صفاء الدين احمد شنتر القيسي
Friday, December 24, 2010
4:45 PM

مجلة ام سلمة للعلوم **مجلد 6(1) 2009**

تأثيرمستخلصات اوراق نبات الدورانتا *Duranta repens* في نمو وفعالية بعض الأنواع البكتيرية المرضية وبعض الفطريات

صفاء الدين احمد شنتر القيسي* ***هالة هيثم محمد علي****

تاريخ قبول النشر 2008/10/6

الخلاصة:

أجريت الدراسة الحالية لمعرفة تأثير المستخلص الكحولي والمائي البارد والحار لنبات الدورانتا *Duranta repens* في نمو وفعالية الأنواع البكتيرية , *Staphylococcus aureus* *Streptococcu pyogenes s, Escherichia coli ,Klebsilla pneumonia* فضلاً عن خميرة *Candida albicans* وفطري *Aspergillus flavus* , *Aspergillus niger*. أظهرت النتائج إن البكتريا الموجبة لصبغة غرام أكثر تأثرا للمستخلصات من البكتريا السالبة للصبغة والخميرة ،إذ بلغ التركيز المثبط الأدنى(Minimum Inhibition Concentration(MIC للأنواع البكتيرية الأربعة (50,100,25,50%) على التوالي وبلغت قيم Minimum Bactericidal Concentration(MBC) للأنواع البكتيرية(100,200,50,100%) على التوالي.

وقد وجد إن المستخلص المائي البارد والحار أكثر تأثيرا على الفطريات من المستخلص الكحولي ،فقد بلغ قطر النمو لفطر *A.niger* (0.93و0.37)ملم عند تركيز(20%) للمستخلص المائي البارد والحار على التوالي، مقارنة مع الكحولي الذي أعطى (0.26)ملم. وبلغ قطر النمو بالمستخلص المائي البارد والحار لفطر *A.flavus*(0.90 و 0.80)ملم على التوالي، مقارنة بالكحولي (7.56)ملم.

الكلمات المفتاحية: نبات الدورنتا، مضاد فطري، مضاد بكتيري.

1. المقدمة Introduction:

جُربت العديد من المضادات الحيوية التقليدية في الكثير من الدول والاقطار ومنها العراق, وأستخدمت بطرق اساسية وبنسب ثابتة, وعلى الرغم من ما قدمته من نجاحات كبيرة ونتيجة لتفاقم مشكلة مقاومة المضادات الحيوية ازداد الاهتمام بدراسة النباتات الطبية في الاونة الاخيرة وعلى نطاق واسع إذ تعد مصدراً مهماً للمركبات الفعالة، وأصبح من المعروف في العالم بأن النباتات هي المصدر الرئيسي والبديل لمعالجة الامراض المعدية. وبذلك فأن المستخلصات النباتية تقدم جهوداً مستمرة لايجاد مركبات فعالة جديدة ضد العديد من البكتريا المقاومة[1,2].

يعد نبات الدورانتا .*Duranta repens* L من النباتات المستخدمة في المجالات الطبية والمعروف محلياً بقطر الندى الذهبي، وهي شجيرات كبيرة دائمة الخضرة سريعة التكاثر، ازهارها بنفسجية اللون أو زرقاء فاتحة، طيبة الرائحة، عطرية، تزهر على مدار السنة، الاوراق بيضوية او متطاولة أو اهليليجية الشكل، أما الثمار

* قسم علوم الحياة/ كليه العلوم للبنات/جامعه بغداد

فتكون صفراء اللون كروية أو بيضوية الشكل وتنمو على شكل تجمعات معلقة. ينتشر هذا النبات على نطاق واسع في المناطق الاستوائية وشبه الاستوائية ويتواجد في المكسيك وأمريكا الوسطى، امريكا الجنوبية. ينتمي النبات الى عائلة المينا الشجري Verbenaceae وسُميَ بأسماء مرادفة عديدة منها *Duranta erecta* L و *Duranta plumieri* [5,4,3].وقد اشار العديد من الباحثين لاهمية نبات الدورانتا ضد اتجاه العديد من الاحياء إذ له فعالية كبيرة ضد الملاريا [6] ومثبط لانزيمات الاكسدة و انزيمات prolyl endopeptidase [8,7] وله فعالية تثبيطية عالية ضد *C. albicans* [9] .

وبالنظر للاهمية الطبية لمستخلصات اوراق نبات الدورانتا *D. repens* ولاحتوائه على مركبات فعالة، هدفت الدراسة الى تقييم فعالية مستخلصات النبات اتجاه بعض الانواع البكتيرية المرضية وخميرة *C.albicans* وفطري *A.niger* و *A.flavus* وذلك باستخدام طريقة الحفر **(The Agar-Well diffusion method)** وحساب قيم (MIC) و(MBC) . وتعد هذه الدراسة هي الاولى من نوعها في القطر ولأول مرة يدرس هذا النبات كمضاد حيوي.

