تأثير استخدام مستخلص بذور نبات الكرفس على بعض الجراثيم المرضية المسببة لالتهاب كيس المح في فروج دجاج اللحم

عامر رسام علي العقابي
كلية الطب البيطري/ جامعة القادسية

الخلاصة

أجريت هذه الدراسة للتحري عن فعالية تراكيز مختلفة من مستخلص بذور نبات الكرفس ضد نمو وتكاثر أنواع من الجراثيم المرضية المسببة لالتهاب كيس المح في أفراخ دجاج اللحم وهي المسبحيات، المكورات العنقودية، الاشريكيا القولونيةو السالمونيلا باستخدام طريقة الانتشار بحفر الاكار.

بينت النتائج فعالية جميع تراكيز المستخلص الكحولي الايثانولي لبذور نبات الكرفس المستخدمة قيد الدراسة وهي(25،50،100،200) ملغم/مل في تثبيط نمو جراثيم الاختبار مقارنة مع السيطرة (الكحول الايثانولي) باستثناء جرثومة السالمونيلا عند التركيز 25 ملغم/مل، مع تباين هذا التأثير اعتمادا على تركيز المستخلص المستخدم ونوع الجرثومة وقد اظهر التحليل الإحصائي وجود فروقات معنوية وعند مستوى احتمالية(0.05) بين معدلات أقطار التثبيط للتراكيز المختلفة ضد جميع أنواع الجراثيم المستخدمة قيد الدراسة ، كما اظهر التحليل الإحصائي إن المستخلص الكحولي لبذور نبات الكرفس عند التركيزين 100،200ملغم/مل تفوقا معنويا على التراكيز الأخرى للمستخلص.

Effect of using celery seeds extract (*Apium graveolens*) on some of bacteria causing omphalitis

A. R. A. Alaqaby
College of Veterinary Medicine/ Al- Qadisiya University

Abstract

This study was conducted to determine effect of different concentrations of celery seeds (*Apium graveolens*) against growth and replication of numbers of pathogenic bacteria which cause omphalitis in broiler chicks which consist differ of *Streptococcus , Staphylococcus aureus, E.coli, Salmonella* by using agar diffusion method.

The results showed that all concentrations (25,50,100,200) mg/ml are effective in inhibition of tested bacterial growth compared with the control (ethanolic alcohol) except *Salmonella* in 25mg/ml, also there were differences depend on the extract concentration and type of bacteria, the statistical analysis showed that there was significant differences under ($p>0.05$) between the zone of inhibition ranging for different concentrations against all types of used bacteria in this study. Also the statistical analysis showed that the alcoholic extract of celery seeds in 100,200 mg/ml have significant increases on other concentrations of extract.

المقدمة

عرف الإنسان منذ القدم أهمية النباتات الطبية عن طريق بحثه عن وسيلة للتخلص من الآلام والأمراض حيث استخدمت بعض الأعشاب والنباتات للحصول على الشفاء من تلك الآلام (1). لقد قدرت منظمة الصحة العالمية إ ن 80% من سكان العام يستخدمون طب الإعشاب رعاية لصحتهم، كما إن معظم المستحضرات الدوائية مازالت حتى هذه اللحظة تحتوي على مكونات فعالة مستخلصة من الإعشاب (2).

في بداية القرن الحادي والعشرين ورغم التطور الكبير في ميادين الكيمياء والصيدلة عاد الإنسان من جديد للتداوي بالإعشاب والنباتات الطبية بدلا من العديد من الأدوية الكيميائية التي أظهرت آثارا سلبية بعد استخدامها لمدة طويلة(3)، ومن تلك النباتات نبات الكرفس واسمه العلمي هو *Apium gravelens* ويعرف باللغة الانكليزية بعدة أسماء هي Marsh parsle و Smallage، Celery و Celer و Achedes marais و Acedouce (4).

