فى 100 مل من الماء المقطر وتم تعقيمه فى جهاز الاوتوكليف Autoclave عند ضغط 15 p s i وفى درجة حرارة 121 م لمدة 15 دقيقة ويحتوى اللتر الواحد من الوسط

Pepticdigest of animal tissue 5.00 g

Sodium Chloride 5.00 g.

Yeast extract 1.50 g .

Agar 15.00 g.

Beef extract 1.50 g.

PH :  $7.4 \pm 0.2$ .

تم زرع البكتيريا عليها لتنشيطها بعد ذلك اخذت منها 2.1 مستعمرة في هذه المزرعة البكتيرية الحديثة و وضعت في محلول ملحي معقم Normal saline التي تم تحضيرها عن طريق اخذ 9 جم من كلوريد الصوديوم في 100 مل من الماء المقطر و وضعت في انبوية اختبار 10 مل ثم عقت في الاوتوكليف بعد ذلك وضعت فيها مستعمرة بكتيرية (Cheesbrough ,2000) تم تحضير الوسط الغذائي Muller Hinton الخاص بنمو البكتيريا بإذابة 38 من البودرة الجاهزة للوسط الغذائي في 1000 مل من الماء المقطر وتعقيمه في جهاز التعقيم الاوتوكليف Autoclave في ضغط 15 p s i وفي درجة حرارة 121 م لمدة 15 دقيقة ويحتوي اللتر الواحد من الوسط الغذائي على

Beef infusion 300.00 g.

Casein acid hydrolysate 17.50 g

Starch 1.50 g.

Agar 17.00 g.

PH =  $7.3 \pm 0.2$

تم صب 20 مل من الوسط الغذائي السابق في اطباق بتري معقمة وتركنت لتتصلب بعدها تم تلقح الوسط الغذائي بمقدار 100 ميكرو لتر من المعلق.

## الباب الرابع

## الباب الرابع

### 4. النتائج

لدراسة تأثير مستخلصات الطحالب البحرية على نمو البكتيريا الممرضة تم في هذه الدراسة استخدام نوعين من الطحالب البنية هما *C. crinita* و *C. compressa* وخمسة أنواع من البكتيريا الممرضة منها نوعين من البكتيريا الموجبة لصبغة جرام هما *S. aureus* و *S. pyogenes* وثلاثة أنواع من البكتيريا السالبة لصبغة جرام هي *E. coli* و *P. areaginos* و *K. pneumonia* ، كما تم استخدام أنواع من المذيبات العضوية هي الميثانول (Methanol) والإيثانول (Ethanol) وأسيتون (Acetone) والهكسان (Hexane) وإيثيل استيت (acetate) و (Ethyl) وذلك لاستخلاص المواد القابلة لذوبان في هذه المذيبات ، تم استخدام طريقة الانتشار على الوسط الغذائي مولرهنون (M.H) عن طريق ظاهرة الانتشار عبر الحفر ( Well diffusion ).

بينت التركيزات المختلفة لمستخلصات طحلب *C. crinita* على نمو البكتيريا المستخدمة في هذه الدراسة اعطت تأثيرا مثبتا على نمو البكتيريا الموجبة لصبغة جرام فقط واختلفت هذه التأثيرات حسب المذيب العضوى المستخدم للاستخلاص البكتيريا لذلك نجد ان تأثيرات مستخلصات *C. crinita* باستخدام المذيب العضوى الايثانول على نمو البكتيريا *S. aureus* كان الاعلى تأثير حيث بلغ متوسط قطر منطقة التثبيط 20.6 مم يليه الميثانول 11.3 مم ثم أسيتون و الهكسان 10.6 مم وأقل هذه المذيبات تأثيرا على نمو البكتيريا المستخدمة هو مذيب ايثيل استيت 9.3 مم ، أما بالنسبة لبكتيريا *S. pyogenes* حيث اعطت مستخلصات

الايثانول اعلى تثبيط على نمو هذه البكتيريا بلغ متوسط قطر منطقة 19.6 مم يليه الميثانول 10.3 مم ثم ايثيل استيت 10 مم و اخيرا الهكسان 8.3 مم على التوالي ، أما مستخلصات أسيتون فإنها لم تعطى أى تأثير على البكتيريا *S. pyogenes*، أما البكتيريا السالبة لصبغة الجرام المستخدمة *E. coli* و *P. areuginosa* و *K. pneumoniae* فكانت مقاومة لم تعطى هذه المستخلصات أى تأثير يذكر على نمو هذه البكتيريا وباستخدام الشاهد الايجابي المضاد الحيوى (AZM15) اعطى تأثيرا مثبتا على نمو البكتيريا *S. aureus*. بمتوسط منطقة تثبيط بلغ 38.3 مم واعطت بكتيريا *S. pyogenes* متوسط منطقة التثبيط 36.3 مم ، واستخدم مذيب DMSO كشاهد سلبي عند زمن واحد وعشرون يوما ، كما هو موضح فى الشكل ( 3 - 13 ) والجدول (1).

#### التحليل الاحصائى لجدول (1)

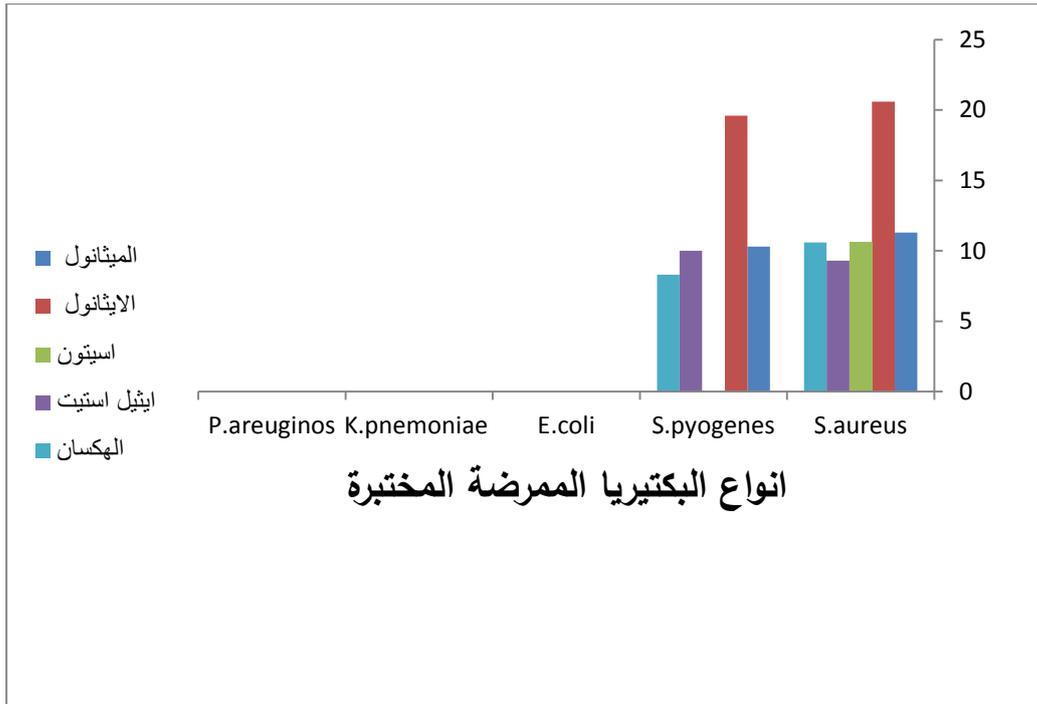
تبين من التحليل الاحصائى ذو الاتجاه الواحد One Way Anova تحت مستوى معنوية  $P < 0.01$  وجود فروق معنويه عالية بين المذبيبات العضوية المختلفة لطحلب *C. crinita* والبكتيريا الممرضة المستخدمة وكان أفضل مذيب لمستخلص طحلب *C. crinita* على تثبيط نمو بكتيريا *S. aureus* و *S. pyogenes* هو الايثانول بعد 21 يوم من الاستخلاص والجرعة 200 ميكرو لتر هذا ومقارنة بالمذبيبات العضوية المستخدمة من خلال اختبار المقارنة Tukey test ، وتبين ان البكتيريا *S. aureus* الاكثر حساسية والاقل حساسية هى *S. pyogenes*، فى حين البكتيريا السالبة لصبغة جرام ( *E. coli*, *P. areuginosa* , *K. pneumoniae* ) هى الاكثر مقاومة.

جدول ( 1 ) تأثير مستخلصات طحلب *C. crinita* باستخدام خمسة مذيبات عضوية مختلفة على نمو خمسة انواع من البكتيريا الممرضة.

<i>P. areuginosa</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>E.coli</i>	<i>S. Pyogenes</i>	<i>S. aureus</i>	البكتيريا المذيبات
			متوسط أقطار منطقة التثبيط (مم)		
00	00	00	0.577± 10.3	0.577± 11.3	1.الميثانول
00	00	00	0.577± 19.6	0.577± 20.6	2.الايثانول
00	00	00	0.000± 00	0.577± 10.6	3.أسيتون
00	00	00	0.000± 10	0.577± 9.3	4.ايثيل استيت
00	00	00	0.577± 8.3	0.577± 10.6	5.الهكسان
00	00	00	00	00	DMSO
-	-	-	36.3	38.3	AZM15

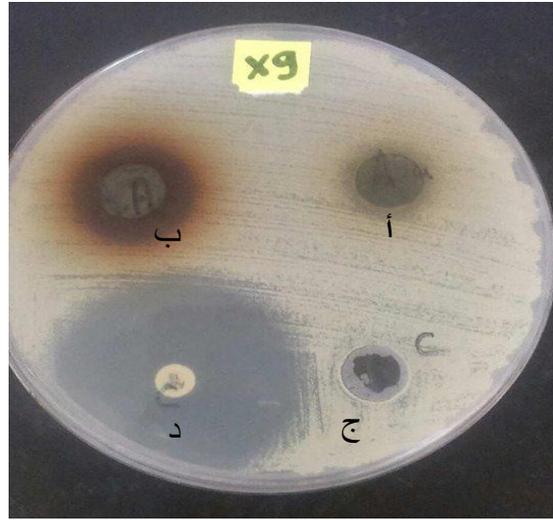
DMSO: الشاهد السلبي، AZM15: الشاهد الايجابي، Azithromycin15، التركيز: 200

ميكرونتر، - : لم تختبر، الزمن: 21 يوم، ±: الانحراف المعياري.



شكل (3) تأثير مستخلصات طحالب *C. crinata* على نمو خمسة أنواع من

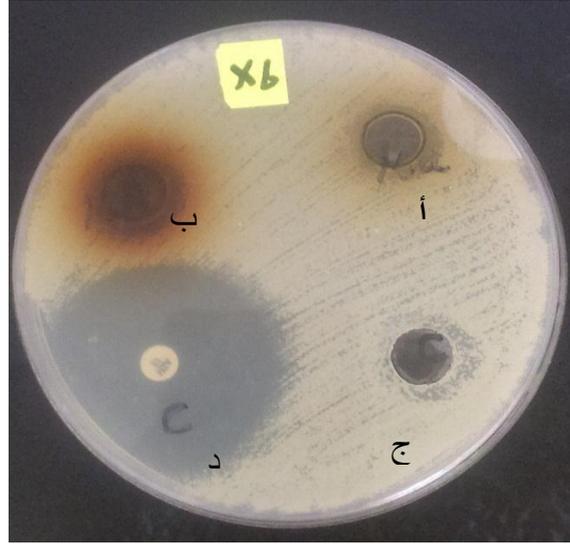
البكتيريا الممرضة باستخدام خمسة مذيبات عضوية مختلفة.



شكل (4) تأثير مستخلصات الميثانول لطحلب *Cystoseira* sp على بكتيريا *S. aureus* (x9) ويمثل:

أ. طحلب *Cystoseira crinata*      ب. طحلب *Cystoseira compressa*

ج. الشاهد السلبي DMSO      د. الشاهد الايجابي AZM15

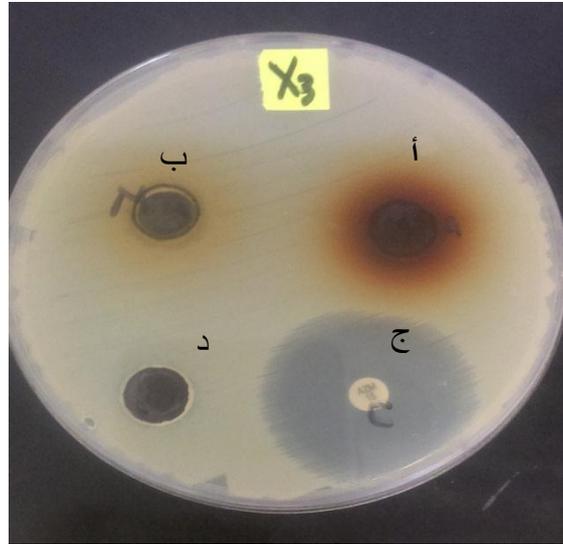


شكل (5) تأثير مستخلصات الميثانول لطحلب *Cystoseira* sp. على بكتيريا *S.pyogenes* (x6) ويمثل:

أ. طحلب *Cystoseira crinata*      ب. طحلب *Cystoseira compressa*

د. الشاهد الايجابي AZM15

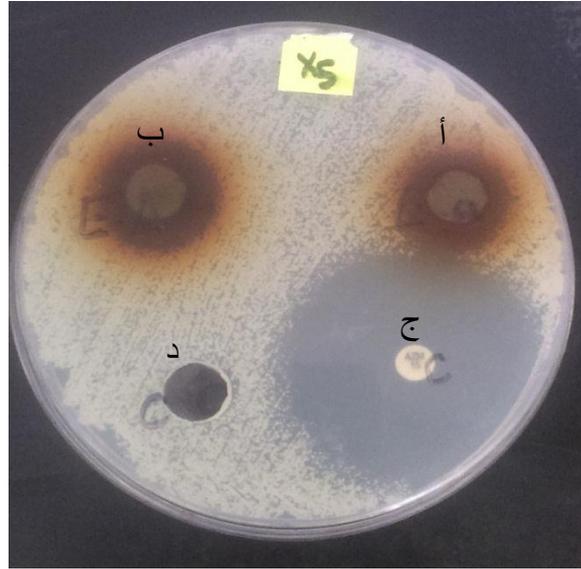
ج. الشاهد السلبي DMSO



شكل (6) تأثير مستخلصات الايثانول لطحلب *Cystoseira* sp. على بكتيريا *S. aureus* (x3) ويمثل

أ. طحلب *Cystoseira compressa*      ب. طحلب *Cystoseira crinata*

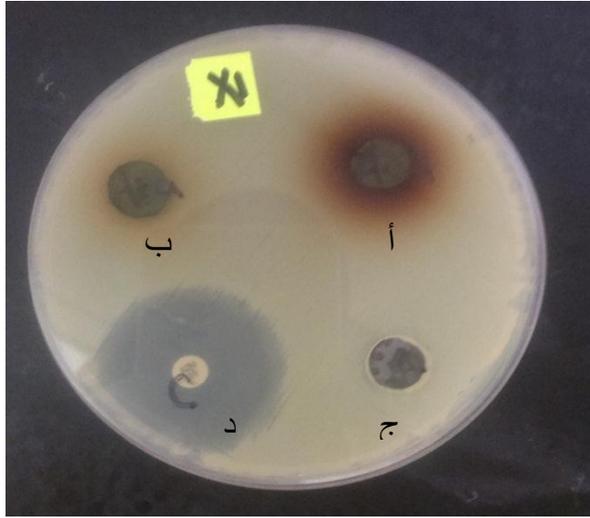
ج. الشاهد الايجابي AZM15      د. الشاهد السلبي DMSO



شكل (7) تأثير مستخلصات الايثانول لطحلب *Cystoseira* sp. على لبكتيريا *S. Pyogenes* (x5) ويمثل:

أ. طحلب *Cystoseira crinata*      ب. طحلب *Cystoseira compressa*

ج. الشاهد الايجابي AZM15      د. الشاهد السلبي DMSO

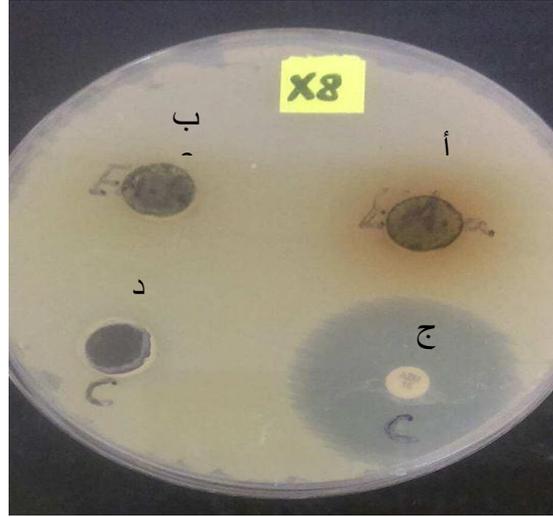


شكل (8) تأثير مستخلصات أسيتوناً لطحلب *Cystoseira* sp. على بكتيريا *S. aureus* (x1) ويمثل:

أ. طحلب *Cystoseira compressa*      ب. طحلب *Cystoseira crinata*

د. الشاهد الايجابي AZM15

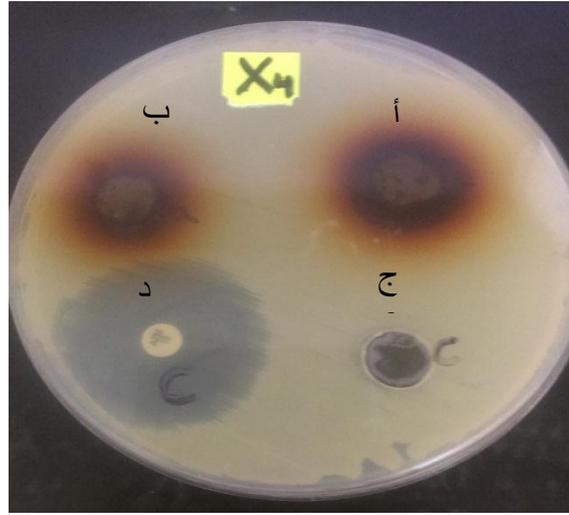
ج. الشاهد السلبي DMSO



شكل ( 9 ) تأثير مستخلصات أسيتون لطحاب *Cystoseira sp.* على بكتيريا *S. Pyogenes* (x8) ويمثل:

أ. طحاب *Cystoseira compressa*      ب. طحاب *Cystoseira crinata*

ج. الشاهد الايجابي AZM15      د. الشاهد السلبي DMSO



شكل (10) تأثير مستخلصات ايثيل استيت لطحلب *Cystoseira* sp. على بكتيريا *S. aureus* (x4) ويمثل:

أ. طحلب *Cystoseira compressa*      ب. طحلب: *Cystoseira crinata*

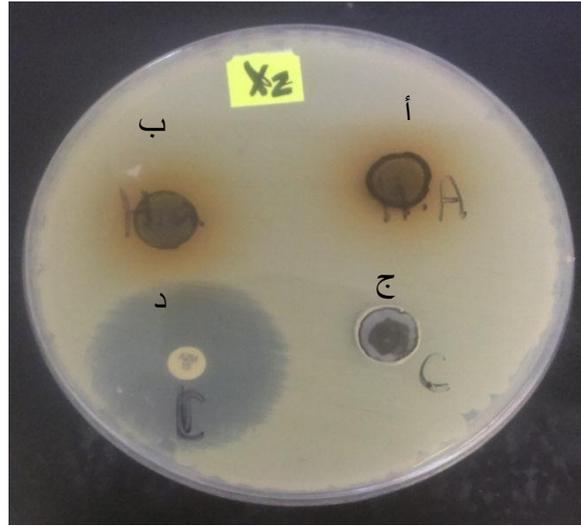
د. الشاهد الايجابي AZM15

ج. الشاهد السلبي DMSO



شكل (11) تأثير مستخلصات ايثيل استيت لطحلب *Cystoseira* sp على بكتيريا *S. Pyogenes* (x10) ويمثل:

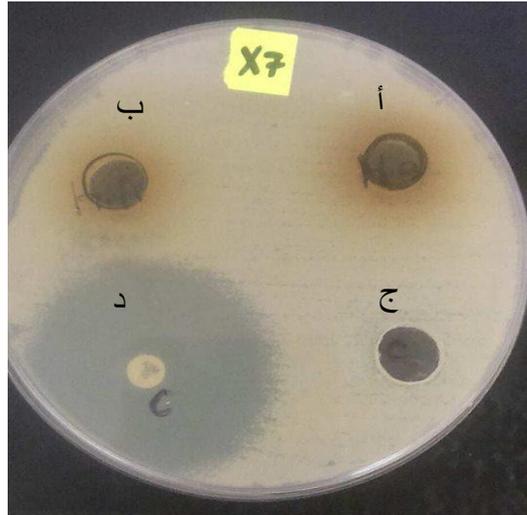
أ. طحلب *Cystoseira compressa*      ب. طحلب *Cystoseira crinata*  
ج. الشاهد الايجابي AZM15      د. الشاهد السلبي DMSO



شكل ( 12 ) تأثير مستخلصات الهكسان لطحلب *Cystoseira sp.* على بكتيريا *S.aureus* (x2) ويمثل:

أ. طحلب *Cystoseira crinata*      ب. طحلب *Cystoseira compressa*

ج. الشاهد السلبي DMSO      د. الشاهد الايجابي AZM15



شكل (13) تأثير مستخلصات الهكسان لطحب *Cystoseira sp.* على البكتيريا *S. pyogenes* (x7) ويمثل:

أ. طحلب *Cystoseira compressa*      ب. طحلب *Cystoseira crinata*

د. الشاهد الايجابي AZM15

ج. الشاهد السلبي DMSO

بينت التركيزات المختلفة لمستخلصات طحلب *C. compressa* على نمو البكتيريا المستخدمة فى هذه الدراسة اعطت تأثيرا مثبطا على نمو البكتيريا الموجبة لصبغة جرام فقط واختلفت هذه التأثيرات حسب المذيب العضوى المستخدم للاستخلاص البكتيريا لذلك نجد ان تأثيرات مستخلصات *C. compressa* باستخدام المذيب العضوى الايثانول على نمو البكتيريا *S. aureus* كان الاعلى تأثير 29 مم لمتوسط قراءات قطر منطقة التثبيط يليه ايثيل استيت 21 مم ثم الميثانول 20 مم ثم أسيتون 16 مم وأقل هذه المذيبات تأثيرا على نمو البكتيريا المستخدمة هو الهكسان 7.2 مم ، أما بالنسبة لبكتيريا *S. pyogenes* حيث اعطت مستخلصات الايثانول اعلى تأثير لمتوسط قراءات قطر منطقة التثبيط على نمو هذه البكتيريا 23.3 مم يليه الميثانول وايثيل استيت 20.3 مم ثم أسيتون 12.3 مم وأقل هذه المذيبات تأثيرا على نمو البكتيريا المستخدمة هو الهكسان 11.6 مم ، أما البكتيريا السالبة لصبغة الجرام المستخدمة *E. coli* ، *K. pneumoniae* ، *P. aeruginosa* فكانت مقاومة لم تعطى هذه المستخلصات اى تأثير يذكر على نمو هذه البكتيريا ، وباستخدام الشاهد الايجابى المضاد الحيوى (AZM15) اعطى تأثيرا مثبطا على نمو البكتيريا *S. aureus* لمتوسط قراءات منطقة تثبيط 38.3 مم واعطت بكتيريا *S. pyogenes* لمتوسط قراءات قطر منطقة التثبيط بلغ 36.3 مم ، واستخدم مذيب DMSO كشاهد سلبى ، عند زمن واحد وعشرون يوما وتركيز 200 ميكرو لتر كما هو موضح فى الشكل (4-13) والجدول (2).

