الفصل الثانى عشر

دراسة موسعة لبعض المضادات الحيوية

أولاً : Agri - Mycin 17

الصفات الكيميائية :

ينتج هذا المضاد الحيوى تحت اسم Agri - Mycin 17 Agricultural streptomycin ويأخذ رقم منتج صناعى A-10445 A . تبلغ نسبة المادة الفعالة فيه ٢٢,٤ ٪ كبريتات الستربتومايسين .

الاسم الكيميائى :

O - 2 - deoxy - 2 - methylamino - alpha - L - glucopyranosyl - (1- >2) - O - deoxy - 3 - C - formyl - alpha - L - lyxofuranosyl - (1->4) - N3 , N3 - diamidino - D - streptamine - sulfate (2 : 3)

صفات المركب :

أولاً :

مضاد حيوي يستعمل في الزراعة ، لمقاومة الأمراض البكتيرية ، في النباتات . إذا تناوله الإنسان عن طريق الفم ، لا يؤخذ له مضاد للسم ولكن يمكن غسل المعدة ، وذلك عن طريق اعطاء المريض مادة مقيئة ، وإذا فقد المريض وعية ، يمكن استمرار اعطاءه ماءً حتى تفرغ معدته . إذا دخل هذا المركب العين ، تغرق العين بالماء عدة مرات ولا يستعمل أي مواد طبية فى العين . إذا حدث تلوث للجلد يغسل الجلد عدة مرات بالماء والصابون ، بحيث يتخلل الغسيل تحت الشعر وتحت الأظافر ولا يستعمل أي مادة طبية ، يجب استبعاد الملابس التي تلوثت بالمضاد الحيوي .

ثانيا: صفات اخري :

١ – اللون : أحوى Tan

٢ – الرائحة : تشبه رائحة المواد المختمرة .

٣- نقطة الانصهار : لم تحدد بدقة لغاية ١٩٩٩ .

٤- نقطة الغليان : لم تحدد .

٥- الكثافة النوعية : ١ غرام / مل .

٦- درجة الحموضة : pH 4.67

٧- قابليته للذوبان في الماء : لم تحدد درجة قابليته للذوبان فى الماء .

٨- سرعة التحول : ثابت .

٩- مدة التخزين : يجب أن يخزن في أوعية مقفلة بعيداً عن الرطوبة وبعيداً عن الأحماض القوية والقواعد القوية .

١٠- السمية : غير سام للإنسان ولا للحيوان حتى بعد تناوله وهضمه .

١١- الجرعة المميتة ٥٠٪ : بالنسبة للفئران أكبر من خمسة غرام / كيلو غرام وزن .

١٢- الاضرار على الجلد : قليل السمية على الجلد .

١٣- الجرعة ٥٠٪ السامة للجلد : ٢ غرام / كيلو وزن بالنسبة للفئران .

١٤- تناوله عن طريق الاستنشاق : سام قليلاً .

١٥- السمية ٥٠٪ عن طريق الاستنشاق = أكبر من ٢,٧٢ ملغ / كيلو في مكان محكم لمدة ٤ ساعات .

١٦- سميته للعين : يسبب تهيج كبير للعين عند ملامستها ، وتهيج بسيط عن ملامسته الجفون .

١٧- الاحتياطات اللازمة عند الاستعمال : لا يضاف هذا المركب ضمن أى نظام ري ولا يستعمل بأى طريقة يكون بها ملامساً لأيدى العمال أو المراقبين بطريقة مباشرة أو غير مباشرة . يمكن وقاية الايدي أثناء العمليات الزراعية بحيث تغطي الأيدي بلباس مطاطي . يجب أن يكون الرش بعيداً عن العامل مسافة ١٧٠ سم على الأقل . يجب عدم دخول أي شخص إلى البستان الذى قد تم رشه لمدة ١٢ ساعة على الأقل .

طريقة التحضير :

١- للحصول على محضر بتركيز ٥٠ جزء فى المليون ، يضاف ٢ أونس في ٥٠ جالون ماء أو ٤ أونس في ١٠٠ جالون ماء أو ٢٠ أونس في ٥٠٠ جالون ماء .

٢- للحصول على محضر بتركيز ٦٠ جزء فى المليون ، يضاف ٢,٤ أونس في ٥٠ جالون ماء أو ٤,٨ أونس في ١٠٠ جالون ماء أو $\frac{1}{2}$ ١ ليبره في ٥٠٠ جالون ماء .

٣- للحصول على محضر بتركيز ١٠٠ جزء في المليون ، يضاف ٤ أونس في ٥٠ جالون ماء ، أو $\frac{1}{2}$ ليبرة في ١٠٠ جالون ماء أو ٢,٥ ليبرة في ٥٠٠ جالون ماء .

٤- للحصول على محضر تركيز ٢٠٠ جزء في المليون يضاف ٠,٥ ليبرة في ٥٠ جالون ماء أو واحد ليبرة في ١٠٠ جالون ماء أو ٥ ليبرة في ٥٠٠ جالون ماء .

استعمال المركب فى العمليات الزراعية :

يبين جدول رقم ١٣٥ العمليات التي يستعمل فيها هذا المركب .

جدول رقم ١٣٨ : يبين استعمال المضاد الحيوي ستربتومايسين يستعمل تجارياً تحت اسم Novartis أو Maxim ، يجب أخذ الاحتياطيات اللازمة عند الرش كما هو الحال عند استعمال أي مبيد فطري .

اسم المرض والنبات	التركيز الموصى به	طريقة الاستعمال
١- اللفحة البكيترية في الكرفس	٢٠٠ جزء في المليون	ترش النباتات أول مرة عندما تكون البادرات تحمل ورقتين ، أو عندما تظهر الأوراق الحقيقية الأولى . بعد ٤ - ٥ أيام ترش النباتات ثانية وتكرر الرشاشات بعد خمسة أيام حتى تنقل النباتات إلى الحقل .
٢- عفن الورقة البكتيري في الـ Philodendron	٢٠٠ جزء في المليون	يبدأ الرش عند ظهور أول أعراض البقع المائية على سطح الورقة ، ثم يكرر الرش كل ٤ - ٥ أيام حتى نهاية النضج . أما للمعالجة يجب إزالة جميع الأوراق المتعفنة عن النبات ، ثم يرش النبات كل ٤ أيام مرة .

