تأثير المستخلصات الميثانولية الخام لبعض النباتات ضد بعض البكتيريا السالبة الممرضة

The Effect of different crude methanolic extracts against some gram negative pathogenic bacteria

حسين علي فرحان

قسم التقنيات الأحيائية , كلية العلوم / جامعة بغداد

Hussien Ali Farhan

Biotechnology Dep. College of Science, Baghdad University

المستخلص:

أجريت هذه الدراسة لتقدير التأثير التثبتي لمستخلصات الخام (الميثانولية) لقشور الرمان ، *Punica granatum* و أوراق النعناع *Mentha longifolia* والزيتون *Olea eurpeae* على عزلات مختلفة من البكتيريا الممرضة السالبة لصبغة كرام متمثلة بـ *Pseudomonas aerugenosa* ، *Serratia marcesens* ، *Escherichia coli* ، *Proteus vulgaris* ، *Klebsiella pnemunoniae* إذ استخدمت طريقة الانتشار بالحفر لمعرفة القدرة التثبتيية للمستخلصات أعلاه تجاه النمو البكتيري . أظهرت النتائج وجود تباين في تحسس الأنواع البكتيرية إذ لوحظ أن بكتيريا *Pseudomonas aerugenosa* أكثر تحسناً للمستخلصات الميثانولية لجميع النباتات عند تركيز (25,50) ملغم / مليلتر . بينما لم يبين أي من الأنواع البكتيرية استجابة لمستخلصي النعناع والرمان عند تركيز 10 ملغم/مليلتر باستثناء بكتيريا *E. coli* ، *Pseudomonas aerugenosa* التي تثبط نموها فقط بمستخلص الزيتون كانت القابلية التثبتيية له أقل عند تركيز 10 ملغم / مليلتر .

Abstract

This present study was conducted to evaluated the antibacterial activity of crude extracts (Methanolic) of *punica granatum peel*, *Menthe longifolia* and *Olea eurpeae* leaves against some gram negative bacteria like *Pseudomonas aerugenosa*, *Serratia marcesens*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Klebsiella pnemunoniae*. The Agar-well diffusion was used to know the ability of inhibitory of crude extracts against bacteria. Results showed different susceptibility response of bacteria under study. It was observed that *Pseudomonas aerugenosa* the most susceptible to Methanolic extracts to all plants in (25, 50) mg/ml⁻¹ concentrate. While the bacterial strains shown no responding against mint and pomegranate extracts in 10 mg/ml⁻¹ except *Pseudomonas aerugenosa* and *Escherichia coli*, was inhibited with Olive extracts only. That ability to inhabitation less in concentrate 10 mg ml⁻¹.

المقدمة

استخدمت العديد من المضادات الحيوية التقليدية في معظم دول العالم ومنها العراق , حيث جربت بطرق أساسية وينسب ثابتة , وعلى الرغم من تلك النجاحات الكبيرة التي قدمتها ونتيجة لتفاقم مشكلة مقاومة المضادات الحيوية بدء الاهتمام بدراسة وتنمية النباتات الطبية وعلى نطاق واسع وذلك باعتبارها مصدرا رئيسيا لمركبات الايض الثانوية أفعالها واستخدامها مصدرا بديلا في معالجة الكثير من الأمراض المعدية ولذلك فإن استخدام المستخلصات النباتية تعد ذات فائدة رئيسية وملحوظة بمركباتها الفعالة الجديدة ضد العديد من البكتيريا المقاومة إذ إن النباتات المستخدمة في هذه الدراسة معروفا بتداولها كغذاء بشكل مباشر وغير مباشر وأهميتها للإنسان إذا جاء اختيار النباتات الثلاثة كونها من النباتات الواسعة الانتشار في العراق إضافة إلى كون نباتي الزيتون والرمان مذكورة في القرآن الكريم في أكثر من آية كريمة قال تعالى بسم الله الرحمن الرحيم "وهو الذي أنزل من السماء ماء فأخرجنا به نبات كل شيء فأخرجنا منه خضرا نخرج منه حبا متراكبا ومن النخل من طلعها قنوان

