المؤتمر العلمي الأول
لطلاب المرحلة الجامعية والدراسات العليا
الجامعة الأسمرية الإسلامية 1445هـ- 2023م

التأثير التثبيطي لمستخلصات نبات الحرمل *peganium harmala* على بعض البكتيريا الممرضة

عطية خليل تواتي[1،*]، عبد الله فرج أبو قميزة[1]، آمنة الرطيل[2]

[1] قسم علم النبات، كلية العلوم، الجامعة الأسمرية الإسلامية، زليتن، ليبيا.

[2] مركز زليتن الطبي، زليتن، ليبيا.

*البريد الإلكتروني: atiya.khalil.96@gmail.com

The Inhibitory Effect of *Peganum Harmala* Plant Extracts on Certain Pathogenic Bacteria

Atiya K. Toati[1,*], Abdullah F. Abogmaza[1], and Aamna Artil[2]

[1] Department of Botany, Faculty of Sciences, Alasmarya Islamic University, Zliten, Libya.

[2] Zliten Medical Center, Zliten, Libya.

الملخص

تبين في هذه الدراسة أن لمستخلصات نبات الحرمل (*peganium harmala*) تأثير في إحداث تثبيط لبعض البكتيريا الممرضة منها (*Klebsiella, Staphylococcus, Eshericiacoli*) حيث كان التأثير متباينا ضد الأنواع البكتيرية المستهدفة ليس فقط بين أنواع المذيبات المستخدمة في الاستخلاص بل حتى مع استخدام تراكيز مختلفة لنفس المذيب، وقد تنوعت نتائج دراسة الفاعلية التثبيطية للمستخلصات، وفقا لتنوع التراكيز والأجزاء التي تم الاستخلاص منها، حيث كان مستخلص حمض الكبريتيك هو الأكفأ لإحداث تثبيط في نمو البكتيريا، إذ أنه سجل أعلى معدلات تثبيط تصل لـــ 42 مل. في حين أن مستخلص الكحول ذا كفاءة عالية مقارنة بالمستخلص المائي في كثير من النتائج، إلا أنه في بعض الأحيان لم يظهر أي تأثير بالنسبة لبعض الأنواع عند تراكيز معينة. وكان المائي الأقل تأثيرا مقارنة بنظيريه إلا أنه كان فعالا عند تراكيز محددة، وقد سجل أعلى معدل تأثير له 30 مل. وعند اختبار تأثير بعض المضادات الحيوية شائعة الاستعمال ضد الأنواع البكتيرية المستهدفة في هذه الدراسة ومقارنتها بنتائج اختبار المستخلصات المستخدمة، تبين أن المضادات الحيوية كان لها تأثير أقل من تأثير مستخلصات نبات الحرمل.

الكلمات الدالة: المستخلص، البكتيريا، الحرمل، التثبيط، التأثير.

Abstract

It was shown in this study that extracts of the *peganium harmala* plant have an effect in inhibiting some pathogenic bacteria, including *Klebsiella, Staphylococcus*, and *Eshericiacoli*. The effect was variable against the target bacterial species, not only between the types of solvents used in the extraction, but even with the use of different concentrations of the same solvent. The results of the study of the inhibitory effectiveness of the extracts varied, according to the diversity of concentrations and parts from which they were extracted, as the sulfuric acid extract was the most efficient in causing inhibition of bacterial growth, as it recorded the highest rates of inhibition, reaching 42 mL. While the alcohol extract is highly effective compared to the aqueous extract in many results, sometimes no effect appears for some species at certain concentrations. The water was less effective compared to its counterparts, but it was effective at specific concentrations, and its highest effect rate was 30 mL. When testing the effect of some commonly used antibiotics against the bacterial species targeted in this research and comparing them to the results of testing the extracts used, it was found that the antibiotics had less effect than the effect of the Haramel plant extracts.

