Reducing Bacterial Strains from Polluted Water Using *Zizyphus Spina*

خفض بعض السلالات البكتيرية من المياه الملوثة باستخدام نبات السدر

خالد فالح حسن, سعدي كاظم عبد الحسين, زينة محمد مهدي
مركز بحوث ومختبرات المياه/ دائرة بحوث و تكنولوجيا البيئة والمياه/ وزارة العلوم والتكنولوجيا

الخلاصة

استخدم المستخلص الكحولي لاوراق نبات السدر (*Ziziphus spina*) بالتراكيز 250 و 500 و 750 و 1000 جزء بالمليون ومنقوع الاوراق المائي بالتراكيز 20000 و 40000 و 60000 و 80000 و 100000 جزء بالمليون لخفض اعداد بكتيريا *Staphylococcus aureus Escherichia coli Pseudomonas aeruginosa* و عدد البكتيريا الكلي من مياه الصرف الصحي مختبريا بظروف حرارة 37 ^{o}م واس هيدروجيني 6.5 ولفترة معاملة 5-48 ساعة. اظهرت تراكيز المستخلص الكحولي لاوراق نبات السدر 250-1000 جزء بالمليون قدرة عالية على خفض اعداد البكتيريا اعلاه وبنسبة 36 - 100% اثناء 18 ساعة من المعاملة على التوالي, فيما اظهرت تراكيز منقوع اوراق السدر 40000-100000 جزء بالمليون كفاءة في خفض اعداد البكتيريا أعلاه بنسبة 34-93% اثناء 24 ساعة على التوالي. اظهر تركيز المستخلص الكحولي 1000 جزء بالمليون قدرة عالية على خفض بكتيريا *Escherichia coli* و*Staphylococcus aureus* بنسبة 100% والعدد الكلي للبكتيريا TPC بنسبة 63% اثناء 18 ساعة فيما اظهر تركيز منقوع الاوراق 100000 جزء بالمليون كفاءة في خفض نفس البكتيريا وبنسبة 100% والعدد الكلي للبكتيريا بنسبة 28% اثناء 48 ساعة.

ABSETRACT

Ziziphus spina leaves alcohol extract in concentrations of 250, 500, 750 and 1000 ppm and aqueous infusion of leaves in concentrations of 20000, 40000, 60000, 80000 and 100000 ppm were used to reduce *Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus* and total bacterial account from wastewater in laboratory conditions of 37 ^{o}C, pH 6.5 and 5-48 hr treatment period. Concentrations of leaves alcohol extract 250-1000 ppm showed high ability to reduce the bacteria *Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus* account by 36%-100% in 18 hr period treatment, while, leaves aqueous infusion in concentrations of 40000-100000 ppm showed its ability to reduce *Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus* by 34%-93% in 24 hr period treatment. Leaves alcohol extract in concentration of 1000 ppm showed high ability to reduce *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* by 100% and TPC by 63% in 18 hr while leaves infusion 100000 ppm reduce the same bacteria by 100% and TPC by 28% in 48 hr treatment period.

المقدمة

تعد المياه العادمة للنشاطات الصناعية والطبية والصرف الصحي من المصادر الرئيسية لتلوث البيئة المائية بالكثير من المسببات المرضية كالبكتيريا الموجبة والسالبة لصبغة كرام عند تصريفها الى المياه السطحية دون معالجة مناسبة, اذ تعمل هذه الملوثات على تغيير مواصفات المياه وتسبب اضطراب بالنظام البيئي اضافة لتاثيراتها الصحية الخطيرة. ان هذه المياه الملوثة هي من اهم مصادر تلوث المياه السطحية بالكثير من انواع البكتيريا مثل *Salmonella* و*Escherichia coli* و *Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus* المسببة للامراض [1] اذ بينت دراسة [2] انتشار بكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* و*Staphylococcus aureus* في مياه شرب محافظة البصرة وميسان و ذي قار خلال فصل الصيف مسببة الكثير منَ الحالات المرضية الخطيرة.

تزايدت الحاجة في الوقت الحاضر الى استحداث مواد طبيعية لتعقيم المياه بدلا عن المعقمات الكيميائية التي ادى الاستعمال الواسع لها ولفترات طويلة الى ظهور سلالات بكتيرية مقاومة لها اضافة الى تاثيراتها الجانبية [3] و قد بينت دراسات كثيرة [4 و 5 و6 و7] قدرة المستخلصات الكحولية لبعض النباتات في القضاء على العديد من الاجناس البكتيرية الموجبة والسالبة لصبغة كرام من خلال تحطيمها للجدار الخلوي البكتيري اذ اثبتوا في دراستهم ان تاثير المستخلصات النباتية والمضادات الحيوية البكتيرية يكون مباشرة على الجدار الخلوي للخلية البكتيرية والمتكون من مجموعة من المركبات مثل السكريات المتعددة (polysaccharides) و الاحماض الشحمية والبروتين وهذا الاخير متكون من مجموعات ثانوية مثل Carboxyl و Hydroxyl وكذلك يحتوي على الفوسفات ومجاميع من الاحماض الامينية.