دانية وجنات من أعناب والزيتون والرمان مشتبه وغير متشابه. انظروا إلى ثمره إذا أثمر وينعه إن في ذلكم لآيات لقوم يسمعون " (الأنعام 99) وبلا شك إن أي نبات يذكر في كتاب الله بلا شك هو ذو فائدة جمة للبشر في حين تم اختيار هذه السلالات البكتيرية السالبة لصبغة كرام كون هذه السلالات تمتاز بكونها أكثر مقاومة لمستخلصات النباتية والمضادات الحيوية من السلالات الموجبة لصبغة كرام ولهذا السبب تتركز الدراسة على إيجاد مستخلصات لها القدرة على اختراق مركباتها الفعالة لجدرانها الخلوية وبالتالي تثبيط عمل البكتيريا أو قتلها وكما مبين ادناه [1] .

1. نبات النعناع

يعتبر النعناع *Mentha longifolia* من النباتات التي اختريت لانتشارها في العراق إذ إن الأجزاء المستعملة هي الأوراق القمة الزهرية الجافة للنبات حيث تمتاز باحتوائها على زيت طيار بنسبة 1% ومادة Menthol إذا يتكون الزيت (50-78) % منها بالإضافة إلى مواد تربينية مثل Pinene ، Methone ومواد فلافونويدية وقلويدية كذلك تحتوي أوراق النبات على مواد راتنجية وتانينات [2] ، أكدت الدراسات امتلاك أوراق النعناع الفعالية في مقاومة أنواع مختلفة من البكتيريا السالبة المدروسة في البحث وكذلك الموجبة لصبغة كرام بينما فوائده تستخدم العشبة والأوراق بشكل خاص في معالجة النزلات الصدرية وآلام الصدر ومعالجة الأم المعدة وسوء الهضم بحيث يحضر مسحوق أوراق النعناع كشاي يمتاز بهضمه الحامضي في المعدة ودوره المهم كطارد الرياح ومقوي عام ومعالجة الصداع [3] .

2. نبات الزيتون

يعتبر الزيتون *Olea europeae* من النباتات المعروفة في إنتاج الزيوت الصالحة لاستهلاك البشري إذ ا يحتوي زيت الثمرة والأوراق على العديد من المواد الفعالة المهمة في معالجة الكثير من الأمراض مثل مادة Oleuropein و linolin و Oleanic acid فضلاً عن احتواء الأوراق على المركبات الفينولية والكلايكوسيدات والفلافونيدات، في حين وضحت الدراسات السابقة امتلاك أوراق الزيتون فعالية تجاه نفس السلالات المدروسة أما فوائده فتعد مادة ملينة ومسهلة ومهدئة إضافة إلى استخدامه في معالجة الصفراء يعد كذلك مادة مطهرة للعديد من البكتيريا والفطريات والطفيليات و خافضة للحرارة ومدر جيد للبول [4] .

3. نبات الرمان

يعتبر نبات الرمان *Punica grantaum* من النباتات الواسعة الانتشار في العراق والوطن العربي وأثبتت الدراسات أن كل 100 غم من بذور الرمان (0,7 غرام دهون و0,5 غرام رماد 2% ألياف 8,2-19,7 سكريات و10 ملغم كالسيوم و22 ملغم فسفور و0,6 حديد و8 ملغم فيتامين C 81,3 % ماء و0,8 بروتين) ، ولوحظ أن جميع أجزاء النبات تحوي على التانينات من نوع Gallotannins كما تم عزل أربع أنواع من القلويدات من قشور الرمان أشهرها pelletierine والذي يسمى punicine إضافة إلى الفلافونويدات والمركبات الفينولية ، أما فوائده الطبية يستخدم قشور الرمان لطرد الطفيليات وفي علاج الاسهال والذئب وفي مقاومة الجراثيم البكتيرية ويستخدم دخان القشور والسيقان والجذور كطارد مفيد للحشرات إذا أظهرت العديد من الأبحاث قابلية ثمار الرمان الجافة قدرتها على تثبيط وكبح نمو الأنواع البكتيرية السالبة والموجبة لصبغة كرام [2 ، 5] .