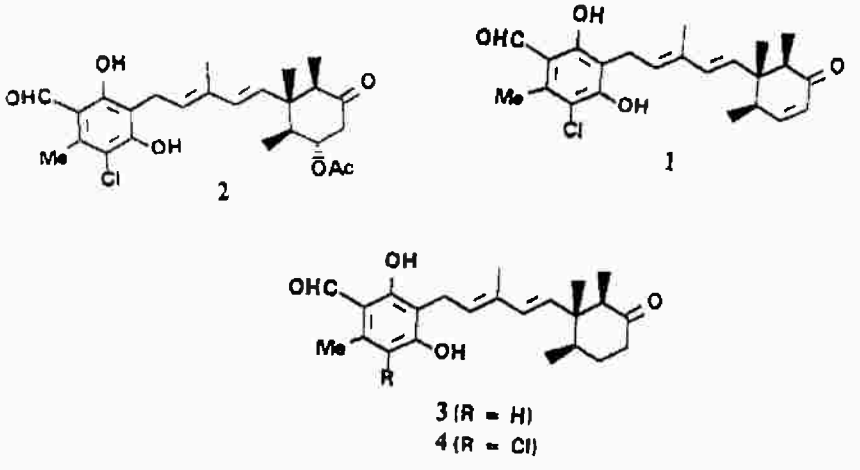
٣- التبقع البكتيري في الطماطم والفلفل .	٢٠٠ جزء في المليون	تكون الرشة الأولى عندما تصبح البادرات في الطور الورقي الثاني أو عندما تبدأ الأوراق الحقيقية في الظهور ، ثم بعد ذلك ترش البادرات كل ٤ - ٥ أيام مرة ويستمر ذلك حتى تنقل النباتات إلى الحقل .
٤- تعفن الساق البكتيري في عقل Dieffenbac-hia	٢٠٠ جزء في المليون	تنقع العقل في محلول المضاد الحيوي ستربتومايسين لمدة ٢٠ دقيقة ثم توضع العقل في مراقد ذات بيئة معقمة للتجذير .
	١٠٠ جزء في المليون	يستعمل لوقف إنتشار عفن الساق في نباتات الأصل . يستعمل هذا التركيز رشاً كل ٥ - ٧ أيام .
٥- الذبول البكتيري في الأقحوان	٥٠ جزء في المليون	تنقع العقل النباتية في هذا المحلول لمدة ٤ ساعات ثم تزرع كالمعتاد .
٦- التدرن التاجي في الورد .	٢٠٠ جزء في المليون	أولاً تستبعد النباتات المصابة . تقطع أنسجة التدرن ، ينقع الجهاز الجذري للنبات والسطوح المقطوعة من المناطق المصابة في محلول الستربتومايسين لمدة ١٥ دقيقة . يعاد زراعة الورد في الأراضي الخالية من مسبب المرض .
	٥٠ جزء في المليون	يستعمل هذا المحلول في ماء الري وفي الرش علي المجموع الخضري أسبوعياً ويبدأ بعد الزراعة باسبوع ، وذلك كاجراء مساعد لهذه العملية .
٧- اللفحة النارية في الكمثرى بشكل عام .	٢٤ - ٤٨ أونس لكل أكار في المعاملة الواحدة	ترش الأشجار عند ظهور ٢٠ - ٣٠٪ من الأزهار . ترش الأشجار بعد ذلك كل ٤ أيام خلال فترة التزهير . بعد سقوط بثلاث الأزهار كلية ترش الأشجار كل ١٢ يوم مرة وذلك لمنع اصابة الفريعات الصغيرة . هذا يعني أننا نحتاج من ٦ - ٨ رشات بعد تمام سقوط بتلات الأزهار . يجب التوقف عن الرش قبل جمع الثمار بمدة ٣٠ يوم على الأقل .

٨- اللفحة النارية في أفراد أخري من العائلة الوردية .	١٠٠ جزء في المليون	يستعمل محلول الستربتومايسين رشاً على المجموع الخضري والازهار ، تبدأ الرشة الأولى عند إبتداء فترة التزهير . يستمر الرش كل ٤ أيام خلال فترة التزهير . تجرى رشات مكملة بمعدل رشة كل ٦ أيام بعد تمام فترة التزهير، عندما يكون الطقس ملائماً لانتشار مرض اللفحة النارية . يجب التوقف عن الرش بعد تمام تكون الثمار ووصولها إلى المرحلة الثانية من النمو .
٩- اللفحة النارية في الكمثرى في المناطق الباردة .	٢٨,٨ أونس لكل أكار في الرشة الواحدة	يبدأ الرش عند ظهور ١٠٪ من الازهار ، يكرر الرش على فترات كل ٥ أيام مرة حتى ينتهي الأزهار تماماً . هذا يعنى أننا نحتاج إلى ١٣ رشة . ثم بعد ذلك يستمر الرش بمعدل رشة كل أسبوع وذلك لمقاومة أصابة الفروع الصغيرة والثمار . يجب التوقف عن الرش قبل جمع الثمار بمدة ٣٠ يوم على الأقل .
١٠- اللفحة النارية في التفاح في المناطق الباردة .	٢٨,٨ أونس لكل أكار في الرشة الواحدة	تبدأ الرشة الأولى بعد تمام التزهير ، ثم بعد ذلك ترش الأزهار بعد سقوط البتلات ، ثم رشه أخرى في الطور المتأخر من التزهير ، يستمر الرش بعد ذلك كل ٦ أيام للمحافظة على مقاومة المرض ، يجب التوقف عن الرش قبل جمع الثمار بمدة خمسون يوماً .
١١- اللفحة النارية في التفاح في المناطق المعتدلة .	٢٤-٤٨ أونس لكل أكار في الرشة الواحدة	ترش الأشجار بعد ظهور الأزهار بنسبة ٢٠ - ٣٠٪ ثم بعد ذلك ترش الأشجار كل ٤ أيام خلال فترة التزهير . بعد سقوط بتلات الازهار ترش الأشجار كل ١٠ - ١٤ يوم مرة وذلك لمقاومة اصابة الفروع الصغيرة . هذا يعني أننا نحتاج ٦ - ٨ رشات في الموسم (بعد تمام الأزهار) . يجب التوقف عن الرش قبل جمع المحصول بمدة ٥٠ يوم على الأقل .

١٢- العفن الطري والقدم السوداء في البطاطس .	١٠٠ جزء في المليون	تنقع قطع تقاوي البطاطس في محلول الستربتومايسين لعدة دقائق ثم تزرع كالمعتاد . يمكن استعمال المبيد الفطري المناسب مثل ماكسم أو الكابتان وذلك لوقاية تقاوي البطاطس . تعتبر هذه المعاملة مكملة لمعاملة استعمال المضاد الحيوي وذلك لمقاومة الأمراض الفطرية المرافقة لقطع تقاوي البطاطس .
١٣- اللفحة النارية والعفن الأزرق في الدخان .	١٠٠ جزء في المليون معاملة منع	ترش النباتات بتركيز ١٠٠ جزء في المليون وذلك اجراء وقائى . تبدأ الرشة الأولى عندما تكون النباتات في الطور الورقي الثاني أو عندما تكون فى طول ١٠ سم ، أو عندما يبدأ ظهور العفن الازرق في المنطقة . يكرر الرش على فترات ٥ - ٧ أيام حتى تستقر النباتات في الحقل . يمكن أن يكون هناك وقاية اضافية يمكن الحصول عليها عن طريق رش النباتات في الحقل بمحلول المضاد الحيوي تركيز ١٠٠ جزء في المليون أسبوعياً في المناطق التي تكون فيها اللفحة النارية في الدخان تسبب مشكلة ، في بعض السنوات الأخيرة ، أو عندما يتأخر الرش بالمضاد الحيوي حتى ظهور المرض . يجب استعمال محلول المضاد الحيوي بتركيز ٢٠٠ جزء في المليون . يستمر الرش اسبوعياً حتى يختفى المرض تماماً .
	٢٠٠ جزء في المليون للمعالجة	

ثانياً : المضاد الحيوى Ilicicolins

يعزل هذا المضاد الحيوي من مزرعة المرق المختمر للفطر *Nectria* sp. السلالة HILY-903333 . يعـزل هذا الفطر من التربة وتجرى عليه عمليات الانبات والتنمية في المرق المختمر . ثم تجرى عمليات التحليل . ولقد تم فصل هذا المضاد الحيوي وعرف تركيبه الكيماوي بالتفصيل ويظهر كما هو في (شكل ٨٧) ، حيث أن له أربعة أشكال وذلك حسب قيمة الجذر R .



