

مقایسه اثر عصاره الکلی و اسانس سه گیاه *Rosmarinus officinalis L.*، *Melissa officinalis L.* و *Lavandula angustifolia Mill.* در دفع پشه *Anopheles stephensi*

محمد برات شوشتری^{۱*} و روح‌الله قلندری^۲

۱- نویسنده مسئول، کارشناس ارشد ژنتیک اصلاح نباتات، مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی- پژوهشکده علوم و فناوری نوین

پست الکترونیک: behzadshostary@gmail.com

۲- داروساز، مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی- پژوهشکده علوم و فناوری نوین

تاریخ پذیرش: دی ۱۳۸۹

تاریخ اصلاح نهایی: آذر ۱۳۸۹

تاریخ دریافت: تیر ۱۳۸۸

چکیده

کنترل پشه‌ها و حفاظت افراد از گزش آنها یکی از مهمترین راه‌های پیشگیری از بیماری‌های منتقله به‌وسیله آنها می‌باشد. گزش این حشرات علاوه بر ایجاد عوارض موضعی (خارش، قرمزی و سوزش) می‌تواند موجب انتقال بیماری‌های مهلک و خطرناک به‌خصوص در مناطق حاره و گرمسیری گردد. یکی از روش‌های کنترل این بیماری حفاظت افراد از گزش پشه‌های ناقل می‌باشد، استفاده از دورکننده‌ها به‌ویژه دورکننده‌های گیاهی از روش‌های مناسب برای حفاظت افراد به‌شمار می‌رود. در این مطالعه از سه گیاه ملیس (*Melissa officinalis L.*)، رزماری (*Rosmarinus officinalis L.*) و لاواندا (*Lavandula angustifolia Mill.*) استفاده شده‌است که بعد از تهیه اسانس و عصاره هر کدام، در دو مرحله آزمایش حیوانی و انسانی خاصیت دفع‌کنندگی آنها بر علیه پشه *Anopheles stephensi* مقایسه گردید. در نهایت اثر دفع‌کنندگی اسانس‌ها و عصاره‌ها با ترکیب شیمیایی دفع N و N-دی‌اتیل ۳- متیل بنزامید که به‌عنوان کنترل مثبت است، مورد مقایسه قرار گرفت. نتایج تجزیه و تحلیل آماری نشان داد که بین عصاره و اسانس اختلاف معنی‌داری (۰/۱) وجود دارد و اثرگذاری اسانس بیشتر از عصاره بود. همچنین نتایج نشان داد که اثر دفع‌کنندگی این مواد در حیوانات نسبت به انسان بیشتر بوده‌است.

واژه‌های کلیدی: *Lavandula angustifolia Mill.*، *Rosmarinus officinalis L.*، *Melissa officinalis L.*، پشه آنوفل (*Anopheles stephensi*)، دفع حشرات.

مقدمه

محققان از محصولات جایگزین طبیعی (منابع گیاهی) که دارای اثرهای غیرمضر و سازگار با محیط‌زیست هستند، استفاده نمودند (Nerioa et al., 2010). سال‌های قبل از ۱۹۴۰ موادی خوشبو از قبیل روغن سیترونلا (*Sitronela oil*)، روغن دانه میخک و کامفر (*Camphor*) از معمولی‌ترین مواد دفع حشرات بودند.

در چند سال گذشته استفاده طولانی مدت از مواد شیمیایی که برای کنترل، از بین بردن و دفع حشرات و بندپایان مورد استفاده قرار گرفتند، نگرانی‌های فراوانی برای محیط‌زیست و سلامت انسان محسوب می‌شدند (Nerioa et al., 2010؛ Yang et al., 2002). بنابراین

فلور طبیعی ایران دارای گیاهانی است که به صورت سنتی به عنوان دافع حشرات به منظور مقابله با بیماری مالاریا از سال‌های دور مورد استفاده قرار می‌گرفتند.