يتصف الكرفس بطعم ورائحة حادة نسبة لاحتوائه على مركب Lacton-3- butyl phathalide ومركب-3 butyl-4, 5 dihydrophathalid، تشكل نسبة الزيوت الطيارة منه 1.5−3% من البذور وتحتوي على التربينات Terpenes و الليمونين Limonene و B-Selinene والفاثاليدات Phathalides، وكما تحتوي البذور على الكومارينات Cumarins التي تضم Seselin و Osthenol و apigravin و Celerin و Furanocoumarin Umbellifeone والذي يشتمل على Bergaptin والفلافونيدات Flavonoids (Apigenin و Apiin) والكلايكوسيدات و مادة الكولين (5) و(6)، و Ascorbate و زيوت ثابتة وأحماض دهنية وقلويداتو الفا بيتا حامض اللينولك α, B. Linolenic acid و Endesmol و Boron وكلوروفيل وايونات مختلفة كالكالسيوم والحديد والمغنسيوم والبوتاسيوم والفسفور وفيتامينات A و C إضافة إلى احتوائه على الزيوت الطيارة والأحماض الامينية كالتايروسين والكلوتامين، يحتوي زيت بذور الكرفس على Delta limonene و B-Selinene و Sesquiterpene و Phathalide و Phathalid 3-n-butyl و Sedanoide وأحماض دهنية مثل Linoleic acid و Oleic acid و Myristic و Palmitic و Petroselinic (7).

يعمل الكرفس كمطهر Antiseptic، مضاد للطفيليات والفطريات، مرطب ، معطر ، طارد للريح Carminative، مدرر Diuretic، مدرر للطمث Emmenagoue، مشهي Appetizer ومضاد للتأكسد، وقد استخدم الكرفس لعلاج التعب exhaustion وداء النقرس Gout والأرق الليلي والتهاب العين Ophthalmitis والتهاب اللثة القيحي Pyorrhea والهستريا Hysteria ومنقي للدم وملين Laxative(8)، وبسبب ما تقدم من أهمية لنبات الكرفس وبسبب فعاليته المضادة للجراثيم أجريت هذه الدراسة للتقصي عن فعاليته المضادة لبعض الجراثيم المسببة لالتهاب كيس المح.

المواد وطرائق العمل

أولا: جمع العينات.

جمعت كمية من بذور نبات الكرفس من السوق المحلية وغسلت بالماء المقطر المعقم وجففت في درجة حرارة المختبر بعدها طحنت بالمطحنة الكهربائية ووضعت النماذج المطحونة في أكياس بلاستيكية معقمة وجافة ومعلمة ثم حفظت لحين الاستخدام.

ثانيا : عزلات جراثيم الاختبار.

تم الحصول على العزلات الجرثومية من المستشفى البيطري التعليمي في الديوانية والمعزولة من حالات التهاب كيس المح ،شخصت الجراثيم في مختبرات كلية الطب البيطري/ جامعة القادسية وحفظت في اكار مائل من نقيع الدماغ والقلب بدرجة حرارة الثلاجة لحين الاستخدام.

ثالثا : تحضير المستخلص النباتي.

اتبعت طريقة Harborne (9) في تحضير المستخلص النباتي إذ تم اخذ 50 غم من مسحوق البذور والمحضرة في الفقرة ولا ووضع في دورق زجاجي سعة 1000مل وأضيف إليه 500مل من الكحول الاثيلي (70)% بعدها وضع الدورق على سخان مغناطيسي بدرجة حرارة 50°م وترك المزيج ليمزج جيدا بمساعدة المازج المغناطيسي لمدة 24 ساعة بعدها رشح المحلول باستخدام عدة طبقات من الشاش الطبي ولا ثم باستخدام أوراق ترشيح من نوع Whatman No.2 وترك الراشح في الفرن الكهربائي بدرجة حرارة 50°م إلى حين جفاف الراشح وحفظ المسحوق المتكون بعد وزنه في الثلاجة لحين الاستخدام.

رابعا : تحضير التراكيز المختلفة للمستخلص النباتي.

تم تحضير محلول خزين Stock من مستخلص بذور نبات الكرفس وذلك بوزن 1غم من المستخلص وتم إذابته في 5مل من الكحول المخفف للحصول على التركيز 200ملغم/ مل ومنه حضرت بقية التراكيز المستخدمة قيد الدراسة وهي (25،50،100) ملغم/مل.

خامسا : اختبار حساسية الجراثيم للمستخلص النباتي.

