وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جـامـعـــة القـادسيـــة
كـلـيــة التربية/قسم علوم الحياة
المرحلة الرابعة/ الدراسات المسائية

القدرة التثبيطية لمستخلص نبات الكراث ضد بعض أنواع البكتريا المرضية

بحث تقدمة به

الطالبة **تبارك محمد مرزة**

الى مجلس كلية التربية / قسم علوم الحياة
كجزء من متطلبات نيل درجة البكالوريوس في قسم علوم الحياة

بإشراف الدكتورة

رفا صالح الطويل

1440هـ 2019م

وَلَوْ يُؤَاخِذُ ٱللَّهُ ٱلنَّاسَ بِمَا كَسَبُوا۟ مَا تَرَكَ عَلَىٰ
ظَهْرِهَا مِن دَآبَّةٍ وَلَٰكِن يُؤَخِّرُهُمْ إِلَىٰٓ أَجَلٍ مُّسَمًّى ۖ فَإِذَا
جَآءَ أَجَلُهُمْ فَإِنَّ ٱللَّهَ كَانَ بِعِبَادِهِۦ بَصِيرًۢا ﴿٤٥﴾

صدق الله العلي العظيم

الإهداء

يا من لا يطيب النهار ألا بطاعتك ولا يطيب الليل الا بذكرك ولا تطيب الآخره

الا بعفوك ولا تطيب الجنة الا برؤيتك ﴿ الله جل جلاله ﴾

والى من بلغ الرسالة وادى الأمانة ونصح العالم الى نبي الرحمة ونور العالمين ﴿ سيدنا

محمد صلى الله عليه واله وسلم ﴾

الى حبيبتي وفقيدتي ومن كانت امنيتها ان اصبح في هذا المجال والتي كانت سر

وجودي وابتسامتي والى من علمتني معنى الحب والحنان والرحمه ﴿ امي رحمها الله ﴾

الى من كلله الله بالهيبه والوقار الى من علمني العطاء بدون انتظار الى من احمل اسمه

بكل افتخار وستبقى كلماتك في ذهني اليوم وفي الغد والى الابد بها اهتدي

﴿ والدي العزيز ﴾

الى من ارى التفاؤل بعينهم والسعاده فيهم اخواني الاعزاء

الى من شاركني وساعدني في تقديم البحث الدكتوره رنا صالح الطويل

لا بد لنا ونحن نسير مسيرتنا الأخيرة في الحياة الجامعية من وقفة تعود الى سنين قضيناها في رحاب ألجامعه مع أساتذتنا المحترمين الذين قدموا لنا الكثير ساعين وباذلين جهودا كبيره في بناء جيل الغد لبعث الأمة من جديد . . . . . .

وقبل أن نمضي نقدم أسمى آيات الشكر والامتنان والتقدير والمحبة والاعتزاز الى الذين حملوا أقدس رسالة في الحياة . . . . . .

الى الذين أمهدوا لنا الطريق العلم والمعرفة . . . . .

الى جميع أساتذتنا الأفاضل في كلية التربية ـــ قسم علوم الحياة

وأخص بالتقدير والشكر ألدكتوره رنا صالح الطويل

الخلاصة

صممت الدراسة لتقييم التأثير ضد البكتيري للمستخلص المائي و الكحولي لنبات الكراث على بعض البكتريا ألمرضية التي تم عزلها من الديوانية.

تم تحضير المستخلص المائي لنبات الكراث ودراسة تأثيرها في نمو اربع عزلات بكتيرية

(Staphylococcus aureus ,Proteus vulgaris ,Pseudomonas aeruginosa ,Streptococcus pneumoni)

بأستخدام طريقة الأنتشار عبر الوسط الزرعي. أظهرت النتائج بأن المستخلص المائي لنبات الكراث يمتلك فعالية ضد مايكروبية ضد البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة كرام.

ولقد اظهرت الانواع البكتيرية المستخدمة في الدراسة حساسية تجاه كلا من المستخلص الكحولي والأيثانولي لنبات الكراث ماعدا النوع klebsiella pneumonia ولوحظ ان المستخلص الكحولي يعمل بشكل افضل من المائي كعامل له فعل تضادي تجاه البكتريا.

ووفقا للنتائج فأن تأثير مستخلص نبات الكراث الكحولي والمائي كان فعالا اكثر مع النوع Staphylococcus aureus وجاءت نتائج هذه الدراسة متوافقة مع النتائج التي توصل اليها (Tawfeeq ,Akrayi (2012 بالنسبة للمستخلصين المائي والكحولي في نبات الكراث.