المواد وطرائق العمل

جمع العزلات البكتيرية

تم الحصول على العزلات البكتيرية المختبرة والمشخصة من مختبر الأحياء المجهرية التابع لقسم التقنيات الاحيائية كلية العلوم /جامعة بغداد ومركز بحوث التقنيات الاحيائية /جامعة النهرين .

جمع العينات النباتية

تم جمع حوالي 250 غم من أوراق نباتي النعناع والزيتون من الحدائق المنزلية أما قشور الرمان فحصل عليها من السوق المحلية نظفت العينات من الاتربة المتعلقة بها ونشرت في المختبر وبدرجة حرارة الغرفة حتى الجفاف أما قشور الرمان فأخذت جافة وبعدها طحنت بمطحنة نظيفة. تم تصنيف النباتات في قسم علوم الحياة كلية العلوم جامعة بغداد .

الاستخلاص**الاستخلاص الكحولي (الميثانولي)**

تم إجراء عملية الاستخلاص وفقا لما ورد في [6] إذا نعتت 50 غم من مسحوق قشور الرمان و أوراق النعناع والزيتون الجافة في 250 مل من الكحول الميثانولي 80% لمدة 24 ساعة كلا على حده .
ثم أجريت عملية الاستخلاص لمدة 8 ساعات في جهاز الاستخلاص المستمر السوكسليت (soxhlate) وبعدها رشت جميع المستخلصات باستخدام ورق ترشيح وإتامن رقم واحد ثم ركزت باستخدام المبخر الدوار Rotary evaporator للحصول على مستخلص ميثانولي مركز بوزن (3.5 , 4.8 , 5.5) غم على التوالي وحضت لحين الاستخدام وحضرت منها التراكيز (10، 25، 50) ملغم/مليتر باستخدام الماء المقطر . عقم المستخلص بورق ترشيح (0.2µm) .

الكشف الكيميائي:

تم دراسة الكشوفات التمهيدية عن المركبات الكيميائية التي يحتمل وجودها في المستخلصات الميثانولية لقشور الرمان وأوراق النعناع والزيتون وكما يأتي:-

الكشف عن الكلايكوسيدات

اتبعت طريقة كاشف كيد ألوارد في [7] كشف عن الكلايكوسيدات والذي يعطي لون ازرق البنفسجي في حالة الفحص الايجابي .

الكشف عن الفلافونات

اعتمدت الطريقة الواردة في [8] الذي يظهر اللون الأصفر دليل على ايجابية الفحص .

الكشف عن الراتنجات

تبعت الطريقة المذكورة في [9] لكشف عن الراتنجات والتي يكون فيها عكوره دليل على وجود المواد الراتنجية

الكشف عن التانينات

اتبعت الطريقة الواردة في [10] أذان ظهور اللون الأخضر المزرق دليل على وجود التانينات .

الكشف عن الصابونينات

اعتمدت الطريقة الواردة [9] الاستدلال على وجود الصابونينات بظهور رغوة كثيفة تبقى لفترة طويلة .

الكشف عن القلويدات

تم الكشف عن القلويدات حسب طريقة [11] وذلك باستخدام كاشف دراجندروف الذي يكون راسب برتقالي عند الكشف الايجابي .

الكشف عن الزيوت الأساسية

اعتمدت الطريقة الكشف عن الزيوت الأساسية كما ورد في [12] حيث يدل اللون الوردي البراق على وجود الزيوت الأساسية .

الكشف عن الفينولات المتعددة

حسب ما ورد في [7] إذ أن ظهور اللون الأحمر يدل على الكشف الموجب .