تهدف الدراسة الحالية الى اختبار كفاءة المستخلص الكحولي و منقوع اوراق نبات السدر في خفض اعداد بكتيريا *Escherichia coli* و *Pseudomonas aeruginosa* و *Staphylococcus aureus* و العدد الكلي للبكتيريا من المياه الملوثة مختبريا.

المواد وطرائق العمل

تم عزل بكتيريا *Escherichia coli* حسب الطريقة القياسية رقم F-9260 [18] وعزلت بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* و *Staphylococcus aureus* حسب طريقـة [19] و [20] من مياه التصريف النهائي لمحطة الرستمية لمعالجة مياه الصرف الصحي في بغداد و نميت العزلات البكتيرية على وسط Nutrient agar, اخذت مسحة من العزلة البكتيرية النقية الى دوارق زجاجية معقمة حاوية على وسط Nutrient broth وحضنت في حرارة 37 ^{o}م لتكثير اعداد البكتيريا وتكوين العالق البكتيري.

جمعت اوراق نبات السدر وغسلت جيدا بماء الحنفية ومن ثم غسلت مرة ثانية بالماء المقطر ونشفت بالهواء وانتخبت عينات من اوراق السدر بوزن 20 و 40 و 60 و 80 و 100 غرام ووضعت في بيكر زجاجي نظيف ومعقم حاوي على واحد لتر من الماء المقطر المضاف اليه 2 مليلتر من حامض النتريك N 0.001 و واحد مليلتر حامض الفسفوريك N 0.005 و 2 ملغم كبريتات المغنسيوم لاذابة المادة الراتنجية الموجودة على سطح ورقة نبات السدر ولمدة تنقيع 48 ساعة لضمان استخلاص هذه المادة, بعدها رشح المنقوع بجهاز Vacuum باستخدام اوراق ترشيح بحجم ثقوب 0.45 مايكرون وعدلت قيمة الدالة الحامضية واستخدم في التجارب [21].

جمعت اوراق نبات سدر اخرى وغسلت جيدا بماء الحنفية ومن ثم غسلت مرة ثانية بالماء المقطر وتركت لتجف بحرارة الغرفة 25 ^{o}م ولمدة 48 ساعة. طحنت الاوراق للحصول على مسحوق متجانس, وحضر المستخلص الكحولي باستخدام جهاز Soxhlet extractor, و وزن 100 غرام من مسحوق الاوراق المجففة واضيف اليها 250 مليلتر كحول اثيلي 95%, استمرت العملية اربعة ساعات بدرجة حرارة 80 ^{o}م ورشح المستخلص عبر اوراق ترشيح بحجم ثقوب 0.45 مايكرون, وبعد الترشيح وزع المستخلص على اطباق زجاجية و وضعت في الحاضنة بحرارة 37 ^{o}م لتركيز المستخلص [22], وتم تحضير محلول قياسي للمستخلص الكحولي بتركيز 10000 جزء بالمليون باذابة 10 غرام من المستخلص النباتي في واحد لتر ماء مقطر معقم ومنه حضرت التراكيز 250, 500, 750, 1000 جزء بالمليون بطريقة التخافيف باستخدام ماء مقطر معقم [23].

اخذ واحد مليلتر من العالق البكتيري و لكل من العزلات البكتيرية المنتخبة *Escherichia coli* و *Pseudomonas aeruginosa* و *Staphylococcus aureus* ووضع في دورق زجاجي معقم واكمال الحجم الى 100 مليلتر من تراكيز المنقوع المائي لاوراق السدر 20000-100000 جزء بالمليون والمخففة باستخدام مياه مخلفات الصرف الصحي المعقمة وبواقع ثلاث مكررات لكل عزلة بكتيرية اضافة الى معامل السيطرة المعامل بنفس الظروف عدا اضافة منقوع اوراق السدر وحضنت الدوارق في 37 ^{o}م ولمدة 24 و 48 ساعة.

اخذ واحد مليلتر من العالق البكتيري و لكل من العزلات البكتيرية المنتخبة *Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus* ووضع في دورق زجاجي معقم واكمال الحجم الى 100 مليلتر باستخدام تراكيز المستخلص الكحولي لاوراق نبات السدر 250-1000 جزء بالمليون والمخففة باستخدام مياه مخلفات الصرف الصحي المعقمة وبواقع ثلاث مكررات لكل عزلة بكتيرية وحضنت الدوارق في 37 ^{o}م لفترة 24 ساعة [24].

تم اضافة المستخلص الكحولي بالتراكيز 250 و 500 و 750 و 1000 جزء بالمليون المحضرة من التركيز القياسي وباستخدام الوسط Nutrient agar للتخفيف بحجم 20 مليلتر الى اطباق زجاجية معقمة حاوية على واحد مليلتر من عينة الصرف الصحي غير المعقمة مع رجها جيدا لتجانس العينة مع الوسط وحضنها لمدة 24 ساعة بحرارة 37 ^{o}م وحساب العدد الكلي للبكتيريا (TPC) حسب طريقة E-9320 [32]. حضرت دوارق زجاجية معقمة حاوية على تراكيز منقوع اوراق السدر

20000 و 40000 و 60000 و 80000 و 100000 جزء بالمليون والمحضرة باستخدام مياه الصرف الصحي غير المعقمة ورجت جيداً, اخذ واحد مليلتر من المزيج ولكل تركيز ووضعت في اطباق زجاجية معقمة واضيف اليها الوسط Nutrient agar ورجت جيدا وحضنت لمدة 24 ساعة بحرارة 37 ^{o}م لحساب العدد الكلي للبكتيريا.

