جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة ديالى
كلية التربية للعلوم الصرفة
قسم علوم الحياة

تأثير مستخلصات العكبر وبعض النباتات على بعض انواع البكتريا

رسالة مقدمة إلى

مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة - جامعة ديالى

وهي جزء من متطلبات نيل شهادة الماجستير

في علوم الحياة /النبات

من قبل

فاطمة عمران يوسف جاسم

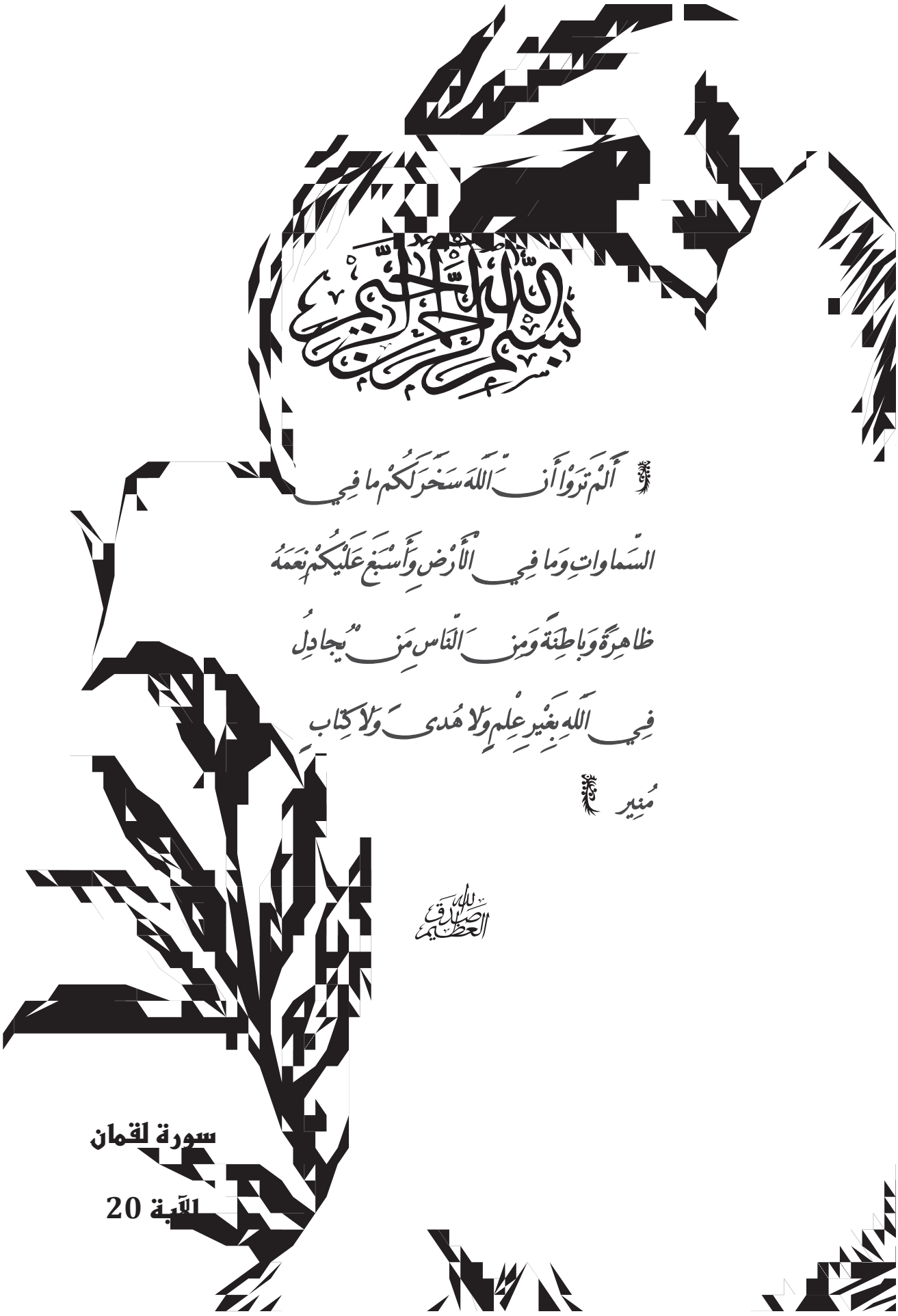
بكالوريوس علوم الحياة - كلية التربية للعلوم الصرفة