تقدير الفعالية التثبيطية لمستخلصات أوراق النعناع والزيتون وقشور الرمان تجاه البكتريا المختبرة:

حضرت التراكيز النهائية لمستخلصات النعناع والزيتون والرمان وكانت (10 , 25 , 50) ملغم / مليتر إذ استعمل الماء المقطر لتحضير التراكيز . استخدمت طريقة الانتشار بالحفر Agar-well diffusion method لملاحظة تأثير المستخلصات تجاه البكتريا , تم اختبار الفعالية التثبيطية لمستخلصات النباتية كما ورد في [13] بإضافة 0,1 مل من عالق البكتريا , *Serratia marcesens* , *Pseudomonas aeruginosa* , *Escherichia. coli* , *Proteus vulgaris* , *Klebsiella pnemunoniae* بالمحلول الفسيولوجي إلى طبق الأكار التحضيري ثم نشرت على سطح الطبق وعملت أربعة حفر في كل طبق , قطر كل حفرة 6 ملم بواسطة ثاقب الفلين وأضيف لكل حفرة 0.1 مل من المستخلصات مع بقاء حفرة كسيطرة تحتوي على الماء المقطر المعقم فقط وبعدها حضنت الأطباق بدرجة حرارة 37 مئوية ولمدة 18-24 ساعة , حددت الفعالية للمستخلصات بقياس معدل قطر مناطق التثبيط بواسطة المسطرة بالملم وتم عمل ثلاثة مكررات لكل تركيز .

التحليل الإحصائي

حللت النتائج بالاعتماد على المقارنات المتعددة بين المعادلات المعاملات أداخه في التجربة التامة التعشيه (CRD) complete randomized design وحللت النتائج باستخدام اختبار Duncan متعدد الحدود لإيجاد الفروقات بين المعاملات وحساب الاختلافات المعنوية بينها وعند مستوى 0.05 كما ورد في [14] .

النتائج والمناقشة:

الكشف الكيميائي

جدول (1) : يوضح نتائج الكشف العام عن المركبات الكيميائية الفعالة في المستخلصات الكحولية لأوراق النعناع والزيتون وقشور الرمان

المكونات الفعالة	مستخلص أوراق النعناع	مستخلص أوراق الزيتون	مستخلص قشور الرمان
الكلوكوسيدات	+	+	+
التانينات	+	+	+
الزيوت الطيارة	+	+	+
الفلافونيات	+	+	+
الصابونينات	-	+	+
متعدد الفينول	+	+	+
الراتنجيات	+	+	+
القلويدات	+	+	+

يبين جدول (1) احتواء النباتات المدروسة على اغلب مركبات الايض الثانوي الفعالة كافة عدا الصابونينات في مستخلص أوراق النعناع كانت نتيجة الكشف سلبية .

1. تقدير الفعالية التثبيطية لمستخلص أوراق النعناع *Mentha longifolia* في نمو العزلات البكتيرية

بينت نتائج التحليل الإحصائي وجود فروقات معنوية عند معاملة بكتريا *P. areugenosa* بمستخلص أوراق النعناع بين تركيزي (25، 50) ملغم/ مل ، و الذي بلغ قطر التثبيط (14.00 ، 18.3) ملم على التوالي مقارنة مع السيطرة البالغ 6 ملم في جميع العزلات بينما أدت معاملة بكتريا *K. pnemononia* بمستخلص النعناع عند تركيزي (25، 50) ملغم/ مل ، إلى وجود فروقات معنوية فيما بينها إضافة إلى السيطرة ولوحظ وجود فرق معنوي أعلى عند التركيز 50 إذا بلغ قطر التثبيط 14.67 ملم مقارنة مع السيطرة ، في حين كانت معاملة بكتريا *E.coli* ، *S. marscens* ، بينت وجود فروق معنوية مشتركة بين تركيزي (25 ، 50) مع السيطرة البالغ 6ملم إذا بلغ قطر التثبيط 10.33 ملم في حين لم تسجل بكتريا *P. vulgaris* أي تحسس وتأثر بأي من التركيز الكحولية كما موضح في جدول (2) .

