دراسة تأثير المستخلص الكحولي والمائي لأوراق نبات الاس وجذور نبات عرق الانجبار على نمو بعض الانواع البكتيرية السالبة لصبغة كرام والمسببة للأسهال

هيفاء رجب علوان

قسم علوم الحياة ، كلية التربية للعلوم الصرفة ، جامعة تكريت ، تكريت ، العراق

الخلاصة

هدفت هذه الدراسة لتقييم الفعالية التثبيطية للمواد الفعالة للمستخلص الكحولي والمائي لأوراق نبات الاس وجذور نبات عرق الانجبار في تثبيط نمو بعض الانواع البكتيرية المهمة سريرياً والمسببة للأسهال مثل *Escherichia coli, Proteus vulgaris* ، *Pseudomonas aeuroginosa* . بينت نتائج هذه الدراسة ان هذه المستخلصات ذات تأثير فعال في تثبيط نمو الانواع البكتيرية المستخدمة في الدراسة خارج جسم الكائن الحي . أظهرت النتائج أن التركيز 100 ملغم /مل من المستخلص المائي لأوراق نبات الاس وكذلك نفس التركيز للمستخلص المائي لجذور نبات عرق الانجبار كان له أكثر تأثير تثبيطي على نمو بكتريا المتقلبة الاعتيادية *Proteus vulgaris* أذ بلغت أقطار التثبيط (26,24,28) ملم على التوالي . أما فيما يخص تأثير المضاد الحيوي Ciprofloxacin بتركيز 5 ملغم / مل فقد تغلب على كل تراكيز المستخلصات ولكلا النباتين في تثبيط نمو الانواع البكتيرية المستخدمة في الدراسة .

الكلمات المفتاحية :
المستخلصات النباتية، بكتريا سالبة لصبغة كرام مسببة للأسهال، مضاد حيوي .

للمراسلة :
هيفاء رجب علوان
البريد الالكتروني:
haifaa.ss440@gmail.com

Study The Effect of Alcoholic and Aqueous Extract of *Myrtus comminus* L. Leaves and *Potontials Tomentilla* L. Roots on Growth of Some Gram- Negative Bacteria Species That Causing Diarrhea

Hayfaa Rajab Alwan
Dept of Biology, Collage of Education For Pure Science ,Tikrit University, Tikrit, Iraq.

ABSTRACT

The study aimed to evaluate inhibitory effectiveness of alcoholic and aquecus extracts of myrtus communis leaves and Potontials tomentilla roots on growth of some clinically important bacterial species that causing diarrhea. The results study showed that these extracts an impact is effective in inhibiting the growth of bacterial species used in the study outside the body . the results showed that 100 mg/ ml concentration of aqueous extract of myrtus communis leaves and the same concentration of alcoholic and aqueous extract of Potontials tomentilla roots has more inhibitory effect on growth of *Proteus vulgaris* where inhibition diameters reached (28,24,26) mm respectively . as for antibiotic effect 5mg/ ml of Ciproflxacin overcome all concentration of extracts of both plant in the inhibition of bacterial species growth used in the study .

Key Words:
Alcoholic, Aqueous Extract, Myrtus comminus L. Leaves, Potontials Tomentilla L. Roots, Gram- Negative Bacteria.

Correspondence:
Hayfaa Rajab Alwan
E-mail:
haifaa.ss440@gmail.com

المقدمــة :

تمتلك النباتات قدرة غير محدودة في تصنيع المركبات الاروماتية والتي يكون بعضها مسؤول عن اللون مثل التانينات tannins و الكوينونات guinones . وتضم المملكة النباتية العديد من الاصناف النباتية التي تعد مصدراً لا ينضب من النواتج الطبيعية ذات التأثير التثبيطي لأنواع مختلفة من الاحياء المجهرية ، فمعظمها فينولات أو مشتقاتها المؤكسدة، وهي عبارة عن نواتج ايضية ثانوية تعمل في الاساس على حماية النبات من هجوم الاحياء المجهرية والحشرات واكلات الاعشاب (Gislene

واخرون ، 2000). في الوقت الحاضر أزداد وبشكل كبير استعمال النباتات الطبية في المجالات الصيدلانية لذا فأن العديد من الباحثين في هذا المجال ركزوا على دراسة النباتات الطبية المنتشرة في مختلف أنحاء العالم والمستعملة لأغراض علاجية عدة منها علاج الاسهال والحمى ونزلات البرد وغيرها.وان استعمال النباتات الطبية قد يكون شائعاً لدى سكان المناطق التي تنمو فيها هذه النباتات وهذا ما يعرف بالطب الشعبي (Ishrak و Ahmed ، 2000).