2. المواد وطرائق العمل:

1.2 ألأوساط الزرعية:

تم تحضير الأوساط الزرعية المدرجة في أدناه حسب تعليمات الشركة المجهزة، إذ ضبط الأس الهيدروجيني لها إلى الرقم (7)، ثم عُقمت بجهاز المؤصدة عند درجة حرارة(121)مْ وضغط(15)باوند/أنج^2 ولمدة (15) دقيقة، تضمنت هذه الاوساط ما يلي:

1. وسط ألاكار المغذي	**Nutrient Agar (NA)**
2. وسط المرق المغذي	**Nutrient Broth (NB)**
3. وسط الماكونكي	**MacConkey Agar (MA)**
4. وسط أكار ملح المانيتول	**Manitol Salt Agar**
5. وسط أكار الدم	**Blood Agar (BA)**
6. وسط أكار السبروید	**Sabouraud Dextrose Agar (SDA)**
7. وسط البطاطا دكستروز السائل	**Potato Dextrose Broth (PDB)**

2.2 العزلات المايكروبية:

1. **العزلات المرضية البكتيرية**

تم الحصول على العزلات البكتيرية المختبرة والمشخصة من مختبر الاحياء المجهرية التابع لمركز التقنيات الاحيائية /جامعة النهرين.

2. العزلات الفطرية والخميرة

تم الحصول على عزلة مشخصة من خميرة المبيضات *C.albicans* وعزلتي من فطري *A.niger* و *A.flavus* من مختبر الفطريات التابع لقسم علوم الحياة/ كلية العلوم للبنات/ جامعة بغداد.

3.2 تحضير عالق البكتريا والخميرة

حُضر عالق البكتريا والخميرة وذلك بنقل جزء من مزروع الأنواع البكتيرية والخميرة النامية على أوساطها الصلبة إلى أنبوبة اختبار حاوية على(10) مل من الوسط السائل (NB) للبكتريا و(PDB) للخميرة على التوالي، وبعد مدة حضانة(18) ساعة وبدرجة حرارة(37)مْ ، عُملت

تخافيف تضاعفية للمزروع وحددت الكثافة الضوئية للمزروع باستخدام جهاز المطياف الضوئي (Spectrophotometer) وعلى طول موجي قدره(420) نانوميتر.

4.2 جمع العينات النباتية:

تم جمع(250) غم من أوراق نبات *D.repens* من الحديقة النباتية التابعة لكلية العلوم /جامعة بغداد، نُظفت الأوراق من الأتربة المتعلقة بها ونشرت فوق قماش أو ورق صحف في مكان ضليل وبدرجة حرارة الغرفة.بعد جفافها طحنت بمطحنة نظيفة.شُخصت العينات النباتية في المعشب الوطني العراقي التابع لوزارة الزراعة.

5.2 أستخلاص نبات الدورانتا:

أُجريَ الاستخلاص بثلاث طرق:

المستخلص الكحولي:

اتبعت هذه الطريقة على وفق ماجاء في [10]:

تم وزن (30)غم من مسحوق أوراق النبات ووضع في (thumble tube) بجهاز السوكسليت، وباستخدام (200) مل من الكحول المثيلي(80%) لغرض الاستخلاص وعلى درجة حرارة (45)مْ ولمدة (7)ساعات.تم تبخير الكحول خلال وضع المستخلص في إطباق بتري ومن ثم بالحاضنة بدرجة حرارة(37)مْ لحين تبخر الكحول بالكامل ، جمع المستخلص ووزن ثم أُذيب بالماء المقطر للحصول على نسبة(20%) وزن/حجم. عُقم المستخلص بورق الترشيح(0.2Mm).

المستخلص المائي البارد:

أُتبعت هذه الطريقة حسب ما جاء في[11] :

وُزن(30) غم من مسحوق أوراق النبات وأضيف له (200) مل من الماء المقطر للحصول على مستخلص مائي، ترك المستخلص في الحاضنة الهزازة لمدة(24) ساعة بدرجة حرارة (35)مْ ، ثم رُشح بأوراق الترشيح (Whatman No.1) . نبذ الراشح بقوة (2500) دورة/دقيقة لمدة(10) دقائق بجهاز الطرد المركزي، ثم عرض المستخلص إلى التبخير ووزن وأذيب في الماء المقطر للحصول على تركيز نهائي (20%) ،عقم بورق الترشيح (0.2Mm).

المستخلص المائي الحار:

وزن(30)غم من مسحوق أوراق النبات وأضيف له(200)مل من الماء المقطر المغلي وترك لمدة يوم كامل ثم رشح بواسطة أوراق الترشح(Whatman No.1) ، تم تبخير المستخلص بالحاضنة بدرجة حرارة(37)مْ ولمدة(48) ساعة، تم وزن المادة الجافة واخذ وزن معين منها وأذيب بالماء المقطر للحصول على نسبة(20%) وزن/حجم ،ثم عقم بورق الترشيح(0.2Mm) [12].

6.2 الكشف عن المركبات الكيميائية:

1. الكشف عن القلويدات:

كاشف دراكندورف: اتبعت الطريقة كما ورد في[13].

2. الكشف عن الكلايكوسيدات: تم الكشف عن الكلايكوسيدات كما ورد في [14].

3.الكشف عن التانينات: استخدمت الطريقة المتبعة في [15].

4.الكشف عن الفلافونات: استخدمت الطريقة كما ورد في [16].

