دراسة تأثير المستخلصات طحلب *Cladophora vadorum* على نمو بعض الأنواع من البكتيريا الممرضة للإنسان

قدمت من قبل :

أمنة خميس أحمد لوجنقي

تحت إشراف:

أ.د مسعود محمد إقديح

قدمت هذه الرسالة استكمالا لمتطلبات الحصول على درجة الماجستير في علم النبات

جامعة بنغازي

كلية العلوم

مارس 2019

Copyright © 2019.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 2019 محفوظة . لا يسمح 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 إذن كتابي من المؤلف أو إدارة الدراسات العليا والتدريب جامعة بنغازي

جامعة بنغازي

كلية العلوم

قسم النبات

دراسة تأثير المستخلصات طحلب *Cladophora vadorum* على نمو بعض الأنواع من البكتيريا الممرضة للإنسان

The study of effect of *Cladophora vadorum* on same of growth species of human pathogenic bacteria

بحث مقدم كجزء من متطلبات الحصول على درجة الإجازة العليا (الماجستير) في علم النبات

مقدمة من الطالبة

آمنة خميس احمد الوجنقي

نوقشت هذه الرسالة واجيزت بتاريخ : 13-3-2019م

تحت اشراف

أ.د . مسعود محمد إقديح

التوقيع :.....

أ.د : صالحة فرج بن جويرف (ممتحنا داخلي)

التوقيع:.....

د: نجاح سليمان عبدالله (ممتحنا خارجي)

التوقيع:.....

عميد الكلية

د: حسين محمد البرعصي

مدير أدارة الدراسات العليا والتدريب بالجامعة

د:محمد صالح بوعمود

{إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَاوَاتِ وَالأَرْضِ وَاخْتِلاَفِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ وَالْفُلْكِ الَّتِي تَجْرِي فِي الْبَحْرِ بِمَا يَنفَعُ النَّاسَ وَمَا أَنزَلَ اللّهُ مِنَ السَّمَاء مِن مَّاء فَأَحْيَا بِهِ الأَرْضَ بَعْدَ مَوْتِهَا وَبَثَّ فِيهَا مِن كُلِّ دَآبَّةٍ وَتَصْرِيفِ الرِّيَاحِ وَالسَّحَابِ الْمُسَخِّرِ بَيْنَ السَّمَاء وَالأَرْضِ لآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يَعْقِلُون}

سورة البقرة، الآية 164

الإهداء

إلى إمام الذاكرين وقدوة السالكين ومعلم المتعلمين صاحب الشفاعة والدين سيدنا محمد صلى الله وعليه وسلم

إلى الذي أحاطني برعايته.. واتاني بمحبته ..وأعانني بنصحه ومشورته ..ووفر لي كل ما كان وسيلة لبلوغ غايتي التي هي غايته أبي الغالي

إلى التي أودعت في داخلي الرغبة في الاستمرار إلى التي لولاها ما علمت ان لكل سائل مجاب إلى نبع الحنان ورمز المحبة والعطاء إلى التي كانت ولازالت وستظل عنوانا للوفاء أمي الحبيبة

إلى بهجة سروري وحناني إلى من كان دائما أومن أن سعادتي من سعادتهم أخواتي وخواتي

إلى رفيقات الدرب بكل حب وتضحية إلى اعز صديقات في حياتي

آمنة وردقو و سهير علي و زهرة طاهر

إلى توأم روحي وتاج راسي ونبض قلبي حبيبي حسين عيسي

الشكر والتقدير

الحمد والشكر لله وحده الذي انعم علي وسهل كل سبل لإنجاح هذه رسالة والصلاة والسلام على حبيب الله محمد صلى الله وعلية وسلم

يطيب لي أن أتقدم بجزيل شكري وعرفاني بالجميل الى أستاذي الفاضل أ.د مسعود إقديح لأشرافه على هذه الرسالة بوقفته الجادة وتوجيهاته ومتابعته الدقيقة لكل خطوة لإتمام هذا العمل

ولما قدمه لي من إرشادات قيمة خلال فترة دراستي

وشكري الموصول أيضاً لأمانة قسم علم النبات وأعضاء هيئة التدريس والموظفين وطلبة الدراسات العليا بالقسم علي دعمهم العلمي والمعنوي

كما أتقدم بالشكر الجزيل لإدارة كلية العلوم جامعة بنغازي وإدارة الدراسات العليا لتمكيني من الدراسة وتسهيل الإجراءات

وأخص بالشكر والعرفان والتقدير لإدارة جامعة العرب الطبية و لمدير مخازن جامعة العرب الطبية و كلية الصيدلة لمساعدتهم لي وتسهيل وتوفير كل ما احتجه للإتمام رسالتي

كما أتقدم بالشكر والتقدير لأداره المستشفي الصدرية ولقسم المختبرات في المستشفي على تعاونهم واستقبالهم لي

المحتويات

الموضوع **رقم الصفحة**

حقوق الطبع ..... ب

قرار لجنة المناقشة ..... ج

الآية..... **د**

الاهداء..... هـ

الشكر والتقدير..... و

المحتويات ..... ز

قائمة الجداول ..... ل

قائمة الاشكال ..... ن

الملخص باللغة العربية ..... ث

الفصل الاول

المقدمة 1

الدراسات السابقة 5

الغرض من الدراسة 17

الفصل الثاني

المواد وطرق العمل 18

المواد 18

منطقة الدراسة وتجميع عينات الطحالب 18

الطحلب المستخدم 20

المذيبات المستخدمة 22

البكتيريا المستخدمة 23

الاوساط الغذائية لزراعة السلالات البكتيرية المستخدمة 24

الطرق العمل 24

تحضير المستخلصات 24

طريقة استخدام المستخلصات 25

التحليل الإحصائي 26

الفصل الثالث

النتائج 27

تأثير مستخلصات طحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا الممرضة.. 27

تأثير زمن الاستخلاص وتركيز مستخلصات المذيبات العضوية لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا..... 36

تأثير زمن الاستخلاص وتركيز مستخلصات كحول الميثانول لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *S. aureus* 36

تأثير زمن الاستخلاص وتركيز مستخلصات محلول الإيثانول (Ethanol) لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *S. aureus*..... 43

تأثير زمن الاستخلاص وتركيز مستخلصات الأسيتون لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *S. aureus* 49

تأثير زمن الاستخلاص وتركيز مستخلصات البترواليوم إيثر لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *S. aureus* 55

تأثير زمن الاستخلاص وتركيز مستخلصات الأيثيل اسيتيت لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *S. aureus* 61

تأثير زمن الاستخلاص وتركيز مستخلصات كحول الميثانول لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *E.coli* 67

تأثير زمن الاستخلاص وتركيز مستخلصات البترواليوم إيثر لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *E.coli* 72

تأثير زمن الاستخلاص وتركيز مستخلصات البترواليوم إيثر لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *K.pneumonia* 78

تأثير زمن الاستخلاص وتركيز مستخلصات كحول الإيثانول لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *P.aeruginosa* 83

تأثير زمن الاستخلاص وتركيز مستخلصات البترواليوم إيثر لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *P.aeruginosa* 89

الكشف عن بعض المكونات الكيميائية الذائبة في الميثانول لطحلب *Cladophora vadorum* 95

الكشف عن القلويدات 95

الكشف عن الفلافينويدات..... 95

الكشف عن التانينات..... 95

الكشف عن الفينولات..... 96

الكشف عن الصابونينات 96

الكشف عن السكريدات 96

اختبار الكشف عن الررتنجات 96

الفصل الرابع

المناقشة 98

المراجع 102

الملاحق 110

المراجع العربية 146

المراجع الانجليزية 167

Abstract

قائمة الجداول

جدول 1. المذيبات المستخدمة ومصادرها 22

جدول 2. تأثير مستخلصات طحلب *Cladophora vadorum* على نمو بعض أنواع البكتيريا باستخدام المذيبات العضوية بالمليمتر (مم)..... 27

جدول 3. تأثير مستخلصات كحول الميثانول (Methanol) لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *S.aureus*..... 37

جدول 4. تأثير مستخلص الايتانول (Ethanol) لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *S. aureus* 43

جدول 5 . تأثير مستخلص الأسيتون (Acetone) لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *S.aureus* 49

جدول 6 . تأثير مستخلص البترولیوم ایثر Petroleum Ether لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *S.aureus* 55

جدول 7. تأثير مستخلص ايثيل اسيتيت (Ethyl acetate) لطحلب *cladophora vadorum* على نمو البكتيريا S.aureus 61

جدول 8 . تأثير مستخلص الميثانول (Methenol) لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *E.coli* 67

جدول 9 . تأثير مستخلص البترولیوم إيثر (Petroleum Ether) لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *E.coli* 72

جدول 10. تأثير مستخلص البتروليوم إيثر(Petroleum Ether) لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *K.pneumonia* 78

جدول11. تأثير مستخلص الإيثانول (Ethanol) لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *P.aeruginosa* 83

جدول 12. تأثير مستخلص البتروليوم ايثر(Petroleum Ether) لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا P.aeruginosa 89

جدول 13. الكشوفات النوعية لمستخلص الميثانول لطحلب *Cladophora vadorum* .. 96

قائمة الاشكال

شكل 1. موقع دراسة بحيرة طابللينوا في بنغازي..... 19

شكل 2.الطحلب *Cladophora vadorum* 21

شكل 3. تأثير مستخلص الايثانول على نمو البكتيريا (P) *P. aeruginosa*..... 28

شكل 4. تأثير مستخلص ميثانول على نمو البكتيريا (St) *S.aureus* 28

شكل 5. تأثير مستخلص الاسيتون على نمو البكتيريا (St) *S.aureus* 29

شكل 6. تأثير مستخلص بترواليوم إيثر على نمو البكتيريا (P) *P. aeruginosa* ... 29

شكل 7. تأثير مستخلص بترواليوم إيثر على نمو البكتيريا *S.aureus* (st) 30

شكل 8. تأثير مستخلص بترواليوم إيثر على نمو البكتيريا (E) *E.coli* 30

شكل 9. تأثير مستخلص أيثيل اسيتيت على بكتيريا (st) *S.aureus* 31

شكل 10. تأثير مستخلص ايثانول على نمو البكتيريا (st)*S.aureus* 31

شكل 11. تأثير مستخلصات ميثانول لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو بعض أنواع البكتيريا..... 32

شكل 12. تأثير مستخلصات ايثانول لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو بعض أنواع البكتيريا..... 32

شكل 13. تأثير مستخلصات اسيتون لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو بعض أنواع البكتيريا..... 33

شكل 14. تأثير مستخلصات بترواليوم ايثر لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو بعض أنواع البكتيريا 33

شكل 15. تأثير مستخلصات ايثيل اسيتيت لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو بعض أنواع البكتيريا..... 34

شكل 16. تأثير مضاد حيوي اميكاسين على نمو بعض أنواع البكتيريا..... 34

شكل 17.أ. تأثير مستخلص ميثانول (Methanol) لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *S.aureus* لمدة 4 أيام 38

شكل 17.ب. تأثير مستخلص ميثانول (Methanol) لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *S.aureus* لمدة 8 أيام 38

شكل 17. ج . تأثير مستخلص ميثانول (Methanol) لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا*S.aureus* لمدة 12 يوم 39

شكل 18. تأثير زمن الاستخلاص وتركيز 50 ميكروليتر لمستخلصات كحول الميثانول لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *S. aureus* 40

شكل 19. تأثير زمن الاستخلاص وتركيز 100 ميكروليتر لمستخلصات كحول الميثانول لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *S. aureus*..... 40

شكل 20. تأثير زمن الاستخلاص وتركيز 150 ميكروليتر لمستخلصات كحول الميثانول لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *S. aureus*..... 41

شكل 21. تأثير زمن الاستخلاص وتركيز 200 ميكروليتر لمستخلصات كحول الميثانول لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *S. aureus* 41

شكل 22.أ. تأثير مستخلص ايثانول (Ethanol) لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *S. aureus* (أ) لمدة 4 أيام 44

شكل 22.ب. تأثير مستخلص ايثانول (Ethanol) لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *S. aureus* (أ) لمدة 8 أيام 44

شكل 22.ج. تأثير مستخلص ايثانول (Ethanol) لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *S. aureus* (ج) لمدة 12 يوم 45

شكل 23. تأثير زمن الاستخلاص وتركيز 50 ميكروليتر لمستخلصات محلول الإيثانول (Ethanol) لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *S. aureus* ... 46

شكل 24. تأثير زمن الاستخلاص وتركيز 100ميكروليتر لمستخلصات محلول الإيثانول(Ethanol) لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *S. aureus*..... 46

شكل 25. تأثير زمن الاستخلاص وتركيز 150 ميكروليتر لمستخلصات محلول الإيثانول(Ethanol لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *S. aureus* 47

شكل 26. تأثير زمن الاستخلاص وتركيز 200 ميكروليتر لمستخلصات محلول الإيثانول(Ethanol) لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *S. aureus* 47

شكل 27.أ. تأثير مستخلص اسيتون (Acetone) لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *S.aureus* لمدة 4 أيام 50

شكل 27.ب. تأثير مستخلص اسيتون (Acetone)لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *S.aureus* لمدة 8 أيام 50

شكل 27.ج. تأثير مستخلص اسيتون (Acetone) لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *S.aureus* لمدة 12 يوم 51

شكل 28. تأثير زمن الاستخلاص وتركيز 50 ميكروليتر لمستخلصات الأسيتون لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *S. aureus* 52

شكل 29. تأثير زمن الاستخلاص وتركيز 100 ميكروليتر لمستخلصات الأسيتون لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *S. aureus* 52

شكل 30. تأثير زمن الاستخلاص وتركيز 150 ميكروليتر لمستخلصات الأسيتون لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *S. aureus* 53

شكل 31. تأثير زمن الاستخلاص وتركيز 200 ميكروليتر لمستخلصات الأسيتون لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *S. aureus* 53

شكل 32.أ. تأثير مستخلص البترواليوم ايثر Petroleum Ether لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *S.aureus* لمدة 4 أيام 56

شكل 32.ب. تأثير مستخلص البترواليوم ايثر Petroleum Ether لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *S.aureus* لمدة 8 يوم 56

شكل 32.ج. تأثير مستخلص البترواليوم ايثر Petroleum Ether لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *S.aureus* لمدة 12 يوم 57

شكل 33. تأثير زمن الاستخلاص وتركيز 50 ميكروليتر لمستخلصات البترولیوم إيثر لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *S. aureus* 58

شكل 34. تأثير زمن الاستخلاص وتركيز 100 ميكروليتر لمستخلصات البترولیوم إيثر لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *S. aureus* 58

شكل 35. تأثير زمن الاستخلاص وتركيز 150 ميكروليتر لمستخلصات البترولیوم إيثر لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *S. aureus* 59

شكل 36. تأثير زمن الاستخلاص وتركيز 200 ميكروليتر لمستخلصات البترولیوم إيثر لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *S. aureus* 59

شكل 37. أ. تأثير مستخلص ايثيل اسيتيت (Ethyl acetate) لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *S.aureus* لمدة 4 أيام 62

شكل 37. ب. تأثير مستخلص ايثيل اسيتيت (Ethyl acetate) لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *S.aureus* لمدة 8 أيام..... 62

شكل 37. ج. تأثير مستخلص ايثيل اسيتيت (Ethyl acetate) لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *S.aureus* (ج) لمدة 12 يوم 63

شكل 38. تأثير زمن الاستخلاص وتركيز50 ميكروليتر لمستخلصات الأيثيل اسيتيت لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *S. aureus* 64

شكل 39. تأثير زمن الاستخلاص وتركيز100 ميكروليتر لمستخلصات الأيثيل اسيتيت لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *S. aureus* 64

شكل 40. تأثير زمن الاستخلاص وتركيز150 ميكروليتر لمستخلصات الأيثيل اسيتيت لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *S. aureus* 65

شكل 41. تأثير زمن الاستخلاص وتركيز200 ميكروليتر لمستخلصات الأيثيل اسيتيت لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *S. aureus* 65

شكل 42. أ. تأثير مستخلص ميثانول (Methenol) لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *E.coli* لمدة 8 أيام 68

شكل 42. ب. تأثير مستخلص ميثانول (Methenol) لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *E.coli* لمدة 12 يوم 68

شكل 43. تأثير زمن الاستخلاص وتركيز50 ميكروليتر لمستخلصات كحول الميثانول لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *E.coli* 69

شكل 44. تأثير زمن الاستخلاص وتركيز 100 ميكروليتر لمستخلصات كحول الميثانول لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *E.coli* 69

شكل 45. تأثير زمن الاستخلاص وتركيز 150 ميكروليتر لمستخلصات كحول الميثانول لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *E.coli* 70

شكل 46. تأثير زمن الاستخلاص وتركيز 200 ميكروليتر لمستخلصات كحول الميثانول لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *E.coli* 70

شكل 47.أ. تأثير مستخلص بترولیوم إيثر (Petroleum Ether) لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *E.coli* لمدة 4 ايام 73

شكل 47. ب. تأثير مستخلص بترولیوم إیثر (Petroleum Ether) لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *E.coli* لمدة 8 ايام 73

شكل 47. تأثير مستخلص بترولیوم إیثر (Petroleum Ether) لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *E.coli* (ج) لمدة 12 يوم 74

شكل 48. تأثير زمن الاستخلاص وتركيز 50 ميكروليتر لمستخلصات بترولیوم إیثر لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *E.coli* 75

شكل 49. تأثير زمن الاستخلاص وتركيز 100 ميكروليتر لمستخلصات بترولیوم إیثر لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *E.coli* 75

شكل 50. تأثير زمن الاستخلاص وتركيز 150 ميكروليتر لمستخلصات بترولیوم إیثر لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *E.coli* 76

شكل 51. تأثير زمن الاستخلاص وتركيز 200 ميكروليتر لمستخلصات بترولیوم إیثر لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *E.coli* 76

شكل 52 .أ. تأثير مستخلص البترولیوم ایثر (Petroleum Ether) لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا K.pneumonia لمدة 8 أيام 79

شكل 52. ب. تأثير مستخلص البترولیوم ایثر (Petroleum Ether) لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا K.pneumonia لمدة 12 يوم 79

شكل 53. تأثير زمن الاستخلاص وتركيز50 ميكروليتر لمستخلصات البترولیوم إیثر لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *K.pneumonia* 80

شكل 54. تأثير زمن الاستخلاص وتركيز 100 ميكروليتر لمستخلصات البترولیوم إيثر لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *K.pneumonia* 80

شكل 55. تأثير زمن الاستخلاص وتركيز 150 ميكروليتر لمستخلصات البترولیوم إيثر لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *K.pneumonia* 81

شكل 56. تأثير زمن الاستخلاص وتركيز 200 ميكروليتر لمستخلصات البترولیوم إيثر لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *K.pneumonia* 81

شكل 57 . أ. تأثير مستخلص ايثانول (Ethanol) لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *P.aeryginosa* لمدة 4 أيام 84

شكل 57. ب. تأثير مستخلص ايثانول (Ethanol) لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *P.aeryginosa* لمدة 8 أيام 84

شكل 57. ج. تأثير مستخلص ايثانول (Ethanol) لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *P.aeryginosa* لمدة 12 يوم 85

شكل 58. تأثير زمن الاستخلاص وتركيز50 ميكروليتر لمستخلصات كحول الإيثانول لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *P.aeruginosa* 86

شكل 59. تأثير زمن الاستخلاص وتركيز 100 ميكروليتر لمستخلصات كحول الإيثانول لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *P.aeruginosa* 86

شكل 60. تأثير زمن الاستخلاص وتركيز 150 ميكروليتر لمستخلصات كحول الإيثانول لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *P.aeruginosa*..... 87

شكل 61. تأثير زمن الاستخلاص وتركيز 200 ميكروليتر لمستخلصات كحول الإيثانول لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *P.aeruginosa* 87

شكل 62. أ. تأثير مستخلص البتروليوم ايثر(Petroleum Ether) لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *P.aeruginosa* لمدة 4 أيام 90

شكل 62. ب. تأثير مستخلص البتروليوم ايثر(Petroleum Ether) لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *P.aeruginosa* لمدة 8 أيام 90

شكل 62. تأثير مستخلص البتروليوم إيثر (Petroleum Ether) لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو بكتيريا *P.aeruginosa* لمدة 12 يوم 91

شكل 63. تأثير زمن الاستخلاص وتركيز 50 ميكرولتر لمستخلصات البتروليوم إيثر لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *P.aeruginosa* 92

شكل 64. تأثير زمن الاستخلاص وتركيز 100 ميكرولتر لمستخلصات البتروليوم إيثر لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *P.aeruginosa* 92

شكل 65. تأثير زمن الاستخلاص وتركيز 150 ميكرولتر لمستخلصات البتروليوم إيثر لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *P.aeruginosa* 93

شكل 66. تأثير زمن الاستخلاص وتركيز 200 ميكرولتر لمستخلصات البتروليوم إيثر لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *P.aeruginos* 93

دراسة تأثير المستخلصات طحلب *Cladophora vadorum* على نمو بعض الأنواع من البكتيريا الممرضة للإنسان

قدمت من قبل :

أمنة خميس أحمد لوجنقي

تحت إشراف:

أ.د مسعود محمد إقديح

الملخص

أجريت هذه الدراسة باستخدام الطحلب *Cladophora sp.* الذي تم تجميعه من بحيرات طابللينو بمدينة بنغازي وتم أختبار تأثير مستخلصات هذا الطحلب على نمو أربعة أنواع من البكتيريا (*Sbtaphylococcus arues*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa Klebsilla pneumonia,*) وباستخدام 5 أنواع من المذيبات العضوية (الإيثانول، الآسيتون، الميثانول، البترولييوم إيثر، إيثيل اسيتيت).

تفاوتت تأثيرات مستخلصات هذه المذيبات على نمو البكتيريا المستخدمة في الوقت الذي أظهرت فيه مستخلصات البترولييوم إيثر(Petrouluem Ether) تأثيرا مثبطا على نمو جميع أنواع البكتيريا.ولوحظ أن تأثير هذه المستخلصات اختلف من بكتيريا إلى أخرى حيث وجد أن نمو بكتيريا *S.arues* قد تأثر من قبل جميع مستخلصات المذيبات العضوية المستخدمة وان نمو البكتيريا *E.coli* قد تأثر بمستخلص البترولييوم إيثر فقط وأن البكتيريا *P. aeruginosa* تأثرت بمستخلص الإيثانول وبترولييوم إيثر فقط ، وبينما لم تؤثر جميع المستخلصات المستخدمة على نمو البكتيريا *K.pneumonia* .

المقدمة

يمثل الماء أحد الأبعاد الإستراتيجية المهمة في صنع الحياة بشتى أشكالها ويضمن ديمومتها، وعليه فإن الاهتمام حيوياً لتغطية متطلبات الموارد المائية يعد أمرا إستراتيجيا لتأمين استخداماته المدنية والزراعية والصناعية وغيرها من الاستخدامات.

تتعرض المياه إلى التلوث بالكثير من الكائنات الضارة ومن بينها المسببات للأمراض كالبكتيريا والفيروسات وغيرها، وقد تعمل هذه الملوثات على تغيير الصفات الصحية للمياه وتجعلها غير صالحة للأستهلاك، وإن تزايد استخدام المواد المعقمة الطبيعية للمياه بدلا من المعقمات الكيميائية الحالية التي أدت استخداماتها الواسعة ولفترات طويلة إلى ظهور سلالات بكتيرية مقاومة لها إضافة إلى تأثيراتها الجانبية (Cervenka وآخرون 2006) وتعتبر الطحالب من الكائنات المجهرية يعيش غالبيتها في الماء وهي ذات كفاءة عالية في أنتاج مجموعة من المضادات الحيوية الطبيعية ذات التأثير المباشرعلى إزالة الكثير من البكتيريا وغيرها من الكائنات الحية حيث تنتج الطحالب العديد من المركبات الفعالة والتي قد تكون موجودة داخل خلاياها (Intracellular Products) أوخارجها (Extracellula products)، وقد تستخلص هذه المركبات الفعالة بإتباع الطرق المختلفة والتي تعتمد عادة على استخدام المذيبات المتنوعة التي قد تكون منفردة أو بشكل خليط من المذيبات أو سلسلة متتالية من المذيبات العضوية وغيرها مثل الأسيتون والميثانول والإيثانول والهكسان وكلوريد الميثلين والإيثر البترولي وغيرها وقد يستخدم الماء في عمليات الاستخلاص أيضاً (Kim وأخرون 2006).

تعرف الطحالب البحرية الكبيرة بأسم الأعشاب البحرية وتتكون من الطحالب الحمراء (Rhodophyta) والطحالب الخضراء (Chlorophyta) والطحالب البنية (phaeophyta)

وتحتوي هذه الإعشاب على مختلف المواد العضوية وغير العضوية والتي يمكن أن تستفيد منها صحة الإنسان سواء بالاستخدام المباشر أو غير المباشر(Kuda وآخرون 2002) فيما تعتبر الطحالب الخضراء واحدة من أكبر مجموعات الطحالب من حيث عدد الأنواع وتوزيعها نجدها في المياه العذبة وشبه المالحة والمالحة وشديد الملوحة، كما نلاحظ وجود الطحالب الخضراء سواء على سطح التربة أو غيرها.

لوحظ الاختلاف الكبير بين أنواع هذه المجموعة من الطحالب فهي تتدرج من المجهرية وحيدة الخلية القريبة في حجمها من حجم البكتيريا مثل طحلب *Chlorella* إلي ذات أحجام تزيد عن المترين مثل طحلب *Ulva grandi* ، كما نلاحظ أيضا على هذه المجموعة من الطحالب وجود الخلية الخضرية الواحدة غير المتحركة مثل *Chlorella* والمتحركة بسوطين مثل *Chlamydomonas* والمتحركة بأربعة أسواط مثل *Carteria* الي غير ذلك مع وجود المستعمرات غير المتحركة مثل *Pediastrum* والمستعمرات المتحركة مثل *Volvox*.

أما من ناحية الاختلاف في عدد وشكل البلاستيدات فنجد أن للطحالب الخضراء بلاستيدات بأعداد وأشكال مختلفة جداً فمثلا طحلب *Chlamydomonas* يحتوي على بلاستيدة كأسية في أغلب أنواعه وفي طحلب *Cosmariam* نجدها نجمية وفي طحلب *Mougeotia* تكون قضيب أو تكون على شكل صفائح، أما في طحلب *Spirogyra* فنجدها لولبية الشكل بينما نراها شبكية الشكل في طحلب *Oedogonim*، ومن حيث العدد وكمثال يحتوي طحلب *Chlamydomonas* على بلاستيدة واحدة وطحلب *Zygnema* يحتوي على بلاستيدتين نجميتين في كل خلية وفي بعض الأنواع من طحلب *Spirogyra* تحتوي الخلية الواحدة على عدة بلاستيدات، وهذه الاختلافات في عدد البلاستيدات إضافة إلي عدد مراكز تجمع النشا (Pyrenoids) تعتبر من الصفات المهمة في تصنيف الطحالب الخضراء. أيضا يعتبر شكل البلاستدات أو الكلوروبلاست وعددها من الصفات

المهمة في تصنيف هذه المجموعة والطحالب الأخرى بصفة عامة، وتتكاثر الطحالب الخضراء بجميع أنواع التكاثر تقريبا فنجدها تتكاثر خضريا وبوغيا وتتكاثر تكاثرا جنسيا بأنواعه الثلاثة المعروفة (المتشابه وغير المتشابه والبويضي). أن الشاطئ الليبي يضم العديد من الطحالب الخضراء يزيد عددها عن 96 نوع هذا ما بينه (Nizamuddin وآخرون 1979، Godeh وآخرون 1992) .

تحتوي الخلايا الطحلبية على معدل عال من النمو و امتصاص عال جدا للمغذيات وهي بالتالي الأكثر قدرة على النمو مقارنة بالنباتات الراقية وذلك على مدار السنة في المناخ المعتدل . (Mulbry) and wlkie, 2001

تمتلك ليبيا ساحلا طويلا يقدر بحوالي 1900 كيلومتر يطل على البحر الأبيض المتوسط وهو غني جدا بالطحالب حيث قدرت أعداد الطحالب البحرية التي تمت دراستها في الساحل الشرقي فقط بحوالي 168 نوعا تقع تحت 96 جنس (Godeh *et al*., 1992)، ونظرا للدراسات العديدة التي قام بها العديد من الباحثين وعلى فترات زمنية متقطعة والتي تركزت غالبيتها على حصر وتعريف الطحالب المتواجدة في الشاطئ الليبي (Nizamuddin *et al*., 1979، Godeh *et al*., 1992 Nizamuddin and Godeh, 1993، Nizamuddin, 1981) فأننا في حاجة ماسة لاستغلال نتائج هذه الدراسات في النهوض بالصحة العامة . يمتد ساحل مدينة بنغازي لأكثر من 18 كيلومتر من البحر الأبيض المتوسط وهوغني جدا بالطحالب الخضراء البحرية حيث تم تسجيل مجموعه 54 نوع من الطحالب الخضراء منها 17 جنسا (Godeh وآخرون 2010)

استخدام بعض الطحالب كمصادر بديلة للأسمدة النتروجينية الصناعية وخاصة بعد ظهور أزمة الطاقة العالمية ونضوب احتياطات النفط (Ghatnekar and Kavian, 1999). كما

استخدمت الطحالب لزيادة خصوبة التربة وذلك لما تحتويه من عناصر معدنية أهمها النتروجين والفسفور والحديد كما تساعد على رفع الأس الهيدروجيني للتربة (Haroun and Hussein, 2003)

حظيت الطحالب باهتمام واسع لمعرفة تركيبها الكيميائي وخصائصها الفسيولوجية وتزامن ذلك مع تطور تقنيات التحليل الكيميائي وإن أهم مركباتها الكيميائية هي ذات قيمة غذائية مثل البروتينات (Venkatarman, .1988) وقد استخدمت الطحالب كغذاء نظرا لاحتوائها على كميات عالية من الكربوهيدرات والبروتين والمعادن باعتبارها مصدرا جيدا للعديد من الفيتامينات الهامة مثل حمض الفوليك، الأحماض الدهنية، حمض الأسكروبيك، حمض النوكوتينك، الثيامين، البيوتين، البرودكسين و حمض الريبوفلاجين ومن ثم فهي تعتبر مادة جيدة لعلاج أمراض ومشاكل سوء التغذية (Rupe'rez وآخرون 2001)

أدى استخدام كثير من المضادات الحيوية المصنعة كيميائيا في أنتاج سلالات بكتيرية مقاومة لها وأصبحت المستشفيات أرض خصبة لمثل هذه الكائنات وشكلت خطورة على حياة الإنسان لذلك تعتبر الطحالب وغيرها من النباتات الطبية مصدرا مهما للمركبات النشطة بيولوجيا مثل المواد المضادة للميكروبات والفيروسات وللعديد من الأمراض المعدية وغيرها ويجري تطويرها لاستخدامها كأدوية جديدة ومن أهم هذه المركبات هي الفينولات، السكريات، الببتيدات، البروتينات والتروبينات (Pulz and Gross 2004 ، Chew *et al.*, 2007 ،Mayer *et al.*, 2007)

الدراسات السابقة

ليبيا من أوائل الدول العربية التي استخدمت مستخلصات الطحالب في التأثير على نمو البكتيريا والفطريات، وقد قام البغدادي (2001) بدراسة تأثير مستخلصات بعض الأنواع من الطحالب البنية من رتبة Dictyotales على نمو 9 أنواع بكتيرية مستخدما المذيبات العضوية الميثانول والايثانول و الكلورفورم حيث أظهرت الانواع البكتيريا السالبة لصبغة جرام اكبر مقاومة من الانواع البكتيريا الموجبة لصبغة جرام التي كانت اكثر حساسية وكانت النتائج متباينة حسب فصول العام.

بين طوقان (2003) في دراسته لتأثير مستخلصات بعض أنواع الطحالب الخضراء من رتبة Ulvalesبواسطة تأثير المذيبات هي ثنائي إيثيل الإيثر و الكلورفورم والايثانول والماء ضد عدة أنواع بكتيرية أن لمستخلصات الإيثانول التأثير الأكبر مقارنة بالمستخلصات الأخرى. أوضح الصل (2005) في دراسته لمستخلصات بعض الأنواع من الطحالب البحرية أن لها تأثير إيجابي على نمو بعض الأنواع البكتيرية الممرضة للإنسان.

كما قامت الجهمي (2007) بدراسة تأثير مستخلصات بعض أنواع الطحالب الخضراء رتبة Ulvales على نمو بعض الانواع الفطريات *Aspergillus nigar*, *Candida uutilis* و البكتيريا *Escherichia coli*, *Aspergillus flavus*, *Penicillium.sp*, *Fusarium solani* مستخدمة *Staphylococcus aureus, Proteus mirabilis, Klebsiella pneumoniae* مذيبات الايثانول والميثانول و الاسيتون وثنائي إيثيل الإيثر والكلورفورم حيث بين مستخلص الميثانول والماء فقط تأثير مثبط ضد الانواع الفطرية والانواع البكتيرية .

في سنة 2008 قامت الفطيمي بدراسة تأثير المستخلصات لبعض أنواع من الطحالب البنية لرتبة *Dictyotales* علي نمو بعض الفطريات الممرضة باستخدام المذيبات العضوية هي الميثانول و الايثانول و الاسيتون والكلوروفورم وثنائي ايثيل الايثر .بينت النتائج ان افضل مستخلص كان

الميثانول خاصة *Dictyota linearis* ضد نمو فطر *Fusarium oxysporum* وبالنسبة للتغيرات الفصلية كانت افضل النتائج لمستخلصات الطحالب بمذيب الميثانول لفصل الربيع واقلها عند مستخلصات فصل الخريف.

في العام 2013 أوضح Alghazeer وآخرون أن المستخلص القلوي (Alkaloid) للطحالب الخضراء والبنية والحمراء *Ulva lactuca, Codium tomentosum, Cystoseira barbata, Sargassum vulgare, Dictyopteris membranacea, Gelidium latifolium* ضد البكتيريا الممرضة للإنسان *Salmonella typhi*, *Klebsiella* spp., *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus spp.*, *Staphylococcus epidermidis* حيث بينت مستخلصات الطحالب الخضراء تأثير مثبط اكثر من الطحالب البنية والحمراء ضد البكتيرية الممرضة .

كما بينت Al–Shalmani و آخرون (2014) أن مستخلصات القلويدات للطحالب الخضراء و البنية *Cystoseira compressa, Enteromorpha intestinals, Ulva lactuca Corallina,* باستخدام بعض المذيبات الميثانول والايثانول والماء ضد *Escherichia coli* *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa,* قد تبين في هذا دراسة أن ميثانول اكثر تأثير على نمو البكتيريا من ايثانول وماء وكان *S.aureus* أكثر تأثير عن باقي أنواع البكتيرية مستخدمة .

أكدت العديد من الدراسات العالمية أن الطحالب لا تختلف عن البكتيريا والفطريات في أنتاجها المركبات الأيضية الثانوية الفعالة في الوسط الذي تعيش فيه، وذلك لقدرتها على تثبيط نمو العديد من الكائنات الحية الأخرى فمثلا المركبات التي يفرزها الطحلب *Nostoc punctiforme* تتراكم في الوسط الذي يعيش فيه الطحلب مما يؤدي ألي تثبيط نمو الكائنات الحية المحيطة به

(1917) Harder . لهذا اهتمت العديد من الدراسات القديمة والحديثة بالمستخلصات الطبيعية من الطحالب التي تؤكد احتواءها على مواد ذات طبيعة مشابهة لطبيعة المضادات الحيوية، كما بينت دراسة Sharahama (1942) التي أجريت على الطحالب البنية أن بعض المستخلصات الطبيعة للطحالب تحتوي على مواد لها طبيعة المضادات الحيوية.

في دراسة تمت العام 1979 قام بها Debro and Ward أظهرت المستخلصات الايثانول ل 24 نوع من الطحالب الخضراء التي تعيش في المياه العذبة أن مستخلصات 14 نوع من هذه الطحالب لها القدرة على تثبيط نمو كل من *S. aureus* و *B. subtilis* ، كما لم تظهر البكتيريا *E.coli* أي استجابة تثبيطيه جراء تأثير المستخلصات الطحلبية السابقة .

وضحت الدراسة التي أجراها Chang وآخرون في سنة 1993 بأن مستخلصات الكحول الميثيلي ل 84 طحلب بحري ودراسة تأثير مستخلصات على نمو جميع أنواع البكتيرية الممرضة ، بينت بأن مستخلص الطحلب *Dunaliella primolecta* أظهر أعلى نشاط مثبط لنمو البكتيريا وظهر تأثيره المثبط بوضوح على نمو أربع أنواع بكتيرية وهي : *Staphylococcus aureus*

. Bacillus subtilis, Bacillus cereus, Enterobacter aerogenes

أظهر Mahasneh وآخرون (1995) بدراسة بعض الاختبارات لتأثير مستخلصات الطحالب الخضراء والبنية على نمو البكتيريا المقاومة للعديد من المضادات الحيوية وذلك باستخدام المذيبات العضوية الميثانول والاسيتون و الكلورفورم و إيثر حيث أثبتوا أن فعالية مستخلصات الطحالب الخضراء ذات تأثير مميز مقارنة مع الطحالب الأخرى وذلك باستخدام الاسيتون ولم تكون فعالة مع استخدام الكلورفورم .

وفي نفس السنة 1995 قام Feblles وآخرون قاموا بدراسة تأثير فعالية مستخلصات بعض الطحالب الخضراء *Ulva rigida*, *Codium intertextum* وذلك باستخدام المذيبات العضوية الميثانول وإيثيل اسيتيت و الهكسان لدراسة تأثير فعالية هذه المستخلصات على نمو أنواع مختلفة من البكتيريا الممرضة حيث أظهرت هذه المستخلصات الميثانول فعالية أقوي من المستخلصات الأخرى ، حيث أظهرت البكتيريا الموجبة حساسية عالية مقارنة بالبكتيريا السالبة .

كما أشار Crasta وآخرون (1997) أن مستخلصات الايثانول والاسيتون لأربع طحالب البحرية الخضراء هي *Chaetomorpha antennia*, *Cladophora fascicularis*, *Ulva lactuca*, *Caulerpa taxifolia* حيث لاحظوا أن مستخلص طحلب *Chaetomorpha antennia* ذو تأثير عالي على نمو بكتيريا *Bacillus subtilis* ، بينما لا يوجد أي تأثير يذكر على باقي المستخلصات الطحلبية على نمو ونشاط البكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* .

بين Halling (2000) أن أستخدم مستخلص المذيبات العضوية للطحالب الخضراء والخضراء المزرقة ضد البكتيريا الممرضة أظهرت نتائج إيجابية. كما أوضحت Haisheng وآخرون (2001) في دراستها أن لمستخلصات المذيبات العضوية للطحالب الخضراء والحمراء والبنية تأثيرات تثبيطة على نمو أنواع مختلفة من البكتيريا.

أظهر Lima – Filho وآخرون (2002) في دراستهم لمستخلصات المذيبات العضوية الهكسان والكلوروفورم والايثانول للطحالب البحرية الحمراء والخضراء *Ulva Fasciata, Caulerpa cupressoides*, *Caulerpa prolifera*, *Gracilaria domingensis Gracilaria sp., Amansia multifida* ضد بعض انواع من البكتيريا *Bacillus subtilis, Staphylococcus epidermidis Staphylococcus aureus, Citrobacter freundii, Escherichia coli, Enterobacter aerogenes, Klebsiela pneumonia, Morganella*

morganii, Pseudomonas aeruginosa, Salmonella typhi, Salmonella typhimurium, Salmonella enteritidis, Salmonella cholerae-suis, Serratia marcescens, Vibrio cholera حيث اعطي مستخلص الهكسان فقط تأثير مثبط ضد البكتيريا .

وأشار Magallanes وآخرون (2003) إلى أن نشاط مستخلصات المذيبات العضوية لبعض الأنواع من الطحالب الخضراء والبنية والحمراء تأثيرات إيجابية ضد نمو أنواع مختلفة من البكتيريا. كما درس Morales وآخرون (2006) تأثير مستخلصات الميثانول للأنواع من الطحالب البحرية على نمو بعض أنواع من البكتيريا الممرضة حيث أظهرت النتائج أن لهذه المستخلصات تأثيرات مثبطة.

وقد بين Tuney وآخرون (2006) أن مستخلصات الطحالب الخضراء و الحمراء والبنية وباستخدام المذيبات العضوية لها تأثير إيجابي ضد نمو البكتيريا الممرضة. وأكد Shanab وآخرون (2007) أن لمستخلصات المذيبات العضوية للطحالب البنية و الحمراء لها تأثيرات إيجابية ضد نمو أنواع مختلفة من البكتيريا الممرضة للإنسان. كما أظهرت دراسة قام بها Rajagopal وآخرون (2008) أن لمستخلص المذيبات العضوية للطحالب الخضراء تأثير إيجابي ضد أنواع البكتيريا الممرضة.

أوضحت دراسة Alang و آخرون (2009) أن المستخلصات الكلورفورم والايثانول :الماء والهكسان للطحلب *Ulva lactuca* لها تأثيرات إيجابية ضد نمو البكتيريا *Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Pseudomonas aeruginosa, Escherichia coli* ضد الفطريات *Candida albicans, Aspergillus niger* كان الكلورفورم أكثر فعالية من بين مستخلصات .