النباتات الطبية تحتوي على مركبات مختلفة يكون لها دور في حماية النبات من الامراض عن طريق فعاليتها ضد الكائنات المجهرية المسببة للأمراض سواء كانت بكتريا أو فطريات ، وكما هو معروف فأن تلك الكائنات المجهرية الممرضة يتم القضاء عليها بأستعمال المضادات الحيوية والتي أزدادت الحاجة اليها خلال العقود الثلاث الماضية . الا أن تلك الكائنات المجهرية تعمل باستمرار على تطوير في مقاومة تأثير تلك المضادات عليها، وعلى مثل هذه المشاكل كان لابد من تطوير المضادات الحيوية عن طريق أضافة مواد فعالة جديدة لها القابلية في القضاء على الكائنات المجهرية الممرضة (Bassam واخرون ، 2005).

تعد النباتات الطبية أحدى مصادر تلك المواد فعلى سبيل المثال في أمريكا اللاتينية أختير 122 نبات طبي، كان اثنى عشر منها لها تأثير مثبط ضد بكتريا *S.aureus* وعشرة أنواع كان لها تأثير مثبط ضد بكتريا *E.coli* (Gislene واخرون ، 2000) . ومن النباتات الطبية التي استعملت في الدراسة نبات الاس ونبات عرق الانجبار ، فنبات الاس *Myrtus communis* يعد من النباتات الطبية لذا أستعمل في هذه الدراسة ، ينتمي هذا النبات للعائلة الاسية Mytaceae وهي من النباتات العطرية ويكون بشكل شجيرات دائمة الخضرة ذات أوراق صغيرة ملساء براقة جلدية تمتاز برائحة عطرية فواحة ، أما الازهار فتكون بيضاء ينتج عنها ثمار لينة سوداء تجف فتكون من التوابل (Boelense و Jimenez ، 1992). تحتوي أوراق النبات على مواد مطهرة Antiseptic ومضادة للألتهابات كالاسهال العادي والاسهال الدموي ، ومواد فعالة في معالجة امراض التهابات اللثة gingivilis (Twaij و El-Jalil ، 2009). وكذلك تحتوي على مواد مضادة للأكسدة Antioxidant(Gortzi واخرون ، 2007) ،وايضاً يحتوي على مواد ذات خواص مسكنة للالم (Akin واخرون ، 2010) .

أما نبات عرق الانجبار *Potontials tomentilla* فينتمي الى العائلة الوردية Rosaeae ينمو في الجبال والاراضي الرطبة يتراوح ارتفاع النبات مابين 40 -10 سم ، له ساق ضعيفة يتشعب منها فروع كثيرة والاوراق تنبت من الساق مباشرة أو بساق قصيرة. أما الازهار خضراء رباعية الاوراق والجذور قصيرة ومعقدة لونها اسمر من الخارج وفاتح من الداخل عند الهرس يتحول الى اللون الاحمر . يستعمل مغلي الجذور في معالجة النزيف الرحمي والاسهال الحاد المزمن ويوقف نزيف البواسير . يستعمل مغلي الجذور في معالجة النزيف الرحمي والاسهال الحاد المزمن ويوقف نزيف البواسير(رويحة ،2000).

هناك طرق مختلفة لتقييم فعالية المركبات الفعالة المستخلصة من النباتات الطبية وان تلك الطرق قد تختلف في الاساس أو الغرض منها لكن التأثير الفعلي للتقييم يعتمد على نوعية الكائنات الحية االمجهرية المستخدمة للدراسة ودرجة ذوبانية المركب الفعال المستخدم للأختبار(Cleidson واخرون ، 2007) .

