Antibacterial activity of extracts of brown algae *Stypopodium zonale* against some pathogenic bacteria

Dr. Asmahan Zinab **
Mazen Ibrahem*

(Received 4 / 7 / 2019. Accepted 8 / 10 /2019)

□ ABSTRACT □

Ethanol, methanol, chloroform and acetone extracts of *Stypopodium zonale*. Were tested for antibacterial activity by disk diffusion method.
Studied algae was collected from studies coast in lattakia During the summer of 2014. Pathogenic bacteria were obtained from Al- Assad hospital laboratory in lattakia, which are *Streptococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* as gram-positive bacteria, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebseilla* sp., *Escherishia coli* as gram-negative bacteria.
The study results showed effective inhibition of chloroform and acetone extracts against *Streptococcus faecalis* and *Staphylococcus aureus*, also it showed an effectiveness of ethanol extract against *Staphylococcus aureus* only, While methanol extracts have not shown any effectiveness against any tested bacteria. As for Gram-negative bacteria did not show any efficancy at all tested extracts. Diameters of inhibiting rings also showed a marked increase according to increase the concentration of extract.
Results indicate that the algae has effective substances with antibacterial activity Against isolated Gram-positive pathogenic bacteria, And it can be a source of new antibiotics used to treat bacterial infections in the future.

Key word: *Stypopodium zonale*, antibacterial activity, organic extracts, human pathogenic bacteria, antibiotics, gram negative bacteria.

** **Assistance Professor In Department Of Botany, Faculty Of Science, Tishreen University, Syria Asmazinab1@Gmail.Com**
* **Student Of Master Degree In Department Of Botany- Faculty Of Science- Tishreen University, Syria Maz.Ibra.77@Hotmail.Com**

الفعالية الصّادة لمستخلصات الطحلب الأسمر *Stypopodium zonale* تجاه بعض الجراثيم الممرضة

د. أسمهان زينب **

مازن محمد ابراهيم *

(تاريخ الإيداع 4 / 7 / 2019. قبل للنشر في 8 / 10 / 2019)

□ ملخّص □

اختبرت فعالية مستخلصات الإيتانول والميتانول والكلوروفورم والأسيتون لطحلب الـ *Stypopodium zonale* للتحقق من قدرتها الصادّة للجراثيم بطريقة الانتشار في الأغار باستخدام القرص المفرد.

جُمعت عينات الطحلب من المياه البحرية لشاطئ شاليهات الدراسات العليا في مدينة اللاذقية خلال صيف عام 2014، وتم الحصول على الجراثيم الممرضة من مختبر مستشفى الأسد الجامعي في اللاذقية وهي: *Staphylococcus aureus*، *Streptococcus faecalis* جراثيم موجبة الغرام، *Escherichia coli*، *Klebseilla* sp.، *Pseudomonas aeruginosa* جراثيم سالبة الغرام.

أظهرت نتائج الدراسة فعالية تثبيطية لمستخلصات الكلوروفورم والأسيتون تجاه الجراثيم *Streptococcus faecalis* وَ *Staphylococcus aureus*، ولمستخلص الإيتانول تجاه جراثيم *Staphylococcus aureus* فقط، بينما لم تبد مستخلصات الميتانول أية فعالية تجاه أي نوع من الجراثيم المستخدمة، لوحظ أيضاً عدم وجود فعالية عند جميع المستخلصات السابقة تجاه الجراثيم سالبة الغرام المستخدمة. كما بيّنت أقطار حلقات التثبيط زيادة ملحوظة بزيادة تركيز المستخلص.

تشير النتائج إلى امتلاك طحلب الـ *Stypopodium zonale* لمواد فعالة حيوياً ذات قدرة تثبيطية تجاه الجراثيم الممرضة المعزولة موجبة الغرام ويمكن أن تكون مصدراً لصادّات حيوية جديدة تستخدم في علاج الإنتانات الجرثومية في المستقبل.

كلمات مفتاحية: *Stypopodium zonale*، مستخلصات عضوية، فعالية تثبيطية، الجراثيم الممرضة البشرية، الصادات الحيوية، جراثيم سالبة الغرام.

** أستاذ مساعد في قسم علم الحياة النباتية – كلية العلوم – جامعة تشرين – سورية.

* طالب ماجستير في قسم علم الحياة النباتية – كلية العلوم – جامعة تشرين– سورية.

