

استخلاص الزيوت الاساسية من نبات الرشاد البري (*Lepidium aucheri boiss*) و دراسة فعاليتها الحيوية

حسام محمد كريدي**

مريم ماجد كاظم*

قسم الكيمياء - كلية العلوم - جامعة ذي قار

E-Mail: *alhasnawymary@gmail.com

** hmk20001999@gmail.com

الخلاصة:

تشير الدراسة الحالية الى استخلاص الزيوت الاساسية من نبات الرشاد البري (*lepidium aucheri boiss*) ، اذ تم جمع النبات في اذار 2015 من شمال مدينة الناصرية ثم تم تصنيفه و استخلصت الزيوت الاساسية من النبات بواسطة جهاز كلافينجر (Clevenger's Apparatus) ، ليتم الحصول في النهاية على ما يقارب 26.45 g من الزيوت الاساسية من 24 Kg من النبات ، ثم تم دراسة الفعالية الحيوية لها . لم تظهر الزيوت الاساسية المستخلصة من النبات اي سمية تجاه كريات الدم الحمراء ، اذ تم دراسة الخصائص المضادة للبكتيريا باستخدام خمسة انواع من البكتيريا ، و هي البكتيريا الموجبة لصبغة كرام (*Staphylococcus aureus* , *Streptococcus pyogenes* and *Enterobacter sp.*) ، و البكتيريا السالبة لصبغة كرام (*Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*) ، للتحقق من فعالية الزيوت الاساسية المستخلصة ، حيث اظهرت النتائج بان لها فعالية مضادة للبكتيريا متفاوتة مقارنة بالمضاد البكتيري السبرودار (Ciprodar) . حيث عند التركيز 100% اظهرت البكتيريا *Staphylococcus aureus* اعلى نسبة تثبيط ، حيث كان قطر منطقة التثبيط هو (20 mm) و اظهرت البكتيريا *E.coli* اقل نسبة تثبيط حيث كان قطر منطقة التثبيط هو (7 mm) عند نفس التركيز . اما الخصائص المضادة للفطريات تم دراستها على اربع انواع من الفطريات وهي (*Aspergillus niger* و *Aspergillus terrus* و *Aspergillus flavus* و *Candida albicans*) . النتائج اظهرت اعلى فعالية عند التركيز 100% للفطر *A.niger* ، حيث كان قطر منطقة التثبيط هو (12 mm) ، اما الفطريات الاخرى فقد ابدت مقاومة عالية خاصة *C.albicans* التي لم تتأثر بجميع التراكيز المحضرة.

الكلمات المفتاحية: الرشاد البري ، الزيوت الاساسية ، السمية الخلوية ، مضاد بكتيري ، مضاد فطري.

Abstract

The present study amide to extracts the essential oils from *Lepidium aucheri boiss* ,where it was collected in March 2015 from the northern of Nasiriyah city and it was classified .it was extracted from plants by Clevenger's Apparatus to be finally getting around 26.45g of essential oil of 24Kg plant .Then study the bioactivity of this essential oils ,the extracted essential oils from the plant didn't showed any toxicity toward the red blood cells. The antibacterial properties was used five types of bacteria, Cram positive strain (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* and *Enterobacter sp.*) and Cram negative strain (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*),These moleules showed antimicrobial activites against gram negative and gram positive bacterial . The activity of the concentration 100% showed the highest percentage inhibition there are (20mm) towards bacteria *Staphylococcus* and *E.coli* bacteria showed less inhibition ratio there are (7mm) at the same concentration .In the test of antifungal properties used four types of fungus which *Aspergillus niger* and *Aspergillus terrus* and *Aspergillus flavus* and *Candida albicans* .The results showed the highest inhibition of the fungus at concentration 100% towards *A.niger* where the scale inhibition is 12 mm, while the other fungi have shown high resistance toward all the prepared concentration ,especially *C.albicans*.

المقدمة :

