

الفعالية المضادة المايكروبية للمستخلص الكحولي والمائي لثمار نبات الزرشك *Berberis vulgaris* على نمو بعض الانواع البكتيرية الممرضة

Antimicrobial Activity of Ethanolic and Watery Extracts to Fruit of *Berberis vulgaris* on growth of some species of pathogenic bacteria

رنا علي حسن

كلية العلوم للبنات/ جامعة بغداد

Rana Ali Hassan

College of Science for Women/ University of Baghdad

الملخص

اجريت الدراسة لمعرفة فعالية المستخلص المائي والكحولي لثمار نبات الزرشك *Berberis vulgaris* ضد نوعين من البكتيريا الموجبة لصبغة غرام *Bacillus cereus* و *Staphylococcus aureus* ونوعين من البكتيريا السالبة لصبغة غرام *E. coli* و *Pseudomonas aureus* بطريقة الانتشار بالحفر. اذ اظهرت النتائج ان المستخلصين المائي والكحولي لثمار نبات الزرشك ذو فعالية عالية ضد البكتيريا الموجبة لصبغة غرام وكان التأثير يزداد مع زيادة التركيز بينما اظهر المستخلص تأثيرا على البكتيريا السالبة لصبغة غرام في التراكيز العالية فقط وانعدم التأثير في التراكيز الواطنة كما اظهر المستخلص الكحولي فعالية اكبر من المستخلص المائي تجاه البكتيريا الممرضة. تم قياس قيمة MIC و MBC وجاءت النتائج مطابقة لما ذكر سابقا من نتائج تأثير المستخلصين على نمو البكتيريا الموجبة والسالبة لصبغة غرام. لغرض دراسة تأثير المستخلص على نمو البكتيريا السالبة والموجبة لصبغة غرام تم اجراء تحليل HPLC لثمار نبات الزرشك وهو تحليل كمي ونوعي لقياس تركيز المركبات القلوية Tetrandrine و Chondocurine و Berbamine اذ كان اعلى تركيز لمركب Tetrandrine بـ 38.42 وكانت نسبة المركبات القلوية عالية في ثمار نبات الزرشك.

الكلمات المفتاحية: نبات الزرشك، المستخلص الكحولي، البكتيريا

Abstract

This study was done to test the activity of watery and alcohol extract of the fruit of *Berberis vulgaris* against of two species of gram positive bacteria *Bacillus cereus* and *Staphylococcus aureus* also ,two species of negative gram bacteria *E. coli* and *Pseudomonas aeruginosa* by agar well diffusion method, the results showed that the alcohol extract of the *Berberis vulgaris* with high activity against gram positive and the effect was increase with the increasing of the concentration. While the watery and alcohol extract has a high effect on gram negative bacteria which effect only with high concentration, while there is no effect in low concentration and the results showed that the alcohol extract of the *Berberis vulgaris* with high activity against gram positive compare with watery extract. MIC and MBC were measured and the results were identical for the previous results, for the effect of both extracts on the growth of gram negative and positive bacteria HPLC analysis was don for *Berberis vulgaris* which is quantitative and qualitative assay to measure the concentration of some alkaloid compound Tetrandrine, Chondocurine, bamine, which be with high ratio on Tetrandrine compound 38.42, the rate of alkaloid compound in fruit of *Berberis vulgaris* was higher .

