Journal of Education and Science (ISSN 1812-125X), Vol: 31, No: 02, 2022 (128-140)

Comparison of the Inhibitory Antibacterial Activity of Dry Body Extract of *Periplaneta americana* and *Polistes watti*

Ali Ali Hameed[1*], Atallah Fahad Mekhlif[2]

[1*,2] Department of Biology, College of Education for Pure Sciences, University of Mosul, Mosul, Iraq

E-mail: [1*]ali.20esp51@student.uomosul.edu.iq , [2]prof.atallah@uomosul.edu.iq

(Received April 14, 2022; Accepted May 25, 2022; Available online June 01, 2022)

DOI: 10.33899/edusj.2022.133550.1233, © 2022, College of Education for Pure Science, University of Mosul.
This is an open access article under the CC BY 4.0 license (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

Abstract

Insects have been considered the main source of very useful chemical compounds. Today, the insect's innate immunity is a subject of antibiotic alternatives by experimenting with their body extracts. After application of the "Sequential solvent polarity" method. The dry body extract of the Americana cockroach, *Periplaneta americana* was exhibited had variable growth inhibition between the tasted pathogenic bacteria, the methanol cold extract was more effective than with other (Hexane, Diethyl ether, Ethyl acetate, Methanol) solvents by inhibition zone diameters; (29.0, 22.0,24.0, 22.3) mm for (*Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Klebsiella pneumoniae*) respectively. In comparison between the antibacterial of the methanol extracts of the cockroach and the paper wasp *Polistes watti,* extract of the *P. americana* in more active in the inhibition of all four tested bacteria as follows: (*Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Klebsiella pneumoniae*) for (7.7, 18.3, 8.7, 6.0) mm respectively. Extract of *P. americana* have antibacterial activity do to it living in an ecological niche which characterized by organic and bacterial pollution so, the growth of human pathogenic bacteria in more inhibited than the social entomophagous *P. watti* wasp. The present study had given promise alternative of the personal antibiotics, by as more effective than the standers drugs (Ceftriaxone, Gentamicin) after separation and identification of the active molecules and used as a template for the future manufacturing industry.

Keywords: Insect extract, *Periplaneta amrecana, Polistes watti*, bacteria

المقارنة في الفعالية التثبيطية لمستخلص الجسم الجاف للصرصور الأمريكي والزنبور الأصفر ضد البكتريا

علي علي حميد[1*]، عطاالله فهد مخلف[2]

[1] قسم علوم الحياة، كلية التربية للعلوم الصرفة، جامعة الموصل، الموصل، العراق

الخلاصة

تعد الحشرات مصدراً طبيعياً للعديد من المركبات الكيميائية المفيدة طبياً، فكانت المناعة الفطرية للحشرات ضد البكتريا الممرضة لها، نتوجه بدعوة إلى البدائل بتجريب المستخلصات الحشرية ضد البكتريا المقاومة للمضادات الحيوية حاليا. وباستعمال طريقة "الاستخلاص بالمذيبات المتعاقبة القطبية" Sequential Solvents Polarity أظهرت نتائج الدراسة الحالية، أن لمستخلص الجسم الجاف للصرصور الأمريكي *Periplaneta americana* ، تأثيراً متبايناً في الفعل التثبيطي للنمو بين الأنواع البكتيرية المختبرة

(*Staphylococcus aureus*، *Escherichia coli*، *Pseudomonas aeruginosa*، *Klebsiella pneumoniae*)، فقد تفوق مستخلص الميثانول البارد للصرصور الأمريكي على باقي مستخلصاته بالمذيبات المستعملة الأخرى لتثبيط الأنواع البكتيرية، وبأقطار تثبيطية (29.0، 22.0، 24.0 ، 22.3) ملم على التوالي، في تثبيط نمو الأنواع البكتيرية الموجبة والسالبة لصبغة جرام. وبالمقارنة مع مستخلصات الزنبور الأصفر *Polistes watti*، كان مستخلص الميثانول البارد للصرصور الأمريكي أكثر فعالية لتثبيط نمو البكتريا من جميع مستخلصات الجسم الجاف للزنبور الأصفر فبلغت (7.7، 18.3، 8.7، 0.0) ملم للأنواع البكتيرية (*Staphylococcus aureus*، *Escherichia coli*، *Pseudomonas aeruginosa*، *Klebsiella pneumoniae*)، على التوالي. أن مستخلص الصرصور الامريكي من موطن بيئي Ecological niche ذي تلوث عضوي وبكتيري عالٍ أكثر تثبيطا لنمو البكتريا الممرضة للإنسان مقارنة مع حشرات الزنبور الاصفر المفترس وذي معيشة اجتماعية. أنَّ هذه النتائج واعدة لبدائل عن المضادات الحياتية كونها أعطت تثبيطا للنمو أفضل من الدواء القياسي (Ceftriaxone, Gentamicin)، ولتحديد الجزيئات الفعالية وفصلها ثم دخولها كقالب Template للتصنيع مستقبلا.

الكلمات المفتاحية: مستخلص الحشرات، *Periplaneta americana, Polistes watti* ، بكتريا

---

1. المقدمة Introduction

أدى اكتشاف المضادات الحياتية قبل عدة عقود إلى تمكن البشرية من علاج العديد من الامراض، وقلل من خطورة العديد من المسببات المرضية، ولكن الإفراط في استعمال المضادات الحياتية ولفترات طويلة، سمح للكائنات المسببة لتلك الأمراض، بالتكيف مع المضادات الحياتية، مما قلل من فعاليتها. فضلاً عن ذلك، فإن الانتشار الواسع للسلالات البكتيرية المقاومة من شخص لآخر أو إلى البشر من مصادر غير بشرية في البيئة مثل الماشية كان سبباً رئيساً في زيادة مقاومة المضادات الحياتية [1]. وفي السنوات التي تلت اكتشاف البنسلين وبداية الإنتاج الضخم للمضادات الحياتية، أدى الاستعمال الخاطئ أو المفرط لها، إلى ظهور مشكلة مقاومة البكتريا الممرضة لمعظم المضادات الحياتية [2]. قامت منظمة الصحة العالمية [3] بتحديث قائمة الأولويات المكونة من أثنتا عشرة من المسببات المرضية البكتيرية التي يلزم تطوير مضادات حيوية ضدها، تحتوي قائمة الأولويات على ثلاث مجموعات وفقاً للحاجة الملحة للمضادات الحيوية الجديدة، تشمل المجموعة الحرجة البكتريا السالبة جرام .*Pseudomonas* sp ، *Acinetobacter baumannii* ، *Klebsiella* sp المقاومة لمجموعة الكاربابينيم والتي ترتبط بأمراض خطيرة ومميتة في كثير من الأحيان مثل التهابات مجرى الدم والالتهاب الرئوي، في حين أن العديد من الأنواع الموجبة لصبغة جرام تشكل قائمة ذات اولوية عالية، من بينها بكتريا المكورة العنقودية البرتقالية مقاومة للميثيسيلين Methicillin. استعملت الحشرات والمواد المستخرجة منها منذ العصور القديمة، كمصادر علاجية في المجالات الطبية للعديد من الثقافات، وقد استعملت العديد من أنواع الحشرات الحية المطبوخة والمطحونة وفي الحقن وفي المراهم كأدوية علاجية ووقائية، في الطقوس الدينية السحرية [4]، يُعَرف الاستعمال العلاجي للحشرات والمنتجات المشتقة منها بالعلاج الحشري [5]. إن ما يميز الحشرات امتلاكها جهازاً مناعياً فطرياً، قادراً على حمايتها من المسببات المرضية، فضلاً عن امتلاكها وسائل دفاعية فيزيائية وكيميائية قادرة على منع المسببات المرضية من الدخول إلى داخل اجسامها [6]. إذ أظهرت النتائج ان لمستخلص الحشرات تأثيرا ايجابيا على تكون البيوفيلم (Biofilm) ضد الأنواع البكتيرية، كما وجد أن بعض الأحماض الدهنية قصيرة السلسلة المستخلصة من الحشرات تمنع الفطريات من امتصاص الفسفور وبالتالي يمنع تكون جراثيم العفن التي تعد وحدات تكاثرية للفطريات [7]. تمتلك الحشرات العديد من الوسائل لتفادي المسببات المرضية والعدوى لتقليل احتمالية حدوث الإصابة الميكروبية [8]. تمثل الآليات السلوكية خط الدفاع الاول لتجنب الإصابة بالطفيليات أو ازالتها، ومن هذه السلوكيات رفع درجة الحرارة للحشرة (المضيف) إلى درجة حرارة معينة قادرة على قتل أو الحاق الضرر بالطفيليات [9]. ومن دراسة [10]، تبين أن لإنزيم PO المنقى من هيمولمف حشرة دودة أوراق القطن *Spodoptera littoralis* باستعمال طريقة

