

الفاعلية المضادة للجراثيم المرتبطة بالطحلب الأخضر *Ulva fasciata* Delile والجراثيم المائية في المياه البحرية

الدكتورة أسمهان زينب*

الدكتور جورج ديب**

(تاريخ الإيداع 28 / 5 / 2012. قبل للنشر في 25 / 9 / 2012)

□ ملخص □

تم عزل 72 عزلة جرثومية، منها (30) عزلة جرثومية مرتبطة بسطح الطحالب البحرية الخضراء *Ulva fasciata* Delile ، و(42) عزلة جرثومية من المياه البحرية، درست الفعالية المضادة لها تجاه (6) سلالات جرثومية بيئية مائية المنشأ، ثلاث سلالات سالبة صبغة غرام (*Escherchia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Flavobacterium* sp.) وثلاث سلالات إيجابية صبغة غرام (*Staphylococcus aureus*, *Actinobacter* sp., *Bacillus* sp.)

أظهرت النتائج أن 20 عزلة مرتبطة بسطح الطحلب الأخضر وبنسبة 66.66% من عدد العزلات المدروسة أبدت فعالية مضادة عالية تجاه الجراثيم السالبة والإيجابية لصبغة غرام، بينما أقل نسبة 7.14% وتعادل (3) عزلات معزولة من المياه البحرية أبدت فعالية مضادة تجاه الجراثيم الإيجابية غرام فقط.

وسجلت أربع عزلات من سطح الطحلب الأخضر فعالية في عدد من الجراثيم السالبة والإيجابية غرام معاً، أما العزلات الأخرى فكانت ذات تأثير مفرد، بينما العزلات الثلاث التي أظهرت فعالية مضادة للجراثيم من المياه البحرية كانت ذات تأثير مفرد لنوع جرثومي فقط من الجراثيم إيجابية غرام.

اعتماداً على هذه النتائج، يمكن القول إن الجراثيم المرتبطة بسطح الطحلب تتميز بفعالية مضادة عالية تجاه طيف واسع من الجراثيم أكثر من الجراثيم التي تعيش حرة في المياه البحرية.

الكلمات المفتاحية: الجراثيم الحرة البحرية، الجراثيم المرتبطة، الطحلب البحري *Ulva fasciata*، الفعالية المضادة للجراثيم.

* مدرسة - قسم علم الحياة النباتية - كلية العلوم - جامعة تشرين - اللاذقية - سورية.

** أستاذ مساعد - قسم علم الحياة النباتية - كلية العلوم - جامعة تشرين - اللاذقية - سورية.

The Antibacterial activity of attached bacteria with green algae *Ulva fasciata* Delile and marine bacteria in sea water

Dr. Asmahan Zinab*
Dr. George Deeb**

(Received 28 / 5 / 2012. Accepted 25 / 9 / 2012)

□ ABSTRACT □

We had isolated (72) strains of bacteria, (30) attached with green algae *Ulva fasciata* Delile and (42) from sea water, investigated for antibacterial activity against (6) environmental bacteria, three strains were Gram-negative (*Escherchia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Flavobacterium* sp.) and three strains were Gram-positive (*Staphylococcus aureus*, *Actinobacter* sp., *Bacillus* sp.)

The results showed 20 isolates of attached bacteria with *Ulva fasciata* formed percentage 66.66% had high antibacterial activity against Gram-positive and Gram-negative bacteria, while low percentage 7.14% (only 3) of isolates from sea water had antibacterial activity against Gram-positive bacteria only.

Four bacterial isolates attached with *Ulv afasciata* had showed effectiveness against a number of Gram-positive and Gram-negative bacteria, while the other isolates had a single effect, and three isolates from sea water had only one single effect against a strain of Gram-positive bacteria only.

Depending on these results, we can say that attached bacteria with marine green algae *Ulva fasciata* had broad-spectrum antibacterial activity more than the free bacteria founded in sea water.

Keywords : Marine free bacteria, Attached bacteria, Marine algae *Ulva fasciata*, Antibacterial activity.

