وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جـــــامـــعـــة ديـــــالـــى
كلية التربية للعلوم الصرفة
قـسـم عـلـوم الـحـيـــــاة

القدرة التثبيطية لمستخلصات بذور بعض نباتات العائلة الصليبية على نمو بعض العزلات البكتيرية الممرضة

رسالة مقدمة إلى

مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة – جامعة ديالى وهي جزء من
متطلبات نيل شهادة الماجستير في علوم الحياة

من قبل الطالبة

أفنان عصام عدنان

بكالوريوس علوم حياة / كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة ديالى 2020

إشراف

أ.د. وسام مالك داود

1445 هـ

2024 م

Ministry of Higher Education and
Scientific Research
University of Diyala
College of Education for Pure
Science
Department of Biology

Inhibitory ability of seed extracts of some cruciferous plants on the growth of some pathogenic bacterial isolates

A thesis submitted to The council of College of Education for Pure Science/ University of Diyala as a Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master in Biology

By

Afnan Esam Adnan

Bachelor of Biology / College of Education for Pure Sciences / University of Diyala 2020

Supervisor

Prof. Wisam Malek Dawood

2024 A.C 1445 A.H

الخلاصة

أجريت هذه الدراسة لمعرفة التراكيز المتزايدة (100،150،200)% من المستخلصات المائية (الحار) والكحولية (الكلوروفورم،الاسيتون) لبذور نباتات الفجل *Raphanus sativus* L. والرشاد *Lepidium sativum* L. والجرجير *Eruca sativa* L. على نمو عزلتين من البكتريا *Staphylococcus aureus* و *Escherichia coli* وبثلاث مكررات وضمن التصميم العشوائي الكامل .

أظهرت الكشوفات الكيميائية للمستخلصات النباتية اعلاه على وجود تفاوت في وجود المركبات الفعالة (الفلافونويدات والكلايكوسيدات والصابونيات والراتنجات والفينولات والقلويدات والتانينات والزيوت الطيارة) اعتماداً على طريقة الاستخلاص .

أظهر تحليل الـGC-Mass أن المستخلص المائي والكحولي لنبات الفجل يحتوي على (162،170،175) مركب بالتتابع ، أبرزها مركب Octadecadienoic acid methyl ester ، بينما المستخلص والكحولي لنبات الرشاد (173،171،176) مركب بالتتابع ، ونبات الجرجير (176،171،176) مركب بالتتابع ، ابرزها مركب (E)9- Octadecadienoic acid ethyl ester .

أظهرت دراسة تأثير فعالية المستخلصات النباتية اعلاه أن تركيز 200% كان اكثر تأثيراً على نمو العزلتين المدروسة اعلاه عن بقية التراكيز الاخرى ، بينما ظهر المستخلص الكحولي (الكلوروفورم) لنبات الرشاد اكثر تأثيراً على نمو العزلتين من البكتريا ، يليه نبات الجرجير وأخيراً نبات الفجل ، كذلك أكدت النتائج أن بكتريا *E.coli* اكثر تأثراً بالمستخلصات النباتية المدروسة على بكتريا *S.aureus* .

بينت نتائج التداخل الثنائي أن التداخلات (مستخلص نبات الرشاد بتركيز 200%) و(مستخلص نبات الرشاد بطريقة الكلوروفورم) و(طريقة الاستخلاص بتركيز 200%) تفوقاً معنوياً عن بقية التداخلات الاخرى،

1-المقدمة: Introduction

تُعد النباتات منذ بدء الخليقة مصدرًا أساسيًا للأدوية، لأحتوائها على العديد من المركبات الفعالة ضد الأمراض، ومنها النباتات الطبية ومركباتها الفعالة المصدر الأساسي في الاستخدامات الطبية والغذائية، فهي تدخل في صناعة العقاقير الطبية التي تستخدم في علاج الكثير من الأمراض، فالنباتات الطبية تتلقى عناية كبيرة في العديد من دول العالم (محمود، 2008).

إنَّ للنباتات القدرة على تصنيع المركبات كنواتج أيضية ثانوية تتواجد في البذور والأوراق و الجذور والازهار وكذلك في الثمار، و منها نباتات العائلة الصليبية التي تعرف باسم Brassicaceae إذ تعد هذه العائلة من العوائل الكبيرة المنتشرة في انحاء العالم و تضم حوالي 350 جنس و 2500 نوع والتي تمتاز باحتوائها على مركبات فعالة منها القلويدات والراتنجات والفينولات والفلافونويدات والصابونيات والكلايكوسيدات والزيوت الطيارة , و لهذه المركبات أهمية كبيرة من الناحية الطبية (القيسي، 2004). استعمل كل من نبات الرشاد *Lepidium sativum* L. و نبات الفجل *Raphanus sativus* L. ونبات الجرجير *Eruca sativa* L. بصورة شائعة في وجبات الطعام والطب الشعبي بوصفها تضيف نكهة ورائحة للأطعمة فضلاً عن وصفها مواداً ذات قيمة طبية (Abdel Gadir وآخرون ،2007) .

إذ تحتوي على أنواع كثيرة من المواد الكيمائية ذات الخصائص العلاجية المهمة التي يمكن الاستفادة منها للعلاج و التداوي في وصفات الطب البديل(الشعبي) كمسكن لآلام المفاصل والتخفيف من أمراض الجهاز التنفسي والسعال ونزلات البرد ومنظم لارتفاع ضغط الدم و علاج امراض إلتهاب الجلد وتحسين وظائف الكبد ومعالجة مشاكل سوء الهضم, وغيرها من الأمراض (Mazokopakis وآخرون، 2007). إن استخدام النباتات الطبية التي تحتوي على مادة فعالة أو أكثر لها تأثير وظيفي (فسيولوجي) على جسم الكائن الحي

ويمكن تقسيمها على عدة مجموعات تبعاً لنوع المادة الفعالة بها إلى نباتات تحتوي على قلويدات ونباتات تحتوي على جليكوسيدات ونباتات تحتوي على تانيتات (مواد قابضة)، ونباتات تحتوي على مضادات أكسدة، ونباتات آخرى تحتوي على جميع ما ذُكر. (El-Astal وآخرون، 2005).

