

دراسة التأثير الميكروبي لعسل النحل (الحنّون) في نمو بعض أنواع البكتيريا

فوزي سعد آدم¹، مروان محمد كشلاف¹، على ابوالقاسم العاقل¹، عيبر مسعود القبلاوي¹ و فاطمة إبراهيم بن عامر²

1. قسم وقاية النبات - كلية الزراعة - جامعة طرابلس
2. قسم التربة والمياه - كلية الزراعة - جامعة طرابلس

المخلص

تضمنت الدراسة اختبار التأثير التثبيطي لتراكيز مختلفة لعسل الحنّون في بعض أنواع بكتيريا موجبة وسالبة لصبغة جرام وممرضة للإنسان والنبات

Agrobacterium tumefaciens

Pseudomonas , *Pseudomonas savastanoi*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *aureginosa*, أوضحت النتائج أن لعسل الحنّون تأثيراً تثبيطاً واضحاً عند التركيزين 100% و 75% في جميع البكتيريا قيد الدراسة، حيث كان متوسط أقطار مناطق التثبيط عند التركيز 100% لبكتيريا

(*P. aeruginosa* A. *tumefaciens*, *S. aureus* B. *subtilis* E.coli) هي (22 و 16 و 17 و 12 و 10 ملم) على التوالي. وعند التركيز 75% هي (17 و 9 و 9 و 10 و 2 ملم) على التوالي . يستنتى من ذلك بكتيريا *P. savastanoi* وبكتيريا *B. subtilis* اللتين أظهرتا مقاومة عند هذا التركيز (75%). أما عند التركيزين 50 و 25 % فلم يظهر تثبيط لعسل الحنّون في نمو الأنواع قيد الدراسة، باستثناء بكتريا

S. aureus التي أظهرت حساسية للعسل عند التركيز 50% مع نمو بعض المستعمرات المقاومة في منطقة التثبيط (16 ملم) .

الكلمات المفتاحية: عسل الحنّون، نبات الشماري، تثبيط ميكروبي.

المقدمة

ورد في أدبيات الحضارات القديمة مصطلح العلاج " النحلي " { *Apitherapy* } أو ما يعرف بالتداوي بمنتجات النحل الذي يعتبر من أقدم الممارسات التطبيقية التقليدية في معظم المجتمعات البشرية ما لم يكن جميعاً (4) إلا أن ما جاءت به العلوم الحديثة في هذا المجال قد كشفت النقاب عن التأثيرات العلاجية المهمة للعسل، فقد وجد أن للعسل بمختلف أنواعه قدرة فائقة على التعقيم وتطهير الجروح وضماها، وكذا حماية التقرحات من التلوث (12) وعلى الرغم من الكم الهائل من الدراسات والأبحاث التي انجزت في هذا المجال إلا أن الغموض مازال يكتنف العديد من الخصائص التركيبية للعسل وطرق تأثيره العلاجي (6)، (14). أوضح كل من karayil وآخرون (8) و Molan (15) و Allen وآخرون (1)، kingsley (11)، أن للعسل فعل مضاد للعديد من البكتيريا وبعض الفطريات الممرضة للإنسان وبهذا يفوق مفعوله الكثير من المطهرات والمضادات الحيوية المعروفة (3،5،13). حديثاً تم إحياء هذا النوع من العلاج باستعمال عسل النحل، وذلك نتيجة لتزايد التقارير والدراسات حول ظهور العديد من السلالات البكتيرية المقاومة لتأثير العديد من المضادات الحيوية جراء الاستعمال الجائر لها (6،8،16،17)، إضافة إلى الآثار الجانبية الناجمة عن استعمال بعض المنتجات الصيدلانية الأمر الذي أدى إلى ابتعاد الكثيرين عن استخدام العقاقير الاصطناعية في العلاجات المتباينة مفضلين العلاجات البديلة (العلاج النحلي)، وعلى الرغم من استعمال العسل كغذاء ودواء إلا أن اكتشاف فاعلية العسل العلاجية الممتدة في تأثيره المضاد على الجراثيم والميكروبات لم تحدد بالضبط إلا مع بداية القرن الماضي (2،6،7،9،16). إذ تكمن قدرة العسل الفائقة في تأثيره المضاد على الميكروبات في: تأثيره التناضحي حيث يمتاز العسل بضغط تناضحي عال لاحتواءه على سكريات (فركتوز، جلوكوز، سكروز الخ) بنسب قد تصل إلى 80%، التي من شأنها أن تعمل على بلزمة " plasmolysis" خلايا الكائنات الحية الدقيقة ما يؤدي إلى هلاكها، كذلك حمضية العسل إذ يتراوح تركيز أيون الإيدروجين (pH) من 3.2-4.7 ما يضيف صفة الحمضية على الوسط مؤدياً إلى تثبيط نمو العديد من الميكروبات (18). عند تميئ العسل (تخفيف العسل بالماء) مع وجود إنزيم جلوكوز أو كسيديز الذي يعمل على إنتاج فوق أكسيد الإيدروجين (يد2 أ2) ذو الفعل القاتل لكثير من الميكروبات، إضافة إلى احتواء العسل مركبات أخرى مثل الأحماض العضوية، بروتينات، وفيتامينات (C,B5,B2,B1) ومعادن وفينولات تعرف بالغلانويد (14)، وعلى الرغم من غزارة الأبحاث والدراسات التي تناولت التأثير الميكروبي لمختلف أنواع الأعسال على العديد من الميكروبات (البكتيريا والفطريات