*Assistant Professor in department of Botany, Faculty of Science, Tishreen University

**Associate Professor in department of Botany, Faculty of Science, Tishreen University

مقدمة :

منذ اكتشاف البنسيلين والمحاولات كثيرة لاكتشاف مركبات مضادة جرثومية نوعية، نظراً لنشوء المقاومة المتعددة الجرثومية للصادات الحيوية التي لا يمكن تجنبها، لذلك فإن البحث عن مصادر جديدة للصادات الحيوية أصبح في غاية الأهمية، وقد ركزت الأبحاث في الماضي على إنتاج مركبات طبيعية من مصادر برية، إلا أن العديد من الدراسات في الوقت الحاضر تهتم بالأحياء الدقيقة المرتبطة بسطوح الأحياء البحرية من حقيقيات النواة Eukaryotes التي أصبحت هدفاً لاكتشاف مركبات استقلابية جديدة فعالة حيوياً (Armstrong *et al.*, 2001; Hellio *et al.*, 2010; Bhakuni and Rawat 2005; Rao *et al.*, 2007; Penesyanyan *et al.*, 2010). ويعزى ذلك بشكل أساسي أن الأحياء الدقيقة المرتبطة بسطوح الأحياء البحرية المضيئة تطور آليات دفاع كيميائية للتنافس البيئي الشديد والمتزايد (Egan *et al.*, 2008; Wilson *et al.*, 2009; Penesyanyan *et al.*, 2011).

وتعدّ الطحالب البحرية الأحياء المنتجة الأساسية للمادة العضوية في المياه البحرية، إضافة إلى ذلك فإن لها تأثيراً كبيراً في انتشار الكائنات الأخرى وكثافتها ضمن البيئة البحرية، كما أن فهم العلاقات السلوكية ضمن الأحياء يقدم أدلة واضحة حول الاهتمام بالمركبات الطبية الفعالة بيولوجياً.

والمركبات الاستقلابية الثانوية البحرية هي مركبات تنتج من الجراثيم والطحالب المتعايشة في المياه البحرية، حيث تصنع هذه الكائنات تلك المركبات ليس فقط كمركبات استقلابية أساسية أو ثانوية، بل لحماية نفسها بالدرجة الأولى والمحافظة على التوازن ضمن بيئتها، بعض من تلك المواد الاستقلابية الثانوية تفتح الطريق للحصول على مواد علاجية فعالة وآمنة. والجدير بالذكر أن المياه البحرية تحوي حوالي 500 ألف نوع من المصادر غير المطروقة للمركبات الاستقلابية الثانوية والجزئيات الفعالة من الجراثيم المرتبطة بسطوح الكائنات الحية البحرية (Long and Azam 2001; Selvin and Lipton 2004; Wilson *et al.*, 2009). وبعض من تلك المركبات عُزل من الطحالب لتطوير مركبات طبية علاجية ضد السرطان والإنتانات الجرثومية والأمراض الالتهابية (Penesyanyan *et al.*, 2010).

ويعدّ تنافس الأحياء الدقيقة على المكان والغذاء في البيئة البحرية من العوامل المهمة التي تمنح الأحياء الدقيقة البحرية المقدر على إنتاج مركبات طبيعية عديدة لها أهمية طبية وصناعية (Armstrong *et al.*, 2001).

واهتم عدد من الباحثين بدراسة العلاقة المتبادلة بين الجراثيم المرتبطة بسطح الطحالب من جهة والطحالب البحرية من جهة أخرى، واهتموا أيضاً باستخلاص المركبات الفعالة واستخدامها لأغراض علاجية طبية وصيدلانية نظراً لخصائصها المضادة للجراثيم والفطريات (زينب، عباس وقرّة علي، 2011 قيد النشر) (Rice *et al.*, 1999; Selvin and Lipton 2004; Tujula 2006; Egnel *et al.*, 2006; Musa and Wei 2009; Yuexin 2008)، ولخصائصها المضادة للفيروسات والممانعة لتخثر الدم وخاصة الطحلب الأخضر (Mendes *et al.*, 2010; Priyadharshini *et al.*, 2012) *Ulva fasciata*.