شكل رقم ٨٧ : الأوضاع الأربعة للمضاد الحيوي Ilicicolins

أجريت تجارب لمعرفة تأثير هذا المضاد على اصابة نباتات الطماطم بالفطر *Phytophthora infestans* . رشت نباتات الطماطم بالمادة المختمرة الذائبة (ماء + ميثانول بنسبة ١/١ بالجم) مضافاً إليها مادة مبللة Tween 20 بنسبة ٢٥ غرام / لتر . بعد الرش بمدة ٢٤ ساعة حقنت نباتات الطماطم بالجراثيم الاسبورانجية للفطر الممرض . وضعت النباتات المحقونة فى الظلام لمدة ٢٤ ساعة على حرارة ١٧ – ١٨°م ورطوبة نسبية ١٠٠٪ ، ثم بعد ذلك نقلت إلى الصوبا الزجاجية على نفس درجة الحرارة ، ولكن خفضت الرطوبة النسبية إلى ٩٠٪ واضاءة ١٢ ساعة يومياً . قدرت شدة المرض بعد ٦ أيام من الحقن . استعمل مقياس كفاءة المضاد الحيوي من ١–٣ حيث أن رقم ١ ضعيف الكفاءة ورقم ٣ جيد الكفاءة . اعراض المرض تراوحت من تجمد في الأوراق إلى بقع نكروتك على الأوراق والساق .

أجريت تجارب على سبعة كائنات ممرضة نباتية باستعمال نفس المحلول ، إلا أنه في حالة الفطرين *B. cinerea* و *Plasmopara viticola* . استعمل تركيز بنسبة (٦ + ٤) ماء وايثانول ، ودرست النتائج .

أظهرت النتائج كما في جدول رقم ١٣٦ بأن هذا المضاد الحيوي ، أعطى كفاءة عالية في التأثير على فطر اللفحة المتأخرة ، وفي تجارب أخرى أظهر أن له تأثير على الفطريات البيضية لكثير من مسببات امراض النبات .

جدول رقم ١٣٦ : كفاءة المضاد الحيوي Ilicicolins بأشكاله الثلاثة ضد الفطر الممرض *P. infestans*

الجرعة غرام / لتر	كفاءة المضاد الحيوي بأشكاله الثلاثة		
	E_1	F_2	D_4
٥	٣	٣	٣
٢,٥	٣	٣	٣
١,٢٥	٣	٣	٣

ملاحظات على الجدول : تقدر كفاءة المضاد الحيوي على أساس ثلاثة درجات ١ = ضعيف ٢ = متوسط ، ٣ = جيد .

جدول رقم ١٣٧ : كفاءة نوعين من مركب Ilicicolins على فطريات مختلفة

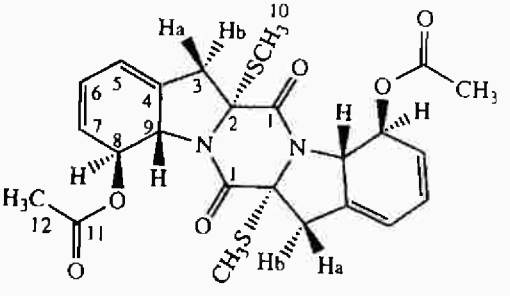
الكائن الممرض	العائل	الجرعة غرام/لتر	المضاد الحيوي E	المضاد الحيوي F
Phytophthora infestans	طماطم	٥, –	٢	٣
Phytophthora infestans	طماطم	٠,٥	٢	٣
Plasmopara viticola	عنب	٥, –	٣	٣
Plasmopara viticola	عنب	٠,٥	٣	٢
E. graminis f. sp. *tritici*	قمح	٥, –	١	١
E. graminis f. sp. *tritici*	قمح	٠,٥	١	١
Magnaporthe grisea	ارز	٥, –	٢	٢
Magnaporthe grisea	ارز	٠,٥	١	١

تابع جدول رقم ١٤٠

Pellicularia sasakii	ارز	٥, –	٢	١
Pellicularia sasakii	ارز	٠,٥	١	١
Botrytis cinerea	طماطم	٥, –	١	١
Botrytis cinerea	طماطم	٠,٥	١	١
Stagonospora nodorum	قمح	٥, –	٢	٢
Stagonospora nodorum	قمح	– ٠,٥	١	١

ثالثاً : Haematocin

يعزل هذا المضاد الحيوي من المزرعة المختمرة للفطر *Nectria haematococca* . هذا الفطر يسبب مرض لفحة بادرات بعض نباتات الزينة . العزلة المتخصصة من هذا الفطر هي (880701 a -1) . هذا المضاد الحيوي مضاد للفطريات وهو ذو تركيب كيماوي معقد كما (في شكل ٨٨) . ويتميز بالصفات الآتية : هو مسحوق أبيض اللون ينصهر على حرارة ٩٧,٥ – ١٠١,٢ م . تركيبه الكيماوي $C_{24}\ H_{26}\ O_6\ N_2\ S_2$ وهو عبارة عن جزئ متناظر جانبياً . عند إجراء الاختبارات لمعرفة تأثير هذا المضاد الحيوي على الفطر *Pyricular-ia oryzae* ، تبين أن هذا المضاد يثبط إثبات الجراثيم وكذلك يثبط استطالة أنبوبة الإنبات في الجراثيم بنسبة عالية . كذلك وجد بأنه يوقف اصابة بادرات الكرنب الصيني والارز بكثير من الأمراض وذلك في التجارب المعملية .



شكل ٨٨ : **Haematocin**

رابعاً : تايمنتين Timentin

لقد استخدم هذا المضاد الحيوي بشكل واسع في معالجة الإنسان والحيوان ، وذلك لتثبيط أنواع مختلفة من البكتيريا السالبة والموجبة لصبغة غرام . وهو عبارة عن خليط من حمض Ticarcillin و Clavulanic . يستعمل عادة بمعدل (٥٠ : ١) جم / جم من الحمض الأول والحمض الثاني ، يعتبر المركب Ticarcillin مركب نصف مصنع من البنسلين، وهو يشبه البنسلين من حيث حساسيته . يصبح غير فعال بواسطة B-lactamases المنتج بواسطة أنواع كثيرة من البكتيريا . يمكن تخطي هذه المشكلة عن طريق اضافة حمض Clavulanic ، حيث أن لهذا الحمض كفاءة عالية في تثبيط فعل B-lactamase . أثبتت التجارب العديدة على الانسان والحيوان أن الاتحاد بين كلا الحمضين Ticarcillin و Clavulanic acid فعال وتأثيره آمن ويستعمل ضد مجال واسع من الاصابة البكتيرية .

أما في النباتات ، فقد استعمل كل من الـ Ticarcillin والتايمنتين لتثبيط نمو البكتيريا الجهازية في مزارع النسج ، ويثبط الجنس البكتيري أجروبكتيريم المحول وراثياً .