## التحليل الحصائى لجدول 2

تبين من التحليل الاحصائى ذو الاتجاه الواحد One Way Anova تحت مستوى معنوية  $P < 0.01$  وجود فروق معنويه عالية بين المذيبات العضوية المختلفة لطحلب *C. compressa* والبكتيريا الممرضة المستخدمة وكان أفضل مذيب لمستخلص طحلب *C. compressa* على

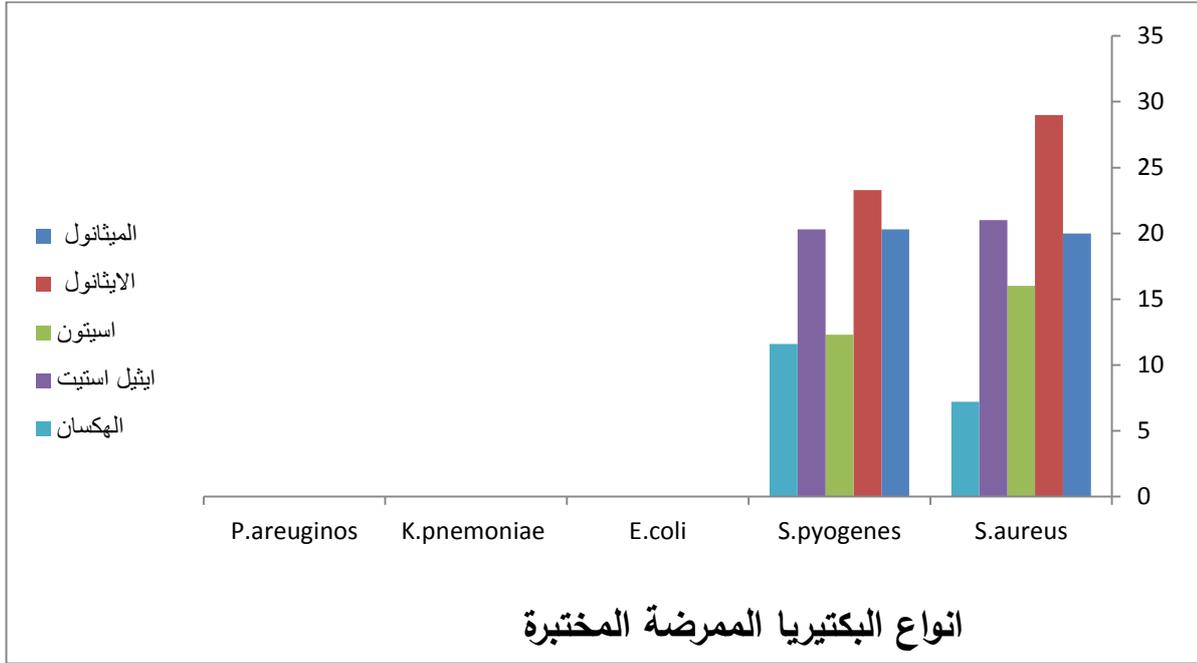
تنشيط نمو بكتيريا *S. aureus* و *S. pyogenes* هو الايثانول بعد 21 يوم من الاستخلاص والجرعة 200 ميكرو لتر هذا ومقارنة بالمذيبات العضوية من خلال اختبار المقارنة Tukey test وتبين ان البكتيريا *S. aureus* الاكثر حساسية والاقل حساسية هي و *S. pyogenes*، فى حين البكتيريا السالبة لصبغة جرام ( *K. pneumonia* , *P. areaginosa*, *E. coli* ) هي الاكثر مقاومة.

جدول (2) تأثير مستخلصات طحلب *C. compressa* باستخدام خمسة مذيبات عضوية مختلفة على نمو خمسة انواع من البكتيريا الممرضة.

<i>P. areuginosa</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. pyogenes</i>	<i>S. aureus</i>	البكتيريا
متوسط أقطار منطقة التثبيط (مم)					المذيبات
00	00	00	0.577± 20.3	0.000± 20	1. الميثانول
00	00	00	0.577± 23.3	0.000± 29	2. الايثانول
00	00	00	0.577± 12.3	1.000± 16	3. أسيتون
00	00	00	0.577± 20.3	1.000± 21	4. ايثيل استيت
00	00	00	0.577± 11.6	1.000±7.2	5. الهكسان
00	00	00	00	00	DMSO
-	-	-	36.3	38.3	AZM15

DMSO: الشاهد السلبي، AZM15: الشاهد الايجابي، التركيز: 200 ميكرو لتر، - : لم

تختبر الزمن: 21 يوم، ، ±: الانحراف المعياري.



شكل (14) تأثير مستخلصات طحلب *C.comperssa* على نمو خمسة انواع من

البكتيريا الممرضة باستخدام خمسة مذيبات عضوية مختلفة.

بينت التركيزات المختلفة لمستخلصات الميثانول لطحلب *C. crinita* وزمن استخلاصها على نمو نوعين من البكتيريا المستخدمة (*S. aureus*, *S. pyogenes*) ان لهذه المستخلصات تأثيرا ايجابيا يزداد بزيادة طردية بين تركيز المستخلصات وزمن الاستخلاص بدرجات متباينة بين هذين النوعين من البكتيريا المستخدمة وذلك باختلاف قطر منطقة التثبيط بالنسبة لبكتيريا *S. aureus* فقد تراوح متوسط قطر منطقة التثبيط ما بين 9 مم عند زمن سبعة أيام و9.6 مم وعند زمنى أربعة عشر و واحد وعشرون يوما و 11.3 مم لنفس التركيز 200 ميكرو لتر وأن تأثير التراكيز المختلفة لهذا المستخلص المحصورة ما بين 25 و 200 ميكرو لتر جميعها أعطت نتائج إيجابية على تثبيط نمو البكتيريا بزيادة طردية بين زمن الاستخلاص و تركيز المستخلص بإستثناء التركيز 25 ميكرو لتر لزمن الاستخلاص سبعة وأربعة عشر يوما، فى حين أعطى هذا التركيز 25 ميكرو لتر فقط عند الزمن واحد وعشرون يوما لمتوسط قراءات قطر منطقة التثبيط 6.6 مم ضد البكتيريا *S. aureus* ، جدول 3 وشكل 16 و 17 ، ونجد أن زمن الإستخلاص وتركيز مستخلصات الميثانول لطحلب *C. crinita* أقل تأثيرا على نمو بكتيريا *S. pyogenes* من البكتيريا *S. aureus* وذلك لمقارنة أقطار منطقة تثبيط حيث بلغ قطر منطقة التثبيط 5.6 مم عند سبعة أيام و 7.3 مم عند أربعة عشر يوما و 10.3 مم عند واحد وعشرون يوما لنفس التركيز 200 ميكرو لتر ، فى حين لم يعطى التركيز 25 ميكرو لتر اى تاثير يذكر لأزمنة الثلاثة (7،14،21 يوم) كما فى جدول (3) وشكل (16 و 17) .

التحليل الاحصائى لجدول(3)

تبيين من التحليل الاحصائي ذو الاتجاه الواحد One Way Anova تحت مستوى معنوية

$P < 0.01$  وجود فروق

معنويه عالية لطحلب *C. crinita* بين تركيز مستخلصات الميثانول وزمن الاستخلاص حيث

كان أفضل زمن للأستخلاص الطحلب من خلال اختبارات المقارنه Tukey test هو واحد

وعشرون يوما عن باقي الأزمنه وأفضل تركيز لنفس الطحلب هو 200 ميكرو لتر عن باقي

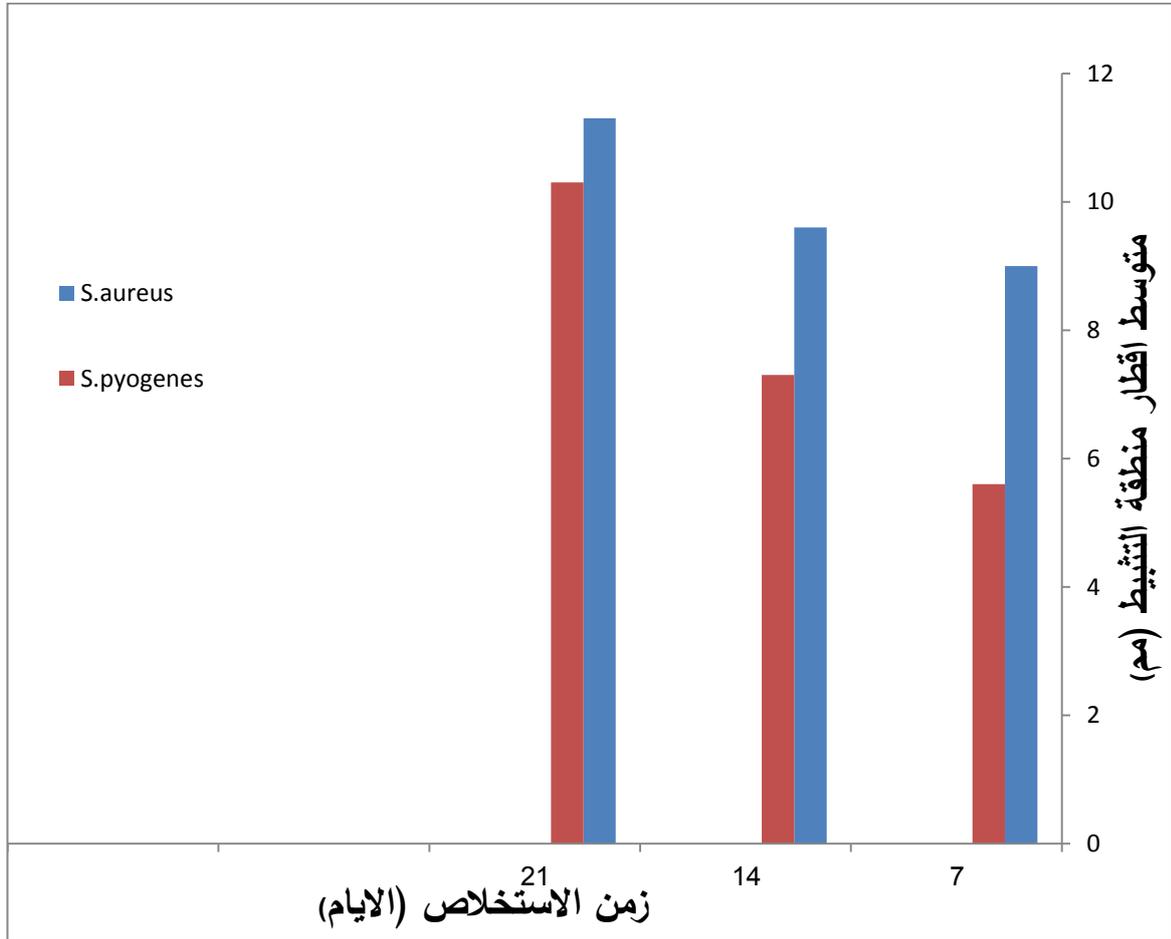
التراكيز المستخدمة، وتبين ان البكتيريا *S. aureus* الاكثر حساسية والاقبل حساسية هي *S.*

*pyogenes*

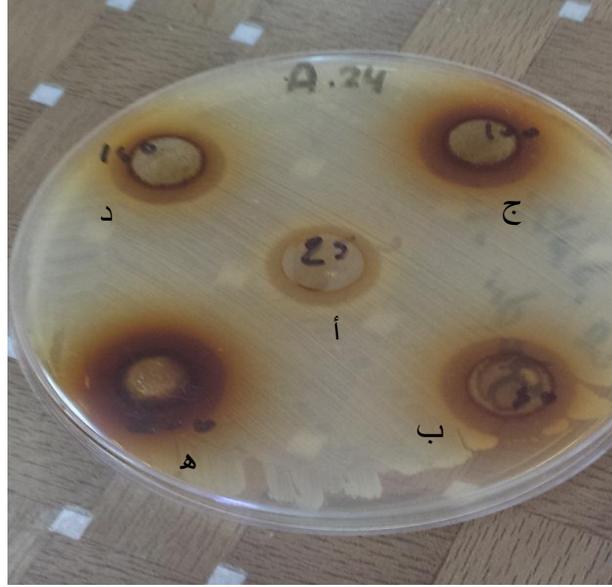
جدول (3) تأثير زمن الاستخلاص وتركيز مستخلصات الميثانول لطحلب *C.crinita* على نمو البكتيريا المستخدمة .

متوسط أقطار منطقة التثبيط (مم)		التركيز (ميكرو لتر)	الزمن (الأيام)
<i>S. pyogenes</i>	<i>S. aureus</i>		
00	00	25	7
2.6	4.0	50	
4.6	5.3	100	
5.0	8.0	150	
5.6	9.0	200	
00	00	25	14
4.0	4.3	50	
4.6	7.3	100	
5.6	8.3	150	
7.3	9.6	200	
00	6.6	25	21
3.3	8.3	50	
7.3	9.0	100	
9.3	9.6	150	
10.3	11.3	200	

ملاحظة: البكتيريا السالبة لصبغة جرام. *E.coli* و *K. pneumoniae* و *P. areuginosa* تم استبعادها من الجداول لأنها لم تبدى أى تأثيرا يذكر من قبل مستخلصات الطحالب.

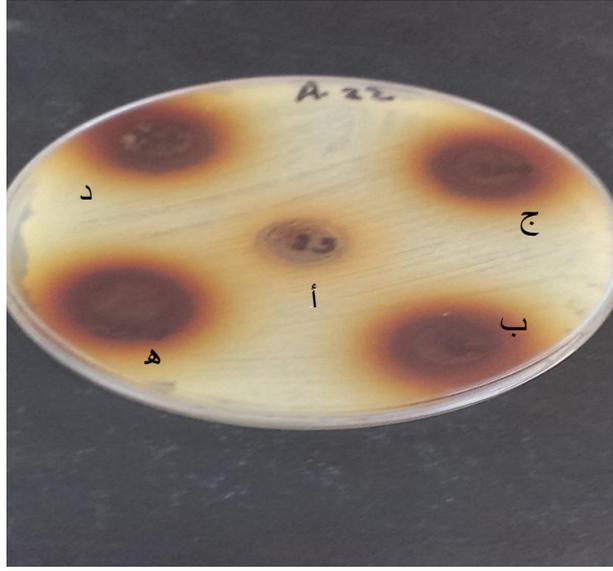


شكل (15) تأثير زمن الاستخلاص لطحلب *C. crinita* لمذيب الميثانول على نمو البكتيريا المستخدمة.



شكل (16) تأثير مستخلصات الميثانول لطحلب *C.crinita* على نمو بكتيريا *S. pyogenes* (A.24) باستخدام التركيزات المختلفة بالميكرو لتر :

أ. 25 ب. 50 ج. 100 د. 150 هـ. 200 .



شكل (17) تأثير مستخلصات الميثانول لطحلب *C. crinita* على نمو بكتيريا *S. aureus* (A.22) باستخدام التركيزات المختلفة بالميكرو لتر :

أ. 25      ب. 50      ج. 100      د. 150      هـ. 200 .

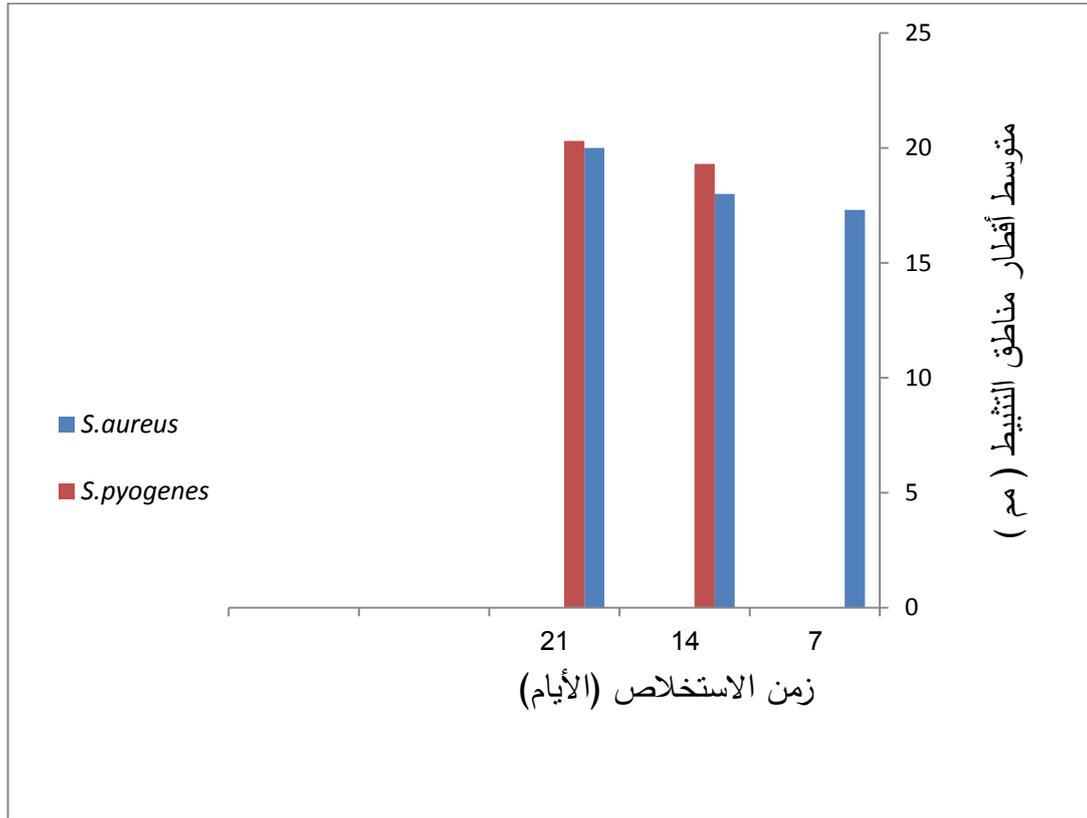
بينت التركيزات المختلفة لمستخلصات الميثانول لطحلب *C. compressa* زمن استخلاصها على نمو نوعين من البكتيريا المستخدمة (*S. aureus*, *S. pyogenes*) إن لهذه المستخلصات تأثيرا إيجابيا يزداد بزيادة طردية بين تركيز المستخلصات وزمن الاستخلاص ولكن بدرجات متباينة بين هذين النوعين من البكتيريا المستخدمة وذلك باختلاف قطر منطقة التثبيط بالنسبة لبكتيريا *S. aureus* فقد تراوحت أقطار منطقة التثبيط ما بين 17.3 مم عند زمن سبعة أيام و 18 مم عند زمن أربعة عشر يوما و 20 مم عند واحد وعشرون يوما لنفس التركيز 200 ميكرو لتر وأن تأثير التركيزات المختلفة لهذا المستخلص المحصورة ما بين 25 و 200 ميكرو لتر جميعها أعطت نتائج إيجابية على تثبيط نمو البكتيريا بزيادة طردية بين زمن الاستخلاص و تركيز المستخلص وان التركيز 25 ميكرو لتر اعطى تأثير مثبطا لنمو البكتيريا *S. aureus* للأزمنة الثلاثة (7،14،21 يوم)، حيث بلغ متوسط اقطار منطقة التثبيط 12.6 مم ، 13.3 مم ، 13.3 مم على التوالي للأزمنة الثلاثة و أن زمن الإستخلاص وتركيز مستخلصات الايثانول لطحلب *C. comperssa* اقل تأثيرا على نمو بكتيريا *S. aureus* من البكتيريا *S. pyogenes* وذلك لمقارنة أقطار منطقة تثبيط باستثناء الزمن سبعة أيام لبكتيريا *S. pyogenes* ، لم تعطى اى تأثير يذكر ، فى حين بلغ قطر منطقة التثبيط 19.3 مم عند أربعة عشر يوما و 20.3 مم عند واحد وعشرون يوما والتركيز 25 ميكرو لتر اعطى فقط لزمنى اربعة عشر وواحد وعشرون يوما ، حيث بلغ متوسط اقطار منطقة التثبيط 13.3 و 14 مم على التوالي كما هو موضح فى الشكل (18 و 19 و 20) جدول (4).