كما اشاروا Ibtissam وآخرون (2009) ان تأثير مستخلص الميثانول 13 نوع الطحالب الخضراء 19 نوع من الطحالب البنية المجمعة من ساحل المحيط الأطلسي والبحر المتوسط ضد بكتيريا *Staphylococcus aureus, Enterobacter faecalis, Escherichia coli, Klebsiella pnomeuniae,* حيث بينت النتائج أن هذه الأنواع من الطحالب البحرية لها قدرة هائلة على تثبيط نشاط البكتيريا المدروسة.

أظهر Mansuya وآخرون سنة 2010 ان استخدام مستخلصات ميثانول وماء مقطر للطحالب *Cladophora glomerata, Gracilaria corticata, Kappaphycus alvarezil, Sargassum wightii* ضد خمس انواع من البكتيريا *Escherichia coli, Staphylococcus epidermis, Pseudomonas aeruginosa, Salmonella typhi, Streptococcus pyogenes* كان *C.glomerata* لها تأثير ايجابي عالي من بين المستخلصات الطحالب اخرى .

كما استخدم Seenivasan وآخرون (2010) مستخلصات المذيبات العضوية الايثانول والميثانول و الاسيتون لأنواع من الطحالب الخضراء *Ulva fasciata, Enteromorpha intestinalis, Chaetomorpha aerea,* ضد نمو البكتيريا *Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Klebsiella pneumonia, Staphylococcus aureus* حيث كان الايثانول اكثر فعالية من الميثانول والاسيتون ضد نمو أنواع من البكتيريا المستخدمة.

بين Salem وآخرون (2011) أن مستخلصات الميثانول إيثيل اسيتيت ل8 انواع مختلفة من الطحالب البحرية الخضراء والبنية والحمراء ضد البكتيريا السالبة والموجبة لصبغة جرام ,حيث بين أن مستخلص الميثانول و إيثيل اسيتيت لطحلب *Padina gymnospora* لهما نشاط مضاد لنمو البكتيريا اكثر من بقية الطحالب المستخدمة وان مستخلص الميثانول لطحلب *Sargassum*

dentifolium وطحلب *Cystoseira myrica* لهما نشاط مضاد لنمو بكتيريا *Enteroc occus faecalis*– والتي كانت أكثر حساسية من باقية البكتيريا المستخدمة .

أظهر Soltani وآخرون (2011) أن استخدام المستخلص الايثانول للطحلب *Cladophora golmerata* ضد أنواع من البكتيريا وهي *Staphylococcus aureus* , *Bacillus subtillis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Proteus mirabilis*, أظهر تأثير مضاد ضد للبكتيريا وسجل أعلى نتيجة في *Staphylococcus aureus* من بين البكتيريا المستخدمة.

أوضح Khalid وآخرون (2012) أن مستخلص الميثانول لطحلب *Cladophora glomerata* له نشاط مضاد ضد العديد من البكتيريا الممرضة مثل *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogene*, *Salmonella typhimurium*, *Coryne-bacterium diphtheria*, *Proteus valgaris*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneu-monia*, *Shigella boydii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella boydii*, *Streptoc-occus faecalis*, *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio choleriae*.

بين Jeyaseelan وآخرون (2012) أن مستخلصات المذيبات العضوية الايثانول و الاسيتون للطحالب *Sargassum polycystum*, *Sargassum tenerrimum, Turbinaria ornata*, *Gracilaria crassa, Codium fragile* ضد أنواع من البكتيريا *Staphylococcus aureus , Escherichia coli* لها تأثير تثبيطي عالي وكان الاسيتون اكثر تأثير من الايثانول وكان بكتيريا *E.coli* اكثر حساسية من بكتيريا *S.aureus* .

أكد Mohamed وآخرون (2013) أن استخدام مستخلص الإيثانول للطحلب *Cladophora glomerata* ضد البكتيريا , *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella faecalis* أظهر نتائج إيجابية ضد البكتيريا الممرضة.

كما اشار Verier وآخرون (2013) أن مستخلصات المذيبات العضوية للطحالب الحمراء ضد نمو البكتيريا الممرضة أعطي نتائج إيجابية. وكذلك أكدت دراسات Bhattacharyya وآخرون (2013) أن مستخلصات الطحالب الحمراء والخضراء باستخدام المذيبات المختلفة ضد البكتيريا أعطى نتائج إيجابية.

وفي سنة 2014 بين Radhika وآخرون ان مستخلص الايثانول للطحالب *Ulva lactuca, Padina tetrastromatica, Caulerpa scalpelliformis, Stoechospermum margi-natum* له تأثير مثبط ضد البكتيريا الممرضة *Klebsiella pneumonia, Aeromonas hydrophilla, Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Pseudomonas sp.* وكان *E.coli* اكثر حساسية بمواد الفعالة من بين البكتيريا المستخدمة .

أظهر Salem وآخرون (2014) بأن مستخلص الميثانول والاسيتون للطحالب*.Nostoc sp, Scenedesmus sp., Microcystis sp.,Oscillatoria geminate, Chlorella vulgaris,* ضد البكتيريا *Klebsiella pneumonia, Staphylococcus aureus, Sarcina lutea* والفطريات *Bacillus subtilis, Bacillus megaterium, Fusarium solani, Fusarium oxysporum, Rhizoctonia solani, Candida albicans, Asperigillus niger* كان المستخلص الميثانول أكثر فعالية من الاسيتون .

وجد Pushparaj و اخرون (2014) أن استخدام مستخلص طحلب *caulerpha sertularioides* مستخدما المذيبات الكلورفورم و الاسيتون والميثانول والايثانول و إيثيل اسيتيت ضد ستة انواع بكتيريا ممرضة *staphylococcus aureus, Bacillus subtilis, Lactobacillus acidophilus, Pseudomonas aeruginosam, E.coli, Proteus mirabilis* أظهر مستخلص إيثيل اسيتيت نشاط عالي ضد ستة أنواع بكتيريا من بين المذيبات مستخدمه.

أظهر Al-Saif وآخرون (2014) في دراسة المستخلصات الكلورفورم و الايثانول والبتروليوم ايثر و ماء للطحالب *Cladophora sociali, Caulerpa occidentalis, Ulva reticulate, Dictyota ciliolata, Gracilaria dendroides* ضد أربع أنواع بكتيريا *E.coli, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus, Enterococcus faecalis* بأن له تأثير ايجابي علي جميع أنواع بكتيريا مستخدمة وكان الكلورفورم والايثانول أكثر فعالية أما البتروليوم ايثر وماء لم يعطي أي نتيجة ضد أنواع بكتيريا .

أوضح Soltani وآخرون سنة (2014)أن استخدام مستخلص ايثانول للنوعين من طحالب خضراء *Cladophora golmerata, Enteromorpha intestinalis* ضد خمس أنواع من بكتيريا *Salmonella typhimurium, Staphyococcus aureus, Pseudomonasa aeruginosa, Bacillus subtilis, Proteus mirabilis* حيث أعطي نتائج ايجابية ومناطق تثبيط عالي .

أشار Snehalatha وآخرون (2015) إلى أن استخدام مستخلصات المذيبات العضوية للطحالب الخضراء ضد الأنواع البكتيرية المختلفة أدى لوجود نتائج إيجابية. وكما أكد Ti وآخرون

(2015) أن مستخلصات المذيبات العضوية للطحالب الحمراء المستخدمة ضد البكتيريا الممرضة أظهرت تأثير مثبط ضدها.

وبين Natrah وآخرون (2015) أن مستخلص المذيب العضوي الميثانول للطحالب البنية *Dictyota sp., Padina minor*, *Halimeda macroloba*, *Caulerpa racemosa, Caulerpa macrophysa, Sargassum duplicatum, Ulva intestinalis*, *Amphiroa fragilissima* ضد البكتيريا *Aeromonas hydrophila Vibrio harveyi – Vibrio harveyi – Vibrio alginolyticus – Vibrio parahaemolyticus – Vibrio anguillarum* أظهرت فعالية عالية ضد كل انواع البكتيريا الممرضة .

أكد Lefta وآخرون (2014) في دراسة لتأثير مستخلص الكلوروفورم لطحلب *Cladophora glomerata* ضد بكتيريا *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas vulgaris*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* أن المستخلص يثبط نمو جميع هذه الكائنات الدقيقة.

بين Krish وآخرون (2014) أن استخدام مستخلص المذيبات العضوية مثل الميثانول والإيثانول وإيثيل استيت للطحلب *Cladophora rupestris* ضد البكتيريا *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio harveyii*, *Vibrio alginolyticus* *Vibrio parahaemolyticus*, أدى إلى ظهور نتائج إيجابية وقد كان البكتيريا *S. aureus* اكثر حساسية من بين انواع البكتيريا مستخدمة .

استخدم Zbakh وآخرون (2014) مستخلص طحلب *Cladophora prolifera* من المذيبات العضوية الآسيتون و الميثانول و الإيثانول ضد أنواع من بكتيريا *Escherichia coli,* *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pnemoniae* حيث

أعطي نتائج عالية في *Staphylococcus aureus* من بين البكتيريا مستخدمة .

بين المياح وآخرون (2014) في اختبار الفعالية الحيوية لمستخلص الأيثيل أستيت للطحلب الأخضر *Cladophora crispate* ضد *Entamoeba histolytica* , *Giardia lamblia* مقارنة مع العقار Metronidazole إنه أظهر نتائج إيجابية.

استخدم Mahadik وآخرون (2015) مستخلص الطحلب *cladophora crispate* من المذيبات العضوية وغير العضوية ميثانول، إيثانول آسيتون، الكلوروفورم ، ماء دافئ، ماء بارد ضد البكتيريا *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* حيث أظهر نتائج إيجابية.

وجد Sadiq وآخرون (2016) في دراسته لثلاث مستخلصات لنوعين من الطحالب *Cladophora glomerata*, *Lyngbya diguetii* وهي ميثانول وآسيتون وإيثانول ضد البكتيريا *Bacilis substilis* و *Streptococcus mutans* حيث سجل أعلى تثبيط ضد البكتيريا.كما أظهرت دراسة Parmar وآخرون (2016) أن استخدام المستخلصات للمذيبات العضوية المختلفة للطحالب الخضراء والخضراء المزرقة ضد أنواع من البكتيريا الممرضة له تأثير إيجابي.

أظهرت دراسة Godeh و آخرون (2017) أن مستخلصات الطحالب الخضراء رتبة Ulvales باستخدام المذيب العضوي ميثانول ضد البكتيريا الممرضة *Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Proteus mirabilis, Klebsiella pneumonia*

أظهرت *S.aureus* و *E.coli* *تأثير* عالي عن باقي انواع بكتيرية اخرى .

كما بين Douma وآخرون في سنة 2017 خلال دراستهم تأثير مستخلصات المذيبات العضوي الايثانول للطحالب الخضراء *Cladophora glomerata, Cladophora albida* ضد نمو فطر *Verticilium dalhiae* حيث اظهروا تأثيرات ايجابية متقاربة ضد نمو فطر.

أكد Abdel-Raouf وآخرون (2017) ان مستخلص الايثانول لطحلب *Cystoseira barbata* له تأثير مثبط ضد بعض الانواع البكتيريا الممرضة *Staphylococcus aureus Salmonella sp*, *Vibrio sp., Bacillus subtilis, Micrococcus luteus, Aeromonas marcescens, Serratia hydrophila, Escherichia coli, Pseudomonas aeurog-inosa* وضد فطر *Candida albicans* وقد كان البكتيريا *B. subtilis* اكثر حساسية من بين جميع انواع مستخدمة .

أظهر Saleh واخرون سنة (2017) بعد أستخدام مستخلص للطحالب *Ulva lactuca, Dilophus spiralis, Jania rubens* مستخدم مذيبات العضوية الايثانول و الميثانول والكلورفورم و الاسيتون و ايثيل اسيتيت و الهكسان ضد انواع بكتيريا الممرضة

Streptococcus pyogenes, Micrococcus luteus, Shigella flexneri, Vibrio cholera وضد الفطريات Candida albicans, Aspergillus niger حيث كان له تأثير مضاد ضد البكتيريا والفطريات .

الغرض من الدراسة

من خلال ما تم عرضه فإن الغرض من هذا العمل التطبيقي هو دراسة تأثير مستخلصات المذيبات العضوية لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو بعض السلالات البكتيرية الممرضة المعزولة محليا من مستشفيات مدينة بنغازي والتعرف على بعض المركبات الفعالة التي تؤثر على نمو هذه البكتيريا.

المواد وطرق العمل

المواد

منطقة الدراسة وتجميع العينات

تم تجميع طحلب *Cladophora vadorum* المستهدف للدراسة من بحيرة طابلينوا وهي بحيرة صغيرة تابعة لبحيرة 23 يوليو في مدينة بنغازي (الشكل 1)، في أكياس بلاستيكية تم غسله جيدا بماء البحيرة وذلك للتخلص من العوالق النباتية والحيوانية والرمال العالقة بها أو أي أنواع طحلبية أخري غير مرغوب فيها وبعد ذلك نقلت العينات إلى المعمل حيث غسلت جيدا بماء الصنبور، ثم بالماء المقطر وتم حفظ جزء من العينات الطحلبية على أوراق تجفيف خاصة بمعشبة الطحالب (28.75 ×41.25 سم)، كما حفظ جزء أخر في 4% من الفورمالين في قوارير خاصة محكمة الإغلاق وتم الاحتفاظ بها في معشبة الطحالب بالقسم لغرض الرجوع إليها مستقبلا، أما القسم الأكبر من العينات فقد تم تجفيفه في الظل ما بين6 الى 7 أيام في درجة حرارة الغرفة مع وجود تهوية جيدة، ثم وضعت في فرن عند درجة حرارة 40 مْ لمدة تتراوح ما بين 20–30 دقيقة وذلك للتخلص من الرطوبة في العينات (حتي ثبات الوزن)، ثم طحنت العينات باستخدام مطحنة كهربائية حتي أصبحت مسحوقا ناعما وحفظت في أوعية محكمة الإغلاق إلي حين الاستعمال.

شكل 1. موقع دراسة بحيرة طابلينوا في بنغازي .

الطحلب المستخدم

تم استخدام الطحلب كلادوفورا *Cladophora vadorum* وهو من الطحالب الخضراء التي تعيش في المياه المالحة وشبة المالحة والعذبة وهو عبارة عن خيوط بسيطة متفرعة، تمثل كل خلية من الخلايا مدمجا خلويا عديد الأنوية بها طبقة من السيتوبلازم لها جدار سميك، تعيش معظم الأنواع مثبتة على الصخور وبعض أنواعها تعيش متكافلة مع أنواع من الإسفنجيات في البحار، وتتكاثر هذا الطحلب تكاثرا لاجنسيا بوغيا عن طريق أنتاج الأبواغ (Spores) ثنائية أو رباعية الأسواط، و جنسيا عن طريق الاعراس (Gametes) ثنائية الأسواط ،ودورة حياته أحادية ثنائية متشابهة (شكل 2) (Haplodiplo– ntic type) (Bakker *et al.*, 1994, Godeh *et al.*,1992) .

تم تسجيل 9 أنواع منها في الشواطيء الليبية وغيرها من التجمعات المائية وهي , *C.albida C. catenata , C. ramulosa , C.dalmatica , C. globulina ,C. glomerata C.prolifera , C. pellucida C.nigrescens ,*

وقد تم أختيارهذا النوع الذي يعيش في البحيرة طابلينوا التي تتفرع من بحيرة 23 يوليو بنغازي.

شكل(2) طحلب *Cladophra vadorum*

المذيبات المستخدمة: تم استخدام المذيبات العضوية (جدول 2) وهي الإيثانول، الميثانول، الآسيتون، البترواليوم إيثر، إيثيل اسيتيت لاستخلاص المواد المؤثرة على نمو البكتيريا من الطحلب.

جدول 1. المذيبات مستخدمة ومصادرها

اسم المذيب	بلد المنشأ
الإيثانول **Ethanol 99.8%**	**الإمارات العربية المتحدة**
الميثانول **Methanol 99%**	**المملكة المتحدة**
الآسيتون **Aceton 99.5%**	**المملكة المتحدة**
البترواليوم إيثر **Petrouleum ether**	**الإمارات العربية المتحدة**
الإيثيل اسيتيت **Ethyl acetate**	**الإمارات العربية المتحدة**

البكتيريا المستخدمة

تم استخدام 4 سلالات من البكتيريا التي تسبب الأمراض للإنسان وتم الحصول عليها من مستشفى الأطفال بنغازي تم تعريفها في المستشفى الجلاء عن طريق جهاز Phoenix وهي :-

: *Staphylococcus aureus*

هي موجبة لصبغة الجرام غير متحركة و غير بوغية ولا هوائية اختيارية وتكون هذه البكتيريا مكورات مرتبة على شكل عناقيد تشبه العنب وتسبب إصابات مثل شغاف بطانة القلب و التهابات العظام والنخاع ومتلازمة الصدمة السمية وهي واحدة من أكثر الأسباب شيوعا للالتهاب الرئوي المكتسب خاصة من المستشفيات العامة وتسبب تسمم الدم و عدوى الجروح الجراحية (EL-2005 .(Mishad,

: *Escherichia coli*

هي بكتيريا سالبة الجرام، مغلفة، متحركة، هوائية اختيارية، توجد هذه البكتيريا طبيعيا في أمعاء الإنسان والحيوان إلا أن بعضها قد يسبب الإمراض مثل التهابات الجهاز البولي وسحائي الأطفال حديثي الولادة والتهاب الصدر والالتهاب الدموي والتهاب الأمعاء (EL-Mishad, 2005).

: Pseudomonas aeruginosa

هي بكتيريا سالبة لصبغة الجرام ، عصوية، متحركة، هوائية و تنتج أصباغ على الوسط الغذائي مما يعطي اللون الأزرق المخضر الداكن، تعتبر هذه البكتيريا من أكثر الممرضات شيوعا في مجموعة *Pseudomonas* وتوجد في التربة ومياه الصرف الصحية وبعضها يوجد في الأمعاء وتسبب إصابات للقناة البولية وعدوى الجروح والتهاب الأذان الظاهرة والتقرحات القرنية لمستخدمي العدسات اللاصقة والالتهاب الرئوي وتعفن الدم مع غرغرينا في الجلد (EL-Mishad, 2005).

: Klebsilla pneumonia

هي بكتيريا سالبة لصبغة الجرام عصوية، مغلفة، غير متحركة، توجد طبيعيا في الأمعاء والقناة التنفسية للإنسان كما توجد أيضا في التربة والماء وتسبب هذه البكتيريا بعض الإمراض للإنسان وخاصة المترددين على المستشفيات ولهذه البكتيريا سلالات مقاومة للعقاقير وتنتقل عن طريق إدخال الأنابيب التنفسية و الإدخال الوريدي والقسطرات البولية للمرضى (EL-Mishad, 2005).

حفظت البكتيريا على بيئة الأجار المغذي Nutriet agar وخزنت في الثلاجة عند درجة حرارة 4 مْ لحين الاستخدام (Cheesbroagh,1984) .

الأوساط الغذائية المستخدمة لزراعة السلالات البكتيرية المستخدمة

تم استخدام نوعين من الأوساط وهي Muller Hinton agar, Nutrient agar كوسط غذائي لنمو و اختبار حساسية البكتيريا للمستخلصات النباتية (Cheesbrough,1984)

طرق العمل

تحضير المستخلصات

تم أخذ 5 جم من مسحوق الطحلب الجاف ووضع في 100 مل من المذيبات المستخدمة (kaufman *et al.*, l999) في دورق سعته 250 مل ووضع على shaker هزاز لمدة زمنية محصورة من يوم الى 21 يوم بسرعة 100 دورة في الساعة ثم رشح في ورقة ترشيح رقم1 وتم تبخير المذيب ثم أذيبت المادة الصلبة في 2.5 ملل من 50% Dimethyl sulphoxide (DMSO) (Mahadik 2015).

أجريت عدة تراكيز بأجراء سلسلة من التخفيفات المتضاعفة للوصول إلي أقل تركيز مستخدم وهو50 ميكرولتر.

طريقة أستخدام المستخلصات

اتبعت طريقة Crasta (1997) في اختبار قدرة المستخلصات على تثبيط نمو البكتيريا وذلك باستخدام طريقة الانتشار في الحفر. أستخدم الوسط الغذائي Muller Hinton agar حيث تم حقن البكتيريا المراد معرفة حساسيتها وتم تخطيط البكتيريا في ثلاث اتجاهات باستخدام ممسحة قطنية معقمة سواب (swab) على سطح الوسط الغذائي ثم أضيفت المستخلصات إلي الوسط الغذائي بأخذ 200 ميكرولتر وحقنها في فتحات باستخدام ثاقب (Cork) معقم ذو قطر 8 مم مع استخدام فتحة أخري تحتوي على المذيب المستخدم لعملية الاستخلاص تم اعتباره شاهد سلبي DMSO، ووضع ايضا شاهد ايجابي مضادة الحيوي Amikacin ثم حضنت الأطباق في جهاز التحصين Incubatorعند درجة حرارة 37م° لمدة 24 ساعة ثم تم قياس مناطق تثبيط النمو البكتيري.

التحليل الإحصائي

استخدم البرنامج الإحصائي SPSS (Statistical package for social sciences) وتبين من التحليل الإحصائي ذو الاتجاهين (Tow way analysis of variance) لاختبار الفروق المعنوية لمتوسطات اقطار مناطق التثبيط للأنواع البكتيرية المختبرة و المذيبات المستخدمة والمدة الزمنية للاستخلاص الطحلب .

النتائج

تأثير مستخلصات طحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا الممرضة

بينت نتائج دراسة تأثير مستخلصات طحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا الممرضة (*Escherichia coli* , *Staphylococcus aureus* , *Pseudomonas aeruginosa* , *Klebsilla pneumonia*) بأستخدام المذيبات العضوية المختلفة (Methanol, Ethanol, Acetone, Petroleum Ether, Ethyl acetate) أن لهذه المستخلصات تأثيرات مختلفة على بعض أنواع من البكتيريا المستخدمة (جدول 2).

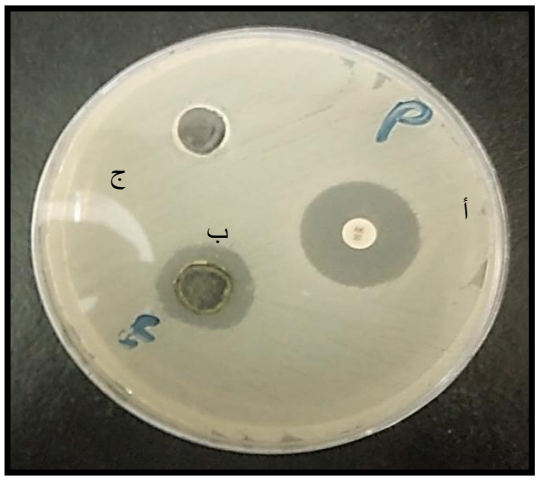
بالنظر إلي جدول 2 نجد أن مستخلصات كحول الميثانول أثرت على نمو البكتيريا *S.aureus* فقط (شكل 4 و11) دون أن تؤثرعلى نمو البكتيريا الأخرى، بينما أثرت مستخلصات كحول الإيثانول (شكل 12) على نمو البكتيريا *S.aureus* (شكل 10) و *P.aeruginosa* (شكل 3). أما مستخلصات الآسيتون والأيثيل اسيتيت (شكل 13و 15) فقد أثرت على نمو البكتيريا *S.aureus* فقط (شكل 5- 9).

لقد أثرت مستخلصات بترواليوم ايثر(شكل 14) على أغلب البكتيريا المستخدمة باستثناء البكتيريا *K.pneumonia* وكان له التأثير الأعلى وخاصة على البكتيريا *S.aureus* حيث بلغ قطر الهالة (منطقة التثبيط) 14 مم ، وجدير بالذكر اعتبار البكتيريا *S.aureus* هي الأكثر حساسية للمستخلصات المذيبات العضوية المستخدمة (شكل 6-8-7) .

أستخدم المضاد الحيوي اميكاسين (Amikacin 30) كشاهد إيجابي (+ ve control) وأظهر تأثيرا مثبطا لنمو جميع البكتيريا المستخدمة (شكل 16) وخاصة البكتيريا *S.aureus* في حين لم يظهر الشاهد السلبي (- ve control) الذي يتكون من محلول Dimethyl sulphoxide 50% (DMSO) أي تأثير مثبط على نمو البكتيريا المستخدمة (جدول 2).

جدول (2). تأثير المستخلصات طحلب *Cladophora vadorum* على نمو بعض أنواع البكتيريا باستخدام خمسه المذيبات العضوية بالمليمتر(مم).

المذيبات / البكتيريا	ميثانول	ايثانول	آسيتون	بتروليوم ايثر	أيثيل اسيتيت	أميكاسين (Amikacin) AK 30	شاهد سلبي DMSO
	منطقة انعدام النمو (mm)						
S. aureus	11	11	11	14	8	38	0
E .coli	0	0	0	4	0	17	0
K. pneumonia	0	0	0	0	0	12	0
P. aeruginosa	0	2	0	4	0	17	0

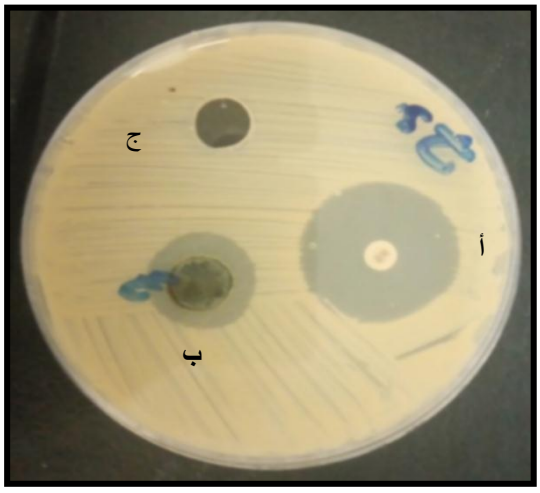


شكل (3). تأثير مستخلص الايثانول على نمو البكتيريا (P) *P. aeruginosa*

أ. الشاهد الايجابي 30 *Amikacin*

ب. مستخلص الايثانول (E)

ج. الشاهد السلبي DMSO

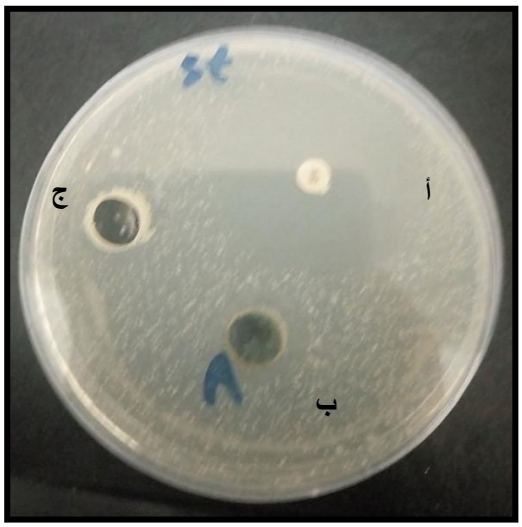


شكل (4). تأثير مستخلص الميثانول على نمو البكتيريا (St) *S.aureus*

أ. الشاهد الايجابي 30 *Amikacin*

ب. مستخلص الميثانول (m)

ج. الشاهد السلبي DMSO

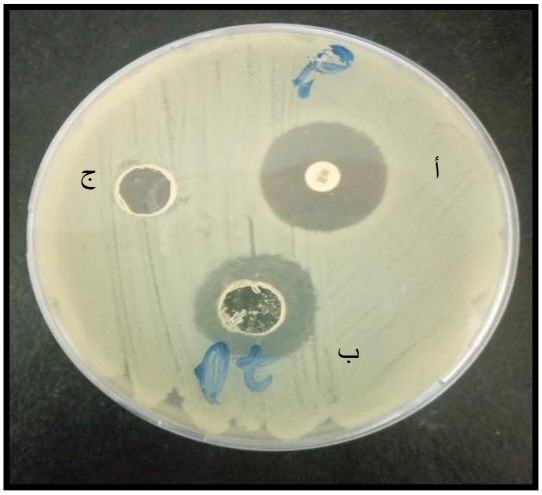


شكل (5). تأثير مستخلص الاسيتون على نمو البكتيريا (St) *S.aureus*

أ. الشاهد الايجابي 30 *Amikacin*

ب. مستخلص الاسيتون (A)

ج. الشاهد السلبي DMSO

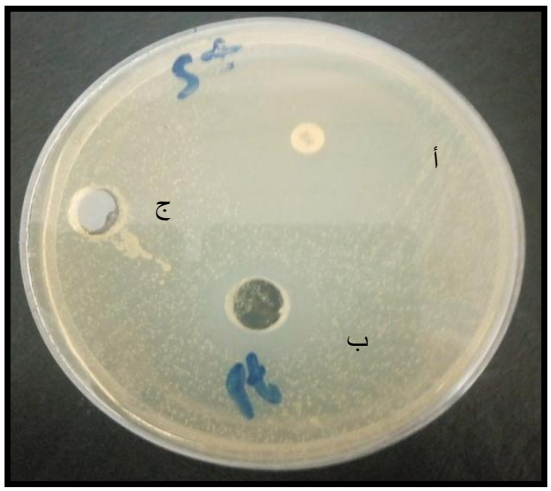


شكل(6). تأثير مستخلص البتروليوم إيثر على نمو البكتيريا (P) *P. aeruginosa*

أ. الشاهد الايجابي *Amikacin*

ب. مستخلص البتروليوم إيثر(pt)

ج. الشاهد السلبي DMSO

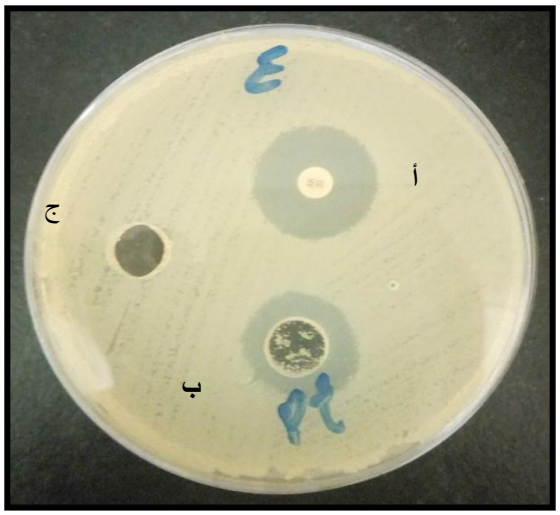


شكل (7). تأثير مستخلص البتروليوم إيثر على نمو البكتيريا *S.aureus* (st)

أ. الشاهد الايجابي 30 *Amikacin*

ب. مستخلص البتروليوم إيثر (pt)

ج. الشاهد السلبي DMSO

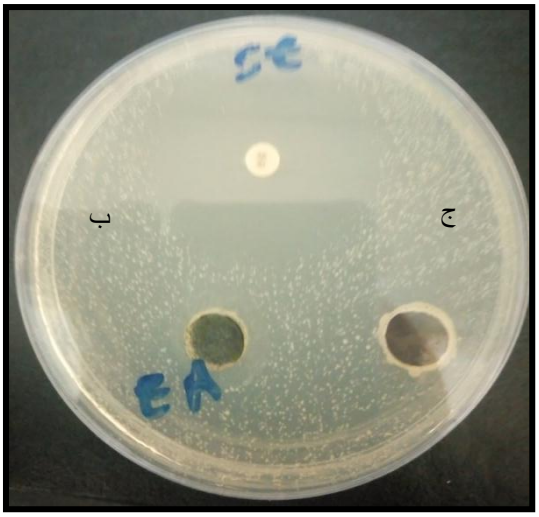


شكل(8). تأثير مستخلص البتروليوم إيثر على نمو البكتيريا (E) *E.coli*

أ. الشاهد الايجابي *Amikacin*

ب. مستخلص البتروليوم إيثر

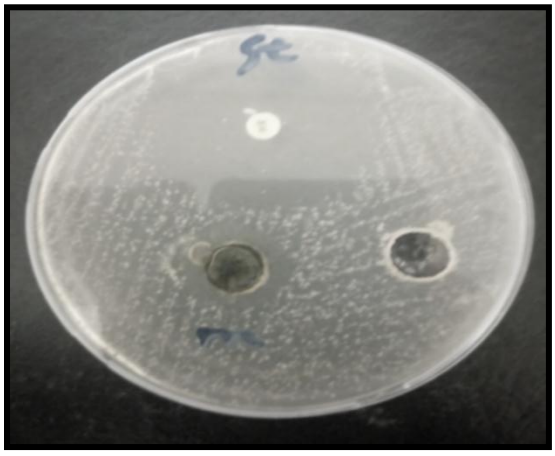
ج. الشاهد السلبي DMSO



شكل (9). تأثير مستخلص الأيثيل اسيتيت على بكتيريا (st) *S.aureus*

أ. الشاهد الإيجابي *Amikacin 30*

ب. مستخلص الأيثيل اسيتيت (EA) ج. الشاهد السلبي DMSO

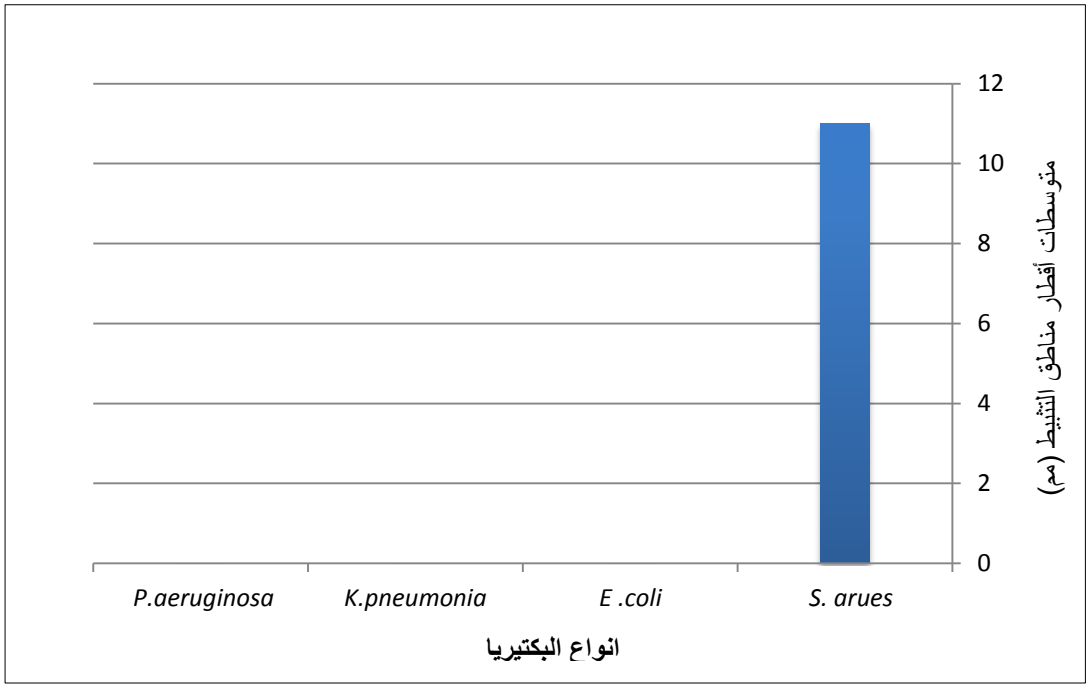


شكل(10). تأثير مستخلص الايثانول على نمو البكتيريا (st) *S.aureus*

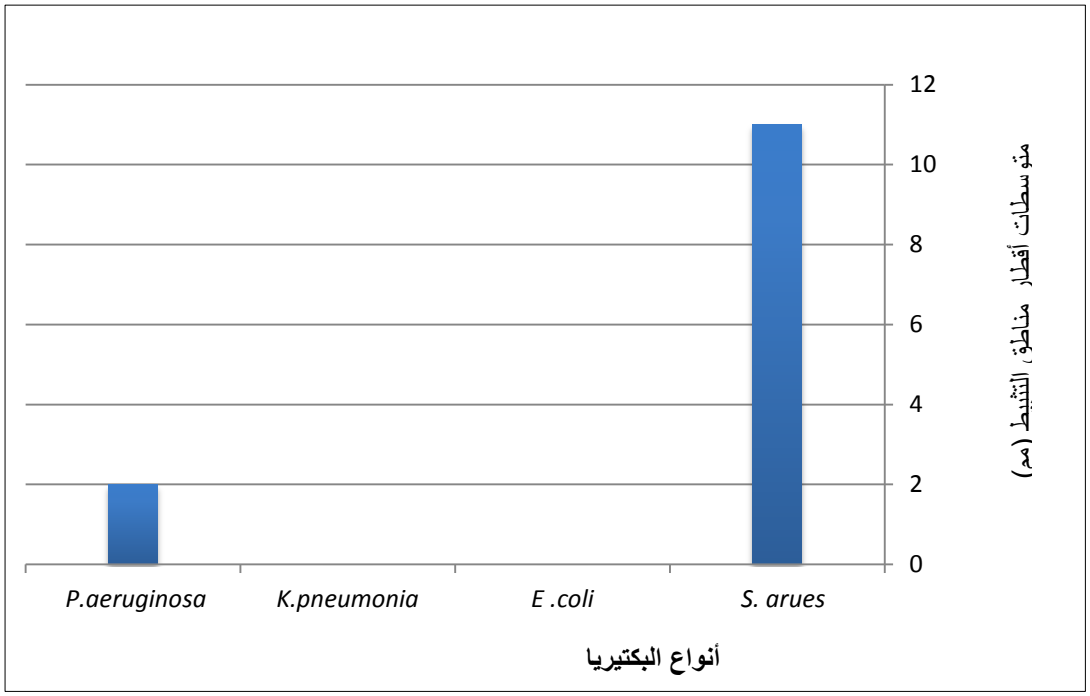
أ. الشاهد الايجابي 30 *Amikacin*

ب. مستخلص الايثانول (E)

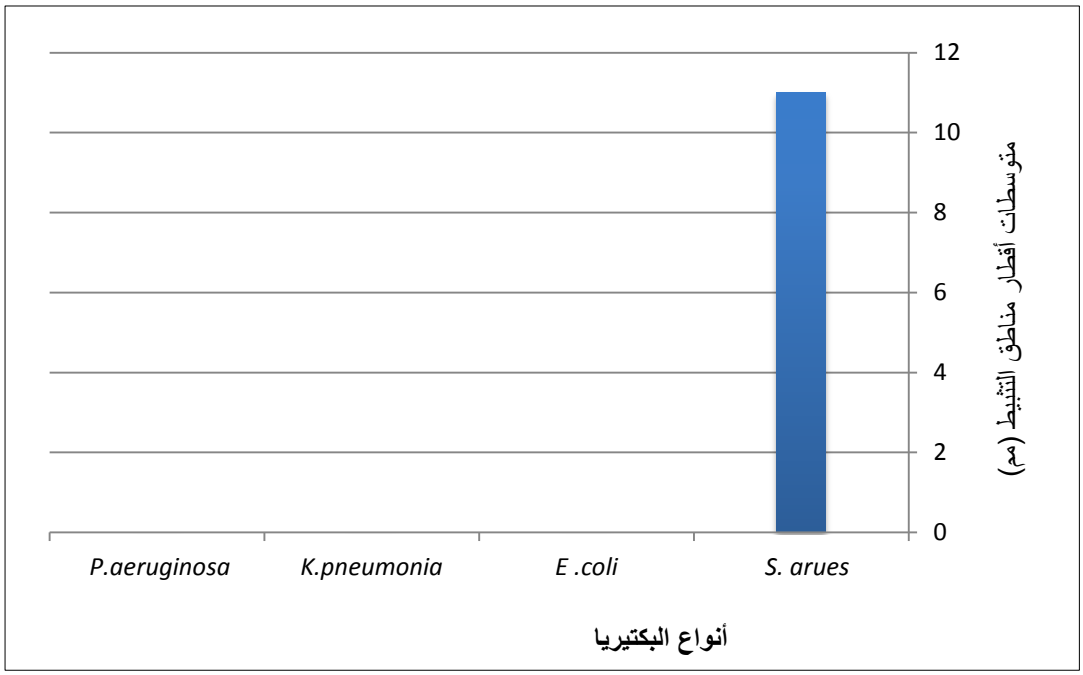
ج. الشاهد السلبي DMSO



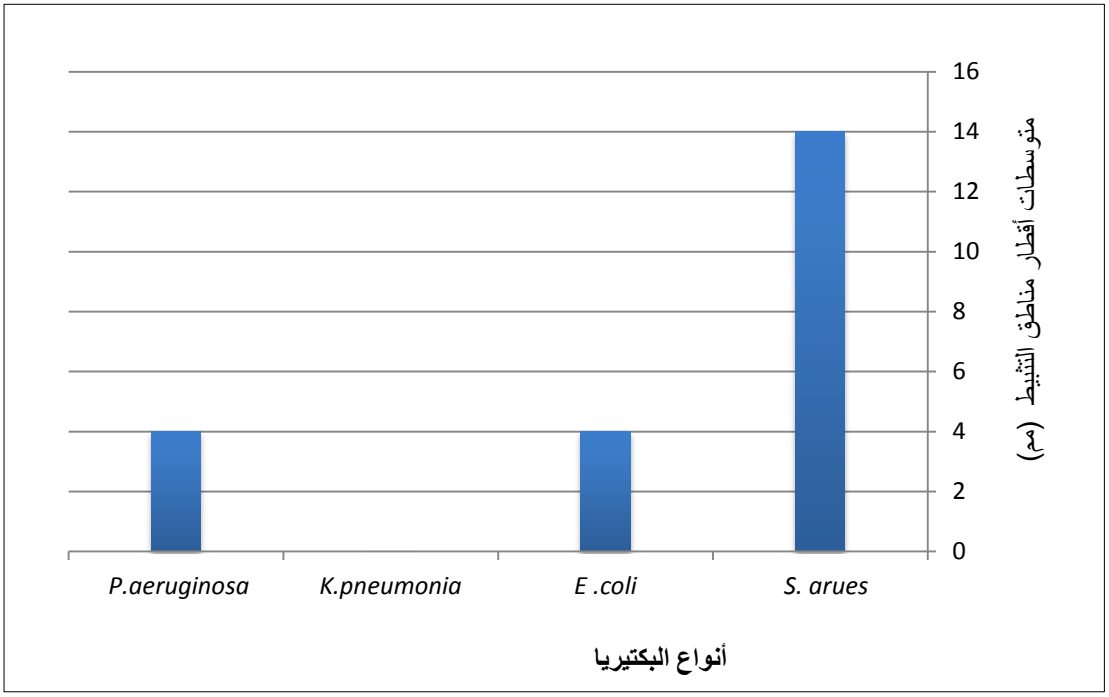
شكل 11. تأثير مستخلصات الميثانول لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو بعض أنواع البكتيريا.