5.الكشف عن السابونين: اعتمدت طريقة الكشف عن السابونين كما ورد في [15].

7.2 اختبار فعالية المستخلصات النباتية اتجاه البكتريا والخميرة:

حضرت التراكيز النهائية لمستخلصات نبات الدورانتا وكانت (20,10,5,2.5 %) اذ استخدم الماء المقطر لتحضير التراكيز.استخدمت طريقة الانتشار بالحفر (**The Agar-Well Diffusion method**) لملاحظة تأثير المستخلصات الثلاثة تجاه البكتريا والخميرة، إذ لقح وسط الاكار المغذي بواسطة قطيلة معقمة(Sterile Swab) من العالق البكتيري والخميرة المختبرة،عملت حفر بقطر(6)ملم على سطح الوسط المزروع بواسطة الثاقب الفليني،ووضعت التراكيز المحضرة لكل مستخلص(20,10,5,2.5 %) بمقدار(0.2)مل لكل حفرة مع بقاء حفرة كسيطرة تحتوي على الماء المقطر المعقم فقط حضنت الأطباق بدرجة حرارة(37)مْ لمدة (24)ساعة، حددت فعالية المستخلص بقياس قطر منطقة التثبيط حول كل حفرة [17].

$$\text{عدد السبورات/ سم}^3 = \frac{\text{عدد السبورات}}{5} \times 25 \times \text{معامل التخفيف} \times 10^4$$

8.2 تحضير محلول الابواغ

زرع الفطر في وسط PDA(Potato Dextrose Agar) وحضنت الأطباق لمدة أسبوع واحد وبدرجة حرارة(26)مْ ، أخذ (5)مل من الماء المقطر المعقم واضيف للطبق الحاوي على مستعمرة الفطر النامي، عزلت الابواغ بواسطة الناقل وسحب محلول الابواغ بواسطة ماصة زجاجية معقمة وأضيف الى انبوبة زجاجية معقمة، ثم عمل تخفيف لهذا العالق وتم حساب عدد الابواغ في التخفيف المناسب بواسطة شريحة العد Haemocytometer في (1)سم وحسب المعادلة التالية [18]:

9.2 دراسة تأثير مستخلصات نبات الدورانتا في معدل النمو القطري للفطريات

اتبعت هذه الطريقة على وفق ما جاء في [19]:

أُخذت قطرة من عالق الابواغ المعامل بتراكيزالمستخلصات الثلاثة(20,10,5,2.5 %)و بواسطة ماصة معقمة ، ووضعت في مركز طبق زجاجي حاوٍ على وسط (PDA) وحضنت الأطباق بدرجة حرارة (26)مْ ، وتم حساب قطر المستعمرات في كل يوم ولمدة 7 أيام لحين وصول النمو في طبق السيطرة إلى حافة الطبق.

10.2 تحديد التركيز المثبط الادنى (MIC) والتركيز القاتل الادنى(MBC) للمستخلصات النباتية ضد البكتريا المعزولة:

حُضرت سلسلة من التخافيف النصفية من التركيز النهائي(200) ملغم/مل للمستخلصات النباتية في انابيب اختبار معقمة تراوحت قيمها (200 ,100, 50, 25) ملغم/مل ، وقد استخدم وسط المرق المغذي (N.broth) لاجراء التخافيف، لقحت الانابيب بمقدار(0.1)مل من العالق البكتيري حسب التخافيف التضاعفية المحضرة مسبقاً. حضنت الانابيب بدرجة حرارة(37)مْ ولمدة (24)ساعة وقرأت النتائج بالمقارنة مع انبوب السيطرة(1) ويحتوي على المرق المغذي ملقح بالبكتريا فقط، وانبوب السيطرة(2) ويحتوي على المرق المغذي مع المستخلص النباتي بدون بكتريا.

11.2 التحليل الاحصائي:

حللت النتائج بالاعتماد على المقارنات المتعددة بين معدلات المعاملات الداخلة في التجربة تامة التعشية complete (CRD) randomized design إذ حللت النتائج باستخدام اختبار دنكن المتعدد المدى Duncan

Multiple Range Test لإيجاد الفروقات بين المعاملات وحساب الاختلافات المعنوية بينها وعند مستوى المعنوية المحدد للاختبار (P=0.05) [20].

3. النتائج والمناقشة:

Results & Discussion

1. تأثير المستخلص الكحولي لأوراق نبات الدورانتا على العزلات البكتيرية والخميرة:

أظهرت نتائج التحليل الإحصائي وجود علاقة طردية بين التركيز وقطر التثبيط كما مبين في جدول(1)، إذ أدت معاملة بكتريا *Staph. aureus* و *Strept. pyogenes* بالمستخلص الكحولي إلى تثبيط النموالى(7و7.3)ملم عند تركيز(2.5%) للعزلتين على التوالي، وارتفعت هذه النسبة إلى(10و11)ملم عند تركيز (20%) على التوالي مقارنة بالسيطرة التي بلغت (6)ملم لجميع العزلات.أما بالنسبة لعزلتي *K.pneumonia* و *E. coli* فقد لوحظ وجود فرق معنوي بين أعلى تركيز والسيطرة إذ بلغ قطر التثبيط(8 و8)ملم للعزلتين على التوالي مقارنة مع السيطرة.وكذلك الحال مع خميرة المبيضات *C.albicans* فأن جميع تراكيز المستخلص الكحولي لم تؤثر على النمو باستثناء تركيز (20%) الذي أعطى نسبة تثبيط بلغت (8)ملم بالمقارنة مع السيطرة.

