مضادات الحيوية فى بعض نباتات العائلة الباذنجانية

للدكتور محمد صابر

المقدمة

أدى اكتشاف البنسلين عام ١٩٤٠ إلى حث عدد كبير من العلماء والباحثين على البحث عن مواد مشابهة فى النباتات الراقية . وعلى الرغم من أن وجود مثل هذه المركبات كان معروفا منذ القدم فى حضارات قدماء المصريين واليونانيين ، إلا أن الدراسات العلمية الصحيحة لم تبدأ إلا فى عام ١٩٤٣ على يد العالمة الإنجليزية Osborn . ومع اتساع حلقة البحث ظهر أن مضادات الحيوية منتشرة فى النباتات الراقية بصفة عامة ، وإن كانت تظهر بصورة شائعة فى أفراد عائلات نباتية معينة أكثر من غيرها كالعائلة الباذنجانية (زايد وآخرون ١٩٧١) .

وتهدف هذه الدراسة إلى إجراء فحص أولى لأربعة نباتات من العائلة الباذنجانية (Solanaceae) وهى الباذنجان ، والبطاطس ، والطماطم ، والفلفل لوجود مضادات الحيوية بها ضد بعض الميكروبات الاختبارية باستعمال طريقة جديدة للاستخلاص .

المواد والطرق المستعملة

جمعت نباتات الباذنجان Solanum melongena ، والبطاطس Solanum tuberosum ، والطماطم Lycopersicum esculentum ، والفلفل Capsicum annum فى مرحلة النضج ، وتركت لتجف هوائيا قبل فصل الجذور والسيقان والأوراق كل على حدة . وجففت العينات على درجة حرارة ٧٠ - ٨٠°م حتى أصبحت جافة تماما ، ثم حفظت فى الظلام على درجة حرارة ٥ — ٧°م لحين الاستعمال .

● الدكتور محمد صابر : باحث بمعمل الأراضى بالمركز القومى للبحوث بالدقى ، بالقاهرة .

وحضرت المستخلصات التالية من كل عضو من اعضاء النباتات تحت الدراسة بطريقة التتابع :

(١) مستخلص الإيثير الإيثيلى . (٢) مستخلص البنزين . (٣) مستخلص الأسيتون . (٤) مستخلص الكلوروفورم . (٥) مستخلص خلات الإيثيل . (٦) مستخلص الكحول الإيثيلى المطلق . (٧) مستخلص الكحول الميثيلى المطلق. (٨) مستخلص الماء .

وكان يجرى الاستخلاص بنقع النبات المطحون فى المذيب العضوى لمدة ٤٨ ساعة فى درجة حرارة الغرفة بعد رجه لمدة ساعتين ، ثم يرشح وتغسل العينة النباتية بالمذيب العضوى عدة مرات حتى تمام الاستخلاص . وقبل إضافة المذيب التالى كانت العينة النباتية تجفف على درجة ٧٠ — ٨٠°م حتى تتخلص من المذيب السابق . ولقد ركزت المستخلصات بحيث يحتوى كل ملليلتر من المستخلص على المواد الذائبة فى جرام واحد من المادة النباتية ، ونظرا لأن بعض المذيبات العضوية لا تصلح لاستعمالها فى الفحص الحيوى إما لسرعة تطايرها كالإيثير الإيثيلى أو لأن لها صفة التضاد الميكروبى مثل الكلوروفورم وخلات الإيثيل ، فقد أجرى إعادة إذابة المواد الذائبة فى هذه المستخلصات فى الكحول الإيثيلى المطلق قبل فحصها . ولقد حفظت جميع المستخلصات بعد تحضيرها فى الظلام على درجة ٥ — ٧°م لحين فحصها حيويا .

