الكشف الكيميائي النباتي والفعالية المضادة للأحياء الدقيقة للطحلب *Ulva fasciata*

أ. د ريحاب دباس[1] أ. د عبد العليم بلّو[2] رباب حمادة[3]

الملخص:

يعدّ الطحلب البحري *Ulva fasciata* مصدراً غنياً بالمركبات الفعالة حيوياً وذلك يستدعي الاستفادة المثلى من مستقلباته، هدف هذا البحث إلى الكشف عن بعض المواد الفعالة حيوياً في المستخلصات الإيثانولية والميثانولية والكلوروفورمية للطحلب البحري *Ulva fasiata* ودراسة تأثيرها المضاد لبعض الأحياء الدقيقة وتحديد قيمة التركيز المثبط الأدنى (MIC) والتركيز القاتل الأدنى (MBC) للمستخلصات الفعالة. أُستخدمت طريقة التفاعلات النوعية والكواشف اللونية للكشف عن المواد الفعالة واعتمدت طريقة الانتشار من الحفر ضمن الأغار لدراسة فعالية المستخلصات وحُدد (MIC) بطريقة التمديد الدقيق باستخدام صفائح المعايرة الدقيقة. بينت النتائج احتواء المستخلص الإيثانولي والميثانولي على معظم المواد الكيميائية التي تم الكشف عنها، وأبدت المستخلصات الثلاثة فعالية على جراثيم *S.aureus* بقيم تراوحت بين (8–23) ملم لأقطار هالات التثبيط عند الحجم 100µl وبتركيز10% وتراوحت القيم بين (9–10) ملم على جراثيم *E.coli* للمستخلصين الإيثانولي والميثانولي، دون أي تأثير على *P.aerugenosa* أو الفطريات المدروسة. تراوحت قيمة (MIC) للمستخلص الميثانولي بين 0.78 ملغ/مل على جراثيم *S.aerues* و12.5 ملغ/مل على جراثيم *E.coli*، وتراوحت قيم (MBC) بين 6.25 ملغ/مل على *S.aeures* و50 ملغ/مل على جراثيم *E.coli*.

كلمات مفتاحية: *Ulva fasciata*، مستخلصات طحلبية، فعالية مضادة للأحياء الدقيقة.

(1) أستاذ في قسم علم الحياة النباتية، كلية العلوم ، جامعة حلب.

(2) أستاذ في قسم علم الحياة النباتية، كلية العلوم، جامعة حلب.

(3) طالبة دراسات عليا (ماجستير)، قسم علم الحياة النباتية، كلية العلوم، جامعة حلب.

phytochemical screening and antimicrobial activity of *Ulva fasciata*

Rehab Dabbas[(1)] Abdel Aleem Bello[(2)] Rabab Hammadeh[(3)]

Abstract:

The marine algae *Ulva fasiata* is a rich source of biologically active compounds and that calls for optimum utilization of its metabolites. The aim of this research is to detect some biologically active constituents in the ethanolic, methanolic and chloroform extracts of seaweed *Ulva fasiata* and study its antimicrobial activity against some microorganisms and determine the value of the minimum inhibitory concentration (MIC) The Minimum bactericidal Concentration (MBC) of the active extracts. Qualitative reactions and colorimetric reagents was used to detect the active constituents, agar well diffusion method was adopted to study the antimicrobial activity of the extracts. MIC was determined by Micro dilution method using Microtitration plates. The results showed that the ethanolic and methanol extract contained most of the chemicals that were detected, and the three extracts showed antimicrobial activity against *S.aureus* with values ranging between (8-23) mm of diameters of inhibition zones at a size of 100 µl and a concentration of 10%, and the values ranged between (9-10) mm on *E.coli* of ethanolic and methanolic extracts, without any effect on *P.aerugenosa* or the studied fungi. MIC value of the methanolic extract ranged between 0.78 mg/ml on *S.aerues* and 12.5 mg/ml on *E.coli*, MBC values ranged between 6.25 mg/ml on *S.aeures* and 50 mg/ml on *E.coli*.

Key words: *Ulva fasciata*, algal extracts, antimicrobial activity.

(1) Professor in the Department of Plant Biology , Faculty of Science , University of Aleppo

(2)) Professor in the Department of Plant Biology , Faculty of Science , University of Aleppo. (3) Postgraduate Student (Master), Department of Plant Biology, Faculty of Science, University of Aleppo.

1- المقدمة:

لاقت الكائنات البحرية بما فيها الطحالب اهتماماً واضحاً منذ مدة طويلة لتطوير تقانات طبية اعتماداً على مصادر طبيعية [1].

تعد الطحالب الكبيرة Macroalgae نباتات مشرية حقيقية النواة، ذاتية التغذية الضوئية Photoautotrophic [2]، وقد تم الاستفادة من نواتجها الاستقلابية منذ عقود طويلة إضافة إلى احتوائها مواداً مضادة للأحياء الدقيقة والحمات ومضادات الأكسدة [3]

ونظراً لغنى الشاطىء السوري بأنواع مختلفة من الطحالب الخضراء فقد تم التركيز على أهمية الجنس *Ulva* أو ما يعرف بخس البحر Sea lettuce سيما النوع *Ulva fasciata* حيث سجل وجوده على شاطئ شاليهات الدراسات، المدينة الرياضية والكورنيش الجنوبي في مدينة اللاذقية [4] وذلك كمصدر للعديد من المواد الفعالة حيوياً.

