جمهورية العرا ق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة بابل / كلية العلوم
قسم علوم الحياة

التحليل الكيميائي لمستخلص اوراق نوعين من *Euphorbia* L. المضادة للأكسدة ، الفطريات والبكتريا .

رسالة

مقدمة إلى قسم علوم الحياة / كلية العلوم / جامعة بابل

وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في العلوم / علوم الحيـــــــاة

من قبل

جعفر فاضل عباس كنعان

بكلوريوس كلية العلوم ، جامعة الموصل ، 1990

بإشراف

أ.م.د. شيماء محي حسون العامري
علوم حياة / تصنيف نبات

أ.د. ابتهال معز عبد المهدي الحسيني
علوم حياة / فطريات

كلية العلوم / جامعة بابل

١٤٤٤هـ ٢٠٢٣م

Republic of Iraq
Ministry of Higher Education and scientific Res
University of Babylon / College of Science
Department of Biology

Chemical analysis of the leaves extract of two types of Euphorbia L. and their antioxidant, antifungal and antibacterial activity.

A thesis

Submitted to the Council of the College of Science, University of Babylon, in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master of

Science (M.Sc.) in Biology

By

Jaffer Fadhil Abbas Kanaan

(B.Sc. Biology, 1990)

Supervised

Ass. Prof. Dr.

Shaemaa Muhi Hasson AL-Amery
Plant Taxonomy

Prof. Dr.

Ibtihal Muiz Abdul Almahdy Al- Hussaini
Mycology

College of Science/ University of Babylon

٢٠٢٣ A.D. 1444 A.H.

Summary

The study was conducted in the laboratories of the Department of Biology / College of Science / University of Babylon from June 2022 to February 2023 with the aim of a comparative study of two species of the genus Euphorbia L., *E. hypericifolia* L. and *E.prostrata Ation*.

Soft plant samples were collected from the governorates of Babel, Karbala, and Najaf.The chemical study included the detection of phytochemical compounds in the methanolic extract of the leaves of the two species *E. prostrata* and *E. hypericifolia* using preliminary inferential statements, which confirmed the presence of a number of active compounds, including alkaloids, phenols, tannins, glycosides, saponins and terpenes, and conducting chemical analysis using the GC technique. -MS in the analysis of the methanolic plant extract of the leaves of the two species. The results of the chemical analysis of gas chromatography - mass spectrometry showed the presence of 19 chemical compounds in the extract of the leaves of the type *E. prostrata* and 13 chemical compounds in the extract of the leaves of the type *E. hypericifolia*, and most of them had various biological properties.

The antioxidant activity of the plant extract of both species was detected using three solvents (hot water, ethyl acetate and methanol). By test 2,2- diphenyll-1-picrylhydrazyl (DPPH). The results showed a significant increase ($p<0.05$) in the free radical scavenging activity of the methanolic extract of *E. prostrata* leaves, compared with ascorbic acid and with the other solvents used. The methanolic extract of *E. prostrata* leaves showed stronger antioxidant properties compared to *E. hypericifolia*.

Depending on the activity of the extract as an antioxidant, the effectiveness of the aqueous methanolic extract was determined as an antifungal against two types of pathogenic fungi, *Alternaria alternata* and *Fusarium solani*, and a number of pathogenic bacteria, including Gram-positive (*Staphylococcus aureus* and *Streptpcoccus viridans*) and Gram-negative (*Proteus vulgaris* and *Pseudomonas aeruginosa*).

The antifungal activity was determined by using both the disc diffusion method and the (Well) method, where the methanolic extract of the leaves of the type *E. prostrata* showed a higher inhibitory effect than the extract of the leaves of the type *E. hypericifolia* against the fungus *Alternaria alternata* and *Fusarium solani*.

The percentage of inhibition of *E. prostrata* leaf extract by disc diffusion method was 100.89.5% against *Alternaria alternata* and *Fusarium solani*, respectively, at a concentration of 20 mg/ml, while the inhibition percentage of *E. hypericifolia* leaf extract was (89, 87.7) % for the same fungi.

While the percentages of inhibition using the (Well) method of digging the methanolic extract of the plant type *E. prostrata* were 100,95.5% against the two fungi *A. alternata* and *F. solani*, respectively, at a concentration of 20 mg / ml, while the percentages of inhibition were for the leaf extract of the type *E. prostrata*. *E. hypericifolia* against the same fungi (75.7, 64.9) %, respectively, at the same concentration.

Depending on the results of the extract's effectiveness as an antibacterial, the current results showed that the methanolic extract of the leaves of the type *E. prostrata* possesses inhibitory activity against types of bacteria (*Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus viridans*. *Staphylococcus aureus*) and it was a stronger activity compared to the effectiveness of the extract of the leaves of the type *E. hypericifolia*. The dye-positive bacteria showed more sensitivity to the extract than the negative-staining bacteria, and *Streptpcoccus viridans* showed more sensitivity to the methanolic extract of *E. prostrata* leaves compared to other types of tested bacteria. To compare the results of evaluating the effectiveness of plant extracts, antibiotics were used, as the average diameters of the inhibition zones were (18.3, 19.5, 10, (21.5 mm) for antibiotics (Ampicilin, Gentamycin, Vancomycin, Clindamycin) and at unit\disk concentrations (10, 10, 30, 2). respectively.

الخلاصة

أُجريت الدراسة في مختبرات قسم علوم الحياة / كلية العلوم / جامعة بابل من شهر حزيران 2022 ولغاية شهر شباط 2023 بهدف دراسة مقارنة لنوعين من أنواع الجنس ***Euphorbia* L.** هما النوع ***E.hypericifolia* L.** و ***E.prostrata Ation*** . وقد تم جمع العينات النباتية الطرية من محافظات بابل ، كربلاء ، النجف .

تضمنت الدراسة الكيميائية الكشف عن المكونات الكيميائية النباتية **Phytochemical compounds** في المستخلص الميثانولي لأوراق النوعين ***E.prostrata*** و ***E.hypericifolia*** باستعمال الكشوفات التمهيدية الاستدلالية والتي أكدت وجود عدد من المركبات الفعالة شملت القلويدات ، الفينولات ، التانينات ، الكلايكوسيدات ، الصابونيات والتربينات ، وإجراء التحليل الكيميائي باستخدام تقنية **GC-MS** في تحليل المستخلص النباتي الميثانولي لأوراق النوعين . وقد أظهرت نتائج التحليل الكيميائي لكروموتوغرافيا الغاز– مطياف الكتلة وجود **19** مركبا كيميائيا في مستخلص أوراق النوع ***E.prostrata*** و **13** مركبا كيمائيا في مستخلص أوراق النوع ***E.hypericifolia*** ، وكان لأغلبها خصائص بيولوجية متنوعة .

تم الكشف عن الفعالية المضادة للأكسدة **Antioxidant activity** للمستخلص النباتي لكلا النوعين باستخدام ثلاث مذيبات (الماء الحار ، خلات الأثيل والميثانول). بواسطة اختبار **(DPPH) 2,2- diphenyll-1-picrylhydrazyl** . وقد أظهرت النتائج ارتفاعا معنويا **($p<0.05$** في نشاط الكسح للجذور الحرة للمستخلص الميثانولي لأوراق النوع ***E.prostrata*** مقارنة مع حامض الاسكوربك ومع المذيبات الأخرى المستخدمة . وأظهر المستخلص

الميثانولي لأوراق النوع ***E.prostrata*** خصائص مضاد اكسدة أقوى مقارنة بالنوع ***E.hypericifolia*** .

واعتمادا على فعالية المستخلص كمضاد أكسدة تم تحديد فعالية المستخلص الميثانولي المائي كمضاد لنوعين من الفطريات الممرضة ***Alternaria alternata*** و ***Fusarium solani*** وعدد من البكتريا الممرضة منها الموجبة لصبغة گرام (***Staphylococcus aureus*** و ***Streptpcoccus viridans***) و السالبة لصبغة گرام (***Proteus vulgaris*** و ***Pseudomonas aeruginosa***) .

تم تحديد الفعالية المضادة للفطريات باستخدام كلا من طريقة الانتشار القرصي و طريقة الحفر(**Well**) ، حيث أظهر المستخلص الميثانولي لأوراق النوع ***E.prostrata*** تأثيرا تثبيطياً أعلى من مستخلص أوراق النوع ***E.hypericifolia*** ضد الفطر ***Alternaria alternata*** و ***Fusarium solani*** . إذ بلغت النسبة المئوية للتثبيط لمستخلص أوراق النوع ***E.prostrata*** بطريقة الانتشار القرصي **(100,89.5) %** ضد الفطرين ***Alternaria alternata*** و ***Fusarium solani*** على التوالي عند التركيز **20** ملغرام/مل ، في حين بلغت نسبة التثبيط لمستخلص أوراق النوع ***E.hypericifolia*** **(89, 87.7) %** لنفس الفطريات .

بينما كانت نسب التثبيط المئوية باستخدام طريقة الحفر(**Well**) للمستخلص الميثانولي للنبات نوع ***E.prostrata*** **(100,95.5) %** ضد الفطرين ***A.alternata*** و ***F. solani*** على التوالي عند التركيز **20** ملغرام / مل ، بينما كانت نسب التثبيط المئوية لمستخلص أوراق النوع ***E.hypericifolia*** تجاه نفس الفطريات **(75.7, 64.9) %** على التوالي وعند نفس التركيز .

اعتمادا على نتائج فعالية المستخلص كمضاد للبكتيريا ، بينت النتائج الحالية أن المستخلص الميثانولي لأوراق النوع ***E.prostrata*** يمتلك نشاطا مثبطا ضد أنواع البكتيريا(***Proteus vulgaris , Pseudomonas aeruginosa, , Streptococcus viridans***

Staphylococcus aureus). وكان نشاطا أقوى مقارنة بفعالية مستخلص أوراق النوع ***E.hypericifolia*** . وأظهرت البكتريا الموجبة الصبغة تحسسا أكثر تجاه المستخلص مقارنة بالبكتريا السالبة الصبغة ، وأظهرت البكتريا ***Streptpcoccus viridans*** تحسسا أكثر تجاه المستخلص الميثانولي لأوراق النوع ***E.prostrata*** مقارنة بالأنواع الأخرى من البكتريا المختبرة . ولمقارنة نتائج تقييم فاعلية المستخلصات النباتية تم استخدام المضادات الحيوية إذ بلغت معدلات أقطار مناطق التثبيط **(18.3 , 19.5 , 10 , 21.5)** ملم للمضادات الحيوية **Ampicilin) ، Gentamycin ، Vancomycin ، Clindamycin) وبتراكيز unit\disk (10, 10, 30, 2)** على التوالي .

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَٰنِ الرَّحِيمِ

هُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً لَكُمْ مِنْهُ شَرَابٌ وَمِنْهُ شَجَرٌ فِيهِ تُسِيمُونَ (١٠) يُنْبِتُ لَكُمْ بِهِ الزَّرْعَ وَالزَّيْتُونَ وَالنَّخِيلَ وَالْأَعْنَابَ وَمِنْ كُلِّ الثَّمَرَاتِ إِنَّ فِي ذَٰلِكَ لَآيَةً لِقَوْمٍ يَتَفَكَّرُونَ (١١)

صدق الله العلي العظيم

سورة النحل الآية (١٠-١١)

الإهداء

الى كل من علمني

والدي ... والدتي

اخوتي ... اخواتي ... زوجتي واولادي

جميع اساتذتي

كل اصدقائي

جعفر

شكر وتقدير

الحمد لله رب العالمين والصلاة والسلام على سيد الخلق المصطفى الأمين وعلى آله الطيبين الطاهرين أجمعين ومن والاه.. أما بعد ...

بعد رحلة بحث وجهد واجتهاد تكللت بإنجاز هذا البحث ، أحمد الله عز وجل على نعمه التي منَّ بها عليَّ فهو العليُّ القدير . ومن مبدأ الاقرار بالفضل لا يسعني بعد إتمام رسالتي إلا أنْ أُقدّم الشكر والتقدير والإحترام لمشرف البحث د. ابتهال الحسيني و د. شيماء محي على كل ماقدمتاه من وقت وجهد مضنيين في سبيل إكمال جميع مستلزمات البحث وإخراجه بأفضل صورة ، وأتقدم بالشكر والامتنان الى جميع أعضاء الهيئة التدريسية في قسم علوم الحياة / كلية العلوم / جامعة بابل لما قدموه من نصائح وارشادات وأخص بالذكر د. علاء جواد و د. يازي عبدالله ، د. إيفان ابراهيم ، د.فادية حميد ، د.قاسم المرشدي ، د. نور سلمان و د. فريال جميل و د. وسن مضر وأ. نهاد جاسم وأ. علي ناصر كذلك الشكر موصول الى اصحاب المشاتل في محافظة بابل والقائمين على مشاتل وبساتين العتبة الحسينية والعباسية والعتبة العلوية في مد يد العون وتسهيل المهمات لغرض جمع العينات النباتية الطرية .

أخيراً كل الشكر والامتنان أُقدمه الى زملائي في الدراسة والى إخوتي وأخواتي وأُسرتي لما قدموه لي من دعم نفسي ومعنوي . فلكم مني الف تحية من صميم فؤادي ، ومن الله التوفيق .

جعفر

قائمة المحتويات

ت	العنوان	الصفحة
	الفصل الأول / المقدمة INTRODUCTION	
:1	المقدمة Introduction	2-1
: 1-1	محاور الدراسة Objective of study .	3
	الفصل الثاني / أستعراض المراجع LITREATURE REVIEW	
: 1 -2	استعراض المراجع Literature Review	4
: 1-1-2	تسمية العائلة السوسبية Euphorbiaceae	4
: 2-1-2	صفات العائلة السوسبية Characters of Euphorbiaceae Family	5
: 3-1-2	الموقع التصنيفي للجنس Systematic Position of *Euphorbia* L.	6
: 4-1-2	صفات الأنواع المدروسة :	6
	١: النوع (*Euphorbia prostrate Ait.*)	7-6
	٢: النوع *Euphorbia hypericifolia* L.	7
: 5-1-2	الأهمية الطبية والأقتصادية للعائلة السوسبية وللنوعين قيد الدراسة.	11-8
: 2 -2	الكيمياء النباتية Phytochemistry	15-13
: 3-2	تقنية GC-MS وتطبيقاتها التحليلية في العلوم.	16-15
: 4 -2	مضادات الأكسدة Antioxidants .	20-17
: 5-2	الفطريات الممرضة المدروسة Fungi Pathogenic	22-20
: 1 -5 -2	الفطر *Alternaria altarnata*	21-20
: 2 -5 -2	الفطر : *Fusarium solani*	22-21
: 6-2	البكتريا الممرضة المدروسة Pathogenic bacteria	23-22
: ١- ٦-٢	بكتريا الزوائف الزنجارية *Pseudomonas aeruginosa*	23
: ٢- ٦-٢	بكتريا المتقلبة الشائعة *Proteus Vulgaris*	24
: ٣- ٦-٢	المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus*	25-24
: ٤- ٦-٢	المكورات العقدية *Streptococcus Viridans*	25

	الفصل الثالث / المواد وطرائق العمل MATERIAL AND METHODS	
1–3 :	المواد :	26
1-3 -1 :	الأجهزة والمعدات المستخدمة في الدراسة وبلد المنشأ.	26
1-3 -2 :	المواد الكيميائية والبايلوجية .	27
1-3 -3 :	تصميم الدراسة .Study design	28
1-3 -4 :	تحضير الكواشف الكيميائية للكشف عن بعض المركبات الكيميائية . Preparation of Chemical reagents for detection of some phytochemical compounds	29
1-3 -5:	الأوساط الزرعية Culture Media ١. وسط البطاطا المغذي Potato Dextrose Agar. ٢. الوسط الغذائي MHA (Muller – Hinton agar) . ٣. الوسط الغذائي MHB (Muller- Hinton Broth) .	30
1-3 - 6 :	العزلات الفطرية والبكتيرية المستخدمة في الدراسة : ١ : العزلات الفطرية Fungal isolaties ٢ : العزلات البكتيرية Bacterial isolaties	31
2 -3 :	طرائق العمل :	32
2 -3 -1 :	جمع العينات النباتية والتشخيص .Plant collection and identification	32
2 -3 -2 :	تحضير المستخلص النباتي .preparation of Plant extraction	33–34
2 -3 - 3 :	الكشف عن بعض المركبات الكيميائية النباتية . Detection of some phytochemical compounds	34–35
2 -3 - 4 :	التحليل الكيميائي بوساطة .Gas Chromatography –Mass Spectrum	36
2 -3 - 5 :	تقدير الفعالية المضادة للاكسدة .Estimation of antioxidant activity	37–38
2 -3 - 6 :	تقديرالفعالية المضادة للميكروبات .(A:أختبار الفعالية المضادة للفطريات)	39
	1: المحلول المعياري Standard solution	39
	2: زرع العزلات الفطرية Culture of fungal isolates	39
	3 : حفظ العزلة الفطريةSave of fungal isolation	39
	4 : أختبار فاعلية تراكيز مختلفة من المستخلص الميثانولي للأوراق في تثبيط نمو الفطرين *Alternaria atrenata , Fusarium solani* .	40
	A- النمو الشعاعي .	40

	B- طريقة الحفر (Well) .	41
3- 2 - 6 :	تقدير الفعالية المضادة للميكروبات (B :أختبار الفعالية المضادة للبكتريا).	41
	B : أختبار الفعالية المضادة للبكتريا Antibacterial activity test	41
	1 : تحضير محلول McFarlands القياسي رقم 0.5	41
	2 : طرق التعقيم Sterilization methods	41
	3 : تحضير المعلق البكتيري Preparation of Suspension	42
	4: تقدير الفعالية التثبيطية للمستخلصات الكحولية النباتية المحضرة ضد الانواع البكتيرية المختبرة .	42
٣- ٢ - ٧ :	التحليل الأحصائي .	43
	الفصل الرابع / النتائج والمناقشة RESULTES AND DISCUSSION	
4 - 1 :	التحليل الكيميائي لمستخلص النوعين Phytochemical analysis of *E. prostrata* and *E. hypericifolia* extract	44
4-1-4 :	الكشف عن بعض المركبات الكيميائية Detection of some phytochemical compounds	44
4-1-4:	تحليل كروماتوغرافيا الغاز والكتلة Gas Chromatography-Mass (GC -MS)	48–51
4-2:	الفعالية المضادة للأكسدة لمستخلص النوعين قيد الدراسة Antioxidant activity of *E. prostrata* and *E.hypericifolia* a extract .	55–57
4–3 :	الفعالية التضادية لمستخلص النباتين ضد الفطريات والبكتريا المختبرة . *E. hypericifolia* and *E. prostrata* Antimicrobial activity of extract	62–73
4-3-1 :	أختبار فعالية المستخلص الكحولي لأوراق النوعين *E.prostrata* و *E.hypericifolia* في تثبيط نمو الفطريات الممرضة *Alternaria altarnata* و *Fusarium solani* .	62–74
4-3-2 :	اختبار كفاءة تراكيز مختلفة من المستخلص الميثانولي لأوراق النوعين *E. prostrata* و *E. hypericifolia* في تثبيط النمو الشعاعي للبكتريا .	75–84
4–3–3 :	مقارنة التأثير المثبط للمستخلص الكحولي للنباتات المدروسة مع المضادات الحيوية.	81

قائمة الجداول

رقم الجدول	العنوان	الصفحة
1-2	الأهمية الطبية (الفعالية البايلوجية) للنوعين قيد الدراسة خلال الدراسات السابقة.	12
1-3 -1 :	الأجهزة والمعدات المستخدمة في الدراسة وبلد المنشأ.	26
1-3 -2 :	المواد الكيميائية والبايلوجية **Chemical and Biological Materials**	27
3 - 3	**مصادر العزلات البكتيرية المستخدمة في الدراسة .**	31
3 – 4	**انواع المضادات الحيوية المستخدمة في الدراسة .**	32
1-4	**الكشف عن بعض المركبات الكيميائية في المستخلص 50% methanolic aqueous extract للنوعين *E.hypericifolia* and *E. prostrata* بأعتماد الأختبارات الكيميائية .**	45
2-4	**المركبات الرئيسة في المستخلص الكحولي لأوراق النوعين *E.hypericifolia* and *E.prostrata***	54-52
3-4	**. Percentage of scavenging activity**	58
4-4	**Antioxidant Activity of plant extracts against Free-Radicals.**	58
5-4	**تاثير المستخلص الكحولي لأوراق النوع *E. prostrata* في تثبيط النمو الشعاعي للفطرين *Fusarium solani* و *Alternaria alternata***	63
6-4	**تأثير تراكيز مختلفة للمستخلص الكحولي لأوراق *E. prostrata* في نمو الفطرين *Alternaria alternata* و *Fusarium solani* , باستخدام طريقة الحفر (Well) .**	65
7-4	**تأثير المستخلص الكحولي لأوراق النوع *E. hypericifolia* في تثبيط النمو الشعاعي للفطرين *Alternaria alternata* , *Fusarium solani* باستخدام طريقة (MIC) .**	67
8-4	**تأثير المستخلص الكحولي لأوراق النوع *E. hypericifolia* في تثبيط نمو الفطرين *Alternaria alternate* , *Fusarium solani* باستخدام طريقة (Well) .**	70

9-4	تأثير المستخلص الكحولي لأوراق النوع *E. prostrata* في تثبيط نمو أنواع البكتيريا المدروسة .	76
10-4	تأثير المستخلص الكحولي لأوراق نبات *E.hypericifolia* في تثبيط نمو أنواع البكتريا المدروسة .	76
11 -4	معدل قطر التثبيط للمضاد الحيوي.	81

قائمة الصور

رقم الصورة	العنوان	الصفحة
1	الكشوفات الخاصة بالنوع *E.prostrata* . control sample : 1 . water extract : 2 methanolic-water : 3 extract	46
2	الكشوفات الخاصة بالنوع *E. hypercifolia* . control sample : 1 . water extract : 2 methanolic-water : 3 extract	47
4	تأثير المستخلص الكحولي لأوراق *E.prostrata* على النمو الشعاعي للفطر *A. alternata* عند التركيز ٢٠ ملغم/مل	64
5	تأثير المستخلص الكحولي لأوراق *E.prostrata* على النمو الشعاعي للفطر *F.solani* عند التركيز 20 ملغم/مل	64
6	تأثير المستخلص الكحولي لأوراق النوع *E.prostrata* . (طريقة الحفر Well) A : معاملة السيطرة للفطر *A.alternata* B : تأثير المستخلص عند التركيز 20 ملغم/ مل .	66
7	تأثير المستخلص الكحولي لأوراق النوع *E.prostrata* . (طريقة الحفر Well) A : معاملة السيطرة للفطر *F.solani* B : تأثير المستخلص عند التركيز 20 ملغم/ مل .	66
8	تأثير المستخلص الكحولي لأوراق النوع *E.hypericifolia* على الفطر *A.alternata* (طريقة MIC) تأثير المستخلص عند التركيز ١٠ ملغم/ مل	68
9	تأثير المستخلص الكحولي لأوراق النوع *E.hypericifolia* للفطر *F.solani* (طريقة الحفر Well) تأثير المستخلص عند التركيز بتركيز ٢٠ ملغم/ مل .	69
10	المعدل التثبيطي للكحول المثيلي ضد الفطرين *A: F.solani* *B: A.alternata*	71

11	صورة مجهرية للفطريات المختبرة *Alternaria alternata* : A *Fusarium solani* : B	73
12	مقارنة تاثير المستخلص الكحولي للأوراق ضد البكتريا *Proteus vulgaris* *E.hypericifolia* : B *E. prostrata* : A	78
13	مقارنة تاثير المستخلص الكحولي للأوراق ضد البكتريا *Pseudomonas aeruginosa* *E.hypericifolia* : B *E.prostrata* : A	78
14	مقارنة تاثير المستخلص الكحولي للأوراق ضد البكتريا *Staphylococcus aureus* *E.hypericifolia* : B *E.prostrata* : A	79
15	مقارنة تاثير المستخلص الكحولي للأوراق ضد البكتريا *Streptococcus viridans* *E.hypericifolia* : B *E.prostrata* : A	79
16	تاثير المضاد الحيوي ضد البكتريا المختارة . : E Ampicilin :D . Vancomycin : C . Clindamycin : B +A Gentamycin	81

قائمة الأشكال

رقم الشكل	العنوان	الصفحة
1	DPPH scavenging mechanisms (Dureja and Dhiman 2012)	38
2	تحليل كروماتوغرافيا الغاز للمستخلص الميثانولي لأوراق لنوعين قيد الدراسة. A : النوع E. hypercifolia B : النوع E.prostrata	51
3	الفعالية المضادة للأكسدة لحامض الأسكوربيك .	59
4	الفعالية المضادة للأكسدة للمستخلص الميثانولي لأوراق *E.prostrata* .	59
5	الفعالية المضادة للأكسدة للمستخلص الميثانولي لأوراق *E.hypericifolia* .	59
5	الفعالية المضادة للأكسدة لمستخلص خلات الاثيل Ethyl acetate لأوراق *E.prostrata*	60
7	الفعالية المضادة للأكسدة لمستخلص خلات الأثيل Ethyl acetate لأوراق *E.hypericifolia*	60
8	الفعالية المضادة للأكسدة لمستخلص الماء الحار Hot water لأوراق *E.prostrata*	61
9	لفعالية المضادة للأكسدة لمستخلص الماء الحار Hot water لأوراق *E.hypericifolia*	61
10	معدل تثبيط نمو الفطرين *Fusarium solani* و *Alternaria alternate* بأستخدام المستخلص الكحولي لأوراق النوعين قيد الدراسة بطريقة MIC .	68

11	معدل تثبيط نمو الفطرين *Fusarium solani* و *Alternaria alternata*بأستخدام المستخلص الكحولي لأوراق النوعين قيد الدراسة باستخدام طريقة الحفر(Well) .	70
12	متوسط أقطار مناطق التثبيط لمستخلص أوراق النوع *E.prostrata* ضد البكتريا .	77
13	متوسط أقطار مناطق التثبيط لمستخلص أوراق النوع *E.hypericifolia* ضد البكتريا.	77

الفصل الأول CHAPTER ONE
INTRODUCTION

1: المقدمة Introduction

امتازت النباتات بتغايرات واسعة في أشكالها وألوانها وروائحها ، الأمر الذي ساعد الإنسان على إستعمال تلك التغايرات في التعرف على بعض أنواع تلك النباتات ، إذ استطاع أن يميز بين المفيد والضار وتلك التي يستعملها للأكل أو الملبس ولضرورات الحياة اليومية الأُخر . والتباين في الخصائص الوراثية كان احد الاسباب في تعدد الأنواع النباتية مع الظروف البيئية المختلفة ولذلك شجعت الإنسان على ترتيب وتصنيف تلك النباتات والتي عدّت تمهيداً لدراسة النباتات.

ومع بداية خلق الإنسان والحيوان وجدت النباتات والتي كانت المصدر الوحيد للأدوية منذ القرون الماضية ولاتزال في الوقت الحاضر من أهم المصادر للعقاقير ولاسيما في الطب البديل إذ كان التداوي بالأعشاب معروفاً منذ أقدم الحضارات **(Chelaiah & Muniappan, 2006)** . وهذا ماشجع الإنسان للأهتمام بالطبيعة . وبمرور السنيين وتطور الأجهزة الدقيقة ادى الى التعرف على العديد من المنتجات النباتية ومصدرها الأساسي من النبات ، فضلاً عن التعرف على العمليات الحيوية الجارية داخل النبات (عرفه، ٢٠٠٦) . وأستعملت النباتات الطبية في المجال الصناعي كصناعة الزيوت الغذائية والعطرية التي لها دور في تحضير مستحضرات التجميل وكذلك المبيدات الحشرية وأهميتها ضد بعض الممرضات الفطرية والبكتيرية (صالح ، ٢٠١٢) . وأهم ماقام به العلماء إكتشاف ومعرفة المكونات الكيميائية الفعالة في هذه النباتات وطرق إستخلاصها ليتم الإستفادة منها ، إذ أن هنالك نباتات تنتج مدى من المواد والتي تلعب أدواراً مهمة في الجسم . **(Ramezani *et al.*, 2008)** .

ويمكن الحصول على النباتات الطبية أما بصورة طبيعية حيث تنمو بعض النباتات البرية في السهول والوديان والغابات ، أو عن طريق زراعة أصناف مهمة وبكميات معينة **(Rahal,2004)** . والنباتات

الطبية هي النباتات التي تحتوي على مادة كيمائية واحدة أو أكثر في عضو أو أكثر من أعضاء جسم النبات ، وبتركيز منخفض أو مرتفع ولها القدرة الفيزيولوجية على علاج مرض معين أو أن تقلل من أعراض الأصابة بالمرض **(Haddouche, 2006)** . .

ولتسليط الضوء ومن ضمن مجال دراسة النباتات الطبية المنتشرة في العراق تم اختيار نوعين من أنواع الجنس ***Euphorbia L.*** أحد أجناس العائلة السوسبية **Euphorbiaceae** كموضوع للدراسة الحالية . تُعدَّ العائلة السوسبية رابع أكبر عائلة من النباتات الزهرية من ذوات الفلقتين التي تضم عدداً كبيراً من الأجناس والأنواع ، فقد أشار **(Thakur and Patil ., 2012)** أن للعائلة ما يقارب **283** جنسا و **7300** نوع . أما في العراق ، سُجل للعائلة سبعة أجناس ضمن الفلورا العراقية ضمنها الجنس ***Euphorbia L.*** (الموسوي ، **1987**) .

صنف الجنس ***Euphorbia* L.** في العديد من الدراسات العلمية كنبات طبي وأيضاً نبات يحتوي على مادة سامة ، وأشارات دراسات عدة الى الفعالية البايلوجية لأنواع الجنس ***Euphorbia* L.** كمضاد أكسدة . فقد دُرست الفعالية المضادة للأكسدة لمستخلص النوع ***E.prostrata*** من قبل **(Rauf *et.al*., 2012)** باستخدام مذيبات مختلفة ، كما أكد **(Prabha and Rayan., 2018)** أن للمستخلص الايثانولي لأوراق النوع ***E.prostrata*** تأثير جيد كمضاد أكسدة .وأجريت دراسات توضح التأثير المضاد لبعض أنواع البكتريا والفطريات لأنواع مختلفة للجنس ***Euphorbia* L.** . هدفت الدراسة الحالية إجراء دراسة مقارنة لنوعين من أنواع الجنس ***Euphorbia* L.** من خلال بعض الفعاليات البايلوجية وتأثيرها التثبيطي لنمو بعض الأنواع من الفطريات والبكتريا وقد تضمنت الدراسة المحاور الأتيه :

- **1-1 :** محاور الدراسة **Objective of study :**

1 : الكشف عن المكونات الكيميائية **Phytochemical compounds** في المستخلص النباتي لأوراق نوعي الجنس ***Euphorbia*** باستخدام الطرق الكيميائية .

2 : تحليل المستخلص النباتي الكحولي بأستخدام تقنية **GC-MS Spectroscopy** .

3: تقدير الفعالية المضادة للأكسدة للمستخلص النباتي لكلا النوعين مقارنة مع حامض الأسكوربك **Ascorbic acid** بأستخدام طريقة **DPPH** .

4 : تقدير الفعالية التضادية للمستخلص النباتي الكحولي ولكلا نوعي الجنس ***Euphorbia*** ضد نوعين من الفطريات الممرضة وبعض أنواع البكتريا الممرضة .

الفصل الثاني CHAPTER TOW
استعراض المراجع LITREATURE REVIEW

2- 1 : استعراض المراجع Literature Review

2-1-1 : تسمية العائلة السوسبية Euphorbiaceae :

سُميت العائلة **Euphorbiaceae** من قبل الملك **Juba (King of Mauritania)** في سنة **52-50** قبل الميلاد تكريما لإسم الطبيب المعالج **Euphorbus** ، إذ عمل الطبيب المعالج استخدام عشبةً لعلاج الملك جوبا **Juba** إذ كان يعاني (انتفاخ البطن) . كما أطلق الملك **Juba** الإسم **Euphorbia** على تلك العشبة والمعروفة حاليا بالنوع ***Euphorbia resinifera*** . وقد أطلق هذا الإسم على الأنواع العصارية للجنس ***Euphorbia*** ، أما الأنواع غير العصارية **Non-succulent species** فقد كانت تحت إسم إغريقي قديم وهو **Titbymalus**. ومن ثم في عام **1753** وضع العالم **Linnaeus** كلا الأسمين تحت أسم واحد وهو ***Euphorbia*** والأسم **Titbymalus** حاليا أستخدم كقطاع ضمن الجنس ***Euphorbia*** **(Pritchard, 2003) (Simpson , 2010)** .

أما الإسم الإنكليزي الشائع للجنس ***Euphorbia*** فقد أشتق من الكلمة الأنكليزية والفرنسية **Spurge** أو **Pure** بمعنى المطهر أو المسهل نظرا لإستعمال عصارة النبات كمسهل (ملين) **Purgative** .

الإسم الفربيون وهو الإسم العربي للجنس ***Euphorbia*** ، أشتق الإسم من مادة اليوفوربون الموجودة في العصارة اللبنية . في المناطق الوسطى من العراق ، أطلق إسم سرطان الثيل على النوع ***E.prostrata*** **(Rawi and Chakravarty , 1964)** .