التحليل الاحصائى لجدول (4)

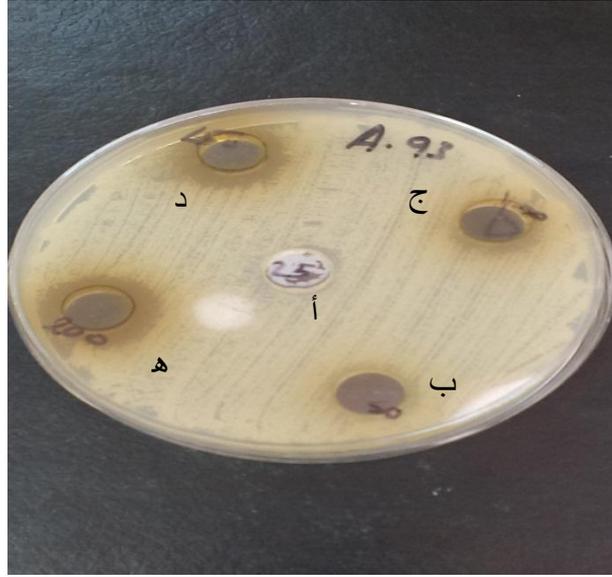
تبين من التحليل الاحصائى ذو الاتجاه الواحد One Way Anova تحت مستوى معنوية  $P < 0.01$  وجود فروق معنويه عالية لطحلب *C. compressa* تبين تركيز مستخلصات الميثانول وزمن الاستخلاص حيث كان أفضل زمن للأستخلاص الطحلب من خلال اختبارات المقارنه Tukey test هو واحد وعشرون يوما يوم عن باقى الأزمنه وأفضل تركيز لنفس الطحلب هو 200 ميكرو لتر عن باقى التركيزات المستخدمة، وتبين ان البكتيريا الاكثر حساسية *S. aureus* و *S. pyogenes*.

جدول (4) ، تأثير زمن الاستخلاص وتركيز مستخلصات الميثانول لطحلب *C.compressa* على نمو البكتيريا المستخدمة .

متوسط أقطار منطقة التثبيط (مم)		التركيز (ميكرو لتر)	الزمن (الأيام)
<i>S. Pyogenes</i>	<i>S. aureus</i>		
00	12.6	25	7
00	14.0	50	
00	15.0	100	
00	15.3	150	
00	17.3	200	
13.3	13.3	25	14
14.3	14.0	50	
16.0	15.0	100	
17.0	16.3	150	
19.3	18.0	200	
14.0	13.3	25	21
16.0	16.0	50	
17.6	17.3	100	
18.6	18.0	150	
20.3	20.0	200	



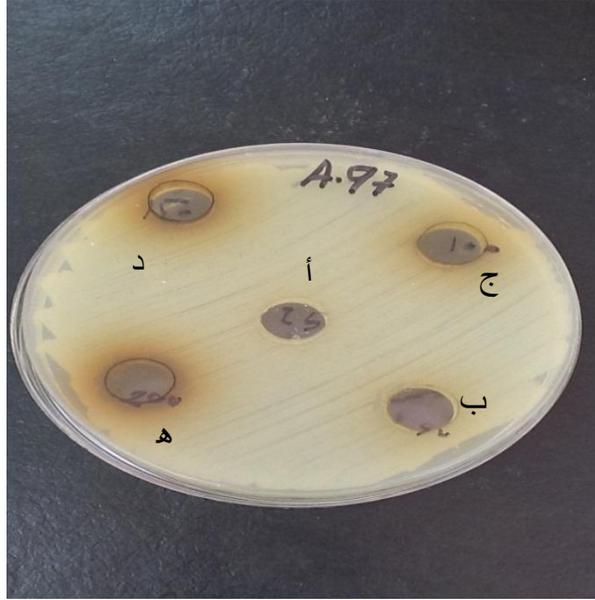
شكل (18) تأثير زمن الاستخلاص لطحلب *C.compressa* لمذيب الميثانول على نمو البكتيريا المستخدمة.



شكل (19) تأثير مستخلصات الميثانول لطحلب *C. compressa* على نمو بكتيريا

*S. pyogenes* (A.93) باستخدام التركيزات المختلفة بالميكرو لتر:

أ. 25    ب. 50    ج. 100    د. 150    هـ. 200 .



شكل (20) تأثير مستخلصات الميثانول لطحلب *C. compressa* على نمو بكتيريا *S. aureus* (A.97) باستخدام التركيزات المختلفة بالميكرو لتر:

أ. 25    ب. 50    ج. 100    د. 150    هـ. 200 .

بينت نتائج تأثير التركيزات المختلفة لمستخلصات الإيثانول لطحلب *C. crinita* وزمن استخلاصها على نمو نوعين من البكتيريا المستخدمة (*S. aureus*, *S. pyogenes*) ان لهذه المستخلصات تأثيرا ايجابيا يزداد بزيادة طردية بين تركيز المستخلصات وزمن الاستخلاص ولكن بدرجات متباينة بين هذين النوعين من البكتيريا المستخدمة وذلك باختلاف قطر منطقة التثبيط بالنسبة لبكتيريا *S. aureus* فقد تراوحت أقطار منطقة التثبيط ما بين 10.3 مم عند سبعة أيام و 19.3 مم عند زمن أربعة عشر يوما و 20.6 مم عند واحد وعشرون يوما لنفس التركيز 200 ميكرو لتر وأن تأثير التراكيز المختلفة لهذا المستخلص المحصورة ما بين 25 و 200 ميكرو لتر جميعها أعطت نتائج إيجابية على تثبيط نمو البكتيريا ، حيث أعطى التركيز 25 ميكرو لتر متوسط قراءات اقطار منطقة التثبيط عند سبعة أيام 3 مم وعند أربعة عشر يوما 4.6 مم و 8 مم عند واحد وعشرون يوما ضد البكتيريا *S. aureus*، ونجد أن زمن الإستخلاص وتركيز مستخلصات الايثانول لطحلب *C. crinita* أقل تأثيرا على نمو بكتيريا *S. aureus* من البكتيريا *S. pyogenes* وذلك لمقارنة أقطار منطقة تثبيط حيث بلغ متوسط قراءات منطقة التثبيط على نمو بكتيريا *S. pyogenes* 8.6 مم عند سبعة أيام و 15 مم عند أربعة عشر يوما و 19.6 مم عند واحد و عشرون يوما لنفس التركيز 200 ميكرو لتر، جميعها أعطت نتائج ايجابية باستثناء التركيز 25 ميكرو لتر لزمن سبعة أيام لم يعطى اى تأثير يذكر، كما هو موضح فى الجدول ( 5 ) والشكل ( 21 و 22 و 23 ).

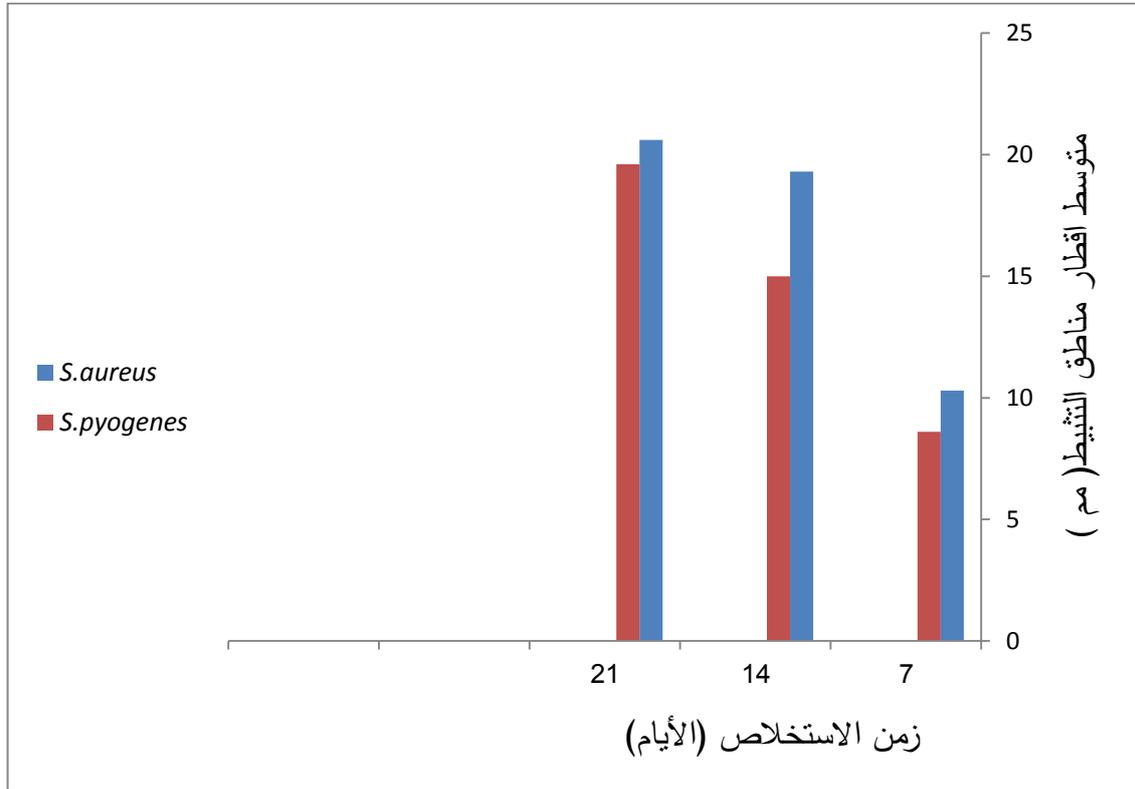
#### التحليل الاحصائى لجدول (5)

تبين من التحليل الاحصائى ذو الاتجاه الواحد One Way Anova تحت مستوى معنوية  $P < 0.01$  وجود فروق معنويه عالية لطحلب *C. crinita* بين تركيز مستخلصات الايثانول و زمن الاستخلاص حيث كان أفضل زمن للأستخلاص الطحلب من خلال اختبارات المقارنه Tukey

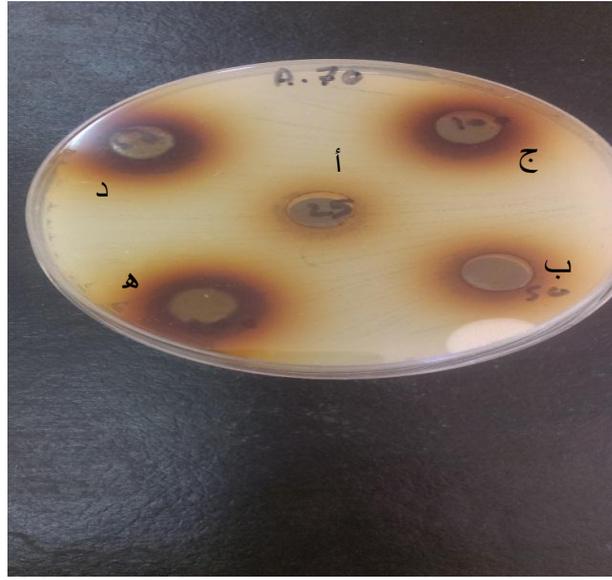
test هو واحد وعشرون يوماً عن باقى الأزمنة وأفضل تركيز لنفس الطحلب هو 200 ميكرو لتر عن باقى التراكيز المستخدمة، وتبين ان البكتيريا *S. aureus* الاكثر حساسية والاقل حساسية هي و *S. pyogenes*.

جدول (5) تأثير زمن الاستخلاص وتركيز مستخلصات الايثانول لطحلب *C.crinita* على نمو البكتيريا المستخدمة .

متوسط أقطار منطقة التثبيط (مم)		التركيز (ميكرو لتر)	الزمن (الأيام)
<i>S. Pyogenes</i>	<i>S. aureus</i>		
00	3.0	25	7
3.3	4.6	50	
4.0	5.6	100	
7.3	7.0	150	
8.6	10.3	200	
8.3	4.6	25	14
9.3	13.0	50	
11.3	15.0	100	
13.3	16.0	150	
15.0	19.3	200	
7.6	8.0	25	21
13.6	16.6	50	
16.3	19.3	100	
17.0	19.6	150	
19.6	20.6	200	

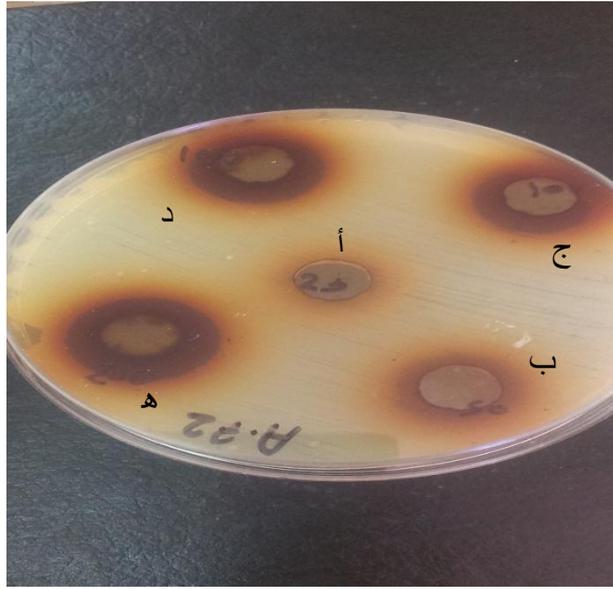


شكل (21) تأثير زمن الاستخلاص لطحالب *C.crinita* لمذيب الإيثانول على نمو البكتيريا المستخدمة.



شكل (22) تأثير مستخلص الايثانول لطحلب *C. crinita* على نمو بكتيريا *S. pyogenes* (A.70) باستخدام التركيزات المختلفة بالميكرو لتر :

أ. 25    ب. 50    ج. 100    د. 150    هـ. 200 .



شكل (23) تأثير مستخلصات الايثانول لطحلب *C. crinita* على نمو بكتيريا *S. aureus* (A.72) باستخدام التركيزات المختلفة بالميكرو لتر :

أ. 25 ب. 50 ج. 100 د. 150 هـ. 200 .

بينت نتائج التركيزات المختلفة لمستخلصات الإيثانول لطحلب *C. compressa* وزمن استخلاصها على نمو نوعين من البكتيريا المستخدمة (*S. aureus*, *S. pyogenes*) ان لهذه المستخلصات تأثيرا ايجابيا يزداد بزيادة تركيز المستخلصات وزمن الاستخلاص زيادة طردية ولكن بدرجات متباينة بين هذين النوعين من البكتيريا المستخدمة وذلك باختلاف قطر منطقة التثبيط بالنسبة لبكتيريا *S. aureus* تراوحت متوسط قراءات لقطر منطقة التثبيط ما بين 19 مم عند زمن سبعة أيام و21.6 مم عند زمن أربعة عشر يوما و 29مم عند واحد و عشرون يوما لنفس التركيز 200 ميكرو لتر وأن تأثير التراكيز المختلفة لهذا المستخلص المحصورة ما بين 25 و 200 ميكرو لتر جميعها أعطت نتائج إيجابية على تثبيط نمو البكتيريا بزيادة طردية بين زمن الاستخلاص و تركيز المستخلص ،و أن زمن الإستخلاص وتركيز مستخلصات الإيثانول لطحلب *C.compressa* أقل تأثيرا على نمو بكتيريا *S.aureus* من البكتيريا *S. pyogenes* ماعدا زمن واحد وعشرون تركيز مستخلصات الإيثانول لطحلب *C.compressa* أقل تأثيرا على نمو بكتيريا *S. pyogenes* من البكتيريا *S. aureus* وذلك لمقارنة أقطار منطقة تثبيط حيث بلغ متوسط قراءات قطر منطقة التثبيط للبكتيريا *S. pyogenes* 22 مم عند سبعة أيام و22 مم عند أربعة عشر يوما و 23.3 مم عند واحد وعشرون يوما كما هو موضح فى جدول (6) وشكل (24 و 25 و 26) عند نفس التركيز 200 ميكرو لتر.

#### التحليل الاحصائى لجدول(6)

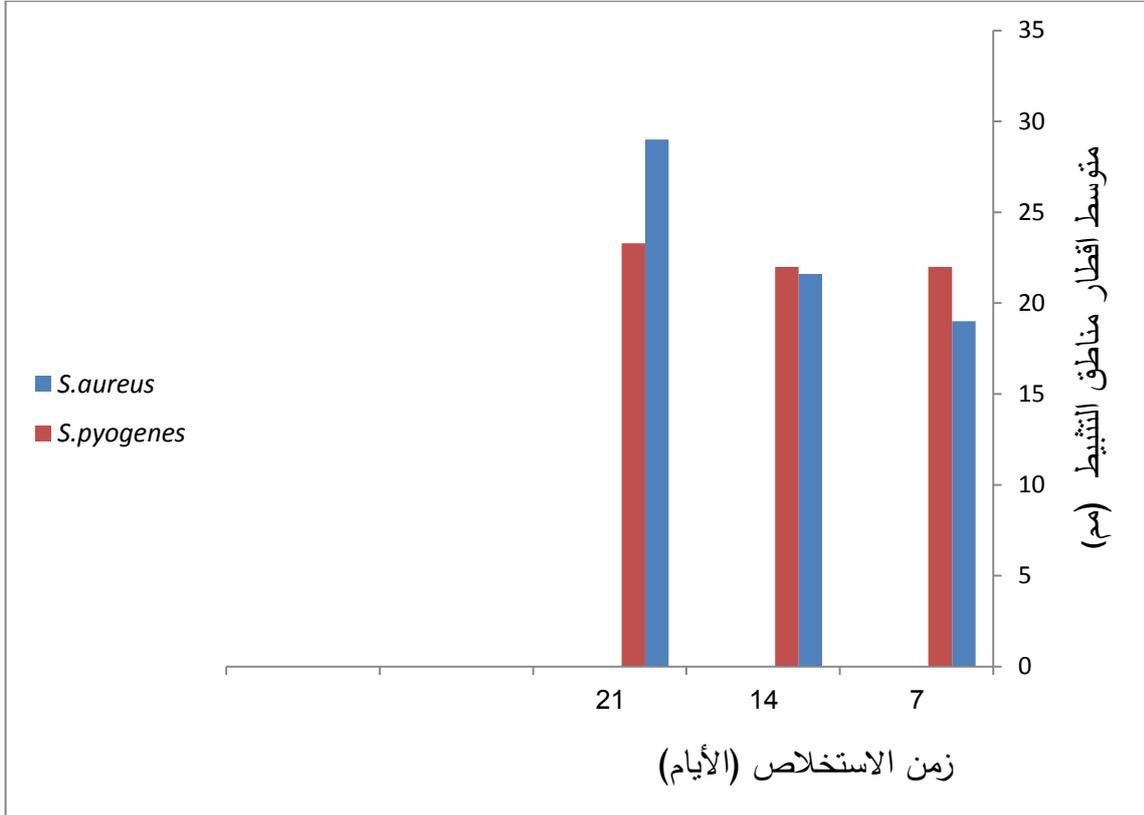
تبين من التحليل الاحصائى ذو الاتجاه الواحد One Way Anova تحت مستوى معنوية  $P < 0.01$  وجود فروق معنويه عالية لطحلب *C. compressa* بين تركيز مستخلصات الإيثانول و زمن الاستخلاص حيث كان أفضل زمن للأستخلاص الطحلب من خلال اختبارات المقارنه Tukey test هو واحد وعشرون يوما عن باقى الأزمنه وأفضل تركيز لنفس الطحلب هو 200

ميكرو لتر عن باقى التراكيز المستخدمة، وتبين ان البكتيريا *S. aureus* الاكثر حساسية والاقل

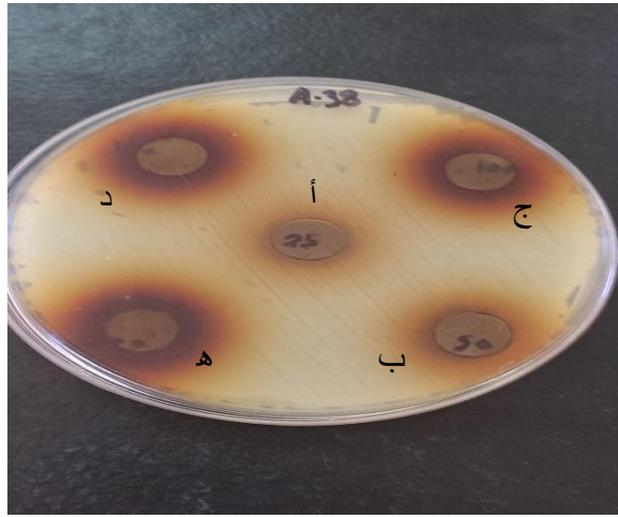
حساسية هى و *S. Pyogenes*.

جدول (6) تأثير زمن الاستخلاص وتركيز مستخلصات الايثانول لطحلب *C.compressa* على نمو البكتيريا المستخدمة .

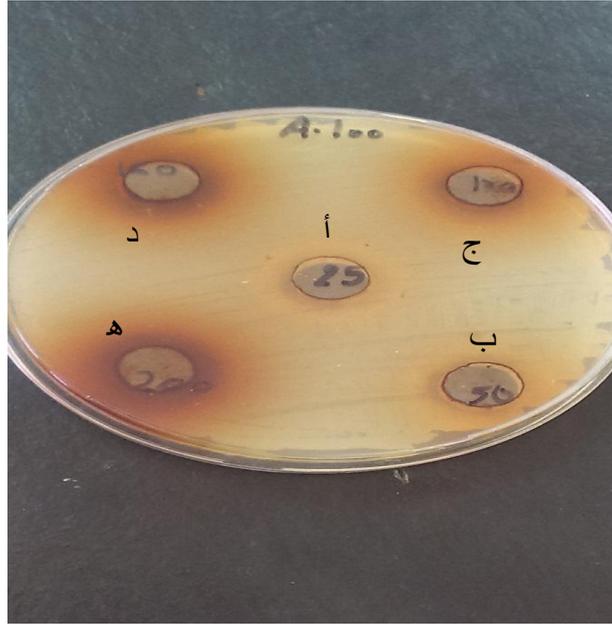
متوسط أقطار منطقة التثبيط (مم)		التركيز (ميكرو لتر)	الزمن (الايام)
<i>S. Pyogenes</i>	<i>S. aureus</i>		
14.3	13.6	25	7
18.0	15.0	50	
19.6	16.0	100	
20.3	17.3	150	
22.0	19.0	200	
15.6	15.0	25	14
17.0	17.6	50	
20.3	18.6	100	
21.3	19.3	150	
22.0	21.6	200	
16.3	21.3	25	21
18.6	23.3	50	
20.3	24.3	100	
21.6	26.3	150	
23.3	29.0	200	



شكل (24) تأثير زمن الاستخلاص لطحلب *C.compressa* لمذيب الإيثانول على نمو البكتيريا المستخدمة.



شكل (25) تأثير مستخلصات الايثانول لطحلب *C.compressa* على نمو بكتيريا *S. pyogenes* (A.38) باستخدام الجرعات مختلفة بالميكرو لتر:  
أ. 25 ب. 50 ج. 100 د. 150 هـ. 200 .



