التأثير التثبيطي للمستخلصات الكحولية لثلاثة ادغال في نمو بعض الاحياء المجهرية

م. د. زكريا سامي المولى أ.م. د. شاكر غازي المولى م. بايولوجي ندى جاسم احمد
جامعة الموصل/ كلية العلوم مستشفى ابن سينا/ الموصل

تاريخ تسليم البحث: ٢٠٢٠/٩/١ ؛ تاريخ قبول النشر: ٣٠ /٩/ ٢٠٢٠

الملخص:

تضمن البحث تحديد التأثير التثبيطي للمستخلصات الخام الايثانولية لثلاثة نباتات عشبية في بعض الفطريات و البكتيريا، النباتات هي الاوكزالس *Oxalis corniculata* والبقلة الحمقاء *Portulaca oleracea* وسرطان الثيل *Euphorbia prostrata*، اما الفطريات فهي *Aspergillus niger*، sp. *Alternaria*, *Fusarium* sp و*Macrophomina phaseolina*، اما البكتريا فهـــي *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus* sp., *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa* . اختبرت الفعالية التثبيطية لثلاثة تراكيز من كل مستخلص نباتي هي ٥، ١٠ و٢٠ (ملغم/ مل) ضد الفطريات الاربعة بقياس اقطار المستعمرات في كل تركيز فضلاً عن معاملة السيطرة، ثم تم حساب النسب المئوية للتثبيط، كما اختبرت فعالية التراكيز الثلاث ضد الانواع البكتيرية الستة بقياس اقطار منطقة التثبيط حول الاقراص المشبعة بتراكيز المستخلصات فضلا عن مقارنتها مع اقطار التثبيط الناتجة عن اقراص المضادات الحيوية القياسية، ولوحظ ان النسب المئوية لتثبيط الفطريات ازدادت بزيادة تراكيز المستخلصات فكان التركيز ٥ ملغم/مل الاقل تأثيرا، بينما التركيز ٢٠ ملغم/مل ثبط نمو جميع الفطريات بنسبة ١٠٠% ولجميع انواع المستخلصات الثلاثة، وبينت النتائج ايضاً ان الفطر *Alternaria* sp. هو الاكثر تأثرا بمستخلصات النباتات ثم الفطر *Fusarium* sp.، كما بينت النتائج بان مستخلصات نباتي الاوكزالس والبقـلة الحمقاء امتلكت فعالية تثبيطيه تجاه جـــراثيم *S. aureus, K. pneumoniae* و*E. coli* ، بينما اظهر المستخلص الخام لنبات سرطان الثيل تأثيرا تثبيطياً كبيرا ضد كل الانواع البكتيرية وبتناسب طردي مع التركيز.

The Inhibitory effect of Alcoholic Extracts of Three Weeds on Growth of some Microorganisms

Lecturer Dr. Zakaria Sami Almola | **Assist Prof. Dr. Shaker Gazi Almola** | **Assist biology Nada Jasim Ahmad**
University of Mosul / College of science / Dept. of biology | **Ibn Sina hospital/ Mosul**

Abstract:

The research included determining the inhibitory effect of crude ethanol extracts of three herbaceous plants in some fungi and bacteria. The plants were *Oxalis corniculata*, *Portulaca oleracea*, and *Euphorbia prostrata*, while the fungi were *Aspergillus niger*, *Alternaria* sp., *Fusarium* sp. and *Macrophomina phaseolina*, the bacteria were *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus* sp., *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa.* The inhibitory efficacy of three concentrations of each plant extract were 5, 10 and 20 (mg / ml) tested against the four fungi by measuring the diameters of the colonies in each concentration in addition to the control treatment, then the percentages of inhibition were calculated, and the effectiveness of the three concentrations against the six bacterial species were tested by measuring diameter of the zone of inhibition around disks saturated with concentrations of extracts as well as comparison with the diameters of inhibition obtained from standard antibiotic disks. It was noticed that the percentages of inhibition of fungi increased by increasing the concentrations of the extracts, so the concentration 5 mg/ ml had the least effect, while the concentration of 20 mg/ ml inhibited the growth of all fungi by 100% and for all three types of extracts. The results also showed that the fungus *Alternaria* sp. is more sensitive to plant extracts, followed by *Fusarium* sp., and the results also showed that the extracts of the *O. corniculata* and the *P. oleracea* had inhibitory activity against *S. aureus*, *K. pneumoniae* and *E. coli*, while the crude extract of the *E. prostrata* showed a great inhibition against all bacterial species and in direct proportion with the concentration..

المقدمة Introduction

لا تحتوي النباتات على جهاز مناعي للدفاع عن نفسها ضد العديد من الكائنات الممرضة لذا يجب ان تعتمد على آليات اخرى، فمثلاً في حالة الاصابة بالفطريات فان هذه الآليات تتمثل ببناء المركبات العضوية الفعالة حيوياً Active bioorganic compounds (Morrisey & Osbourn, 1999) والبروتينات المضادة للفطريات Antifungal proteins (Selitrennikoff, 2001) والببتيدات (Broekaert *et al*., 1997) ، وان نوعية وكمية هذه المركبات الفعالة تعتمد على نوع النبات والجزء النباتي المدروس فضلاً عن العوامل البيئية (Demo & Oliva, 2008).

ان استخدام مضادات حيوية سبب مشاكل خطيرة مثل نشوء البكتريا ذات المقاومة المتعددة للمضادات الحيوية، الاستخدام الشائع للمضادات التي احدثت تثبيط وقتل المايكرو فلورا الطبيعية، وصول وتراكم المضادات في الاغذية ، لذا اتجهت البحوث الحديثة الى استبدال المضادات بالمواد الطبيعية الجديدة لعلاج الاصابات البكتيرية، بينت دراسات سابقة بان المستخلصات النباتية يمكن ان تستخدم لعلاج اضطرابات مرضية مختلفة مثل الالتهابات، الاصابات البكتيرية، السرطان وامراض ضغط الدم (Karunanithi *et al*., 2016).

تجهزنا مملكة النبات منذ القدم بمدى واسع من المركبات المعروفة بخصائصها المتنوعة من مضادات للالتهابات anti–inflammatory او مسكنات للآلام analgesic او كأدوية لعلاج أمراض عدة، وفي السنوات الأخيرة شاع استخدام المستخلصات النباتية في العديد من دول العالم كونها ذات خصائص مضادة لنمو الاحياء المجهرية antimicrobial properties (Cowan, 1999) وعرفت الاعشاب الطبية بأنها واحدة من البدائل الطبيعية المهمة للمضادات الحيوية المعروفة والمصنعة كيميائياً ذات التأثيرات الجانبية السلبية، هذه الاعشاب امنة الاستخدام لكل من الانسان والبيئة فضلاً عن كونها متوفرة وذات كلفة قليلة، ومن الاعشاب المستخدمة في هذا البحث هي عشبة سرطان الثيل *Euphorbia prostrata* وهو نبات عشبي حولي، ويعد جنس *Euphorbia* الأكبر في عائلة Euphorbiaceae، اذ يضم اكثر من ٢٠٠٠ نوع تتراوح بين النباتات الحولية annual الى الاشجار trees جميعها تحتوي على المادة اللبنية Latex (Ozbilgin & Citoglu, 2012)، ويعتبر نبات سرطان الثيل أحد النباتات الطبية التي تستخدم في علاج الحمى والاضطرابات التي تحصل في منطقة البطن وُمنق الدم Blood purifier (Ullah *et al*., 2006) وتمتلك مستخلصات هذا النبات فعالية مضادة للالتهابات وفعالية مسكنة للآلام وفعالية موقفة للنزيف Haemostatic وفعالية شافية للجروح(Singla & Pathak, 1989)، كما ويستخدم في العديد من البلدان الافريقية لعلاج الكثير من الأمراض ومنها الأمراض الفطرية (Tchuenguem *et al.*, 2017)، اما النبات العشبي الاخر المستخدم في هذا البحث فهو نبات البقلة الحمقاء او الرجلة *Portulaca oleracea* وهو نبات حولي صيفي عصاري succulent ينتمي للعائلة Portulacaceae، ينمو بشكل منبطح prostrate