كما هو معروف فإن التايمنتين هو خليط من حمض Ticarcillin و Clavulanic . لقد وجد أنه على تركيز ٢٠٠ – ٥٠٠ ملغ / لتر بمعدل ٥٠ : ١ و ١٠٠ : ١ من هذين المركبين (Cla : Tic) فان له تأثيراً قليلاً على اعادة توليد الأفرع في الدخان أو الدردار . إن كفاءة التايمنتين في تثبيط *A. tumefaciens* كما هو الحال في كفاءه كل من Carbenicillin و Cefatoxime بتركيزات شائعة .

إن السلالة البكتيرية LBA 4404 المحولة وراثياً والمنزوع منها جين القدرة المرضة من البكتيريا *A. tumefaciens* والموجودة في نسيج ورقة الدخان المحقونة ، أصبحت غير موجودة بعد ثلاثة مرات من معاملتها بالمضاد الحيوي تايمنتين بمعدل ٥٠٠ ملغ/لتر أو تايمنتين ٣٠٠ ملغ/لتر أو ٢٥٠ ملغ/لتر Carbenicillin .

يبقى المضاد الحيوي تايمنتين موجوداً وثابتاً في بيئة الاجار الصلب ويبقى فعال على الأقل لمدة ٧٠ يوم . يصبح هذا المركب غير ثابت إذا ما خزن كمزيج محلول أو على شكل Ticarcillin و Clavulanic acid منفصلين على حرارة (– ٢٠°م) أو (– ٨°) لمدة ٤ أسابيع .

يمكن القول بان المضاد الحيوي تايمنتين مضاد حيوي بديل لتثبيط بكتيريا التدرن التاجي *A. tumefaciens* المحولة وراثياً .

خامساً : Gopalamicin

هذا المركب مضاد حيوي ضد الفطريات ، يعزل من بيئة المرق المغذي المختمر للسلالتين MSU-616 و MSU-625 ، للكائن الكامن في التربة *Streptomyces hygroscopicus* . الصيغة الكيميائية لهذا المضاد الحيوي هي : $C_{54}\ H_{88}\ O_{18}\ 2\ MeOH$. درجة الانصهار ١٥٦ – ١٥٧°م .

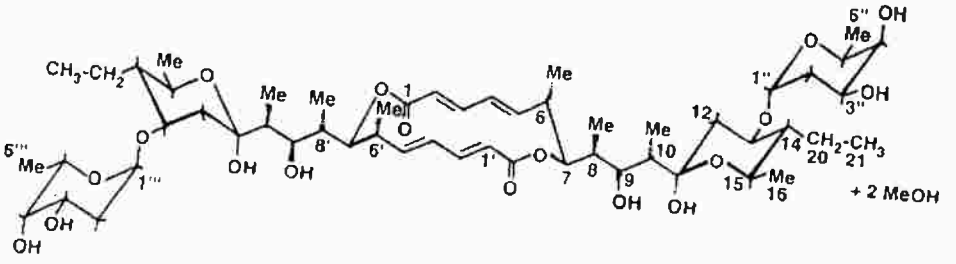
درس تأثير هذا المضاد الحيوي ضد كثير من الفطريات ، في المعمل وفي الصوبا الزجاجية . بالنسبة لتجارب المعمل وجد أن ١٦ ميكروغرام/مل من هذا المضاد الحيوي هو أقل تركيز يثبط كلية الفطريات الآتية (في البيئة الغذائية) :

1- *Aspergillus fumigatus* .
2- *A. flavus* .
3- *A. niger* .
4- *Candida albicans* .
5- *Alternaria solani* .
6- *Fusarium oxysporum* .
7- *Fusarium moniliforme* .

أما الفطريات الآتية فكان أقل تركيز لتثبيطها كلية هو ١٢ ميكروغرام/مل . هذه الفطريات هي :

1- *Pythium ultimum* .
2- *Phialophora graminicola* .
3- *Leptosphaeria korrae* .

أما بالنسبة لتجارب الصوبا الزجاجية ، يبين (جدول رقم ١٣٨) أن أفضل كفاءة لهذا المضاد الحيوي ، هي مقاومة مرض البياض الزغبي في عنب الخمور المتسبب عن الفطر *Plasmopara vitlcola* على تركيز ٥٠٠ جزء فى المليون رشاً على الأوراق . اما على تركيز ٢٥٠ و ١٦ جزء في المليون فكان يحسب معدل الاصابة (٦ و ٣) على الترتيب . وبالمثل بالنسبة للفطر *Pyricularia oryzae* فقد تم تثبيط هذا الفطر بهذا المضاد الحيوي بتركيز ٥٠٠ و ١٦ جزء في المليون بمعدل ٥ ، ٤ بالترتيب رشاً .



شكل ٨٩ : المضاد الحيوي Gopalamicin

كانت تعامل النباتات بالمضاد الحيوي قبل أو بعد الحقن بالفطر الممرض . ثم بعد ثمانية أيام من الرش بالمضاد الحيوي ، كانت تحقن النباتات بالفطر الممرض ، وذلك عن طريق رشها بمعلق الجراثيم الهديبة بتركيز 10^3 وحدة تكوين مستعمرات/مل ، ثم بعد ذلك توضع النباتات في الصوبا الزجاجية لمدة يومين على حرارة ٢٠ - ٢٣°م ورطوبة نسبية ٨٥٪ . بعد ثمانية أيام كانت تحسب درجة الاصابة (تقدر درجة الاصابة على مقياس من صفر - ٨) . حيث أن صفر اصابة كاملة اما ٨ بدون اصابة .

جدول رقم : ١٣٨ تأثير استعمال المضاد الحيوي جوبلامايسين بتركيز ألف جزء في المليون علي بعض أمراض النبات

اسم الكائن الممرض	اسم المرض	المحصول	نوع المعاملة	درجة تأثير المضاد الحيوي
Botrytis cinerea	العفن الرمادي	الفلفل	وقاية	٢
Erysiphe cichoracearum	البياض الدقيقي	الخيار	معالجة	٢
E. graminis tritici	البياض الدقيقي	القمح	وقاية	٥
Fusarium culmorum	العفن الفحمي	القمح	وقاية	٢
Plasmopara viticola	البياض الزغبي	العنب	وقاية	٧
Puccinia recondita	الصدأ البني	القمح	معالجة	٢
Pyricularia oryzae	لفحة الارز	الارز	وقاية	٥
Pyrenophora teres	البقعة الشبكية	الشعير	وقاية	٢

ملاحظات على الجدول : درجة تأثير المضاد الحيوي من صفر إلى ٨ حيث أن :

٨ = بدون اصابة كفاءة عالية جداً ، ٧ = كفاءة جيدة جداً حيث أن الاصابة ٥ ٪

٦ = اصابة ١٥ ٪ والكفاءة جيدة ، ٥ = الاصابة ٢٠ ٪ وكفاءة متوسطة ، ٤ = اصابة ٣٠ ٪ كفاءة منخفضة ، ٣ = اصابة ٥٠ ٪ كفاءة متوسطة ، ٢ = اصابة ٧٠ ٪ وكفاءة منخفضة جداً ١ = اصابة ٨٠ ٪ كفاءة ضعيفة . صفر = اصابة ١٠٠ ٪ كاملة بدون كفاءة .