مقدمة:

تعدّ الأمراض الجرثومية المُعدية من الأسباب الرئيسة التي تؤدي إلى زيادة معدل الوفيات في جميع أنحاء العالم، (Kandhasamy and Arunachalam, 2008) وقد كان لاكتشاف الصّادات الحيوية الأثر الكبير في الحد من انتشار هذه الأمراض والتقليل من نسبة الوفيات الناتجة عنها. وأدى الاستخدام العشوائي للصّادات إلى ظهور سلالات جرثومية جديدة مقاومة لها، (Lavanya and Veerappan, 2011) وهذا ما شكّل تحدياً كبيراً للقطاع الصحي وللعاملين فيه. غالباً ما تصادف الجراثيم المقاومة في المستشفيات، حيث تستعمل الصّادات على نطاق واسع في علاج الأمراض الإنتانية الجرثومية. إن أكثر من 70% من الجراثيم المسببة للأمراض الجرثومية مقاومة على الأقل لواحد أو أكثر من الصّادات المستخدمة في علاجها (مرعي، 2011). ومع كل عقد زمني ينقضي على استخدامها تظهر سلالات جرثومية جديدة مقاومة، وهذا ما يزيد من كلفة استخدام الصّادات والتي تصبح في كثير من الأحيان غير ملائمة للعلاج وذات تأثيرات جانبية قد تكون خطيرة أحياناً. لذلك كان لابد من البحث عن آليات ومواد جديدة لمكافحة العدوى الجرثومية (Osman *et al.*, 2010). يشكّل التنوع البيولوجي للنظام البيئي البحري مصدراً هاماً لكثير من المتعضيات ذات الأهمية الغذائية والعلاجية، من بينها الطحالب التي استخدمها الصينيون القدماء في علاج كثير من الأمراض. لقد ثبت أن الطحالب البحرية غنية بالكاروتينات والألياف الغذائية والبروتينات والأحماض الدهنية والفيتامينات والمعادن، ويتم استغلالها حالياً بشكل أساسي من أجل الانتاج الصناعي للغرويات الطحلبية مثل: الأغار – أغار، الألجينات، الكارجينان (عباس، 2010؛ عباس، 2012؛ عباس، 2013) (Rajasulochana et al., 2009)، ولكنها تحظى مؤخراً باهتمام متزايد لأنها تعد من أهم المصادر البحرية التي تمتلك قدرة على إنتاج المستقلبات الثانوية ذات الأهمية المحتملة في الصناعات الدوائية كالصّادات الجرثومية والصّادات الفطرية ومضادات التخثر ومضادات الأكسدة وغيرها من المواد. (Gonzalez *et al.*, 2001; Pereira *et al.*, 2002; Kuda *et al.*, 2005; Saidani *et al.*, 2012).

1− الطحلب المدروس: ***Stypopodium zonale* (y.v. Lamouroux) Papenfuss**

ينتمي طحلب *Stypopodium zonale* إلى صف الطحالب السمراء Phaeophyceae وإلى رتبة Dictyotales من الفصيلة Dictyotaceae ويتألف الطحلب من مشرة Thallus صفيحية مروحية الشكل، ذات سويقة قصيرة تتثبت على القاع بمجموعة كثيفة من الجذيرات Rhizoides، ويتراوح طول الطحلب بين (10 – 25) سم في حين يمكن أن يصل ارتفاعه إلى (30) سم، ويتميز الطحلب مورفولوجياً بمظهره المخطط عرضياً، نتيجة لوجود خطوط متتالية داكنة اللون متمركزة حول قاعدة المشرة (شكل 1)، كما يتميز بلونه الأسمر المصفر، الذي يتحول عند موت النبات أو تجفيفه إلى الأسمر الداكن (ميهوب، 1989).

شكل (1) الطحلب الأسمر *Stypopodium zonale*

من الناحية التطبيقية يمكن استخدام هذا الطحلب كسماد عضوي، وفي إنتاج الألجينات (ميهوب، 1989)، كما تشير الدراسات إلى احتواء هذا الطحلب على مواد سامة هامة صيدلانياً كمادة ستيبولديون Stypoldion (O'Brien *et al*., 1984)، وقد تبين أن هذه المواد يمكن استخدامها كمضادات للسرطان ومضادات فيروسية (Mendes *et al*., 2011) ومواد ذات سمية عصبية ومضادات ميكروبية ((Dorta *et al*., 2002; Sabry *et al*., 2005

أهمية البحث وأهدافه:

تكمن أهمية الدراسة في التحري عن الفعالية الصّادة في مستخلصات الطحلب البحري السوري *Stypopodium zonale* من الطحالب السمراء تجاه بعض أنواع الجراثيم الممرضة للإنسان، بغية الوصول إلى مواد جديدة ذات تأثير مثبط أو قاتل للجراثيم الممرضة بما فيها الجراثيم المعنّدة، ويهدف البحث إلى:

1) استخلاص المواد الفعالة باستخدام مذيبات عضوية (إيتانول – ميتانول – أسيتون – كلوروفورم) من طحلب *Stypopodium zonale*.