ونظراً لقلّة الدراسات المتعلقة بالفعالية المضادة للجراثيم المرتبطة بالطحالب البحرية (زينب وعباس، 2010) والجراثيم المائية البحرية في الساحل السوري، فقد أنجزنا هذا البحث، لعله يقدم إضافة جديدة.

أهمية البحث وأهدافه:

تعود أهمية هذا البحث إلى تميّز الجراثيم المرتبطة بالطحلب الأخضر المدروس بفعالية مضادة تجاه طيف من الجراثيم، كما أوضحت نتائج دراسة (زينب وعباس، 2010)، والهدف الرئيس لهذه الدراسة هو الكشف عن فعالية بعض

الجراثيم المعزولة من سطح الطحلب ومياه البحر تجاه عدد من السلالات الجرثومية، ومقارنة الفعالية المضادة لمجموعتي العزلات الجرثومية من خلال إجراء الخطوات الآتية:

- 1- عزل بعض الجراثيم من عينات مائية بحرية وتنقيتها.
- 2- عزل بعض الجراثيم المرتبطة بسطح الطحلب البحري الأخضر *Ulva fasciata* Delile وتنقيتها.
- 3- دراسة خاصة التضاد الجرثومي Antibacterial للجراثيم المائية البحرية والجراثيم المرتبطة بسطح الطحلب المدروس *Ulva fasciata* Delile تجاه عدد من السلالات الجرثومية المعزولة من عينات بيئية.

طرائق البحث ومواده:

جمع العينات المائية:

جُمعت عينات مائية بحرية بعبوات زجاجية معقمة سعة 250 مل، من المياه البحرية لشاطئ الكورنيش الجنوبي لمدينة اللاذقية، خلال الفترة بين نيسان - حزيران من عام 2011، لعزل الجراثيم المائية. نُقلت العينات مباشرة إلى المختبر للزرع. أنجز هذا البحث في مختبر البحث العلمي لقسم النبات في كلية العلوم - جامعة تشرين.

عزل الجراثيم المائية البحرية:

زرعت العينات المائية البحرية مباشرة فور وصولها إلى المختبر بطريقة التمديد على وسط Marine Agar، حُضنت الأطباق في الدرجة 25°م لمدة 20 يوماً (Zheng et al., 2005)، وبعد انتهاء زمن الحضانة، عُزلت المستعمرات الجرثومية للحصول على مزارع نقية بتكرار الزرع على الوسط نفسه، مع الإشارة إلى أنه تم زرع كل تمديد ثلاثة مكرارات.

جمع عينات الطحلب:

جُمع طحلب *Ulva fasciata* Delile الذي ينتمي إلى الطحالب الخضراء Chlorophyceae، من المياه البحرية لشاطئ الكورنيش الجنوبي لمدينة اللاذقية، خلال الفترة ما بين نيسان - حزيران من عام 2011، نُقل الطحلب بعد الجمع مباشرة إلى المختبر ضمن عبوات معقمة، وصُنّف بالاعتماد على معطيات الدراسات التصنيفية السابقة للطحلب البحرية السورية (ميهوب، 1991. ميهوب وعباس، 1992).

عزل الجراثيم المرتبطة بالطحلب الأخضر البحري:

عُسلت عينة الطحالب بمياه البحر المعقم لإزالة المواد العالقة عليها ثلاث مرات، وزرعت الجراثيم المرتبطة بسطح الطحلب بطريقتين:

- 1- بواسطة ماسحة قطنية بعد تمريرها فوق سطح الطحلب بشكل جيد، ثم زرعت الجراثيم على وسط Marine Agar وحضنت في الدرجة 25°م لمدة 20 يوماً (Zheng et al., 2005; Rao et al., 2007).
- 2- وضع جزء من الطحلب في 50 مل من ماء بحر معقم ضمن ارلنماير، ثم عرضت للهب الخفيف لمدة 10 دقائق وبعدها زرعت 0.1 مل و0.5 مل مباشرة بطريقة الفرش على وسط Marine Agar وحضنت في الدرجة 25°م لمدة 20 يوماً.