يتروح ارتفاع النبات ما بين (2-15) cm مع بتلات بيضاء ينتشر في أماكن مختلفة من العراق ، وخاصة في المناطق الصحراوية بالإضافة إلى منطقة السهل الرسوبي ، ويلحق هذا النوع بجنس *Lepidium* ، الذي يضم عدة أنواع في العراق منها *L. aucheri Boiss* ، وهو احد أنواع العائلة الصليبية (*Cruciferae*) (Townsend . and Guest , 1980). دون النبات واستخدم كنبات طبي ، و استخدم بصورة كبيرة في السنوات الأخيرة ، النبات موجود في سوريا والعراق وإيران وأفغانستان وباكستان، و تكشف المعلومات التقليدية بان له استخدامات طبية ، و مكوناته الثانوية تحدد بواسطة الاستخلاص و التقييم و العزل و تحديد التركيب للمكونات الثانوية (Sarikami and Yanmaz , 2011). يحتوي النبات على الزيوت الأساسية ، وهي مزيج معقد من المركبات المتطايرة و النصف متطايرة ، عادة لها رائحة قوية و لون نادر و تذوب في المذيبات العضوية و عديمة الذوبان في الماء و تشمل المركبات المتطايرة ، المركبات التيربينويدية و المركبات غير التيربينويدية و تخلق خلال مختلف طرق التخليق الحيوية مع العمليات الايضية الأساسية (Baser and Demirci, 2007 ; Litchenthaler 1999; Dewick, 2002 ; Sell , 2010). اتجهت انظار العالم في الآونة الاخيرة نحو النباتات الطبية في علاج الكثير من الامراض وحتى المستعصية منها، نظرا لما تسببه الادوية المستعملة من اضرار عديدة على صحة الانسان . استعملت الزيوت الطيارة كعقاقير طبية منذ وقت طويل فامتلاكها للخواص المعقدة ادى الى استخدامها ضد البكتريا و الفايروسات و الفطريات ، هذا فضلا عن كونها عوامل مضادة للأكسدة ، و استخداماتها الواسعة في الدراسات الحديثة في علاج الامراض السرطانية (هالة واخرون ، 2011). كما ظهرت الاهمية الاقتصادية للزيوت الطيارة لاستخدامها في مجالات عديدة طبية وغير طبية وخاصة في مجال الاغذية وحفظها كونها مثبطة للبكتريا المرضية التي تسبب تلف وفساد الاغذية (Zhao and Agboola , 2007). نشاط المستخلصات النباتية على البكتيريا و الفطريات درست من قبل عدد كبير جدا من الباحثين في اجزاء مختلفة من العالم (Bhengraj et al., 2008) ، و قد اظهرت كثير من هذه الدراسات ان بعض النباتات لها نشاط مهم وكبير ضد البكتيريا لاسيما تلك المسببة لأمراض الجهاز التنفسي (Kaloustian , et al., 2008) ، واثبتت العديد من الدراسات على وجود علاقة بين المضاد البكتيري و التركيب الكيميائي للمستخلص (Akgul and Gulshen , 2005

2008) ، و قد اثبتت التجارب ان للزيوت الأساسية قدرة على مكافحة الامراض المعدية التي تنتقل بسهولة في المكاتب و الاماكن العامة و المدارس و المستشفيات ، و بفضل خاصيتها التطهيرية و المضادة للتعفنية فان الزيوت الأساسية تستطيع تطهير الهواء المحيطي (اسلوب التهوية) و الحد من انتشار الكائنات الميكروبية المسببة للأمراض ذات الاصل البكتيري ، كما يمكنها التخفيف من الحالات المرضية الفيروسية (De Billerberck 2007) . ان نشاطية الزيوت الأساسية المضادة للبكتيريا تعمل اساسا على وفق المكونات الكيميائية لهذه الزيوت ، و بشكل ادق على المكونات الطيارة لها (Bouaoun et al., 2007). قام دورمان (Dorman) و اخرون بدراسة عدد كبير من مركبات الزيوت الأساسية النقية (بعد عملية الفصل) وتأثيرها على 25 سلالة بكتيرية واطهرت ان الثايمول (*Thymol*) له اكبر نشاطية مضادة للبكتيريا من بين المركبات الاخرى ثم يليه الكارفاكرول (*Carvacrol*) و الفا- ثيربينول (*α-terpinéol*) (Amarti et al., 2008). اما الخصائص المضادة للفطريات فقد اجريت دراسة حديثة بان مستخلص الزيوت الأساسية لنبات القرفة (*Cinnamon*) فعالية عالية في تثبيط نمو مجموعة من الفطريات (علي و اخرون ، 2010) ، وكذلك استخلص الزيت الطيار من نبات القرنفل (*Syzygium aromaticum*) و اليوكالبتوس (*Eucalyptus camaldulensis*) اذ لوحظ ان لهذين الزيتين فعالية ضد خمسة انواع تابعة للفطر *Alternaria* المعزولة من جذور اللهانة في محافظة البصرة حيث اظهر مستخلص القرنفل اكثر فعالية من مستخلص اليوكالبتوس ، كما اكدت الدراسة ان الفطر نوع *Alternaria citri* كان اكثر الانواع تأثرا بكلا الزيتين اذ بلغت النسبة المئوية للتثبيط 87% و 82% لكليهما على التوالي (عباس ، 2010). دراستنا الحالية تتعلق باستخلاص الزيوت الأساسية من نبات الرشاد البري ومعرفة نشاطها كمضاد للبكتيريا و الفطريات .