2-1-2 : صفات العائلة السوسبية Characters of Euphorbiaceae Family

تُعدَّ العائلة السوسبية رابع أكبر عائلة من النباتات الزهرية من ذوات الفلقتين ، تضم عدداً كبيراً من الأجناس والأنواع ، فعلى الرغم أن العائلة معروفة من سنوات عدة إلا أنه لازالت هنالك اختلافات كبيرة في عدد أجناس وأنواع العائلة . إذ أشار **Porter (1967)** أن للعائلة مايقارب **283** جنس وحوالي ٧٣٠٠ نوع منتشرة في أجزاء مختلفة من المناطق الحارة والأستوائية . في حين ذكر **(Barkhuizen ,1978)** أن العائلة تضم **300** جنساً و ٥٠٠٠ نوع . أما(**Webster ,1994**

و **Heywood *et.al.* , 2007**) أن للعائلة مايقارب **222** جنساً و **6300** نوع (

أما في العراق ، سُجل للعائلة سبعة أجناس ضمن الفلورا العراقية ، وهي :

1: ***Andrachne*.** **2:** ***Phyllanthus* .** **3:** ***Chrozophora* A.Juss.** **4:** ***Mercurialis* L.**
5: ***Acalypha* L.** **6:** ***Ricinus* L.** **7:** ***Euphorbia* L.**

أكثرها سعة في الأنتشار وبعدد الأنواع هو الجنس أم الحليب ***Euphorbia L.*** . بعض أجناس العائلة والمنتشرة بكثرة في العراق على طول وعرض الحقول والبراري العراقية النوع ***Chrozophora tinctoria*** المعروف بإسم صباغ روحه أو زريجه . فضلا عن ذلك بعض الأنواع منشرة كأنواع مستزرعة في الحدائق والمتنزهات منها النوع ***E.pulcherrima*** المعروف بإسم بنت القنصل ، ***Ricinus communis*** الخروع وكذلك شوك المسيح ***E.splendens***(

نباتات العائلة السوسبية واسعة الأنتشار في معظم قارات العالم ويندر انتشارها في القطب الشمالي والجنوبي ، تمتلك نباتات العائلة تنوعاً كبيراً في مظهرها الخضري فهي مابين أعشاب حولية وثنائية الحول والمعمرة من بينها أعشاب صغيرة ضارة والعديد منها سامة ، الى شجيرات وأشجار خشبية ، ومنها نباتات متسلقة والزاحفة ومنها عصاريات **Succulents** .

(Webster , 1994 ; Radcliffe-Smith, 2001; Wurdack *et.al.*, 2004) .

3-1-2 : الموقع التصنيفي للجنس *Euphorbia* L. Systematic Position of

يُعد جنس الفربيون ***Euphorbia* L.** ثاني أكبر جنس من النباتات الزهرية **(Frodin, 2004)** ، كما أُعتبر أكبر جنس في العائلة السوسبية ، أكثرها سعة في الإنتشار وعدداً في الأنواع . يضم أكثر من **2100** نوع متواجدة في كل من المناطق الحارة والأستوائية **(Govaerts *et.al.* , 2000)** . ينمو في العراق بأكثر من **(40)** نوع بري ، (الموسوي ، **1987**) .

صُنف الجنس ***Euphorbia* L.** لأول مرة من قبل العالم **(Linnaeus , 1753)** وأول من وضع أسس النظام التصنيفي للجنس العالم **(Boissier, 1862)** .

4-1-2 : صفات الأنواع المدروسة :

١: النوع (*Euphorbia prostrata Ait.*)

Description of *Euphorbia prostrate*aAiton

نبات عشبي حولي . أصل نموه من المناطق الاستوائية وشبه الاستوائية الأمريكية ، ومنها تم إدخاله الى مناطق البحر الأبيض المتوسط **(Smith and Tutin , 1968)** . شائع الانتشار في مختلف البيئات العراقية .

النبات ذو جذر وتدي كثير التفرع ، الساق منبطحة مرفوعة القمة ، متفرع من القاعدة وذو لون أخضر مزرق . الأوراق متقابلة الترتيب ، النصل بيضوي الشكل ، ذو لون أخضر – أخضر محمر ، قمته مدورة ، حافة النصل منشارية دقيقة وذو سطح أملس . الأذينات غشائية مثلثة الشكل . النورات الكأسية مرتبة بشكل عنقودي بسيط ، مفردة ، أبطية على جانبي الساق ، النورة الكأسية برميلية الشكل ، ذات سطح ذو شعيرات دقيقة لماعة ، الغدد الرحيقية (غدد تقع على حافة التركيب الكأسي من الأعلى) قرصية الشكل . الثمرة بيضية الشكل ، ذات لون أخضر .

البذرة بيضية رباعيه الأوجه ، ذات لون بني . يستمر إزهار وتكوين الثمار من شهر نيسان – تشرين الأول)

٢: النوع Description of *Euphorbia hypericifolia* L.

سُمي هذا النوع من قِبل **Linnaeus** وتم توصيفه من قِبل **Fosberg and Mazzeo (1965)** **(Sciandrello *et.al*., 2016) .** أصل نشوئه من المناطق الاستوائية وشبه الاستوائية خاصة من مركز وجنوب أمريكا . في البيئات العراقية يكثر انتشاره بين الأشجار والشجيرات والأعشاب .

النبات عشبي حولي ، أملط **Glabrous** . ذو جذر وتدي عميق . الساق شبه قائمة **Erect** متفرعة ، يبلغ طوله تقريبا **15-70 cm.** ، نهاية الفروع متدليه **Drooping** . الأوراق متقابلة **Oppositae** ، بسيطة . الأذينات ثلاثية الزوايا **Triangular** ، ذات شكل نصل أهليليجي – متطاول ، قمة الورقة منفرجة – الحادة ، حافة النصل مسننة بشكل دقيق جدا **obscurely toothed**. كل مظروف زهري يتكون من زهرة أنثوية واحدة محاطة بعدد من الأزهار الذكرية . الغلاف الزهري مفقود **Perianth absent** . البذرة بيضاوية – مثلثة **Ovoid-triangular** .

وقد ورد عن **(Schiman-Czeika)** في الفلورا العراقية للأراضي المنخفضة أن هذا النوع قريب الشبه بالنوع ***E.indica*** غير أن النوع ***E. hypericifolia*** أملط بالكامل **Completely glabrous** . مدة إزهار وتكوين الثمار من شهر نيسان – كانون الثاني . الأسماء المرادفة للنوع :

Anisophyllum hypericifolium **(L.) Haw., Ditritra oblique Raf.,**
Euphorbia hypericifolia **var.** ***maculate*** **Klotzsch.,**
Euphorbia glomerifera **(Millsp.) L.C.Wheeler.** **(Yang ,2016)**

Taxonomic Tree : (Townsend and Guest , 1980)

Kingdom: Plantae
Phylum : Spermatophyta
Subphylum : Angiospermae
Class : Dicotyledonae
Order : Euphorbiales
Family : Euphorbiaceae
Genus : *Euphorbia*
Species : *Euphorbia prostrate*
Species : *Euphorbia hypericifolia*

2-1-5 : الأهمية الطبية والإقتصادية للعائلة السوسبية وللنوعين قيد الدراسة .

امتازت العائلة السوسبية **Euphorbiaceae** بان العديد من أفراد هذه العائلة و خاصة الجنس ***Euphorbia L.*** معروفة بقدرتها على أن تسبب التهاب الجلد **induce dermatitis (Seigler, 1994)** ، وامتازت أجناس العائلة بأنها مصدر مهم للأدوية والسموم **Toxins** .

إذ أن هنالك عدة أنواع ضمن العائلة السوسبية تحوي مركبات سامة ، خاصة تلك في الجنس ***Jatropha*** و ***Euphorbia*** **(Devappa *et.al.*, 2010 ; Ramalho *et.al.*, 2017)** . في الطب الصيني أشار **(Lai, *et.al.*, 2004)** أن هنالك أجناسا استخدمت في علاج لدغات الثعابين **snake bites** ، وبعضها كنباتات زينة كالنوع ***Euphorbia milli*** ، وأجناس أخرى ذات أهمية اقتصادية منها نبات زيت الخروع ***Ricinus communis L.*** وشجرة المطاط ***(rubber tree Hevea esculenta)*** **(Mwine and Damme, 2011)** .كما ذكر **(Refahy,2011)** أن عدة أفراد من العائلة السوسبية أظهرت نشاطا أو فعالية كمبيد للرخويات **molluscicidal activity** . فضلا عن مادة الحليب **Latex** التي يكثر تواجدها في افراد العائلة السوسبية ، أذ أكد **Vasas and Homann,2014)** الى وجود نواتج طبيعية ذات فعالية بيولوجية عالية في مادة الحليب المطاط **Latex** . فقد استخدمت كمنشط **Tonic** ، مخدر **Narcotic** ، مضاد للربو **anti**

asthmatic ، فعالة ضد الزحار **anti dysentery**، الإسهال **antidiarrhea** والمغص **anticolic** خاصة داء الأميبيات **Amoebiasis**. **(Mishar and Parida , 2020)** . وجميع هذه الخصائص البايلوجية نتيجة للتغاير الكبير في المركبات المعزولة من هذه العائلة . **(Refahy , 2011)** . أيضا بعض المستخلصات النباتية من العائلة السوسبية استخدمت كأدوية منها العِقار **Euphorbium (Resiniferatoxin)** المصنع من الحليب النباتي للنوع ***E. resinifera*** والمعروف بالاسم التجاري **(Complexe LehningEuphorbium N88)** فقد أستخدم كبخاخ للأنف أو مركب ضد الالتهابات الفيروسية ، لالتهاب الجيوب الأنفية ، إفرازات الأنف المزمنة ، أيضا لمعالجة الأغشية المخاطية المبطنة للأنف الجافة والملتهبة وكذلك أعراض الانفلونزا . **(Bijekar and Gayatri, 2014)** . وفي عام **(2015)** نشرت **(Ernst *et.al*.)** مقالة عن الاستخدامات الطبية العالمية لأنواع متعددة من الجنس ***Euphorbia* L.** كانت النسبة الأكثر استخداما لعلاج اضطرابات الجهاز الهضمي **Digestive system disorders** ، بعد ذلك جاءت النسبة العالية لعلاج اضطرابات الأنسجة الخلوية الجلدية و تحت الجلد ، بعد ذلك سجلت دراسات عن استخدام بعض الأنواع لعلاج مختلف الالتهابات والإصابات الطفيلية ، أيضا دراسات عن استخدام بعض الأنواع لعلاج اضطرابات الجهاز التنفسي وكذلك اضطرابات الجهاز الحسي .

أشارت دراسات عدّه بخصوص الأهمية الطبية للنوع ***E.hypericifolia* L.** . فذكر(**Shih-Huei and Ming-Jou., 2004)** في مقال عن النوع ***E.hypericifolia* L.** أن له عدة فعاليات بايلوجية منها خافض للحرارة **Antipyretic** ، كمادة قابضة **Astringent** ، كمطمث **Emmenagogue** ، كملين ومخدر ، أيضا كمعرق **diaphoretic** ، وفي الطب الصيني التقليدي ، أستخدم النبات كسائل فموي لعلاج الزحار ولتقوية مقاومة الجسم . كما أشار **Mbaya et *al*** **(**

(2016 أن لهذا النوع استخداما فعالا في علاج مرض السيلان **Gonorrhoea** وذلك عن طرق شرب مغلي النبات بالكامل **Whole plant** أو الأوراق ، أيضا له دور جيد في علاج الجروح **Wounds** وذلك من خلال طحن الأوراق الطرية واستخدامها موضعيا، وله دور في علاج الإسهال والزحار ووجع الرأس من خلل شرب مغلي النبات أو الأوراق (كوب واحد ثلاث مرات يوميا) .

وفيما يخص النوع ***E.prostrata* Ait.** ، فقد أوضحت دراسة **(1989 ., Single and Pathak** أن للمستخلص الكحولي لهذا النوع خصائص كمضاد للالتهابات **Anti-inflammatory** ، مسكن للألم **Analgesic** ، تخثر الدم (لإيقاف النزيف) ، فضلا عن خصائص التئام الجروح **Wound healing** .

أيضا أوضح **(2012 ., Rauf *et.al*)** قدرة مضادات الأكسدة القصوى لـ ***E.prostrata*** تدعم بقوة استخدام هذا النبات لعدة حالات مثل الحمى **Fever** ، تنقية الدم **Blood purifier** وكمضاد للإلتهابات وحتى كمضاد حيوي **antibiotic** .

وأدلت نتائج **(Husnain *etal.*, 2013)** أن الجنس ***E.prostrata*** نبات واعدً **Promising plant** لكل من المعالجة النباتية والامتصاص الحيوي للمعادن الثقيلة . وأشادت دراسة **Mbaya *et al.* (2016)** ودراسة **(Prabha and Rayan ., 2018a)** الى الأهمية الطبية للنوع ***E.prostrata*** فقد أعتبر هذا النوع نباتا طبيا في النظام الطبي الهندي وقد أستخدم في معالجة عدة أمراض منها أمراض الجلد ، الجهاز الهضمي ، مضاد للربو **anti-asthmatic** وكمضاد لمرض السكري **anti-diabetic** . كذلك أستخدم في علاج قرحة العين **anti-cysore** .

ذكر أيضا **(Prabha and Rayan .,2018)** في دراسة ثانية أن للمستخلص الكحولي الايثانولي **Ethanolic extract** فعالية قوية كمضاد أكسدة أنزيمي

Enzymetic antioxidant activity . في حين لاحظ (**Zahid .,2019**)الفعالية القصوى لمستخلص النوع ***E.prostrata*** ضد الفطر ***Rhizopus oryzae*** عند التركيز **250 µG/ML** ، و أشار أيضا أن لمستخلص النوع ***E.prostrata*** تأثيرا إيجابيا ضد الفطر ***Aspergillus niger***. وتوصلت نتائج دراسة (**Ferdosi *etal.*,2021**) أن مستخلص ***E.prostrata*** **Ethyl acetate of** يحتوي على مركبات كيميائية ذات خصائص كمبيد للآفات ، مضادة للبكتريا ، في حين القليل منها تمتلك صفة مضادة للفطريات ، مضاد للنيماتودا **Nematicidal** وكذلك يمتلك صفة كمبيد للحشرات **Insecticidal**.

جدول **(2-1)** الأهمية الطبية (الفعالية البيولوجية) للنوعين قيد الدراسة خلال الدراسات السابقة .

***E. prostrata* Ait.**		
Pharmacological	Part of Plant	**Reference**
Mosquito , larvicide	Whole plant	Kumar *et al* . (2010) ; Rahuman *et al* . (2000) ; Yff *et al* (2002) .
Antioxidant and anti bacterial	Whole plant	Ahmad *et al* ., (2011) .
Phytotoxic activity	Whole plant	Khan *et al* . , (2012) .
Anti- inflammatory , analgesic, haemostatic (stops bleeding) , wound healing properties	Leaves	Qaisar *et al* ., (2012) .
Phtoremediation of heavy metals contamination in industrial waste water	Seeds	Husnain *et al*., (2013).
Synthesis of nanopartecles	Leaves	Zahir *et al* ., (2014) .
Antibacterial , antifungal	Whole plant	Ragasa *et al*. (2002) ; Hasan *et al* . (2014).
Nematicide , insectifuge	Whole plant	Kumar *et al* . (2010) ; Jung *et al* . (2015).
Insecticidal	Whole plant	Sultana et.al., (2016)
Antimicrobial	Whole plant	Sharma and Menghani (2017) .
Anti hemorrhoidal	Whole plant	Farooq *et al* ., (2017) .
-Antibacterial and anti fungal	Aerial parts	Dashamiri *et al* ., (2018) .
Antimicrobial and antiozidant	Leaves	Prabha and Rayan ., (2018) .
Treatment diseases of skin , digestive system , anti- asthmatic , anti- diabetic , treating eye canker , prepar antiseptic paste.	Leaves	Prabha and Rayan ., (2018) .
Anti – inflammatory and anti – arthritic	Leaves	Hariyadi and Sahu , (2020) .
Antibacterial	Whole plant	Casillas – Vargas *et al* . (2021)
***E. hypericifolia* L.**		
Antipyretic ، Astringent ، Emmenagogue ،diaphoretic	Whole plant	Shih-Huei and Ming-Jou, 2004)
Colic , diarrhea , dysentery .	Whole plant	Kumar and Intekhab ., (2015) .
Astringent , anti dysentric , anti leucorrhoeic .	Leaves	Kumar and Intekhab ., (2015) .
Gonorrhoea and Wounds treatment	Leaves or Whole plant	Mbaya et *al*., 2016
Antifungal , anti cancer , warts . sclerosis	Leaves	Perumal *et al* ., (2021) .
Gastrointestinal disorders , gonorrhoeaand menorrhagia .	Leaves and roots	Perumal *et al* ., (2021) .

2 -2 : الكيمياء النباتية Phytochemistry

أوضح (Kumar *etal.*, 2009) أن كلمة **Phyto** إغريقية الأصل بمعنى نبات **Plant** وبذلك فأن **Phytochemistry** تعني الكيمياء النباتية وبذلك فان **Phytochemicals** وهي جزيئات دفاعية ضد مختلف الأمراض والمركبات الكيميائية التي ينتجها النبات هي نواتج ثانوية لعمليات الأيض يستعملها لغرض ديمومة حياته او للحماية والدفاع ضد كائنات حية أخرى ، (Harborne , 1973) . تتواجد هذه النواتج الطبيعة في الفواكه والخضروات والتي تُظهر إمكانية تعديل أو تحوير التمثيل الغذائي البشري بطريقة مفيدة لمنع الأمراض المزمنة والانتكاسية **Chronic and degenerative diseases** ، (Sandhar *et.al.* , 2011) .

وأوضح (Khan *et.al* ., 2011) أن **Phytochemicals** يكون توزيعها في النباتات غير منتظم (غير متماثل) ، إذ تختلف كماً ونوعاً من نبات لأخر ومن جزء لجزء . فالقلويدات **Alkaloids** مثلا عادة تتواجد بتراكيز منخفضة في الأجزاء الخضرية مقارنة بالمركبات الفينولية **Phenolic compounds** ، وتتواجد بتراكيز أكثر في الجذور والبذور والثمار مقارنة بالأوراق .

وقد أشار (Vaghasiya *et.al.*, 2011) أن العديد من هذه الجزيئات البيولوجية هي أدوية عالية المستوى ولذلك تسمى النباتات أحيانًا بالمصانع الخضراء **Green Factories**. ونظرا لكثرة المركبات الكيميائية والتي يتزايد إكتشافها في النباتات خاصة بعد إجراء طرق التحليل الكيميائي المتعددة ، لذا لابد من إجراء الكشف عن هذه المركبات لما لها أهمية في حياة الأنسان وكذلك الحيوان وذلك بالاعتماد على أجهزة التحليل الكروماتوغرافي **Chromatography** لتصنيف مختلف المركبات الكيميائية وإمكانية إثبات تواجدها في نبات دون الأخر وعلى أساسها يتم تصنيف النباتات الزهرية **(Harborne and Turner, 1984)**.

وقد أكدت دراسات عدة أن المركبات الفينولية تشغل القسم الأكبر في حقل المنتجات الطبيعية وذلك لتباين هيكلها البنائي ، ولاسيما الفلافونويدات **Flavonoids** والتي يكثر تواجدها في مختلف الأجزاء النباتية من الأوراق والأزهار والبراعم **(Noori, 2002)** ، إذ تتواجد الفلافونويدات كصبغات لها دور بارز في بيئة النبات لما لها من دور بجعل الأزهار والثمار جذابة لجذب الحشرات والطيور . فضلاً عن ذلك سهولة فصل المركبات الفينولية **(Samuel and Luchsinger, 1978)** . وقد أوضح **Andersen and Markham (2006)** أن الفلافونويدات تنتشر بصورة حرة أو على هيئة **Glycosides** ذائبة في الماء ، إذ ترتبط مجموعة فينولية مع سكر أحادي **Monosaccharides** أو سكر ثنائي **Disaccharides** وبعد تحلل السكر تسمى تلك المركبات بالشق الأكلايكوني **Aglycones** .

فمن الناحية الكيميائية حُظيت العائلة السوسبية **Euphorbiaceae** بإهتمام الباحثين لدراسة المحتوى الكيميائي لأفراد العائلة . أوضح **Salatino *et.al.* (2007)** أن العائلة السوسبية تُقدم تنوعا واسعا من مواد الأيض الثانوية **Metabolites** ، منها القلويدات **Alkaloids** ، **Triterpenoids (c and O-glycosides)** ، **Flavonoids** ، **Diterpenoids** ، **Tannins** و **Pepides (cyclia and linear)** . **(Salatino *et.al.*, 2007 ; Refahy ,L.A.G. 2011 ; Sabandar *et.al.*, 2013)** ، فضلا عن ذلك امتازت العائلة السوسبية بأن العديد من أفرادها تحوي مادة الحليب **Latex** والذي وُصف على أنه (خليط معقد من الببتيدات **Peptides** ، **Amino acids** ، **diterpenoids** ، **triterpenoids** ، **enzymes** ومركبات أخرى) **(Seigler , 1994)** . أشار أيضاً **(Mishar and Parida , 2020)** أن أقصى أنتاج لمادة الحليب **Latex** من أفراد العائلة السوسبية **Euphorbiaceae** .

فيما يخص الجنس ***Euphorbia* L.** ، أوضح **Noori *et.al*. (2009)** أن أكثر المركبات الكيميائية المعزولة من جنس ***Euphorbia* L.** هي الفلافونويدات **Flavonoids** وجرى فصل **اربعة** أنواع من الفلافونويدات من أنواع مختلفة من الجنس **هي , Rutin, Quercetin, Kaemferol) Myricetin)** . وضمن الدراسات البحثية في العراق دراسة (**الصليبي** ، **2015**) وكانت نتائج الدراسة بفصل **اربعة** أنواع من الفلافونويدات من أنواع مختلفة من الجنس ***Euphorbia* L.** ، أضافة لكثرة التربينات الثلاثية **Triterpens** في أنواع الجنس ***Euphorbia* L.** ، والتي هي ذات فاعلية عالية ضد الالتهابات وكمضادات أكسدة ومضادات للسموم والميكروبات والأمراض المعوية .

وفي دراسة اجراهاكلا من **(Prabha and Rayan., 2018**) تحليلا كيميائيا للمستخلص الأيثانولي لأوراق النوع ***E.prostrata*** فقد سجل **9** مركبات كيميائية .أيضا أظهرت دراسة **Ferdosi *et.al* (2021)** تحليل مستخلص النبات الكامل للنوع ***E.prostrate*** باستخدام المذيب **Ethyl acetate** الى وجود **19** مركبا كيميائيا من ضمنها **9** مركبات أساسية تمتلك خصائص كمبيدات ، وعلى الأغلب كمضادات بكتيرية . كما أجرى **Perumal *et.al* (2021)** تحليل كيميائي بطريقة **GC MS** لأوراق وجذور النوع ***E. hypericifolia*** وكشفت الدراسة عن بعض المركبات الكيميائية المهمة لهذا النوع .

2- 3 : أهمية تقنية GC-MS .

Importance of GC-MS (Gas Chromatography-Mass Spectrometry) technology

كروماتوغرافيا الغاز – قياس الطيف الكتلي **(GC-MS)** هي تقنية تحليلية موصولة تجمع بين خصائص الفصل بين كروماتوغرافيا الغاز والسائل مع ميزة الكشف عن قياس الطيف الكتلي لتشخيص وتحديد المواد المختلفة داخل عينة الاختبار. يستخدم **GC** لفصل المواد المتطايرة

والمستقرة حرارياً في العينة ، في حين يقوم **GC-MS** بتقسيم المادة التحليلية التي سيتم تحديدها (أو لتكون مشخصة) على أساس كتلتها. أكتشفت لأول مرة عام **1940** . **(Sahil *et.al*, 2011)** .

GC-MS تقنية متقدمة لا يمكن مقارنتها مع غيرها من الأجهزة التحليلية الحديثة . فيها نطاق واسع من التطبيقات التي تلبي إحتياجات البحث الأكاديمي ومراقبة الجودة وكذلك التطبيقات الصناعية. يعطي نظامها الآلي المختصر والفعال نتائج سريعة وقابلة للتكرار وفعالة تؤدي دورًا رئيسيًا في تقدم العلوم والتكنولوجيا. كما أكد **Jackie *et.al* (2020)** أن **GC** المقترن بـ **MS** تقنية قوية وطريقة مفضلة لتحليل الجزيئات الصغيرة والمتطايرة. عُرفت هذه التقنية بقدرتها على تحليل المركب غير المعروف والكمي متعدد المكونات . وقد استخدمت هذه التقنية **GC-MS** حصريًا لتحليل الإسترات ، والأحماض الدهنية ، والكحوليات ، والألدهيدات ، والتربينات ، وغيرها من المركبات. كذلك تستخدم تقنية **GC-MS** لاكتشاف وقياس الملوثات في الطعام ، والزيت ومواد أخرى .

أيضا استخدمت التقنية في التحليل الحيوي للدم والبول لوجود المخدرات والكحول والمذيبات المتبقية والعقاقير مثل التخدير ومضادات الاختلاج ومضادات الهيستامين والعقاقير المضادة للصرع والمهدئات المنومة والمخدرات والمواد الغذائية .واستخدامت هذه التقنية لتحديد خصائص الأحماض الدهنية في الميكروبات ، ووجود المنشطات الحرة ، وملوثات الدم ، ونواتج الأيض في مصل الدم ، والمبيدات العضوية المكلورة في مياه النهر ، ومياه الشرب ، والمشروبات الغازية ، ومبيدات الآفات في زيت عباد الشمس ، وغيرها . **(Chauhan *et.a*l, 2014)** .

4-2 : مضادات الأكسدة Antioxidants

هي مواد تُعد كاسحة للجذور الحرة **Radical Scavengers** تجهز حماية لجسم الأنسان ضد الجذور الحرة ، من خلال تثبيط العديد من التفاعلات المؤكسدة ، **(Rauf *et.al.*, 2012)** . أي أن (مضادات الأكسدة) هي الجزيئات التي تمنع الضرر الخلوي الناجم عن أكسدة الجزيئات الأخرى. والأكسدة **Oxidation** تفاعل كيميائي ينقل الإلكترونات من جزيء واحد إلى عامل مؤكسد **an oxidizing agent** . ومن المعروف أن تفاعلات الأكسدة هي التي تنتج الجذور الحرة **Free radicals** وهذه الجذور الحرة هي أنواع شديدة التفاعل لإحتواءها على واحد أو أكثر من الإلكترونات غير المزدوجة في غلافها الخارجي. ويسبب تراكم الجذور الحرة في الجسم حالة الإجهاد التأكسدي والتي قد تتلف خلايا الجسم وتؤدي الى أمراض مزمنة .

فمضادات الأكسدة **Antioxidants** تتفاعل مع هذه الجذور الحرة وتنهي هذا التفاعل المتسلسل عن طريق إزالة وسائط الجذور الحرة وتمنع تفاعلات الأكسدة الأخرى عن طريق أكسدة نفسها . **(Pal *et.al.*, 2014)** . وتوجد مضادات الأكسدة في جسم الكائن الحي بشكل أنزيمات أو مرافقات الأنزيم **Co-Enzyme** وكذلك كمركبات تحتوي على عنصر الكبريت المختزل كما في **Glutathione** ، فضلاً عن ذلك توجد مضادات الأكسدة بصورة طبيعية في الفواكه والخضراوات والحبوب ، والتي لها دور فعّال في حماية الجسم من غزو الجراثيم والقضاء عليها . **(Rice-Evans, *et.al.*, 2001)** . وأشار **Rauf *et. al.* (2012)** أن أغلب مركبات مضادات الأكسدة في الغذاء النموذجي مشتقة من مصادر نباتية وتنتمي الى أصناف متنوعة من المركبات ذات تنوع واسع من الخصائص الفيزيائية والكيميائية . و قد قُسمت مضادات الأكسدة الى صنفين أساسيين أعتماداً على مصدرها **Their source (Pal *et.al.*, 2014)** الى :

❖ **أولا : Natural Antioxidants :** : مضادات الأكسدة الطبيعية: إما أن يتم تصنيعها في جسم الإنسان من خلال عملية التمثيل الغذائي أو يتم استكمالها من مصادر طبيعية أخرى ، ويعتمد نشاطها إلى حد كبير على خصائصها الفيزيائية والكيميائية وآلية عملها. وقد قُسمت الى نوعين : مضادات الأكسدة الأنزيمية ومضادات الأكسدة غير الأنزيمية.

1 : Enzymatic Antioxidants : مضادات الأكسدة الأنزيمية : وهي الأنزيمات المصنعة أو المنتجة داخل جسم الأنسان ، ولها الدور الأساسي في حماية الخلية من الإجهاد التأكسدي ، **(Keïta , 2002)** والتي قُسمت الى نوعين :

❖ **Primary antioxidant** : مضادات الأكسدة الأولية: تتمثل بأنزيم **Superoxide Dismutase (SOD) , Catalase (CAT) , Glutathion peroxidase (GPx).**

❖ **Secondary Antioxidant** : مضادات الأكسدة الثانوية : تتضمن : **Glutathion reductase (GR) and glucose-6-phosphate (G6PDH).**

2 : Non-Enzymatic Antioxidants : مضادات الأكسدة غير الأنزيمية : وهي صنف من مضادات الأكسدة والتي لاتوجد بشكل طبيعي في الجسم ولكن يلزم تكميلها من أجل الحصول على تمثيل غذائي مناسب . **(Raygani *et al.* , 2007)** . من مضادات الأكسدة غير الأنزيمية :

❖ **Minerals :** المعادن : ضرورية لخلايا الجسم من أجل الأداء السليم لعمل لأنزيمات ، إذ إن غيابها يؤثر على عملية التمثيل الغذائي للعديد من الجزيئات الكبيرة . تشمل معدن السيلينيوم ، النحاس ، الحديد ، الزنك والمنغنيز. وهي كعوامل مساعدة لمضادات الأكسدة الأنزيمية .

❖ **Vitamins :** الفيتامينات : تشكل الفيتامينات صنف من المغذيات الدقيقة والضرورية للعمل السليم لنظام إنزيم مضادات الأكسدة في الجسم ، منها فيتامين أ وفيتامين ج وفيتامين هـ وفيتامين ب.

❖ **Carotenoid** : كاروتينويد : والتي منها **β-carotene, lycopene, lutein, and zeaxanthin.**) وهي مركبات ملونة ذائبة في الدهون توجد في الفواكه والخضروات. ولكل

منها دور فعال في حماية الجسم من عمل الجذور الحرة **Free Radicals** . ومن الجدير بالذكر دور اليوتين **lutein** في حماية شبكية العين من التأثير الضار للجذور الحرة كما يمنع تصلب الشرايين **atherosclerosis** . **(Sikora *et al*., 2008).**

❖ **Polyphenols :** صنف من المواد الكيميائية النباتية ، تمتلك أنشطة ملحوظة كمضادات للأكسدة . تعتمد أنشطتها على خصائصها الكيميائية والفيزيائية والتي بدورها تنظم عملية التمثيل الغذائي اعتمادًا على هياكلها الجزيئية ، منها **phenolic acids, flavonoids, gingerol, curcumin (Ajila , *et al.* , 2011)** .

تُعتبر **Flavonoid** الصنف الرئيسي من **Polyphenols** يكثر تواجدها في الخضراوات والفواكه والحبوب والبذور والأوراق والأزهار واللحاء . فضلاً عن دور **gingerol** و **curcumin** كمضادات أكسدة .

أضافة لما تقدم هنالك العديد من مضادات الأكسدة غير الأنزيمية أخرى لها دور في حماية خلايا الجسم منها :

- **Acide Aliagique :** وهي أحد المواد المضادة للأكسدة متواجدة في العنب والفراولة والتوت البري ، تساعد في حماية الحامض النووي بخلايا الجسم من نفاذ الجذور الحرة عبر جدران الخلية .
- **Acide Lipoique :** يُعتبر هذا الحامض أحد أهم مضادات الأكسدة ، يساعد في حماية كل خلايا الجسم ، كما يحافظ على الجهاز العصبي ومساعدة الكبد في أداء وظائفه ، وذلك نظرا لكونه يذوب في الدهون والماء .

❖ **ثانيا : Synthetic Antioxidants** : مضادات الأكسدة الصناعية : تُصنع أو تُنتج باستخدام تقنيات مختلفة. وهي في الأساس مركبات بوليفينوليك **polyphenolic compounds** تلتقط الجذور الحرة وتوقف التفاعلات المتسلسلة **Chain reactions**. كما أن مشتقات **Polyphenolic derivatives** تحتوي على أكثر من مجموعة واحدة من **hydroxyl or methoxy group** . **(Pal *et.al.*, 2014)** . تم تصنيع مضادات الأكسدة نظراً لكون الطبيعية منها والمتكونة داخل الخلايا غير كافية . مثلا تم إضافة بعض من مواد الأكسدة المصنعة

الى الأغذية لمنع أكسدة مكوناتها من البروتينات والدهون ، منها مادة **Butylylated Hydroxytoluene (BHT)** .

عدة دراسات اشارت الى الفعالية البايلوجية لأنواع الجنس ***Euphorbia* L.** كمضاد أكسدة . فقد دُرست الفعالية المضادة للأكسدة لمستخلص النوع ***E.prostrata*** من قبل **Rauf *et.al* (2012)** بإستخدام مذيبات مختلفة ، ولاحظ أن أقصى تأثير مضاد أكسدة عند المذيب **Ethyl acetate** بنسبة **97.10%** و **96.88%** مع المذيب الميثانولي و **90.55%** مع المذيب **Chloroform** . كما أكد **(Prabha and Rayan 2018b)** أن للمستخلص الايثانولي لأوراق النوع ***E.prostrata*** تأثيرا جيدا كمضاد أكسدة .

2- 5 : الفطريات الممرضة المدروسة Pathogenic Fungi

2- 5- 1 : الفطر *Alternaria altarnata*

هو أحد الفطريات الرمية التغذية والتي تستمد طاقتها من النشاط الخلوي. ينمو بشكل مستعمرات خيطية ، رمادية ، بنية داكنه – سوداء اللون . ينمو بسرعة في وسط البطاطا **(PDA)** وكذلك وسط مستخلص الشعير **(MEA)** . **Conidiophores** مفردة أو في مجموعات صغيرة ، مستقيمة أو منحنية **(Lopez and Cabral , 1999)** .

يسبب الفطر ***A. alternata*** بقع سوداء على العديد من الفواكه والخضراوات . اذ أنه فطر كامن يتطور أثناء التخزين البارد للفاكهه ويسبب خسائر كبيرة بعد الحصاد. **(Rojas and Hernández , 2014)** .