Key words: *Berberis vulgaris*, alcohol extract, bacteria

المقدمة

ازدادت في الآونة الأخيرة ظاهرة الاهتمام بالنباتات والاعشاب الطبية بسبب استخدامها كمصادر رئيسية لانتاج العقاقير الطبية لمعالجة الكثير من الاصابات الميكروبية [1]. وتزايدت بسبب تزايد مشكلة المقاومة التي تبديها الاحياء المجهرية تجاه طيف واسع من المضادات الحيوية [2]. لذا استخدمت المستخلصات النباتية والاعشاب كبديل للمضادات الحيوية لمقاومة الاحياء المجهرية المختلفة [3]. اذ تنتج مركبات كيميائية تستخدم كمادة خام في انتاج المواد الدوائية المستخدمة في معالجة الكثير من الامراض المايكروبية [4]. يعد نبات الزرشك *Berberis Vulgaris* احد النباتات المستخدمة في مجال الطب البديل في وسط وجنوب اوربا وشمال غرب افريقيا وغرب استراليا وخاصة في ايران [5]. وهو نبات شوكي متساقط الاوراق ينمو بشكل منتصب، اوراقه بيضوية مسننة بشكل منشاري حاد اما ثماره فهي مستطيلة الشكل طوله 7-10 ملم وعرضها 3-5 ملم وتنضج في اواخر الصيف او الخريف ويعود الى عائلة Berberidaceae وتكون ثماره حامضة جدا غنية بفيتامين (C) ويستخدم لاغراض الطهو وصناعة المربي [6]. وله تاريخ قديم في الاستخدام الطبي اذ اثبت التحليل الكيميائي انه يحتوي على كثير من المركبات المثبطة لنمو الاحياء المجهرية اذ يحتوي سلسله من القلويدات منها Berlamunine, Berberine, oxcanthine [7]. ولاهيمته الطبية تم اجراء البحث عن فعاليته المضادة لنمو بعض الانواع البكتيرية الممرضة وامكانية استخدامه كبديل للمضادات الحيوية.

ان الهدف الدراسة معرفة تأثير المستخلصين على البكتيريا الموجبة والسالبة لصبغة غرام وامكانية استخدام النباتات والفواكه كبديل للمضادات الحيوية التي تحتوي على مركبات كيميائية.

المواد وطرائق العمل

العينات النباتية

تم الحصول على عينات ثمار نبات الزرشك *Berberis vulgaris* من الاسواق المحلية وتم تشخيصه حسب ماورد في [8]. جففت الثمار بدرجة حرارة الغرفة 25م ثم طحنت الثمار للحصول على مسحوق ناعم وجاف.

تحضير المستخلص المائي والكحولي

حضرت المستخلصات النباتية حسب ماورد في [9]. أذ تم اخذ 10غم من المسحوق النباتي الجاف والمطحون ثم اضيف له 100مل من الماء بنسبة للمستخلص المائي و100مل من الكحول الايثيلي بتركيز 80% بنسبة للمستخلص الكحولي اي بنسبة 1:10 ووزن /حجم. وضع الدورق في حمام مائي هزاز بدرجة 37م استمرت عملية الاستخلاص من (5-6) ساعات وبعد ذلك رُشح المزيج بواسطة ورق ترشيح Whatman No.1 ثم وزع الراشح في انابيب جهاز النيد المركزي بسرعة 4000 دورة للدقيقة ولمدة 10 دقائق أخذ الرائق ووضع في اطباق زجاجية نظيفة في الحاضنة بدرجة 37م لمدة ثلاثة ايام لحين الحصول على المستخلص الجاف.

جمع العزلات البكتيرية

تم الحصول على العينات البكتيرية المشخصة والمعزولة من كلية العلوم للبنات/ قسم علوم الحياة للفترة من 2012/11/25 ولغاية 2013/1/7.

تحضير العالق البكتيري

استخدمت الطريقة التي تم ذكرها في [10]. وذلك بأخذ (4-5) مستعمرات نامية على وسط الاكار المغذي Nutrient Agar وضعت في انبوبة اختبار حاوية على 10مل من مرق مولر -هنتون Mueller-Hinton Broth وحضنت بدرجة 37م لمدة 6ساعات لحين ظهور العكورة أذ المقارنة مع انبوبة ماكفور لاند 0.5 McFarland القياسية.

دراسة الفعالية التثبيطية للمستخلصات النباتية تجاه البكتيريا

استخدمت طريقة الانتشار في الحفر Agar well diffusion method لدراسة تأثير المستخلص المائي والكحولي لنبات الزرشك، وذلك بنشر العالق البكتيري بحجم مقداره 0.1 مل على وسط مولر -هنتون اكار وبعدها عملت حفر في الوسط الغذائي الملقح بحجم 2 ملم وبواسطة ماصة دقيقة، ثم نقل 40 مايكروليتر من كل تركيز من المستخلص النباتي ووضع داخل الحفر وعملت اطباق سيطرة بوضع ماء مقطر بالحفر بدل المستخلص وتم عمل ثلاث مكررات لكل تركيز ثم حضنت الاطباق بدرجة 37م لمدة (24) ساعة وقرأت النتائج بقياس قطر منطقة التثبيط بواسطة المسطرة والتي تبين منطقة عدم نمو البكتيريا في تلك المنطقة [11].