Keywords: *Extract, Bacteria, Harmala, Inhibition, Effect.*

1. المقدمة

إن للنباتات الطبية أهمية بالغة منذ القدم، فقد كان القدماء يستعملونها للتداوي من الأمراض، سواء باستخدامها مباشرة أو عن طريق تجزئتها ووضعها على موقع الإصابة جرحا أو إصابة فطرية كانت. كما تعتبر النباتات الطبية من أهم وأقدم النباتات التي عرفها واستعملها الإنسان على مرِ العصور في كثيرٍ من أغراضه منها غذاؤهُ ودواؤهُ. كما تجدّد استخدامها في الوقت الحاضر، فالنباتات الطبية في معظم دول العالم تستخدم في علاج الكثير من الأمراض نتيجةً للاستعمال المكثف للأدوية الصناعية ومنها المضادَات الحيوية لفترة طويلة.

من المعلوم أن النباتات الطبية على مدى سنين طويلة كان لها دورٌ كبيرٌ في الحدِ من الأمراض سواء كان بإيقاف نشاطها أو منع انتقالها من كائن لآخر، لاسيما أن لها القدرة على علاج الكثير من الأمراض التي كانت على مدى فترةٍ من الزمن أمراضاً مستعصيةً إلى أن تمّ استخلاص موادَ فعالةٍ من نباتاتٍ طبيةٍ أدّت إلى انتهائها

1.1. أنواع البكتيرية المستهدفة بالدراسة

Escherichiacoli، وهي بكتيريا عصوية الشكل سالبة لصبغة جرام تعيش في الأمعاء وتسبب التهابات المسالك البولية والزائدة الدودية والمرارة.

Staphylococcus، وهي أفراد تتجمع في شكل عنقود ينتج من انقسام الخلايا الكروية في مستويات متحورة، غير متحركة، اختيارية التهوية، موجبة لصبغة جرام، تسبب الصديد والتهاب اللوزتين والحلق والحمى الروماتيزمية (الخزرجي وآخرون، 2013؛ جازع وعبدالحميد، 2012).

Klebsiella، وهي جنس محلل لسكر الجلوكوز واللاكتوز وينتج منه غاز الميثايل، وهي سالبة لصبغة جرام وتستخدم الستريك كمصدر للكربون تكون كبسولة حائطه وهي غير متحركة (الخزرجي وآخرون، 2013؛ جازع وعبدالحميد، 2012).

2.1. أهداف الدراسة

- معرفة التأثير المثبط لنبات الحرمل على بعض الأنواع البكتيرية الممرضة.
- تحديد المستخلص الأكثر فاعلية ضد كل نوع ممرض.
- مقارنة فعالية المضادات الحيوية المستخدمة شائعة الاستعمال في العلاج الطبي بفاعلية مستخلصات هذا النبات.

2. المواد وطرق العمل

1.2. العينات النباتية

جُمعت العينات من محال العطرية داخل بلدية زليتن، ثم نقلت إلى المختبر حيث فرزت وطحن كل جزء منها على حدة بواسطة طاحونة كهربائية، ثم حفظت في أكياس خاصة إلى حين الاستخدام.

2.2. تحضير المستخلصات المائية

باستخدام الميزان الحساس أخذت أربع تراكيز (1.1، 0.08، 0.05، 0.01) من المسحوق لكل جزء نباتي (بذور، سيقان، أوراق)، وأذيب كل منها في 50 مل ماء مقطر ثم حُركت ثم تم تسخينها لمدة 15دقيقة، ثم تُرك المحلول حتى يبرد. تلا ذلك ترشيحه بورقة الترشيح ثم حفظت كل عينة على حدة في الثلاجة (Harbone, 1984).

3.2. تحضير المستخلصات الكحولية

باستخدام الميزان الحساس أخذت التراكيز الأربعة من الأجزاء الثلاث المستهدفة وأضيف كل تركيز إلى 50 مل من الإيثانول بتركيز 96%، تم رجه لعدة دقائق وترك لمدة 24 ساعة، ثم رُشح بورق الترشيح لإزالة الشوائب، وباستخدام جهاز (Rotary Navigator) لمدة ربع ساعة لكل تركيز. تم الحصول على محاليل مركزة من المستخلصات، ثم وضعت المحاليل في درجة حرارة الغرفة إلى حين الاستخدام. (Harbone,1984).