2) اختبار فعالية المستخلصات الطحلبية تجاه الجراثيم الممرضة للإنسان المعزولة.

طرائق البحث ومواده:

1- جمع العينات الطحلبية:

جمعت عينات الطحلب *Stypopodium zonale* من المياه البحرية لشاطئ شاليهات الدراسات العليا في مدينة اللاذقية خلال شهر إيار 2014، ثم غسلت بماء البحر للتخلص من الرمال وبعض الشوائب والأحياء الفوقية، ونُقلت إلى المختبر ضمن عبوات بلاستيكية، غسلت العينات بالماء العذب لإزالة الأملاح وما تبقى من رواسب، وجففت في الظل مدة 7 أيام ثم في محمّ درجة حرارته 40° م حتى ثبات الوزن وحفظت لحين الاستخدام. (Lima-Filho *et al*., 2002; Rajasulochana *et al*., 2009). أجري هذا البحث في مختبر البحث العلمي لطلاب الدراسات العليا – قسم علم الحياة النباتية – كلية العلوم خلال عام 2014 – 2015.

2- تحضير المستخلصات العضوية:

1- سحقت العينة الطحلبية الجافة باستخدام طاحونة كهربائية (grinder) على شكل مسحوق ناعم.

2- تم نقع 50 غرام من المسحوق الطحلبي في 350 مل من المذيبات العضوية (إيتانول – ميتانول – أسيتون – كلوروفورم) ضمن حوجلة كلّ على حدة ثم وضعت في الظل وبدرجة حرارة الغرفة مع التحريك المستمر لمدة أسبوع.

3- وضعت العينة في جهاز هزاز (150 هزة/د) بدرجة حرارة المختبر مدة 24 ساعة.

4- رشحت الخلاصة باستخدام أوراق ترشيح (Double Rings, No.101, 11.0 cm).

5- تمّ التخلص من المذيب بوساطة المبخر الدوار (Rotary Evaporator) بدرجة حرارة أقل من 40° م (Engel *et al*., 2006; Tuney *et al*., 2006; Taskin *et al*., 2007; Osman *et al*., 2010).

6- جففت الخلاصة المتبقية بغاز الآزوت حتى ثبات الوزن.

7- حفظت الخلاصة الجافة في براد بدرجة حرارة −20° م إلى حين الاستخدام.

أجريت كل تجربة بمعدل ثلاث مكررات، وحسب مردود الخلاصات العضوية الجافة وفق العلاقة الآتية:

المردود % = وزن الخلاصة الجافة بعد التبخر/وزن مسحوق الأوراق الجافة × 100.

جدول (1) نتائج أوزان الخلاصات العضوية الجافة بعد التبخر مقدرة بالغرام والنسبة المئوية للمردود

المذيب العضوي	أسيتون	إيتانول	كلوروفورم	ميتانول
وزن الخلاصة الجافة/ غ	3.33	5.1	3.45	5.77
المردود %	6.66 %	10.2 %	6.9 %	11.54 %

3- عزل الجراثيم الممرضة:

تم الحصول على الجراثيم الممرضة من مختبر مستشفى الأسد الجامعي بعد عزلها من عينات مرضية، ثم زرعت ونقيت باستخدام عدة أوساط زرعية مثل: إيوزين أزرق الميثيلين EMB Agar و KF-Streptococcus Agar ووسط شابمان للعنقوديات الذهبية ووسط Pseudomonas Agar P Base. صنفت الجراثيم المعزولة بعد إجراء الاختبارات الحيوية الكيميائية المطلوبة (الأوكسيداز، الكاتالاز، أحمر الميثيل، الإندول، السيترات، بروسكاور، اليوريا، تخمير السكريات، الحركة، تحليل الهلام والنشاء، إطلاق H_2S، إرجاع النترات، المختزاز) و استخدم نظام تحديد الجراثيم API 20E System، ودليل بيرجي (Garrity *et al*., 2005).