او يفترش الارض spreading، شائع في الاراضي المزروعة وغير المزروعة (Ross, 2003)، وقد أظهرت الدراسات الحديثة ان مستخلص هذا النبات له فعالية مرخية للعضلات muscle relaxant activity (Okwuasaba *et al*., 1987) وفعالية مضادة للالتهابات ومسكنة للآلام (Chen *et al*., 1992) ويستخدم في بعض البلدان مثل ايران كمدر للبول diuretic ومضاد للديدان vermifuge ومضاد للسعال antitussive ومضاد للحروق antiburn (Zargari, 1981)، كما وينتفع منه كمضاد للقيء antivomiting ومضاد للنزيف antibleeding ولعلاج بعض أمراض الكبد والغشاء المخاطي للمعدة(Zannavi, 1999) ، وأوضحت بعض البحوث ان للنبات تأثيرا مضاداً للخصوبة antifertility وتأثير خافض لسكر الدم antihyperglycemic وفعل مضاد للأورام antitumors وفعل مضاد للتقرحات (antiulcer Ross, 2003). النبات العشبي الثالث المستخدم في هذا البحث هو نبات الاوكزالس *Oxalis corniculata* وهو نبات حولي أيضاً ويعتبر من الأدغال الشائعة في الحدائق والحقول والمروج وينمو في الظل والأماكن المعرضة للشمس وتحتوي أوراقه على حامض الاوكزاليك Oxalic acid، ينتمي هذا النبات الى العائلة الحماضية Oxalidaceae، طبياً تعد أوراق النبات ذات خصائص مدرة للبول وخافضة للحرارة ومقللة للالتهابات وفاتحة للشهية وتحتوي على مادة قابضة astringent وعامل مدر للطمث emmenagogue، وتستخدم لعلاج نزلات البرد والانفلونزا والحمى والتهابات القناة البولية ولمعالجة حالات الإسهال، والنبات غني بفيتامين C ولذلك يستخدم في علاج مرض الاسقربوط Scurvey (Karunanithi *et al*., 2016).

نظراً لأهمية هذه الادغال او الأعشاب الثلاثة ووفرتها وسهولة الحصول عليها باعتبارها أدغال Weeds طبيعية موجودة في الحدائق المنزلية والمتنزهات والأماكن العامة، لذا هدفت الدراسة الحالية الى تحديد الفعالية التثبيطية للمستخلصات الكحولية الخام لثلاثة نباتات عشبية (سرطان الثيل ، البقلة الحمقاء، الاوكزالس) وبثلاثة تراكيز (٥، ١٠، ٢٠) ملغم/ مل ضد مجموعة من الفطريات والبكتريا.

المواد وطرائق العمل Materials & methods

١- جمع النباتات

جمعت الأجزاء الهوائية aerial parts لنباتات سرطان الثيل *Euphorbia prostrata* والبقلة الحمقاء *Portulaca oleracea* والاوكزالس *Oxalis corniculata* (الشكل ١) من حديقة المنزل وحدائق جامعة الموصل، وشخصت بالاعتماد على المصادر التالية (؛ Townsend & Guest, 1980; Shahina & John, 2017 الحسيني، ٢٠١٣)، اذ غسلت العينات بماء الحنفية وتم

التخلص من الأتربة والشوائب وتركت حتى تجف بدرجة حرارة الغرفة بعيداً عن ضوء الشمس المباشرة بعد فرشها على اوراق جرائد.

C B A

الشكل (1): النباتات قيد الاختبار (A : سرطان الثيل *Euphorbia prostrata* , B : البقلة الحمقاء *Portulaca oleracea* ، C: الاوكزالس *Oxalis corniculata*)

٢- **تحضير المستخلصات الخام الايثانولية Crude ethanol extracts**

حضرت المستخلصات الخام الايثانولية للأعشاب الثلاث حسب طريقة (Riose *et, al.*, 1987) وكما يلي:

تم مزج ٤٠ غم وزن جاف من عينة النبات مع ٢٠٠ مل من الكحول الايثانولي، هُرِس المزيج بعدها باستخدام جهاز السحق الكهربائي Homogeneizer مع التبريد، ثم ترك المزيج بدرجة حرارة ٤مْ لمدة ٢٤ ساعة لغرض النقع، بعدها رشح المزيج باستخدام عدة طبقات من الشاش، ثم عُرض الراشح الى جهاز الطرد المركزي نوع Remi centrifuge بسرعة ٣٠٠٠ دورة/ دقيقة لمدة ١٠ دقائق، ثم أجُريت عملية ترشيح أخُرى باستخدام ورق ترشيح نوع Whatman No.1 مثبت على قمع بوخنر وأجُري الترشيح باستخدام جهاز التفريغ الكهربائي مع الضغط ، بعدها جفف المستخلص الناتج بتركه في أطباق مفتوحة معرضة الى مروحة هوائية، ثم وُزِنت المستخلصات الجافة ووضعت في عبوات زجاجية مغلقة وحُفظت في ظروف التجميد لحين الاستخدام.

٣- **تحضير التراكيز القياسية للمستخلصات النباتية وتعقيمها:**

أخُذ ١ غم من كل من المستخلصات الجافة على حدى وذوب كل مستخلص في ٥ مل من مادة Dimethylsulfoxide (DMSO) وبذا تم الحصول على ٢٠٠ ملغم/مل من كل مستخلص نباتي والذي أعُتبر تركيز قياسي حُضرت منه بقية التخافيف ، بعدها عُقمت المستخلصات القياسية بطريقة البسترة Pasteurization بدرجة حرارة ٦٢ مْ لمدة ١٠ دقائق لثلاثة أيام متتالية (النعمان، ١٩٩٨).