سادساً : المضاد الحيوى Ao 58 A

Glutarimide Antibiotic Streptimidone

مقدمة :

يعزل هذا المضاد الحيوي من بيئة المرق المختمر ، للسلالة *Micromonospora coerulea Ao 58* . اعتبر هذا الجنس من بداية التسعينيات بأنه واحداً من أهم المصادر في إنتاج المضادات الفطرية . هذا الجنس واسع الإنتشار في التربة في مختلف المناطق الجغرافية ، إلا أنه يبقى من أقل التجمعات التي تمثل الاكتينومايستس . كان أول اكتشاف بان هذا الجنس يكون مضادات حيوية سنة ١٩٦٤ ، حيث أثبت العلماء Weinstein *et al* ، أنه يمكن استخلاص المضاد الحيوى البكتيرى Gentamicin من كل من *M. echinospora, M. purpurea* . بعد ذلك استمرت الدراسة على هذا الجنس كمصدر للمضادات الحيوية . بعد ذلك اكتشف أن المضاد الحيوي Neomycin B ينتج بواسطة هذا الجنس وأنواع من الجنس *Streptomyces* .

يعتبر المضاد الحيوي Ao 58 A من مجموعة Glutarimide . تتميز هذه المجموعة بوجود حلقة Glutarimide حاملة سلسلة مفردة على الموقع رقم ٤ . حتى الآن لقد تم عزل حوالى عشرين مضاد حيوي من هذه المجموعة ، تابعة لأنواع مختلفة من الجنس *Streptomyces* . في معظم هذه الأفراد ، فان السلسلة الجانبية تنتهي بحلقة كاربوكسيل ، عادة تكون سايكلوهكسايل أو فينايل ، باستثناء المضاد الحيوي Streptimidone ، حيث أن سلسلته الجانبية تنتهى بـ Acyclic .

لقد ذكر بان هذه المجموعة فعالة ضد الفطريات ، حيث أنها تثبط بناء البروتين في مجال واسع من خلايا كثير من كائنات Eukaryotic ، لكنها لا تؤثر على أي من الـ Prokaryotes ولا الميتوكوندريا ولا الكلوروبلاست (من حيث بناء البروتين) . أكثر أفراد هذه المجموعة معرفة هو Cycloheximide ، الذي له تأثير كبير ضد الخمائر ، والفطريات الخيطية ، ويعطي فعالية كبيرة في مقاومة بعض أمراض النبات ، الا أن تأثيره السام على النبات (عند ارتفاع كمية الجرعة) قلل من استعماله كعامل معالج للأمراض النباتية . عزل المضاد الحيوي Ao 58 A من سلالة الاكتينومايستس Ao 58 ، من الأراضى الغدقة في

كوريا سنة ١٩٩٧ وتبين أن هذا المضاد الحيوي فعال مثل المضاد الحيوي Ao 58 ، المعزول سنة ١٩٨٤ من الأراضي الزراعية الطبعية (شكل ٩١) .

المضاد الحيوى :

التركيب الكيماوي لهذا المضاد الحيوي كما هو في (شكل ٩٠) ويكتب باختصار $C_{16}\ H_{23}\ NO_4$ أما الاسم الكيماوي له فهو - 4 - (2 - hydroxy - 5,7 - dimethyl - 4 - oxo - 6 , 8 - nonadi - enyl) - 2,6 - piperidinedione . أقل تركيز من هذا المضاد الحيوي يثبط كلية (هذا الاصطلاح Minimum Inhibitory Concentration ويكتب باختصار MIC) كما هو في جدول رقم ١٣٩ .

يتبين أن نمو الميسبلوم للفطريات الخيطية المختبرة ، باستثناء :

1- *Fusarium f.sp. cucumerinum* . 2- *Colletotrichuan destructans*.

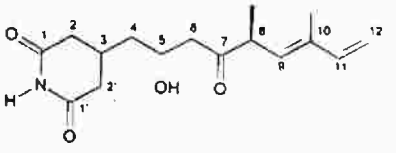
كان يثبط بشكل كبير جداً عند استعمال هذا المضاد الحيوي . بشكل خاص فان هذا المضاد الحيوي فعال جداً في تثبيط نمو الفطريات الآتية :

1- *B. cinerea* . 2- *D. bryoniae* . 3- *M. grisea* . 4- *P. capsici*.

أما الفطر *S. cerevisiae* فقد ثبط نموه على تركيزات منخفضة تصل ٣ ميكوغرام/مل . لقد وجد أن هذا المضاد الحيوي ليس له تأثير على كل من الكائنات الدقيقة الآتية (حتى على تركيز ٥٠٠ ميكروغرام/مل) .

1- *C. albicans* . 2- *B. subtilis* . 3- *P. solanacearum* .

4- *E. carotovora pv. carotovora* . 5- *X. campestris pv. vesicatoria*.

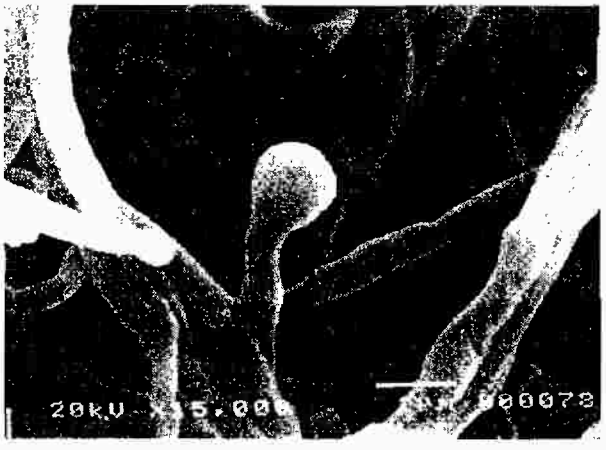


تركيب المضاد الحيوي Ao 58 A

شكل رقم ٩٠

جدول رقم ١٣٩ : أقل تركيز مثبط ، للكائنات الدقيقة المختلفة ، من المضاد الحيوي Ao 58 A بعد التحضين لمدة ٣ – ٥ أيام . يحسب التركيز المثبط ميكروغرام / مل .

الكائن الدقيق	التركيز المثبط
Alternaria mali	٥٠٠
Botrytis cinerea	١٠٠
Cladosporium cucumerinum	٣٠٠
Colletotrichum gloeosporioides	٥٠٠
F. oxysporum f. sp. cucumerinum	٥٠٠
Magnaporthe grisea	٥٠
Phytophthora capsici	٣٠
Rhizoctonia solani	٥٠
S. cerevisiae	٣, –



شكل رقم ٩١ : صورة بالميكروسكوب الالكتروني للشكل الخارجي لجراثيم السلالة Ao 58 المزروعة على بيئة آجار شوفان لمدة ٢١ يوم مقياس الرسم (١) ميكرومتر

عند مقارنة تأثير المضاد الحيوي **Ao 58 A** مع المبيدات الفطرية التجارية مثل Meta-laxyl على مقاومة لفحة الفايتوفثورا في نباتات الفلفل ، تحت ظروف الصوبا الزجاجية . وجد أن المعاملة بتركيز ٥٠٠ ميكروغرام/مل من المركبين ، يثبط تكشف المرض علي نباتات الفلفل ، مقارنة مع نباتات الكنترول . وجد أن معاملة نباتات الفلفل بتركيز ٥ ملغرام/مل من كلا المركبين لم يظهر أية اعراض للمرض على سيقان النبات . إن كفاءة مقاومة مرض الفايتوفثورا على نبات الفلفل باستعمال المضاد الحيوي Ao 58 A ، بشكل عالم كان مقارباً إلى حد ما من كفاءة المبيد الفطري Metalaxyl . كذلك فإن المضاد الحيوي المذكور لم يسبب أية أعراض تسمم على نباتات الفلفل حتى عندما يستعمل بتركيز ٥ ملغرام/مل .