4- اختبار الفعالية التثبيطية لمستخلصات طحلب *Stypopodium zonale*. تجاه الجراثيم الممرضة البشرية المعزولة:

تم اختبار الفعالية التثبيطية للمستخلص الطحلبي بالنسبة للمذيبات العضوية (إيتانول، ميتانول، أسيتون، كلوروفورم) بطريقة الانتشار في الأغار باستخدام القرص المفرد (NCCLS 2004)، حيث أذيب (640 mg) من الخلاصة الجافة في (1ml) من كل مذيب عضوي للحصول على المحلول الأم، ومنه حضرت التراكيز المطلوبة بعد إجراء سلسلة من التخافيف، ثمّ شربت أقراص (Whatman, No.1, 6 mm) قطرها (6mm) بـِ 20 ميكرولتراً من كل تركيز، وأقراص ترشيح أخرى بـِ 20 ميكرولتراً من المذيب العضوي نفسه فقط كشاهد سلبي، ثمّ وضعت الأقراص في

درجة حرارة الغرفة للتخلص من المذيب. أخذت مستعمرة معزولة لكل نوع جرثومي من الوسط الزرعي الصلب بعمر 24 ساعة، وحضر منها معلق جرثومي في محلول فيزيولوجي بعكارة تعادل 0.5 على مقياس ماكفرلاند McFarland Standard ، وتمّ أخذ 0.1 مل من المعلق الجرثومي وفرش فوق وسط مولر هينتون أغار باستخدام ماسحة قطنية(Rebecca *et al*, 2012)، ثم وزعت أقراص الترشيح المشربة بالمستخلصات فوق الوسط وتركت في البراد مدّة /2/ ساعة حتى انتشار المادة الفعالة في الأغار ثم حضنت في الدرجة 37 مْ لمدة 24 ساعة (زينب وآخرون، 2011) (Kolanjinathan *et al*, 2009). إن ظهور حلقة واضحة حول الأقراص دليل على تثبيط النمو الجرثومي، وسجلت أقطار حلقات التثبيط بعد انتهاء مدّة الحضن باستخدام مسطرة ميليمترية. تم تقييم استجابة الجراثيم الممرضة لمستخلصات الطحلب المدروس بالاعتماد على أقطار حلقات التثبيط وفقاً للآتي: (R) مقاومة، (7 – 10) مم تحسس قليل (+)، (10.1 – 15) مم تحسس متوسط (++)، (15.1 – 30) مم تحسس عال (+++)

مقياس ماكفرلاند McFarland Standard:

يستخدم مقياس ماكفرلاند لتقدير عكارة المعلق الجرثومي بحيث يكون عدد الخلايا الجرثومية في معلق ما معلوماً أو على الأقل ضمن مدى معين. يتكون المقياس من مزيج من كبريتات الباريوم وحمض الكبريتيك مما يؤدي إلى تشكل راسب من كبريتات الباريوم، ويوجد عدة معايير من هذا المقياس:

1- 0.5 McFarland Standard
2- 1 McFarland Standard
3- 2 McFarland Standard
4- 3 McFarland Standard
5- 4 McFarland Standard

تتم مقارنة معلق ماكفرلاند مع المعلق الجرثومي بأن توضع ورقة مخططة بخطوط سوداء خلف كل من مقياس ماكفرلاند ومعلق الجراثيم المراد استخدامه ، فإذا تم رؤية الخطوط بنفس درجة الوضوح فهذا يدل على أن عكارة المعلق الجرثومي تساوي عكارة المقياس.

النتائج والمناقشة:

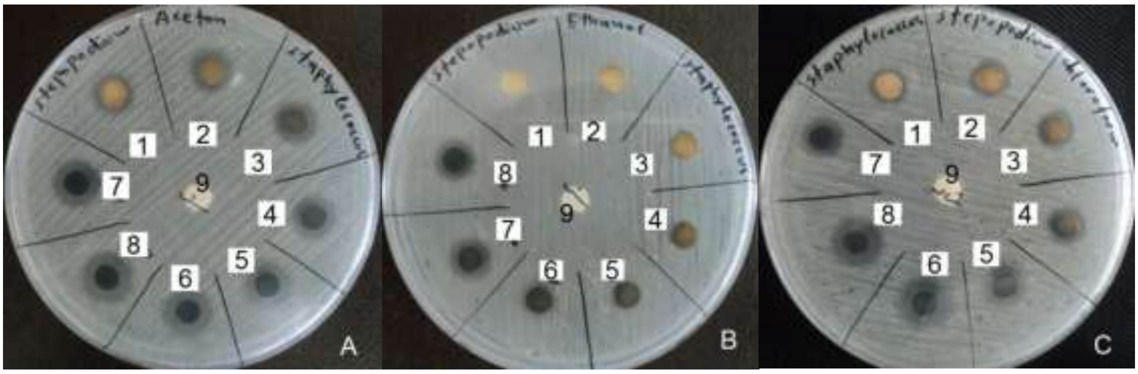
تبين نتائج الجدول (2) أن مستخلصات الأسيتون والكلوروفورم أبدت فعالية تثبيطية واضحة تجاه الجراثيم إيجابية الغرام المستخدمة عند معظم التراكيز المحضرة (5 – 10 – 20 – 40 – 80 – 160 – 320 – 640) ملغ/مل وقد لوحظ زيادة في قطر حلقة تثبيط النمو الجرثومي مع زيادة التركيز، حيث تراوحت أقطار حلقات التثبيط بالنسبة للخلاصة الأسيتونية تجاه جراثيم *Staphylococcus aureus* (9 – 11) مم عند التراكيز (5 – 640) ملغ/مل على التوالي.

جدول (2) متوسط أقطار حلقات تثبيط النمو الجرثومي مقدرة بالميليمتر الناتجة عن فعالية الخلاصات العضوية تجاه جراثيم *Staphylococcus aureus*.

نوع الطحلب	المستخلص الطحلبي	التركيز ملغ/مل								
		شاهد	5	10	20	40	80	160	320	640
Stypopodium zonale.	ميتانول	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	إيتانول	-	-	-	-	-	-	7	8	8
	أسيتون	-	9	9	9	10	10	10	11	11
	كلوروفورم	-	8	8	9	9	9	10	10	10

(−): لا يوجد فعالية.

بينما تراوحت أقطار حلقات تثبيط خلاصة الكلوروفورم تجاه العنقوديات الذهبية *S. aureus* (8 – 10) مم عند التراكيز (5 – 640) ملغ/مل على التوالي. وأثرت الخلاصة الإيتانولية بحلقات تثبيط بين (7 – 8) مم عند التراكيز (160 – 640) ملغ/مل على التوالي. في حين لم تبد الخلاصة الميتانولية أي تأثير تجاه جراثيم *Staphylococcus aureus*، ويبين الشكل (2) أقطار التثبيط بالتراكيز المدروسة تجاه جراثيم *Staphylococcus aureus*.



الشكل (2) الفعالية التثبيطية للخلاصات العضوية لطحلب *Stypopodium zonale.* تجاه جراثيم *Staphylococcus aureus* باستخدام سلسلة تراكيز متدرجة مقدرة بـ mg/ml.

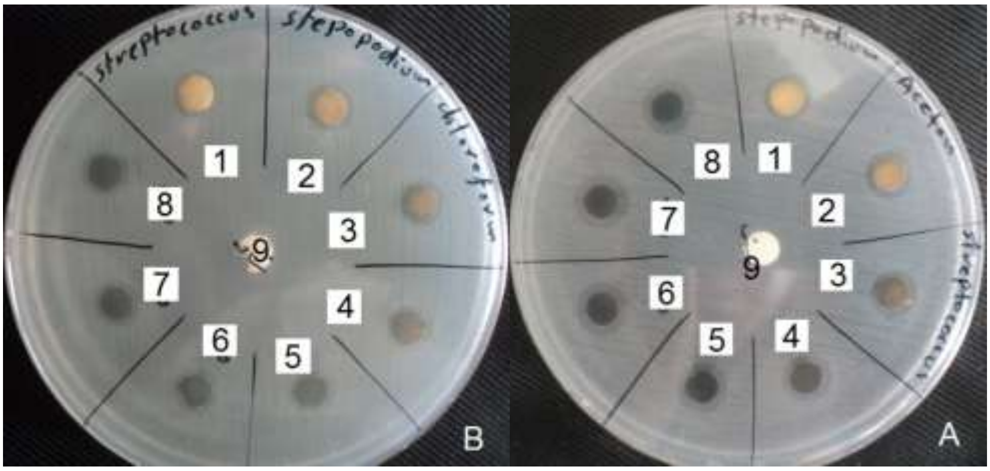
(1= 5 mg/ml, 2= 10 mg/ml, 3= 20 mg/ml, 4= 40 mg/ml, 5= 80 mg/ml, 6= 160 mg/ml, 7= 320 mg/ml, 8= 640 mg/ml, 9= Negative control. A= Aceton, B= Ethanol, C= Chloroform)