الوصف الشكلي:

طحلب مشري أخضر داكن أو مصفر أحياناً، يغزر على الصخور الشاطئية ويتباين طوله حسب مكان وجوده حيث يتراوح بين 3-72 سم. تقسم المشرة الى فصوص عدة على شكل شرائط ضيقة بسيطة أو متشبعة، لها مثبت (ماسك) للتثبت على الصخور، تكون المنطقة أعلى المثبت ضيقة قليلاً ثم تتسع لتصل الى ذروة القمة، الحواف ناعمة نسبياً مع بروزات خشنة أحياناً والخلايا مضلعة، تحوي الصانعة (1-2) من البيرونوئيد [5].

الشكل (1) طحلب *U.fasciata*

تصنيف الطحلب: وفق [2]

شعبة الطحالب الخضراء	Chlorophycophyta
صف الطحالب الخضراء	Chlorophyceae
رتبة	Ulvales
فصيلة	Ulvaceae
جنس	*Ulva*
نوع	*U.fasciata*

وقد سجلت دراسات مختلفة نشاطاً قوياً مضاداً للأحياء الدقيقة من المواد المعزولة من الطحالب الخضراء ومنها [3]. وذكرت دراسات عديدة عن غنى النوع *U.fasciata* بالعديد من المستقلبات الثانوية ذات الفعالية الحيوية من غليكوزيدات، صابونينات، تانينات، تربينات وغيرها منها الدراسة [6] والدراسة [7].

كما أشارت دراسة أخرى لوجود القلويدات والفنيولات إضافة إلى الأحماض الدهنية والتربينوئيدات في المستخلص الإيثانولي للطحلب السابق [8].

وإن احتواءها على المواد الفعالة السابقة يجعل منها مصدراً مهماً كمضاد للأحياء الدقيقة. حيث أكدت إحدى الدراسات فعالية المستخلص المثيانولي لنوع *U.lactuca* ضد مجموعة من الجراثيم إيجابية وسلبية الغرام [9]. وأشارت دراسة أخرى إلى التأثير الفعال للمستخلص الميثانولي للنوع *U.fasiata* على مجموعه من الفطريات الممرضة والجراثيم إيجابية وسلبية الغرام [6]. إضافة إلى دراسة أخرى أثبتت قدرة المستخلصات الطحلبية للنوع *U.fasciata* على تثبيط أنواع جرثومية مختلفة وبأقطار متفاوتة [10]. كما سجلت إحدى الدراسات نشاطاً مضاداً للجراثيم إيجابية وسلبية الغرام للطحلب *U.lactuca* وذلك عند استخدام مذيبات مختلفة [11].

2_ أهمية وأهداف البحث:

نظراً للاستخدام العشوائي للصادات المصنعة وظهور المقاومة الجرثومية للعديد من الزمر الدوائية، كان لا بد من البحث عن مصادر جديدة للصادات وبطرق صديقة للبيئة. ونظراً لانتشار الطحالب الخضراء على الشاطئ السوري فقد هدف البحث إلى:

1- التحري عن بعض المواد الكيميائية الفعالة في الطحلب *U.fasciata*.

2- دراسة تأثير بعض المستخلصات الطحلبية في نمو بعض الأحياء الدقيقة الممرضة.
3- تحديد قيمة التركيز المثبط الأدنى MIC والتركيز القاتل الأدنى MBC للمستخلصات الفعالة.

3_ مواد وطرائق العمل:

3_1_ مكان وتاريخ إنجاز البحث:

تم انجاز البحث في الفترة الواقعة بين شهر حزيران 2019 و شهر حزيران 2021 في مخبر الأحياء الدقيقة، قسم علم الحياة النباتية في كلية العلوم، جامعة حلب ومخبر الأحياء الدقيقة في كلية الطب البيطري بجامعة حماه.

3_2_ الحصول على الأنواع الجرثومية والفطرية:

تم الحصول على الأنواع الجرثومية من المشفى الوطني والعيادات الشاملة بحماه وتم التأكد من هويتها من خلال مجموعة من الاختبارات الحيوية الكيميائية والفحص المجهري وذلك وفق [12] حيث فحصت تحت المجهر بعد معاملتها بصبغة غرام لدراسة إيجابيتها وسلبيتها، كما تم اجراء الاختبارات الآتية: (اختبار تحلل الدم، اختبار الأندول، اختبار أحمر الميتيل، اختبار فوكس بروسكاور، اختبار سيمون سترات، اختبار الكاتلاز اختبار الأوكسداز، اختبار السكريات الثلاثية) ثم حفظت على الأغار المائل. كما تم الحصول على الأنواع الفطرية المدروسة من مختبر الأحياء الدقيقة في كلية الطب البيطري ومخابر القطرنجي والخطيب بدمشق معزولة من عينات مرضية، عينات قشع للفطر *Aspirgillus niger*ومسحات مهبلية لخمائر *Candida albicans*. تم تنشيط العزلات الجرثومية المحفوظة على الأغار المغذي المائل بزرعها على الأغار المغذي ثم الحضن على درجة حرارة 37م° لمدة 24ساعة، تم أخذ عدة مستعمرات من الجراثيم النامية وعلقت في 5مل من الملح الفيزيولوجي (0.9 Nacl%) تم ضبط كثافة المعلق الجرثومي بمقدار عكارة يعادل 0.5 MCfarland أي ما يعادل (1.5×10^8 cfu/ml) وذلك بالمقارنة مع أنبوب MCfarland العياري وتم تحضير معلق الأبواغ الفطرية بطريقة مماثلة حيث زرعت مسبقاً على وسط أغار مستخلص البطاطاPDA.