شكل (26) تأثير مستخلصات الايثانول لطحلب *C.compressa* على نمو بكتيريا

*S. aureus* (A.100) باستخدام الجرعات مختلفة بالميكرو لتر :

أ. 25      ب. 50      ج. 100      د. 150      هـ. 200 .

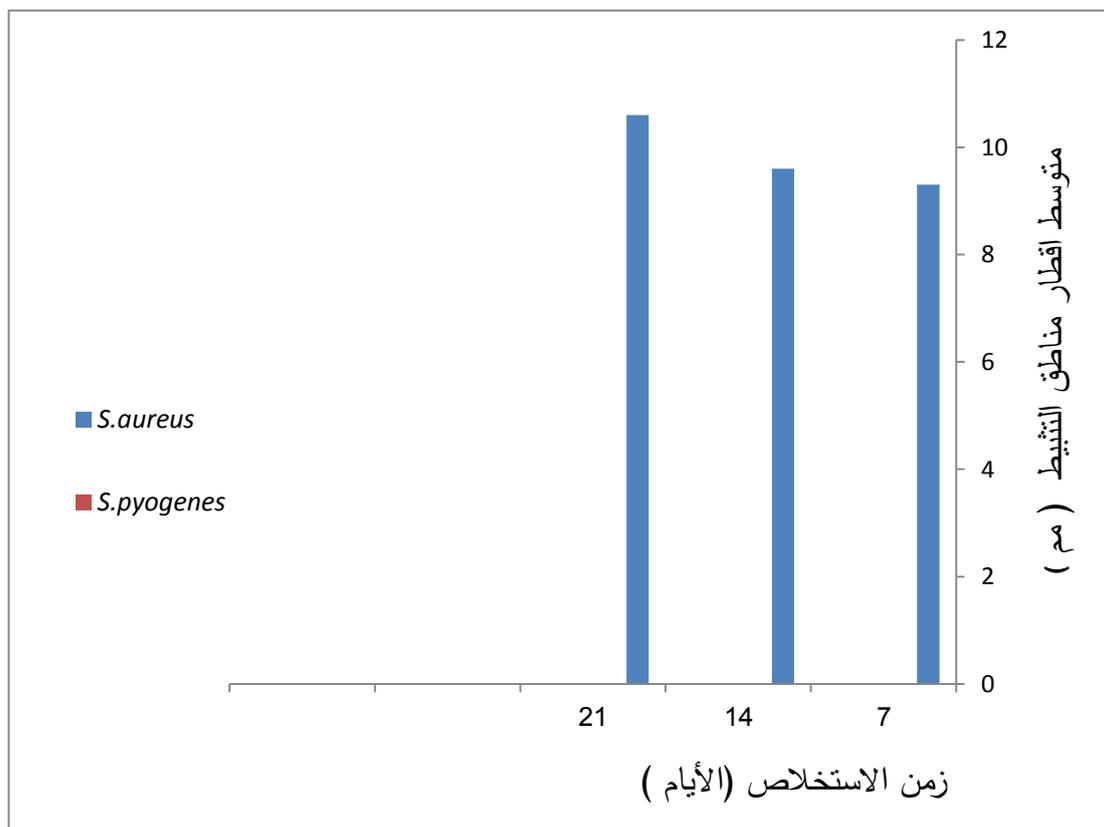
بينت التركيزات المختلفة لمستخلصات أسيتون لطحلب *C. crinita* وزمن استخلاصها على نمو نوعين من البكتيريا المستخدمة (*S. aureus*, *S. pyogenes*) ان لهذه المستخلصات تأثيرا ايجابيا يزداد بزيادة طردية بين تركيز المستخلصات وزمن الاستخلاص ولكن بدرجات متباينة بين هذين النوعين من البكتيريا المستخدمة وذلك باختلاف قطر منطقة التثبيط بالنسبة لبكتيريا *S. aureus*. فقد تراوحت متوسط قراءات قطر منطقة التثبيط 9.3 مم عند زمن سبعة أيام و9.6 مم عند زمن أربعة عشر يوما و10.6 مم عند واحد وعشرون يوما لنفس التركيز 200 ميكرو لتر، وأن تأثير التراكيز المختلفة لهذا المستخلص المحصورة ما بين 25 و200 ميكرو لتر جميعها أعطت نتائج إيجابية على تثبيط نمو البكتيريا ، ولم تعطى اى تأثير يذكر ضد البكتيريا *S. pyogenes* كما هو موضح فى الشكل فى جدول (7) وشكل (27 و 28 و 29).

#### التحليل الاحصائى لجدول (7)

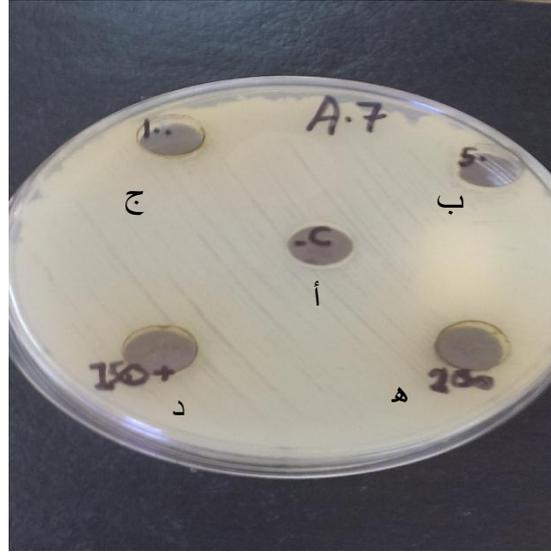
تبين من التحليل الاحصائى ذو الاتجاه الواحد One Way Anova تحت مستوى معنوية  $P < 0.01$  وجود فروق معنويه عالية لطحلب *C. crinita* بين تركيز مستخلصات أسيتون و زمن الاستخلاص حيث كان أفضل زمن للأستخلاص الطحلب من خلال اختبارات المقارنه Tukey test هو ع واحد وعشرون يوما ن باقى الأزمنه وأفضل تركيز لنفس الطحلب هو 200 ميكرو لتر عن باقى التراكيز المستخدمة، وتبين ان البكتيريا *S. aureus* الاكثر حساسية البكتيريا المقاومة هي *S. Pyogenes*.

جدول (7) تأثير زمن الاستخلاص وتركيز مستخلصات أسيتون لطحاب *C.crinita* على نمو البكتيريا المستخدمة .

متوسط أقطار منطقة التثبيط (مم)		التركيز (ميكرو لتر)	الزمن (الأيام)
<i>S. Pyogenes</i>	<i>S. aureus</i>		
00	2.3	25	7
00	3.6	50	
00	4.0	100	
00	6.3	150	
00	9.3	200	
00	3.0	25	14
00	4.6	50	
00	5.0	100	
00	7.6	150	
00	9.6	200	
00	4.0	25	21
00	7.6	50	
00	8.6	100	
00	9.3	150	
00	10.6	200	



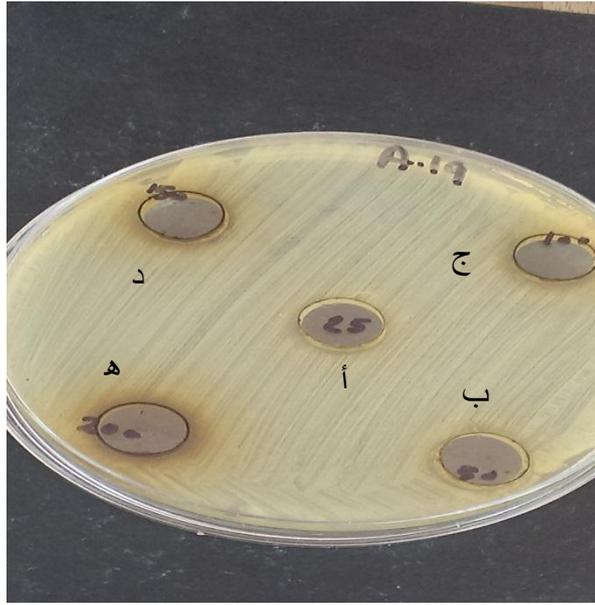
شكل (27) تأثير زمن الاستخلاص لطحلب *C. crinita* لمذيب أسيتون على نمو البكتيريا المستخدمة.



شكل (28) تأثير مستخلصات أسيتون لطحاب *C. crinita* على نمو بكتيريا

*S. pyogenes* (A.7) باستخدام التركيزات المختلفة بالميكرو لتر:

أ. 25 ب. 50 ج. 100 د. 150 هـ. 200.



شكل (29) تأثير مستخلصات أسيتون لطحلب *C. crinita* على نمو بكتيريا

*S. aureus* (A.19) باستخدام التركيزات المختلفة بالميكرو لتر:

أ. 25    ب. 50    ج. 100    د. 150    هـ. 200.

بينت التركيزات المختلفة لمستخلصات أسيتون لطحلب *C. comperssa* وزمن استخلاصها على نمو نوعين من البكتيريا المستخدمة (*S. aureus*, *S. Pyogenes*) ان لهذه المستخلصات تأثيرا ايجابيا يزداد بزيادة طردية بين تركيز المستخلصات وزمن الاستخلاص ولكن بدرجات متباينة بين هذين النوعين من البكتيريا المستخدمة وذلك باختلاف قطر منطقة التثبيط بالنسبة لبكتيريا *S. aureus* فقد تراوحت متوسط قراءات قطر منطقة التثبيط بين 9.6 مم عند زمن سبعة أيام و 12 مم عند زمن أربعة عشر يوما و 16 مم عند واحد وعشرون يوما لنفس التركيز 200 ميكرو لتر، وأن تأثير التراكيز المختلفة لهذا المستخلص المحصورة ما بين 25 و 200 ميكرو لتر جميعها أعطت نتائج إيجابية على تثبيط نمو البكتيريا بزيادة طردية بين زمن الاستخلاص و تركيز المستخلص ، و أن زمن الإستخلاص وتركيز مستخلصات الاستون لطحلب *C. comperssa* أقل تأثيرا على نمو بكتيريا *S. aureus* من البكتيريا *S. pyogenes* باستثناء الزمن واحد وعشرون يوما وذلك لمقارنة أقطار منطقة تثبيط حيث بلغ قطر منطقة التثبيط للبكتيريا *S. pyogenes* 6.6 مم عند سبعة أيام و 12.6 مم عند أربعة عشر يوما و 12.3 مم عند واحد وعشرون يوما لنفس التركيز 200 ميكرو لتر ، كما هو موضح فى الشكل (30 و 31 و 32) و جدول (8).

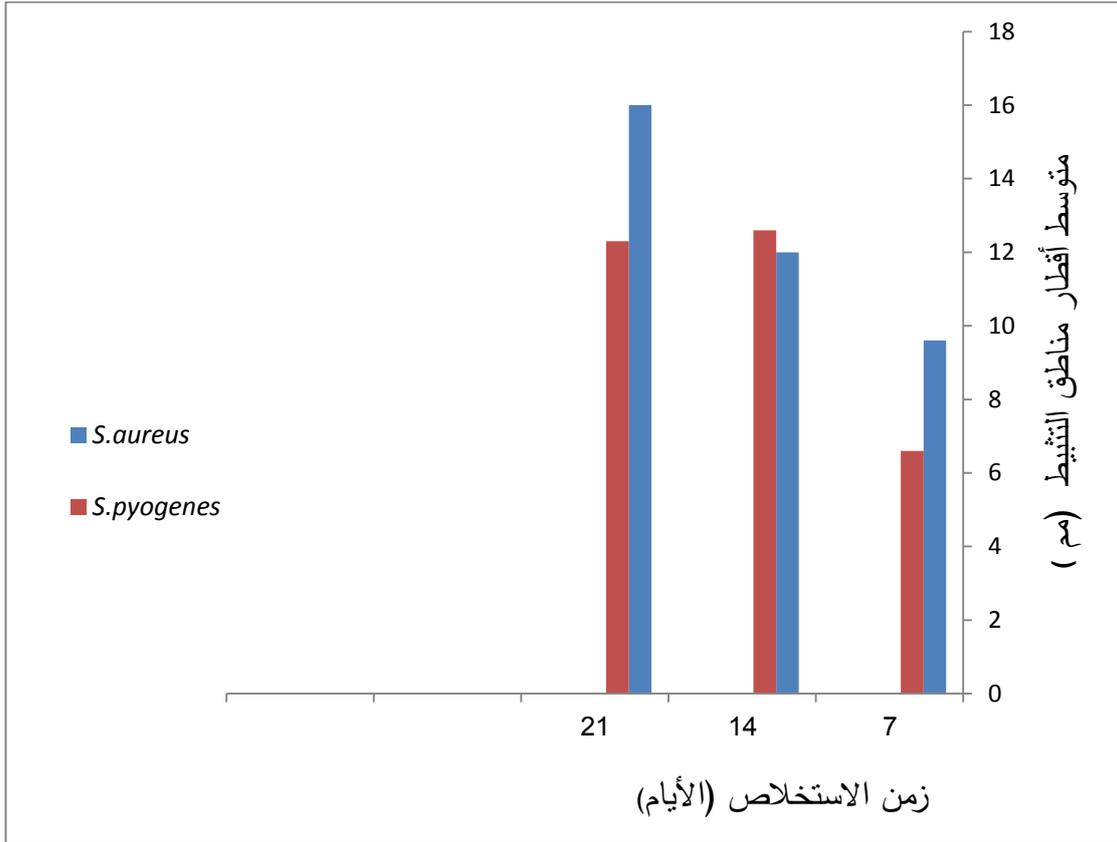
#### التحليل الاحصائى لجدول (8)

تبين من التحليل الاحصائى ذو الاتجاه الواحد One Way Anova تحت مستوى معنوية  $P < 0.01$  وجود فروق معنويه عالية لطحلب *C. comperssa* بين تركيز مستخلصات أسيتون و زمن الاستخلاص حيث كان أفضل زمن للأستخلاص الطحلب من خلال اختبارات المقارنه Tukey test هو واحد وعشرون يوما عن باقى الأزمنه وأفضل تركيز لنفس الطحلب هو 200

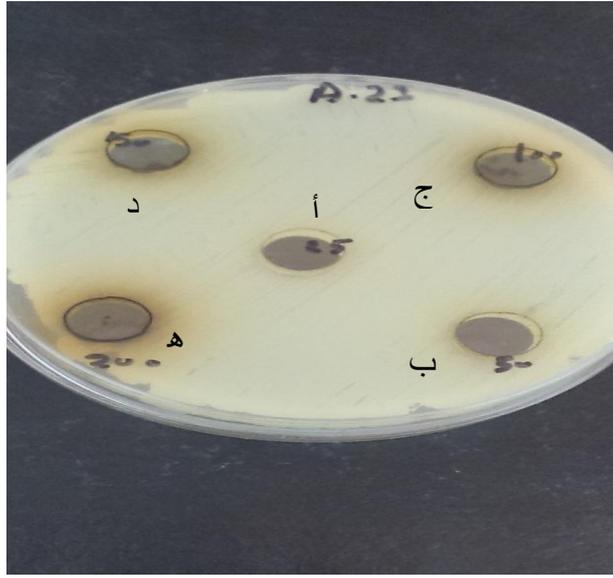
ميكرو لتر عن باقى التراكيز المستخدمة، وتبين ان البكتيريا *S. aureus* الاكثر حساسية  
والاقل حساسية هى و *S. Pyogenes*.

جدول (8) تأثير زمن الاستخلاص وتركيز مستخلصات أسيتون لطحلب *C.compressa* على نمو البكتيريا المستخدمة .

متوسط أقطار منطقة التثييط (مم)		التركيز (ميكرو لتر)	الزمن (الأيام)
<i>S.pyogenes</i>	<i>S. aureus</i>		
3.0	2.6	25	7
5.0	3.3	50	
5.6	5.3	100	
6.3	6.6	150	
6.6	9.6	200	
4.0	3.3	25	14
5.0	7.3	50	
6.3	9.3	100	
8.0	10.3	150	
12.6	12.0	200	
4.3	5.3	25	21
6.0	7.6	50	
8.3	9.3	100	
10.3	12.6	150	
12.3	16.0	200	



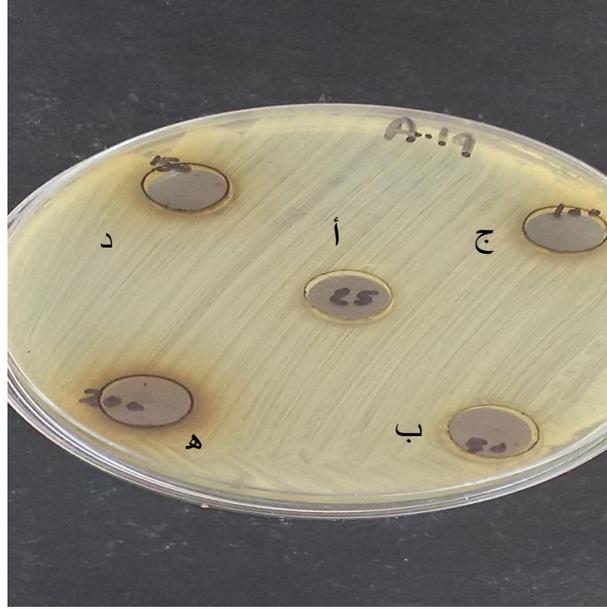
شكل (30) تأثير زمن الاستخلاص لطحلب *C.compressa* لمذيب أسيتون على نمو البكتيريا المستخدمة.



شكل (31) تأثير مستخلصات أسيتون لطحلب *C.compressa* على نمو بكتيريا

*S.aureus* (A.23) باستخدام التركيزات المختلفة بالميكرو لتر :

أ. 25 ب. 50 ج. 100 د. 150 هـ. 200.



شكل (32) تأثير مستخلصات الأستون لطحالب *C. compressa* على نمو بكتيريا

*S. pyogenes* (A.19) . باستخدام التركيزات المختلفة بالميكرو لتر :

أ. 25    ب. 50    ج. 100    د. 150    هـ. 200.

بينت نتائج التركيزات المختلفة لمستخلصات ايثيل استيت لطحلب *C. crinita* وزمن استخلاصها على نمو نوعين من البكتيريا المستخدمة (*S. aureus*, *S. pyogenes*) ان لهذه المستخلصات تأثيرا ايجابيا يزداد بزيادة طردية بين تركيز المستخلصات وزمن الاستخلاص زيادة ولكن بدرجات متباينة بين هذين النوعين من البكتيريا المستخدمة وذلك فقد تراوحت متوسط قراءات باختلاف قطر منطقة التثبيط بالنسبة لبكتيريا *S. aureus* فقد تراوحت أقطار منطقة التثبيط ما بين 5.6 مم عند زمن سبعة أيام و 7.3 مم عند زمن أربعة عشر يوما و 9.3 مم عند واحد وعشرون يوما لنفس التركيز 200 ميكرو لتر وأن تأثير التراكيز المختلفة لهذا المستخلص المحصورة ما بين 25 و 200 ميكرو لتر جميعها أعطت نتائج إيجابية على تثبيط نمو البكتيريا ، بإستثناء التركيز 25 ميكرو لتر لزمني الاستخلاص سبعة وأربعة عشر يوما، في حين أعطى هذا التركيز 25 ميكرو لتر فقط عند الزمن واحد وعشرون يوما 4.6 مم ضد البكتيريا *S. aureus* وأن زمن الإستخلاص وتركيز مستخلصات ايثيل استيت لطحلب *C. crinita* أقل تأثيرا على نمو بكتيريا *S. aureus* من البكتيريا *S. pyogenes* وذلك لمقارنة قطر منطقة تثبيط ، فقد تراوحت متوسط قراءات قطر منطقة التثبيط عند سبعة أيام 7.6 مم و 8.3 مم وعند زمن أربعة عشر يوما و 10 مم عند زمن واحد وعشرون يوما لنفس التركيز 200 ميكرو لتر وأن تأثير التراكيز المختلفة لهذا المستخلص المحصورة ما بين 25 و 200 ميكرو لتر جميعها أعطت نتائج إيجابية على تثبيط نمو البكتيريا *S. pyogenes* بزيادة طردية مع زيادة زمن الاستخلاص كما هو موضح في الشكل في جدول (9) وشكل (33 و 34 و 35) .