وتظهر نتائج الجدول (3) أن الخلاصة الأسيتونية أبدت فعالية تثبيطية تجاه جراثيم *Streptococcus faecalis* عند جميع التراكيز وقطر حلقة التثبيط 8 مم عند التراكيز (5 – 10 – 20) ملغ/مل وَ 9 مم عند بقية التراكيز. في حين كانت أقطار حلقات التثبيط واحدة تقريباً عند جميع التراكيز بالنسبة للخلاصة الكلوروفورمية، بينما لم تبد الخلاصة الميتانولية والإيتانولية أي أثر تثبيطي تجاه نفس النوع الجرثومي، كما هو موضح في الشكل (3).

جدول (3) متوسط أقطار حلقات تثبيط النمو الجرثومي مقدرة بالميليمتر الناتجة عن فعالية الخلاصات العضوية تجاه جراثيم *Streptococcus faecalis*.

نوع الطحلب	المستخلص الطحلبي	التركيز ملغ/مل								
		شاهد	5	10	20	40	80	160	320	640
Stypopodium zonale.	ميتانول	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	إيتانول	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	أسيتون	-	8	8	8	9	9	9	9	9
	كلوروفورم	-	7	8	8	8	8	8	8	8

(−): لا يوجد فعالية.



الشكل (3) الفعالية التثبيطية للخلاصات العضوية لطحلب *Stypopodium zonale.* تجاه جراثيم *Streptococcus faecalis* باستخدام سلسلة تراكيز متدرجة مقدرة بـ mg/ml.

(1= 5 mg/ml, 2= 10 mg/ml, 3= 20 mg/ml, 4= 40 mg/ml, 5= 80 mg/ml, 6= 160 mg/ml, 7= 320 mg/ml, 8= 640 mg/ml, 9= Negative control. A= Aceton, B= Chloroform)

ومن جهة أخرى لم تظهر أية فعالية تثبيطية عند أي من الخلاصات العضوية تجاه الجراثيم سالبة الغرام.

توافقت نتائج دراستنا مع نتائج بعض الدراسات التي أجريت حول القدرة التثبيطية للطحلب الأسمر *Stypopodium zonale* تجاه الجراثيم، فقد بينت دراسة (Gozalez *et al*., 2001) وجود قدرة تثبيطية عند طحلب *Stypopodium zonale* تجاه الجراثيم موجبة الغرام *Staphylococcus aureus*، بينما لم يمتلك الطحلب المدروس أي فعالية تثبيطية تجاه الجراثيم سالبة الغرام *Pseudomonas aeruginosa*. وقد ظهر اختلاف بين الدراستين من حيث نتائج المستخلص الميتانولي لنفس النوع الطحلبي، حيث لم تظهر في دراستنا أي فعالية تثبيطية تجاه أي من الأنواع الجرثومية المختبرة، في حين أظهر المستخلص الميتانولي في دراسة (Gonzalez *et al*., 2001) قدرة تثبيطية تجاه جراثيم *Staphylococcus aureus* وقد يعود هذا الاختلاف إلى اختلاف طريقة تحضير المستخلص الميتانولي في الدراستين وبالتالي اختلاف كفاءة استخلاص المواد الفعالة (Lima-Filho *et al*., 2002). أيضاً بينت دراسة (Engel *et al*., 2006) وجود فعالية تثبيطية عند طحلب *Stypopodium zonale* تجاه الأحياء الدقيقة لكن مع اختلاف نوع الأحياء الدقيقة المستخدمة.

بشكل عام أظهرت نتائجنا أن الجراثيم سالبة الغرام كانت مقاومة لمستخلصات الطحلب المدروس على عكس الجراثيم موجبة الغرام وهذا يتفق مع نتائج دراسة (Gonzalez *et al*., 2001) وَدراسة (Kumar *et al*., 2008). قد يعود اختلاف القدرة التثبيطية للطحالب البحرية الكبيرة تجاه الجراثيم إلى اختلاف المركبات الفعالة الثانوية التي تنتجها هذه الطحالب (Patra *et al*, 2009) فضلاً عن اختلاف مردودها حسب العوامل البيئية والفصل ونوع المذيب.