4.2. تحضير مستخلص حمض الكبريتيك

لتحضير هذا المستخلص تم أخذ نفس التراكيز باستخدام الميزان الحساس وأضيف إلى كل تركيز 50مل من حمض الكبريتيك بتركيز 98% ثم تركت 24 ساعة وبعد مرورها رشح المحلول بالقطن (Paris et al.,1997).

5.2. تحضير الأوساط الغذائية

حضر الوسط الغذائي Nutrient agar وذلك بأخذ 9.2 مجم من الوسط الغذائي وإذابته في 400 مل من الماء المقطر وتم وضعها في Autoclave للتعقيم، ثم بعد الانتهاء صُبَّت في أطباق بتري وتركت حتى تبرد ثم إلى الثلاجة إلى حين الاستخدام.

6.2. طريقة العمل

أخذت أقراص من ورق الترشيح وغمرت في المستخلصات بتراكيزها ثم تركت قليلا، بعدها قسمت الأطباق إلى أربع مناطق لكل منطقة منها تركيز وزرعت البكتيريا بواسطة swap على الأطباق، بعد ذلك أخذت أقراص المستخلصات ووضعت في الأطباق المزروعة كل في مكانه المخصص.

3. النتائج والمناقشة

1.3. المستخلص المائي للبذور

تبين بعد معاملة البكتيريا بهذا المستخلص أن لها تأثرات متفاوتة حسب التراكيز المختلفة وكذلك اختلف التأثير من نوع بكتيري إلى آخر كما هو مبين بالجدول (1)، فقد كانت *Klebsiella* الأكثر تأثرا فقد تراوح قطر منطقة التثبيط من 11 إلى 22.5 مل، بينما لم يكن هنالك أي تأثير عند التركيز 0.08. وعند اختبار *Esherichiacoli* فقد كانت أقل حساسية للمستخلص حيث لم تتأثر مطلقا إلا بمقدار 10مل عند تركيز 0.1. كذلك كان نفس الحال بالنسبة ل *Staphylococcus* فلم تتأثر مطلقا كمثيلتها ما عدا باستخدام تركيز 0.01، إلا أن منطقة التثبيط كانت أعلى بمقدار الضعف تقريبا فقد بلغت 24 مل.

جدول 1. نتائج معاملة البكتيريا بالمستخلص المائي للبذور

البكتيريا	تركيز المستخلص	قطر منطقة التثبيط	أطباق بتري
Klebsiella	0.08	Resistance	
	0.05	11 mL	
	0.01	17.5 mL	
	0.1	22.5 mL	
Esherichiacoli	0.08	Resistance	
	0.05	Resistance	
	0.01	Resistance	
	0.1	10 mL	
Staphylococcus	0.08	Resistance	
	0.05	Resistance	
	0.01	Resistance	
	0.1	24 mL	

2.3. المستخلص المائي للأوراق

عند ملاحظة تأثير هذا المستخلص يتبين أن *Klebsiella* كانت مقاومة له عند استخدام جميع التراكيز فقد كانت جميع النتائج سلبية. وعند الكشف على نتائج الاختبارات لـــ *Esherichiacoli* وجد أن هذا النوع البكتيري كان متأثرا بشكل كبير نوعا ما، حيث كان 25 مل باستخدام التركيز 0.08 و30 مل باستخدام 0.05 وانعدم التأثير عند باقي التراكيز. وعند اختبار *Staphylococcus* فقد كانت حساسيتها تتراوح بين 12 و22 مل، في حين لم يكن هناك تأثير باستخدام التركيزين 0.1،0.01 (النتائج بالجدول 2).