(في العالم، إلا أن مثل هذه الدراسات لم يكن لها مساحة تذكر في ليبيا، رغم قناعتنا الأكيدة وتسلمينا المطلق بفوائد العسل ومنتجاته التي وردت جلياً في القرآن الكريم حيث ورد ذكر العسل في سورة النحل الذي وصفه العلي القدير بأن " فيه شفاء للناس ". مما تقدم نرى من الضرورة البحث والتنقيب عن الأسباب وهي عديدة التي تجعل من العسل القدرة العجيبة في الشفاء ومقاومة الكثير من البكتيريا والفطريات المسببة للعديد من الأمراض، كما أن تعاطي العسل حل اليوم بديلاً لعدد من المضادات الحيوية شائعة الاستعمال في وقتنا الحاضر. في ليبيا وبخاصة منطقة الجبل الأخضر " شرق البلاد " تشتهر هذه المنطقة بانتشار نبات يعرف باسم نبات الشماري (*Arbutus pavarii*) التابع للعائلة الخنجية (*Ericaceae*). تعرف هذه الشجيرة باسم " شجر القطلب " في منطقة حوض البحر المتوسط (شكل 2)، تلك الشجيرة العجيبة التي تحتفظ بثمارها اللذيذة الشبيهة بثمار التوت لعام كامل فهي تنتجها في عام لتتضح في العام الذي يليه (10،19). أما العسل الناتج من رحيق أزهار نبات الشماري فإنه يتميز عن غيره من الأعسال بطعمه اللاذع ولونه الغامق ولهذا يطلق عليه اسم عسل المر والذي يعرف في المنطقة الشرقية بعسل الحنّون ذو الخصائص الدوائية الكثيرة (10). تستهدف هذه الدراسة الأولية إلى تقييم القدرة التنشيطية لعسل الحنّون في أنواع مختلفة من البكتيريا الموجبة والسالبة لصبغة جرام.

مواد وطرق البحث

أنواع البكتيريا المستخدمة

استخدمت أنواع البكتيريا الموجبة لصبغة جرام بكتيريا *Staphylococcus aureus* ، *Bacillus subtilis* (المصدر/ قسم الإحياء الدقيقة كلية الطب البشري / جامعه طرابلس) والبكتيريا السالبة لصبغة جرام *Escherichia coli* ، *Pseudomonas aureginosa* ، *Agrobacterium tumefaciens* ، *Pseudomonas savastanoi* (النوعين الآخرين بكتيريا ممرضة للنبات / المصدر قسم وقاية النبات كلية الزراعة / جامعة طرابلس) حُفظت أنواع البكتيريا قيد الدراسة على أو ساط آجار مغذى.