المقدمة

عرف الأنسان الحديث امراضا لم تكن معروفة من قبل ولم يستطيع القضاء على العديد منها, ولعل سبب ذلك يعود الى الاستعمال العشوائي للأدوية . كما أن بعض هذه الأدوية تعمل في بعض الأحيان على اختفاء اعراض المرض ليبقى المرض كامنا واحتمال تحوله الى الحالة المزمنة فضلا عن بعض الأدوية يؤثر سلباً على مناعة الجسم في مقاومته للأمراض الأخرى...

أن كثره الاخطار والاثار الجانبية الناجمة عن استخدام الادوية والمواد المصنعه جعل المؤتمرات الطبية والصيدلانية والغذائية تنادي بضرورة الحد من تناول هذه المواد والعودة الى المواد الطبيعية لتصبح مصدرا هاما لصناعة العقاقير.

ان من مزايا العلاج بالمستخلصات النباتيه للتقليل من التأثيرات الجانبية التي غالبا ما تصاحب المركبات الدوائية الصناعية ولعل السبب في هذا يعود الى التراكيز القليلة للمواد الفعالة الموجودة في النباتات والتي يتقبلها النبات جسم النبات بصورة طبيعية ولهذا السبب فأن النباتات الطبية تتميز بقدرة اكبر من الأدوية المركبة في معالجة الكثير من الأمراض المستعصية.

تلعب النباتات الطبية دورا هاما وكبيرا في خدمة الأنسان وذلك لكونها مصدرا مهما للعديد من الأدوية والمستحضرات الطبية كما تكمن الفائدة الطبية لهذه النباتات في قابليتها على انتاج العديد من المركبات العضوية ذات الخصائص الصيدلانية والتي تدخل كمادة اولية أو عوامل مساعدة في صناعية الأدوية..

ولقد استخدمت النباتات الطبية بشكل تجاري لأغراض علاجية وكان استخدامها قائما على أساس التجربة او الخبرة السابقة .اما في الوقت الحاضر وبعد التعرف الدقيق على المكونات الفعالة لكل نبات وتشخيصها وعزلها وتقييم تأثيرتها الطبية فقد تم وضع قواعد علمية لأستخدام النباتات الطبية لأغراض العلاج (Taylor. et al. 1988) استعملت النباتات الطبية قديما في علاج امراض الجهاز التناسلي الذكري فكان بعضا منها يزيد الرغبة الجنسية ومن بين تلك النباتات [الثوم-البصل-الكراث.....الخ] ومن النباتات الطبية التي سوف نتاولها في هذا البحث هو

الكراث .Allium porrum Leek من محاصيل الخضر العائدة للعائلة النرجسية Amaryllidaceae تحتوي هذه العائلة على اكثر من 90 جنسا نباتيا.ويتعبها حوالي 1200 نوعا .. يعتقد ان موطنه الأصلي هو حوض البحر الأبيض المتوسط اذ ينمو بريا في الجزائر.ويمتاز الكراث بقيمته الغذائية اذ يحتوي على الكربوهيدرات والبروتينات والزيوت والاملاح المعدنية ويحتوي على الزيوت الطيارة التي يعزى اليها طعمه ورائحته

التصنيف النباتي

Kingdom : Plantae

Subkingdom : Tracheobionta

Superdivision : Speruatophyta

Division : Magnoliophyta

Phylum : Angiospermea

Order : Asparagales

Family : Alliaceae

Tribe : Allieae

Genus : Allium porrum L.

تختلف اصناف نبات الكراث فيما بينها في الصفات المورفولوجية ومعظم هذه الاصناف تسمى تبعا لأسم منشأها الأصلي فقد ذكر(McCollum et. al. 1976)) بأن اصناف نبات الكراث تختلف فيما بينها بشكل رئيسي من حيث الطول والقطر والمساحة الورقية واللون ونصل الورقة. ويمتاز الصنف المحلي [الصنف الشائع في العراق] تكون اوراقه طويلة وعريضة وطعمه مقبول وهو صنف مبكر ويمكن حصاده بعد 3-4 اشهر من الزراعه

استعمل عند العرب القدماء بوصفه منشطا جنسيا (عقيل, 2003) ويعد الكراث من النباتات الطبية المهمة نظرا لأحتواءه على الكثير من العناصر الغذائية كالفيتامينات,الأملاح المعدنية والكاربوهيدرات

حيث قال عنه ابن البيطار في كتابه {الجامع لمفردات الأدوية والأغذية} أن الكراث أذا أكل طبيخه نفع من البواسير واذا خلط بالعسل ولعق كان صالحا لكل وجع يعرض في الصدر وقرحة الرئة واذا أكل نقى االقصبة الهوائية وماؤه اذا خلط باللكندر واللين او دهن الورد وقطر في الأذن نفع من وجعها ومن الدوي العارض فيها واذا تضمد به مع السماق قطع الثاليل واذا تضمد به مع الملح قلع خبث القروح.

