Archive of SID

اثر عصاره‌های آبی و هیدروالکلی گیاه گل‌برنجاسف (*Achillea talagonica*) بر اووسیست‌های آیمریا ماکزیما (*Emeria maxima*) در شرایط آزمایشگاهی

نازنین رجایی[۱]، خداداد پیرعلی[۲]، سعید حبیبیان[۲*]، حمیدرضا عزیزی[۳]

۱. دانش‌آموخته رشته کارشناسی ارشد انگل‌شناسی، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد- ایران.
۲. دانشیار، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد- ایران.
۳. استادیار، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد- ایران.

دریافت: ۲۱ آبان ماه ۹۴ **پذیرش:** ۲۹ فروردین ماه ۹۵

چکیده

کوکسیدیوز یکی از پرهزینه‌ترین بیماری‌های انگلی در طیور است. گیاه گل برنجاسف یکی از گیاهانی است که با توجه به خواص مختلف آن، از زمان‌های قدیم برای درمان بیماری‌های انگلی به کار می‌رفته است. هدف از انجام این مطالعه ارزیابی اثر عصاره‌های آبی و هیدروالکلی این گیاه بر اووسیست‌های *آیمریا ماکزیما* در شرایط آزمایشگاهی است. اووسیست‌های استفاده شده در این پژوهش با به چالش کشیدن جوجه‌های گوشتی ۱۴ روزه با ۷۵۰۰۰ اووسیست به دست آمد. برای به دست آوردن اووسیست اسپورولوه، ۹ گرم از نمونه مدفوع در بیکرومات پتاسیم دو درصد خیسانده شد و در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت انکوبه گردید. اووسیست‌های به دست آمده در معرض غلظت‌های یک، دو و پنج درصد عصاره‌های آبی یا هیدروالکلی گیاه در دمای ۲۵ تا ۲۸ درجه سانتی‌گراد برای ۴۸ ساعت قرار گرفتند. تعداد اووسیست‌های اسپورولوه و غیراسپورولوه در ساعت‌های ۱، ۱۲، ۲۴ و ۴۸ شمارش شدند. به منظور جلوگیری از هر گونه خطا، آزمایش سه بار تکرار شد. نتایج نشان داد که در مقایسه با کنترل، عصاره‌ها در همه غلظت‌ها قادر به کاهش تعداد اووسیست‌ها بودند ($p<۰/۰۵$). میزان اثر مهاری ارتباط مستقیم با زمان داشت و این مهار به طور مداوم پس از ساعات ۱۲، ۲۴ و ۴۸ افزایش یافته بود. همچنین نتایج نشان داد که عصاره هیدروالکلی اثر بهتری نسبت به عصاره آبی دارد، با این حال، مطالعات بیشتری برای نشان دادن اثرات این عصاره‌ها در مدل‌های حیوانی مورد نیاز است.

واژه‌های کلیدی: گیاه گل برنجاسف، اووسیست‌های اسپورولوه و غیر اسپورولوه، *آیمریا ماکزیما*، شرایط آزمایشگاهی.

مقدمه

کوکسیدیوز (Coccidiosis) یکی از بیماری‌های مهم و پر هزینه در صنعت پرورش دام و طیور است. این بیماری به‌دلیل ایجاد تلفات زیاد و کاهش تولید، سالانه موجب خسارات زیادی می‌شود (۲۳). عامل این بیماری گونه‌های مختلف جنس آیمریا (Eimeria) از خانواده آیمریده (Eimeriidae)، راسته ائوکوکسیدوریدا (Eucoccidiorida) و رده اسپوروزوآ (sporozoa)، شاخه آپی کمپلکسا (Apicomplexa) است (۲۹).