وبعد انتهاء فترة الحضان عُزلت كل الجراثيم النامية فوق الوسط (Towse, 2005; Zheng *et al.*, 2005)، ثم اختبرت الفعالية المضادة لها مباشرة تجاه عدد من الجراثيم البيئية.

الجراثيم المعزولة من البيئة والمستخدم في دراسة اختبار التضاد الجرثومي:

تم عزل جراثيم الاختبار من مياه بيئية (نهر، بحر وشبكة توزيع مياه الشرب) والبالغ عددها ستة أنواع جرثومية، موضحة في الجدول رقم -1:

الجدول-1- الجراثيم المعزولة ومصدرها.

عينات مائية	الجراثيم المعزولة
مياه نهر	<i>Escherichia coli</i>
مياه بحرية	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
مياه نهر	<i>Flavobacterium sp.</i>
مياه بحرية	<i>Staphylococcus aureus</i>
مياه شرب شبكة التوزيع	<i>Actinobacter sp.</i>
مياه بحرية	<i>Bacillus sp.</i>

أمكن تصنيف الجراثيم المعزولة بعد إجراء الاختبارات الحيوية الكيميائية اللازمة (الأوكسيداز، الكاتالاز، الإندول، أحمر الميثيل، السترات، فوجس بروسكاور، الحركة، اليوريا، تخمر السكاكر، إطلاق H_2S ، تحلل الجيلاتين والنشاء، إرجاع النترات، نزع الكريوكسيل من الحموض الأمينية، المخثرز *coagulase*) ثم بالاعتماد على دليل بيرجي (Garrity *et al.*, 2004; Garrity *et al.*, 2005)، وأحياناً استُخدمت أنظمة تحديد الجراثيم (BioMérieux API Staph, API 20E System, France).

الفعالية المضادة للجراثيم المائية والجراثيم المرتبطة بالطحلب:

تم اتباع تقنية (Towse, 2005) و(زينب وعباس، 2010) والمعتمدة على ظهور هالات أو حلقات عدم نمو *Inhibition zones* واضحة في وسط *Mueller Hinton Agar*، دليل على تثبيط النمو الجرثومي، أُنجزت هذه التجربة بمعدل (3) مكررات لكل حالة، ودلت الجراثيم التي أظهرت حلقة تثبيط للنمو بقطر أكبر من 6 ملم فما فوق على إيجابية اختبار الفعالية المضادة للجراثيم (Towse, 2005; Zheng *et al.*, 2005).

النتائج والمناقشة:

الجراثيم الفعالة المعزولة:

بلغ عدد العزلات الجرثومية المرتبطة بسطح الطحلب *Ulva fasciata* 30 عزلة، والعزلات الجرثومية من المياه 42 عزلة، وعدد العزلات المظهرة فعالية مضادة للجراثيم 20 و3 عزلة على التوالي، وبالتالي فإن النسبة المئوية

66.66% للجراثيم المرتبطة بسطح الطحلب الأخضر أعلى بكثير من النسبة المئوية للجراثيم الفعالة المعزولة من المياه البحرية 7.14% فقط، كما هي موضحة في الجدول رقم 2-.

الجدول 2- عدد عزلات الجراثيم والنسبة المئوية للعزلات الجرثومية الفعالة.