وأجرى الفحص الحيوى لجميع المستخلصات النباتية باستعمال طريقة الانتشار Diffusion method حيث كانت البيئة المغذية تلقح بالميكروب الاختبارى ، وتصب فى طبق بترى معقم ، وبعد أن يتصلب الآجار تعمل ثقوب بداخله بقطر ٨ ملليمتر باستعمال خرامة الكاوتشوك ، ثم يوضع ٠,١ من الملليتر من المستخلص داخل هذا الثقب . وتحفظ الأطباق على درجة ٥ — ٧°م حتى تمام انتشار المستخلص داخل الآجار ، وتحفظ الأطباق بعد ذلك على درجة حرارة ٣٠°م لمدة ٤٨ ساعة ، ثم يقاس قطر منطقة التثبيط التى تظهر على شكل هالة رائقة خالية من النمو الميكروبى .

ولقد استعملت فى هذه الدراسة ستة ميكروبات اختبارية لها صفات متباينة ، وهى :

(١) Staphylococcus aureus NRRL-B313
(٢) Escherichia coli NCIB-8743
(٣) Bacillus subtilis-19 T
(٤) Mycobacterium phlei
(٥) Pseudomonas aerogenosa ATCC-14502
(٦) Candida utilis

ولقد أجرى الفحص الحيوى بزراعة الميكروبات الاختبارية على البيئة المغذية الخاصة بالكشف عن المضادات الحيوية Penassay base (طريقة معامل Difco ١٩٦٩) وهى تركب من المواد الآتية (جرام / اللتر) : مستخلص لحم البقر ١,٥ ، مستخلص الخميرة ٣,٠ ، ببتون ٦,٠ ، آجار ١٥,٠ ، ويكمل بالماء إلى ١٠٠٠ ملليلتر .

النتائج ومناقشتها

على الرغم من أن مضادات الحيوية منتشرة انتشارا واسعا فى النباتات الراقية (Nickell ١٩٥٩) ، إلا أن كشف وجود هذه المركبات مرتبط بالعديد من العوامل المحيطة بالدراسة مثل الظروف البيئية للنباتات ، والجزء المستعمل منه فى الدراسة ، وطريقة الاستخلاص ، ومرحلة النضج ، والتغيرات الموسمية إلى غير ذلك (Schaffer, Scott and Fontaine ١٩٥١) .

وقد أكد زايد وآخرون (١٩٧١) وجود مضادات الحيوية فى نباتات الباذنجان والبطاطس والطماطم ، غير أن هذه الدراسة أجريت على النبات ككل ، ولم يكن الاستخلاص فيها بطريقة تسمح بفحص أكبر عدد ممكن من المركبات . لذا أجريت هذه الدراسة الحالية المستفيضة فى محاولة للتعرف على مدى انتشار مضادات الحيوية فى الباذنجان والبطاطس والطماطم والفلفل فى كل عضو من أعضاء النبات على حدة .

ويبين جدول (١) قطر منطقة التثبيط بالملليتر الناتجة من مختلف المستخلصات ضد الميكروبات الاختبارية . ويتضح من بيانات هذا الجدول أن مضادات الحيوية منتشرة بصفة عامة فى الأوراق أكثر منها فى السيقان ، أكثر منها فى الجذور ، حيث كانت عدد المستخلصات الموجبة فى كل نبات بالترتيب التنازلى التالى : باذنجان (أوراق ٢٥ — سيقان ٣٣ — جذور ٣٠) ، بطاطس (أوراق ١٦ — سيقان ١٠ — جذور ٥) ، طماطم (أوراق ٢٧ — سيقان ٢١ — جذور ٢٠) ، فلفل (أوراق ١٧ — سيقان ١٣ — جذور ٩) . وبمقابلة النباتات الأربعة تحت الدراسة يظهر أن عدد المستخلصات الموجبة التى درست من كل نبات كان أكبر فى حالة الباذنجان (٩٨ مستخلصا) ، يليه الطماطم (٦٨ مستخلصا) ، يليه الفلفل (٣٩ مستخلصا) ، يليه البطاطس (٣١ مستخلصا) .