آیمریا ماکزیما (*Eimeria maxima*) یکی از گونه‌های کوکسیدیوز طیور است. این تک‌یاخته سبب تورم ملایم تا شدیدی در ثلث میانی روده می‌شود که گاهی با ضخیم شدگی دیواره روده و اتساع مشخص آن همراه است. محتویات روده ممکن است خون‌آلود باشد. اووسیست‌ها (Oocyst) بسیار بزرگ و اغلب به رنگ طلایی هستند. *آیمریا ماکزیما* بیماری‌زایی متوسط تا شدیدی داشته و ضایعات آن، شباهت زیادی با *آیمریا نکاتریکس* (*Eimeria necatrix*) دارد (۲۹). اگر چه

* پست الکترونیک نویسنده‌ی مسؤول habibian@vet.sku.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

تاکنون پژوهش‌های گسترده‌ای به منظور تولید واکسن برای این بیماری صورت گرفته است؛ اما در سیستم‌های تولیدی با مدیریت ضعیف به خصوص در طیور گوشتی، واکسیناسیون ممکن است منجر به واکنش‌های شدید شود. اشکال دیگر در استفاده از واکسن تنوع سویه آیمریا در مناطق مختلف جغرافیایی است. پس، یک واکسن، موثر در یک منطقه جغرافیایی ممکن است در منطقه دیگر مؤثر نباشد؛ بنابراین هنوز داروهای ضد کوکسیدیوز به عنوان مهم‌ترین حربه برای کنترل این بیماری در سراسر جهان استفاده می‌شود. در حال حاضر حداقل ۲۷ داروی ضدکوکسیدیایی در دسترس است (۲۶)؛ البته پیدایش مقاومت دارویی اصلی‌ترین دلیل تنوع تعداد داروهای ضد کوکسیدیایی است (۲۳). بنابراین تلاش برای یافتن ترکیباتی که اثرات جانبی کمتر یا بدون اثرات جانبی باشند، همیشه مدنظر بوده است. در سال‌های اخیر استفاده از داروهای گیاهی برای درمان کوکسیدیوزیس به واسطه اثرات جانبی کم آن‌ها، رو به افزایش است. خوشبختانه به‌دلیل شرایط اقلیمی مناسب، گیاهان متنوع و زیادی در بیشتر مناطق ایران می‌رویند که بیشتر آن‌ها تأثیرات دارویی زیادی دارند. یکی از این گیاهان که سالیان بسیاری است در پزشکی سنتی به ویژه در کشور ما استفاده می‌شود، گیاه گل‌برنجاسف است.

جنس بومادران یا آشیلا (Achilles) از جمله جنس‌های گیاهی خانواده کاسنی (Asteraceae) است. این جنس شامل ۱۱۵ گونه است که بیشتر در نیمکره شمالی می‌رویند. این جنس در ایران ۱۹ گونه گیاه علفی چند ساله و غالباً معطر دارد. در طب سنتی دم کرده سرشاخه‌های گلدار بومادران، التیام دهنده زخم‌ها و جراحات است و در رفع گاستریت‌های حاد و مزمن، نفخ و سوء هاضمه مفید شناخته شده است (۴، ۹ و ۲۲). گونه *آشیلا تالاگونیکا* (*Achillea talagonica*) با نام محلی گل برنجاسف گونه انحصاری (آندمیک) ایران است و بیشتر در مناطق غربی و مرکزی ایران در ارتفاعات یافت می‌شود. برنجاسف عربی شده برنجاسپ است، نام‌های دیگر آن در فارسی برتراسک و بومادران است؛ همچنین به نام‌های بلنجاسف، سویلا، علف جگن و بشنیز هم شناخته می شود (۹ و ۲۲). سرشاخه‌های گلدار و برگ آن، شاخه برگ‌دار و گاهی گل‌ها به تنهایی به عنوان دارو مورد استفاده قرار می‌گیرند که حاوی مقادیر زیادی کامفور (Camphor)، اینولین (Inolin)، لینولئیک اسید (Linoleic acid)، کافئیک اسید (Caffeic acid)، کورسئتین (Quercetin)، لوتلین (Luteolin)، متوکسی لوتلین (Methoxy Luteolin)، پرولین (Proline)، کولین (Choline)، اشیلین (Achillin)، اسید سیانیدریک (Cianidric acid)، فیتوسترول (Phytostrol) و تویون (Thuyone) هستند. این گیاه معطر ترکیبات متعددی دارد که از جمله مهم‌ترین آن‌ها می‌توان به فلاوونوئیدها (Flavonoids)، اسیدهای فنولیک (Phenolic acids)، کومارین‌ها (Coumarins)، و ترپنوییدهای (Terpenoids) مختلف از جمله متوترپن‌ها (Monoterpenes)، سزکویی‌ترپن‌ها (Sesquiterpenes)، دیترپن‌ها (Diterpenes) و تری‌ترپن‌ها (Triterpenes) و نیز استرول‌های (Sterols) مختلف اشاره کرد (۲۷). پژوهش حاضر به منظور بررسی اثرات عصاره های آبی و هیدروالکلی این گیاه بر روی اووسیست‌های *آیمریا ماکزیما* طراحی شد.

