

مطالعه مقدماتی اثرات عصاره برخی از گیاهان دارویی و مقایسه آن ها با سم سایپرمترین بر کنه سخت ریپی سفالوس (بوفیلوس) آنولاتوس

خداداد پیرعلی خیرآبادی^{۱*}، محمدرضا قرآنی^۲، سمیه لایقی قلعه سوخته^۲

۱- استادیار گروه پاتوبیولوژی و پژوهشکده بیماری های مشترک انسان و دام، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد- ایران

۲- دانشجوی دکترای عمومی دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد- ایران

* نویسنده مسئول: Khpirali@yahoo.com

خلاصه

کنه ها مهم ترین انگل های خارجی می باشند که باعث ایجاد خسارات اقتصادی شدید در نشخوارکنندگان شده و هم چنین در انتقال عوامل ویروسی، ریکتزایی، باکتریایی و تک یاخته ای نقش دارند. در بسیاری از مناطق جهان، کنه ها تهدیدی جدی برای سلامت دام ها و بهداشت عمومی محسوب می شوند. چرا که قادر به ایجاد صدمات مستقیم و هم چنین انتقال بیماری های انگلی جدی مانند: بابزیوز، آناپلاسموز و تیلریوز می باشند. کنترل کنه ها و بیماری های منتقله از آن ها مهم ترین راه کار بهداشتی دام ها به منظور حفاظت چهارپایان و پیش برد سلامت محصولات دامی می باشد. با توجه اهمیت موضوع، دامداران با استفاده مکرر از کنه کش ها در مواقع بروز آلودگی به طرق مختلف با آن مبارزه می نمایند. کاربرد متوالی و استفاده از دوزهای نامناسب سموم باعث گردیده که در چند دهه اخیر گزارش هایی مبنی بر بروز مقاومت در کنه ها نسبت به انواع آفت کش ها انتشار یابد. لذا روی آوردن به ترکیبات جدید گیاهی با اثر ضد کنه ای و استفاده از آن ها به دلیل عدم بروز مقاومت و کاهش اثرات سوء جانبی بر محیط زیست و دام، امری ضروری و اجتناب ناپذیر به نظر می رسد. به همین منظور در این تحقیق اثرات ضد کنه ای عصاره گیاهان دارویی اسفند، افسنتین، زیتون تلخ و درمنه در مقایسه با سم آکاریسید سایپرمترین بررسی شده و اثرات آنها نشان داده شده و عصاره های موثرتر معرفی گردیده است.

واژه های کلیدی: گیاهان دارویی، سایپرمترین، کنه سخت، ریپی سفالوس (بوفیلوس) آنولاتوس

مقدمه

موضوع در این مطالعه سعی شده تا اثرات گیاهان دارویی اسفند، افسنتین، زیتون تلخ و خشک و درمنه در مقایسه با سم سایپرترین بر روی کنه سخت ریپی سفالوس (بوفیلوس) آنولاتوس بررسی گردد. لذا در ادامه مختصری پیرامون اثرات هر یک از این گیاهان دارویی مطالبی ارائه می شود.

اسفند (Peganum harmala L.)

گیاهی است علفی، چند ساله، کم ارتفاع، پر برگ، برگ ها با تقسیمات باریک و نامنظم، گل‌های آن به رنگ سفید تیره، میوه آن کپسول نشکفته، مدور و کروی شکل که دانه های سیاه رنگ اسپند در داخل آن قرار دارد. حاوی آلکالوئیدهای هارمین، هارمالین، پگانین و کینازولین می باشد (۵). جوشانده ریشه اسفند برای کشتن شپش استفاده می شود. خوراندن آلکالوئید تام آن توانسته است تعداد اسیست های دفع شده آیمیریا را کاهش دهد و خواص ضد کوکسیدیایی دارد. هم چنین خاصیت ضد کرم کدو (تنیا ساجیناتا) برای آن ذکر می گردد (۶).