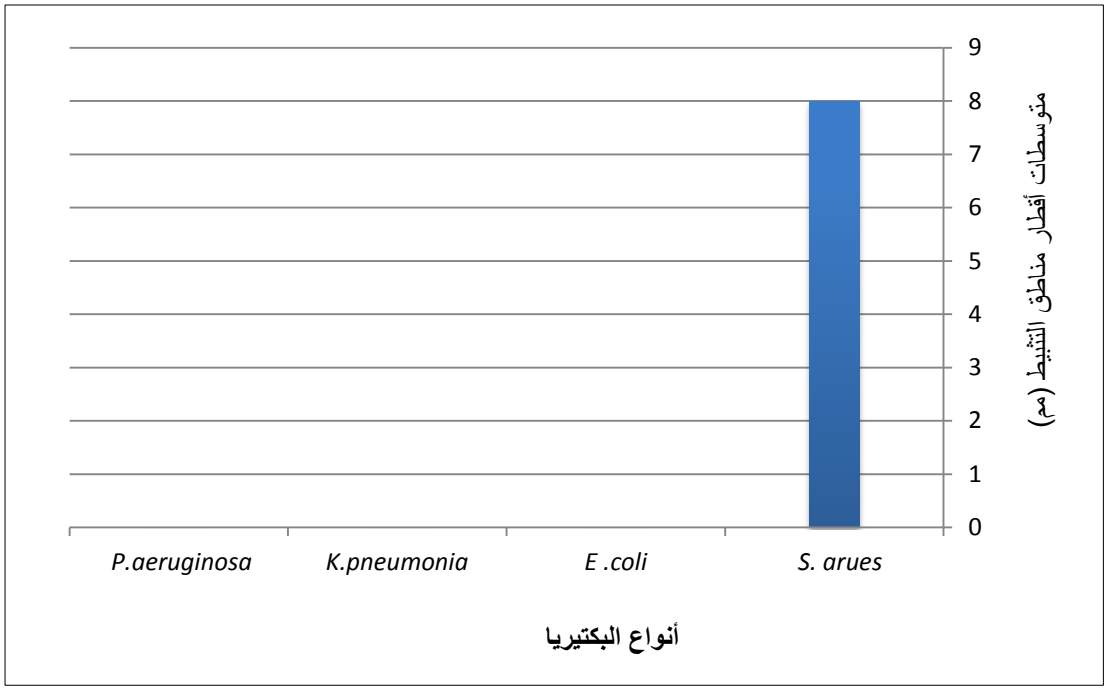
شكل 12. تأثير مستخلصات الايثانول لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو بعض أنواع البكتيريا.



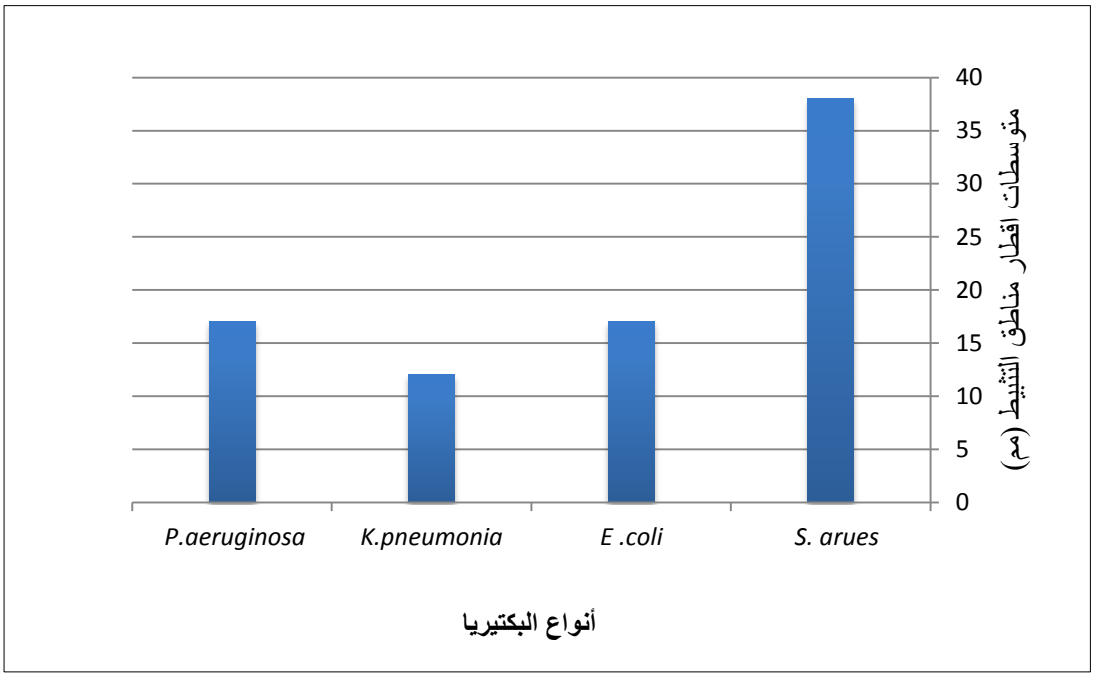
شكل 13. تأثير مستخلصات الاسيتون لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو بعض أنواع البكتيريا.



شكل 14. تأثير مستخلصات البترولیوم ایثر لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو بعض أنواع البكتيريا.



شكل 15. تأثير مستخلصات الايثيل اسيتيت لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو بعض أنواع البكتيريا.



شكل 16. تأثير مضاد حيوي اميكاسين على نمو بعض أنواع البكتيريا.

تأثير زمن الاستخلاص وتركيز مستخلصات المذيبات العضوية لطحلب *Cldophora vadorum* على نمو البكتيريا

الدراسة تأثير زمن الاستخلاص وتركيز مستخلصات المذيبات العضوية لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا (*Escherichia coli* , *Staphylococcus aureus* , *Pseudomonas aeruginosa* , *Klebsilla pneumonia*) تم تقسيم زمن الاستخلاص إلى 3 فترات زمنية مدة كل فترة 4 أيام وذلك باستخدام المذيبات العضوية المختلفة (الميثانول، الإيثانول، الأسيتون، البترواليوم إيثر، الأيثيل اسيتيت) وبتراكيز مختلفة ما بين 50 و100 ميكرولتر (جدول 3).

يمكن مناقشة تأثير زمن الاستخلاص وتركيز مستخلصات المذيبات العضوية المختلفة لكل مذيب على حده حسب الآتي :-

تأثير زمن الاستخلاص وتركيز مستخلصات الميثانول لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *S. aureus*

بين جدول 3 تأثير الزمن لاستخلاص المواد العضوية القابلة للذوبان في كحول الميثانول على نمو البكتيريا *S. aureus* وكذلك تأثير التركيزات المختلفة (50 -100 -150- 200) لهذه المواد المستخدمة (شكل 18 و19 و 20 و21). بالنظر إلي جدول 3 نري أن 8 أيام كزمن الاستخلاص كافية لذوبان جميع المواد المؤثرة (المثبطة) على نمو البكتيريا وأن تأثير التركيزات المختلفة على نمو بكتيريا المستخدمة متمثلا في قطر منطقة التثبيط نجدها محصورة ما بين 9.6 مم باستخدام 50 ميكرولتر و 14.3 مم باستخدام 200 ميكرولتر في زمن استخلاص مدته 4 أيام (شكل 17.أ) ، وبمضاعفة زمن الاستخلاص نجد أن قطر منطقة التثبيط قد تراوح ما بين 12 مم باستخدام 50 ميكرولتر و17 مم باستخدام 200 ميكرولتر لذلك نعتقد 8 أيام (شكل 17.ب) من زمن الاستخلاص

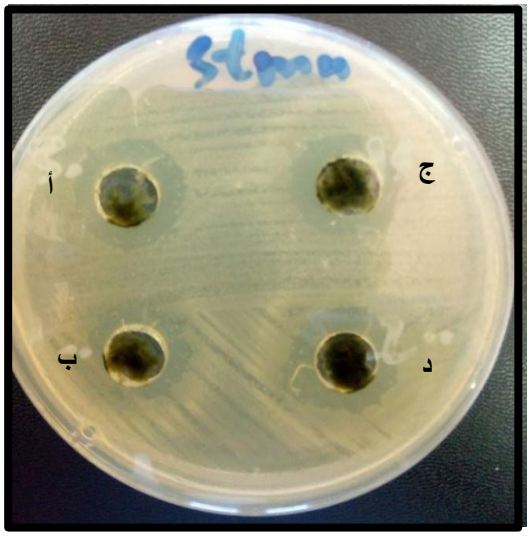
كافية لذوبان المواد المستخدمة تقريبا على الرغم من وجود زيادة بسيطة في النتائج في زمن استخلاص مدته 12 يوم حيث بلغ 12 مم باستخدام 50 ميكرولتر و 18 مم باستخدام 200 ميكرولتر (شكل 17.ج).

وبينت نتائج التحليل الاحصائي انه يوجد فروق معنوية بين تأثير الزمن الاستخلاص المواد الفعالة لكحول الميثانول على نمو البكتيريا *S. aureus* حيث كان فروق معنوية واضحة ما بين فترات زمنية 4 أيام (12 مم) و 8 أيام (14 مم) و12 يوما (15.1 مم) على التوالي عند مستوي معنوية$P < 0.05$ ، وايضا يوجد فروق المعنوية عالية بين التراكيز المختلفة حيث كان منطقيا الفروق المعنوية عالية لتركيز200 ميكرولتر(15.3 مم) ثم التركيز 150 ميكرولتر(15.2 مم) ثم التركيز 100 ميكرولتر (13 مم)ثم التركيز 50 ميكرولتر (11.2 مم) على التوالي عند مستوي معنوية $P < 0.05$.

جدول (3) .تأثير الزمن وتركيز المستخلصات الميثانول (Methanol) لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *S.aureus*

التركيز (ميكرولتر) / الزمن (الايام)	50	100	150	200	المتوسط
4	منطقة انعدام النمو (mm)				
	9.67 ± 0.516 *	11 ± 0.000 **	13.33 ± 0.516 *	14.00 ± 0.000 **	12.00
8	12.00 ± 0.000 **	14.00 ± 0.000 **	16.00 ± 0.000 **	17.00 ± 0.000 **	14.00
12	12.00 ± 0.000 **	14.00 ± 0.000 **	16.50 ± 0.000 **	18.00 ± 0.000 **	15.13
المتوسط	11.22	13.00	15.27	15.33	

متوسطات أقطارمناطق التثبيط بالميلمتر(6 تكرارات على اقل) ، * = معنوية عالية عند $P < 0.05$ ، ** = معنوية عالية عند $P < 0.01$ ، ± = الانحراف المعياري .



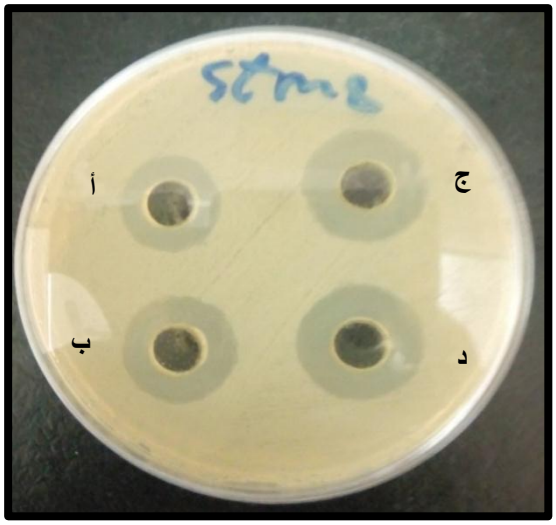
شكل 17.أ. تأثير مستخلص الميثانول لطحلب *Cladophora vadorum* لمدة 4 أيام على نمو البكتيريا *S.aureus*

تركيز المستخلص (أ) 50 ميكرولتر

(ب) 100 ميكرولتر

(ج) 150 ميكرولتر

(د) 200 ميكرولتر



شكل 17.ب. تأثير مستخلص الميثانول لطحلب *Cladophora vadorum* لمدة 8 أيام على نمو البكتيريا *S.aureus* .تركيز المستخلص (أ) 50 ميكرولتر

(ب) 100 ميكرولتر

(ج) 150 ميكرولتر

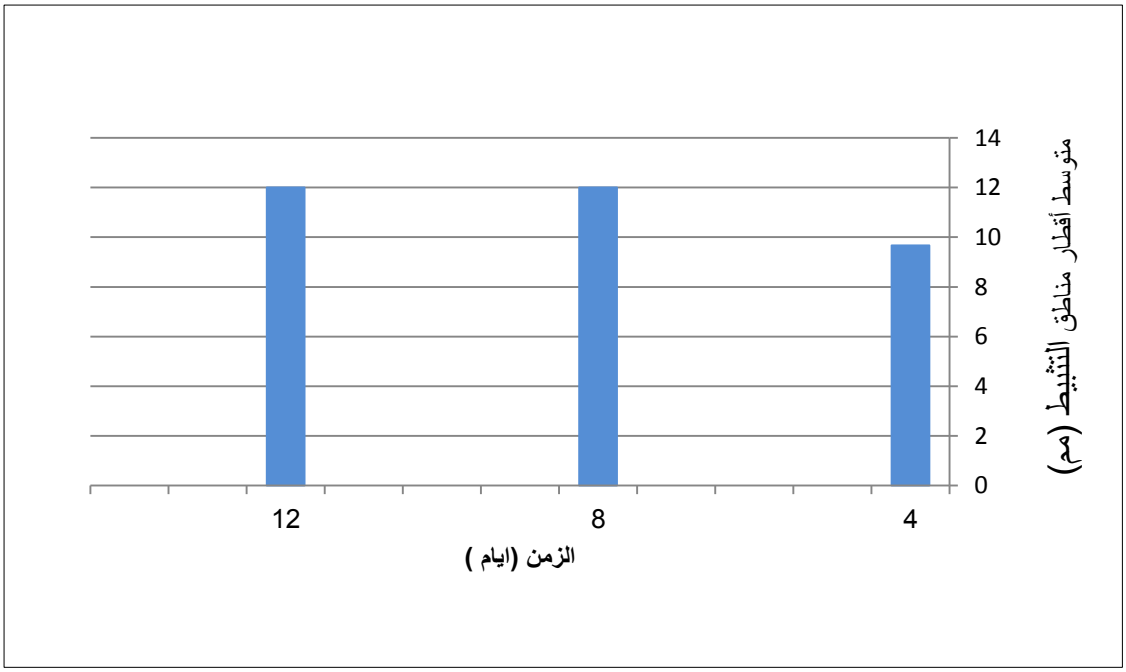
(د) 200 ميكرولتر

شكل 17. ج . تأثير مستخلص الميثانول لطحلب *Cladophora vadorum* لمدة 12 يوم على نمو البكتيريا *S.aureus* تركيز المستخلص (أ) 50 ميكرولتر

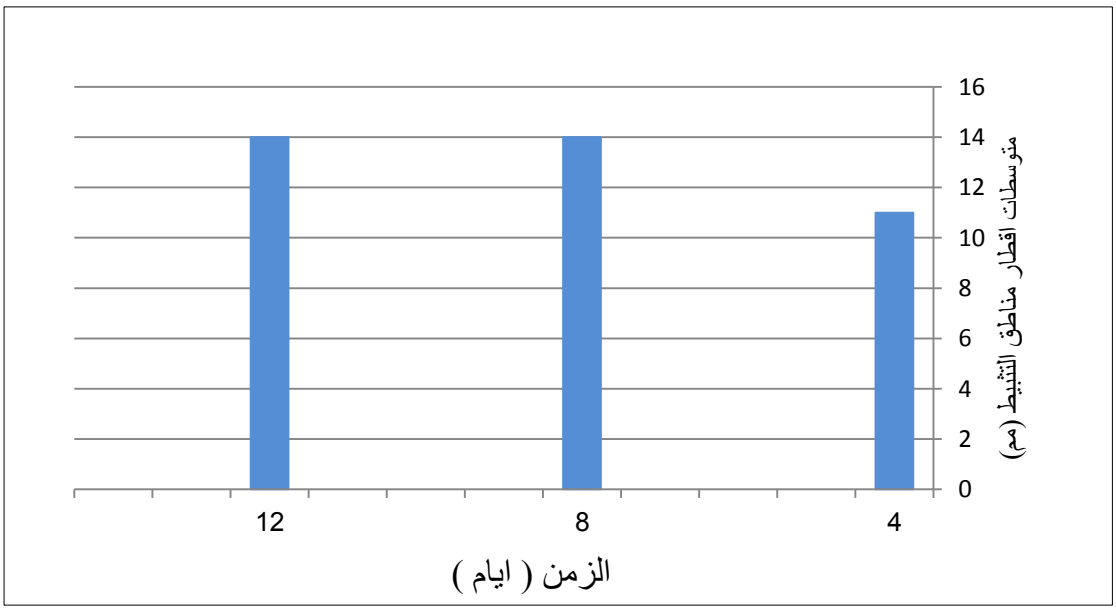
(ب) 100 ميكرولتر

(ج) 150 ميكرولتر

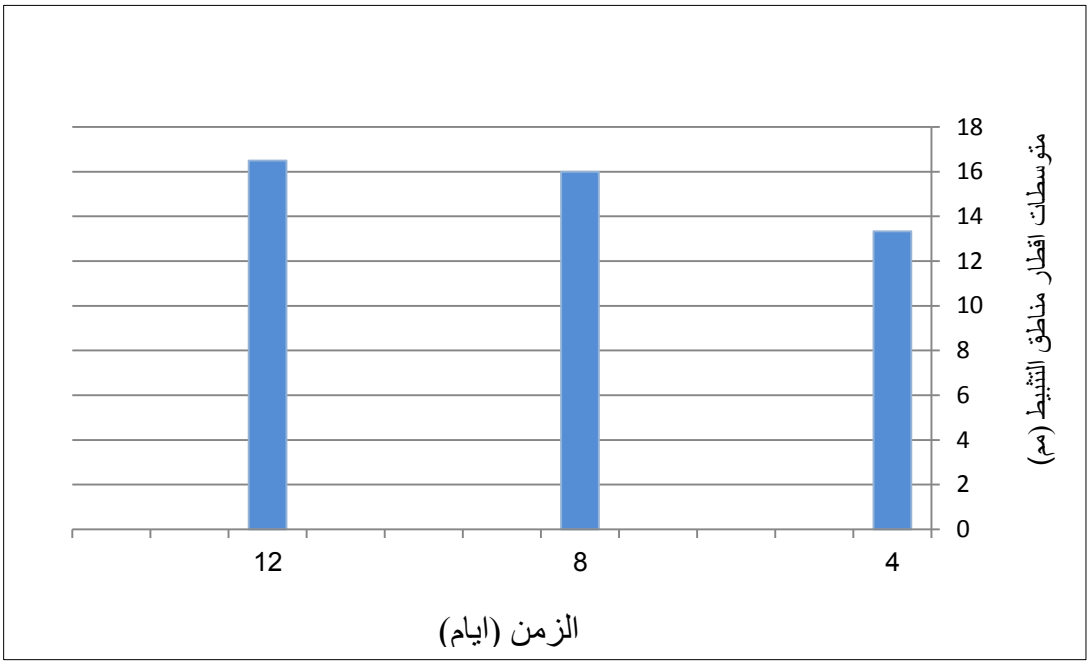
(د) 200 ميكرولتر



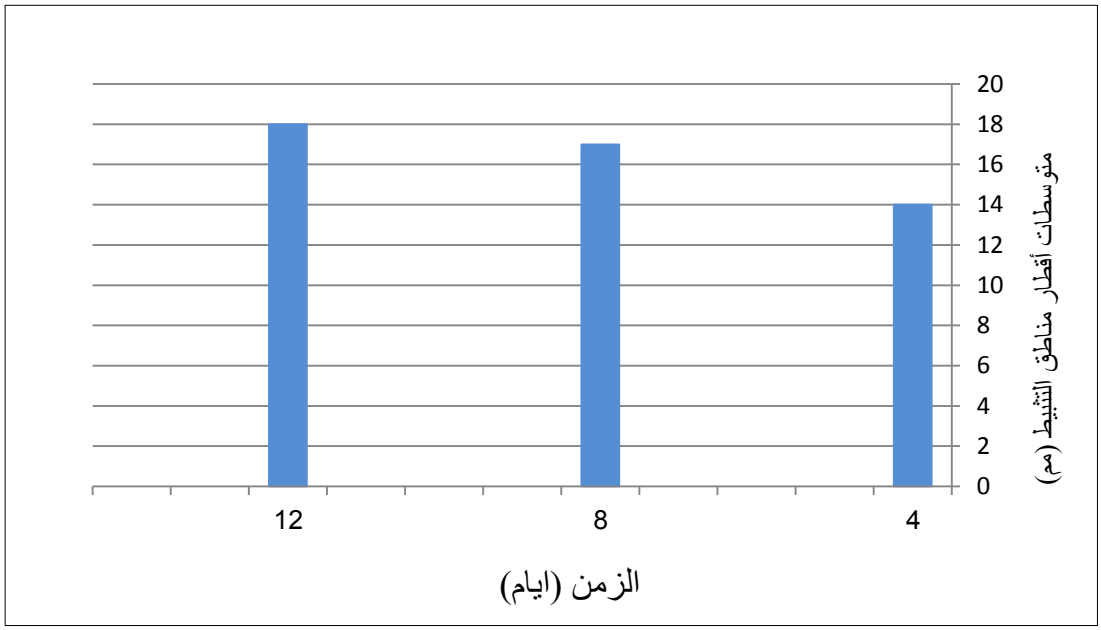
شكل 18. تأثير زمن الاستخلاص وتركيز 50 ميكروليتر لمستخلصات الميثانول لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *S. aureus*



شكل 19. تأثير زمن الاستخلاص وتركيز 100 ميكروليتر لمستخلصات الميثانول لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *S. aureus*



شكل 20. تأثير زمن الاستخلاص وتركيز 150 ميكروليتر لمستخلصات الميثانول لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *S. aureus*



شكل 21. تأثير زمن الاستخلاص وتركيز 200 ميكروليتر لمستخلصات الميثانول لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *S. aureus*

تأثير زمن الاستخلاص وتركيز مستخلصات الإيثانول لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *S. aureus*

يوضح جدول 4 تأثير زمن استخلاص المواد الفعالة باستخدام كحول الإيثانول على نمو البكتيريا *S. aureus* وتأثير التركيزات المختلفة (50 –100 –150 – 200 ميكرولتر) لهذه المواد حيث بينت نتائج زمن الاستخلاص لمدة 4 أيام (شكل 22.أ) أن متوسط أقطار منطقة التثبيط للتركيز المنخفض (50 ميكرولتر) كان 9 مم بينما كان عند التركيز المرتفع (200 ميكرولتر) هو14.6 مم، أما لمدة 8 أيام (شكل 22.ب) فنجد أن متوسط أقطار منطقة التثبيط تراوح ما بين 10 و 16 مم باستخدام 50 – 200 ميكرولتر على التوالي و أعطي نفس النتائج خلال فترة 12 يوم (شكل 22. ج) وهذا يبين أن فترة 8 أيام هي مدة كافية لاستخلاص المواد الفعالة المذابة من مسحوق الطحلب (شكل 23 و 24 و 25 و 26).

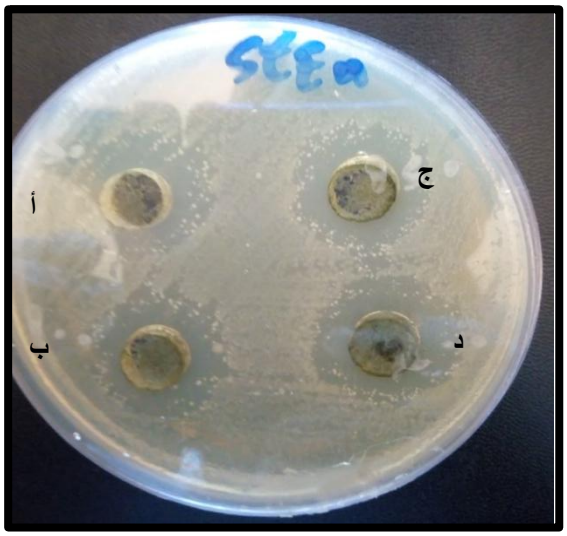
أظهرت نتائج التحليل الاحصائي انه يوجد فروق معنوية بين تأثير الزمن الاستخلاص المواد الفعالة لكحول الإيثانول على نمو البكتيريا *S. aureus* حيث كان فروق معنوية واضحة ما بين فترة زمنية 4 أيام (12 مم) و 8 أيام (13 مم) و12 يوما (13 مم) على التوالي عند مستوي معنوية

$P < 0.05$ ، وايضا يوجد فروق المعنوية عالية بين التراكيز المختلفة حيث كان منطقيا الفروق المعنوية عالية لتركيز200 ميكرولتر(15.5 مم) ثم التركيز 150 ميكرولتر(13.8 مم) ثم التركيز 100 ميكرولتر (11.7 مم)ثم التركيز 50 ميكرولتر (9.6 مم) على التوالي عند مستوي معنوية $P < 0.05$.

جدول (4). تأثيرالزمن وتركيز المستخلص الايتانول (Ethanol) لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *S. aureus*

التركيز (ميكرولتر) / الزمن (الايام)	50	100	150	200	المتوسط
	منطقة انعدام النمو (mm)				
4	9.00 ± 0.000 **	11.33 ± 0.516 *	13.50 ± 0.548 *	14.50 ± 0.548 *	12.08
8	10.00 ± 0.000 **	12.00 ± 0.000 **	14.00 ± 0.000 **	16.00 ± 0.000 **	13.00
12	10.00 ± 0.000 **	12.00 ± 0.000 **	14.00 ± 0.000 **	16.00 ± 0.000 **	13.00
المتوسط	9.66	11.77	13.83	15.50	

متوسطات أقطارمناطق التثبيط بالميلمتر(6 تكرارات على اقل) ,* = معنوية عالية عند $P < 0.05$, ** = معنوية عالية عند $P < 0.01$, ± = الانحراف المعياري .

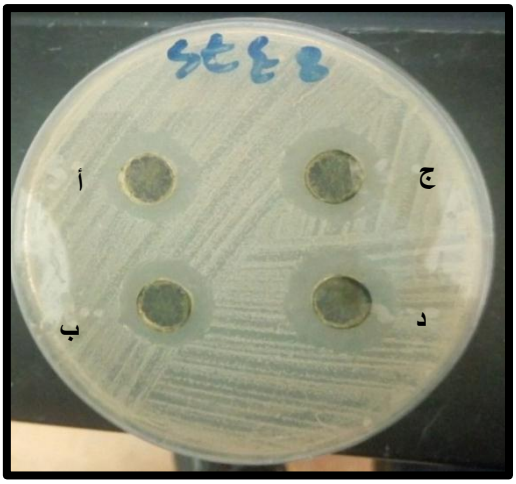


شكل 22.أ. تأثير مستخلص الإيثانول لطحلب *Cladophora vadorum* لمدة 4 أيام على نمو البكتيريا *S. aureus*. تركيز المستخلص (أ) 50 ميكرولتر

(ب) 100 ميكرولتر

(ج) 150 ميكرولتر

(د) 200 ميكرولتر

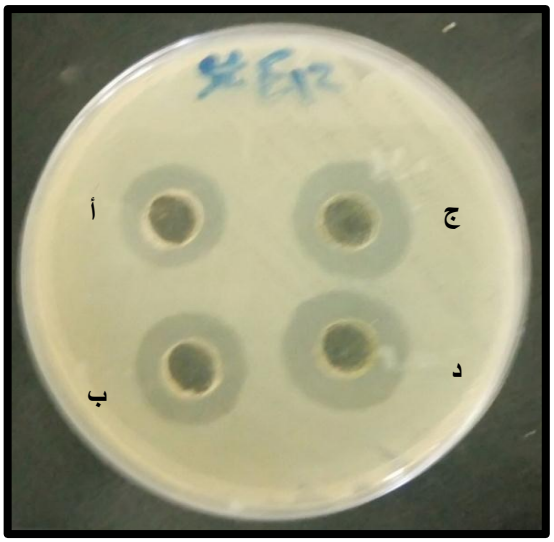


شكل 22.ب. تأثير مستخلص الإيثانول لطحلب *Cladophora vadorum* لمدة 8 أيام على نمو البكتيريا *S. aureus* . تركيز المستخلص (أ) 50 ميكرولتر

(ب) 100 ميكرولتر

(ج) 150 ميكرولتر

(د) 200 ميكرولتر

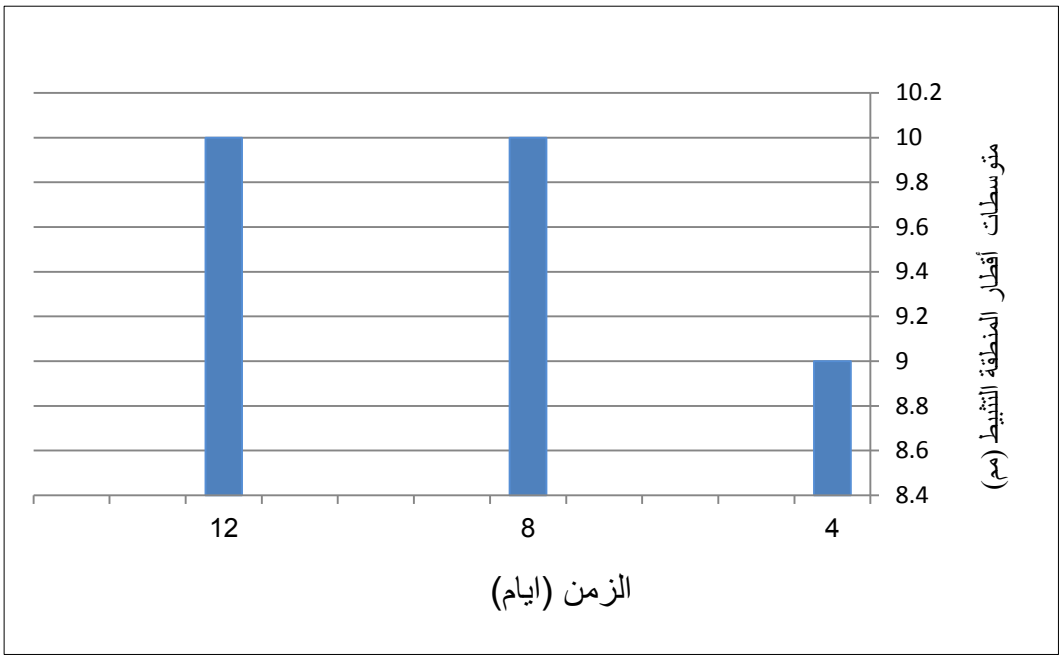


شكل 22.ج. تأثير مستخلص الايثانول لطحلب *Cladophora vadorum* لمدة 12 يوم على نمو البكتيريا *S.aureus* تركيز المستخلص (أ) 50 ميكرولتر

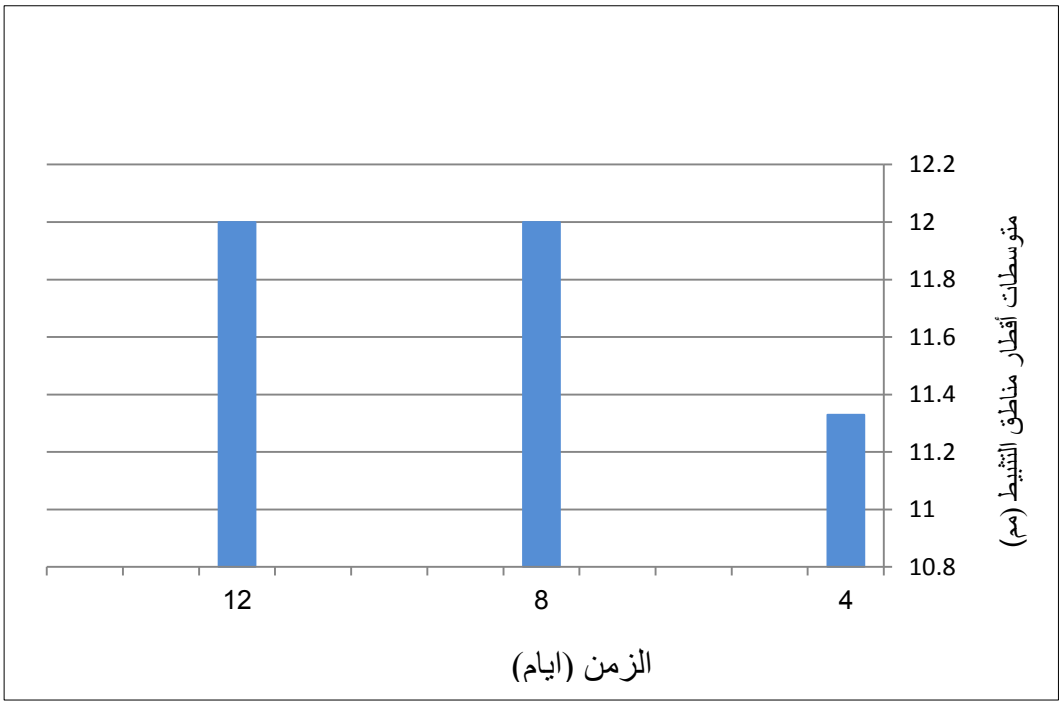
(ب) 100 ميكرولتر

(ج) 150 ميكرولتر

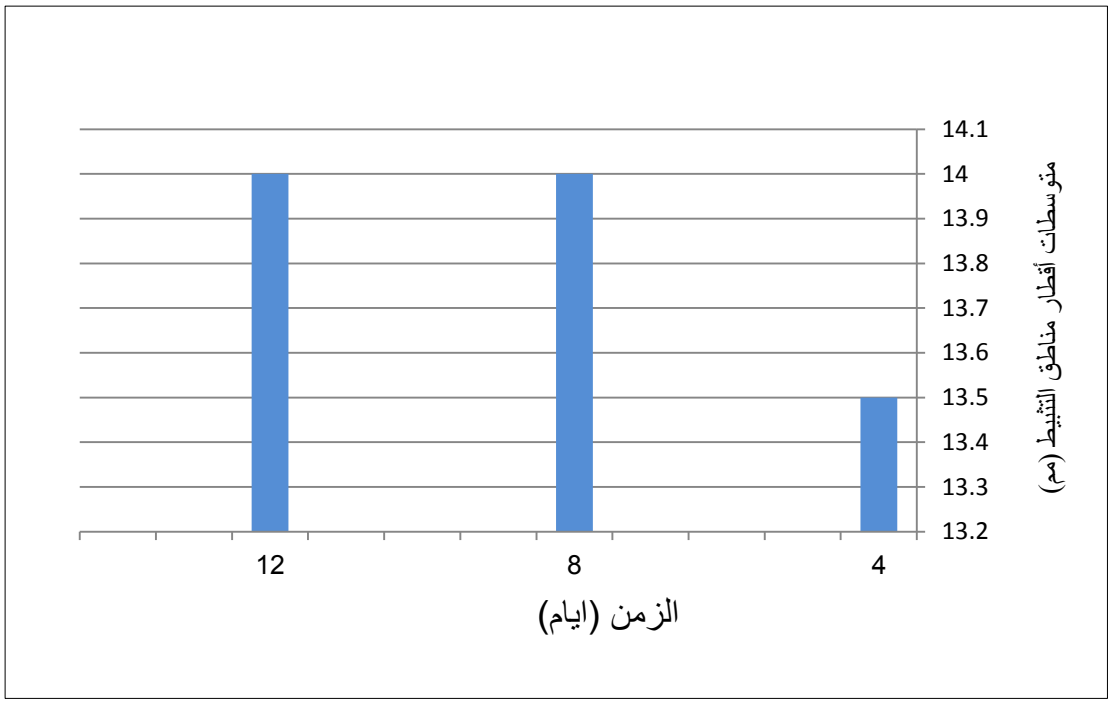
(د) 200 ميكرولتر



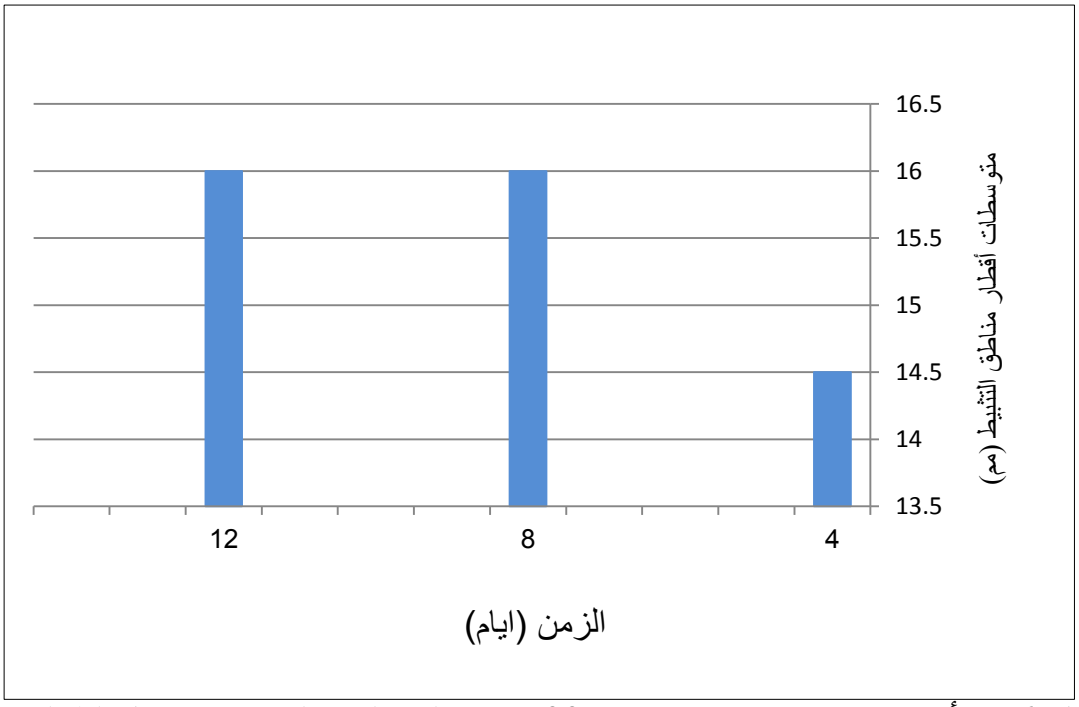
شكل 23. تأثير زمن الاستخلاص وتركيز 50 ميكروليتر لمستخلصات الإيثانول لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *S. aureus*



شكل 24. تأثير زمن الاستخلاص وتركيز 100ميكروليتر لمستخلصات الإيثانول لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *S. aureus*



شكل 25. تأثير زمن الاستخلاص وتركيز 150 ميكروليتر لمستخلصات الإيثانول لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *S. aureus*



شكل 26. تأثير زمن الاستخلاص وتركيز 200 ميكروليتر لمستخلصات الإيثانول لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *S. aureus*

تأثير زمن الاستخلاص وتركيز مستخلصات الأسيتون لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *S. aureus*

أشارت النتائج (جدول 5) إلى مدى تأثير زمن استخلاص المواد الفعالة الذائبة في الآسيتون على نمو البكتيريا *S. aureus* وكذلك التركيزات المختلفة (50 –100 – 150 – 200 ميكرولتر) للمواد المستخلصة (شكل 28 و29 و30 و 31) حيث تراوحت نتائج متوسط أقطار منطقة التثبيط ما بين 8.1 و 13.8 مم باستخدام التركيزات المختلفة في زمن الاستخلاص مدته 4 أيام (شكل 27.أ) ، أما بزيادة زمن الاستخلاص الى 8 أيام (شكل 27. ب) فقد زادت متوسطات أقطار منطقة التثبيط الى ما بين 11 و 16.6 مم .

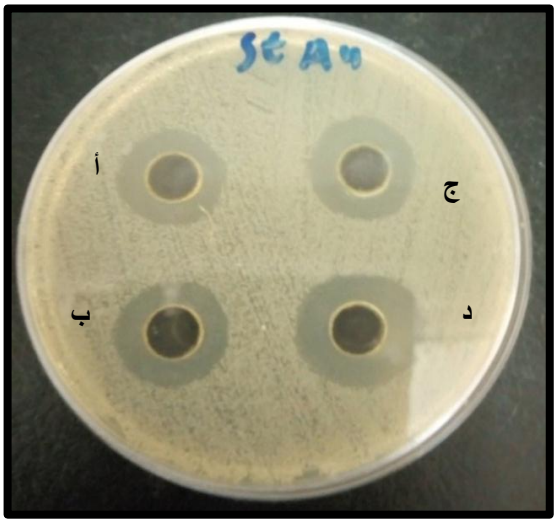
لقد استمر دوبان المواد الفعالة بزيادة فترة الاستخلاص الى 12 يوما (شكل 27.ج) حيث بلغت متوسطات اقطار منطقة التثبيط الى ما بين 12 و 18 مم عند استخدام تركيزات مختلفة ما بين 50 و 200 ميكرولتر(جدول 5) .