مواد و روش کار

ابتدا سرشاخه‌های هوایی و گل‌دار گیاه گل برنجاسف از محوطه دانشگاه جمع‌آوری و با مقایسه با نمونه‌های موجود در هرباریم دانشکده علوم از سوی متخصص گیاه‌شناس (بخش سیستماتیک گیاهی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم‌پایه، دانشگاه شهرکرد) مورد تأیید قرار گرفت. گیاه مورد نظر پس از تأیید، دور از نور و حرارت مستقیم، خشک و خرد شد. عمل عصاره‌گیری به روش تراوش انجام گرفت. بدین منظور برای تهیه

www.SID.ir

Archive of SID

عصاره‌های آبی و هیدروالکلی به ترتیب ۱۶۰ گرم پودر گیاه گل برنجاسف با ۵۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر و یا ۵۰۰ میلی‌لیتر اتانول ۷۶ درصد مخلوط شد. عمل تراوش با حلّال به صورت متوالی و برای سه بار به مدت ۲۴ ساعت انجام شد (۲). عصاره‌های به‌دست آمده پس از صاف شدن، در خلا دوار تغلیظ و در دستگاه منجمدکننده و خشک‌کن، به طور کامل خشک گردیدند.

تعداد ۱۰ قطعه جوجه‌گوشتی نژاد راس ۳۰۸، چهارده روزه، به ظاهر سالم با میانگین وزنی ۳/۴۰ ± ۳۱۵/۲۰ گرم خریداری شد و پس از ارزیابی بالینی و اطمینان از سلامتی آن‌ها، به هر جوجه تعداد ۷۵ هزار اووسیست *آیمریا ماکزیما* خریداری شده از دانشکده دامپزشکی تهران خورانده شد (۳۴). ۱۲ روز بعد نمونه مدفوع آن‌ها جمع آوری شد. برای تعیین تعداد اووسیست در یک گرم مدفوع، از روش شناورسازی مک مستر (Mac- master) استفاده شد (۱۷). برای این منظور ابتدا محتویات نمونه‌های بستر به خوبی به هم زده شد، آن‌گاه ۹ گرم مدفوع را با ۱۲۶ لیتر آب در شیشه‌های در سمباده‌ای مخلوط گردید و به مدت ۲۴ ساعت شیشه‌های حاوی آب و مدفوع در دمای آزمایشگاه نگه‌داری شدند (۱). روز بعد محتویات شیشه به شدت تکان داده شده و از الک ۶۰ عبور داده شد. آن‌گاه مقدار ۱۵ میلی‌لیتر از هر سوسپانسیون صاف برداشت و پس از ریختن به داخل لوله‌های آزمایش، با سرعت ۱۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ۲ دقیقه سانتریفوژ شد. پس از سانتریفوژ، مایع رویی لوله را خالی کرده و به رسوب حاصل ۱۵ میلی‌لیتر آب شکر اشباع اضافه گردید؛ سپس با کمک پیپت پاستور مقداری از محتویات شیشه برداشته و با آن خانه‌های لام مک مستر پر شد. تعداد اووسیست‌های شناور شده در هر خانه با میکروسکوپ نوری و با بزرگنمایی ۱۰۰ × شمارش گردید. برای محاسبه تعداد اووسیست در هر گرم، میانگین به دست آمده در دو خانه در ضریب ۱۰۰ ضرب شد. برای اسپرویله کردن اووسیست‌ها، مقدار ۹ گرم نمونه مدفوع در بیکرومات پتاسیم ۲٪ خیسانده شد؛ سپس در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۷۲ ساعت (با کنترل روزانه درجه حرارت، هم زدن و هوادهی با استفاده از پمپ هوا) نگه‌داری شد تا اووسیست‌ها اسپرویله شدند (۱۰ و ۳۲).