بروز جنگ جهانی دوم و نیاز پرسنل نظامی در مناطق گرمسیری موجب شد که تحقیقات وسیعی در زمینه کشف و تهیه داروهای دافع حشرات انجام گیرد (Wilkinson, 1996). بدون تردید نیروهای نظامی ایران نیز چه در شرایط عادی و چه در شرایط بحرانی در معرض خطر جدی این بیماری قرار داشتند (خوبدل و همکاران، ۱۳۸۲). بدین منظور بیش از ده هزار ترکیب شیمیایی برای خاصیت دفع‌کنندگی حشرات مورد آزمایش قرار گرفته‌اند (Abu-Qare & Abou-Donia, 2001)؛ (Fradin, 1998). با این حال بروز برخی از عوارض جانبی در استفاده طولانی مدت از مواد دافع رایج، باعث شده‌است که توجه محققان به مواد دافع گیاهی جلب گردد (Barnard & Xue, 2004).

هدف از این بررسی شناسایی و استفاده از گیاهانیست که علاوه بر دفع حشرات، مصرف آنها برای انسان بی‌خطر بوده و هیچ‌گونه مسمومیتی را در فرد ایجاد ننماید. علاوه بر آن گیاهانی را انتخاب کردیم که در ایران قابل کشت بوده و به راحتی تکثیر شوند.

در مورد خاصیت دفع‌کنندگی حشرات با توجه به اسانس و عصاره گیاهان تحقیقات متعددی انجام شده‌است که نمونه‌هایی از تحقیقات انجام شده به صورت زیر است: در تحقیقات قبلی از ۱۰ گیاه دارویی که به عنوان دافع، بازدارنده و از بین برنده تخم و لارو حشره کامل سه گونه پشه *Anopheles stephensi*، *Aedes aegypti* و *Culex quinque-fasciatus* استفاده کردند، در نهایت اسانس گیاهان زنجبیل و رزماری را به ترتیب به عنوان از بین برنده

علاوه بر این، برخی گیاهان نیز مانند برگاموت (نوعی گلابی)، اکالیبتوس، رازیانه، پونه، فلفل‌فرنگی، گیاه افسنتین یا خارگوش، میخک و درخت چای شناخته شده بودند که این ویژگی را از خود نشان می‌دادند (Wilkinson, 1996). براساس گزارش سازمان بهداشت جهانی، کشورهای حوزه مدیترانه شرقی از جمله ایران از مهمترین کانون بیماریهای منتقله به وسیله‌ی حشرات و سایر بندپایان در دنیا هستند و با توجه به تنوع ناقلین و به‌ویژه گونه‌های پشه‌ها، در معرض خطر انتشار بسیاری از بیماریها قرار دارند (WHO, 2004). تاکنون ۶۴ گونه پشه از ایران گزارش شده‌است که شامل ۲۸ گونه *Anopheles*، ۳ گونه *Aedes* و ۱۹ گونه *Culex* و ۱۴ گونه از جنس‌های سایر پشه‌ها می‌باشد (Azari-Hamidian, 2007). در بین تمام حشرات ناقل بیماری به انسان، گونه *Anopheles* معروفترین و بدنام‌ترین آنها می‌باشد.

در میان گونه‌هایی که ناقل بیماری مالاریا هستند پشه *Anopheles stephensi* از مهمترین آنها به‌ویژه در ایران محسوب می‌شود. این پشه در هندوستان و برخی از کشورهای غرب آسیا سالانه حدود ۵۰٪-۴۰٪ از بیماری مالاریا را باعث می‌شود (Collins & Paskewitz, 1995)؛ (Curtis, 1994).

در سطح جهانی، مالاریا سالانه موجب مرگ ۳ میلیون نفر می‌شود و در هر ۳۰ ثانیه یک کودک به علت این بیماری از بین می‌رود (Shell, 1997). تحقیقات برای تولید واکسن موثر علیه بیماری مالاریا هنوز در حال انجام است. برای جلوگیری از انتقال بیماری توسط این حشره اقدامات حفاظتی شخصی، از جمله موادی که دافع حشرات باشند به‌طور گسترده استفاده می‌شود (Walker et al., 1996; et al., 1993).

مناسب خشک شدند. قسمت‌های خشک شده توسط آسیاب برقی پودر و از آن به روش ماسراسیون (Maceration) (خیساندن) عصاره الکلی تهیه گردید (Tyler et al., 1988). در این روش ۱۰۰ گرم از پودر را با یک لیتر اتانول به‌عنوان حلال به مدت ۳ روز خیسانده و عصاره بدست آمده توسط دستگاه تقطیر در خلأ در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد تغلیظ شد. برای تهیه اسانس، آب ۲ بار تقطیر را به ۱۰۰ گرم پودر هر گیاه اضافه و در دستگاه کلونجر (Clevenger) عمل اسانس‌گیری انجام شد. سپس به‌منظور بررسی اثر دفع‌کنندگی آن بر روی پشه آنوفل، از عصاره (Extracts) و اسانس (Essential Oils) گیاهان استفاده شد (Buescher et al., 1985; Klun & Debboun, 2000).