وتهدف هذه الدراسة الى معرفة الفعالية الحيوية للمستخلصات المائية والكحولية لأوراق نبات الاس *Myrtus Communis* ونبات عرق الانجبار *Potantials Tomentilla*. في تثبيط بعض انواع البكتريا السالبة لصبغة كرام وهي *E.coli ,Proteus vulgaris, Pseudomonas aeuroginosa* المسببة للأسهال عند الاطفال .

المواد وطرائق العمل :

1- جمع العينات النباتية :

تم الحصول على اوراق نبات الاس وجذور نبات عرق الانجبار من اسواق تكريت من العطارين، وبعد تنظيفها من الاتربة العالقة فيها بأستعمال ماء الحنفية وضعت في الظل لتجف بدرجة حرارة الاوراق نبات الاس وعرق الانجبار من الاتربة العالقة فيها بماء الحنفية وضعت في الظل لتجف في درجة حرارة المختبر (20-32 م^0) لمدة تزيد عن 12 يوم ، ثم سحقت الاوراق للحصول على مسحوق لكلا النباتين . بعدها وضع المسحوق في اكياس نظيفة جافة وحفظ في الثلاجة لاستعماله في الدراسات (Nair واخرون ، 2005).

2- تحضير المستخلص العضوي لاوراق نبات الاس وجذور نبات عرق الانجبار:

حضر المستخلص العضوي للعينات النباتية بأخذ (50) غم من مسحوق الاوراق ومزج مع (400) مل من الايثر البترولي بتركيز 40-60% لمدة (72) ساعة باستعمال المازج المغناطيسي، بعدها رشح المحلول وجفف الراسب للتخلص من المواد العضوية (Amensour واخرون ، 2010).

3 – تحضير المستخلص الكحولي لاوراق نبات الاس وجذور نبات عرق الانجبار:

حضر المستخلص الكحولي للعينات النباتية بحسب طريقة Ladd واخرين (1978) بأخذ الراسب الجاف للعينة النباتية المحضر في الفقرة أعلاه ومزجه مع (400) مل من الكحول الاثيلي بتركيز 95% لمدة 72 ساعة بأستعمال المازج المغناطيسي . بعدها رشح المحلول بأستعمال المبخر الدوار تحت ضغط منخفض بدرجة حرارة 40م^{0}وبعد الحصول على مستخلص مركز ترك المتبقي في درجة حرارة المختبر للحصول على مسحوق. أما المستخلص المائي فقد حضر ايضاً بنفس الطريقة (Nanasombat و Lohasupthawee ، 2005).

4 – تحضير تراكيز المستخلصات النباتية :

حضر المحلول الخزين Stock solution للمستخلص الكحولي بأخذ (2) غم من مسحوق المستخلص الكحولي للنبات واذيب في 10 مل من DMSO(Dimethyl sulfoxide) معقم فأصبح لدينا محلول خزين بتركيز (200)ملغم /مل . بعدها عقم المحلول بالترشيح بأستعمال اوراق الترشيح What man No. 10 ، ثم استعمال المرشح الدقيق Milipore filtar بقطر فتحات0.22 مايكرون للتخلص من الملوثات الجرثومية الموجودة فيه والحصول على محلول خزين معقم . أستعمل هذا المحلول كمصدر لعمل التراكيز (200 ،100، 50)ملغم /مل (Genetu واخرون ، 2008) .

5 – تحضير العوالق البكتيرية :

تم الحصول على الانواع البكتيرية المستخدمة في الدراسة من قبل مختبرات الاحياء المجهرية في كلية التربية للعلوم الصرفة قسم علوم الحياة . نشطت الانواع المستخدمة في الدراسة بأستعمال وسط نقيع القلب والدماغ السائل . ثم زرعت بطريقة التخطيط على الوسط المغذي الصلب (APHA&WEF.,2000). وبعد الحصول على مستعمرات نقية مفردة تم تحضير عالق بكتيري كثافته مساوية لعكورة محلول ماكفرلاند القياسي رقم 0.5 الذي يعطي عكورة مساوية تقريباً لعكورة العالق البكتيري الذي يحتوي على 1.5×10^8 خلية / مل (Baron واخرون ، 1994) .