العسل المستخدم:

استخدمت أربعة تراكيز مختلفة من العسل الحنّون (المصدر : منحل في مدينة البيضاء / الجبل الأخضر / ليبيا) هي (100%، 75%، 50%، 25%) حفظ العسل عند درجة حرارة 4م° في الظلام إلى حين استخدامه في التجربة.

اختبار التأثير الميكروبي

استخدمت طريقة الحساسية (طريقة الانتشار بالأقراص) حيث أضيفت كمية معلومة (2 مل) من التراكيز المختلفة من العسل إلي أقراص من أوراق الترشيح المعقمة (قطر القرص 6 ملم) موضوعة في إطباق بتري معقمة، تركت الأقراص لتتسبع بالعسل في درجة حرارة المختبر، تم نُشر 1مل من كل معلق لكل نوع من البكتيريا قيد الدراسة مُنمى على وسط آجار مغذ (تركيز اللقاح 10^7-10^8 وحدة تكوين مستعمرة حُددت بطريقة التخفيف الحي المتسلسل) على أطباق آجار مغذ باستخدام قضيبي زجاجي بشكل حرف L معقم ثم وزعت الأقراص وثبتت على سطح الآجار وتركت الإطباق بدرجة حرارة المختبر لمدة ساعة لغرض التشرب. حُضنت الإطباق في درجة حرارة 37°م للبكتيريا *E. coli* و *P. aureginosa* . *Staph. aureus* ، ودرجة حرارة 26-28°م لبكتيريا *A. tumefaciens* . في المقابل كان الشاهد عبارة عن أقراص أوراق ترشيح مشبعة بماء مقطر معقم . تم إجراء ثلاثة مكررات لكل معاملة، سُجلت النتائج بقياس أقطار مناطق التثبيط المتكونة حول الأقراص بالملم (أخذ متوسط القراءات الثلاثة لكل أقطار منطقة تثبيط لكل معاملة).

النتائج والمناقشة

أكدت دراسات عديدة سابقة أن الأعسال بأنواعها المختلفة لها تأثيرات مضادة (موقفة للنمو أو قاتلة) للعديد من الميكروبات مثل البكتيريا والفطريات وذلك نتيجة للتأثير التناضحي أو الحموضة ، أو تأثير فوق أكسيد الهيدروجين أو العوامل الكيمونباتية التي يحويها العسل (1،5،8،13،14،18). وبالنظر إلى الجدول (1) والشكل (1) (أ ، ب ، ج ، د ، ز ، و). يتضح التأثير التثبيطي لعسل الحنّون (تركيز 100%) واضحاً وجلياً على جميع أنواع البكتيريا قيد الدراسة (سواء الموجبة أو السالبة لصبغة جرام ، أو الممرضة للإنسان أو الممرضة للنبات) فظهر انعدام النمو البكتيري في جميع مناطق التثبيط ، مقارنة بأقراص الشاهد، أما تركيز (75%) فقد كان له فعالية تثبيطية أيضاً على جميع الأنواع البكتيرية المدروسة، ولكن بشكل أقل مقارنة بالتركيز 100% ، كما شمل التثبيط نوعي البكتيريا السالبة والموجبة لصبغة جرام كذا الممرضة للإنسان

(*P. aeruginosa* , *S. aureus*)

والممرضة للنبات (*A. tumefaciens*) في حين أبدى النوع *P. savastanoi* مقاومة للتركيز (75%، 50%، 25%)، أما التركيزين 25%، 50% لم يظهر تأثيراً بيناً على الأنواع البكتيرية قيد الدراسة باستثناء بكتيريا *S. aureus* وبكتيريا