حسبت اعداد الخلايا البكتيرية في واحد مليلتر من العالق البكتيري باستخدام طريقة Hemocytometer (counting chumber) [25] و حسب المعادلة:

عدد البكتيريا (خلية/مليلتر) = عدد الخلايا في 4 مربعات× 4 × 10

نسبة الخفض= (A – B) / A × 100

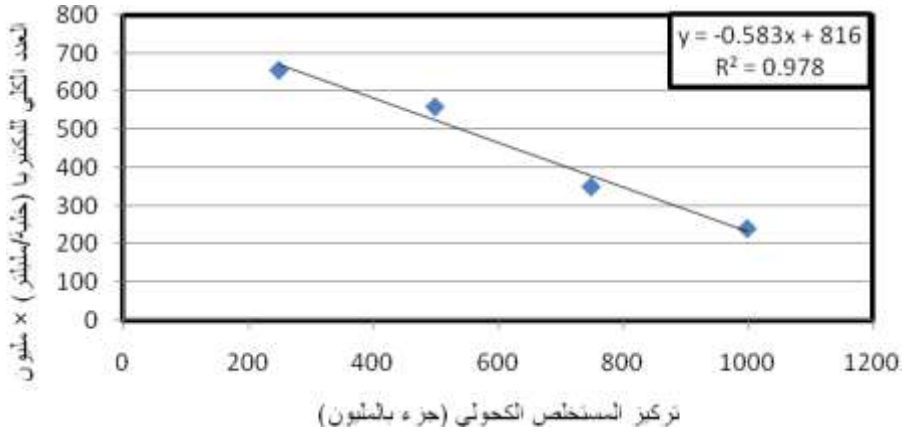
A= عدد البكتيريا قبل المعاملة

B= عدد البكتيريا بعد المعاملة

العدد الكلي للبكتيريا (TPC) = عدد الخلايا البكتيرية في الطبق الواحد × معكوس التخفيف

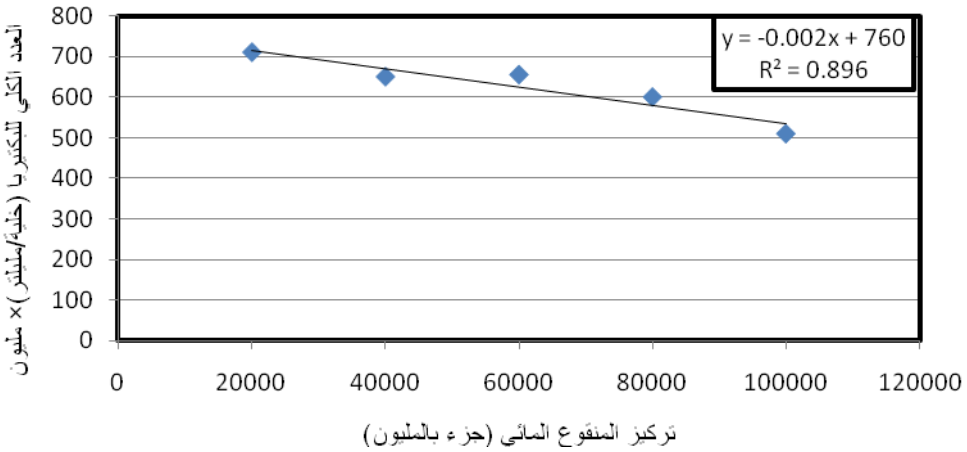
النتائج

يتضح من الشكل (1) العلاقة بين تراكيز المستخلص الكحولي لاوراق نبات السدر و خفض العدد الكلي لبكتيريا مياه مخلفات الصرف الصحي لمحطة الرستمية في بغداد بعد المعاملة اذ انخفضت الاعداد البكتيرية الى 65.6 و 56 و 35.2 و 24 مليون خلية/مليلتر باستخدام التراكيز 250 و 500 و 750 و 1000 جزء بالمليون على التوالي مقارنة بمعامل السيطرة.



الشكل (1) العلاقة بين العدد الكلي للبكتيريا والمستخلص الكحولي لاوراق نبات السدر

يتبين من الشكل (2) العلاقة بين تراكيز منقوع اوراق نبات السدر و خفض العدد الكلي لبكتيريا مياه مخلفات الصرف الصحي لمحطة الرستمية في بغداد بعد المعاملة اذ انخفضت الاعداد البكتيرية الى 65.6 و 65.6 و 60.8 و 51.2 مليون خلية/مليلتر باستخدام التراكيز 40000 و 60000 و 80000 و 100000 جزء بالمليون على التوالي مقارنة بمعامل السيطرة.