وهناك العديد من الدراسات التى أجريت على هذه النباتات وأثبتت احتوائها على مضادات حيوية ، إلا أن هذه الدراسات أجريت تحت ظروف بحثية مختلفة ، ونذكر منها على سبيل المثال الباذنجان (Noble ١٩٤٩) ، والبطاطس (Allen and Kuc ١٩٦٨ ، Ozeretskovskaya, et al. ١٩٦٩) ، والطماطم (Tomova ١٩٦٢ ، Schreiber ١٩٦٣) ، والفلفل (Gal ١٩٦٦ ، ١٩٦٩) .

ومن ناحية أخرى يمكن مقابلة مدى كفاية كل مذيب عضوى فى استخلاص مضادات الحيوية من النباتات بحساب النسبة المئوية للمستخلصات الموجبة فى كل حالة . ويتضح من ذلك أن المستخلصات المعدة يمكن أن ترتب تنازليا طبقا لمدى قدرتها على استخلاص مضادات الحيوية كالآتى : الايثير الإيثيلى ٧٢٪ ، والكلوروفورم ٦٢٪ ، وخلات الإيثيل ٥٢٪ ، والبنزين والأسيتون ٣٧٪ ، والكحول الإيثيلى ٣٦٪ ، والكحول الميثيلى ١٤٪ ، ثم الماء ١٢٪ .

وباستعراض البحوث السابقة فى مدى كفاية المذيبات العضوية نجد أن كثيراً منها يؤيد أن الإيثير الإيثيلى هو أحسن مذيب لمثل هذه المركبات ، ومنهم Bishop and MacDonald (١٩٥١) ، وزايد وآخرون (١٩٧١) . وأهم مايجب مراعاته فى اختيار المذيب العضوى هو ألا يكون له تأثير مضاد حيوى

ضد الميكروبات الاختبارية (Craveri ١٩٥٦) ، وفى مثل هذه الحالة يجب البحث عن مذيب آخر ليست له صفة التضاد الحيوى وفى نفس الوقت له قدرة عالية على إذابة المواد المستخلصة بالمذيب الأصلى . كما استعمل الكحول الإيثيلى المطلق لإذابة المواد الدائبة فى الإيثير فى هذه الدراسة . وعلى الرغم من أن هناك طرق عديدة للحصول على مضادات الحيوية من النبات بخلاف طريقة الاستخلاص بالمذيبات (Osborn ١٩٤٣ ، Prat ١٩٤٩) إلا أن طريقة المذيبات العضوية تعتبر أكثرها فاعلية .

ولقد استعملت فى هذه الدراسة مجموعة من الميكروبات الاختبارية متباينة الصفات لتمثل البكتريا والفطريات ، ومنها الموجبة لصبغة جرام ، ومنها السالبة لصبغة جرام ، ومنها المتجرثمة وغير المتجرثمة ، ومنها المقاومة للحامض وغير المقاومة للحامض ، ومنها الملونة وغير الملونة . ويتضح من جدول (١) أن مدى مقاومة الميكروبات لفعل تأثير المستخلصات النباتية كان واضحاً . وبصفة عامة كانت البكتريا الموجبة لصبغة جرام أكثر حساسية من البكتريا السالبة لصبغة جرام (S. aureus تأثر بـ ٥٨ مستخلصا ، و B. subtilis تأثر بـ ٤٥ مستخلصا ، فى حين E. coli تأثر بـ ٢٣ مستخلصا ، و P. aerogenosa تأثر بـ ١٨ مستخلصا) . وكذلك كان تأثير خميرة C. utilis أكبر من باقى المجموعة الميكروبية (٥٤ مستخلصا موجبا) باستثناء S. aureus الذى ثبت أنه أكثر الميكروبات حساسية بصفة عامة . وظهرت بكتريا P. aerogenosa السالبة لصبغة جرام والملونة أنها أكثر الميكروبات مقاومة لفعل مضادات الحيوية (١٨ مستخلصا موجبا فقط) . وبصفة عامة فإنه نظراً لطبيعة المحتوى البيدى المرتفع لجدر البكتريا السالبة لصبغة جرام فإنها بصفة عامة تكون أكثر مقاومة لمضادات الحيوية من غيرها (Harris ١٩٤٩ ، Bishop and MacDonald ١٩٥١ ، زايد وآخرون ١٩٧١) .