2012 -2011

بإشراف

أ.د. نجم عبدالله جمعة الزبيدي

1436هـ 2015 م



سورة لقمان

الآية 20

الإهداء

الى من اوصى الله بهما براً واحساناً

الى من دعائهما سر نجاحي و توفيقي ورضاهما

غايتي ورجائي والدي العزيز و والدتي العزيزة

اطال الله في عمرهما

الى النفوس الطيبة التي أضاءت لي الدرب وزادتني طموحاً وتفاؤلاً إخوتي و أخواتي

الى من عاش معي هذه التجربة بتفاصيلها

وعاني من اجلي الكثير زوجي الغالي

الى من احبها مثل نفسي ابنتي

الى من يرجون لي الخير دوماً الاحبة و الاصدقاء

الى من لا يبخلون بالعلم والكلمة الطيبة

أساتذتي

اقدم هذا الجهد المتواضع

مع التقدير

فاطمة

شكر وتقدير

الحمد لله رب العالمين والصلاة والسلام على اشرف المرسلين سيدنا محمد وعلى آله الطيبين الطاهرين وصحبه أجمعين و بعد.

يسعدني ويشرفني وأنا انهي كتابة رسالتي أن أتقدم بخالص شكري وتقديري إلى أستاذي ومشرفي الفاضل الأستاذ الدكتور نجم عبد الله جمعة لاقتراحه موضوع البحث و متابعته و دعمه المستمر لي طيلة مدة الدراسة كما يطيب لي أن أتقدم بالشكر والاحترام إلى الأستاذ الدكتور عدنان نعمة عبد الرضا لاتاحته لي فرصة العمل في مختبرات كلية التربية للعلوم الصرفة .

والشكر موصول إلى العاملين في مختبر مستشفى بعقوبة التعليمي كما يسرني أن اشكر زملائي وزميلاتي طلبة الدراسات العليا داعيةً الله لهم بدوام النجاح و التوفيق كما أقدم شكري العميق إلى عائلتي داعيةً من الباري (عزوجل) أن يمن عليهم بالصحة و العافية وأخيرا أتقدم بخالص شكري و تقديري إلى كل من مد يد العون والمساعدة و رفع يده لله بالدعاء من الاهل و الاصدقاء لإتمام هذه الرسالة.

فاطمة

إقرار لجنة المناقشة

نشهد نحن أعضاء لجنة المناقشة ، أننا اطلعنا على هذه الرسالة الموسومة بـ **(تأثير مستخلصات العكبر وبعض النباتات على بعض انواع البكتريا)** التي قدمتها طالبة الماجستير **(فاطمة عمران يوسف)** قد ناقشنا الطالبة في محتوياتها وفيما له علاقة بها ونعتقد أنها جديرة بالقبول لنيل شهادة الماجستير في علوم الحياة/ علم النبات بدرجة (**جيد**) .

رئيس اللجنة

التوقيع :

الاسم :أ. د. عدنان نعمة عبد الرضا

المرتبة العلمية : أستاذ دكتور

التاريخ : / /2016

عضو اللجنة .

التوقيع :

الاسم : أ. م. د. لبيد شريف محمد

المرتبة العلمية :أستاذ مساعد دكتور

التاريخ : / /2016

عضو اللجنة .