جدول(1) تأثير المستخلص الكحولي لأوراق نبات *D.repens* في نمو العزلات البكتيرية والخميرة المختبرة مقاساً بالملمتر (Mean±SE)

التركيز% / المايكروبات	2.5	5	10	20	السيطرة
Staph. aureus	7.00±0.00 d	8.00±0.00 c	9.00±0.00 b	10.00±1.00 a	6.00± 0.00 e
Strept. pyogene	7.33±0.57 c	8.00±0.00 c	9.33±0.57 b	11.00±1.00 a	6.00± 0.00 d
K. pneumonia	0.00±0.00 c	0.00±0.00 c	0.00±0.00 c	8.00±0.00 a	6.00± 0.00 b
E.coli	0.00±0.00 c	0.00±0.00 c	0.00±0.00 c	8.00±0.00 a	6.00± 0.00 b
C. albicans	0.00±0.00 c	0.00±0.00 c	0.00±0.00 c	8.00±0.00 a	6.00± 0.0 b

- الحروف الصغيرة المتشابهة تعني عدم وجود فروق معنوية بين التراكيز تحت مستوى احتمالية 0.05 في الصف الواحد (كل على حدة).

2. تأثير المستخلص المائي البارد لأوراق نبات الدورانتا على العزلات البكتيرية والخميرة

أظهرت نتائج التحليل الإحصائي وجود فروق معنوية كبيرة بين جميع التراكيز والسيطرة (جدول2), فقد لوحظ إن البكتريا الموجبة لصبغة غرام أكثر حساسية وتأثراً لتراكيز المستخلص من البكتريا السالبة للصبغة والخميرة، إذ بلغ قطر التثبيط لبكتريا *Staph. aureus* و *Strept. pyogenes* (13و13) ملم عند تركيز(2.5)% ليرتفع إلى (18 و18.16) ملم عند تركيز(20%) على التوالي.أما بالنسبة للبكتريا السالبة لصبغة غرام *E.coli* *K.pneumonia*, فقد بلغ قطر التثبيط(8.66 و9.33)ملم عند تركيز(2.5%) ليبلغ أقصاه عند

تركيز(20%) ليكون(15 و 15.33)ملم للعزلتين على التوالي مقارنة بالسيطرة (6) ملم. إن معاملة الخميرة بتراكيز المستخلص لم تظهر حساسية شديدة إذ بلغ قطر التثبيط (8)ملم عند تركيز(20%) مقارنة مع السيطرة التي بلغت (6)ملم.

جدول(2) تأثير المستخلص المائي البارد لأوراق نبات *D. repens* في نمو العزلات البكتيرية والخميرة المختبرة مقاساً بالمليمتر (Mean±SE)

التركيز% / المايكروبات	2.5	5	10	20	السيطرة
Staph. aureus	13.00±0.00 d	14.66±0.57 c	17.00±0.00 b	18.00±0.00 a	6.00±0.00 e
Strept. pyogene	13.00±0.00 d	14.66±0.57 c	17.00±0.00 b	18.16±0.28 a	6.00±0.00 e
K. pneumonia	8.66± 0.57 d	10.33±0.57 c	13.33±1.15 b	15.00±1.00 a	6.00±0.00 e
E.coli	9.33±0.57 d	1.33±0.57 c	14.00±1.00 b	15.33±0.57 a	6.00±0.00 e
C. albicans	0.00±0.00 c	0.00±0.00 c	0.00±0.00 c	8.00±0.00 b	6.00± 0.0 e

- الحروف الصغيرة المتشابهة تعني عدم وجود فروق معنوية بين التراكيز تحت مستوى احتمالية **0.05** في الصف الواحد (كل على حدة).

3. تأثير المستخلص المائي الحار لأوراق نبات الدورانتا على العزلات البكتيرية والخميرة:

أدت معاملة البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة غرام بتراكيز المستخلص المائي الحارالى تثبيط النمو بفروق معنوية عالية وهذا ما دل عليه التحليل الإحصائي (جدول 3)، فقد وجد بأن البكتريا الموجبة للصبغة أكثر تأثرا وحساسية لتراكيز المستخلص من بقية الأنواع البكتيرية الأخرى، فقد بلغ قطر التثبيط لبكتريا *Staph.aureus* و *Strept.pyogenes* (12 و 13)ملم عند تركيز(2.5%) وتزداد بزيادة التركيز لتصل الى(18 و 18)ملم للعزلتين على التوالي، في حين بلغت السيطرة(6)ملم. أما بالنسبة لبكتريا *K.. pneumonia* و *E. coli* فقد بلغ قطر التثبيط (8 و 13)ملم عند التركيز(2.5%) ليصل إلى(16 و 16.33)ملم عند تركيز(20%) على التوالي.وقد لوحظ بأن خميرة *C.albicans* لم تتأثر بالتراكيز الواطئة إذ بلغ قطر التثبيط صفراً ليصل أقصاه عند التركيز العالي (8)ملم بالمقارنة مع السيطرة التي كانت (6)ملم.