المواد وطرائق العمل:

1- جمع النبات:

الرشاد البري تم جمعه في مارس 2015 من شمال - غرب مدينة الناصرية في العراق ، وعندها تحقق منه وصنف في قسم علوم الحياة - كلية العلوم في جامعة ذي قار. النبات ينظف و

استخدام (دم الانسان + DMSO) كمعامل سيطرة سالب و (دم الانسان + ماء حنفية) كمعامل سيطرة موجب .

يغسل بالماء المقطر و يحفظ في المجمدة (بدرجة درجة حرارة لا تزيد عن 4°C .

2- استخلاص الزيوت الاساسية :

تم استخلاص الزيوت الاساسية بواسطة جهاز كلافينجر (Clevenger's Apparatus) . الجهاز يتضمن دورق دائري أحادي العنق حجمه 1000 ml متصل بدورق دائري آخر ذو فتحتين علوية وأخرى بالأسفل ذو حجم 1000 ml يستوعب المادة النباتية . الفتحة العلوية من الدورق تتصل بمكثف بواسطة توصيلة. قمع الفصل يستخدم لفصل الزيوت الأساسية المستخلصة من النبات عن الماء. يقطع النبات إلى قطع صغيرة لا تتجاوز الـ 2X2 cm تقريبا , و يؤخذ منها g (200-150) ويغلى مع 500 ml من الماء المقطر في جهاز كلافينجر إلى أن تقطر الزيوت الاساسية ويوقف بعد (6-5) hur . الزيوت الأساسية المقطرة يمكن ملاحظتها في الطبقة العلوية المنفصلة عن الماء في قمع الفصل (Virendra , 2006) ، ولكن خلال العمل لوحظ ان كمية طبقة الزيوت الاساسية قليلة جدا وصعوبة فصلها لذلك استخدم ن- بنتان لفصل الطبقة العضوية (الزيوت الاساسية) عن الطبقة المائية (Kulisica et al., 2004) . فترة الاستخلاص يجب أن تؤخذ أيضا بعين الاعتبار حسب الفترة الزمنية المحددة لتدفق جميع المكونات الزيتية من النبات وتحرر اكبر كمية ممكنة (Virendra , 2006) . نستخدم كبريتات الصوديوم اللامائية للتجفيف (Muhammad et al., 2012) ، وتحفظ الزيوت الاساسية في انبوب زجاجي في الثلجة .

3- السمية الخلوية :

تم تحديد السمية الخلوية للزيوت الاساسية المستخلص من نبات الرشاد البري بطريقة Xian-gno (Xian-gno , 1994) ، على كريات الدم الحمراء للإنسان ، حيث تم اضافة 10 ml من محلول رنجر الفسيولوجي الى 0.5 ml من الدم المسحوب من الانسان (الاتاييب حاوية على المادة المانعة لتخثر الدم) ، ثم حضرت سلسلة من التراكيز بطريقة التخفيف للزيوت الاساسية المستخلصة باستخدام مذيب الـ DMSO (حجم : حجم) كالتالي (10:1، 100:1، 1:1) ثم وضع 0.8 ml من كل تركيز مخفف في انبوية اختبار معقمة واضيف لكل انبوية 0.2 ml من (محلول رنجر الفسيولوجي + دم الانسان) ليصبح الحجم النهائي لكل انبوية 1 ml ثم حضنت لمدة 30 min عند درجة حرارة 37°C ، و

4- التحقق من خصائص الزيوت الاساسية كمضاد للبكتيريا:

مولير هنتون اغار (Muller Hinton Agar) مجهز من قبل شركة هميديا في الهند (Himedia : India) ، يستخدم كوسط زرعي وحضر بالاعتماد على المعلومات المحددة من قبل الشركة المصنعة ، و تم تعقيم الوسط بواسطة الموصدة الكهربائية . استخدمت البكتريا وشخصت في قسم علوم الحياة ، كلية العلوم ، جامعة ذي قار و هي: البكتريا الموجبة لصبغة كرام (positive to gram stain) و هي *Enterobacter Sp.* ، *Staphylococcus aureus*، *Streptococcus pyogenes* و البكتريا السالبة لصبغة كرام (negative to gram stain) وهي *Pseudomonas aeruginosa* ، *Escherichia coli* : تعقيم المستخلص بواسطة Millipore filter paper ، ثم تم اخذ علقه البكتريا في كل اختبار بكتيري (107 CFU/ ml) نشرت على سطح طبق وسط المولير هنتون اغار (MHA) . ثم تم عمل ثقب بواسطة الثاقب الفليني بحدود 6 mm K و اخذ 100 µl من المستخلص و ذوب في الـ DMSO بتركيز (75% و 50%) بالإضافة الى التركيز الاصلي (100%) . النتائج اظهرت بعد 18 عند درجة حرارة 37°C في الحاضنة ، وعندها تم قياس قطر منطقة التثبيط (Jeremiah et al., 2007) .