التوقيع :

الاسم : أ. م. د. منذر حمزة راضي

المرتبة العلمية :أستاذ مساعد دكتور

التاريخ : / /2016

عضو اللجنة المشرف

التوقيع :

الاسم :أ. د. نجم عبدالله جمعة

المرتبة العلمية : استاذ دكتور

التاريخ : / /2016

مصادقة عماده كلية التربية للعلوم الصرفة

أصادق على ما جاء في قرار اللجنة أعلاه

التوقيع :

الاسم : أ. م. د. غالب ادريس عطية

المرتبة العلمية :أستاذ مساعد دكتور

التاريخ : / / 2016

اقرار المشرف على الرسالة

أشهد بأن أعداد هذه الرسالة الموسومة بـ(**تأثير مستخلصات العكبر وبعض النباتات على بعض انواع البكتريا**) التي قدمتها طالبة الماجستير (**فاطمة عمران يوسف**) قد جرى تحت إشرافي في قسم علوم الحياة / كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة ديالى وهي جزء من متطلبات نيل شهادة الماجستير في علوم الحياة / النبات .

التوقيع

المشرف :أ. د. نجم عبد الله جمعة الزبيدي

اللقب العلمي : أستاذ دكتور

كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة ديالى

التاريخ: / / 2015

توصية رئيس قسم علوم الحياة

بناءاً على التوصيات المتوافرة نرشح هذه الرسالة للمناقشة

التوقيع :

الاسم : م. د. مثنى محمد ابراهيم

اللقب العلمي : مدرس دكتور

رئيس لجنة الدراسات العليا – رئيس قسم علوم الحياة

بسم الله الرحمن الرحيم

إقـرار الخبير اللغوي

أشهد أن هذه الرسالة الموسومة بـ **(تأثير مستخلصات العكبر وبعض النباتات على بعض انواع البكتريا)** التي قدمتها طالبة الماجستير **(فاطمة عمران يوسف)** قد تمت مراجعتها من الناحية اللغوية وصُححَ ما ورد فيها من أخطاء لغوية وتعبيرية وبذلك أصبحت الرسالة مؤهلة للمناقشة بقدر تعلق الأمر بسلامة الأسلوب وصحة التعبير .

التوقيع :

/ / 2015

بسم الله الرحمن الرحيم

إقـرار المقوم العلمي

أشهد أن هذه الرسالة الموسومة بـ (**تأثير مستخلصات العكبر وبعض النباتات على بعض انواع البكتريا)** التي قدمتها طالبة الماجستير (**فاطمة عمران يوسف**) قد تمت مراجعتها من الناحية العلمية وبذلك أصبحت الرسالة مؤهلة للمناقشة .

التوقيع :

/ / 2015

الخلاصة

أجريت هذه الدراسة في مختبرات كلية التربية للعلوم الصرفة ، مختبرات مستشفى بعقوبة التعليمي للفترة من تشرين الثاني الى نيسان لعام 2014-2015 م ، هدفت الدراسة الى معرفة التأثير التثبيطي للمستخلصات النباتية للعكبر *Propolis* والزنجبيل *Ginger* و الكمون *Cumin* على النمو البكتيري لثلاث من العزلات البكتيرية ، شملت بكتريا *E.coli* و*Staphylococcus aureus* و *Pseudomonas aeruginosa* ، تضمنت الدراسة تحضير ثلاثة انواع من المستخلصات هي المستخلص الكحولي و المستخلصين المائي الحار و البارد و بالتراكيز 10 ،20 ،50 ،100 ملغم . مل$^{-1}$ ، استخدام طريقة الحفر بالأكار ،إذ اظهرت هذه الطريقة كفاءة عالية من خلال اقطار مناطق التثبيط لنمو البكتريا . تم مقارنة نتائج التثبيط بالمستخلصات النباتية مع الفعالية التثبيطية لسبعة من المضادات الحيوية وهي: Nalidixic acid, Amoxicillin, Ciprofloxacin , Cefotaxime ,Amikacin , Trimethoprim, Ampicillin باستخدام اختبار الحساسية للمضادات الحيوية .

1- اجري الكشف النوعي و التقدير الكمي للمركبات الفعالة الموجودة في المستخلصات الثلاثة اضافة الى تقدير السمية لهذه المستخلصات

2- اظهرت المستخلصات الثلاثة محتوى متباين من انواع و كميات المركبات الفعالة و التي اثرت في فعاليتها التثبيطية .