فى الدراسة الحقلية على المضاد الحيوي Ao 58 A والمبيد الفطري Vinclozolin لمقاومة الفطر *B. cinerea* على نباتات الخيار ، تبين أن كلا المركبين يظهر وقاية ضد الاصابة بالفطر الممرض على تركيز ٥٠٠ ميكروغرام/مل . أما عند المعاملة بتركيز ١٠٠٠ ميكروغرام/مل ، فإن كلا المركبين خفضا الاصابة بمرض العفن الرمادي (المتسبب عن الفطر *B.cinerea*) خفضاً معنوياً بالقياس إلى معاملة الكنترول . لقد وجد أن نسبة الاصابة على أوراق الخيار قد إنخفضت من ١٠٠ ٪ في الكنترول إلى ٢٠ ٪ في المعاملة . لم يظهر أية اعراض على أوراق الخيار المعاملة بتركيز ٥٠٠٠ ميكروغرام/مل في كل من المركبين .

أما بالنسبة لمقدرة هذا المضاد الحيوي في تثبيط تكشف مرض لفحة أوراق الارز . تبين أن الأعراض النموذجية لهذا المرض ، تبدأ في الظهور على أوراق الارز بعد ثلاثة أيام من حقنها بالكائن الممرض . عند استعمال المضاد الحيوي والمبيد الفطري Tricyclazole كل على إنفراد ، تبين أن كل منهما يثبط نمو الفطر الممرض *M. grisea* ويخفض اصابة الارز . إن استعمال كل من المركبين بتركيز ٥٠٠ ميكروغرام لكل مل ، كل لوحدة ، فانه يخفض بقع اللفحة على أوراق الارز ، الا أن التثبيط كان بنسبة اعلى في المعاملة بالمضاد الحيوي . لم يظهر أى أثر لاعراض المرض عند استعمال كل من المركبين (كل على حده) بتركيز ٥٠٠٠ ميكروغرام/مل . كما سبق وذكرنا فان المضاد الحيوي لم يسبب أية اعراض سامة للنبات .

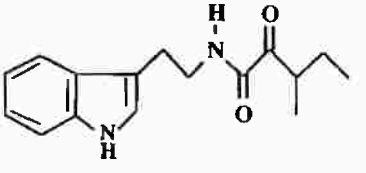
من هذه النتائج ، نستطيع أن نستخلص ، أن المضاد الحيوي Ao 58 A يعطي كفاءة جيدة في مقاومة بعض أمراض النبات ، خاصة امراض الارز ، وهو لا يقل كفاءة عن بعض المبيدات الفطرية . لذا ينصح باستعماله مباشرة في الحقل .

سابعاً : نيماتوفين Nematophin

يعزل هذا المضاد الحيوي من السلالة BC1 *Xenorhabdus nematophilus* . كذلك فانه يعزل من جميع سلالات *X.nematophilus* . يعتبر هذا الجنس البكتيري من ساكنات التربة ويعيش بطريقة تبادل منفعة ، مع جنس النيماتودا *Steinernema* . تنتج هذه البكتيريا مدى واسع من نواتج التمثيل التي لها تأثير ضد الميكروبات ، هذا ما ذكره Forst & Nealson سنة ١٩٩٦ ، عندما تتطفل على الحشرات والبيئة في المعمل .

هذه المضادات الميكروبية مجموعتين : الأولى تشمل إندولات ، Xenorhabdins والمركب Xenocoumacins . أما المجموعة الثانية فتشمل الشيتينيز والمركب Xenorhabdicin . المجموعة الأولى لها تأثير عال الفعالية ضد البكتيريا موجبة صبغة غرام وقليلة الفعالية ضد البكتيريا سالبة لصبغة غرام ، وبعضها يكون فعال أيضاً ضد الفطريات . أما المجموعة الثانية Xenorhabdicin عندها الخاصية الاختيارية ضد البكتيريا القريبة الشبه بالأنواع *Xenorhabdus* sp. . أما مركب chitinase فهو فعال ضد الفطريات .

يتركب هذا المضاد الحيوي من 3 - indoleethyl (3 - methyl - 2 - oxo) pentanamide كما في شكل رقم ٩٢ . ويتميز هذا المضاد الآتي .



شكل رقم ٩٢ . المضاد الحيوي

Nematophin

تركيب الجزئ C16 H20 N2 O2 . مظهره عبارة عن مسحوق أبيض إلى بني فاتح . يذوب في Me OH , Me_2CO , $EtOA_c$, $CHCl_3$ ولا يذوب في الماء . له صفات أخرى فيزيائية وكيميائية كثيرة لا داعي لذكرها هنا . لهذا المضاد الحيوي تأثير قوي على الكائنات

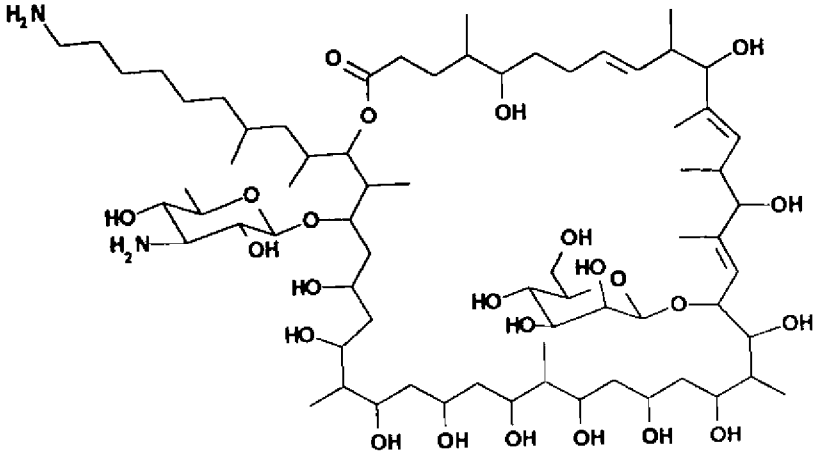
الدقيقة في المعمل ولغاية ١٩٩٩ لم تجرى عليه تجارب في الحقل لمقاومة امراض النبات . (جدول رقم ١٤٠) .

جدول رقم ١٤٠ : أقل تركيز مثبط كلية ، لبعض الكائنات الحية الدقيقة ، من المضاد الفطري نيماتوفين في المعمل ، يحسب التركيز ميكروغرام / مل .

الكائن الحي	أقل تركيز من المضاد الحيوي لازم للتثبيط الكلي
Bacillus subtilis	١٢
Staphy lococcus aureus 0012	١,٥
Aspergillus fumigatus ATCC 13073	أكبر من ١٠٠
A. flavus .	أكبر من ١٠٠
Botrytis cinerea	١٢
Phytophthora infestans	١٢
Candida tropicalis CBS 94	أكبر من ١٠٠
Micrococcus luteus	أكبر من ١٠٠

ثامناً : مايثمايسن Mathemycin A

يعزل هذا المضاد الحيوي من أنواع الاكتينومايستس HIL/Y-862059 . التركيب الكيماوي كما في شكل ٩٣ . المضاد الحيوي ذو لون أبيض ، صلب ، يذوب في الماء ، هيدروكسيد المنغنير وDMSO . درجة الانصهار ١٢٩ – ١٣١م ، الوزن الجزيئي ١٣٩٦ (FAB - MS) الصيغة الكيميائية $C_{71}\ H_{132}\ N_2\ O_{24}$.