تحديد التركيز المثبط الأدنى (MIC) والتركيز القاتل الأدنى (MBC)

تم استخدام طريقة التخفيف بالانابيب لتحديد Minimum Inhibitory Concentration (MIC) أذ يعرف بأنه اقل تركيز من المستخلص يستطيع قتل البكتيريا للمستخلص المائي والكحولي لثمار نبات الزرشك حضرت تخافيف من التركيز 400ملغم/مل. استخدم وسط مرق مولر-هنتون MHB ثم اضيف 0.1مل من المستخلص وبالتراكيز المختلفة المحضرة من التركيز 400ملغم/مل كالتالي 0.125, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, 16, 32, 64, 128, 256, 512, 1024, 2048, 4096, 8192, 16384, 32768, 65536, 131072, 262144, 524288, 1048576, 2097152, 4194304, 8388608, 16777216, 33554432, 67108864, 134217728, 268435456, 536870912, 1073741824, 2147483648, 4294967296, 8589934592, 17179869184, 34359738368, 68719476736, 137438953472, 274877906944, 549755813888, 1099511627776, 2199023255552, 4398046511104, 8796093022208, 17592186044416, 35184372088832, 70368744177664, 140737488355328, 281474976710656, 562949953421312, 1125899906842624, 2251799813685248, 4503599627370496, 9007199254740992, 18014398509481984, 36028797018963968, 72057594037927936, 144115188075855872, 288230376151711744, 576460752303423488, 1152921504606846976, 2305843009213693952, 4611686018427387904, 9223372036854775808, 18446744073709551616, 36893488147419103232, 73786976294838206464, 147573952589676412928, 295147905179352825856, 590295810358705651712, 1180591620717411303424, 2361183241434822606848, 4722366482869645213696, 9444732965739290427392, 18889465931478580854784, 37778931862957161709568, 75557863725914323419136, 151115727451828646838272, 302231454903657293676544, 604462909807314587353088, 1208925819614629174706176, 2417851639229258349412352, 4835703278458516698824704, 9671406556917033397649408, 19342813113834066795298816, 38685626227668133590597632, 77371252455336267181195264, 154742504910672534362390528, 309485009821345068724781056, 618970019642690137449562112, 1237940039285380274899124224, 2475880078570760549798248448, 4951760157141521099596496896, 9903520314283042199192993792, 19807040628566084398385987584, 39614081257132168796771975168, 79228162514264337593543950336, 158456325028528675187087900672, 316912650057057350374175801344, 633825300114114700748351602688, 1267650600228229401496703205376, 2535301200456458802993406410752, 5070602400912917605986812821504, 10141204801825835211973625643008, 20282409603651670423947251286016, 40564819207303340847894502572032, 81129638414606681695789005144064, 162259276829213363391578010288128, 324518553658426726783156020576256, 649037107316853453566312041152512, 1298074214633706907132624082305024, 2596148429267413814265248164610048, 5192296858534827628530496329220096, 10384593717069655257060992658440192, 20769187434139310514121985316880384, 41538374868278621028243970633760768, 83076749736557242056487941267521536, 166153499473114484112975882535043072, 332306998946228968225951765070086144, 664613997892457936451903530140172288, 1329227995784915872903807060280344576, 2658455991569831745807614120560689152, 5316911983139663491615228241121378304, 10633823966279326983230456482242756608, 21267647932558653966460912964485513216, 42535295865117307932921825928971026432, 85070591730234615865843651857942052864, 170141183460469231731687303715884105728, 340282366920938463463374607431768211456, 680564733841876926926749214863536422912, 1361129467683753853853498429727072845824, 2722258935367507707706996859454145691648, 5444517870735015415413993718908291383296, 10889035741470030830827987437816582766592, 21778071482940061661655974875633165533184, 43556142965880123323311949751266331066368, 87112285931760246646623899502532662132736, 174224571863520493293247799005065324265472, 348449143727040986586495598010130648530944, 696898287454081973172991196020261297061888, 1393796574908163946345982392040522594123776, 2787593149816327892691964784081045188247552, 5575186299632655785383929568162090376495104, 11150372599265311570767859136324180752990208, 22300745198530623141535718272648361505980416, 44601490397061246283071436545296723011960832, 89202980794122492566142873090593446023921664, 178405961588244985132285746181186892047843328, 356811923176489970264571492362373784095686656, 713623846352979940529142984724747568191373312, 1427247692705959881058285969449495136382746624, 2854495385411919762116571938898990272765493248, 5708990770823839524233143877797980545530986496, 11417981541647679048466287755595961091061972992, 22835963083295358096932575511191922182123945984, 45671926166590716193865151022383844364247891968, 91343852333181432387730302044767688728495783936, 182687704666362864775460604089535377456991567872, 365375409332725729550921208179070754913983135744, 730750818665451459101842416358141509827966271488, 1461501637330902918203684832716283019655932542976, 2923003274661805836407369665432566039311865085952, 5846006549323611672814739330865132078623730171904, 11692013098647223345629478661730264157247460343808, 23384026197294446691258957323460528314494920687616, 46768052394588893382517914646921056628989841375232, 93536104789177786765035829293842113257979682750464, 187072209578355573530071658587684226515959365500928, 374144419156711147060143317175368453031918731001856, 748288838313422294120286634350736906063837462003712, 1496577676626844588240573268701473812127674924007424, 2993155353253689176481146537402947624255349848014848, 5986310706507378352962293074805895248510699696029696, 11972621413014756705924586149611790497021399392059392, 23945242826029513411849172299223580994042798784118784, 47890485652059026823698344598447161988085597568237568, 95780971304118053647396689196894323976171195136475136, 191561942608236107294793378393788647952342390272950272, 383123885216472214589586756787577295904684780545900544, 