5- التحقق من خصائص الزيوت الاساسية كمضاد للفطريات :

نستخدم البوتيتا دكستروز اغار ((PDA potato dextrose agar) كوسط للفطر، مجهز من قبل شركة هميديا في الهند (Himedia : India) ، يستخدم كوسط زرعي وحضر بالاعتماد على المعلومات المحددة من قبل الشركة المصنعة ، و تم تعقيم الوسط بواسطة الموصدة الكهربائية . الفطريات اعتمدت من مستشفى الحسين التعليمي في ذي قار في مختبر الاحياء المجهرية وهي : *Aspergillus flavus* و *Candida albicans* و *Aspergillus niger* ، يعقم الـ PDA و يصب في الصحن وتترك لكي تتصلب تحت شرط التعقيم ، ويتم عمل ثقب بواسطة الثاقب الفليني بحدود (6 mm) في وسط الاطباق . ناخذ مسحة من الفطر في انبوية اختبار تحتوي على 3 ml من الماء المقطر ، نستخدم حلقة اللهب ، مزروع الفطريات والماء تمزج مع الخلط و تنتشر على صفائح الـ PDA و تترك لمدة

- خصائص الزيوت الاساسية كمضاد للبكتيريا :

اظهرت النتائج تأثيرا مضادا وتدرجيا لنمو الاحياء المجهرية المختيرة بزيادة التركيز و كما هو في الجدول رقم (1-2) الذي يبين قطر منطقة التثبيط بال mm تجاه البكتيريا السالبة و الموجبة لصبغة كرام ، واختلفت الانواع البكتيرية في حساسيتها للزيوت الاساسية المستخلصة ، فكانت بكتيريا *Escherichia coli* و *Pseudomonas aeruginosa* (السالبة لصبغة كرام) هما الاقل تأثر بالزيوت الاساسية المستخلصة ، حيث استخدمت تراكيز مختلفة من الزيوت الاساسية المستخلص من النبات وهي (100% ، 75% ، 50 %) فكان قطر منطقة التثبيط لبكتيريا الـ *E. coli* هو mm (15 و 9 و 7) ، ومن ثم بكتيريا الـ *Pseudomonas aeruginosa* حيث كان قطر منطقة التثبيط هو mm (16 و 15 و 8) على التوالي . اما بكتيريا *Staphylococcus aureus* و *Enterobacter sp.* (الموجبة لصبغة كرام) كانت اكثر تأثرا بالزيوت الاساسية المستخلصة من النبات ، حيث كان قطر التثبيط لبكتيريا *Staphylococcus aureus* هو mm (20 و 18 و 15) ، و قطر منطقة التثبيط لبكتيريا *Streptococcus pyogenes* هو mm (19 و 17 و 10) و قطر التثبيط لبكتيريا *Enterococcus sp.* هو mm (16 و 14 و 8) للتركيز (100% و 75% و 50%) على التوالي . المضاد سيرودار (Ciprodar) اظهر اعلى فعالية ضد البكتيريا (*Staphylococcus aureus* (25mm) و اقل فعالية ضد البكتيريا (*Escherichia Coli* (16mm) لكونه مضاد بكتيري قوي معروف. و الـ DMSO الذي لم يظهر اي فعالية ملحوظة على البكتيريا المستخدمة. ان الفعالية المضادة للبكتيريا يمكن ان تعود الى المركبات الفينولية المعروفة بفعاليتها المضادة للبكتيريا ، حيث ان المركبات الفينولية الموجودة في الزيوت الاساسية النباتية تسبب تحطم الاغشية و الجدران الخلوية للأحياء المجهرية (Bhattacharyya and Jha , 2011) . الاختلاف في تركيب الجدار الخلوي للبكتيريا السالبة والموجبة لصبغة كرام يعود الى احتواء جدارها الخلوي على مركبات lipopolysaccharides و lipoprotein و protein-lipid ، بينما تمتاز جدران البكتيريا الموجبة لصبغة كرام بمحتواها الدهني الذي يجعلها اكثر نفاذية للمركب الفعال ولذلك تكون اكثر تأثرا من البكتيريا السالبة لصبغة كرام ، (Chandrashekhara 2010) . بصورة عامة الاختلاف في تأثير المضاد البكتيري بين البكتيريا الموجبة لصبغة كرام و البكتيريا السالبة لصبغة كرام يعود

2 hr . المستخلص النباتي يحضر منه التراكيز (75% و 50%) بالإضافة الى التركيز الاصلي (100%) ، نأخذ منه 100μ ويوضع في ثقوب الصحن المنفصلة باستخدام المايكروبيبيت. المذيب هو الـ ن- بنتان يستخدم كمسيطر (Control) ، الصفائح تغطى و توضع في حاضنة لمدة 48 hr و بدرجة حرارة $37^{\circ}C$ (Jagessar et al., 2008) .