برای بررسی تأثیر عصاره گیاه گل برنجاسف بر روی اووسیست‌های *آیمریا ماکزیما*، در ابتدا در لوله‌های آزمایش، غلظت‌های ۱، ۲ و ۵ درصد از عصاره‌های آبی و یا هیدروالکلی گیاه را (جداگانه) به میزان یک میلی‌لیتر تهیه شد و سپس حدود ۲۵۰۰ عدد اووسیست *آیمریا ماکزیما* (به تفکیک برای اووسیست اسپرووله و غیراسپرووله) به کمک لوپ و سمپلر ۱۰۰ لاندا شمارش، جمع‌آوری و به لوله‌های حاوی محلول اضافه شد. یک لوله کنترل حاوی آب مقطر و انگل که هیچ ماده‌ای به آن اضافه نشده بود نیز به‌عنوان گروه شاهد در هر نوبت آزمایش در نظر گرفته شد. تمامی لوله‌ها (گروه شاهد و تیمار) در انکوباتور ۲۸-۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ روز با کنترل روزانه (درجه حرارت، هم زدن و هوادهی با استفاده از پمپ هوا) قرار داده شدند. شمارش تعداد اووسیست اسپرووله و غیراسپرووله در زمان‌های ۱، ۱۲، ۲۴ و ۴۸ ساعت صورت گرفت (۱۰). به منظور جلوگیری از بروز هر گونه خطا در نتایج به دست آمده این آزمایش سه بار تکرار شد.

اطلاعات به دست آمده با نرم‌افزار آماری SigmaPlot 12.3 و با روش آماری آنالیز واریانس سه طرفه (Three Way Analysis of Variance) و آزمون تعقیبی توکی (Tukey Test) تجزیه و تحلیل شدند. از نظر آماری اختلاف نتایج بین گروه‌های تحت بررسی در سطح $p<0/05$ معنی‌دار محسوب گردید.

نتایج

نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر در جدول‌های ۱ و ۲ خلاصه شده است و میانگین و خطای معیار تعداد اووسیست در گروه‌های تجربی با گروه شاهد و در

www.SID.ir

Archive of SID

غلظت‌های مختلف دو نوع عصاره با هم مقایسه گردیده است.

جدول ۱ نشان می‌دهد که عصاره آبی گل برنجاسف در غلظت‌های یک، دو و پنج درصد در مقایسه با گروه کنترل موجب کاهش تعداد اووسیست‌های غیراسپوروله *آیمریا ماکزیما* در تمامی ساعات ارزیابی شد که این اثر چشم‌گیر و معنی‌دار بوده است ($p<۰/۰۵$). همان‌گونه که در جدول ۱ آمده است بین غلظت یک درصد با غلظت‌های دو و پنج درصد عصاره آبی گل برنجاسف در ساعت اول بعد از اضافه کردن عصاره‌ها تفاوت معنی‌داری مشاهده می‌شود ($p<۰/۰۵$). تفاوت معنی‌داری نیز بین غلظت‌های یک و دو درصد با غلظت پنج درصد در ساعت ۱۲ پس از اضافه کردن عصاره آبی مشاهده شد ($p<۰/۰۵$). در ساعات ۲۴ و ۴۸ نتایج مشابهی مشاهده شد بدین نحو که بین تمامی غلظت‌های مورد استفاده اختلاف مشاهده شده معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$). در سایر موارد تفاوت مشاهده شده معنی‌دار نبود ($p>۰/۰۵$). همان‌گونه که در جدول ۱ نشان داده شده است تعداد اووسیست غیراسپوروله درگروه‌های کنترل در زمان‌های مختلف کاهش داشته است؛ لیکن این کاهش تنها در ساعت ۴۸ نسبت به سایر زمان‌ها معنی‌دار بوده است ($p<۰/۰۵$). در تمامی غلظت‌ها کاهش تعداد اووسیست‌ها بین ساعت اول با سایر زمان‌ها معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$)؛ همچنین کاهش مشاهده شده درتعداد اووسیست‌ها در غلظت ۱٪ در ساعات ۱۲ و ۲۴ با ساعت ۴۸ معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$). در غلظت‌های ۲٪ و ۵٪ تفاوت مشاهده شده بین تمامی ساعت‌های ارزیابی شده معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$).