المواد وطرق العمل:-

1-المواد:

جمع النبات وتصنيفه

جمع نبات الكراث من الأسواق المحلية في مدينة الديوانية وصنف النبات وبالأعتماد على مصادر تصنيف النبات قمت بتنظيف أوراق نبات الكراث مما علق فيها من تراب و اوساخ, وحفظت في ظروف خالية من الرطوبه ونشر على قطعه من القماش او مغلف ورقي وجفف في الظل بدرجه حراره الغرفه او تعريضه قليلا لأشعه الشمس وبوجود تيار هوائي مناسب واجريت عليه عملية التقليب لمنع حصول العفن.

.

العزلات البكتيرية:-

جميع العزلات البكتيرية المستخدمة مأخوذة من عينات سريرية وشملنا الانواع :

- Escheria coli
- Klebsiella pneumonia
- Staphylococcus aureus
- Setreptococcus pneumoni
- Proteus vulgaris

2- الأدوات:

1- 15 غم من الكراث المجفف
2- ايثانول 100%

3- DMSO 100%
4- اطباق بتري
5- Urine cup
6- ماء مثلج
7- اوراق ترشيح Filter paper
8- جهاز السكسوليت

(جهاز الأستخلاص الستروسكسوليت)

3-طرق العمل

تحضير المستخلصات المائية

حضر المستخلص بالاعتماد على طريقة 15حيث مزجت 40غم من كل من ثمرة الشفلح و أوراق الشفلح مع 160سم 3من الماء المقطر بنسبه 4:1 داخل حمام ثلجي وحرك بعدها وزن حجم ثم سحق النموذج بأستخدام جهاز السحق داخل حمام ثلجي وحرك بعدها المزيج بواسطة المحرك الكهربائي لمده (60) دقيقة وذلك لتفجير جدران الخلايا النباتية ثم ترك المزيج في الثلاجة

لمده(24) ساعة لغرض النقع, رشح بعد ذلك خلال عدة طبقات من الشاش ثم اجري الطرد المركزي المبرد بسرعة 2000دورة|دقيقة لمدة 15دقيقة ,واخذ الراشح الذي يعد المستخلص النباتي الناتج بالتبريد تحت ضغط مخلخل بجهاز

التجفيد Lyophilizer

حفظت العينات بعد جفافها في قناني زجاجية ذات غطاء محكم وفي ظروف خالية من الرطوبة ثم حفظت بالتجميد لحين استخدامها في البحث وتحضير المستخلص للعمل أذيب غرام واحد من المستخلص النباتي الجاف والمحضر سابقا في(2سم^3) ,(2.5^{3سم}) ,(5سم^3) من الماء المقطر,لتحضير المستخلص بتركيز (100_75_50_25_12.5%)ملغم\سم على التوالي ,ثم عقمت هذه المستخلصات بأستخدام المرشحات الغشائية بقطر0.45مايكرون لمنع مرور البكتريا من خلاله.

تحضير المستخلصات الكحولية

حضر المستخلص الكحولي لأوراق الكراث حسب ماجاء في (17,16) وذلك بمزج 50غم من النموذج مع 250 سم2من كحول الأيثانول 95% واتبعت نفس الخطوات السابقة , وتم التخلص من المذيب باستخدام جهاز الدوار (Rotary Vaccune vaporationi) , حيث أن الجهاز يعمل على اساس التبخير تحت ضغط مخلخل ودرجة حرارة لا تزيد عن 40 وبعد تبخير جميع الايثانولالموجود في المزيج لوحظ تكون طبقة سميكة من المستخلص الذي جفف بالتبريد تحت ضغط مخلخل بجهاز التجفيد وحفظت النماذج بالتجميد في قناني زجاجية ذات غطاء محكم لحين استخدامها في تحضير المسستخلص الكحولي للنبات وذلك بوزن 1غم واحد من المستخلص وأذابته في (2 سم^3),(2,5سم^3),(5سم^3) من ماء Dimethyl (DMSO) Sulfoxide للحصول على التراكيز(100_75_50_25_12.5) ملغم/سم3 على التوالي ثم عقم بطريقة البسترة بدرجة 62 لمدة 15دقيقة.