الهجرة الكهربائية تأثيراً على البكتريا الموجبة لصبغة جرام أكثر من السالبة لصبغة جرام إذ اختبر ضد ستة أنواع من البكتريا، اثنتان موجبة لصبغة جرام (*Enterococci* sp , *Staph. aureus*) وأربعة سالبة لصبغة جرام (*E. coli*،*Pseudomonas* sp ، *Acinetobacter* sp ، *Klebsiella* sp)، وأظهر هذا الأنزيم فعاليةً في تثبيط البكتريا الموجبة لصبغة الجرام وضد الاشريكية القولونية فقط من البكتريا السالبة لصبغة جرام. فيما يمثل الجهاز المناعي الفطري في الحشرات خط الدفاع الاخير لحماية الحشرات من الميكروبات والذي يتمثل بنوعين من المناعة وهما المناعة الخلوية التي تقتصر على خلايا الدم التي تتحرك داخل الهيمولمف لتجويف جسم الحشرة، والنوع الاخر من المناعة هو المناعة المصلية أو البلازمية التي تمثل بإنتاج الببتيدات المضادة للميكروبات (AMPs) في الهيمولمف وهو عبارة عن سائل ذو لون أصفر، يشكل نسبة 16-40 % من وزن الجسم لبعض الحشرات، الذي يختلف حجمه ومكوناته باختلاف أنواع الحشرات ومراحل نموها [11]. إضافة إلى ذلك، يلعب إنزيم الفينول أوكسيديز (Phenol oxidase Enzyme)، دوراً فعالاً في قتل الميكروبات [12]. في حين درس [13]، تأثير السم الخام في الزنبور الشرقي ضد نوعين من البكتيريا الموجبة لصبغة جرام*Staph. aureus*، *B. subtilis* واثنين من البكتريا السالبة لصبغة جرام *Klebsiella pneumoniae*، *E. coli*، كما بينت دراسة [14]، أن المستخلص الخام للغدد السمية لأنواع مختلفة من نحل العسل .*Apis* spp له تأثير مثبط لأنواع مختلفة من البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة جرام. في حين بين [15]، أن الإصابة البكتيرية للبشرة المتآكلة تحفز أو تنشط إفراز الببتيدات المضادة للميكروبات في المنطقة المتآكلة وزيادة نشاط انزيم الفينول أوكسيديز (PO) والذي بدوره له الاهمية في إنتاج الكوانين، كما إن من بين الاستجابات المناعية للحشرات، إنتاج الميلانين، وهو بوليمر حيوي شديد السمية يشارك في الدفاع ضد مسببات الأمراض واصلاح الجروح لمنع فقدان الهيمولمف وعدم دخول الأحياء المجهرية [16].

تهدف الدراسة الحالية إلى إيجاد بدائل، كمثبطات لنمو البكتريا المقاومة للمضادات الحياتية، ومن مستخلص الجسم الجاف للصرصور الامريكي والزنبور الاصفر.

2. المواد وطرائق العمل Method and Materials

1.2- جمع الحشرات

تم الحصول على الحشرات من أماكن تواجدها في بيئتها الطبيعية، فجمعت عينات الصرصور الامريكي *Periplaneta americana* بمصائد الطعوم (بسكويت مضاف اليه زيت المائدة) والمصنعة يدوياً، والتي وضعت في المطبخ من المنازل التي يتواجد فيها الصرصور الأمريكي، وأسفل المغاسل في الحمامات من تلك المنازل. في حين جمعت عينات الزنبور الاصفر مع أعشاشها يدويا ليلاً من بساتين العنب. وبعد جمع العينات وقتلها (بالتجميد لمدة ربع ساعة) جففت في الظل خلال فصل الصيف، أما في الشتاء فتجفف في الفرن بدرجة حرارة 35 م°، وبذلك تصبح العينات مهيأة للسحق، وحفظت في أوعية محكمة في الثلاجة بدرجة حرارة 4 م°.

2.2- تحضير المستخلصات Preparation of Extract

يتم استخلاص المواد الفعالة في كل من الحشرات قيد الدراسة باستعمال مذيبات عضوية متعاقبة القطبية [17]، بسحق 15 غرام من كل عينة، ويكون السحق بواسطة مطحنة كهربائية، ويتم الاستخلاص باستعمال مذيبات عضوية متعاقبة القطبية من الأدنى قطبية الهكسان (0.1) والداي أيثايل أيثر (2.8)، وخلات الأثيل (4.4)، والأعلى قطبية الميثانول (5.5)، ثم يمزج 90 مل ميثانول مع 10 مل ماء مقطر، ويسخن بدرجة حرارة 60 م°، وبعد مزج المذيب مع مسحوق أجسام الحشرات يترك لمدة 24 ساعة تحت ظروف المختبر مع التحريك المستمر بجهاز المحرك المغناطيس Magnetic stirrer، تزال الشوائب الكبيرة بقماش الشاش ثم ترشح بورق ترشيح رقم 1 من نوع Whatman، تحت ظروف الضغط المنخفض (استعمل دورق بخنر وموتور لسحب الهواء وخلخلة الضغط بشكل بسيط)، وللتخلص من المذيبات يتم سكب الراشح في أطباق زجاجية قطرها 15 سم وتترك أمام مروحة كهربائية صيفاً أو مكيف

الهواء شتاءً، يتم إضافة حجم معين من مادة(DMSO) Dimethyl Sulfoxide (حسب التركيز المطلوب)، إلى المستخلص الجاف الذي يتباين وزنه حسب نوع الحشرة والمذيب المستعمل في الاستخلاص، ويحفظ تحت درجة حرارة 4 م° لحين البدء بالتجارب.