766247770432944429179173513575154591809369561091801088, 1532495540865888858358347027150309183618739122183602176, 3064991081731777716716694054300618367237478244367204352, 6129982163463555433433388108601236734474956488734408704, 12259964326927110866866776217202473468949912977468817408, 24519928653854221733733552434404946937899825954937634816, 49039857307708443467467104868809893875799651909875269632, 98079714615416886934934209737619787751599303819750539264, 196159429230833773869868419475239575503198607639501078528, 392318858461667547739736838950479151006397215279002157056, 784637716923335095479473677900958302012794430558004314112, 1569275433846670190958947355801916604025588861116008628224, 3138550867693340381917894711603833208051177722232017256448, 6277101735386680763835789423207666416102355444464034512896, 12554203470773361527671578846415332832204710888928069025792, 25108406941546723055343157692830665664409421777856138051584, 50216813883093446110686315385661331328818843555712276103168, 100433627766186892221372630771322662657637687111424552206336, 200867255532373784442745261542645325315275374222849104412672, 401734511064747568885490523085290650630550748445698208825344, 803469022129495137770981046170581301261101496891396417650688, 1606938044258990275541962092341162602522202993782792835301376, 3213876088517980551083924184682325205044405987565585670602752, 6427752177035961102167848369364650410088811975131171341205504, 12855504354071922204335696738729300820177623950262342682411008, 25711008708143844408671393477458601640355247900524685364822016, 51422017416287688817342786954917203280710495801049370729644032, 102844034832575377634685573909834406561420991602098741459288064, 205688069665150755269371147819668813122841983204197482918576128, 411376139330301510538742295639337626245683966408394965837152256, 822752278660603021077484591278675252491367932816789931674304512, 1645504557321206042154969182557350504982735865633579863348609024, 3291009114642412084309938365114701009965471731267159726697218048, 6582018229284824168619876730229402019930943462534319453394436096, 13164036458569648337239753460458804039861886925068638906788872192, 26328072917139296674479506920917608079723773850137277813577744384, 52656145834278593348959013841835216159447547700274555627155488768, 105312291668557186697918027683670432318895095400549111254310977536, 210624583337114373395836055367340864637790190801098222508621955072, 421249166674228746791672110734681729275580381602196445017243910144, 842498333348457493583344221469363458551160763204392890034487820288, 1684996666696914987166688442938726917102321526408785780068975640576, 3369993333393829974333376885877453834204643052817571560137951281152, 6739986666787659948666753771754907668409286105635143120275902562304, 13479973333575319897333507543509815336818572211270286240551805124608, 26959946667150639794667015087019630673637144422540572481103610249216, 53919893334301279589334030174039261347274288845081144962207220498432, 107839786668602559178668060348078522694548577690162289924414440996864, 215679573337205118357336120696157045389097155380324579848828881993728, 431359146674410236714672241392314090778194310760649159697657763987456, 862718293348820473429344482784628181556388621521298319395315527974912, 1725436586697640946858688965569256363112777243042596638790631055949824, 3450873173395281893717377931138512726225554486085193277581262111899648, 6901746346790563787434755862277025452451108972170386555162524223799296, 13803492693581127574869511724554050904902217944340773110325048447598592, 27606985387162255149739023449108101809804435888681546220650096895197184, 55213970774324510299478046898216203619608871777363092441300193790394368, 110427941548649020598956093796432407239217743554726184882600387580788736, 220855883097298041197912187592864814478435487109452369765200775161577472, 441711766194596082395824375185729628956870974218904739530401550323154944, 883423532389192164791648750371459257913741948437809479060803100646309888, 1766847064778384329583297500742918515827483896875618958121606201292619776, 3533694129556768659166595001485837031654967793751237916243212402585239552, 7067388259113537318333190002971674063309935587502475832486424805170479104, 14134776518227074636666380005943348126619871175004951664972849610340958208, 28269553036454149273332760011886696253239742350009903329945699220681916416, 56539106072908298546665520023773392506479484700019806659891398441363832832, 113078212145816597093331040047546785012958969400039613319782796882727665664, 226156424291633194186662080095093570025917938800079226639565593765455331328, 452312848583266388373324160190187140051835877600158453279131187530910662656, 904625697166532776746648320380374280103671755200316906558262375061821325312, 1809251394333065553493296640760748560207343510400633813116524750123642650624, 3618502788666131106986593281521497120414687020801267626233049500247285301248, 7237005577332262213973186563042994240829374041602535252466099000494570602496, 14474011154664524427946373126085988481658748083205070504932198000989141204992, 28948022309329048855892746252171976963317496166410141009864396001978282409984, 57896044618658097711785492504343953926634992332820282019728792003956564819968, 115792089237316195423570985008687907853269984665640564039457584007913129639936, 231584178474632390847141970017375815706539969331281128078915168015826259279872, 463168356949264781694283940034751631413079938662562256157830336031652518559744, 926336713898529563388567880069503262826159877325124512315660672063305037119488, 1852673427797059126777135760139006525652319754650249024631321344126610074238976, 3705346855594118253554271520278013051304639509300498049262