جدول (2): تأثير مستخلص أوراق النعناع في نمو العزلات البكتيرية السالبة لصبغة كرام المختبرة المقاس بالمليمتر (SE ± Mean)

المستخلص	التركيز ملغم/مل	<i>P.aerugenosa</i>	<i>K.pnemononia</i>	<i>E.coli</i>	<i>P.vulgaris</i>	<i>S.marscens</i>
النعناع	25	a 14.00 ± 3. 51	a 11.33 ±0.66	a6.33±0.33	a 6.00±0.00	a 6.67±0.00
	50	a 18.33±1.453	b 14.67±0. 882	b10.33±0.66	a 6.00±0.0 0	b 10.33±0.66
	control	b 6.00±0.00	c 6.00±0.00	a6.00±0.00	a 6,00±0.00	a 6.00±0.00

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

* الحروف الصغيرة المختلفة تعني وجود فروق معنوية بين التراكيز عند مستوى احتمالية (0.05) في الصف الواحد كل على حدة.

2. تقدير الفعالية التثبيطية لمستخلص أوراق الزيتون *Olea Europea* في نمو العزلات البكتيرية

أظهرت نتائج معاملة كل من بكتريا *P. areugenosa* ، *K. pnemononiae* وجود فروقات معنوية كبيرة بين تركيزي 50، 25 ملغم/ مل اذا بلغت 15.33 ملم مقارنة مع السيطرة البالغة 6 ملم ، في حين أظهرت معاملة بكتريا *E. coli* و *S. marscens* نفس الفروقات المعنوية بين تركيزي (25، 50) ملغم/ مل مع بعضها ومع السيطرة بلغ قطر التثبيط عند تركيز 50 ملغم/ مل لعزلتين على التوالي هو (9.33، 10) ملم مقارنة مع السيطرة البالغ 6 ملم ، بينما لوحظت الفروقات المعنوية في بكتريا *P. vulgaris* بين التركيز 25 ملغم/ مل مع كل من التركيز 50 ملغم/ مل والسيطرة حيث بلغت قطر التثبيط 10.33 ملم مقارنة مع السيطرة البالغ 6ملم وكما مبين في جدول (3) .

جدول (3) :تأثير مستخلص أوراق الزيتون في نمو العزلات البكتيرية السالبة لصبغة كرام المختبرة المقاس بالمليمتر (SE $\pm$) (Mean)

المستخلص	التركيز ملغم/مل	<i>P.aerugenosa</i>	<i>K.pneumoniae</i>	<i>E.coli</i>	<i>P.vulgaris</i>	<i>S.marscens</i>
الزيتون	25	a 15.33 $\pm$ 0.66	a 13.67 $\pm$ 0.66	a 8.00 $\pm$ 0.00	a 10.33 $\pm$ 0.33	A 7.00 $\pm$ 1.00
	50	a 15.33 $\pm$ 1.85	a 15.33 $\pm$ 0.88	b 10.00 $\pm$ 1.00	b 6.00 $\pm$ 0.00	B 9.33 $\pm$ 0.33
control		b 6.00 $\pm$ 0.00	b 6.00 $\pm$ 0.00	c 6.00 $\pm$ 0.00	b 6.00 $\pm$ 0.00	C 6.00 $\pm$ 0.00

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

*الحروف الصغيرة المختلفة وجود فروقات معنوية بين التراكيز عند مستوى احتمالية (0.05) في الصف الواحد كل على حدة.