انتخاب حشره

در این مرحله، پشه ناقل بیماری مالاریا یعنی پشه آنوفل انتخاب و به دنبال آن تخم پشه آنوفل گونه استغفنیسی از بخش حشره‌شناسی دانشکده بهداشت تهران (دانشگاه علوم پزشکی) تهیه شده و در شرایط دمایی 27 ± 3 درجه سانتی‌گراد و رطوبت 80 ± 10 درصد پرورش داده شدند. در اواخر دوره لاروی که لاروها به پشه تبدیل شدند به قفس استوانه‌ای به قطر ۱۶ سانتی‌متر و ارتفاع ۲۲ سانتی‌متر انتقال داده شدند. جنس دیواره قفس از پلی‌اتیلن انتخاب شد تا درون قفس شفاف و قابل مشاهده باشد، همچنین سقف آن توسط پارچه توری مسدود گردید تا پشه‌ها امکان نیش زدن از میان آن را داشته باشند. مالاریای انسانی فقط به‌وسیله پشه آنوفل ماده منتقل می‌شود، زیرا پشه‌های نر زوائد دهانی لازم جهت نیش زدن و خون‌خواری را

و دافع سه گونه پشه معرفی کردند (Prajapati et al., 2005). همچنین از اسانس و عصاره لیمو و ملیسا برای خاصیت دفع‌کنندگی پشه آنوفل استغفنیسی استفاده نمودند و نتایج آنها نشان داد که اسانس هر دو گیاه در خاصیت دفع‌کنندگی حشرات مؤثرتر از عصاره بوده، ولی با این حال تفاوت معنی‌داری بین عصاره و اسانس وجود نداشته‌است و هر دو برای این حشره به‌عنوان دفع‌کننده مؤثر واقع شدند (Oshaghi et al., 2003).

در یک مطالعه دیگر، اسانس برگ ۵ گیاه مختلف را استخراج و اثر دفع موضعی آنها را علیه پشه آنوفل مورد بررسی قرار دادند. در این مطالعه گیاه کدو قلبیایی تلخ (*Ipomoea cairica* L.) و نوعی نیلوفر (*Momordica charantia* L.) به‌عنوان دو دافع حشره ناقل مالاریا معرفی شدند (Rajkumar & Jebanesan, 2007).

مواد و روشها

انتخاب گیاه

در این تحقیق از گیاهانی که در زمان‌های قدیم به‌عنوان دفع‌کننده حشرات شناسایی شده بودند مورد استفاده قرار گرفت. همچنین سعی شد گیاهانی انتخاب شوند که علاوه بر تکثیر راحت آنها، مصرف آن برای انسان بی‌خطر باشد و مسمومیتی را در فرد ایجاد ننماید. به دنبال آن سه گیاه لاواندا (*Lavandula angustifolia*)، رزماری (*Rosmarinus officinalis*) و ملیس (*Melissa officinalis* L.) تحت آزمایش قرار گرفتند. این گیاهان از مزرعه دانشکده کشاورزی کرج (دانشگاه تهران) تهیه شدند. قسمت‌هایی از گیاه (عمدتاً سرشاخه‌ها و برگ‌های جوان گیاهان) که حاوی مواد مؤثره بودند، جمع‌آوری و در محلی با جریان هوا، دور از نور آفتاب، دما و رطوبت

نداشته و فقط از شیر گیاهان تغذیه می‌کنند، بنابراین پشه‌ها از جنس ماده انتخاب شدند (حاتمی و همکاران، ۱۳۸۵). برای تغذیه از محلول ساکاروز استفاده شد و ۲۴ ساعت قبل از آزمایش غذای پشه‌ها قطع گردید تا در هنگام آزمایش کاملاً گرسنه باشند. در نهایت برای هر آزمایش در هر قفس ۲۵ عدد پشه ۳ تا ۵ روزه قرار داده شد (Norashiqin et al., Oshaghi et al., 2003).

