

دراسة الفعالية الحيوية للمستخلص المائي لنبات الداتوره *Datura stramonium* L. المشع بالأشعة فوق البنفسجية U.V تجاه نمو بعض الاجناس البكتيرية المرضية.

ابراهيم جليل ابراهيم

جامعة الانبار - كلية العلوم

E-mail: IBRAHEEM_ANBAR_1975@yahoo.com

الكلمات المفتاحية: الداتوره، المستخلص المائي، البكتيريا، التشعيع، الأشعة فوق البنفسجية.

تاريخ القبول: ٢٠١٠/١٠/٧

تاريخ الاستلام: ٢٠١٠/٣/١٧

المستخلص:

تم دراسة فعالية المستخلص المائي لأوراق نبات الداتوره *Datura stramonium* L. قبل وبعد تشعيع المستخلص للأشعة فوق البنفسجية للأطوال الموجية 254nm، 365nm وللمدد الزمنية ساعة واحدة وساعتين وثلاث ساعات، على بعض العزلات البكتيرية المرضية ل-الهيدروجيني. أظهرت الدراسة تغيرات غير محسوسة في التوصيلية الكهربائية للمستخلص المشع بالطول الموجي 254nm والطول الموجي 365nm وأما قيمة الأس الهيدروجيني فأظهرت تغيرات ايضا غير محسوسة عند الطول الموجي 365nm أما الطول الموجي 254nm فكانت التغيرات واضحة، كما أظهرت دراسة الفعالية الحيوية عدم حساسية المستخلص قبل وبعد التشعيع ليكتريا *Escherichia coli*، *Staphylococcus aureus*، *Pseudomonas aeruginosa* إلا انه اظهر حساسية ليكتريا *Escherichia coli* قبل التشعيع أما بعد التشعيع اختفت حساسيته عند الطول الموجي 254nm اما عند الطول الموجي 365 nm فلم يظهر أي تغير محسوس .

STUDY THE BIOLOGICAL ACTIVITY FOR WATER EXTRACT OF *Datura stramonium* L. PLANT RADIATED BY ULTRAVIOLET RAY TO GROWTH OF SOME BACTERIAL PATHOGENIC GENISES

Ibraheem Jaleel Ibraheem

University of Anbar – College of Science

Key Words: *Datura* , aqueous extract , Bacteria , Irradiating , Ultraviolet ray .

Received:17/3/2010

Accepted:7/10/2010

Abstract:

This study is about the effectiveness of aqueous extract of *Datura stramonium* L. plant leaves before and after the irradiating of the extract by Ultraviolet for wave lengths (254nm , 365nm) and for periods of time, one hour, two hours and three hours, on some pathogenic bacterial isolation for *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* and measuring the change in electrical conductivity and hydrogenous exponent (PH).The study showed non-significant changes in the electrical conductivity of the irradiated extract by Wave length (254nm) and (365nm). The hydrogenous exponent, also, showed non-significant changes at wave length (365nm), while the changes were obvious at wave length (254nm).

The study of vital effectiveness showed the unsensitivity of the extract before and after irradiation against bacteria , *Pseudomonas aeruginosa* , *Staphylococcus aureus*, but it showed the sensitivity against bacteria , *Escherichia coli* before irradiation, but the sensitivity disappeared after the irradiation at a wave length (254nm), either when Wave length of (365nm) did not show any significant change.

استخدمت للعلاج قبل اكتشاف معظم العلاجات لحديثة كالمضادات الحيوية والهرمونات المستعملة حاليا في الطب الحديث (درويش، ١٩٨٤) ومن هذه النباتات المستعملة نبات الداتوره *Datura stramonium* L. وهو عشب معمر يزرع على انه حولي وقد يكون شجيري يصل أحيانا إلى ارتفاع قدره 2.5 م ويتصف بأوراق تكون معنقة بيضوية الشكل غير متساوية القاعدة طولها يتراوح بين ٨-١٤ سم وعرضها ٤-٧ سم حادة

المقدمة:

كانت المركبات الثانوية ذات أهمية خاصة للإنسان في مكافحة الآفات لزم طويل حيث تم استخدام أجزاء نباتية مختلفة شملت الأزهار والأوراق والثمار والبذور لبعض النباتات الحولية على مركبات سامة أو قاتلة أو طارده (قريشي، ١٩٩٠) اعتمد الطب الحديث على النباتات الطبية الطبيعية منها والمستزرعة والتي

وأيلول من حدائق جامعة الانبار في مرحلتي التزهير وتكوين الثمار. جمعت عينات الأوراق وجففت وطحنت ووضعت في أكياس نايلون سجل عليها اسم الجزء النباتي ومكان ووقت العينة وحفظت في المجمدة لحين الاستعمال. تم تشخيص النبات في المعشب الوطني / أبو غريب. ومعشب كلية الزراعة / جامعة بغداد، قسم المحاصيل الحقلية التابع لكلية نفسها. وتم الحصول على العزلات البكتيرية المرضية من كلية العلوم / جامعة الانبار ولقد تم التأكد منها من خلال تشخيصها بواسطة الفحوصات المجهرية والكيموحيوية واعتمادا على المصادر العلمية المتبعة عالميا لتشخيص البكتيريا (1990، 1990).

تحضير المستخلص المائي:

أعدت طريقة تحضير المستخلصات المائية. حيث أخذ ١٥ غرام من مسحوق المادة الجافة لأوراق نبات الداتورة *Datura stramonium* L. ووضعت في دورق زجاجي سعة ٥٠٠ سم^٣ يحتوي ٢٠٠ سم^٣ ماء مقطر. خلطت المادة النباتية بالخلط المغناطيسي لمدة ١٥ دقيقة وترك المحلول لمدة (٣٠ دقيقة) لترسيب الأجزاء النباتية رشح المحلول وأهمل الراسب وفصل الراشح بجهاز الطرد المركزي بسرعة ٣٠٠٠ دورة بالدقيقة لمدة (١٥ دقيقة) لترسيب الأجزاء النباتية العالقة وللحصول على محلول رائق. ثم ركز المحلول باستخدام جهاز المبخر الدوار Rotary evaporator بدرجة حرارة (٤٠ مئوية) حتى أصبح جافا وقد حفظت المادة الجافة في الثلاجة لحين الاستخدام (المنصور، ١٩٩٥).

تشعيع المستخلص المائي ضوئيا:

أخذ ٥ غم من المستخلص المائي لنبات الداتورة وتم اذابته في ٥ مل ايثانول واكمل الحجم الى ٥٠ مل ماء مقطر ثم أخذ ١٠ مل من المحلول ووضع في بيكر وتم تعريضه للإشعاع الضوئي بطول موجي 365nm لمدة ساعة واحدة وساعتين وثلاث ساعات وبنفس الطريقة تم تعريض ١٠ مل من المحلول للإشعاع الضوئي بطول موجي 254nm لمدة ساعة وساعتين وثلاث ساعات وكما تم تشعيع نموذج من المذيب لاعتباره نموذج سيطرة في إجراء القياسات الأخرى (العاني، ٢٠٠٢).

قياس التوصيلية الكهربائية والذالة الحامضية:

تم قياس التوصيلية الكهربائية والذالة الحامضية للمستخلص المائي لنبات الداتورة والمذيب قبل وبعد التشعيع الضوئي وللأطوال الموجية 365nm و 254nm.

قياس الفعالية البايولوجية:

تم قياس الفعالية البايولوجية للمستخلص المائي لنبات الداتورة والمذيب قبل وبعد التشعيع على الأطوال الموجية 365nm و 254nm وللعزلات البكتيرية *Escherichia coli* , *Pseudomonas aeruginosa* , *Staphylococcus aureus* ، باستخدام طريقة