ومازال البحث فى حاجة إلى استكمال لتتبع المركبات الفعالة فى المستخلصات التى ثبت أن لها صفة التضاد الحيوى وعزل هذه المركبات ودراسة طريقة عملها ومدى إمكانيات استخدامها فى الحياة .

جدول (١) : قطر منطقة التثبيط الناتجة من المستخلصات المختلفة ضد الميكروبات الاختبارية (ملليتر)

الميكروب الاختبارى	المستخلصات							
	ايثير	بنزين	أسيتون	كلوروفورم	خلات الإيثيل	كحول إيثيلى	كحول ميثيلى	ماء
	جذور الباذنجان							
S. aureus	٣٠	١١	١٥	٢٠	١٨	١١	صفر	صفر
E. coli	٢٠	صفر	٢٥	١٦	٢٢	١٢	صفر	صفر
B. subtilis	١٤	١٥	صفر	٢٠	١٦	١٣	١٢	صفر
M. phlei	صفر	صفر	١٦	١٦	١٥	١٤	صفر	صفر
P. aerogenosa	١٥	١١	صفر	صفر	١٢	صفر	صفر	صفر
C. utilis	١٨	١٢	١٨	١٨	١٤	١٦	١١	صفر
	سيقان الباذنجان							
S. aureus	١٨	١٦	٢٢	٣٠	٢٠	١١	صفر	صفر
E. coli	١٦	٢٠	٣٠	٢٦	٢٢	١٢	صفر	صفر
B. subtilis	٢٠	صفر	صفر	٢٠	١٨	١٢	صفر	صفر
M. phlei	صفر	١٦	١٦	٣٢	٢٢	١٢	صفر	صفر
P. aerogenosa	١٤	١٦	صفر	١٢	١٢	صفر	صفر	صفر
C. utilis	٢٠	١٦	٢٢	٢٨	٢٠	١١	١١	صفر

تابع جدول (١) : قطر منطقة التثبيط الناتجة من المستخلصات المختلفة ضد الميكروبات الاختبارية (ملليمتر)

الميكروب الاختبارى	المستخلصات						
	ايثير	بنزين	اسيتون	كلوروفورم	خلات الإيثيل	كحول ايثيلى	كحول ميثيلى	ماء
	أوراق الباذنجان							
S. aureus	٢٠	٢٠	١٨	٤٠	٢٤	١٤	١٢	صفر
E. coli	٢٢	٢٠	١١	٢٢	٢٢	١٢	صفر	صفر
B. subtilis	١٨	صفر	١٤	٢٥	٢٠	١٣	١٢	صفر
M. phlei	صفر	١٨	١٢	٣٥	٢٢	١٤	١٤	صفر
P. aerogenosa	١٤	١٨	صفر	١٨	١٨	صفر	صفر	صفر
C. utilis	٢٢	٣٢	١٦	٣٨	٢٢	١١	صفر	صفر
	جذور البطاطس							
S. aureus	٢٦	صفر	صفر	٣٥	صفر	صفر	صفر	صفر
E. coli	٢٠	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر
B. subtilis	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر
M. phlei	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر
P. aerogenosa	صفر	صفر	صفر	٢٠	صفر	صفر	صفر	صفر
C. utilis	١٥	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر

الميكروب الأختبارى	المستخلصات						
	إثير	بنزين	أسيتون	كلوروفورم	خلات الإيثيل	كحول ايثيلى	كحول ميثيلى	ماء
	سيقان البطاطس							
S. aureus	٢٦	صفر	صفر	٣٨	صفر	صفر	صفر	صفر
E. coli	٢٨	صفر	صفر	٣٠	صفر	صفر	صفر	صفر
B. subtilis	صفر	صفر	صفر	١٨	صفر	صفر	صفر	صفر
M. phlei	صفر	صفر	صفر	صفر	٣٠	صفر	صفر	صفر
P. aerogenosa	٢٠	صفر	صفر	١٤	صفر	٣٠	صفر	صفر
C. utilis	١٦	صفر	صفر	١٦	صفر	صفر	صفر	صفر
	أوراق البطاطس							
S. aureus	٣٠	صفر	صفر	٤٢	٢٠	١٢	صفر	صفر
E. coli	٢٢	صفر	صفر	٢٢	٢٥	صفر	صفر	صفر
B. subtilis	٢٠	صفر	صفر	١٨	صفر	صفر	صفر	صفر
M. phlei	٢٠	صفر	صفر	صفر	٢٠	صفر	صفر	صفر
P. aerogenosa	٢٦	صفر	صفر	١٦	صفر	٣٢	صفر	صفر
C. utilis	٢٢	صفر	صفر	صفر	٢٥	صفر	صفر	صفر

تابع جدول (١) : قطر منطقة التثبيط الناتجة من المستخلصات المختلفة ضد الميكروبات الاختبارية (ملليمتر)

الميكروب الاختبارى	المستخلصات							
	ايثير	بنزين	أسيتون	كلوروفورم	خلات الإيثيل	كحول ايثيلى	كحول ميثيلى	ماء
	جذور الطماطم							
S. aureus	٣٥	١٤	صفر	١٥	١٥	صفر	صفر	٢٠
E. coli	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر
B. subtilis	١٤	صفر	١٤	١٤	٢٠	١٤	صفر	٢٣
M. phlei	٢٠	صفر	صفر	صفر	١٤	١٤	صفر	٢٠
P. aerogenosa	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر
C. utilis	١٢	صفر	١٤	١٦	١٨	٣٠	صفر	صفر
	سيقان الطماطم							
S. aureus	٣٥	١٦	١٦	١٤	٢٠	صفر	صفر	٣٢
E. coli	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر
B. subtilis	١٦	صفر	١٨	١٨	٢٠	١٤	صفر	٤٢
M. phlei	٢٢	صفر	صفر	صفر	صفر	١٤	صفر	٣٠
P. aerogenosa	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر
C. utilis	٢٥	١٨	١٦	١٦	٢٠	٢٠	صفر	صفر

الميكروب الاختباري	المستخلصات							
	إيثير	بنزين	أسيتون	كلوروفورم	خلات الإيثيل	كحول إيثيلي	كحول ميثيلي	ماء
أوراق الطماطم								
S. aureus	٣٥	١٨	٢٢	١٤	٢٠	٢٦	٢٠	١٥
E. coli	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر
B. subtilis	٢٥	٣٠	٢٢	١٨	٢٠	٢٢	٢٠	٢٠
M. phlei	٢٤	١٦	صفر	١٤	صفر	٢٦	٢٦	٢٠
P. aerogenosa	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر
C. utilis	٣٠	٣٠	٢٠	١٨	صفر	١٨	٢٣	صفر
جذور الفلفل								
S. aureus	٢٢	١٤	صفر	صفر	١٥	صفر	صفر	صفر
E. coli	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر
B. subtilis	٣٠	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر
M. phlei	٢٢	صفر	١٢	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر
P. aerogenosa	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر
C. utilis	٢٢	صفر	صفر	١٢	١٢	صفر	صفر	صفر