شكل (2) العلاقة بين العدد الكلي للبكتيريا و منقوع اوراق نبات السدر

يتضح من الجدول (1) نسبة خفض اعداد بكتيريا *Escherichia coli* من المياه الملوثة بعد معاملتها بالمستخلص الكحولي لاوراق نبات السدر بالتراكيز 250 و 500 و 750 و 1000 جزء بالمليون و لمدة 24 ساعة, اذ كانت اعداد البكتيريا قبل المعاملة حوالي 300 خلية/مليلتر وانخفضت الى 255, 235, 200 و 160 خلية/مليلتر بعد خمس ساعات من المعاملة وعلى التوالي واستمر الانخفاض بالاعداد البكتيرية الى 165 و 144 و 96 خلية/مليلتر بعد 18 ساعة من المعاملة بالتراكيز 250 و 500 و 075 جزء بالمليون مع خفض البكتيريا بنسبة 100% عند التركيز 1000 جزء بالمليون مقارنة بمعاملة السيطرة, وبعد 24 ساعة من المعاملة كانت نسبة خفض الاعداد البكتيرية 68 و 74 و 100% ولتراكيز المستخلص الكحولي 250 و 500 و 750 جزء بالمليون وعلى التوالي.

الجدول (1) نسب اعداد بكتيريا *Escherichia coli* بعد معاملتها بالمستخلص الكحولي لاوراق نبات السدر

ت	المستخلص الكحولي (جزء بالمليون)	عدد البكتيريا قبل المعاملة (خلية/مليلتر)	عدد البكتيريا بعد المعاملة (خلية/مليلتر)			نسبة البكتيريا اثناء 24 ساعة (%)
			5 ساعات	18 ساعة	24 ساعة	
1	Control	300	785	1100	3540	-
2	250	295	255	165	95	68
3	500	290	235	144	75	74
4	750	300	200	96	0	100
5	1000	290	160	0	0	100

يتبين من الجدول (2) نسبة اعداد بكتيريا *E. coli* باستخدام منقوع اوراق نبات السدر اذ كانت نسبة اعداد البكتيريا 2 و 51 و 69 و 81 و 100% للتراكيز 20000 و 40000 و 60000 و 80000 و 100000 جزء بالمليون على التوالي خلال 48 ساعة معاملة بقيمة دالة حامضية 5-7, اذ كانت اعداد البكتيريا قبل المعاملة حوالي 500 خلية/مليلتر وباستخدام تراكيز منقوع اوراق السدر 20000-100000 جزء بالمليون انخفضت اعداد البكتيريا اثناء 24 ساعة الى 445 و 380 و 282 و 214 و 106 خلية/مليلتر على التوالي مقارنة مع معاملة السيطرة, واستمر انخفاض اعداد البكتيريا بعد 48 ساعة الى 439 و 225 و154 و 90 خلية/مليلتر لنفس تراكيز المنقوع.

الجدول (2) نسب اعداد بكتيريا *Escherichia coli* بعد معاملتها بمنقوع اوراق نبات السدر

ت	تركيز منقوع السدر (جزء بالمليون)	عدد البكتيريا قبل المعاملة (خلية/مليلتر)	عدد البكتيريا بعد المعاملة (خلية/مليلتر)		نسبة البكتيريا اثناء 48 ساعة (%)
			24 ساعة	48 ساعة	
1	Control	500	4500	8500	-
2	20000	450	445	439	2
3	40000	460	380	225	51
4	60000	495	282	154	69
5	80000	470	214	90	81
6	100000	480	106	0	100

يتبين من الجدول (3) نسبة خفض اعداد بكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* من المياه الملوثة بعد معاملتها بالمستخلص الكحولي لاوراق نبات السدر بالتراكيز 250 و 500 و 750 و 1000 جزء بالمليون و لمدة 24 ساعة, اذ كانت اعداد البكتيريا حوالي 300 خلية/مليلتر قبل المعاملة وانخفضت الى 277 و 250 و 220 و 205 خلية/مليلتر بعد خمسة ساعات من المعاملة

بتراكيز المستخلص وعلى التوالي واستمر الانخفاض بالاعداد البكتيرية الى 200 و 185 و 110 و 95 خلية/مليلتر بعد 18 ساعة من المعاملة بالتراكيز 250 و 500 و 750 و 1000 جزء بالمليون مقارنة بمعاملة السيطرة, وبعد 24 ساعة من المعاملة كانت نسبة خفض الاعداد البكتيرية لتراكيز المستخلص الكحولي 46 و58 و 83 و 100% وعلى التوالي.