جدول(3)يبين تأثير المستخلص المائي الحار لأوراق نبات *D. repens* نموالعزلات البكتيرية والخميرة المختبرة مقاساً بالمليمتر (Mean±SE)

التركيز% / المايكروبات	2.5	5	10	20	السيطرة
Staph. aureus	12.00±0.00 d	14.00±0.00 c	16.00±0.50 b	18.00±0.50 a	6.00±0.00 e
Strept. pyogene	13.00±0.57 c	5.66±0.57 b	16.33±0.57 b	18.00±0.00 a	6.00±0.00 d
K. pneumonia	8.00±0.00 d	10.66±0.57 c	14.33±0.57 b	16.00±1.00 a	6.00±0.00 e
E.coli	13.00±0.57 d	13.00±0.00 c	14.66±0.57 b	16.33±0.57 a	6.00±0.00 e
C. albicans	0.00±0.00 c	0.00±0.00 c	0.00±0.00 c	8.00±0.00 a	6.00±0.00 b

- الحروف الصغيرة المتشابهة تعني عدم وجود فروق معنوية بين التراكيز تحت مستوى احتمالية0.05 في الصف الواحد (كلٍ على حدة).

4. تأثير المستخلصات على نمو مستعمرة فطر *A.niger*

أظهرت نتائج التحليل الإحصائي وجود فروق معنوية بين تراكيز المستخلص الكحولي و المائي البارد والحار كما مبين في الجدول(4)وشكل(1)، ففي المستخلص الكحولي ادت معاملة الفطر إلى تثبيط نمو المستعمرة بدرجة قليلة إذ بلغ قطر المستعمرة(7.73 و7.40) ملم عند تركيزي (2.5و 20%) على التوالي،مقارنة مع السيطرة التي بلغت (8) ملم.

أما بالنسبة للمستخلص المائي البارد فقد أوضحت نتائج التحليل الإحصائي وجود فروق معنوية كبيرة بين التراكيز والسيطرة، إذ بلغ قطر المستعمرة(1.20)ملم عند تركيز(2.5%) لتنخفض إلى(0.93)ملم عند تركيز(20%). كذلك الحال مع المستخلص المائي الحار فقد بلغ قطر نمو المستعمرة(1.26)ملم بتركيز(2.5%) لينخفض إلى (0.37)ملم بتركيز(20%)، مقارنة بالسيطرة (8)ملم. ويبين الجدول وجود فروق معنوية بين تراكيز المستخلصات، فقد وجد من التحليل الإحصائي إن تراكيز المستخلص المائي البارد والحار حققا نجاحا كبيراً في تثبيط نمو مستعمرة الفطر مقارنة مع المستخلص الكحولي الذي لم يؤثر كثيرا على نمو المستعمرة عند جميع التراكيز السابقة الذكر.

جدول(4) تأثير مستخلصات أوراق نبات *D. repens* على نمو قطر مستعمرةالفطر *A.niger*
مقاساً بالمليمتلر (Mean±SE)

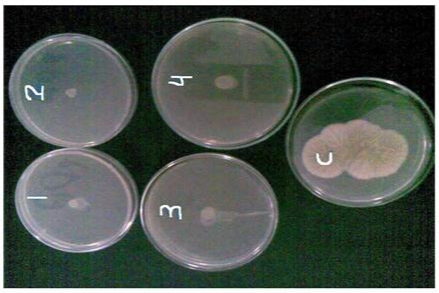
Alcoholic Extract	Cold Extract	Hot Extract	المستخلص / التركيز %
8.00±0.00 a A	8.00±0.00 a A	8.00±0.00 a A	**2.5**
7.73±0.11 ab A	1.20±0.00 b B	1.26±0.05 b B	**5**
7.60±0.20 b A	1.10±0.10 ab B	1.13 ± 0.20 b B	**10**
7.40±0.26 b A	1.00±0.10 cd B	0.86±0.05 c B	**20**
7.40±0.26 b A	0.93±0.05 d B	0.37±0.05 c B	**السيطرة**

*الحروف الصغيرة المتشابهة تعني عدم وجود فروق معنوية بين التراكيز تحت مستوى احتمالية0.05 في الصف الواحد (كل على حدة).

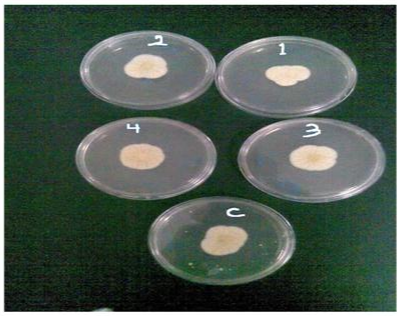
*الحروف الكبيرة المتشابهة تعني عدم وجود فروق معنوية بين التراكيز تحت مستوى احتمالية0.05 في العمود الواحد (كل على حدة).