النتائج و المناقشة :

- المستخلص النباتي :

وزن الرشاد البري المستخدم هو 24Kg ، ووزن الزيوت الاساسية المستخلصة هو 26.45g وبتطبيق المعادلة الاتية :

$$\frac{\text{النسبة المئوية للمستخلص}}{\text{وزن النبات}} = \frac{\text{وزن المستخلص}}{100\%}$$

اظهرت النتائج بان نسبة الزيوت الاساسية المستخلصة من نبات الرشاد البري هي ما يقارب 0.11% .

- السمية الخلوية:

اظهرت نتائج اختبار السمية الخلوية للزيوت الاساسية المستخلصة من نبات الرشاد البري تجاه كريات الدم الحمراء للإنسان على ان المستخلص لا يحمل اية سمية عند التراكيز (1:1 ، 10:1 ، 100:1) حجم / حجم ، وهذه النتائج تجعل هذا المستخلص امن على الانسان ، وكما في الجدول رقم (1-1) الاتي :

جدول رقم (1-1) نتائج السمية الخلوية للتركيز المحضرة من الزيت الاساسي المستخلص من نبات الرشاد البري.

تركيز الزيوت الاساسية(حجم/ حجم)	السمية تجاه R.B.C
1:1	N.T
10:1	N.T
100:1	N.T
DMSO+دم الانسان	N.T
ماء حقية + دم الانسان	T

T: Toxic

N. T : Not Toxic

حيث استخدمت كريات الدم الحمراء للكشف عن سمية الزيوت الاساسية المستخلصة لكون هذه الطريقة غير مكلفة و سهلة التطبيق و سريعة النتائج ، ويعد هذا الاختبار الخطوة الاولى التي تحدد الاستمرار او التوقف عن العمل (الحواني و اسراء ، 2005) . اذ يعتمد تحلل كريات الدم الحمراء على تركيز المادة ومدة الحضان و درجة الحرارة ، حيث ان التحطم لكريات الدم الحمراء يعود الى تحطم غشاء الكرية الحمراء بسبب الارتباط التساهمي بين المواد السامة و الجذر الحر للبروتين (SH) (Sicinska et al., 2005) .

التفاوت في تركيب الأغشية الخلوية وسمكها وحجم الخلايا الفطرية والتفاوت في سرعة النمو بين الفطريات التي تمتلك جدران سميكة تكون أكثر مقاومة لفعل المركبات الفعالة في المستخلصات لان ذلك يعرقل نفاذ هذه المركبات إلى داخل الخلايا لتؤثر عليها (lan , 1976) , كما أن الفطريات ذات الخلايا كبيرة الحجم نسبياً تكون أكثر تأثراً لفعل هذه المركبات مقارنة بالفطريات ذات الخلايا الصغيرة الحجم , ويعود السبب في ذلك إلى ازدياد المساحة المعرضة لفعل هذه المركبات في الخلايا ذات الحجم الكبير فتتأذى من خلال الغشاء الخلوي إلى الداخل لتؤثر هناك , و الفطريات بطيئة النمو تكون حساسة لفعل المركبات أكثر من تلك التي تنمو بسرعة , ويعود سبب ذلك إلى إن هذه المركبات في حالة الفطريات بطيئة النمو قد حصلت على الوقت الكافي لتكون بتماس مباشر مع الخلايا بحيث تتنافذ إلى داخلها وتؤثر على الأنزيمات الخلوية (موسى و اخرون , 1992) .الزيوت الاساسية بصورتها الخام أكثر فعالية مقارنة بعزل مركب فعال واحد من النبات نفسه وذلك لوجود خليط من المركبات الفعالة التي تتعاون فيما بينها في المستخلصات الخام لتثبيط نمو الفطريات (Gowan , 1999) , ويعزى ذلك إلى ظاهرة التآزر , أي اتحاد أكثر من مركب في التأثير بدلاً من استعمالها لوحدها (المنصور و ناصر , 2005) . ومما تقدم نلاحظ إن الزيوت الاساسية المستخلصة من نبات الرشاد البري كان اكثر كفاءة بالنسبة للفطر *A. niger* , اما الفطريات الاخرى كانت اكثر مقاومة . تعتبر النتائج المستحصلة من فعالية الزيوت الاساسية لنبات الرشاد البري كمضاد للفطريات هي نتائج ضعيفة مقارنة بالنباتات الاخرى مثل نبات اكليل الجبل الذي اظهر فعالية عالية جدا ضد الفطريات المستخدمة (العسكري و اخرون , 2007) . يعتمد الاختلاف بالتأثير على طبيعة الكائن المجهرى وتركيبه وحساسيته للمستخلصات النباتية (Cooposamy and Magwa, 2007) . ازدياد معدلات أقطار التثبيط مع زيادة التركيز قد يعود السبب في ذلك إلى زيادة تراكيز المواد الفعالة التي تؤدي دوراً هاماً في تثبيط الفطر وهذا يتفق مع ما ذكر من قبل العديد من الدراسات (Feng and Zheng , 2007) . قد تعود فعالية الزيوت الاساسية المستخلصة إلى احتوائه على بعض من المواد الفعالة ومنها المواد الفينولية حيث تقوم بالارتباط بعدد من الجزيئات الأنزيمية للجدار الخلوي بواسطة مجاميع الهيدروكسيل فيها والتي لها القدرة على تكوين أوامر هيدروجينية مع تلك المواقع وبالتالي تثبيط الفعاليات الأيضية المهمة والتي تعزى لوجود الفينولات، وكلما زاد عدد هذه المجاميع زادت فاعليتها وعملها في إيقاف عمل الأنزيمات