ينتشر الفطر بشكل شائع في أنسجة النبات المتحللة وفي التربة ، كذلك في بيئة الانسان والحيوان وبشكل كبير في انظمة تكييف الهواء وعينات الغبار البيئية **(Patriarca, 2016).**

بعض انواع الجنس (انتهازية) تسبب امراض نباتية والتي تشكل مجتمعة مجموعة من الامراض التي لها تأثير اقتصادي على مجموعة متنوعة وكبيرة من النباتات الزراعية المضيفة المهمة بما في ذلك المحاصيل الزيتية والحبوب ونباتات الزينة ، اذ يتميز الفطر ***Alternaria*** بإفراز العديد من السموم الفطرية عند نموه على مواد مختلفة وتلك السموم تسبب أمراض على النباتات الحية وقد تسبب إضطرابات صحيه للإنسان والحيوان إذ أن سبورات الفطر من أكثر مسببات الحساسية المحمولة بالهواء **(Thomma, 2003)** .

عادة ما تحدث عدوى ***Alternaria*** على سيقان واوراق النبات المضيف واحيانا تؤدي الى تساقط الاوراق مما يقلل من امكانية عملية التمثيل الضوئي وإنتاج المحاصيل كما هو الحال في الكمثرى والتفاح (**Schiro *et al* ., 2018**) . كذلك الفطريات تدخل الى انسجة المضيف من خلال الفتحات مثل العديسات والثغور كذلك من خلال الطبقة الطلائية السليمة عن طريق تكوين انابيب النمو **(Ewekeye *et al*. ,2013) .**

2- 5- 2 : الفطر ***Fusarium solani***

الجنس ***Fusarium*** من الاجناس الفطرية ذات الاهمية الاقتصادية إذ يضم العديد من الانواع الممرضة للإنسان والحيوان والنبات، ينتشر في مناطق مختلفة من العالم خاصة في الترب الحقلية وكذلك في البقايا النباتية **(Rheeder *et al* ., 1990)** ، حيث يعيش داخل الانسجة النباتية او بصورة رمية **(Zeller *et al* ., 2003) .**

أمتاز هذا الفطر بمداه العائلي الواسع إذ يسبب ولمختلف المحاصيل الحقلية العديد من الامراض منها الذبول الوعائي وموت البادرات (كاظم والجنابي ، ٢٠١٣; جرجيس واخرون ،

١٩٩٢)، و بسبب تواجد هذه الفطريات في الترب الزراعية وحتى غير الزراعية فأنها تسبب عفن الجذور لمجموعة متنوعة من المحاصيل الحقلية والخضروات **(Abu-Talb *et al* ., 2011) .**

كذلك بعض أنواع الجنس تسبب مرض عفن الساق والجذر ومرض ذبول الاوراق **(Kraft and Pfleger., 2001) .** أيضا تسبب سموم هذا الفطر امراض خطيرة للإنسان كسرطان المريء**(Chu and Li , 1994)** ومشاكل في الجهاز العصبي للأطفال حديثي الولادة **(Reidet *et al* ., 1999)**

وقد امتاز الفطر ***F.solani*** بخصائص مظهرية ومجهرية خاصة ، منها صفات الغزل الفطري (اللون وسرعة النمو) كذلك وجود الابواغ الكونيدية الصغيرة **Microconidia** والكبيرة **Macroconidia** إضافة الى شكلها وحجمها (. ينتج الفطر مستعمرات بيضاء ، متفرقة ولزجة . ينمو بسرعة على الوسط **(PDA)** ولكن ليس بسرعة نمو الفطر ***F.oxysporium*** **(Nelson *et al* ., 1983)** . يرتبط الفطر ***F.solani*** بجذور النباتات ، يمتد الفطر الى عمق في الأرض يصل الى **80** سم ، لا يؤثر الرقم الهيدروجيني للتربة بشكل كبير على ***F.solani*** . سجل نمو الفطر في البرك و الأنهار. أيضا الفطر ***F.solani*** مرتبط بأمراض عدة للإنسان منها أمراض العظم والنقي والأمراض الجلدية وفطريات الدم . و أيضًا سبب رئيسي لالتهاب القرنية الفطري في المرضى المصابين بفيروس نقص المناعة البشرية **(Palanisamy *et.al*, 2011) .**

2- 6 : البكتريا الممرضة المدروسة Pathogenic bacteria

البكتريا هي كائنات حية دقيقة بسيطة التركيب تختلف في اشكالها واحجامها ، وحيدة الخلية تعتبر من بدائيات النواة **(Procaryotic)** . توجد البكتريا في جميع البيئات المختلفة في الهواء والماء والتربة اذ تلعب دوراً مهما في دورات الحياة على سطح الكرة الارضية ، صُنفت البكتريا الى تصنيفات عدة حيث قسمت حسب تركيب جدارها الى بكتريا سالبة لصبغة كرام وبكتريا موجبة

لصبغة كرام ، وقسمت أيضا تبعا لضراوتها الى بكتريا ممرضة وانتهازية وبيئية وتعتبر البكتريا الممرضة أكثر أنواع الكائنات الحية ضراوة وضررا للإنسان اذ سببت الكثير من الامراض التي ادت الى حدوث الكوارث والاوبئة على مر التاريخ وتختلف البكتريا الممرضة فيما بينها في مقدار ضراوتها حسب عوامل الضراوة التي تمتلكها وحسب قدرتها على تخطي دفاعات المضيف وكذلك قدرتها على مقاومة المضادات الحيوية ومن اهم الاجناس للبكتريا الممرضة والتي تعتبر مقاومة للعديد من المضادات الحيوية هي الزائفة الزنجارية (***Pseudomonas aeruginosa***) والمكورات العنقودية الذهبية (***Staphylococcus aureus***) والمكورات العقدية (***Streptococcus viridans***) وغيرها **(Millogo, H., 2000)** .

2- 6-1 : بكتريا الزوائف الزنجارية ***Pseudomonas aeruginosa***

هي بكتريا انتهازية تنتمي الى عائلة ***Pseudomonadaceae*** سالبة لصبغة گرام ، هوائية ، على شكل قضيب . وهي كائن حي دقيق يتواجد في كل مكان تقريبا بسبب التنوع في النواتج الايضية إذ يمكن أن تستعمر عدة مصادر حية مثل النبات ، الحيوان والانسان **(Silby *et al*., 2011 ; Gellatly and Hancock ., 2013 ; Moradali *et al* ., 2017)** .

إضافة لتواجدها في التربة والمياه ، تتواجد أيضا في السوائل المخاطية للأنف والمجاري التنفسية والبولية والتناسلية ، وتعتبر المسؤولة عن إحداث إصابات تعفنيه خطيرة خاصة في الاوساط الجراحية . كما يعمل هذا النوع من البكتريا بإفراز عدد غير قليل من السموم والانزيمات منها **(Phospholipase , Intrrotoxine)** . **(Qrnston *et al* ., 1995)** . تمتاز بمقاومتها لمجموعة متنوعة من المضادات الحيوية للميكروبات **(Choudhury *et al* ., 2016)**.

2- 6- 2 : بكتريا المتقلبة الشائعة *Proteus vulgaris*

مجموعة البكتريا **(Proteus)** تم وصفها منذ اكثر من **100** عام . امتازت بإمتلاكها مورفولوجيا متعددة الاشكال مع قدرتها على الاحتشاد على الاوساط الصلبة **Hausar)** **., 1885)**

P.vulgaris بكتريا سالبة الصبغة ، انتهازية ، ممرضة ، تنتمي الى (***Enterobacteriaceae***) تظهر على شكل عصيات تنتمي الى مجموعة البكتريا المعوية تتواجد في الغالب في براز الانسان بأعداد قليلة (**Haenel and Dawidowsk, 1961).** النوع ***Proteus vulgaris*** المسبب الشائع لعدوى المسالك البولية ولكنه ليس من مسببات الامراض في المستشفيات .

2- 6- 3 : المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus*

بكتريا موجبة الصبغة تنتمي الى عائلة **Microccaceae** ، تتجمع مستعمراتها بعد الحضن الهوائي على هيئة عناقيد دائرية ناعمة ، مرتفعة ولماعة ، درجة الحرارة المثلى للنمو هي **37** مº و مقدار **PH 7.4-7.6 (2009 *et.al,* Akroum)** . في الغالب هي موجودة على الجلد والغدد الجلدية وفي الاغشية المخاطية للحيوانات ذات الدم الحار كذلك على الكثير من المواد الغذائية **(Ajaiyeoba,E.,2002)**. تعتبر بكتريا ***S.aureus*** من الكائنات المجهرية المتميزة بقدرتها على إنتاج العديد من عوامل الضراوة التي تمكنها من دخول الجسم والقدرة على توليد الاصابة ومقاومة الكثير من المضادات الحيوية **.(Humphrets, H. ,1997).**

2- 6- 4 : المكورات العقدية *Streptococcus Viridans*

بكتريا موجبة الصبغة كروية الشكل **(coccal)** ،مصطلح **(Viridans)** مشتق من الكلمة اللاتينية**(Viridis)** وتعني الاخضر لأنها تنتج صبغة خضراء على لوحات اكار الدم لذلك يطلق عليها مجموعة العقديات المخضرة **(VGS)** ، تعيش في تجويف الفم وفي الجهاز الهضمي والمسالك البولية حيث تسبب التهابات شديدة **(Shenep,2000 ; . Lucas *et al.*, 2000)**

CHAPTER THREE : الفصل الثالث

MATERIAL AND METHODS المواد وطرائق العمل

3–1 : المواد Materials

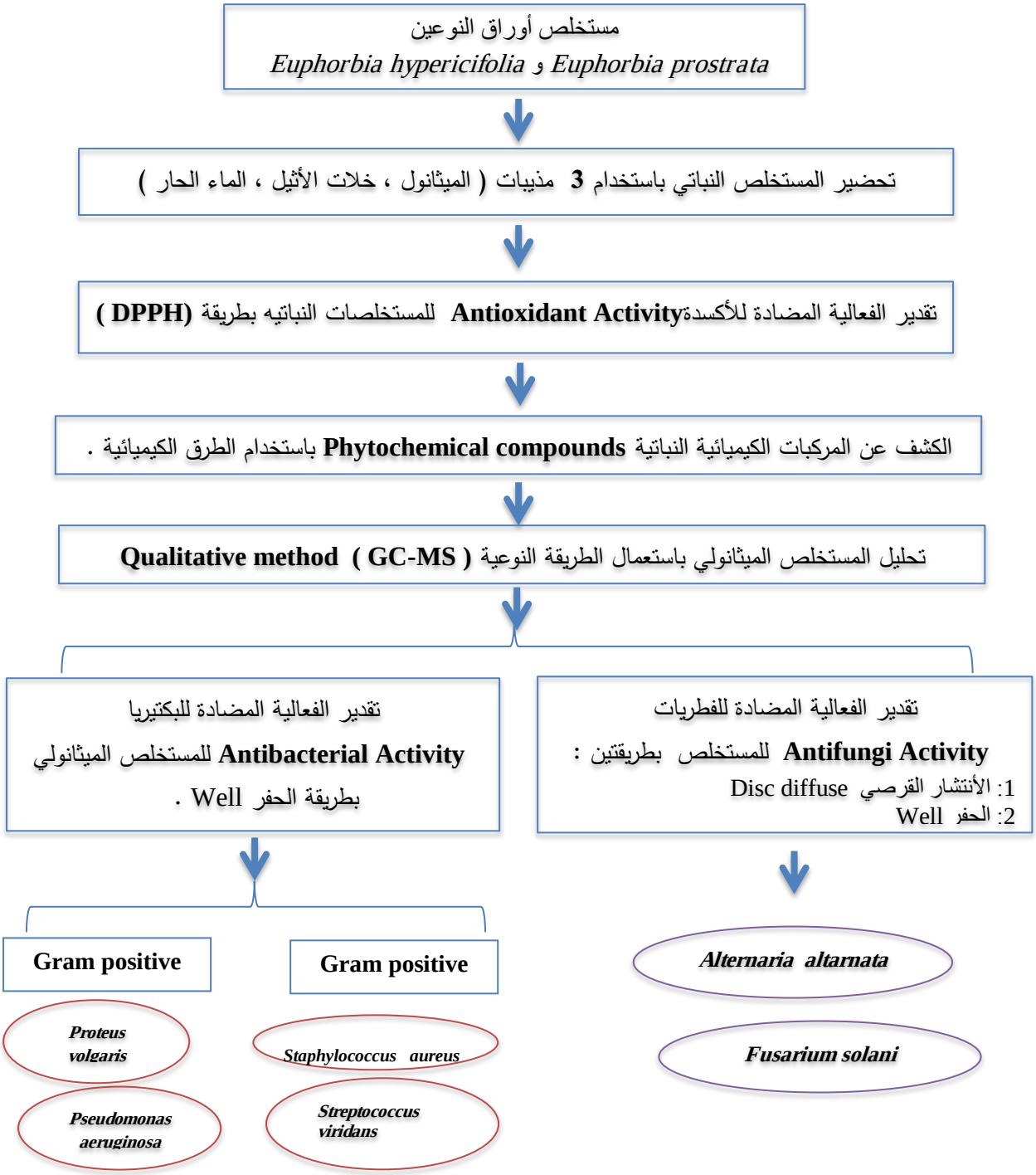
3-1-1 : الأجهزة والمعدات المستخدمة في الدراسة وبلد المنشأ.

No.	أسم الجهاز (Instrument or tool)		الشركة المصنعة (المنشأ) Company (Country) Company
.1	أطباق بتري بلاستيكية	Plastic petri dishs	China
.2	انابيب اختبار	Pale tube	China
.3	أنابيب دقيقة	Micro pipettes	Ependroff (USA)
.4	المؤصدة	Autoclave	Jeiotech (Korea)
.5	ثاقب فليني	Cork Borer	China
.6	ثلاجة	Refrigerator	Concord (Lebanon)
.7	دوارق زجاجية	Glass flasks	China
.8	حاضنة كهربائية	Incubator	Memmert (Germany)
.9	حجيرة تلقيح	Hood	Techne –UK
.10	حمام مائي	Water path	Tafesa (Germany)
.11	حمام مائي هزاز	Shaker Water path	Memmert (Germany)
.12	جهاز تبخير دوار	Rotary evaporator	Memmert (Germany)
.13	جهاز الطرد المركزي	Centrifuge	Harm (Germany)
.14	خلاط كهربائي	blender	National
.15	خلاط كهربائي	Vortex mixture	Memmert (Germany)
.16	فرن كهربائي	Oven Electric	Memmert (Germany)
.17	فلتر تعقيم	Syring Filter Diameter(30) mm	China
.18	قمع ترشيح	Filter funnel	Germany \ Glassco
.19	مازج مغناطيسي	Magnatic stirrer	Iraq
.20	مجهر كهربائي مركب	Compound microscope	Optica (Italy)
.21	مقياس الطيف الكتلي لكروماتوغرافيا الغاز	GC-MS	Agilent 7890 GC coupled to Agilent 975C MSD (USA)
.22	مطياف ضوئي	Spectrophotometer	Germany
.23	ميزان حساس	Sensetive Balance	Sartorious (U.K.)
.24	ميزان كهربائي	Electric balance	Iraq
.25	ورق ترشيح	Filter paper	Whatman

3-1-2 : المواد الكيميائية والبايلوجية Chemical and Biological Materials

No.	أسم المادة (Chemicals)		الشركة المصنعة (المنشأ) Company (Country) Company
.1	أيوديد البوتاسيوم	Potassium Iodide	(BDH)England
.2	أيودين	Iodine	BDH (England)
.3	حامض البكريك	Picric acid	Himedia (India)
.4	حامض الخليك الثلجي	Glacial Acetic acid (CH3COH)	BDH (England)
.5	حامض الكبريتيك المركز	Sulforic acid (H_2 SO_4)	BDH (England)
.6	كحول ميثانولي مطلق	Methanol (CH_3 OH)	BDH (England)
.7	حامض الأسكوربك	Ascorbic acid	Sigma (USA)
.8	حامض الهيدروكلوريك	Hydrochloric acid (HCL)	BDH (England)
.9	خلات الاثيل	Ethyl acetate (C_4 H_8 O_2)	BDH (England)
.10	خلات الرصاص	Lead acetate	BDH (England)
.11	كحول أثيلي مطلق	Ethanol (C_2 H_5 OH)	BDH (England)
.12	كلوروفورم	Chloroform	BDH (England)
.13	كلوريد الحديديك	Ferric chloride ($FeCl_3$)	BDH (England)
.14	كلوريد الزئبقيك	Mercuric chloride ($HgCl_2$)	BDH (England)
15	هيدروكسيد الصوديوم	Sodium hydroxide (NaOH)	Sigma (USA)
.16	هيدروكسيد البوتاسيوم	Potassium hydroxide (KOH)	BDH (England)
17	محلول دارئي الفوسفات الملحي	Phosphate Buffer saline (PBS)	Sigma (USA)
. 18	2,2-Diphenyl- 1--picrylhydrazyl	DPPH (C18H12N5O6) 95%	(Alfa Aesar) JAPAN
.19	MHA	Muller-Hinton agar	Neogen (USA)
.20	MHB	Muller-Hinton Broth	Himedia (India)
.21	PDA	Potato dextrose agar medium	Himedia (India)

3-1-3 : تصميم الدراسة Study design



3-1-4 : تحضير الكواشف الكيميائية للكشف عن بعض المركبات الكيميائية .
Preparation of Chemical reagents for detection of some phytochemical compounds

١ : كاشف **Hager's reagent**

حُضر الكاشف بإذابة **1 gm** من **Picric acid** في **100 ml** من الماء المقطر . **(Tiwari , 2011) واستخدم لغرض الكشف عن القلويدات .**

2 : محلول دارئي الفوسفات الملحي **Phosphate Buffer Saline (PBS)**

حُضر المحلول بإذابة قرص من محلول دارئي الفوسفات الملحي **PH. 7.2** في **100 ml** من الماء المقطر اذ استخدم للكشف الكيميائي للمستخلص النباتي المائي (**Zheng-Mu *etal* ., 1990) .**

٣ : محلول كلوريد الزئبق **(Murica chloride 1%)**

حُضر من خلال إذابة **1gm** كلوريد الزئبق $Hg\ Cl_2$ في **99 ml** ماء مقطر (**Shihata, 1951).**

٤ : محلول كلوريد الحديديك **(Ferric chloride solution 1%)**

تم تحضيره بإذابة **1 gm** من كلوريد الحديديك $FeCl_2$ في **99 ml** ماء مقطر (**Harborne and Turner., 1984) .**

٥ : محلول خلات الرصاص **(Lead acetate solution 1%)**

حُضر بإذابة **1gm** من خلات الرصاص في **99 ml** من الماء المقطر **(Shami , 1982)** .

6 : الماء المحمض بحامض الهايدروكلوريك **(Acidic water by hydrochlorid acid 4%)**

حُضر من خلال إضافة **4 ml** من حامض الهيدروكلوريك **HCl** في **96 ml** من الماء المقطر **(Shihata, 1951).**

٧ : محلول هيدروكسيد الصوديوم **(Sodium hydroxide solution 1M)**

حُضر من خلال إذابة **4 g** من هيدروكسيد الصوديوم **NaOH** في **100 ml** من الماء المقطر **(Julia and Metcalf, 1986) .**

٨ : محلول هيدروكسيد البوتاسيوم **(Potassium hydroxide solution 5%)**

تم تحضيره بإذابة **5 gm** من هيدروكسيد البوتاسيوم **KOH** في **100 ml** من الماء المقطر **(Julia and Metcalf, 1986) .**

3-1 - 5 : الأوساط الغذائية (الزرعية) Culture Media

1 : وسط دكستروز اكار Potato Dextrose Agar

حُضر الوسط الغذائي **(PDA)** وفقا لتعليمات الشركة المصنعة **(Himedia)** بإذابة **39 gm.** من مسحوق البطاطا في **(1000) ml** من الماء المقطر ، استخدم الوسط الغذائي لغرض عزل وتشخيص وحفظ الفطريات كذلك اختبار الحساسية (**Collee *et al* ., 1996)** .

2 : الوسط الغذائي Muller – Hinton agar (MHA)

حُضر الوسط الغذائي **(MHA)** حسب تعليمات الشركة المصنعة (**Neogen)** من خلال اذابة **38 g.** من الوسط المغذي في **1L** من الماء المقطر ، أُستخدم هذا الوسط الغذائي لتنمية البكتريا وحفظها فضلا عن اختبار التضاد (لاختبار الحساسية ضد المضادات الحيوية(**. (MacFaddin, 2000**

3 : الوسط الغذائي Muller- Hinton Broth (MHB)

تم تحضير هذا الوسط حسب تعليمات الشركة المصنعة (**Himedia)** إذابة **.28gm** من الوسط في **.1 L** من الماء أستخدم هذا الوسط في التجارب العامة لتفعيل العزلات والزراعة البكتيرية **(MacFaddin , 2000)** .

عُقمت جميع الاوساط الغذائية بواسطة جهاز المؤصدة **(autoclave)** عند **C° 121** لمدة**15** دقيقة تحت ضغط **bar 15**، ترك المزيج ليبرد ثم اضيف اليه مضاد حيوي **(Cephalexin)** ضد النمو البكتيري **250 mg .**

3-1 - 6 : العزلات الفطرية والبكتيرية المستخدمة في الدراسة

1 : العزلات الفطرية Fungal isolaties

تـم الحصـول علـى عـزلات الفطـر ***Fusarium solani*** مـن جـذور نبـات الخيـار ***Cucumber sativum*** وعـزلات الفطـر ***Alternaria alternata*** مـن وحـدة الفطريـات والسـموم الفطريـة لقسـم علـوم الحيـاة / جامعـة بابـل و مختبـر وقايـة المحاصـيل الزراعية لكلية الزراعة / جامعة الكوفة .

2 : العزلات البكتيرية Bacterial isolaties

أُستخدمت أربعة عزلات بكتيرية ممرضة جاهزة ومشخصة مسبقا والتي تم الحصول عليها من مختبر الدراسات العليا / فرع الأحياء المجهرية / قسم علوم الحياة / كلية العلوم / جامعة بابل . أثنان من العزلات تنتمي الى البكتريا السالبة لصبغة كرام **(Gram-negative)** وأثنان ضمن مجموعة البكتريا الموجبة لصبغة كرام **(Gram-positive)** موضحة في الجدول أدناه .

جدول (3 - 3) مصادر العزلات البكتيرية المستخدمة في الدراسة

No.	السلالات البكتيرية المختبرة (Bacteria strains)	الصنف	مصدر العزلة
1	***Proteus vulgaris***	***Gram*** $^{-}$	مختبر الاحياء المجهرية/ كلية العلوم/ جامعة بابل
2	***Pseudomonas aeruginosa***	***Gram*** $^{-}$	
3	***Staphylococcus aureus***	***Gram*** $^{+}$	
4	***Streptpcoccus viridans***	***Gram*** $^{+}$	

جدول(3 – 4) انواع المضادات الحيوية المستخدمة في الدراسة

المضاد الحيوي	الرمز	التركيز unit /disc	الشركة المصنعة والمنشاء
Clindamycin	CM	2	Liofilchem (ITALY)
Gentamicin	G	10	Liofilchem (ITALY)
Vancomycin	VA	30	Bioanalyse (Turkey)
Ampicillin	AMP	10	Himedia (Turkey)

3- 2 : طرائق العمل Methods

3- 2 -1 : جمع العينات النباتية والتشخيص

Plant collection and identification :

جُمعت العينات النباتية الطرية(نبات كامل) للنوعين ***Euphorbia prostrata*** و ***Euphorbia hypericifolia*** للمدة من ٢٠٢٢/٦/١٧ ولغاية ٢٠٢٢/٧/٣ ، من محافظات بابل ،كربلاء، النجف ، وقد شُخصت الأنواع من قبل أ.م.د. شيماء محي حسون / كلية العلوم / جامعة بابل . وُضعت العينات بعلب كارتونية دُّون عليها اسم النبات، مكان الجمع، تاريخ الجمع. ثم أُجريت عملية الغسل للعينات بالماء الاعتيادي مرتين ثم بالماء المفلتر مرة واحدة ، بعدها وُضعت على ورق للتجفيف لمدة (٣-٥) أيام في الظل و في درجه حرارة الغرفة مع التقليب المستمر لمنع حدوث اي تعفن في أجزاء النبات للحصول على عينات جافه، بعدها طُحنت اوراق النبات بوساطة الطاحونة الكهربائية (**blender**) للحصول على مسحوق نباتي جاف ثم جُمعت بأكياس ورقية لحين الاستعمال (شنشيرن وجعفر ١٩٧٢) .

3- 2 -2 : تحضير المستخلص النباتي preparation of Plant extraction

حُضر المستخلص النباتي استنادا الى طريقة **(Akowauh *et.al*.,2004)** و **(Bazzano and Serdula , 2003)** مع بعض التحويرات وقد أُستخدم ثلاثة أنواع من المذيبات وهي الميثانول ، خلات الاثيل ، الماء الحار لغرض تحضير المستخلص النباتي .

A : المستخلص الكحولي **Alcoholic (methanolic) extract**

تمت عملية الاستخلاص على النحو الآتي :

1 : طُحنت الأوراق الجافة من النوعين ***E.prostrata*** ، ***E.hypericifolia*** باستخدام الطاحونة الكهربائية للحصول على الباودر .

2 : وُضع **80 gm.** من الاوراق الجافة المطحونة في دوارق حجمية **(1L)** في خليط هيدروكحولي مكون من (ماء ، ميثانول) **(50 / 50)ml** مع غلق فتحة الوعاء بورق الألمنيوم بأحكام لتفادي تبخر المزيج ولمنع الأكسدة الهوائية .

3 : وُضعت الدوارق في حمام المائي هزاز بدرجة **37** درجة مئوية لمدة نصف ساعة وبسرعة عالية .

4 : رُشحت المستخلصات على مرحلتين الأولى باستخدام الشاش الطبي والثانية باستعمال عدة طبقات من ورق الترشيح نوع **(1) Whatman** .

5 : أُخذ الراشح ووضع في جهاز الطرد المركزي بسرعة **2500 rpm** لمدة **(10)** دقائق.

6 : وُضع الراشح في طبق زجاجي نظيف ثم وُضع في الحاضنة بدرجة **٤٥** لمدة **٢-٥** يوم ليتم تجفيفه جيدا.

7 : قُشط المستخلص بعد جفافه بالكامل ثم حُفظ في أوعية نظيفة لحين الاستخدام .

B : مستخلص خلات الأثيل **Ethyl acetate extract**

تم تحضير المستخلص بنفس طريقة تحضير المستخلص الهيدروكحولي باستخدام المذيب خلات الأثيل .

C : مستخلص الماء الحار **Hot water extract**

أيضا، تم تحضير المستخلص بنفس طريقة تحضير المستخلص الهيدروكحولي باستخدام المذيب الماء الحار .

3- 2 - 3 : الكشف عن بعض المركبات الكيميائية النباتية
Detection of some phytochemical compounds :

1: الفلافونويد **Flavonoids**

تم الكشف بخلط **(10)** مل من الإيثانول تركيز **(50%)** مع **(10)** مل من مادة هيدروكسيد البوتاسيوم **KOH** و بنسبة **٥٠%** . ثم أضيف **(5)** مل من هذا المحلول الى **(50)** مل من المستخلص النباتي ، ظهور اللون الأصفر يشير الى وجود المركبات الفلافونويدية **.(Jaffer *et al*., 1983) .**

2 : التانينات **Tannines**

تم الكشف بإضافة بضع قطرات من **1%** خلات الرصاص الى **2ml** من المستخلص النباتي ، إذ لوحظ وجود راسب أصفر اللون دليل على وجود التانينات **. (Savithramma *et al*., 2011)**

3 : الستيرويدات والتربينات **Steroid and Terpenes**

خُلط **(2)** غم من المستخلص النباتي مع **(2)** مل من الكلوروفورم **($CHCl_3$)** ، ثم أُضيف قطرة من حامض الخليك الثلجي **glacial acetic acid** وبعناية وحذر أُضيف

قطــرة واحــدة مــن حــامض الكبريتيــك (H_2SO_4) . ظهــور اللــون البنــي كــدليل لوجــود التربينات **(Al-Maisary , 1999).**

4 : الصابونيات **Saponins**

خلط **1.5 ml** من المستخلص مع **1ml** الماء المغلي ، تُرك مدة ليبرد ثم عُرض إلى الاهتزاز السريع حتى تتكون رغوه ، تُرك لمدة ١٥-٢٠ دقيقة . استمرار تشكل الرغوة المتكونة دليل الى وجود الصابونيات والتي يزيد حجمها عن ٢ **cm.** **(Anyasor *et.al*, 2010)** .

:5 القلويدات **Alkaloids**

للكشف عن القلويدات أُستخدم كاشف **Hager's reagent** ، إذ دل ظهور اللون الأصفر على وجود القلويدات وذلك بإضافة بضع قطرات من الكاشف الى المستخلص .

6 : الكلايكوسيدات **Glycosides**

أُستخدم لهذا الغرض كاشف فهلنك . ولتحديد وجود الكلايكوسيدات خُلط حجم متساوي من كاشف فهلنك **(A)** [كبريتات النحاس في الماء المقطر] مع كاشف فهلنك **(B)** [ترترات البوتاسيوم و هيدروكسيد الصوديوم في الماء المقطر]. وتم الكشف بإضافة بضع قطرات من هذا الكاشف الى **5 ml** من المستخلص النباتي و سُخن الى درجة الغليان. وأثناء ذلك تكون راسب أحمر دلالة على وجود السكر **(Neelima *et al.* , 2011)** .

3- 2 - 4 :التحليل الكيميائي بوساطة Gas Chromatography –Mass Spectrum

مقياس الطيف الكتلي لكروماتوغرافيا الغاز– مطياف الكتلة **(GC-MS)** وهي أحدى التقنيات الحديثة المستخدمة لتحديد المكونات الكيميائية وخصائصها الموجودة في الخليط ، معرفة التركيب الكيميائي، الوزن الجزيئي من خلال استخدام طريقة تشغيل مناسبة تجمع بين كروماتوغَرافيا الغاز وكاشف الطيف الكتلي لمواد مختلفة ضمن عينة واحدة . **(Zhu *et.al,* 2021).**

- **أجراءات تحليل GC-MASS :**

قبل البدء بخطوات التحليل لابد من إجراء خطوة أساسية (غسل **Column** باستخدام الكحول الأثيلي لإزالة الشوائب العالقة سابقا ، كذلك للتعرف على قراءات هذه الشوائب كي يتم إهمالها) .

- حُضر المستخلص بإذابة **1gm** من أوراق كلا من النوعين ***E.prostrata*** و ***E.hypericifolia*** في **3 ml** كحول مثيلي.
- مُزج الخليط بواسطة جهاز **vortex** لمدة **(10)** دقيقة تحت سرعة rpm **3000** دورة / دقيقة.
- أُجريت عملية فلترة باستخدام **Millipore** بقطر .nm **0.20**.
- خُفف بنسبة **1-10** وأُخذ منه **1.5 ml** ووضع في **vials glass** .
- تم الفحص باستخدام كروماتوغَرافيا الغاز **Agilent 7890 A** ومقياس الطيف الكتلي **5975 C** تحت سيطرة **EV (70)** . العمود الشعري كان **HP-5MS) methyl silicone)** بطول **30 m** وقطر داخلي ٢٥٠ مايكرومتر وسمك **0.25** ميكرون .
- أُستخدم غاز الهيليوم كغاز ناقل وبمعدل تدفق ثابت **2ml** لكل دقيقة مع حجم حقن بلغ .1µL ودرجة حرارة حاقن بلغت ٢٥٠ درجة مئوية .
- بعدها تم المسح لمدة **18.5** دقيقة وبدرجة حرارة أولية للفرن **(50)** درجة مئوية لمدة **min (1)** ثم ارتفعت لتصل ٢٤٠ درجة، واستقرت عند أخر ٥ دقائق.(معدل زيادة درجة الحرارة داخل الفرن **15.2** درجة مئوية ولمدة **12.5** دقيقة .
- تم الكشف عن قمم **GC-MAS** بناءاً على كروماتوكَرافيا الأيونات السالبة **Total Ion Chromatogram (TIC)** وكروماتوغَرافيا الكتلة مع المركبات التي حُددت باستخدام

مكتبة الطيف الكتلي للمعهد الوطني للمعايير والتكنولوجيا . **(Hashim *et al.*, 2014)** **(NIST)** .

3- 2 - 5 : تقدير الفعالية المضادة للأكسدة Estimation of antioxidant activity

❖ اختبار فعالية الكسح الجذري **DPPH Radical scavenging activity test**

DPPH اختصار للمركب الكيميائي العضوي **(2, 2-diphenyl 1-picryl-hydrazyl)** مسحوق بلوري داكن اللون يتكون من جزيئات جذرية حرة ثابتة . **(Shimada *et.al*.,1992).** ويعتبر **DPPH** جذرا مستقرا ذو لون بنفسجي مسود ، يتغير لونه الى البنفسجي عند التحضير ، يصبح ذا لون أصفر باهت جدا عند التقاطه من طرف مضاد الأكسدة (اي عند التفاعل) ، أي أنه يتحول للشكل غير الجذري بعد تشبع الطبقة الإلكترونية . **(Acuna *et.al*, 2002)** .

قُدرت الفعالية المضادة للأكسدة لمستخلص أوراق النوعين قيد الدراسة باستعمال ثلاث مذيبات مختلفة **(50% methanolic aqueous ; Ethyl acetate and Hot water)** بتراكيز مختلفة **(200 , 100, 50, 25, 12.5, 6.25 and 3.12)** مايكروغرام \ مليلتر باستعمال طريقة **DPPH** وفقاً للطريقة الموصوفة من قبل **(Beiranvand *et al* ,2021)** مع بعض التحويرات ، على النحو التالي :

1: تم تحضير **0.1 mM** من محلول **DPPH** في الايثانول**Ethanole** .من هذا المحلول أُضيف **(1 ml)** الى **3 ml.** من مستخلصات مختلفة من أوراق النوعين ***E.prostrata*** و ***E.hypericifolia*** وعند تراكيز مختلفة **(200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25 and 3.12)** مايكروغرام\ مليلتر. وأجري الاختبار بعمل ثلاث مكررات .

2: تم رج الخليط بقوة ، ثم حُضنت العينات عند **37°C** لمدة ٣٠ دقيقة في مكان مظلم.