النسبة المئوية للعزلات الفعالة %	عدد العزلات الفعالة	عدد العزلات الجرثومية	مصدر الجراثيم
66.66	20	30	الجراثيم المرتبطة بسطح الطحلب <i>Ulva fasciata</i>
7.14	3	42	الجراثيم المائية البحرية
	23	72	المجموع

سجل الباحث *Lemose et al. 1985* في دراسته للعزلات الجرثومية المرتبطة بسطح الطحالب الخضراء نسبة مرتفعة للجراثيم التي أظهرت فعالية مضادة للأحياء الدقيقة 80.36%، أوضحت دراسة (زينب وعباس، 2010) للجراثيم الفوقية لعدد من الطحالب البحرية، أن جميع العزلات المأخوذة عن سطح الطحلب الأخضر *Ulva compressa* (30) عزلة) تتمتع بفعالية مضادة للجراثيم.

والنسبة المسجلة في دراستنا للعزلات الفعالة المعزولة عن سطح الطحلب الأخضر، أعلى مما سجله الباحث (Zheng et al., 2005) للنوع *Ulva fasciata* المأخوذ من بحر الصين، إذ عزل 25 عزلة جرثومية مرتبطة بسطح الطحلب الأخضر، ولكن 4 عزلات فقط أظهرت فعالية مضادة للجراثيم.

تأثير الجراثيم المعزولة في الجراثيم السلبية والإيجابية غرام: يوضح الجدول 3-، عدد العزلات الجرثومية الفعالة المرتبطة بسطح الطحلب الأخضر *Ulva fasciata* والمعزولة من المياه البحرية والمؤثرة في الجراثيم السلبية والإيجابية صبغة غرام.

الجدول 3- عزلات الجراثيم الفعالة في الجراثيم السلبية والإيجابية غرام ونسبها المئوية.

مصدر الجراثيم	عدد العزلات الفعالة تجاه الجراثيم السلبية غرام ⁻	عدد العزلات الفعالة تجاه الجراثيم الإيجابية غرام ⁺	عدد العزلات الفعالة تجاه الجراثيم الإيجابية والسلبية غرام ⁺	مجموع العزلات الفعالة
الجراثيم المرتبطة بسطح الطحلب <i>Ulva fasciata</i>	5 * (25) %	12 (60)	3 (15)	20 (100)
الجراثيم المائية البحرية	0 (0)	3 (100)	0 (0)	3 (100)

* عزلات الجراثيم التي أظهرت خاصية التضاد الجرثومي (% النسبة المئوية)

يتضح من الجدول 3- أن العزلات الجرثومية المرتبطة بسطح الطحلب الأخضر أثرت في جراثيم الاختبار السلبية والإيجابية غرام، ولكن نسبة التأثير في الجراثيم الإيجابية غرام أعلى من الجراثيم السلبية غرام، فقد كانت النسب

60% و25% على التوالي، ونسبة منخفضة 15% أظهرت فعالية في الجراثيم الإيجابية والسلبية غرام، ويلاحظ أن تأثير العزلات الفعالة المعزولة من المياه البحرية كان تجاه الجراثيم الإيجابية غرام فقط 100%.

الجدول 4- العزلات المرتبطة بسطح الطحلب الأخضر *Ulva fasciata* المظهرة فعالية مضادة للجراثيم البيئية.

جراثيم الاختبار/العزلات	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
<i>Escherchia coli</i>	+																			
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		+									+									+
<i>Flavobacterium sp.</i>				+							+			+	+			+		
<i>Staphylococcus aureus</i>								+	+		+	+				+				+
<i>Actinobacter sp.</i>													+		+					
<i>Bacillus sp.</i>													+				+			+

+ (فعالية مضادة إيجابية)