3-4- الحصول على الطحالب:

تم الحصول على الطحالب من مواقع مختلفة من شاطئ طرطوس الصخري وميناء طرطوس المقابل لجزيــرة أرواد، حيث غسلت العينات جيداً بماء البحر لإزالة الرمال والقشريات والديدان العالقة بها، ووضعت في عبوات بلاستيكية مضافاً إليها ماء البحر. ثم نقلت إلى المختبر حيث غسلت جيداً بالماء العادي ثم الماء المقطر. تلاه مرحلة التجفيف حيث وضعت الطحالب في مكان نظيف وجففت بالظل مع التقليب المستمر كل ساعتين لتجنب تعفنها، وعند الجفاف التام طحنت بمطحنة كهربائية للحصول على مسحوق ناعم وحفظت في عبوة محكمة الإغلاق وعاتمة في الدرجة 4 مئوية لحين الاستخدام [13] .

3_5_ الاستخلاص:

تمت عملية الاستخلاص وفق [14] مع بعض التعديلات تم وزن 50غ من مسحوق الطحالب ووضع في حوجلة عاتمة سعة/1/لتر. أضيفت إليها 500 مل من المذيب (الميثانول)، ثم النقع لمدة 72 ساعة [13] مع وضعها في الحاضنة الهزازة على درجة 25م. تم الترشيح باستخدام أوراق الترشيح للحصول على محلول المستخلص مع المذيب العضوي. ثم وضعت في حوجلة المبخر الدوار عند درجة حرارة 25° م للتخلص من المذيب، وضعت في أوعية مفتوحة للتخلص من أي كمية متبقية من المذيب وذلك حتى ثبات الوزن، حفظت في درجة حرارة 4° م لحين الاستخدام.

حسب المردود بالعلاقة: المـردود = $\frac{\text{وزن الخلاصة الجافة}}{\text{وزن مسحوق الطحلب الجاف}} \times 100$.

كررت المراحل السابقة مع المذيبات الإيثانول والكلوروفورم للحصول على المواد الفعالة القابلة للانحلال بهذه المذيبات [15]. وفي المرحلة التالية تم حل 1غ من المستخلص الجاف في10مل من المذيب العضوي (DMSO) للحصول على تركيز100ملغ/ مل (10%). وذلك للمستخلص الإيثانولي والميثانولي والكلوروفورمي كل على حدى، تم نقل كل محلول بعد تعقيمه بالترشيح الغشائي بواسطة مرشحات مكرونية إلى عبوة عاتمة ومعقمة. والشكل (2) يوضح مراحل الاستخلاص.

الترشيح

النقع البارد

طحن الطحلب

المستخلصات الطحلبية

التخلص من المذيب بالمبخر الدوار

الشكل (2) مراحل الاستخلاص

3_6_ الكشف الكيميائي لبعض المركبات الفعالة:

1- الكشف عن القلويدات: أخذ قليل من المستخلص وُمزج مع 5 مل من Hcl تركيز 1% وضع على حمام مائي لعدة دقائق، رُشح وأخذ منه1مل في أنبوب اختبار وأضيف إليه 1مل من كاشف دراجندورف، إن ظهور لون برتقالي محمر دليل وجود القلويدات [16].

2- الكشف عن التانينات: أخذ حوالي 2مل من المستخلص، أضيفت إليه محلول الجيلاتين 1% الحاوي كلوريد الصوديوم، إن ظهور راسب أبيض دليل وجود التانينات [16].

3- الكشف عن الفينولات: وضعت كمية قليلة من المستخلص في أنبوب اختبار وأضيف اليها (3-4) قطرات من محلول كلوريد الحديدي 5%، إن ظهور لون أخضر غامق دليل وجود الفنيولات [7] [16].

4- الكشف عن الفلافونوئيدات: تم اضافة بضع قطرات من محلول خلات الرصاص الى أنبوب اختبار يحوي 2مل من المستخلص، إن ظهور عكر أبيض دليل وجود الفلافونوئيدات [16].

5- الكشف عن الصابونينات: مزجت كمية قليلة من المستخلص مع ماء مقطر، تم الغلي قليلا ثم الرج لفترة قصيرة إن ظهور الرغوة (تدوم لعدة دقائق) دليل وجود الصابونينات [17]،[7].

6- الكشف عن الغليكوزيدات: أخذ1مل من المستخلص وأضيف إليه عدة قطرات من حمض الكبريت المخفف ثم الغليان لعدة دقائق ثم إضافة عدة قطرات من الكلوروفورم وأخيراً اضافة 1 مل من محلول الأمونيا، إن ظهور اللون الأحمر دليل وجود الغليكوزيدات [16]،[7].

7- الكشف عن التربينات الثنائية والثلاثية: التربينات الثنائية: أخذ قليل من المستخلص في أنبوب اختبار وأضيف اليه عدة قطرات من محلول خلات النحاس، ظهور اللون الأخضر الزمردي دليل وجود التربينات [7].

التربينات الثلاثية: أخذ قليل من المستخلص وأضيف إليه حوالي 10مل من الكلوروفورم، حرك جيداًُ ثم أضيف 4 قطرات من حمض الكبريت المركز وتم الرج جيداً، إن ظهور اللون الذهبي المصفر دليل وجود التربينات الثلاثية [18] [15].

3_7_ دراسة الفعالية المضادة للأحياء الدقيقة:

اختبرت الفعالية المضادة للأحياء باستخدام طريقة الانتشار من الحفر Agar well diffusion method حسب [18] [19].