6 – دراسة تأثير المستخلص النباتي في نمو البكتريا

في اختبار حساسية البكتريا للمستخلص النباتي اتبعت طريقة الانتشار بالاكار بواسطة الحفر (Egorove ، 1985) Well ، اذ تم نشر (1) مل من العالق البكتيري لكل نوع من البكتيرية المستخدمة في الدراسة على وسط مولر هنتون الصلب، بأستعمال الثاقب الفليني (Cork borer) ثم عمل (4) حفر بقطر (6)ملم لكل حفرة ، ثم أضيف (0.1) مل من المستخلص النباتي وبالتراكيز(50,100,200) ملغم / مل في كل حفرة. اما الحفرة الرابعة أضيف اليها 0.1 ما من المضاد

الحيوي Ciprofloxacin بتركيز 5 ملغم /مل . بعدها تركت الاطباق لمدة 15 دقيقة ثم حضنت بدرجة حرارة 37 م^0 لمدة 24 ساعة ، ثم قيست أقطار مناطق التثبيط بأستعمال المسطرة .

النتائج والمناقشة :

تم في هذه الدراسة تحديد التأثير التثبيطي للمستخلصات الكحولية والمائية لأوراق نبات الآس وجذور نبات عرق الانجبار في نمو ثلاث انواع من البكتريا السالبة لصبغة كرام .

تبين من خلال الدراسة ان لهذه المستخلصات فعالية تثبيطية متباينة على الانواع البكتيرية المستخدمة في الدراسة .أذ يتضح من الجدول رقم (1) أن المستخلص الكحولي لأوراق نبات الاس كان أكثر تأثيراً على بكتريا الزائفة الزنجارية *Pseudomonas aeuroginosa* أذ بلغ المتوسط الحسابي لأقطار التثبيط للتراكيز الثلاثة لهذا المستخلص (22) ملم في حين كان المستخلص المائي لهذا النبات أكثر تأثيراً على بكتريا المتقلبة الاعتيادية *Proteus vulgaris* أذ بلغ المتوسط الحسابي لأقطار التثبيط لهذا المستخلص (24.7) ملم .

أما فيما يخص مستخلصات جذور نبات عرق الانجبار فقد أظهرت النتائج ان المستخلص الكحولي والمائي لجذور هذا النبات كان أكثر تثبيطاً لنمو بكتريا *Proteus vulgaris* أذ بلغ المتوسط الحسابي لأقطار التثبيط لكل التراكيز بحدود (21.7) ملم للمستخلص الكحولي و (23.3) ملم للمستخلص المائي .أما فيما يتعلق بتأثير تراكيز المستخلصات فقد بينت نتائج الدراسة أن المستخلص الكحولي لأوراق نبات الاس يتر كيز 50 ملغم / مل كان أكثر تثبيطاً لبكتريا *Pseudomonas aeuroginosa* أذ بلغ قطر التثبيط 25 ملم .أما بالنسبة للمستخلص المائي ولنفس النبات وبتركيز 100 ملغم / مل فقد كان أكثر تأثيراً على بكتريا *Proteus vulgaris* أذ بلغ قطر التثبيط 28 ملم وهذه النتيجة اتفقت مع ماذكرته الباحثة زينب عن القدرة التثبيطية للمستخلص المائي لأوراق نبات الاس على نمو بعض الانواع البكتيرية السالبة لصبغة كرام والمسببة للأسهال مثل*Proteus vulgaris* و *Pseudomonas aeuroginosa* (زينب، 2012).