P. aeruginosa إذ بلغ متوسط أقطار التثبيط 6،16 ملم على التوالي مع ظهور بعض المستعمرات المقاومة من بكتيريا *S. aureus* في منطقة التثبيط عند التركيز 50% (شكل 1) (ب). تتفق نتائج هذه الدراسة مع كثير من الدراسات السابقة (4، 5، 10، 17، 18) التي استخدمت فيها أسعال أخرى غير عسل الحنّون. أظهرت الدراسة المقامة أن لعسل الحنّون تأثيراً ميكروبياً ضد بعض أنواع البكتيريا وبخاصة عند التركيز العالية (100%، 75%)، دراسات سابقة عديدة اقترحت تفسيرات متباينة للآلية التي تؤثر بها الأسعال المختلفة في العديد من الميكروبات، من هذه التفسيرات تأثير الضغط التناضحي المرتفع نتيجة لتركيز السكريات المختلفة بالعسل الذي قد يصل تركيزه من (80-85%) ، أو تأثير الأس الهيدروجيني (pH) الحمضي أو بسبب تكوّن فوق أكسيد الهيدروجين (يد 2 أ2) أو لوجود بعض الإنزيمات أو مجموعة مثبطة أخرى، ونتيجة لعدم توافر معلومات عن المكونات الرئيسية لعسل الحنّون فبات من الضرورة البحث في آلية الفعل التثبيطي للعسل، ولا يتم ذلك إلا بعمل دراسة شاملة وتحليلية لمعرفة المكونات الرئيسية من السكريات، والماء، والبروتينات، والإنزيمات، المعادن الخ. لعسل الحنّون وتحديد العامل أو العوامل التي تجعل من عسل الحنّون مضاداً ذو فعالية تثبيطية عالية على البكتريا والفطريات، أيضاً إقامة دراسات مقارنة بين تأثير عسل الحنّون وبين أنواع الأسعال المختلفة المصادر النباتية وشائعة الاستهلاك على المستوي التجاري، حيث إن اختلاف نوع العسل وتركيزه يؤدي إلى اختلاف درجة تثبيط النمو الميكروبي. ونتيجة لندرة أو لعدم توافر معلومات عن تأثير العسل في الأنواع البكتيرية والفطرية المسببة لأمراض النبات، فقد شملت هذه الدراسة أنموذجاً لنوعين من البكتريا الممرضة للنبات *P. savastanoi*، *A. tumefaciens* الذين اظهرا حساسية عالية لعسل الحنّون للفعل التضادي وكانت النتائج الأولية واعدة ومحفزة لإقامة المزيد من الدراسات في هذا المجال، ومن اللافت أن دراسة أجريت سنة 2012 في كلية الارصاد والبيئة وزراعة المناطق الجافة بجامعة الملك عبد العزيز أظهرت هذه الدراسة أن عسل النحل وصمغ العسل (Propolis) كان لهما تأثيراً تثبيطياً على كل من البكتريا (*Pectobacterium carotovorum*) المسببة لمرض العفن الطري، وبكتيريا

(*A. tumefaciens*) المسببة لمرض التدرن التاجي. هذا النمط من الدراسات يمثل سبيلاً للبحث عن الطرائق البديلة لمكافحة أمراض النبات المتسببة عن البكتيريا والفطريات، عوضاً عن تلك الاستخدامات المفرطة للكيميائيات والمبيدات التي يترتب عنها مخاطر بيئية وصحية تخل بالتوازن البيئي للكائنات الحية النافعة، بالإضافة إلى تكلفتها الباهظة.

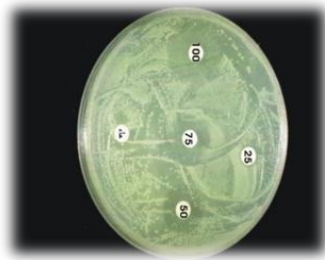
الاستنتاج

أوضحت نتائج الدراسة أن لعسل الحنّون بتركيزه المختلفة تأثيراً تثبيطياً عال في أنواع البكتريا. وبهذا تعتبر هذه الدراسة دافعاً لإجراء المزيد من البحث والتتقيب في هذا المجال الذي يعوزه الكثير من المعلومات، كما تُعد أسلوباً بديلاً وتوظيفاً للصفة العلاجية أو الوقائية لعسل الحنّون للكثير من المسببات الإراضية سواء للإنسان أو النبات.

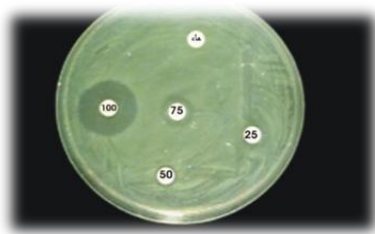
جدول (1). التأثير التثبيطي لتركيز مختلفة من عسل الحنّون في بعض الأنواع البكتيرية.