استخدمت طريقة الانتشار عبر الاكار لغرض دراسة الفعل التثبيطي لمستخلص بذور نبات الكرفس الكحولي ضد نمو عدد من الجراثيم في الأطباق الزرعية وذلك بتحضير وسط اكار المولر–هنتون بعد تعقيمه بالمؤصدة أضيف إلى أطباق بتري المعقمة بمقدار 20مل من كل طبق ووضع في الثلاجة لعدة دقائق للمساعدة في تصلب الوسط بعدها وبطريقة المسح تم اخذ جزء من العالق الجرثومي وتم إضافته إلى المستنبت على هيئة قطرات وزعت على جميع أجزاء الطبق ثم نشرت باستعمال الناشر الزجاجي ثم عملت 5حفر في كل طبق أربع منها محيطية وواحدة مركزية وضعت فيها المذيب المستخدم في إذابة المستخلص النباتي أما الحفر المحيطية فقد وضعت فيها التراكيز المختلفة للمستخلص النباتي وبمقدار 0.1مل لكل حفرة بعدها حضنت الأطباق بدرجة حرارة(37)°م مدة 24 ساعة وقرأت النتائج بقياس هالة تثبيط النمو حول كل حفرة بالملم باستخدام مسطرة شفافة.

النتائج

تشير النتائج إلى ان المستخلص الكحولي لبذور نبات الكرفس يمتلك تأثيرا مضادا لأربعة أنواع من الجراثيم المسببة لحالات التهاب كيس المح في فروج دجاج اللحم كما هو موضح في الجدول (1)، ان التأثير التثبيطي كان متباينا اعتمادا على تركيز المستخلص المستخدم (25،50،100،200) ملغم/مل، وكذلك كان مختلفا باختلاف الجرثومة المستخدمة في الاختبار (المسبحيات، المكورات العنقودية، الاشريكيا القولونية، السالمونيلا) وقد أعطى التركيز 200 ملغم/مل أعلى معدل لتثبيط النمو الجرثومي للجراثيم قيد الدراسة إذ بلغ معدل أقطار تثبيط النمو (15.3±0.57، 15.3±0.57، 12± صفر، 14± صفر) على التوالي ضد جراثيم المسبحيات، المكورات العنقودية، الاشريكيا القولونية، السالمونيلا مقارنة مع مجموعة السيطرة (الكحول الايثانولي المخفف). في حين بلغ معدل أقطار تثبيط النمو في التركيز 25 ملغم/مل الأقل تأثيرا بين التراكيز الأربعة وأعطت أقطارا من تثبيط النمو قدرها (9.66± 0.57، 9± صفر، 9± صفر، صفر) ضد جراثيم المسبحيات، المكورات العنقودية، الاشريكيا القولونية، السالمونيلا على التوالي إذ لوحظ انه لم يكن هنالك تأثير على جرثومة السالمونيلا عند التركيز 25 ملغم/مل.

تشير نتائج التحليل الإحصائي باستخدام اختبار ANOVA مع اقل فرق معنوي (LSD) ان المسبحيات كانت أكثر الأنواع تأثرا بالمستخلص الكحولي لبذور نبات الكرفس تليها جرثومة المكورات العنقودية ثم الاشريكيا القولونية وأخيرا السالمونيلا والتي كانت الأقل تأثرا بالمستخلص الكحولي لبذور نبات الكرفس إذ كانت معدل أقطار تثبيط النمو (صفر، 9± صفر) عند التركيزين 25،50 ملغم/مل على التوالي.

بينما كانت جرثومة الاشريكيا القولونية عند التركيزين 100، 200 ملغم/مل الأقل تأثرا حيث بلغت معدل أقطار تثبيط النمو (12± صفر) لكلا التركيزين، كما أظهر ت نتائج التحليل الإحصائي وجود فروق معنوية في تأثير التراكيز المختلفة من المستخلص الكحولي لبذور نبات الكرفس والمضادين الحياتيين (الامبسيلين و السبروفلوكساسين) في تثبيط نمو الجراثيم المستخدمة في الدراسة الحالية إذ كانت العلاقة طر دية بين معدل قطر تثبيط النمو الجرثومي وبين تراكيز المستخلص المستخدمة، وأشارت النتائج الموضحة في الجدول (1) إلى ان تأثير المستخلص الكحولي لبذور نبات الكرفس كان ذا تأثير اقل على الجراثيم قيد الدراسة من تأثير المضادين الحياتيين.