3.تقدير الفعالية التثبيطية لمستخلص قشور الرمان *punica granataum* في نمو العزلات البكتيرية أدت معاملة العزلات البكتيرية إلى وجود فروقات معنوية أعلى من ناحية التأثير المستخلصات على تثبيط النمو وهذا ما دل عليه التحليل الإحصائي جدول (4) , فقد وجد أن كل الأنواع (*P. aerugenosa*, *E. coli*, *P. vulgaris*, *S. marscens*, *K. pneumoniae*) لها فروقات مع بعضها بين تركيزي (25، 50) وممع السيطرة فقد بلغ قطر التثبيط عند التركيز 50 ملغم/ مل هي (13,18,18.33,21) ملم مقارنة مع السيطرة البالغ (6) ملم , أما بكتريا *P. vulgaris* فلم تكن هناك فروقات معنوية بين التركيز (25) والسيطرة بينما كانت هناك فرق معنوي إذ بلغ قطر التثبيط 9.33 عند التركيز 50 ملغم/ مل .

جدول (4) :تأثير مستخلص قشور الرمان في نمو العزلات البكتيرية السالبة لصبغة كرام المختبرة المقاس بالمليمتر (SE $\pm$) (Mean)

المستخلص	التركيز ملغم/مل	<i>P. aerugenosa</i>	<i>k.pneumoniae</i>	<i>E.coli</i>	<i>P.vulgaris</i>	<i>S.marscens</i>
الرمان	25	a 20.00 $\pm$ 0.00	a 16.67 $\pm$ 0.33	a 15.33 $\pm$ 0.88	a 6.00 $\pm$ 0.00	a 11.33 $\pm$ 0.33
	50	b 21.33 $\pm$ 0.88	b 18.33 $\pm$ 0.66	b 18.00 $\pm$ 1.52	b 9.33 $\pm$ 0.33	b 13.00 $\pm$ 1.15
control		c 6.00 $\pm$ 0.00	c 6.00 $\pm$ 0.00	c 6.00 $\pm$ 0.00	a 6.00 $\pm$ 0.00	c 6.00 $\pm$ 0.00

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

*الحروف الصغيرة المختلفة وجود فروقات معنوية بين التراكيز عند مستوى احتمالية (0.05) في الصف الواحد كل على حدة.

إما بالنسبة لمستخلصات أوراق النعناع وقشور الرمان في التركيز 10 ملغم/ مل فأظهرت النتائج عدم وجود أي تأثير لأنواع البكتيرية بها . بينما تأثرت كل من بكتريا *P. aerugenosa* و *E. coli* في التركيز 10 ملغم/ مل إذا بلغ معدل قطر التثبيط (8، 9) ملم على التوالي مقارنة بالسيطرة البالغ 6 ملم .

شكل (1): يوضح العلاقة بين السلالات البكتيرية وقطر التثبيط الناتجة من تأثير المستخلصات عند تركيز 25 ملغم/مل

شكل (1) يبين أن أفضل المستخلصات بقدرتها على التثبيط هو مستخلص أوراق الزيتون ضد نمو الأنواع البكتيرية عند التركيز 25 ملغم/ مل . إذا كانت بكتريا *P. aerugenosa* أكثر تحسنا وبعدها بكتريا *K pneumoniae* وكانت بكتريا *P. vulgaris* أقلها تحسنا تجاه المستخلصات باستثناء مستخلص الزيتون فيما كان مستخلص أوراق النعناع أقلهم تأثيرا على العزلات البكتريا .

شكل (2): يوضح العلاقة بين السلالات البكتيرية وقطر التثبيط الناتجة من تأثير المستخلصات عند تركيز 50 ملغم/مل

أن شكل (2) يبين إن أفضل المستخلصات بقدرتها هو قشور الرمان ضد نمو الأنواع البكتيرية عند التركيز (50) ملغم/مل إذا كانت بكتريا *P. aeruginosa* أكثر تحسسا وبعدها بكتريا *K. pneumoniae* وكانت بكتريا *P. vulgaris* مستخلص أقلها تحسسا تجاه المستخلصات باستثناء مستخلص الرمان .

