جامعة الموصل

كلية التربية للعلوم الصرفة

التأثير التثبيطي لمستخلصات مختلفة والسائل الجوفي لنوعين من ديدان الأرض *Aprrectoda tuberculate* و *Lumbricus terrestris* ضد أنواع بكتيرية معزولة من حالات مرضية

هديل سالم علي جاسم الشريفي

رسالة ماجستير

علوم الحياة

بإشراف

المدرس

الدكتورة صفاء محمد محمود الطائي

١٤٤٤هـ ٢٠٢٢م

الخلاصة

هدفت الدراسة الحالية إلى إيجاد بدائل طبيعية الحيوانية في تثبيط نمو أَنواع من البكتريا السالبة والموجبة لصبغة كرام لذا تم استخدام بعض المستخلصات لجنسين من ديدان الأَرض *Lumbricus terrestris* و*Aporrectodea tuberculate* إذ تم عمل مستخلصات لديدان الأَرض باستخدام المذيبات الكحولية (الايثانول والميثانول) والمذيبات القطبية وغير القطبية (الأَسيتون والهكسان والكلوروفوم)، وجميعها كان لها تأثير معنوي واضح في تثبيط نمو أَنواع البكتريا، بين المستخلص المائي لدودة الأرض *L.terrestris* فعالية تثبيطية تجاه بكتريا الـ *S.typhi* والتي بلغت 20.00 ملم وبتركيز 100 ملغم/مل وكان أقلها تجاه بكتريا *E. faecalis* (H-S) ولنفس التركيز. وقد تم تشخيص المركَّبات الفعَّالة حيويًا في ديدان بحسب تقنية الـ GC-MS إذ بيَّنت النتائج أَنَّ جنس*L.terrestris* يحتوي على خمسة مركَّبات كيميائية فعَّالة في تثبيط نمو البكتريا من بينها مركَّب Thiodiglycol الَّذي بلغت نسبته (43.38%) ومركَّب Dimethoxyamine الَّذي بلغت نسبته (21.20%) بينما الجنس الثاني لديدان الأَرض*A.tuberculate* الَّذي كان حاويًا على خمسة عشر مركَّبًا كيمائيًا، ومن بين هذه المركَّبات الفعَّالة مركَّبbutan−(1-Ethoxy-ethoxy)-3 الَّذي وُجِدَ بأَعلى نسبة بلغت (29.91%) مركب سام، والمركَّب 2-Aminoethyl-dl cysteine حامض أَميني ويعدُّ من الإنزيمات الطافرة وتقدَّر نسبته(18.62%)، إضافة لفحص FTIR الذي أَوضح عن وجود مجاميع الأَميد الحاوية على الببتيدات بشكل غير مجزَّأ والتي تكون مسؤولة عن الفعَّاليَّة التثبيطية تجاه العزلات البكتيرية المعزولة.

إنَّ السائل الجوفي لديدان الأَرض*L.terrestris* و*A.tuberculate* أَظهرا فعَّاليَّة تثبيطية تجاه البكتريا المعزولة وباستخدام مذيبين Petroleum Ether وAcetoneوكان السائل الجوفي المذاب Petroleum Ether هو أَكثر فعَّاليَّة في تثبيط نمو البكتريا وبالمقارنة بين الجنسين تبيَّن أَنَّ السائل الجوفي لدودة الأَرض *L.terrestris* أَكثر فعَّاليَّة من الجنس الثاني *A.tuberculate*.

وأَشارت النتائج ان أَفضل تثبيط لنمو البكتريا كان في المستخلص المذاب بالأَسيتون، وأَعلى نسبة تثبيط سجلت تجاه بكتريا *S.typhi* بقطر 29.33 ملم عند تركيز 6.2 ملغم /مل بينما تجاه بكتريا الـ *E.coli* بلغت الفعَّاليَّة التثبيطية بالتركيز نفسه24.67 ملم في حين المضاد الحيوي سجل نسبة تثبيط بلغت أَقل من معدل قطر التثبيط التي سجلها المستخلص الأَسيتوني عند نفس جنسي البكتريا الَّتي بلغت (22.33 و0.00) ملم على التوالي، وبالمقارنة لمستخلصي الدودتين لوحظ أَنَّ *L.terrestris* أَعطت فعَّاليَّة تثبيطية أَعلى من *A.tuberculate*.

أَوضحت نتائج اختبار الحساسيَّة للمضادات الحيويَّة أَنَّ عزلات *E.coli* كانت حساسة Ciprofloxacin، Tobramycin، وبنسبة 100% للمضادين، في حين كانت مقاومة للمضادات، Tetracycline, Ampicillin, Azithromycin, Rifampin، أَمَّا بالنسبة لبكتريا *K.pneumoniae* فكانت حساسة بنسبة 100% للمضادات، Ampicillin Tobramycin, Azithromycin, Rifampin, Ceftriaxone، ومقاومة للمضادات، Chloramphenicol, Ciprofloxacin, Tetracycline وكانت بكتريا *S.aureus* حساسة تجاه المضاد الحيوي Cip وكما اظهرت بكتريا *Ps. aeruginosa* و(H-S) *E. faecalis* مقاومتها لاغلب المضادات الحيوية RF، Cef، AM، Te، Ch، Tob، Az بينما بكتريا الـ *S.typhi* اظهرت مقاومتها للمضادات الحيوية Tob، AM، Cef، Rf، TE.