3-7-1اختبار فعالية المستخلصات على بعض الجراثيم والفطريات الممرضة:

تم زرع العينات الجرثومية بأخذ 100µl من المعلق الجرثومي ذو العكارة 0.5 Mcfarland ثم نشرها على سطح وسط آغار مولر هينتون وتركت لحوالي 10 دقائق حتى التشرب التام، ثم جهزت حفر ضمن الوسط الزرعي قطرها 6 مم باستخدام أسطوانة معدنية معقمــة بالكحول واللهب وأضيفت حجوم مختلفة من المستخلصات ذات التركيز 10% إلى الحفر (25،50،75،100) µl كما تم اختبار فعالية مادة (DMSO) لنفي تأثيرها على الأحياء المختبرة، واستخدم صاد الجنتامايسين كشاهد ايجابي في هذه التجربة، تركت الأطباق لمدة ساعتين بدرجة حرارة الغرفة للسماح للخلاصة الطحلبية بالانتشار ضمن الوسط ثم حضنت الأطباق في الحاضنة على درجة حرارة 37°م لمدة 18- 24 ساعه وبصورة مماثلة بالنسبة للفطريات حيث حضنت بدرجة حرارة 27°م

ولمدة 72 ساعة، ثم قُرئت النتائج بقياس أقطار هالات التثبيط Zone of inhibition حول الحفر مقدرة بـ مم بمسطرة مدرجة. تم إجراء ثلاث مكررات لكل طبق وأخذ متوسط قطر الهالة [18].

3_7_2_ تحديد التركيز المثبط الأدنىMIC:

تم حساب التركيز المثبط الأدنى (MIC) Minimal inhibitory concentration باستخدام طريقة التمديد الدقيق Micro dilution method في صفائح المعايرة الدقيقة Micotitation plate الحاوية 96 حفرة وذلك بإضافة 50µl من وسط مولر هينتون السائل والمعقم و50µl من المعلق الجرثومي بتركيز0.5Mcfarland في الحجرة الأولى كشاهد سلبي، و50µl من المستخلص الطحلبي و50µl من المعلق الجرثومي كشاهد ايجابي، ثم عملت تراكيز متناقصة متدرجة بدءاً من التركيز 50ملغ/مل في الحجرة الثالثة فالتركيز25في الحجرة الرابعة وهكذا في باقي الحجرات، ثم إضافة 50µl من المعلق الجرثومي الى جميع هذه الحجرات، ثم الحضن لـ24ساعة بعدها أضيف كاشف Tetrazolium violet كمؤشر للنمو، قُرئت النتائج بتغير اللون من الأخضر إلى الأحمر. حُددت قيمة MIC كأقل تركيز يبدو فيه الوسط بلون أخضر [20].

3_7_3 _ تحديد التركيز القاتل الأدنى MBC:

تم تحديد قيمة MBC بطريقة عد الخلايا الحية Viable cell count method وذلك بأخذ 50µl من كل حفرة من صفيحة المعايرة الدقيقة والتي أشارت إلى وجود تثبيط للنمو الجرثومي وزرعها على وسط nutrient agar ثم الحضن في الحاضنة الجرثومية لمدة 24ساعة، حدد MBC كأقل تركيز للمستخلص تم فيه قتل 99.9% من الجراثيم المزروعة وذلك بعد المستعمرات النامية [20].

4_ النتائج والمناقشة:

4_1_ نتائج تحديد الهوية الجرثومية:

بينت الاختبارات الكيميائية الحيوية للأنواع الجرثومية النتائج الموضحة في الجدول (2).

الجدول (2) اختبارات تحديد الهوية الجرثومية

الاختبار / الجرثوم	الإندول	تحلل الدم(β)	الكتلاز	سيمون ستراث	سكريات ثلاثية	أوكسيداز	فوكسبروسكور	أحمر الميثيل	المخثراز	تخمير سكر المانتول
p.aeruginosa	−	+	+	+	−	+	−	−	N	−
E.coli	+	+	−	−	+	−	−	+	N	+
s.aureus	N	+	+	+	+	−	N	N	+	+

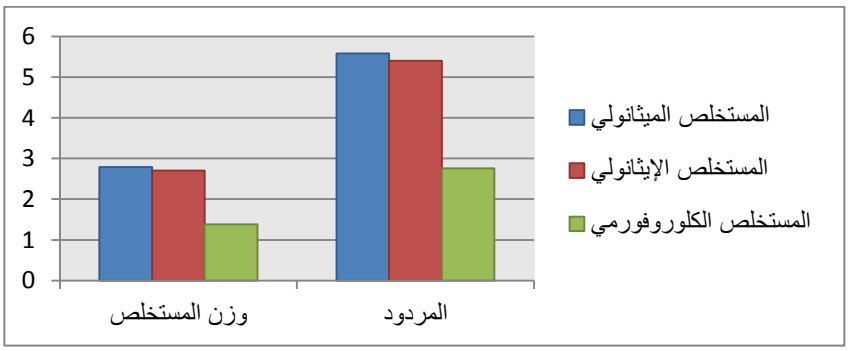
N: لم يتم اختباره

4_2_ نتائج خواص المستخلصات:

تراوحت قيم مردود المستخلصات بين (2.76و5.58) وذلك في 50غ من مسحوق الطحلب الجاف، بلغت أعلى قيم للمردود للمستخلص الميثانولي بقيمة قدرها 5.58 تلاها المستخلص الإيثانولي ثم الكلوروفورمي بأقل قيمة. كما في الجدول (4) والشكل (2) يوضح القيم.