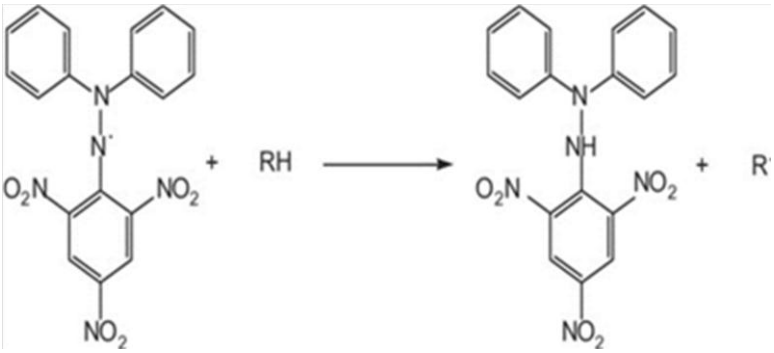
3: تم تحديد نشاط الكسح الجذري للعينات ضد جذر **DPPH** باستخدام مقياس الطيف الضوئي **UV- spectrophotometer** حيث تم قياس الامتصاصية عند الطول الموجي ٥١٧ نانومتر. وتم حساب النسبة المئوية لتأثير الكسح لـ **DPPH** باستخدام المعادلة التالية:

DPPH scavenging effect (%) or Percent inhibition = A0-A 1 / A0 × 100

A0 = امتصاصية تفاعل السيطرة (The Absorbance of control reaction) .

A1 = امتصاصية العينة القياسية (أي بوجود المستخلص) (the Absorbance in presence standard sample) .

- السيطرة السالبة **(Control)** تم باستعمال محلول **DPPH** المنحل في الإيثانول فقط .
- السيطرة الموجبة (**Ascorbic acid**) حُضر بنفس طريقة تحضير المستخلص النباتي وبنفس التركيز (للمقارنة) .
- يعتمد مبدأ عمل هذا الاختبار على قدرة هذه المستخلصات على تثبيط **50 %** من جذر **DPPH** وحُسبت من خلال منحنيات تغير نسبة التثبيط بدلالة تركيز المستخلصات والتي عبر عنها ب IC_{50} . فكلما كانت قيمة IC_{50} قليلة كانت فعالية المستخلص عالية (أي أن قيمة الفعالية المضادة للأكسدة بقراءة قيمة IC_{50} من خلال المنحنى والتي هي عبارة عن التركيز الموافق لتثبيط **50 %** من الجذر الحر .) .



شكل (1) : DPPH scavenging mechanisms (Dureja and Dhiman 2012)

3- 2 - 6 : تقدير الفعالية المضادة للميكروبات
Estimation of Antimicrobial activity

A : اختبار الفعالية المضادة للفطريات . Antifungi activity test

1: المحلول القياسي Stock solution

حُضر المحلول القياسي **(Stock Solution)** بتركيز **20 mg/ml** بإذابة**4 gm** من المستخلص النباتي في **200 ml** من الكحول المثيلي ومن خلال التخفيفات التسلسلية للمحلول المعياري تم تحضير تركيزات اخرى **mg/ml (15, 10, 5)** لاختبار التركيز الاقل تثبيطا. **(Li *et al.*,2012)** . علما أن تلك التراكيز قد حُضرت حسب القانون الآتي :

$$C1 \times V1 = C2 \times V2$$

2 : زرع العزلات الفطرية Culture of fungal isolates

زُرع الفطران على أطباق بتري معقمة تحوي الوسط الزرعي **PDA** ، عُقم بواسطة جهاز المؤصدة **(Autoclave)** عند درجة حرارة **121 C°** تحت ضغط **15 bar** لمدة **15** دقيقة ثم حُضنت عند **25 C°** لمدة **5** أيام في الحاضنة لأجراء الاختبار **Mohsen *et al.*, (2017)** .

3 : حفظ العزلة الفطرية Save of fungal isolation

سُكب الوسط الزرعي المعقم في أنابيب اختبار **(PlaneTube)** معقمة ووضعت بشكل مائل**(Slants)** لحين تصلب الاكار، حينها نُقلت عزلات الفطر في عدد من الانابيب تحوي على الوسط الغذائي **(PDA)** ، حُضنت عند **25 C°** لمدة **5** أيام إذ تم الاحتفاظ بها كعزلات نقية في الثلاجة عند درجة حرارة **4 C°** لحين الاستعمال المختبري .

4 : اختبار فاعلية تراكيز مختلفة من المستخلص الميثانولي للأوراق في تثبيط نمو الفطرين *Alternaria atrenata , Fusarium solani* .

A- النمو القرصي الشعاعي

أُجري خلال الدراسة معاملة الاطباق الحاوية على الوسط الزرعي بتراكيز مختلفة من المستخلص **(5 , 10, 15 ,20)** ملغرام / مليلتر بإضافة **1 ml** من كل تركيز الى ثلاثة أطباق مع مجانسة المستخلص ، مع ترك **6** أطباق بدون معاملة **(Control)** ثلاثة لكل فطر. لُقحت جميع الاطباق بأقراص قطر كل منها **10 mm** مأخوذا من حافة مستعمرة الفطر النامي على الوسط الغذائي **PDA** وبعمر **5** أيام بواقع **3** مكررات لكل تركيز. ثم حُضنت بدرجة حرارة **°C(25)** . بعد مرور **(7)** أيام تم قياس النمو القطري (الشعاعي) بأخذ قطرين متعامدين من ظهر المستعمرة يمران بمركز القرص (**فياض** ، ١٩٩٧) . بعد وصول النمو في معاملة السيطرة لحافة الطبق (اي بعد سبعة ايام من المعاملة) تم احتساب النسبة المئوية لتثبيط النمو الفطري تبعاً لمعادلة **(Abbott, 1925)** الواردة من قبل (شعبان والملاح ، ١٩٩٣) **:**

$$\text{نسبة التثبيط \%} = \frac{\text{معدل النمو القطري في معاملة السيطرة} - \text{معدل النمو القطري في معاملة تثبيط النمو}}{\text{معدل النمو القطري في معاملة السيطرة}} \times 100$$

B- طريقة الحفر (Well)

إستناداً الى طريقة **(Rakholiya and Chanda, 2012)** ، تم عمل (حُفر) على سطح الوسط الزرعي **(PDA)** بقطر **10 mm** ، مُلئت بالتراكيز التسلسلية **(20,15,10,5)** **ملغرام\مليلتر** من المستخلص الميثانولي لأحد النوعين قيد الدراسة. ثم تم زراعة قرص فطري بقطر **10 mm** في وسط الطبق ولثلاثة مكررات لكل تركيز، بعدها حُضنت الأطباق عند درجة حرارة **25 °C** لمدة **5-7** أيام . بعد مدة الحضانة أُجري قياس مناطق تثبيط النمو

الفطري حول (الحفر) وطُبقت معادلة نسبة التثبيط المئوية لحساب معدل تثبيط المستخلص للفطرين .

B : أختبار الفعالية المضادة للبكتريا Antibacterial activity test

1 : تحضير محلول McFarland's القياسي رقم 0.5 .

حُضـر بخلـط كميـات معينـة مـن كلوريـد البـاريوم (**0.05ml** مـن **1.175%** ثنـائي كلوريـد البـاريوم **BaCL2.2H2O (w\v,1.175g.98.825ml)** مـع **9.95ml** مـن **1%** حـامض الكبريتيـك **H2SO4 (v\v1ml:99ml)** معـاً والـذي أدى الـى تكـوين راسـب مـن كبريتـات البـاريوم مسـببة ظهـور عكـارة فـي المحلـول . أُسـتخدم المحلـول النـاتج لمقارنـة عكـارة المعلـق البكتيـري مـع أنابيـب المعيـار القياسـي **McFarland's 0.5** حيث غُلقت بإحكام لمنع التبخر وحُفظت في الظلام بدرجة حرارة الغرفة .

تـم التحقـق مـن دقـة معيـار **McFarland 0.5** مـن خـلال اسـتعمال مقيـاس الطيـف الضـوئي عند **625** نـانوميتر التـي يجـب ان تكـون مـا بـين **0.8-0.1** (**Murray *et al* , 2003**) .

2 : طرق التعقيم Sterilization methods

عُقمـت الادوات والاوانـي الزجاجيـة بوسـطة التعقـيم الحـراري الجـاف عنـد **160 C°** - **180** درجـة مئويـة لمـدة **3-2 hour** فـي حـين عقمـت الاوسـاط الزرعيـة باسـتخدام جهـاز (**Autoclave**) عنـد **121 °C** لمـدة **15 min.** تحـت ضـغط **bar15**. أمـا المحاليـل التـي مـن الممكـن أن تتـأثر بـدرجات الحـرارة ، تـم تعقيمهـا بواسـطة طريقـة الفلتـرة (**Filtration method**) باسـتخدام المرشـحات **0.30** مـايكروملميتر التـي أُتبعـت مـن قبـل **(Atlas *et.al.*,1995)**.

3 : تحضير المعلق البكتيري Preparation of Suspension

تم استخدام مسحة معقمة (**Swab**) لنقل عدد كافٍ من المستعمرات من مزرعة نقية الى **0.3** مليلتر من محلول ملحي معقم (**0.45%** ماء مقطر الى **PH4.5- 7.0 Nacl 0.50%**) في انبوبة اختبار من البلاستك الشفاف (**Polystyrene**) . لكي يتم ضبط العكارة إذ تقاس باستخدام مقياس التعكر المسمى (**DensiChek**) . ويتراوح مدى تعكر (**McFarland**) للبكتريا سالبة الصبغة بين (**0.63 -0.50**).

4 : تقدير الفعالية التثبيطية للمستخلصات الكحولية النباتية المحضرة ضد الانواع البكتيرية المختبرة .

لغرض تقدير النشاط المثبط للمستخلصات الكحولية النباتية المحضرة أُستخدمت طريقة الانتشار بالحفر (**Well agar diffusion**) ضد البكتريا المختبرة في هذه الدراسة . تم عمل حفر (**Well**) باستخدام ثاقب فليني معقم بقطر **mm (10)**) لثقب الوسط **الغذائي Muller Hinton agar** وذلك بعد زراعة الوسط البكتيري باستخدام طريقة التخطيط الشعاعي **0.1 ml** من العالق البكتيري والذي يحوي على **$1.5 * 10^8$ cell \ ml** وبمقارنته بمحلول مكفرلاند ، تم وضع كل تركيز من المستخلص داخل الحفر بمقدار **ml (0.8)** . وُضعت الاطباق في الحاضنة عند درجة **37C°** لمدة **20-24 Hour** . **(Balows and Wandepitte ., 1987)** .

سُجلت النتائج عن طريق قياس اقطار مناطق التثبيط عمودياً وافقياً بعدها تم اخذ معدل القراءتين ، تم عمل (**3**) مكررات لهذا الاختبار (**Jameel *et. al* 2016**).

3- 2 - 7 : التحليل الأحصائي .

تم تحليل البيانات باستخدام البرنامج الاحصائي **(SPSS Inc. version 23, Chicago, Illinois, USA).** وفقاً لتصميم التجارب العاملية، واعتمدت قيمة اقل فرق معنوي **Least significant design (LSD)** عند مستوى معنوية **(P≤0.05)** للمقارنة بين المتوسطات .

CHAPTER FOUR الفصل الرابع
RESULTES AND DISCUSSION النتائج والمناقشة

4 - 1 : التحليل الكيميائي لمستخلص النوعين
Phytochemical analysis of *E. prostrata* and *E. hypericifolia* extract

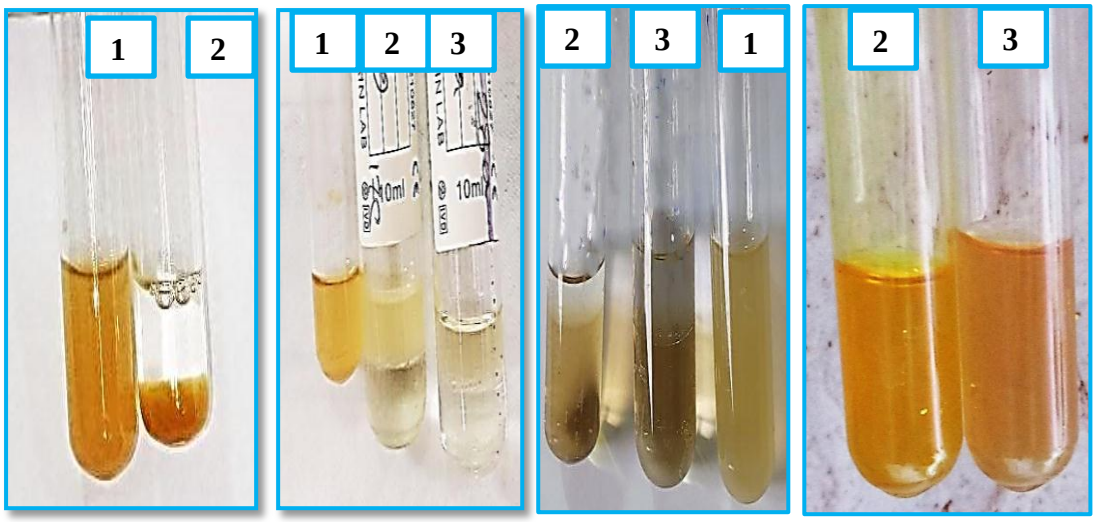
4-1-1 : الكشف عن بعض المركبات الكيميائية
Detection of some phytochemical compounds

أكدت الاختبارات الكيميائية الأولية النوعية للمستخلص المائي الميثانولي (50:50) لمستخلص النوعين ***E. prostrata*** و ***E. hypericifolia*** وجود **alkaloids , essential oils , phenols , glycosides , flavonoids , saponins , terpenes , steroids** و **tannins** . جدول **(4-1)** صورة **(2+1)** . وقد أُعتبر وجود هذه المواد الكيميائية النباتية في النوعين تحت الدراسة مؤشراً على أنه قد يكون لهما بعض الإمكانات الطبية. وتوافقت النتائج مع دراسات أخرى أكدت وجود مجاميع كيميائية فعالة في مستخلص أوراق بعض أنوع الجنس ***Euphorbia*** ومنها النوع ***E. prostrata*** قيد الدراسة كدراسة **. (Hariyadi, 2020)**

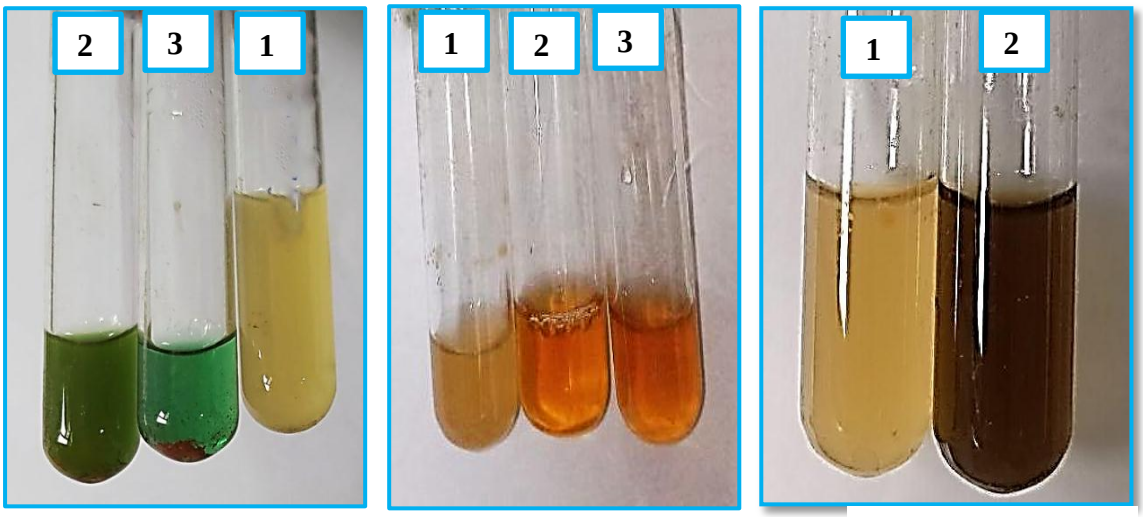
جدول **(1-4)** : الكشف عن بعض المركبات الكيميائية في المستخلص **50% methanolic aqueous extract** للنوعين ***E.hypericifolia*** **and** ***E. prostrata*** بأعتماد الأختبارات الكيميائية .

***E. prostrata* Extract**	***E. hypericifolia* Extract**	**طرق الكشف Detection Methods**		**نوع المركبات الفعالة Phytochemical Compound**
		Reagent	**Positive Results**	
+	+	Picric acid + H_2O	yellow color	Alkaloid
+	+	Ferric Chloride 1%	Green-bluish Color	Phenols compound
+	+	Benedict	Red Pellet	Glycosides
+	+	KOH + distilled water	yellow color	Flavonoids
+	+	Shaken	Formation of foam	Saponin
+	+	Chloroform + Acetic Acid + H2SO4	Brown color	Terpenes
+	+	Chloroform + Acetic Acid + H2SO4	Blue Color	Steroids
+	+	Lead Acetate 1%	White Gelatinous Pellet	Tannins

+ كشف موجب .



Tanins Test Triterpenoid Test Terpenoids Test Alkaloid Test



Glycosides Test Flavonoid Test Phenols Test

صورة (1) : الكشوفات الخاصة بالنوع *E.prostrata* .

metanolic-water extract : 3 water extract : 2 . control sample : 1

Tanins Test

Terpenoids Test

Alkaloid Test

Glycosides Test

Flavonoids Test

Phenols Test

صورة (2) : الكشوفات الخاصة بالنوع *E. hypercifolia* .

metanolic-water extract : 3 water extract : 2 . control sample : 1

2-1-4: تحليل كروماتوغرافيا الغاز – مطياف الكتله Gas Chromatography- (GC -MS) Mass-Spectrum

أعتمدت الدراسة الحالية للتحليل الكيميائي **(GC -MS)** على المستخلص الكحولي (الميثانولي) لأوراق كلا النوعين ***E. prostrata*** **and** ***E. hypericifolia*** كدراسة مقارنة بين النوعين . وقد توصلت نتائج الدراسة الى تحديد وتشخيص عدد من المركبات الكيميائية .

ومن خلال نتائج التحليل حُدد **19** مركباً كيمائياً في أوراق النوع ***E. prostrata*** ، وشُخص مايُقارب **13** مركباً كيمائياً في أوراق النوع ***E. hypericifoli*** ، فضلاً عن تحديد وقت الاحتجاز **Retention time (RT)** ، الصيغة التركيبية **Molecular formula**، الوزن الجزيئي **Molecular weight** ، الفعالية البايلوجية لبعض المركبات و طبيعة المركبات (تصنيفها) . ولابد من الإشارة أن الفعالية البايلوجية وتصنيف المركبات قد تم تحديدها من قاعدة بيانات الدكتور **Dr. Duke's Phytochemical and Ethnobotanical databas** الكيميائية النباتية والعرقية ، إضافة لقاعدة البيانات في **PubChem.** ومواقع أخرى كيميائية . جدول (**2-4**) .

تُعد الدراسة الكيميائية الحالية الأولى في العراق لنوعي الجنس ***Euphorbia L.*** باستخدام هذه التقنية . ومن ملاحظة جدول **(4- 2)** لوحظ اختلاف في مجاميع المركبات في أعدادها وأنواعها بين أوراق كلا النوعين قيد الدراسة ، ففي أوراق النوع ***E.prostrata*** تم تشخيص عدد من الأحماض الدهنية **Fatty acids** (أحماض كاربوكسيلية ذات سلسلة أليفاتية ، قد تكون مشبعة أو غير مشبعة **(saturated or unsaturated)** والتي مثلت النسبة الأكبر من نتائج المركبات المشخصة خلال الدراسة الحالية ، من بين هذه الأحماض **(12-Bromododecanoic acid)** من المركبات العضوية والمعروف أنه من الأحماض الدهنية المتوسطة السلسلة **Medium-chain fatty acid** ;شُخص أيضاً الحامض **Stearic acid** ; **n-Decanoic acid** والمسمى **((CAPRIC ACID** ; **Tridecanoic acid** ; **(Hexadecanoic acid ;**

Methyl-2- ; 2-Heptadecanol ; Tetradecanoic acid (CAS) $$ Myristic acid Palmitic acid) ; Benzoic acid ; -D-Glucose, 4-O-alpha. - D-glucopyranosyl ; norcaranone ; NEOPHYTADIENE فضلاً عن بعض المركبات الفينولية منها المركب **1,2,3-Benzenetriol** ; ومركبات قلويدية **(Alkaloid compound)** منها المركب **1H-1.2.4-Triazol-5-amine** و المركب **Maleinimide ; Pyrazine trimethyl** ; وسجلت نتائج التحليل بعض من المركبات التربينية **Terpene compounds** منها **Neophytadiene** . وقد أشارت دراسات عدة وجود بعض هذه المركبات في مستخلص النوع ***E.prostrata*** وباستخدام مذيبات مختلفة ، كدراسة **(EL-Mahy , 2004)** ، ( ) **(Hariyadi, 2020)** و **(Ferdosi et. al. , 2021)** .

أما نتيجة التحليل الكيميائي لأوراق النوع ***E.hypericifolia*** فقد أظهرت الدراسة تغايراً واضحاً في أنواع وأعداد المركبات الكيميائية عما شُخص في أوراق النوع ***E.prostrata*** ،رغم أن هنالك تداخلاً بسيطاً بين مركبات النوعين المدروسة.فقد شُخص منها **١--Bromo-1-methyl-2-(4,5-hexadienyl)cyclopropane ; ١-(٣,٥-Dimethyl-1-adamantanoyl)semicarbazide ; ٣-(٥-Bromo-3-nitro-1H-1,2,4-triazol-1-yl)-6,8-dioxabicyclo[3.2.1]octan-4-one ; N,N-D3-2,4-Dinitrophenylhydrazine ; Methyl-(endo-tricyclo[2.2.0.0(2.6)]hex-3-yl)-ether ; -Cyclopentane, 1,2-dichloro-, trans ; Tris (2-cyanoethyl) nitomethane ; Camphene** ; فضلاً عن بعض الأحماض الدهنية كالمركب **Hexadecanoic acid , methyl ester , PALMITC ACID ; Heptacosanoic acid , methyl ester ; Propanoic acid , 3-chloro-, ester ; -Benzene, 2-methyl-1,3-dinitro ; Ethanone , 2-bromo-1-(4-methoxyphenyl)** .

ومن الجدير بالذكر أن المركبات الكيميائية المعزولة من مستخلص أوراق النوعين ***E.prostrata*** و ***E.hypericifolia*** ذات فعالية بايلوجية مختلفة . إذ تم تحديد الفعالية البايلوجية إستناداً لما ورد في

دراسات سابقة . فقد ورد عن **(Guimarães and Venâncio ,2022)** أن للمركب **N-Octadecanoic acid ; Stearic acid** تأثير مضاد للأكسدة **Antioxidant** ، مضاد للالتهابات **anti-inflammatory** , مسكن للآلام **analgesi** ، مضاد للسكر ، مضاد للنيماتودا ، التئام الجروح وخافض للحرارة .

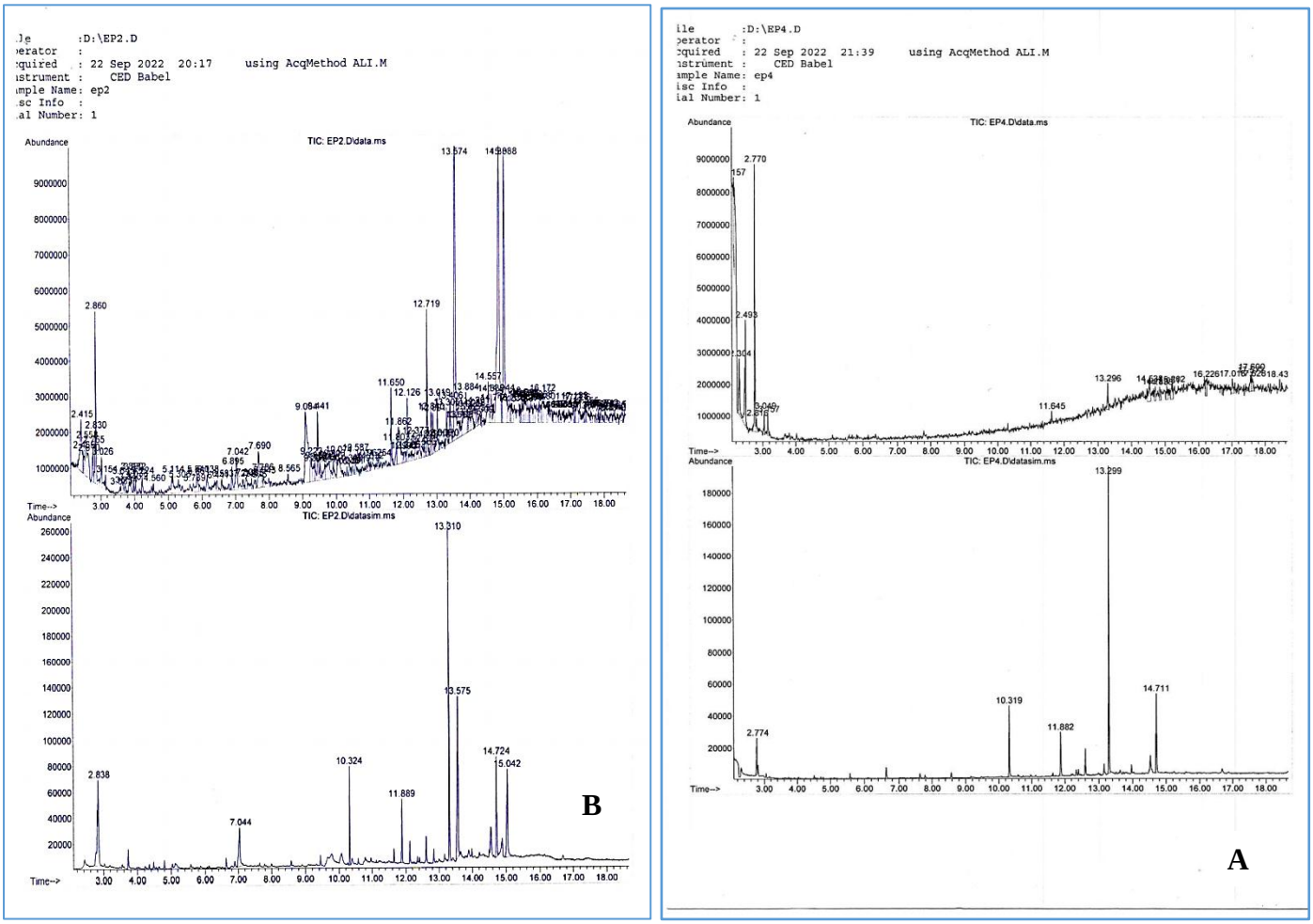
وأشارت دراسات عدة الى أهمية نشاط الأحماض الدهنية كمضاد للبكتيريا والفطريات . فقد أوضح **Kodicek and worden (1945)** و **Galbraiyh *et.al* (1971)** أن الأحماض الدهنية غير المشبعة ذات السلاسل الكاربونية المتوسطة والطويلة **long and medium chains** تُظهر فعالية أكبر ضد البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة غرام. أيضاً أوضح **Ahmed *et.al*. (2014)** أن للأحماض الدهنية أهمية بايلوجية هائلة ، لها دور تقليل مخاطر الإصابة بأمراض القلب، الالتهابات ولها دور في الزيادة المناعية .

وبيَّن **Yoon *et. al* (2018)** أن **Antimicrobial lipids** هي مركبات دهنية تتكون من سلسلة هيدروكاربونية واحدة مشبعة أو غير مشبعة ومجموعة حامض الكاربوكسيل في أحد أطرافها أحادية السلسلة تتفاعل مع أغشية الخلايا البكتيرية وتُظهر نشاطًا مضاداً للبكتيريا . من أهمها الحامض الدهني **Capric acid** . وهو أحد الأحماض الدهنية المسجلة ضمن نتائج الدراسة الحالية ، إذ يحتوي حامض الكابريك و**monoglyceride derivative** و**mono-caprine** على سلاسل هيدروكربونية مشبعة بطول ١٠ كربون ، ذات نشاط عالي كمضاد للبكتيريا ، خاصةً ضد البكتيريا سالبة لصبغة غرام .

وقد أشار **Yoon, *et.al*. (2018))** أن ألية عمل الأحماض الدهنية كمضاد للبكتيريا تستهدف بالأساس أغشية الخلية البكتيرية ، وعلى وجه الخصوص تعمل على زعزعة الاستقرار الغشائي **membrane destabilization** مسببة بذلك زيادة نفاذية الغشاء و تحلل الخلية **cell lysis** ، مما تؤدي الى تثبيط نمو الخلية البكتيرية أو موت الخلية. إضافة للأحماض الدهنية ، سجلت النتائج مركبات كيميائية أخرى ذات

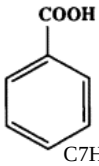
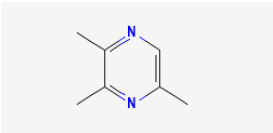
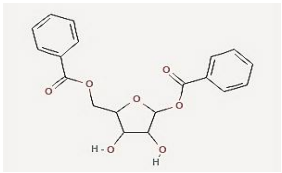
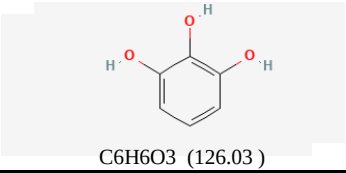
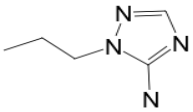
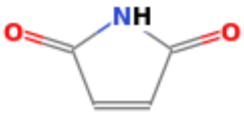
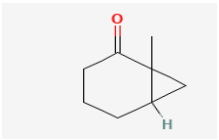
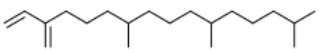
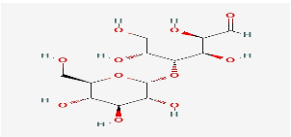
فعالية بيولوجية جيدة ، كمضادة للالتهابات وكمضادة للأكسدة ، في المستخلص الميثانولي لأوراق النوعين ***E.hypericifolia*** و ***E.prostrata*** ، جدول (**4-2**) .

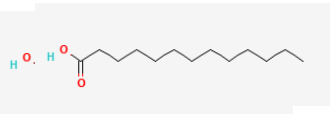
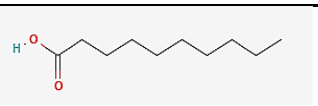
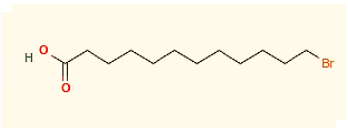
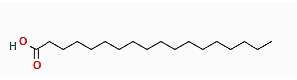
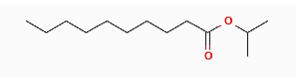
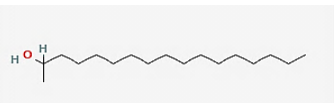
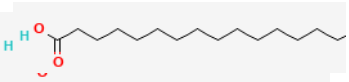
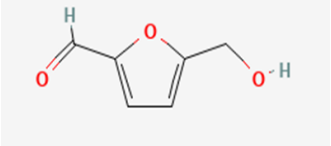
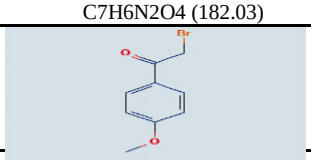
مما تقدم أتضح أن للدراسة الكيميائية أهمية تصنيفية جيدة في فصل النوعين قيد الدراسة من حيث عدد ونوع المركبات وفعاليتها البايلوجية . إذ أُستخدم التحليل الكيميائي في العديد من الدراسات التصنيفية في فصل الأجناس والأنواع ، كدراسة **(AL-Mawla, 2011)** ودراسة **(AL-Taee, 2017)** .