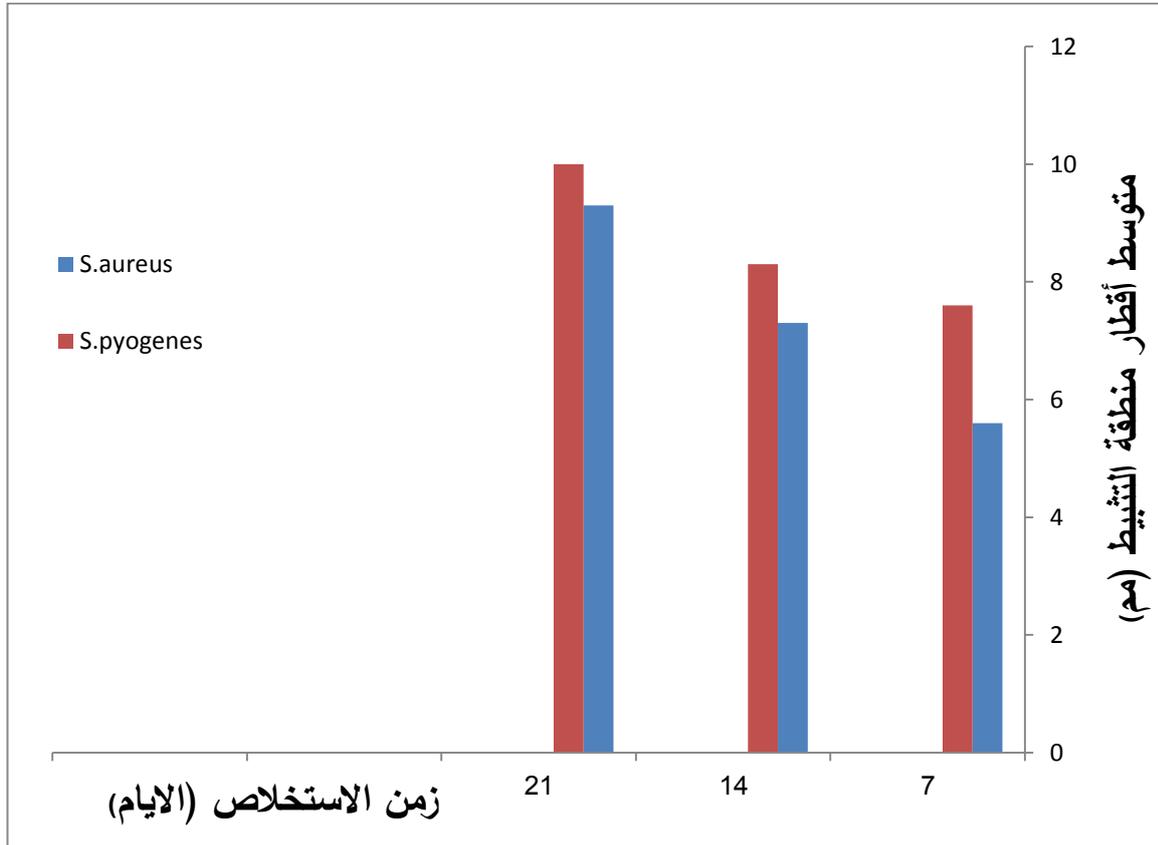
#### التحليل الاحصائي لجدول (9)

تبين من التحليل الاحصائي ذو الاتجاه الواحد One Way Anova تحت مستوى معنوية  $P < 0.01$  وجود فروق معنويه عالية لطحلب *C. crinita* بين تركيز مستخلصات ايثيل

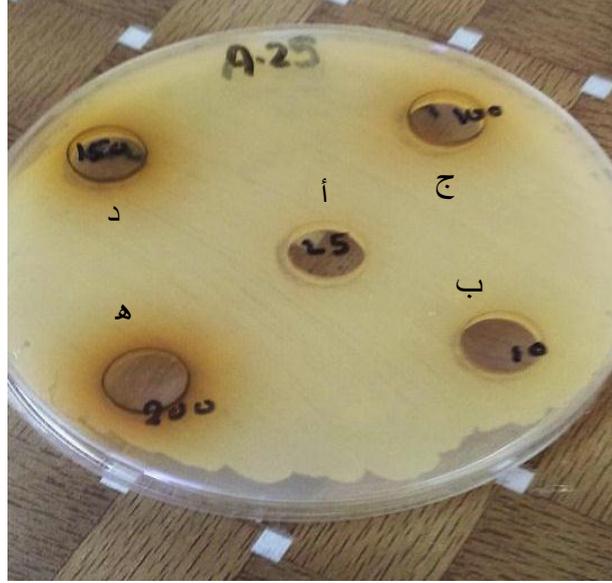
اسيتيت و زمن الاستخلاص حيث كان أفضل زمن للأستخلاص الطحلب من خلال اختبارات المقارنه Tukey test هو واحد وعشرون يوما عن باقى الأزمنه وأفضل تركيز لنفس الطحلب هو 200 ميكرو لتر عن باقى التراكيز المستخدمة، وتبين ان البكتيريا و *S. Pyogenes* الاكثر حساسية والاقل حساسية هي *S. aureus* .

جدول (9) تأثير زمن الاستخلاص وتركيز مستخلصات ايثيل استيت لطحلب *C.crinita* على نمو البكتيريا المستخدمة .

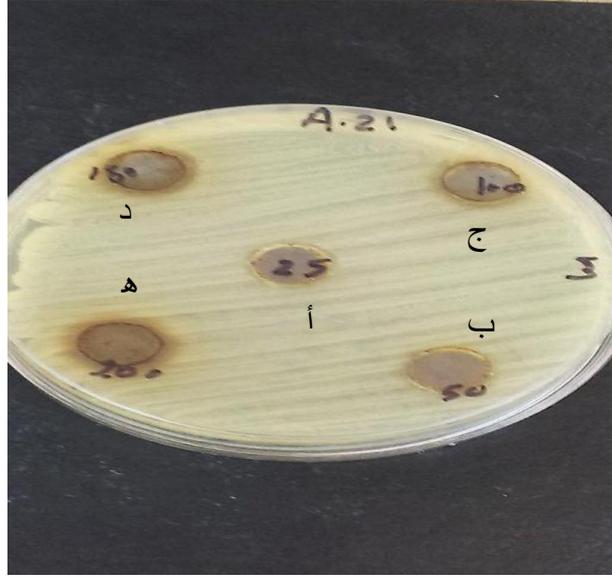
<i>S. Pyogenes</i>	<i>S. aureus</i>	التركيز (ميكرو لتر)	الزمن (الايام)
0	0	25	7
4.3	3.6	50	
5	4.3	100	
6.3	5	150	
7.6	5.6	200	
0	0	25	14
5.3	4	50	
6.3	4.3	100	
7	5.6	150	
8.3	7.3	200	
0	4.6	25	21
6.3	5.3	50	
8.3	7	100	
8.6	8.3	150	
10	9.3	200	



شكل (33) تأثير زمن الاستخلاص لطحلب *C. crinita* لمذيب إيثيل استنيت على نمو البكتيريا المستخدمة.



شكل (34) تأثير مستخلصات ايثيل استيت لطحلب *C. crinita* على نمو بكتيريا *S. pyogenes* (A.25) باستخدام التركيزات المختلفة بالميكرو لتر :  
أ. 25    ب. 50    ج. 100    د. 150    هـ. 200.



شكل (35) تأثير مستخلصات ايثيل استيت لطحلب *C. crinita* على نمو بكتيريا *Sta. aureus* (A.21) باستخدام التركيزات المختلفة بالميكرو لتر :

أ. 25    ب. 50    ج. 100    د. 150    هـ. 200.

بينت التركيزات المختلفة لمستخلصات ايثيل استيت لطحلب *C. compressa* وزمن استخلاصها على نمو نوعين من البكتيريا المستخدمة (*S. aureus*, *S. pyogenes*) ان لهذه المستخلصات تأثيرا ايجابيا يزداد بزيادة تركيز المستخلصات وزمن الاستخلاص زيادة طردية ولكن بدرجات متباينة بين هذين النوعين من البكتيريا المستخدمة وذلك باختلاف قراءات قطر منطقة التثبيط بالنسبة لبكتيريا *S. aureus* فقد تراوحت أقطار منطقة التثبيط 13.3 مم عند زمن سبعة أيام و 16 مم عند زمن أربعة عشر يوما و 21 مم عند واحد وعشرون يوما لنفس التركيز 200 ميكرو لتر وأن تأثير التراكيز المختلفة لهذا المستخلص المحصورة ما بين 25 و 200 ميكرو لتر جميعها أعطت نتائج إيجابية على تثبيط نمو البكتيريا ،وان زمن الإستخلاص وتركيز مستخلصات ايثيل استيت لطحلب *C. compressa* أقل تأثيرا على نمو بكتيريا *S. aureus* من البكتيريا *S. pyogenes*

وذلك لمقارنة أقطار منطقة تثبيط البكتيريا *S. pyogenes* حيث بلغ قطر منطقة التثبيط لبكتيريا *S. pyogenes* 14.6 مم عند سبعة أيام و 18 مم عند أربعة عشر يوما و 20.3 مم عند واحد وعشرون يوما لنفس التركيز 200 ميكرو لتر ، والزيادة الطردية لجميع تراكيز بكتيريا *S. pyogenes* باستثناء تركيز 50 ميكرو لتر عند أربعة عشر و واحد وعشرون يوما ، كما هو موضح في جدول (10) وشكل (36 و 37 و 38) .

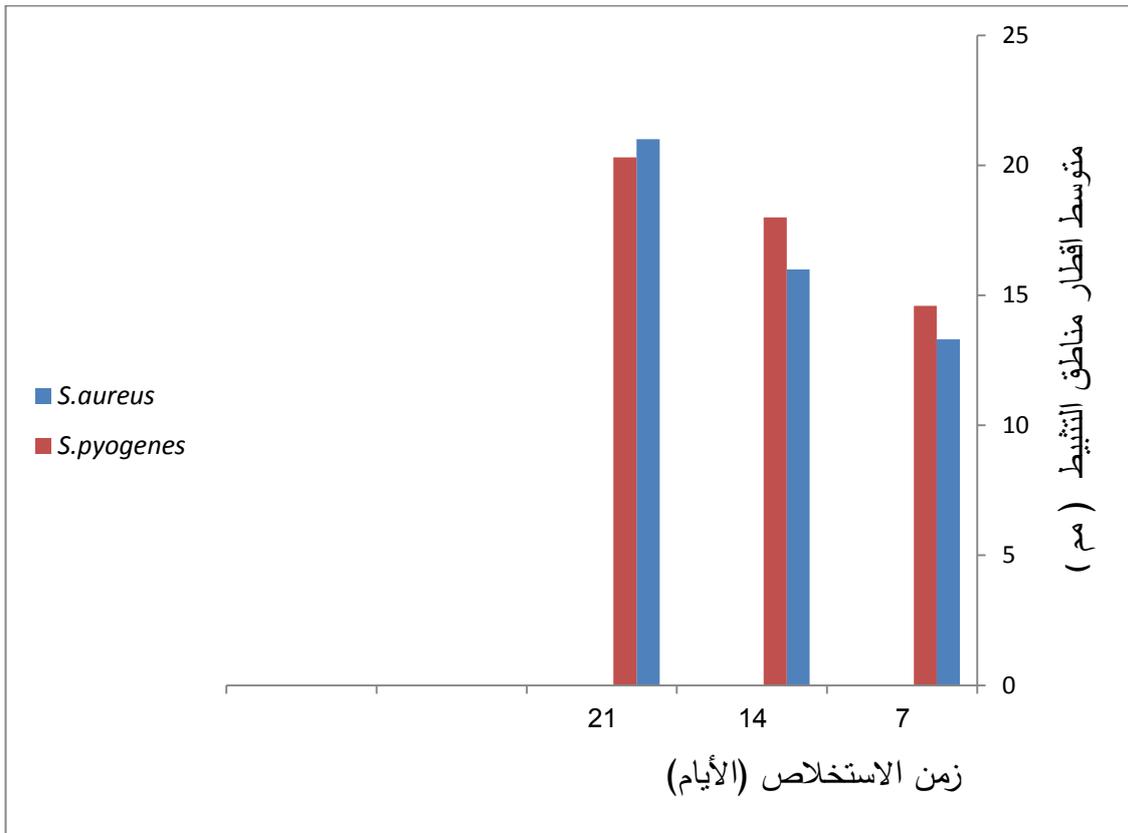
#### التحليل الاحصائي لجدول (10)

تبين من التحليل الاحصائي ذو الاتجاه الواحد One Way Anova تحت مستوى معنوية P < 0.01 وجود فروق معنويه عالية لطحلب *C. compressa* بين تركيز مستخلصات ايثيل استيت و زمن الاستخلاص حيث كان أفضل زمن للأستخلاص الطحلب من خلال اختبارات

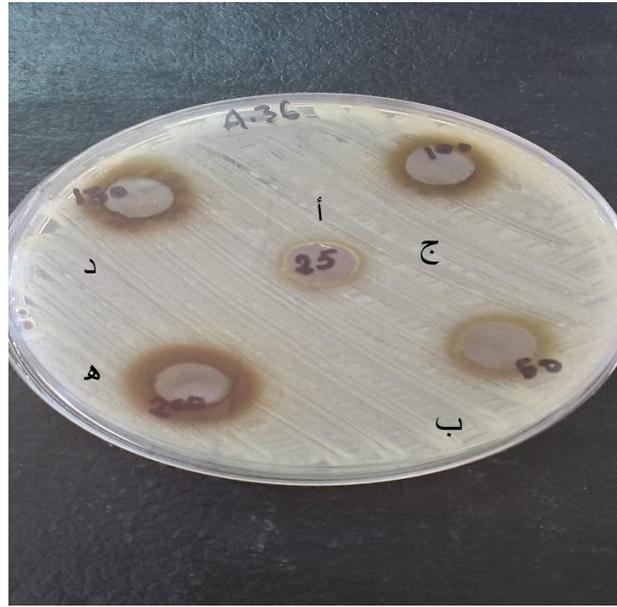
المقارنه Tukey test هو 21 يوم عن باقى الأزمنه وأفضل تركيز لنفس الطحلب هو 200 ميكرو لتر عن باقى التراكيز المستخدمة، وتبين ان البكتيريا *S. aureus* الاكثر حساسة والاقل حساسية هي و *S. Pyogenes*.

جدول (10) تأثير زمن الاستخلاص وتركيز مستخلصات ايثيل استيت لطحلب *C.compressa* على نمو البكتيريا المستخدمة .

متوسط أقطار منطقة التثبيط (مم)		التركيز (ميكرو لتر)	الزمن (الايام)
<i>S. Pyogenes</i>	<i>S. aureus</i>		
11.3	10.6	25	7
12.6	11.6	50	
13.6	12.3	100	
14.6	13.0	150	
14.6	13.3	200	
12.3	11.0	25	14
15.0	12.0	50	
16.0	13.6	100	
17.0	15.0	150	
18.0	16.0	200	
12.3	14.3	25	21
14.6	17.3	50	
18.6	18.3	100	
19.6	19.6	150	
20.3	21.0	200	

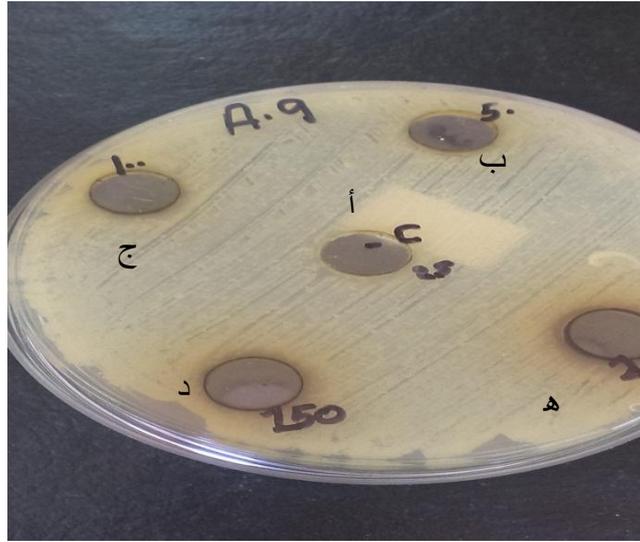


شكل (36) تأثير زمن الاستخلاص لطحلب *C.compressa* لمذيب ايثيل استنيت على نمو البكتيريا المستخدمة.



شكل (37) تأثير مستخلصات ايثيل استيت لطحلب *C. compressa* على نمو بكتيريا *S. pyogenes* (A.36) باستخدام التركيزات المختلفة بالميكرو لتر :

أ. 25    ب. 50    ج. 100    د. 150    هـ. 200.



شكل (38) تأثير مستخلصات ايثيل استيت لطحلب *C.compressa* على نمو بكتيريا

*S. aureus* (A.9) باستخدام التركيزات المختلفة بالميكرو لتر :

أ. 25 ب. 50 ج. 100 د. 150 ه. 200.

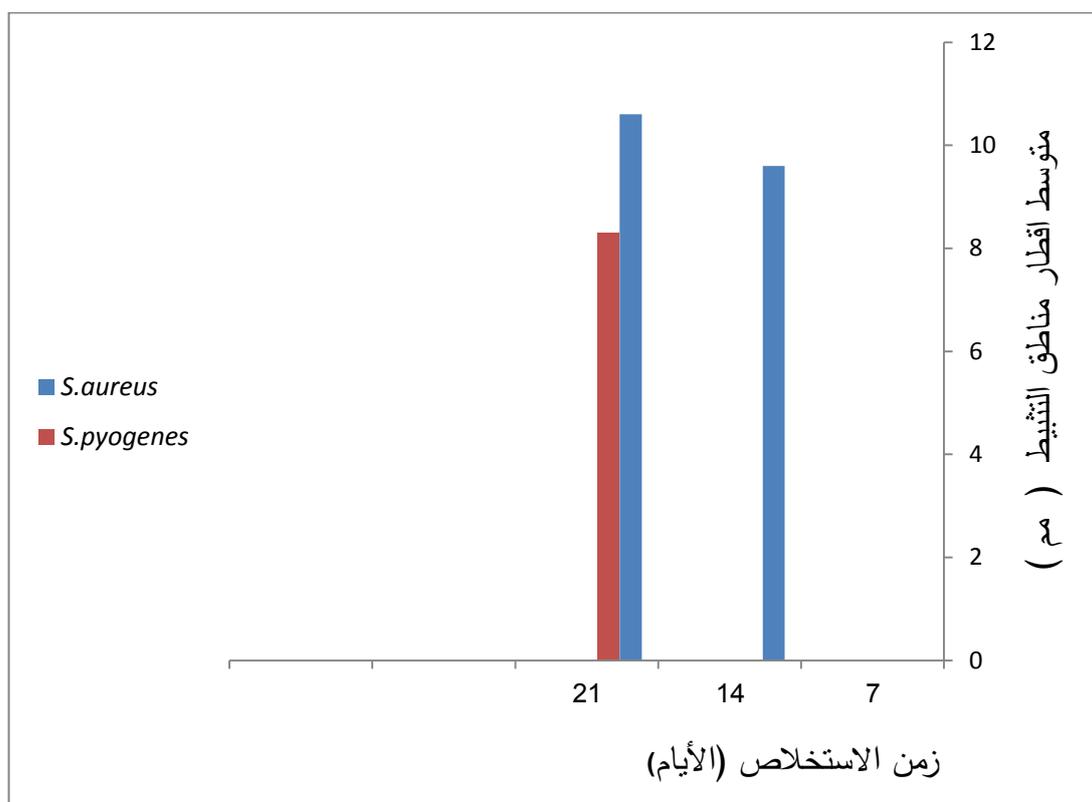
بينت التركيزات المختلفة لمستخلصات الهكسان لطحلب *C. crinita* و زمن استخلاصها على نمو نوعين من البكتيريا المستخدمة (*S. aureus, S. pyogenes*) ان لهذه المستخلصات تأثيرا ايجابيا يزداد بزيادة طردية بين تركيز المستخلصات وزمن الاستخلاص زيادة ولكن بدرجات متباينة بين هذين النوعين من البكتيريا المستخدمة وذلك باختلاف قراءات قطر منطقة التثبيط لبكتيريا *S. aureus* فلم تعطى اى تأثير عند الزمن سبعة ايام لجميع التراكيز بينما تراوحت متوسط قراءات قطر منطقة التثبيط 9.6 مم عند زمن أربعة عشر يوما و 10.6 مم عند واحد وعشرون يوما لنفس التركيز 200 ميكرو لتر، وأن تأثير التراكيز المختلفة لهذا المستخلص المحصورة ما بين 25 و 200 ميكرو لتر جميعها أعطت نتائج إيجابية على تثبيط نمو البكتيريا ، بإستثناء التراكيز المحصورة بين 25 و 200 ميكرو لتر لزمن الاستخلاص سبعة أيام لم يعطى اى تأثير يذكر، وأن زمن الإستخلاص وتركيز مستخلصات الهكسان لطحلب *C. crinita* أقل تأثيرا على نمو بكتيريا *S. pyogenes* من البكتيريا *S. aureus* وذلك لمقارنة أقطار منطقة تثبيط حيث لم تعطى اى تأثير ضد البكتيريا *Str. pyogenes* لزمنى سبعة واربعة عشر يوما فى حين اعطى تأثيره فقط لزمن واحد وعشرون يوما حيث بلغ متوسط قطر منطقة التثبيط 8.3 مم لتركيز 200 ميكرو لتر وأن تأثير التراكيز المختلفة لهذا المستخلص المحصورة بين 25 و 200 ميكرو لتر لزمن واحد وعشرون يوما جميعها أعطت نتائج إيجابية على تثبيط نمو البكتيريا بزيادة طردية بين زمن الاستخلاص و تركيز المستخلص، كما هو موضح فى الشكل فى جدول (11) وشكل (39 و 40 و 41) .

التحليل الاحصائى لجدول (11)

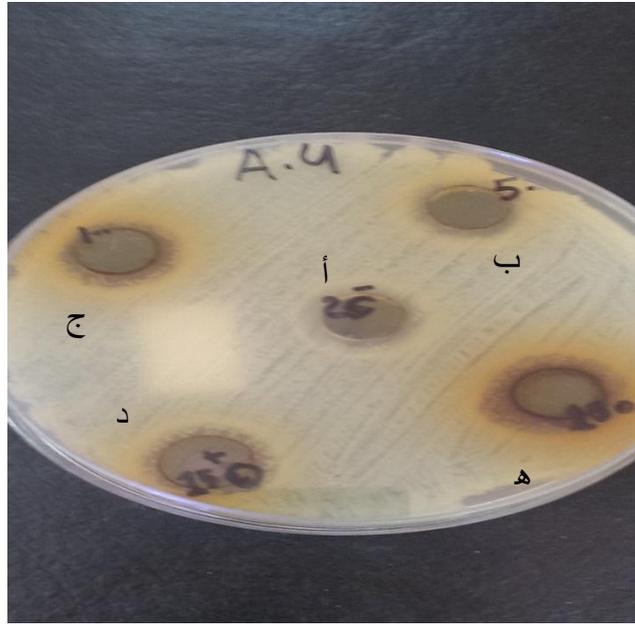
تبيين من التحليل الاحصائي ذو الاتجاه الواحد One Way Anova تحت مستوى معنوية  $P < 0.01$  وجود فروق معنويه عالية لطحلب *C.crinita* بين تركيز مستخلصات الهكسان و زمن الاستخلاص حيث كان أفضل زمن للأستخلاص الطحلب من خلال اختبارات المقارنه Tukey test هو واحد وعشرون يوما عن باقى الأزمنه وأفضل تركيز لنفس الطحلب هو 200 ميكرو لتر عن باقى التراكيز المستخدمة، وتبين ان البكتيريا *S. aureus* الاكثر حساسية والاقل حساسية هي و *S. Pyogenes*.

جدول (11) تأثير زمن الاستخلاص وتركيز مستخلصات الهكسان لطحلب *C.crinita* على نمو البكتيريا المستخدمة .