(2008).
همانند مراحل آزمایش حیوانی، از ۲۴ ساعت قبل غذای پشه را قطع و بعد ۰/۴ میلی لیتر از اسانس گیاهان مورد نظر به علاوه ماده N و N-دی‌اتیل ۳-متیل‌بنزامید (کنترل مثبت) و شاهد (اتانول) را روی مساحت مشخصی از پشت و کف دست داوطلب مالیده و قسمت‌های دیگر دست را پوشانده و با قرار دادن دست درون قفس تعداد گزش‌ها در مدت زمان ۳۰ دقیقه محاسبه شد.

در پایان دو آزمایش حیوانی و انسانی برای هر یک از تیمارها در ۳ مرحله تکرار و با نتایج بدست آمده با توجه به طرح آزمایشی (experimental designs) پایه کاملاً تصادفی با انجام از مون چند دامنه دانکن در سطح احتمال ۱٪ مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند.

نتایج
نتایج مطالعات حیوانی
در مطالعات حیوانی، انجام تجزیه واریانس با در نظر گرفتن میزان تأثیر عصاره و اسانس سه گیاه لاواندا، ملیس و روزماری و ماده شیمیایی در قالب طرح کاملاً تصادفی نشان می‌دهد که تفاوت بسیار معنی‌داری بین تیمارهای ذکر شده وجود دارد (جدول ۱).

برای آزمایش‌های حیوانی از خوکیچه هندی (آلبینو (Albino)) از جنس نر با وزن ۴۰۰ تا ۴۵۰ گرم که از انستیتو پاستور تهیه شدند استفاده شد. در این مرحله هر کدام از تیمارها به صورت جداگانه روی هر حیوان در سه مرحله تکرار شد. قبل از آزمایش موهای ناحیه پهلوی حیوان با تیغ تراشیده شد و توسط اتانول ضد عفونی گردید. سپس بقیه قسمت‌های بدن حیوان پوشانده شد تا پشه امکان نیش زدن و خون‌خواری از نواحی دیگر بجز منطقه مورد نظر نداشته باشد. در ابتدا به عنوان شاهد از خوکیچه‌هایی که پوست آنها به ماده دافع حشرات آغشته نشده بود استفاده شد که آن را در معرض گزش حشرات درون قفس قرار دادیم. پشه‌ها به سمت حیوان بسته شده در قفس هجوم برده و با سرعت و شدت شروع به خون‌خواری کردند. سپس در مرحله بعد مقدار ۰/۴ میلی لیتر به ترتیب از عصاره و اسانس‌های تهیه شده بر روی پوست حیوان در مساحتی به اندازه ۶×۴ سانتی متر پخش گردید و بعد از گذشت ۳۰ دقیقه، تعداد گزش‌ها در منطقه مورد نظر ثبت گردید و در نهایت این کار برای دافع N و N-دی‌اتیل ۳-متیل‌بنزامید [Deet, N(-), N,

آزمایش‌های حیوانی و انسانی

برای آزمایش‌های حیوانی از خوکیچه هندی (آلبینو (Albino)) از جنس نر با وزن ۴۰۰ تا ۴۵۰ گرم که از انستیتو پاستور تهیه شدند استفاده شد. در این مرحله هر کدام از تیمارها به صورت جداگانه روی هر حیوان در سه مرحله تکرار شد. قبل از آزمایش موهای ناحیه پهلوی حیوان با تیغ تراشیده شد و توسط اتانول ضد عفونی گردید. سپس بقیه قسمت‌های بدن حیوان پوشانده شد تا پشه امکان نیش زدن و خون‌خواری از نواحی دیگر بجز منطقه مورد نظر نداشته باشد. در ابتدا به عنوان شاهد از خوکیچه‌هایی که پوست آنها به ماده دافع حشرات آغشته نشده بود استفاده شد که آن را در معرض گزش حشرات درون قفس قرار دادیم. پشه‌ها به سمت حیوان بسته شده در قفس هجوم برده و با سرعت و شدت شروع به خون‌خواری کردند. سپس در مرحله بعد مقدار ۰/۴ میلی لیتر به ترتیب از عصاره و اسانس‌های تهیه شده بر روی پوست حیوان در مساحتی به اندازه ۶×۴ سانتی متر پخش گردید و بعد از گذشت ۳۰ دقیقه، تعداد گزش‌ها در منطقه مورد نظر ثبت گردید و در نهایت این کار برای دافع N و N-دی‌اتیل ۳-متیل‌بنزامید [Deet, N(-), N,