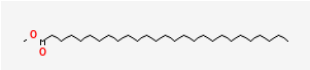
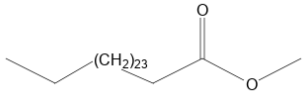
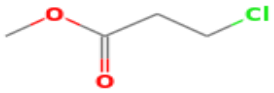
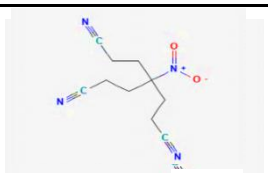
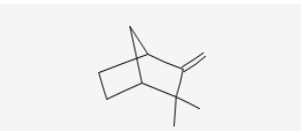
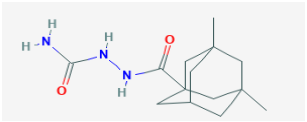
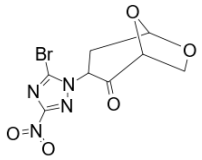
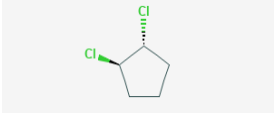


شكل (4 - 3) : تحليل كروماتوغرافيا الغاز –مطياف الكتله للمستخلص الميثانولي لأوراق لنوعين قيد الدراسة .
A : النوع *E. hypercifolia* **B :** النوع *E.prostrata*

جدول **(2-4) :** المركبات الرئيسية في المستخلص الكحولي لأوراق النوعين *E. prostrata* and *E.hypericifolia*

No.	R.T. Min	Name of the Phytochemical Compound	Chemical Structure + Molecular Formula + Molecular Weight	Biological activity
A			***E.prostrata***	
1.	7.043	Benzoic acid (the simplest aromatic carboxylic acid)	 C7H6O2 (122.04)	Commonly used antimicrobial preservative in food and beverages, antimicrobial , inhibitory effects. (Kalpana and DeviRajeswari ,2019) .
2.	7.043	Pyrazine trimethyl (class of organic compounds known as pyrazines . pyrazine alkaloid)	 C7H10N2 (122.08)	It has a role as a plant metabolite, a flavouring agent, a bacterial metabolite, an animal metabolite and a pheromone. . https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2_3_5-Trimethylpyrazine
3.	7.043	beta-1,5-O-Dibenzoyl-ribofuranose	 C19H18O7 (358.11)	Unknown
4.	7.687	1,2,3-Benzenetriol (CAS)$$ Pyrogallic Acid . (phenolic compound) .	 C6H6O3 (126.03)	antidepressant, anxiolytic, and sedative activity, Anti-microbial activity , respectively(Jahan et.a,2020) ; (Lígia et.al, 2022). https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Pyrogallol
5.	7.687	4H-1.2.4-Triazol-5-amine, 1-propyl-(CAS) $$ 1-PROPYL-5-AMINO-1… (Alkaloid)	 C5H10N4 (126.09)	anti-inflammatory . Antimicrobial activity . (Strzelecka and Świątek , 2021) .
6.	7.702	1H-Pyrrole-2,5-dione ; Maleimide; pyrrolidine-2,5-dione unsaturated imide, (Nitrogen Compounds)	 C4H 3NO2 (97.02)	antibacterial, antifungal, and anticancer activity . (Ma et.al , 2021). .
7.	12.716	(-)-1-Methyl-2-norcaranone$$ (Ketones)	 C8H12O (124.09)	Unknown
8.	12.716	NEOPHYTADIENE $$ (diterpene)	 C20H38 (278.30)	Antibacterial Activity (Kant *et.al*, 2019) .
9.	13.560	D-Glucose, 4-O-alpha. - D-glucopyranosyl- (glycoside - Sucrose)	 C12H22O11 (342.12)	Unknown

10.	13.560	Tridecanoic acid (C13 straight-chain saturated fatty acid)	 C13H26O2 (214.19)	Anthelminthic, Anti-inflammatory and Anti-microbial activities and anti-cancerous activity . (Kavitha and Mohideen , 2017) [. https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Tridecanoic-acid
11.	13.560	n-Decanoic acid $$ CAPRIC ACID (C10, straight-chain saturated fatty acid)	 C10H20O2 (172.15)	Antibacterial activity . (Yoon et.al, 2018) ; (Marou nek et.al, 2022) https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Decanoic-acid
12.	15.034	12-Bromododecanoic acid $$Dodecanoic acid, 12-bromo-$$ ZINC1637721 (bromo fatty acid)	 C12H23BrO2 (278.09)	used as a model fatty acid in the elucidation of the x-ray structure of bovine beta-lactoglobulin. ChemicalBook (https://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty_EN_CB7440153.htm
13.	15.034	N-Octadecanoic acid(CAS) $$; Stearic acid (Saturated long –chain fatty acid)	 C18H3602 (284.27)	Anticancer , (A potent anti-inflammatory lipid) and Nematicide (Anthani and Kumari , 2013) . (AL-Mowla, 2011)
14.	15.034	n-Capric acid isopropyl ester $$ Decanoic acid,1-methylethyl ester $$ Propan-2-yl decanoate (fatty acid ester.)	 C13H26O2 (214.35)	(Yoon, et.al. 2018))
15.	15.034	2-Heptadecanol (long-chain primary fatty alcohol and a primary alcohol.)	 C17H36O (256.28)	Antibacterial Activity.\ (Mujeeb *et.al*, 2014) .
16.	15.034	N- Hexadecanoic acid ; Hexadecanoic acid (CAS) $$ Palmitic acid (saturated long-chain fatty acid)	 C16H32O2 (256.24)	Antibacterial , Mosquito larvicide, Nematicide (Kumar et.al, 2010) ; (Rahuman et.al,2000) ; (Yff et.al, 2002) https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Palmitic-acid
17.	15.034	Tetradecanoic acid (CAS) $$ Myristic acid (saturated long-chain fatty acid)	 C14H28O2 (228.21)	Anticancer , Antioxidant , Nematicide and Biood cholesterol reducer (AL-Mowla , 2011) ; (Krashnaveni , 2016). https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Myristic-acid
18.	15.034	4-Octen-3-one , 5-ethyl-7-hydroxy	Unknown	- Unknown
19.	15.034	2-Furancarboxaldehyde 5-hydroxymethyl (CAS) $$ HMF $$ (member of furans, an arenecarbaldehyde and a primary alcohol)	 C6H6O3 (126.11)	Antimicrobial, Preservative . (Ramalakshmi et.al, 2011).
B.	***E.hypericifolia leaf***			
1.	4.021	Benzene, 2-methyl-1,3-dinitro- **(Nitrogen Compounds)**	 C7H6N2O4 (182.03)	has role genotoxin . https://www.ebi.ac.uk/chebi/searchId.do?chebiId=CHEBI:957
2.	4.021	Ethanone , 2-bromo-1-(4-methoxyphenyl)-(CAS Aromatic Ketones, phenone compounds)		Antimycobacterial activity (Daniels. and Temikotan , 2021).

			$C_9H_9BrO_2$ (227.98)	
3.	13.294	Hexadecanoic acid , methyl ester (CAS)$$, Palmitic acid methyl ester$$	 C17H34O2(270.26)	Antibacterial , Mosquito larvicide, Nematicide (Rahuman et.al . 2000) ; (Kumar et.al, 2010) ; (Yff et.al, 2002).
4.	13.294	Heptacosanoic acid , methyl ester (Carboxylic acid , fatty acid ester.)	 C28H56O2 (424.74)	Antibacterial , (Rajabi *et.al*, 2005).
5.	13.294	Propanoic acid , 3-chloro-, methyester$$; (**Fatty acid)**	 C4H7ClO2 (122.01)	Unknown
6.	17.597	Tris (2-cyanoethyl) nitromethane $$ Nitro-tris(2-cyanoethyl)methane	 $C_{10}H_{12}N_4O_2$ (220.10)	Unknown
7.	17.597	Camphene$$ (monoterpene and a carbobicyclic compound)	 C10H16 (136.13)	including pain relief and anti-viral effects. It has multiple medical benefits. https://leafwell.com/blog/camphene/#health-benefits-and-uses
8.	18.160	1-Bromo-1-methyl-2-(4,5-hexadienyl)cyclopropane	C10H17Br (216.05)	Unknown
9.	18.160	1-(3,5-Dimethyl-1-adamantanoyl)semicarbazide	 C14H23N3O2 (265.18)	Unknown
10.	18.160	3-(5-Bromo-3-nitro-1H-1,2,4-triazol-1-yl)-6,8-dioxabicyclo[3.2.1]octan-4-one (Nitroaromatic compounds)		Antimicrobial activity . (Strzelecka , and Świątek , 2021)
11.	18.160	N,N-D3-2,4-DINITROPHENYLHYDRAZINE $$	C6H3D3N4O4 (201.06)	Antimicrobial Resistant Modulatory Activity . (Ade et.al, 2020).
12.	18.160	Methyl-(endo-tricyclo[2.2.0.0(2.6)]hex-3-yl)-ether (Monoterpene)	Unknown C7H10O (110.07)	Unknown
13.	18.160	Cyclopentane, 1,2-dichloro-, trans- (Cyclic Alkanes)	 C5H8CL2 (139.02)	Unknown

2-4: الفعالية المضادة للأكسدة لمستخلص النوعين .

Antioxidant activity of *E. prostrata* and *E. hypericifolia* extract .

مضادات الأكسدة **Antioxidants** مواد قادرة على تثبيط عمليات الأكسدة **oxidative processes** وبالتالي تحجب التفاعل الكيميائي الذي ينقل الإلكترونات أو الهيدروجين إلى عامل مؤكسد ، **(Devasagayam *et.al*., 2004).**

والجذور الحرة **Free radicals** هي جزيئات شديدة التفاعل ومعروف أنها تدمر البروتينات ، وتؤدي إلى انهيار أشرطة الحمض النووي **DNA** وتبدأ عملية أكسدة المركبات المختلفة ، مما يؤدي إلى العديد من المضاعفات الصحية والأمراض كالسرطان وتصلب الشرايين أو الالتهابات وتسريع الشيخوخة **. (Mansour, 2000).**

قُدرت الفعالية المضادة للأكسدة للمستخلصات المستخدمة من خلال تحديد تركيز المستخلص الذي له القابلية على اختزال أو تثبيط امتصاصية الجذر الحر **DPPH** الى النصف **(IC_{50})** و الذي عادة ما يعبر عنه بشكل نسبة مئوية للتثبيط **% (PI) .**

كدراسة مقارنة أستخدم ثلاثة مذيبات مختلفة **(Methanol , Ethyl acetate and Hot water)** **solvents** لعمل مستخلص نباتي لأوراق النوعين ***E. prostrata*** و ***E. hypericifolia* .** كما أُخذت تراكيز مختلفة **µg/ml (3.12 , 6.25 , 12.5 , 25, 50, 100, 200)** لكل نوع مستخلص ، موضح في جدول **(3-4)** ولكلا النوعين لتحديد الفعالية المضادة للأكسدة بأستخدام طريقة **DPPH method .**

DPPH method هي طريقة لاختبار فعالية أو نشاط إزالة الجذر الحر. وقد ذكر **Shi *et.al.* (2022)** أنه يمكن تحييد جذر **DPPH** بعد قبول الإلكترونات من مضادات الأكسدة ، وبسبب تغير اللون أثناء هذه العملية ، يمكن قياس قدرة مضادات الأكسدة عند **517** نانومتر.

وقد أوضحت النتائج أن هنالك اختلافاً واضحاً في معدل الفعالية الكاسحة **The scavenging activity rate** لمستخلص النوعين قيد الدراسة وباختلاف المذيبات ، إذ أظهرت النتائج أن أعلى معدل للفعالية الكاسحة كان في المستخلص **methanolic - aqueous** ، وأقل فعالية كان في مستخلص **Ethyl acetate** والمستخلص المائي ولكلا النوعين تحت الدراسة ، شكل **(3-8)** . وهذه النتائج تتوافق مع نتائج دراسة **(Ahmed *et.al*., 2011)** فقد أكدوا على الإمكانية العالية للمستخلص الميثانولي من حيث الفعالية الكاسحة للجذر الحر **Free radical** ، لكن الدراسة الحالية غير متوافقة مع دراسة **(Rauf *et.al*., 2012)** إذ اشاروا الى إمكانية المستخلص باستخدام المذيب **Ethyl acetate** كمضاد أكسدة كانت أعلى مقارنة بالمستخلص الميثانولي، غير أن هنالك دراسات عدة تؤكد فعالية المستخلص الميثانولي مقارنة بالمذيبات الأخرى . **(Ghanimi *et.al*., 2022) .**

وبينت نتائج الدراسة الحالية اختلافا واضحا في معدل الفعالية الكاسحة بين النوعين تحت الدراسة . فقد سجلت الدراسة أعلى معدل للفعالية في المستخلص **methanolic – aqueous** للنوع ***E. prostrata*** والتي كانت **(94.02% , 86.14% , 82.08% , 66.95% , 53.65% , 44.59% and 41.16%)** ، في حين سُجل معدل الفعالية الكاسحة في المستخلص **methanolic – aqueous** للنوع ***E. hypericifolia*** **(200, 100, 50, 25 , 12.5 µg/ml** للتراكيز **79.84 , 61.80 , 53.02 , 46.98 , 35.71 , 31.29 , 24.34)** على التوالي ولكلا النوعين ، فقد لوحظ أن **The scavenging activity** تزداد بزيادة تركيز **(3.12 , 6.25 ,** المستخلص النباتي . وبذلك فقد أظهرت النتائج أن المستخلص النباتي لكلا النوعين وباختلاف المذيبات المستخدمة يمتلك خصائص أو فعالية كاسحة عند التراكيز العالية ، وهذا يتوافق مع دراسة **(Ahmed *et.al*., 2011 and Rauf *et.al*., 2012) .**

وكما موضح في جدول **(4-4)** أن المستخلص الكحولي للنوع ***E.prostrata*** ذو خصائص مضادة للأكسدة **antioxidant activity** عالية مقارنة بنسبة فعالية **Ascorbic acid** شكل **(2)** . كما أكدت نتائج الدراسة أن المستخلص الكحولي للنوع ***E. prostrata*** ذو فعالية قوية **Strong** كمضاد أكسدة مقارنة بالنوع ***E. hypericifolia.*** وهذه النتائج متوافقة مع دراسة **(Ahmed *et.al*., 2011)** ، فضلاً عن ذلك ، أكدت دراسة **Prabha and Rayan (2018)** على الفعالية العالية كمضاد أكسدة للمستخلص الميثانولي للنوع ***E. prostrata*** والذي يبرر استخدام هذا النبات في عدة أمراض كالحمى ، تنقية الدم ، كمضاد للالتهابات وحتى كمضاد حيوي **Antibiotic** .

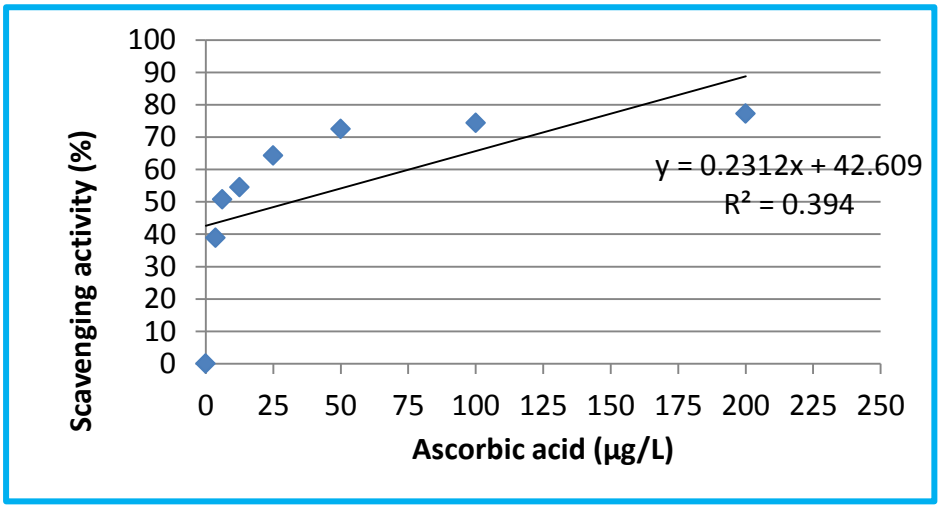
وتعود هذه النتائج ربما نتيجة لوجود نسبة عالية من الأحماض الدهنية **high fatty acid** ، أيضاً لوجود بعض من المركبات الفينولية والفلافونويد والتربينية . وهي نتائج متوافقه مع دراسة **(Agbo *et.al.* 2015 ,)** فقد أشاروا للنوع ***E. prostrata*** أنه من النباتات الطبية ويحوي على نسبة جيدة من **Phenolic and Flavonoids compounds** ، إضافة لوجود بعض من الأسترات ومركبات مهمة أخرى . فقد أكد **Nawaz *et.al.* (2022)** وجود مركبات مهمة ذات فعالية مضادة للأكسدة من تانينات ، صابونيات ، فلافونويدات ، كلايكوسيدات في أجناس متعددة من أجناس العائلة **Euphorbiaceae** من ضمنها النوع ***E. prostrata*** وهذا مادلت عليه نتائج التحليل الكيميائي وكذلك الكشوفات الأولية الأساسية ، صورة **(2+1)** .

Percentage of scavenging activity : (3-4) جدول

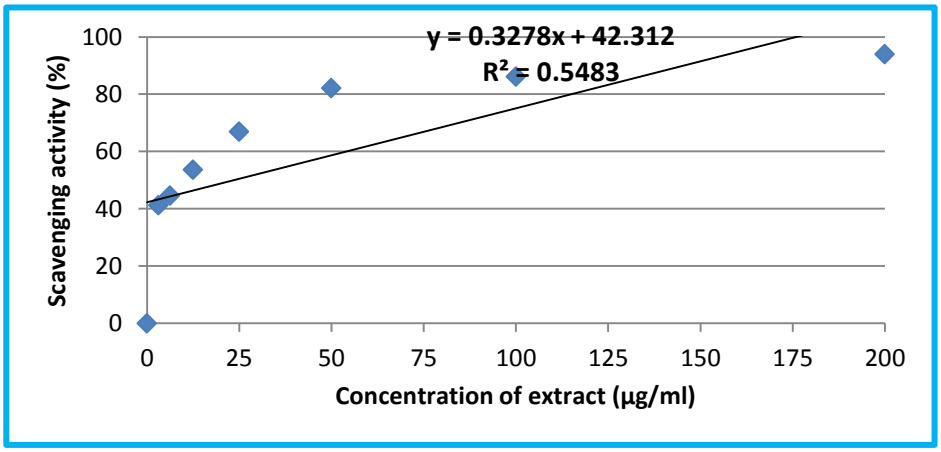
Plant extract / Concen. (µg/ml)	Scavenging activity (%)						
	(methanolic)		D.W.		Ethyl acetate		*Ascorbic acid*
	E.P	***E.H***	***E.P***	***E.H***	***E.P***	***E.H***	
0.0	**0**	0	0	0	0	0	0.0
200	94.02	79.84	72.16	69.85	52.22	68.78	77.25
100	86.14	61.80	41.25	53.93	34.81	46.35	74.39
50	82.08	53.02	24.63	34.68	31.01	39.75	72.49
25	66.95	46.98	20.90	22.29	26.70	38.27	64.34
12.5	53.65	35.71	14.20	21.41	24.90	34.92	54.50
6.25	44.59	31.29	17.84	20.46	23.70	31.57	50.79
3.12	41.16	24.34	12.45	17.09	23.46	28.84	38.94

Antioxidant Activity of plant extracts against Free-Radicals. : (4-4) جدول
(Phongpaichit *et.al.* , 2007)

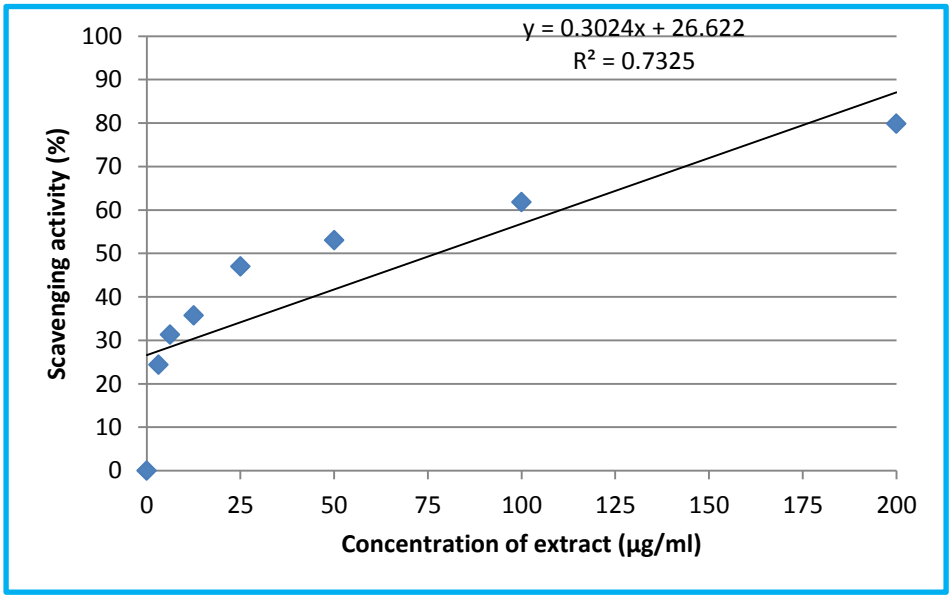
Plant	Solvent	IC50 (µg/ml)	Mark
E. prostrate	Methanolic	23.45	Strong
E.hypericifolia	Methanolic	77.31	Moderate
E. prostrate	Ethyl acetate	179.72	Weak
E.hypericifolia	Ethyl acetate	110.14	Weak
E. prostrate	Water	127.84	Weak
E.hypericifolia	Water	115.63	Weak
Ascorbic acid		31.97	Strong



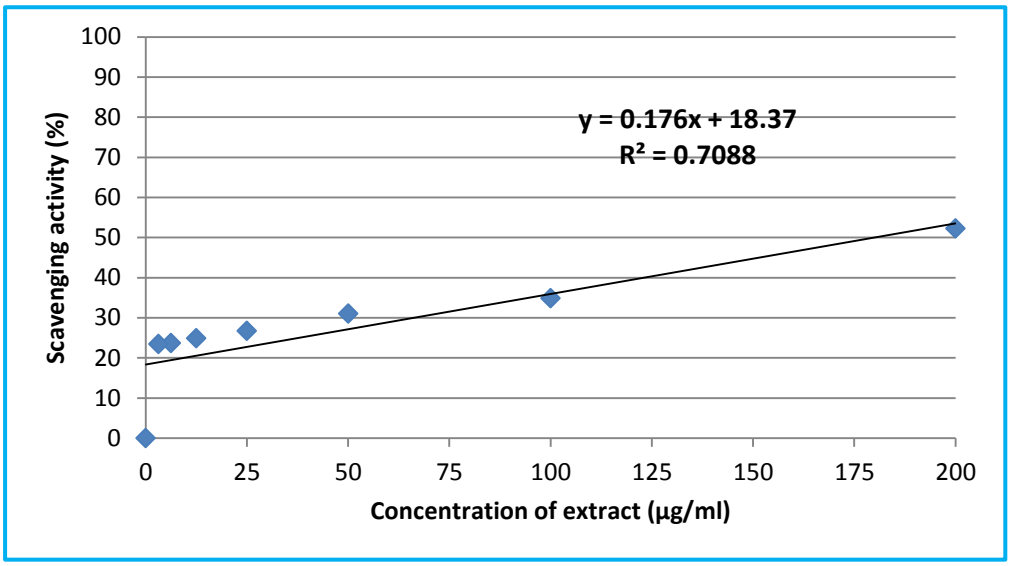
شكل (2) : الفعالية المضادة للأكسدة لحامض الأسكوربيك .



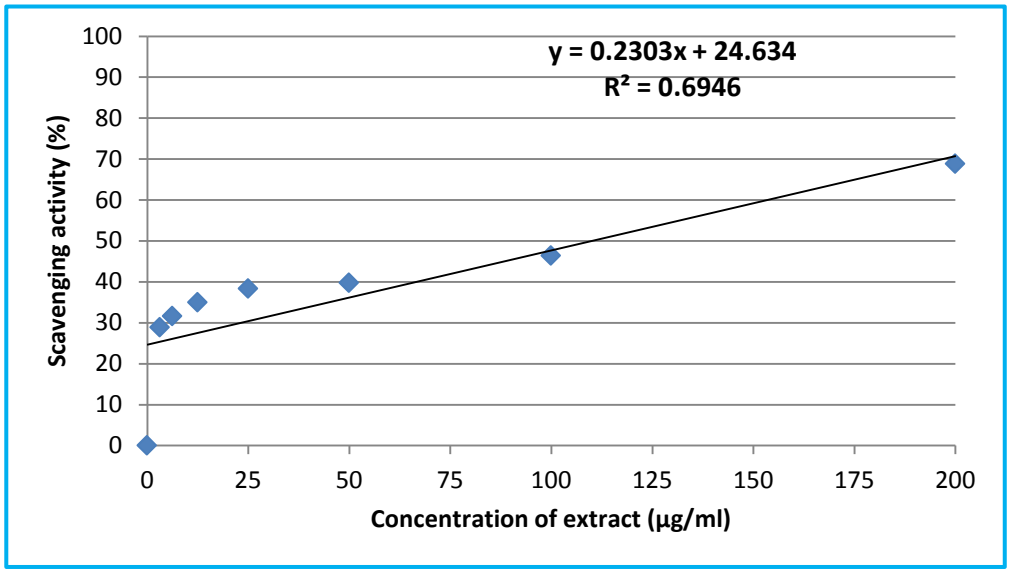
شكل (3) : الفعالية المضادة للأكسدة للمستخلص الميثانولي لأوراق *E.prostrata* .



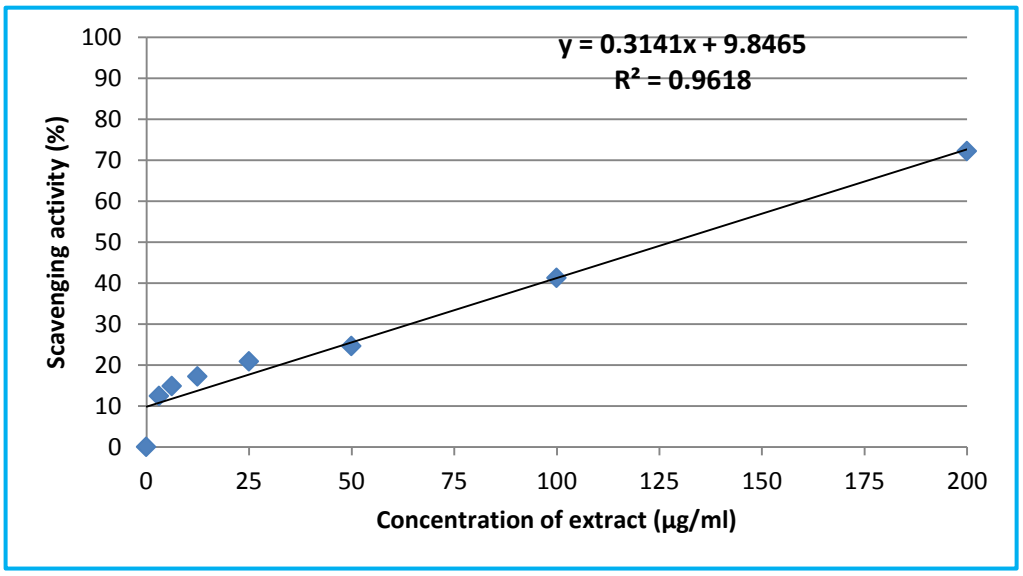
شكل (4) : الفعالية المضادة للأكسدة للمستخلص الميثانولي لأوراق *E.hypericifolia* .



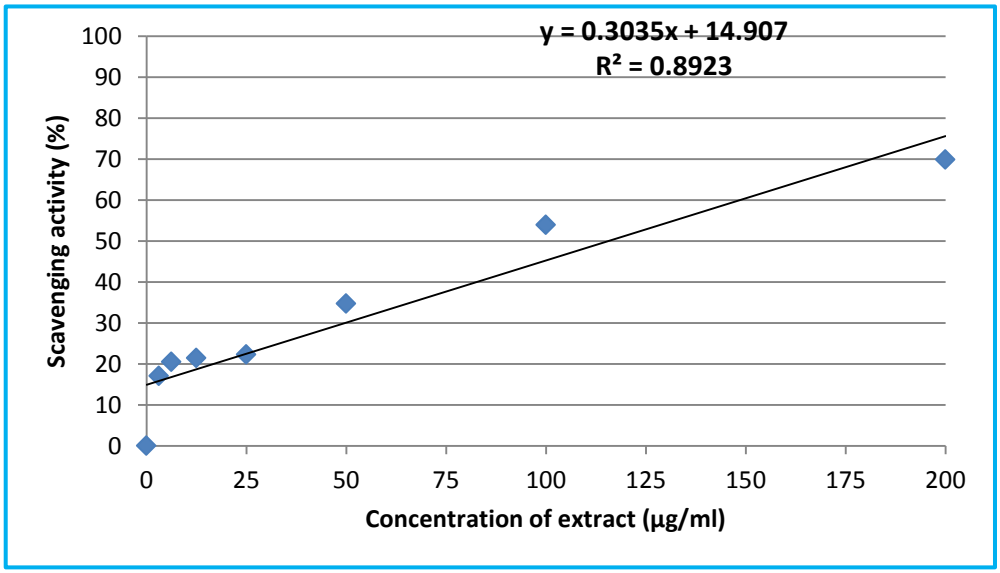
شكل (5) : الفعالية المضادة للأكسدة لمستخلص خلات الاثيل Ethyl acetate لأوراق *E.prostrata* .



شكل (6) : الفعالية المضادة للأكسدة لمستخلص خلات الأثيل Ethyl acetate لأوراق *E.hypericifolia* .



شكل (7) : الفعالية المضادة للأكسدة لمستخلص الماء الحار Hot water لأوراق *E.prostrata*



شكل (8) : الفعالية المضادة للأكسدة لمستخلص الماء الحار Hot water لأوراق *E.hypericifolia*

4-3 : الفعالية التضادية لمستخلص النباتين ضد الفطريات والبكتريا المختبرة .

Antimicrobial activity of *E. hypericifolia* and *E. prostrata* extract

أُجريت دراسة الفعالية التضادية باعتماد المستخلص الكحولي **Methanolic extract** لأوراق كلا النوعين قيد الدراسة وذلك بعد إثبات فعالية المستخلص الكحولي كمضاد أكسدة مقارنة بالمذيبات الأخرى المستخدمة (**Ethyl acetate and Hot water**) . جدول (**4-3**) .

تم اختبار فعالية المستخلص الكحولي على نوعين من الفطريات الممرضة ***Alternaria altarnata*** و ***Fusarium solani*** . وتم اختبار فعالية المستخلص على بعض أنواع من البكتيريا الممرضة منها الموجبة لصبغة كرام والمتمثلة بالنوعين ***Staphylococcus aureus*** و ***Streptococcus viridans*** والسالبة لصبغة كرام ***Proteus vulgaris*** و ***Pseudomonas aeruginosa*** .

4-3-1 : اختبار فعالية المستخلص الكحولي لأوراق النوعين *E.prostrata* و*E.hypericifolia* في تثبيط نمو الفطريات الممرضة *Alternaria alternata* و *Fusarium solani* .

1- تأثير المستخلص الكحولي لأوراق النوع *E. prostrata* في تثبيط النمو الشعاعي للفطرين الممرضين *Alternaria alternata* و *Fusarium solani* باستخدام طريقة الانتشار القرصي .

بينت النتائج الحالية الموضحة في الجدول (**4-5**) أن المستخلص ذو فعالية تثبيطيه عالية إذ إن معدل أقطار النمو للمستعمرات الفطرية تناسبت عكسياً مع الزيادة في تركيز المستخلص النباتي . بينما نجد ان النسبة المئوية لتثبيط الفطريات تتناسب طردياً مع تركيز المستخلص إذ بلغت نسبة تثبيط المستخلص للفطر ***Alternaria alternata*** **(68.7 , 88 , 91 , 100)%** عند التراكيز **(5 , 10 , 15 , 20)** ملغرام/ مليلتر على التوالي صورة **(4)** ، في حين بلغت النسبة المئوية لتثبيط الفطر **39 %** باستخدام الكحول المثيلي .

أما فاعلية المستخلص الكحولي التثبيطية تجاه للفطر ***Fusarium solani*** فقد كانت النسب المئويه للتثبيط عند التراكيز **(5 , 10 , 15 , 20)** ملغرام / مل **(66.3 , 83.7 , 87 , 89.5) %**على التوالي صورة **(5)** شكل **(9)** ، مقارنة بنسبة التثبيط لمعاملة السيطرة باستخدام الكحول المثيلي. **14 %** .

أظهرت نتائج التحليل الاحصائي أن هنالك فروقات معنوية عند مستوى احتمالية **0.05** بين معظم التراكيز كذلك وُجدت فروقات معنوية بين نوع الفطر والتركيز المستخدم حيث أظهر المستخلص عند التركيز **20 %** نسبة تثبيط **89.5 %** للفطر ***Fusarium*** و **100 %** للفطر ***Aternaria*** عند نفس التركيز .

جدول (4-5) تاثير المستخلص الكحولي لأوراق النوع *E. prostrata* في تثبيط النمو الشعاعي للفطرين *Fusarium solani* و *Alternaria alternata*.

التركيز (ملغم/مل)	نوع الفطر		المعدل
	Fusarium solani	*Alternaria alternata*	
	المعدل±الانحراف القياسي		
السيطرة (1)	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0
السيطرة (2) ميثانول	3.0±14.00	5.0±39.0	26.5
5	8.1±66.3	1.5±68.7	67.5
10	5.5 ±83.7	1.0±88.0	85.8
15	1.7 ±87.0	2.0±91.0	89.0
20	4.2 ±89.5	0.0±100.0	94.8
المعدل	5.3±56.7	3.2±64.4	
قيمة LSD $_{(0.05)}$ لنوع الفطر= 2.078			
قيمة LSD $_{(0.05)}$ للتركيز= 3.599			
قيمة LSD $_{(0.05)}$ لنوع الفطر*التركيز= 5.089			

صورة (4) : تأثير المستخلص الكحولي لأوراق ***E.prostrata*** على النمو الشعاعي للفطر ***A. alternata*** عند التركيز 20 ملغم/مل

صورة (5) : تأثير المستخلص الكحولي لأوراق ***E.prostrata*** على النمو الشعاعي للفطر ***F.solani*** عند التركيز 20 ملغم/مل

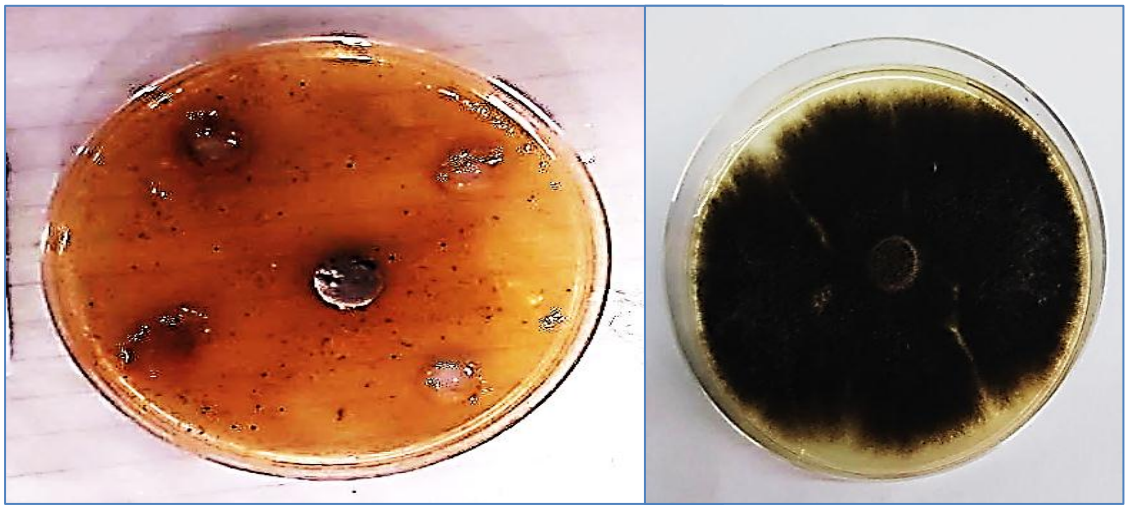
٢- تأثير تراكيز مختلفة للمستخلص الكحولي لأوراق النوع *E. prostrata* في تثبيط نمو الفطرين *Alternaria alternata* و *Fusarium solani* باستخدام طريقة الحفر (Well) .