3.2- العزلات البكتيرية Bacterial Isolates

تم الحصول على العزلات البكتيرية النقية والمشخصة من مختبر الأحياء المجهرية للدراسات العليا في قسم علوم الحياة / كلية التربية للعلوم الصرفة، استعملت في تجارب اختبارات فعالية مستخلصات الحشرات ضد أربعة أنواع من البكتريا الممرضة وهي *Staphylococcus aureus* الموجبة لصبغة جرام، والسالبة لصبغة جرام *Escherichia coli*، *Pseudomonas aeruginosa*، *Klebsiella pneumoniae*، إضافة إلى عناصر السيطرة الإيجابية (Gentamicin ، Ceftriaxone)، زرعت البكتريا بطريقة الفرش (Swapping method) إذ يتم أخذ مسحة من العزلة البكتيرية قيد الدراسة باستعمال (Swap) معقمة، يتم مسح سطح الآكار المحضر مسبقا بأطباق بتري بواسطة Swap مع عدم ترك أي فراغ على سطح الآكار، بعد مسح الطبق بالكامل يدور الطبق 90 درجة وتكرر عملية المسح، يترك الطبق لمدة 5 دقائق ليجف قبل وضع أقراص المستخلصات عليه.

4.2- اختبار حساسية البكتريا لمستخلص الحشرات

استعملت طريقة الانتشار القرصي (Disc diffusion method)، والمعروفة باختبار Kirby Bauer- [18]، لمعرفة مدى حساسية الأحياء المجهرية للمضادات الحياتية، وكذلك معرفة فعالية المستخلصات الطبيعية الحشرية في تثبيط نمو الأحياء المجهرية وهي لا زالت تستعمل إلى وقتنا الحاضر. يكون قرص الاختبار ذا قطر 6 ملم وسمكه 1 ملم، يتم إعداد الأقراص باستعمال ثاقبة الأوراق المكتبية، ثم يجرى تثقيب أوراق الترشيح رقم 3 من نوع Whatman، تجمع الجذاذات الناتجة كأقراص اختبار لتحميل المستخلصات عليها. توضع الأقراص (الجذاذات) في قنينة زجاجية محكمة الغلق، ثم تعقم بجهاز التعقيم، وتحفظ لحين الاستعمال [19].

بعد مرور 24 ساعة من المعاملة، يتم ملاحظة تأثير المستخلصات الحشرية على نمو البكتريا المختبرة، بتقدير منطقة تثبيط نمو البكتريا (Inhibition zone)، باستعمال مسطرة رقمية، ويقاس قطر الدائرة بالمليمترات ليمثل مقدار التثبيط إذا كانت الدائرة منتظمة، أما إذا كانت الدائرة أو المنطقة الصافية Clear Zone غير منتظمة فيقاس معدل القطرين المتعامدين وهو بذلك يمثل منطقة التثبيط، أما في حالة عدم وجود نمو حول القرص فتكون النتيجة سالبة [20].

5.2- التحليل الإحصائي Statistical analysis

حللت النتائج إحصائياً وفق التصميم العشوائي الكامل. وتمت المقارنة بين معدلات اقطار التثبيط باستعمال اختبار Duncan المتعدد المدى عند مستوى احتمالية 0.01 (Duncun's New Multiple Range Test) [21] .

3- النتائج Results

1.3- الفعل المثبط لمستخلص الجسم الجاف للصرصور الأمريكي ضد نمو البكتريا

يوضح الجدول (1)، تثبيط نمو البكتيريا ممثلاً بقطر الدائرة لمثبط نمو البكتريا الموجبة لصبغة جرام *Staphylococcus aureus*، والسالبة لصبغة جرام *Klebsiella pneumoniae*، *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*، بفعل المستخلصات الجافة للجسم لأعمار مختلفة

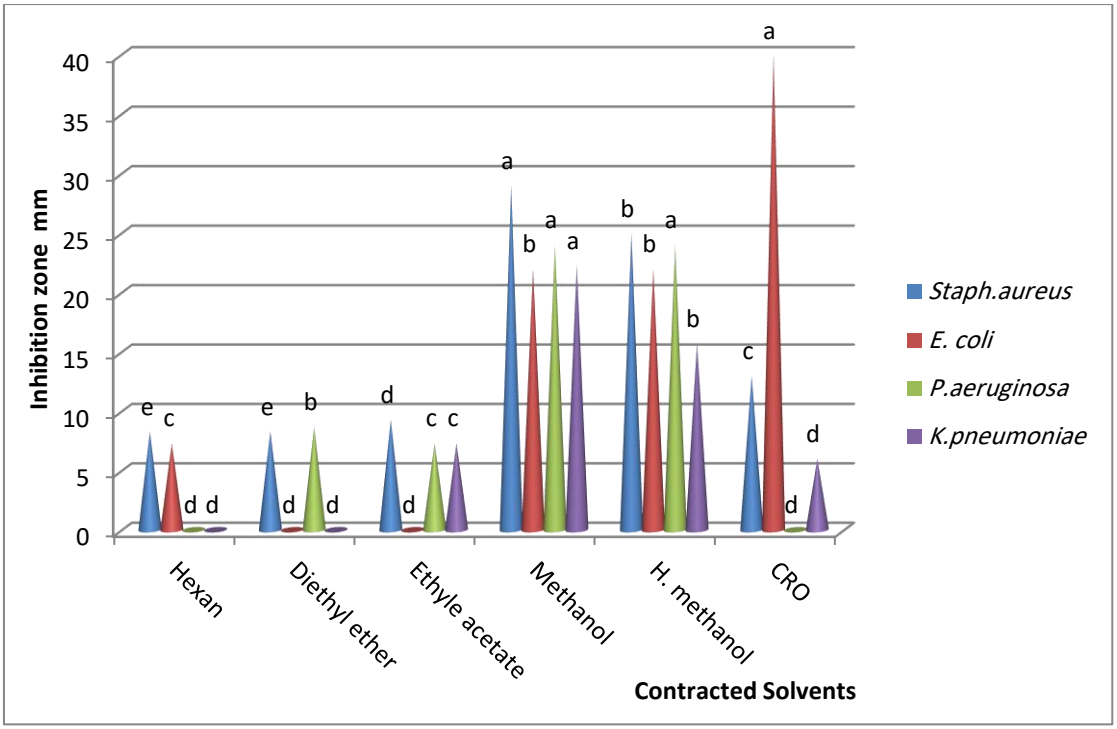
إضـــافة إلى بالغات الصـــرصـــر الامريكي *P. amrecana* والمحضـــر كراشـــح بعد معاملة المســـتخلص والرواســـب بشـــكـل متعـاقـب للـمذيبـات العضـــويـة فضـــلاً عن المقـارنـة الموجبـة الـدواء القيـاســـي (Ceftriaxone). إذ لم يؤثر المســـتخلص بـالهكســـان في تثبيط نمو نوعي البكتريـا *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*، أمـا تـأثيره في تثبيط نمو كلاً من البكتريـا *Staph. aureus* و *E. coli* وكمـا هو موضـــح في الجـدول رقم (1) بقطري تثبيط (8.3 ،7.3) ملم على التوالي، أما مســتخلص داي أيثايل أيثر فلم يؤثر في نوعي البكتيريا الســالبة لصــبغة جرام *E. coli* و *K. pneumoniae* الســالبة لصــبغة جرام، في حين كان فعله التثبيطي (8.3 ، 8.7) ملم لنمو البكتريا الموجبة لصــبغة جرام *Staph. aureus* والســالبة لصــبغة جرام *P. aeruginosa* . أما الفعل المثبط لمســتخلص خلات الأثيل، فكانت بكتريا *E. coli* مقاومة له (0.0) ملم، وقد تســاوى التأثير لهذا المســتخلص في نوعي البكتريا *P. aeruginosa* , *K. pneumoniae* بالقطر 7.3 ملم، وكان تثبيط نمو البكتريا الموجبة *Staph. aureus* بقطر 9.3 ملم. كما ســبب المســتخلص الجاف لجســم الصــرصــور الامريكي بالميثانول تثبيطاً لنمو الأنواع البكتيرية الممرضــة *Staph. aureus*، *E. coli*، *P. aeruginosa*، *K. pneumoniae*، وبأقطار (29.0، 22.0، 24.0 ، 22.3) ملم على التوالي. في حين اختلفت حساسية جميع الأنواع البكتيرية المختبرة بفعل مستخلص الميثانول الحار ، فقد كانت بكتريا *Staph. aereus* شـديدة الحسـاسـية تليها بكتريا *P .aeruginosa*، ثم *E. coli*، والأدنى حسـاسـية كانت *K. pneumonia*، كـمـا لـوحـظ عـدم تـأثـيـر الـمضـاد الـحـيـوي فـي نـمـو البكتريا السالبة لصبغة جرام *K. pneumoniae* ، *P. aeruginosa*، في حين ثبط نمو نوعي البكتريا *Staph. aureus*، *E. coli* بقطري تثبيط (13، 40) ملم.