Pseudomonas aeruginosa (2.75±0.25) ملم اما البكتريا السالبة فأظهرت مناطق تثبيط فقط في التراكيز العليا فكانت لبكتريا *E. coli* (16.50±1.500, 0.00±0.00) ولبكتريا *E. coli* تراوحت منطقة التثبيط بين (12.00±1.00, 0.00±0.00) ملم، اما جدول (2) بين تأثير المستخلص المائي على الانواع البكتيرية اذ بينت النتائج ان هنالك فروق معنوية بين التراكيز المختلفة كذلك للانواع البكتيرية المختلفة اذ كان المستخلص فعالا ضد البكتريا الموجبة لصبغة غرام مقارنة بالبكتريا السالبة لصبغة غرام اذ تراوح قطر منطقة التثبيط لبكتريا *Staphylococcus aureus* بين (28.50±0.5, 14.00±0.50) ملم ولبكتريا *Bacillus cereus* بين (17.50±0.50, 7.50±0.50) ملم، اما البكتريا السالبة لصبغة غرام فأظهرت مناطق تثبيط فقط في التراكيز العليا فكانت لبكتريا *Pseudomonas aeruginosa* بين (17.25±0.75, 0.00±0.00) ملم لبكتريا *E. coli* منطقة التثبيط تراوحت بين (14.50±0.50, 0.00±0.00) ملم.