يُعد ظهور البكتيريا المقاومة لمضادات الحياة من أكثر المشاكل المعقدة للتطور الميكروبي في العقدين الأخيرين ، إذ يصف الأطباء مضادات حياة واسعة النطاق من دون اختبار الحساسية لتلك المضادات ، لذا يمكن اختبار المنتجات المشتقة من النباتات لتحديد النشاط المضاد للبكتيريا الذي يمكن استخدامه لعلاج الأمراض المعدية (Iqbal و Ashraf ، 2019) ، كذلك التكلفة الطبية الغالية جرّاء الاستمرار بتعاطي مضادات الحياه ، لذا فان الباحثين حاولوا إيجاد البديل لتطوير أدوية جديدة من النباتات الطبية ، وللتغلب على مشكلة المقاومة وتطورها باستمرار وتجاوز التأثيرات الجانبية للمضادات الحياتية المصنعة فمن الممكن أن يذهب النهج باتجاه البدائل من النباتات ذات الأهمية الطبية مثل نبات الرشاد والجرجير والفجل قيد الدراسة وغيرها من النباتات الطبية ، و لوجود مركبات و عناصر فعالة و بتراكيز معينة في تلك النباتات يمكن أن تكون بديلا عن المضاد الحياتي بتراكيز الحد الأدنى لتثبيط نمو انواع مختلفة من البكتريا منها بكتريا *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* المسببة للعديد من الامراض (Karpagam و Manonmani، 2019) .

أسهمت المضادات الحياتية في علاج العديد من الامراض ، و أحتلت لمدة طويلة مركز الصدارة لمقاومة المسببات المرضية ، الا أن الاستعمال الواسع لها أدى إلى ظهور سلالات مرضية مقاومة ، فضلاً عن التأثير القاتل على البكتريا النافعة لذلك توجهت الدراسات و الأبحات في المختبرات للحد من الاستعمال المفرط و توفير بدائل علاجية طبية طبيعية من النباتات ومنها نباتات قيد الدراسة ، بوصفها متوفرة و أمنه

صحياً وبيئياً وغير مكلفة ومن ثم الحد من تطور السلالات البكتيرية الجديدة المقاومة (Pulipatis و آخرون ، 2017)

الهدف من الدراسة الحالية :

1- تشخيص المركبات الكيميائية و المركبات الفعالة للمستخلصات المائية والكحولية لبذور نباتات الرشاد والفجل والجرجير قيد الدراسة باستخدام جهاز الـ GC-Mass .

2- اختبار التأثير التثبيطي بتراكيز متزايدة للمستخلصات المائية والكحولية لبذور النباتات اعلاه على عزلتين من البكتريا وهي : *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* .

3- التحري عن قابلية تكوين الغشاء الحيوي لكل عزلة من البكتريا بإضافة مستخلصات البذور للنباتات قيد الدراسة باستخدام طريقة الاليزا .

4- معرفة افضل معاملة تداخل ثلاثي في تثبيط نمو العزلات البكتيرية المدروسة وهل العلاقة بين المستخلصات تضادية ام تعاونية ؟

Abstract

The study aimed to determine the effect of increase concentrations (100,150 and 200)% from aqueous (hot) and alcohol (chloroform and aceton) extracts seed of Radish (*Raphanus sativus* L.) , Cress (*Lepidium sativum* L.) and Watercress (*Eruca sativa* L.) on growth of bacterial isolates which are:
of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* with three veplicate and completed Random Disgin (CRD).

The chemical analysis of plant extracts above show different in active compounds (Flavonoids,Glycosides,Saponin,Resins,Phenols,Alkaloid,Tannins andvolatile Oils) according to extract method.

The GC-mass analysis chowed that aqueous and alcohol ex-tracts of Radish seed (162,170 and 170) compound respectively,with major octadecadienoic acid methyl ester, but the aqueous and alcohol estract of crees include (173,171 and 176) compound respectively,and watercress seed include(176,171 and 176) compound respectively.with major (E) -9- octadecadienoic acid ethyl ester.

The study of effectivenss of plant extracts above that the 200% concentration for all extracts has best effect on growth bacterial isolates above compared to anther concentrations .

Mean while,alcohol extract of crees show best effect on growth of bacterial isolates,followed Watercrees and finally Radish.

The *E,coli* is most affected to plant extracts then *S.aureus*.

The two interaction showed that interactions(200%of chlorofrom extract), (chlorofrom extract of crees) and (200% of chloroform extract) gave superior significant comepared to anther intractions .

Also, the triple interaction showed the treatment chloroform extract of crees whith 200% concentration gave superior significant with inhibition diatmeter (26.00 and 18.00)mm, from *S.aureus* and *E.coli* respectively .

The ELISA method was used to investigate the ability of producing biofilm in bacteria by adding seed extracts of plants studied whith compare in control .

The results showed that aquous extract of radish was strong whith two bacterial isolates , but alcoholic extract was moderate . Also , the aquous and alcoholic extracts of cress were moderate biofilm composition for two bacterial isolates expect aquous extract in *S.aureus* was no biofilm formation and gave 0.056 compared to control (0.188).

The results of two extract of watercrees showed not biofilm formation for two bacterial isolates expect the hot aquous and chloroform extract were moderate formation for *E.coli* and gave (0.092 and 0.069) respestively compared to control that gave 0.218 .