افسنتین (Artemisia absinthium)

یکی از قدیمی ترین گیاهان دارویی شناخته شده در جهان است که در اکثر آثار دانشمندان قدیم نام آن آمده است. افسنتین گیاهی است چندساله و علفی از خانواده ی کاسنی (مرکبان) با ارتفاع ۵۰ تا ۱۰۰ سانتی متر که دارای برگ ها و ساقه های نقره ای رنگی می باشد. افسنتین گیاهی حساس به سرما، مقاوم به خشکی و کم آبی است. برگ ها و سرشاخه های این گیاه دارای ترکیباتی چون اسانس، مواد تلخ (آبسینتین و آستابین)،

کنه ها مهم ترین انگل های خارجی می باشند. مسائل و مشکلات کنه ها در اغلب نقاط دنیا به خصوص در مناطق گرم و معتدل وجود دارند. کنه ها باعث ایجاد خسارات اقتصادی شدید در نشخوارکنندگان و طیور می شوند (۱). در مطالعه ای که به طور مشترک توسط دفتر خوار و بار کشاورزی سازمان ملل (FAO)، آژانس توسعه بین المللی کشور دانمارک (DANIDA) و برنامه توسعه سازمان ملل (UNDP) طی سال های ۱۹۸۶-۱۹۸۷ صورت گرفت تخمین زده شده است که تقریباً ۸۰ درصد جمعیت ۱/۲۸ میلیارد راسی گاو موجود در جهان، در معرض خطر کنه ها و بیماری های منتقله از آن قرار دارند و اعلام گردید که هزینه های جهانی کنترل و نیز زیان های کاهش تولیدات دامی ناشی از گزش کنه ها سالیانه ۷ میلیارد دلار و یا به عبارت دیگر ۷ دلار به ارای هر راس در سال می باشد (۲). کنه ها هم چنین در انتقال عوامل ویروسی، ریکتزایی، باکتریایی و تک یاخته ای نیز نقش دارند. اهمیت کنه ها در دامپزشکی به جهت خطر انتقال انگل های خونی و بیماری هایی مانند: تیلریوز، بابزیوز و آناپلاسماوز دوچندان است (۳). لذا روش های کنترل و مبارزه با کنه ها بسیار حائز اهمیت می باشند. امروزه کاربرد متوالی و استفاده از دوزهای نامناسب سموم شیمیایی باعث گردیده که گزارش هایی مبنی بر بروز مقاومت در کنه ها نسبت به آفت کش ها انتشار یابد. به همین دلیل استفاده از ترکیبات ضد کنه جدید به خصوص ترکیبات گیاهی دارویی به علت تاثیرات سوء کمتر بر بدن دام و محیط زیست نسبت به ترکیبات شیمیایی بایستی بیش تر از گذشته مورد توجه قرار گیرند (۴). با توجه به اهمیت

که این ماده در هنگامی که کاپیتولها (capitols) هنوز باز نشده اند به حداکثر می رسد. اسانس درمنه خزری در درمان بیماری قارچی درمافیتوزیس حیوانات موثر بوده است (۱۱). اثرات ضد کوکسیدیایی این گیاه نیز به اثبات رسیده است (۱۲).

سایپرترین (Cypermethrin)

یک آکاریسید از گروه پیروتریئید سنتزی بوده که برای مبارزه با انگل های خارجی دام و طیور از جمله جرب مولد خارش آغل (سارکوپتس) و کنه های یک میزبان و چند میزبان، شپش، مگس ها و لارو انواع میاز و تمام حشرات موجود در محل نگهداری دام و طیور موثر می باشد. سایپرترین هم چنین کلیه انگل های مقاوم به سموم فسفره، کلره، کاربامایت ها و آمیدین ها را از بین می برد و برای ماهیان و زنبور عسل سمی است. سایپرترین حشره کشی تماسی، گوارشی و با خواص ضد تغذیه ای در انگل می باشد که بر طیف وسیعی از آفات موثر است. شکل ظاهری این ترکیب به صورت مایع غلیظ زرد تا قهوه ای می باشد. این ترکیب برای انسان و جانوران خون گرم سمیت متوسطی دارد. این ترکیب در محیط های قلیایی تجزیه می شود (۱۳)

مواد و روش کار

آماده سازی گیاهان دارویی

گیاهان دارویی پس از جمع آوری و تهیه به منظور عصاره گیری به مرکز تحقیقات جهاد کشاورزی قم ارسال و اقدام به عصاره گیری شد. در آن جا برای تهیه عصاره الکلی گیاهان دارویی، ۱۰۰ گرم پودر گیاه