القمة وقليلة الزغب والساق يكون أملس بنفسجي اللون مع اخضرار (ساهر، ١٩٧٥) إن مادة إن السترامونيوم Stramonium المستخرج من نبات الداتورة هي المادة المهمة من الناحية الاقتصادية والتي تستخرج من كل أجزاء النبات تقريبا وهي ذات طعم مر ورائحة غير مقبولة يستخرج منها عقار يسمى تجاريا foila stramonium ويتكون من كلوريد الهايوسيامين (Hyoscyamine) الذي يعد المادة القلوية الرئيسية فيها. إن السترامونيوم ذو مفعول مزدوج فسلجي وطبي فهو مخدر ومضاد للتشنج ومسكن للألام، ويستعمل بصورة خاصة في معالجة الربو وإن لأوراق الداتورة استعمالا طبية محلية عديدة إذ يتم وضع الأوراق على شكل كمادات على البثور والدمامل كما يستخرج من أزهاره عصير يستعمل في معالجة الأم الإذن أما العصير المستخرج من ثماره الطرية فيستعمل لمعالجة قشرة الشعر وتساقطه ويستعمله الأطباء الهنود ملينا ومنفثا للبلغم فبالرغم من أن النباتات تتكون من مواد فعالة وأخرى ثانوية إلا أن المواد الفعالة لو استخدمت بمفردها لما أدت الغرض المنشود لذلك فإن المجموع الكلي للمواد النباتية يؤدي دوره الفعال في بناء هذه الخاصية (Jboory and Al-Husainy، 1984) جاءت هذه الدراسة لتجربة فعالية المستخلص المائي لأوراق نبات الداتورة على بعض العزلات البكتيرية المرضية ومنها *Pseudomonas* , *Staphylococcus aureus* , *Escherichia Coli aeruginosa* قبل وبعد تشعيع المستخلص على الأشعة فوق البنفسجية وللطوال الموجية 365nm، 254nm وحيث أن فعالية الطيف القاتل للخلايا عند تعرضها للأشعة يكون على أعلاه في المنطقة 260-265nm والقتل يتضمن الأحماض النووية RNA ، DNA بصورة رئيسية على أساس إنهما يمتصان الضوء ويعود الامتصاص الشديد لـ DNA في 260nm ، للانتقالات الالكترونية ($\pi-\pi^*$) لقواعد كلا البيريبيدين والبيورين كذلك تحدث الانتقالات الالكترونية ($n-\pi^*$) إلا أنها اشد ضعفا وان من المركبات الرئيسية المتكونة بعد تعرض DNA إلى الأشعة فوق البنفسجية هي جزيئات ثنائية من البيريبيدين (dimers) والثايمين من نوع سايكلوبوتان مما يؤدي إلى عدم حصول الارتباط اللولبي الحلزوني (Helix) بين جزيئي شريطي DNA في منطقة التأثير (Stuart، 1987) غير أن للخلايا آلية إصلاح الخلل لقلب التلف الحاصل من التعرض للأشعة فوق البنفسجية إلى المادة الوراثية الأصلية ومن ثم اختزال إمكانية حصول الطفرات الوراثية وذلك باستعمال آلية تنشيط إنزيمات الإصلاح في الخلايا حيث تحول هذه الإنزيمات طاقة الأشعة فوق البنفسجية القريبة من الأشعة المرئية ما بين 300-500nm إلى طاقة كيميائية لكسر حلقات السايكلوبوتان الدايمر البيريبيدين في الـ DNA (الراوي و هليس، ١٩٩١).

المواد وطرائق العمل:

جمع العينات النباتية وتشخيصها:

جمعت العينات من نباتات الداتورة *Datura stramonium* L. خلال شهري آب

الحامضية ولجميع المدد الزمنية .

قياس الفعالية البيولوجية:

بناءً على النتائج التي تم استحصالتها من قياس الفعالية البيولوجية (جدول-٣) إن التشعيع الضوئي بالطول الموجي 365nm على المستخلص المائي لنبات الداتورة 100 mg/cm^3 ولجميع المدد الزمنية لم يكن له تأثير واضح على جميع الاجناس البكتيرية المرضية على العكس من الطول الموجي 254 nm فقد اظهر فعالية كبيرة على بكتريا *Escherichia coli* ولجميع المدد الزمنية اما بكتريا *Staphylococcus aureus* ، *Pseudomonas aeruginosa* فلم يكن للمستخلص تأثير عليها. وعليه أن بعض صفات المركبات الكيميائية للمستخلص المائي قد تأثرت بالتشعيع بالطول الموجي 254nm إلا أن الطول الموجي 365nm لم يكن له تأثير واضح وذلك لان الطاقة الضوئية للطول الموجي من (250 - 280 nm) هي ذات تأثير كبير على الانتقالات الالكترونية ($\pi-\pi^*$) وكذلك ($n-\pi^*$) (Limoli et al. 2002) علما إن تعرض المركبات إلى الطاقة الضوئية لمدة قصيرة تؤدي إلى اكتساب الالكترونات هذه الطاقة مما ينتج عنها انتقالات الكترونية نوع(اهتزازي،دوراني،انتقالي) أما تعرض المركبات للضوء لمدد زمنية كبير تؤدي إلى كسر بعض أوامر المركبات وخاصة الأوامر المزدوجة بسبب تكون الجذور الحرة وظهور مركبات جديدة ونستدل من (جدول-٢) عدم تكون مركبات ه الاستنتاجات لا تجزم أن الأشعة فوق البنفسجية لها نفس التأثير على النبات أو لا تحدث تأثيرات أخرى (Hollosoy،2002) علما أن اكبر جزء يتأثر من النبات بالأشعة فوق البنفسجية هي الأحماض الامينية DNA و RNA إلا إن النبات يملك خاصية تصليح الخلل في السلسلة الوراثية(Goodhead،1994)،(Ward،1988)

الاقراص حيث حضرت بثقب أوراق ترشيح بقطر ٦ ملم وتم وضع كل عشرة أقراص في حاويات صغيرة وعقمت بواسطة جهاز التعقيم وأضيف إلى كل حاوية ٥.٥ سم^٣ من المستخلص المحضر بإذابة 5غم من المستخلص النباتي في ٥٠ سم^٣ من الماء المقطر المعقم ليصبح لدينا تركيز قياسي ١٠٠ ملغم/سم^٣ ولمدة ١٠ دقائق ثم تركت لتجف (العاني، ٢٠٠٢)، وتحت ظروف معقمة وزعت هذه الأقراص على الأطباق الحاوية على الوسط الزراعي Nutrient Agar بعدها تم حضن الأطباق لمدة ٢٤ ساعة في ٣٧ درجة مئوية وتم استخدام ثلاث أطباق لكل نوع بكتيري ولكل مدة زمنية (Bauer،1966) .

النتائج والمناقشة:

قياس التوصيلة الكهربائية:

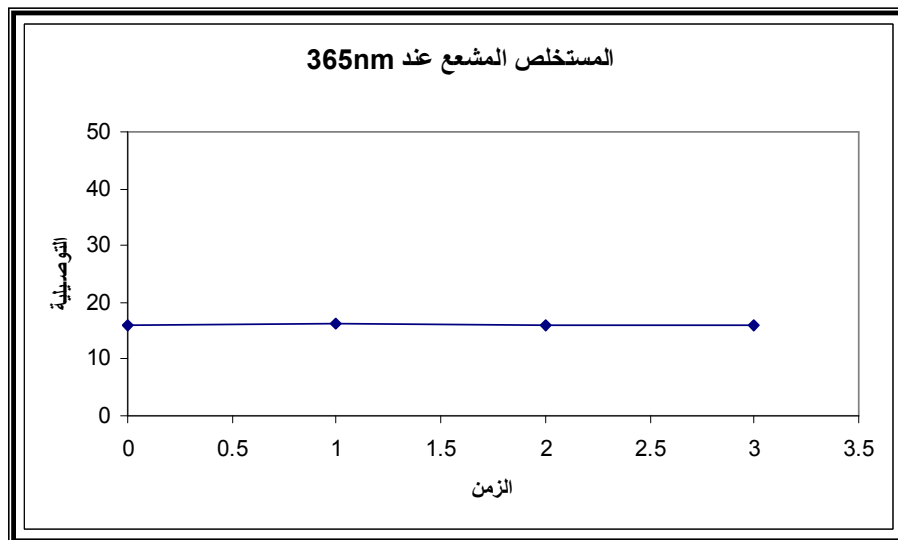
بناءً على النتائج التي تم استحصالتها من قياس التوصيلية الكهربائية (جدول-١) و(مخطط ١ و٢) إن التشعيع الضوئي بالطول الموجي 365nm والطول الموجي 254 nm على المستخلص المائي لنبات الداتورة 100 mg/cm^3 ولجميع المدد الزمنية لم يكن له تأثير كبير على التوصيلية الكهربائية أي إن المحتوى الأيوني للمستخلص المشع لم يتغير .