جدول (4-6) شكل (10) يوضح الفعالية التثبيطية للمستخلص تجاه الفطريات المختبرة . إذ بلغت النسبة المئوية لتثبيط الفطر ***A. alternata*** عند التراكيز (5 , 10 , 15 , 20) ملغرام / مليلتر(72 , 82.7 , 100 , 100) % على التوالي . صورة (6) ، وكانت 89 % نسبة تثبيط الفطر باستخدام الكحول المثيلي. في حين بلغت النسب المئوية لتثبيط نمو الفطر ***F.solani*** (80.3 , 80.7 , 83.7 , 95.5) % عند التراكيز (5 , 10 , 15 , 20) ملغرام / مليلتر على التوالي صورة (7) . و 78.8 % نسبة تثبيط نفس الفطر باستخدام الكحول المثيلي .

واتضح من خلال هذه النتائج باستخدام التحليل الاحصائي انه في الغالب هنالك فروقات معنوية عند مستوى احتمالية 0.05 للتراكيز المستخدمة عدا التراكيز(5 , 10) ملغرام / مل للفطر ***F. solani*** فلا يوجد فرق معنوي بينهما . كذلك ظهر ومن خلال التحليل الإحصائي أن الفطر ***A.alternata*** أكثر حساسية تجاه المستخلص النباتي ، إذ بلغت نسبة التثبيط 100 % عند التركيز 20 ملغرام / مل في حين بلغت نسبة التثبيط للفطر ***F. solani*** 95.5 % عند نفس التركيز.

جدول رقم (4-6) تأثير تراكيز مختلفة للمستخلص الكحولي لأوراق *E. prostrata* في نمو الفطرين *Alternaria alternata* و *Fusarium solani* , باستخدام طريقة الحفر (Well) .

التركيز (ملغم/مل)	نوع الفطر		المعدل
	Fusarium solani	*Alternaria alternata*	
	المعدل±الانحراف القياسي		
السيطرة (1)	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0
السيطرة (2) ميثانول	9.1±78.8	0.0±89.0	83.9
5	3.2± 80.3	1.0±72.0	76.2
10	2.1± 80.7	4.5±82.7	81.7
15	6.0± 83.7	0.0±100.0	91.8
20	1.5±95.5	0.0±100.0	97.8
المعدل	3.3±69.8	4.1±73.9	
قيمة $LSD_{(0.05)}$ لنوع الفطر=2.067			
قيمة $LSD_{(0.05)}$ للتركيز= 3.581			
قيمة $LSD_{(0.05)}$ لنوع الفطر*التركيز=5.064			



صورة **(6) :** تأثير المستخلص الكحولي لأوراق النوع ***E.prostrata*** . (طريقة الحفر **Well**)
A : معاملة السيطرة للفطر ***A.alternata*** **B :** تأثير المستخلص عند التركيز **20** ملغم/ مل

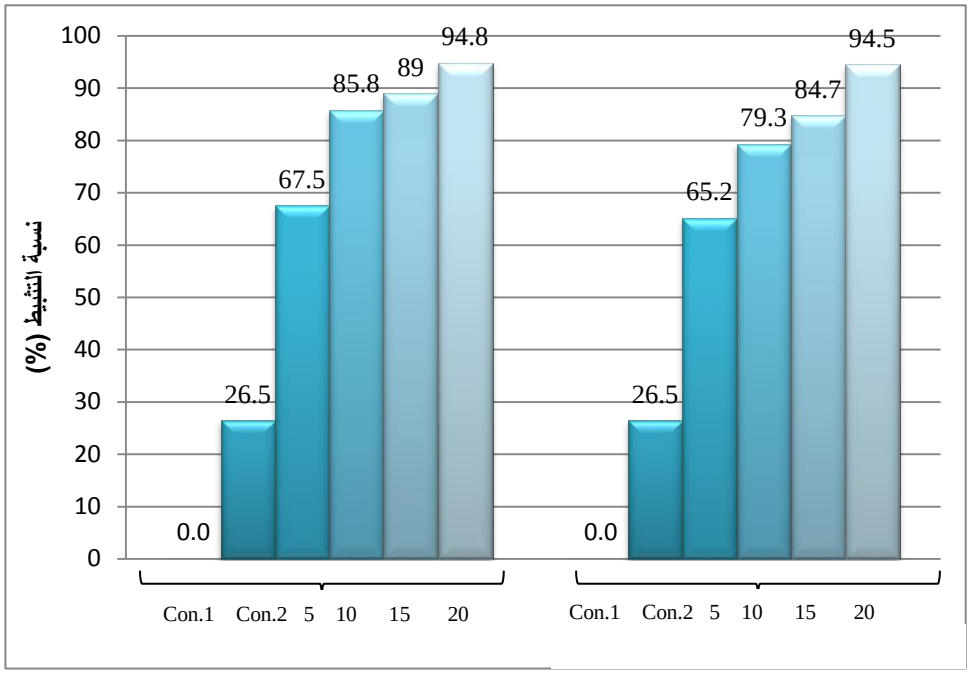
صورة **(7) :** تأثير المستخلص الكحولي لأوراق النوع ***E.prostrata*** . (طريقة الحفر **Well**)
A : معاملة السيطرة للفطر ***F.solani*** **B :** تأثير المستخلص عند التركيز **20** ملغم/ مل

٣- تـأثير المسـتخلص الكحـولي لأوراق *E.hypericifolia* فـي تثبـيط النمـو الشـعاعي للفطـرين *Alternaria alternata* و *Fusarium solani* باستخدام طريقة الأنتشار القرصي .

بالنسبة لتأثير المستخلص الكحولي لأوراق النوع ***E.hypericifolia*** جدول **(4-7)** . بينت النتائج أن هنالك زيادة طردية في نسب التثبيط بأزدياد تركيز المستخلص . إذ بلغت النسبة المئوية لتثبيط الفطر ***Alternaria alternata*** **(89,85.3, 81.8, 69.3)** **%** عند التراكيز **(5 ، 10، 15، 20)** ملغرام / مل على التوالي صورة **(8)** ، و**(٣٩) %** نسبة التثبيط بواسطة الكحول المثيلي. في حين كانت النسب المئوية لتثبيط الفطر ***Fusarium solani*** **(61 , 76.7 , 84 , 87.7) %** عند نفس التراكيز وعلى التوالي و **(١٤) %** تثبيط الفطر بواسطة الكحول المثيلي شكل **(9)** . أيضاً بينت نتائج التحليل الإحصائي وجود فروق معنوية عند مستوى احتمالية **0.05** بين جميع التراكيز المختلفة، بين النوع الفطري ، كذلك بين نوع الفطر والتركيز المستخدم في الدراسة .

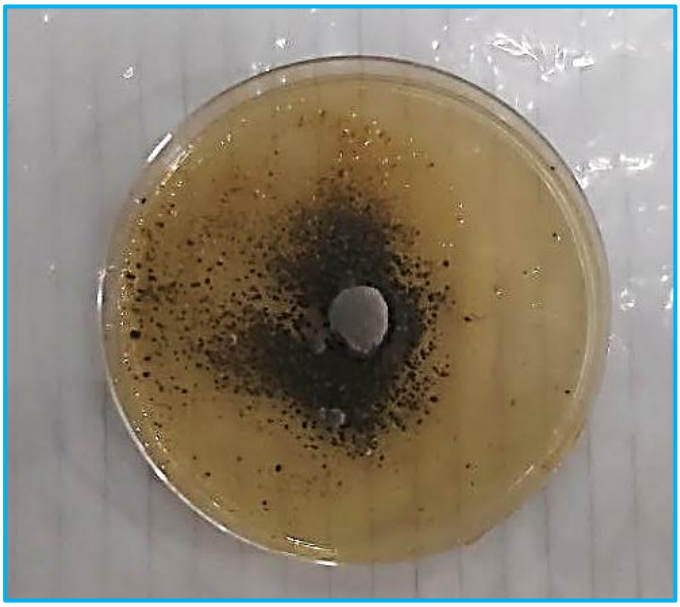
جدول (4-7) تأثير المستخلص الكحولي لأوراق النوع *E. hypericifolia* في تثبيط النمو الشعاعي للفطرين *Alternaria alternata , Fusarium solani* باستخدام طريقة الانتشار القرصي .

التركيز (ملغم/مل)	نوع الفطر		المعدل
	Fusarium solani	*Alternaria alternata*	
	المعدل±الانحراف القياسي		
السيطرة (1)	0.0 ±0.0	0.0±0.0	0.0
السيطرة (2) ميثانول	3.0±14.0	5.0±39.0	26.5
5	4.0±61.0	4.5±69.3	65.2
10	1.5±76.7	1.2±81.8	79.3
15	0.0±84.0	6.3±85.3	84.7
20	0.0±87.7	0.0±89.0	94.5
المعدل	3.7±55.9	2.9±60.8	
قيمة LSD $_{(0.05)}$ لنوع الفطر=1.752			
قيمة LSD $_{(0.05)}$ للتركيز=3.053			
قيمة LSD $_{(0.05)}$ لنوع الفطر*التركيز=4.317			



Euphorbia prostrata ***Euphorbia hypericifolia***

شكل (**9**): معدل تثبيط للفطرين *Fusarium solani* و *Alternaria alternata* بأستخدام المستخلص الكحولي لأوراق النوعين قيد الدراسة بطريقة الانتشار القرصي .



صورة (**8**) : تأثير المستخلص الكحولي لأوراق النوع ***E.hypericifolia*** على الفطر ***A.alternata.*** (طريقة **الانتشار القرصي**) تأثير المستخلص عند التركيز **10** ملغم/ مل

4- تـأثير المسـتخلص الكحـولي لأوراق *E.hypericifolia* فـي تثبـيط النمـو الشـعاعي للفطـرين *Alternaria alternata* و *Fusarium solani* باستخدام طريقة الحفر (Well) .

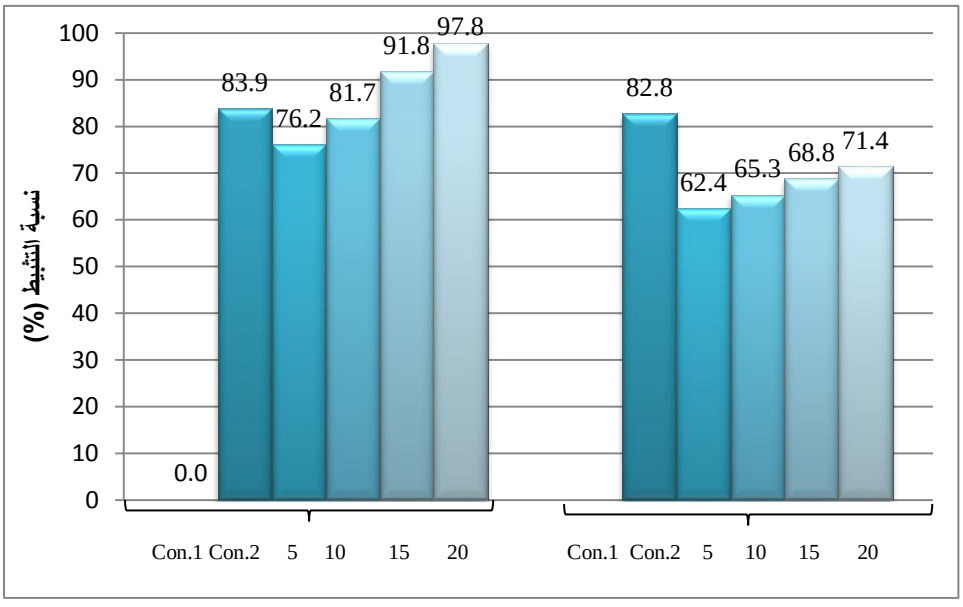
أظهـــرت النتـــائج المبينـــة فـــي الجـــدول **(4-8)** شـــكل **(10)** وبأســـتخدام طريقـــة **Well** أن للمسـتخلص الكحـولي لأوراق ***E.hypericifolia*** نشـاط فـي تثبـيط النمـو للفطريـات المختبـرة، حيـث أظهـر المسـتخلص نشـاطاً تثبيطيـاً بنسـب مئويـة تتناسـب طرديـاً مـع الزيـادة فـي تركيـز المسـتخلص النبـاتي وعكسـياً مـع معـدل أقطـار النمـو للمسـتعمرات الفطريـة . إذ بلغـت النسـبة المئويـة لتثبـيط نمـو الفطـر ***A.alternata*** **(67.4 , 70.9 , 74.4 , 75.7) %** عنـد التراكيـز **(5 , 10 , 15 , 20)** ملغـرام / مـل علـى التـوالي، بينمـا بلغـت نسـبة التثبـيط للكحـول المثيلـي **(88.8)%** . امـا الفطـر ***F. solani*** فقد كانـت النسـب المئويـة لتثبيط النمـو **(54.9 , 56.9 , 60.5 , 64.9) %** عنـد نفـس التراكيـز وعلـى التـوالي صـورة **(9)** ، مـع نسـبة تثبـيط للنمـو الفطـري باسـتخدام الكحـول المثيلـي بلغت **(78.8) %.**

وأظهرت نتائج التحليل الاحصائي أن هنالك فروقاً معنوية بين كل من التراكيز المستخدمة ، نوع الفطر ، كذلك بين نوع الفطر والتركيز .

صورة **(9) :** تأثير المستخلص الكحولي لأوراق النوع ***E.hypericifolia*** للفطر ***F.solani*** .
(طريقة الحفر **Well**) تأثير المستخلص عند التركيز بتركيز **20** ملغم/ مل

جدول رقم (4-8) تأثير المستخلص الميثانولي لأوراق النوع *E. hypericifolia* في تثبيط نمو الفطرين *Alternaria alternata , Fusarium solani* باستخدام طريقة الحُفر (Well) .

التركيز (ملغم/مل)	نوع الفطر		المعدل
	Fusarium solani	*Alternaria alternate*	
	المعدل±الانحراف القياسي		
السيطرة (1)	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0
السيطرة (2) ميثانول	8.1±78.8	0.0±88.8	82.8
5	5.5±54.9	1.1±67.4	62.4
10	4.4±56.9	1.2±70.9	65.3
15	3.1±60.5	0.6±74.4	68.8
20	2.3±64.9	5.4±75.7	71.4
المعدل	2.9±50.79	6.3±61.3	
قيمة $LSD_{(0.05)}$ لنوع الفطر=2.044			
قيمة $LSD_{(0.05)}$ للتركيز=3.131			
قيمة $LSD_{(0.05)}$ لنوع الفطر*التركيز=4.062			



Euphorbia prostrata ***Euphorbia hypericifolia***

شكل (10): معدل تثبيط نمو الفطرين ***Fusarium solani*** و ***Alternaria alternata*** بأستخدام المستخلص الكحولي لأوراق النوعين قيد الدراسة باستخدام طريقة الحفر **(Well)** .

صورة (**10**) : المعدل التثبيطي للكحول المثيلي ضد الفطرين
A: F.solani ***B: A.alternata***

بشكل عام عند المقارنة الاحصائية عند مستوى احتمالية **0.05** بين المستخلص النباتي وبين التأثير المثبط للكحول المثيلي اتضح أن للمستخلص النباتي تأثيراً تثبيطياً عالياً مقارنة مع التأثير المثبط للكحول المثيلي .

تبين من النتائج أن معدل التثبيط الفطري للمستخلص الكحولي لأوراق ***E. prostrata*** للفطر ***F. solani*** **56.7 %** و **64.4 %** للفطر ***A .alternata*** بطريقة النمو الشعاعي جدول **(4-5)** . أما باستخدام طريقة الحُفر **(Well)** فكان معدل التثبيط الفطري للفطر ***A. alternata*** **74 %**و **70 %** للفطر ***F. solani*** جدول **(4-6)** . بينما كان معدل التثبيط الفطري لمستخلص أوراق النوع ***E.hypericifolia*** بطريقة النمو الشعاعي **56 %** للفطر ***F. solani*** و **64 %** للفطر ***A.alternata*** جدول **(4-7)** . وباستخدام طريقة الحُفر **(Well)** بلغ معدل التثبيط لنمو الفطر ***F. solani*** **53 %** و **63 %** للفطر ***A. alternata***.جدول **(4-8)** . وهذه نتائج تؤكد أن المستخلص الكحولي لأوراق النوع ***E .prostrata*** ذو قدرة أعلى في تثبيط النمو للفطرين الممرضين ***A. alternata*** و ***F. solani*** باستخدام طريقة **الانتشار القرصي** وطريقة الحُفر **(Well)**

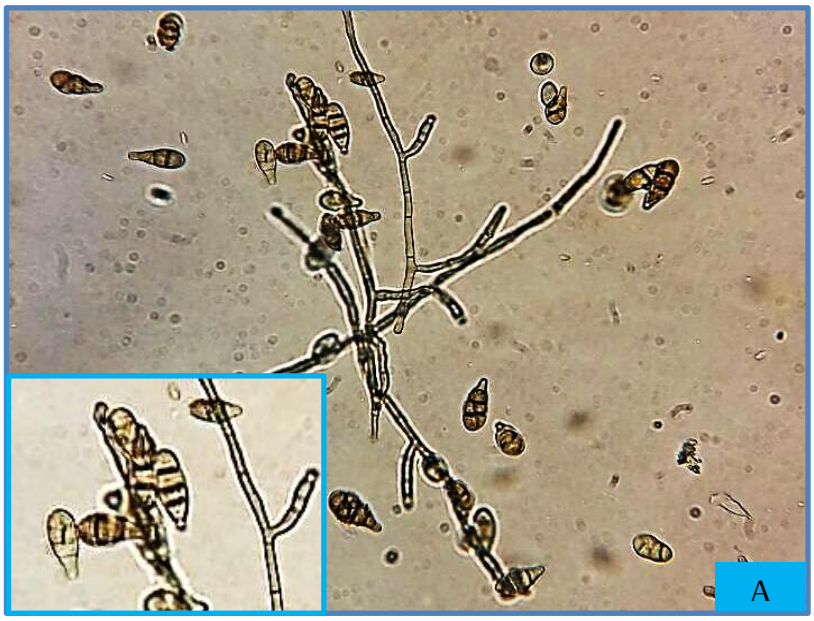
وهذه نتيجة متوافقة مع دراسة **(Zahid , 2019)** حيث أكد في دراسته دور المستخلص الميثانولي للنوع ***E.prostrata*** كمثبط جيد لبعض الفطريات الممرضة .

تبين من نتائج الدراسة للنشاط المضاد للفطريات ، أن نسبة التثبيط تتناسب طردياً مع زيادة تركيز المستخلص النباتي ، وأن نشاط المستخلص الكحولي لأوراق النوع ***Euphorbia prostrata*** تجاه كل من السلالتين الفطريتين ***Alternaria alternata*** و ***Fusarium solani*** جيداً بأستخدام طريقة الحفر **(Well)** مقارنة بطريقة الانتشار القرصي .

وبينت النتائج أن للفطر ***Alternaria alternata*** حساسية أعلى تجاه المستخلص النباتي من ***Fusarium solani*** . وهذه النتائج تؤكد وجود مركبات عدة ذات الفعالية البيولوجية (مستقلبات ثانوية) في أوراق النبات المدروس والتي تم الكشف عنها خلال الدراسة ، منها الصابونيات **(Saponions)** ، القلويدات **(Alkaloids)** ، الفلافونويدات **(Flavonoids)** ، **(Polyphenols)** ، الكلايكوسيدات **(Glycosides)** التانينات **(Tannins)** .والتي لها دور فعال كمضاد للفطريات وهذا متوافق مع دراسة **(Jassim,2017)** و **(Savluchinske *et al* ., 1997)** . كذلك ذكر **(Cowan,1999)** قدرة الكحول على استخلاص المركبات الفعالة كالقلويدات ،الفينولات ،الفلافونيدات والتانينات أكثر من الماء ، إذ أن هذه المركبات تمتلك فعالية مضادة للفطريات ، فضلاً عن ذلك تعمل هذه المركبات على ترسيب بروتين الخلية من خلال قدرتها على الاتحاد معه فتغيرمن طبيعته كما تعمل على تحلل أغشية الخلية الحية لكونها مذيباً جيداً للمواد الدهنية مما يؤدي الى خروج محتويات الخلية للخارج فتموت الخلية الفطرية **(Tylor and Osborne ,1996).**

واشار كل من **Gills (1992)** و **Kivanes and Akgul (1996)** أن الفعل المثبط لبعض المستخلصات النباتية ضد الكائنات الحية المجهرية قد يكون في احتواؤها على زيوت اساسية غنية

بالمركبات الفعالة المضادة للفطريات والتي تذوب في الكحول ولا تذوب في الماء كما اتضح ذلك من الكشف الكيميائي للمستخلص النباتي والذي يحتوي على مواد فعالة ذات اهمية كبيرة .



صورة **(11)** : صورة مجهرية للفطريات المختبرة

Alternaria alternata :A
Fusarium solani :B

2-3-4 : اختبار كفاءة تراكيز مختلفة من المستخلص الميثانولي لأوراق النوعين *E. prostrata* و *E. hypericifolia* في تثبيط النمو الشعاعي للبكتريا .

بالنسبة لفعالية المستخلص الكحولي كمضاد بكتيري ، أثبتت نتائج الدراسة الحالية والمبينة في جدول (**4- 9** و **4-10**) (**شكل 11** و **12**) فعالية المستخلص الميثانولي للنباتات المدروسة في تثبيط نمو البكتيريا الممرضة السالبة والموجبة الصبغة ، والتي اعتمدت على نوع المستخلص النباتي بالإضافة الى نوع العزلة البكتيرية . وقد أظهرت المستخلصات النباتية نشاطاً تثبيطياً جيداً ضد النمو البكتيري .

إذ بلغت معدلات أقطار مناطق التثبيط لمستخلص أوراق النوع ***E. prostrata*** للبكتريا ***Proteus vulgaris*** (**13.75 , 17 , 18.75 , 21.75**) ملم للتراكيز (**5 , 10 , 15 , 20**) ملغرام / مل على التوالي صورة **(12A)** . بينما بلغت معدلات اقطار مناطق التثبيط ***Pseudomonas aeruginosa*** (**14.25 , (18.25, 21.75, 24.75)** ملم للتراكيز (**5 , 10 , 15 , 20**) ملغرام / مل على التوالي صورة **(13A)** ، اما ***Staphylococcus aureus*** فقد بلغت معدلات اقطار مناطق التثبيط **(18.25 , 21.5 , 24.75 , 30.25**) ملم صورة **(14A)** ، في حين كانت معدلات اقطار مناطق تثبيط ***Streptococcus viridans*** (**22.25 , 26 , 29.5 , 32.75**) ملم عند نفس التراكيز المشار لها صورة **(15A)**.

أمامعدلات اقطار التثبيط باستخدام المستخلص الكحولي لأوراق النوع ***E.hypericifolia*** ضد الأنواع البكتيرية المدروسة عند التراكيز **(5 , 10 , 15 , 20)** ملغرام / مل . بلغت **(8.25 , 15 , 17.5 , 20.75)** ملم ضد البكتريا ***Proteus vulgaris*** صورة **(12B)**، و(**12 , 17 , 18.75 , 21.25**) ملم للبكتريا ***Pseudomonas aeruginosa*** صورة **(13B)** (**16.5 , 20.5 23.75 , 26.25**) ملم للبكتريا ***Staphylococcus aureus*** صورة **(14B)**، في حين بلغت معدلات أقطار التثبيط (**18.25 , 22.25 , 25.5 , 30.75**) ملم ضد البكتريا ***Streptococcus viridans*** صورة **(15B)**.

كما لوحظ تغاير في تأثير المستخلص الكحولي للنبات الواحد بين البكتريا السالبة والموجبة لصبغة كرام . فعند التركيز **(20)** ملغرام / مل، بلغ معدل قطر التثبيط للمستخلص الكحولي للنوع ***E.prostrata*** ضد البكتريا السالبة لصبغة كرام **(*Pro.vulgaris* , *Pse.aeruginosa*)** **(21.8 ، 24.8)** ملم على التوالي . في حين بلغ معدل قطر التثبيط للبكتريا الموجبة الصبغة **(** ***Sta. aureus*** و ***Str. viridans*** **)** **(30.3 ، 32.8)** ملم **.**

أما تأثير المستخلص الكحولي للنوع ***E.hypericifolia*** فقد بلغ معدل قطر التثبيط للبكتريا السالبة لصبغة كرام **(** ***Pro.vulgaris* , *Pse.aeruginosa*** **)** **(20.8 ، 21.3)** ملم على التوالي . في حين بلغ معدل قطر التثبيط **(26.3 ، 30.3)** ملم بالنسبة للبكتريا الموجبة الصبغة **(** ***Sta. aureus*** و ***Str. viridans*** **)**. شكل **(9,8)** .

اتضح من نتائج الدراسة أن العلاقة طردية من حيث تأثير التراكيز في النمو البكتيري ، فقد لُوحظ ازدياد نسبة النشاط المثبط للنمو البكتيري مع ازدياد التراكيز المختبرة . وعند عمل مقارنة إحصائية بين النشاط المثبط للنباتين قيد الدراسة وجد أن المستخلص الكحولي لأوراق النوع ***E.prostrata*** ذو تأثير أعلى كمثبط لنمو البكتيريا المختبرة مقارنة بالنوع ***E.hypericifolia*** اذ بلغت معدلات اقطار مناطق التثبيط للبكتريا ***Pro.vulgaris* , *Pse.aeruginosa* , *Sta.aureus*** و ***Str.viridans*** ولجميع التراكيز المستخدمة **(14.6 ، 15.8 ، 18.9 ، 22.1)** ملم على التوالي بينما بلغت معدلات أقطار التثبيط للمستخلص الكحولي لأوراق النوع ***E.hypericifolia*** **(12.3 , 13.8 , 17.4 , 19.3)** ملم عند نفس التراكيز . وهذه نتائج مشابهه لدراسة **(Voukeng *et.al* ,2017)** و**(Dashamiri *et.al,* 2018)** إذ أكدوا في الدراسه أن للنوع ***E.prostrata*** فعالية عالية كمضاد بكتيري خاصة ضد البكتريا

Pseudomonas aeruginosa و ***Staphylococcus aureus*** وهي ضمن الانواع تحت الدراسة ، وهذا يعود للمكونات الكيميائية ذات الفعالية الجيدة . جدول **(4-9** و **4-10)** .

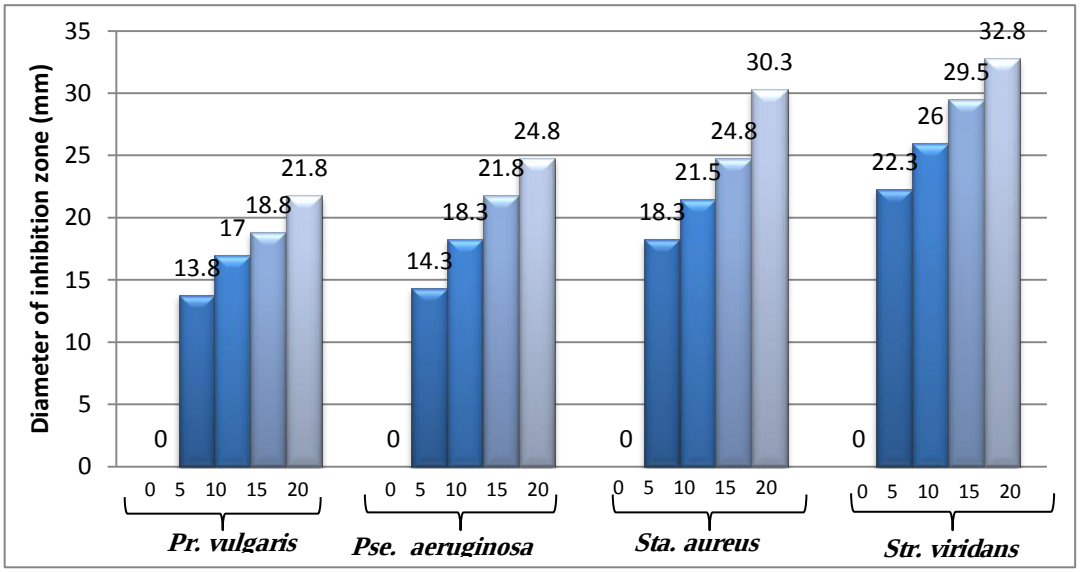
وأظهرت النتائج أن المستخلص الكحولي لأوراق النوع ***E.prostrata*** كان أكثر فاعلية ضد البكتريا ***Str.viridans*** ، وأقل فاعلية ضد البكتريا ***Pro. vulgaris*** عند التركيز **(20)** ملغم/ مل .

جدول **(4-9):** تأثير المستخلص الكحولي لأوراق النوع ***E. prostrata*** في تثبيط نمو أنواع البكتيريا المدروسة .

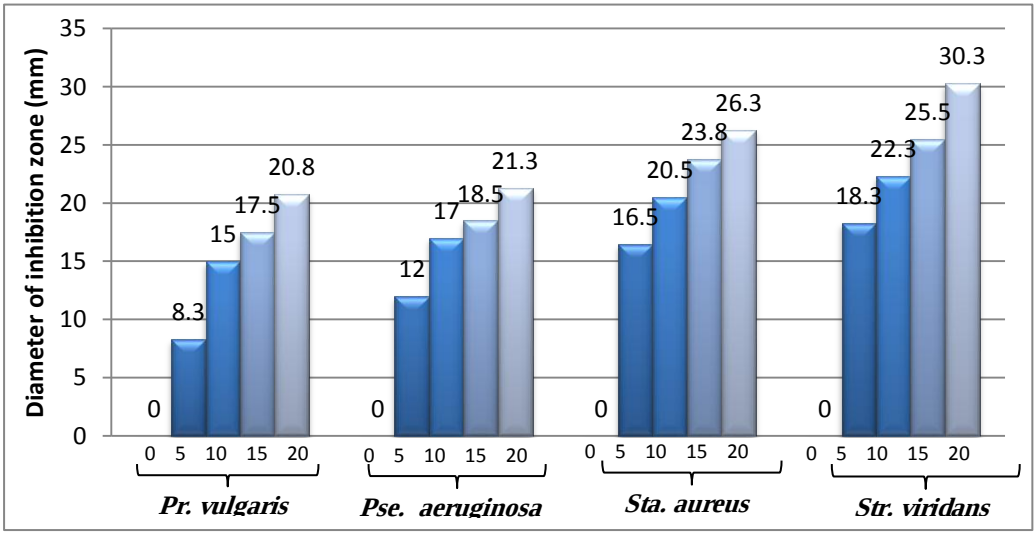
التركيز (ملغم/ مل)	نوع البكتريا				المعدل
	البكتريا السالبة لصبغة كرام		البكتريا الموجبة لصبغة كرام		
	Pro. Vulgaris	*Pse. aeruginosa*	*Sta. aureus*	*Str. Viridans*	
	المعدل±الانحراف القياسي				
0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
5	1.7±13.8	2.4±14.3	1.7±18.3	1.0±22.3	3.1±17.1
10	2.4±17.0	0.4±18.3	2.8±21.5	1.4±26.0	4.1±20.7
15	3.1±18.8	4.9±21.8	0.6±24.8	3.5±29.5	4.2±23.7
20	2.4±21.8	4.2±24.8	3.5±30.3	1.6±32.8	5.5±27.4
المعدل	4.8±14.6	4.4±15.8	3.8±18.9	2.6±22.1	
قيمة LSD $_{(0.05)}$ لنوع البكتريا =2.653					
قيمة LSD $_{(0.05)}$ للتركيز= 2.966					
قيمة LSD $_{(0.05)}$ لنوع البكتريا*التركيز= 5.932					

جدول **(4-10):** تأثير المستخلص الكحولي لأوراق نبات ***E.hypericifolia*** في تثبيط نمو أنواع البكتريا المدروسة .

التركيز (ملغم/مل)	نوع البكتريا				المعدل
	البكتريا السالبة لصبغة كرام		البكتريا الموجبة لصبغة كرام		
	Pr. Vulgaris	*Pse. Aeruginosa*	*Sta. aureus*	*Str. viridans*	
	المعدل±الانحراف القياسي				
0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
5	1.4±8.3	3.5±12.0	1.4±16.5	1.1±18.3	2.2±13.8
10	1.1±15.0	0.4±17.0	2.8±20.5	1.7±22.3	3.8±18.7
15	4.2±17.5	4.9±18.5	0.4±23.8	1.4±25.5	4.4±21.3
20	2.4±20.8	3.1±21.3	2.8±26.3	1.7±30.3	4.2±24.6
المعدل	1.5±12.3	1.2±13.8	4.6±17.4	4.6±19.3	
قيمة LSD $_{(0.05)}$ لنوع البكتريا= 2.894					
قيمة LSD $_{(0.05)}$ للتركيز=3.236					
قيمة LSD $_{(0.05)}$ لنوع البكتريا*التركيز=6.472					



شكل **(11)** متوسط أقطار مناطق التثبيط لمستخلص أوراق النوع *E.prostrata* ضد البكتريا المختبرة المختبرة .



شكل **(12)** متوسط أقطار مناطق التثبيط لمستخلص أوراق النوع *E.hypericifolia* ضد البكتريا المختبرة.