٤- **الفطريات والبكتريا قيد الاختبار:**

لغرض دراسة التأثير التثبيطي للأعشاب الثلاثة السابقة استخدمت أربعة أنواع من الفطريات تم الحصول عليها من مختبر الفطريات في قسم علوم الحياة/ كلية العلوم/ جامعة الموصل وهي الانواع: *Fusarium* sp., *Alternaria* sp., *Aspergillus niger, Macrophomina phaseolina* ، كما استخدمت ستة انواع بكتيرية تم الحصول عليها من بنك السلالات قسم علوم الحياة/ كلية العلوم/ جامعة الموصل مشخصة ونقية شملت *E. coli, K. pneumoniae, Proteus sp., P. aeruginosa, S. aureus, S. epidermidis.*

٥- زرع وتنشيط الفطريات والبكتريا:

استخدم الوسط الزرعي اكار البطاطا والسكروز (PSA) للفطريات واستخدم وسط المرق المغذي السائل لتنشيط العزلات البكتيرية و وسط الاكار المغذي لزرع البكتريا

٦- **اختبار التأثير التثبيطي للمستخلصات:**

بعد تحضير وتعقيم التركيز القياسي ٢٠٠ ملغم/مل من كل من المستخلصات النباتية الثلاثة، حُضرت التراكيز (٥، ١٠، ٢٠) ملغم/مل بإضافة أحجام محددة من التركيز القياسي لكل مستخلص نباتي الى حجم مُحدد ايضاً من الوسط الغذائي PSA المعقم قبل تصلبه، وبعد رج المزيج تم صبه في اطباق بتري بقطر ٩ سم، وبعد تصلب الوسط في الأطباق جرى زراعة الاطباق بقرص من المستعمرة الفطرية بعمر اسبوع قطره ٥ ملم باستخدام ثاقب فلين Cork borer، اذ نُقل قرص المستعمرة الفطرية الى وسط الطبق، تم عمل مكررين لكل معاملة مضاف لها تراكيز من المستخلصات النباتية وكذلك مكررين لمعاملة السيطرة التي استخدم فيها الوسط PSA فقط.

حُضنت الأطباق بوضع مقلوب في الحاضنة بدرجة حرارة ٢٨مْ لمدة أسبوع ثم أخِذت النتائج بقياس اقطار المستعمرات باستخدام مسطرة مدرجة وحسبت النسبة المئوية للتثبيط الخاصة بكل تركيز لكل مستخلص نباتي باستخدام المعادلة:

$$ت\% = \frac{س - م}{س} \times ١٠٠$$

حيث ت% تمثل النسبة المئوية للتثبيط، س = قطر المستعمرة الفطرية في معاملة المقارنة، م = تمثل قطر المستعمرة الفطرية في التركيز المحدد من المستخلص النباتي

٧- **اختبار الحساسية للمضادات الحيوية:**

اجري الاختبار على وسط اكار مولر–هنتون Mueller–Hinton agar المجهز من شركة [Oxoid] والمحضر حسب تعليمات الشركة، اما اقراص المضادات الحيوية فقد تم الحصول على البعض منها جاهزة من شركة [Bioanalyse] وحضر معلق البكتريا الفتية في المحلول الفسيولوجي وتمت مقارنته مع الانبوب الاول من انابيب ماكفرلاند Macfarland standards الذي يعادل ($١٠^{٨}$ خلية/ مل (، بعد ذلك غمرت ماسحة قطنية معقمة في المعلق ونشرت على وسط اكار مولر – هنتون، ثم تركت الاطباق لكي تجف بدرجة حرارة الغرفة ولمدة (٥) دقائق، ثم وزعت اقراص المضادات الحيوية على الاطباق وتركت في درجة حرارة الغرفة لكي يحصل التشرب. ثم حضنت في درجة حرارة (٣٧)°م ولمدة (١٨) ساعة، تم حساب قطر مناطق التثبيط وقسمت العزلات الى ثلاث فئات هي الحساسة Susceptible، متوسط الحساسية Moderately Susceptible، المقاومة Resistant وذلك بالاعتماد على قياسات منظمة الصحة العالمية (CLSI/ NCCLS., 2012).

٨- **اختبار التأثير التثبيطي للمستخلصات تجاه الانواع البكتيرية:**

بعد تحضير وتعقيم التركيز القياسي ٢٠٠ ملغم /مل من كل من المستخلصات النباتية الثلاثة، حضرت التراكيز (٢٠,١٠,٥) ملغم/ مل بإضافة احجام محددة من التركيز القياسي لكل مستخلص نباتي الى حجم محدد من الماء المقطر المعقم، حضرت اطباق من وسط مولر هنتون الصلب. حضر معلق البكتريا الفتية في المحلول الفسيولوجي وتمت مقارنته مع الانبوب الاول من انابيب ماكفرلاند Macfarland standards الذي يعادل ($١٠^{٨}$ خلية/سم٣ .زرعت الاطباق باستخدام مسحات معقمة بعد غمرها بالمعلق لكل نوع بكتيري .تم عمل اقراص من ورق الترشيح بقطر ٦ملم وعقمت ثم اضيفت اليها ١٠–٢٠ مايكروليتر من كل تخفيف لكل مستخلص لحين درجة التشبع ثم وزعت الاقراص المشبعة على الاطباق المزروعة وتركت في درجة حرارة الغرفة لكي يحصل التشرب. ثم حضنت في درجة حرارة (٣٧)°م ولمدة (١٨) ساعة، تم حساب قطر مناطق التثبيط حول الاقراص باستخدام مسطرة مدرجة وتم مقارنة النتائج مع نتائـــج معاملة العــزلات بالمضادات الحيوية القياسية (Peng *et al.*, 2014).

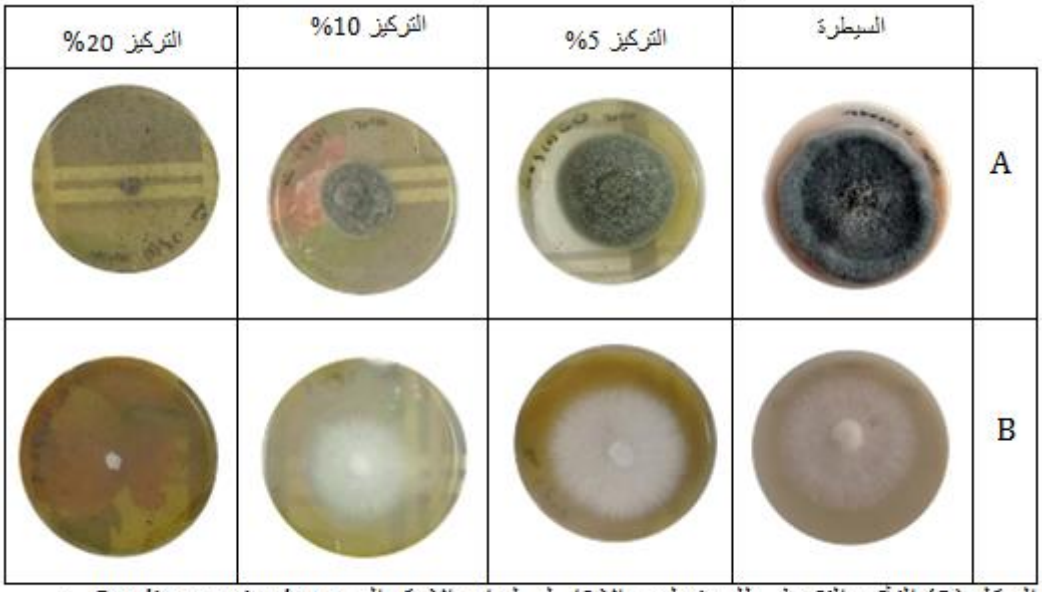
النتائج والمناقشة Results & discussion

يوضح الجدول (١) نتائج التأثير التثبيطي للمستخلصات الخام الايثانولية لنبات الاوكزالس *Oxalis corniculata* في الأنواع الفطرية، اذ تبين أن التركيز ٥ ملغم/مل لم يثبط نمو اي من الأنواع الفطرية الأربعة، اما التركيز ١٠ ملغم/مل فقد أدى الى اختزال نمو جميع الفطريات