اختبار الفعالية التثبيطية لمستخلصات النبات والمضادات الحيوية

اختبرت الفعالية التثبيطية للمستخلصات المائية والكحولية لنبات الكراث على نمو البكتريا قيد الدراسة باستخدام طريقة اختبار الحساسية (طريقه الانتشار بالأقراص) وبالاعتماد على طريقة Bauer وجماعته سنه 1996حيث حضر المعلق البكتيري في وسط المرق المغذي وبتركيز 10خليه\سم ^{2} وذلك بالمقارنة مع انبوب السيطره القياسي رقم واحد,نقل 0.1 سم^3 من المعلق البكتيري ولقح باستخدام ماسحة قطنية معقمة على وسط أكار ثم حضنت الأطباق بدرجه حرارة 37 لمده 30 دقيقة لكي يحصل التشرب. بعد ذلك وضعت اقراص من ورقة الترشيح بقطر 6 ملم مشبعة بالتركيز (500-400-200)ملغم\سم^3 من المستخلص النباتي من خلال غمرها بالمستخلص وثبتت الأقراص بواسطة ملقط معقم على سطح الأطباق الملقحة وحضنت بدرجة حرارة 37 لمدة 24 ساعة وبعد انتهاء مدة التحضين تم قياس اقطار التثبيط حول القرص المشبع بالمستخلصات النباتية.

النتائج والمناقشة:

أظهرت جميع الأنواع البكتيرية المستخدمة في الدراسة حساسية تجاه كلا من المستخلص الكحولي والمستخلص الأيثانولي لنبات الكراث ماعدا النوع K.pneumoniae

وقد لوحظ ان المستخلص الكحولي يعمل بشكل افضل من المستخلص المائي كعامل له فعل تضادي تجاه البكتريا (جدول 1,2)

وهذا قد يعزى الى الاختلاف في فعالية المركبات الفعالة للنبات عندما تستخلص بمذيبات مختلفة (cowan,1999).

أبدت البكتريا K.pneumoniae مقاومة ضد المستخلصين, وقد لوحظ هذا في دراسة أخرى كذلك (Akroum,2009) أذ وجد أنها مقاومة لجميع المستخلصات بما فيها مستخلص A.porrum قد يعود ذلك الى وجود المحفظة Capsule في تركيب K.pneumoniae التي تحميها من تأثير المستخلص النباتي أو بمعنى تمنع دخول هذه المستخلصات الى داخل الخلية.

جدول (1) الفعالية التضادية للمستخلص الكحولي لنبات Allium porrum

تركيز المستخلص النباتي	**قطر منطقة التثبيط بالملم**			
	Klebsiiella pneumonia	Proteus sp.	Pseudomona aeruginosa	Staphyllococcus aureus
100%	_	_	15.5	17
75%	_	_	12	13
50%	_	_	10	_
25%	_	_	_	_
12.5%	_	_	_	_
LSD	**غير معنوي**	**غير معنوي**	**3.88**	**8.10**

تركيز المستخلص النباتي	قطر منطقة التثبيط بالملم			
	Klebsiella pneumoniae	Proteus sp.	Pseudomonas aureuginosa	Staphylococcus aureus
100%	_	10	15	17
75%	_	_	13	15
50%	_	_	_	_
25%	_	_	_	_
12.5%	_	_	_	_
LSD	**غير معنوي**	**غير معنوي**	**3.65**	**3.65**

جدول (2)الفعالية التضادية للمستخلص المائي لنبات الكراث .Allium porrum

وفقا للنتائج اعلاه فأن تأثير مستخلص نبات الكراث الكحولي والمائي كان فعالا اكثر مع النوع S.aureus هي بكتريا موجبة لصبغة كرام وهذه النتيجة مشابهة لما توصل له (Hadi , Naem (2012 اذ اظهر المستخلص المائي للنبات فعالية عالية اتجاه انواعا من البكتريا الموجبة لصبغة كرام ومنها المكورات الذهبية اضافة الى المسبحيات الرئوية وعصيات Bacillus مقارنة بفعاليته ضد البكتريا السالبة لصبغة كرام .