الجدول (3) نسب اعداد بكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* بعد معاملتها بالمستخلص الكحولي لاوراق نبات السدر

ت	المستخلص الكحولي (جزء بالمليون)	عدد البكتيريا قبل المعاملة (خلية/مليلتر)	عدد البكتيريا بعد المعاملة (خلية/مليلتر)		نسبة البكتيريا اثناء 24 ساعة (%)
			5 ساعات	18 ساعة	24 ساعة
1	Control	298	790	1220	3680	-
2	250	295	277	200	160	46
3	500	290	250	185	120	58
4	750	300	220	110	50	83
5	1000	290	205	95	0	0

يتضح من الجدول (4) نسبة خفض اعداد بكتيريا *Pseudo. aeruginosa* باستخدام منقوع اوراق نبات السدر اذ كانت نسبة خفض اعداد البكتيريا 8 و 34 و 68 و 92% بعد 48 ساعة معاملة لتراكيز منقوع اوراق نبات السدر 40000 و 60000 و 80000 و 100000 جزء بالمليون على التوالي وبقيمة دالة حامضية 5-7, اذ كانت اعداد البكتيريا قبل المعاملة حوالي 350 خلية/مليلتر وانخفضت الى 343 و 298 و 287 و 277 خلية/مليلتر بعد 24 ساعة من المعاملة بتراكيز منقوع اوراق السدر, واستمر الانخفاض الى 342 و 225 و 109 و 25 خلية/مليلتر خلال 48 ساعة لنفس التراكيز على التوالي.

الجدول (4) نسب اعداد بكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* بعد معاملتها بمنقوع اوراق نبات السدر

ت	تركيز منقوع السدر (جزء بالمليون)	عدد البكتيريا قبل المعاملة (خلية/مليلتر)	عدد البكتيريا بعد المعاملة (خلية/مليلتر)		نسبة البكتيريا اثناء 48 ساعة (%)
			24 ساعة	48 ساعة	
1	Control	350	4850	9700	-
2	20000	344	360	440	0
3	40000	345	343	342	8
4	60000	340	298	225	34
5	80000	340	287	109	68
6	100000	330	277	25	92

يتضح من الجدول (5) نسبة خفض اعداد بكتيريا *Staphylococcus aureus* من المياه الملوثة بعد معاملتها بالمستخلص الكحولي لاوراق نبات السدر بالتراكيز 250 و 500 و 750 و 1000 جزء بالمليون و لمدة 24 ساعة, اذ كانت اعداد البكتيريا حوالي 320 خلية/مليلتر قبل المعاملة وانخفضت الى 225 و 190 و 140 و 90 خلية/مليلتر بعد خمسة ساعات من المعاملة بتراكيز المستخلص وعلى التوالي واستمر الانخفاض بالاعداد البكتيرية الى 85 و 25 خلية/مليلتر بعد 18 ساعة من المعاملة للتركيزين 250 و500 جزء بالمليون مع خفض للاعداد البكتيرية بنسبة 100% للتركيزين 750 و 1000 جزء بالمليون مقارنة بمعامل السيطرة, وبعد 24 ساعة من المعاملة كانت نسبة خفض الاعداد البكتيرية لكل تراكيز المستخلص الكحولي بنسبة 100%.

الجدول (5) نسب اعداد بكتيريا *Staphylococcus aureus* بعد معاملتها بالمستخلص الكحولي لاوراق نبات السدر

ت	المستخلص الكحولي (جزء بالمليون)	عدد البكتيريا قبل المعاملة (خلية/مليلتر)	عدد البكتيريا بعد المعاملة (خلية/مليلتر)			نسبة البكتيريا اثناء 24 ساعة (%)
			5 ساعات	18 ساعة	24 ساعة	
1	Control	320	890	1560	3890	-
2	250	320	225	85	0	100
3	500	310	190	25	0	100
4	750	305	140	0	0	100
5	1000	315	90	0	0	100

يتضح من الجدول (6) نسبة خفض اعداد بكتيريا *S. aureus* بعد معاملتها بمنقوع اوراق نبات السدر اذ كانت نسبة خفض اعداد البكتيريا بعد 48 ساعة معاملة 2 و 62 و 80 و 100 و 100% لتراكيز منقوع اوراق السدر 20000 و 40000 و 60000 و 80000 و 100000 جزء بالمليون على التوالي و بدالة حامضية 5-7, اذ كانت اعداد البكتيريا قبل العاملة حوالي 300 خلية/مليلتر وانخفضت الى 293 و 206 و 180 و 100 و 20 خلية/مليلتر بعد 24 ساعة من المعاملة مع تراكيز المنقوع 20000-100000 جزء بالمليون على التوالي, واستمر الانخفاض الى 290 و 110 و 60 خلية/مليلتر خلال 48 ساعة لنفس التراكيز على التوالي.