متوسط أقطار منطقة التثبيط (مم)		التركيز (ميكرو لتر)	الزمن (الايام)
<i>S. Pyogenes</i>	<i>S. aureus</i>		
00	00	25	7
00	00	50	
00	00	100	
00	00	150	
00	00	200	
00	3.6	25	14
00	5.3	50	
00	6.6	100	
00	7.3	150	
00	9.6	200	
00	4.0	25	21
5.3	6.3	50	
6.3	8.3	100	
7.0	9.0	150	
8.3	10.6	200	



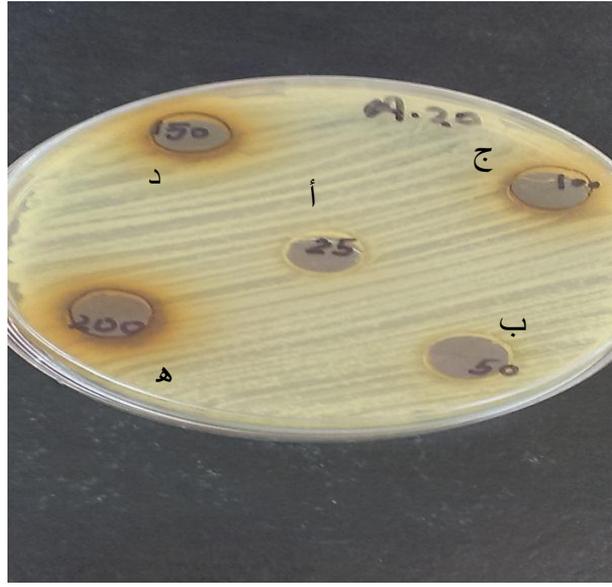
شكل (39) تأثير زمن الاستخلاص لطحلب *C. crinita* لمذيب الهكسان على نمو البكتيريا المستخدمة.



شكل (40) تأثير مستخلصات الهكسان لطحلب *C. crinita* على نمو بكتيريا

*S. pyogenes* (A.4) باستخدام التركيزات المختلفة بالميكرو لتر:

أ. 25    ب. 50    ج. 100    د. 150    هـ. 200.



شكل (41) تأثير مستخلصات الهكسان لطحلب *C. crinita* على نمو بكتيريا

*S. aureus* (A.20) باستخدام التركيزات المختلفة بالميكرو لتر :

أ. 25    ب. 50    ج. 100    د. 150    هـ. 200.

بينت التركيزات المختلفة لمستخلصات الهكسان لطحلب *C. compressa* و زمن استخلاصها على نمو نوعين من البكتيريا المستخدمة (*S. aureus*, *S. pyogenes*) ان لهذه المستخلصات تأثيرا ايجابيا يزداد بزيادة طردية بين تركيز المستخلصات وزمن الاستخلاص ولكن بدرجات متباينة بين هذين النوعين من البكتيريا المستخدمة وذلك باختلاف فقد تراوحت متوسط قراءات قطر منطقة التثبيط بالنسبة لبكتيريا *S. aureus* فقد تراوحت أقطار منطقة التثبيط بين 8 مم عند زمن سبعة أيام و 9 مم عند زمن أربعة عشر يوما و 10 مم عند واحد وعشرون يوما لنفس التركيز 200 ميكرو لتر وأن تأثير التركيزات المختلفة لهذا المستخلص المحصورة ما بين 25 و 200 ميكرو لتر جميعها أعطت نتائج إيجابية على تثبيط نمو البكتيريا وان زمن الإستخلاص وتركيز مستخلصات الهكسان لطحلب *C. compressa* أقل تأثيرا على نمو بكتيريا *S. aureus* من البكتيريا *S. pyogenes* وذلك لمقارنة متوسط قراءات قطر منطقة تثبيط عند الزمن واحد وعشرون فقط، حيث اعطت تأثيرات على نمو البكتيريا *S. pyogenes* لجميع التركيزات حين بلغ قطر منطقة التثبيط 9.6 مم عند زمن سبعة أيام و 11 مم عند أربعة عشر يوما و 11.6 مم عند واحد وعشرون يوما لنفس التركيزات 200 ميكرو لتر وأن تأثير التركيزات المختلفة لهذا المستخلص المحصورة ما بين 25 و 200 ميكرو لتر جميعها أعطت نتائج إيجابية على تثبيط نمو البكتيريا كما هو موضح في جدول (12) وشكل (42 و 43 و 44) .

التحليل الاحصائي لجدول (12)

تبين من التحليل الاحصائي ذو الاتجاه الواحد One Way Anova تحت مستوى معنوية  $P < 0.01$  وجود فروق معنويه عالية لطحلب *C. compressa* بين تركيز مستخلصات الهكسان و زمن الاستخلاص حيث كان أفضل زمن للأستخلاص الطحلب من خلال اختبارات المقارنه

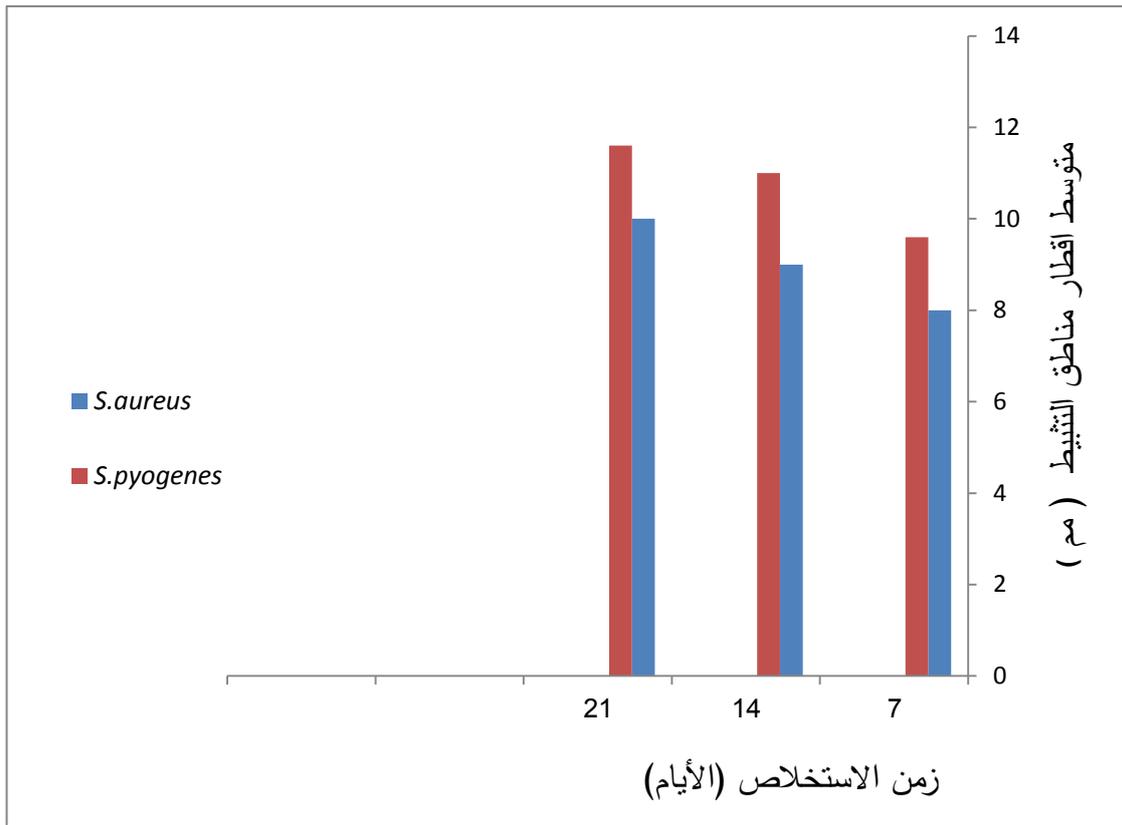
Tukey test هو واحد وعشرون يوما عن باقى الأزمنه وأفضل تركيز لنفس الطحلب هو 200

ميكرو لتر عن باقى التراكيز المستخدمة، وتبين ان البكتيريا و *S. Pyogenes* الاكثر حساسية

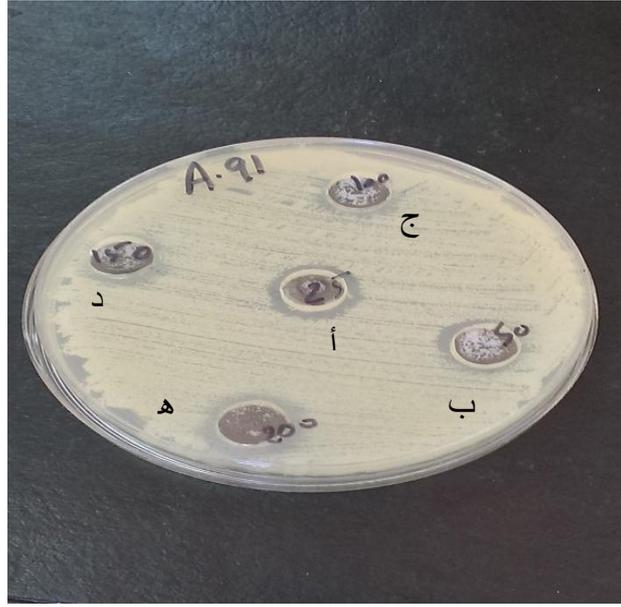
والاقل حساسية هي *S. aureus* .

جدول (12) تأثير زمن الاستخلاص وتركيز مستخلصات هكسان لطحلب *C.compressa* على نمو البكتيريا المستخدمة .

متوسط أقطار منطقة التثبيط (مم)		التركيز (ميكرو لتر)	الزمن (الايام)
<i>S. Pyogenes</i>	<i>S. aureus</i>		
2.6	4.3	25	7
3.3	5.0	50	
5.3	6.3	100	
6.6	6.6	150	
9.6	8.0	200	
3.6	4.6	25	14
5.0	5.3	50	
6.3	5.6	100	
6.6	7.0	150	
11.0	9.0	200	
5.6	5.0	25	21
7.6	6.3	50	
9.3	7.3	100	
10.3	8.3	150	
11.6	10.0	200	

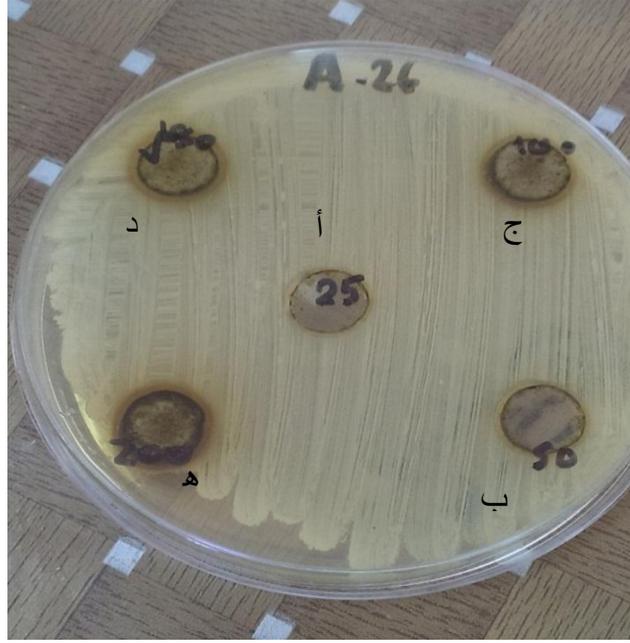


شكل (42) تأثير زمن الاستخلاص لطحلب *C. compressa* لمذيب الهكسان على نمو البكتيريا المستخدمة.



شكل (43) تأثير مستخلصات الهكسان لطحلب *C.compressa* على نمو بكتيريا *S.pyogenes* (A.91) باستخدام التركيزات المختلفة بالميكرو لتر :

أ. 25 ب. 50 ج. 100 د. 150 هـ. 200.



شكل (44) تأثير مستخلصات الهكسان لطحلب *C.compressa* على نمو بكتيريا *S.aureus* (A.26) باستخدام التركيزات المختلفة بالميكرو لتر:

أ. 25    ب. 50    ج. 100    د. 150    هـ. 200.

## المناقشة

تركزت الدراسة العملية في هذا البحث على معرفة تأثيرات مستخلصات الطحالب البنية *Cystoseira crinita* و *Cystoseira compressa* على نمو خمسة أنواع من البكتيريا الممرضة وهي *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, and *Klebsiella pneumoniae*, المذبيبات العضوية : الإيثانول، الميثانول، الآستون، الهكسان، إيثيل استيت وذلك لإستخلاص المواد المثبطة وبينت هذه الدراسة ان معظم المستخلصات المستخدمة اعطت نتائج مثبطة لنمو البكتيريا الموجبة لصبغة جرام *S. aureus*, and *S. pyogenes* بدرجات متفاوتة وان لمذيب الإيثانول هو الافضل فعالية في عملية الاستخلاص ،وهذا يتوافق مع العديد من الباحثين مثل دراسة Chang وآخرون ( 1993 ) التي تعتبر ان لمستخلصات طحلب *Dunaliella primolecta* تأثيرا مثبطا لنمو اربعة انواع من البكتيريا المختبرة *B.subtilis*, *B.cereus* S. وكذلك دراسه Alam وآخرون ( 1994 ) لفعالية مستخلصات سبعة أنواع من الطحالب على نمو انواع من البكتيريا السالبة والموجبة لصبغة جرام التي اظهرتها مستخلصات الميثانول والهكسان تأثيرا مثبطا على نمو البكتيريا الموجبة لصبغة جرام ، و دراسة Vlachos و Critchley (1996) لتأثيرات مستخلصات أنواع من الطحالب البنية مستخدما بعض المذبيبات العضوية المختلفة ضد نمو بعض انواع من البكتيريا ومنها *B.subtilis*, *S. aureus*, *A. broffi* وكان مذيب الإيثانول هو الأفضل فعالية في عملية الأستخلاص.

كما اوضح Lima- Filho وآخرون ( 2002 ) فعالية لسته أنواع من الطحالب ( *Ulva fasciata*, *Caulerpa cupressoides*, *Caulerpaprolifera* , *Gracilaria domingensis*, *Gracilaria* sp., *Amansia multifida* أنواع من المذبيات العضوية هي الهكسان والكلوروفورم والايثانول حيث اختبرت فعالية المستخلصات على نمو انواع من البكتيريا *B. subtilis*, *S. epidermidis*, *S. aureus*, *C. freundii* , *E. coli* , *K.* pneumonia, *P. aeruginosa* ,and *S. typhi* ان لمستخلصات طحلب *Amansia multifida* بإستخدام مذيب الهكسان اعطى أفضل فعالية ضد البكتيريا المستخدمة.

وأظهرت النتائج دراسة Tuney, وآخرون ( 2006 ) ، و Taskin, وآخرون (2007) فعالية مستخلصات الطحالب ومن ضمنها الطحالب البنية *C. barbata* , *C. mediterranea*, *D. dictoma* باستخدام أربعة أنواع من المذبيات العضوية ضد نمو بعض من البكتيريا الموجبة والسالبة لصبغة جرام *Staphylococcus* sp., *S. epidermid* ,*P. areaginos* *E. coli*, and *Enterococcus* sp., وأن للمذيب ثنائي إيثيل ايثر أفضل نتائج ضد البكتيريا المختبرة ، كما اوضحت دراسة قام بها الباحثين Vimala et al., and 2017 , Sujatha et al., 2019

ان مستخلصات طحلب *Hydroclathras* sp. و *Sargassum swarzii* باستخدام المذبيات العضوية المختلفة وهي الهكسان والميثانول وأسيتون وإيثيل استيت لهما تأثيرا مثيرا لنمو البكتيريا السالبة والموجبة لصبغة جرام *E. coli*, *P. aeruginosa*, and *S. aureus* وتحصلو على نتائج فعالة .

و دراسة البغدادي (2001) لتأثيرات مستخلصات بعض من الطحالب البنية من رتبة *Dictyotales* وهي: *Dictyota sp.*, *Dilophus spiralis*, *Padina pavonia* أن لمستخلصات طحلب *Dilophus spiralis* أكثر فاعلية ومستخلصات طحلب *pavonia* *Padina* أقل فاعلية ضد نمو البكتيريا المختبرة *Bacillus subtilis*, *S. aureus* and *P. aeruginosa*, وايضا دراسة الفرجاني (2001) لتأثيرات مستخلصات الطحلب الأحمر *Rytiphlaea tunetoria* ضد نمو أنواع من البكتيريا المختبرة مثل: *Staphylococcus sp.*, *E. coli*, *Enterococcus sp.* التي اظهرت نتائج إيجابية ، كما اوضحت دراسة طوقان (2003) لمستخلصات الطحالب الخضراء من رتبة *Ulvales* باستخدام أربعة مذيبات عضوية مختلفة على نمو بعض أنواع البكتيريا الممرضة *B. cereus*, *S. albus*, *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *Micrococcus sp.* ان لهذه المستخلصات تأثيرات مثبطة على نمو البكتيريا الممرضة المستخدمة. كما اوضح الصل (2005) في دراسة لتأثيرات مستخلصات الطحالب *Cystoseira montagneci*, *Dictyotapteris tripolitana*, *Padina tenuis*, *Cladophora glomerata* *Spyridia filamentosa*, *Gracilaria verrecosa*, *Hypnea musciformis* and *Halopteris scopania*, باستخدام المذيبات العضوية ضد نمو البكتيريا الموجبة وان مستخلصات أسيتون وثنائى ايثيل استيت كانت اكثر فاعلية فى تثبيط البكتيريا الموجبة لصبغة جرام .

وقد يرجع السبب فى حساسية ان البكتيريا من عدمه للمواد المثبطة الى تركيب غشاءها البلازمى ( Vidyavathy et al., 1991, Change et al.,1993, Daood and

Mosto,1997، ) ، وقد يكون بسبب الى عملية التطفر والتغيير المستمر فى تركيبها وبالتالي انتاج سلالات مقاومة (El-Nakhal, 1987, Cheesbrough, 2000)، وهذا يتفق مع العديد من الباحثين ( , 1988, Lustigman et al., 1974, Bhakuni and Silva, 2002. Alam et al., 1994, Lima-Filho et al., 2002).

والجدير بالذكر ان بعض الباحثين لهم رأى اخر من خلال النتائج ايجابية التى تؤكد ان مستخلصات الطحالب المستخدمه تأثيرا مثبتا ضد نمو البكتيريا السالبة لصبغة جرام ومنها Vidyavathy and sridar, )P. aeruginosa , K. pneumonia. and E.coli, 1991, Taskin et al., 2007, Salem et al., 2011, Alshalmani , et al., 2014 , ( Alghazeer et al. ,2013).

من خلال استخدام التراكيز المختلفة لمعظم مستخلصات الطحلبية المستخدمة تبين وجود علاقة طردية فى تثبيط نمو البكتيريا المستخدمة وهذا ماكداه ايضا بعض الباحثين ( Krish et al.,2014, Soltani et al.,2011).

تتميز الطحالب بانها تحتوى على مجموعات كبيرة من النواتج الايضية الثانوية مثل التربينات (Terpenoids) و القلويدات (Alkaloid) والمركبات الفينولية ( Phenolic compound ) والاحماض الدهنية (Fatty acids) ، وتعمل هذه المركبات كمضادات ميكروبية ضد البكتيريا وغيرها من الكائنات الاخرى ( , 1986, Paul and Fenicoll, 2005 Cantrell et al., ) ويكمن دورها فى بيئة الكائن الحي من خلال استخدامها من قبل الكائنات كوسائل دفاعية. (Saleh et al., 2011, El-fatimy et al., 2007, Mayer et al., 2017, Vimala et al., 2017).

واخيرا نرى ان للمركبات الايضية الثانوية للطحالب نتائج ايجابية يمكن استخدامها مستقبلا  
فى القضاء على البكتيريا وغيرها من الكائنات الدقيقة الاخرى المقاومة للمضادات الحيوية  
وغيرها.

## المراجع العربية

- أقديح، مسعود. سعيد، علاء. 2014. مقدمة في علم الطحالب (ط1). بنغازي، ليبيا .
- أقديح، مسعود .سعيد، علاء. 2014. الدليل العملي في علم الطحالب (ط1). بنغازي، ليبيا.
- البغدادي، حامد. 2001. دراسة اختبار فاعلية مستخلصات بعض أنواع الطحالب البنية رتبة *Dictyotales* ضد البكتيريا، رسالة ماجستير، جامعة قارونس، بنغازي، ليبيا.
- المحجوب، وفاء. 2015. دراسة القيمة الاقتصادية لبعض الطحالب الخضراء رتبة *Ulvales* بمدينة بنغازي، رسالة ماجستير ، جامعة بنغازي ، بنغازي ، ليبيا.
- الجهمي، هند. 2007. دراسة تأثير مستخلصات بعض أنواع الطحالب الخضراء (*Ulvales*) ضد البكتيريا والفطريات الممرضة، رسالة ماجستير، جامعة قارونس، بنغازي، ليبيا.
- الصل، محمد. 2005. تأثير مستخلصات طحلبية على بعض الأنواع البكتيرية الممرضة، رسالة ماجستير ،جامعة السابع من أكتوبر، مصراته، ليبيا.
- القطيمي، عائشة. 2008. دراسة فاعلية مستخلصات بعض أنواع الطحالب البنية رتبة *Dictyotales* ، ضد بعض الفطريات الممرضة، رسالة ماجستير ، جامعة قارونس ، بنغازي، ليبيا.
- الفرجاني، عثمان. 2001. دراسة تأثير مستخلصات الطحلب *Rytiphlaea tinctoria* ضد نمو بعض انواع البكتيريا الممرضة للإنسان ، رسالة ماجستير، جامعة قارونس، بنغازي، ليبيا.
- الوجنقي ، آمنة. 2019. دراسة تأثير مستخلصات طحلب الاخضر *Chladophora sp.* على نمو البكتيريا الممرضة للإنسان ، رسالة ماجستير، جامعة بنغازي، بنغازي ، ليبيا.
- طوقان، أيمن. 2003. دراسة اختبار فاعلية مستخلصات بعض انواع الطحالب الخضراء رتبة *Ulvales*، رسالة ماجستير، جامعة بنغازي، بنغازي، ليبيا.
- عمر، فاطمة. 2013. دراسة فاعلية مستخلص طحلب كولبومينا سينوسا (*Colpomenia sinuosa*)، رسالة ماجستير، جامعة بنغازي، بنغازي، ليبيا.

## المراجع الأجنبية

Akehurst, S. C. 1931. Observations on bond life. J. Roy. Mic. Soc., 51: 237-256.

Alam, K.; Agua, T.; Maven, H.; Tale, R.; Rao, K. S. ; Burrows, I.; Huber, M. E.; Rali, T. 1994. Preliminary screening of seaweeds, seagrass and lemongrass oil from Papua New Guinea for antimicrobial and antifungal activity .Int. J. pha., 32: 396-399.