صورة **(12)** : مقارنة تأثير المستخلص الكحولي للأوراق ضد البكتريا *Proteus vulgaris*
E.hypericifolia **: B** *E. prostrata* **: A**

صورة **(13) :** مقارنة تأثير المستخلص الكحولي للأوراق ضد البكتريا *Pseudomonas aeruginosa*
E.hypericifolia **: B** *E.prostrata* **: A**

صورة **(14) :** مقارنة تأثير المستخلص الكحولي للأوراق ضد البكتريا *Staphylococcus aureus*
E.hypericifolia **: B** *E.prostrata* **: A**

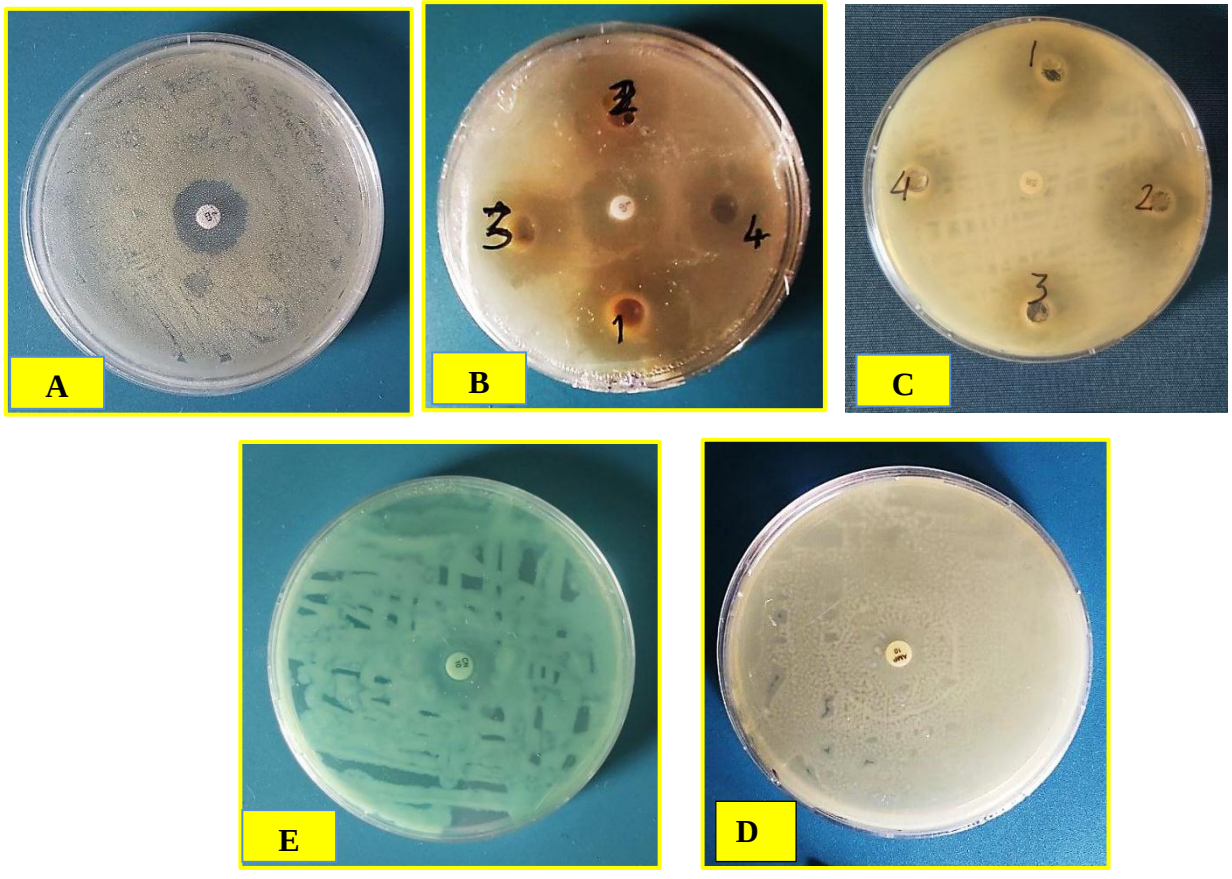
صورة **(15) :** مقارنة تأثير المستخلص الكحولي للأوراق ضد البكتريا *Streptococcus viridans*
E.hypericifolia **: B** *E.prostrata* **: A**

4-3-3 : دراسة مقارنة التأثير التثبيطي للمستخلص الكحولي (الميثانولي) للنباتات المدروسة مع المضادات الحيوية البكتيرية المختبرة .

أُجري خلال الدراسة الحالية مقارنة تأثير المستخلص الكحولي للنباتات قيد الدراسة مع المضادات الحيوية على البكتيريا المدروسة وقد توصلت نتائج الدراسة الموضحة في جدول **(4-11)** أن هنالك تغايراً في معدل قطر التثبيط . فقد بلغ معدل قطر التثبيط للمضاد الحيوي **Ampicilin** ضد البكتريا ***Proteus vulgaris*** **(18.3)** ملم و **(19.5)** ملم للمضاد **Gentamycin** للبكتريا ***Pseudomonas aeruginosa*** وهذه نتيجة مقاربة لدراسة (**محسن** ، **2011**) في حين كانت (**10**) ملم للمضاد **Vancomycin** ضد البكتريا ***Stapylococcus aureus*** ، في حين كان معدل قطر التثبيط للمضاد الحيوي **Clindamycin** (**21.5**) ملم للبكتريا ***Streptococcus viridans*** . وعند المقارنة مع التأثير التثبيطي للمستخلص الميثانولي لوحظ أنه عند التركيز الاعلى (٢٠) ملغرام / مل للمستخلص بلغ معدل قطر التثبيط **(21.8 , 20.8)** ملم ضد البكتريا سالبة الصبغة ***Proteus vulgaris*** و **(21.3, 24.8)** ملم للبكتريا ***Pseudomonas aeruginosa*** للنوعين ***Euphorbia prostrata*** و ***Euphorbia hypericifolia*** على التوالي . كذلك سجلت النتائج تبايناً بين تأثير المستخلص والمضاد الحيوي ضد البكتريا الموجبة لصبغة كرام ، فقد بلغ معدل قطر التثبيط لمستخلص النوعين تحت الدراسة **(26.3 , 30.3)** و**(30.3 , 32.8)** ملم ضد البكتريا ***Staphylocous aureus*** ، ***Streptococcus viridans*** على التوالي صورة **(16)**. من الناحية الأحصائية تبين أن هنالك فروقاً معنوية بين البكتريا المختبرة وبين التراكيز لمستخلص النبات ***E.prostrata*** و ***E.hypericifolia*** . عند مستوى معنوية **0.05** .

جدول **(4- 11)** معدل قطر منطقة التثبيط للمضادات الحيويه .

No.	Type of bacteria	نوع المضاد الحيوي Type of Antibiotic	قطر منطقة التثبيط (مليمتر .mm)
1	*Proteus vulgaris*	Ampicilin	18.3
2	*Pseudomonas aeruginosa*	Gentamycin	19.5
3	*Staphylocous aureus*	Vancomycin	10
4	*Streptococcus viridans*	Clindamycin	21.5



صورة (16) : تأثير المضاد الحيوي ضد البكتريا المختارة .
Gentamycin : E Ampicilin :D . Vancomycin **: C** . Clindamycin **: B +A**

فمن النتائج الموضحة أعلاه نستنتج أن للمستخلص الكحولي تأثير أقوى في تثبيط نمو البكتريا مقارنة بالمضادات الحيوية المستخدمة وبالتحديد عند التركيز الأعلى للمستخلص ، قد يُفسر ذلك لوجود بعض المركبات في المستخلص النباتي لها الفة كيميائية للتفاعل مع مكونات الخلية ولوجود مستلمات ونواقل مناسبة في جدرانها لنقلها الى داخل الخلية ولذلك سوف يتم ايقاف عمل الانزيمات والجزيئات البيولوجية النشطة فيها . **(Mohsen, 2011)** .

وأوضحت النتائج التباين بين حساسية البكتريا السالبة والموجبة الصبغة تجاه المستخلص النباتي حيث أظهرت البكتريا الموجبة لصبغة الكرام حساسية أعلى من البكتريا السالبة لصبغة كرام. لوحة **(5)** . يمكن وصف سبب الحساسية للاختلافات المورفولوجية في أغلفة هذه الكائنات الحية الدقيقة. إذ تمتاز البكتريا سالبة الصبغة بإمتلاكها جداراً خلوياً ذا تركيب معقد مكون من أغشية خارجية رقيقة التي تمنح المقاومة للمركبات الكارهة للماء بالاضافة الى ان هذه الطبقة مكون لبيدات فوسفاتية وسكريات دهنية وهي مسؤولة عن زيادة الشحنة السالبة للأغشية الخلوية وحيويتها حيث تجعل الجدار غير نفاذ للمواد المضادة للميكروبات **(Ahmad and Beg, 2001)** . **(Jassim *et.al*, 2021)** .

مما تقدم من نتائج أوضحت الدراسة الحالية أن هنالك اختلافاً واضحاً بين النوعين ***E.prostrata*** و ***E.hypericifolia*** في الفعالية التضادية للفطريات والبكتريا **Antimicrobial activities** ، وقد أستندت النتائج الحالية على دراسات سابقة عدة أوضحت فيها الاختلاف بين أنواع الجنس ***Euphorbia*** من حيث **Antimicrobial activities** وأن هذه الخصائص ربما تنشأ من التركيب الجيني للأنواع النباتية ، المكونات الفيزيائية والحيوية والاختلافات الكيميائية في المستخلصات النباتية والمذيبات والكائنات الدقيقة المختبرة . فضلاً على أن بعض الأنواع تمتلك مكونات كيميائية مختلفة وبتراكيز مختلفة أيضاً **(Kirbag *et.al*, 2013)**. وهذه نتائج متوافقة مع دراسة **(Kengni *et.al*, 2013)** ودراسة **(Prabha and Rayan , 2018)** تؤكد أهمية المستخلص الأيثانولي للنوع ***E.prostrata*** .

وقد يعود اختلاف درجة التأثير المثبط لمستخلص النباتات المدروسة في الأحياء المجهرية قيد الدراسة الى عوامل مختلفة كطبيعة المذيب القطبي المستخدم وكذلك طريقة وظروف الاستخلاص . وقد يعود السبب الى عدم قابلية الغشاء الخلوي على نفاذية تلك المواد الموجودة في المستخلص فيؤدي الى ضعف في التأثير الفعال على الانزيمات والبروتينات الموجودة داخل الخلية والتي هي من المواد الفعالة والضرورية في النمو والتكاثر **(Dylan , 2009 ; Al-Jasim and Barakat , 1973).**

خلال النتائج الحالية يمكن ملاحظة أن جميع الكائنات الحية الجرثومية والتي تمت دراستها قد تأثرت لكن بدرجات متفاوتة . معتمداً بذلك على كمية المركبات الفعالة الموجودة في نوع المستخلص النباتي كالفلافونويدات والمعروفة بنشاطها المضاد للميكروبات **(Pohl *et.al* , 1975) ، (Gatto *et al.* , 2002)** . إضافة الى قدرتها في تكوين بروتينات معقدة مع مكونات الجدار الخلوي ، كذلك فان الفلافونويدات المحبة للدهون تعرف بقدرتها الكبيرة على تمزيق الاغشية للكائنات الحية الجرثومية **(Papp, 2004)** .

الاستنتاجات : Conclusions

١. بينت نتائج التحليل الكيميائي بتقنية **GC-MS** أنَّ المستخلص الميثانولي لأوراق النبات ***E.prostrata*** ذو فاعلية تثبيطية عالية تجاه الفطريات والبكتريا المدروسة مقارنة بالمستخلص الميثانولي لأوراق النبات ***E.hypericifolia*** اذ يحوي مستخلص النوع ***E.prostrata*** على ما يقارب **(15)** مادة كيميائية ذات فعالية بيولوجية معروفة مقارنة بمستخلص النوع الثاني الذي يحوي على **(7)** مواد فقط.

٢. بينت النتائج أن المستخلص الميثانولي ذو فعالية أقوى كمضاد للأكسدة مقارنة بالمذيبات الأخرى المستخدمة ، وأن المستخلص الميثانولي لأوراق النوع ***E.prostrata*** ذو فعالية أقوى كمضاد للأكسدة وكمثبط لنمو البكتريا والفطريات قيد الدراسة من المستخلص الميثانولي لأوراق النوع ***E.hypericifolia*** .

٣. أُثبت من النتائج أن الفطر ***A.alternata*** كان أكثر حساسية تجاه المستخلص الميثانولي مقارنة بالفطر ***F.solani*** . وطريقة الانتشار بالحفر **(Well)** ذات نتائج تثبيطية أفضل من طريقة الانتشار القرصي . كذلك أظهرت البكتريا الموجبة لصبغة كرام تحسساً تجاه المستخلص مقارنة مع البكتريا السالبة الصبغة . أيضاً كشفت النتائج الحالية أن البكتريا الموجبة لصبغة گرام ***Str.viridans*** كانت أكثر تحسساً للمستخلص الكحولي لأوراق النوعين المدروسة من بقية أنواع البكتريا المختبرة .

التوصيات : Recommendation

١-بيـــــان تـــــأثير المستخلصـــــات الكحوليـــــة للنـــــوعين ***E. prostrata*** و ***E.hypericifolia*** علـــى أنـــواع أخـــرى مـــن العـــزلات الفطريـــة والبكتيريـــة لتقيـــيم الفعالية المضادة للميكروبات.

٢- اســتخدام طــرق حديثــة أخــرى فــي تنقيــة وعــزل وتشــخيص المركبــات الكيميائيــة الفعالـــة والموجـــودة فـــي المستخلصـــات النباتيـــة لدراســـة قـــدرة نشـــاطها المضـــاد للميكروبات .

٣- تنقيـــة المكونـــات ذات الفعاليـــة البيولوجيـــة للمستخلصـــات النباتيـــة المدروســـة واختبار التأثير السمي لها على الاحياء المجهرية .

٤-البحـــث عـــن نباتـــات محليـــة اخـــرى تعـــود لـــنفس العائلـــة ودراســـة الفعاليـــة البيولوجية للإفادة منها كبدائل علاجية ضد امراض مختلفة .

٥-إمكانيـــة اســـتخدام النبـــات ***E.prostrata*** فـــي تجـــارب الحيوانـــات المختبريـــة لتقييم الفعالية التثبيطية والسمية للنبات .

صور حقلية للنوع ***E.prostrata***

صور حقلية للنوع ***E.hypericifolia***

صور حقلية لأوراق وجذور نبات الخيار *Cucumis sativus* مصابة بالفطر *Fusarium*

المصادر العربية :

- **الحكيم ، وسيم ; عماد القاضي ; غفران قطاش ; عبد الباسط عودة وعكو برهان (2008) .** أطلس نباتات البادية السورية . المركز العربي لدراسات المنطقة الجافة والأراضي القاحلة ، أكساء جامعة الدول العربية : 806 -807 صفحة .
- **الصليبي ، أزهار ، طاهر (2015)** . دراسة تصنيفية حياتية مقارنة لأنواع من الجنس *Euphorbia* L. (Euphorbiaceae) في العراق . رسالة ماجستير ، جامعة بغداد .
- **الطائي ، أسيل محمد عمران (2017)** . توصيف المركبات الفعالة في نبات الشويل Cressa cretica L. وتأثيرها في الفطريات المعزولة من ألتهاب الأذن الخارجية .
- **الموسوي ، علي حسين (1987)** . علم تصنيف النبات ، الطبعة الأولى ، دار الكتب للطباعة والنشر ، جامعة الموصل : 379 صفحة .
- المولى ، اصيل حاتم (2011) .
- **جرجيس، ميسر مجيد ورقيب عاكف العاني وإياد عبد الواحد الهيتي (١٩٩٢).** أمراض النبات. جامعة بغداد. صفحة ٥٦٩.
- **شعبان، عواد ونزار مصطفى الملاح. (١٩٩٣).** المبيدات، دار الكتب للطباعة والنشر. جامعة الموصل.
- **شتنشتيرن ، هيرمان و جعفر ، ناصر حسين (١٩٧٢) .** النباتات الطبية ، مطبعة جامعة بابل .
- **فياض، محمد عامر. (١٩٩٧).** استجابة تراكيب وراثية مختلفة من زهرة الشمس ***Heliathus annus L.*** للإصابة **بالفطر Macrophomina phaseolina** ودور بعض الطرق الاحيائية في المقاومة اطروحة دكتوراه . كلية الزراعة . جامعة بغداد.
- **صالح ، رفيق علي (2012)** . أطلس النباتات الطبية والعطرية في الوطن العربي . دمشق – سوريا : المركز العربي لدراسات المناطق الجافة والأراضي القاحلة .
- **محسن ، رنا طالب (2011)** . دراسة الفعالية التثبيطية لبعض المستخلصات العضوية لنبات سرطان الثيل تجاه بكتريا الزوائف الزنجارية والمكورات العنقودية الذهبية خارج الجسم الحي . مجلة الأنبار للعلوم الزراعية ، المجلد : 9 العدد (2) . ISSN : 1992-7479 .
- **عرفه ، عرفه أحمد (2006)** . النبات الأقتصادي . المنصورة – مصر : المكتبة العصرية للنشر والتوزيع .
- **كاظم، سارة كريم والجنابي، جواد كاظم. (٢٠١٣).** دراسة الخصائص المظهرية والمجهرية لأنواع الفطر Fusariumوتأثير الظروف البيئية في نموه وتكاثره.(3)21, Journal of University of Babylon .

References :

- **Abbot, W. S. (1925).** A method of Computing the effectiveness of an insecticide. J. Ent., 18: 265-267.
- **Acuna,U.M.; Atha, D.E.Ma, J.; Nee, M.H. and Kemelly, E.J. (2002).** Antioxidant capacities of ten edible North American plants . Phytother. Res, 16: 63-65.
- **Ade, A.; Amengor , C.D.K. ; Brobbey , A.; Isaac Ayensu, I. ; Harley, B.K.; 3 and Yaw Duah Boakye , Y.D. (2020).** Synthesis and Antimicrobial Resistant Modulatory Activity of 2,4-Dinitrophenylhydrazone Derivatives as Agents against Some ESKAPE Human Pathogens . Journal of Chemistry . Vol. ID 2720697, 9 .
- **Agaiyeoba, E., (2002)** . phytochemical and antibacterial properties of *Parkia biolobosa* and *Parkia biocolor* leaf extracts . Afr.j. biomed. Res. 5: pp 125-129.
- **Agbo, M.O.; Uzor, P.F.; Nneamaka, A.N.; Odurukwe, CH.U. E.; Ogbatue, U.B. and Mbaoji, E.CH. (2015).** Antioxidant , Total phenolic and Flavonoid content of selected Nigerian Medicinal Plants . J. Pharm. Sci. 14(1): 35-41.
- **Ahmad, A. and Beg.A.Z. (2001).** Antimicrobial and phytochemical studies on 45 Indian medical plants against multi drug resistant human pathogens . J. Ethnopharmacol. 74(2): 113-123.
- **Ahmad, N.; Paul, P.; Drew, W. L.; Barth, L.R.; Michael, L. and Charles, R.S. (2014).** Pathogenic fungi. In: Kenneth J.R.; C. George, editors. SHERRIS Medical microbiology. 6th ed. United States: McGraw-Hill Education Pty Ltd.ew journal phytopharm.
- **Ahmed , 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 *Euphorbia prostrata* collected from district Bannu (Pakistan) . African journal of Pharmacy and Pharmacology . Vol. 5(8).Pp. 1175-1178.
- **Ajila, C.M. ; Brar, S.K. ; Verma, M.; Tyagi, R.D. ; Godbout, S. ; Valéro, J.R. (2011) .** Extraction and analysis of polyphenols : resent trends. Crit Rev. Biotechnol. 31(3) : 227-249.
- **Akowauh, G.A.; Zhari, I. ; Norgyati, I. Sadikun, A. and Khamsah, S.M. (2004).** The effect of different extraction solvents of varying polarities on polyphenols of *Orthosiphon stamineus* and evaluation of the free radical-scavenging activity . Food chemistry 87: Pp. 559-566 .
- **Akroum S . Satta D, Lalaan K., (2009)** . Antimicrobial , antioxidant , cylotoxic Activity and Phtochemical screening of Algerian plants Euro J scientific Research Vom 31 N 2PP 289-295 .
- **Al-Jasim,H.A. and Barakat, M.M.(1973).** Effect of some vegetable extracts on the activity of polygalactuorans .J. Sci. food Agric.24:119-121.
- **Al-Maisry, M. (1999).** Effect of oil and alcoholic extract of Azdirachta indica on some pathogenic fungi of plant (Doctoral dissertation, M. Sc. Thesis. Science College, Al-Mustansria University. 1999. p: 120).

- **AL-Mowla, A.H.A.L. .(2011).** Asystematic study of the genera Spergularia (Per.) and Spergula L. (Caryophyllaceae). In Iraq. Thesis , In Arabic .
- **AL-Rawi, A. ; and Chakravarty, H.L. (1964).** Medicinal plants of Iraq . National Herbarium of Iraq : 43-45.
- **Al-Rawi, A., & Chakravarty, H. L. (1964).** Medicinal Plants of Iraq. Tech. Bull, 15, 10.
- **AL-Refahy, L.A.G. (2011).** Study on Flavonoids and Triterpenoids content of some Euphorbiaceae . Journal of Life Science , 5 : 100-107.
- **AL-Taee, A.M.O.(2017).** Characterization of bioactive compounds in Cressa cretica and their effect on fungal otomycosis. Thesis .
- **Andersen, Ø. M. and Markham, K. R. (2006).** Flavonoids Chemistry, Biochemistry and Applications. CRC Press. Taylor & Francis Group, London and New York.
- **Anyasor, G.N. ; Ogunwernmo, K.O.; Oyelana, O.A.and Akpofunure , B.E. (2010).** Phytochemical constituents and antioxidant activities of aqueous and methanolstem extracts of Costus afer KerGawl. (Costaceae).African Journal of Biotechnology .Vol.9(31): 4880-4884.
- **APG 88. (2016) .** An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the order and families of flowering plants : APG**88.** Botanical Journal of the Linnean Society 181: 1-20.
- **APG II. (2003) .** An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the order and families of flowering plants : APG II. Botanical Journal of the Linnean Society 141: 399-436.
- **Aqil F, Khan M.S ; Owais M. and Ahmad I. (2005**). Effect of certain bioactive plant extracts on clinical isolates of beta-lactamase producing methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. Journal of Basic Microbiology, 45: 106-114.
- **Atlas , R M., Brown , A . E., & Parks , L. C. (1995)** . Laborayory manual of experimental microbiology . Mosby- YEAR book. Ine ., USA.
- **Barkhuizen ,B,P.(1978).** Succulent of southern Africa ISTedition. Pp. 82:196.
- **Bazzano , L. Serdula, M.K. (2003) .** Dietaddy inlake of fruits and vegetables and risk of cardiovascular disease Cut ath , rep. Vol.5. Pp. 492-499.
- **Beiranvand, S., Williams, A., Long, S., Brooks, P.R. and Russell, F.D. (2021) .** Use of kinetic data to model potential antioxidant activity: Radical scavenging capacity of Australian Eucalyptus honeys. Food Chemistry, 342, p.128332.

- **Bentham , G. and Hooker , J. D. (1965).** Genera plantarum : ad exemplaria imprimis in Herbariis Kewensibus servata definite , Vol.3. Printed in Germany : 239-340.
- **Bijekar, S. ; Gayatri, M.C. (2014)** . Ethnomedicinal properties of Euphorbiaceae family A comprehensive review . International Journal of Phytomedicine 6 : 144-156.
- **Boissier, E. (1862).** Euphorbieae. In : Candoll, A. L.P.P.de (ed.) Prodromus Syst. Nat. Reg. Veg. 15.V.Masson, : 3-188.
- **Bruyns, P. V. , Mapaya R. J . and Hedderson T. (2006) .** A new subgeneri classification for *Euphorbia* (Euphorbiaceae) in southern Africa based on ITS and pshA-lrnH sequencedata. Taxon 55 (2) : 397-420 . In: Veljić , M.M. ; Rajcevic, N. and Bukvicki , D. (2017). *Euphorbia prostrata* Aiton (Euphorbiaceae) - An adventive species new in Serbia . Botanica serbica . 41(1). : 95-98.
- **Burgess, L. W. (1981).** General ecology of Fusaria. In Fusarium, Diseases, Biology, and Taxonomy (ed. P. E. Nelson, T. A. Toussoun & R. J. Cook), pp. 225-235. Pennsylvania State University Press: University Park. Pennsylvania, U.s.A.
- **Chauhan , A. ; Goyal, M.K. and Chauhan,P. (2014).** GC-MS Technique and its Analytical Applications in Science and Technology . Journal of uoJ Analytical & Bioanalytical Techniques . Volume 5 • Issue 6 • ISSN: 2155-9872 .
- **Chelaiah, M. and Muniappan, A. (2006) .** Medicinnal plants used by traditional healers inKancheepuran District of Tamil Nadu, India . Journalof Ethnobiology and Ethnomedicine , 10 : 1746-4269.
- **Choudhury, D., Ghosh, A., Dhar Chanda, D., Das Talukdar, A., Dutta Choudhury, M., Paul, D., ... & Bhattacharjee, A. (2016).** Premature termination of MexR leads to overexpression of MexAB-OprM efflux pump in Pseudomonas aeruginosa in a tertiary referral hospital in India. PloS one, 11(2), e0149156.
- **Chu, F. S., & Li, G. Y. (1994).** Simultaneous occurrence of fumonisin B1 and other mycotoxins in moldy corn collected from the People's Republic of China in regions with high incidences of esophageal cancer. Applied and environmental microbiology, 60(3), 847-852.
- **Collee, J.C.; Fraser,A.G. ;Mamain, B.P. and immons, 12A. (1996)**. Mackie and Mccartney. Pratical Medical Microbiology. 14th ed. Churchill Livigstone Ine., USA.
- **Cowan, M. (1999).** Plant products as antimicrobial agents. Clin. Microbiol. Rev. 12, 564–582.

- **Daniels , A.O. and Temikotan , T.(2021).** Fatty acid profile, antioxidant and antibacterial effect of the ethyl acatate extract of *cleistopholis patens* . Bulletin of Scientific Research . Vol 3 Iss 1 .
- **Dashamiri, S. ; Ghaedi, M. ; Naghiha, R. ; Salehi, A. ; Jannesar, R. (2018) .** Antibacterial , Antifungal Antifungal and E.coli DNA cleavage of *Euphorbia Prostrate* and *Pelargonium graveolens* and their combination with novel Nanoparticales , Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences ; 54(4): e17724 . http://dx.doi.org/10.1590/s2175-97902018000417724
- **Davis , P.H. (1982).** Flora of Turkey and the east Aegean Islands , vol. 1. Edinburgh University press : 571-629.
- **Devappa, R.K.; Makkar, H.P.; Becker, K. (2010) .** *Jatropha* toxicity- a review. J Toxicol Environ . Health B Crit Rev. , 13: 476-507.
- **Devasagayam , T.P.; Tilak, J.C.; Boloor, K.K.; Sane, K.S.; Ghaskadbi,S.S.; et.al. (2004) .** Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects . J.Assoc.Physicians India , 52: 794-804.
- **Dr.Dukes** phytochemical and Ehnobotanical Databases .U.S. Department of Agriculture , Agricultural Research Service . 1992-2010. Home page , http: //phytochem.nal.usda.gov/ http://dx.doi.org./10.15482/USDA.ADC/1239279.
- **Dylan S.M.(2009).** Extraction of glycosides ,tannins and study their biological activity of Cucurbito maxima ,Degree of Diploma, thesis . Collage of Science University of Al-Anbar.
- **El-Mahy, S.A., (2004).** Chemical constituents of *Euphorbia prostrata* Ait. extract with reference to its biological effect on some crops. Bull . Fac. Agric., 55 : 645-660 .
- **Ernst, M.; Grace, O.M.; Lagoudakis, C.H.S.; Nilsson, N.; Simonsen, H.T. and Rønsted N. (2015).** Global medicinal uses of *Euphorbia* L. (Euphorbiaceae). Journal of Ethnopharmacology **.** DOI:10.1016/J.Jep. 2015.10.025.
- **Ewekeye. T. S., Oke,O.A. ; Quadri , A.I. ; Isikalu, A.O. ; Umenwaniri M.O. and M. L.Durosinmi (2013).** Studies on post harvest deterioration of some fruits and vegetables in selected markets in Lagos State, Nigeria. American Journal of Research Communication,1(10)209-223.
- **Farooq, S. ; Karamat, F. and Chaman, S . (2017).** Physico-Chemical and Phytochemical Analysis of Euphorbia Prostrate , Asian Journal of Organic & Medicinal Chemistry vol 1(4) . pp. 126-131.

- **Ferdosi, M.F.H.; Khan , I.H.; Javaid , A. ; Nadeen, M.; Munir, A. (2021)** .(Natural pesticidal compounds of *Euphorbia prostrate* . Pak. J.Phytopathol. Vol. 33 (02) 349-355.
- **Fosberg, F. R., & Mazzeo, P. M. (1965).** Further notes on Shenandoah national park plants. Castanea, 30(4), 191-205.
- **Frodin, D.G. (2004).** History and concepts of big plant genera .Taxon 53: 753-776.
- **Galbraith, H. Miller , T. ; Paton , A.; Thompson, J. (1971).** Antibacterial activity of long chain fatty acids and the reversal with calcium , magnesium , ergocalciferoland cholesterol.Appl.Microbial . 803-813.
- **Gatto, M.T., Falcocchio S., Grippa E., Mazzanti G., Battinelli L., Nicolosi G., Lambusta D., Saso L. (2002).** Antimicrobial and antilipase activity of quercetine and its C2-C16 3-O-Acyl-Esters. Bioorganic & Medicinal Chemistry. 10: 269-272.
- **Ghanimi, R. ; Ouhammou, A.; EL-Atki, Y.; Bouchari, M.EL.and CHerkaoui, M. (2022).** The Antioxidant Activities of Ethanolic, Methanolic , Ethyl Acetate , and Aqueous Extracts of the Endemic species , Lavandula mairei Humbert (A comparative study between Cold and Hot extraction). Ethiop J. Health Sci. Vol. 32, No. 6 : 1231-1236.
- **Ghobashy, R.S., Elsheekh, M.M., Ismail, G.A. and Gheda, S.F. (2021) .** Biosynthesis of metal nanoparticles using blue-green algae (Cyanobacteria) and their possible applications (M. Sc thesis). International Journal of Cancer and Biomedical Research.
- **Gills, L.S. (1992).** Ethnomedical uses of plants in Nigeria. Uniben Press. Edo. State Nigeria. 212.
- **Govaerts, R. Frodin, D. and Radeliffe-Smith , A. (2000).** World checklist and bibliography of Euphorbiaceae (with Pandaceae), vol.2: 417-921. Royal Bolanic Gardens , Kew.
- **Guest, E., & Townsend, C. C. (Eds.). (1980).** Flora of Iraq (Vol. 4). Royal Botanic Gardens Kew.
- Guimarães ,A. and Venâncio, A. (2022). The Potential of Fatty Acids and Their Derivatives as Antifungal Agents: A Review . Toxins, 14, 188. https://doi.org/10.3390/toxins14030188.
- **Haddouche, R. (2006).** Extraction et Analyse de L'huile Essentielle de *Salvia verbenaca* par CPG, Thèse de licence .

- **Haenel, H., & DAWIDOWS. B. (1961).** MIKROOKOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN ZUM VORKOMMEN VON PROTEUS BEI ERWACHSENEN. ZENTRALBLATT FUR BAKTERIOLOGIE PARASITENKUNDE INFEKTIONSKRANKHEITEN UND HYGIENE ABTEILUNG 1, 182(2), 183.
- **Harbon , J.B.(1984).** Phytochemical Methods: a guide to modern technique of Plant analysis . 2 nd . ed. Chapman and Hall. London. UK.
- **Harborne, J. B. and Turner, B.L. (1984).** Plant Chemosystematics. Academic Press, London, New York.
- **Harborne, J. B., & Turner, B. L. (1984).** Plant chemosystematics**.**
- **Harborne, J.B. (1973).** Phytochemical methods , A guide to modern technique of plant analysis . One edition **.** Chapman and Hall Ltd., London . pp.
- **Hariyadi, D. M. and Sahu , V.K. (2020) .** *Euphrbia Prostrate* extract potent Anti-inflammatory and Anti-arthritic activity in Downregulating the increased expression of Pro-inflammatory cytokines . Pharmaceutical Sciences, 26(4), 370-378.
- **Hashim, Y.Z.H.Y., Ismail, N.I. and Abbas, P.(2014).** Analysis of chemical compounds of agarwood oil from different species by gas chromatography mass spectrometry (GCMS). IIUM Engineering Journal, 15(1).
- **Hashim, Y.Z.H.Y., Ismail, N.I. and Abbas, P., (2014) .** Analysis of chemical compounds of agarwood oil from different species by gas chromatography mass spectrometry (GCMS). IIUM Engineering Journal, 15
- **Heywood,V.H.; Brummitt, R. K.; Culham, A. and Seberg, O. (2007) .** Flowering plant Families of the World . New York, firefly Books: P.144-146 .
- **Horn , J.**W. **; Van Ee, B.W. ; Morawetz, J.J. Riina R. ; Steinmann, V.W. ; Berry , P.E. and Wurdack , K.J. (2012).** Phylogenetics and the evolution of major structural characters in the giant genus *Euphorbia* L. (Euphorbiaceae) . Molecular phylogenetics and evolution . 63 : 305-326. **In:** Veljić , M.M. ; Rajcevic, N. and Bukvicki , D. (2017). *Euphorbia prostrata* Aiton (Euphorbiaceae) - An adventive species new in Serbia . Botanica serbica . 41(1). : 95-98.

  https://doi.org/10.1155/2020/2720697.
- **Humphrets, H. (1997) .** *Staphylococcus*. Skin infection : osteomyelitis: food poisoning foreign body infection , Medical Microbiology 5thED. Churchil Livingston .