الجدول (4) مردود ولون المستخلصات المدروسة

المستخلص	الميثانولي	الإيثانولي	الكلوروفورمي
اللون	أخضر داكن	أخضر داكن	أخضر داكن
الوزن(غ)	2.790	2.70	1.380
المردود(%)	5.58	5.4	2.76



الشكل (2) العلاقة بين وزن المستخلص والمردود

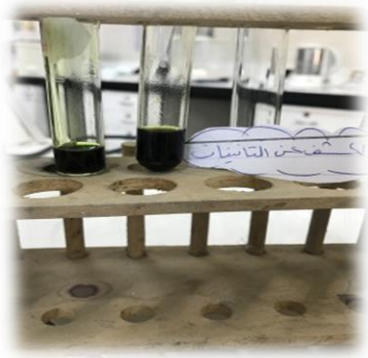
4_3_ نتائج المسح الكيميائي النوعي:

بينت النتائج احتواء المستخلصات الميثانولية والإيثانولية والكلوروفورمية على العديد من المواد الفعالة من تانينات، فينولات، غليكوزيدات وغيرها. كما في الشكل (3) والجدول (5) يوضح النتائج.

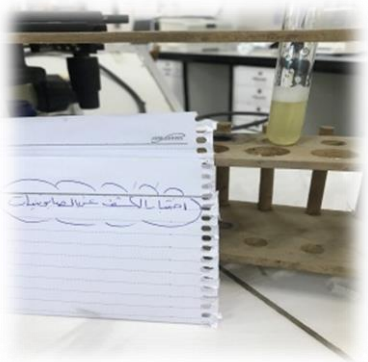
الجدول (5) نتائج الكشف الأولي عن المواد الفعالة في المستخلصات الطحلبية

المستخلص	القلويدات	الفينولات	الفلافونوئيد	التانينات	الصابونينات	التربينات الثنائية	التربينات الثلاثية	السكريات	الغليكوزيدات
ME	−	+	+	+	+	+	+	+	+
EE	+	+	+	+	+	+	+	+	+
CE	−	+	+	−	−	+	+	−	−

ME: المستخلص الميثانولي، EE: المستخلص الايثانولي، CE: المستخلص الكلوروفورمي.



الكشف عن التانينات



الكشف عن الصابونينات

الشكل (3): الكشف عن بعض المواد الفعالة

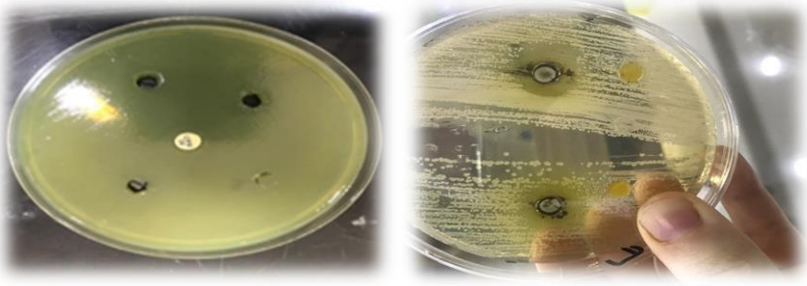
توافقت نتائج الدراسة الحالية مع الدراسة [6] حيث سُجل وجود المركبات الفعالة المختلفة للمستخلص الميثانولي عدا القلويدات، وتوافقت مع العديد من الدراسات الأخرى[7] [8] وتخالفت مع الدراسة [21] حيث غابت التانينات في المستخلص الايثانولي والميثانولي والكلوروفومي للنوع *U.lactuca* وقد يعود سبب الاختلاف إلى اختلاف التركيب الكيميائي للطحلب والفترة التي جمعت العينات فيها.

4_4_ نتائج الفعالية المضادة للأحياء الدقيقة:

اختلفت النتائج حسب نوع المذيب العضوي والنوع الجرثومي والفطري المدروس وذلك بمقارنة أقطار هالات التثبيط حول الحفر، أبدى المستخلص الميثانولي تأثيراً واضحاً وبلغ قطر هالة التثبيط 23ملم عند الحجم 100µl تجاه المكورات العنقودية الذهبية ووصل حتى 19ملم عند الحجم 75µl، كماتأثرت بالمستخلص الإيثانولي، بينما كان تأثير المستخلص الكلوروفورمي ضعيفاً. أما الجراثيم سالبة الغرام فقد تأثرت جراثيم الاشريكية القولونية بالمستخلصات الإيثانولية والميثانولية عند الحجم100µl بأقطار تراوحت بين (9–10) مم على التوالي ولم تتأثر الزائفة الزنجارية أو الفطريات بأي من المستخلصات السابقة. كمافي الشكل (4) والجدول (6) يوضح النتائج.

الجدول (6): فعالية المستخلصات الطحلبية

المستخلص	الحجم(µl)	*E. coli*	*P.aeruginosa*	*S.aureus*	*A.niger*	*C.albicans*
الميثانولي	25	–	–		–	–
	50	–	–	–	–	–
	75	7	–	19	–	–
	100	10	–	23	–	–
الإيثانولي	25	–	–	–	–	–
	50	–	–	–	–	–
	75	8	–	13	–	–
	100	9	–	15	–	–
الكلوروفورمي	25	–	–	–	–	–
	50	–	–	–	–	–
	75	–	–	8	–	–
	100	–	–	8	–	–
الجينتامايسين	G10	25	22	35	–	–



تأثير المستخلص الميثانولي على جراثيم *S.aureus* تأثير المستخلص الميثانولي على جراثيم *P.aeruginosa*

الشكل (4): تأثير المستخلصات الطحلبية على الجراثيم

نلاحظ أن الجراثيم إيجابية الغرام تأثرت بشكل أكبر من الجراثيم سالبة الغرام وذلك يعود الى امتلاك الجراثيم سلبية الغرام طبقة خارجية مكونة من عديد السكاريد الشحمي Lipopoly sacacharide والتي تؤثر في نفوذية المواد إذا ما قورنت بالجراثيم إيجابية الغرام [22]. بمقارنة نتائج البحث الحالي مع دراسة [6] تفوق المستخلص الميثانولي في الدراسة الحالية على نظيره في الدراسة [6] حيث تراوحت أقطار هالات التثبيط بين (11–15) ملم عند التراكيز (40–60)µl، بالنسبة للمكورات العنقودية الذهبية، يمكن أن يعود الاختلاف الى التفاوت في تركيب وكمية المواد الفعالة في الخلاصة واختلاف التراكيز المستخدمة.