است، در مطالعات انسانی فقط تجزیه واریانس میزان تأثیرگذاری اسانس سه گیاه مورد نظر و ماده شیمیایی انجام شد. جدول تجزیه واریانس تأثیرگذاری اسانس سه گیاه بر میزان دفع حشره *Anopheles stephensi* در انسان در سطح احتمال ۱٪ نتایج معنی دار را نشان می دهد (جدول ۳). همچنین مقایسه میانگین دانکن همچون مطالعات حیوانی برای اسانس گیاه لاواندا و ماده شیمیایی مورد نظر اثربخشی بهتری را نشان می دهند. در این مقایسه اسانس گیاه لاواندا و ماده شیمیایی به ترتیب با میزان تأثیر ۷۸/۱۱٪ و ۸۰/۵۰٪ معنی دارتر از دو گیاه رزماری و ملیس (به ترتیب با مقدار ۵۷/۷۸٪ و ۶۰٪) بودند (جدول ۳).

در این بررسی مشخص شد که نتایج آزمایشهای حیوانی در مقایسه با آزمایشهای انسانی اثر دفع کنندگی بهتری را در برابر حشره دارد و اسانس در مقایسه با کنترل شیمیایی درصد قابل قبولی از دفع کنندگی را نشان داد.

نتایج مقایسه میانگین بین این تیمارها با انجام آزمون چند دامنه دانکن در سطح احتمال ۱٪ در جدول ۲ ارائه شده است. نتایج نشان می دهد که تفاوت معنی داری بین اسانس هر سه گیاه وجود ندارد، اما نسبت به عصاره میزان اثربخشی بیشتری را دارا می باشند. اسانس گیاه لاواندا از این نظر دارای بیشترین مقدار اثربخشی است. عدم وجود تفاوت معنی دار بین اسانس گیاه لاواندا و عصاره آن (به ترتیب برابر با ۹۷/۱۶٪ و ۹۶/۵۷٪) می تواند دلیل بر اثربخشی بهتر این گیاه در دفع حشره آنوفل باشد، در حالی که چنین وضعیتی در گیاهان دیگر مشاهده نمی شود. در گیاهان ملیس و رزماری تفاوت بسیار معنی داری بین میزان تأثیر عصاره و اسانس وجود دارد که نسبت به عصاره آنها تأثیر کمتری را داشته است (جدول ۲).

نتایج مطالعات انسانی

از آنجا که نتایج تجزیه واریانس در مطالعات حیوانی نشان داد که اسانس نسبت به عصاره مؤثرتر

جدول ۱- تجزیه واریانس تأثیرگذاری عصاره و اسانس سه گیاه مختلف بر میزان دفع

حشره *Anopheles stephensi* در خو کچه هندی و انسان

میانگین مربعات	درجه آزادی	منابع تغییرات	
۳۲۵/۱۱ **	۶	تیمار	خو کچه هندی
	۱۴	خطا	
۴۲۲/۰۱ **	۳	تیمار	انسان
	۸	خطا	

** معنی دار در سطح احتمال ۱٪

جدول ۲- مقایسه میانگین تأثیرگذاری عصاره و اسانس سه گیاه مختلف بر میزان دفع حشره *Anopheles stephensi* درخوکچه هندی

میانگین	تیمار
۹۷/۱۶ b	اسانس Lavender
۹۲/۶۶ b	اسانس Melissa
۹۱/۶۳ b	اسانس Rosemary
۹۶/۵۷ b	عصاره Lavender
۷۶/۲۱ a	عصاره Melissa
۷۲/۳۲ a	عصاره Rosemary
۹۷ b	ماده شیمیایی

میانگین‌هایی که دارای حروف مشابه نیستند، از نظر آماری تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۱٪ ندارند.

جدول ۳- مقایسه میانگین تأثیرگذاری اسانس سه گیاه مختلف بر میزان دفع حشره *Anopheles stephensi* در انسان

میانگین	تیمار
۷۸/۱۱ b	اسانس Lavender
۶۰ a	اسانس Melissa
۵۷/۷۸ a	اسانس Rosemary
۸۰/۵۰ b	ماده شیمیایی

میانگین‌هایی که دارای حروف مشابه نیستند، از نظر آماری تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۱٪ ندارند.