الجدول (6) نسب اعداد بكتيريا *Staphylococcus aureus* بعد معاملتها بمنقوع اوراق نبات السدر

ت	تركيز منقوع السدر (جزء بالمليون)	عدد البكتيريا قبل المعاملة (خلية/مليلتر)	عدد البكتيريا بعد المعاملة (خلية/مليلتر)		نسبة البكتيريا اثناء 48 ساعة (%)
			24 ساعة	48 ساعة	
1	Control	300	3050	8680	-
2	20000	295	293	290	2
3	40000	290	206	110	62
4	60000	300	180	60	80
5	80000	290	100	0	100
6	100000	297	20	0	100

المناقشة

اظهرت تراكيز المستخلص الكحولي لاوراق نبات السدر 500 و 750 جزء بالمليون قدرة على خفض اعداد بكتيريا *E. coli* من المياه الملوثة وبنسبة 50 و 68% على التوالي اثناء ثمانية عشر ساعة من المعاملة مع خفض البكتيريا بنسبة 100% باستخدام التركيز 1000 جزء بالمليون اذ توافقت النتائج مع [10] في دراستهما لازالة بكتيريا *E. coli* المرضية الواسعة الانتشار في نيجيريا باستخدام المستخلص الكحولي لبعض النباتات الطبية ومنها السدر اثناء ستة عشر ساعة, وكذلك توافقت النتائج مع [14] في دراستها على المضادات البكتيرية المستخلصة من ثمار وجذور واوراق نبات السدر واستخدامها لازالة بكتيريا *Escherichia coli* و *Pseudomonas aeruginosa* و *Staphylococcus aureus* من المزرعة السائلة اثناء ثمان ساعات باستخدام تركيز 200 ملغم/مليلتر و كذلك بينت دراسة [11] قدرة المستخلص الكحولي لاوراق نبات السدر في القضاء على بكتيريا *E. coli* وبكفاءة عالية باستخدام التراكيز 100-400 ملغم/مليلتر, فيما اظهرت تراكيز منقوع اوراق السدر 60000-100000 جزء بالمليون كفاءة في خفض اعداد البكتيرية اثناء 24 ساعة بنسبة 43 و 54 و 77% على التوالي وقد تقاربت النتائج

مع [12] في دراستهم حول كفاءة المستخلصات المائية لبعض النباتات في خفض اعداد بكتيريا *E. coli* اذ بينت دراستهم قدرة المستخلص المائي لنبات السدر في ازالة 60 – 68% من البكتيريا.

اظهرت تراكيز المستخلص الكحولي لاوراق السدر 500 و 750 و 1000 جزء بالمليون كفاءة في خفض اعداد بكتيريا *P. aeruginosa* اثناء ثمانية عشر ساعة معاملة و بنسبة 36 و 63 و 65% مع خفض بنسبة 100% باستخدام التركيز 1000 جزء بالمليون اثناء 24 ساعة اذ توافقت النتائج مع [13 و 15] في دراستهم على المضادات البكتيرية المستخلصة من نبات السدر وقدرة المستخلص الكحولي للاوراق على ازالة بكتيريا *P. aeruginosa* اثناء 24 ساعة من المزرعة السائلة, فيما اظهرت تراكيز منقوع الاوراق 60000 و 80000 و 100000 جزء بالمليون قدرة اقل في خفض اعداد البكتيريا وبنسبة 12 و 15 و 16% على التوالي اثناء 24 ساعة معاملة. اثبت [4] في دراسته قدرة المستخلص المائي لثمار واوراق نبات السدر على خفض اعداد بكتيريا *P. aeruginosa* من المياه الملوثة في نيجيريا لكونها واسعة الانتشار في المناطق الحارة وبكفاءة عالية وبنسبة 60-76%, وبينت دراسة [5] قدرة المضادات البكتيرية المستخلصة من نبات السدر على خفض اعداد بكتيريا *Pseudo. aeruginosa* بدرجة كبيرة من المزرعة السائلة.

اظهرت تراكيز المستخلص الكحولي لاوراق نبات السدر 250-1000 جزء بالمليون قدرة عالية على خفض بكتيريا *Staphylococcus aureus* بنسبة 100% من المياه الملوثة اثناء 24 ساعة من المعاملة, فقد اظهر التركيزين 750 و 1000 جزء بالمليون كفاءة كبيرة في القضاء على البكتيريا اثناء ثمانية عشر ساعة وبنسبة 100% واظهر التركيزين 250 و 500 جزء بالمليون قدرة كبيرة في خفض الاعداد البكتيرية وبنسبة 73 و 91% على التوالي خلال نفس الفترة من المعاملة وقد توافقت هذه النتائج مع [26] في دراسته على ازالة بكتيريا *S. aureus* من المزرعة السائلة اثناء ستة عشر ساعة باستخدام المضادات البكتيرية المستخلصة من نبات السدر, توافقت نتائج الدراسة الحالية مع [27] في دراستهما حول كفاءة المضادات البكتيرية المستخلصة من النباتات الطبية ومنها نبات السدر على قتل الاحياء المجهرية *Staphylococcus aureus* و *Candida albicans* و *Trichophyton rubrum* وبكفاءة عالية فقد بين [16] في دراستهم كفاءة المضادات الحيوية المستخلصة من النباتات في القضاء على بكتيريا *Staphylococcus* و قدرة مستخلص اوراق نبات السدر في ازالة البكتيريا بنسبة 74% اثناء 10 ساعات, وكذلك اثبتت دراسة [17] قدرة المستخلص الكحولي لنبات السدر في ازالة بكتيريا *S .aureus* بكفاءة عالية و بنسبة 80% من المزرعة السائلة اثناء ثمان ساعات. فيما اظهرت تراكيز منقوع اوراق السدر 60000-100000 جزء بالمليون كفاءة اقل في خفض اعداد البكتيريا بنسبة 40 و 65 و 93% اثناء 24 ساعة.