كما سجلت دراسة أخرى فعالية لمستخلص الاسيتون 70% للنوع *U.fasciata* على جراثيم المكورات العنقودية الذهبية وجراثيم *E.coli* وبالتالي فإن الأسيتون جيد في استخلاص المواد الفعالة [23]. وبلغت هالة التثبيط للمستخلص الميثانولي للنوع *U.lactaca* (9–17) وذلك للنوعين *E.coli –S.aureus* على التوالي، وتراوحت بين (10–15) بالنسبة للخلاصة الكلوروفورمية في الدراسة [11]، وهذا يختلف مع الدراسة الحالية حيث يمكن أن يعود الاختلاف في النتائج الى اختلاف طرق الاستخلاص، ولم تتأثر الفطريات بالمستخلصات المدروسة في الدراسة الحالية على خلاف الدراسة [6]، وقد يكون السبب اختلاف وقت جمع العينات وبالتالي اختلاف كمية المادة الفعالة ونوعها إضافة إلى اختلاف الأنواع الفطرية المدروسة واختلاف البيئة. لم تتأثر الزائفة الزنجارية بأي من الخلاصات الطحلبية، حيث تعتبر من أكثر الجراثيم مقاومة للصادات الحيوية الشائعة وتعتبر من أكثر الجراثيم معندة على المعالجة [12]، بينما نجد أنه في دراسة

محلية أعطت بعض الخلاصات النباتية التابعة للفصيلة الفولية فعالية مضادة للزائفة الزنجارية وصلت إلى 20 ملم [18].

4_5_ نتائج التركيز المثبط الأدنى والتركيز القاتل الأدنى:

بلغت أقل قيمة للتركيز المثبط الأصغري للمكورات العنقودية الذهبية (0.78) ملغ/مل للخلاصة الميثانولية و(3.12) ملغ/مل للمستخلص الإيثانولي وبلغت قيمة التركيز المثبط الأصغري للمستخلصات الإيثانولية والميثانولية لجراثيم الإشريكية القولونية 12.5ملغ/مل. وتراوحت قيمة التركيز القاتل الأصغري بين (6.25و25) ملغ/مل لجراثيم *S.aureus* وبلغت 50 ملغ/مل لجراثيم *E.coli* وذلك للخلاصة الميثانولية والإيثانولية على التوالي كما في الجدول (8).

الجدول(8): التركيز المثبط الأدنى والقاتل الأدنى للمستخلصات المختبرة

المستخلص والنوع الجرثومي	تركيز المستخلصات الطحلبية ملغ/مل									
	50	25	12.5	6.25	3.12	1.56	0.78	0.39	0.19	0.09
M/S	–	–	–	MBC	–	–	MIC	+	+	+
E/S	–	MBC	–	–	MIC	+	+	+	+	+
M/E	MBC	–	MIC	+	+	+	+	+	+	+
E/E	MBC	–	MIC	+	+	+	+	+	+	+

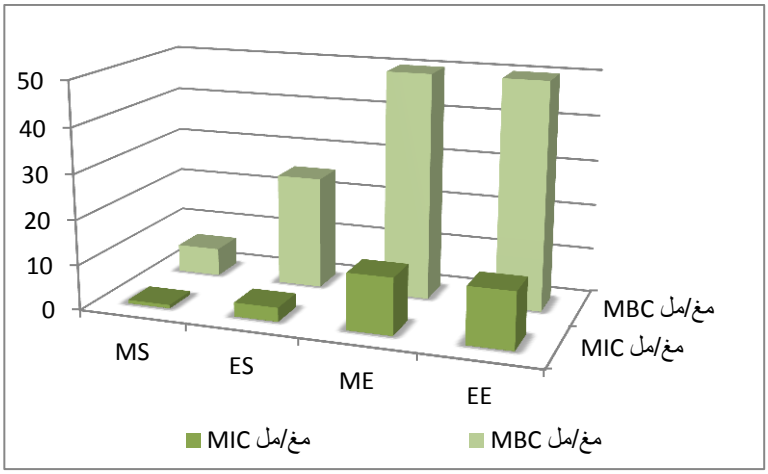
M/S: المستخلص الميثانولي المؤثرة في جراثيم*S.aureas*، E/S: المستخلص الايثانولي المؤثرة في جراثيم*S.aureas*.

M/E: المستخلص الميثانولي المؤثرة في جراثيم *E.Coli* ، E/E: المستخلص الايثانولي المؤثرة في جراثيم *E.Coli*

+: نمو جرثومي، –: غياب النمو الجرثومي، MIC: التركيز المثبط الأدنى، MBC:التركيز القاتل الأدنى.

بمقارنة هذه النتائج مع نتائج الدراسة [9] للمستخلص الميثانولي للنوع *U.lactuca* نجد أن قيمة MIC بلغت 100 ملغ/مل لجراثيم *S.aureus* و200ملغ/مل لجراثيم *E.coli* في حين كانت أقل من ذلك في الدراسة الحالية وقد يعود ذلك لاختلاف طرق الاستخلاص وكمية المواد الفعالة في المستخلص أو اختلاف السلالات الجرثومية. وكانت النتائج في الدراسة [11] متقاربة مع نتائج الدراسة الحالية بالنسبة للنوع *U.lactuca*

وتراوحت بين (0.78- 1.56) ملغ/مل على (*S.aureus*, *E.coli*) على التوالي. والشكل (5) يوضح التركيز المثبط الأدنى و التركيز القاتل الأدنى.