الجدول(1): التأثير التثبيطي للمستخلصات الايثانولية لنبات الاوكزالس *Oxalis corniculata* في الأنواع الفطرية

Macrophomina phaseolina		*Fusarium sp.*		*Alternaria sp.*		*Aspergillus niger*		التركيز (ملغم/ مل)
نسبة التثبيط (%)	قطر المستعمرة (ملم)	نسبة التثبيط (%)	قطر المستعمرة (ملم)	نسبة التثبيط (%)	قطر المستعمرة (ملم)	نسبة التثبيط (%)	قطر المستعمرة (ملم)	
90		50		55		90		0(السيطرة)
0	90	0	50	0	55	0	90	5
11	80	20	40	36	35	0	90	10
100	0	100	0	100	0	100	0	20

(عدا الفطر *Aspergillus niger*) وإن أكثر الأنواع تأثُراً هو النوع *Alternaria* sp.،اذ بلغت نسبة التثبيط ٣٦% ثم النوع *Fusarium* sp 20%. (الشكل ٢)، وأخيراً النوع *Macrophomina phaseolina* 11%، اما التركيز الأعلى ٢٠ ملغم/مل فقد ثبط نمو جميع الفطريات بنسبة ١٠٠%.



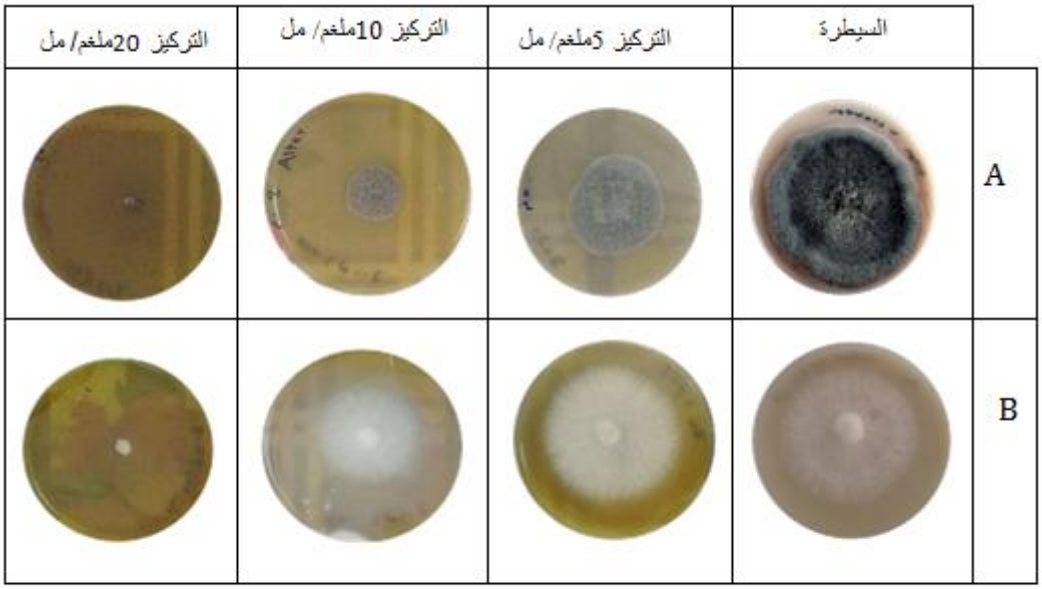
الشكل (2) التأثير التثبيطي للمستخلص الايثانولي لنبات الاوكزالس *Oxalis corniculata* في الفطريات. A: *Alternaria* sp. B: *Fusarium* sp.

الجدول (٢) يوضح نتائج التأثير التثبيطي للمستخلصات الخام الايثانولية لنبات البقلة الحمقاء *Portulaca oleracea* في الأنواع الفطرية قيد الاختبار، ويتضح ان التركيز ٥ ملغم/ مل لم يثبط نمو الفطريات سوى الفطر *Fusarium* sp. بنسبة ١٠% فقط، اما التركيز ١٠ ملغم/مل فقد أثر في جميع الأنواع الفطرية وبنسب متفاوتة، وكان أكثر الأنواع تأثُراً هو النوع *Alternaria* sp. ،

الجدول(2): التأثير التثبيطي للمستخلصات الايثانولية لنبات البقلة الحمقاء *Portulaca oleracea* في الأنواع الفطرية

التركيز (ملغم/ مل)	*Aspergillus niger*		*Alternaria sp.*		*Fusarium sp.*		*Macrophomina phaseolina*	
	قطر المستعمرة (ملم)	نسبة التثبيط (%)	قطر المستعمرة (ملم)	نسبة التثبيط (%)	قطر المستعمرة (ملم)	نسبة التثبيط (%)	قطر المستعمرة (ملم)	نسبة التثبيط (%)
0	90		55		50		90	
5	90	0	55	0	45	10	90	0
10	70	22	35	36	35	30	80	11
20	0	100	0	100	0	100	0	100

إذ بلغت نسبة التثبيط ٣٦% ثُم الفطر *Fusarium* sp. بنـــسبة ٣٠% (الشكل ٣) ثـم الانواع *A. niger* و *Macrophomina phaseolina* بنسب تثبيط ٢٢ و١١(%) على التوالي، أما في التركيز الاعلى ٢٠ ملغم/مل فقد ثُبطت جميع الأنواع الفطرية بنسبة ١٠٠%.



الشكل (3) التأثير التثبيطي للمستخلص الايثانولي لنبات البقلة *Portulaca oleracea* في الفطريات A: *Alternaria* sp. B: *Fusarium* sp.

النتائج الأعلى نسبياً سُجلت عند استخدام مستخلصات الايثانول الخام لنبات سرطان الثيل *Euphorbia prostrata* (الجدول ٣)، ويتبين ان التركيز ٥ ملغم/مل ثَبط فقط نمو الفطر *Alternaria* sp. و كانت نسبة التثبيط ٩% ولم يُثبط نمو الأنواع الاخرى من الفطريات،

الجدول(3): التأثير التثبيطي للمستخلصات الايثانولية لنبات سرطان التيل *Euphorbia prostrata* في الفطريات قيد الاختبار

Macrophomina phaseolina		*Fusarium sp.*		*Alternaria sp.*		*Aspergillus niger*		التركيز (ملغم/ مل)
نسبة التثبيط (%)	قطر المستعمرة (ملم)	نسبة التثبيط (%)	قطر المستعمرة (ملم)	نسبة التثبيط (%)	قطر المستعمرة (ملم)	نسبة التثبيط (%)	قطر المستعمرة (ملم)	
90		50		55		90		0
0	90	0	50	9	50	0	90	5
11	80	40	30	50	27	22	70	10
100	0	100	0	100	0	100	0	20

بينما كان التركيز ١٠ ملغم/مل مُثبطاً لجميع الأنواع الفطرية وبلغت أعلى نسبة للتثبيط ٥٠% ضد الفطر *Alternaria* sp. تليها النسبة ٤٠% ضد الفطر *Fusarium* (الشكل ٤)، ثم الانواع *A. niger* و *Macrophomina phaseolina* بالنسب ٢٢ و ١١ (%) على التوالي، وثبط التركيز ٢٠ ملغم/مل من المستخلص النباتي جميع الفطريات وبنسبة ١٠٠% ايضاً.