با توجه به جدول ۱، نتایج پژوهش حاضر نشان دهنده تأثیر چشم‌گیر و معنی‌دار غلظت‌های یک، دو و پنج درصد عصاره هیدروالکلی گل برنجاسف بر تعداد اووسیست‌های غیراسپوروله *آیمریا ماکزیما* در تمامی ساعات مورد ارزیابی در مقایسه با گروه کنترل بوده است ($p<۰/۰۵$).

همان‌گونه که در این جدول مشخص است بین غلظت یک درصد با غلظت‌های دو و پنج درصد عصاره هیدروالکلی گل برنجاسف در ساعت اول بعد از اضافه کردن عصاره‌ها تفاوت معنی‌داری مشاهده نمی‌شود ($p<۰/۰۵$). تنها تفاوت معنی‌دار بین غلظت‌های مختلف به کار برده شده بین غلظت یک درصد با غلظت‌های دو و پنج درصد در ساعت ۱۲ پس از اضافه کردن عصاره هیدروالکلی گل برنجاسف مشاهده شد ($p<۰/۰۵$). در سایر موارد تفاوت مشاهده شده معنی‌دار نبود ($p>۰/۰۵$). نکته قابل توجه عدم معنی‌دار بودن تفاوت مشاهده شده بین غلظت دو و پنج درصد در تمامی زمان‌های مورد آزمایش است ($p>۰/۰۵$).

مطابق با جدول ۱ تعداد اووسیست غیراسپوروله در گروه‌های کنترل در زمان‌های مختلف کاهش داشته است؛ لیکن این کاهش تنها در ساعت ۴۸ نسبت به سایر زمان‌ها معنی‌دار بوده است ($p<۰/۰۵$). در تمامی غلظت‌های مورد ارزیابی تفاوت معنی‌داری بین ساعت اول و ۱۲با هم و با سایر ساعت‌ها مشاهده می‌شود ($p<۰/۰۵$). اما تفاوت مشاهده شده بین ساعت ۲۴ با ۴۸ در هیچ غلظتی معنی‌دار نبوده است ($p>۰/۰۵$).

جدول ۲ نشان می‌دهد که عصاره آبی گل برنجاسف در تمامی غلظت‌های مورد استفاده در مقایسه با گروه کنترل در تمامی ساعات مورد ارزیابی بر تعداد اووسیست‌های اسپوروله *آیمریا ماکزیما* تأثیر معنی‌داری داشته است ($p<۰/۰۵$). این نمودار نشان می‌دهد که تفاوت معنی‌داری بین غلظت‌های مختلف عصاره آبی گل‌برنجاسف در ساعات اول و ۲۴ آزمایش مشاهده نمی‌شود ($p>۰/۰۵$). در ساعت ۱۲ ، تفاوت مشاهده شده بین غلظت ۱٪ با ۲٪ و ۵٪ معنی‌دار است ($p<۰/۰۵$). در اووسیست‌های اسپوروله بین غلظت‌های ۱٪ و ۲٪ با غلظت ۵٪ معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$).

با توجه به جدول ۲ مشخص می‌شود که درگروه‌های کنترل تعداد اووسیست اسپوروله با افزایش زمان کاهش

www.SID.ir

Archive of SID

می‌یابد ولی این کاهش تنها در ساعت ۴۸ نسبت به سایر زمان‌ها معنی‌دار بوده‌است ($p<۰/۰۵$). در تمامی غلظت‌ها کاهش مشاهده شده بین ساعت اول و سایر زمان‌ها معنی‌دار بوده است ($p<۰/۰۵$)؛ همچنین در غلظت ۱٪ کاهش معنی‌داری در تعداد اووسیست اسپوروله بین ساعت ۱۲ با ساعت‌های ۲۴ و ۴۸ مشاهده شد ($p<۰/۰۵$). در غلظت ۲٪ عصاره آبی گل برنجاسف تفاوت مشاهده شده در تعداد اووسیست‌های اسپوروله بین ساعت‌های ۱۲، ۲۴ و ۴۸ معنی‌دار نبوده‌است ($p>۰/۰۵$). در غلظت ۵٪ عصاره آبی گل برنجاسف کاهش مشاهده در تعداد اووسیست‌های اسپوروله بین ساعت‌های ۱۲ و ۲۴ با ساعت ۴۸ معنی‌دار بوده است ($p<۰/۰۵$).