MS: المستخلص الميثانولي على *S.aureus* ، ES: المستخلص الايثانولي على *S.aureus*،

ME: المستخلص الميثانولي على *E.coli* ، EE: المستخلص الايثانولي على *E.coli*.

الشكل (5) التركيز المثبط الأدنى والتركيز القاتل الأدنى.

بينت النتائج أن للمستخلص الميثانولي أعلى فعالية على الجراثيم المختبرة مقارنة بالمستخلصات الأخرى تلاه المستخلص الإيثانولي وهذا يدل على احتواء المستخلص الميثانولي مواداً ذات فعالية حيوية مضادة للجراثيم بشكل أكبر مما في باقي المستخلصات. وإن وجود مثل هذه المواد في المستخلص الميثانولي كما أشار[15] يفسر الفعالية المضادة للجراثيم، حيث تخرب الفينولات الأغشية والجدران الخلوية للجراثيم [24]، كما تملك الصابونينات تأثيراً مضاداً للجراثيم [25] إضافة إلى تأثير الفلافونوئيدات والتربينات[26] [27]. كما أبدى المستخلص الإيثانولي تأثيراً، أي يمكن للإيثانول أن يكون محلاً فعالاً لاستخلاص التانينات، البوليفينولات، القلويدات، الستيرولات والتربينوئيدات [15] والتي أثبتت فعاليتها كمضاد للأحياء الدقيقة. وقد أبدت المستخلصات الكلوروفورمية تأثيراً ضعيفاً جداً أو معدوماً حيث أن الكلوروفورم من المذيبات ضعيفة القطبية يحل طيفاً محدوداً من المواد الفعالة [15]، كما يمكن أن يكون تركيز المواد الفعالة في هذا المستخلص غير كاف لتثبيط النمو الجرثومي.

وبشكل عام تعزى فعالية المستخلصات العضوية لأنواع الطحلب *Ulva* لامتلاكها طيفاً واسعاً من المركبات النباتية الكيميائية Phytochemicals مثل الصابونينات والتربينات والفينولات والقلويدات والفلافونوئيدات وغيرها ذات الأثر الفعال كمضادات للأحياء الدقيقة، وذلك حسب ما أشارت دراسات سابقة [28] [8].

5_ الاستنتاجات والتوصيات:

5_1_الاستنتاجات:

1- احتواء مستخلصات طحلب *U.fasciata* على العديد من المكونات الفعالة، والتي اختلفت باختلاف نوع المذيب المستخدم.

3- أظهر المستخلص الميثانولي فعالية أقوى على الجراثيم المختبرة مقارنة بباقي المستخلصات.

4- تأثرت جراثيم المكورات العنقودية الذهبية بشكل أكبر من باقي الجراثيم المختبرة.

5- لم تتأثر جراثيم الزائفة الزنجارية ولا الفطريات بأي من المستخلصات المدروسة.

6- يمكن اعتبار هذا الطحلب كمصدر طبيعي وواعد للمواد المضادة للمكورات العنقودية الذهبية.

5_2_ التوصيات:

1- متابعة الأبحاث والدراسات لدراسة الأنواع الطحلبية المحلية الأخرى من جنس *Ulva*.

2- متابعة الأبحاث لتحديد طبيعة المركبات الكيميائية ضمن الطحلب المدروس.

3- دراسة إمكانية تطبيق هذه المستخلصات على أنواع جرثومية ممرضة أخرى.

6_المراجع:

1. Alves، A.، Sousa، R. A.، & Reis، R. L. (2013). A practical perspective on ulvan extracted from green algae. *Journal of Applied Phycology*، *25*(2)، 407-424.

2-دباس، ريحاب (2013) بيولوجيا الطحالب والعوالق المائية. مديرية الكتب والمطبوعات الجامعية، كلية العلوم، جامعة حلب 265ص .

3.Pérez، M. J.، Falqué، E.، & Domínguez، H. (2016). Antimicrobial action of compounds from marine seaweed. *Marine drugs*، *14*(3)، 52.

4-عرّاج،هديل (2012). مساهمة في دراسة التنوع الحيوي للفلورا البحرية على شاطىء اللاذقية مع إشارة خاصة للأنواع الغريبة والاقتصادية. أطروحة ماجستير، كلية العلوم، جامعة تشرين، 144 ص.

5-Aguilar-Rosas، R.، Aguilar-Rosas، L. E.، & Pedroche، F. F. (2005). *Ulva fasciata* Delile (Ulvaceae، Chlorophycota): a species newly introduced into Pacific Mexico.

6- Abirami، R. G.، & Kowsalya، S. (2012). Phytochemical screening، microbial load and antimicrobial activity of underexploited seaweeds. *International Research Journal of Microbiology*، *3*(10)، 328-332.

7. Sharmila، S.، & Rebecca، L. J. (2014). Phytochemical analysis of Enteromorpha flexuosa and *Ulva lactuca*: a comparative study. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*، *5*(4),830-834.

8. Abd El Raouf، N.، Hozyen، W.، Abd El Neem، M.، & Ibraheem، I. (2017). Potentiality of silver nanoparticles prepared by *Ulva fasciata* as anti-nephrotoxicity in albino-rats. *Egyptian Journal of Botany*، *57*(3)، 479-494.