جدول (1): الفعل التثبيطي لمستخلصات الجسم الجاف للصرصور الأمريكي عند التركيز 250 ملغرام/ مل، لتثبيط نمو البكتريا المختبرة

المذيبات	الأنواع البكتيرية المختبرة			
	Staphylococcus aureus	*Escherichia coli*	*Pseudomonas aeruginosa*	*Klebsiella pneumoniae*
Hexane	8.3 ± 0.6 a	7.3 ± 0.6 b	0.0 ± 0.0 c	0.0 ± 0.0 c
Diethyl ether	8.3 ± 0.6 a	0.0 ± 0.0 b	8.7 ± 0.6 a	0.0 ± 0.0 b
Ethyl acetate	9.3 ± 0.6 a	0.0 ± 0.0 c	7.3 ± 0.6 c	7.3 ± 0.6 c
Methanol	29.0 ± 1.0 a	22.0 ± 1.0 c	24.0 ± 1.0 b	22.3 ± 0.6 c
Heated methanol	25.7 ±0.6 a	22.1± 1.0 c	24.0 ± 1.0 b	15.7 ± 0.6 d
+ Ve CRO	13.0 ± 0.0 b	40.0 ± 0.0 a	0.0 ± 0.0 c	0.0 ± 0.0 c

- تعد البكتريا مقاومة إذا قطر مساحة الدائرة التثبيطية = 0.0 ملم
- عدد المكررات = 3، إذا كانت الحروف المتشابهة أفقيا فإن الأرقام غير مختلفة معنويا عند مستوى الأحتمالية ≤ 0.01 حسب اختبار دنكن.

يوضـــح الشـــكل رقم (1)، التفاضـــل في فعالية مســـتخلصـــات المذيبات للجســـم الجاف للصـــرصـــور الأمريكي بحســـب المـذيـب المســـتعمـل في الاســـتخلاص فكـانـت على النحو الآتي: للبكتريـا الموجبـة لصـــبغـة جرام *Staph. aureus*، يعـد مســـتخلص الميثـانول البـارد الأكثر فعـاليـة لتثبيط هـذه البكتريـا (الصـــورة 1). أمـا بكتريـا *E. coli* فقد تسـاوى كل من الميثانول البارد والميثانول الحار في فعاليتهما ضـد نموها(الصـورة 2). وكان الفعل التثبيطي متسـاوياً أيضـاً ضـد نمو بكتريا *P. aeruginosa* للمسـتخلصـين الميثانول البارد والحار(الصـورة 3). في حين سـجل مسـتخلص الميثانول الفعالية التثبيطية الأعلى لبكتريا *K. pneumonia* (الصورة 4).



الشكل (1) التفاضل بين المذيبات المتعاقبة القطبية لتثبيط نمو البكتريا

2.3- الفعالية التثبيطية لمستخلص الجسم الجاف لبالغات الزنبور الأصفر لنمو الأنواع البكتيرية الممرضة

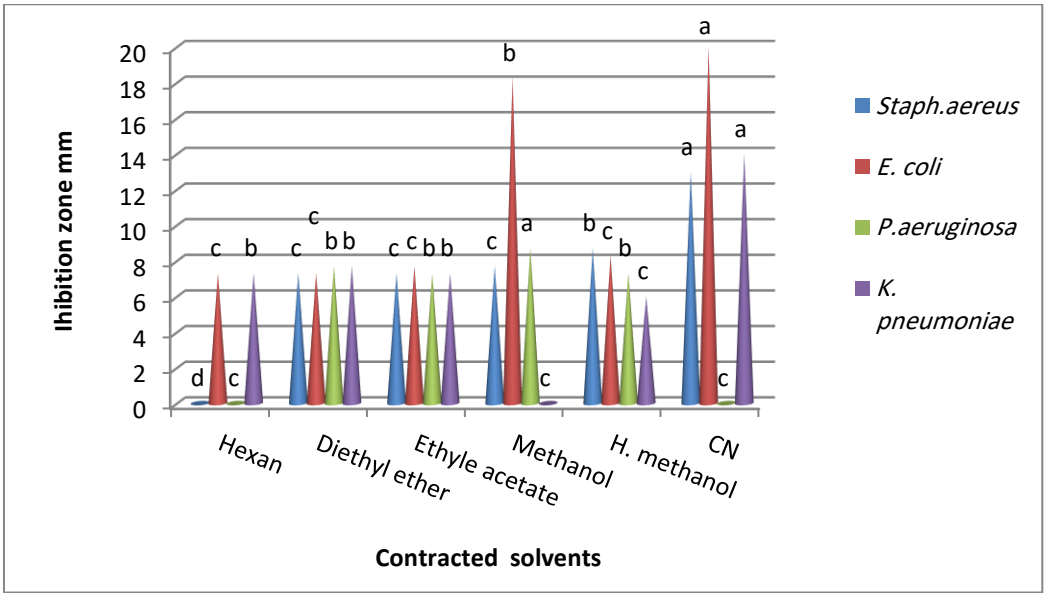
يوضح الجدول (2) الفعل التثبيطي لمستخلصات الجسم للزنبور الأصفر *Polistes watti*، عند التركيز 250 ملغم/مل، لنمو الأنواع البكتيرية المختبرة عبر اختبار انتشار الاقراص، فقد تساوى الفعل التثبيطي لمستخلص الهكسان في تثبيط نمو نوعي البكتريا السالبة لصبغة جرام *Klabsiella pneumoniae*،*Escherichia coli* بقطر 7.3 ملم، في حين لم يؤثر في تثبيط نمو البكتريا الموجبة لصبغة جرام *Staph. aureus* والسالبة لصبغة جرام *P. aeruginosa* 0.0 ملم. أما تأثير مستخلص الداي أيثايل أيثر فقد كان فعالاً ضد نمو الأنواع البكتيرية قيد الدراسة بأقطار تثبيطية متقاربة (7.3، 7.3، 7.7، 7.7) ملم متتاليةً، كما أن الفعل التثبيطي لمستخلص خلات الأثيل كان متساوياً في تثبيط نمو الأنواع البكتيرية *Staph. aureus*، *P. aeruginosa* ، *K .pneumoniae* بالقطر 7.3 ملم، أما فعالته التثبيطية لنمو البكتريا السالبة لصبغة جرام *E. coli* قد تمثل بالقطر 7.7 ملم. كما سجل مستخلص الميثانول لبالغات الزنبور الأصفر، تأثيراً فعالاً 18.3 ملم في تثبيط نمو بكتريا *E. coli*، أما فعاليته التثبيطية لنمو بكتريا *Staph. aureus* وبكتريا *P. aeruginosa* فكانت (7.7، 8.7) ملم، في حين كانت بكتريا *K. pneumoniae* مقاومة لهذا المستخلص 0.0 ملم. بينما كانت الفعالية التثبيطية لمستخلص الميثانول الحار ضد نمو المكورات العنقودية والاشريكية القولونية والزائفة الزنجارية متمثلة بالأقطار (8.7، 8.3، 7.3) ملم، في حين لم يؤثر في تثبيط نمو بكتريا الكلبسيلا الرئوية (0.0) ملم. أما الدواء القياسي Gentamicin، فقد أظهر فعالية تثبيطية لنمو الأنواع البكتيرية *Staph. aureus*، *E .coli*، *K. pneumoniae* بأقطار تثبيط (13.0, 20.0, 14.0) ملم. بينما كانت بكتريا *P. aeruginosa* مقاومة لهذا الدواء 0.0 ملم.