با توجه به جدول ۲ مشخص می شود که عصاره هیدروالکلی گل برنجاسف در تمامی غلظت‌های مورد استفاده در مقایسه با گروه کنترل در تمامی ساعات مورد ارزیابی بر تعداد اووسیست‌های اسپوروله *آیمریا ماکزیما* تأثیر معنی‌داری داشته است ($p<۰/۰۵$). علاوه بر این کاهش مشاهده شده در تعداد اووسیست‌های اسپوروله *آیمریا ماکزیما* بین غلظت‌های ۱٪ و ۲٪ با غلظت ۵٪ عصاره هیدروالکلی در ساعت اول معنی‌دار بوده است ($p<۰/۰۵$). این نتایج نشان می‌دهدکه تفاوت بین غلظت ۱٪ با سایر غلظت‌ها در ساعت ۱۲ آزمایش نیز معنی‌دار است($p<۰/۰۵$). در سایر زمان‌های انجام آزمایش کاهش مشاهده شده بین تمام غلظت‌ها معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$).

جدول ۲ نشان می‌دهد که در گروه‌های کنترل تعداد اووسیست اسپوروله با افزایش زمان کاهش می‌یابد؛ لیکن این کاهش تنها در ساعت ۴۸ نسبت به سایر زمان‌ها معنی‌دار بوده است ($p<۰/۰۵$). در تمامی غلظت‌ها کاهش مشاهده شده بین ساعت اول و سایر زمان‌ها معنی‌دار بوده است ($p<۰/۰۵$). در غلظت ۱٪ تفاوت مشاهده شده بین ساعت ۱۲ پس از شروع آزمایش با ساعات ۲۴و ۴۸ نیز معنی‌دار بوده است ($p<۰/۰۵$). در غلظت ۲٪ عصاره هیدروالکلی گل برنجاسف تفاوت مشاهده در تعداد اووسیست‌های اسپوروله بین ساعت‌های ۱۲، ۲۴ و ۴۸ معنی‌دار نبوده است ($p>۰/۰۵$). در غلظت ۵ ٪ عصاره هیدروالکلی گل برنجاسف کاهش مشاهده در تعداد اووسیست‌های اسپوروله بین ساعت‌های ۱۲و ۲۴ با ساعت ۴۸ معنی‌دار بوده است ($p<۰/۰۵$).

همان‌گونه که در جدول ۱ نشان داده شده است هر دو نوع عصاره در تمامی غلظت‌ها و در تمامی ساعات انجام آزمایش موجب کاهش تعداد اووسیست‌های غیراسپوروله در مقایسه با گروه‌های کنترل می‌شوند ($p<۰/۰۵$). در ساعت اول پس از شروع آزمایش نیز تفاوت چشم‌گیری در تعداد اووسیست‌های غیراسپوروله بین غلظت ۱٪ عصاره آبی گل برنجاسف با بقیه گروه‌های تجربی دیده می‌شود ($p<۰/۰۵$). در سایر موارد اختلاف مشاهده شده معنی‌دار نبود ($p>۰/۰۵$). در ارزیابی انجام شده در ساعت دوازدهم پس از اضافه کردن عصاره‌ها نتایج به این شرح بود که اختلاف مشاهده شده در تعداد اووسیست‌های غیراسپوروله بین غلظت ۱٪ عصاره هیدروالکلی گل برنجاسف و بقیه گروه‌های تجربی معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$). کاهش تعداد اووسیست‌های غیراسپوروله در هنگام استفاده از غلظت‌های ۲ و ۵ درصد عصاره هیدروالکلی از همه گروه‌ها بیشتر و در مقایسه با آن‌ها معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$). تفاوت مشاهده شده بین غلظت ۵٪عصاره آبی با سایر گروه‌ها نیز معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$). در سایر موارد اختلاف مشاهده شده معنی‌دار نبود ($p>۰/۰۵$). در بررسی انجام شده در ۲۴ ساعت پس از اضافه کردن عصاره‌ها نتایج به این صورت بود که تفاوت مشاهده شده بین غلظت‌های ۱٪ و ۲٪ عصاره آبی گل برنجاسف با هم و با سایر غلظت‌ها معنی‌دار است ($p<۰/۰۵$). در سایر موارد کاهش موجود معنی‌دار نبود ($p>۰/۰۵$). نتایج ارزیابی انجام شده در ۴۸ ساعت پس از اضافه کردن عصاره‌ها نشان داد که تفاوت مشاهده شده بین غلظت‌های ۱٪ و ۵٪ عصاره آبی با یکدیگر و بقیه گروه‌های تجربی معنی‌دار است ($p<۰/۰۵$). در سایر موارد اختلاف مشاهده شده

www.SID.ir

Archive of SID

معنی‌دار نبود ($p>۰/۰۵$).