9. Alghazeer، R.، Whida، F.، Abduelrhman، E.، Gammoudi، F.، & Azwai، S. (2013). Screening of antibacterial activity in marine green، red and brown macroalgae from the western coast of Libya 5(1)، 8.

10. Selvin، J.، & Lipton، A. P. (2004). Biopotentials of *Ulva fasciata* and Hypnea musciformis collected from the peninsular coast of India. *Journal of Marine Science and Technology*، *12*(1)، 1-6.

11. Alves، R. C. C.، das Mercês، P. F. F.، de Souza، I. R. A.، de Almeida، C. E. M. A.، da Silva، A. P. S. A.، de Menezes Lima، V. L. U، .& da Silva، A. G. (2016). Antimicrobial activity of seaweeds of Pernambuco، northeastern coast of Brazil. *African Journal of Microbiology Research*، *10*(10)، 312-318.

12-يوسف، نهاد؛ سمان طحان، زاهر2014.عملي الأحياء الدقيقة الطبية. مديرية الكتب والمطبوعات الجامعية،كلية العلوم،جامعة حلب 250ص.

13- بلّو، عبد العليم، (2018)– الكشف الكيميائي النباتي عن المكونات الفعالة في النبات الطبي السوري القرطب الأرضي (*Tribulus terrestris*) من الفصيلة الزيجية Zygophyllaceae. المجلة السورية للبحوث الزراعية، 5 (4)، 166-178ص.

14. Sahnouni، F.، Benattouche، Z.، Matallah-Boutiba، A.، Benchohra، M.، Chentouf، W. M.، Bouhadi، D.، & Boutiba، Z. (2016). Antimicrobial activity of two marine algae *Ulva rigida* and *Ulva intestinalis* collected from Arzew gulf (Western Algeria). *J. Appl. Environ. Biol. Sci.*، *6*، 242-248.

15- Tiwari، P.، Kumar، B.، Kaur، M.، Kaur، G.، & Kaur، H. (2011). Phytochemical screening and extraction: a review. *Internationale pharmaceutica sciencia*، *1*(1)، 98-106.

16. Ben، I. O.، Woode، E.، Abotsi، W. K. M.، & Boakye-Gyasi، E. (2013). Preliminary phytochemical screening and in vitro antioxidant prop-erties of *Trichilia monadelpha (Thonn*.) JJ De Wilde (Meliaceae). *Journal of Medical and Biomedical Sciences*، *2*(2)، 6-15.

17- Gulfraz، M.، Sadiq، A.، Tariq، H.، Imran، M.، Qureshi، R.، & Zeenat، A. (2011). Phytochemical analysis and antibacterial activity of Eruca sativa seed. *Pak. J. Bot*، *43*(2)، 1351-1359.

18- Bello, A. A., Tahan, Z. S., Kitaz, A., & Tiba, B. (2019). Phytochemical screening and anti-multidrug resistant Pseudomonas aeruginosa of some fabaceae medicinal plants growing in Aleppo-Syria. International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research, 11(3), 91-97.

19- Ozcan، B.، Esen، M.، Caliskan، M.، Mothana، R. A.، Cihan، A. C.، & Yolcu، H. (2011). Antimicrobial and antioxidant activities of the various extracts of Verbascum pinetorum Boiss. O. Kuntze (Scrophulariaceae). *European review for medical and pharmacological sciences*، *15*(8)، 900-90.

20- طيبة بيان ،2015حصروتصنيف النباتات الطبية النامية في حرم جامعة حلب وفعالية بعضها تجاه الجراثيم.أطروحة ماجستير، كلية العلوم ،جامعة حلب،151ص.

21-Roy، S.، Nayak، B.، Roy، M.، Mitra، A.، Halder، D.، Chatterjee، A.، ... & Chakraborty، T. Antimicrobial and Phytochemical Screening of Seaweeds: Enteromorpha intestinalis and *Ulva lactuca* Collected from Indian Sunderbans Delta Region.

22-يوسف،نهاد؛خطاب،مروان2012.الصادات الحيوية مديرية الكتب والمطبوعات الجامعية،كلية العلوم،جامعة حلب 275ص.

23- Osman، M. E.، Aboshady، A. M.، & Elshobary، M. E. (2013). Production and characterization of antimicrobial active substance from some macroalgae

collected from Abu-Qir bay (Alexandria) Egypt. *African Journal of Biotechnology*، *12*(49)، 6847-6858.
24- Randhir، R.، Lin، Y. T.، Shetty، K.، & Lin، Y. T. (2004). Phenolics، their antioxidant and antimicrobial activity in dark germinated fenugreek sprouts in response to peptide and phytochemical elicitors. *Asia Pacific journal of clinical nutrition*، *13*(3).
25-Kabera، J. N.، Semana، E.، Mussa، A. R.، & He، X. (2014). Plant secondary metabolites: biosynthesis، classification، function and pharmacological properties. *J Pharm Pharmacol*، *2*(7)، 377-392.
26- Bedoux، G.، Hardouin، K.، Burlot، A. S.، & Bourgougnon، N. (2014). Bioactive components from seaweeds: Cosmetic applications and future development. *Advances in Botanical Research*، *71*، 345-378PP.
27- Barreca، D.، Mandalari، G.، Calderaro، A.، Smeriglio، A.، Trombetta، D.، Felice، M. R.، & Gattuso، G. (2020). Citrus flavones: An update on sources، biological functions، and health promoting properties. *Plants*، *9*(3)، 288.
28- Chakraborty، K.، Lipton، A. P.، Raj، R. P.، & Vijayan، K. K. (2010). Antibacterial labdane diterpenoids of *Ulva fasciata* Delile from southwestern coast of the Indian Peninsula. *Food chemistry*، *119*(4)، 1399-1408.