5. تأثير المستخلصات على نمو مستعمرة فطر *A.flavus*:

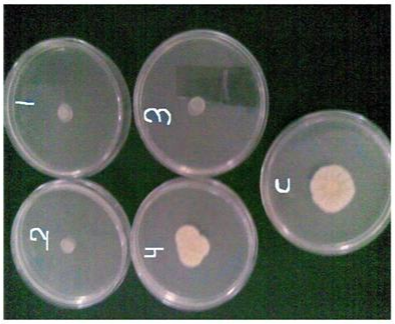
إن لتراكيز مستخلصات الأوراق تأثير كبير على نمو مستعمرة فطر *A.flavus* ، وهذا ما أوضحته نتائج التحليل الإحصائي (جدول5) وشكل (2)، فعند معاملة الفطر بتراكيز المستخلص الكحولي بلغ قطر المستعمرة (7.96)ملم عند تركيز (2.5%) لينخفض إلى(7.56)ملم بتركيز (20%) بالمقارنة مع السيطرة التي بلغت (8)ملم.أما المستخلص المائي البارد فقد أظهر فروق معنوية عالية جداً مقارنة مع السيطرة إذ بلغ أقصى معدل للنمو (0.90)ملم عند تركيز (20%). كذلك الحال مع المستخلص المائي الحارشكل(3)، فقد لوحظ إن قطر النمو بلغ (6.23)ملم عند التركيز الواطئ لينخفض قطر النمو إلى(0.80)ملم عند أعلى تركيز.وكما هو الحال في فطر*A.niger* فان للمستخلص المائي البارد والحار تأثير كبير على فطر *A.flavus* مقارنة مع المستخلص الكحولي عند جميع التراكيز السابقة الذكر.



شكل(1) يوضح تأثير المستخلص المائي الحار
على فطر *A.niger*



شكل(2)يوضح تأثير المستخلص الكحولي
على فطر *A.flavus*



شكل(3) يوضح تأثير المستخلص
المائي الحار على فطر *A.flavus*

رقم 1 يشير إلى تركيز 20 ،رقم2 يشير إلى تركيز10 ، رقم 3 يشير إلى تركيز5 ، رقم 4 يشير إلى تركيز2.5 % وحرف c يشير إلى السيطرة

جدول(5) تأثير مستخلصات اوراق نبات *D. repens* على نمو قطر مستعمرة فطر *A.flavus* مقاساً بالمليمتر (Mean±SE)

المستخلص / التركيز %	Hot Extract	Cold Extract	Alcoholic Extract
2.5	8.00±0.00 a A	8.00±0.00 a A	8.00±0.00 a A
5	6.23±0.15 b B	1.30±0.00 b C	7.96±0.05 a A
10	1.10 ± 0.00 c B	1.13±0.05 c B	7.80±0.17 ab A
20	0.80±0.00 d B	1.03±0.05 d B	7.66±0.25 b A
السيطرة	0.80±0.00 d B	0.90±0.00 e B	7.56±0.15 b A

*الحروف الصغيرة المتشابهة تعني عدم وجود فروق معنوية بين التراكيز تحت مستوى احتمالية0.05 عند نفس الصف (كل على حدة).

*الحروف الكبيرة المتشابهة تعني عدم وجود فروق معنوية بين التراكيز تحت مستوى احتمالية0.05 عند نفس العمود (كل على حدة).

6.تأثير التركيز المثبط الادنى(MIC) والتركيز القاتل(MBC) للمستخلصات النباتية على العزلات البكتيرية:

استخدمت طريقتي MIC و MBC للتحري عن أكثر الأجناس البكتيرية حساسية للمستخلصات النباتية المستخدمة، إذ لوحظ في جدول (6) إن قيم MIC للمستخلص المائي البارد والحار لـ *Staph. aureus* , *Strept. pyogenes* , *E. coli* ,*K. pneumonia* كانت(50, 100, 25, 50)% على التوالي ، في حين بلغت قيم MBC للأنواع البكتيرية الأربعة (100, 200, 50, 100)% لكلا المستخلصين .

جدول(6) يبين قيم MIC و MBC للمستخلص المائي البارد والحار لنبات الدورانتا على العزلات البكتيرية

القيم / البكتريا	MBCملغم/مل	MICملغم/مل
Staph. aureus	100	50
Strept.pyogenes	50	25
K. pneumonia	200	100
E.coli	100	50

جدول(7)الكشف التمهيدي العام عن المركبات الكيميائية الفعالة في المستخلصات النباتية لأوراق نبات الدورانتا *Duranta repens*

المركب	الكاشف المستخدم	دليل الكشف	النتيجة		
			الكحولي	المائي البارد	المائي الحار
الكلايكوسيدات	دراكندروف	راسب برتقالي محمر	(+)	(+)	(+)
القلويدات	فهلنك	راسب أحمر	(+)	(+)	(+)
التانينات	خلات الرصاص	راسب هلامي	(+)	(+)	(+)
	كلوريد الحديديك	محلول أخضر مزرق	(+)	(+)	(+)
فلافونات		التحول للون الأصفر	(+)	(+)	(+)
صابونينات	كاشف الرغوة	ظهور رغوة كثيفة	(+)	(+)	(+)
	كلوريد الزئبقيك المائي	راسب أبيض	(+)	(+)	(+)