قياس الدالة الحامضية (PH):

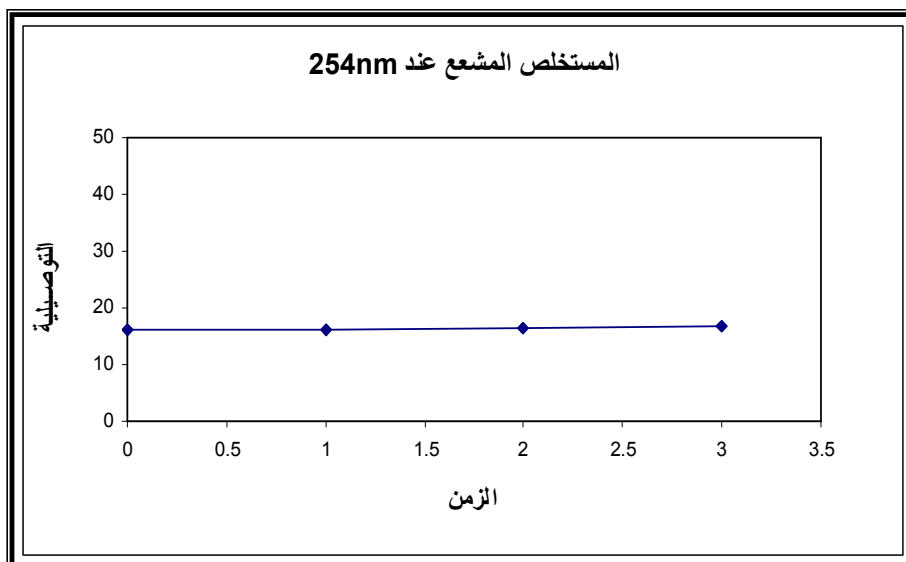
بناءً على النتائج التي تم استحصالتها من قياس الدالة الحامضية (جدول-٢) و(مخطط ٣ و٤) إن التشعيع الضوئي بالطول الموجي 365nm على المستخلص المائي لنبات الداتورة 100 mg/cm^3 ولجميع المدد الزمنية لم يكن له تأثير يذكر على الدالة الحامضية إلا أن الطول الموجي 254 nm كان له تأثير واضح على الدالة

جدول-١: قيم التوصيلية الكهربائية للمستخلص المائي 100 mg/cm^3 قبل وبعد التشعيع.

ت	المستخلص المائي	μScm^{-1} التوصيلة الكهربائية
1	المستخلص قبل التشعيع	16.06
2	المستخلص المشع (١ ساعة 365 nm)	16.10
3	المستخلص المشع (٢ ساعة 365 nm)	16.3
4	المستخلص المشع (٣ ساعة 365 nm)	16.8
5	المستخلص المشع (١ ساعة 254 nm)	16.17
6	المستخلص المشع (٢ ساعة 254 nm)	16.10
7	المستخلص المشع (٣ ساعة 254 nm)	16.09