جدول (1) تأثير المستخلص الكحولية لبذور نبات الكرفس على بعض الجراثيم المسببة لالتهاب كيس المح

الجراثيم المدروسة / تركيز المستخلص ملغم/مل	المسبحيات	المكورات العنقودية	الاشريكيا القولونية	السالمونيلا
25	0.57 ±9.66 Aa	9 ± صفر Aa	9 ± صفر Aa	--- Ba
50	0.57 ±13.66 Ab	0.57 ±10.33 Bb	0.57 ±10.33 Bb	9 ± صفر Cb
100	0.57 ±15.33 Ac	0.57 ±12.33 Bc	12 ± صفر Bc	0.57 ±10.33 Cc
200	0.57 ±15.33 Ac	0.57 ±15.33 Ad	12 ± صفر Bc	14 ± صفر Cd
الامبسيلين 10مايكروغرام/مل	0.5 ±18 Ad	0.7±16.2 Bd	0.3 ±14.1 Cd	0.2 ±19 De
السبروفلوكساسين 5 مايكروغرام/مل	0.4 ±20.4 Ae	0.2 ±22.5 Be	0.8 ±17.4 Ce	0.9 ±25.4 Df
مجموعة السيطرة (الكحول المخفف)	صفر Af	صفر Af	صفر Af	صفر Ag

A,B,C,D يعني وجود فرق معنوي بين المجاميع أفقيا

a,b,c,d,f,g يعني وجود فرق معنوي بين المجاميع عموديا

تمثل القيم معدل أقطار تثبيط النمو الجرثومي (ملم)±الخطأ القياسي

المناقشة

تشير نتائج الدراسة الحالية إلى ان المستخلص الكحولي لبذور نبات الكرفس يمتلك تأثير مضاد لنمو وتكاثر الجراثيم قيد الدراسة ويرجح ان تكون الفاعلية التثبيطية للجراثيم ناتجة من المادة أو المواد الفعالة Active

Ingredients الموجـودة فـي تلـك البـذور إذ أشـار البـاحثون إلـى ان تلـك البـذور كانـت تحتـوي علـى القلويدات Alkaloids والفلوفونيدا ت Flavonoids والكلايكوسيدات (10).

أشار الباحث Spiailiene وجماعته (11) إلى ان المكونات الرئيسية لجذور نبات الكرفس هي Carvone وLimonene و 3-n-butylphthalide، كما أشار الباحث نفسه إلى ان مستخلص أوراق الكرفس وجذوره يمتلك تأثيرا مثبطا لنمو جراثيم الاشريكيا القولونية *E. coli* و *Hafani alvei* و *Staphylococcus aureus* و *Salmonella typhi* و *Bacillus cerus* و *Enterococcus faecalis* و *Enterococcus Aerogenes* وهذا يتوافق مع نتائج الدراسة الحاليةالتي بينت ان لمستخلص بذور نبات الكرفس تأثيرا مثبطا واضحا على نمو جراثيم الاشريكيا القولونية *E. coli* في الأطباق الزرعية. كما تتوافق نتائج هذه الدراسة مع ما أشار إليه الباحث Akroum وجماعته (12) حيث وجد ان مستخلص نبات الكرفس له الفاعلية في تثبيط جرثومة الاشريكيا القولونية *E.coli*.

كما أشارت دراسة الباحثان Rani و Khullar (13) والباحث Lan وجماعته (14) إلى الفاعلية التثبيطية لمجموعة من النباتات الطبية المستخدمة في علاج الأمراض المعوية ومن ضمنها نبات الكرفس وأظهرت النتائج ان للمستخلص الفاعلية المعتدلة في تثبيط الميكروبات، بينما أشار الباحث Watt وجماعته (15) ان مستخلص نبات الكرفس لا يمتلك فاعلية ذات أهمية في تثبيط جراثيم الاشريكيا القولونية *E.coli* وهذا لا يطابق نتائج الدراسة الحالية.

قام الباحث Misica وجماعته (16) بدراسة مقارنة بين طريقتين لاستخلاص نبات الكرفس إذ اثبت ان العصير المستخلص بطريقة supercritical يكون ذا تأثير أقوى من العصير المستخلص بطريقة التقطير المائي ضد كل أنواع الجراثيم المدروسة وهي *Listeria monocytogenes , Listeria ivanovii, Staphylococcus aureus* المعزولة من الحيوان أو من العيادات ما عدا حالة واحدة عزلت من اللحم المفروم، كما ان المستخلص بطريقة super يمتلك فعالية تثبيطية بشكل كبير ضد عترتين من *Staphylococcus aureus* عزلت من اللحم المفروم. كما بين ان المكونات الفعالة وهي sedanenolide , sedanolide, & 3-n-butylphthalide تكون أعلى في المستخلص super مما في التقطير المائي.