الجدول (2). الفعل التثبيطي لمستخلصات الجسم للزنبور الأصفر ضد نمو الأنواع البكتيرية الممرضة

المذيبات	الأنواع البكتيرية المختبرة			
	Staphylococcus aureus	*Escherichia coli*	*Pseudomonas aeruginosa*	*Klebsiella pneumoniae*
Hexane	0.0 ± 0.0 b	7.3 ± 0.6 a	0.0 ± 0.0 b	7.3 ± 0.6 a
Diethyl ether	7.3 ± 0.6 a	7.3 ± 0.6 a	7.7 ± 0.6 a	7.7 ± 0.6 a
Ethyl acetate	7.3 ± 0.6 a	7.7 ± 0.6 a	7.3 ± 0.6 a	7.3 ± 0.6 a
Methanol	7.7 ± 0.6 c	18.3 ± 0.6 a	8.7 ± 0.6 b	0.0 ± 0.0 d
Heated methanol	8.7 ± 0.6 a	8.3 ± 0.6 a	7.3 ± 0.6 b	0.0 ± 0.0 c
+ Ve CN	13.0 ± 0.0 c	20.0 ± 0.0 a	0.0 ± 0.0 d	14.0 ± 0.0 b

الأرقام غير مختلفة معنويا عند مستوى الاحتمالية ≥0.01 حسب اختبار دنكن.

من خلال الشكل (2) نلاحظ تباين الفعالية التثبيطية للمذيب العضوي، إضافة إلى عامل السيطرة الإيجابي CN في تثبيط نمو الأنواع البكتيرية الممرضة، فقد تفوق الفعل التثبيطي للدواء القياسي على جميع المستخلصات في تثبيط نمو بكتريا المكورات العنقودية، والاشريكية القولونية والكليبسيلا الرئوية، ما عدا الزائفة الزنجارية التي أظهرت حساسية ضعيفة لمعظم المستخلصات، ومقاومة للمضاد الحيوي.

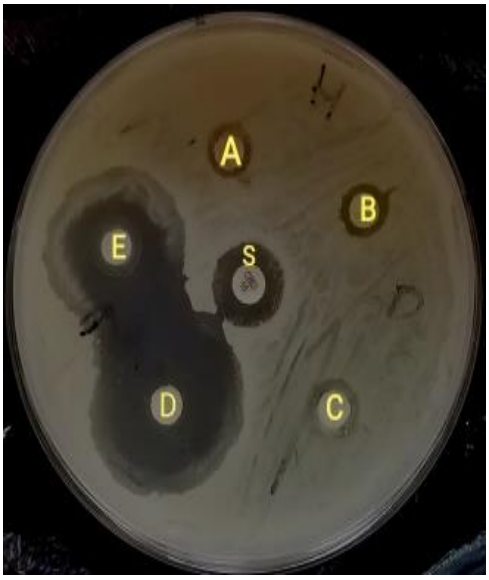


الشكل (2) تباين فعل مستخلصات المذيبات المتعاقبة القطبية للزنبور الأصفر في تثبيط نمو الأنواع البكتيرية الممرضة

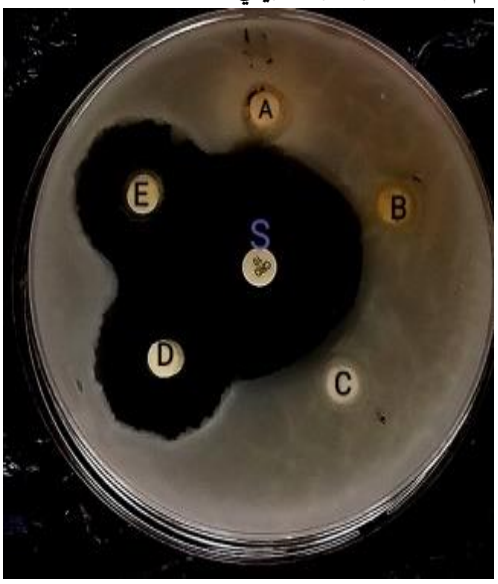
أما المفاضلة بين مستخلصات المذيبات، فيعد مستخلص الميثانول الحار الأشد فعالية لتثبيط نمو بكتريا *Staph. aereus* (8.7) ملم، في حين كان الفعل المثبط لنمو هذه البكتريا بفعل مستخلصات الميثانول وخلات الأثيل والداي ايثايل ايثر (7.7،7.3) ملم كما مبين في (الصورة 5). في حين كان الفعل المضاد لنمو بكتريا *E. coli* بفعل مستخلص الميثانول البارد والحار متمثلاً بالقطرين (8.3، 18.3) ملم، أما الأقطار التثبيطية لنمو هذه البكتريا بفعل مستخلصات الهكسان والداي أيثايل أيثر وخلات الأثيل، كانت (7.3، 7.3، 7.7) ملم كما هو مبين في (الصورة 6). وتساوى الفعل التثبيطي لمستخلص خلات الأثيل والميثانول

الحار ضد نمو بكتريا *P. aeruginosa*، بينما كان الفعل التثبيطي للمستخلصين الداي ايثايل ايثر والميثانول بقطري تثبيط (7.7 ،8,7) ملم لنموها، في حين كانت هذه البكتريا مقاومة لمستخلص الهكسان (0.0) ملم كما هو مبين في (الصورة 7). أما الفعالية التثبيطية لمستخلصات الهكسان والداي أيثايل أيثر وخلات الأثيل تمثلت بالأقطار الآتية (7.3، 7.7، 7.3) ملم ضد نمو بكتريا *K. pneumoniae* والتي تعد مقاومة للمستخلصين الميثانول البارد والحار (0.0) ملم كما هو مبين في (الصورة 8).