يستنتج من ذلك ان لجميع المستخلصات القابلية على تثبيط الإحياء المجهرية المدروسة بصورة متفاوتة، فالبكتريا الموجبة لصبغة غرام اكثر تأثراً من البكتريا السالبة للصبغة ، وان المستخلص المائي البارد والحار اكثر فعالية في تثبيط نمو البكتريا والخميرة والفطريات المختبرة مقارنة بالمستخلص الكحولي. يمكن ان تعزى قابلية مستخلصات أوراق نبات الدورانتا في تثبيط البكتريا والخميرة الى احتواء النبات على مدى واسع من المركبات الايضية الثانوية مثل السابونين وهي مركبات من نوع Triterpenoid والفلافونيدات والمركبات القلويدية التي تؤثر على الاحياء المجهرية بصورة خاصة[21] كما مبين في جدول (7). إن الفعل الرئيسي للسابونين ضد البكتريا والخميرة هو تداخله مع خصائص الاغشية الخلوية وبالاخص تداخله مع ستيرولات الغشاء الخلوي للبكتريا، كذلك يعمل على تغيير الشد السطحي للوسط الخارج خلوي ، ويعمل على تسريب البروتينات والانزيمات من خلاياها وبالتالي فقدان ملحوظ في الفعالية الحيوية للبكتريا وخاصة البكتريا الموجبة لصبغة غرام .

تعزى فعالية الفلافونيدات اتجاه البكتريا والخميرة لقابليتها على تكوين مركب معقد مع البروتينات الخلوية والذائبة ويتراكب مع الجدار الخلوي للبكتريا ، وكذلك الحال مع المركبات القلويدية إذ انها تتداخل مع DNA الخلية [1، 15 ، 22، 23]. وبهذا الصدد ذكر العديد من الباحثين تأثير النباتات الطبية اتجاه البكتريا المرضية، فقد أوضح[22] ان العديد من النباتات التي تحتوي على المواد التربينية مثل *Medicago sativa* , *Symphytum officinale* لها فعل تثبيطي ضد بكتريا *Staph aureus* و *E. coli* و *C.albicans* إذ بلغت قيمة MIC (5ppm و 25mg/ml) على التوالي، وكذلك ذكر بأن نباتات *Bellis perennis* , *Hedera helix* فعالة ضد خميرة *C.albicans*.ان نتائج الدراسة الحالية لاتتفق مع ما ذكره (9) بان المستخلص الميثانولي لنبات

D.repens كان الاكثـر فعاليـة ضـد خميـرة *D.repens*.

تعزى فعالية مستخلصات النبـات ضـد الفطريات لاحتواء النبـات علـى السـابونينات وخاصة الجزء الغير سـكري aglycon الـذي يتداخل مع الغشاء ويعمل على تسـريب المـواد الخلوية وبالنهاية موت الخلية [1 ، 4، 5 ،25]. ان نتائج الدراسة الحالية تتفق مع ما ذكـره[22] بان نبات *Medicago sativa* الحـاوي علـى مركب السابونين فعال ضـد فطـر *A.niger* ، وكـذلك نبـات *Lycopersicom esculentum* فعال ضد *Aspergillus spp.* .

Refrences

1. AL-Bayati, F.A. and AL-Mola. H.F. 2008 . Antibacterial and antifungal activity of different parts of *Tribulus terrestris* L. growing in Iraq.J. Zhejiang . Univ. Sci. 9(2):154-159
2. Francis, J.K. 2002 . Duranta erecta. Research Forester. U.S department of Agriculture, forest service, international institute of tropical foresty of Puerto Rico piedras PR 00936-4984 PP.22-25
3. Gilman, E.D. 1999 . Duranta repens: fact sheet FSB-190. Institute of food and Agriculture Sciences, University of Florida.GAINESVILL,32611 PP.1-3
4. Chackravarity, H.L. 1964 . Plant wealth of Iraq. Specialist in economic botany, government of Iraq, Live member downing Collage/ Cambridge Msc (cal) (cantrab). D.S.C. (Edin). F.I.Sland.pp.264
5. Kumar, G. S. ; Jayaveera. K.N. ; Ashokkumar. C.K. ;Sanjay,. V.P. and Kumar. D.K. (2007). Antimicrobial effects of botanical medicinal plants against acne-inducing bacteria. Trop. J. pharm. 6(2):717-723
6. Castro, O. , Barrios. M. , Chinchilla. M. and Guerrero.O. 1996 . Chemical and biological evaluation of the effect of plant extracts against Plasmodium berghei . J.Rev. Biol. Trop. 44(2A):361-7
7. Anis, I. ; Ahmed. S. ; Malik.A. ;Yasin. A. and Choudary. M.I. 2002. Enzyme inhibitory constituents from Duranta repens . J.Chem. Pharm.Bull. 50(4):515-8
8. Shahat, A.A. , Nazif. N.M. , Abousetta. L.M. , Ibrahim. N.A. , Cos. P. , Miert. S.V. ; Pieters. L. and Vlietinck. A.J. 2005 .Phytochemical investigation and antioxidant activity of Duranta repens . J. Phytother. Res. 19 (12):1071-3
9. Goswami, S. , Bora. L. , Das. J. and Begam. M. ,2006,. InVitro evaluation of some medicinal plants against Candida albicans . J. Cell &Tissue Res. 6(2):837-839
10. Deshmukh, S.D. and Bork. M.N. ,1975,. Studies on the insecticidal properties of indigenous plant products India. J. Ent. 37(1):11-18
11. Anesini, C. and Perc. Z.C. ,1993,. Screening of plants used in Argenine folk medicin for Antimicrobial activity. J. Ethno. Pharm.39(2)119-128
12. الجنابي، علي عبد الحسين صادق.1996 . تأثير بعض المستخلصات النباتية على نمـو بعـض الفطريـات الممرضـة لجلـد الإنسان،رسـالة ماجسـتير، الجامعـة المستنصرية، كلية العلوم.
13. Stahl, E. 1969 . Thin layer chromatography, a laboratory hand book, New York springer pp:460.
14. سركيس، جورج جوناثان والراوي، قاسـم محمد علي وكاطع، جاسم محمـد (1980). تشـخيص المركبـات العضـوية (الطـرق الكيمياوية). مطبعة جامعة بغداد.