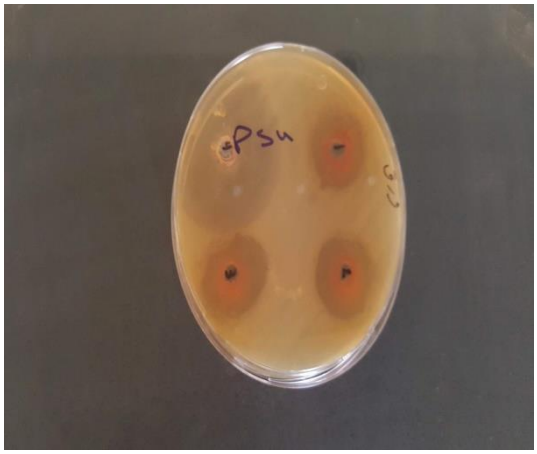
أما فيما يخص تأثير المستخلصات الكحولية والمائية لجذور نبات عرق الانجبار فقد كانت التركيز 100 ملغم / مل أكثر تثبيطاً لبكتريا *Proteus vulgaris* أذ بلغ قطر التثبيط 24 ملم للمستخلص الكحولي أما بالنسبة للمستخلص المائي فقد بلغ قطر التثبيط 26 ملم . أما فيما يتعلق في أنواع البكتريا المطبقة في البحث فأن استخدام نوعين من النبات ونوعين استخلاص قد ادى الى أختلافات في التأثيرات التثبيطية لأنواع البكتريا أذ تشير النتائج من الجدول (1) الى ان النوع *P .vulgaris* كان اكثر الانواع تأثراً بهذه المستخلصات مقارنة مع النوعين الاخرين وان التركيز 100 ملغم / مل لكل المستخلصات ولكلا النباتين له أفضل تأثير تثبيطي على هذا النوع .

أما فيما يخص تأثير المضاد الحيوي يظهر الجدول رقم (1) أن المضاد الحيوي قد تفوق على كل انواع المستخلصات وبكافة التراكيز في قطر التثبيط أذ اعطى قطر تثبيط متوسطه الحسابي 44.3 ملم وذلك لامتلاكه طيف واسع التأثير على البكتريا السالبة والموجبة لذا وجد أنه أكثر تثبيطاً للبكتريا المستخدمة في الدراسة مقارنة مع المستخلصات الكحولية والمائية وبكافة التراكيز (Tyler واخرون ، 1998) .

جدول رقم (1) المتوسط الحسابي لأقطار تثبيط المستخلصات النباتية للأنواع البكتيرية المستخدمة في الدراسة

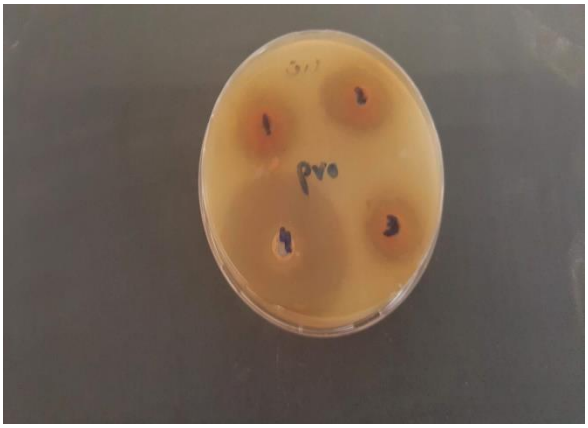
نوع النبات	نوع المستخلص	نوع البكتريا	تركيز المستخلص (ملغم / مل)			متوسط اقطار التثبيط للتراكيز	المضاد الحيوي
			50	100	200		
اوراق نبات الاس	كحولي	*E. coli*	18	20	21	19. 7	50
		P. vulgaris	20	21	20	20.3	40
		Ps. Aeuroginosa	25	21	20	22	43
	مائي	*E. coli*	20	22	26	22.7	50
		P. vulgaris	22	28	24	24.7	40
		Ps. Aeuroginosa	20	26	22	22.7	43
جذور نبات عرق الانجبار	كحولي	*E. coli*	20	19	21	19.7	50
		P. vulgaris	20	24	21	21.7	40
		Ps. Aeuroginosa	18	20	22	20	43
	مائي	*E. coli*	22	20	22	21.3	50
		P. vulgaris	24	26	20	23.3	40
		Ps. Aeuroginosa	18	24	20	20.6	43

ملاحظة / الارقام في الجدول تشير الى اقطار التثبيط مقاسة بالملم .



الشكل رقم (1) اقطار تثبيط نمو بكتريا *Pseudomonas.aeuroginosa* بالمستخلص المائي لاوراق نبات الاس

الشكل رقم (2) اقطار تثبيط نمو يكتريا *E. coli* بالمستخلص المائي لنبات لاوراق نبات الاس



الشكل رقم (3) اقطار تثبيط نمو بكتريا *Proteus vulgaris* بالمستخلص النباتي لأوراق نبات الاس

المصادر :

رويحة، امين .(2000). "التداوي بالاعشاب " .بيروت ،دار القلم. ص 212-211 .