الشكل (4) التأثير التثبيطي للمستخلص الايثانولي لنبات سرطان التيل *Euphorbia prostrata* في الفطريات
A: *Alternaria* sp. B: *Fusarium* sp.

من مجمل النتائج السابقة يتضح ان النسب المئوية للتثبيط ازدادت بزيادة تراكيز المستخلصات مما يدل على وجود علاقة تناسب طردي بين تراكيز المستخلصات والنسب المئوية للتثبيط، فمن الملاحظ ان التركيز ٥ ملغم/مل هو الأقل تأثيراً بينما التركيز الاعلى ٢٠ ملغم/مل لأنواع المستخلصات الثلاثة هو الأعلى تأثيراً والذي ثَبط نمو جميع الانواع الفطرية بنسبة ١٠٠% . يتضح ايضاً ان الفطر *Alternaria* sp. هو الأكثر تأثراً بمستخلصات النباتات الثلاثة ثم الفطر *Fusarium* sp.، أما الفطريات *Macrophomina phaseolina* و *A. niger* كانت اكثر مقاومة لتأثير

المستخلصات عند التراكيز٥ و)١٠ملغم/ مل (مقارنة بالنوعين السابقين، أما عند التركيز ٢٠ ملغم/مل فقد ثبط نموها بنسبة ١٠٠% كباقي النوعين السابقين.

ان التباين في الاستجابة من قبل الانواع الفطرية لتأثير المستخلصات النباتية يمكن أن يُعزى الى التنوع الحيوي للمكونات الكيميائية للمستخلصات وخاصة مركبات الايض الثانوي Secondary metabolism compounds ، فضلاً عن عوامل اخرى مثل قابلية الذوبان Solubility والأس الهيدروجيني pH وعامل التطاير Volatility وخصائص الانتشار في وسط النمو وحتى نوع الكائن المجهري Gillitzer *et al.*, 2012) و(Talibi *et al.*, 2012.

أن قدرة هذه المستخلصات على تثبيط نمو الفطريات يعزى الى مكوناتها الكيميائية، فقد اثبت التحليل الكيميائي لنبات سرطان الثيل *E. prostrata* انه يحتوي المركبات الفينولية ellagic acid, gallic acid,3,5,7- trihydroxy -2- (4- hydroxyphenyl) 4H – chromen -4- one &2 hydroxycinnamic acid ويحتوي على الفلافونويدات Luteolinو Apigenin فضلاً عن المركبات الكاربوهيدراتية والكلايكوسيدات والستيرولات والسابونينات والتانينات، هذه المركبات جميعها ذات خصائص بايولوجية متنوعة منها انها تُثبط نـــــمو الكائنات المجهرية
(Chen *et al.*,1992; Rizk *et al.*,1978

Rauf *et al.*, 2012; Sharma *et al.*,2012; Uzair,2009;Cowan,1999)؛ومن الدراسات التي اجريت للتحري عن تأثير مستخلصات نبات سرطان الثيل على الخميرة *Candida albicans* دراسة لـ(Tchuenguem *et al.*, 2017) بينت ان مستخلص النبات ابدى فعالية جيدة في تثبيط نمو الخميرة وكانت قيمة اقل تركيز مثبط Minimum Inhibitory Concenration (MIC)) هي ٦٤ مايكرو غرام /مل.

يحتوي مستخلص الايثانول لنبات البقلة الحمقاء *P. oleracea* من خلال نتائج التحليل الكيميائي التي اشار لها الباحثان (Londonkar & Nayaka, 2011) على القلويدات والستيرويدات والكلايكوسيدات والسابونينات والفلافونويدات والفينولات والتانينات والأصماغ والمواد الهلامية فضلاً عن الزيوت والدهون، وقام الباحثان بدراسة تأثير هذا المستخلص في تثبيط نمو نوعين من الفطريات هما *A. niger*و، *Aspergillus fumigatus* اذ اظهر تأثيرا متوسطاً في تثبيط نمو الاول ولم يؤثر في نمو النوع الثاني. اشارت بحوث Karunanithi *et al.*, 2016) و (Kaur *et al.*, 2017الى احتواء مستخلصات نبات الاوكزالس *Oxalis corniculata* على القلويدات والتانينات والفينولات والفلافونويدات والتربينويدات والبروتينات والكلايكوسيدات والزيوت الطيارة، ومن الدراسات التي أجريت للتحري عن قدرة هذا النبات في تثبيط نمو الفطريات هي دراسة لـ(Rehman *et al.*, 2015) تبين من خلالها ان المستخلص الخام للنبات واجزائه Fractions المستخلصة بالهكسان والكلوروفورم

اظهرت فعالية مثبطة للفطريات *Fusarium solani* و*Aspergillus flexneri* و*A. flavus* ولكنها غير مؤثرة في الفطر *A. niger*.

نستنتج ان هذه النباتات الثلاثة يمكن اعتبارها عوامل مهمة للقضاء على الفطريات او تثبيط نموها خصوصاً في التراكيز المتوسطة والعالية وبالتالي يمكن تبرير استخدامها التقليدي في علاج الكثير من الأمراض ومنها الأمراض الفطرية او يمكن استخدامها كبدائل طبيعية أمينة ورخيصة عن المبيدات الفطرية الصناعية.

يوضح الجدول(٤) نتائج اختبار حساسية العزلات البكتيرية قيد الدراسة للمضادات الحيوية القياسية، اذ نلاحظ ان جميع العزلات كانت مقاومة للمضادات ((CTX), Ceftriaxone (CRO وCefotaxime , (SXT) Trimethoprim/sulfamethoxazole و(Cephalexin (CL وكانت متوسطة الحساسية تجاه مضاد(Gentamicin (CN ما عدا جرثومة *Proteus* sp. التي ابدت مقاومة للأخير، في حين ابدت جرثومتي *S. aureus* و *S. epidermidis* مقاومة تجاه مضاد (Methicillin (ME المعروف بتأثيره في جدار البكتريا الموجبة لصبغة كرام فقط، واظهرت العزلات جميعها حساسية مطلقة تجاه مضاد (Ciprodar (CIP ماعدا جرثومة *Proteus* sp. التي كانت ايضا مقاومة له.