اوضحت نتائج التحليل الاحصائي انه يوجد فروق معنوية بين تأثير الزمن الاستخلاص المواد الفعالة لكحول الاسيتون على نمو البكتيريا *S. aureus* حيث كان فروق معنوية واضحة ما بين فترة زمنية 4 أيام (11 مم) و 8 أيام (14 مم) و12 يوما (15 مم) على التوالي عند مستوي معنوية $P < 0.05$ ، وايضا يوجد فروق المعنوية عالية بين التراكيز المختلفة حيث كان منطقيا الفروق المعنوية عالية لتركيز200 ميكرولتر(16 مم) ثم التركيز 150 ميكرولتر(14.3 مم) ثم التركيز 100 ميكرولتر (12.5 مم)ثم التركيز 50 ميكرولتر (10.5 مم) على التوالي عند مستوي معنوية $P < 0.05$.

جدول (5). تأثير الزمن وتركيز المستخلص الأسيتون (Acetone) لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *S.aureus*

التركيز (ميكرولتر) / الزمن (الايام)	50	100	150	200	المتوسط
4	منطقة انعدام النمو (mm)				
	8.50 ± 0.548 *	10.00 ± 0.000 **	11.50 ± 0.548 *	13.50 ± 0.548 *	11.00
8	11.00 ± 0.000 **	13.00 ± 0.000 **	15.50 ± 0.548 *	16.67 ± 0.516 *	14.04
12	12.00 ± 0.000 **	14.00 ± 0.000 **	16.00 ± 0.000 **	18.00 ± 0.000 **	15.00
المتوسط	10.50	12.50	14.33	16.05	

متوسطات أقطارمناطق التثبيط بالميلمتر(6 تكرارات على اقل) ,* = معنوية عالية عند $P < 0.05$, ** = معنوية عالية عند $P < 0.01$, ± = الانحراف المعياري .



شكل 27.أ. تأثير مستخلص الآسيتون لطحلب *Cladophora vadorum* لمدة 4 أيام على نمو البكتيريا *S.aureus*.تركيز المستخلص (أ) 50 ميكرولتر

(ب) 100 ميكرولتر

(ج) 150 ميكرولتر

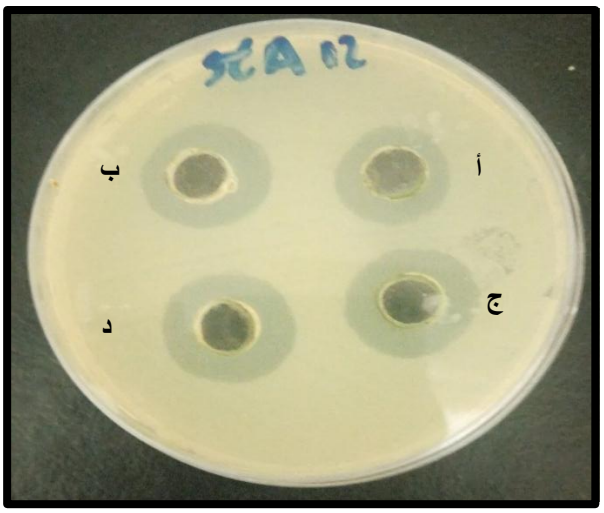
(د)200ميكرولتر

شكل 27.ب. تأثير مستخلص الآسيتون لطحلب *Cladophora vadorum* لمدة 8 أيام على نمو البكتيريا *S.aureus*.تركيز المستخلص (أ) 50 ميكرولتر

(ب) 100 ميكرولتر

(ج) 150 ميكرولتر

(د) 200 ميكرولتر

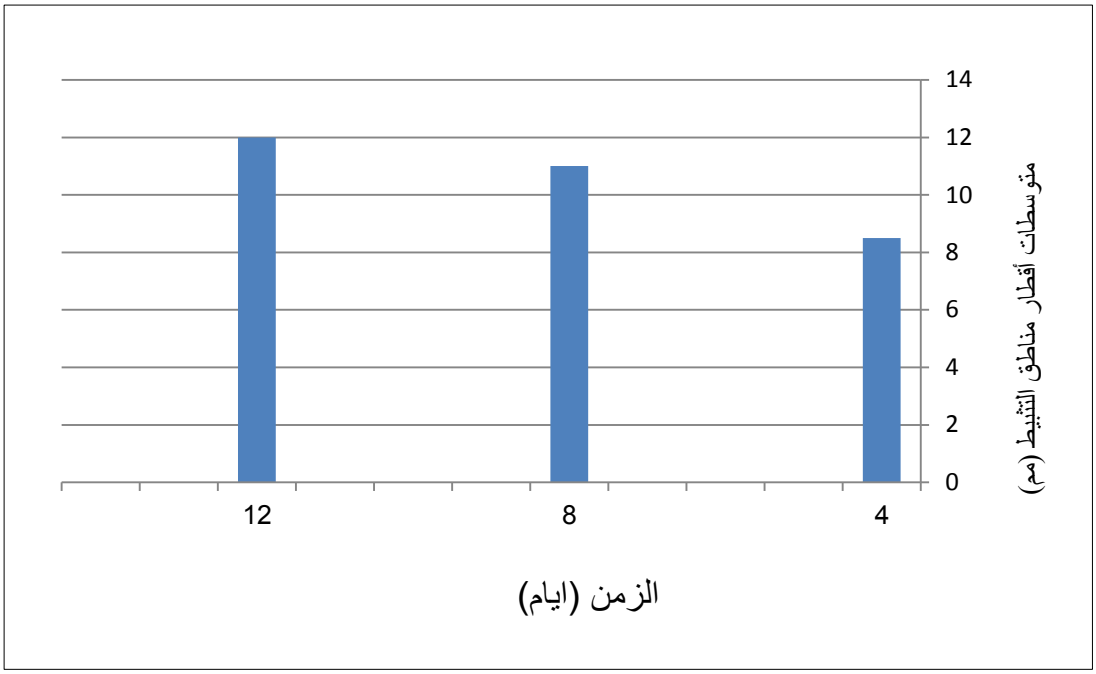


شكل 27.ج. تأثير مستخلص الآسيتون لطحلب *Cladophora vadorum* لمدة 12 يوم على نمو البكتيريا *S.aureus* . تركيز المستخلص (أ) 50 ميكرولتر

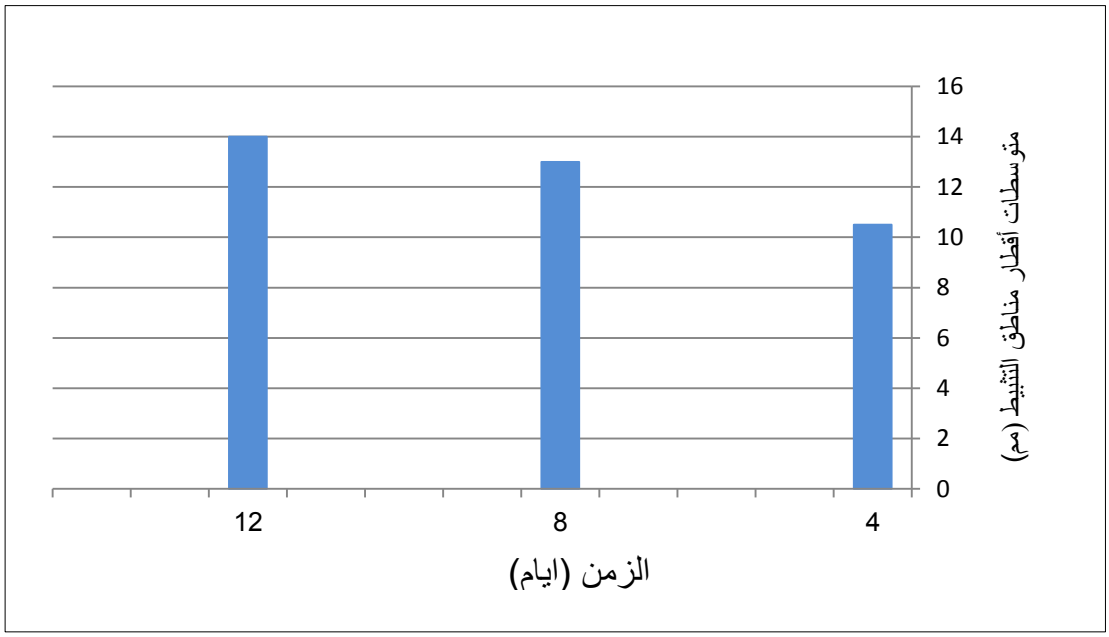
(ب) 100 ميكرولتر

(ج) 150 ميكرولتر

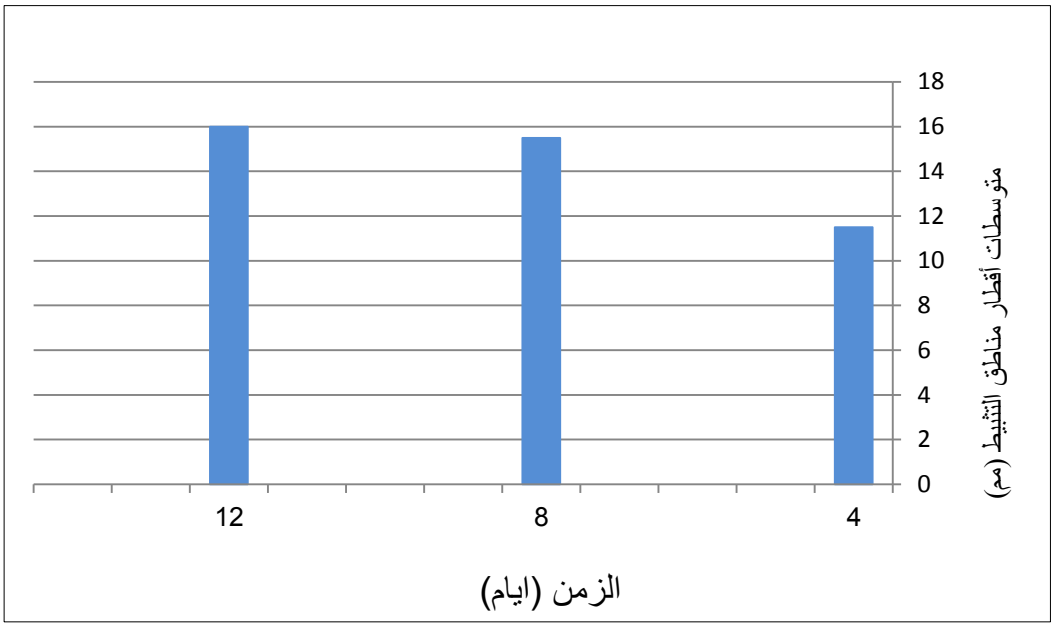
(د) 200 ميكرولتر



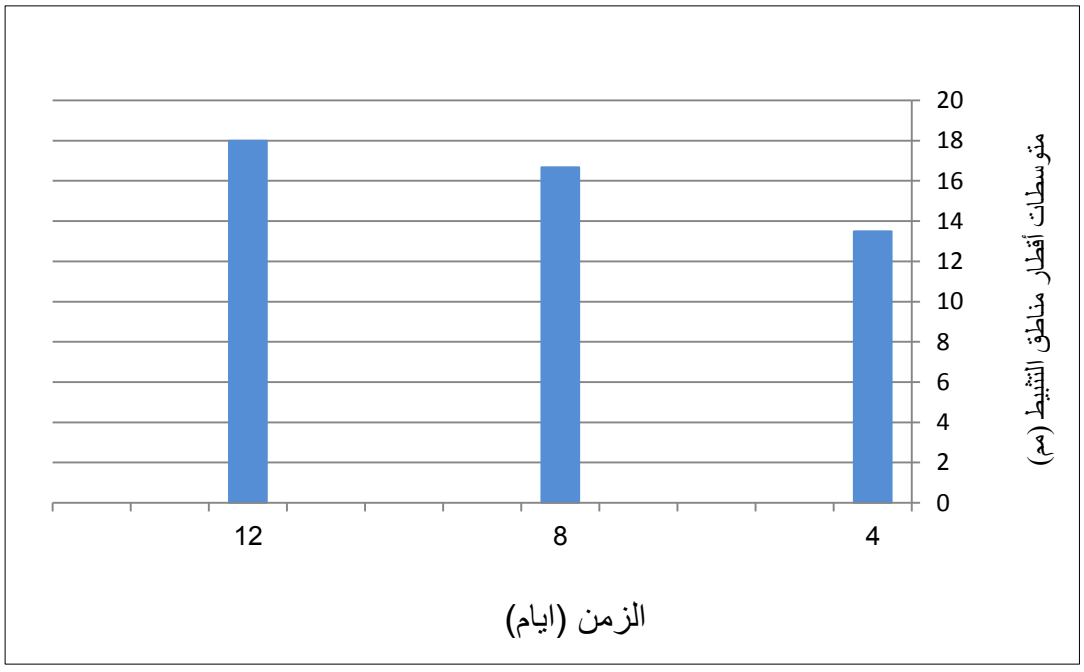
شكل 28. تأثير زمن الاستخلاص وتركيز 50 ميكروليتر لمستخلصات الأسيتون لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *S. aureus*



شكل 29. تأثير زمن الاستخلاص وتركيز 100 ميكروليتر لمستخلصات الأسيتون لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *S. aureus*



شكل 30. تأثير زمن الاستخلاص وتركيز 150 ميكروليتر لمستخلصات الأسيتون لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *S. aureus*



شكل 31. تأثير زمن الاستخلاص وتركيز 200 ميكروليتر لمستخلصات الأسيتون لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *S. aureus*

تأثير زمن الاستخلاص وتركيز مستخلصات البترولیوم إيثر لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *S. aureus*

يبين جدول 6 أن تأثير زمن استخلاص (4–12 يوم) المواد الفعالة القابلة للذوبان في البترولیوم إيثر على نمو البكتيريا *S. aureus* وكذلك التركيزات المختلفة (50 – 100 – 150 – 200 ميكرولتر) للمواد المستخلصة خلال 4 أيام (شكل32.أ) أعطت نتائج إيجابية وتراوح متوسط أقطار منطقة التثبيط ما بين 14 و 18.8 مم باستخدام 50 و 200 ميكرولترعلى التوالي.

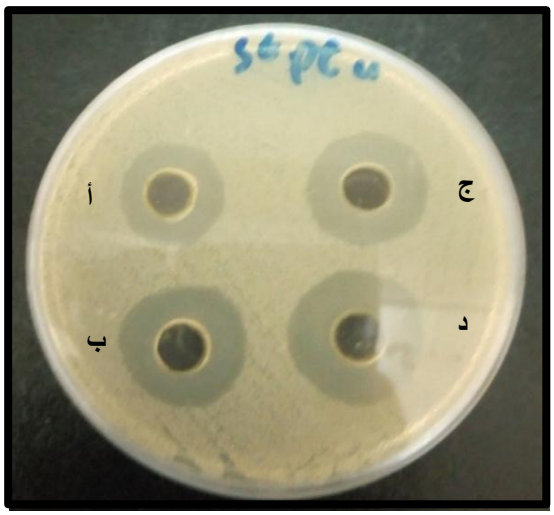
أما خلال 8 أيام (شكل 32.ب) من زمن الاستخلاص كان متوسط أقطار منطقة التثبيط في التركيز المنخفض (50 ميكرولتر) 17 مم وبلغ 20.5 عند التركيز المرتفع (200 ميكرولتر) وكان هناك زيادة بسيطة في متوسط أقطار منطقة التثبيط خلال 12 يوم (شكل 32.ج) حيث بلغ قطرمنطقة التثبيط 17 مم عند التركيز 50 ميكرولتر و23 مم باستخدام التركيز 200 ميكرولتر(شكل 33 و34 و 35 و36).

وبينت نتائج التحليل الاحصائي انه يوجد فروق معنوية بين تأثير الزمن الاستخلاص المواد الفعالة لبترولیوم إيثر على نمو البكتيريا *S. aureus* حيث كان فروق معنوية واضحة ما بين فترة زمنية 4 أيام (15 مم) و 8 أيام (19.7 مم) و12 يوما (20.1 مم) على التوالي عند مستوي معنوية $P < 0.05$ ، وايضا يوجد فروق المعنوية عالية بين التراكيز المختلفة حيث كان منطقيا الفروق المعنوية عالية لتركيز200 ميكرولتر(21.5 مم) ثم التركيز 150 ميكرولتر(19.5 مم) ثم التركيز 100 ميكرولتر (16.2 مم)ثم التركيز 50 ميكرولتر (16 مم) على التوالي عند مستوي معنوية $P < 0.05$.

جدول (6). تأثيرالزمن وتركيزالمستخلص البتروليوم ايثر(Petroleum Ether) لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *S.aureus*

التركيز (ميكرولتر) / الزمن (الايام)	50	100	150	200	المتوسط
	منطقة انعدم النمو (mm)				
4	14.00 ± 0.000 **	15.67 ± 0.516 *	16.50 ± 0.548 *	19.00 ± 0.000 **	15.04
8	17.00 ± 0.000 **	19.00 ± 0.000 **	20.50 ± 0.548 *	22.67 ± 0.516 *	19.79
12	17.00 ± 0.000 **	19.00 ± 0.000 **	21.50 ± 0.548 *	23.00 ± 0.000 **	20.13
المتوسط	16.00	16.22	19.50	21.55	

متوسطات أقطارمناطق التثبيط بالميلمتر(6 تكرارات على اقل) ,* = معنوية عالية عند $P < 0.05$, ** = معنوية عالية عند $P < 0.01$, ± = الانحراف المعياري .

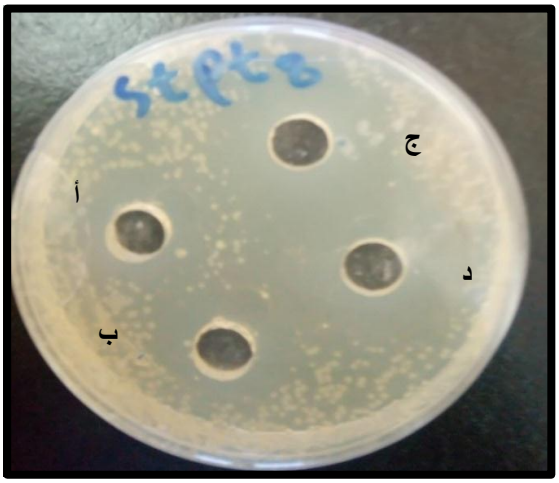


شكل 32.أ. تأثير مستخلص البتروليوم ايثر لطحلب *Cladophora vadorum* لمدة 4 أيام على نمو البكتيريا *S.aureus* . تركيز المستخلص (أ) 50 ميكرولتر

(ب) 100 ميكرولتر

(ج) 150 ميكرولتر

(د) 200 ميكرولتر

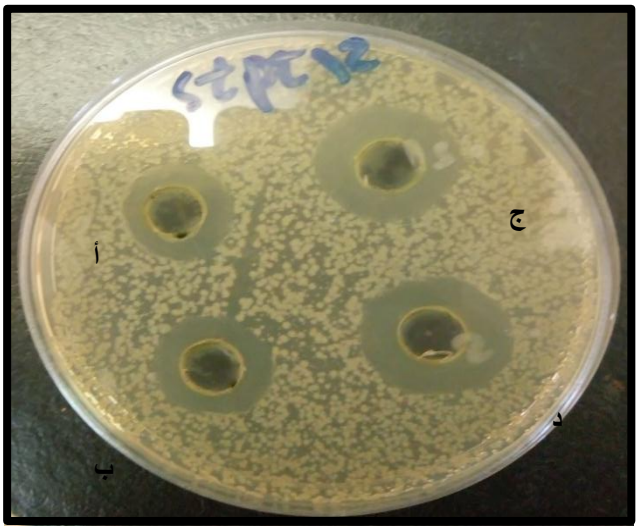


شكل 32.ب. تأثير مستخلص البتروليوم ايثر لطحلب *Cladophora vadorum* لمدة 8 أيام على نمو البكتيريا *S.aureus* . تركيز المستخلص (أ) 50 ميكرولتر

(ب) 100 ميكرولتر

(ج) 150 ميكرولتر

(د) 200 ميكرولتر

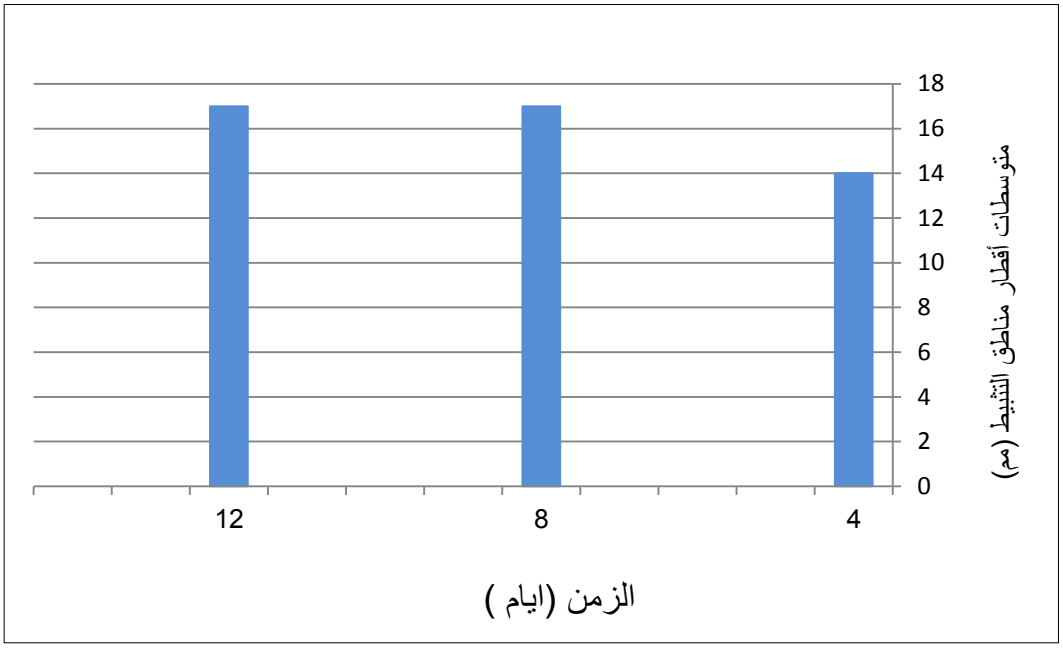


شكل 32.ج. تأثير مستخلص البترواليوم ايثر لطحلب *Cladophora vadorum* لمدة 12 يوم على نمو البكتيريا *S.aureus* .تركيز المستخلص (أ) 50 ميكرولتر

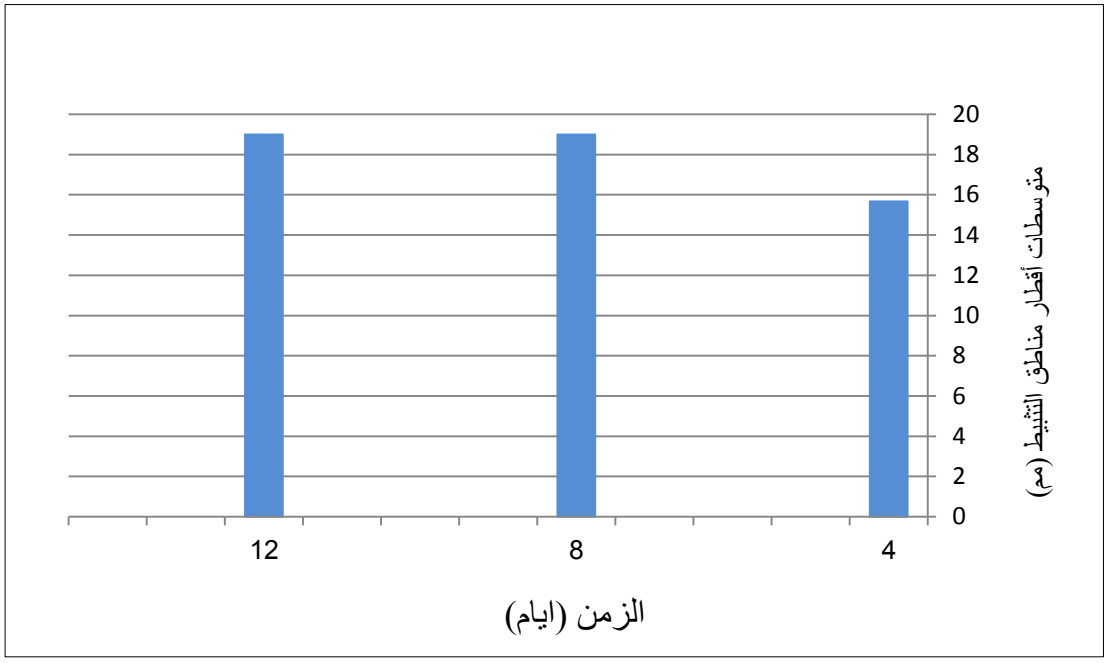
(ب) 100 ميكرولتر

(ج) 150 ميكرولتر

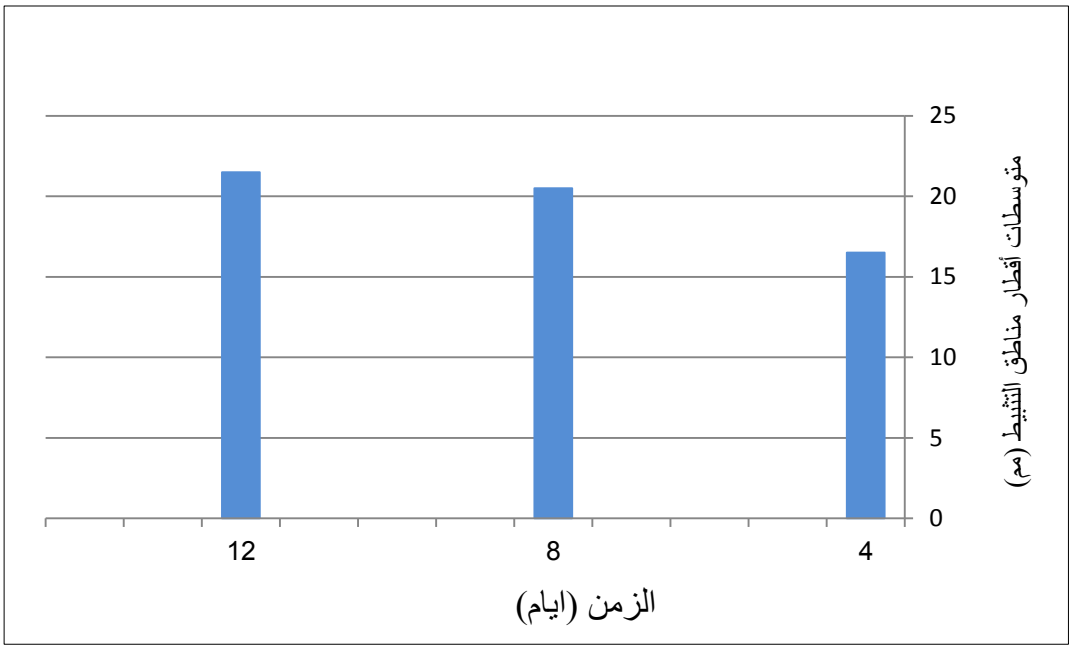
(د) 200 ميكرولتر



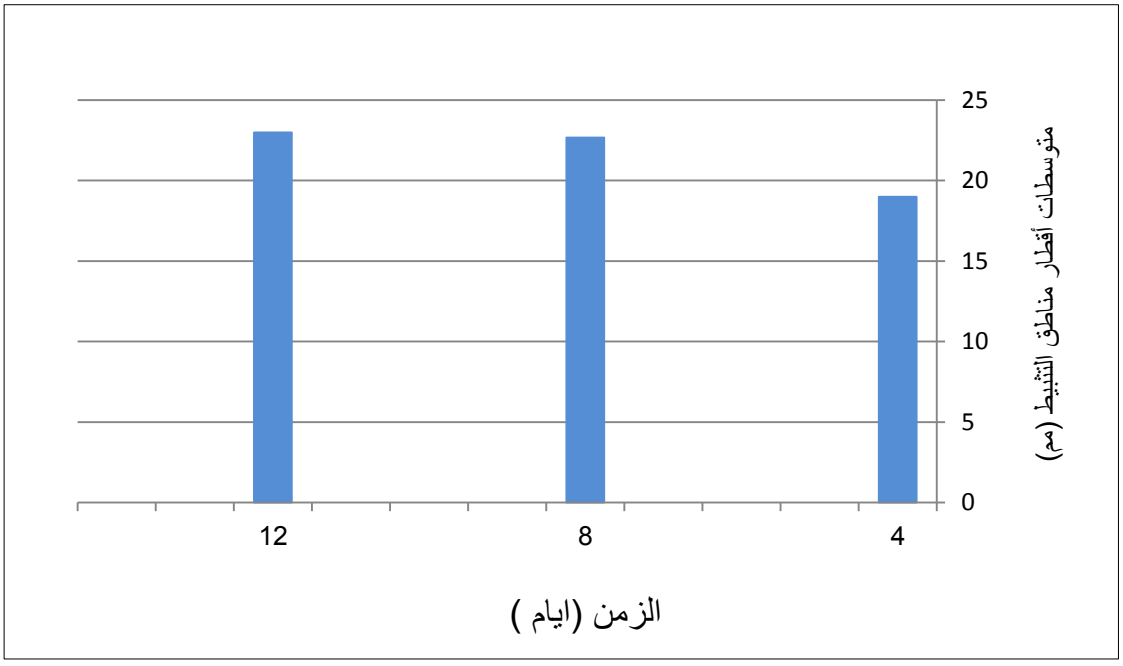
شكل 33. تأثير زمن الاستخلاص وتركيز 50 ميكروليتر لمستخلصات البترواليوم إيثر لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *S. aureus*



شكل 34. تأثير زمن الاستخلاص وتركيز 100 ميكروليتر لمستخلصات البترواليوم إيثر لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *S. aureus*



شكل 35. تأثير زمن الاستخلاص وتركيز 150 ميكروليتر لمستخلصات البتروليوم إيثر لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *S. aureus*



شكل 36. تأثير زمن الاستخلاص وتركيز 200 ميكروليتر لمستخلصات البتروليوم إيثر لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *S. aureus* .

تأثير زمن الاستخلاص وتركيز مستخلصات الأيثيل اسيتيت لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *S. aureus*

سجلت تأثيرات 4 أيام (شكل 37.أ) من زمن استخلاص المواد الفعالة الذائبة في الأيثيل اسيتيت على نمو البكتيريا *S. aureus* بالتركيزات المختلفة (50 -100 -150 -200 ميكرولتر) لهذه المواد المستخلصة تراوحت نتائجها ما بين 6.5 و 12 مم عند التركيزات ما بين 50 و200 ميكرولتر.

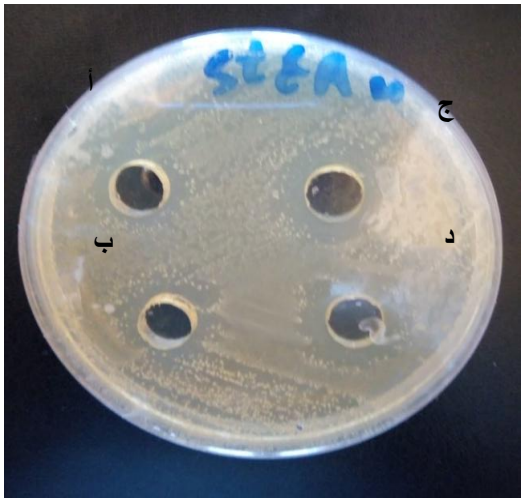
ولقد تبين وجود زيادة في متوسط أقطار منطقة التثبيط خلال 8 أيام (شكل 37.ب) من زمن الاستخلاص و ذلك بزيادة ذوبان المواد الفعالة المذابة و تراوح متوسط أقطار منطقة التثبيط ما بين 9.5 مم باستخدام 50 ميكرولتر و 15.6 مم باستخدام 200 ميكرولتر، أما زيادة فترة استخلاص المواد الفعالة لمدة 12 يوم (شكل 37.ج) فكان متوسط أقطار منطقة التثبيط 15 مم باستخدام التركيز 50 ميكرولتر و 18.6 مم باستخدام التركيز 200 ميكرولتر، مما يدل على استمر ذوبان المواد الفعالة حتي فتره 12 يوما وربما يحتاج إلى زيادة مدة زمن الاستخلاص التي كانت كافية للمذيبات الأخرى (جدول 7وشكل 38 و39 و40 و 41).

اظهرت نتائج التحليل الاحصائي انه يوجد فروق معنوية بين تأثير الزمن الاستخلاص المواد الفعالة لكحول الايثيل اسيتيت على نمو البكتيريا *S. aureus* حيث كان فروق معنوية واضحة ما بين فترة زمنية 4 أيام (9.7 مم) و 8 أيام (12.5 مم) و12 يوما (9. 16 مم) على التوالي عند مستوي معنوية $P < 0.05$ ، وايضا يوجد فروق المعنوية عالية بين التراكيز المختلفة حيث كان منطقيا الفروق المعنوية عالية لتركيز200 ميكرولتر(15.3 مم) ثم التركيز 150 ميكرولتر(14مم) ثم التركيز 100 ميكرولتر (12.5 مم)ثم التركيز 50 ميكرولتر (10.4 مم) على التوالي عند مستوي معنوية $P < 0.05$.

جدول (7). تأثير الزمن و تركيز المستخلص ايثيل اسيتيت (Ethyl acetate) لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا S.aureus

التركيز (ميكرولتر) / الزمن (الايام)	50	100	150	200	المتوسط
4	منطقة انعدام النمو (mm)				
	6.50 ± 0.548 *	9.50 ± 0.548 *	11.00 ± 0.000 **	12.00 ± 0.000 **	9.75
8	9.50 ± 0.548 *	11.67 ± 0.516 *	13.50 ± 0.548 *	15.50 ± 0.548 *	12.54
12	15.33 ± 0.516 *	16.50 ± 0.548 *	17.50 ± 0.548 *	18.50 ± 0.548 *	16.96
المتوسط	10.44	12.55	14.00	15.33	

متوسطات أقطارمناطق التثبيط بالميلمتر(6 تكرارات على اقل) ,* = معنوية عالية عند $P < 0.05$, ** = معنوية عالية عند $P < 0.01$, ± = الانحراف المعياري .

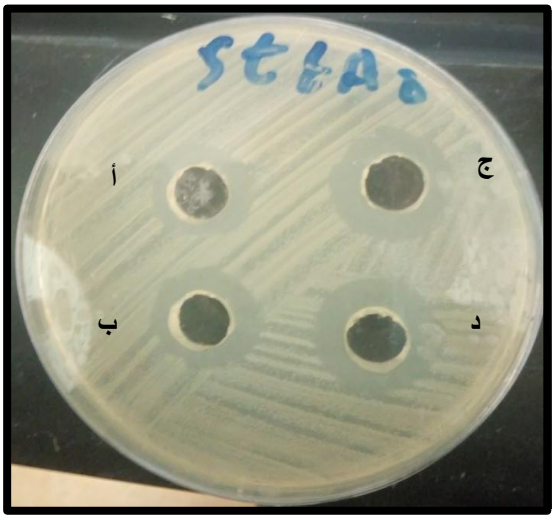


شكل 37. أ. تأثير مستخلص الايثيل اسيتيت لطحلب *Cladophora vadorum* لمدة 4 أيام على نمو البكتيريا S.aureus.تركيز المستخلص (أ) 50 ميكرولتر

(ب) 100 ميكرولتر

(ج) 150 ميكرولتر

(د) 200 ميكرولتر



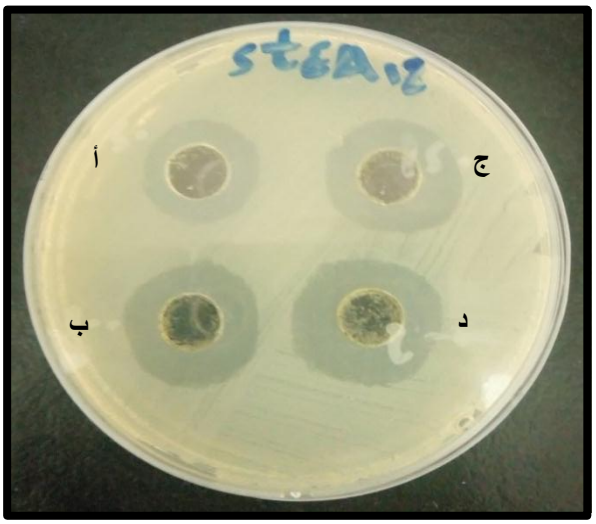
شكل 37. ب. تأثير مستخلص الايثيل اسيتيت لطحلب *Cladophora vadorum* لمدة 8 أيام على نمو البكتيريا S.aureus .