الاستنتاجات والتوصيات:

1- يمتلك الطحلب البحري السوري الأسمر *Stypopodium zonale* فعالية صادّة لبعض الجراثيم الممرضة البشرية.

2- أثرت مستخلصات الطحلب المدروس على الجراثيم موجبة الغرام ولم تؤثر على الجراثيم سالبة الغرام.

3- أفضل فعالية للطحلب كانت باستخدام مذيب الأسيتون.

4- لم يبد المستخلص الميتانولي أية فعالية صادة تجاه أي من الجراثيم المستخدمة.

5- قد يشكل هذا الطحلب مصدراً بديلاً لبعض الصّادات الحيوية المعروفة.

6- دراسة تأثير العوامل البيئية والتغيرات الفصلية على المردود العضوي لهذا الطحلب.

7- دراسة التركيب الكيميائي لمستخلصات الطحلب من أجل تحديد وعزل المركبات ذات الفعالية الصادّة للجراثيم.

المراجع:

1- زينب، أسمهان.؛ عباس، آصف.؛ قرة علي، أحمد. *الفعالية الصادة لمستخلصات بعض الطحالب البحرية السورية تجاه بعض الأحياء الدقيقة الممرضة*. مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية. المجلد (33) العدد (3)، 2011، 103 – 116.

2- عباس آصف. مساهمة في دراسة استخلاص الأغار من الطحلب البحري السوري بتيروكلاديا كابيلاسيا (*Pterocladia capillacea*). مجلة جامعة تشرين. المجلد (32) العدد (5)، 2010، 69 – 78.

3- عباس آصف. تأثير التغيرات الفصلية في مردود كاراجينان الطحلب البحري *Hypnea musciformi* وصفاته في المياه السورية. *مجلة جامعة دمشق*. المجلد (28) العدد (1)، 2012، 155 – 167.

4- عباس آصف. بعض خصائص الألجينات المستخلصة من الطحالب السمراء البحرية السورية. مجلة جامعة تشرين. المجلد (28) العدد (5)، 2013، 27 – 41.

5- مرعي، سمير. *المعزولات الجرثومية وحساسيتها للصادات الحيوية في مستشفى الأطفال بجامعة دمشق*. مجلة جامعة دمشق للعلوم الصحية سورية، المجلد 27، العدد الأول، 2011، 121–136.

6- ميهوب، حامد. *طحلب أسمر من البحر الأحمر يجتاح الشواطئ السورية*. مجلة جامعة دمشق. المجلد 5، العدد 18، 1989، 65 – 79.

1. DORTA, E.; CUETO, M.; BRITO, I. and DARIAS, J. *New terpenoids from the brown algae Stypopodium zonale*. J. Nat. Prod, Vol 65, 2002, P. 1727 – 1730.

2. **E**NGEL, S.; MELANY, P. P.; PAUL, R. J. and FENICAL, W. *Antimicrobial activities of extracts from tropical Atlantic marine plants against marine pathogens and saprophytes*. Marine Biology, Vol. 149, 2006, P. 991-1002.

3. **G**ARRITY 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,

4. **G**ONZALEZ, A.; BASILIO, G. P. A.; CABELLOM A.; SUAY, J. G. I.; VICENTEM F.; JIMENEZ, E. P. M. and PELAEZ, G. G. R. F. *Screening of antimicrobial activities in red, green and brown macroalgae from Gran canaria (canary Island, Spain)*. Int. Microbiol, Vol. 4, 2001, P. 35-40.

5. **K**ANDHASAMY, M. and K.D. ARUNACHALAM. *Evaluation of in vitro antibacterial property of seaweed of southeast coast of India*. African J. Biotech, Vol. 7(12), 2008, P. 1958 – 1961.

6. **K**OLANJINATHAN, K.; GANESH, P. and GOVINDARAJAN, M. *Antibacterial activity of ethanol extracts of seaweeds against fish bacterial pathogens.* European Review for Medical and Pharmacological sciences, Vol. 13, 2009, P. 173-177.

7. **K**UDA, T.; TSUNEKAWA, M.; GOTO, H. and ARAKI, Y. *Antioxidant properties of four edible algae harvested in the Noto Peninsula, Japan*. Journal of Food Composition and Analysis, Vol. 18, 2005, P. 625-633.