3- اما فيما يخص مقاومة العزلات البكتيرية لمضادات الحياة ، فقد أظهرت بكتريا *Ps.aeruginosa* مقاومة عالية لمضادات الحياة Cefotaxime، Ampicillin ، Amoxicillin ، Trimethoprim ، Nalidixic acid ، Ciprofloxacin و حساسية اتجاه المضاد Amikacin ، اما بكتريا *E.coli* فقد اظهرت مقاومة للمضادات الحياة Cefotaxime ، Ampicillin ،

Trimethoprim، Amoxicillin و حساسية للمضادات Ciprofloxacin، Amikacin ، Nalidixic acid . بينما أبدت عزلات بكتريا *Staph.aureus* مقاومة عالية للمضادات Cefotaxime ، Nalidixic acid ، Trimethoprim وحساسية للمضادات Ciprofloxacin ، Amoxicillin ، Ampicillin ، Amikacin .

أظهرت النتائج ان المستخلصات العكبر و الزنجبيل و الكمون لها فعالية تثبيطية ملحوظة ضد أنواع البكتريا قيد الدراسة ، وتزايدت الفعالية بازدياد التراكيز ، إذ أعطى التركيز 100 ملغم. مل$^{-1}$ اعلى قدرة تثبيطية لكل أنواع البكتريا بالمقارنة مع التركيز 10 ملغم . مل$^{-1}$ ، قد كانت بكتريا *Staph. aureus* أكثر الانواع تأثرا بالمستخلص الكحولي ، اذ بلغ قطر التثبيط 18.15 ملم ثم المستخلص المائي الحار ثـم المستخلص المـائي البـارد بقطر تثبيط بلغ 14.92 ، 12.25 ملم على التوالي، ثم جاءت بعدها بكتريا *E.coli* ، والتي تأثرت بدرجة اكبر بفعل المستخلص الكحولي بقطر تثبيط بلغ 16.95 ملم ثم المستخلص المائي الحار ثم المستخلص المائي البارد بقطر تثبيط بلغ 13.20 ، 10.02 ملم على التوالي . بعدها بكتريا *Ps. aeruginosa* التي تأثرت بالمستخلص الكحولي بقطر تثبيط بلغ 15.58 ملم ثم المستخلصين المائي الحار والبارد بقطر تثبيط بلغ 12.40 ، 10.85 ملم على التوالي .

أظهرت نتائج الدراسة ان العكبر كان افضل النباتات في تثبيط نمو عزلات بكتريا *Staph. aureus* بقطر تثبيط بلغ 17.19 ملم ثم تليها بكتريا *E.coli* بقطر تثبيط بلغ 15.02 ملم ثم بكتريا *Ps.aeruginosa* بقطر تثبيط بلغ 14.61 ملم ، يليه نبات الزنجبيل في تثبيط نمو بكتريا *Staph. aureus* بقطر تثبيط بلغ 14.97 ملم ثم بكتريا *E.coli* بقطر تثبيط بلغ 13.38 ملم ثم بكتريا *Ps. aeruginosa* بقطر تثبيط بلغ 13.02 ملم ، ثم نبات الكمون في تثبيط نمو بكتريا *Staph. aureus*

بقطر تثبيط بلغ 13.15 ملم ثم بكتريا *E.coli* بقطر تثبيط بلغ 11.76 ملم ثم بكتريا *Ps. aeruginosa* بقطر تثبيط بلغ 11.19 ملم .

وتناولت الدراسة الحالية ايضاً التأثير السمي للمستخلصات الكحولية والمائية الحارة و الباردة على كريات الدم الحمر ، إذ أظهرت الدراسة عدم وجود سمية خلوية للمستخلصات المائية الحارة والباردة لجميع النباتات المستخدمة في الدراسة، في حين أظهرت تأثيراً سمياً للمستخلصات الكحولية .