جدول (2, 4) أظهرت نتائج التحليل الإحصائي لمستخلصي أوراق النعناع وقشور الرمان على التوالي وجود علاقة طردية بين التركيز وقطر منطقة التثبيط مع وجود فروق معنوية أعلى في مستخلص قشور الرمان , بينما جدول (3) بين التحليل الإحصائي وجود هذه العلاقة الطردية عدا بكتريا *P. vulgaris* /إن كان تركيز 25 ملغم/مل هو الأفضل معنويا عليها من التركيز 50 ملغم/مل . ومن هذا بينت أن لجميع المستخلصات لها قابلية على تثبيط الأحياء المجهرية المدروسة بصورة متفاوتة , ويعزى السبب الرئيسي لقدرة المستخلصات لاحتوائها على مدى واسع من مركبات الايض الثانوية الفعالة المذكورة في جدول (1) فالفلانويدات مثلا تعزى فعاليتها تجاه البكتريا لقابليتها في تكوين مركب معقد مع بروتينات الخلية الذائبة وتتراكم مع جدار الخلوي لبكتريا وكذلك الحال مع القلويدات حيث تعمل على التداخل مع DNA الخلية , بينما تعمل التانينات والمركبات الفينولية على تثبيط عمل الأنزيمات والبروتينات الناقلة أما الصابونينات تتداخل مع الأغشية الخلوية وبالأخص مع ستيرولات الغشاء الخلوي وتعمل على تحليل الخلايا الحية [1, 15] .

وبهذا الصدد ذكر العديد من الباحثين في مجال النباتات الطبية المدروسة تجاه البكتريا المرضية فقد أوضح [16] أن مادة المنثول Menthol وزيت النعناع الموجود في الأوراق لها قابلية متوسطة في التأثير في الأنواع المختلفة من البكتريا السالبة مثل *S. marcesens* , *E. coli* , والموجبة لصبغة كرام مثل *Streptococcus* , *S. pyrogen arueus* . في حين وجد [17] امتلاك مستخلص أوراق النعناع على خصائص مضادة قوية تجاه الأنواع البكتيرية ومنها السالبة لصبغة كرام مثل *P. aeruginosa* , *P. aureus* , *S. marcesens* يعود إلى احتوائها على الكلايكوسيدات وقلويدات إضافة إلى الفلافونيات والزيوت الطيارة . إن نتائج هذه الدراسة تتفق إلى حد بعيد إلى ما توصل إليه [17] .

في حين ذكر [8, 1] إن المركبات الفينولية الفلافونيدية ولكلايكوسيدية الموجودة في أوراق الزيتون لها التأثير الفعال ضد العديد من البكتريا السالبة لصبغة كرام *E. coli* , *K. pneumoniae* , *P. aeruginosa* والموجبة *B. subtilis* , *Staphylococcus aureus* . بينما وجد [19] أن حامض Olenolic acid ومركب الأوليروبين يمتلك خصائص مضادة وقاتلة لبكتريا حيث يحطم الأوليروبين داخل خلايا البكتريا لإنتاج Olenolic acid المعروفة بفعاليتها تجاه الأحياء المجهرية والذي يخترق الخلايا المضيفة مسببه تثبيط عملية تضاعفها وبالتالي تثبيط نموها وإن هذه النتائج تتفق إلى مذكورة [18, 19] .

وجد [20] إن التانينات الموجودة في القشور والثمار والسيقان وهي من نوع gallotannins إذ تشكل حوالي 25% من مكوناته إضافة إلى القلويدات والمسمى بـ punicine الدور الرئيس في تثبيط نمو البكتريا من خلال تغير طبيعة بروتينات البكتريا وبالتالي قتلها , من خلال استخدام المستخلصات الميثانولية لقشور وثمار الرمان لها فعالية اتجاه أنواع بكتيرية مختلفة مثل *P. aeruginosa* , *S. aureus* , *E. coli* وبعض البكتريا المرضية

التي تصيب الأمعاء *Salmonella.typhi, shigelle . paradysentria* بينما [21] بين أن لهذه المستخلصات القدرة على تثبيط نمو أنواع أخرى مثل *P. vulgaris* , *B. subtilis* وان نتائج هذه الدراسة تتفق إلى ما ذكره وتوصل إليه كل من [21,20] .