جدول 2. نتائج معاملة البكتيريا بالمستخلص المائي للأوراق

البكتيريا	تركيز المستخلص	قطر منطقة التثبيط	أطباق بتري
Klebsiella	0.08	Resistance	
	0.05	Resistance	
	0.01	Resistance	
	0.1	Resistance	
Esherichiacoli	0.08	25 mL	
	0.05	30 mL	
	0.01	Resistance	
	0.1	Resistance	
Staphylococcus	0.08	12 mL	
	0.05	22 mL	
	0.01	Resistance	
	0.1	Resistance	

3.3. المستخلص المائي للسيقان

لم يكن لهذا المســتخلص تأثير على كل الأنواع البكتيرية المختبرة بجميع تراكيزها كما هو مبين بالجدول (3).

4.3. المستخلص الكحولي للبذور

أظهرت النتائج عدم تأثر *Klebsiella* بهذا المســتخلص بجميع تراكيزه. بينما كانت *Esherichiacoli* متأثرة بمقدار 16مل عند التركيز 0.1، ولم تتأثر بالتراكيز الأخرى. أما *Staphylococcus* فكان لها نتيجة إيجابية باستخدام 0.08 بلغت 21 مل ولم تتأثر عند باقي التراكيز (المبينة بالجدول 4).

5.3. المستخلص الكحولي للأوراق

بعد ملاحظة نتائج هذا المستخلص تبين أنها مقاومة له بفاعلية كبيرة ولم تظهر*Klebsiella* أي تأثر به. أما بالنظر لـــ*Esherichiacoli* فقد كان التأثير مقتصرا على التركيز 0.1 بمقدار 15مل، فيما لم تتأثر لدى التراكيز الثلاث الأخرى. كذلك الحال بعد معاملة *Staphylococcus* فقد كان له تأثير عند التركيز 0.08 بلغ 21 مل (المبينة بالجدول 5)..

جدول 3. نتائج معاملة البكتيريا بالمستخلص المائي للسيقان

البكتيريا	تركيز المستخلص	قطر منطقة التثبيط	أطباق بتري
Klebsiella	0.08	Resistance	
	0.05	Resistance	
	0.01	Resistance	
	0.1	Resistance	
Esherichiacoli	0.08	Resistance	
	0.05	Resistance	
	0.01	Resistance	
	0.1	Resistance	
Staphylococcus	0.08	Resistance	
	0.05	Resistance	
	0.01	Resistance	
	0.1	Resistance	

جدول 4. نتائج معاملة البكتيريا بالمستخلص الكحولي للبذور

البكتيريا	تركيز المستخلص	قطر منطقة التثبيط	أطباق بتري
Klebsiella	0.08	Resistance	
	0.05	Resistance	
	0.01	Resistance	
	0.1	Resistance	
Esherichiacoli	0.08	Resistance	
	0.05	Resistance	
	0.01	Resistance	
	0.1	16 mL	
Staphylococcus	0.08	21 mL	
	0.05	Resistance	
	0.01	Resistance	
	0.1	Resistance	

جدول 5. نتائج معاملة البكتيريا بالمستخلص الكحولي للأوراق

البكتيريا	تركيز المستخلص	قطر منطقة التثبيط	أطباق بتري
Klebsiella	0.08	Resistance	
	0.05	Resistance	
	0.01	Resistance	
	0.1	Resistance	
Esherichiacoli	0.08	Resistance	
	0.05	Resistance	
	0.01	Resistance	
	0.1	15 mL	
Staphylococcus	0.08	21 mL	
	0.05	Resistance	
	0.01	Resistance	
	0.1	Resistance	

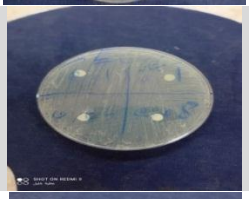
6.3. المستخلص الكحولي للسيقان

أظهرت نتائج هذا المستخلص فاعليتها في إحداث التثبيط بنسب أكبر ضد *Staphylococcus* وقد تراوح قطر مناطق التثبيط من 10 إلى 22مل، وكانت *Esherichiacoli* قد تأثرت عند التركيز 0.08 بمقدار 18 مل، أما *Klebsiella* فقد كانت نتائجها سلبية.