جدول (1): الفعالية الحيوية للمستخلص الكحولي لنبات الزرشف تجاه نمو بعض الانواع البكتيرية الممرضة

LSD	التركيز (ملغم/مل)				الانواع البكتيرية
	50	100	200	400	
*4.604	17.50±0.50	22.50±0.50	27.00±2.00	31.00±1.00	<i>Staphylococcus aureus</i> .
*2.302	2.75±0.25	9.00±1.00	17.50±0.50	21.00±1.00	<i>Bacillus cereus</i>
*4.047	0.00±0.00	6.75±0.25	10.00±1.00	16.50±1.50	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
*2.454	0.00±0.00	0.00±0.00	7.25±0.75	12.00±1.00	<i>E. coli</i>
-----	*1.097	*2.249	*4.733	*4.398	LSD

(P≤0.05) *

(وجود فروقات معنوية) *

جدول (2): الفعالية الحيوية للمستخلص المائي لنبات الزرشف تجاه نمو بعض الانواع البكتيرية الممرضة

LSD	التركيز (ملغم/مل)				الانواع البكتيرية
	50	100	200	400	
*2.249	14.00±0.50	16.25±0.75	22.50±0.50	28.50±0.5	<i>Staphylococcus aureus</i> .
*2.082	7.50±0.50	13.75±0.75	15.75±0.25	17.50±0.50	<i>Bacillus cereus</i>
*1.769	0.00±0.00	0.00±0.00	14.50±0.50	17.25±0.75	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
*1.388	0.00±0.00	0.00±0.00	12.50±0.50	14.50±0.50	<i>E. coli</i>
-----	*1.388	*2.082	*1.769	*2.249	LSD

(P≤0.05) *

(وجود فروقات معنوية) *

يتضح من النتائج ان البكتريا السالبة لصبغة غرام هي اكثر مقاومة و اقل حساسية من البكتريا الموجبة لصبغة غرام وهذا يتطابق مع اغلب البحوث التي تناولت معظم النباتات الطبية وتأثيرها على البكتريا السالبة والموجبة لصبغة غرام [14]. وهناك عدة اسباب لهذه النتيجة منها جدار البكتريا المعروف للبكتريا السالبة لصبغة غرام اذ يتألف من الدهون التي قد تمنع مرور الكثير من المواد الى داخل البكتريا [15]. كذلك اظهرت النتائج تفاوت للمستخلص الكحولي والمائي في تأثيرهما على تثبيط البكتريا وذلك يعود لاختلاف انواع البكتريا وكذلك اختلاف نوعية المستخلص وتأثيره [16]. اذ ان تأثير المستخلص النباتي على البكتريا يتم بطرق مختلفة قد تؤثر على تصنيع البروتين والاحماض الامينية اولة تأثير في تصنيع جدار البكتريا او غشائها [17]. علما انه لا توجد بحوث محلية تناولت دراسة تأثير نبات الزرشف على نمو الانواع البكتيرية الممرضة. لكن جاءت نتائج الدراسة الحالية متفقة مع ماذكره [18-19]. بأن تأثير المستخلص المائي والكحولي لثمار نبات الزرشف فعالة وبشكل كبير على البكتريا الموجبة لصبغة غرام مقارنة بالبكتريا السالبة لصبغة غرام.

اظهرت نتائج التحري عن قيم تحديد MIC و MBC في جدول (4*3) فهي مؤكدة لاختبارات الحساسية اذ يبين جدول (3) قيمة MIC لبكتريا *Staphylococcus aureus* 1.0 ملم ولبكتريا *Bacillus cereus* 4.0 ملم اما قيمة MBC فقد ظهرت فقط لبكتريا *Staphylococcus aureus* بقيمة 2.0 ملم اما البكتريا السالبة لم تظهر لها قيم MIC كذلك MBC اما بالنسبة للمستخلص المائي فقد كانت قيمة MBC لبكتريا *Staphylococcus aureus* 2.0 ملم ولبكتريا *Bacillus cereus* 4.0 ملم اما قيمة MBC فقد ظهرت فقط لبكتريا *Staphylococcus aureus* بقيمة 2.0 ملم اما البكتريا السالبة لصبغة غرام لم تظهر لها قيم MIC كذلك MBC.