يلاحظ من الجدول 4- أن عزلة واحدة فقط معزولة من سطح الطحلب الأخضر أظهرت فعالية في جراثيم *Escherchia coli*، وثلاث عزلات أظهرت فعالية في جراثيم *Pseudomonas aeruginosa*، وخمس عزلات أظهرت فعالية في جراثيم *Flavobacterium sp.* و *Actinobacter sp.*، وسبع عزلات أظهرت فعالية في الجراثيم الإيجابية غرام *Staphylococcus aureus* و *Bacillus sp.* والعزلة رقم (11) أظهرت تأثيراً في نوعين للجراثيم السلبية غرام (*Flavobacterium sp.*، *Pseudomonas aeruginosa*) ونوعين للجراثيم الإيجابية غرام (*Staphylococcus aureus*، *Bacillus sp.*)، وهذا يتفق مع نتيجة الباحث (Rao et al., 2006; Rao et al., 2007)، حيث استطاع عزل جراثيم *Pseudoalteromonas tunicate* مرتبطة بسطح الطحلب الأخضر *Ulva australis* أظهرت تأثيراً جيداً في عدد من الجراثيم السلبية والإيجابية غرام المعزولة من بيئات مختلفة، وتطابقت مع دراسة (Wilson et al., 2009) إذ عزل أنواعاً جرثومية مرتبطة بالسطوح الحية المغمورة في مياه البحر ذات فعالية عالية في عدة سلالات جرثومية.

الجدول 5- العزلات الجرثومية من المياه البحرية المظهرة فعالية مضادة للجراثيم البيئية.

جراثيم الاختبار/العزلات المائية	1	2	3
<i>Escherchia coli</i>			
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>			
<i>Flavobacterium sp.</i>			
<i>Staphylococcus aureus</i>	+		
<i>Actinobacter sp.</i>		+	
<i>Bacillus sp.</i>			+

+ (فعالية مضادة إيجابية)

يوضح الجدول 5- أن كل عزلة من العزلات الثلاث من المياه البحرية والمظهرة فعالية ذات تأثير منفرد في نوع جرثومي واحد من جراثيم الاختبار الإيجابية غرام، وغابت الفعالية في الجراثيم السلبية غرام.

يعدّ سطح الطحلب أغنى بالمواد المغذية من المياه البحرية أو المواد اللاحية المنتشرة في البيئة البحرية، فهو يسمح بنمو عدد كبير من الجراثيم (Sponga *et al.*, 1999). تستفيد الجراثيم ذات العلاقة الوثيقة بمضيفاتها من المواد المتوفرة على سطح هذه الطحالب كالفيتامينات، السكاكر المتعددة والحموض الدسمة، إضافة إلى ذلك يمكن لهذه الجراثيم المرتبطة بسطح الطحالب أن تطرح مستقلبات ثانوية مهمة كالحموض الأمينية، الصادات الحيوية والذيفانات الملائمة (Hempel *et al.*, 2008; Priyadharshini *et al.*, 2012)، تساهم هذه المنتجات في تحسين النمو والاستقلاب والآلية الدفاعية الكيميائية للطحالب، وتتميز بطيف واسع من الفعاليات البيولوجية، وأن مثل هذه التأثيرات المتبادلة بين الجراثيم المرتبطة بسطح الطحلب والطحلب المضيف غير موجودة في المياه البحرية (Armstrong *et al.*, 2001; Rao *et al.*, 2006; Egan *et al.*, 2008; Yuexin, 2009; Penesyan *et al.*, 2011)، وهذا يفسر ارتفاع نسبة العزلات الجرثومية المرتبطة بسطح الطحلب الأخضر المظهرة فعالية مضادة للجراثيم عن العزلات الجرثومية المأخوذة من المياه البحرية، وقد توافقت هذه النتائج مع دراسة (Zheng *et al.*, 2005, Long and Azam 2001).

الاستنتاجات والتوصيات:

أظهرت الجراثيم المعزولة المرتبطة بسطح الطحلب الأخضر *Ulva fasciata* Delile فعالية عالية بالمقارنة مع الجراثيم المعزولة من المياه البحرية، وشمل تأثير الجراثيم المعزولة الفعالة المرتبطة بسطح الطحلب في جميع جراثيم الاختبار الإيجابية والسالبة صبغة غرام المدروسة، بينما اقتصر تأثير العزلات الجرثومية المائية البحرية في الجراثيم الإيجابية غرام فقط، وبالتالي يمكن أن يكون لهذه الجراثيم المرتبطة دور في الحصول على المواد الفعالة تجاه الجراثيم، لذلك من الضروري تحديد الأنواع الجرثومية الفعالة والمؤثرة في الجراثيم، بهدف إمكانية الحصول على مواد مضادة طبيعية للأحياء الدقيقة وخاصة المقاومة للصادات الحيوية.