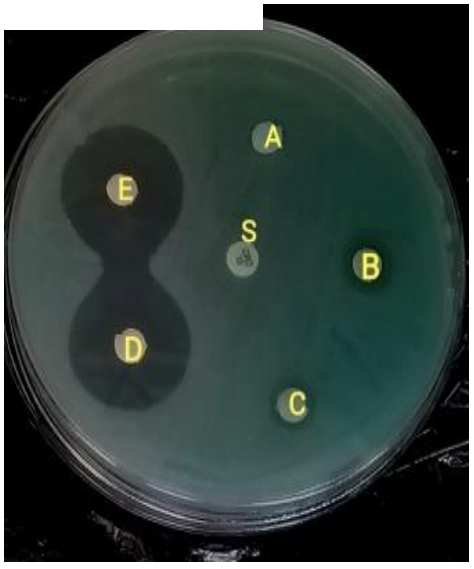
الملحق (1) تثبيط نمو الأنواع البكتيرية الممرضة بفعل مستخلصات الجسم الجاف للصرصور الأمريكي



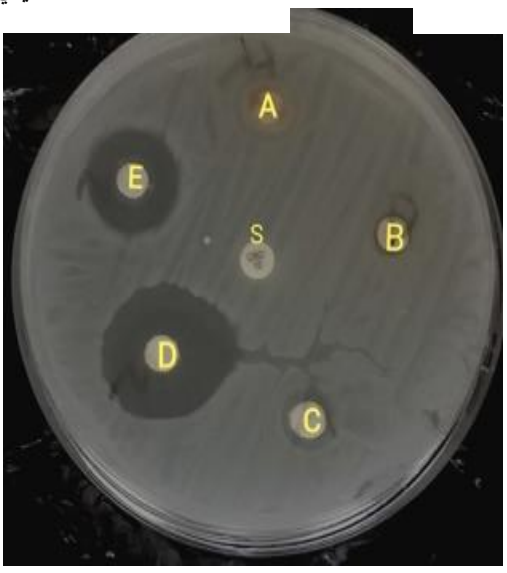
الصورة (1) تثبيط نمو بكتريا *Staph. aureus* بفعل مستخلصات الصرصور الأمريكي



الصورة (2) تثبيط نمو بكتريا *E. coli* بفعل مستخلصات الصرصور الأمريكي



الصورة (3) تثبيط نمو بكتريا *P. aeruginosa* بفعل مستخلصات الصرصور الأمريكي



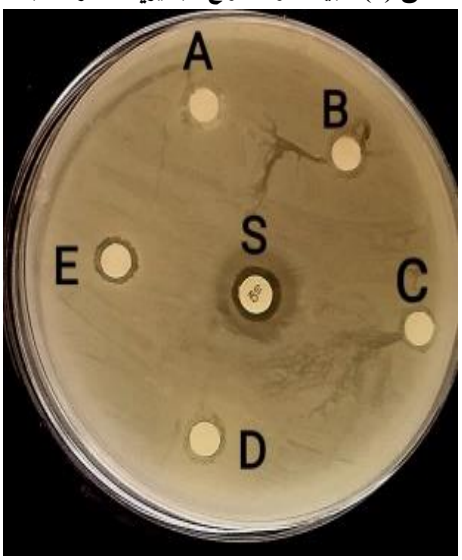
الصورة (4) تثبيط نمو بكتريا *K. pneumoniae* بفعل مستخلصات الصرصور الأمريكي

** A: مستخلص الهكسان
B: مستخلص الداي
C: مستخلص خلات الأثيل
D: مستخلص الميثانول البارد

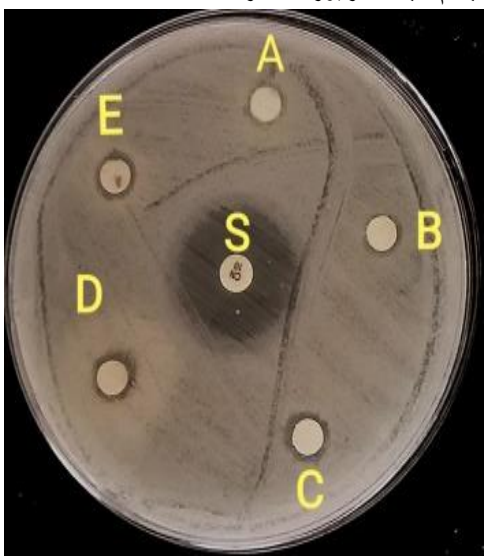
E: مستخلص الميثانول الحار

S : الدواء القياسي

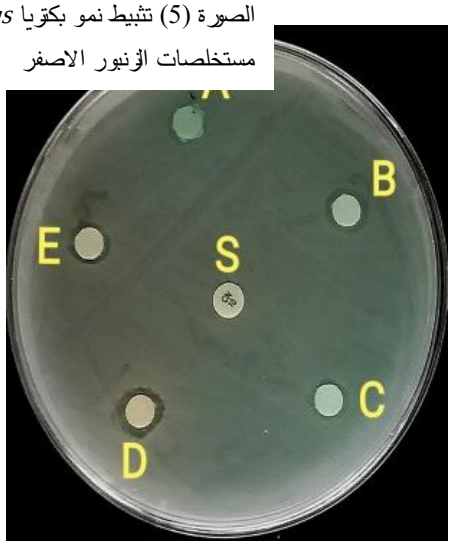
الملحق (2) تثبيط نمو الأنواع البكتيرية الممرضة بفعل مستخلصات الجسم الجاف للزنبور الأصفر



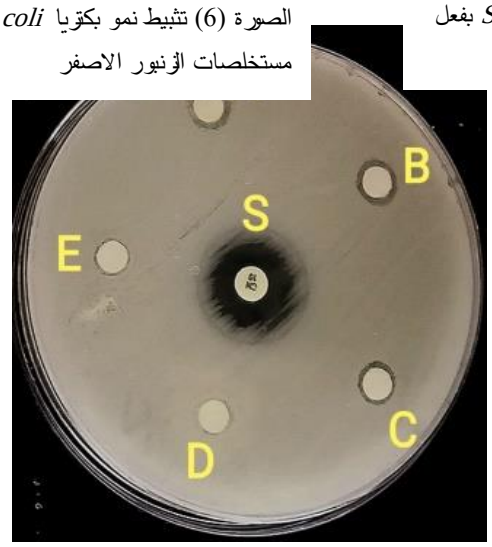
الصورة (5) تثبيط نمو بكتريا *Staph. aureus* بفعل مستخلصات الزنبور الاصفر