أقطار التثبيط (ملم) لأنواع البكتريا						النسبة (%)
<i>A. tumefaciens</i>	<i>P. savastanoi</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>Staph. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>E. coli</i>	
16	9	17	22	10	*12	100
9	2	9	17	2	10	75
0	0	6	***16	2	0	50
0	0	2	3	0	**0	25

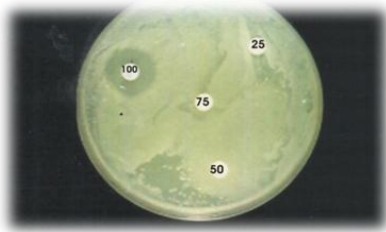
- (*) متوسط قراءة ثلاث مكررات (ملم) لمناطق التثبيط.
 (**) مناطق تثبط أقل من 3 ملم لا تؤخذ في الاعتبار.
 (***) ظهور بعض المستعمرات المقاومة في منطقة التثبيط.



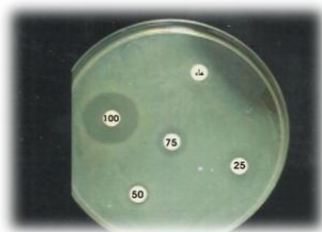
(ب)
S. aureus



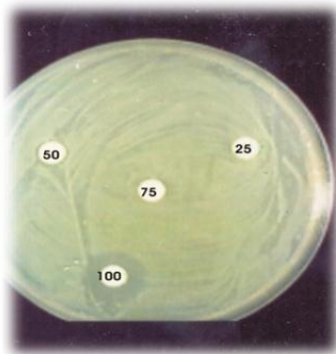
(ا)
P. aeruginosa



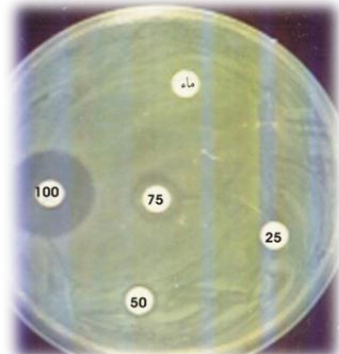
(د)
B. subtilis



(ج)
E. coli



(و)
A. tumefaciens



(ز)
P. savastanoi

شكل (1). تأثير عسل الحنّون (منطقة التثبيط) تجاه الأنواع البكتيرية قيد الدراسة.



شكل (2). نبات الشماري يحمل أزهار وثمار.

The study of microbial effect of different concentrations of Alhanoon honey on some species of Bacteria.

Fowzi, S. Adam¹, Marwon, M. Keshlaf¹, Ali, A. Alghagel¹, Abeer, M. Algeblawi¹ and Fatma, I. Benamer²

1- Plant protection dept.-faculty of agriculture-university of Tripoli.

2- Soil and water dept .-faculty of agriculture-university of Tripoli.

Abstract

The study implicated the possible inhibition effects of different concentrations of Alhanoon honey on some species of Gram positive, and Gram negative as well as human pathogenic and plant pathogenic bacteria (*A. Tumefaciens*, *P. Savastanoi*, *B. subtilis*, *P. aeruginosa*, *staph. aures* and *E. coli*). The results showed that, Alhanoon honey had obvious inhibition effect at the two concentrations of 100%, 75%, on all studied bacteria . where the averages of the zones at the concentrations of 100% for bacteria (*P. aeruginosa*, *A. Tumefaciens* , *Staph.aureus*, *B. subtilis* and *E. coli*) were (22, 16, 17, 12, 10 mm) respectively, and at concentration of 75% were (17, 9, 9, 10 and 2 mm) respectively with exception of bacteria *P. aeruginosa*, and *B. subtilis*, which both showed resistance at the concentration 75%. However, at the two concentrations 25% and 50% on inhibition was observed on the studied species, except the bacteria *Staph. Aureus* which showed sensitivity to the Alhanoon honey at concentration 50%, with appearance of some resistant colonies in inhibition zone.