- **Husnain, A.; Ali , S.S. ; Zhaeeruddin, Z. and Zafar , R. (2013) .** Phtoremediation of heavy Metals contamination in industrial Waste Water by *Euphorbia Prostrata* , Current Research Journal of Biological Sciences 5(1): 36-41, 2013 .
- **Husnain, A.; Ali, S.S.; Zaheeruddin and Zafar , R. (2013).** Phytoremediation of Heavy metals contamination in industrial waste water by Euphorbia prostrata. Current Research Journal of Biology Sciences 5 (1):36-41.
- **Jackie ; Cindy Lee and Toyama , A. (2020).** Gas Chromatography Mass Spectrometry (GCMS) . First Edition .
- **Jaffer, H.J., Mohamed, M.J., Jawad, A.M., Naj, A. and Al-Naib, A. (1983).** Phytochimical and biological Screening of some Iraqi Plant. Fitoterapialix (in Arabic).
- **Jahan , I.; Tona , M.R. ; Sharmin, S. ; Sayeed , M.A. ; Tania , F.Z. ; Paul , A. ; Chy, MD. N. U. and Ahmed Rakib , A. (2020).** GC-MS Phytochemical Profiling, Pharmacological Properties, and In Silico Studies of Chukrasia velutina Leaves: A Novel Source for Bioactive Agents Talha Bin Emran 2,3,* and Jesus Simal-Gandara . Molecules, 25, 3536; doi:10.3390/molecules25153536. www.mdpi.com/journal/molecules .
- **Jameel M. Badi, Hassan M.ResenArkan M.Majeed,and Mustafa M.Abd Al azak(2016)** . Antimicrobial Activity of Populous Euphratica Leaves Extract on Growth of Some Gram Negative Bacteria, V(34),P(B),N(5).
- **Jassim , Y.**A. **; AL-Amery , Sh.M.H. and Abu-Serag . N.A. (2021) .** Antibacterial effects of al-Aqueous and al-coholic extract of *Colutea cilicica* L. plant . Journal of Cardiovascular Disease Research . ISSN: 0975-3583, 0976-2833 VOL 12, ISSUE 03 . P: 1374-1381.
- **Jassim, N. S. (2017).** Evalution of some plant extract against the growth of *Alternaria alternata* as one of the causal agent of leaf spots disease of Date Palm Phoenix dactylifera L. Basra J. Date Palm Res. 16:.75-91 .
- **Johnson,E.E.; Escobar, L.E.; Zambrana- Torrelio C**. (2019) . An Ecological Framework for modeling the Geography of Disease Transmission . Trends in Ecology &Evolution, 34, 655-668, dio: 10.1016\ j. tree. 03. 004.
- **Judd, W**.S.**; Campbell, C.S.; Kellogg, E.A.; Stevens , P.F. and Donoghue, M.J. (2002) .** Plant systematics : a phylogenetic approach second edition . sinauer assocites inc (Iraqi National Conference) sunderland Massachusetts. 576 pp.
- **Julia A. and Metcalf, (1986)** . Laboratory manual of neutrophil function. Lippincott Williams & Wilkins.
- **Kalpana , V.N. and DeviRajeswari , V. (2019).** Preservatives in Beverages: Perception and Needs . Science of Beverages . Pp: Vol. 15 . Pp : 1-30.

- **Kant1, K. ; Lal, U.R. and Ghosh, M. (2019) .** Antibacterial Activity with Bacterial Growth Kinetics and GC-MS Studies on Leaf and Tuber Extracts of Arisaema tortuosum (Wall.) Schott . Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research | Vol . 53 , Issue 3 .
- **Kavitha , R. and Mohideen , A.M. U. (2017).** Identification Of Bioactive Components and Its Biological Activities Of Abelmoschas moschatus Flower Extrtact - A Gc-Ms Study . IOSR Journal of Applied Chemistry (IOSR-JAC) .e-ISSN: 2278-5736.Vol.10, Issue 11 Ver. I , PP 19-22 . www.iosrjournals.org.
- **Keïta, R. (2002).** Etude de I activité antifongique et antioxydante de 14 plantes utilisées dans le traitement traditionneldes infections sexuellement transmissibles. Thèse Pharmacie , Bamako ; p 107.
- **Keïta, R. (2002).** Etude de I activité antifongique et antioxydante de 14 plantes utilisées dans le traitement traditionneldes infections sexuellement transmissibles. Thèse Pharmacie , Bamako ; p 107 .
- **Kengni, F.; Tala, D.S.; Djimeli, M.N.; Fodouop, S.P.C.; Kodjio, N. ; Magnifouet, H.N. and Gatsing, D. (2013).** In vitro antimicrobial activity of Harungana and Euophrbia prostrata extracts against some pathogenic Salmonella sp. Int.J.Biol. Chem.Sci. 7(3): 1106-1118. http://ajol.info/index.php/ijbes.
- **Khan , A.M.; Qureshi, R.A.; Ullah, F.; Gilani, S.A.; Nosheen, A.; Sahreen, S.; Laghari, M.K.; Laghari, M.Y. ; Shafiq-Ur-Rehman.; Hussain, I. (2011).** ;Murad. Jour. Med. Plants Res. 5(25): 6017-6023. In: Parvez, M. (2014). Biochemical , Enviromental and Medicinal Exploration of Euphorbia prostrate Aiton and Euphorbia granulate Forssk. Ph.D. Thesis, Univ. of Peshawar, Pakistan.
- **khan, R, A.; Shah, A, S. ; Ahmad , M,; Khan , F , U,; Aslam , N, ; Khan , M, R, and Shah , M , S. (2012) .** Phtotoxic activity of crude methanolic extract of *Euphorbia Prostrata* collected from Bannu District (Pakistan) . African Journal of Biotechnology vol. 11(10) , pp. 2513-2517.
- **Kirbag, S.; Erecevit, P.; Zengin, F. and Guvenc, A.N. (2013) .** Antimicrobial activities of some Euphrbia species . African Journal of Traditional , Complementary and Alternative Medicines : AJTCAM. 10(5): 305-309.
- **Kivanec, M. and Akgul, A. (1996).** Antibacterial activities of essential oils from Turkish spices and citrus. Flavour Fragr. J. 1:175-179.
- **Kodicek, E**.; Worden, A. (1945). The effect of unsaturated fatty acids on Lactobacillus helveticus and otherGram- positive micro-organisms. Biochem.J.39,78 [CrossRef]

- **Kraft, J. M., & Pfleger, F. L. (2001).** Compendium of pea diseases and pests (No. Ed. 2). American Phytopathological Society (APS Press).
- **Krashnaveni, M.D. (2016).** Simulation studies of Desulphosinigrin Cyclin Dependent kinase 2.an Anticancer Drug Target. Int. J. Pharma. Sci.
- **Kumar, A, ; Intekhab, J. . (2015) .** phytochemical Studies on *Euphrbia Hypericifolia* . Natura Proda Medica, (5) : 15-18.
- **Kumar, A.; Ilavarasan, R. ; Jayachandran, T. ; Decaraman, M. ; Aravindhan, P.N.; Padmanabhan ; Krishanan, M.R. V. (2009)**. Pak.J.Nut. , 8(1) : 83-85. In : In: Parvez, M. (2014). Biochemical , Enviromental and Medicinal Exploration of Euphorbia prostrate Aiton and Euphorbia granulate Forssk. Ph.D. Thesis, Univ. of Peshawar, Pakistan.
- **Lai, X.Z.; Yang, Y.B.; Shan, X.L.(2004).** The investigation of Euphorbiaceous medicinal plants in southern China . Econ. Bot. ; 58: 307-320.
- **Li, P., Mou, Y., Lu, S., Sun, W., Lou, J., Yin, C., Zhou, L. (2012).** Quantitative determination of diosgenin in Dioscorea zingiberensis cell cultures by microplate-spectrophotometry and high-performance liquid chromatography. Afr. J. Pharm. Pharmacol., 6(15), 1186–1193. https://doi.org/10.5897/AJPP11.440.
- **Linnaeus ,C.(1753).** Species plantarum . –Stockholm; : 1-1200.
- **Lopez, S.E. and Cabral , D. (1999).** ALTERNARIA . Encyclopedia of Food Microbiology . P: 42-49 .
- **Lucas, V. S. ; Beighton, D. and Roberts G.J. (2000).** Composition of the oral streptococcal flora in healthy children 28, 45-50.
- **Ma, Z.; Qiu , SH. ; Chen , H.CH. ; Zhang, D. ; Lu, Y-L. and Chen., X.-L. (2021).** Maleimide structure : a promising scaffold for the development of antimicrobial agents. Journal of Asian Natural Products Research . Vol. 24(1):1-14. doi: 10.1080/10286020.2021.1877675.. Pp:1-14.
- **MacFaddin , J . F. (2000).** Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria , Williams and Wilkins . Philadelphia. PA, 113.
- **Malheiros,A. ; Filho,V.C. ; Schmitt,C.B. ; Yunes,R.A ; Escalante,A. ; Svetaz,L. ; Zacchino,S. and Monache,F.D (2005).** Antifungal activity of drimane sesquiterpenes from *Drimys brasiliensis* using bioassy – guided fractionation. J. Pharm. & Pharmaceut 8(2) : 335-339.

- **Mannheimer, C.A. (1999**). An Overview of chemotaxonomy, and its role in creating a phylogenic classification system. National Botanical Research Institute, Ministry of Agriculture, water and Rural Development, Windhoek , P:87-90.
- **Mansour , M.A. (2000) .** Protective effects of thymoquinone and desferrioxamine against heptatoxicity of carbone tetrachloride in mice .Life Sci. , 66: 2583-2591.
- **Marjetka, K.; TinaK, D. ; majana, D., and Nina, G.C. (2010).** "Morphological Response of the Halophilic Fungal Genus *Wallemia* to High Salinity.54pp."
- **Marounek , M. ; V. Skrivanova , V. and , O. (2002).** Effect of caprylic, capric and oleic acid on growth of rumen and rabbit caecal bacteria . Journal of Animal and Feed Science . 11. 507-516.
- **Mbayo, M. ; Kalonda, M.E.; Kisimba, K.E. Muya, K.; Sangwa, K.G.; Kalubandika, G.M. ; Maseho, M.F.; Mpiana, P.T.; Kahumba, B. ; Lumbu, S.J.B. ; Tshisand , T.P.; Mulamba, M. ; Bakari, S. (2016).** Contribution to ethnobotanical knowledge of some Euphorbiaceae used in traditional medicine in Lubumashi and its surroundings (DRC). Journal of Advance Botany and Zoology. Vol.4 / Issue 2 . ISSN: 2348-7313.
- **Migahid, A. M. (1978)** . Flora of Saudi Arbia Dicotyledons. RiyadhUniversity Publication. 1: 125-153 .
- **Mishra , A. ; Parida, S. (2020) .** Latex of plants : Wonders of nature for its therapeutic and a valuable resourse towards new drug development. International Journal of Botany studies . Vol. 5 ; Issue 6 ; p: 334-338.
- **Mohsen, L. Y., Kadhim, H. J., Janabi, J. K. A. A., & Yassiry, Z. A. N. A. (2017).** Alternative culture media for growth and sporulation of *Trichoderma harzianum*. *Pak. J. Biotechnol*, *14*(4), 587-593.
- **Mohsen.R.T.(2011).** Study of the inhibitory effectiveness of some organic extracts of thyme plant against Pseudomonas aeruginosa and Staphylococcus aureus ex vivo. College of Medicine, Anbar University. ISSN: 1992-7479. Volume (9) Issue (2).
- **Molyneux, P. (2004) .** The use of stable free radical diphenyl picrilhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activirty . Songklanakarin J.Sci.Technol. pp: 211-219 .
- **Moradali, M. F., Ghods, S., & Rehm, B. H. (2017).** Pseudomonas aeruginosa lifestyle: a paradigm for adaptation, survival, and persistence. Frontiers in cellular and infection microbiology, 7, 39.

- **Mujeeb, P.; Bajpai , P. and Pathak, N. (2014).** Phytochemical Evaluation, Antimicrobial Activity and Determination of Bioactive Components from Leaves of Aegle marmelos . Hindawi Publishing Corporation BioMed Research International . Volume 2014, Article ID 497606, 11 pages . http://dx.doi.org/10.1155/2014/497606 .
- **Murray, P. ; Jorgensen, J. H. ; P faller, M. A. and Yolen , R. H. (2003) .** Manual of Clinical Microbiology . 8 Th Edition Washington . D.C.
- **Mutasher, F.K., Aziz, G.M. and Abdul-Razzak, A.A. (2009) .** Chemical detections of active compounds in Melilotus indica extracts. Jornal of Biotechnology Research Center, 3(1).
- **Mwine, J.T.; Van Damme, P. (2011).** Why do Euphorbiaceae tick as medicinal plants ? A review of Euphorbiaceae family and its medicinal features . J Med. Plant Res. ; 5 : 652-662.
- **Nawaz , H.; Aslam, M.; SHahzad, H.; Mehboob, F.; Waheed, R.; Jabeen, R.; Nawaz, M.; and Ahmed, M.Z. (2022).** Comparative evaluation of Phytochemical composition and antioxidant potential of some mrdicinally-important Euphorbiaceous plants . Journal of Animal and plant science , 32(6): Pp: 1703-1712.
- **Neelima, N.; Gajanan, N.; Sudhakar, M. and Kiran, V. (2011).** A Preliminary phytochemical investigation on the leaves of Solanum xanthocarpum. International Journal of Research in Ayurveda & Pharmacy , 2(3).845-850.
- **Nelson, P. E., Toussoun, T. A., & Marasas, W. F. O. (1983).** Fusarium species: an illustrated manual for identification.
- **Nelson, P. E., Toussoun, T. A., & Marasas, W. F. O. (1983).** Fusarium species: an illustrated manual for identification.
- **Noori, M. (2002).** Characterization of Iranian species of *Sophora* and *Ammodendron* (Leguminosae ; Sophoreae) , PhD Thesis , University of London and Royal Botanic Gardens , Kew, UK
- **Noori, M. ; Chehreghani, A. ; Kaveh M. (2009) .** Flavonoids of 17 species of *Euphorbia* (Euphorbiaceae) in Iran . Toxicological and Environmental Chemistry . Vol. 1, No. 4, 631-641.
- **Pal, M.**; **Misra, K. ; Dhillon, G.S. ; Brar, S.K. and Verma, M. (2014)** . Antioxidants . In book : Biotransformation of Waste Biomass into High Value Biochemicals .

- **Palanisamy , M. ; Laszlo , G.; Panneer , S.K.; Subramanian, SH.C.; Sandor , K.; Csaba , V. ; Venkatapathy , N. and Laszlo , K. (2011).** "Fusarium". In Liu, Dongyou (ed.). Molecular Detection of Human Fungal Pathogens. Boca Raton: CRC Press. pp. 418–424. ISBN 9781439812402.
- **Papp, N.(2004).** Antimicrobial activity of extracts of five Hungarian Euphorbia species and some plant metabolits. Acta Botanica Hungarica. 46(3-4): 363-371.
- **Parsa, A. (1949) .** Euphorbiaceae . Flore de I Iran . Vol. 4. Tehran Univ. Press, Pp. 1206-1284.
- **Patra, J.K.; Das, G.; Baek, K. (2015)** . Chemical composition and antioxidant and antibacterial activities of an essential oil extracted from an edible seaweed, *Laminaria japonica* L. Molecules, 20, 12093–12113.
- **Patriarca, A. (2016).** Alternaria in food products. Currrent Opinion in Food Science 11, 1-9, dio: 10. 1016\ j. cofs. 2016.08.007.
- **Peirson , J. A. ; Bruyns , P.V. ; Riina , R. ; Morawetz , J. J. and Berry, P. E. (2013) .** A molecular phylogeny and classification of the largely succulent and mainly African *Euphorbia* subg. Athymalus (Euphorbiaceae). Taxon 62(6): 1178-1199. **In:** Veljić , M.M. ; Rajcevic, N. and Bukvicki , D. (2017). *Euphorbia prostrata* Aiton (Euphorbiaceae) - An adventive species new in Serbia . Botanica serbica . 41(1). : 95-98.
- **Perumal, G. M. ; Prabhu, K. ; Mrk, R. ; Janaki, C. S. ; Kalaivannan, J. ; Kavimani, M. (2021)** : The GC-MS Analysis of Ethyl Acetate extract of one Herbal Plant, ***Euphorbia Hypericifoia*** . Nat . Volatiles & Essent . Oils; 8(5): 4078-4083 .
- **Phongpaichit,S. ; Nikom, J. ; Rungjindamai, N. ; Sakayaroj, J. ; Hutadilok-Towatana, N. ; Rukachaisirikul, V. and Kirtikara, K. (2007).** Biological activities of extracts from endophytic fungi isolated from Garcinia plants. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 51 (3) : 517-525. https://doi.org/10.1111/j.1574-695X.2007.00331.x
- **Pohl, R., Janistyn, B., Nahrstedt, A. (1975).** Flavonol glycosides from Euphorbia helioscopia, E.stricta, E, verrucosa and E.dulcis. Planta Med.27(4):301-303.
- **Porter, C.L. (1967) .** Taxonomy of Flowering plants . University of Wyoming 2ed . Printed in the United States of America: P. 338-339 .
- **Prabha, V.S.; Rayan, S.B.A. (2018a). Antimicrobial and Antioxidant activity of Ethanolic rxtract of Euphorbia prostrata Ait leaves.** International Journal of Innovative research in technology. Vol.5 . Issue 1 . Issn : 2349-6002. 575-578 .

- **Prabha, V.S.; Rayan, S.B.A. (2018b).** Antimicrobial and Antioxidant activity of Ethanolic extract of *Euphorbia prostrate* Ait. Leaves. International Jounal of Innovativer Research in Technology. Vol. 5 Issue 1 . Issn: 2349-6002. 575-578.
- **Prabha, V.S.; Rayan, S.B.A. (2018c).** GC MS analysis of phytochemical compounds present in the leaves of *Euphorbia prostrate* Ait. International Journal of Innovative research in technology. Vol.4 . Issue 8 . Issn : 2349-6002. 361-368.
- **Pritchard , A (2003) .** Introduction to the Euphorbiaceae Published by Cactus & Company Library . Italy .63 p .
- **Qaisar, M. ; Gilani, S.N. ; Farooq, SH.; Rauf, A. ; Naz, R.; Shaista and Perveez S. (2012).** Preliminary comparative phytochemical screening of Euphorbia species . American-Eurasian J. Agric.& Environ. Sci. , 12 (8): 1056-1060.
- **Radcliffe-Smith , A. (1980) .** *Euphorbia* L. In : Townsend C.C., Guest, E., eds. Flora of Iraq, vol. 4 .Baghdad: Ministry of Agriculture; Bentham –Moxon Trust , 327-362.
- **Radcliffe-Smith , A. (2001).** Genera Euphorbiacearum . Royal Botanical Gardens . Kew. 464p.
- **Rahal, S. (2004).** Chimie des produits naturelles et des , Etres Vivants , OPU.
- **Rahuman , A. A., Gopalakirshnan ,G. ; Ghouse, B.S. ; Arumugam , S. and B. Himalayan .(2000)**. Effect of *Feronia limonia* on mosquito larvae . Fitoterapia , 71: 553-555.
- **Rajabi, L.; Courreges, C. ; Montoya, J. ; Aguilera , R.J. and Primm , T.P. (2005).** Acetophenones with selective antimycobacterial activity . Letters in Applied Microbiology, 40, 212–217 .
- **Rakholiya, K., and Chanda, S. (2012) .** In vitro interaction of certain antimicrobial agents in combination with plant extracts against some pathogenic bacterial strains . Asian Pacific Journal of Tropical Biomedivine, 2(3), S1466-S1470.
- **Ramalho, S.D.; Pinto, M.E.F.; Ferreira, D. ; Bolzani, V.S. (2017).** Biologically Active Orbitides from the Euphorbiaceae family. Planta Med. 84:558-567.
- **Ramezani, M; Behravan , J. ; Arab ,M. and Amel Farzad , S.** (2008) .Antiviral activity of Euphorbia heliscopia extracts. Journal of Biological sciences , 8(4), 809-813.
- **Rauf , A.; Qaisar, M. ; Uddin, G.; Akhtar, S. and Muhammad, N. (2012).** Preliminary Phytochemical Screening and Antioxidant Profile of *Euphorbia prostrate.* Middle –East of Medicinal Plants Research 1(1) : 09-13.

- **Raygani , V.; Rahimi , Z. ; Zahraie, M. ; Noroozian, M. ; Pourmotabbed, A . (2007)** . Enzymatic and non-enzymatic antioxidant defense in Alzheimer's disease. Acta Med Iran 45(4):271–276
- **Rechinger, K.H. (1964).** *Euphorbia* L. In: Rechinger, K.H., ed . Flora of Lowland Iraq. Weinheim : J. Cramer, 414-423.
- **Rechinger, K.H. and Schiman-Czeika, H. (1964).** *Euphorbia* L. In: Rechinger , K.H., ed. Flora Iranica , vol. 6. Graz: Akademische Deuck-undVerlagsanstalt, 8-48.
- **Refahy , L.A.G. (2011).** Study on flavonoids and triterpenoids content of some Euphorbiaceae plants . J.Life Sci. ; 5: 100-107.
- **Reid, L. M., Nicol, R. W., Ouellet, T., Savard, M., Miller, J. D., Young, J. C., ... & Schaafsma, A. W. (1999).** Interaction of Fusarium graminearum and F. moniliforme in maize ears: disease progress, fungal biomass, and mycotoxin accumulation. Phytopathology, 89(11), 1028-1037.
- **Rheeder, JP, WFO Marasas, WFO, van Wyk, PS and van Schalkwyk, D. J. (1990).** Reaction of South African maize cultivars to ear inoculation with Fusarium moniliforme, F. graminearum and Diplodia maydis. Phytophylactica, 22(2), 213-218.
- **Rice-Evans, C.A.; Miller, N.J.; Bolwell, P.G.; Bramley, P.M. ; Pridham , J.B. (2001).** The relative antioxidant activities of plant –derived polyphenolic flavonoids . Free Radical Research , 22, pp 375-383.
- **Rojas, R.T. and Hernández , M.E.T. (2014).** Alternaria alternata (Black Rot, Black Spot) . Postharvest Decay . 147-187 . https://doi.org/10.1016/B978-0-12-411552-1.00005-3.
- **Sabandar CW. Ahmat N. jaafar FM. Sahidin l. Medicinal property (2013) .** Phytochemical and Phamacology of sevsral jatropha species (Euphorbiaceae): review. Phytochemistry; 85: 7-29.
- **Sahil K, Prashant B, Akanksha M, Premjeet S, Devashish R (2011)** . GC-MS: Applications. International Journal Pharma & Biological Archives 2: 1544-1560 .
- **Salatino, A.; Salatino, M.L.F.; ; Negri, G. (2007)** . Traditional uses , chemistry and pharmacology of Croton species (Euphorbiaceae) . J. Braz. Chem. Soc.; 18: 11-33.
- **Samuel, B.J and Luchinger, A.E. (1978).** Plant systematics . 2nd.Ed. McGRAW. Hill-boo; Co. New York . san- Francisco: Pp. 512 .
- **Samuel, D. and Avitabile , A. (1998).** The Beekeepers Handbook, 3rd edition . Comstock publishing Associates , USA:Pp. 195.

- **Sandhar, H.K.; Kumar, B.; Prasher, S.; Tiwari, P.; Salhan, M.; Sharma, P.; (2011).** Internationale Pharmaceutica Science , 1(1): 25-41. In: Parvez, M. (2014). Biochemical , Enviromental and Medicinal Exploration of Euphorbia prostrate Aiton and Euphorbia granulate Forssk. Ph.D. Thesis, Univ. of Peshawar, Pakistan.
- **Sanguinetti, M. ; Posteraro, B. ; Romano, L. ; Battaglia, F. ; Lopizzo, T. ; De Carolis, E. and Fadda, G. (2006).** In vitro activity of Citrus bergamia (bergamot) oil against clinical isolets of dermatophytes. J. Antimicrob.Chemo. 95(2) : 305-308.
- **Savithramma, N.; Rao, M.L.and Bhumi,G. (2011).** Phytochemical screening of Thespesiapopulnea and Tridaxprocumbens . J.Chem. Pharm. Res., 3(5): 28-34.
- **Savluchinske Feio, S., Roseiro, J.C., Gigante, B., Marcelo-Curto, M.J., (1997) .** Method on multiwell plates for the evaluation of the antimicrobial activity of resin acid derivatives. J. Microbiol. Methods 28, 201–206..
- **Schito, G.; Verch, G.; Grimm, V.; Muller, M. (2018)** .*Alternaria* and *Fusarium* Fungi Differeces in Distribution and Deposition in a Topographically Heeterogeneous Wheat Field. JoF, 4, 63, dio: 10.3390\ jof4020063.
- **Sciandrello, S. ; Giusso, G. ; Minissale, P. (2016).** *Euphorbia hypericifolia* L. (Euphorbiaceae) , a new Alien species for Italy . Webbia : Journal of plant Geography . http: // dx.doi.org./10.1080/00837792. 1152669 .
- **Seigler, D.S. (1994).** Phytochemical and systematics of Euphorbiaceae . Ann. Mo.Bot. Gard. ; 81: 380-401.
- **Shaimada, K.; Fujikawa, K.; Yahara , K. Nakamura T. (1992).** Antioxidative properties of Xanthan on the antioxidation of Soybean oil in cyclodextrin emulsion . J. Agric. Food Chem. ; 40(6): 945-8 .
- **Shenep , J. L. (2000) .** Viridans – group Streptococcal infections in immunocompromised hots . Int Antimicrob Agents 14: 129-35.
- **Shi, J.; Nawaz, H.; Pohorly, J.; Mittal, G.; Kakuda, Y.; Jiang, Y. .(2005)** .action of polyphenolics from plant material for functional foods-engineering and technology. Food Rev. Int 21, 139-166.
- **Shi, L.; Zhao,W.; Yang,Z.; Subbiah,V. and Suleria,H.A.R. (2022).** Extraction and characterization of phenolic compounds and their potential antioxidant activities . Environmental Science and Pollution Research 29:81112–81129 .
- **Shihata, I.M., (1951) .** A pharmalogical study of Anagllis arvensis. MD Vet (Doctoral dissertation, Thesis, Cairo University. 10).

- **Shih-Huei ,CH. and Ming-Jou, Wu. (2004).** A newly naturalized Spurge species in Taiwan . Vol.49. Issue : 2 > Pages 102-108.
- **Sikora, E. ; Cieslik, E.; Topolska, K. (2008).** The sources of natural antioxidants . Acta. Sci. Pol. Technol. Aliment. 7 (1): 5-17.
- **Silby, M. W., Winstanley, C., Godfrey, S. A., Levy, S. B., & Jackson, R. W. (2011).** Pseudomonas genomes: diverse and adaptable. FEMS microbiology reviews, 35(4), 652-680.
- **Simpson , M.G. (2010) .** Plant Systematics . 2ed . Pp. 275-448.
- **Singla, A. K.; Pathak, K. (1989) .** Anti-inflammatory studies on Euphorbia prostrate . Jpurnal Ethnopharmacology , 27 (1-2) : 55-61.
- **Smith , A.R . and Tutin , T. G. (1968) .** *Euphorbia* L. In: Tutin, T. G. ; Heywood, V. H. ; Burgess , N. A. ; Moore ,D.M. ; Valentine, D.H. ; Walters , S.M . and Webb ,D.A . (eds.), Flora Europaea 2 ,pp. 213–226, Cambridge University Press, Cambridge.
- **Stahl, E., (1969) .** The historical development of the method. In Thin-Layer Chromatography (pp. 1-6). Springer, Berlin, Heidelberg .
- **Steinmann; V.W. and J.M. Porter (2002) .** Phylogenetic relationships in Euphorbieae (Euphorbiaceae) based on ITS and ndhF sequence . Annals of the Missouri Botanical Gardd.en journal., 89: 453–490 .
- **Strzelecka , M. and Świątek , P. (2021)** .1, 2,4-Triazoles as Important Antibacterial Agents . Pharmaceuticals, 14(3), 224 ; https://doi.org/10.3390/ph14030224
- **Sultana, K, ; Zahoor, M, K, ; Sagheer, M, ; Nasir, SH, ; Zahoor, M, A, ; Jabeen, F, ; Riza, B.(2016)** . Insecticidal Activity of Weed Plants , Euphrbia Prostrate and Chenopodiastrum murale against stored grain Insect pest Trogoderma granarium everts, 1898 (Coleopteran : Dermestidae) . Türk . entomol . derg. 40(3): 291-301.
- **Tackholm, V. (1956).** Flora of Egypt. Angio . Egyptium Bookshap . 165, Rue Mohamed Farid , Cairo: 241-251 p.
- **Taylor T.N. Osborne J.M. (1996)**. The importance of fungi in shaping the paleoecosystem. Rev. Palaeobot. Palynol. 90, 249–262.
- **Thakur, H. A., & Patil, D. A. (2012).** The family Euphorbiaceae: anatomical conspectus. World Journal of Science and Technology, 2(6), 51-57.
- **Thomma , B.P.H. (2003).** *Alternaria* spp.: from general saprophyte to specific parasite . Molecular plant pathology 4(4), 225–236 .

- **Tiwari , P.; Kumar, B.; Kaur, M.; Kaur, G. and Kaur, H. (2011).** Phytochemical screening and Extraction: A Review. Internationale Pharmaceutica Sciencia . Vol 1 Issue 1. P:98-106. http://www.ipharmsciencia.com
- **Tutin, T.G. ; Heywood , V.H.; Burges, N.A. ; Moore , D. M. Valentine , D. H.; Walters, S. M. and Webb, D.A. (1968).** Flora Europaea. Rosaceae to Umbellifera. Cambridge At the University press, Vol, 2 : 211-226 P.
- **Vaghasiya, Y.; Dave, R.; Chanda, S. (2011**). Res.J.Med. Plant , 5(5):567-576. In : Parvez, M. (2014). Biochemical , Enviromental and Medicinal Exploration of Euphorbia prostrate Aiton and Euphorbia granulate Forssk. Ph.D. Thesis, Univ. of Peshawar, Pakistan.
- **Vasas, A.; Redei, D.; Csupor, D.; Molnar, J.; Hohmann, J. (2012).** Diterpenes from European *Euphorbia* species serving as prototypes for natural – product- based drug discovery . Eur. J. Org. Chem. 5115-5130.
- **Voukeng, L.**K.; Beng, V.P. and Kuete, V. (2017). Multidrug resistant bacteria are sensitive to Euphorbia prostrata and six others Cameroonian medicinal plants extracts . BioMed Central .10:321. http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/.
- **Webster, G.L. (1994) .** Synopsis of the genera and suprageneric taxa of Euphorbiaceae .Annals of Missouri Botanical Garden81: 33-144.
- **Webster, G.L. Brown , W.V. , Smith , B.N. (1975).** Systematics of photosynthetic carbon fixation pathways in *Euphorbia* Taxon 24 : 27-33.
- **WHO. (1996).** WHO guideline for the assessment of herbal medicines. WHO Expert Committee on specification for pharmaceutical preparation . Technical Report series N 863. World Health Organisation, Geneva.
- **Williams , W.B. ; Cuvelier, M.E. and Berset, C. (1995).** Use of a free radical methods to evaluate antioxidant activity , LWT-Food Science and Technology , Vol. 28, No. 1, Pp .25-30.
- **Wurdack , K.J. , Davis, C.C. (2009).** Malpighiales phylogenetics : gaining group on one of the most recalcitrant clades in the angiosperm tree of life **.** American Journal of Botany 96: 1551-1570.
- **Wurdack , K.J. , Hoffmann, P., Chase, M.W. (2005) .** Molecular phylogenetic analysis of uniovulate Euphorbiaceae (Euphorbiaceae sensu stricto) using plastid *rbc L* and *trnL-F* sequences . American Journal of Botany 92 : 1397-1420.
- **Wurdack , K.J. , Hoffmann, P., Samuel, R. , Bruijn, A., van der Bank , M., Chase , M.W. (2004).** Molecular phylogenetic analysis of Phyllanthaceae (Phyllanthoideae

proparte , Euphorbiaceae s.l.) using plastid *rbc l DNA sequences* . American Journal of Botany 91: 1882-1900.

- **Yang, Y.(2016).** *Euphorbia hypericifolia* L. [Internet] . In : Euphorbia Planetary Biodiversity Inventory .Available from Tolkin http://app.tolkin.org./projects/72/taxa.
- **Yff, B. T. ; Lindsey , K.L. ; Taylor, M.B. ; Erasmus , D.G. and A. K. Jager.(2002).** The pharmacological screening of Pentanisia prunelloides and the isolation of the antibacterial compound palmitic acid . Journal of Ethnopharmacology, 79: 101-107.
- **Yingkum, Q.Yingie, C.; Yupin , P. ; Hisashi, M. et Masyuki, Y. (2002).** Constituents with radical scavenging effect from *Opuntia dillenii* : structure of new co-pyrones and Flavonol glycoside . Chem.Pharm.Bull., 50 (11): pp 1507-1510.
- **Yoon ,B. K. ; Jackman , J.A. ; Valle-González , E.R. and Cho, N.J. (20118) .** Antibacterial Free Fatty Acids and Monoglycerides: Biological Activities, Experimental Testing, and Therapeutic Applications . International Journal of Molecular Sciences . 19, 1114 . 1114; doi:10.3390/ijms19041114 .
- **Zahid, K, (2019).** Evaluation of Antifungal activity of Nine members of Family Euphorbiaceae of Lahore region against *Aspergillus niger* , *Rhizopus oryzae* and *Alternaria solan* .American Journal of Biomedical Science and Research , 6(3) . 216-220.
- **Zahir , A, A, ; Chauhan , I. S,. ; Bagavan , A. ; Kamaraj, CH. ; Elango, G. ; Shankar, j. ; Arjaria, N. ; Roopan, S.M. ; Rahuman, A. A. and Sing , N. (2014) .** Synthesis of Nanoparticales using *Euphorbia Prostrate* extrat Reveals from Apoptosis to G0 l G1 Arrest in *Leishmania Donovani* . Antimicrob Agents Chemother. 59 (8): 4782–4799.
- **Zeller, K. A., Summerell, B. A., Bullock, S., & Leslie, J. F. (2003).** Gibberella konza (Fusarium konzum) sp. nov. from prairie grasses, a new species in the Gibberella fujikuroi species complex. Mycologia, 95(5), 943-954.
- **Zeller, K. A., Summerell, B. A., Bullock, S., & Leslie, J. F. (2003).** Gibberella konza (Fusarium konzum) sp. nov. from prairie grasses, a new species in the Gibberella fujikuroi species complex. Mycologia, 95(5), 943-954.
- **Zheng-Mu,M.; Sakai.; Sato, T. Nagasa,H.; Kito,H.; Sato,M.; Onk,k.; and Nakane ,H. (1990) .** Antimutagenic Chines Medicinaes . Shoyakngaku zasshi.
- **Zhu, J., Niu, Y. and Xiao, Z., (2021) .** Characterization of the key aroma compounds in *Laoshan* green teas by application of odour activity value (OAV), gas chromatography-mass spectrometry-olfactometry (GC-MS-O) and comprehensive two-

dimensional gas chromatography mass spectrometry (GC× GC-qMS). Food Chemistry, 339, p.128136.