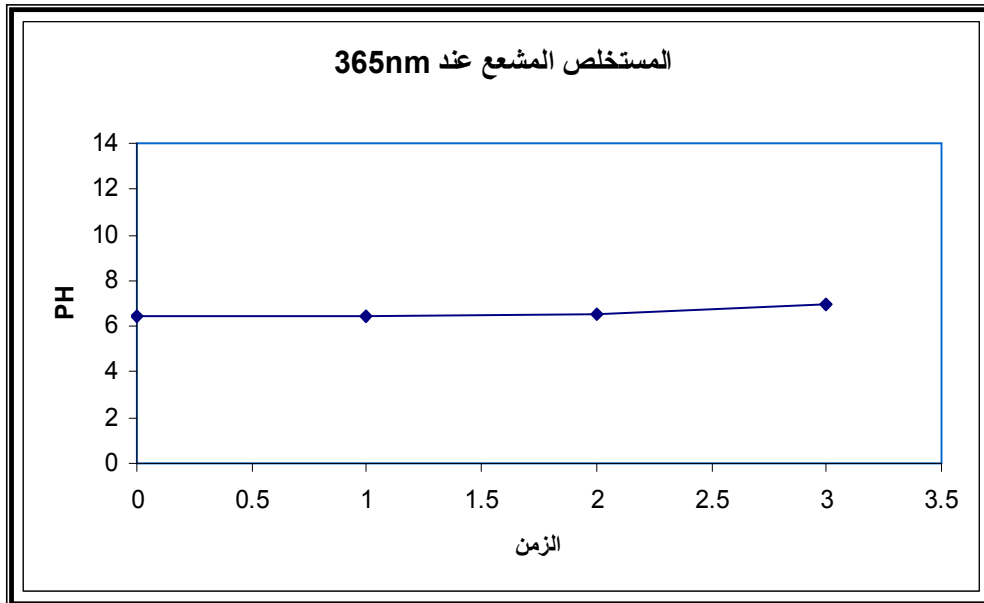
مخطط ١: العلاقة بين التوصيلية والزمن للمستخلص المشع عند 365nm



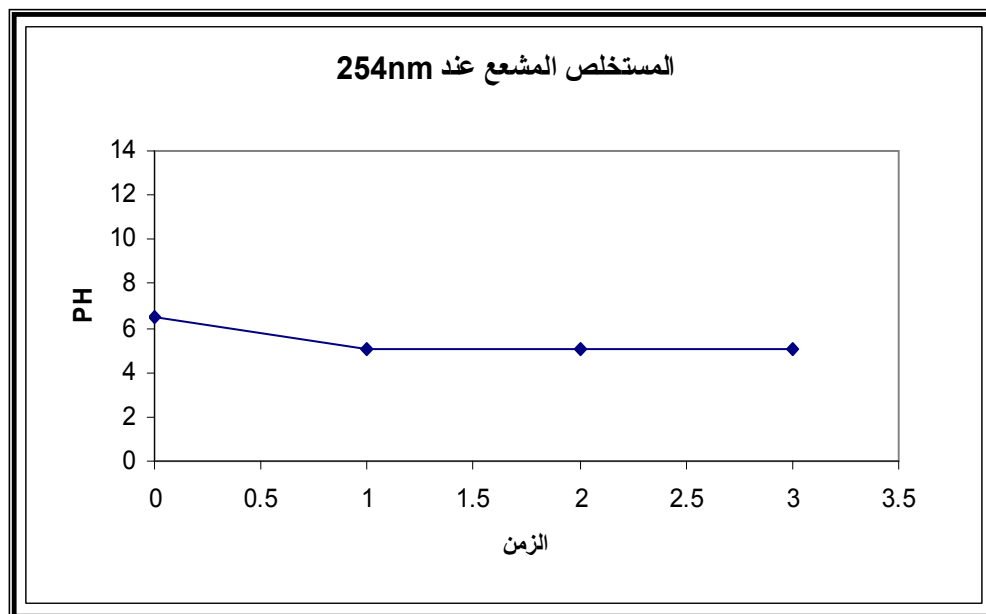
مخطط ٢: العلاقة بين التوصيلية والزمن للمستخلص المشع عند 254nm

جدول ٢- قيم الدالة الحامضية للمستخلص المائي $100\text{mg}/\text{cm}^3$ قبل وبعد التشعيع .

ت	المستخلص المائي	قيم الأس الهيدروجيني
1	المستخلص قبل التشعيع	6.483
2	المستخلص المشع (١ ساعة 365 nm)	6.483
3	المستخلص المشع (٢ ساعة 365 nm)	6.541
4	المستخلص المشع (٣ ساعة 365 nm)	6.954
5	المستخلص المشع (١ ساعة 254 nm)	5.075
6	المستخلص المشع (٢ ساعة 254 nm)	5.08
7	المستخلص المشع (٣ ساعة 254 nm)	5.091



مخطط ٣: العلاقة بين الدالة الحامضية والزمن للمستخلص المشع عند 365nm



مخطط ٤: العلاقة بين الدالة الحامضية والزمن للمستخلص المشع عند 254nm

جدول ٣: تأثير المستخلص المائي $100\text{mg}/\text{cm}^3$ قبل وبعد التشعيع في نمو البكتيريا .