تركيز المستخلص (أ) 50 ميكرولتر

(ب) 100 ميكرولتر

(ج) 150 ميكرولتر

(د) 200 ميكرولتر

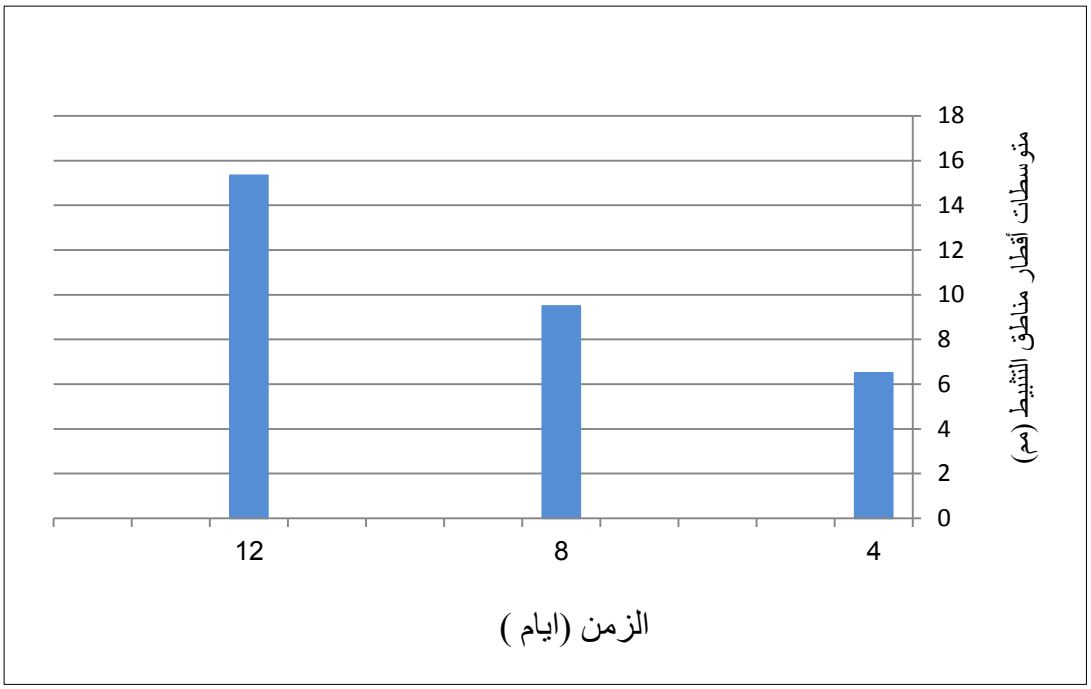


شكل 37. ج. تأثير مستخلص الايثيل اسيتيت لطحلب *Cladophora vadorum* لمدة 12 يوم على نمو البكتيريا S.aureus .ركيز المستخلص (أ) 50 ميكرولتر

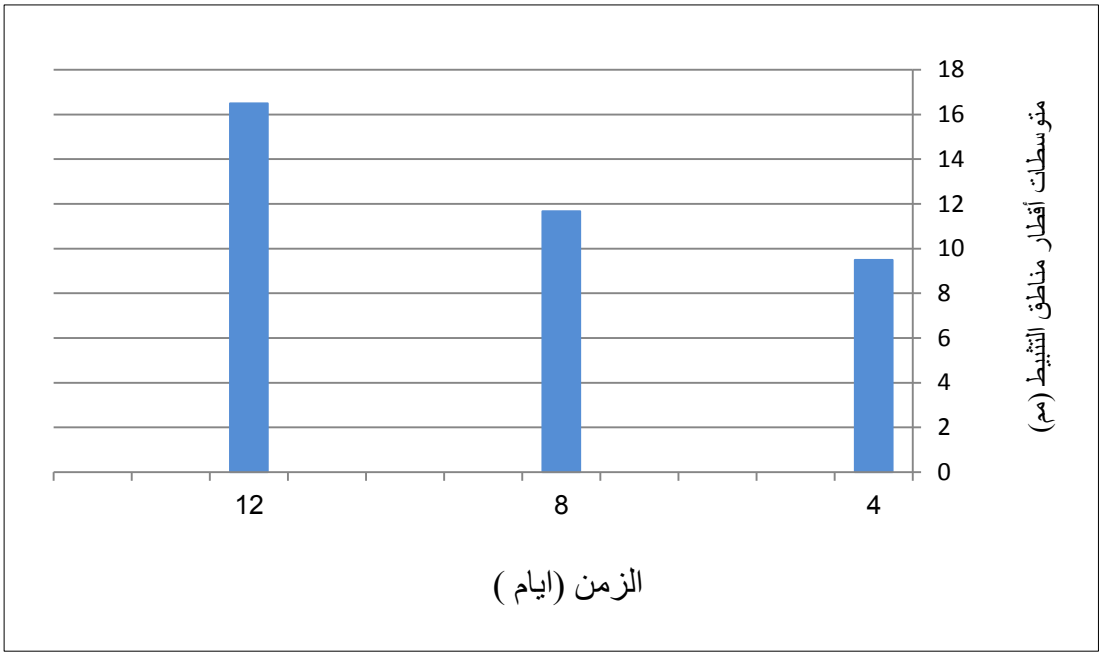
(ب) 100 ميكرولتر

(ج) 150 ميكرولتر

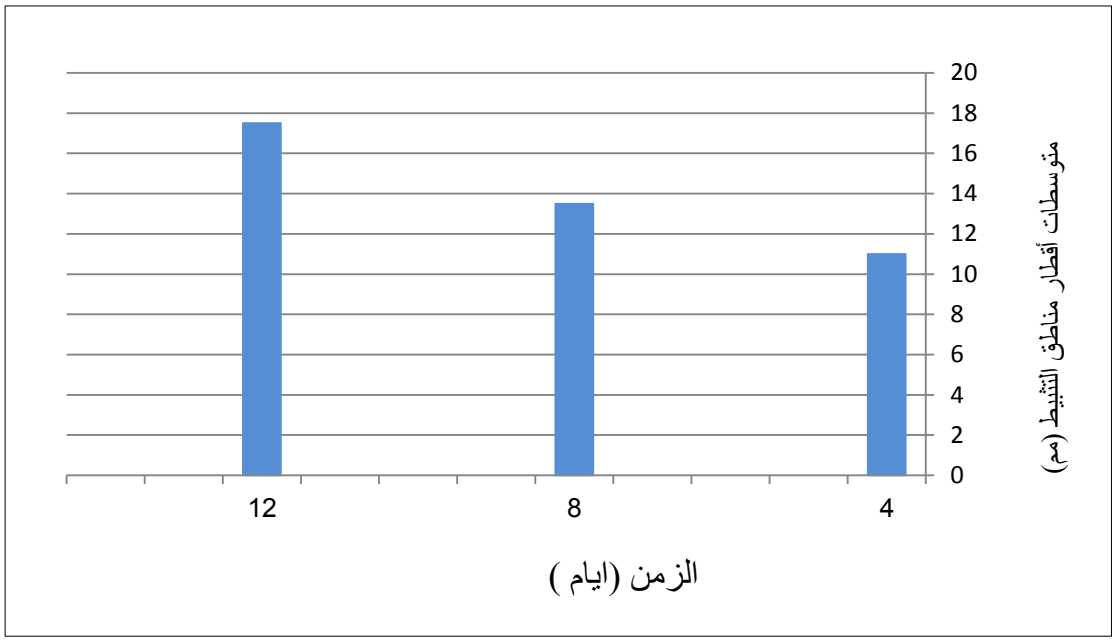
(د) 200 ميكرولتر



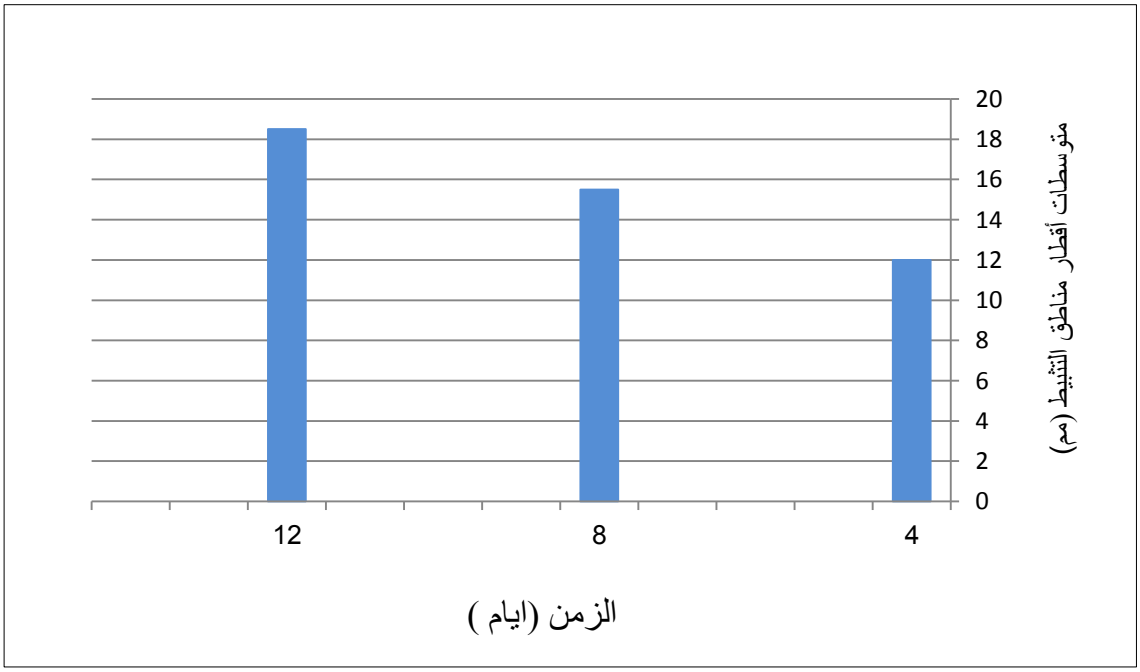
شكل 38. تأثير زمن الاستخلاص وتركيز 50 ميكروليتر لمستخلصات الأيثيل اسيتيت لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *S. aureus*



شكل 39. تأثير زمن الاستخلاص وتركيز 100 ميكروليتر لمستخلصات الأيثيل اسيتيت لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *S. aureus*



شكل 40. تأثير زمن الاستخلاص وتركيز 150 ميكروليتر لمستخلصات الأيثيل اسيتيت لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *S. aureus*



شكل 41. تأثير زمن الاستخلاص وتركيز 200ميكروليتر لمستخلصات الأيثيل اسيتيت لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *S. aureus*

تأثير زمن الاستخلاص وتركيز مستخلصات الميثانول لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *E.coli*

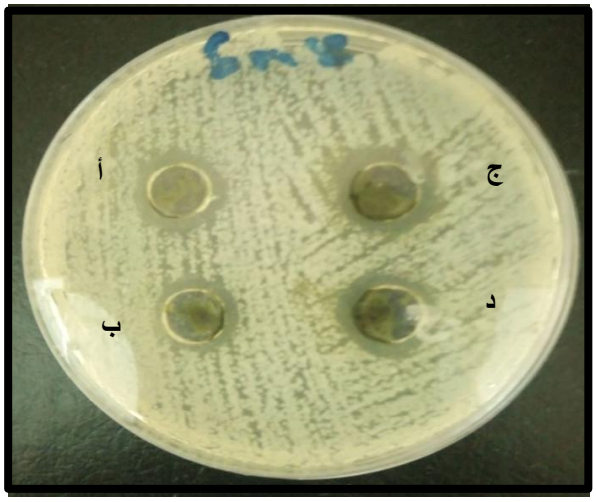
تأثير زمن الاستخلاص (4–12 يوم) للمواد الفعالة المذابة في الميثانول على نمو البكتيريا *E.coli* وكذلك استخدام التركيزات المختلفة (50 – 100 – 150 – 200 ميكرولتر) لهذه المواد المستخلصة (شكل 43 و44 و45 و 46) . حيث اتضح خلال 4 أيام من زمن الاستخلاص أنه لم يتم تسجيل أي تأثير مثبط للمواد الفعالة للتركيزات المختلفة المستخدمة على البكتيريا، بينما أعطت نتائج إيجابية خلال 8 أيام (شكل 42.أ) من هذا الزمن حيث كان متوسط أقطار المنطقة التثبيط خلال هذه الفترة ما بين 7 و11.6 مم باستخدام تراكيزمختلفة ما بين 50 و 200 ميكرولتر حيث تبين من خلالها أن هذه الفترة كانت كافية لاستخلاص المواد الفعالة ، حيث كانت نتائج زمن الاستخلاص لمدة 12 يوم (شكل 42.ب) متقاربة جدا مع 8 أيام من زمن الاستخلاص مما يثبت أن فترة 8 أيام هى الفترة الكافية لذوبان المواد الفعالة للطحلب (جدول 8).

اوضحت نتائج التحليل الاحصائي انه يوجد فروق معنوية بين تأثير الزمن الاستخلاص المواد الفعالة لكحول الميثانول على نمو البكتيريا *E.coli* حيث كان فروق معنوية واضحة ما بين فترة زمنية 4 أيام (0 مم) و 8 أيام (9.5 مم) و12 يوما (9.6 مم) على التوالي عند مستوي معنوية $P < 0.05$ ، وايضا يوجد فروق المعنوية عالية بين التراكيز المختلفة حيث كان منطقيا الفروق المعنوية عالية لتركيز200 ميكرولتر(7.8 مم) ثم التركيز 150 ميكرولتر(7 مم) ثم التركيز 100 ميكرولتر (6 مم) ثم التركيز 50 ميكرولتر (4.6 مم) على التوالي عند مستوي معنوية $P < 0.05$.

جدول (8). تأثير مستخلص الميثانول (Methenol) لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *E.coli*

التركيز (ميكرولتر) / الزمن (الايام)	50	100	150	200	المتوسط
4	منطقة انعدام النمو (mm)				
	0	0	0	0	0
8	7.00 ± 0.000 **	9.00 ± 0.000 **	10.50 ± 0.548 *	11.50 ± 0.548 *	9.5
12	7.00 ± 0.000 **	9.00 ± 0.000 **	10.50 ± 0.548 *	12.00 ± 0.000 **	9.6
المتوسط	4.6	6	7	7.8	

متوسطات أقطارمناطق التثبيط بالميلمتر(6 تكرارات على اقل) ,* = معنوية عالية عند $P < 0.05$, ** = معنوية عالية عند $P < 0.01$, ± = الانحراف المعياري .

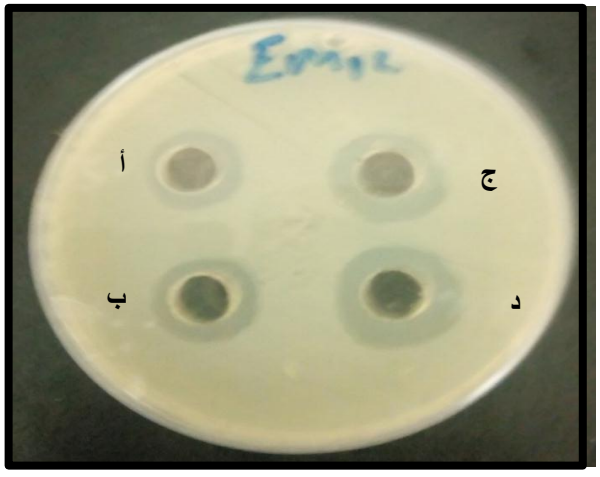


شكل 42. أ. تأثير مستخلص ميثانول لطحلب *Cladophora vadorum* لمدة 8 أيام على نمو البكتيريا *E.coli*.تركيز المستخلص (أ) 50 ميكرولتر

(ب) 100 ميكرولتر

(ج) 150 ميكرولتر

(د) 200 ميكرولتر

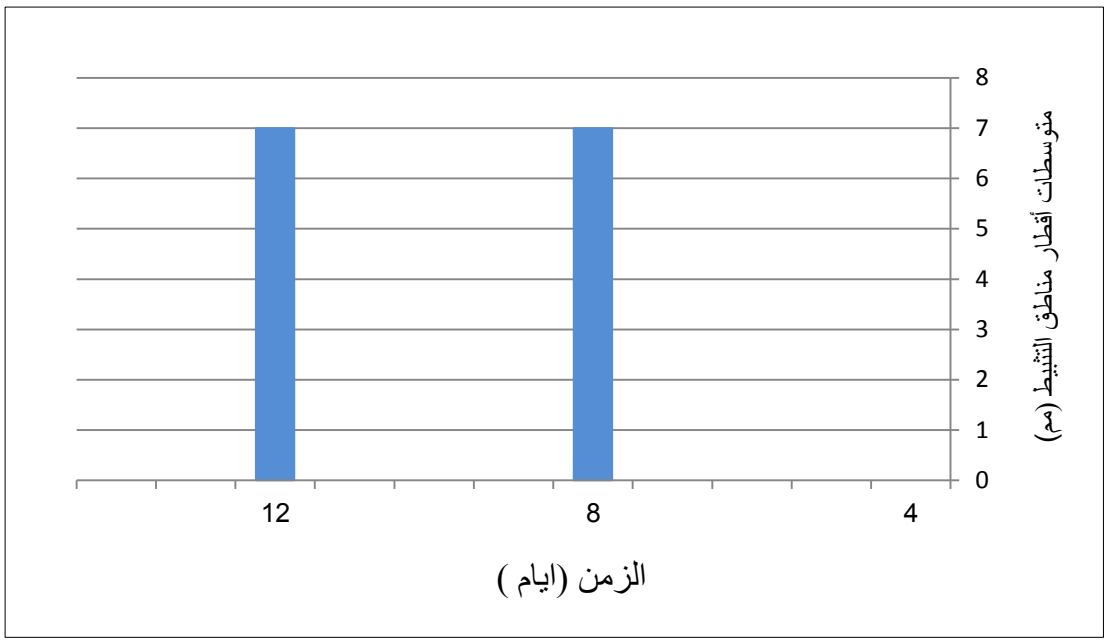


شكل 42. ب. تأثير مستخلص ميثانول لطحلب *Cladophora vadorum* لمدة 12 يوم على نمو البكتيريا *E.coli* . تركيز المستخلص (أ) 50 ميكرولتر

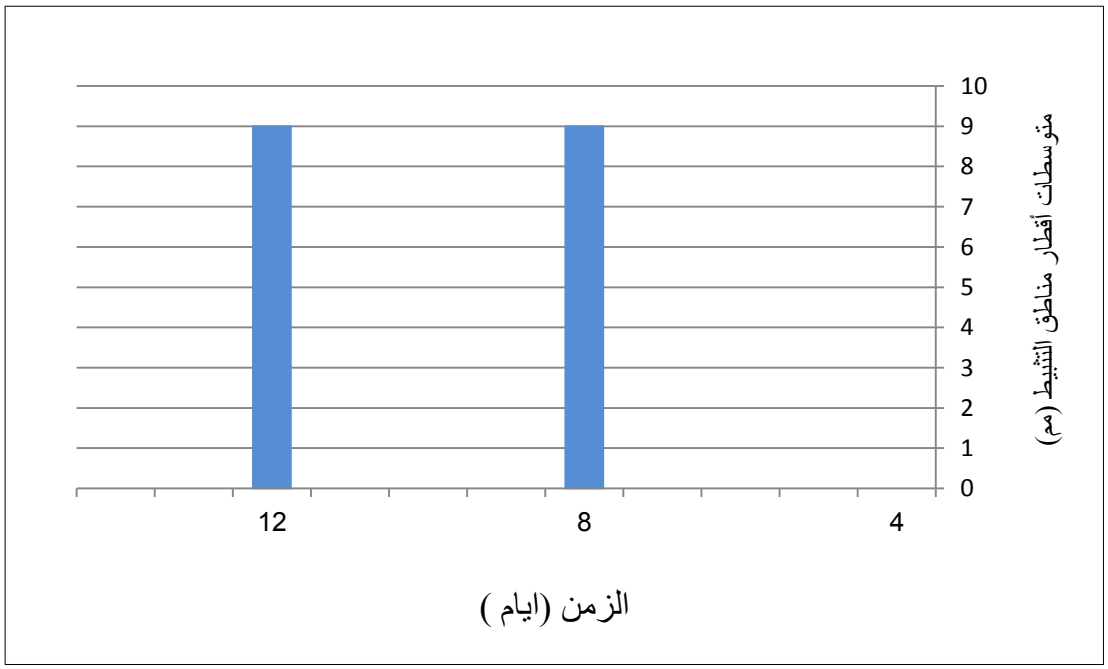
(ب) 100 ميكرولتر

(ج) 150 ميكرولتر

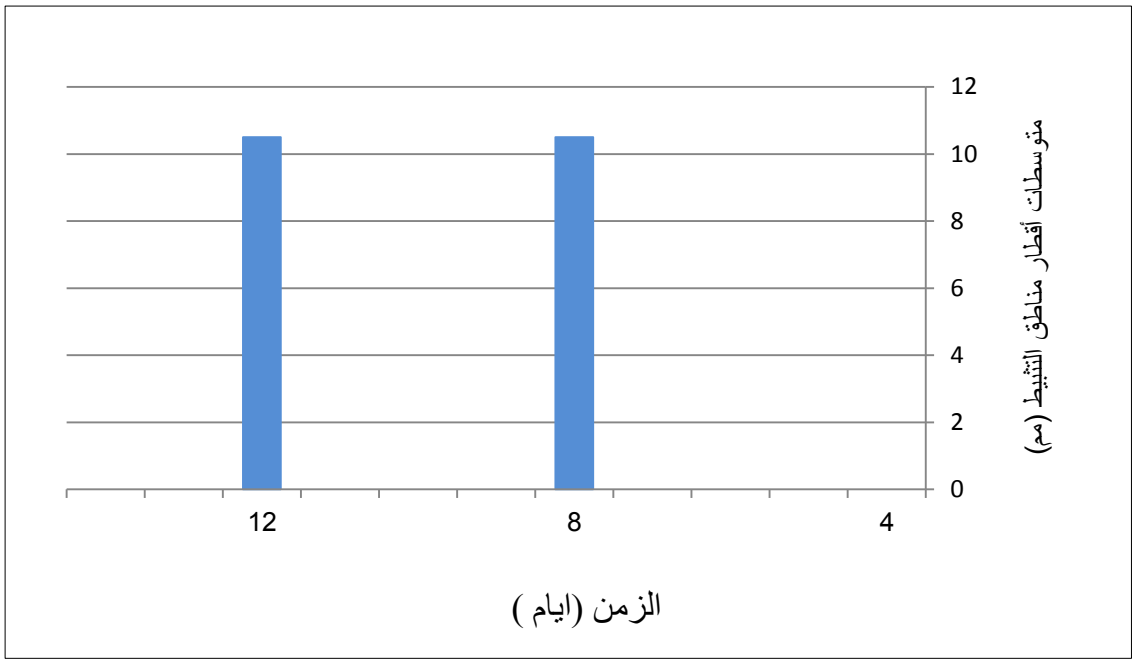
(د) 200 ميكرولتر



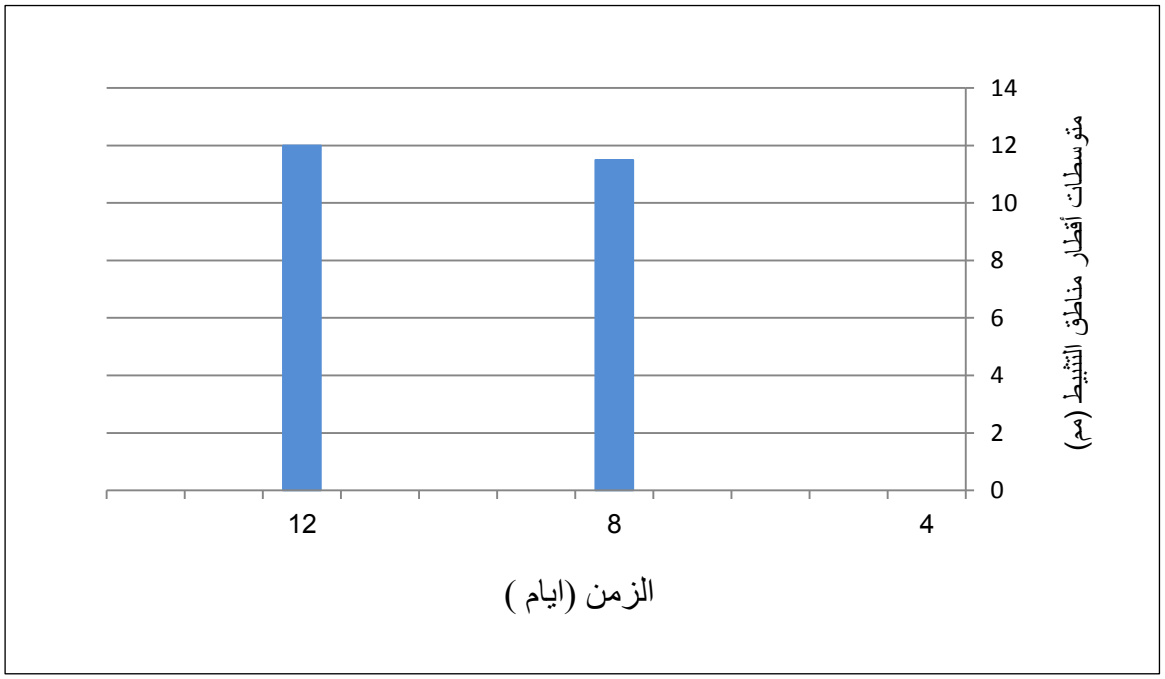
شكل 43. تأثير زمن الاستخلاص وتركيز 50 ميكرولتر لمستخلصات الميثانول لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *E.coli*



شكل 44. تأثير زمن الاستخلاص وتركيز 100 ميكرولتر لمستخلصات الميثانول لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *E.coli*



شكل 45. تأثير زمن الاستخلاص وتركيز 150 ميكرولتر لمستخلصات الميثانول لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *E.coli*



شكل 46. تأثير زمن الاستخلاص وتركيز 200 ميكروليتر لمستخلصات الميثانول لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *E.coli*

تأثير زمن الاستخلاص وتركيز مستخلصات البتروليوم إيثر لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *E.coli*

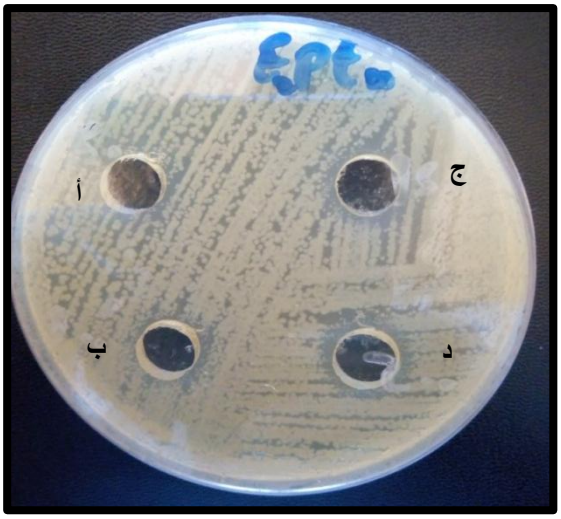
تشير نتائج جدول 9 إلى أن تأثير زمن استخلاص المواد الفعالة المذابة في بتروليوم إيثر على نمو البكتيريا *E.coli* وكذلك تأثير التركيزات المختلفة (50 – 100 – 150 – 200 ميكرولتر) لهذه المواد المستخلصة من خلال 4 أيام (شكل 47.أ) من زمن التركيز 50 ميكرولتر لم يؤثر على نمو البكتيريا، بينما بلغ تأثير 200 ميكرولتر 6 مم وبزيادة زمن الاستخلاص 8 أيام (شكل .ب) وجد أن متوسط أقطار منطقة التثبيط قد تتراوح ما بين 10.5 مم و 17 مم باستخدام التركيز50 و 200 ميكرولتر، أما بعد 12 يوم (شكل47.ج) من زمن الاستخلاص فقد بلغ متوسط أقطار منطقة التثبيط 12 مم عند التركيز 50 ميكرولتر و 17.5 مم عند التركيز 200 ميكرولتر (شكل 48 و 49 و50 و51).

بينت نتائج التحليل الاحصائي انه يوجد فروق معنوية بين تأثير الزمن الاستخلاص المواد الفعالة البتروليوم إيثر على نمو البكتيريا *E.coli* حيث كان فروق واضحة ما بين فترة زمنية 4 أيام (4.1 مم) و 8 أيام (13.8 مم) و12 يوما (14.8 مم) على التوالي عند مستوي معنوية $P < 0.05$ ، وايضا يوجد فروق المعنوية عالية بين التراكيز المختلفة حيث كان منطقيا الفروق المعنوية عالية لتركيز200 ميكرولتر(13.5 مم) ثم التركيز 150 ميكرولتر(11.6 مم) ثم التركيز 100 ميكرولتر (9.7 مم)ثم التركيز 50 ميكرولتر (7.5 مم) على التوالي عند مستوي معنوية $P < 0.05$.

جدول (9). تأثير مستخلص البتروليوم إيثر (Petroleum Ether) لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *E.coli*

التركيز (ميكرولتر) / الزمن (الايام)	50	100	150	200	المتوسط
4	منطقة انعدام النمو(mm)				
	0	2.33 ± 0.516 *	4.00 ± 0.000 **	6.00 ± 0.000 **	4.1
8	10.50 ± 0.548 *	13.00 ± 0.000 **	15.00 ± 0.000 **	17.00 ± 0.000 **	13.8
12	12.00 ± 0.000 **	14.00 ± 0.000 **	16.00 ± 0.000 **	17.50 ± 0.548 *	14.8
المتوسط	7.5	9.7	11.6	13.5	

متوسطات أقطارمناطق التثبيط بالميلمتر(6 تكرارات على اقل) ,* = معنوية عالية عند $P < 0.05$,** = معنوية عالية عند $P < 0.01$, ± = الانحراف المعياري .

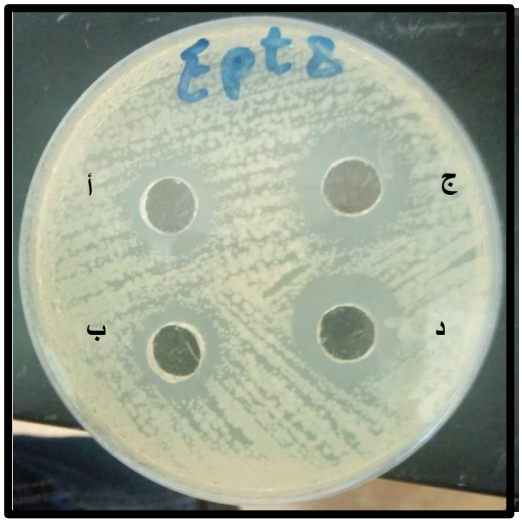


شكل 47.أ. تأثير مستخلص بترواليوم إيثر لطحلب *Cladophora vadorum* لمدة 4 ايام على نمو البكتيريا *E.coli* . تركيز المستخلص (أ) 50 ميكرولتر

(ب) 100 ميكرولتر

(ج) 150 ميكرولتر

(د) 200 ميكرولتر

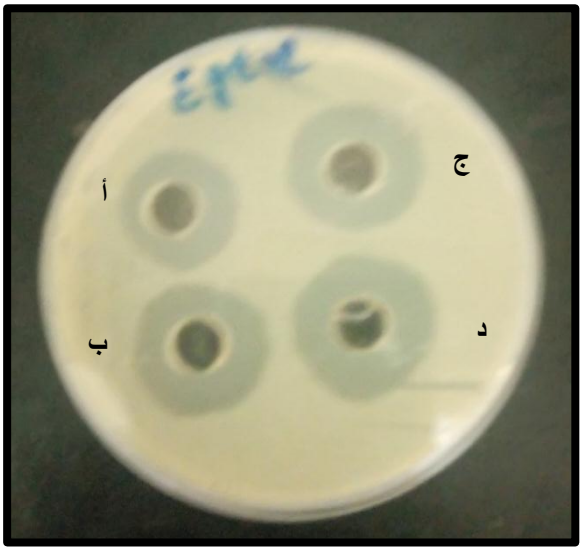


شكل 47. ب. تأثير مستخلص بترواليوم إيثر لطحلب *Cladophora vadorum* لمدة 8 ايام على نمو البكتيريا *E.coli* . تركيز المستخلص (أ) 50 ميكرولتر

(ب) 100 ميكرولتر

(ج) 150 ميكرولتر

(د) 200 ميكرولتر

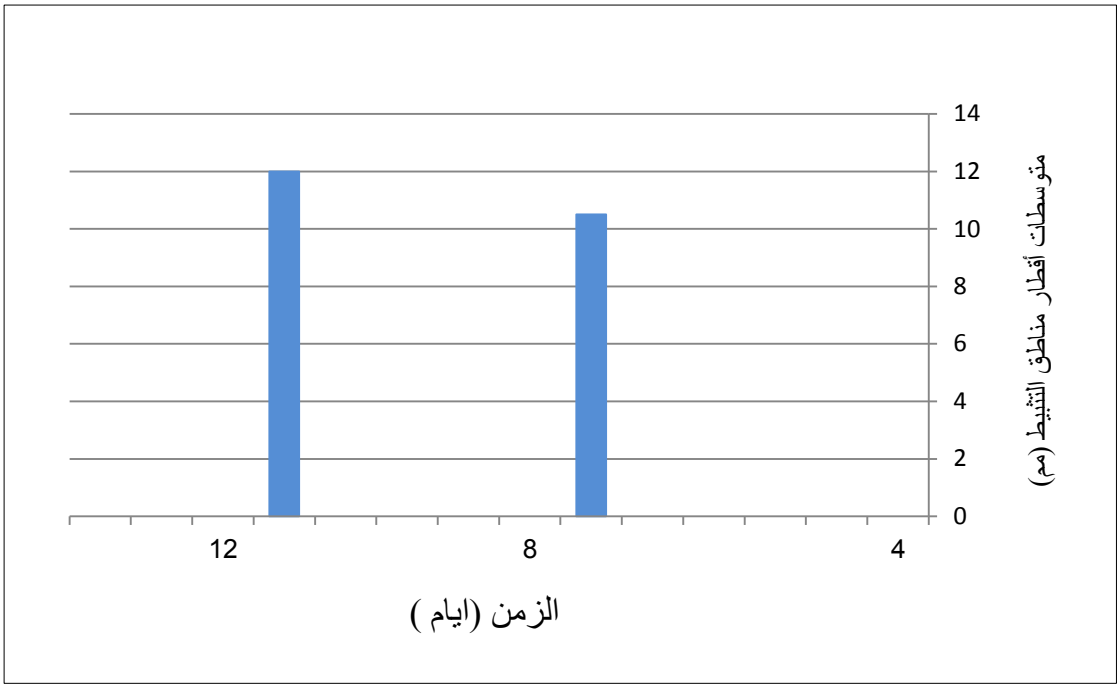


شكل 47. تأثير مستخلص بتروليوم إيثر لطحلب *Cladophora vadorum* لمدة 12 يوم على نمو البكتيريا *E.coli* تركيز المستخلص (أ) 50 ميكرولتر

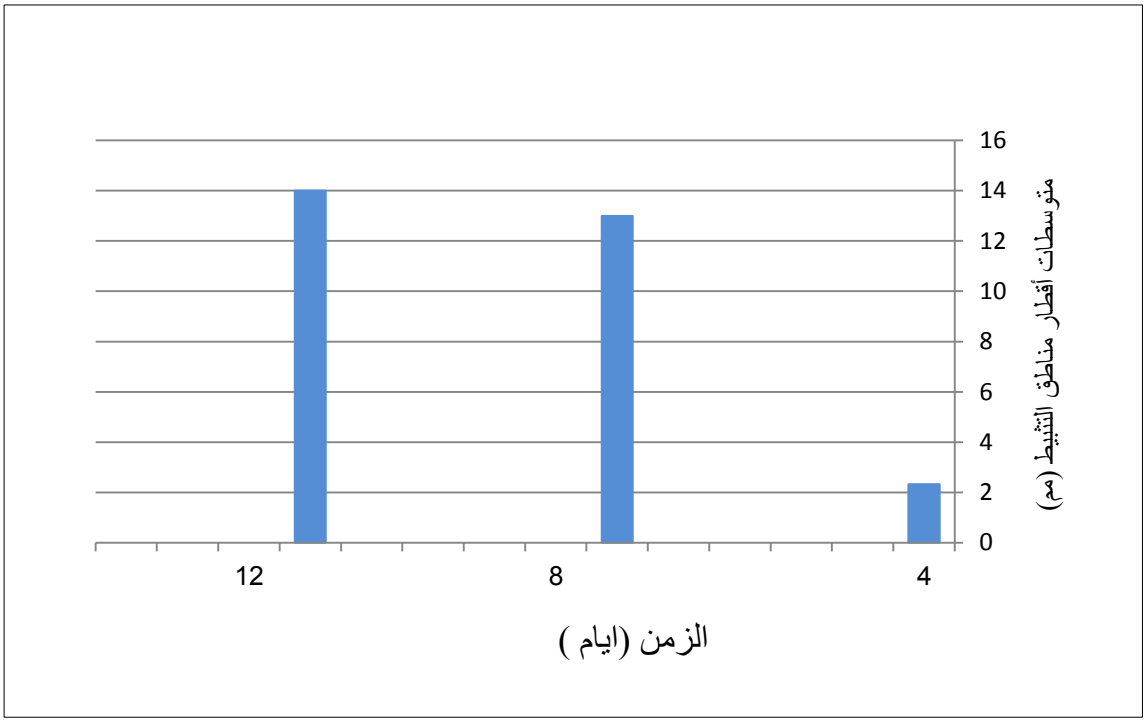
(ب) 100 ميكرولتر

(ج) 150 ميكرولتر

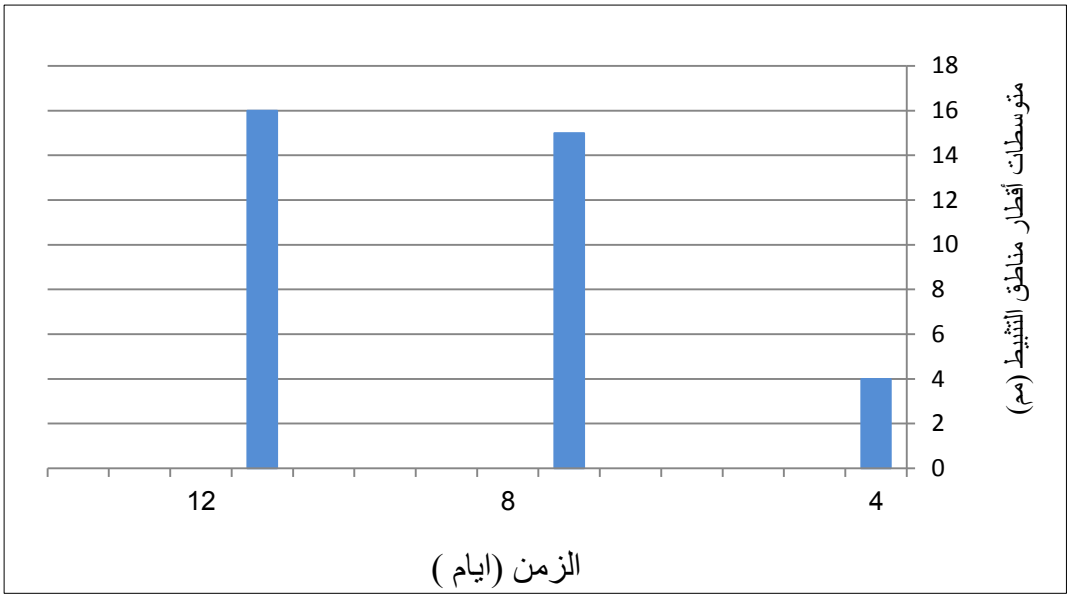
(د) 200 ميكرولتر



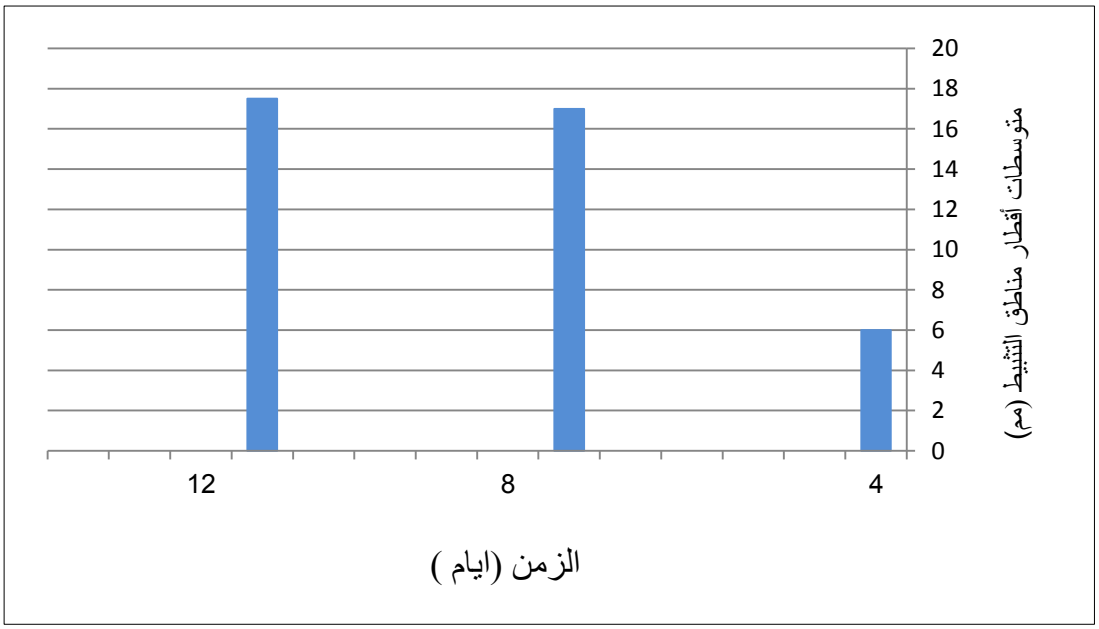
شكل 48. تأثير زمن الاستخلاص وتركيز 50 ميكروليتر لمستخلصات بترولیوم إيثر لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *E.coli*



شكل 49. تأثير زمن الاستخلاص وتركيز 100 ميكروليتر لمستخلصات بترولیوم إيثر لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *E.coli*



شكل 50. تأثير زمن الاستخلاص وتركيز 150 ميكروليتر لمستخلصات بترولیوم إيثر لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *E.coli*



شكل 51. تأثير زمن الاستخلاص وتركيز 200 ميكروليتر لمستخلصات بترولیوم إيثر لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *E.coli*

تأثير زمن الاستخلاص وتركيز مستخلصات البتروليوم إيثر لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *K.pneumonia*

تبين نتائج جدول 10 ان تأثير زمن استخلاص (4 –12 يوم) المواد الفعالة الذائبة في بترولیوم إيثر على نمو البكتيريا *K.pneumonia* وكذلك تأثير التركيزات المختلفة (50 – 100 – 150 – 200 ميكرولتر) لهذه المواد المستخلصة، لم تظهر فترة 4 أيام أي تأثير للتراكيز المختلفة ضد نمو البكتيريا

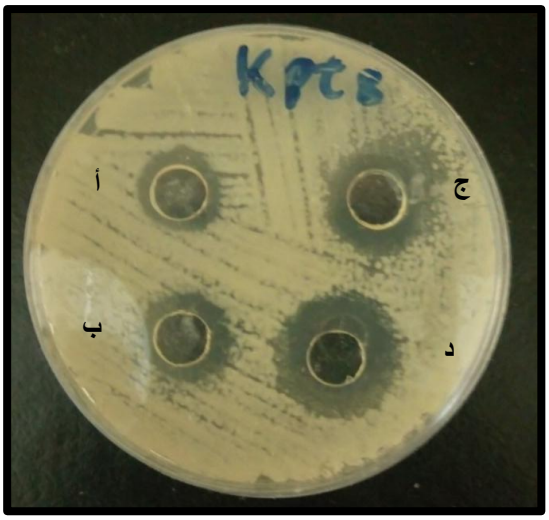
بينما أظهرت فترة 8 أيام (شكل 52.أ) من زمن الاستخلاص تأثيرا مثبطا للتراكيز المختلفة ضد نمو البكتيريا حيث بلغ متوسط أقطار منطقة التثبيط ما بين 8 مم باستخدام 50 ميكرولتر و 15.50 مم باستخدام التركيز 200 ميكرولتر واستمر تأثير زمن الاستخلاص لفترة 12 يوما (شكل 52.ب) لظهور زيادة في متوسط أقطار منطقة التثبيط مع زيادة مدة زمن استخلاص المواد الفعالة و تراوحت ما بين 9 مم باستخدام التركيز 50 ميكرولتر و16مم باستخدام التركيز 200 ميكرولتر (شكل 53 و54 و55 و56) .

اظهرت نتائج التحليل الاحصائي انه يوجد فروق معنوية بين تأثير الزمن الاستخلاص المواد الفعالة البتروليوم إيثر على نمو البكتيريا *K.pneumonia* حيث كان فروق معنوية واضحة ما بين فترة زمنية 4 أيام (0 مم) و 8 أيام (9.1 مم) و12 يوما (12.5 مم) على التوالي عند مستوي معنوية $P < 0.05$ ، وايضا يوجد فروق المعنوية عالية بين التراكيز المختلفة حيث كان منطقيا الفروق المعنوية عالية لتركيز200 ميكرولتر(10.5.6 مم) ثم التركيز 150 ميكرولتر(8.5 مم) ثم التركيز 100 ميكرولتر (6.7 مم)ثم التركيز 50 ميكرولتر (3 مم) على التوالي عند مستوي معنوية $P < 0.05$.

جدول (10). تأثير مستخلص البترولیوم إیثر(Petroleum Ether) لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *K.pneumonia*

التركيز (ميكرولتر) / الزمن (الايام)	50	100	150	200	المتوسط
4	منطقة انعدام النمو(mm)				
	0	0	0	0	0
8	8.00 ± 0.000 **	9.33 ± 0.516 *	11.67 ± 0.516 *	15.50 ± 0.548 *	9.13
12	9.00 ± 0.000 **	11.00 ± 0.000 **	14.00 ± 0.000 **	16.00 ± 0.000 **	12.50
المتوسط	3.00	6.77	8.55	10.50	

متوسطات أقطارمناطق التثبيط بالميلمتر(6 تكرارات على اقل) ,* = معنوية عالية عند $P < 0.05$, ** = معنوية عالية عند $P < 0.01$, ± = الانحراف المعياري .