8. **K**UMAR, C. S.; SARADA, D. V. L. and RENGASAMY, R. *Seaweed extracts control the leaf spot disease of the medicinal plant Gymnema sylvestre*. Indian Journal of science and technology, Vol. 1, N. 3, 2008, P. 1-5.

9. LIMA-FILHO, J. V. M.; CARVALHO, A. F. F. U.; FREITAS, S. M. and MELO, V. M. M. *Antibacterial activity of extracts of six macroalgae from the northeastern Brazilian coast*. Brazilian Journal of Microbiology, Vol. 33, ISSN. 1517-8382, 2002, P. 311-313.

10. **L**AVANYA, R. and VEERAPPAN, N. *Antibacterial potential of six seaweeds collected from gulf of mannar of southeast coast of india*. Advances in Biological Research, Vol. 5(1), 2011, P. 38-44.

11. **M**ENDES, G.; SOARES, A.; SIGILIANO, L.; MACHADO, F.; KAISER, G.; ROMEIRO, N.; GESTINARI, L.; SANTOS, N. and ROMANOS, M. T. V. *In vitro Anti-HMPV activity of meroditerpenoids from marine algae Stypopodium zonale* (Dictyotales). Molcules, 16. 2011, P 8437 – 8450.

12. **N**CCLS. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing.* Fourteenth informational supplement. M100-S14, Vol. 24, No. 1, January 2004.

13. **O**SMAN, M. E. H.; ABUSHADY, A. M. and ELFHOBARYM, M. E. *In vitro screening of antimicrobial activity of extracts of some macroalgae collected from Abu-Qir bay Alexandria, Egypt*. African Journal of Biotechnology, Vol. 9(12), 2010, P. 7203-7208.

14. **O**'BRIEN, E.T.; WHITE, S.; JACOBS, R.S.; BODER, G.B. and WISTON, L. *Pharmacological properties of a marine natural product, stypoldione obtained from the brown algae Stypopodium zonale*. Hydrobiologia, 116 (117), 1984, P. 141 - 145.

15. **P**ATRA, J. K.; PATRA, A. P.; MAHAPATRA, N. K.; THATOI, H. N.; DAS, S.; SAHO, R. K. and SWAIN, G. C. *Antimicrobial activity of organic solvent extracts of the three marine macroalgae from Chilica Lake, Orissa, India*. Malaysian journal of microbiology, vol. 5(2), 2009, P. 128-131.

16. **P**EREIRA, M. S.; SILVA, A. C. E. S.; VALENTA, A. P. and MOURA, P. A. S. *A 2-sulfated, 3-linked α-L-galactan is an anticoagulant Polysaccharide*. Carbohydrate Research, Vol. 337, 2002, P. 2231-2238.

17. **R**AJASULOCHANA, P.; DHAMOTHARAN, R.; KRISHNAMOORTHY, P. and MURUGESAN, S. *Antibacterial activity of the extracts of marine red and brown algae*. Journal of American Science, Vol. 5(3), 2009, P. 20-25.

18. **R**EBECCA, L. J.; DHANALAKSHMI, V. and SHEKHAR, S. *Antibacterial activity of Sargassum ilicifolium and Kappaphycus alvarezii*. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research, Vol. 4(1), 2012, P. 700-705.

19. **S**AIDANI, K.; BEDJOU, F.; BENABDESSALAM, F. and TOUATI, N. *Antifungal activity of methanolic extracts of four Algerian marine algae species*. African Journal of Biotechnology, Vol. 11(39), 2012, P. 9496-9500.

20. **S**ABRY, O.M.; GOEGER, D.E.; YOKOCHI, A.; LEPAGE, K.T.; MURRAY, T.F. and GERWICK, W.H. *Neurotoxic meroditerpenoids from the tropical marine brown algae Stypopodium flabelliforme*. J. Nat. Prod, 68, 2005, P. 1022 – 1030.
21. **T**ASKEN, E.; OZTURK, M.; TASKEN, E. and KURT, O. *Antibacterial activities of some marine algae from the Aegean sea (Turkey).* African Journal Biotechnology. Vol. 6(24), 2007, P. 2746 – 2751.
22. **T**UNY, I.; CADIRCI, B. H.; UNAL, D. and SUKATAR, A. *Antimicrobial activities of the extracts of marine algae from the coast of urla* (Izmir, Turkey). Turk J Biol, Vol. 30, 2006, P. 171-175.