(I)

شكل رقم ٩٣ . المضاد الحيوي

Mathemycin A

درس تأثير هذا المضاد الحيوي على بعض الفطريات فى المعمل . وجد أن لهذا المضاد الحيوي درجة كفاءة عالية في تثبيط نمو كثير من الفطريات الممرضة النباتية ، كما هو في جدول رقم ١٤١ . تتراوح أقل قيمة لازمة للتثبيط الكلي للكائن الدقيق من ٧,٨ – ٦٢,٥ ملغ/لتر . وجد أن تأثيره على الفطر الممرض *Phytophthora infestans* يكون بتركيز ٧,٨ ملغ/لتر ، وبذلك يكون تأثيره أفضل من المبيد الفطري مانيب حيث أن هذا الأخير يستعمل بتركيز ١٢٥ ملغ/لتر ، والمانكوزب بنسبة ٦٢,٥/لتر . عند استعمال هذا المضاد الحيوي رشاً على نباتات الطماطم في الصوبا الزجاجية ، وجد أنه ذو فعالية عالية في مقاومة هذا المرض عند استعماله بتركيز ٥٠٠ جزء في المليون ، ويقارب مفعول المبيدات الفطرية المذكورة . يجب اجراء تجارب أخرى على هذا المركب لمعرفة امكانية استعماله في مقاومة أمراض النبات بشكل تجاري .

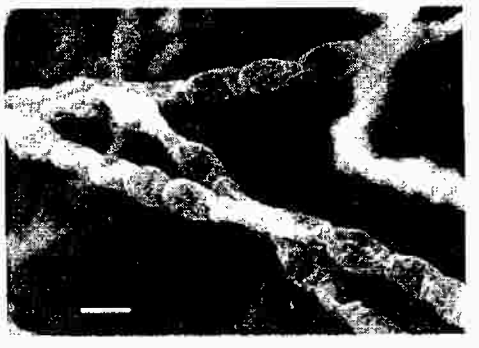
جـــدول رقم ١٤١ : تأثيـــر المضاد الحيـــوي مايتمايسن A ، في المعمل ، على بعض الكائنات الحية الدقيقة .

الكائن الحي المختبر	ملغ/لتر أقل تركيز يثبط نمو الكائن الممرض كلية
Fusarium culmorum	٣١,٢٥
Alternaria mali	١٥,٦٠
Botrytis cinerea	١٥,٦
Pellicularia sasakii	١٥,٦
Leptosphaeria nodorum	٣١,٢٥
Pyricularia oryzae	٣١,٢٥
Pseudocercosporella herpotrichoides	٦٢,٥
Phytophthora infestans	٧,٨

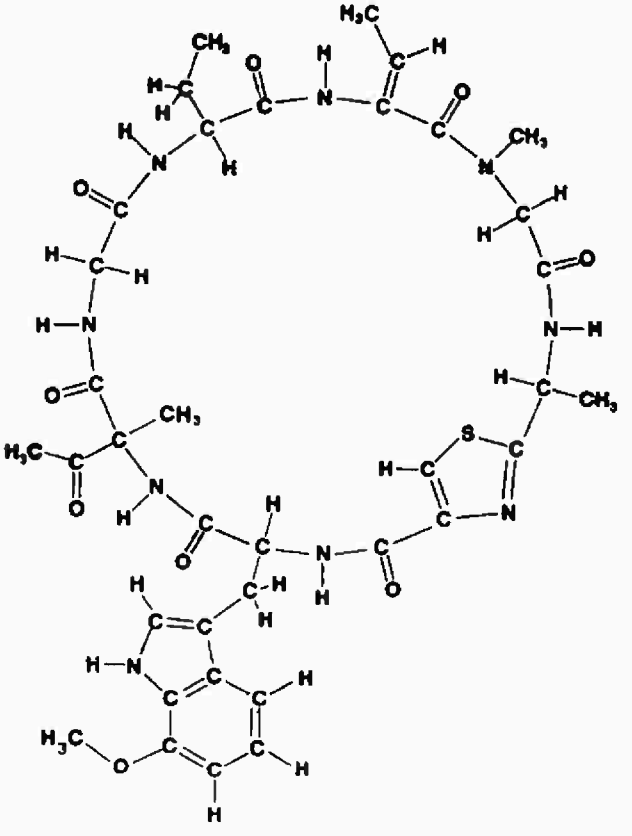
ملاحظـــات على الجدول : كانت تجرى التجارب على أساس استعمال قرص من الـــورق قطره ٦ ملم ويغرق في ٢٠ ميكولتر من محلول الاختبار ويجفف ويوضع فـــي البيئة الغذائيـــة . يظهر منطقة تثبيط بمقـــدار ١٠ ملم على الاجار . هـــذه طريقة قياس MAC .

تاسعاً : زلكوفامايسين Zelkovamycin

يعزل هذا المضاد الحيوي من مزرعة المرق المختمر للسلالة (K96 - 0670) من الجنس *Streptomyces* . تركيب هذا المضاد الحيوي يشبه تركيب المضاد الحيوي CP - 21.635 المعزول من مزرعة الكائن *S. olivaceus* ، وهو يتكون من حلقة ببتيدية تحتوي ثيازول وتربتوفان محور . (الشكل رقم ٩٤) يبين سلسلة من جراثيم السلالة K96 - 0670 . أما شكل ٩٥ يبين تركيب المضاد الحيوي زلكوفامايسين .



شكل رقم ٩٤ . صورة بالميكروسكوب لسلسلة جراثيم السلالة K96 - 0670 النامية على بيئة غير عضوية من الاملاح ونشا وآجار لمدة ١٤ يوم . مسطرة القياس ١ ميكروميتر



شكل رقم ٩٥ . التركيب الكيماوي للمضاد الحيوي زلكوفامايسين

يظهر هذا المضاد الحيوي فعالية ضد بعض الكائنات الحية الدقيقة مثل *Xanthomo-nas oryzae* حيث أن منطقة التثبيط Inhibition Zone تساوي ٢٦ ملم . أما في *Acholepasma laidlawii* السلالة PG8 ، كانت منطقة التثبيط ١٩ ملم . أما في *Sta-phylococcus aureus* (FDA 209 P) كانت منطقة التثبيط ١٦ ملم . لم يكن هناك تأثير مضاد على كل من (جدول ١٤٢) .

1- *Pyricularia oryzae* .
2- *Micrococcus luteus* .
3- *B. subtilis* .
4- *E. coli*.
5- *Mycobacterium smegmatis* .
6- *S. cerevisiae*.
7- *Aspergillus niger*.
8- *Candida albicans* .
9- *Pseudomonas aeruginosa*.
10- *Mucor racemosus*.

وجد أن المضاد الحيوي يثبط بناء البروتينات في البكتيريا الموجبة لصبغة غرام .

جدول رقم ١٤٢ : يبين تأثير المضاد الحيوي على نمو بعض الكائنات الحية الدقيقة .