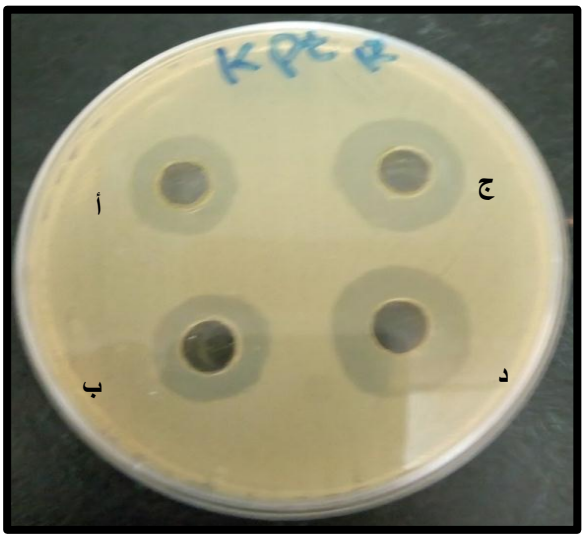


شكل 52.أ. تأثير مستخلص البتروليوم ايثر لطحلب *Cladophora vadorum* لمدة 8 أيام على نمو البكتيريا K.pneumonia . تركيز المستخلص (أ) 50 ميكرولتر

(ب) 100 ميكرولتر

(ج) 150 ميكرولتر

(د) 200 ميكرولتر

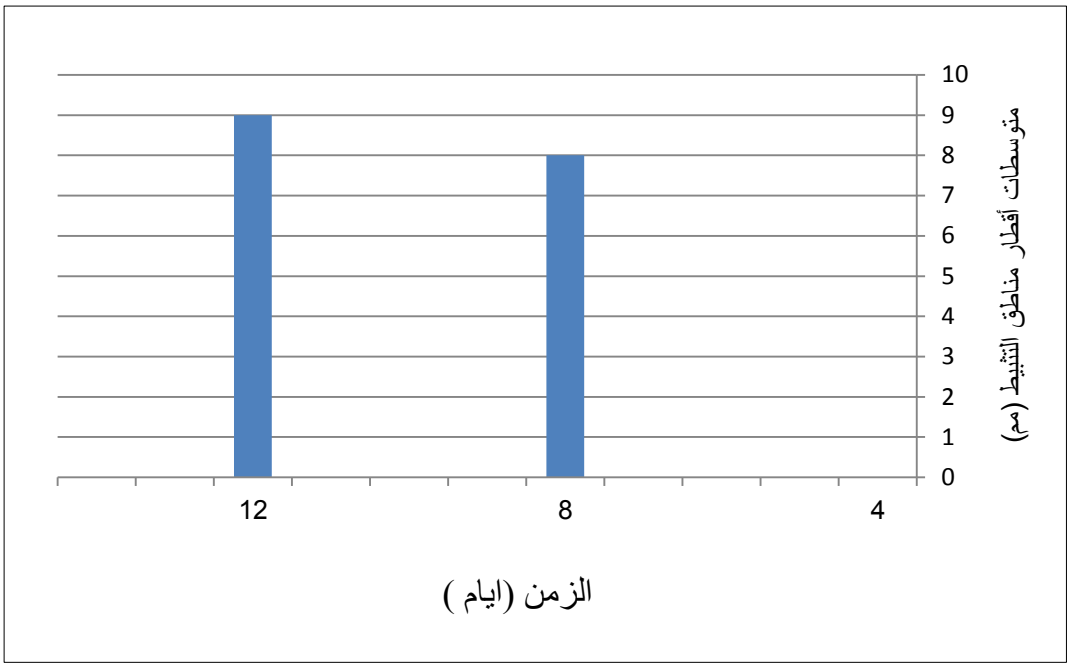


شكل 52. ب. تأثير مستخلص البتروليوم ايثر لطحلب *Cladophora vadorum* لمدة 12 يوم على نمو البكتيريا K.pneumonia .تركيز المستخلص (أ) 50 ميكرولتر

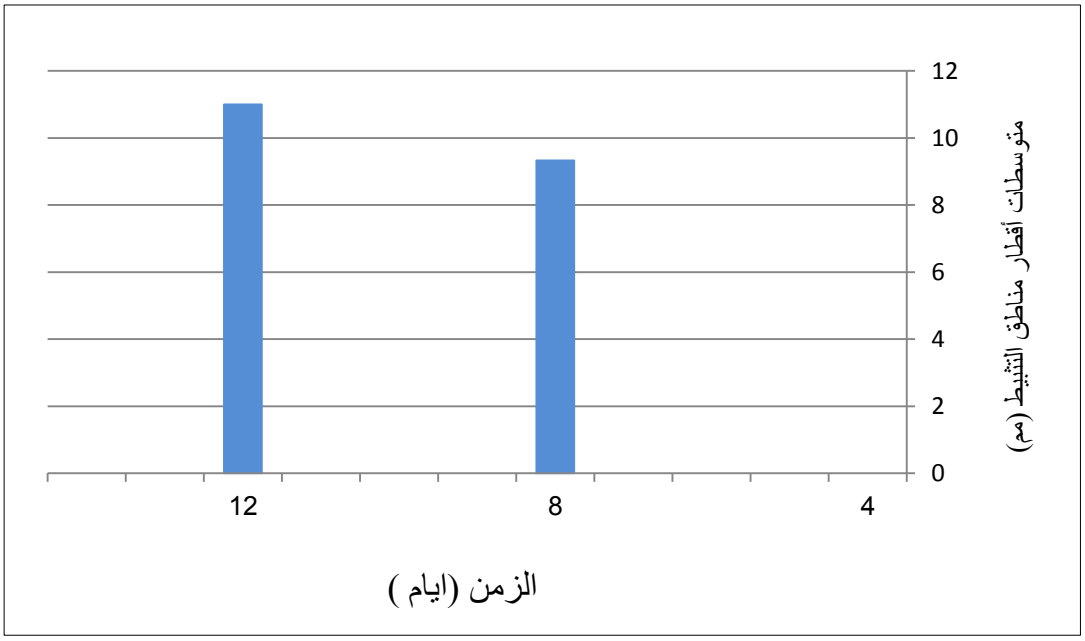
(ب) 100 ميكرولتر

(ج) 150 ميكرولتر

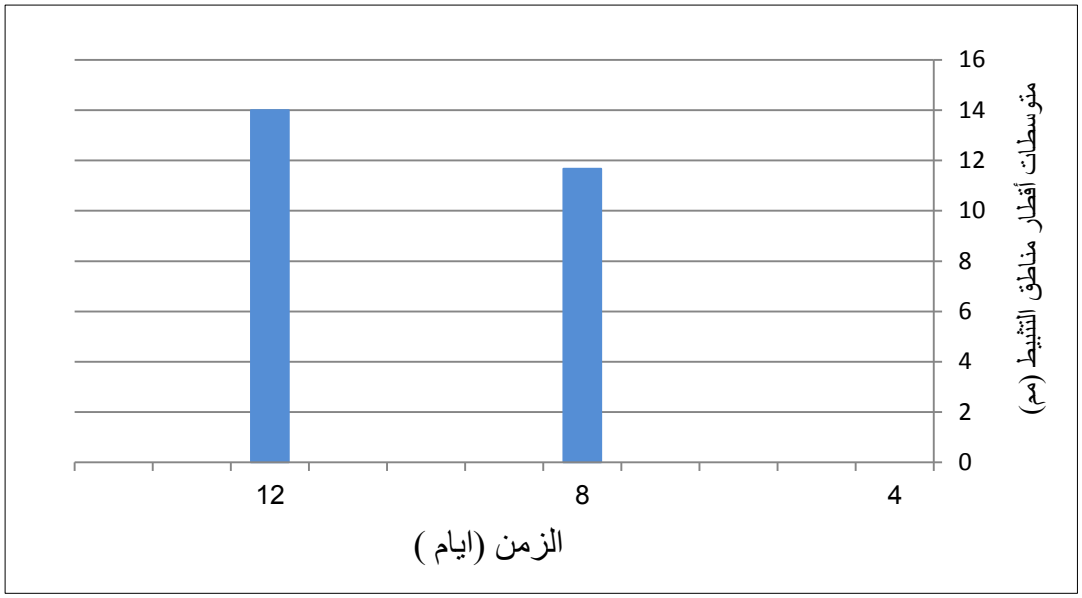
(د) 200 ميكرولتر



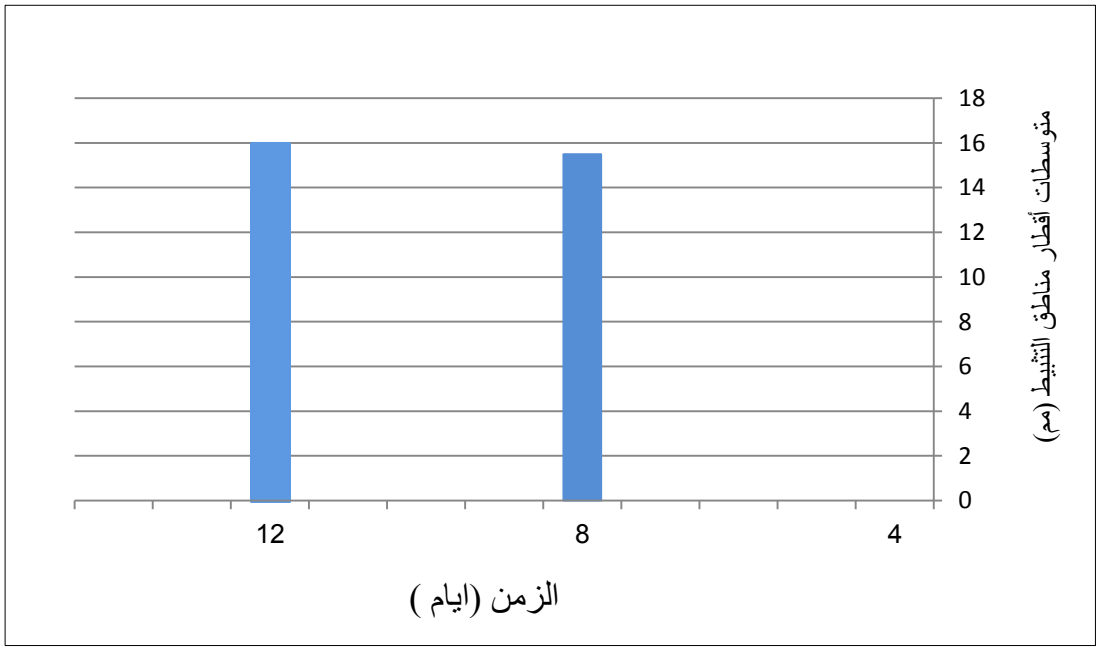
شكل 53. تأثير زمن الاستخلاص وتركيز 50 ميكروليتر لمستخلصات البترولیوم إيثر لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *K.pneumonia*



شكل 54. تأثير زمن الاستخلاص وتركيز 100 ميكروليتر لمستخلصات البترولیوم إيثر لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *K.pneumonia*



شكل 55. تأثير زمن الاستخلاص وتركيز 150 ميكروليتر لمستخلصات البترولیوم إيثر لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *K.pneumonia*



شكل 56. تأثير زمن الاستخلاص وتركيز 200 ميكروليتر لمستخلصات البترولیوم إيثر لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *K.pneumonia*

تأثير زمن الاستخلاص وتركيز مستخلصات كحول الإيثانول لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *P.aeruginosa*

يوضح جدول 11 تأثير زمن استخلاص المواد الفعالة الذائبة في الإيثانول على نمو البكتيريا *P.aeruginosa* وكذلك التركيزات المختلفة (50 – 100 – 150 – 200 ميكرولتر) لهذه المادة المستخلصة وبالنظر إلى هذا الجدول نجد أن تأثير التركيزات المختلفة خلال 4 أيام (شكل 57.أ) من زمن الاستخلاص لم يظهر أي تثبيط لنمو البكتيريا في التركيز 50 ميكرولتر بينما بلغ 5 مم عند التركيز 200 ميكرولتر، وقد تزايد قليلا في فترة 8 أيام (شكل 57.ب) من زمن الاستخلاص حيث ظهر تأثير مثبط على نمو البكتيريا مع إزدياد مدة الاستخلاص للمواد الفعالة وكان 8فترة أيام هو المدة الأفضل، وبلغ متوسط أقطار منطقة التثبيط 8 مم باستخدام 50 ميكرولتر و14 مم عند تركيز 200 ميكرولتر و مع إزدياد زمن الاستخلاص للمواد الفعالة المذابة في كحول الإيثانول إلى 12 يوما (شكل 57.ج) حيث بينت النتائج أن تأثير التركيز 50 ميكرولتر كان 12 مم بينما وصل تأثير تركيز 200 ميكرولتر من مستخلص كحول الإيثانول إلى 17.33 مم (شكل 58 و59 و60 و61) .

بينت نتائج التحليل الاحصائي انه يوجد فروق معنوية بين تأثير الزمن الاستخلاص المواد الفعالة كحول الإيثانول على نمو البكتيريا .*P.aeruginosa* حيث كان فروق معنوية واضحة ما بين فترة زمنية 4 أيام (1.7 مم) و 8 أيام (10.6 مم) و12 يوما (14.8 مم) على التوالي عند مستوي معنوية $P < 0.05$ ، وايضا يوجد فروق المعنوية عالية بين التراكيز المختلفة حيث كان منطقيا الفروق المعنوية عالية لتركيز200 ميكرولتر(12.1 مم) ثم التركيز 150 ميكرولتر(9.8 مم) ثم التركيز 100 ميكرولتر (7.6 مم) ثم التركيز 50 ميكرولتر (6.6 مم) على التوالي عند مستوي معنوية $P < 0.05$.

جدول (11). تأثير مستخلص الإيثانول (Ethanol) لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *P.aeruginosa*

التركيز (ميكرولتر) / الزمن (الأيام)	50	100	150	200	المتوسط
4	منطقة انعدام النمو(mm)				
	0.00 ± 0.000 **	0.00 ± 0.000 **	2.00 ± 0.000 **	5.00 ± 0.000 **	1.75
8	8.00 ± 0.000 **	9.00 ± 0.000 **	11.60 ± 0.516 *	14.00 ± 0.000 **	10.67
12	12.00 ± 0.000 **	14.00 ± 0.000 **	16.00 ± 0.000 **	17.33 ± 0.516 *	14.83
المتوسط	6.66	7.66	9.88	12.11	

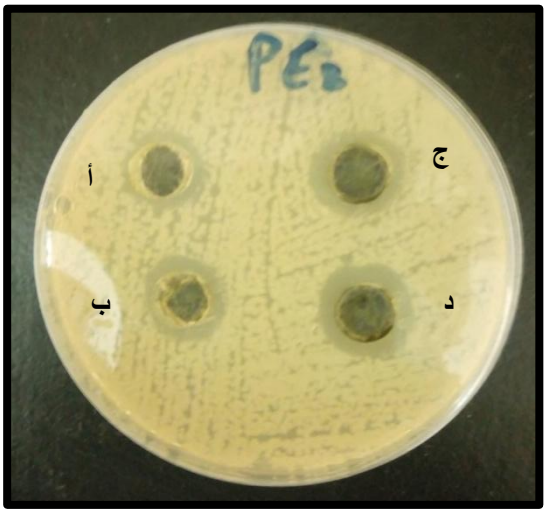
متوسطات أقطارمناطق التثبيط بالميلمتر(6 تكرارات على اقل) ,* = معنوية عالية عند $P < 0.05$, ** = معنوية عالية عند $P < 0.01$, ± = الانحراف المعياري

شكل 57 . أ. تأثير مستخلص الايثانول لطحلب *Cladophora vadorum* لمدة 4 أيام على نمو البكتيريا *P.aeryginosa* .تركيز المستخلص (أ) 50 ميكرولتر

(ب) 100 ميكرولتر

(ج) 150 ميكرولتر

(د) 200 ميكرولتر

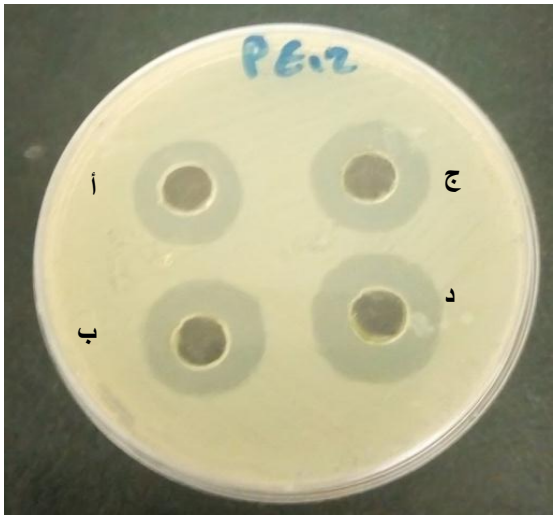


شكل 57. ب. تأثير مستخلص الايثانول لطحلب *Cladophora vadorum* لمدة 8 أيام على نمو البكتيريا *P.aeryginosa* . تركيز المستخلص (أ) 50 ميكرولتر

(ب) 100 ميكرولتر

(ج) 150 ميكرولتر

(د) 200 ميكرولتر

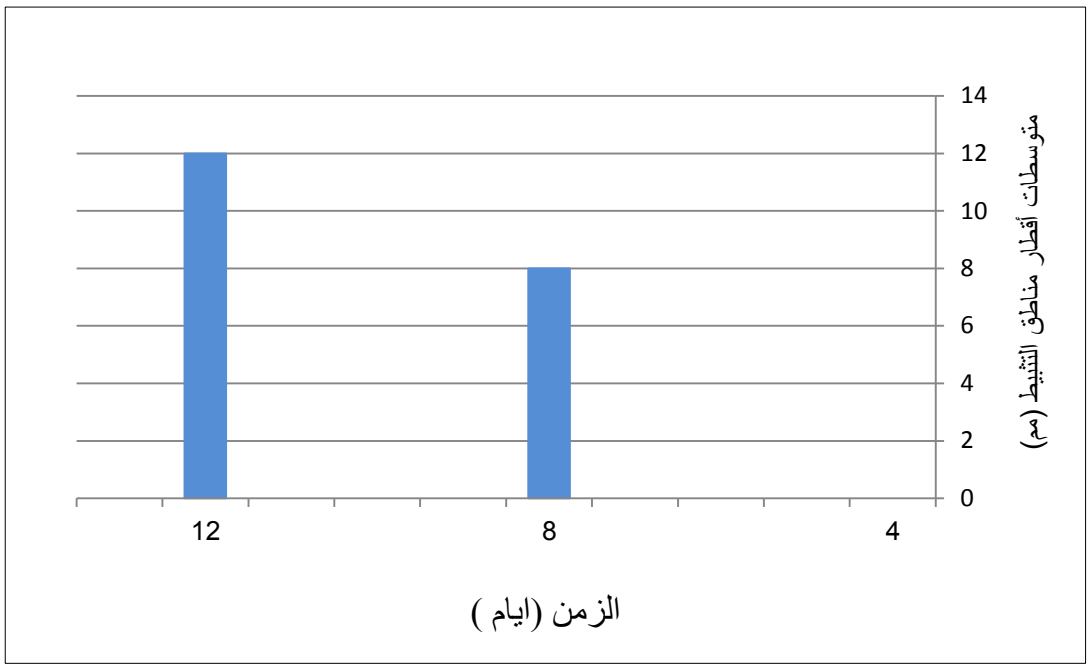


شكل 57. ج. تأثير مستخلص الايثانول لطحلب *Cladophora vadorum* لمدة 12 يوم على نمو البكتيريا *P.aeryginosa* .تركيز المستخلص (أ) 50 ميكرولتر

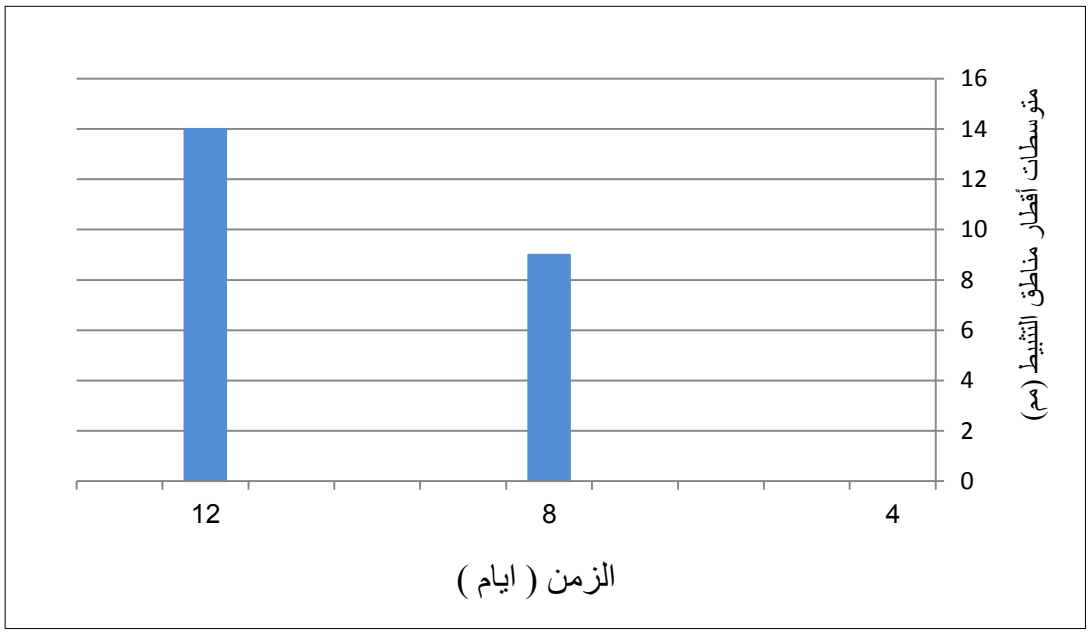
(ب) 100 ميكرولتر

(ج) 150 ميكرولتر

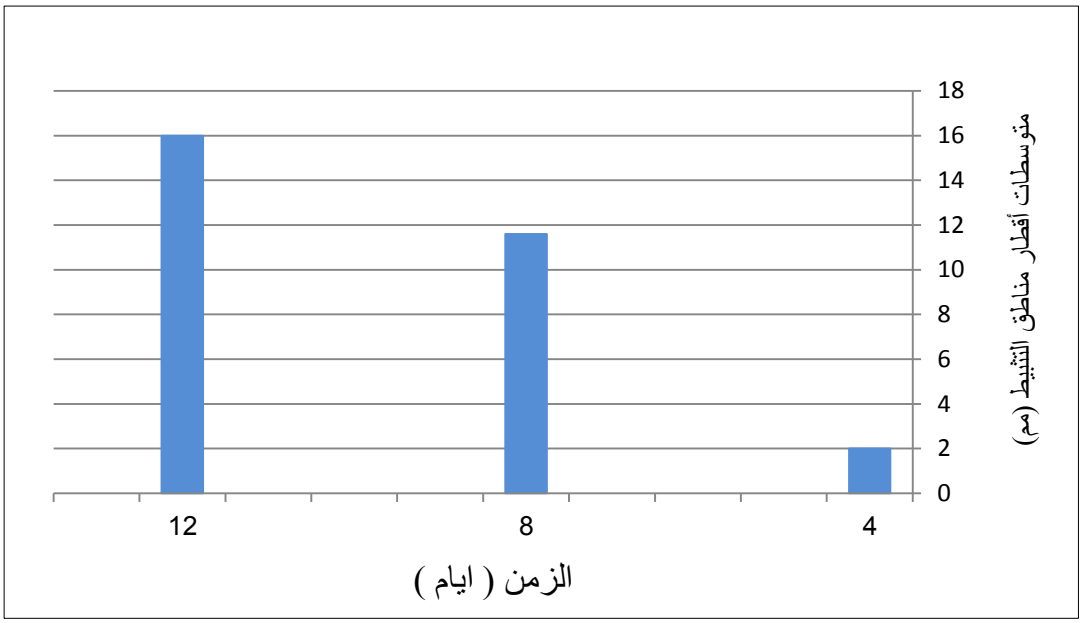
(د) 200 ميكرولتر



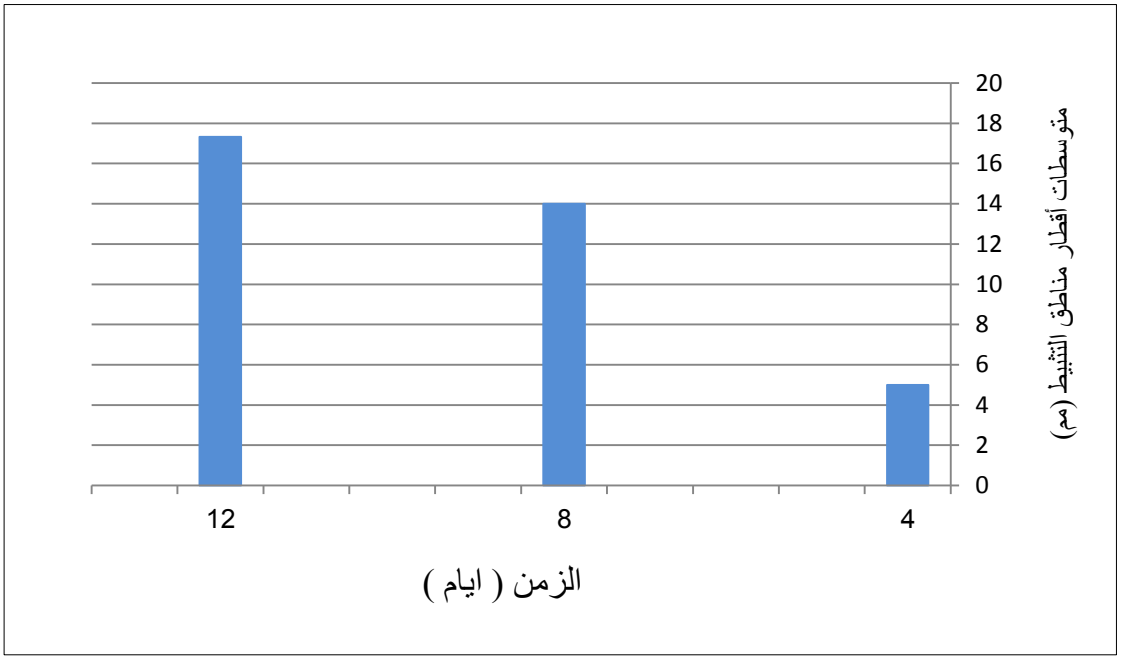
شكل 58. تأثير زمن الاستخلاص وتركيز 50 ميكروليتر لمستخلصات الإيثانول لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *P.aeruginosa*



شكل 59. تأثير زمن الاستخلاص وتركيز 100 ميكروليتر لمستخلصات الإيثانول لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *P.aeruginosa*



شكل 60. تأثير زمن الاستخلاص وتركيز 150 ميكرولتر لمستخلصات الإيثانول لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *P.aeruginosa*



شكل 61. تأثير زمن الاستخلاص وتركيز 200 ميكروليتر لمستخلصات الإيثانول لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *P.aeruginosa*

تأثير زمن الاستخلاص وتركيز مستخلصات البتروليوم إيثر لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *P.aeruginosa*

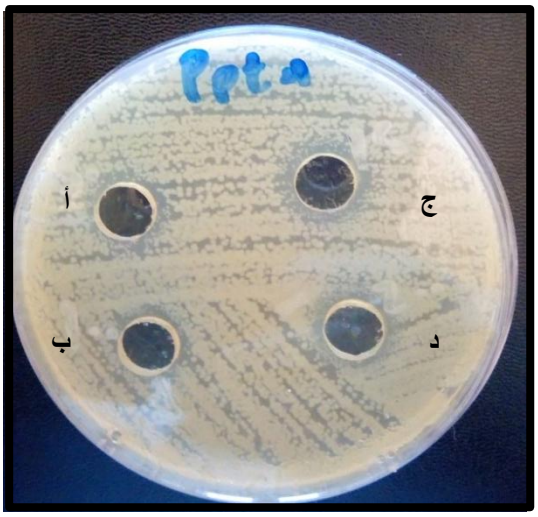
بالنظر الى الجدول 12 نجد أن تأثير زمن استخلاص المواد الفعالة المذابة في البتروليوم إيثر على نمو البكتيريا *P.aeruginosa* وكذلك التركيزات المختلفة (50 - 100 - 150 - 200 ميكروليتر) لهذه المستخلصات المستخدمة (شكل 63 و64 و65 و66)، حيث أظهرت فترة الاستخلاص الأولى (4 أيام .شكل 62.أ) تأثيرات إيجابية وبلغ متوسط أقطار منطقة التثبيط ما بين 3.5 مم عند التركيز 50 ميكروليتر و 8مم عند التركيز 200 ميكروليتر وقد سجلت زيادة في متوسط أقطار منطقة التثبيط خلال فترة 8 أيام (شكل 62.ب) من زمن الاستخلاص حيث تراوحت ما بين 10 مم باستخدام التركيز 50 ميكروليتر 20 مم باستخدام التركيز 200 ميكروليتر(جدول 12).

ظهرت زيادة واضحة في متوسط أقطار منطقة التثبيط خلال فترة 12 يوما (شكل 62.ج) من زمن الاستخلاص حيث تراوح متوسط أقطار منطقة التثبيط ما بين 14 مم عند التركيز 50 ميكرولتر 25 مم عند التركيز 200 ميكرولتر ونعتقد أن هذه الزيادة في متوسط أقطار منطقة التثبيط تعبر عن تأثير الزيادة و التي ربما قد تحتاج إلي أكثر من 12 يوما في مدة استخلاص المواد الفعالة للطحلب (جدول 12). اوضحت نتائج التحليل الاحصائي انه يوجد فروق معنوية بين تأثير الزمن الاستخلاص المواد الفعالة لبتروليوم إيثر على نمو البكتيريا *P.aeruginosa* حيث كان فروقات واضحة مابين فترة زمنية 4 أيام (6.08 مم) و 8 أيام (14 مم) و12 يوما (18.2 مم) على التوالي عند مستوي معنوية $P < 0.05$ ، وايضا يوجد فروق المعنوية عالية بين التراكيز المختلفة حيث كان منطقيا الفروق المعنوية عالية لتركيز200 ميكرولتر(16.6 مم) ثم التركيز 150 ميكرولتر(18.1 مم) ثم التركيز 100 ميكرولتر (11.6 مم)ثم التركيز 50 ميكرولتر (9.1 مم) على التوالي عند مستوي معنوية $P < 0.05$.

جدول (12). تأثيرالزمن وتركيز المستخلص البترولیوم ایثر(Petroleum Ether) لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *P.aeruginosa*

التركيز (ميكرولتر) / الزمن (الأيام)	50	100	150	200	المتوسط
	منطقة انعدام النمو (mm)				
4	3.50 ± 0.548 *	5.50 ± 0.548 *	7.33 ± 0.516 *	8.00 ± 0.000 **	6.08
8	10.00 ± 0.000 **	12.00 ± 0.000 **	14.00 ± 0.000 **	20.00 ± 0.000 **	14
12	14.00 ± 0.000 **	16.00 ± 0.000 **	18.00 ± 0.000 **	25.00 ± 0.000 **	18.25
المتوسط	9.16	11.16	18.11	16.16	

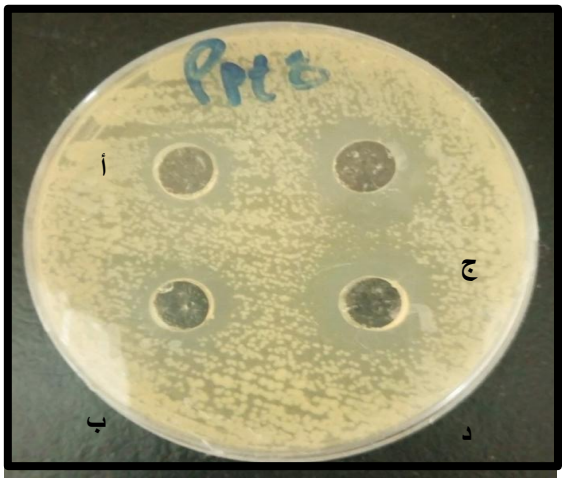
متوسطات أقطارمناطق التثبيط بالميلمتر(6 تكرارات على اقل) ,* = معنوية عالية عند $P < 0.05$, ** = معنوية عالية عند $P < 0.01$, ± = الانحراف المعياري



شكل 62. أ. تأثير مستخلص البتروليوم ايثر لطحلب *Cladophora vadorum* لمدة 4 أيام على نموالبكتيريا *P.aeruginosa* .تركيز المستخلص (أ) 50 ميكرولتر

(ب) 100 ميكرولتر

(ج) 150 ميكرولتر (د) 200 ميكرولتر

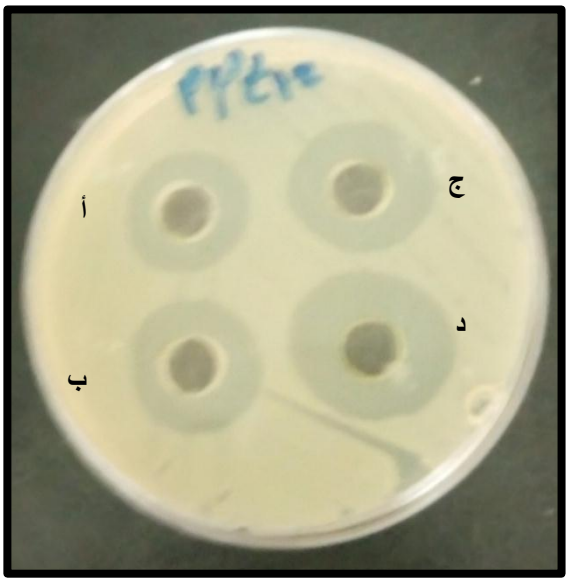


شكل 62. ب. تأثير مستخلص البتروليوم ايثر لطحلب *Cladophora vadorum* لمدة 8 أيام على نمو البكتيريا *P.aeruginosa* . تركيز المستخلص (أ) 50 ميكرولتر

(ب) 100 ميكرولتر

(ج) 150 ميكرولتر

(د) 200 ميكرولتر

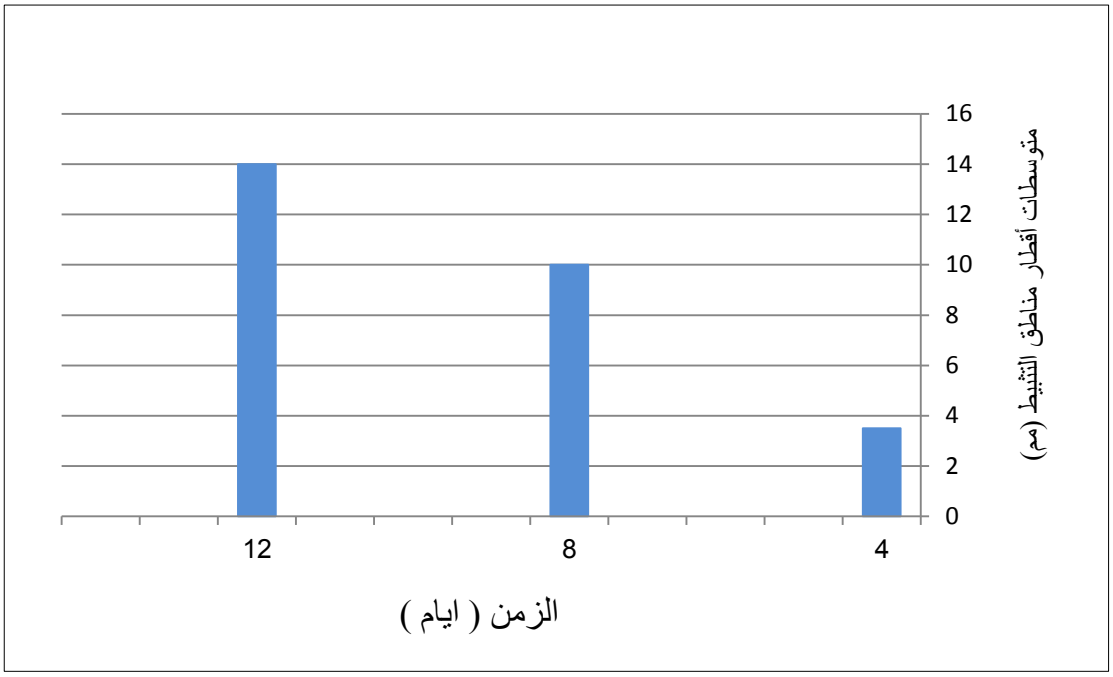


شكل 62. تأثير مستخلص البتروليوم إيثر لطحلب *Cladophora vadorum* لمدة 12 يوم على نمو بكتيريا *P.aeruginosa*. تركيز المستخلص (أ) 50 ميكرولتر

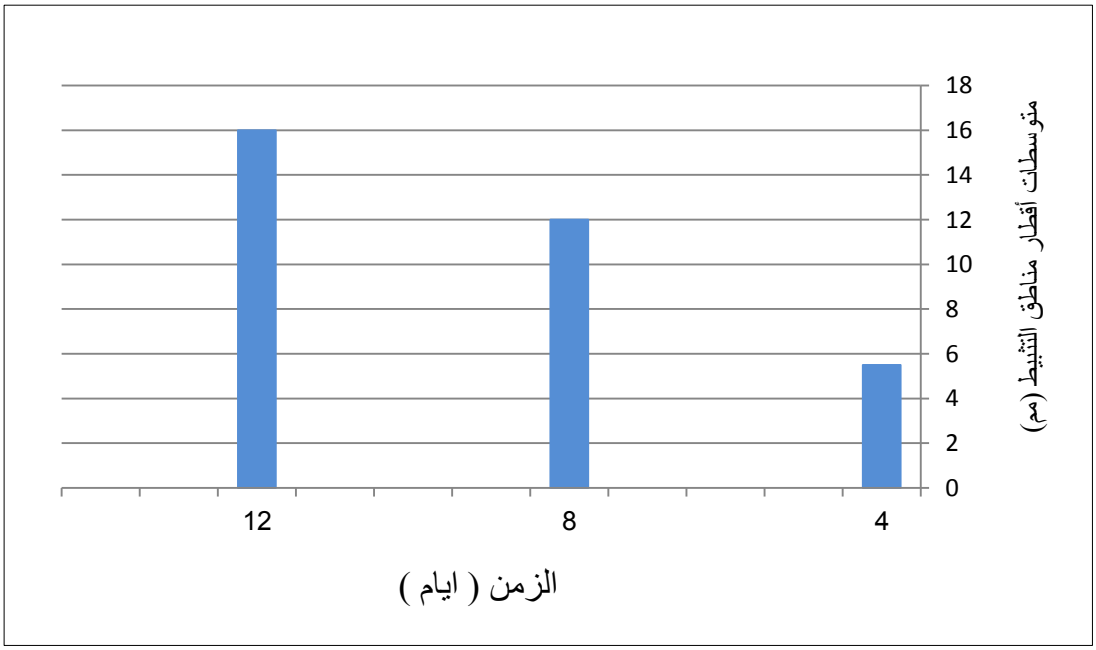
(ب) 100 ميكرولتر

(ج) 150 ميكرولتر

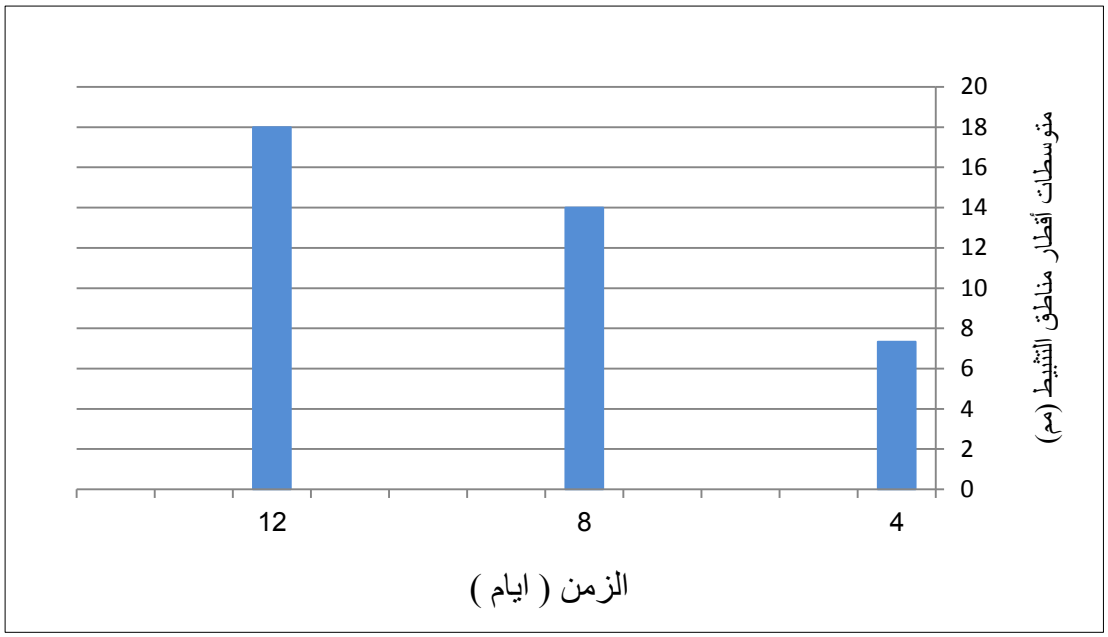
(د) 200 ميكرولتر



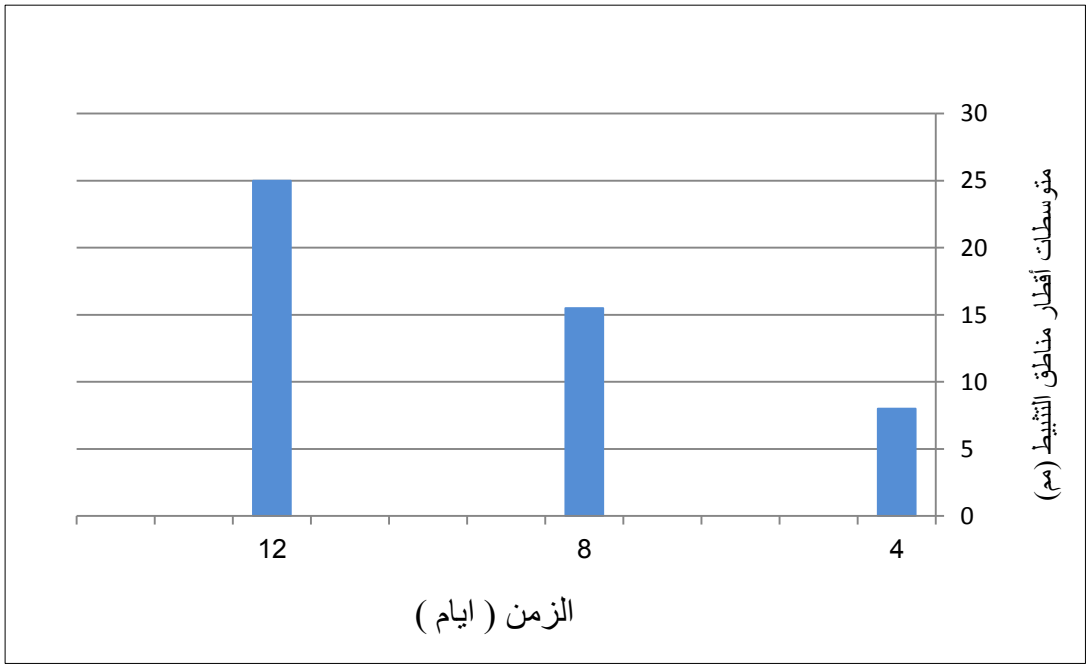
شكل 63. تأثير زمن الاستخلاص وتركيز 50 ميكرولتر لمستخلصات البترولیوم إيثر لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *P.aeruginosa*



شكل 64. تأثير زمن الاستخلاص وتركيز 100 ميكرولتر لمستخلصات البترولیوم إيثر لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *P.aeruginosa*



شكل 65. تأثير زمن الاستخلاص وتركيز 150 ميكرولتر لمستخلصات البترولیوم إيثر لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *P.aeruginosa*



شكل 66. تأثير زمن الاستخلاص وتركيز 200 ميكرولتر لمستخلصات البترولیوم إيثر لطحلب *Cladophora vadorum* على نمو البكتيريا *P.aeruginosa*

الكشف عن بعض المكونات الكيميائية الذائبة في الميثانول لطحلب *Cladophora vadorum*

الكشوفات النوعية : اجريت مجموعة من الكشوفات النوعية للتعرف على المكونات الكيميائية في مستخلص الميثانول لطحالب *Cladophora vadorum*

كشف القلويدات

تم الكشف عن القلويدات باستخدام الكواشف التالية :

أ. كاشف دراكندروف

اضيفت عدة قطرات من الكاشف الى (1) مل من المستخلص ، عند ظهور راسب برتقالي تعتبر النتيجة موجبة مما يدلل على وجود القلويدات (Harborne 1984)

ب. كاشف واكنر

اضيفت عدة قطرات من الكاشف الى (1) مل من المستخلص ، عند ظهور عكورة تعتبر النتيجة موجبة مما يدلل على وجود القلويدات (Tyler *et al* 1988).