Key words: Alhanoon honey, bacterial inhibition

المراجع

- 1-Allen. K. L., Hutchinson, G., and Molan, P. C. (2000). The potential for using honey to treat wounds infected with MRSA and VRE. First world healing conference, Melbourne Australia.
- 2-Crame, E. (1976). History of honey. a comprehensive survey ,pp 454-465(London: Morrison Gibb Ltd)
- 3-Dustman, J. H. (1979). Antibacterial effect of honey. *Apiacta*, 14: 7-11.
- 4-EI-toum, S. K. and Yagoub, S. O. (2007). Comparison study of antimicrobial activity of honey bees. *Research journal of Microbiology* 2(10):776-781
- 5-Greenwood, D. (1995). Sixty Years on :antimicrobial drug resistance of age lancet 346 (supplement1)- <http://privatewww.essex.ac.uk/islamicl/m/health-fit/honey-3.html>-
<http://www.sibexlunk.com>
- 6-Jaddar, A., Kharsnag, M., Ramsaroop, U. G., Bhamjee, A. Hafejee, I. E. , and Moosa, A. (1985). The antibacterial action of honey . *The South African Medical Journal*, 67: 257-258.
- 7-Kacániová, M., Vukovic, N., Bobková, A., Fikselová, M., Rovná, K., Haščík, P., Cubon, J., Hleba, L. and Bobko, M. (2011). Antimicrobial and antiradical activity of Slovakian Honeydew honey samples. In *The Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 1(3): 354-363.

8-Karayil, S., Deshpande S. D., and Koppikkar, G. V. (1998)

Effect of honey on multidrug resistant organism and its synergistic action with three common antibiotics . Journal of Postgraduate Medical, 44:93-99.

9-Kauffman, G. B. (1991). Chemophobia Chemistry in Britain –

June 512- 516. Kerll R (1996) Value added products from beekeeping (FAO Agricultural Services Bulletins)

10-Keith, H. G. (1970). “A preliminary check list of Libyan flora”.

Ministry of Agriculture and Agrarian Reform , pp 528-

11-Kingsley, O. I. (2001). The use of honey in the treatment of

infected wounds: Case studies, British Journal of Nursing, 10(22 supp1) : 513-518

12-Mohapatra, D. P., Thankur, V. and Brar S. K. (2011).

Antibacterial efficacy of Raw and processed honey. Biotechnology Research international, Vol. 204 Article TD917505, 6 pages

13-Molan, P. C. (1992). The antibacterial activity of honey: The

nature of the antibacterial activity "Bee world, 37(1): 5-28.

14-Molan, P. C. (2001) . The potential of honey to promote oral

wellness. General Dentistry. Nov – Dec; 49(6): 584-589.

15-Molan, P. C. (2001). Why honey is effective as a medicine , .

The scientific explanation of its effects . Bee world, 82(1) :22-40

16-Molan, P. C. and Brett, M. (1998). Honey has a potential as

dressing for wounds infected with MRSA . The second Australian wound management association conference . Brisbane . Australia

17- Patton, T., Barrett, J., Brennan J. and Moran, N. (2006).

Use of spectrometric bioassay for determination of microbial sensitivity to manuka honey. The Journal of Microbiological Methods, 64:84-95.

18-Ruiz-Argues, T. and Rodriguz-Navarro, A. (1973).

Gluconic and producing bacteria From honeybees and ripening honey. Journal of General Microbiology, 76: 211-216.

19-[https://www.google.com.ly/webhp?sourceid=chrome-](https://www.google.com.ly/webhp?sourceid=chrome-instant&ion=1&espv=2&ie=UTF8#q=%D8%B5%D9%88%D8%B1%20%D9%86%D8%A8%D8%A7%D8%AA%20%D8%A7%D9%84%D8%B4%D9%85%D8%A7%D8%B1%D9%8A)

instant&ion=1&espv=2&ie=UTF8#q=%D8%B5%D9%88%D8%B1%20%D9%86%D8%A8%D8%A7%D8%AA%20%D8%A7%D9%84%D8%B4%D9%85%D8%A7%D8%B1%D9%8A.