ویتامین های ب و ث و ... می باشند. اسانس این گیاه از تقطیر برگ ها و اندام های خشک گیاه با بخار آب به دست می آید (۷). قسمت های هوایی این گیاه دارای ماده ی تلخ افسنتین و هم چنین دارای اسانسی بوده که مهم ترین ترکیب آن توین نام دارد. مهم ترین خواص درمانی این گیاه که در پزشکی سنتی و نوین مطرح می باشد، عبارت است از خاصیت ضد کرمی (نام انگلیسی این گیاه Worm wood بیان گر این خاصیت است)، دورکننده حشرات و خاصیت ضد عفونی کنندگی نیز دارد (۸).

زیتون تلخ (Melia azedarach L.)

درختی است زیبا به ارتفاع ۱۵-۱۰ متر، منشا اصلی آن نواحی شرقی هند و ایران است و در نواحی شمالی ایران و بندر عباس وجود دارد. تحقیقات انجام گرفته در کشور پاکستان نشان داده است مصرف این گیاه میزان اسیست های دفع شده آیمیریا توسط پرندگان را به طور معنا داری کاهش می دهد (۹). هم چنین برای روغن زیتون خاصیت کرم کشی را نیز بیان کرده اند. در گذشته برای رفع خارش گزیدگی حشرات ، روغن زیتون را به محل گزیدگی می مالیدند (۱۰).

درمنه خزری (Artemisia annua)

درمنه خزری مهم ترین جنس تیره کاسنی است که شامل حدود ۴۰۰ گونه در دنیا می باشد. گونه های این جنس به لحاظ داشتن خواص دارویی با اهمیت هستند. تحقیقات نشان می دهد که ماده سنتونین موجود به میزان ۲/۵ درصد بر سرشاخه های آن دارای اثرات دارویی بوده و جهت دفع انگل بکار می رود. لازم به ذکر است

خشک شدن، کنه ها جهت تخم گذاری در لوله ونوجکت استریل قرار گرفتند که البته به جای درب پلاستیکی لوله ونوجکت از پنبه های مخصوص سلولزی استریل (پنبه مصنوعی) استفاده گردید. جهت تامین رطوبت لازم برای تخم گذاری کنه های بالغ، ۴۰۰ گرم نمک (کلرید سدیم) در یک لیتر آب حل گردید و در دسی کاتور استریل ریخته شد و لوله های حاوی کنه ها در این ظرف قرار گرفتند. باید توجه شود که نمک اشباع در دسیکاتور در حدی ریخته شود که با لوله های حاوی کنه از جمله پنبه درب لوله ها تماس پیدا نکند و دسیکاتور در ژرminatور قرار داده شد.

شرایط ایجاد شده برای انجام مراحل سیر تکاملی

از یک دستگاه ژرminatور مناسب که دارای رطوبت ۸۵-۷۵ درصد و درجه حرارت ۲۸-۲۷ درجه سانتیگراد است برای نگهداری مراحل کنه بالغ و مرحله تخم گذاری ولاروی استفاده گردید. برای حفظ کلنی کنه ها و دست یافتن به جمعیت کنه های کاملا خونخورده مورد نیاز برای مطالعه، لاروها به روی گوساله منتقل گردیدند.

آلوده کردن گوساله با نوزادان

ابتدا موهای یک طرف بدن دام در جلوی نواحی گودی کمرادر مساحتی به ابعاد ۲۰×۲۰ سانتیمتر کوتاه گردید و ۳ طرف پارچه ای با این ابعاد را با چسب مایع روی نواحی فوق الذکر چسبانده و بدین ترتیب کیسه ای تشکیل گردید که از بالای آن نوزادان با استفاده از قلم مو به داخل محفظه ایجاد شده ریخته شدند و پس از اتمام کار قسمت بالای پارچه نیز به پوست چسبانده

خشک شده در یک لیتر حلال درون ارلن مایر به مدت ۲۴ ساعت در دمای آزمایشگاه نگهداری شده و به مدت ۲ ساعت در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد قرار داده شد. سپس عصاره استخراج و با کاغذ صافی معمولی صاف شده و با دستگاه روتاری (تقطیر در خلا) حلال جدا گردید. برای تهیه عصاره آبی گیاهان دارویی، مقدار ۱۰۰ گرم گیاه در میزان تقریبی یک لیتر آب مقطر به مدت ۳ ساعت جوشانده شد و مانند روش قبلی عصاره آن استخراج گردید.