كشف الفلافونويدات

أضيف 1 مل من الكاشف (هيدروكسيد البوتاسيوم الكحولي[5N] Ethanolic KOH) الى 1 مل من المستخلص ، عند ظهور راسب اصفر تعتبر النتيجة موجبة مما يدلل على وجود الفلافونويدات (Al-Kazraji 1991) .

كشف التانينات أضيف 1 مل من خلات الرصاص المائية (1%) Lead acetate الى 1 مل من المستخلص ، عند تكون راسب ابيض تعتبر النتيجة موجبة مما يدلل على وجود التانينات.(Jawad 1997) .

كشف الفينولات

اذيب 0.1 غم من المستخلص في 1 مل من الماء المقطر وأضيفت له 1-2 قطرة من محلول كلوريد الحديديك $FeCl_3$ (1%) ، عند ظهور اللون الازرق او الاخضر تعتبر النتيجة موجبة مما يدلل على وجود الفينولات (Gayon 1972).

كشف الصابونين

أضيف 1 مل من كاشف كلوريد الزئبق المائي (5%) الى 1 مل من المستخلص ، عند تكون راسب ابيض تعتبر النتيجة موجبة مما يدلل على وجود الصابونينات. (Haddad 1965)

الكشف عن السكريدات

اذ مزجت اجزاء متساوية من المستخلصات الاسيتونى مع كاشف بندكت (Bendict test) يظهر راسب احمر دلالة على وجود السكريات في المستخلص الاسيتونى .اما النتيجة التأكيدية فقد اعتمدت على التفاعل بين كاشف فهلنك (Fehling test) ناخد كمية مساوية له من المستخلص الاسيتونى وترك التفاعل في حمام مائي مغلي مدة 10 دقائق و ظهور راسب الاحمر دليل على الكشف الموجب للسكريات (Shihata 1951)

الكشف عن الرتنجات

اضيف 10 مليلتر من الكحول الاثيلي CH3CH2OH بتركيز 95% الى 1 غرام وزن جاف من الجزء النباتي وترك ليغلي في حمام مائي لمدة دقيقتين . رشح المحلول، واضيف للراشح 20 مليلتر من ماء مقطر محمض بقطرات من حامض HCl بتركيز 4% يظهر العكارة (turbidity) .في المحلول (قطب 1981)

جدول (13). الكشوفات النوعية لمستخلص الميثانول لطحلب *Cladophora vadorum*

مستخلص ميثانول	الكشوفات النوعية						
	القلويدات	الفلافونويدات	التانينات	الصابونين	الفينولات	السكريدات	الررتنجات
Cladophra vadorum	6.23 %	% 30.13	+	+	**%36.14**	%14	++

المناقشة

تم في هذه الدراسة استخدام مستخلصات 5 مذيبات عضوية (الميثانول والإيثانول والبتروليوم إيثر والاسيتون وأيثيل اسيتيت) للطحلب *Cladophora vadorum* ضد نمو بعض أنواع البكتيريا الممرضة للإنسان (*Staphylococcus aureus , Escherichia Pseudomonas aeruginosa , coli* , *Klebsilla pneumonia*) .

بينت النتائج أن مستخلصات الطحلب *Cladophora vadorum* المذاب في البتروليوم إيثر له تأثير مثبط عالي على نمو جميع البكتيريا المختبرة (الموجبة والسالبة لصبغة الجرام) وكان أكثر فعالية على تثبيط نمو جميع البكتيريا من بين جميع أنواع المذيبات الأخرى هذا ما يبن ان البتروليوم إيثر له قدرة عالية على استخلاص المواد الفعالة للطحلب وهذا ما ذكره Mahadik وآخرون (2015) .

اما تأثير مستخلص الإيثانول للطحلب *Cladophora vadorum* فقد اتضح ان المستخلص لم يؤثر تأثير تثبيطيا على نشاط وتكاثر البكتيريا وهذا يعني ان المستخلص لم يتغلغل من خلال الغشاء البلازمي او الجدار الخلوي مما ادي الي عدم تثبيط هذه البكتيريا و اختلفت النتائج المتحصل عليها مع Tuney وآخرون (2006) الذي أوضح أن مستخلص الإيثانول هو من أكثر المستخلصات فعالية مع أنواع البكتيريا المذكورة سلفا.

و كذلك بينت النتائج المتحصل عليها أن مستخلص الميثانول لا يؤثر على نمو الأنواع البكتيرية المستخدمة وهذا لا يتوافق مع Khalid وآخرون (2011) الذين أشاروا من خلال دراستهم أن مستخلص الميثانول له تأثير مثبط على جميع أنواع البكتيريا المستخدمة.

كما بينت النتائج أن مستخلصات الاسيتون وإيثيل أسيتيت أن لها اقل تأثيرا على نمو البكتيريا المستخدمة حيث كان لها تأثير مثبط على نمو البكتيريا *S.aureus* فقط دون بقية الأنواع البكتيرية المستخدمة في الدراسة وهذا يتماشي مع العديد من البحوث التي تؤكد أن البكتيريا الموجبة لصبغة الجرام هي الأكثر حساسية لتأثير المستخلصات من البكتيريا السالبة لصبغة الجرام وهذا ربما يرجع الي نتيجة الاختلاف في تركيب الجدار الخلوي للبكتيريا وهذا ما تأكد في البكتيريا *S.aureus* الموجبة لصبغة الجرام و التي أظهرت حساسية اكثر لفعالية المركبات الأيضية الثانوية من بين الأنواع البكتيرية المذكورة (Salem *et al*., 2011, Ibtissam *et al*., 2014 Soltani et al., 2014 , AL-Ghazeer *et al*., 2013 , Seenivasan *et al*., 2010 , Zbakh *et al*., 2009)

بينما لم يتفق ذلك مع Alang وآخرون 2009 الذي أكد في دراسته البكتيريا *E.Coli* البكتيريا سالبة جرام هي الأكثر حساسية للمركبات الايضية الثانوية قد تبين خلال نتائج متحصل علىها ان البكتيريا *E.Coli* لها مقاومة و لم يعطي نتائج ايجابية ضد مستخلصات مستخدمة الا المستخلص البترولیوم إيثر كان تأثيرا بسيطا .

اما فيما يخص البكتيريا *K.pneumonia* فقد اظهرت مقاومة جميع المستخلصات مستخدمة وهذا يتفق مع Mahasneh وآخرون (1995) وقد تكون سبب المقاومة في ان البكتيريا يحتوي على الطبقة اللزجة التي تحيط بها من الخارج و تنتشر في البيئة المحيطة (الكبسولة) هي المسؤلة عن حماية البكتيريا من المضادات الحيوية وغيرها (El-Nakhal, 1987).

و لوحظ من خلال النتائج أن البكتيريا *P.aeruginosa* قد تأثرت بمستخلص الإيثانول والبترولیوم إيثر لطحلب *Cladophora vadorum* بينما لم تؤثر بمستخلصات الميثانول و الآسيتون وتعتبر البكتيريا *P. aeruginosa* من اكثر أنواع البكتيريا مقاومة للمضادات الحيوية كما اختلفت نتائج

الدراسة مع Salmin وآخرون (2014) حيث أكدت الدراسة أن البكتيريا *P. aeruginosa* هي الأكثر حساسية للمركبات الأيضية من بكتيريا *E.Coli* و *S.aureus* .

تبين من خلال استخدام التركيزات المختلفة للمستخلصات وهي (50-100-150-200 ميكروليتر) ان لها تأثيرا مثبطا على نمو الأنواع البكتيريا المذكورة وذلك بوجود علاقة طردية تقريبا وهذا ما أكده ايضا Soltani وآخرون (2014) و Krish وآخرون (2013) .

من خلال التجارب التي أجريت في هذه الدراسة لمعرفة تأثير زمن الاستخلاص تبين أنه بزيادة زمن الاستخلاص (4 - 8 - 12 أيام) تزيد تأثيرات المركبات الفعالة المذابة .

اهتمت العديد من الدراسات حول التأثيرات المثبطة لنمو البكتيريا وغيرها من الكائنات الحية الدقيقة من قبل المركبات الأيضية الثانوية لمستخلصات الطحالب (Mayar *et al.*, 2007, El-Fatimy *et al.*, 2009 , Soliman *et al.*, 2011,) .

وقد بين Daood and Mosto (1997) ان الاختلافات ما بين فعالية الطحالب ذاتها بين مناطق بحرية مختلفة إلى الاختلافات في معدلات نمو ونضج الطحالب في هذه المناطق ، وأكد Lustigman وآخرون (1992) أن تركيز المواد الفعالة في الطحالب تختلف باختلاف الطحالب والاطوار المختلفة من عمر الطحلب وقد تكون السبب هو أن البيئة البحرية التي جمعت منها الأنواع الطحلبية في تلك الدراسة غنية بالملوثات العضوية بالتالي فإنها تقوم بإنتاج العديد من المواد ذات التأثير المثبط للفطريات والبكتيريا والكابح للفيروسات .

تعتبر الطحالب الخضراء من النباتات ذات المحتوى العالي من المركبات الأيضية الثانوية Secondary metabolities مثل Mono-and polycyclic & Acyclic algal diterpenes وكذلك مركبات الفينول Phenolic compounds وبعض المركبات الآخرى ذات التأثير الحيوي التي تعمل على تثبيط نشاط وحيوية بعض الانظمة الحيوية مثل البكتيريا (Tringal , 1997) .

من خلال التعرف على تركيزات المجاميع الكيميائية المذابة في مستخلص الميثانول لطحلب *Cladophora vadorum* ، وجد أن هذا الطحلب يحتوي على القلويدات والفينولات والصابونينات والتأنينات والفلافونويدات و أن ظهور تلك المجاميع الكيميائية في مستخلص الميثانول يعد شيئاً متوقعاً اذ أن استخدام الميثانول في الاستخلاص يعمل على اذابة واستخلاص عدد لا بأس به من المجاميع الكيميائية بنسبة مختلفة وأهم هذة المجاميع هي التانينات (+) والقلويدات (6.23%) والفلافونويدات (30.13%) والفينولات (14%) والصابونينات (+) والسكريات (14%) هذا ما يتفق مع (Cowan (1999 و Soltani وآخرون (2011) و AL-Ghazeer وآخرون (2013).

أن وجود تلك المجاميع الكيميائية في الطحالب يدعم وضعها ضمن النباتات الطبية لما تحويها من المركبات ذات التأثير الطبي والتي تم اثبات فعاليتها الطبية في عدة دراسات.

المراجع

المراجع العربية

المياح، صبيح.هليل .عذبي، أحمد .محسن . العقابي, دلال. لاح. محسن .(2014). الفعالية الحيوية لمستخلص الأثيل أستيت للطحلب الأخضر *Cladophora crispate* على طفيلي *Giardia lamblia* , *Entamoeba histolytica*, مقارنة مع عقار Metronidazole .مجلة أبحاث البصرة "العلميات " 40 . 2: 2695-1817.

الفطيمي ، عائشة . (2008). دراسة فاعلية مستخلصات بعض أنواع الطحالب البنية ضد بعض الفطريات الممرضة *Dictyotales*. رسالة ماجستير. جامعة قاريونس. كلية العلوم.

الجهمي، هند .(2007). دراسة تأثير مستخلصات بعض أنواع الطحالب الخضراء رتبة (*Ulvales*) على نمو الفطريات والبكتيرية الممرضة. رسالة ماجستير. جامعة قاريونس. كلية العلوم.

البغدادي، حامد.(2001). دراسة اختبار مستخلصات بعض أنواع الطحالب البنية رتب *Dictyotales* على بكتيريا. رسالة ماجستير. جامعة قاريونس. كلية العلوم.

طوقان، أيمن .(2003).دراسة تأثير مستخلصات بعض أنواع الطحالب الخضراء رتبة (*Ulvales*) ضد البكتيريا. رسالة ماجستير. جامعة قاريونس. كلية العلوم.

الصل، محمد. (2005). تأثير مستخلصات طحلبية على بعض الأنواع البكتيرية الممرضة. رسالة ماجستير. جامعة السابع من أكتوبر. كلية العلوم.

المراجع الاجنبية

Abdel-Raouf, N.; Mohamed, H. M.; Mostafa, S. S. and Ibraheem, B. M. (2017) . Controlling of microbial growth by using *Cystoseira barbata* extract. J. Bot. 57(3):469-477.

Alang, G.; Kaur, R.; Singh, A.; Budlakoti, P.; Singh, A. and Singlas, P. (2009) . Antimicr obial Activity of *Ulva lactuca* extracts and its fraltions . pha. 3:107-117.

Alghazeer, R.; Whida, F.; Abduelrhman, E.; Gammoudi, F. and Azwai, S. (2013) .Screeing of antibacterial activity in marine green ,red ,and brown macrialgae from the western coast of libya .Nat. sci.. 5(1): 7-14.

Al ghazeer, R .; Whida, F.; Abduelrhman, E.; Gammondi, F. and Naili, M . (2013).In vitro antibacterial activity of alkaloid extracts from green ,red and brown macroalgae firm western coast of libya. Afr. J. of bio. 12(51): 7086-7091.

Al-saif, S. S. A.; Abdel-Raouf, N.; El-wazanani, H. A. and Aref, I. A. (2014) . Antibacterial substances from marine algae isolated from Jeddah cost of Red sea .Saudi Arabia .saudi .J. Bio.S. 21:57-64.

Alshalmani, S .K .; Zobi, N. H. and Bozakouk, I. H. (2014) .Antibacterial activity of libyan seaweed extracts. Int. J. pha. Sic. Res. 5 (12) : 5425-5429.

Bakker, F. T.; Olsen, J. L.; Stam, W. T.; Vanden hoek, C.(1994).The *Cladophora* complex(Chlorophyta): New views based on 18S rRNA gene sequences.Mol.Phylogen . 3:365-382

Bhattacharyya, S.; Rani, P.; Nayak, B.; Panigrahi, M.; and Mohapatra, B.(2013) .Antimicrobial Activity of two diazotropic cyanobacteria against *Staphylococcu aureus*. Int . J .Med. Arom. Plants, 3(2):283-292.

Cervenka, L.; Peskova, I.; Foltynova, E.; Pejchalova, M.; Brozkova, I. and Vytrasova , J. (2006). Inhibitory effect of some

spices and herbs extracts against *Aerobacter butzleri, A. cryaero philus* and *A. akirrowii*. Cur. mic. 53: 435-439.

Chang, T.; Ohta, S.; Ikegami, N.; Miyata, H.; Kashimoto, T. and 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 countrie 1st ed.thetford press 1td .

Chew, Y. L.; Lim, Y. Y.; Omar, M. and Khoo, K. S. (2007). Antioxidant activity of three edible seaweeds from two areas in south east asia. foo. Sci. Tec. 41:1067-1072 .

Crasta, P. J.; Raviraja, N. S. and Sridhor, K. R. (1997).Antimicrobial activity of some marine algae of south west cost of India. Ind. J. mar. sci. 26:205-201.

Debro, L. H. and Ward, H. B. (1979). Antibacterial activity of freshwater green algae . Pla. Med. 36:375-378 .

Douma, M.; El-Kerroumi, A.; Manaut, N.; El-addaoui, R.; Alfeddy, M. N. and Ouahmane, L. (2017). Antifungal potential of tow *Cladophora* species (green algae) against *Verticilium dalhiae* kleb. Res. J. pha. Bio. che. sci. 8(4):163.0975-8585.

El-Mishad, A. M.(2005). Manual of medical microbiology and immunology. 5th ed com. Pre. Kal. Cai. Egy. 2:52-35.

Feblles, C, I.; Arias, A.; Tlardisson, A.; and Lopez, A,S. (1995). Antimicrobial activity of extacts form some canary species of phaeophyta and Chlorophyta .*Phytotherapy research* , 9:385-387 .

Ghatnekar, S. D. and Kavian, M, F. (1999). Biofertilizers-Attractive venture for new entrepreneur. htpp: //www. expressindia .com/fe /daily/ 1999 0 412 / fec12061p. html.

Godeh, M. M.;Nizamuddin, M. and El-menifi, F. A. (1992). Marine algea from eastern coast of Libya (Cyrenaica).pak.J.Bot.24(1):11-21.

Godeh, M. M.; Said, A. A.; Zarmouh, M. M. and EL-Menifi, F. O. (2010). Marine chlorophyta of benghazi coasts, Libya. J. Sci. Its. 4(1): 7-13.

Godeh, M, M.; EL-Gahmi, H. A.; Bleiblo, M. A. and Said, A. A.(2017). Antibacterial activity of methanolic extracts of 5species of ulva from banghazi coast ,Libya. Res. Art . Bot .Ver. 1(1) :1.1:0007.

Haisheng, L.; Yinshan, U. C.; and Yi, Z . (2001) . Screening for antibacterial and antifungal activities in some marine algae from the fujan coest of China with three differint solvents .Chinese. J. Oce. Lim .19 (4) : 327-331.

Halling, B. (2000) . Algal toxicity of antibacterial agents used in intensive farming . Che. 40 (7):731-739.

Harder, R. (1917). Ernahrungs physiologis che untersuchungen an cyanophyceen hauptsachlich dem endophytischen *Nostoc punctiform* .Bot.9:145.

Haroun, S. A.; and Hussein, M. H. (2003). The promotive effect of algal biofertilizers on growth, protein pattern and some metabolic activities of *Lupinus termis* plants grown in siliceous soil. Asian. J. Pla. Sci. 2 (13):944-951.

Ibtissam, C.; Hassane, R.; Jose, M.; Francisco, D. S. J.; Antoio, G. V. J.; Hassan, B. and Mohamed, K. (2009). Screening of antibacterial activity in marine green and brown macroalgae from the coast of Morocco . Afr. J .Bio. 8(7): 1258-1262.

Jeyaseelan, E. C.; Kothai, S.; Kavitha, R.; Tharmila, S. and Thavaranjit, A. C. (2012). Antibacterial activity of some selected algae present in the costal lines of jaftna peninsula.International .J. pha . Bio. 3(2) :352-356 .

Kaufman, P. B.; Cseke, L. J.; Warber, S.; Duke, J. A.; and Brielmann, H. L. (1999). Natronal products from plants. 1st ed. CRC press, Uni. Sta. Ame.

Khalid, M. N.; Shameel, M. and Ahmad, V.U. (2012).The Bioac tivity

and Phycochomistry of tow species of *Cladophora* (siphonocladophy ceae) from sindh.49(2):113-121.

Kim, P.; Dong, J.; and Lee, C. G. (2006). Influence of extracellular products from H. P. on growth and bacteriocin production by three species of *Lactobacillus*. Mic. Bio. 16(6): 849-854.

Kolanjinathan, K.; Ganesh, P. and Govindarajan, M. (2009). Antibac terialactivity of ethanol extracts of seaweeds against fish bacterial pathogens. Eur .Rev. Med. Pha. Sci.13:173-177.

Krish, S. and Das, A. (2014). In-Vitro bioactivity of marine seaweed cladophora rupestris .Pha. Bio .Int. J. Sci. 5(1) :898-908.

Kuda, T.; Taniguchi, E.; Nishizawa, M. and Araki, Y. (2002). Fate of water soluble polysaccharides indried chorda filuma brown alga during water washing .J .foo. com. Ana. 15:3-9

Lefta, S. N. and Dwaish, A. S. (2014). Use of *Cladophora glomerata* extract against multidrug resistant bacterial pathogens . J. Pla. 3(10): 23-32.

Lima-Filho, J. V. M.; Cavvalho, A. F. F. U.; Freitas, S. M. and Melo, V. M. M. (2002). Antibacterial activity of extracts of six macroalgae from the northeastern Brazilian coast. Bra. J. Mic. 33(4): 311-314.

Magallanes, C.; Cordova, C. and Orozco, R. (2003). Antibacterial activity of ethanolic extracts of marine algae from central coast of Peru.Peru Boil.10(2):125-132.

Mahadik, B. B. and Jadhav, M. J. (2015). Antibacterial and Antifungal Activities of green alga *cladophora crispate* .Indian. J. App. Res.5:3.2249-555.

Mahasneh, I.; Jamal, M.; Kashashneh, M. and Zibdeh, M .(1995) . Antibiotic activity of marine algae against multi-antibiotic resistant bacteria. Mic. 83:23-26.

Mansuya, P.; Aruna, P.; Sridhar, S.; Kumar, J. S.; and Babu, S. (2010) . Antibacterial activity and qualitative phytocheemical analysis of selected seaweeds from gulf of mannar region .J. Exp. Sci.1(8) : 23-26 .

Mayer, A. M. S. M.; Rodriguez, A. D.; Berlinck, R. G. S. and Hamann, M. T. (2007). Marine pharmacology in marine compounds with anthelmintic antibacterial anticoagulaut antifu ngal anti-inflammatory antimalarial antiplatelet antiprotozoal antituberculosis and antiviral activities affecting the cardio vascular, immune and nervous system ,and other miscellaneous mechanisms of action. Com. Bio. Phy. 4(145):553-581.

Mohamed, D.Y.; Dwaish, A. S.; Abd-Ali, G. and Jawad, A. M. (2013) . use of cladophora glomerata extract againt multidrug resistant bacterial pathogens .J. Env. Sci. Eng .Bio. 2: 495-500.

Morales, J. L. Z.; Cantillo-Ciau, O.; Sanchez-Molina, I. and Mena-Rejon, G. J. (2006). Screening of antibacterial and antifungal activies of six marine macroalgae from coasts of Yucatan Peninsula . J. pha. Bio .44(8):632-635.

Mulbry, W. and Wlkie, A. (2001). Growth of benthic fresh water algae on dairy manures. J. App. Phy. 13: 301 - 306.

Natrah, F. M. I.; Harah, Z. M.; Sidik, B. J.; Izzatul, N. M. S. and Syahidah, A. (2015). Antibacterial activities of selected seaweed and seagrass from port dickson coastal water against different Aquaculture pathogens sains malaysiana . 44(9):1269-1273.

Nizamuddin, M.; West, J. and Menez, E.(1979). A list of marine algae from libya. Bot. Mar. 22:465-476.

Nizamuddin, M. (1981). Contribution to the marine algae from Libya *Dictyotales*. Bib. Phy. 54(120) :3.

Nizamuddin, M. and Godeh, M. M.(1993).Observation on tannia atomaria ciliata (Lamour) Nizamuddin. Pak. J. Bot. 25: 199-207.

Pulz, O. and Gross, W. (2004).Valuable products from biotechnology of microalgae. App. Mic. Bio. 65: 635-648.

Pushparaj, A.; Raubbin, R. S. and Balasankar, T.(2014).Antibacterial activity of the Green seaweed *Caulerpha sertularioides* using five different solvents .Int. J. che. Res. 6(1):0974-4304.

Radhika, D.; Veerabahu, C.; Priya, R. and Mohaideen, A. (2014). Acom parative study of biopotential of crude and fractionated extracts of some seaweed from Tuticorin coast . Int. J. phy. Arm. 5(1):27-30.

Rupe'rez, P. S. and Calxto, F. (2001). Dietary fibre and physicochemical properties of edible Spanish seaweeds. Eur. J. foo. Rws. Tec. 212(3):349-354.

Sadiq, B.; Butt, G. Y.; Ajaib, M.; Usman, A. and Hussain, N.(2016). Evaluat ion of antibacterial competence of *Cladophora glomerata* and *Lyngbya diguetii* . Bio. 62(1):169-172.

Saleh, B. and Al-Mariri, A.(2017) .Antimicrobial Activity of the marine algae extracts against selected pathogens .J.Agr .Sci .Tec. 19:1067-1077.

Salem, W. M.; Galal, H. and El-deen, N. (2011). Screening for antibacterial activity in some marine algae from the rad sea (Hurghada, Egypt) . Mic. Res. 5(15):2160-2167.

Salem, O. M. A.; Hoballah, E. M.; Ghazi, S. M. and Hanna, S. N. (2014) . Antimi crobial activity of microalgal extracts with special emphasize on *Nostoc sp*. Lif. Sci. 11(12):752-758.

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

Shanab, S. M. M. (2007). Antioxidant and antibiotic activities of some seaweeds (Egyptian isolates).Inter. J. Agr. Bio. 9(2):220-225.

Sharahama, K. L. (1942) .J. Fac. Agr /Hokkaido imp .Univ .49:1-193.

Snehalatha, D.; Malathi, T.; Babu, M. R. and Rao, B. D. (2015) . Anti-bacterial activity of certain members of *Chlorophyceae* from warangal district , Telangana .State, India .Antibacteria activity of certain members of *Chlorophyceae phykos*. phy. Ind. Bio. 45 (1): 13-17.

Soltani, S.; Saadatmanand, S.; Khavarinejad, R. and Nejadsattari, T. (2011). Antioxidant and antibacterial activities of *Cladophora glomerata* (L) Kutz. In Caspian sea coast Iran . J. Bio. 10 (39) :7684-7689.

Soltani, S. and Khoshrooei, R. (2014). Evaluation of antibacterial activities in *Cladophora glomerata* and *Enteromorpha intestinalis* . Inte. J. Mol. Cli. Mic. 1(2014).371-376.

Tuney, I.; Cadirci, B. H.; Unal, D. and Sukatar, A. (2006). Antimicrobial activities of the extracts of marine algae from the cost of Urla (izmir,Turkey). Depar. Bio. Fac. Sci, Ege. uni. Turk. J. Bio. 30:171-175.

Varier, K, M.; Milton, M, C, J.; Arulvasu, C.; and Gajendran,B. (2013) . Evalua tion of edantibacterial properties of selected red seaweeds from rameshwaram ,Tamil Nadu,India. J. Aca. ind. Res.1(11): 2278-5213.

Venkatarman, L. V. (1988). Spirulina. In: cyanobacterial biotechno logy, eds: G. Subrmanian, B.D. Koushik and G.S. Venkaratman. Oxford and IBH publishing Co. put. Ltd, 267.

Zbakh, H.; Chihab, I.; Motilva, V. and Riadi, H. (2014). Antibacterial cytotoxic and antioxidant potentials of *cladophora prolifera* "Roth" Kutzing collected from the Mediterranean cost of Morocco .Amer. J. phy.. cli. The. Dep. Bio. Fac. Sci. 2321-2748.

الملاحق

الأجهزة مستخدم

جهاز الهزاز

الحاضنة

الميزان الأوتوكولايف

طريقة تحضير الاوساط الغذائية

تم تحضير الوسط الغذائي Nutrient agar بإذابة 28 جم من المسحوق الجاهز للوسط الغذائي Nutrient agar في 1000 مل من الماء المقطرو تم تعقيمه في جهاز الاوتوكلايف Autoclave في ضغط 15 p s i وفي درجة حرارة 121 مْ لمدة 15 دقيقة ويحتوي اللتر الواحد من الوسط الغذائي على الأتي:

Peptic digest of animal tissue 5.00 g

Beef extract 1.50 g

Yeast extract 1.50g

Sodium chloride 5.00 g

Agar 15.00 g

pH 7.4 ± 0.2

تم زرع عليها البكتيريا لتنشيطها بعض ذلك أخذت منها 1-2 مستعمرة من هذه المزرعة البكتيرية الحديثة، ووضعت في محاول ملحي فسيولوجي معقم Normal saline التي تم تحضير عن طريق أخذ 9 جم من كلوريد الصوديوم في 100 مل من الماء المقطر، وضعت في أنبوبة 10 مل ثم عقمت في الأوتوكولايف بعد ذلك وضعت فيها مستعمرة بكتيرية (Cheasbrough, 2000). تم تحضير الوسط الغذائي Mueller Hinton الخاص بنمو البكتيريا بإذابة 38 من البودرة الجاهزة

للوسط الغذائي في 1000 مل من الماء المقطر وتعقميه في جهاز التعقيم 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

Agar 17.oo g

PH 7.3± 0.2.

تم صب 20 ملل من الوسط الغذائي السابق في أطباق بتري معقمة وتركت لتتصلب (Thillairajaskar *et al.*,2009). بعدها تم تلقيح الوسط الغذائي بمقدار 100 ميكرولتر من المعلق البكتيري ونشر على الوسط الغذائي بواسطة سواب (Swab) وتركت الإطباق لمدة 5 دقائق لتتشرب المعلق في الوسط الغذائي (Kolanjinathan *et al* .,2009).

Univariate Analysis of Variance

Descriptive Statistics

Dependent Variable:إيثانول

الزمن	المستخلص	Mean	Std. Deviation	N
4-Days	50	.00	.000	6
	100	.00	.000	6
	150	2.00	.000	6
	200	5.00	.000	6
	Total	1.75	2.090	24
8-Days	50	8.00	.000	6
	100	9.00	.000	6
	150	11.67	.516	6
	200	14.00	.000	6
	Total	10.67	2.408	24
12-Days	50	12.00	.000	6
	100	14.00	.000	6
	150	16.00	.000	6
	200	17.33	.516	6
	Total	14.83	2.078	24
Total	50	6.67	5.134	18
	100	7.67	5.961	18
	150	9.89	6.028	18
	200	12.11	5.368	18
	Total	9.08	5.907	72

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:إيثانول

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	2474.833[a]	11	224.985	5062.159	.000
Intercept	5940.500	1	5940.500	133661.250	.000
الزمن	2144.333	2	1072.167	24123.750	.000
المستخلص	317.944	3	105.981	2384.583	.000
الزمن * المستخلص	12.556	6	2.093	47.083	.000
Error	2.667	60	.044		
Total	8418.000	72			
Corrected Total	2477.500	71			

a. R Squared = .999 (Adjusted R Squared = .999)

Estimated Marginal Means

1. الزمن

Estimates

Dependent Variable:إيثانول

الزمن	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
4-Days	1.750	.043	1.664	1.836
8-Days	10.667	.043	10.581	10.753
12-Days	14.833	.043	14.747	14.919

Pairwise Comparisons

Dependent Variable:إيثانول

(I) الزمن	(J) الزمن	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.[a]	95% Confidence Interval for Difference[a]	
					Lower Bound	Upper Bound
4-Days	8-Days	-8.917-*	.061	.000	-9.038-	-8.795-
	12-Days	-13.083-*	.061	.000	-13.205-	-12.962-
8-Days	4-Days	8.917*	.061	.000	8.795	9.038
	12-Days	-4.167-*	.061	.000	-4.288-	-4.045-
12-Days	4-Days	13.083*	.061	.000	12.962	13.205
	8-Days	4.167*	.061	.000	4.045	4.288

Based on estimated marginal means

*. The mean difference is significant at the .05 level.

a. Adjustment for multiple comparisons: Least Significant Difference (equivalent to no adjustments).

Univariate Tests

Dependent Variable:إيثانول

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Contrast	2144.333	2	1072.167	24123.750	.000
Error	2.667	60	.044		

The F tests the effect of الزمن. This test is based on the linearly independent pairwise comparisons among the estimated marginal means.

2. المستخلص

Estimates

Dependent Variable:إيثانول

			95% Confidence Interval	
المستخلص	Mean	Std. Error	Lower Bound	Upper Bound
50	6.667	.050	6.567	6.766
100	7.667	.050	7.567	7.766
150	9.889	.050	9.789	9.988
200	12.111	.050	12.012	12.211

Pairwise Comparisons

Dependent Variable:إيثانول

(I) المستخلص	(J) المستخلص	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.[a]	95% Confidence Interval for Difference[a]	
					Lower Bound	Upper Bound
50	100	-1.000-*	.070	.000	-1.141-	-.859-
	150	-3.222-*	.070	.000	-3.363-	-3.082-
	200	-5.444-*	.070	.000	-5.585-	-5.304-
100	50	1.000*	.070	.000	.859	1.141
	150	-2.222-*	.070	.000	-2.363-	-2.082-
	200	-4.444-*	.070	.000	-4.585-	-4.304-
150	50	3.222*	.070	.000	3.082	3.363
	100	2.222*	.070	.000	2.082	2.363
	200	-2.222-*	.070	.000	-2.363-	-2.082-
200	50	5.444*	.070	.000	5.304	5.585
	100	4.444*	.070	.000	4.304	4.585
	150	2.222*	.070	.000	2.082	2.363

Based on estimated marginal means

*. The mean difference is significant at the .05 level.

a. Adjustment for multiple comparisons: Least Significant Difference (equivalent to no adjustments).

Univariate Tests

Dependent Variable:إيثانول

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Contrast	317.944	3	105.981	2384.583	.000
Error	2.667	60	.044		

The F tests the effect of المستخلص. This test is based on the linearly independent pairwise comparisons among the estimated marginal means.

3. الزمن * المستخلص

Dependent Variable:إيثانول

				95% Confidence Interval	
الزمن	المستخلص	Mean	Std. Error	Lower Bound	Upper Bound
4-Days	50	.000	.086	-.172-	.172
	100	2.220E-15	.086	-.172-	.172
	150	2.000	.086	1.828	2.172
	200	5.000	.086	4.828	5.172
8-Days	50	8.000	.086	7.828	8.172
	100	9.000	.086	8.828	9.172
	150	11.667	.086	11.495	11.839
	200	14.000	.086	13.828	14.172
12-Days	50	12.000	.086	11.828	12.172
	100	14.000	.086	13.828	14.172
	150	16.000	.086	15.828	16.172
	200	17.333	.086	17.161	17.505

Univariate Analysis of Variance

Descriptive Statistics

Dependent Variable:بتروليوم

الزمن	المستخلص	Mean	Std. Deviation	N
4-Days	50	3.50	.548	6
	100	5.50	.548	6
	150	7.33	.516	6
	200	8.00	.000	6
	Total	6.08	1.840	24
8-Days	50	10.00	.000	6
	100	12.00	.000	6
	150	14.00	.000	6
	200	15.50	.548	6
	Total	12.88	2.133	24
12-Days	50	14.00	.000	6
	100	16.00	.000	6
	150	18.00	.000	6
	200	25.00	.000	6
	Total	18.25	4.235	24
Total	50	9.17	4.462	18
	100	11.17	4.462	18
	150	13.11	4.536	18
	200	16.17	7.164	18
	Total	12.40	5.789	72

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:بتروليوم

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	2373.486[a]	11	215.771	2219.364	.000
Intercept	11075.681	1	11075.681	113921.286	.000
الزمن	1784.361	2	892.181	9176.714	.000
المستخلص	480.042	3	160.014	1645.857	.000
الزمن * المستخلص	109.083	6	18.181	187.000	.000
Error	5.833	60	.097		
Total	13455.000	72			
Corrected Total	2379.319	71			

a. R Squared = .998 (Adjusted R Squared = .997)

Estimated Marginal Means

1. الزمن

Estimates

Dependent Variable:بتروليوم

الزمن	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
4-Days	6.083	.064	5.956	6.211
8-Days	12.875	.064	12.748	13.002
12-Days	18.250	.064	18.123	18.377

Pairwise Comparisons

Dependent Variable:بتروليوم

(I) الزمن	(J) الزمن	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.[a]	95% Confidence Interval for Difference[a]	
					Lower Bound	Upper Bound
4-Days	8-Days	-6.792-*	.090	.000	-6.972-	-6.612-
	12-Days	-12.167-*	.090	.000	-12.347-	-11.987-
8-Days	4-Days	6.792*	.090	.000	6.612	6.972
	12-Days	-5.375-*	.090	.000	-5.555-	-5.195-
12-Days	4-Days	12.167*	.090	.000	11.987	12.347
	8-Days	5.375*	.090	.000	5.195	5.555

Based on estimated marginal means

*. The mean difference is significant at the .05 level.

a. Adjustment for multiple comparisons: Least Significant Difference (equivalent to no adjustments).

Univariate Tests

Dependent Variable:بترولیوم

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Contrast	1784.361	2	892.181	9176.714	.000
Error	5.833	60	.097		

The F tests the effect of الزمن. This test is based on the linearly independent pairwise comparisons among the estimated marginal means.

2. المستخلص

Estimates

Dependent Variable:بترولیوم

			95% Confidence Interval	
المستخلص	Mean	Std. Error	Lower Bound	Upper Bound
50	9.167	.073	9.020	9.314
100	11.167	.073	11.020	11.314
150	13.111	.073	12.964	13.258
200	16.167	.073	16.020	16.314

Pairwise Comparisons

Dependent Variable:بترولیوم

(I) المستخلص	(J) المستخلص	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.[a]	95% Confidence Interval for Difference[a]	
					Lower Bound	Upper Bound
50	100	-2.000-*	.104	.000	-2.208-	-1.792-
	150	-3.944-*	.104	.000	-4.152-	-3.737-
	200	-7.000-*	.104	.000	-7.208-	-6.792-
100	50	2.000*	.104	.000	1.792	2.208
	150	-1.944-*	.104	.000	-2.152-	-1.737-
	200	-5.000-*	.104	.000	-5.208-	-4.792-
150	50	3.944*	.104	.000	3.737	4.152
	100	1.944*	.104	.000	1.737	2.152
	200	-3.056-*	.104	.000	-3.263-	-2.848-
200	50	7.000*	.104	.000	6.792	7.208
	100	5.000*	.104	.000	4.792	5.208
	150	3.056*	.104	.000	2.848	3.263

Based on estimated marginal means

*. The mean difference is significant at the .05 level.

a. Adjustment for multiple comparisons: Least Significant Difference (equivalent to no adjustments).

Univariate Tests

Dependent Variable:بتروليوم

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Contrast	480.042	3	160.014	1645.857	.000
Error	5.833	60	.097		

The F tests the effect of المستخلص. This test is based on the linearly independent pairwise comparisons among the estimated marginal means.