15. الشامي، آغا 1982 . دراسة بعض الصفات الوراثية والسمية لأزهار القيصوم. رسالة ماجستير، كلية الطب البيطري، جامعة بغداد.

16. Jaffer., H.L., Mahmed. M.J., Jawad. A.M., Naji. A. and Al-Naib. A. 1983 . Phytochemical and Biological screening of some Iraqi plant. Fitoterapia. Pp.. 299.

17. Mahmoud, M.J. , Jawad. A.Y. , Hussain. A.M. , AL-Omari. M. and AL-Naib. A. 1984 .Invitro Antimicrobial activity of Salsola rosmarinus and Adiantum capillus-Veneris.Int. J. CrndeDruy Res. 72:14-16

18. Norris, H.A. , Elewski. B.E. and Channoum. M.A. 1999 . Optimal growth condition for the determination of the anti fungal susceptibility of three spieces of dermatophytes with use of a microdilution method, J. Am. Acd. Dermat. 40(6) :509-513.

19. Iida, Y. , Oh. K. , Satio. M. , Matsuka. K.H. , Natsume. M. and Abe. H.,1999,. Detection of antifungal activity in Anemarrhena asphodeloides by sensitive Bct Method and Isolationof its active compound.J. Agric. Food Chem..,47:548-587

20. الساهوكي، مدحت و وهيب ،كريمة محمد ,1990,.تطبيقات في تصميم وتحليل التجارب.مطبعة دار الحكمة للطباعة والنشر ، الموصل، 488 صفحة.

21. محمد علي ،هالة هيثم . 2007 . دراسة تأثيري المستخلص الكحولي لأوراق وثمار نبات Duranta repens الدورانتا وفطر Beauveria bassiana (balsamo)Vull. على الاداء الحياتي لبعوضة Culex pipiens pipiens. رسالة ماجستير ، كلية العلوم للبنات،جامعة بغداد

22. Naida, A.S. , Bidlack., W.R. and Crecelins.2000. hytoantimicrobials in : Natural Food Antimicrobial System Aidu, A. S. eds, CRC (NewYork, 325-417

23. Phillipson, J.O. and Neill. M. 1987 . New leads to the treatment of protozoal infection based on natural product molecules. J. Actapharm. Nord.(1):131-144

24. Rojas, J.J. ,Ochoa. V.J. and Ocamp., S.A. 2006 . Screening for antimicrobial activity of ten medicinal plants used in Colombian folklore non-nosocomial infections. J. BMC. Comp.6(2):7-14

25. Zhang, J.D. , Xu. Z. , Cao., Y.B., Chen. H.S. , Yan. L. , An. M.M. , Gao. P.H. , Wang. Y. , Jia. X.M. and Jiang. Y.X. 2005 .Antifungal activities and action mechanisms of compounds from Tribulus terrestris J. Ethnopharmacol. 103 (1) :76-84

Effect of leaves Extracts of *Duranta repens* on growth and activity of some types of Pathogenic Bacteria and Some types of Fungi

Safaa Al-deen Ahmed Shanter Al-qaysi*
Hala Haitham Mahmed Ali*

* Department of Biology- College of Science for Women- University of Baghdad

Abstract:

A study were conducted to examinate the effect of organic and aqueous (Hot, Cold) Extracts from leaves of *Duranta repens* on the growth and activities of the following types of Bacteria:- *Staphylococcus aureus,Streptococcus pyogens ,Escherichia coli,Klebsilla pneumonia,* in addition to the yeast *Candida albicans* and the fungi *Aspergullis niger ,Aspergulls flavus.*

The result showed that gram Positive Bacteria is more sensitive to the extracts than gram negative bacteria with Minimum inhibitory concentration (MIC) value (50,25,50,100)% and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) value (100,50,200,100)% for all types Bacteria respectively .

The most active extract against *A.niger ,A,flavus* was cold and hot aqueous extract from the leaves with diameter growth of colony value of (0.93,0.37)cm for *A.niger* in 20 % concentration compared with organic extract (0.26)cm, and the inhibition zone value of cold and hot extract to *A.flavus* (0.90,0.80)cm respectively compared with organic extract (7.056)cm.

Key word: *Duranta repens* , antifungal , antibacterial