تهیه کلنی کنه ها

برای تهیه کلنی کنه ریپی سپالوس آنولاتوس با اداره کل دامپزشکی استان مازندران و شبکه دامپزشکی شهرستان بابل هماهنگی های لازم صورت گرفت و مسافرت به این شهرستان انجام گرفت و با همکاری پست دامپزشکی بخش بند پی شرقی با عزیزمت به مناطق جنگلی ونیمه جنگلی اقدام به جمع آوری کنه های ماده خونخورده در پایان خونخواری و قبل از رها کردن میزبان از روی گاو ها و گوساله هائی که در طبیعت آلوده شده بودند گردید و در ظرف مخصوص با قابلیت تهویه و رطوبت مناسب حدود ۲۵-۱۵ کنه نر و ماده جمع آوری و به آزمایشگاه منتقل گردید.

کار با کنه ها در آزمایشگاه

کنه ها پس از ورود به آزمایشگاه، به صورت زیر مورد ارزیابی قرار گرفتند. کنه های با وزن کم، جثه کوچک، خونخواری کم، خشک و تغییر رنگ داده حذف شدند. آن دسته از کنه ها که دارای تحرک، رنگ طبیعی و به طور نسبتا کامل خونخورده بودند برای انجام آزمایش انتخاب گردیدند. این کنه ها در الکل ۷۰ درجه غوطه ور شدند تا از آلودگی بعدی جلوگیری شود. پس از

گراد و رطوبت نسبی ۸۰ درصد و در محیط تاریک انکوبه شدند. میزان مرگ و میر و وزن تخم گذاری کنه ها به صورت روزانه ثبت گردید. کنه های تلف شده از روی تیره شدن کوتیکول، توقف حرکت تشخیص داده شدند.

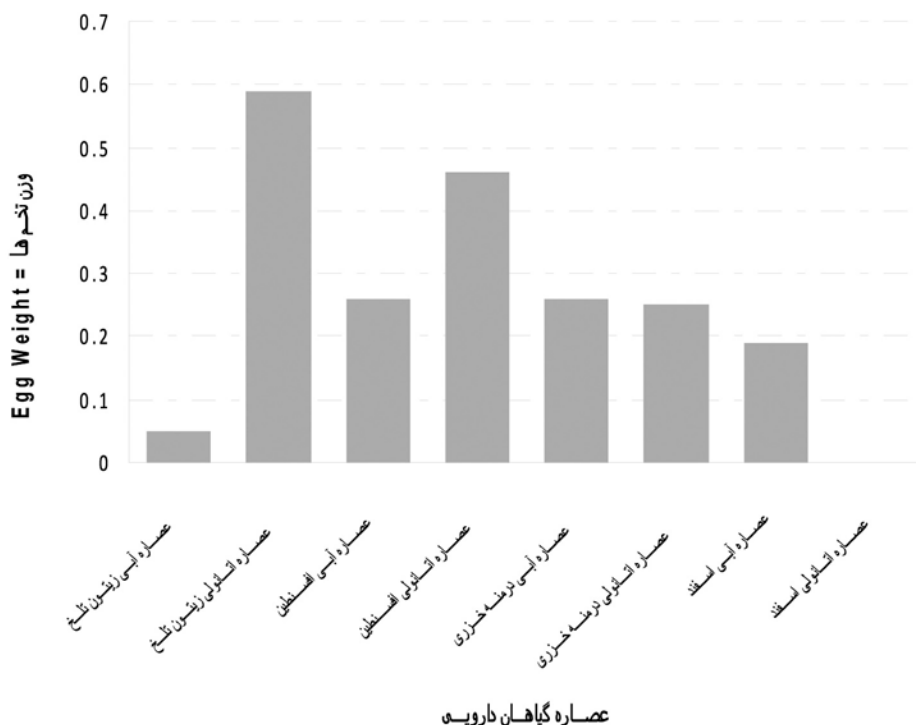
نتایج

پس از این که کنه ها در عصاره گیاهان دارویی غوطه ور شدند، به طور مرتب میزان تخم گذاری و مرگ و میر آن ها مشاهده و ثبت گردید. تخم های گذاشته شده در پتری دیش جمع آوری شده و در پایان مطالعه با استفاده از ترازوی دیجیتال وزن گردید. نمودار زیر بیان گر اثر هر یک از عصاره های گیاهان دارویی بر وزن تخم گذاری کنه ها برحسب گرم می باشد.