3. الزمن * المستخلص

Dependent Variable:بتروليوم

				95% Confidence Interval	
الزمن	المستخلص	Mean	Std. Error	Lower Bound	Upper Bound
4-Days	50	3.500	.127	3.245	3.755
	100	5.500	.127	5.245	5.755
	150	7.333	.127	7.079	7.588
	200	8.000	.127	7.745	8.255
8-Days	50	10.000	.127	9.745	10.255
	100	12.000	.127	11.745	12.255
	150	14.000	.127	13.745	14.255
	200	15.500	.127	15.245	15.755
12-Days	50	14.000	.127	13.745	14.255
	100	16.000	.127	15.745	16.255
	150	18.000	.127	17.745	18.255
	200	25.000	.127	24.745	25.255

Univariate Analysis of Variance

Descriptive Statistics

Dependent Variable:بتروليوم

الزمن	المستخلص	Mean	Std. Deviation	N
4-Days	50	.00	.000	6
	100	.00	.000	6
	150	.00	.000	6
	200	.00	.000	6
	Total	.00	.000	24
8-Days	50	.00	.000	6
	100	9.33	.516	6
	150	11.67	.516	6
	200	15.50	.548	6
	Total	9.13	5.848	24
12-Days	50	9.00	.000	6
	100	11.00	.000	6
	150	14.00	.000	6
	200	16.00	.000	6
	Total	12.50	2.750	24
Total	50	3.00	4.366	18
	100	6.78	4.989	18
	150	8.56	6.308	18
	200	10.50	7.649	18
	Total	7.21	6.465	72

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:بتروليوم

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	2963.708[a]	11	269.428	3879.764	.000
Intercept	3741.125	1	3741.125	53872.200	.000
الزمن	2007.250	2	1003.625	14452.200	.000
المستخلص	549.819	3	183.273	2639.133	.000
الزمن * المستخلص	406.639	6	67.773	975.933	.000
Error	4.167	60	.069		
Total	6709.000	72			
Corrected Total	2967.875	71			

a. R Squared = .999 (Adjusted R Squared = .998)

Estimated Marginal Means

1. الزمن

Estimates

Dependent Variable:بتروليوم

الزمن	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
4-Days	-3.442E-15	.054	-.108-	.108
8-Days	9.125	.054	9.017	9.233
12-Days	12.500	.054	12.392	12.608

Pairwise Comparisons

Dependent Variable:بتروليوم

(I) الزمن	(J) الزمن	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.[a]	95% Confidence Interval for Difference[a]	
					Lower Bound	Upper Bound
4-Days	8-Days	-9.125-*	.076	.000	-9.277-	-8.973-
	12-Days	-12.500-*	.076	.000	-12.652-	-12.348-
8-Days	4-Days	9.125*	.076	.000	8.973	9.277
	12-Days	-3.375-*	.076	.000	-3.527-	-3.223-
12-Days	4-Days	12.500*	.076	.000	12.348	12.652
	8-Days	3.375*	.076	.000	3.223	3.527

Based on estimated marginal means

Pairwise Comparisons

Dependent Variable:بترولیوم

(I) الزمن	(J) الزمن	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.[a]	95% Confidence Interval for Difference[a]	
					Lower Bound	Upper Bound
4-Days	8-Days	-9.125-*	.076	.000	-9.277-	-8.973-
	12-Days	-12.500-*	.076	.000	-12.652-	-12.348-
8-Days	4-Days	9.125*	.076	.000	8.973	9.277
	12-Days	-3.375-*	.076	.000	-3.527-	-3.223-
12-Days	4-Days	12.500*	.076	.000	12.348	12.652
	8-Days	3.375*	.076	.000	3.223	3.527

Based on estimated marginal means

*. The mean difference is significant at the .05 level.

a. Adjustment for multiple comparisons: Least Significant Difference (equivalent to no adjustments).

Univariate Tests

Dependent Variable:بترولیوم

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Contrast	2007.250	2	1003.625	14452.200	.000
Error	4.167	60	.069		

The F tests the effect of الزمن. This test is based on the linearly independent pairwise comparisons among the estimated marginal means.

2. المستخلص

Estimates

Dependent Variable:بترولیوم

المستخلص	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
50	3.000	.062	2.876	3.124
100	6.778	.062	6.654	6.902
150	8.556	.062	8.431	8.680
200	10.500	.062	10.376	10.624

Pairwise Comparisons

Dependent Variable:بترولیوم

(I) المستخلص	(J) المستخلص	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.[a]	95% Confidence Interval for Difference[a]	
					Lower Bound	Upper Bound
50	100	-3.778-*	.088	.000	-3.953-	-3.602-
	150	-5.556-*	.088	.000	-5.731-	-5.380-
	200	-7.500-*	.088	.000	-7.676-	-7.324-
100	50	3.778*	.088	.000	3.602	3.953
	150	-1.778-*	.088	.000	-1.953-	-1.602-
	200	-3.722-*	.088	.000	-3.898-	-3.547-
150	50	5.556*	.088	.000	5.380	5.731
	100	1.778*	.088	.000	1.602	1.953
	200	-1.944-*	.088	.000	-2.120-	-1.769-
200	50	7.500*	.088	.000	7.324	7.676
	100	3.722*	.088	.000	3.547	3.898
	150	1.944*	.088	.000	1.769	2.120

Based on estimated marginal means

*. The mean difference is significant at the .05 level.

a. Adjustment for multiple comparisons: Least Significant Difference (equivalent to no adjustments).

Univariate Tests

Dependent Variable:بترولیوم

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Contrast	549.819	3	183.273	2639.133	.000
Error	4.167	60	.069		

The F tests the effect of المستخلص. This test is based on the linearly independent pairwise comparisons among the estimated marginal means.

3. الزمن * المستخلص

Dependent Variable:بتروليوم

الزمن	المستخلص	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
				Lower Bound	Upper Bound
4-Days	50	-3.553E-15	.108	-.215-	.215
	100	-3.553E-15	.108	-.215-	.215
	150	-3.109E-15	.108	-.215-	.215
	200	-3.553E-15	.108	-.215-	.215
8-Days	50	-2.720E-15	.108	-.215-	.215
	100	9.333	.108	9.118	9.549
	150	11.667	.108	11.451	11.882
	200	15.500	.108	15.285	15.715
12-Days	50	9.000	.108	8.785	9.215
	100	11.000	.108	10.785	11.215
	150	14.000	.108	13.785	14.215
	200	16.000	.108	15.785	16.215

Univariate Analysis of Variance

Descriptive Statistics

Dependent Variable:إيثانول

الزمن	المستخلص	Mean	Std. Deviation	N
4-Days	50	.00	.000	6
	100	.00	.000	6
	150	2.00	.000	6
	200	5.00	.000	6
	Total	1.75	2.090	24
8-Days	50	8.00	.000	6
	100	9.00	.000	6
	150	11.67	.516	6
	200	14.00	.000	6
	Total	10.67	2.408	24
12-Days	50	12.00	.000	6
	100	14.00	.000	6
	150	16.00	.000	6
	200	17.33	.516	6
	Total	14.83	2.078	24
Total	50	6.67	5.134	18
	100	7.67	5.961	18
	150	9.89	6.028	18
	200	12.11	5.368	18
	Total	9.08	5.907	72

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:إيثانول

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	2474.833[a]	11	224.985	5062.159	.000
Intercept	5940.500	1	5940.500	133661.250	.000
الزمن	2144.333	2	1072.167	24123.750	.000
المستخلص	317.944	3	105.981	2384.583	.000
الزمن * المستخلص	12.556	6	2.093	47.083	.000
Error	2.667	60	.044		
Total	8418.000	72			
Corrected Total	2477.500	71			

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:إيثانول

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	2474.833[a]	11	224.985	5062.159	.000
Intercept	5940.500	1	5940.500	133661.250	.000
الزمن	2144.333	2	1072.167	24123.750	.000
المستخلص	317.944	3	105.981	2384.583	.000
الزمن * المستخلص	12.556	6	2.093	47.083	.000
Error	2.667	60	.044		
Total	8418.000	72			
Corrected Total	2477.500	71			

a. R Squared = .999 (Adjusted R Squared = .999)

Estimated Marginal Means

1. الزمن

Estimates

Dependent Variable:إيثانول

الزمن	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
4-Days	1.750	.043	1.664	1.836
8-Days	10.667	.043	10.581	10.753
12-Days	14.833	.043	14.747	14.919

Pairwise Comparisons

Dependent Variable:إيثانول

(I) الزمن	(J) الزمن	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.[a]	95% Confidence Interval for Difference[a]	
					Lower Bound	Upper Bound
4-Days	8-Days	-8.917-*	.061	.000	-9.038-	-8.795-
	12-Days	-13.083-*	.061	.000	-13.205-	-12.962-
8-Days	4-Days	8.917*	.061	.000	8.795	9.038
	12-Days	-4.167-*	.061	.000	-4.288-	-4.045-
12-Days	4-Days	13.083*	.061	.000	12.962	13.205
	8-Days	4.167*	.061	.000	4.045	4.288

Based on estimated marginal means

Pairwise Comparisons

Dependent Variable:إيثانول

(I) الزمن	(J) الزمن	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.[a]	95% Confidence Interval for Difference[a]	
					Lower Bound	Upper Bound
4-Days	8-Days	-8.917-*	.061	.000	-9.038-	-8.795-
	12-Days	-13.083-*	.061	.000	-13.205-	-12.962-
8-Days	4-Days	8.917*	.061	.000	8.795	9.038
	12-Days	-4.167-*	.061	.000	-4.288-	-4.045-
12-Days	4-Days	13.083*	.061	.000	12.962	13.205
	8-Days	4.167*	.061	.000	4.045	4.288

Based on estimated marginal means

*. The mean difference is significant at the .05 level.

a. Adjustment for multiple comparisons: Least Significant Difference (equivalent to no adjustments).

Univariate Tests

Dependent Variable:إيثانول

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Contrast	2144.333	2	1072.167	24123.750	.000
Error	2.667	60	.044		

The F tests the effect of الزمن. This test is based on the linearly independent pairwise comparisons among the estimated marginal means.

2. المستخلص

Estimates

Dependent Variable:إيثانول

المستخلص	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
50	6.667	.050	6.567	6.766
100	7.667	.050	7.567	7.766
150	9.889	.050	9.789	9.988
200	12.111	.050	12.012	12.211

Pairwise Comparisons

Dependent Variable:إيثانول

(I) المستخلص	(J) المستخلص	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.[a]	95% Confidence Interval for Difference[a]	
					Lower Bound	Upper Bound
50	100	-1.000-*	.070	.000	-1.141-	-.859-
	150	-3.222-*	.070	.000	-3.363-	-3.082-
	200	-5.444-*	.070	.000	-5.585-	-5.304-
100	50	1.000*	.070	.000	.859	1.141
	150	-2.222-*	.070	.000	-2.363-	-2.082-
	200	-4.444-*	.070	.000	-4.585-	-4.304-
150	50	3.222*	.070	.000	3.082	3.363
	100	2.222*	.070	.000	2.082	2.363
	200	-2.222-*	.070	.000	-2.363-	-2.082-
200	50	5.444*	.070	.000	5.304	5.585
	100	4.444*	.070	.000	4.304	4.585
	150	2.222*	.070	.000	2.082	2.363

Based on estimated marginal means

*. The mean difference is significant at the .05 level.

a. Adjustment for multiple comparisons: Least Significant Difference (equivalent to no adjustments).

Univariate Tests

Dependent Variable:إيثانول

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Contrast	317.944	3	105.981	2384.583	.000
Error	2.667	60	.044		

The F tests the effect of المستخلص. This test is based on the linearly independent pairwise comparisons among the estimated marginal means.

3. الزمن * المستخلص

Dependent Variable:إيثانول

الزمن	المستخلص	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
				Lower Bound	Upper Bound
4-Days	50	.000	.086	-.172-	.172
	100	2.220E-15	.086	-.172-	.172
	150	2.000	.086	1.828	2.172
	200	5.000	.086	4.828	5.172
8-Days	50	8.000	.086	7.828	8.172
	100	9.000	.086	8.828	9.172
	150	11.667	.086	11.495	11.839
	200	14.000	.086	13.828	14.172
12-Days	50	12.000	.086	11.828	12.172
	100	14.000	.086	13.828	14.172
	150	16.000	.086	15.828	16.172
	200	17.333	.086	17.161	17.505

Univariate Analysis of Variance

Descriptive Statistics

Dependent Variable:بتروليوم

الزمن	المستخلص	Mean	Std. Deviation	N
4-Days	50	3.50	.548	6
	100	5.50	.548	6
	150	7.33	.516	6
	200	8.00	.000	6
	Total	6.08	1.840	24
8-Days	50	10.00	.000	6
	100	12.00	.000	6
	150	14.00	.000	6
	200	15.50	.548	6
	Total	12.88	2.133	24
12-Days	50	14.00	.000	6
	100	16.00	.000	6
	150	18.00	.000	6
	200	25.00	.000	6
	Total	18.25	4.235	24
Total	50	9.17	4.462	18
	100	11.17	4.462	18
	150	13.11	4.536	18
	200	16.17	7.164	18
	Total	12.40	5.789	72

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:بتروليوم

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	2373.486[a]	11	215.771	2219.364	.000
Intercept	11075.681	1	11075.681	113921.286	.000
الزمن	1784.361	2	892.181	9176.714	.000
المستخلص	480.042	3	160.014	1645.857	.000
الزمن * المستخلص	109.083	6	18.181	187.000	.000
Error	5.833	60	.097		
Total	13455.000	72			
Corrected Total	2379.319	71			

a. R Squared = .998 (Adjusted R Squared = .997)

Estimated Marginal Means

1. الزمن

Estimates

Dependent Variable:بتروليوم

الزمن	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
4-Days	6.083	.064	5.956	6.211
8-Days	12.875	.064	12.748	13.002
12-Days	18.250	.064	18.123	18.377

Pairwise Comparisons

Dependent Variable:بتروليوم

(I) الزمن	(J) الزمن	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.[a]	95% Confidence Interval for Difference[a]	
					Lower Bound	Upper Bound
4-Days	8-Days	-6.792-*	.090	.000	-6.972-	-6.612-
	12-Days	-12.167-*	.090	.000	-12.347-	-11.987-
8-Days	4-Days	6.792*	.090	.000	6.612	6.972
	12-Days	-5.375-*	.090	.000	-5.555-	-5.195-
12-Days	4-Days	12.167*	.090	.000	11.987	12.347
	8-Days	5.375*	.090	.000	5.195	5.555

Based on estimated marginal means

*. The mean difference is significant at the .05 level.

a. Adjustment for multiple comparisons: Least Significant Difference (equivalent to no adjustments).

Univariate Tests

Dependent Variable:بتروليوم

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Contrast	1784.361	2	892.181	9176.714	.000
Error	5.833	60	.097		

The F tests the effect of الزمن. This test is based on the linearly independent pairwise comparisons among the estimated marginal means.

2. المستخلص

Estimates

Dependent Variable:بتروليوم

المستخلص	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
50	9.167	.073	9.020	9.314
100	11.167	.073	11.020	11.314
150	13.111	.073	12.964	13.258
200	16.167	.073	16.020	16.314

Pairwise Comparisons

Dependent Variable:بتروليوم

(I) المستخلص	(J) المستخلص	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.[a]	95% Confidence Interval for Difference[a]	
					Lower Bound	Upper Bound
50	100	-2.000-*	.104	.000	-2.208-	-1.792-
	150	-3.944-*	.104	.000	-4.152-	-3.737-
	200	-7.000-*	.104	.000	-7.208-	-6.792-
100	50	2.000*	.104	.000	1.792	2.208
	150	-1.944-*	.104	.000	-2.152-	-1.737-
	200	-5.000-*	.104	.000	-5.208-	-4.792-
150	50	3.944*	.104	.000	3.737	4.152
	100	1.944*	.104	.000	1.737	2.152
	200	-3.056-*	.104	.000	-3.263-	-2.848-
200	50	7.000*	.104	.000	6.792	7.208
	100	5.000*	.104	.000	4.792	5.208
	150	3.056*	.104	.000	2.848	3.263

Based on estimated marginal means

*. The mean difference is significant at the .05 level.

a. Adjustment for multiple comparisons: Least Significant Difference (equivalent to no adjustments).

Univariate Tests

Dependent Variable:بتروليوم

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Contrast	480.042	3	160.014	1645.857	.000
Error	5.833	60	.097		

The F tests the effect of المستخلص. This test is based on the linearly independent pairwise comparisons among the estimated marginal means.

3. الزمن * المستخلص

Dependent Variable:بتروليوم

الزمن	المستخلص	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
				Lower Bound	Upper Bound
4-Days	50	3.500	.127	3.245	3.755
	100	5.500	.127	5.245	5.755
	150	7.333	.127	7.079	7.588
	200	8.000	.127	7.745	8.255
8-Days	50	10.000	.127	9.745	10.255
	100	12.000	.127	11.745	12.255
	150	14.000	.127	13.745	14.255
	200	15.500	.127	15.245	15.755
12-Days	50	14.000	.127	13.745	14.255
	100	16.000	.127	15.745	16.255
	150	18.000	.127	17.745	18.255
	200	25.000	.127	24.745	25.255

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

		Value Label	N
الزمن	1	4-Days	24
	2	8-Days	24
	3	12-Days	24
المستخلص	1	50	18
	2	100	18
	3	150	18
	4	200	18

Descriptive Statistics

Dependent Variable:ميثانول

الزمن	المستخلص	Mean	Std. Deviation	N
4-Days	50	9.67	.516	6
	100	11.00	.000	6
	150	13.33	.516	6
	200	14.00	.000	6
	Total	12.00	1.818	24
8-Days	50	12.00	.000	6
	100	14.00	.000	6
	150	16.00	.000	6
	200	14.00	.000	6
	Total	14.00	1.445	24
12-Days	50	12.00	.000	6
	100	14.00	.000	6
	150	16.50	.548	6
	200	18.00	.000	6
	Total	15.13	2.365	24
Total	50	11.22	1.166	18
	100	13.00	1.455	18
	150	15.28	1.487	18
	200	15.33	1.940	18
	Total	13.71	2.292	72

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:ميثانول

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	368.708[a]	11	33.519	482.673	.000
Intercept	13530.125	1	13530.125	194833.800	.000
الزمن	120.250	2	60.125	865.800	.000
المستخلص	212.153	3	70.718	1018.333	.000
الزمن * المستخلص	36.306	6	6.051	87.133	.000
Error	4.167	60	.069		
Total	13903.000	72			
Corrected Total	372.875	71			

a. R Squared = .989 (Adjusted R Squared = .987)

Estimated Marginal Means

1. الزمن

Estimates

Dependent Variable:ميثانول

الزمن	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
4-Days	12.000	.054	11.892	12.108
8-Days	14.000	.054	13.892	14.108
12-Days	15.125	.054	15.017	15.233

Pairwise Comparisons

Dependent Variable:ميثانول

(I) الزمن	(J) الزمن	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.[a]	95% Confidence Interval for Difference[a]	
					Lower Bound	Upper Bound
4-Days	8-Days	-2.000-*	.076	.000	-2.152-	-1.848-
	12-Days	-3.125-*	.076	.000	-3.277-	-2.973-
8-Days	4-Days	2.000*	.076	.000	1.848	2.152
	12-Days	-1.125-*	.076	.000	-1.277-	-.973-
12-Days	4-Days	3.125*	.076	.000	2.973	3.277
	8-Days	1.125*	.076	.000	.973	1.277

Based on estimated marginal means

*. The mean difference is significant at the .05 level.

a. Adjustment for multiple comparisons: Least Significant Difference (equivalent to no adjustments).

Univariate Tests

Dependent Variable:ميثانول

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Contrast	120.250	2	60.125	865.800	.000
Error	4.167	60	.069		

The F tests the effect of الزمن. This test is based on the linearly independent pairwise comparisons among the estimated marginal means.

2. المستخلص

Estimates

Dependent Variable:ميثانول

			95% Confidence Interval	
المستخلص	Mean	Std. Error	Lower Bound	Upper Bound
50	11.222	.062	11.098	11.346
100	13.000	.062	12.876	13.124
150	15.278	.062	15.154	15.402
200	15.333	.062	15.209	15.458

Pairwise Comparisons

Dependent Variable:ميثانول

(I) المستخلص	(J) المستخلص	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.[a]	95% Confidence Interval for Difference[a]	
					Lower Bound	Upper Bound
50	100	-1.778-*	.088	.000	-1.953-	-1.602-
	150	-4.056-*	.088	.000	-4.231-	-3.880-
	200	-4.111-*	.088	.000	-4.287-	-3.935-
100	50	1.778*	.088	.000	1.602	1.953
	150	-2.278-*	.088	.000	-2.453-	-2.102-
	200	-2.333-*	.088	.000	-2.509-	-2.158-
150	50	4.056*	.088	.000	3.880	4.231
	100	2.278*	.088	.000	2.102	2.453
	200	-.056-	.088	.529	-.231-	.120
200	50	4.111*	.088	.000	3.935	4.287
	100	2.333*	.088	.000	2.158	2.509
	150	.056	.088	.529	-.120-	.231

Based on estimated marginal means

*. The mean difference is significant at the .05 level.

a. Adjustment for multiple comparisons: Least Significant Difference (equivalent to no adjustments).

Univariate Tests

Dependent Variable:ميثانول

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Contrast	212.153	3	70.718	1018.333	.000
Error	4.167	60	.069		

The F tests the effect of المستخلص. This test is based on the linearly independent pairwise comparisons among the estimated marginal means.

3. الزمن * المستخلص

Dependent Variable:ميثانول

				95% Confidence Interval	
الزمن	المستخلص	Mean	Std. Error	Lower Bound	Upper Bound
4-Days	50	9.667	.108	9.451	9.882
	100	11.000	.108	10.785	11.215
	150	13.333	.108	13.118	13.549
	200	14.000	.108	13.785	14.215
8-Days	50	12.000	.108	11.785	12.215
	100	14.000	.108	13.785	14.215
	150	16.000	.108	15.785	16.215
	200	14.000	.108	13.785	14.215
12-Days	50	12.000	.108	11.785	12.215
	100	14.000	.108	13.785	14.215
	150	16.500	.108	16.285	16.715
	200	18.000	.108	17.785	18.215

Univariate Analysis of Variance

Descriptive Statistics

Dependent Variable:إيثانول

الزمن	المستخلص	Mean	Std. Deviation	N
4-Days	50	9.00	.894	6
	100	11.33	.516	6
	150	13.50	.548	6
	200	14.50	.548	6
	Total	12.08	2.244	24
8-Days	50	10.00	.000	6
	100	12.00	.000	6
	150	14.00	.000	6
	200	16.00	.000	6
	Total	13.00	2.284	24
12-Days	50	10.00	.000	6
	100	12.00	.000	6
	150	14.00	.000	6
	200	16.00	.000	6
	Total	13.00	2.284	24
Total	50	9.67	.686	18
	100	11.78	.428	18
	150	13.83	.383	18
	200	15.50	.786	18
	Total	12.69	2.281	72

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:إيثانول

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	360.944[a]	11	32.813	236.255	.000
Intercept	11602.722	1	11602.722	83539.600	.000
الزمن	13.444	2	6.722	48.400	.000
المستخلص	345.167	3	115.056	828.400	.000
الزمن * المستخلص	2.333	6	.389	2.800	.018
Error	8.333	60	.139		
Total	11972.000	72			
Corrected Total	369.278	71			

a. R Squared = .977 (Adjusted R Squared = .973)

Estimated Marginal Means

1. الزمن

Estimates

Dependent Variable:إيثانول

الزمن	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
4-Days	12.083	.076	11.931	12.236
8-Days	13.000	.076	12.848	13.152
12-Days	13.000	.076	12.848	13.152

Pairwise Comparisons

Dependent Variable:إيثانول

(I) الزمن	(J) الزمن	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.[a]	95% Confidence Interval for Difference[a]	
					Lower Bound	Upper Bound
4-Days	8-Days	-.917-*	.108	.000	-1.132-	-.701-
	12-Days	-.917-*	.108	.000	-1.132-	-.701-
8-Days	4-Days	.917*	.108	.000	.701	1.132
	12-Days	2.572E-15	.108	1.000	-.215-	.215
12-Days	4-Days	.917*	.108	.000	.701	1.132
	8-Days	-2.572E-15	.108	1.000	-.215-	.215

Based on estimated marginal means

*. The mean difference is significant at the .05 level.

a. Adjustment for multiple comparisons: Least Significant Difference (equivalent to no adjustments).

Univariate Tests

Dependent Variable:إيثانول

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Contrast	13.444	2	6.722	48.400	.000
Error	8.333	60	.139		

The F tests the effect of الزمن. This test is based on the linearly independent pairwise comparisons among the estimated marginal means.

2. المستخلص

Estimates

Dependent Variable:إيثانول

المستخلص	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
50	9.667	.088	9.491	9.842
100	11.778	.088	11.602	11.953
150	13.833	.088	13.658	14.009
200	15.500	.088	15.324	15.676

Pairwise Comparisons

Dependent Variable:إيثانول

(I) المستخلص	(J) المستخلص	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.[a]	95% Confidence Interval for Difference[a]	
					Lower Bound	Upper Bound
50	100	-2.111-*	.124	.000	-2.360-	-1.863-
	150	-4.167-*	.124	.000	-4.415-	-3.918-
	200	-5.833-*	.124	.000	-6.082-	-5.585-
100	50	2.111*	.124	.000	1.863	2.360
	150	-2.056-*	.124	.000	-2.304-	-1.807-
	200	-3.722-*	.124	.000	-3.971-	-3.474-
150	50	4.167*	.124	.000	3.918	4.415
	100	2.056*	.124	.000	1.807	2.304
	200	-1.667-*	.124	.000	-1.915-	-1.418-
200	50	5.833*	.124	.000	5.585	6.082
	100	3.722*	.124	.000	3.474	3.971
	150	1.667*	.124	.000	1.418	1.915

Based on estimated marginal means

*. The mean difference is significant at the .05 level.

a. Adjustment for multiple comparisons: Least Significant Difference (equivalent to no adjustments).

Univariate Tests

Dependent Variable:إيثانول

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Contrast	345.167	3	115.056	828.400	.000
Error	8.333	60	.139		

The F tests the effect of المستخلص. This test is based on the linearly independent pairwise comparisons among the estimated marginal means.

3. الزمن * المستخلص

Dependent Variable:إيثانول

				95% Confidence Interval	
الزمن	المستخلص	Mean	Std. Error	Lower Bound	Upper Bound
4-Days	50	9.000	.152	8.696	9.304
	100	11.333	.152	11.029	11.638
	150	13.500	.152	13.196	13.804
	200	14.500	.152	14.196	14.804
8-Days	50	10.000	.152	9.696	10.304
	100	12.000	.152	11.696	12.304
	150	14.000	.152	13.696	14.304
	200	16.000	.152	15.696	16.304
12-Days	50	10.000	.152	9.696	10.304
	100	12.000	.152	11.696	12.304
	150	14.000	.152	13.696	14.304
	200	16.000	.152	15.696	16.304

Univariate Analysis of Variance

Descriptive Statistics

Dependent Variable:اسيتون

الزمن	المستخلص	Mean	Std. Deviation	N
4-Days	50	8.50	.548	6
	100	10.50	.548	6
	150	11.50	.548	6
	200	13.50	.548	6
	Total	11.00	1.911	24
8-Days	50	11.00	.000	6
	100	13.00	.000	6
	150	15.50	.548	6
	200	16.67	.516	6
	Total	14.04	2.274	24
12-Days	50	12.00	.000	6
	100	14.00	.000	6
	150	16.00	.000	6
	200	18.00	.000	6
	Total	15.00	2.284	24
Total	50	10.50	1.543	18
	100	12.50	1.543	18
	150	14.33	2.114	18
	200	16.06	1.984	18
	Total	13.35	2.738	72

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:اسيتون

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	523.486[a]	11	47.590	323.250	.000
Intercept	12826.681	1	12826.681	87124.623	.000
الزمن	209.361	2	104.681	711.038	.000
المستخلص	308.375	3	102.792	698.208	.000
الزمن * المستخلص	5.750	6	.958	6.509	.000
Error	8.833	60	.147		
Total	13359.000	72			
Corrected Total	532.319	71			

a. R Squared = .983 (Adjusted R Squared = .980)

Estimated Marginal Means

1. الزمن

Estimates

Dependent Variable:اسيتون

الزمن	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
4-Days	11.000	.078	10.843	11.157
8-Days	14.042	.078	13.885	14.198
12-Days	15.000	.078	14.843	15.157

Pairwise Comparisons

Dependent Variable:اسيتون

(I) الزمن	(J) الزمن	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.[a]	95% Confidence Interval for Difference[a]	
					Lower Bound	Upper Bound
4-Days	8-Days	-3.042-*	.111	.000	-3.263-	-2.820-
	12-Days	-4.000-*	.111	.000	-4.222-	-3.778-
8-Days	4-Days	3.042*	.111	.000	2.820	3.263
	12-Days	-.958-*	.111	.000	-1.180-	-.737-
12-Days	4-Days	4.000*	.111	.000	3.778	4.222
	8-Days	.958*	.111	.000	.737	1.180

Based on estimated marginal means

*. The mean difference is significant at the .05 level.

a. Adjustment for multiple comparisons: Least Significant Difference (equivalent to no adjustments).

Univariate Tests

Dependent Variable:اسيتون

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Contrast	209.361	2	104.681	711.038	.000
Error	8.833	60	.147		

The F tests the effect of الزمن. This test is based on the linearly independent pairwise comparisons among the estimated marginal means.

2. المستخلص

Estimates

Dependent Variable:اسيتون

المستخلص	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
50	10.500	.090	10.319	10.681
100	12.500	.090	12.319	12.681
150	14.333	.090	14.152	14.514
200	16.056	.090	15.875	16.236

Pairwise Comparisons

Dependent Variable:اسيتون

(I) المستخلص	(J) المستخلص	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.[a]	95% Confidence Interval for Difference[a]	
					Lower Bound	Upper Bound
50	100	-2.000-*	.128	.000	-2.256-	-1.744-
	150	-3.833-*	.128	.000	-4.089-	-3.577-
	200	-5.556-*	.128	.000	-5.811-	-5.300-
100	50	2.000*	.128	.000	1.744	2.256
	150	-1.833-*	.128	.000	-2.089-	-1.577-
	200	-3.556-*	.128	.000	-3.811-	-3.300-
150	50	3.833*	.128	.000	3.577	4.089
	100	1.833*	.128	.000	1.577	2.089
	200	-1.722-*	.128	.000	-1.978-	-1.466-
200	50	5.556*	.128	.000	5.300	5.811
	100	3.556*	.128	.000	3.300	3.811
	150	1.722*	.128	.000	1.466	1.978

Based on estimated marginal means

*. The mean difference is significant at the .05 level.

a. Adjustment for multiple comparisons: Least Significant Difference (equivalent to no adjustments).

Univariate Tests

Dependent Variable:اسيتون

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Contrast	308.375	3	102.792	698.208	.000
Error	8.833	60	.147		

The F tests the effect of المستخلص. This test is based on the linearly independent pairwise comparisons among the estimated marginal means.

3. الزمن * المستخلص

Dependent Variable:اسيتون

				95% Confidence Interval	
الزمن	المستخلص	Mean	Std. Error	Lower Bound	Upper Bound
4-Days	50	8.500	.157	8.187	8.813
	100	10.500	.157	10.187	10.813
	150	11.500	.157	11.187	11.813
	200	13.500	.157	13.187	13.813
8-Days	50	11.000	.157	10.687	11.313
	100	13.000	.157	12.687	13.313
	150	15.500	.157	15.187	15.813
	200	16.667	.157	16.353	16.980
12-Days	50	12.000	.157	11.687	12.313
	100	14.000	.157	13.687	14.313
	150	16.000	.157	15.687	16.313
	200	18.000	.157	17.687	18.313

Univariate Analysis of Variance

Descriptive Statistics

Dependent Variable:بتروليوم

الزمن	المستخلص	Mean	Std. Deviation	N
4-Days	50	14.00	.000	6
	100	10.67	.516	6
	150	16.50	.548	6
	200	19.00	.894	6
	Total	15.04	3.196	24
8-Days	50	17.00	.000	6
	100	19.00	.000	6
	150	20.50	.548	6
	200	22.67	.516	6
	Total	19.79	2.146	24
12-Days	50	17.00	.000	6
	100	19.00	.000	6
	150	21.50	.548	6
	200	23.00	.000	6
	Total	20.13	2.365	24
Total	50	16.00	1.455	18
	100	16.22	4.052	18
	150	19.50	2.282	18
	200	21.56	1.947	18
	Total	18.32	3.476	72

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:بتروليوم

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	846.486[a]	11	76.953	413.480	.000
Intercept	24163.347	1	24163.347	129832.910	.000
الزمن	388.111	2	194.056	1042.687	.000
المستخلص	389.597	3	129.866	697.786	.000
الزمن * المستخلص	68.778	6	11.463	61.592	.000
Error	11.167	60	.186		
Total	25021.000	72			
Corrected Total	857.653	71			

a. R Squared = .987 (Adjusted R Squared = .985)

Estimated Marginal Means

1. الزمن

Estimates

Dependent Variable:بترولیوم

الزمن	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
4-Days	15.042	.088	14.866	15.218
8-Days	19.792	.088	19.616	19.968
12-Days	20.125	.088	19.949	20.301

Pairwise Comparisons

Dependent Variable:بترولیوم

(I) الزمن	(J) الزمن	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.[a]	95% Confidence Interval for Difference[a]	
					Lower Bound	Upper Bound
4-Days	8-Days	-4.750-*	.125	.000	-4.999-	-4.501-
	12-Days	-5.083-*	.125	.000	-5.332-	-4.834-
8-Days	4-Days	4.750*	.125	.000	4.501	4.999
	12-Days	-.333-*	.125	.010	-.582-	-.084-
12-Days	4-Days	5.083*	.125	.000	4.834	5.332
	8-Days	.333*	.125	.010	.084	.582

Based on estimated marginal means

*. The mean difference is significant at the .05 level.

a. Adjustment for multiple comparisons: Least Significant Difference (equivalent to no adjustments).

Univariate Tests

Dependent Variable:بترولیوم

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Contrast	388.111	2	194.056	1042.687	.000
Error	11.167	60	.186		

The F tests the effect of الزمن. This test is based on the linearly independent pairwise comparisons among the estimated marginal means.

2. المستخلص

Estimates

Dependent Variable:بتروليوم

المستخلص	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
50	16.000	.102	15.797	16.203
100	16.222	.102	16.019	16.426
150	19.500	.102	19.297	19.703
200	21.556	.102	21.352	21.759

Pairwise Comparisons

Dependent Variable:بتروليوم

(I) المستخلص	(J) المستخلص	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.[a]	95% Confidence Interval for Difference[a]	
					Lower Bound	Upper Bound
50	100	-.222-	.144	.128	-.510-	.065
	150	-3.500-*	.144	.000	-3.788-	-3.212-
	200	-5.556-*	.144	.000	-5.843-	-5.268-
100	50	.222	.144	.128	-.065-	.510
	150	-3.278-*	.144	.000	-3.565-	-2.990-
	200	-5.333-*	.144	.000	-5.621-	-5.046-
150	50	3.500*	.144	.000	3.212	3.788
	100	3.278*	.144	.000	2.990	3.565
	200	-2.056-*	.144	.000	-2.343-	-1.768-
200	50	5.556*	.144	.000	5.268	5.843
	100	5.333*	.144	.000	5.046	5.621
	150	2.056*	.144	.000	1.768	2.343

Based on estimated marginal means

a. Adjustment for multiple comparisons: Least Significant Difference (equivalent to no adjustments).

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Univariate Tests

Dependent Variable:بتروليوم

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Contrast	389.597	3	129.866	697.786	.000
Error	11.167	60	.186		

The F tests the effect of المستخلص. This test is based on the linearly independent pairwise comparisons among the estimated marginal means.

1. **الزمن * المستخلص**

Dependent Variable:بتروليوم

الزمن	المستخلص	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
				Lower Bound	Upper Bound
4-Days	50	14.000	.176	13.648	14.352
	100	10.667	.176	10.314	11.019
	150	16.500	.176	16.148	16.852
	200	19.000	.176	18.648	19.352
8-Days	50	17.000	.176	16.648	17.352
	100	19.000	.176	18.648	19.352
	150	20.500	.176	20.148	20.852
	200	22.667	.176	22.314	23.019
12-Days	50	17.000	.176	16.648	17.352
	100	19.000	.176	18.648	19.352
	150	21.500	.176	21.148	21.852
	200	23.000	.176	22.648	23.352

Univariate Analysis of Variance

Descriptive Statistics

Dependent Variable:اسيتيت.ايثيل

الزمن	المستخلص	Mean	Std. Deviation	N
4-Days	50	6.50	.548	6
	100	9.50	.548	6
	150	11.00	.000	6
	200	12.00	.000	6
	Total	9.75	2.152	24
8-Days	50	9.50	.548	6
	100	11.67	.516	6
	150	13.50	.548	6
	200	15.50	.548	6
	Total	12.54	2.322	24
12-Days	50	15.33	.516	6
	100	16.50	.548	6
	150	17.50	.548	6
	200	18.50	.548	6
	Total	16.96	1.301	24
Total	50	10.44	3.807	18
	100	12.56	3.053	18
	150	14.00	2.787	18
	200	15.33	2.765	18
	Total	13.08	3.567	72

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:اسيتيت.ايثيل

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	888.833[a]	11	80.803	330.558	.000
Intercept	12324.500	1	12324.500	50418.409	.000
الزمن	634.083	2	317.042	1296.989	.000
المستخلص	236.611	3	78.870	322.652	.000
الزمن * المستخلص	18.139	6	3.023	12.367	.000
Error	14.667	60	.244		
Total	13228.000	72			
Corrected Total	903.500	71			

a. R Squared = .984 (Adjusted R Squared = .981)

Estimated Marginal Means

1. الزمن

Estimates

Dependent Variable:اسيتيت.ايثيل

الزمن	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
4-Days	9.750	.101	9.548	9.952
8-Days	12.542	.101	12.340	12.744
12-Days	16.958	.101	16.756	17.160

Pairwise Comparisons

Dependent Variable:اسيتيت.ايثيل

(I) الزمن	(J) الزمن	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.[a]	95% Confidence Interval for Difference[a]	
					Lower Bound	Upper Bound
4-Days	8-Days	-2.792-*	.143	.000	-3.077-	-2.506-
	12-Days	-7.208-*	.143	.000	-7.494-	-6.923-
8-Days	4-Days	2.792*	.143	.000	2.506	3.077
	12-Days	-4.417-*	.143	.000	-4.702-	-4.131-
12-Days	4-Days	7.208*	.143	.000	6.923	7.494
	8-Days	4.417*	.143	.000	4.131	4.702

Based on estimated marginal means

*. The mean difference is significant at the .05 level.

a. Adjustment for multiple comparisons: Least Significant Difference (equivalent to no adjustments).

Univariate Tests

Dependent Variable:اسيتيت.ايثيل

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Contrast	634.083	2	317.042	1296.989	.000
Error	14.667	60	.244		

The F tests the effect of الزمن. This test is based on the linearly independent pairwise comparisons among the estimated marginal means.

2. المستخلص

Estimates

Dependent Variable:اسيتيت.ايثيل

المستخلص	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
50	10.444	.117	10.211	10.678
100	12.556	.117	12.322	12.789
150	14.000	.117	13.767	14.233
200	15.333	.117	15.100	15.566

Pairwise Comparisons

Dependent Variable:اسيتيت.ايثيل

(I) المستخلص	(J) المستخلص	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.[a]	95% Confidence Interval for Difference[a]	
					Lower Bound	Upper Bound
50	100	-2.111-*	.165	.000	-2.441-	-1.781-
	150	-3.556-*	.165	.000	-3.885-	-3.226-
	200	-4.889-*	.165	.000	-5.219-	-4.559-
100	50	2.111*	.165	.000	1.781	2.441
	150	-1.444-*	.165	.000	-1.774-	-1.115-
	200	-2.778-*	.165	.000	-3.107-	-2.448-
150	50	3.556*	.165	.000	3.226	3.885
	100	1.444*	.165	.000	1.115	1.774
	200	-1.333-*	.165	.000	-1.663-	-1.004-
200	50	4.889*	.165	.000	4.559	5.219
	100	2.778*	.165	.000	2.448	3.107
	150	1.333*	.165	.000	1.004	1.663

Based on estimated marginal means

*. The mean difference is significant at the .05 level.

a. Adjustment for multiple comparisons: Least Significant Difference (equivalent to no adjustments).

Univariate Tests

Dependent Variable:اسيتيت.ايثيل

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Contrast	236.611	3	78.870	322.652	.000
Error	14.667	60	.244		

The F tests the effect of المستخلص. This test is based on the linearly independent pairwise comparisons among the estimated marginal means.

3. الزمن * المستخلص

Dependent Variable:اسيتيت.ايثيل

الزمن	المستخلص	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
				Lower Bound	Upper Bound
4-Days	50	6.500	.202	6.096	6.904
	100	9.500	.202	9.096	9.904
	150	11.000	.202	10.596	11.404
	200	12.000	.202	11.596	12.404
8-Days	50	9.500	.202	9.096	9.904
	100	11.667	.202	11.263	12.070
	150	13.500	.202	13.096	13.904
	200	15.500	.202	15.096	15.904
12-Days	50	15.333	.202	14.930	15.737
	100	16.500	.202	16.096	16.904
	150	17.500	.202	17.096	17.904
	200	18.500	.202	18.096	18.904

The study of effect of *Cladophora vadorum* on growth of same Species of Human pathogenic Bacteria

By

Amnnah Khamees Loujanqi

Supervisor

Prof. Dr. Massoud Mohammed Godeh

Abstract

This study was conducted using *Cladophora vadorum* , collected from the Tabelino lakes in Benghazi. The effect of this algea was examined on the growth of four species bacteria (*Sbtaphylococcus aureus, Escherichia coli , Pseudomonas aeruginosa, Klebsilla pneumonia*) Using 5 types of organic solvents (Ethanol, acetone, methanol, petroleum ether and ethyl acetate).

The effect of organic solvent extracts varied on the growth of the bacteria used. The petroleum ether extract was the most effective and effective against the growth of all the bacteria used. Ethanol, Acetone and ethyl acetate.

We have studied the effect of these extracts on the growth of bacteria. The inhibitory effect of other bacteria was different. *S.aureus* were found to more sensitive by all the organic solvent extracts used. It was found that the *E.coli* effect with the petroleum ether extract was the only, effect of the bacteria *P. aeruginosa* in the ethanol extract and petroleum Ether only, while bacteria *K.pneumonia*were not affected by all types of organic extracts used.

The effect of the time period for the extraction of the active substances on the growth of bacteria has been shown the higher the duration of the extraction the more active the dopane is produced , which increases the diameter of the inhibition zones different concentrations of the extract (50- 100- 150- 200 µl) the greater the concentration the greater the mean diameter of the inhibition zones .

The study of effect of *Cladophora vadorum* on growth of same Species of Human pathogenic Bacteria

By

Amnnah Khamees Loujanqi

Supervisor

Prof. Dr. Massoud Mohammed Godeh

This Thesis was submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for Master's Degree of Science in Botany.

University of Benghazi

Faculty of Science

2019 March