الصورة (6) تثبيط نمو بكتريا *E. coli* بفعل مستخلصات الزنبور الاصفر



الصورة (7) تثبيط نمو بكتريا *P. aeruginosa* بفعل مستخلصات الزنبور الاصفر



الصورة (8) تثبيط نمو بكتريا *K. pneumoniae* بفعل مستخلصات الزنبور الاصفر

** A: مستخلص الهكسان

B: مستخلص الداي أيثايل أيثر

C: مستخلص خلات الأثيل

D: مستخلص الميثانول البارد

E: مستخلص الميثانول الحار

S : الدواء القياسي

4- المناقشة Discussion

1.4- تثبيط نمو الأنواع البكتيرية بفعل مستخلص الجسم للصرصور الامريكي

من خلال الجدول رقم (1) تبين أن لمستخلص الجسم الجاف للصرصور الأمريكي *Periplaneta americana* فعالية تثبيطية لنمو الأنواع البكتيرية الممرضة، فقد أظهر نوعي البكتريا *Pseudomonas aeruginosa*، *Klebsiella pneumoniae* مقاومتيهما لمستخلص المذيب العضوي الهكسان ذو القطبية (0.1)، في حين كانت بكتريا *Staphylococcus aureus* الموجبة لصبغة جرام حساسة تجاه هذا المستخلص، ثم انخفضت حساسية بكتريا *Escherichia coli* عن سابقتها بفعل مستخلص الهكسان مع وجود فرق معنوي بينهما. وتماثلت حساسية نوعي البكتريا *Staph. aureus*، *P. auroginosa* معنوياً بفعل مستخلص الداي أيثايل أيثر ذي القطبية (2.8)، وعلى العكس من ذلك لم يؤثر هذا المستخلص في تثبيط نمو نوعي البكتريا *E. coli*، *K. pneumoniae*، في حين كانت حساسية المكورات العنقودية أعلى من بقية الأنواع البكتيرية قيد الدراسة بفعل مستخلص خلات الأثيل الذي تبلغ قطبيته (4.4)، مع ملاحظة فرق معنوي بينهما، في حين كانت الحساسية متساوية لنوعي البكتريا الزائفة الزنجارية والكليبسيلا الرئوية مع عدم وجود فرق معنوي بينهما، لكن أظهرت بكتريا الإشريكية القولونية مقاومة لمستخلص خلات الأثيل. قد أظهرت نتائج اختبار الحساسية بالأقراص أن بكتريا المكورات العنقودية كانت الأكثر حساسية تجاه مستخلص الميثانول ذو القطبية الأعلى (5.5)، من بين مستخلصات المذيبات العضوية المستعملة في الدراسة، في حين انخفضت حساسية بكتريا الزائفة الزنجارية لهذا المستخلص عن الأولى مع وجود فرق معنوي بينهما، بينما أعطى كلا نوعي البكتريا *E. coli*، *K. Pneumoniae* حساسية متماثلةً معنوياً بفعل مستخلص الميثانول. أما مستخلص الميثانول الحار، فلم يختلف معنوياً عن الميثانول البارد فقد تساوى فعله التثبيطي ضد نمو نوعي البكتريا *E. coli* ، *P. aeruginosa* بالقطرين (22.0، 24.0) ملم. في حين انخفض فعله المثبط لنمو بكتريا *Staph. aereus* وبكتريا *K. Pneumoniae*، بقطري تثبيط (25.7، 15.7) ملم، عن الفعل المثبط للميثانول البارد (29.0، 22.3) ملم.

تبين من خلال ذلك أن للمذيب العضوي أو درجة قطبيته دوراً مهماً في استخلاص المركبات من أجسام الحشرات والتي لها القدرة على تثبيط أنواع مختلفة من الأحياء المجهرية الممرضة وهذا يطابق دراسة Tahtamouni [22]، لنبات الزينة *Schinus molle* L. التي أثبت فيها فعالية المستخلصات الأيثانولية والميثانولية في تثبيط نمو بكتريا *Bacillus subtilis* الموجبة لصبغة جرام والبكتريا السالبة لصبغة جرام *Klebsiella pneumoniae*، كما أن سبب انعدام الحساسية أو قلتها في البكتريا السالبة لصبغة جرام يعود إلى الببتيدات المضادة لنمو البكتريا والتي تنتجها الحشرات كإحدى الآليات الدفاعية الموجبة الشحنة Yi وآخرين [23]. إضافة إلى الخصائص التركيبية لجدار الخلايا البكتيرية والتي تعد سببًا لفعالية المستخلص الحشري على نوع بكتيري معين دون الآخر Panawala [24]. تتوافق هذه النتائج مع دراسة Ali وآخرين [25]، لبيان فعالية مستخلص الدماغ للصرصور الأمريكي والذي كان له فعلاً مضاداً لنمو بكتريا المكورات العنقودية الذهبية والاشريكية القولونية. فضلاً عن دراسة Balasubramanian وآخرين [26]، والتي أثبت فيها نشاطاً مضاداً لهيمولمف الصرصور الشرقي *Blatta orientalis* ضد نمو بكتريا *Staph. aureus* بقطر 7.2 ملم و 16.15 ملم لبكتريا *E. coli*، أما بكتريا *K. pneumoniae* فهي كانت الأدنى حساسية تمثل بقطر 3.2 ملم، في كان القطر التثبيطي لبكتريا *P. miribalis* 7.9 ملم، وبقطر 4.38 ملم لبكتريا *S. typhii*.

2.4- التباين في الفعالية التثبيطية للأنواع البكتيرية المختبرة بفعل مستخلصات الجسم للزنبور الأصفر

أظهرت نتائج التحليل الإحصائي لبيانات اختبار انتشار الآكار لمستخلصات الجسم للزنبور الأصفر والمثبتة في الجدول رقم (2)، فقد اختلفت الأنواع البكتيرية المختبرة الموجبة والسالبة لصبغة جرام في مدى حساسيتها تجاه مستخلصات المذيبات المتعاقبة القطبية لجسم الزنبور الأصفر وعلى النحو الآتي: أظهر مستخلص الهكسان فعلاً مضاداً متساوياً معنوياً لنمو نوعي البكتريا *E. coli* و *K. pneumoniae*، دون وجود فعالية تثبيطية له ضد بكتريا *staph. aureus* و *P. auroginosa* . من جهة أخرى كان الفعل

التثبيطي متساوياً معنوياً لكلاً من مستخلص الداي أيثايل أيثر ومستخلص خلات الأثيل في فعاليتهما ضد نمو جميع الأنواع البكتيرية المختبرة، كما أظهرت بكتريا *E. coli* حساسية متميزةً معنوياً بأكثر من ضعفين نحو مستخلص الميثانول والذي أعطى فارقاً معنوياً ضعيفاً في تثبيطه لبكتريا *staph. aureus* و *P. auroginosa*. وعلى العكس من ذلك أبدت بكتريا *K. pneumoniae* مقاومة لهذا المستخلص، ليتبين أن مستخلص الميثانول تفوق على المستخلصات الأخرى في فعله المضاد لنمو الأنواع البكتيرية *Staph. aureus*، *E. coli*، *K. pneumoniae*، في حين كانت مستخلصات الهكسان والداي أيثايل أيثر وخلات الأثيل لم تظهر فروقات معنوية لتثبيط بكتريا *K. pneumoniae*. كذلك تبين عدم وجود فعالية تثبيطية متفوقةً معنوياً لمستخلص الميثانول الحار عن الميثانول البارد ضد نمو الأنواع البكتيرية *Staph. aureus*، *E. coli*، *P. auroginosa* التي كانت ذات حساسية ضعيفة معنوياً تجاه هذا المستخلص، والذي لم يؤثر في تثبيط نمو بكتريا *K. pneumoniae* (6.0) ملم. إن هذه النتائج تتعارض مع دراسة Al-shammery and Hozzein [27] لفعالية سم الزنبور الأصفر *P. watti* والذي أظهر فعلاً مضاداً قويا لبكتريا *Staph. aureus* أكثر من الأنواع البكتيرية الأخرى *Streptococcus mutanus*، *Salmonella typhimurium*، *Enterobacter cloacae*.

الشكر والتقدير

من العرفان للمتفضلين علينا بإكمال هذه الدراسة، الشكر والتقدير للمسؤولين في جامعة الموصل، وفي مقدمتهم عميد كلية التربية للعلوم الصرفة الاستاذ المساعد الدكتور قيس اسماعيل ابراهيم بتهيئة ظروف البحث العلمي في الكلية، والاستاذ الدكتور محمد سعيد فيصل رئيس قسم علوم الحياة لجهوده في تذليل كل الصعوبات وتوفير جميع مستلزمات هذه الدراسة.