شد. در این مطالعه اراس گوساله خریداری گردید و مورد استفاده قرار گرفت و پس از ۱۸-۲۰ روز کنه های بالغ از روی دام جمع آوری شد.

آزمایش کنه ها

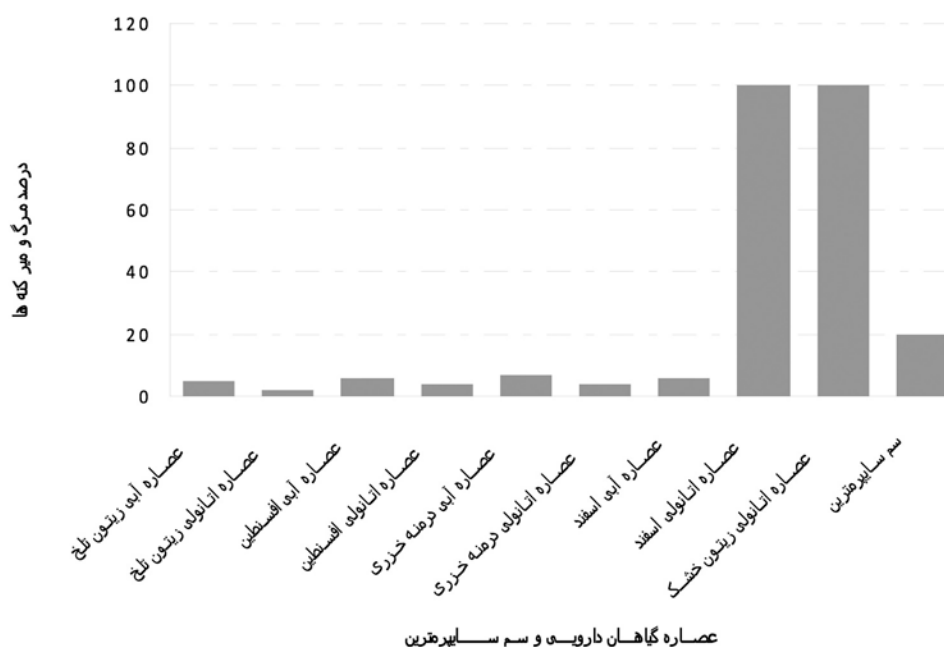
عصاره های گیاهی به نسبت درصد ۴۰ عصاره خالص گیاهی و درصد ۶۰ اتانول تهیه شده و سپس اثرات آن ها بر کنه ها مورد آزمایش قرار گرفت. آن گاه کنه ها با استفاده از روش غوطه وری با اتانول ۷۰ درصد شست و شو داده شدند. پس از خشک شدن کنه ها در عصاره های گیاهی به مدت یک دقیقه غوطه ور و به پتری دیش های محتوی کاغذ صافی مرطوب منتقل شدند. سپس پتری دیش ها به مدت ۵ روز در دمای ۲۶ درجه سانتی



نمودار ۱: اثر عصاره گیاهان دارویی بر وزن تخم گذاری (Egg Weight) کنه سخت ریپی سفالوس (بوفیلوس) آنولاتوس

حسب درصد بیان می دارد. با توجه به نتایج به دست آمده و نمودارهای فوق می توان نتیجه گرفت که موثرترین گیاه دارویی علیه این کنه گیاه زیتون خشک به صورت اتری و اسفند اتری است.