المحتويات

التسلسل	الموضوع	رقم الصفحة
	الخلاصة	ا
	الفصل الأول	
1	المقدمة	1
	الفصل الثاني – استعراض المصادر	
1-2	نبذة تاريخية عن الاعشاب والنباتات الطبية	3
2-2	المواد الطبيعية طبيا أ- المكونات غير الفعالة ب- المكونات الفعالة	5
1-2-2	الفينولات Phenols	5
1-1-2-2	الفلافونات Flavonoids	6
2-1-2-2	الكومارينات Coumarins	6
3-1-2-2	التانينات Tannins	7
2-2-2	القلويدات Alkaloids	7
3-2-2	الكلايكوسيدات Glycosides	8
4-2-2	الصابونيات Saponins	8
5-2-2	الراتنجات Resins	8
6-2-2	الزيوت الطيارة Volatile oils	8
3-2	العلاقة بين النباتات والاعشاب الطبية والاحياء المجهرية	9
4-2	النباتات المستخدمة في الدراسة الحالية	13

1-4-2	العكبر	13
1-1-4-2	الاهمية الطبية للعكبر	15
2-4-2	الزنجبيل	18
1- 2-4-2	الاهمية الطبية للزنجبيل	21
3-4-2	الكمون	22
1-3-4-2	الاهمية الطبية للكمون	25
5-2	التهاب القولون	26
6-2	البكتريا المرضية	27
7-2	البكتريا قيد الدراسة	29
1-7-2	البكتريا القولونية *Escherichia coli*	29
1-1-7-2	الامراضية	29
2-7-2	المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus*	30
1-2-7-2	الامراضية	31
3-7-2	بكتريا الزوائف الزنجارية *Pseudomonas aeruginosa*	32
1-3-7-2	الامراضية	33
8-2	مقاومة البكتريا لمضادات الحياة	33
	الفصل الثالث – المواد و طرائق العمل	
1-3	المواد	36
1-1-3	الاجهزة المستخدمة	36
2-1-3	المواد الكيميائية	37
3-1-3	الاوساط الزرعية	38
4-1-3	المضادات الحيوية	38
5-1-3	عزلات الاحياء المجهرية الممرضة	39
6-1-3	النباتات المستخدمة في الدراسة	39

7-1-3	مواد متفرقة	39
1-7-1-3	مصدر الدم	39
2-3	طــرائـق العمل	40
1-2-3	طرائق التعقيم	40
2-2-3	تحضير المحاليل و الكواشف	40
1-2-2-3	محلول الملح الفسلجي	40
2-2-2-3	محلول ثابت العكورة القياسي	40
3-2-2-3	كاشف ماير	41
4-2-2-3	كاشف بندكت	41
3-2-3	الاوساط الزرعية	41
1-3-2-3	وسط المكونكي اكار و المولر هنتون اكار	41
2-3-2-3	وسط أكار الدم	42
3-3-2-3	وسط نقيع القلب والدماغ	42
4-3-2-3	وسط الأكار المغذي المائل	42
4-2-3	جمع العينات و تحضيرها	43
1-4-2-3	العكبر	43
2-4-2-3	الزنجبيل	43
3-4-2-3	الكمون	43
5-2-3	تحضير المستخلصات النباتية	44
1-5-2-3	المستخلص المائي البارد	44
2-5-2-3	المستخلص المائي الحار	44
3-5-2-3	المستخلص الكحولي	45
6-2-3	المحلول الاساس الخزين	45
7-2-3	اختبار السمية الخلوية للمستخلصات المائية والكحولية	45

8-2-3	تقدير الاس الهيدروجيني PH	45
9-2-3	فحص تلوث المستخلصات النباتية	46
10-2-3	الكشوفات النوعية للمستخلصات المائية و الكحولية	46
1-10-2-3	الكشف عن التانينات	46
2-10-2-3	الكشف عن الراتنجات	46
3-10-2-3	الكشف عن الفينولات	46
4-10-2-3	الكشف عن الكلايكوسيدات	46
5-10-2-3	الكشف عن القلويدات	47
6-10-2-3	الكشف عن الصابونيات	47
7-10-2-3	الكشف عن الكومارينات	47
8-10-2-3	الكشف عن الفلافونات	47
9-10-2-3	الكشف عن الزيوت الطيارة	48
11-2-3	الكشوفات الكمية للمستخلصات المائية و الكحولية	48
1-11-2-3	تقدير التانينات	48
2-11-2-3	تقدير الفينولات	49
3-11-2-3	تقدير القلويدات	49
4-11-2-3	تقدير الصابونين	49
5-11-2-3	تقدير الفلافونيدات	49
6-11-2-3	تقدير الكلايكوسيدات	49
7-11-2-3	تقدير الزيوت الطيارة	50
12-2-3	تشخيص العزلات	50
13-2-3	اختبار تحلل الدم	50
14-2-3	حساب العدد التقريبي للأحياء المجهرية	51
15-2-3	حفظ العزلات و ادامتها	51