البكتيريا			المستخلص المائي	ت
<i>Ps. aeruginosa</i>	<i>Staph. aureus</i>	<i>E. coli</i>		
-	-	+	المستخلص قبل التشعيع	1
-	-	+	المستخلص المشع (١ ساعة 365 nm)	2
-	-	+	المستخلص المشع (٢ ساعة 365 nm)	3
-	-	+	المستخلص المشع (٣ ساعة 365 nm)	4
-	-	-	المستخلص المشع (١ ساعة 254 nm)	5
-	-	-	المستخلص المشع (٢ ساعة 254 nm)	6
-	-	-	المستخلص المشع (٣ ساعة 254 nm)	7

- = عدم وجود تثبيط
+ = قطر التثبيط ما بين (٠.٥ - ١٢) ملم

- 2-Bauer, A. W. ; Kirby, W. A.; Sherris, J. S. and Turk, M. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. *Am. Pathol.*, 45:493-496.
- 3-Goodhead, D. T., 1994. *Internal Radiate Biological*. 1(65), pp 7-9.
- 4-Hollosy, F. ,2002. Effects of ultraviolet radiation on plant cells. *Micron*, 33(2), 179-19.
- 5-Jboory , A. A. and Al-Husainy, W. A., 1984 cardiovascular studies on *prospis farcta* . 105(3).
- 6-Limoli, C. L.; Giedzinski, E.; Bonner, W. M.; and Cleaver, J. E. ,2002. *Processes Natural academic Sciences*. U S A. 99, pp 233-234.
- 7-Mackerness, S. A. ,2000. Plant responses to ultraviolet-B (280-320nm) stress: what are the key regulators? *Plant Growth Regulation*, 32, 27-39.
- 8-Stuart J. B. ,1987. *Introduction to organic and Biological Chemistry Fourth Edition* , Macmillan publishing company Newyork pp 405-406.
- 9-Ward, J. F., 1988 *Prog Nucleic Acid Res Mol Biol*. 3(35), pp 95-97.

المصادر العربية:

- ١- درويش، مصطفى، ١٩٨٤. موجز علم العقاقير الطبية لطلاب معاهد المهن الصحية العالمية في العراق. المكتبة الوطنية بغداد .
- ٢- الراوي، انيس مالك؛ و هليس، بول، ١٩٩١. الكيمياء الضوئية البيئة والحياة . جامعة بغداد (١٠١-١١٨).
- ٣- ساهر، عبد الرحمن، ١٩٧٥. نبات الداتورة . قسم وسائل الايضاح – مديرية الارشاد الزراعي العامة 232 .
- ٤- العاني، اسماء عبيد اسماعيل، ٢٠٠٢. تأثير مستخلصات نبات الجعدة على نمو بعض الاحياء المجهرية الممرضة. رسالة ماجستير، علوم التقانة الاحيائية، جامعة النهرين.
- ٥- قريشي، سعيد، ١٩٩٠. المكافحة الكيميوحيوية وتأثيراتها على الاقتصاد والبيئة والانتخاب الطبيعي. (ترجمة) هاني جهاد العطار. مطبعة جامعة الموصل ٣٦٣.
- ٦- المنصور، ناصر عبد علي، ١٩٩٥. تأثير مستخلصات مختلفة من نبات قرن الغزال *Ibiceila hutea* في الأداء الحياتي للذبابة البيضاء *Bemisa tabaci* اطروحة دكتوراة فلسفة كلية العلوم جامعة البصرة .

المصادر الانكليزية:

- 1-Baron, E. J. ; Finegold ,S. M. ; and Baily S., 1990. *Diagnostic Microbiology*; C.V. mosby company Toronto.