برای پی بردن به اثرات کنه کشی هر یک از گیاهان دارویی و مقایسه آن با سم شیمیایی سایپرمتترین، میزان مرگ و میر کنه ها به طور مداوم بررسی و ثبت گردید. نمودار ۲ اثر هر یک از عصاره های گیاهان دارویی در مقایسه با سم سایپرمتترین بر میزان مرگ و میر کنه ها بر



نمودار ۲: اثر عصاره گیاهان دارویی در مقایسه با سم سایپرمتترین بر درصد مرگ و میر کنه سخت ریپی سفالوس (بوفیلوس) آنولاتوس

می شود تحقیقات بیشتری به منظور تهیه و فرموله کردن عصاره این دو گیاه به صورت تجاری سازی برای مصارف دامی و سموم ضد کنه صورت پذیرد. هم چنین بررسی اثر این گیاهان دارویی بر روی انواع دیگر کنه ها از جمله کنه های طيور نیز توصیه می شود.

پس از این دو گیاه می توان به گیاه افسنتین اشاره نمود که در جایگاه بعد قرار می گیرد. گیاه درمنه و زیتون تلخ اثر قابل توجهی در نابودی این کنه ندارند.

نکته قابل توجه این است که دو گیاه زیتون خشک و اسفند از اثر بخشی مناسب تری نسبت به سم سایپرمتترین برخوردار بوده اند؛ به گونه ای که حدود ۲/۲۲ برابر قوی تر و موثرتر از سایپرمتترین که یک داروی ضد کنه شیمیایی است عمل کرده اند. لذا توصیه

بحث

Chungsamarnyart و همکاران در سال ۲۰۰۱ اثر

ضد کنه ای تمبر هندی را علیه کنه *Boophilus microplus* نشان دادند (۱۹).

در سال ۲۰۰۴، Kim و همکاران فعالیت ضد کنه ای عصاره برخی از گیاهان دارویی علیه کنه *Dermanyssus gallinae* به اثبات رسانیدند (۲۰).

در این مطالعه با مقایسه نمودارهای ۱ و ۲ می توان بیان داشت که وزن تخم گذاری در کنه ها با درصد مرگ و میر آن ها رابطه عکس دارد. این بدان معنی است که هر چه عصاره گیاه دارویی قوی تر و موثر تر عمل نماید، کنه فرصت کافی برای تخم گذاری و تکثیر را از دست خواهد داد. لذا این نکته بسیار مهم در تهیه عصاره های ضد کنه بایستی مورد توجه قرار گیرد.

پیرعلی خیرآبادی و همکاران در سال ۲۰۰۷ اثرات ضد کنه ای گیاه بابونه را به اثبات رساندند (۱۴). در سال ۲۰۰۹ پیرعلی خیرآبادی و همکاران اعلام کردند که گیاه شمعدانی عطری (ژرانیوم) و اکالیپتوس نیز از خواص ضد کنه ای خوبی برخوردارند و از آن ها می توان در کنترل بیولوژیک کنه ها استفاده نمود (۱۵). در هر دو این پژوهش ها کنه مورد مطالعه، کنه سخت *(Boophilus) annulatus Rhipicephalus* بوده است. Abdel-Shafy و همکاران در سال ۲۰۰۲ در پژوهشی اعلام کردند روغن زیتون تلخ اثر قابل توجهی در کنترل کنه های *Hyaloma anatolicum* دارد (۱۶). هم چنین Handule و همکاران در سال ۲۰۰۲ اثر کنه کشی روغن زیتون تلخ را بر روی کنه *Rhipicephalus pulchellus* به اثبات رساندند (۱۷). Iori و همکاران در سال ۲۰۰۴ اثرات ضد کنه ای وابسته به دوز روغن درختچای علیه نوزاد *Ixodes ricinus* را گزارش نمودند (۱۸).