Alghazeer, R.; Whida, F.; Abdulrahman , E .; Azwai, S. 2013. Screening of antibacterial activity in marine green , red and brown macro algae from the western coast of Libya. Scientific Research., 5(1): 7-14.

Alghazeer, R. ; Elmansor, A.; Saidat, M.; Gammoud, F.; Azua, S.; Naas, H.; Grabaj, A.; Eldeeghayes, I. 2017. In Vitro Antibacterial Activity of Flavonoid Extracts of Two Selected Libyan Algae against Multi-Drug Resistant Bacteria Isolated from Food Products. J. Bio. Sci. Med., 5: 26-48.

Alshalmani, S.; Zobi, N.; Bozakouk, I. 2014. Antibacterial activity of Libyan sea weed extracts . Int. J. pharmacology. Sci., 5 (12) : 5425-5429.

Ardisson, F. 1893. Note alla phycologia mediterranea. R end. R. Inst. Lombardo Sci. Lett. Ser., 26(2) : 674-690.

Badea, V.; Balaban, P. D .; Rapeanu. G. 2009. The antibacterial activity evaluation of *Cystoseira barbata* biomass and some alginates upon bacteria from oropharyngeal cavity .J. Rom. Bio. Lett., 6: 4851-4857.

Bandara, B. M.; Gunatilaka, A. A. ; Savitri-kumar , Wimalasiri, N. W.; Adik-aram , N. K.; Balasubramariam, S. 1988. Antimicrobial activity of

some marine algae of Sir Lanka. J. Nat. Sci. Cou. Sir Lan., 16(2) : 206-221.

Bauer, A.; Kirby, w.; Sherris, J. C .; Turck, M. 1996. Antibiotic susceptibility testing a standard single desk method. The Amer. J. clin. Pat., 45: 493-496.

Bhakhuni, D. S. ; Silva, M. 1974. Biodynamic substances from marine flora. Bot. Mar., 170: 40-51.

Caccamese, S.; Azzolina. R. 1979. Screening for antimicrobial activities in marine Algae from Eastern sicily planta Medica ., 37: 333-339.

Caccamese, S., Azzolina, R., Furnari ,G. Cormaci, M.; Grasso, S. 1980. Antimicrobial and antifivival activities of extracts from mediterranean algae. Bot. Mar ., 23: 285-288.

Cannella, R. J. P. 1993. Algea as asource of biologically active products. pestic scisussex . John wily and sons . limited., 39(2): 147-153.

Cantrell, C. L.; Schrader, K. K.; Mamonov, L. K.; Sitpaeva, G. T.; Kustova. T. S.; Dunbar. C.; Wedge, D. E. 2005. Isolation and identification of antifungal and antialgal alkaloids from *Haplophyllum sieversii*. J. Agri. Food. chem., 5: 53.

Chang, T.; Ohta, S.; Ikegmi, N.; Miyata, H.; Kashimoto, T. ; Kondo, M. 1993. Antibioic substances produced by a marine green algae *Dunaliella primolecta*. Bio. Tec., 44: 149-153.

Cheesbrough, M. 1984. Medical laboratory manual for tropical countries 1<sup>st</sup> ed. Thetford press ltd.

Cheesbrough, M. 2000. Dstrict laboratory practice in tropical countries Cambridge University press.

Daood , N.; Mosto, B. 1997 . Contribution torecovery the antimicrobial properties of som Syrian marine algae . Damascus Uni. J. basi. sci., 13 (2): 110-118.

- Demirel, Z. ; Yilmazkoz, F. F. ; Karagay yavasogulu. U. N. 2009. Antibacterial and antioxidant activity of brown algae from the Aegean sea. *J. Serb. Chem. Soc.* 74 (6): 619 - 628.
- De Toni, G. B. 1892. Second pugillo di alghe tripolitane. *Rend. R. Acc Naz. Lincei (Roma). Ser.*, 1(5): 140-147.
- De Toni, G. B.; Forti. A. 1913. Contribution a la flore algologique de la Tripolitaine et la Cyrenaique. *Ann. Inst. Oeeanogro.* 5:1-56.
- De Toni, G. B.; Forti. A. 1914. In: R. Pampanini. *Plantae. Tripolitanae et Reportorium Florae Vascularis Tripolitanae.* Firenze plantae cellular-Algae., 289-304.
- El-Fatimy, E. S. ; Said, A. M. 2011. Antibacterial activity of methanolic extract of dominant marine algae *Padina pavonia* of Tolmeta Coasts Libya. *J. Amer. Sci.* 7(4): 745-751.
- El-Masry, E. S. ; Fahmy, H. H. ; Abdelwahed, A. S. 2000. Synthesis and antimicrobial activity of some new benzimidazole derivatives . *Molecules.* 5: 1429 -1434.
- El-Mishad, H .A .2005. *Manual of medical microbiology and immunology.* 5<sup>th</sup> ed. Com. Press. Kalyoub. Cairo. Egypt., 2: 52-35.
- Elnabris, K. J. ; Elmanama, A. A; Chihadeh, W. N .2013. Antibacterial activity of four marine sea weeds collected from the coast of Gazastrip, Palestine. *J. Mar. Sci.* 28 (1): 81-92.
- El-Nakhal, M. 1987. *In trodution to micro biology.* king soud university press.
- Essawi, T. ; Srour, M. 2000. Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity. *J. Ethn .phar.* 70: 343 - 349.
- Fadoul, E. H. 2014. Antimicrobial activity of extracts from aquatic algae isolated from salt soil and fresh water in Thailand. *Inte. J. Res. Stu. Bio. (IJRSB).*, 2(11): 149-152.
- Godeh, M .M .; Nizamuddin, M .; El-Menifi, F. A. 1992. Marine algae from Eastern Coast of Libya (Cyrenaica). *Pak. J. Bot.*, 24 (1): 11-21.

- Godeh, M. M.; EL-Menifi, F. O. ; said. A. A. 2009 Marine algae of Tobruk and Ain Ghazala coast Libya. J. sci .App., 3(1): 42-55.
- Godeh, M. M.; said. A. A.; El-menifi. F. O.; Zarmouh. M. Y. 2017. Marine algae of Sert coasts, Libya. J. Sci. App. 5:(1): 41-44.
- Halling, B. 2000 . Algal toxicity of antibacterial agents used in intensive farming . Che., 40 (7): 731-739.
- Harder, R. 1917. Ernährungs physiologische Untersuchungen an Cyanophyceen, hauptsächlich dem endophytischen( *Nostoc punctiforme* ).Z. Bot., 9: 145.
- Holt, J. G.; Krieg ,N. R. ; Sneath, H. A. ; Staley, J. T. ; Williams , S. T. 1994. Bergeys Manual of Determinative Bacteriology.9 th edition Williams. And Wilkins Baltimore, USA.
- James, J.; Sims, M. 1975. Antimicrobial agents from marine algae, American society for microbiology. 7(3): 320-321.
- Kausalya, M. ; Narasimha. ; Rao. G. M. 2015. Antimicrobial activity of marine algae .J. Algal Biomass Utin, 6(1) : 78-87.
- Krish, S.; Das. 2014. In vitro bioactivity of marine seaweed *Cladophora rupestris*. pha. Bio. Int. J .Sci., 5(1): 898-908.
- Lima-Filho, J. V. M .; Carvalho, A. F. F., Freitas. S. M; Melo.V. M. M. 2002 .Antibacterial activity of extracts of six macro algae from the northeastern Brazilian coast. Bra. J. Mic., 33(4): 313-314.
- Lustigman, B. 1988. Comparison of antibiotic production from four ecotypes of the marine algae, *Dunaliella*. Bull. Environ. Contam Toxicol., 40: 18-22.
- Mayer, A. M. S. M.; Rodriguez, A. D. ; Berlink, R. G. S . ; Hamann, M. T. 2007. Marine pharmacology in marine compounds with anthelmintic antibacterial antimalarial antiplatelet antiprotozoal antituberculosis and antiviral activities affecting the cardiovascular immune and nervous system and other miscellaneous mechanisms of action. Com. Bio. Phy., 145: 553-581.

Maheswari, M. ; Uma-Reena, A. ; Paul Beulah, F. B. 2016. Antibacterial activity of marine algae against clinically relevant bacteria strains ,Int. J. Carr. Res. Aca. Rev. 3: 10-16.

Nizamuddin, M.; West, J. A.; Menez, E. G. 1979. A list of marine algae from Libya. Bot. Mar., 22: 465-476.

Omar, H. H. ; Shiekh, H. M.; Gumgumjee. N. M, El-kazan. M. M .; El-Gendy. A. M. 2012. Antibacterial activity of extracts of marine algae from the red sea of Jeddah, Saudi-arbia . Afric. J. Bio. 11 (71) 13567-13585.

Paul, V. J.; Feni, W . 1986. Chemical de fense in tropical green algae, order Caulerples. Mar. Ecol. Prog. Ser., 34: 157-169.

Rao, P. S.; Parekh, K. S. 1981. Antibacterial activity of Indian sea weed extracts. J. Bot. Mar., 24: 577-582.

Rajasulochana, P. ; Dhamotharan, R. ; Krishnamoorthy, P . ; Murugesan , S. 2009. Antibacterial activity of the extracts of marine red and brown algae. J. Amer. Scie. 5 (3): 20-25.

Said, A. A .; Godeh, M. M.; EL-Menifi .O. F. 2010. Marine algae survey of Derna, Susa and Tolmeta at Libya coasts Egyptian J. phy.,11.

Said, A. A .; Godeh, M. M.; EL-Menifi .O.F. 2012. Marine algae of Tajora coasts, western Libya. J. Env. Sci .41: 79-87.

Seenivasan, R.; Indu. H.; Archana. G .; Geetha. S. 2010. The antibacterial activity of some marine algae from south east coast of India .amrican-aurasian. J. Agr. Env. Sci., 9(5): 480-489.

Sleburth, J. MCN. 1960.Acrylic acid an antibiotic principle in phaeocystis blooms in antarctic waters. Sci., 132: 676-677.

Soltani, S.; Saadvatmand, S.; kharinejad. R.; Nejoadsttari. 2011. Antioxidant and antibacterial activities of *cladophora glomerata(L)* Kutz in Caspian sea coast, Iran African J. Bio. 10(39): 7684-7689.

Sujatha, R.; Siva, D .; Mohideen Askar Nawas .P. 2019 Screening of phyto chemical profile and antibacterial activity of various solvent extracts of marine algae *Sargassum Swartzii*. An international scientific J., 115: 27-40.

Tajbakhsh, S.; Ikhani, M.; Rustaiyan ,A .; Larijani, K.; Sartau, K.; Tahmasebi, R.; Asayesh. G. 2011. Antibacterial effect of brown algae *Cystoseira trinodis.*, 5(18): 4654-4657.

Taskin, E.; Ozturk, M.; Kurt. O . 2007. Antibacterial activities of some marine algae from the aegan sea (Turkey) Afr. J . Bio., 6(24): 2746-2751.

Tuney, I.; Cadircl, B. H., Unal,D.; Sukatar, A. 2006. Antimicrobial activities of extracts of marine algae from the coast of *Ulva* (izmir,turey) Turk. J. Bio., 30: 171-175.

Uwaezuoke, J. C. ; Aririatu, L. E. 2004. A survey of antibiotic resistant *Staphylococcus aureus* strains from clinical sources on Owerri. J. Appl. Scien. Envi . 8: 67 – 69

Vimala, T.; Poonghazhali. T. U. 2017. In vitro antimicrobial activity of solvent extracts of marine brown algae, *Hydroclathrus* (C.Agardh). M. howe from Gulf of mannar. J. Pha. Sci., 7(4): 157-162.

Vidyavathy, N.; Sridhar, K. R. 1991. Seasonal and geographical variations in the antimicrobial activity of sea weeds from the mangalore coast of India .Bot. Mar.; 34: 279-284.

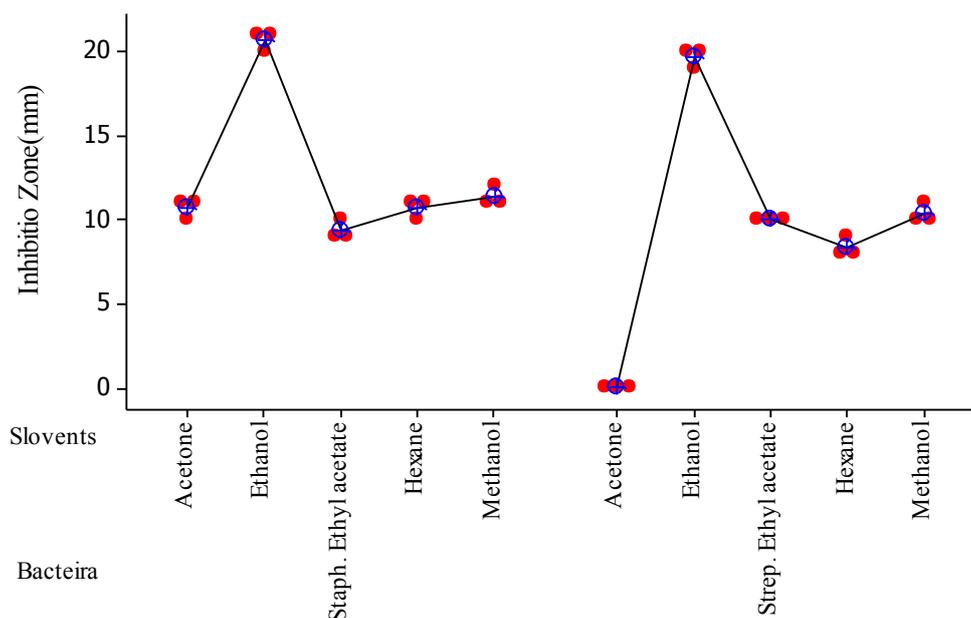
Vlachos,V.; Critchley, A. T. 1996. Establishment of protocol for testing antimicrobial activity in southern Africa macroalgae. Microbios. 88: 115-123.

War, R. W.; Rizlan ross, E. E.; Abdul rhim. N. F. 2018. Antimicrobial activity of marine green algae extract against microbial pathogens. (MJBMB). J. Bio. Mol. Bio., 2: 42-46.

Zbakh, H. ; Chiheb, H .; Bouziane, H .; Sanchez, V. M .; Riadi , H. 2012. Antibacterial activity of benthic marine algae extracts from the Mediterranean coast of Morocco .J. Micro. Bio. Scien.2(1): 219-228



Individual Value Plot of Inhibitio Zone (mm) in *C. crinita* vs Bacteira & Slovents



الجدول رقم 2 تأثير مستخلص طحلب *C. compressa* بتركيز 200 في 21 يوم

**One-way ANOVA: Inhibitio Zone(mm) 2 versus Slovents 2**

Source	DF	SS	MS	F	P
Slovents 2	9	935.867	103.985	222.83	0.000
Error	20	9.333	0.467		
Total	29	945.200			

S = 0.6831 R-Sq = 99.01% R-Sq(adj) = 98.57%

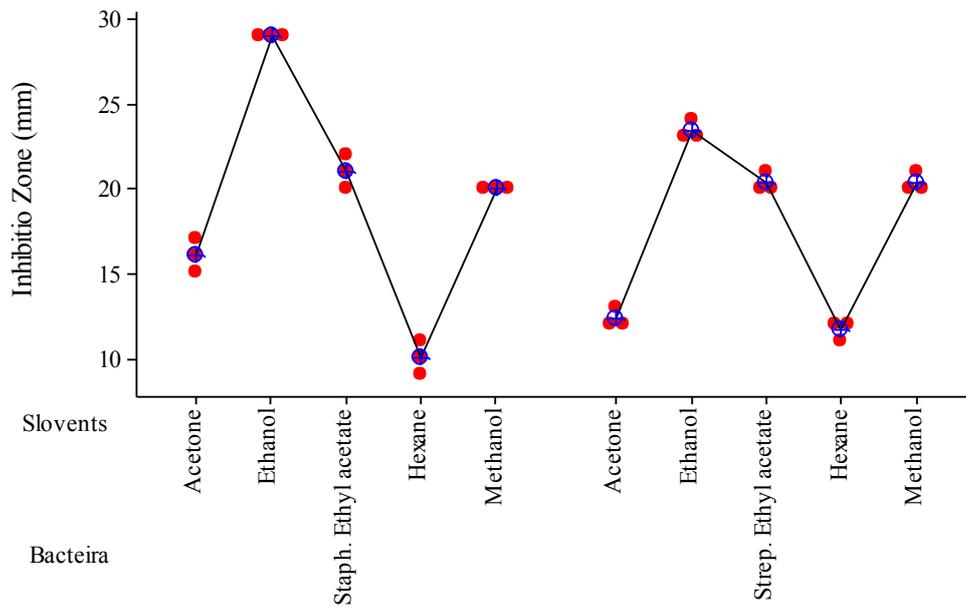
Individual 95% CIs For Mean Based on Pooled StDev

Level	N	Mean	StDev	CI
Acetone 1	3	16.000	1.000	(-*)
Acetone 2	3	12.333	0.577	(-*)
Ethanol 1	3	29.000	0.000	(* -)
Ethanol 2	3	23.333	0.577	(*)
Ethyl acetate 1	3	21.000	1.000	(*)
Ethyl acetate 2	3	20.333	0.577	(*)
Hexane 1	3	10.000	1.000	(-*)
Hexane 2	3	11.667	0.577	(* -)
Methanol 1	3	20.000	0.000	(* -)
Methanol 2	3	20.333	0.577	(*)

	12.0	18.0	24.0	30.0
Pooled StDev = 0.683				
Grouping Information Using Tukey Method				
Slovents	N	Mean	Grouping	
Ethanol 1	3	29.000	A	
Ethanol 2	3	23.333	B	
Ethyl acetate 1	3	21.000	C	
Methanol 2	3	20.333	C	
Ethyl acetate 2	3	20.333	C	
Methanol 1	3	20.000	C	
Acetone 1	3	16.000	D	
Acetone 2	3	12.333	E	
Hexane 2	3	11.667	E F	
Hexane 1	3	10.000	F	

Means that do not share a letter are significantly different.

Individual Value Plot of Inhibitio Zone(mm) in *C. compressa* vs Bacteira & Slovents

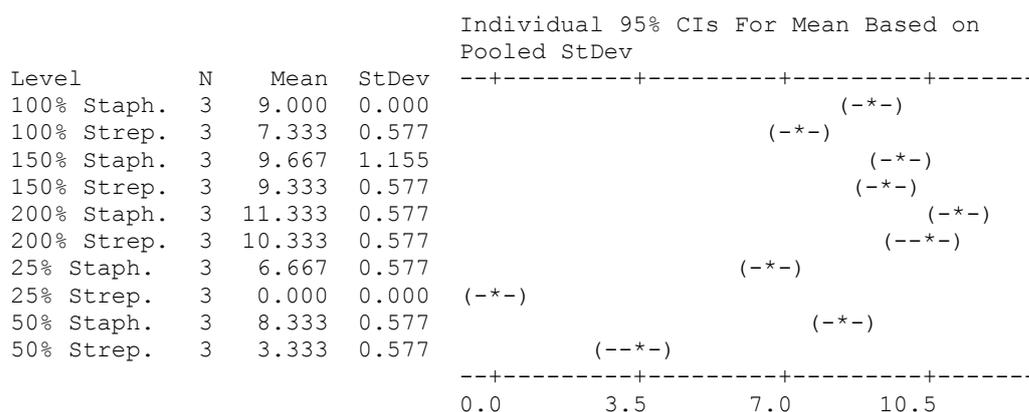


الجدول رقم 3 تأثير مستخلص الميثانول في طحلب *C. crinita* لجميع التراكيز في 21 يوم  
لنوعي البكتيريا

**One-way ANOVA: Inhibitio Zone (mm) Algea1 Meth versus Methanol Con. Bac.**

Source	DF	SS	MS	F	P
Methanol Con. Bac.	9	324.133	36.015	98.22	0.000
Error	20	7.333	0.367		
Total	29	331.467			

S = 0.6055 R-Sq = 97.79% R-Sq(adj) = 96.79%



Pooled StDev = 0.606

Grouping Information Using Tukey Method

Methanol	N	Mean	Grouping
Con. Bac.			
200% Staph.	3	11.333	A
200% Strep.	3	10.333	A B
150% Staph.	3	9.667	A B C
150% Strep.	3	9.333	B C
100% Staph.	3	9.000	B C D
50% Staph.	3	8.333	C D E
100% Strep.	3	7.333	D E
25% Staph.	3	6.667	E
50% Strep.	3	3.333	F
25% Strep.	3	0.000	G

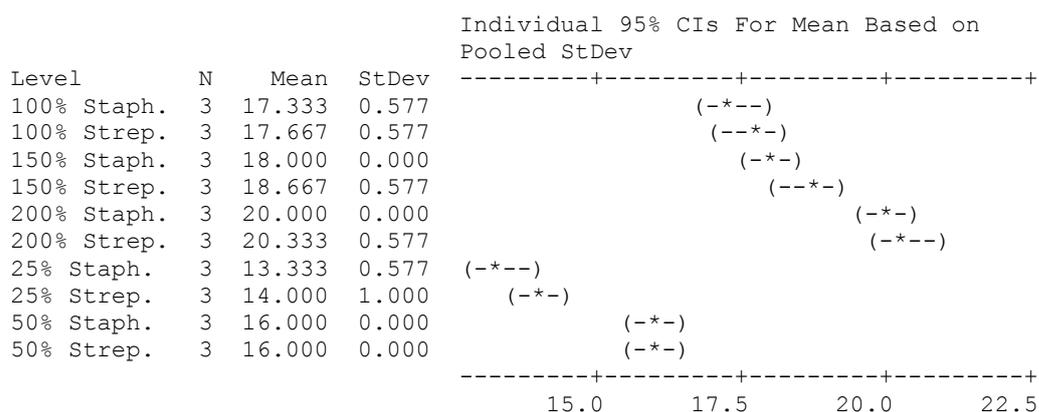
Means that do not share a letter are significantly different.