كذلك أظهرت نتائج بعض الدراسات العلمية إن للمركب Beta selinen, 3-n-b و 5-allyl-2methoxy phenol المعزولة من بذور الكرفس دور في تثبيط نمو الفطريات من نوع*Candida albicans* و *Candida Kruse* كما إن هذه المركبات تسبب قتل البعوض الناقل للحمى الصفراء بنسبة 100%، والطفيليات الاسطوانية في حين يؤدي زيت الكرفس إلى القضاء على السركاريا ضمن احد مراحل تطور طفيلي *Schistosoma* (17).

المصادر

1. سعد، شكري إبراهيم. (1988). النباتات في خدمة الإنسان. مجلة العلوم الحديثة، جمعية مدرسي العلوم، جامعة عين شمس، مصر، ص 24–28.
2. Vhnpa, M. R. (2005). Herb power in drugs. Encyclopedia Medicinal plant. London, 4(6):88-90.

3. أوجي، نورا عبد الحميد محمد. (2004). التأثيرات الفسلجية والنسيجية الناتجة عن نبات عرق السوس *Glycyrrhiza glabra* L. في مبايض الفئران البيض. رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة بغداد.

4. أودي، بنسليوب. (1999). الكامل في الإعشاب والنباتات الطبية. بيروت، لبنان. ص 37.

5. Momin, R. A. & Nair, M. G. (2002). Antioxidant cyclooxygenase and Topoisomerase inhibitor, compound from *Apium gaveolers* seeds. phytomedicine., 9(4): 312-318.

6. Taher, M.; Ghannadi, A. & Karmiyan, R. (2007). Effect of volatile oil extract of *Anthum graveolens* & *Apium graveolens* on activity of liver enzymes in rat. The J. of Qazvin Univ. of Med. Sci.,11(2):

7. Falzari, L. & Menary. R. (2005). Development of a celery oil and extract industry. Rural industries Research & Development corporation., 5: 133.

8. Wuest, J. R. & Gossel, T. A. (2002). Containing Education for pharmacists : Natural products: cascara to centaury: American Botanical council www. Herbalgram.

9. Harborne, J. B. (1973). Phytochemical Methods. Chapman and Hall. London.

10. Hemmer, M. J. (1997). Quantitative HPLC Assay for the Phthalides in Celery Products. Thesis. Department of Chemistry/ Kalamazoo College.

11. Sipailiene, A.; Venskutonis, P. R.; Sarkinas, A. & Cypiene, V. (2005). Composition and antimicrobial activity of celery (*Apium graveolens*) leaf and root Extracts. Congress on Medicinal and Aromatic Plants.V.3: Perspectives in Natural Product Chemistry.

12. Akroum, S.; Satta, D. & Lalaoui, K. (2009).Antimicrobial, Antioxidant, Cytotoxic Activities and Phytochemical Screening of Some Algerian Plants. European J. of Sci. Res., 31(2):289-295.

13. Rani, P. & Khullar, N. (2004). Antimicrobial evaluation of some medicinal plant for their anti-enteric potential against Multi-drugs resistant *salmonella typhi*. Phytotherapy Res.,18(8): 670-673.

14. Lans, C. J.; Turner, N.; khan, T.; Brouer, C. & Boepple, W. (2007). Ethano veterinary medicines used for ruminant in British colambia. J. Ethano boil. Ethano Med.,3:11.

15. Misic, D.; Zizovic, I.; Stamenić, M.; Ašanin, R.; Ristić, M.; Petrović, S. & Skala, D. (2008). Antimicrobial activity of celery fruit isolates and SFE process modeling. Bio. Eng. J., 42(2):148-152.

16. Watt, K.; Christofi, N. & Young, R. (2007). The detection of antibacterial actions of whole herb tinictures using luminescent *E. coli*. Phytotherapy Res., 21(12):1193-1199.

17. Momin, R. A.; Ramsewak, R. S. & Nair, M. G. (2000). Bioactive Compounds and 1, 3. D.(cis). 3- octadecenoy-2- (cis.; cis)-9,1.2- octadeca drenoyl glycerol from *Apium graveolens* seeds. Agric. Food Chem.; 48(9): 37-88.