المراجع:

- 1- زينب، أسمهان وعباس آصف. الجراثيم الفوقية المرتبطة بالطحالب البحرية: مصادر محتملة للمواد الصادة للجراثيم. مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية- سلسلة العلوم البيولوجية. المجلد (3)، العدد (4)، 2010. 101.-86
- 2- زينب، أسمهان وعباس آصف وقرّة علي، أحمد. الفعالية الصادة لمستخلصات بعض الطحالب البحرية السورية تجاه بعض الأحياء الدقيقة الممرضة. مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية- سلسلة العلوم البيولوجية. 2011. (موافقة نشر رقم 752/ص م ج تاريخ 2011/7/4).
- 3- ميهوب، حامد. الطحالب ذات الأهمية الاقتصادية والطبية في سورية. 1-الطحالب الحمراء. مجلة جامعة تشرين. 13 (3)، 1991، 85.-103
- 4- ميهوب، حامد وعباس آصف. الطحالب ذات الأهمية الاقتصادية والطبية في سورية. 2-الطحالب السمراء والخضراء. مجلة جامعة دمشق. 8، 1992، 51-72.

- 5-ARMSTRONG, E.; YAN, L.; BOYD, K.G.; WRIGHT, P.C.; BURGESS, J.G. *The symbiotic role of marine microbes on living surfaces*. Hydrobiologia. Vol. 461, 2001, 37–40.
- 6-BHAKUNI, D. S. AND RAWAT, D. S. *Bioactive Marine Natural Products*. Springer. Anamay, New Delhi, 2005. India. 369.
- 7-EGAN, S.; THOMAS, T.; KJELLEBERG, S. *Unlocking the diversity and biotechnological potential of marine surface associated microbial communities*. Curr. Opin. Microbiol. Vol. 11, 2008, 219–225.
- 8-ENGEL S.; PUGLISI M.P.; JENSEN P.R. & FENICAL W. *Antimicrobial activities of extracts from tropical Atlantic marine plants against marine pathogens and saprophytes*. Mar Biol Vol. 149, 2006, 991-1002.
- 9-GARRITY, G. M.; BELL, J. A. and LILBURN, T. G. *Taxonomic Outline of the Prokaryotes Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. 2nd Edition, Springer, New York Berlin-Heidelberg, 2004, 401.
- 10-GARRITY, G. M.; BRENNER, D. J.; KRIEG N.R., STALEY, J. T. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Springer, USA, 2nd Edition, Vol. 2, 2005, P. 1-1135.
- 11-HELLIO, C.; BROISE, D. D. L.; DUFOSSÉ, L.; GAL, Y. L.; BOURGOUGNON, N. *Inhibition of marine bacteria by extracts of macroalgae: potential use for environmentally friendly antifouling*. Marine Environmental Research. Vol. 52, 2001, 231-247.
- 12-HEMPEL, M.; BLUME, M.; BLINDOW, I. and GROSS; E. M. *Epiphytic bacterial community composition on two common submerged macrophytes in brackish water and freshwater*. BMC Microbiology, Vol. 8, N°. 58, 2008, 1-10.
- 13-LEMOES, M. L.; TORANZO, A. E.; BARJA, J. L. *Antibiotic activity of epiphytic bacteria isolate from intertidal seaweeds*. Microb. Ecol. Vol. 11, 1985, pp. 149-163.
- 14-LONG, R. A.; AZAM, F. *Antagonistic interactions among marine pelagic bacteria*. Applied and Environmental Microbiology. Vol. 67, N°. 11, 2001, pp. 4975–4983.
- 15-MENDES, G.S.; SOARES, A.R.; MARTINS, F.O.; ALBUQUERQUE, M.C.M.; COSTA, S.S.; YONESHIGUE-VALENTIN, Y.; GESTINARI, L.M.S.; SANTOS, N. & ROMANOS, M.T.V. *Antiviral activity of the green marine alga Ulva fasciata on the replication of human metapneumovirus*. Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo, Vol. 52, 2010, N°. 1, 3-10.
- 16-MUSA, N. and WEI, L. S. *Bacteria Attached on Cultured Seaweed Gracilaria changii at Mengabang Telipot, Terengganu*. Academic Journal of Plant Sciences, Vol. 1, N°. 1, 2008, pp. 1-4.
- 17-PENESYAN, A.; KJELLEBERG, S. and EGAN, S. *Development of Novel Drugs from Marine Surface Associated Microorganisms*. Marine Drugs, Vol. 8, 2010, 438-450.
- 18-PENESYAN, A.; TEBBEN, J.; LEE, M.; THOMAS, T.; KJELLEBERG, S.; HARDER, T. and EGAN, S. *Identification of the Antibacterial Compound Produced by the Marine Epiphytic Bacterium Pseudovibrio sp. D323 and Related Sponge-Associated Bacteria*. Marine Drugs, Vol. 9, 2011, pp. 1391-1402.
- 19-PRIYADHARSHINI S.; BRAGADEESWARAN S.; PRABHU K.; RANI S. S. *Antimicrobial and hemolytic activity of seaweed extracts Ulva fasciata (Delile 1813) from Mandapam, Southeast coast of India*. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. (2012) S38-S39
- 20-RAO, D.; WEBB, J. S. and KJELLEBERG, S. *Microbial Colonization and Competition on the Marine Alga Ulva australis*. Applied and Environmental Microbiology, Vol. 72, N°. 8, 2006, 5547-5555.