جاءت نتائج هذه الدراسة متوافقة مع النتائج التي توصل لها (Tawfeeq, Akrayi (2012) بالنسبة للمستخلصين المائي والكحولي في نبات الكراث .

في دراسة اجراها (Radovanovic. et. al. (2015 تراوح التركيز المثبط الادنى لمستخلص اوراق نبات الكراث بين 39.10 و 312.50 مايكروغرام / مل اتجاه ثمانية انواع من المايكروبات (بكتريا وفطريات)

المصادر

1 – Radovanovic B, et al.(2015) phenolic Compositiom ,Antioxidant , Antimicrobial and cytotoxic Activites of Allium porrum L.(Serbia) Extracts. JFNR 3(9) : 564-9

2- Akrayi H and Tawfeeq J (2012). Antibacterial activity of Lepidium satvium and Allium porrum extracts and juices against some gram positive and gram negative bacteria. MJIWAS,20(1): 10-6

3- Naem R.and Hadi N (2012) .The antimicrobial activity of Allium porrum water extaract against some pathogenic bacteria . JKU,10(2) :45-9.

4- Cowan m. (1999) .plant products as antimicrobial agents.ASM, 12(4) :564-82.

5-AKroum S.(2009) Antimicrobial , Antioxidant ,cytotoxic activities and phytochemical screemingnof some Algerian plants . EJSR ,31(2) : 289-95

6 -*عقيل ,محسن (2003). التداوي بالاعشاب. الطبعة الثانية منشورات ذوي القربى

7 - McCollum,G.D .1976 . Onions and Allies.(In: N.W.Simmonds (ed) .Evolution of Crop plants .Longman ,London .England ,PP:186—(90)

8 -Tylor V.E and Brady L.R. and Robbers J.E. (1998) pharmacognosy . 3rd ed . Le and Febier. Philadelphia p:175 .

9 – Sama, W. and Ajaiyeoba, E. O. (2006) Phytochemical and Antimicrobial studes of Capparis thonningii andcapparis tomemtoosa .Journal. 2(6): 119-122.

10 - Baily, L.H.(1977) . manual of cultivated plants . 16th ed, vol .1,2 and 3 macmilian Berut , Lebanon.

11 – Issa, A.(1981) Diction are dose Nomes Does Des Plant" . Dar al- Raed Al arabi Beirut , Lebnon.

12 - Benson , H.J, (2002) . Microbological Application' 8th ed . Mcgraw – Hill companies , U.S.A.
13 - prescotte . L.M. Harely. T.p. and kiln D.A. (2002) Micropilogy "4th ed.Mc Graw-Hill Companies .Inc U.S.A.
14 - Vandeepet, Engback. K : K:Piot, p. and Heuk , C (2003) Basic Iobamtmer in clenmel.
15 - Riose, j.L : Racio, M.C and Villar, A. (1987)Actimicrobial activety of selected plants employed in the Spanish Mediterranean area .j. Ethnophharmacol. 21: 139-152.
16 - Admi, p.o. (2006) Antimicrobial activity of some medical plant extracts in alestene park. J . med. Sci., 21(2) : 187 – 193.
17 -El-stal, A.y, A, Ashour, A, .and Kerrit, A,A,M. (2005) Antimicrobial Activity.
18 Shareef , A, Y, (1998). The molecular effect of some plant extract on the growth and metabolism of some gram positive and gram negative bacteria. Ph.D.Thesis Coll ,Sci,Univ Mosul,Iraq.
19 Farag,R.S. Daw,Z , Y. Hewedi F M and El-Baroty, G.S. (1989).Antimicroial Activity of some Egyption spice essential oils.food prot , 52(9):665-669.
20 - Bauer,A.W. Kerbay,W.A.M.Shers j, s , and turk. M, (1966) Antibiotioc susceptibility testing by a standard single dise method, Am.j. Clin. Pathod , 45:493-496.
21 Pyun ,M.s.and shen ,s. (2006) Antifunagl effectis of the Volatile oils from Allium plants against ,Trichophyton spices and synergism of the oils with keto Conazola phyto medicine 13:394-400.
22 Bonjer, S(2004) Evalution of antibacterial properties of some medicinal plant used in iran j.E.P.94:301-305.
23 Parkh, j. and Chanda, S, (2007) . in vitro Screening of antibacterial activity of aqueous and alcoholice extract of various Indian plant spicies agant selectfd pathogens from Enterbacteriaceae Afr.g.Microiol.Res, 1 (6) : 92 – 99.