ان قدرة المستخلص الكحولي لاوراق السدر على قتل البكتيريا يعود الى المواد الفعالة الموجودة فيه وهي alpha-terpineol و linalool و Methyl palmitate و methyl stearate و methyl myristate و beta-Sitosterol و oleanolic acid و maslinic acid [9] والتي تعمل على اكسدة الطبقة البروتينية والدهنية المكونة للجدار الخلوي البكتيري والتي تختلف طبقاتها والمجاميع المرتبطة بها باختلاف نوع البكتيريا [28] وبالتالي القضاء عليها فيما كانت قدرة منقوع اوراق السدر على خفض اعداد البكتيريا يعود الى طبقة Cuticle الراتنجية التي تغطي السطح الخارجي لورقة السدر والتي بدورها تحوي على مادتي حامض oleanolic acid الذي له فاعلية في تحطيم طبقة البروتين الموجودة في جدار الخلية البكتيرية وكذلك لها دور كبير في خفض قيمة الدالة الحامضية ضمن المزرعة السائلة [29] والمادة الثانية هي مادة Licocyanidin و التي تعمل على اكسدة الاحماض الدهنية في جدار الخلية البكتيرية وتجزئتها [30] اذ اثبت [24] في دراستهم على نبات *Ziziphus spina* قدرة المستخلص الكحولي والمائي للاوراق والثمار ولحاء النبات في القضاء على بكتيريا *Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus* وقدرة المستخلص المائي على خفض قيمة الدالة الحامضية اثناء المعاملة 24 ساعة. فقد اثبت [6] في دراستهما كفاءة المواد الفعالة في المستخلصات المائية والكحولية لنبات السدر في اكسدة الاحماض الدهنية المكونة لجدار الخلية البكتيرية والفطرية وبفاعلية عالية. و تعتمد كمية وتركيز المواد الفعالة oleanolic acid وLicocyanidin الموجودة ضمن المادة الراتنجية المغطية لسطح ورقة نبات السدر على حجم الورقة ومساحتها السطحية و كذلك عمر الورقة ونضارتها [21] و [31].

المصادر

1- Korboule, N.; Sylvie, D. and Gilles, B. (2007). Environmental Risk of Applying Sewage sludge compost to vineyard: Microbes, carbon, Heavy metals, nitrogen and phosphorus accumulation. J Environ Quality 31:15-1527.

2- اللامي, حسين/ محمد علي (2007). الاثر الصحي لتواجد بكتيريا *Pseudomonas aeruginosa,* *Staphylococcus aureus* في مياه شرب محافظات جنوبي العراق. رسالة ماجستير. كلية العلوم. جامعة البصرة.

3- Cervenka, L.; Peskova, I.; Foltynova, E.; Pejchalova, M.; Brozkova, I. and Vytrasova, J. (2006). Inhibitory Effect of Some spices and Herbs extracts Against *Aerobacter butzleri, A. cryaerophilus and A. akirrowii*. Microbial Joaurnal. 53:435-439.

4- Enzo, A. (2009). Traditional Medicinal Plant extracts and Natural products with Activity Against Oral Bacteria. Oxford joaurnal, ecam. 2:1-15.

5- Jachak, S.M. and Saklani, A. (2007). Challenges and Opportunities in Drug discovery from Plants. Joaurnal of microbiology Science, 92:1251-1257.

6- Buwa, L.V. and Staden, J.V. (2006). Antibacterial and Antifungal Activity of Traditional Medicinal Plants used Against Venereal Diseases in South Africa. *Journal of Ethno pharmacology*, 103: 139-142.

7- Kreander, K.; Vuorela, P. and Tammela, P. (2005). A rapid Screening Method for Detecting Active Compounds Against Erythromycin-resistant Bacterial strains of Finnish origin. *Folia Microbiol*., 50**:**487-493.

8- Thomas, F.; Marco, A. and Jim, H. (2009). Autumn Leaves Seen through Herbivore Eyes. Proceedings of the Royal Society Biological Sciences 276: 121.

9- Younes, M.E.; Amer, M.S. and El-Messallami, A.D.E. (2000). Phytochemical Examination of the Leaves of the Egyptian *Zizyphus spina christi* "Nabc". *Bulletin of the National Research Centre* (Cairo), 21: 35-40.

10- Muhammad, S. and Amusa. N.A. (2008). Distribution and Socio-economics Of Two Leguminous Tree Species In Guinea and Suddan Savanna Agro-Ecologies Of Nigeria. Global Journal of agricultural Sciences (Nig) 2: 122-126.

11- Daniyan, S.Y. and Muhammad, H.B. (2008). Evaluation of the Antimicrobial Activities and Phytochemical properties of Extracts of *Ziziphus murtanian* Against Some Diseases Causing Bacteria. African journal of biotechnology. Vol. 7: 2451-2453.