جدول (3): التركيز المثبط الأدنى (MIC), والتركيز القاتل الأدنى (MBC) للمستخلص الكحولي لنبات الزرشف ضد الانواع البكتيرية الممرضة

الانواع البكتيرية		MBC (mg/ml)	MIC (mg/ml)
<i>Staphylococcus aureus</i>		0.2	0.1
<i>Bacillus cereus</i>		0.4	0.2
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		-----	-----
<i>E. coli</i>		-----	-----

جدول(4): التركيز المثبط الادنى (MIC) , والتركيز القاتل الادنى (MBC) للمستخلص المائي لنبات الزرشك ضد الانواع البكتيرية الممرضة

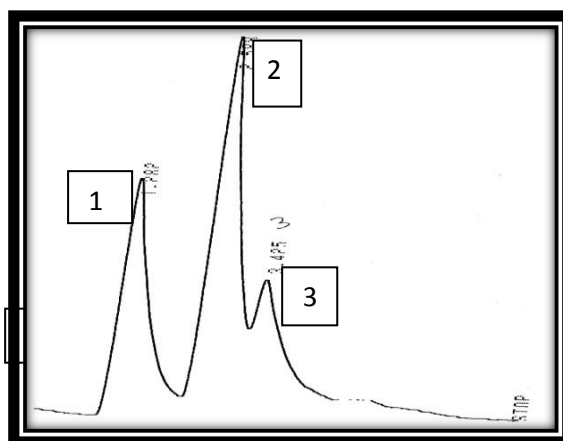
الانواع البكتيرية	MIC (mg/ml)	MBC (mg/ml)
<i>Staphylococcus aureus</i>	0.2	0.4
<i>Bacillus cereus</i>	0.4	-----
<i>E.coli</i>	-----	-----
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-----	-----

بينت النتائج المستحصلة في هذه الدراسة بما يخص تأثير المستخلص الكحولي والمائي والتي بينت مقاومة وحساسية البكتيريا للمستخلصين يكون السبب بعدم التأثير انها لم تكن ضمن التراكيز المطلوبة وجاءت النتائج متفقة مع ماذكره [20]. بأنه المستخلصين ذا تأثير فعال ضد البكتيريا الموجبة لصبغة غرام مقارنة بالبكتيريا السالبة لصبغة غرام.

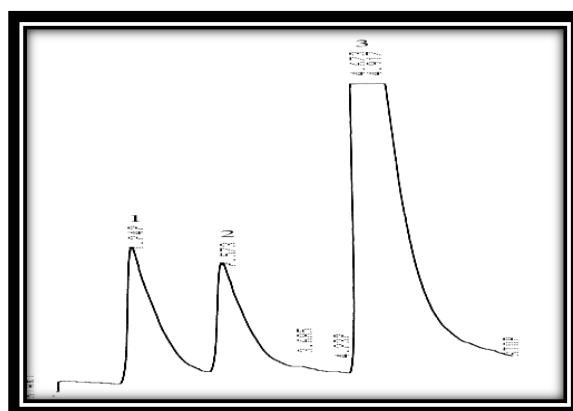
بينت نتائج تحليل HPLC لثمار نبات الزرشك الموضحة في جدول (5) وشكل (1،2) ظهور عدة مركبات قلوية فعالة ومنها Bebamine, Tetradrine وبين التحليل ان اعلى تركيز كان لمركب Tetradrine 38.4 ملغم/مل اما اقل تركيز كان لمركب Chondocurine 8.2 ملغم/مل.

جدول(5): تركيز بعض المركبات الفعالة لنبات الزرشك بتحليل HPLC

المركبات الفعالة	Retention time للعينة ثمار الزرشك	(Mg/ml) con	Retention time للعينة القياسية
Tetradrine	1.24	38.42	1.28
Berbamine	2.57	21.86	2.58
Chondocurine	3.68	8.2	3.42



شكل(1): تركيز المركبات القلوية الفعالة للعينة القياسية المحللة بتحليل HPLC
1-Terandrine 2-Berbamine 3-Chondocurine



شكل (2): تركيز المركبات القلوية التواجدة في ثمار نبات الزرشك المحللة بتحليل HPLC
1-Terandrine 2-Brebamine 3-Chondocurine

اظهر تحليل HPLC نسبة المركبات القلوية في ثمار نبات الزرشك اذ من الملاحظ ان نسبة المركبات القلوية عالية وان هذه المركبات لها القدرة على تثبيط تصنيع وعمليات تضاعف DNA وكذلك تثبيط تصنيع البروتينات وتؤثر في ميكانيكية انتاج السموم البكتيرية والانزيمات [20]. ويعد هذا التحليل ناجحا للتحري النوعي والكمي للمركبات الفعالة في الزرشك والتي لها القدرة على قتل وتثبيط نمو البكتريا [19].