بصورة اساسية للاختلاف بتركيب الجدار الخلوي . يحتوي الجدار الخلوي للبكتريا الموجبة على طبقة مفردة، بينما البكتيريا السالبة يحتوي جدارها الخلوي على طبقات متعددة محددة بغشاء خلوي خارجي (Yao and Moellering , 1995) . ان نتائج الفعالية المضادة للبكتيريا للزيوت الاساسية المستخلصة من نبات الرشاد البري هي مقارنة للنتائج السابقة لكل من الزيوت الاساسية المستخلصة من الليمون و النعناع الفلفلي و الغدد الزعترية و البابونج الالاماني (Marina et al., 2010) .

جدول رقم (1-2) قطر منطقة التثبيط بال (mm) تجاه البكتيريا الموجبة و السالبة لصبغة كرام .

عزلات البكتيرية	قطر منطقة تثبيط بال (mm)					
	سلالة بكتيريا	%100	%75	%50	Ciprodar	DMSO
<i>E. coli</i>	-	15	9	7	16	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	16	15	8	21	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	20	18	15	25	-
<i>Streptococcus pyogenes</i>	+	19	17	10	22	-
<i>Enterobactersp.</i>	+	16	14	8	17	-

5- خصائص الزيوت الاساسية كمضاد للفطريات :

نلاحظ ان قطر منطقة التثبيط يزداد بزيادة تركيز الزيوت الاساسية المستخلصة من النبات كما هو موضح في الجدول رقم (1-3) الذي يبين قطر منطقة التثبيط بال mm للفطريات ، بالنسبة للفطر *Aspergillus niger* حيث كان نطاق التثبيط بال mm هو (8 , 11 , 12) للتركيز المحضرة من المستخلص (100% , 75% , 50%) على التوالي ، الطريقة المستخدمة هي طريقة Agar disc diffusion . اما الفطر *Aspergillus flavus* كان قطر منطقة التثبيط للتركيز 100% هو 8 mm اما التركيزين 75% و 50% لم يلاحظ لهما فعالية على الفطر . الفطر *Candida albicans* لم يتأثر ايضا بالتركيز المحضرة من المستخلص ، كذلك الفطر *Aspergillus terres* لم يظهر مقاومة ضد المستخلص النباتي عند التركيزين 75% و 50% لكن عند التركيز 100% كان قطر منطقة التثبيط هو 8mm . كذلك هناك دراسات تشير الى ان الزيوت الاساسية (بالاعتماد على مكوناتها الكيميائية) ذات فعالية مضادة للفطريات (عباس ، 2010) . يعود الاختلاف في معدلات التثبيط إلى طبيعة الفطر نفسه بسبب

تأثير بعض العوامل في نمو تلك الفطريات . بكالوريوس علوم الحياة /كلية التربية ، جامعة ذي قار .
علي, أنور الحاج و يازجي صباح (2010) . تأثير مكونات زيت القرفة المستخلص في تثبيط الفطريات المعزولة من جين القشقوان , مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية . 2(26) : 287-300
المنصور , ناصر عبد علي (2005) . تأثير مستخلصات مختلفة من نبات قرن الغزال (*matyhiaceae*) (*Ibicella*) , *lutea* في الأداء الحياتي للذبابة البيضاء (*Bemisia*) , (*Cenn*)*tobaci* أطروحة دكتوراه , كلية العلوم , جامعة البصرة.