12- Shivanna, Y. and Koteshwara, A.R. (2009). In-vitro Antibacterial Effect of Selected Medicinal Plant Extracts. Journal of natural products. Vol. 2:64-69.

13- Duarte, M.C.; Figueira. G.M.; Sartoratto, A.; Rehder, V.L. and Delarmelina, C. (2009). Anti-Bacterial Activity of Brazilian Medicinal Plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 97: 305–311.

14- Elizabeth. K. M. **(**2005). Antimicrobial Activity of *Ziziphus spina-christi*. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*. 20:150-153.

15- Fazeli, M.R.; Amin, G.R.; Ahmadian, M.M.; Ashtiani, H.; Jamalifar, H. and Samadi, N. (2007). Antimicrobial Activities of Iranian Medicinal Plant (Ziziphus) Against Some Food-borne Bacteria. *Food Control*. 18: 646–649.

16- Anudwipa, D.; Jaman, K.; Akhilesh, B. and Singh, V. (2008). Antimicrobial and Antioxidant Activities of *Ziziphus spina Christi* DC Leaf Extract on *Streptococcus Pnemoniae and Streptococcus Pyogenes* . Pharmacology, 3: 875-881.

17- Dewanjee, S.; Maiti, A.; Majumder, R. and Majumder, A. (2008). Evaluation of Antimicrobial Activity of Hydro Alcohalic Extract of *Schma wallichii* and *Ziziphus spina Christi*. Pharmcolology, 1: 523-528.

18- APHA (1998). Standard Method for the Examination of Water and Wastewater, 20th ed. American Public Health Association, American Water Works Association and Water Pollution Control Federal, Washington, D.C.
19- Nester, E.W.; Anderson, D.G.; Robert, C.J.; Pearsall, N.N. and Nester, M.T. (2001). Microbiological: A Human Perspective, 3th ed- Bosteon. MC Graw Hill companies.
20- Prescott, L.M.; Harly, J.P. and Klien, D.A. (2002). Microbiological. 5th ed- London. MC Graw Hill companies.
21- مرقس, رأفت نجيب. (2000). موسوعة الاعشاب و النباتات الطبية العربية. الطبعة الثانية. دار العلوم. القاهرة- جمهورية مصر العربية. ج3, ص 204-218.
22- Tegegne, G,; Pretorius, J. and Swart, J. (2008). Antifungal Properties of *Agapanthus africanus* Extracts Against Plant Pathogens. Crop Protect. 27:1052-1060.
23- الالوسي, ثائر /عبد القادر صالح (2005). تاثير بعض المستخلصات النباتية على الاطوار اليرقية لبعوض *Culex quinquefasciatus*. رسالة ماجستير. كلية العلوم, جامعة الانبار.
24- Motamedi, H.; Safary, A.; Maleki, S. and Seyyednejad, S.M. (2009). Ziziphus spina- christi, A Native Plant from Khuzestan, Iran, as A Potential Source for Discovery New Antimicrobial Agents. Asian J. Plant Sci., 8: 187-190.
25- Dahiru, D. and obidoa, O. (2007). Pretreatment of Albino Rats with Aqueous Leaf Extract of ziziphus mouritiana protect Against Alcohol-induced Liver Damage. Nigeria. Journal of pharmacentical Research. 6: 705-710.
26- Mahish, B. and Satish, S. (2008). Antimicrobial Activity of Some Important Medicinal Plant Against Plant and Human Pathogens. World journal of agricultural sciences. 4:839-843.
27- Heisey, R.M. and Gorham, B.K., (2007): Antimicrobial Effects of Plant Extracts on *Staphylococcus aureus, Candida albicans, Trichophyton rubrum* and other microorganisms. *Letters in Applied Microbiology*, 14: 136-139.
28- Wills, E.D. (2005). Evaluation of Lipid Peroxidation in Lipids and Biological Membranes. *Biochemical Toxicology*. *A Practical Approach*: Practical Approach Series, IRL press, Oxford, London. p76-84
29- Okemo, P.O.; Mwatha, W.E.; Chhabra S.C. and Fabry, W. (2001). The kill kinetics of Azadirachta indica a. juss. (meliaceae) Extract on Staphylococcus aureus, *E. coli. Pseudomonas aeroginosa and Candida albicans*. Afr. J. Sci. Tech., 2: 113-118.
30- Shahat, A.A.; Pieters, L.; Apers, S.; Nazeif, N.M.; Abdel-Azim, N.S.; Berghe, D.V. and Vlietinck, A.J. (2001). Chemical and Biological Investigations on *Zizyphus spina-christi*. World journal of agricultural sciences.15: P.593-597.
31- Uniyal, S.K.; Singh, K.N.; Jamwal P. and Lal, B. (2006). Traditional Use of Medicinal Plants Among the Tribal Communities of Chhota Bhangal, Western Himalayan. J. Ethnobiol. Ethnomed. 2: 1-14.
32- APHA (2005). Standard Method for the Examination of Water and Wastewater, 24th ed. American Public Health Association, American Water Works Association and Water Pollution Control Federal, Washington, D.C.