المصادر

1. Javadzadeh, S. M and Fallah, S. R. (2012). Therapeutic application of different parts *Beberis vulgaris*. International Journal Agriculture and Crop Sciences ISSN. 2227-6704.
2. Cowen, L. E. (2008). Resistance Modulating the trajectory from genotype to phenotype Not. Rev. Microbial.6(3):187-198.
3. Shahidibonjar, G. H. (2004). Screening for antibacterial properties of some Iranian plants against two strains of *Escherichia coli*. Asian. J. of plant Sciences. 3(3):310-314.
4. Lansky, A. and Newman, J. (2007). *Punica gratum* (pomegranate) and its potential for prevention and treatment of inflammation cancer.6(3):789-98.
5. Webb, D.A. and Akeroyd, J.R. (1993). Flora Europae, Vol .I, University press, Cambridge, p, 295.
6. Freile, M., Giannini, F. and Sortino, M. (2006). Antifungal activity of aqueous extracts and Berberine isolated from *Berberis heteroohylla*. Acta form. Banaense. 25(1):83-88.
7. Stermitz, F. R, TawarMatsuda, p., Lorenz, P. and Muller, L. (2000). J. Nat. prod.63:1146-1149.
8. Atlas, R.M, Brown, A.E. and Parks, L. C. (1995). Laboratory manual of Experimental Microbiology. Mosby company-yearbook, inc., st.Louis. 563.
9. Rani, I., Akhaud, S. H., Suhail, M. and Abro, H. (2010). Antimicrobial potential of seed extract of *Eruca sativa*, pak, J. Bot. 42(4):2949-2953.
10. النعمان, ادبية يونس شريف حمو. (1998). التأثير الجزئي لبعض المستخلصات النباتية على نمو وايض عدد من الجراثيم الموجبة والسالبة لصبغة غر علام, اطروحة دكتوراه, كلية العلوم, جامعة الموصل.
11. Jorgensen, J. H., Turnide, S. D. and Wasington, J.A. (1999). Antibacterial susceptibility test dilution and disk diffusion methods. in: murry, P.R; Faller, M.A.; Tenorer, F.C.; Baron, E.J. Manual of clinical Microbiology, 7th ed. Whashington DC, ASM press. 1526-1543.
12. الالوسي, ثائر عبدالقادر صالح. (2005). تأثير بعض المستخلصات النباتية على الاطوار اليرقية لبعوض *Culex quinquefasciatus* (Diptera:culicidae), رسالة ماجستير, كلية العلوم, جامعة الانبار.
13. SAS. (2010). Statistical Analysis System, User's Guide. Statistical. Version 9.1th ed. SAS. Inst. Inc. Cary. N.C. USA.
14. SAS. (2004). Sasstat users guide for personal computers release 6.12. SAS.inst.inc.cary .N.C.USA.
15. Yesilada, E. and Kwpeli, E. (2002). *Berberis crataegia* DC root exhibits otentanti-inflammantary. analysis and febrifuge effects in mice and rats. J. Ethnopharmacol. 79:237-248.
16. حمدان, عامر حسين, ظاهر, عامر عبدالرحمن والقيسي, مهدي ضمد. (2009). مقارنة الكفاءة التثبيطية لمستخلصات بذور الخردل الابيض تجاه بعض عزلات ابكتريا الاختيارية. مجلة الزراعة العراقية. 14(4):40-47.
17. Chao, S. C., Young, D. G. and Obery, C. J. (2000). Screening for inhibitory of essential oil on selected bacteria ,fungi and viruses. J. Essent. Oil Res.12:639-649.
18. Wang, X., Yao, X., Zhu, Z., Tang, T. and Jabbouri, S. (2009). Effect of berberine on *Staphylococcus epidermidis* biofilm. volume 34, issue 1:60-66.
19. Arayne, M. S., Sultana, N. and Bahadur, S. (2007). The berberis story: *Berberis vulgaris* in therapeutics pak. J. pharm. Science. vol20(1):83-92.
20. Doaa, A., Ghareeb, R., Abeer, E., Abd El-wahab, Eman, E., Sarhan, M., Marwa, M. (2013). Biological assessment of *Berberis Vulgaris* and its active consistent, berberine: Antibacterial, antifungal and ante-hepatitis cuirus (HCV) effect. J. Medicinal plants research. Vol21(7):32-52.