الاستنتاجات

1- للحشرات قدرة كبيرة على مقاومة المسببات المرضية

2- للمستخلصات الحشرية فعالية تثبيطية متباينة لنمو البكتريا

3- المذيب العضوي الميثانول كان الأفضل معنويا لاستخلاص المركبات الفعالة ضد نمو الأنواع البكتيرية البكتيرية الموجبة والسالبة لصبغة كرام من أجسام الحشرات

4- تفوق مستخلص الميثانول البارد على مستخلص الميثانول الحار في تثبيط نمو البكتريا

5- الفعل التثبيطي لنمو البكتريا لمستخلص أجسام الحشرات التي تقطن البيئات ذات التلوث الميكروبي العالي أعلى من مستخلصات تلك الحشرات التي تعيش في ظروف اجتماعية.

5. المصادر References

[1] A. Ansari, "Bacteriocin from LAB for medical and health applications," in *Beneficial Microorganisms in Medical and Health Applications*, ed: Springer, 2015, pp. 199-221.

[2] C. Salisbury, "In Chemical Analysis for Antibiotics Used in Agriculture, Oka H, Nakazawa H, Harada KI, MacNeil JD," *AOAC International: Arlington, VA*, vol. 307, 1995.

[3] E. Tacconelli, "Global Priority List of Antibiotic-Resistant Bacteria to Guide Research, Discovery, and Development," 2017.

[4] E. M. Costa-Neto, "The use of insects in folk medicine in the state of Bahia, northeastern Brazil, with notes on insects reported elsewhere in Brazilian folk medicine," *Human Ecology*, vol. 30, pp. 245-263, 2002.

[5] M. Berenbaum, "Bugs in the systems: Insects and Their Impacts on Human Affairs, Addisson Wesley. and Castner, eds," ed: CRC Press, Boca Raton, 1995.

[6] I. Dubovskiy, N. Kryukova, V. Glupov, and N. Ratcliffe, "Encapsulation and nodulation in insects," *Invertebrate Survival Journal*, vol. 13, pp. 229-246, 2016.

[7] J. Liu, J. Jiang, J. Zong, B. Li, T. Pan, Y. Diao, *et al.*, "Antibacterial and anti-biofilm effects of fatty acids extract of dried *Lucilia sericata* larvae against *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus pneumoniae* in vitro," *Natural Product Research*, vol. 35, pp. 1702-1705, 2021.

[8] D. Duneau, P. Luijckx, F. Ben-Ami, C. Laforsch, and D. Ebert, "Resolving the infection process reveals striking differences in the contribution of environment, genetics and phylogeny to host-parasite interactions," *BMC biology*, vol. 9, pp. 1-12, 2011.

[9] M. B. Thomas and S. Blanford, "Thermal biology in insect-parasite interactions," *Trends in Ecology & Evolution*, vol. 18, pp. 344-350, 2003.

[10] D. Soliman, S. Mo'men, T. Roshdy, and N. M. Lotfy, "Evaluation of the antimicrobial activity of purified *Spodoptera littoralis* hemolymph against some pathogenic bacteria," *African Journal of Biological Sciences*, vol. 17, pp. 221-231, 2021.

[11] S. Kurata, "Intra-and extracellular recognition of pathogens and activation of innate immunity," *Yakugaku Zasshi: Journal of the Pharmaceutical Society of Japan*, vol. 126, pp. 1213-1218, 2006.

[12] A. Larsen, F. J. Reynaldi, and E. Guzmán-Novoa, "Fundaments of the honey bee (*Apis mellifera*) immune system. Review," *Revista mexicana de ciencias pecuarias*, vol. 10, pp. 705-728, 2019.

[13] J. Jalaei, M. Fazeli, H. Rajaian, and S. S. Shekarforoush, "In vitroantibacterial effect of wasp (*Vespa orientalis*) venom," *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*, vol. 20, pp. 01-06, 2014.

[14] N. Surendra, G. Jayaram, and M. Reddy, "Antimicrobial activity of crude venom extracts in honeybees (*Apis cerana, Apis dorsata, Apis florea*) tested against selected pathogens," *African Journal of Microbiology Research*, vol. 5, pp. 2765-2772, 2011.

[15] P. T. Brey, W.-J. Lee, M. Yamakawa, Y. Koizumi, S. Perrot, M. Francois, *et al.*, "Role of the integument in insect immunity: epicuticular abrasion and induction of cecropin synthesis in cuticular epithelial cells," *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 90, pp. 6275-6279, 1993.

[16] H. Tang and H. Tang, "Regulation and function of the melanization reaction in," ed: Drosophila, 2009.

[17] M. I. Hassan, A. Z. Shehata, M. Farag, A. M. Shehab, M. Mansour, and A. N. Abdel-Aziz, "Antibacterial, antiviral and cytotoxic activities of *Rhynchophorus ferrugineus* (Coleoptera: Dryophthoridae) and *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae) larval extracts," *Journal of the Egyptian Society of Parasitology*, vol. 48, pp. 289-299, 2018.

[18] A. Bauer, "Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method," *Am J clin pathol*, vol. 45, pp. 149-158, 1966.

[19] S. B. Singh, K. Young, and L. Miesel, "Screening strategies for discovery of antibacterial natural products," *Expert review of anti-infective therapy*, vol. 9, pp. 589-613, 2011.

[20] L. Hou, Y. Shi, P. Zhai, and G. Le, "Antibacterial activity and in vitro anti-tumor activity of the extract of the larvae of the housefly (*Musca domestica*)," *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 111, pp. 227-231, 2007.

[21] D. Duncan, "Multiple range and multiple F test. Biometric 11, 1-42," *JMF Abreu, AM Bruno-Soares/Animal Feed Science Technology 70 (1998) 49-57 Sl*, 1955.

[22] R. W. Tahtamouni, "Investigating the Antibacterial Potential of Ethanolic and Methanolic Extracts of the *Schinus molle* L Tree," *Jordan Journal of Biological Sciences*, vol. 11, 2018.

[23] H.-Y. Yi, M. Chowdhury, Y.-D. Huang, and X.-Q. Yu, "Insect antimicrobial peptides and their applications," *Applied microbiology and biotechnology*, vol. 98, pp. 5807-5822, 2014.

[24] L. Panawala, "Difference between gram positive and gram negative bacteria," *Epedıaa,* vol. 3, pp. 1-13, 2017.

[25] S. M. Ali, R. Siddiqui, S.-K. Ong, M. R. Shah, A. Anwar, P. J. Heard, *et al.*, "Identification and characterization of antibacterial compound (s) of cockroaches (*Periplaneta americana*)," *Applied microbiology and biotechnology*, vol. 101, pp. 253-286, 2017.

[26] S. Balasubramanian, K. Priya, I. Revathi, A. Revathi, P. Venkatesh, and G. Gunasekaran, "Screening of antibacterial activity and biochemical assay from haemolymph of cockroach *Blatta orientalis* (Linnaeus, 1758)," *J Entomol Zool Stud*, vol. 5, pp. 753-8, 2017.

[27] K. A. Al-Shammery and W. N. Hozzein, "Antibacterial activities of two potential peptides extracted from *Polistes wattii* Cameron, 1900 (Vespidae: Polistinae) wasp venom collected at Eastern Province, Saudi Arabia," *Plos one*, vol. 17, p. e0264035, 2022.