موسى و طارق ناصر و محمد و سالم حسين (1992) . دراسة الفعل التثبيطي لمستخلص الحرمل على بعض الجراثيم المرضية ومحتوى لحم البقر المفروم من الإحياء المجهرية . مجلة البصرة للعلوم الزراعية ، 5(2) : 189-195 .
هالة مؤيد و ثريا عبد الحسين و رغد عبد اللطيف (2011). تأثير الزيت الطيار المستخلص من اوراق نبات اليوكالبتوس في بعض انواع البكتيريا السالبة لصبغة كرام ، مجلة علوم المستنصرية ، المجلد 22 ، العدد 4 .

المصادر الانجليزية :

- Akgul , C . , and Gulshen , S . (2005) . Antibacterial activity of crude methanolic extract and its fractions of aerial parts of *Anthemis tinctoria*. *Indian Journal of Biotechnology and Biophysics*. 42: 395-397.
Amarti , F . , Satrani , B . , Aafi , M . Ghanmi , A . , Farah , A . , Abechane , M . , El ajjouri , M . , El Antry , S . , Chaouch , A . (2008) . Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Thymus bleicherianus* du moroc. *phytothérapie*, 6, 342-347.
Baser, K.H.C and Demirci, F. (2007). *Chemistry of essential oils*. In: Berger RG (ed) *Flavours and fragrances chemistry, bioprocessing and sustainability*. Springer, Berlin, pp 43-86.
Bhattacharyya , P . N . and Jha , D . K . (2011) . Optimization of cultural conditions affecting growth and improved bioactive metabolite production by a subsurface *aspergillus* strain tsf 146 , *International Journal of Applied*

الحاوية على مجموعة SH- إذ تقترن معها وبذلك تتغير حجوم هذه الأنزيمات, وكذلك تتغير خواصها وبالتالي لا تكون فعالة فتؤدي إلى توقف مسارات معينة في الخلية والتي تؤدي إلى إيقاف تصنيع البروتينات المختلفة و إيقاف نموها أو موتها (Mason and Wasserman , 1987) . كما تؤثر الفينولات على الفطريات من خلال قدرتها على الاتحاد مع بروتين الخلية ومن ثم ترسيبه وتغير من طبيعته , فضلاً عن أنها تعمل كمذيب للمواد الدهنية وبالتالي تعمل على تحليل أغشية الخلايا الفطرية , فيحدث موت هذه الخلايا نتيجة خروج المكونات الخلوية لخارج الخلية (Coopposamy . (2007 and Magwa , (2007) . الجدول رقم (1-3) يبين التثبيط قطر منطقة التثبيط بال(mm)) تجاه البكتيريا الموجبة و السالبة لصبغة غرام .

جدول رقم (1-3) قطر منطقة التثبيط بال(mm) تجاه البكتيريا الموجبة و السالبة لصبغة كرام .

اسم الفطر	قطر منطقة التثبيط بال (mm)				
	%100	%75	%50	H ₂ O	n-pentane
<i>A.niger</i>	12	11	8	-	-
<i>A.terrus</i>	8	-	-	-	-
<i>A. flavus</i>	8	-	-	-	-
<i>C.albicans</i>	-	-	-	-	-

المصادر العربية :

- الحواني و اسراء علي عبد الحسن (2005) . دراسة بيولوجية لتقييم مركب Oxadizolidin المحضر مخبرياً و استخدامه للقضاء على الجراثيم المقاومة للمضادات الحيوية . رسالة ماجستير ، كلية العلوم ، جامعة البصرة.
عباس فارس عباس (2010). تأثير الزيت الطيار لنباتي القرنفل و اليوكالبتوس ضد بعض انواع الفطر *Alternaria* و المعزولة من جذور نبات اللهانة . مجلة ابحاث البصرة (العلميات) ، العدد 36 ، الجزء (6) B.
العسكري سوزان خالد كاظم وعباس ياس خضيرة و مشهد محمد حسين (2007) . عزل وتشخيص الفطريات الجلدية من المرضى المصابين بداء السعفة في محافظة ذي قار ودراسة

antibacterial triterpenoid from *Combretum Padoides*. 113-120.

Kaloustian J . , Chevalier J . , Martino C . , Abou L . and Vergnes , M . F . (2008) . Etude de six huiles essentielles: composition chimique et activité antibactérienne. *phytothérapie*, 6,160-164.

Kulisica , T . , Radonicb , A . , Katalinic , V . , Milosa , M . (2004) . Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil, *Food Chemistry* 85 : 633–640

Litchenthaler, H.K. (1999). The 1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate pathway of isoprenoid biosynthesis in plants. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* 50:47–65.

Marina Soković , Jasmina Glamočlija , Petar D . Marin , Dejan Brkić and Leo J . L . D . (2010) . Antibacterial Effects of the Essential Oils of Commonly Consumed Medicinal Herbs Using an In Vitro Model., 15, 7532-7546; DOI: 10.3390 / molecules15117532.