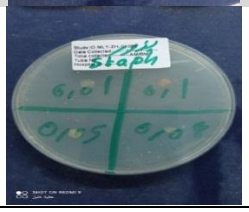
7.3. المستخلص الحمضي للبذور

عند مشاهدة نتائج الاختبارات بهذا المستخلص نجد أن البكتيريا استحال لها النمو بشكل معتاد بسبب وجود المستخلص كما هو مبين بالجدول (7)، وأن التأثير هذه المرة كبير جدا مقارنة بالمستخلصات الأخرى حيث أن النتائج كانت *Klebsiella* الأكبر تأثرا عند استخدام هذا المستخلص فقد تأثرت بمقدار 32 مل عند التركيز 0.08 و33 مل عند التركيز 0.05، فيما زاد التأثر عند التركيزين الآخرين من 34 مل عند 0.01 و35 مل عند0.1. كذلك كان التأثير على *Esherichiacoli* كبيرا فقد كان الحد الأدنى للتأثير 30 مل للتركيزين 0.08، 0.05 على التوالي و34 مل للتركيزين الآخرين. فيما نمت *Staphylococcus* بشكل اعتيادي دون أي تأثير؛ ربما لكونها تتأثر بتراكيز أعلى لهذا النوع من التراكيز أو لغياب المادة الفعالة التي لها تأثير عند هذا المستخلص.

جدول 6. نتائج معاملة البكتيريا بالمستخلص الكحولي للسيقان

البكتيريا	تركيز المستخلص	قطر منطقة التثبيط	أطباق بتري
Klebsiella	0.08	Resistance	
	0.05	Resistance	
	0.01	Resistance	
	0.1	Resistance	
Esherichiacoli	0.08	18 mL	
	0.05	Resistance	
	0.01	Resistance	
	0.1	Resistance	
Staphylococcus	0.08	22 mL	
	0.05	20 mL	
	0.01	14 mL	
	0.1	10 mL	

جدول 7. نتائج معاملة البكتيريا بالمستخلص الحمضي للبذور

البكتيريا	تركيز المستخلص	قطر منطقة التثبيط	أطباق بتري
Klebsiella	0.08	32 mL	
	0.05	33 mL	
	0.01	34 mL	
	0.1	35 mL	
Esherichiacoli	0.08	30 mL	
	0.05	30 mL	
	0.01	34 mL	
	0.1	34 mL	
Staphylococcus	0.08	Resistance	
	0.05	Resistance	
	0.01	Resistance	
	0.1	Resistance	

8.3. المستخلص الحمضي للسيقان

أظهرت نتائج اختبار هذا المســتخلص أن له فاعلية كبيرة في كبح نمو الأنواع البكتيرية كما هو مبين بالجدول (8)، حيث أنه أوقف نمو *Staphylococcus* عند جميع التراكيز بمستويات متفاوتة تبدأ من 13 إلى 22 مل، إلا أن له تأثيرات أعلى على النوعين الآخرين، أما *Esherichiacoli* فكانت الأعلى تأثرا بمعدل تثبيط بلغ 42 مل وهو التركيز الأعلى الذي سـجل للمســتخلص ضــد الأنواع البكتيرية الثلاث، أما *Klebsiella* فكان معدل أقطار التثبيط يتراوح بين 34 و40 مل.

جدول 8. نتائج معاملة البكتيريا بالمستخلص الحمضي للسيقان

البكتيريا	تركيز المستخلص	قطر منطقة التثبيط	أطباق بتري
Klebsiella	0.08	34 mL	
	0.05	36 mL	
	0.01	38 mL	
	0.1	38 mL	
Esherichiacoli	0.08	36 mL	
	0.05	38 mL	
	0.01	41 mL	
	0.1	42 mL	
Staphylococcus	0.08	22 mL	
	0.05	20 mL	
	0.01	17 mL	
	0.1	13 mL	

9.3. المستخلص الحمضي للأوراق

أظهرت النتـائج بـالجـدول (9) أن للمســتخلص تـأثير جليـا على نمو النوعين الأولين *Klebsiella, Esherichiacoli* فقـد تراوح التـأثير بين 30 و40 مـل على عكس *Staphylococcus* التي كانـت مقـاومـة للمستخلص بشكل واضح.