منابع

1. Noaman, V., Abdi-Goudarzi, M., Nabinejad, A., Heidari, M.R., Khalilifard, M., 2006. Identification of hard ticks of domestic ruminants in two ecological zones of Isfahan province, Iran. *Pajouhesh & Sazandegi* 77, 88-95 (In Persian).
2. Nari, A. and Hansen, J.W., 1999. Animal Production and Health Division, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Viale delle di Caracalla-00100 Rome, Italia.
3. De Castro, J.J., 1997. Sustainable tick and tickborne disease control in livestock improvement in developing countries. *Veterinary Parasitology* 71, 77-97.
4. Khalaj, M., Nabian, S., Rahbari, S., Ladoni, H., Atarod, V., 2005. Evaluation of modified larval pocket test for determining the Sensitivity of *Boophilus annulatus* against acaricides. *Pajouhesh & Sazandegi* 75, 39-45.
5. Kamel, S., Ibrahim, L., Afifi, A., Hamza, S., 1970. Major alkaloidal constituents of the Egyptian plant. *Peganum harmala*. *Veterinary Science* 7, 71-86.
6. Gracie, M., Zarkov., 1986. *Peganum harmala*. An Indo-European Plant Teachera A technical note from the underground - Number 10.
7. Evans, J.E., Eckardt, N., 1987. Element stewardship abstract for *Artemisia absinthium* revised <http://tncweeds.ucdavis.edu/esadocs/arteabsi.html>. Prepared for The Nature Conservancy, Arlington, VA 8pp. (September 2004).
8. Steuter, A.A., Plumb, G., 1988. Wormwood sage controlled by spring fires (South Dakota). *Restoration and Management Notes* 6(1), 35.
9. Liang, J., Dang-Ping, Hu., Liu-DaYi, Liang, J.L., Dang, P., Hu, T.J., Fan, B.T., Liu, D.Y., 1996. Experimental studies on the activity of diquiling against avianocidia. *Chinese Journal of Veterinary Science and Technology*. 26(10), 33-34.
10. Batcher, M.S., 2008. *Element of Stewardship Abstract for Melia azedarach*, The Nature Conservancy. Viewed 22 February, 2008.
11. Khosravi, A.R., Shirani, D., Mahmoudi, M., 2003. Evaluation of the use of *Artemisia sieberi* essence on the treatment of cats and dogs with

- dermatophytosis. J. Fac. Vet. Med. Univ.Tehran.58(3),293-295.(InPersian)
12. Yakhchali, M., Khosravi, A.R., 2004. In vitro and in vivo assessment of plant essence (*Artemisia sieberi*) coccidiocidal effect on rabbit coccidiosis. Pajouhesh & Sazandegi 64, 48-51. (In Persian)
13. Debra E., 2006. Reregistration Eligibility Decision (RED) Document for Cypermethrin. Environmental Protection Agency. List B. Case No. 2130.
14. Pirali-kheirabadi, Kh. , Razzaghi-abyaneh, M., 2007. Biological activities of chamomile (*Matricaria chamomile*) flowers' extract against the survival and egg laying of the cattle fever tick (Acari Ixodidae). Journal Zhejiang Univ Sciences B 8(9), 684-688.
15. Pirali-kheirabadi, K.H., Razzaghi-abyaneh, M., Halajian, A., 2009. Acaricidal effect of Pelargonium roseum and Eucalyptus globules essential oils against adult stage of Rhipicephalus (Boophilus) annulatus in vitro. Veterinary Parasitology 162,346-in vitro. Veterinary Parasitology. 162,346-349
16. Abdel-Shafy, S., Zayed, A.A., 2002. In vitro acaricidal effect of plant extract of neem seed oil (*Azadirachta indica*) on egg, immature, and adult stages of *Hyaloma anatolicum excavatum* (Ixodoidea: Ixodidae). Veterinary Parasitology. 106, 89-96.
17. Handule, I. M., Ketavan, Ch., Gebre, S., 2002. Toxic Effect of Ethiopian Neem Oil on Larvae of Cattle Tick, Rhipicephalus pulchellus Gerstaeker. Kasetsart J. (Nat. Sci.). 36,18-22.
18. Iori, A., Grazioli, D., Gentile, E., Marano, G., Salvatore, G., 2005. Acaricidal properties of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* Cheel (tea tree oil) against nymphs of *Ixodes ricinus*. Veterinary Parasitology. 129,173-176
19. Chungsamarnyart, N., Jansawan, W., 2001. Effect of *Tamarindus indicus* L. Against the *Boophilus microplus*. Kasetsart J. (Nat. Sci.). 35,34-39.
20. Kim, S., Yi, J., Tak, J., Ahn, Y., 2004. Acaricidal activity of plant essential oils against *Dermanysus gallinae* (Acari: Dermanyssidae). Veterinary Parasitology. 120, 297-304.