تركيز المضاد الحيوي ميكروغرام/مل	٪ نسبة النمو مقاسة للكنترول في كل من الكائنات الحية			
	X. oryzae	*P. oryzae*	*S. aureus*	*A. laidlawii*
٠,٠١	٩٩	٩٨	٩٠	١٠٠
٠,١	٨٠	٩٠	٩٥	١٠٠
١, –	٥٠	٧٨	١٠٠	٩٠
١٠, –	٢	١٠	٣٠	––
١٠٠	١	٢	٢٠	––
٣٠٠	صفر	صفر	––	––

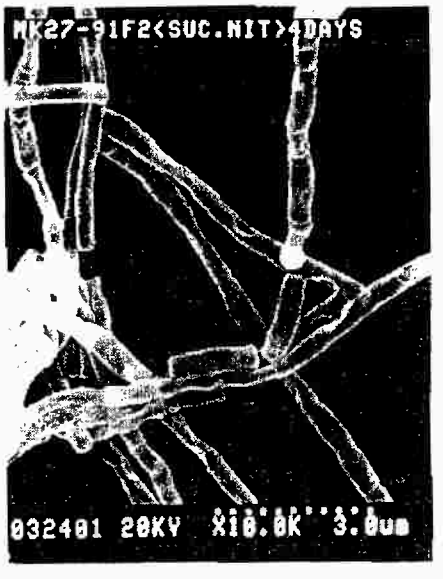
عاشراً : فورماميسين Formamicin

يعزل هذا المضاد الحيوي من المرق المختمر لمزرعة السلالة MK 27 - 91 F2 من الجنس *Saccharothrix* . يلاحظ نموها كما في (شكل ٩٦) . لها هيفات هوائية بيضاء إلى بنية أما ميسيليومات التكاثر فهي صفراء باهتة إلى صفراء بنية . لها جراثيم مستديرة ناعمة السطح ذات قياسات (٠,٣ – ٠,٥) × (١,١ – ١,٩) ميكروميتر .

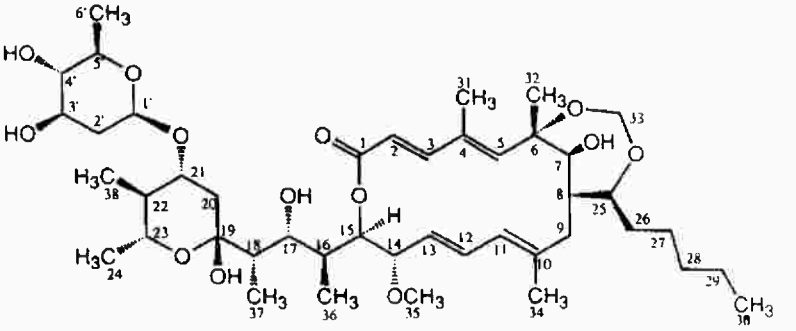
التركيب الكيماوي للمضاد الحيوي $C_{44}\ H_{72}\ O_{13}$ وهو كما في (شكل ٩٧) . المركب لونه مصفر إلى باهت . درجة الانصهار ٢٠١ – ٢٠٢°م .

عند دراسة التأثير المضاد لهذا المضاد الحيوي ضد الكائنات الحية الدقيقة . يتبين من جدول رقم ١٤٣ تأثير هذا المضاد على البكتيريا ومن جدول رقم ١٤٤ يتبين تأثير هذا المضاد على الفطريات ومن جدول رقم ١٤٥ تأثيره على أنواع مختلفة من الخلايا .

يظهر هذا المركب فعالية عالية ضد مجال واسع من الفطريات الممرضة للنبات ولكن تأثيره متوسط على البكتيريا الموجبة لصبغة غرام . كذلك فإن هذا المضاد يؤثر على تكوين الاورام في النبات وهو يصنف ضمن مجموعة Bafilomycin - concanamycin . تتميز هذه المجموعة من المضادات الحيوية بأنها تؤثر على ATP ase الفجوة العصارية .



شكل رقم ٩٦ : صورة بالميكروسكوب للسلالة Saccharothrix sp. MK 27-91F2 النامية على بيئة سكروز – نتريت – آجار لمدة ٤ أيام على حرارة ٢٧°م



شكل رقم ٩٧

Sructure of formamicin

جدول رقم ١٤٣ : يبين تأثير المضاد الحيوي فورماميسين على أنواع مختلفة من البكتيريا .

Test organisms	MIC (μg/ml)
Staphylococcus aureus FDA 209P	6.25
S. *aureus* Smith	12.5
S. *aureus* MS 9610	12.5
S. *aureus* MS 1626 (MRSA)	25
S. *aureus* TY-04282 (MRSA)	12.5
Micrococcus luteus IFO 3333	12.5
M. luteus PCI 1001	12.5
Bacillus subtilis NRRL B-558	50
B. cereus ATCC 10702	6.25
Corynebacterium bovis 1810	25
Escherichia coli NIHJ	> 100
Shigella dysenteriae JS 11910	> 100
Salmonella enteritidis	> 100
Proteus mirabilis IFM OM-9	> 100
Providencia rettgeri GN 466	> 100
Serratia marcescens	> 100
Pseudomonas aeruginoa A3	> 100
Klebsiella pneumoniae PCI 602	> 100
Mycobacterium smegmatis ATCC 607[a]	> 100

Mueller Hinton agarr, 37°C, 18 hours.
a 37°C, 42 hours.

جدول رقم ١٤٤ : يبين تأثير المضاد الحيوي فورماميسين علي أنواع مختلفة من الفطريات .

Test organisms	MIC (μg/ml)
Alternaria kikuchiana	12.5
Cochliobolus miyabeanus C-8	< 0.39
Diaporthe citri	< 0.39
Fusarium oxysporum IFO 9761	> 100
Gibberella fujikuroi	1.56
Pyricularia oryzae P-2	< 0.39
Rhizoctonia solani	1.56
Penicillium digitatum P-7	1.56
Cercospora beticola	3.13
Botrytis cinera B-22	25
Colletotrichum lagenarium	< 0.39
Ustilago maydis	< 0.39
Candida tropicalis F-1[a]	> 100
C. pseudotropicalis F-2[a]	100
C. albicans 3147[a]	100
C. YU - 1200[a]	100
C. krusei F-5[a]	6.25
Saccharomyces cerevisiae F-7[a]	0.2
Cryptococcus neoformans F-10[a]	0.39
Trichoplyton asteroides 429[a]	> 100
T. mentagrophytes F-15 (833)[a]	> 100
Aspergillus niger F-16[a]	100
A. fumigatus F-181[a]	100

ملاحظات علي الجدول :

١ – كانت تزرع الفطريات علي بيئة بطاطس–سكروز (–) آجار علي درجة حرار ٢٧° لمدة أربعة أيام.

٢ – العلامة a تعني أن البيئة عبارة عن آجار مغذي + ١ ٪ جلوكوز علي درجة حرارة ٢٧° لمدة ٤٢ ساعة .

جدول رقم ١٤٥ : التأثير السام للمضاد الحيوي فورماميسين على أنواع مختلفة من الخلايا

IC50 ميكروغرام / مل	مجموعة الخلايا
٠,٠٠٠١٥	L 1210 leukemia
٠,٠٠٠١٣	EL4 leukemia
٠,٠٠٠١٣	P 388 leukemia
٠,٠٠٠٢٩	IMC carcinoma
٠,٠٠٣٤٥	S 180 sarcoma
٢٠,٧	B 16 melanoma
١٢,٥	FS3 fibrosarcoma
٣,٦٢	Hela