بحث

این مطالعه با مطالعات (Prajapati *et al.*, 2005) در مورد اسانس گیاهان زنجبیل و رزماری، (Oshaghi *et al.*, 2003) در مورد اسانس و عصاره گیاهان لیمو و ملیسا و (Kweka *et al.*, 2009) در مورد اسانس نوعی ریحان مطابقت دارد و اسانس این گیاهان را به‌عنوان جایگزین مناسب با ترکیب‌های شیمیایی برای دفع حشرات معرفی نموده‌اند.

همچنین در طول مدت مطالعه (تا ۳ ماه پس از انجام آزمایش)، در داوطلبان استفاده از عصاره و اسانس هیچ‌گونه عوارض جانبی، سوزش، قرمزی، خارش، حساسیت و یا سایر علائم بالینی مشاهده نگردید.

در این مطالعه نشان داده شد که در مجموع از اسانس و عصاره بدست آمده از گیاهان، اسانس نتایج بهتری را نشان می‌دهد و اسانس در این آزمایش می‌تواند به‌عنوان جایگزین با دافع شیمیایی (DEET) قرار بگیرد. در این مطالعه و سایر مطالعات بررسی شده (Oshaghi *et al.*, 2003; Rajkumar & Jebanesan, 2007; Kweka *et al.*, 2009)، از ترکیب شیمیایی دافع N و N-دی‌اتیل-۳-متیل بنزامید (DEET) به‌عنوان کنترل مثبت استفاده شده‌است و دارای اثر دفع‌کنندگی بالا برای حشرات است.

مواد در دفع حشرات، بین گونه‌های مختلف متفاوت است (Robert et al., 1991؛ Rutledge et al., 1978). بنابراین توصیه می‌شود برای بهبود روشهای موجود، به شناسایی ترکیب‌های موجود در عصاره و اسانس، نوع وارسته و مرحله رشد یا زمان جمع‌آوری گیاه پرداخته شود و همچنین با توجه به این که در مطالعه حاضر مواد دافع در برابر یک گونه حشره مورد آزمایش قرار گرفته‌است، اثربخشی آن برای گونه‌های دیگر نیز مورد بررسی قرار گیرد.

منابع مورد استفاده

- حاتمی، ح.، سیدنوزادی، م.، مجلسی، ف.، افتخاراردبیلی، ح.، رضوی، س.ر. و پریزاده، س.م.ج.، ۱۳۸۵. کتاب جامع بهداشت عمومی (جلد دوم). انتشارات ارجمند، ۵۴۰ صفحه.
- خوبدل، م.، فجرک، ح.، لدنی، ح.، شایقی، م. و اسدزاده، ر.، ۱۳۸۲. یک روش جدید برای حفاظت نیروهای نظامی از گزند حشرات و بندپایان. طب نظامی، ۲: ۱۵۵-۱۴۷.
- Abu-Qare, A.W. and Abou-Donia, M.B., 2001. Development of high performance liquid chromatographic method for the quantification of chlorpyrifos, pyridostigmine bromide, N, N-diethyl toluamide and their metabolites in rat plasma and urine. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, 754(2): 533-538.
- Azari-Hamidian, S., 2007. Checklist of Iranian mosquitoes (Diptera: Culicidae). *Journal of Vector Ecology*, 32(2): 235-242.
- Barnard, D.R. and Xue, R.D., 2004. Laboratory evaluation of mosquito repellents against *Aedes albopictus*, *Culex nigripalpus*, and *Ochlerotatus triseriatus* (Diptera: Culicidae). *Journal of Medical Entomology*, 41(4): 726-730.
- Buescher, M.D., Rutledge, L.C., Writz, R.A. and Nelson, J.H., 1985. Laboratory repellent tests against *Rhodnius prolixus*. *Journal of Medical Entomology*, 22: 49-53.
- Coleman, R.E., Robert, L.L., Roberts, L.W., Glass, J.A., Seeley, D.C., Laughinghouse, A., Perkins, P.V. and Wirtz, R.A., 1993. Laboratory evaluation of repellents against four anopheline mosquitoes (Diptera: Culicidae) and two Phebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae). *Journal of Medical Entomology*, 30: 499-502.