Mason , T . L . and Wasserman , B . P. (1987). Inactivation of red beet betaglucan synthase by native and oxidized phenolic compound. 26: 2197 – 2202.

Muhammad , R . , Nasir , R . , Iftikhar H . B . , Muhammad S . , Muhammad Z . , Komal R . and Umer R . (2012) . In Vitro Antimicrobial, Antioxidant, Cytotoxicity and GC-MS Analysis of *Mazus goodenifolius* , 17, 14275-14287; doi:10.3390/ molecules171214275.

Rubin , M . (2004). Guide pratique de phytothérapie et d'aromathérapie. Ellipses Edition Marketing S.A.

Sarikami, G. and Yanmaz, R. (2011). Effect of cultivar and developmental stage on glucosinolates in garden cress (*Lepidium sativum l.*) .*J. of Medicinal plants research*, 5(17) : 4388-4392 .

Sell, C. (2010). Chap. 5—The chemistry of essential oils. In: Baser CKH, Buchbauer G (eds) *Handbook of essential oils: science, technology, and applications*. CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton, pp 121–150.

Sicinska , P . , Bukowska , B . , Michalowic , J . and Duda , W . (2005) . Damage of cell membrane and oxidative system in human erythrocytes incubated with microcystin- L R In vitro. *Toxico.*, 47 (4): 187 – 197.

Biology and Pharmaceutical Technology ,2:133-143.

Bhengraj , A . R . , Dar , S . A . , Talwar , G . P. and Mittal , A . (2008) . Potential of a novel polyherbal formulation BASANT for prevention of Chlamydia trachomatis infection. *Int. J. Antimicrob Agents*. 32: 84–88.

Bouaoun , D . , Hilan , C . , Garabeth , F . and Sfeir , R . (2007) . Etude de l'activité antimicrobienne de huile essentielle d'une plante sauvage *Prangos asperula* Boiss. *phytothérapie*, 5, 129-134.

Chandrashekhara , S . (2010) . Isolation and characterization of anti-biotic production from soil isolates by fermentation . Ph.D. thesis , Vinayaka Missions University ,India.

Cooposamy , R . M . and Magwa , M . L. (2007) . Traditional use antibacterial activity and antifungal of crude extract of *Aloe excels* . *African J. Biotechnol.*, 6(20): 2406-2410 .

De Billerberck , V . G . (2007) . Huiles essentielles et bactéries résistantes aux antibiotiques. *Phytothérapie*, 5, 249-253.

Dewick, P.M. (2002). Chap. 4—The shikimate pathway: aromatic amino acids and phenylpropanoids. In: *Medicinal natural products: a biosynthetic approach*, 2nd edn. Wiley, United Kingdom, pp 121–164.

Doughari , J . , and Manzara , S . (2008) . In vitro antibacterial activity of crude leaf extracts of *Mangifera indica* Linn. *African Journal of Microbiology Research*. 2: 67–72.

Feng , W . and Zheng , X . , (2007) . Essential oils to control *Alternaria alternaria* in vitro and in vivo , *Food control* . 1118 -1126.

Gowan , M . M . (1999) . Plant products as antimicrobial agents .*Clin, Microbial . Rev* .12 (4) : 564-582.

Ian , W. D. and Ian , W . S . (1976) . *Microbial Physiology* .Black well Scientific Publication . London ; pp :12-18.

Jagessar , R . C . , Mars , A . and Gomes , G . (2008) . Selective Antimicrobial properties of *Phyllanthus acidus* leaf extract against *Candida albicans*, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* using Stokes Disc diffusion, Well diffusion, Streak plate and a dilution method .6(2): 1545-0740.

Jeremiah , E . Angeh , Xueshi Huang , Gerry, E . Awan , Ute Mollman Isabel Sattler and Jacobus , N . Eloff . (2007) . Novel

- Townsend, C.C. and Guest, E. (1980).** Flora of Iraq. Minis. Agricu. Iraq, 4: 2. 886.
- Virendra , P . S . , (2006) .** Extraction of essention oil and its application . Department of Chemical Engineering, National Institute of Technology,Rourkela-769008,Orissa, 24-25.
- Xian-gno , H . and Ursella , M . (1994) .** Antifungal compounds from saloum nigrescence.J.Ethno-pharm.,43:173-177.
- Yao , J . and Moellering , R . (1995).** Antibacterial agents. In P. R Murray, E. J. Baron, M. A. Pfaller, F. C. Tenover, & R. H. Yolken (Eds Manual of clinical microbiology) (6th ed.). (pp. 1281-1290) Washington, DC: ASM Press.
- Zhao , J . and Agboola , S . (2007).** “Functional properties of Australian Bush Foods A-report for the rural Industries Research and Development corporation RI RDC publication. No. 07/030 .