تابع جدول (١) : قطر منطقة التثبيط الناتجة من المستخلصات المختلفة ضد الميكروبات الاختبارية (مليلتر)

الميكروب الاختبارى	المستخلصات							
	إيثير	بنزين	أسيتون	كلوروفورم	خلات الإيثيل	كحول إيثيلى	كحول ميثيلى	ماء
	سيقان الفلفل							
S. aureus	١٨	١٨	١٢	١٢	١٥	صفر	صفر	صفر
E. coli	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر
B. subtilis	٢٥	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر
M. phlei	٣٠	صفر	١٨	١٨	صفر	صفر	صفر	صفر
P. aerogenosa	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر
C. utilis	٣٠	١٤	١٤	١٦	صفر	صفر	صفر	صفر
	أوراق الفلفل							
S. aureus	٢٦	١٨	١٦	صفر	١٨	صفر	صفر	صفر
E. coli	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر
B. subtilis	٣٠	١٤	١٤	١٦	صفر	صفر	صفر	صفر
M. phlei	٢٢	صفر	١٢	٢٠	٢٠	صفر	صفر	صفر
P. aerogenosa	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر
C. utilis	٣٠	١٨	صفر	١٨	١٨	١٢	صفر	صفر

الملخص

أجرى إعداد المستخلصات الذائبة فى عدة مذيبات عضوية لجذور وسيقان وأوراق نباتات الباذنجان والبطاطس والطماطم والفلفل ، ثم فحصت حيويا لمعرفة مدى احتوائها على مضادات الحيوية ضد العديد من الميكروبات الاختبارية . ولقد احتوت جميع النباتات على مواد مضادة حيوية فى مستخلص أو أكثر ، وإن كان مضادات الحيوية منتشرة بكثرة فى الأوراق ، ثم السيقان ، ثم الجذور . وكانت أكبر النباتات احتواء لهذه المركبات هو الباذنجان، يليه الطماطم، يليه الفلفل ، ثم البطاطس .

المراجع

(1) Allen, E.H., and J. Kuc (1968) Phytopathology, 58(2) : 776-781.
(2) Bishop, C.J., and R.E. MacDonald (1951) Canad. J. Bot., 29(3) : 760.
(3) Craveri, R. (1956) Riv. Biol., (Perugia), 48(2) : 145.
(4) Difco manual of dehydrated culture media and reagents for microbiology and clinical, laboratory procedures, 9th ed. (1969). Difco Lab., Detroit, Michigan, U.S.A.
(5) Gal, I.E. (1966) Z. Lebensm.— Unters. Forsch., 132(2) : 82-84.
(6) Gal, I.E. (1969) Elel iszervizsgalati Kozlem, 15(2) : 80-85.
(7) Harris, H.A. (1949) Torrey Bot. Club. Bull., 76 : 244.
(8) Nickell, L.G. (1959) Econ. Bot., 13(4) : 281.
(9) Noble, G. (1949) Anales. Acad. Ciens. Med. Fis. 4. Nat. Habana, 87 : 261-267.
(10) Osborn, E.M. (1943) Brit. Jour. Exp. Path., 24(6) : 227.
(11) Ozeretskovskaya, O.C., N.I. Vasyakova, and L.V. Metlitskii (1969) Dokl. Akad. Nauk. ASSR, 189(5) : 1146-1149.
(12) Prat. M.A.A. (1949) Gaceta Vet., (Buenos Aires), 11(60) 184.
(13) Schaffer, P.S., W.E. Scott, and T.O. Fontaine (1951) U.S.D.A. Yearbook.
(14) Schreiber, K. (1963) Kulfurpflanze, 11 : 502-506.
(15) Tomova, I.M. (1962) Farmatsiya, (Sofia), 12(1) : 37-41.
(16) Zayed, M.N., M.S.M. Saber, Y. Abd-el-Malek, and M. Monib (1971) Zbl. Bakt., 126(6) : 615-629.

* * *