الجدول (4) حساسية العزلات قيد الدراسة لبعض المضادات الحيوية القياسية

الانواع البكتيرية	قطر منطقة التثبيط الناتجة عن المعاملة بالمضادات الحيوية القياسية(ملم)						
	CN	CL	CRO	CTX	ME	SXT	CIP
S. aureus	10	7	7	N	N	N	20
S. epidermidis	10	N	N	N	N	N	28
E. coli	10	N	N	N		N	25
K. pneumoniae	13	N	N	N		N	20
Proteus sp.	N	N	N	N		N	N
P. aeruginosa	12	N	N	8		8	28

CN= Gentamicin (10 mcg), CL= Cephalexin (30 mcg), CRO= Ceftriaxone (10 mcg), CTX= Cefotaxime, ME= Methicillin (10 mcg), SXT= Trimethoprim/sulfamethoxazole (20/10 mcg), CIP= Ciprofloxacin (10 mcg), N= inactive

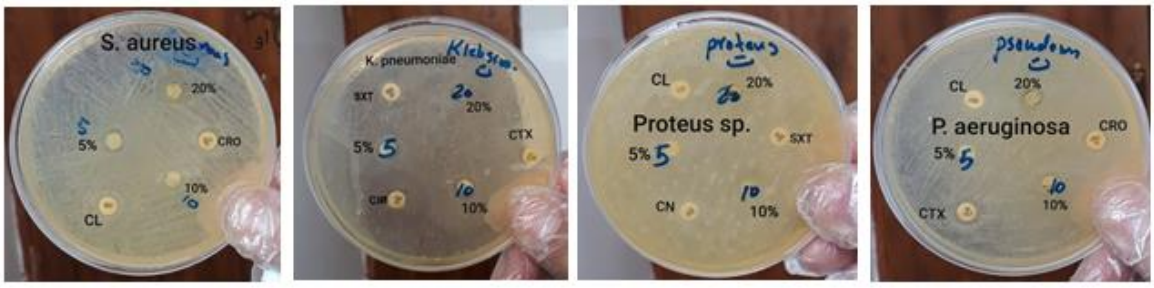
يوضح الجدول (٥) نتائج التأثير التثبيطي لمستخلصات الايثانول الخام لنبات الاوكزالس *Oxalis corniculata* في الانواع البكتيرية قيد الاختبار، اذ تبين ان ثلاثة من الانواع البكتيرية كانت غير حساسة لجميع تراكيز المستخلص الخام وهي *Proteus* sp, *P. aeruginosa, S. epidermidis*، بينما اظهر المستخلص الخام تأثيراً تثبيطياً جيدا تجاه النوعين *S. aureus*، *K. pneumoniae* وكان التأثير التثبيطي اقل تجاه الجرثومة *E. coli*.

الجدول (5) التأثير التثبيطي للمستخلصات الايثانولية لنبات الاوكزالس *Oxalis corniculata* في الانواع البكتيرية

الانواع البكتيرية	قطر منطقة التثبيط (ملم)		
	التركيز 5ملغم/ مل	التركيز 10ملغم/ مل	التركيز 20ملغم/ مل
S. aureus	10	12	14
S. epidermidis	N	N	8
E. coli	7	8	9
K. pneumoniae	10	10	12
Proteus sp.	*N	N	N
P. aeruginosa	N	8	9

N*= inactive

كما وأبدت العزلة *S. epidermis* حساسية ضعيفة للتركيز ٢٠ ملغم/ مل فقط بينما العزلة *P. aeruginosa* ابدت مقاومة للتركيز ٥% فقط وحساسية متوسطة تجاه التركيزين ٥ و ١٠ (ملغم/ مل)، اما الجرثومة *Proteus sp*. فقد ابدت مقاومة مطلقة لجميع تراكيز المستخلص الكحولي لهذا النبات(الشكل ٥).



الشكل(5): التاثير التثبيطي للمستخلصات الايثانولية لنبات الاوكزالس *Oxalis corniculata* في بعض الانواع البكتيرية

اوضحت دراسة الباحث2016) Mohan & Pandy) بان المستخلص الخام لنبات الاوكزالس ابدى فعالية ضد ميكروبية عالية تجاه جرثومتي *Streptococcus* sp ,*S. aureus*. واثبتت دراسة الباحث Kaur وجماعته (٢٠١٧) ظهور مناطق تثبيط كبيرة تجاه جرثومتي *Pseudomonas* و *Rhodococcus* وبقطر)٢٧ و٢٨(ملم نتيجة معاملتها بمستخلص اوراق نبات الاوكزالس واوصى الباحث بضرورة استخدام المستخلص الكحولي لأوراق هذا النبات كمتمم غذائي صيدلاني لعلاج الاصابات البكتيرية المختلفة.

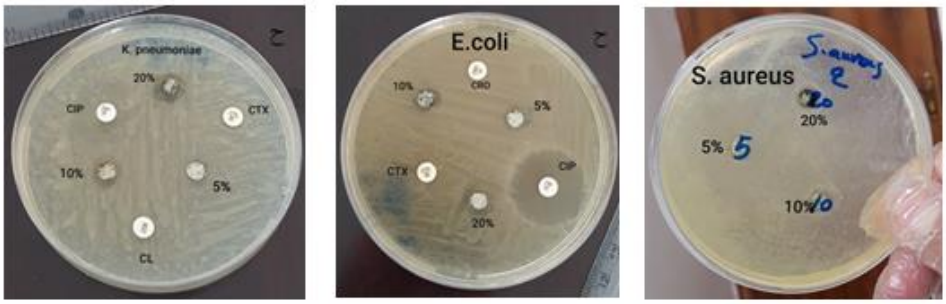
يبين الجدول (٦) نتائج الفعالية التثبيطية للمستخلصات الخام الايثانولية لنبات البقلة الحمقاء *Portulaca oleracea* في الانواع البكتيرية قيد الدراسة، اذ يتضح ان ثلاث انواع بكتيرية لم تتأثر مطلقا باي تركيز من تراكيز المستخلص الكحولي فكانت مقاومة للتركيز ٥ ملغم/ مل وحساسة

الجدول (6) التأثير التثبيطي للمستخلص الايثانولي لنبات البقلة الحمقاء *Portulaca oleracea* في الانواع البكتيرية

الانواع البكتيرية	قطر منطقة التثبيط (ملم)		
	التركيز 5ملغم/ مل	التركيز 10ملغم/ مل	التركيز 20ملغم/ مل
S. aureus	8	10	12
S. epidermidis	N	N	N
E. coli	8	8	10
K. pneumoniae	*N	10	12
Proteus sp.	N	N	N
P .aeruginosa	N	N	N

*N= inactive

للتركيزين ١٠و٢٠(ملغم/ مل)، في حين ابدى المستخلص الخام تأثيـرا مثبـطا واضحا في جرثومتي *S. auereus*، *E. coli* بقطر تثبيط تراوح ما بين (٨–١٢) ملم بتناسب طردي مع الزيادة بالتركيز (الشكل ٦).



الشكل (6): التأثير التثبيطي للمستخلصات الايثانولية لنبات البقلة الحمقاء *Portulaca oleracea* في بعض الانواع البكتيرية

بينت دراسة الباحث Peng وجماعته (٢٠١٤) بان المستخلص الكحولي الخام لنبات البقلة الحمقاء يمتلك فعالية تثبيطية عالية تجاه اربعة جراثيم مرضية وبدرجات متفاوتة اذ امتلك اعلى فعالية تثبيطية تجاه جرثومة *E. coli* مقارنة ببقية الجراثيم الاخرى، كما اوضحت دراسة الباحثAgyare وجماعته (٢٠١٥) بان المستخلص الكحولي الخام لنبات البقلة الحمقاء يمتلك خصائص ضد ميكروبية تجاه جراثيم مرضية مـثل: *Staphylococcus aeureus ,Streptococcus pyogenes,* *P. aeruginosa ,E. coli* ، اذ ظهرت اقطار تثبيط كبيرة تجاه هذه العزلات المختبرة و نسبت الدراسة سبب الفعالية الضد ميكروبية لهذا النبات لوجود مركب التانين من خلال قدرته على تثبيط الانزيمات

الميكروبية خارج الخلوية و التقليل من وفرة المواد الاساس اللازمة للنمو الميكروبي ، واخيرا التأثير المباشر على الايض الميكروبي من خلال تثبيط عملية الفسفرة التأكسدية.