جدول 9. نتائج معاملة البكتيريا بالمستخلص الحمضي للأوراق

البكتيريا	تركيز المستخلص	قطر منطقة التثبيط	أطباق بتري
Klebsiella	0.08	40 mL	
	0.05	32 mL	
	0.01	38 mL	
	0.1	32 mL	
Esherichiacoli	0.08	40 mL	
	0.05	37 mL	
	0.01	35 mL	
	0.1	30 mL	
Staphylococcus	0.08	Resistance	
	0.05	Resistance	
	0.01	Resistance	
	0.1	Resistance	

10.3. نتائج تأثير المضادات الحيوية شائعة الاستعمال على البكتيريا المختبرة

يبين الجدول (10) تأثير المضادات الحيوية الشائعة الاستعمال على البكتيريا المختبرة.

جدول 10. تأثير المضادات الحيوية الشائعة على البكتيريا المختبرة

البكتيريا / المضاد الحيوي	*Klebsiella*	*Esherichiacoli*	*Staphylococcus*
Amikacine	Resistance	25 mL	26 mL
Cibrofloxacin	Resistance	30 mL	25 mL
Ceftraxone	Resistance	Resistance	24 mL
Erythromycin	Resistance	Resistance	26 mL
Gentamycin	10 mL	18 mL	20 mL
Imipenen	12 mL	40 mL	35 mL
Vancomycin	10 mL	11 mL	20 mL
Clindamycin	Resistance	Resistance	20 mL

4. الاستنتاجات

من خلال نتائج الدراسة الحالية نستنتج ما يلي:

- نبات الحرمل مليء بالمواد الكيميائية ذات التأثير المثبط لأنواع مختلفة من البكتيريا.

- إن استخدام مذيبات متعددة يساعد على استخلاص مواد فعالة متنوعة ذات تأثير مباشر على البكتيريا.
- إن المضادات الحيوية شائعة الاستعمال والمستخدمة في المراكز الطبية لعلاج المرضى لا تؤدي دورا كبيرا في القضاء على الكائن الممرض ومن الممكن مقاومة البكتيريا لها أو اكتسابها مناعة ضدها بسبب تأثيرها الضعيف على عكس مستخلصات نبات الحرمل التي أثبتت الدراسات على أنها الأشد فتكاً بها، بل ومن الممكن المضي قدما في تصنيع مضادات حيوية ذات تأثير أعلى وتكلفة أقل.

المراجع

أولا: قائمة المراجع باللغة الإنجليزية

Harborn .J.B. (1984) . Phytochemical methods a guide to modern techniques of plants analysis. 2nd ed., Chapman and Hall.

Paris, S., Boisvieux-Ulrich, E., Crestani, B., Houcine, O., Taramelli, D., Lombardi, L., & Latge, J. P. (1997). Internalization of Aspergillus fumigatus conidia by epithelial and endothelial cells. Infection and immunity, 65(4), 1510-1514.

ثانيا: قائمة المراجع باللغة العربية

جازع، صالح حسن؛ عبد الحميد، ديانا باسم (2012). التأثير التثبيطي للمستخلص المائي والكحولي لأوراق نباتي الحرمل وعين البزون في البكتيريا *Staphylococcus aureus*. *مجلة أبحاث ميسان*، 8(16).

الخزرجي، عبد الجبار عبد الحميد؛ عبد المجيد، كلبوي؛ عباس، أمير خضير؛ غفوري، سهيلة؛ تويج، مؤيد عبد الصاحب (2013). التأثير التثبيطي للمستخلص المائي لبذور الحرمل في نمو بعض أنواع البكتيريا المرضية. *مجلة العلوم الزراعية العراقية*، 44(2)، 234-240.