- 21-RAO, D.; WEBB, J. S.; HOLMSTRÖM C.; CASE, R.; LOW, A.; STEINBERG, P. and KJELLEBERG, S. *Low Densities of Epiphytic Bacteria from the Marine Alga Ulva australis Inhibit Settlement of Fouling Organisms*. Applied and Environmental Microbiology, Vol. 73, N°. 24, 2007, 7844-7852.
- 22-RICE, S. A.; GIVSKOV, M.; STEINBERG, P. and KJELLEBERG, S. *Bacterial Signals and Antagonists: The Interaction Between Bacteria and Higher Organisms*. J. Mol. Microbiol. Biotechnol., Vol. 1, N°. 1, 1999, 23-31.
- 23-SELVIN, J. and LIPTON, A. P. *Biopotentials of Ulva fasciata and Hypnea musciformis collected from the peninsular coast of India*. Journal of Marine Science and Technology, Vol. 12, N°. 1, 2004, 1-6.
- 24-TOWSE, S. J. *Antimicrobial Activity Of Marine Vibrio sp., Isolate NI-22*. A thesis, The University of Winnipeg. 2005, 1-44.
- 25--TUJULA, N.A. *Analysis of the epiphytic bacterial community associated with the green alga Ulva australis*. A thesis, The University of New South Wales. 2006, 1-178.
- 26-WILSON, G. S.; RAFTOS, D. A.; CORRIGAN, S. L.; NAIR, S. V. *Diversity and antimicrobial activities of surface-attached marine bacteria from Sydney Harbour, Australia*. Microbiological Research. 2009.
- 27-YUEXIN, M.; PENGLIANG, L.; SHUBO, Y.; DANTONG, L.; SHANMAO, C. *Inhibition of common fouling organisms in mariculture by epiphytic bacteria from the surfaces of seaweeds and invertebrates*. Acta Ecologica Sinica, Vol. 29, 2009, 222–226.
- 28-ZHENG, L.; HAN, X.; CHEN, H.; LIN, W.; YAN X. *Marine bacteria associated with marine macroorganisms: the potential antimicrobial resources*. Annals of Microbiology, Vol. 55, N°. 2, 2005, 119-124.