تم اختبار التأثير التثبيطي لمستخلصات جنسي ديدان الأَرض بكل أَنواعها السالفة الذكر ضد أَنواع البكتريا المستخدمة في الدراسة الحالية بطريقة الحفر وطريقة اختبار العكارة وكان مستخلص ديدان الأَرض *L.terrestris* ذا تأثير تثبيطي أَعلى من مستخلص ديدان الأَرض *A.tuberculate*، كما أَنَّ التأثير التثبيطي للمستخلص يقل مع زيادة التركيز.

Abstract

The current study aimed to find natural animal alternatives in inhibiting the growth of types of Gram-negative and Gram-positive bacteria, so some extracts of two species of earthworms *Lumbricus terrestris* and *Aporrectodea tuberculate* were used Earthworm extracts were made using alcoholic solvents (ethanol and methanol) and polar and non-polar solvents (acetone, hexane, and chloroform), All of them had a significant and clear effect in inhibiting the growth of bacteria, the aqueous extract of earthworm *L.terrestris* showed an inhibitory activity against *S.typhi* bacteria, which amounted to 20.00 ml at a concentration of 100 mg / ml, and was the lowest against bacteria *E. faecalis* (H-S) with the same concentration. Diagnosis active compounds were identified in worms according to the technique The GC-MS, The results showed that the genus L. terrestris contains five chemical compounds that are effective in inhibiting the growth of bacteria, including Thiodiglycol, which has a percentage of (43.38%) and dimethoxyamine compound, which reached (21.20%) While the second genus of earthworms, *A. tuberculate*, which contained fifteen chemical compounds Among these active compounds, butan-(3-(1-Ethoxy-ethoxy) was found with the highest percentage (29.91%) is a toxic compound, the compound 2-Aminoethyl-dl cysteine, an amino acid it is considered one of the mutant enzymes and its rate is estimated at (18.62%), in addition to the FTIR assay, which revealed the presence of amide groups containing unfractionated peptides that are responsible for the inhibitory activity against the isolated bacterial isolates.

The subterranean liquid of earthworms *L.terrestris* and *A.tuberculate* showed inhibitory activity against the isolated bacteria, using two solvents, Petroleum Ether and Acetone, and the dissolved coelomic fluid Petroleum Ether was more effective in inhibiting the growth of bacteria by comparison between the two genus, it was found

that the coelomic fluid of the earthworm *L.terrestris* was more effective than The second genus *A. tuberculate* .

The results indicated that the best inhibition of bacterial growth was in the extract dissolved in acetone, and the highest inhibition percentage was recorded against *S.typhi* bacteria with a diameter of 29.33 mm at a concentration of 6.2 mg / ml, while against *E.coli* bacteria, the inhibition effectiveness was 24.67 mm at the same concentration, while the antibiotic The percentage of inhibition was less than the average diameter of inhibition recorded by the acetone extract for the same genus of bacteria, which amounted to (22.33 and 0.00) mm, respectively, and compared to the extracts of the two worms, it was observed that *L.terrestris* gave a higher inhibitory effectiveness than *A.tuberculate*.

The results of the antibiotic sensitivity test showed that the *E.coli* isolates were 100% sensitive to Ciprofloxacin and Tobramycin, while they were resistant to Ampicillin, Azithromycin, Rifampin Tetracycline, and *K.pneumoniae* were 100% sensitive to the antibiotics Ampicillin. Tobramycin, Azithromycin, Rifampin, Ceftriaxone, and resistant to antibiotics, Chloramphenicol, Ciprofloxacin, Tetracycline, *S. aureus* bacteria were sensitive to Cip antibiotic, as *Ps. aeruginosa*, and *E. faecalis* (H-S) resistance to most antibiotics RF, Cef, AM, Te, Ch, Tob, Az while Bacteria

The *S.typhi* showed resistance to Tob, AM, Cef, Rf, and TE antibiotics.

The inhibitory effect of extracts of all genus of earthworms of all aforementioned types was tested against the types of bacteria used in the current study by drilling method and turbidity test method. The extract of earthworms *L.terrestris* had a higher inhibitory effect than the extract of earthworms *A.tuberculate,* and the inhibitory effect of the extract decreased with Increase focus.

University of Mosul
College of Education
for Pure Science

Inhibitory Effect of Different Extracts and Coelomic Fluid of Two Types of Earthworms *Aprrectoda tuberculate* and *Lumbricus terrestris* Against Bacterial Species Isolated from Diseased Cases

Hadeel Salem Ali Jassim Al-Shrefy

M.Sc. Thesis
Biology

Supervised by
Lec.
Dr. Safaa Mohammed Mahmood Al-Taie

2022 A.D **1444 A.H**