16-2-3	فحص الحساسية للمضادات الحيوية	51
17-2-3	دراسة تأثير المستخلصات في نمو البكتريا المعزولة	52
1-17-2-3	طريقة الانتشار في الحفر	52
18-2-3	التصميم التجريبي و التحليل الاحصائي	53
	الفصل الرابع – النتائج و المناقشة	
1-4	أختبار فحص الحساسية للمضادات الحيوية	54
2-4	الدالة السمية والحامضية للمستخلصات المائية والكحولية	56
3-4	الكشف الكيميائي العام	58
1-3-4	الكشوفات النوعية للمركبات الفعالة الموجودة في النباتات قيد الدراسة	58
2-3-4	الكشوفات الكمية للمركبات الفعالة الموجودة في النباتات قيد الدراسة	60
4-4	تأثير المستخلصات النباتية في نمو البكتريا	62
1-4-4	الفعالية التثبيطية للمستخلصات الكحولية والمائية للعكبر و الزنجبيل و الكمون اتجاه بكتريا *Escherichia coli*	63
2-4-4	الفعالية التثبيطية للمستخلصات الكحولية والمائية للعكبر و الزنجبيل و الكمون اتجاه بكتريا *Staphylococcus.auerus*	66
3-4-4	الفعالية التثبيطية للمستخلصات الكحولية والمائية للعكبر و الزنجبيل و الكمون اتجاه بكتريا *Pseudomonus aeruginosa*	69
5-4	مقارنة التأثير التثبيطي للمضادات الحيوية مع التأثير التثبيطي للمستخلصات النباتية في العزلات البكتيرية المرضية	72

	الفصل الخامس – الاستنتاجات و التوصيات	
1-5	الاستنتاجات	74
2-5	التوصيات	74
	المصادر	
	المصادر العربية	75
	المصادر الاجنبية	82

الاشكال و الصور

التسلسل	الموضوع	رقم الصفحة
1	العكبر Propolis	**14**
2	نبات الزنجبيل *Zingiber officinale*	**19**
3	رايزومات نبات الزنجبيل *Zingiber officinale*	**20**
4	نبات الكمون *Cuminum cyminum L*	**23**
5	بذور نبات الكمون *Cuminum cyminum L*	**24**
6	تأثير المضادات الحيوية على العزلات البكتيرية المدروسة	**54**

الجداول

التسلسل	اسم الجدول	رقم الصفحة
1	الاجهزة و الادوات المستخدمة في الدراسة	36
2	المواد الكيميائية المستعملة في الدراسة	37
3	الاوساط الزرعية المستعملة لتنمية وحفظ الاحياء المجهرية	38
4	المضادات الحيوية	38
5	عزلات الاحياء المجهرية المستخدمة	39
6	النباتات المستخدمة في الدراسة	39
7	الدالة الحامضية pH والدالة السمية للمستخلصات العكبر و الزنجبيل و الكمون	57
8	الكشوفات النوعية لبعض المكونات الفعالة الموجودة في النباتات قيد الدراسة	60
9	النسب المئوية للمواد الفعالة في المستخلصات النباتية	61
10	تأثير مصدر المستخلص وتركيزه و طريقة الاستخلاص في القطر التثبيطي (ملم) البكتريا *E.coli*	65
11	تأثير مصدر المستخلص وتركيزه و طريقة الاستخلاص في القطر التثبيطي (ملم) البكتريا *Staphylococcus aureus*	68
12	تأثير مصدر المستخلص وتركيزه و طريقة الاستخلاص في القطر التثبيطي (ملم) البكتريا*Pseudomonus aeruginosa*	71