زينب ، اسمهان .(2012) . التأثير الحيوي لبعض مستخلصات أوراق نبات الاس الشائع السوري *Myrtus communis L.* في نمو بعض الاحياء الدقيقة الممرضة

Akin,M.;Aktumsek,A.andNostro,A.,(2010)."Antibacterial activity and composition of the essential oils of *Eucalyptus camaldulensis* . L leaves against salivary Mutans streptococci". Saudi Dental Journal, Vol.120, No.2, pp: 82-87.

Amensour, M.; Bouhdid, S; Fern.ndez-L.pez J.; Idaomar, M.; Senhaji, N.S.; Abrini, J., (2010). "Antibacterial Activity of Extracts of *Myrtus communis*Against Food-Borne Pathogenic and Spoilage Bacteria". International Journal of food Properties, Vol, 13,P: 1215-1224.

APHA, AWWA and WEF, (2000). "Standard Methods for Examination ofwater and wastewater". 20th edition. American Public Health Association,Inc., Baltimore, M.D. USA.

Baron,E.J.; Poterson,L.R and Feinegold,S.M.(1994)."Bailyscoffs Diagnostic microbiology". 9th ed, Mosby.CO.U.S.A,PP:753-579.

Bassam,A;Ghaleb,Douad,S;Kamel,A;Moad,A. (2005). "Antibacterial activity of Rhus coeiaria. Extracts growing in Palestine" Journal of the Islamic University of Gaza, (Natural sciences Ser Series), 13(2): 147-155.

Boelense, M.H.and Jimenez,R.,(1992). "The chemical compostion of Spanish myrtle oils". Part.1.J.Ess.Oil.Res., Vol.3, 137-177.

Cleidson,V;Simone,M;Elza,F.A;Arthur,S (2007). " Screening methods to determine antibacterial activity of natural products". Brazilian Journal of Microbiology, 38: 369-380.

Egorove,N.S.(1985)."Antibiotics ascientific approach" 1st ed. MIR Puplisher.PP:418.

Genetu,A.;Yared, M.; Moges, T.; Andargachew, M., (2008). "In vitroantibacterial activity of crude preparation of myrtle (*Myrtus communis*) oncommon human pathogens". Ethiopian medical journal, Vol. 46, No. 1, pp.

Gislene.G.F;Nascimento;Juliana,L;Freitasi.;Giuliana,S.(2000)."Antibacterial activity of plant extract and phytochemicals on Antibiotic resistant bacterial. Brazilian Journal of Microbiology, 31: 247- 256.

Gortzi,O.;Lalas,S.;Chinou,L.; Tsaknis,J (2007)." Reevaluation of bioactivity and antioxidant activity of *Myrtus communis* L. on E. coli K12 HB101". Journal of Rafsanjan University of Medical Sciences and Health Services, Vol.4,No.16, pp:220-227.

Ishrak,K;Ahmed;D (2000). "The effecincy of random versus ethno- directed research in the evaluation of Sinai medicinal plants for bioactive compounds .J of Ethano pharmacology, 71: 365-376.

Nair, R.; Kalariya, T.; Chanda, S., (2005). "Antibacterial Activity of SomeSelected Indian Medicinal Flora". Turk. J. Biol. Vol. 29, 41-47.

Nanasombat S.and Lohasupthawee .,P (2005). "Antibacterial activity of crudeethanolic extracts and essential oils of spices against Salmonellae and other Enterobacteria". Sci. Tech ., Vol,5,No.3,P:527-538.

Twaij,H.; EL-Jalil, H.A., (2009)." Evalution of Narcotic (Opioid Like) Analgesic Activites of Medicinal Plants". European Journal of Scientific Research, Vol.33,No.1,P.179- 182.

Tyler,V.E.; Bracly, L.R. and Robbers,J.E.(1998). " Pharmacognsy". 8th ed. Lea& Febigger.Philadelphia. PP: 357- 362.