من نتائج الجدول (٧) يتضح ان المستخلص الخام لنبات سرطان الثيل اظهر تأثيرا كبيرا ضد كل الانواع البكتيرية مقارنة مع النباتين السابقين، اذ اظهرت النتائج بان الجرثومة *S. epidermidis* كانت اكثر الانواع حساسية لتراكيز المستخلص في حين ان الجرثومة *E. coli* كانت اقل حساسية

الجدول (7): التأثير التثبيطي للمستخلصات الايثانولية لنبات سرطان الثيل *Euphorbia prostrata* في الانواع البكتيرية قيد الدراسة

الانواع البكتيرية	قطر منطقة التثبيط (ملم)		
	التركيز 5ملغم/ مل	التركيز 10ملغم/ مل	التركيز 20ملغم/ مل
S. aureus	13	15	18
S. epidermidis	14	20	28
E. coli	10	13	18
K. pneumoniae	12	14	16
Proteus sp.	11	13	17
P. aeruginosa	13	15	19

والاكثر مقاومة لتراكيز هذا المستخلص، ونلاحظ ايضا ان قطر منطقة التثبيط لجميع العزلات التي اختبرت زاد بتناسب طردي مع زيادة تركيز المستخلص الكحولي (الشكل٥)، اما بالنسبة لتراكيز المستخلص الكحولي الخام لنبات سرطان الثيل فنلاحظ بانها اعطت تأثيرا تثبيطيا تجاه الجرثومتين *S. aureus*، *S. epidermidis* بدرجة اكبر من فعاليتها التثبيطية تجاه الجراثيم سالبة الكرام ما عدا جرثومة *P. aeruginosa* التي ابدت حساسية مشابهة لحساسية النوع *S. aureus* تجاه تراكيز هذا المستخلص)الشكل ٧(.

الشكل(7): التأثير التثبيطي للمستخلصات الايثانولية لنبات سرطان الثيل *Euphorbia prostrata* في الانواع البكتيرية

بينت دراسة الباحث Voukeng وجماعته (٢٠١٧) أن المستخلص الكحولي لنبات *E. Prostrata* كان فعالا جدا اذ احدث تثبيطا معنويا لنمو ٣٦ عزلة من العزلات ذات المقاومة

المتعددة للمضادات الحيوية وقد اعزى سبب الفعالية التثبيطية العالية لهذا النبات لامتلاكه مركبات ضد ميكروبية مثل Kaempferol و Quercetin، كما اوضحت دراسة الباحث Ahmad وجماعته (٢٠١١) بان المستخلص الكحولي الخام لنبات سرطان الثيل كان ذو فعالية تثبيطية عالية تجاه الجراثيم الموجبة والسالبة لصبغة كرام وبتركيز ٥ ملغم/ مل.

وبمقارنة الجدول ٤ مع الجداول (٥،٦،٧) الخاصة بحساسية العزلات البكتيرية تجاه تراكيز المستخلصات نلاحظ بان الفعالية التثبيطية للنباتات العشبية كانت اكثر من الفعالية التثبيطية الناتجة عن المضادات الحيوية القياسية في اغلب الاحيان وهذا يؤكد امتلاك المستخلصات النباتية مركبات ضد ميكروبية فعالة مثل التانينات والفلافونويدات وغيرها من المركبات ،اذ انه على الرغم من كون العزلات مقاومة للمضادات الحيوية القياسية والذي قد يكون ناتجا عن الاستخدام العشوائي الخاطئ للمضادات الحيوية او نتيجة لامتلاكها لجينات المقاومة الا انه لوحظ بان اغلب العزلات كانت حساسة لتراكيز المستخلص الكحولي الخام للنباتات العشبية الثلاث.

ان التباين في استجابة الانواع البكتيرية قيد الدراسة تجاه تراكيز المستخلصات الكحولية للنباتات الثلاث قد يعزى الى التنوع الحيوي للمكونات الكيميائية للمستخلص فضلا عن عوامل اخرى مثل قابلية الذوبان والاس الهيدروجيني وخصائص الانتشار، كذلك يعزى ايضا الى الاختلاف الفسلجي الكبير ما بين الجراثيم السالبة والموجبة لصبغة كرام من حيث اختلاف الغشاء والجدار الخارجي.

من نتائج دراستنا نستنتج بان التراكيز الثلاثة للمستخلصات الكحولية الخام للنباتات قيد الدراسة امتلكت فعالية تثبيطية تجاه الانواع البكتيرية اكثر نسبيا من فعاليتها التثبيطية تجاه الفطريات التي اختبرت خلال البحث وان سبب ذلك الاختلافات في تركيب الجدار الخلوي التي تؤثر في نفاذية الجدار للمواد السامة التي تؤدي إلى تثبيط النمو، اذ إن الجدار الخلوي للبكتريا الموجبة الكرام يتألف من الـ Peptidoglycan وأحماض الـ Teichoic بينما يتألف الجدار الخلوي للبكتريا السالبة الكرام من الـ Peptidoglycan و Lipopolysaccharides (Willey وآخرون، ٢٠٠٩)، أما الجدار الخلوي للفطريات فيتألف من سكريات متعددة Polysaccharides أكثر تعقيداً مثل الكايتين Chitin والكلوكان Glucan (Munro & Gow, 2001).

نستنتج ان النباتات الثلاثة يمكن اعتبارها عوامل مهمة للقضاء على الفطريات خصوصاً في التراكيز المتوسطة والعالية لعلاج الكثير من الأمراض الفطرية او كبدائل طبيعية امينة ورخيصة بدل المبيدات الفطرية الصناعية، ونوصي من نتائج دراستنا باستخدام المستخلص الكحولي لهذه النباتات في تحضير العلاجات المضادة للميكروبات من خلال اجراء اختبارات داخل الجسم الحي للتحري عن الفعالية التثبيطية لها بعد احداث اصابة بكتيرية داخل الحيوانات المختبرية، ايضا نوصي بإجراء اختبارات لمعرفة السمية الخلوية لهذه المستخلصات العشبية قبل استخدامها طبيا.

المصادر

References

الحسيني، اسيل فؤاد، (٢٠١٣). دراسة تصنيفية لانواع الجنس Oxalidaceae) *Oxalis L.*) في العراق، مجلة ابن الهيثم للعلوم الصرفة والتطبيقية، المجلد ٢٦، العدد١.

النعمان، أديبة يونس شريف، (١٩٩٨). التأثير الجزيئي لبعض المستخلصات النباتية على نمو وأيض عدد من الجراثيم الموجبة والسالبة لصبغة كرام. اطروحة دكتوراه، كلية العلوم، جامعة الموصل، العراق.