درصد اثربخشی اسانس گیاه لاواندا در آزمایشهای حیوانی و انسانی به ترتیب ۹۷/۱۶٪ و ۸۷/۱۱٪ می‌باشد، بنابراین اسانس این گیاه در دفع پشه آنوفل در مقایسه با سایر گیاهان به‌عنوان جایگزین مناسب توصیه می‌شود و می‌توان با بدست آوردن فرمولاسیون کرم گیاهی مناسب از آن به‌عنوان دافع حشرات استفاده گردد.

نتایج این آزمایش حکایت از آن دارد که آزمایش بر روی انسان اثر دفع‌کنندگی کمتری نسبت به حیوان نشان می‌دهد. به نظر می‌رسد علت این اختلاف در دفع پشه آنوفل در طریقه استفاده از مواد دافع بر روی پوست است. در آزمایش حیوانی ماده دفع‌کننده برای قسمت محدود و مشخصی از پوست تراشیده حیوان بکار برده شد، بنابراین با توجه به این که حیوان روی قفس بسته شده بود پشه‌ها به نقاطی که موی آن تراشیده نشده بود، دسترسی داشتند و علاوه بر قسمت مورد نظر، حشرات توانستند قسمت‌های دیگر بدن حیوان را مورد گزش قرار دهند. اما در آزمایش‌های انسانی قسمتی از دست که به ماده دافع آغشته شده بود وارد قفس شد، در نتیجه کاهش درصد اثربخشی تا حدودی قابل قبول است و مطابق با مطالعات (Oshaghi et al., 2003) می‌باشد.

عوامل مختلفی در آزمایش در دفع حشرات دخیل هستند، از جمله می‌توان به تعداد حشرات در قفس، استفاده از عصاره و اسانس‌های گیاهان مختلف و همچنین درصد استفاده از عصاره و اسانس در دفع حشرات اشاره نمود (Barnard & Xue, 2004؛ Trongtokit et al., 2005).

شناسایی ترکیب‌های مواد تشکیل‌دهنده عصاره و اسانس برای ارزیابی اثربخشی، دوام و حساسیت‌زدایی در افراد بسیار حایز اهمیت است و همچنین اثربخشی این