الجدول رقم 4 تأثير مستخلص الميثانول في طحلب *C. compressa* لجميع التراكيز في 21 يوم لنوعي البكتيريا

**One-way ANOVA: Inhibitio Zone (mm) Algea2 Meth versus Methanol Con. Bac.**

Source	DF	SS	MS	F	P
Methanol Con. Bac.	9	146.133	16.237	60.89	0.000
Error	20	5.333	0.267		
Total	29	151.467			

S = 0.5164 R-Sq = 96.48% R-Sq(adj) = 94.89%



Pooled StDev = 0.516

Grouping Information Using Tukey Method

Methanol Con. Bac.	N	Mean	Grouping
200% Strep.	3	20.3333	A
200% Staph.	3	20.0000	A B
150% Strep.	3	18.6667	B C
150% Staph.	3	18.0000	C
100% Strep.	3	17.6667	C
100% Staph.	3	17.3333	C D
50% Strep.	3	16.0000	D
50% Staph.	3	16.0000	D
25% Strep.	3	14.0000	E
25% Staph.	3	13.3333	E

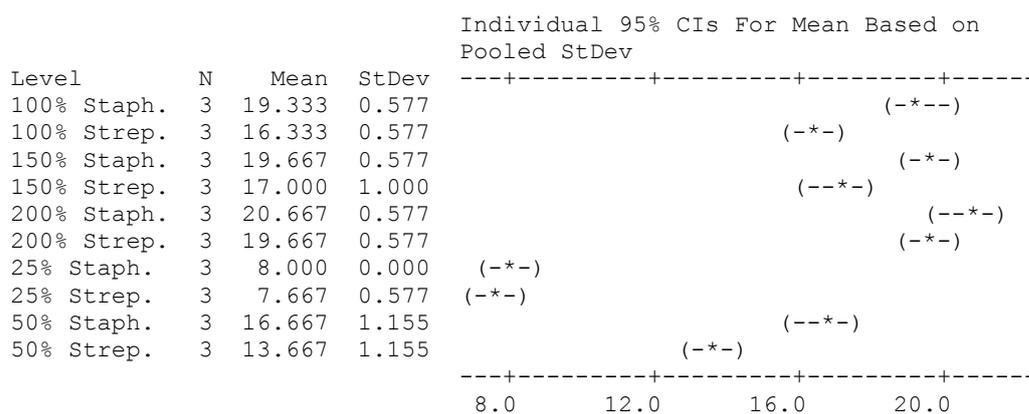
Means that do not share a letter are significantly different.

الجدول رقم 5 تأثير مستخلص الايثانول في طحلب *C. crinita* لجميع التراكيز في 21 يوم  
لنوعي البكتيريا

**One-way ANOVA: Inhibitio Zone (mm) Algea1 Eth. versus Ethanol Con. Bac.**

Source	DF	SS	MS	F	P
Ethanol Con. Bac.	9	600.133	66.681	117.67	0.000
Error	20	11.333	0.567		
Total	29	611.467			

S = 0.7528 R-Sq = 98.15% R-Sq(adj) = 97.31%



Pooled StDev = 0.753

Grouping Information Using Tukey Method

Ethanol	N	Mean	Grouping
Con. Bac.			
200% Staph.	3	20.667	A
200% Strep.	3	19.667	A
150% Staph.	3	19.667	A
100% Staph.	3	19.333	A
150% Strep.	3	17.000	B
50% Staph.	3	16.667	B
100% Strep.	3	16.333	B
50% Strep.	3	13.667	C
25% Staph.	3	8.000	D
25% Strep.	3	7.667	D

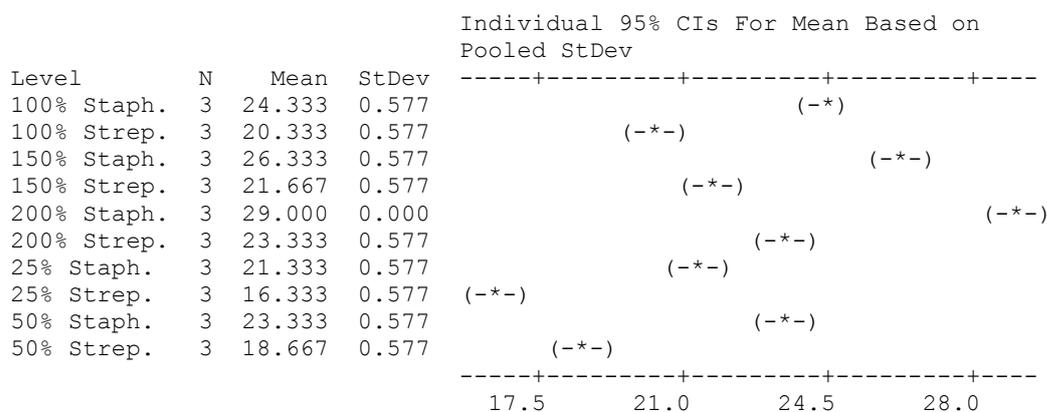
Means that do not share a letter are significantly different.

الجدول رقم 6 تأثير مستخلص الايثانول في طحلب *C. compressa* لجميع التراكيز في 21 يوم لنوعي البكتيريا

**One-way ANOVA: Inhibitio Zone (mm) Algea2 Eth. versus Ethanol Con. Bac.**

Source	DF	SS	MS	F	P
Ethanol Con. Bac.	9	363.467	40.385	134.62	0.000
Error	20	6.000	0.300		
Total	29	369.467			

S = 0.5477 R-Sq = 98.38% R-Sq(adj) = 97.65%



Pooled StDev = 0.548

Grouping Information Using Tukey Method

Ethanol	N	Mean	Grouping
Con. Bac.			
200% Staph.	3	29.000	A
150% Staph.	3	26.333	B
100% Staph.	3	24.333	C
50% Staph.	3	23.333	C
200% Strep.	3	23.333	C
150% Strep.	3	21.667	D
25% Staph.	3	21.333	D
100% Strep.	3	20.333	D
50% Strep.	3	18.667	E
25% Strep.	3	16.333	F

Means that do not share a letter are significantly different.

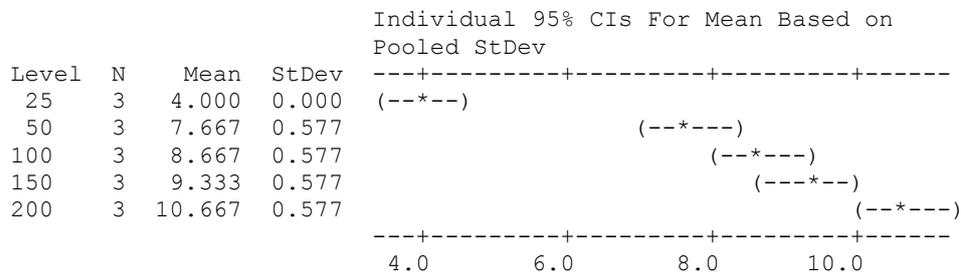
الجدول رقم 7 تأثير مستخلص الاسيتون في طحلب *C. crinita* لجميع التراكيز في 21 يوم  
 لنوعي البكتيريا

تم التحليل فقط ما بين قراءات البكتيريا رقم 1 لان البكتيريا الثانية اعطت صفر في جميع القيم.

### One-way ANOVA: Aceton Inhib. Zone versus Aceton Conc. Bac. 1

Source	DF	SS	MS	F	P
Aceton Conc. Bac. 1	4	76.267	19.067	71.50	0.000
Error	10	2.667	0.267		
Total	14	78.933			

S = 0.5164 R-Sq = 96.62% R-Sq(adj) = 95.27%



Pooled StDev = 0.516

Grouping Information Using Tukey Method

Aceton Conc.	N	Mean	Grouping
200	3	10.6667	A
150	3	9.3333	A B
100	3	8.6667	B C
50	3	7.6667	C
25	3	4.0000	D

Means that do not share a letter are significantly different.

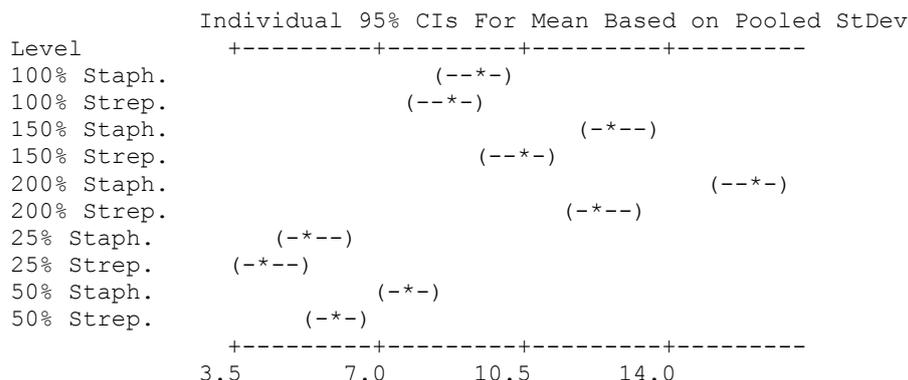
الجدول رقم 8 تأثير مستخلص الاسيتون في طحلب *C. compressa* لجميع التراكيز في 21 يوم لنوعي البكتيريا

**One-way ANOVA: Inhibitio Zone (mm) Algea2 Acet versus Aceton Con. Bac.**

Source	DF	SS	MS	F	P
Aceton Con. Bac.	9	362.533	40.281	86.32	0.000
Error	20	9.333	0.467		
Total	29	371.867			

S = 0.6831 R-Sq = 97.49% R-Sq(adj) = 96.36%

Level	N	Mean	StDev
100% Staph.	3	9.333	0.577
100% Strep.	3	8.667	0.577
150% Staph.	3	12.667	0.577
150% Strep.	3	10.333	0.577
200% Staph.	3	16.000	1.000
200% Strep.	3	12.333	0.577
25% Staph.	3	5.333	0.577
25% Strep.	3	4.333	0.577
50% Staph.	3	7.667	0.577
50% Strep.	3	6.000	1.000



Pooled StDev = 0.683

Grouping Information Using Tukey Method

Aceton Con.	N	Mean	Grouping
Bac.			
200% Staph.	3	16.000	A
150% Staph.	3	12.667	B
200% Strep.	3	12.333	B
150% Strep.	3	10.333	C
100% Staph.	3	9.333	C D
100% Strep.	3	8.667	C D
50% Staph.	3	7.667	D E
50% Strep.	3	6.000	E F
25% Staph.	3	5.333	F
25% Strep.	3	4.333	F

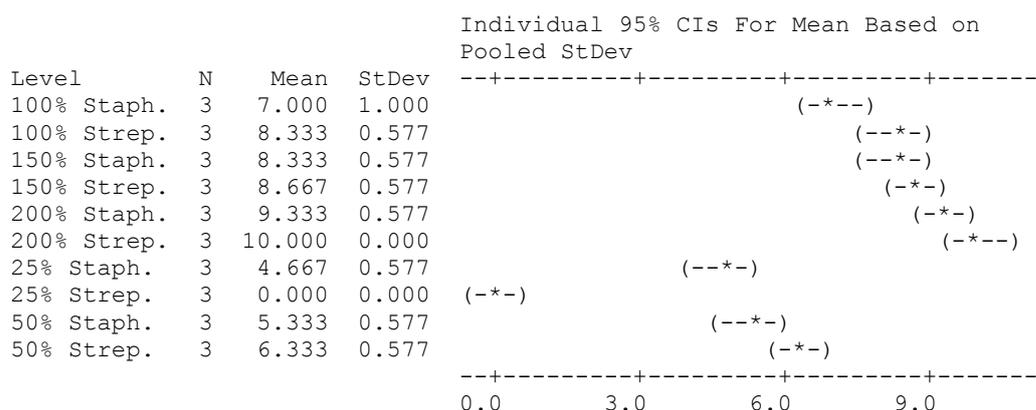
Means that do not share a letter are significantly different.

الجدول رقم 9 تأثير مستخلص الايثيل اسيتيت في طحلب *C. crinita* لجميع التراكيز في 21 يوم لنوعي البكتيريا

**One-way ANOVA: Inhibitio Zone (mm) Algea1 EthA versus EthylAcetate Con. Bac.**

Source	DF	SS	MS	F	P
EthylAcetate Con. Bac.	9	234.133	26.015	78.04	0.000
Error	20	6.667	0.333		
Total	29	240.800			

S = 0.5774 R-Sq = 97.23% R-Sq(adj) = 95.99%



Pooled StDev = 0.577

Grouping Information Using Tukey Method

EthylAcetate	N	Mean	Grouping
Con. Bac.			
200% Strep.	3	10.000	A
200% Staph.	3	9.333	A
150% Strep.	3	8.667	A B
150% Staph.	3	8.333	A B
100% Strep.	3	8.333	A B
100% Staph.	3	7.000	B C
50% Strep.	3	6.333	C D
50% Staph.	3	5.333	C D
25% Staph.	3	4.667	D
25% Strep.	3	0.000	E

Means that do not share a letter are significantly different.

Tukey 95% Simultaneous Confidence Intervals

All Pairwise Comparisons among Levels of EthylAcetate Con. Bac.

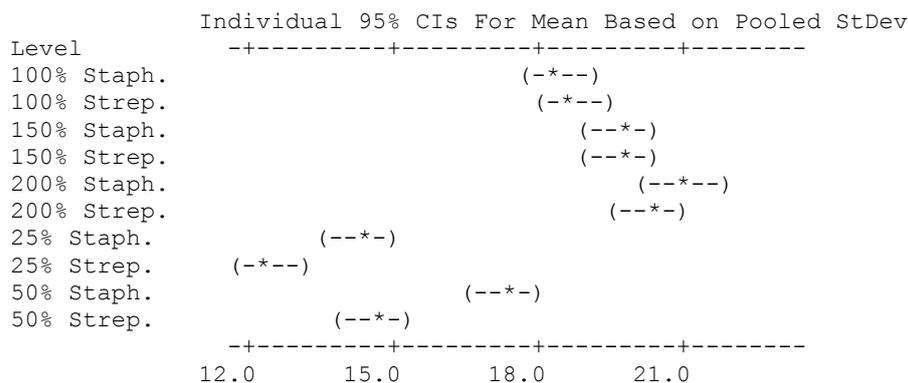
الجدول رقم 10 تأثير مستخلص الايثيل اسيتيل في طحلب *C. compressa* لجميع التراكيز في 21 يوم لنوعي البكتيريا

**One-way ANOVA: Inhibitio Zone (mm) Algea2 EthA versus EthAc Con. Bac.**

Source	DF	SS	MS	F	P
EthAc Con. Bac.	9	228.967	25.441	63.60	0.000
Error	20	8.000	0.400		
Total	29	236.967			

S = 0.6325 R-Sq = 96.62% R-Sq(adj) = 95.10%

Level	N	Mean	StDev
100% Staph.	3	18.333	0.577
100% Strep.	3	18.667	0.577
150% Staph.	3	19.667	0.577
150% Strep.	3	19.667	0.577
200% Staph.	3	21.000	1.000
200% Strep.	3	20.333	0.577
25% Staph.	3	14.333	0.577
25% Strep.	3	12.333	0.577
50% Staph.	3	17.333	0.577
50% Strep.	3	14.667	0.577



Pooled StDev = 0.632

Grouping Information Using Tukey Method

EthAc Con. Bac.	N	Mean	Grouping
200% Staph.	3	21.000	A
200% Strep.	3	20.333	A B
150% Strep.	3	19.667	A B C
150% Staph.	3	19.667	A B C
100% Strep.	3	18.667	B C D
100% Staph.	3	18.333	C D
50% Staph.	3	17.333	D
50% Strep.	3	14.667	E
25% Staph.	3	14.333	E
25% Strep.	3	12.333	F

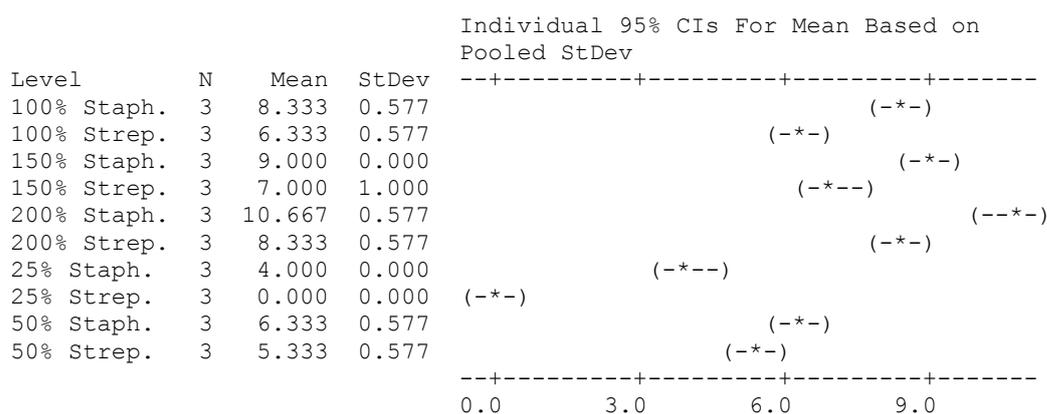
Means that do not share a letter are significantly different.

الجدول رقم 11 تأثير مستخلص الهكسان في طحلب *C. crinita* لجميع التراكيز في 21 يوم  
لنوعي البكتيريا

**One-way ANOVA: Inhibitio Zone (mm) Algea1 Hex. versus Hexan Con. Bac.**

Source	DF	SS	MS	F	P
Hexan Con. Bac.	9	241.467	26.830	89.43	0.000
Error	20	6.000	0.300		
Total	29	247.467			

S = 0.5477 R-Sq = 97.58% R-Sq(adj) = 96.48%



Pooled StDev = 0.548

Grouping Information Using Tukey Method

Hexan Con. Bac.	N	Mean	Grouping
200% Staph.	3	10.667	A
150% Staph.	3	9.000	B
200% Strep.	3	8.333	B C
100% Staph.	3	8.333	B C
150% Strep.	3	7.000	C D
50% Staph.	3	6.333	D E
100% Strep.	3	6.333	D E
50% Strep.	3	5.333	E F
25% Staph.	3	4.000	F
25% Strep.	3	0.000	G

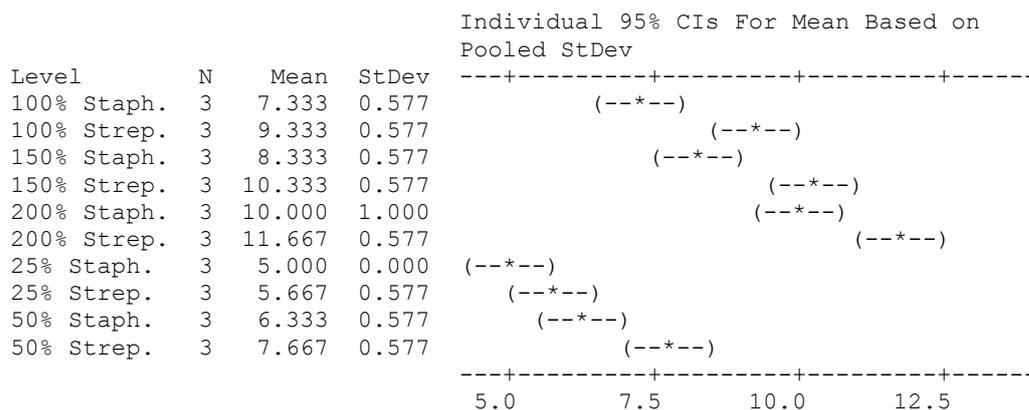
Means that do not share a letter are significantly different.

الجدول رقم 12 تأثير مستخلص الهكسان في طحلب *C. compressa* لجميع التراكيز في  
21 يوم لنوعي البكتيريا

**One-way ANOVA: Inhibitio Zone (mm) Algea2 Hex. versus Hexan Con. Bac.**

Source	DF	SS	MS	F	P
Hexan Con. Bac.	9	126.833	14.093	38.43	0.000
Error	20	7.333	0.367		
Total	29	134.167			

S = 0.6055 R-Sq = 94.53% R-Sq(adj) = 92.07%



Pooled StDev = 0.606

Grouping Information Using Tukey Method

Hexan Con. Bac.	N	Mean	Grouping
200% Strep.	3	11.6667	A
150% Strep.	3	10.3333	A B
200% Staph.	3	10.0000	A B C
100% Strep.	3	9.3333	B C D
150% Staph.	3	8.3333	C D E
50% Strep.	3	7.6667	D E F
100% Staph.	3	7.3333	E F G
50% Staph.	3	6.3333	F G H
25% Strep.	3	5.6667	G H
25% Staph.	3	5.0000	H

Means that do not share a letter are significantly different.

**Antimicrobial effect of brown algae extracts of *Cystoseira* spp  
collected from Tukra coast .**

**By**

**Sumaia Faraj Salem**

**Supervisor**

**Prof-Dr:Massoud Mohammed Godeh**

**Abstract**

Two species of brown algae *Cystoseira compressa* and *Cystoseira crinita* were studied in this project which collected from Tukra coastal line and that was in order to study their inhibition effects on growth of five different species of bacteria *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Escherichia coli* also five different organic solvents Methanol, Ethanol, Acetone, Ethylacetate and Hexane were used with both algal species and the bacteria species in different concentrations 25, 50, 100, 150, 200  $\mu$ l .

Discs of the antibiotic Azithromycin<sup>15</sup> were used as a positive control and solvent of Dimethyl sulfoxide (DMSO) as a negative control . Nutrient Agar was used to reactivate colonies of bacteria that were used in this study and Muller Hinton (M.H) media was used for the sensitivity. Hole Plate Diffusion Method was also used in the sensitivity test for both species of *Cystoseira* which were extracted by applying a cold extraction method. Both *Cystoseira* spp. showed vary inhibition effects on Gram positive bacteria *S. aureus*, *S.pyogenes* and was increased by increasing any of extract concentration, time of extraction, except in Ethyl acetate solvent with *Cystoseira compressa* at 50  $\mu$ l and 14 or 21 days on *S.pyogenes* . Highest inhibition zones were found in colonies of *S. aureus*, *S.pyogenes* by using extracts of *Cystoseira compressa* Ethanol solvent showed highest values of inhibition in positive Gram bacteria cultures.

Most importantly, extracts of both species of *Cystoseira* had no inhibition effect on Gram negative bacteria.



**Antibacterial effects of brown algae  
extracts of *Cystoseira spp* collected from  
Tukra beach.**

**By**

**Sumaia Faraj Salem**

**Supervisor**

**Prof.Dr: Massoud Mohammed Godeh**

**A thesis submitted as a partial fulfillment of the requirement  
for the degree of master of Science in Botany.**

**University of Benghazi**

**Faculty of Science**

**October 2019**