Agyare C.; Baiden E.; Apenteng J.A.; Boakye Y.D. and Adu-Amoah, (2015). Anti-infective and Anti-inflammatory Properties of *Portulaca oleracea*, L. *Donnish Journal of Medicinal Plant Research*, 2:1-6.

Ahmad, M.; Shah, A.S.; Khan, R.A.; Khan, F,U.; Khan, N,A.; Shah ,M,S.; and Khan, M,R., (2011). Antioxidant and antibacterial activity of crude methanolic extract of *E. prostrata* collected from District Bannu (Pakistan). *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 5(8):1175-1178.

Broekaert, W.F.; Cammue B.P.A.; De Bolle, M.F.C.; Thevissen, K.; De Samblanx G. W. and Osbron, R.W, (1997). Antimicrobial peptides from plants. *Critical Reviews in plant Sciences*, 16:297 – 323.

Chen, L.; Chen, R. & Wei, K., (1992). Constituents of tannins from *Euphorbia prostrata* Ait. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*, 17:225-226.

Clinical and Laboratory Standards Institute/National Comitee for clinical Laboratory Standards (CLSI/ NCCLS).(2012). In: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Fifteenth Information Supplement. CLSI/NCCLS document M 100–S15. Wayne, PA

Cowan, M.M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12 (4): 564-582.

Demo, M.S. and Oliva, M., (2008). Antimicrobial activity of medicinal plants from South America. P. 152-164. In: Watson, R.R., and V.R

Preedy (eds). Botanical medicine in clinical practice CABI International, Wallingford, UK.

Gillitzer, P.; Martin, A.C.; Kantar, M.; Kauppi, K.; Dahiberg, S. & Lis, D. (2012). Optimization of screening of native and naturalized from Minnesota for antimicrobial activity. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6 (6): 938-949.

Karunanithi, S.; Rajkishore, V.B.; Pol, V.G.; Rajkishore, S. & Jayshree, A.D., (2016). Pharmaconstical and phytochemical studies on leaves of *Oxalis corniculata* Linn. *Journal of Phytopharmacology*, 5(6): 225-229.

Kaur, S.; Kaur, G. & Singh, J., (2017). Phytochemical screening and biological potential of methanolic extract of *Oxalis corniculata* using different parts of plant. *Research Journal of Chemical Science*, 7 (7): 26-32.

Londonkar, R. & Nayaka, H. B., (2011). Phytochemical & antimicrobial activities of *Portulaca* L. *Journal of Pharmacy Research*, 4 (10): 3553-3555.

Mohan, S. A. and Pandey, B., (2016). Antimicrobial Activity of *Oxalis corniculata* Linn. *International Journal of Science and Research*.5(7): 575-578.

Morrisey, J. P. and Osbourn A., (1999). Fungal resistance to plant antibiotics as a mechanism of pathogenesis. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 63: 708-724.

Munro, C. A. and Gow, N.A., (2001). Chitin synthesis in human pathogenic fungi. *Medical Mycology*, 39 S1: 41-53.

Okwuasaba, F.; Ejika C. & Parry, O., (1987). Effects of *Portulaca oleracea* L. on skeletal muscle in vitro. *Journal of Ethnopharmacology*, 27: 55-63.

Ozbilgin, S. & Citoglu, G. S., (2012). Uses of some *Euphorbia* species in traditional medicine in Turkey and their biological activities. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*, 9(2): 241-256.

Peng S.; Dai W.; Yu H.; Wang Y.; Wang X. and Sun S., (2014). Antibacterial activity of aqueous and ethanolic extracts of *Portulaca oleracea* L and *Taraxacum Mongolicum* against pathogenic bacteria of cow

mastitis. *International journal of applied research in veterinary medicine*, 12: 210-213.

Rauf, A.; Qaisar, M.; Uddin, G.; Akhtar, A. & Muhammad, N., (2012). Preliminary phytochemical screening and antioxidant profile of *Euphobia prostrate. Middle-East Journal of Medicinal Plants Research*,1(1): 09-13.

Rehman, A.; Rehman, A. & Ahmed, I., (2015). Antibacterial, antifungal and insecticidal potentials of *Oxalis corniculata* and its isolated compounds. *International Journal of Analytical Chemistry*. Article ID 842468, 5P.

Riose, J. L.; Recio, M.C. & Villar, A., (1987). Antimicrobial activity of selected plants employed in the Spanish Mediterranean area. *Journal of Ethnopharmacology*, 21: 139-152.

Rizk, A.M.; Hammouda, F. M.; El-nasr, M. & Elmissiry, M.M., (1978). Constituents of Egyptian Euphorbiaceae, Part 6: phytochemical investigation of *Euphorbia geniculate* Jacq. and *E. prostrata* Ait Pharmazie., 33: 540-541.

Ross, I. A., (2003). A textbook of medicinal plants of the world. Humana Press, Totawa, NJ.

Selitrennikoff, C. P., (2001).Antifungal proteins, *Applied and Environmetal Microbiology*, 67: 2883-2894.

Shahina, A. G. & John, R. E., (2017). Flora of Iraq,Vol.5 Part1. Royal Botanic gardens, United Kingdom.

Sharma, S. K.; Singh, J. & Singh, S., (2012). Pharmacognostical and phytochemical investigation of *Euphorbia prostrata* Ation. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 3 (4): 1043-1048.

Singla, A.K. and Pathak, K., (1989). Anti-inflammatory studies on *Euphorbia prostrata. Journal of Ethnopharmacology*,27 (1-2): 55-61.

Talibi, I.; Askarne, L.; Boubaker, H.; Bougyach, E.H., Msanda, F. & Saadi, B., (2012). Antifungal activity of some Moroccan plants against *Geotrichum candidum*, causal agent of postharvest citrus sour rot. *Crop Portection*, 35 (1): 41-46.

Tchuenguem, R.T.; Kuiate, J.R. & Dzoyem, J.P., (2017). In vivo anticandidal activity of *Euphorbia prostrate*. *Journal of Complementary and Alternative Medical Research*, 4(4): 1-10.

Townsend, C. C. & Guest, E. (1980). Flora of Iraq,Vol.4 Part1. Ministry of agriculture, Bagdad, Republic of Iraq.

Ullah, R.S.; Hassan, G.; Rehman, A. and Ahmed, I., (2006). Ethanobotanical studies of the flora of district Musakhel and Barkhan in Baluchistan, Pakostan.

Uzair, M., (2009). Phytochemical and biological studies of Conyza bonariensis (compositae), *Euphorbia prostrata* and *Euphorbia helioscopia* (Euphoebiaceae). PhD thesis in Pharmact; Bahauddin Zahariya University, Pakistan.

Voukeng, I, K.; Beng ,V. P. and Kuete, V., (2017). Multidrug Resistant Bacteria are Sensitive to *Euphorbia Prostrata* and six others Cameroonian Medical Plants extracts. *BMC Research Notes* 10:321.

Willey, J. M.; Sherwood, L. M. and Woolverton, C. J., (2009). Prescott's Principles of Microbiology. The McGraw-Hill Companies, Inc., 1221 Avenue of the Americas, New York. 847p.

Zannavi, M.A., (1999). Avicenna Conon, Vol. 1. Dar al-kotob allmyah, Beirut: 404-406.

Zargari, A., (1981). Medicinal plants, Vol.1, University Press, Tahran: 218-220 .