- Rajkumar, S. and Jebanesan, A., 2007. Repellent activity of selected plant essential oils against the malarial fever mosquito *Anopheles stephensi*. *Tropical Biomedicine*, 24(2): 71-75.
- Robert, L.L., Hallam, J.A., Seeley, D.C., Roberts, L.W. and Wirtz, R.A., 1991. Comparative sensitivities of four *Anopheles* (Diptera: Culicidae) to five repellents. *Journal of Medical Entomology*, 28(3): 417-420.
- Rutledge, L.C., Moussa, M.A., Lowe, C.A. and Sofield, R.K., 1978. Comparative sensitivity of mosquito species and strains to the repellent diethyl toluamide. *Journal of Medical Entomology*, 14(5): 536-541.
- Shell, E.R., 1997. Malaria: Resurgence of a deadly diseases. *Atlantic Monthly*, 280(2): 45-60.
- Trongtokit, Y., Rongsriyam, Y., Komalamisra, N. and Apiwathnasorn, C., 2005. Comparative repellency of 38 essential oils against mosquito bites. *Phytotherapy Research*, 19(4): 303-309.
- Tyler, E., Brady, L.R. and Robbers, J.E., 1988. Volatiles oils, 105-107, In: Lea & Febiger (Eds.), *Pharmacognosy*. 9th Ed. Philadelphia, 608p.
- Walker, T.W., Robert, L.L., Copeland, R.A., Githeko, A.K., Wirtz, R.A., Githure, J.I. and Klein, T.A., 1996. Field evaluation of arthropod repellents, DEET and a piperidine compound, AB-37220, against *Anopheles funestus* and *Anopheles arabiensis* in western Kenya. *Journal of American Mosquito Control Association*, 12: 172-176.
- Wilkinson, J.B., 1996. Insect repellents. 207-208, In: Wilkinson, J.B. and Moor, R.J., (Eds.), *Harry's Cosmeticology*. Longman Scientific and Technical, Singapore, 956p.
- World Health Organization (WHO), 2004. Integrated vector managemen. Cario. WHO Regional Officer for Estern Mediterranean.
- Yang, Y.C., Lee, S.G., Lee, H.K., Kim, M.K., Lee, S.H. and Lee, H.S., 2002. A piperidine amide extracted from *Piper longum* L. fruit shows activity against *Aedes Aegypti* mosquito larvae. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(13): 3765-3757.
- Collins, F.H. and Paskewitz, S.M., 1995. Malaria: Current and future prospects for control. *Annual Review of Entomology*, 40: 195-219.
- Curtis, C.F., 1994. Should DDT continue to be recommended for malaria vector control?. *Medical and Veterinary Entomology*, 8: 107-112.
- Fradin, M.S., 1998. Mosquitoes and mosquito repellent: a clinician's guide. *Annals of Internal Medicine*. 128(11): 931-940.
- Klun, J.A. and Debboun, M., 2000. A new module for quantitative evaluation of repellents efficacy using human subjects. *Journal of Medical Entomology*, 37: 177-181.
- Kweka, E.J., Mwangonde, B.J., Mahande, M.J., Moshia, F.W., Kimaro, E.E., Msangi, S., Lyaruu, L. and Mahande, M.A., 2009. Evaluation of Ocimum suave essential oil against anthropophilic malaria vector *Anopheles gambiae* s.s after ten years of storage. *Tanzania Journal of Health Research*, 11(2):94-96.
- Nerioa, L.S., Olivero-Verbela, J. and Stashenkob, E., 2010. Repellent activity of essential oils: A review. *Bioresource Technology*, 101(1): 372-378.
- Norashiqin, M., Sallehudin, S. and Hidayatulfathi, O., 2008. The Repellent Activity of *Piper aduncum* L. (Family: Piperaceae) Essential Oil against *Aedes aegypti* Using Human Volunteers. *The Journal of Tropical Medicine Parasitologie*, 31: 63-69.
- Oshaghi, M.A., Ghalandari, R., Vatandoost, H., Shayeghi, M., Kamali-nejad, M., Tourabi-Khaledi, H., Abolhassani, M. and Hashemzadeh, M., 2003. Repellent Effect of Extracts and Essential Oils of *Citrus limon* (Rutaceae) and *Melissa officinalis* (Labiatae) Against Main Malaria Vector, *Anopheles stephensi* (Diptera: Culicidae). *Iranian Journal of Public Health*, 32(4): 47-52.
- Prajapati, V., Tripathi, A.K., Aggarwal, K.K. and Khanuja, S.P., 2005. Khanuja. Insecticidal, repellent and oviposition-deterrent activity of selected essential oils against *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. *Bioresearch Technology*, 96(16): 1749-1757.

Comparative study on repellent effect of extracts and essential oils of *Melissa officinalis* L., *Rosmarinus officinalis* L. and *Lavandula angustifolia* Mill. against main malaria vector, *Anopheles stephensi* (Diptera: Culicidae)

M. Barat shoostari^{1*} and R. Ghalandari²

1- Corresponding author, Msc. student, Biotechnology Research Center-Institute for Science and New Technologies, Iran
E-mail: behzadshoostary@yahoo.com

2- Biotechnology Research Center-Institute for Science and New Technologies, Iran

Received: July 2009

Revised: December 2009

Accepted: January 2010

Abstract

Control of mosquitoes and protection of people from their bites are of the most important ways to prevent diseases transmitted by them. Insects biting cause local symptoms (Itching, redness and burning) and can transmit the dangerous disease, especially in tropical regions. Repellents and especially herbal repellents are considered as appropriate methods to protect the people against mosquitoes biting. In the current study, repellent effect of extracts and essential oils of *Melissa officinalis* L., *Rosmarinus officinalis* L. and *Lavandula angustifolia* Mill. were evaluated against *Anopheles stephensi* in the laboratory and the effects were compared with those of synthetic repellent, N,N-Diethyl-3-methylbenzamide as a standard drug. Results of the statistical analysis revealed significant differences between oils and extracts ($p < 0.01$) against the tested species as oils were identified more effective than the extracts. Also the results showed that repellency effect of these materials in animals is higher compared to the human being.

Key words: *Melissa officinalis* L., *Rosmarinus officinalis* L., *Lavandula angustifolia* Mill., *Anopheles stephensi*, Repellent.