المصادر

1. Al-bayati,f.A and Almola .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. قطب . فوزي طه . (1981) النباتات الطبية زراعتها ومكوناتها , دار المريخ للنشر , الرياض , المملكة العربية السعودية .
3. Essawi,T;sour,M.(2000):screening of some plestian medicinal plants for antibacterial activity .J.Ethanopharmacol,70:343-349
4. Markin,D;Duke,L.;Berdicevsky(2003),I. In vitro antimicrobial activity of Olive Leaves .Mycoses ,46,132-136
5. Machado, T.B,. Leal, C.R., Amerl, A, C. F., Santos, K.R.N., silva, M.G. and Kuster, R.M.(2002) :Antimicrobial ellagitannin of *Punica granatum* fruits. Journal of Brazilian Chemical Society, 13; 606-610
6. Harborn, V. B.(1973) phytochemical methods, A guide modern techniques of plant analysis. Chapmen Hall. London.
7. الشحات, نصر ابوزيد ,1986,النباتات والإعشاب الطبية.دار البحار .بيروت
8. Jaffer, H.L; Mahmed M. j ; jawad. A.M; naji. A. and Alnaib. A. 1983. phytochemicaland biological screening of some Iraqi plant . fitoterapia. Pp. 299.
9. Shihata,I.M.(1951): A pharmacological study of *Anagllis arvensis* .Msc.thesis Faculty of vet. Med. Cairo University Egypt.
10. دلالي , ياسل كامل والحكيم ,صادق حسن 1987,تحليل الأغذية .مطبعة دار الكتب .جامعة الموصل.
11. Fahmy,I.R.(1933).constituents of plant crude drug .1st.Ed Barby.Cairo.
12. Hand,S.S,Mandkinajedd,D and Man gal .A.K .(1998).Indian Herbal pharmacopoeia ,vol 1 .pub India drug manufactures Assoc and Regional res. Mumbi.
13. Perez , c ; pauli ;M ; Bazerque , P ;(1990) :Antibiotic assay by ager well diffusions method , A ct boil.med.Exp,15;113-115.
14. الساهوكي ,مدحت و وهيب ,كريمة محمد , 1990 . تطبيقات في تصميم وتحليل التجارب .مطبعة دار الحكمة لطباعة والنشر,الموصل.
15. Naida,A.S.bidlack;W.R. and Crceline ,(2000). hytoantimicrobials in :natural food Antimicrobial System Aidu , A.S .eds, CRC New York, 325-417.
16. Diaz,R; Quevedo-Sarmiento ,j; Ramos-cormenzana ,A;Cabo, j .(1988): phytochemical and antibacterial screening of some spiecies of Spanish Lamiaceae. Fitoterapia, 59:330-333.
17. Bupesh,G; Amutha,C;Nandagopal,S; Ganeshkumar,A.; Sureshkumar, P; Saravana mural,K. (2007): Antibacterial activity of *Mentha pipertal* (peppermint) from leaf extract-a medicinal plant J. Agriculture Slovenian.1 (89) 73-79.
18. Pereir -Ana, p; Ferreira, c.F.R;Isabel, Marcelino, f. Valentao, p ; Andrade. p. b; seabra,R. Estevinho; bento,A and pererira,j.A.(2007) Phenolic compounds and antimicrobial activity of Olive Leaves .j.Molecules. 12,1153-1162.

19. ALazzawy Hassan (2004), Biochemical and Biological studies on *Oleuropein* and its Hypoglycemic Effect ,A thesis submitted to Department of chemistry college of science of Baghdad university.
20. Pradeep,B.V,Manojbaba,M.k; and Palaniswamy,M.(2008): Antibacterial Activity of *Punica granatum* L. against Gastro Intestinal Tract Infection Causing Organisms .j. *Ethnobotanical Leaflets*. 12: 1085-89..
21. Prashanth, D., Asha, M.K., Amit, (2001):A. Antibacterial activity of *Punica granatum*. *Fitoterapia*, 72; 171-173.