الفصل الاول

المقدمة

INTRODUCTION

المقدمة

تعد مشكلة مقاومة غالبية الانواع الجرثومية للمضادات الحيوية من اهم المشاكل التي ادت بالباحثين الى ايجاد بديل لهذه المضادات بهدف التغلب على الامراض الجرثومية و ايجاد فرص اخرى لاكتشاف علاجات اكثر فعالية في علاج الاصابات الجرثومية ، هذا فضلاً عن ان غالبية المضادات الحيوية المستخدمة لها اضرار جانبية كثيرة وعديدة بجانب اثمانها الباهظة ، و ان الاستمرار في استخدامها لفترة طويلة يؤدي الى تناقص فعاليتها المضادة ، وبالمقابل تؤدي الى زيادة مقاومة الجراثيم لفعل هذه المركبات (حدادين،1999; Digrak و آخرون ،2001) .

لذلك زاد الاهتمام في السنوات الاخيرة بالأعشاب والنباتات الطبية و العطرية من قبل الشركات المتخصصة بصناعة الادوية لاستخدامها كمواد اولية في صناعتها(Carson و Riley ،2003) . في معظم دول العالم حتى أصبح تداولها ميزة حضارية متطورة ووسيلة مهمة وناجحة من وسائل العلاج للكثير من الأمراض أو بوصفها مصادر للمواد الفعالة التي تدخل في تحضير الدواء . بدأ استخدام هذه النباتات منذ القدم واستمر لغاية الآن وفي الوقت الحاضر نلاحظ اتجاها متزايداً نحو التداوي بالأعشاب ، هذا الاتجاه لم يعد يشمل فقط الراغبين في تلقي العلاج من أمراض مختلفة ، إنما نجد العلماء والأطباء يبحثون عن الأسرار العلاجية في هذه النباتات (الحاج ، 2000).

ان أهم المميزات التي شجعت على استخدام الأعشاب والنباتات الطبية علاجاً في الآونة الأخيرة هو قلة تأثيراتها الجانبية ، إذ أن التراكيز القليلة للمواد الفعالة يتقبلها الجسم بصورتها الطبيعية (الحاج ، 2003) . امتازت هذه المركبات باستقراريه عالية وفعالية بيولوجية ممتازة على العكس من بعض المركبات الصناعية ذات التأثيرات الجانبية الضارة (Carson و Riley ،2003).

ان العشبة الطبية الواحدة تحوي على العديد من المواد الفعالة الشافية ما يجعلها مفيدة في مداواة امراض مختلفة ، وإن تغيرت طرائق استخدامها مما يقتضيه المرض المعالج.

فالأعشاب والنباتات الطبية هي الكنز الطبيعي الذي عاصر تطور الانسان حضارياً منذ آلاف السنين ،وان جسم الانسان يتوافق مع العلاج بالأدوية العشبية بشكل أفضل من العلاج بالأدوية الكيميائية (شوفاليه،2003).

من هنا جرت محاولات عديدة في مجال استكشاف الاهمية الطبية للنباتات ومستخلصاتها ومنها مستخلصات العكبر و الزنجبيل و الكمون في العزلات البكتيرية ، و استخدامها مضادات لبعض الانواع البكتيرية التي تسبب التهاب القولون الذي يعد من الامراض الشائعة في الوقت الحاضر و الذي يؤدي الى التهاب في الجدار الداخلي للقولون وبالتالي يؤدي الى التهابات حادة قد تؤدي الى اورام سرطانية .

لذلك هدفت هذه الدراسة الى :

1- الكشف النوعي و التقدير الكمي للمواد الفعالة في مستخلصات العكبر و الزنجبيل و الكمون فضلاً عن تقدير السمية لانواع المستخلصات قيد الدراسة.

2- اختبار حساسية او مقاومة العزلات البكترية قيد الدراسة اتجاه انواع وتراكيز هذه المستخلصات ومقارنتها مع حساسيتها لعدد من المضادات الحيوية مع تحديد افضل نوع من المستخلصات واكثر تركيز مؤثر في العزلات البكترية المسببه لالتهاب القولون .