جدول ۲ نشان می‌دهد که هر دو نوع عصاره در تمامی غلظت‌ها و در تمامی ساعات انجام آزمایش موجب کاهش تعداد اووسیست‌های اسپوروله در مقایسه با گروه‌های کنترل می‌شود ($p<۰/۰۵$). در ساعت اول پس از شروع آزمایش نیز تفاوت چشم‌گیری در تعداد اووسیست‌های اسپوروله بین غلظت‌های ۱٪ و ۲٪ عصاره هیدروالکلی گل برنجاسف با بقیه گروه‌های تجربی دیده می‌شود ($p<۰/۰۵$). کاهش مشاهده شده در تعداد اووسیست‌های اسپوروله بین غلظت ۵٪ عصاره هیدروالکلی گل برنجاسف با سایر گروه‌های تجربی نیز معنی‌دار است ($p<۰/۰۵$). در سایر موارد اختلاف مشاهده شده معنی‌دار نبود ($p>۰/۰۵$). در ارزیابی انجام شده در ساعت دوازدهم پس از اضافه کردن عصاره‌ها نتایج به این شرح بود که اختلاف مشاهده شده در تعداد اووسیست‌های اسپوروله بین غلظت ۱٪ عصاره آبی گل برنجاسف و بقیه گروه‌های تجربی معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$). کاهش تعداد اووسیست‌های اسپوروله در هنگام استفاده از غلظت ۵ درصد عصاره هیدروالکلی با سایر گروه‌ها به استثنای غلظت۲٪ عصاره هیدروالکلی معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$). لازم به ذکر است که اختلاف بین غلظت‌های ۲٪ عصاره آبی و ۲ ٪ عصاره هیدروالکلی و نیز اختلاف بین غلظت‌های ۱٪ عصاره هیدروالکلی و ۲ و ۵ ٪ عصاره آبی معنی‌دار نبود ($p>۰/۰۵$). در بررسی انجام شده در ۲۴ ساعت پس از اضافه کردن عصاره‌ها نتایج به این صورت بود که کاهش مشاهده شده بین غلظت‌های ۱و ۲٪ عصاره هیدروالکلی و تمامی غلظت‌های عصاره آبی گل برنجاسف معنی‌دار نبود ($p>۰/۰۵$). همچنین تفاوت موجود در تعداد اووسیست‌های اسپوروله بین غلظت‌های ۱ و ۵٪ عصاره آبی با ۲٪ عصاره هیدروالکلی معنی‌دار نبود ($p>۰/۰۵$). در سایر موارد تفاوت مشاهده شده معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$). نتایج ارزیابی انجام شده در ۴۸ ساعت پس از اضافه کردن عصاره‌ها نشان داد که تفاوت مشاهده شده بین غلظت ۵٪ عصاره‌های آبی و هیدروالکلی با سایر گروه‌های تجربی معنی‌دار است ($p<۰/۰۵$). در سایر موارد اختلاف مشاهده شده معنی‌دار نبود ($p>۰/۰۵$).

جدول ۱– مقایسه اثر غلظت‌های مختلف عصاره‌های آبی و هیدروالکلی گل برنجاسف بر تعداد اووسیست‌های غیراسپوروله *آیمریا ماکزیما*

غلظت	اووسیست	زمان			
		ساعت ۱	ساعت ۱۲	ساعت ۲۴	ساعت ۴۸
کنترل	غیراسپوروله	۲۴۸۰±۱۱/۱۵$^{a\alpha}$	۲۴۷۴±۱۱/۷۲$^{a\alpha}$	۲۴۲۳±۱۳/۳۲$^{a\alpha}$	۲۲۶۸±۱۷/۵۸$^{a\beta}$
۱٪ عصاره آبی	غیراسپوروله	۲۱۹۳±۳۶/۰۱$^{c\alpha}$	۱۴۲۶±۲۷/۶۲$^{c\beta}$	۱۳۲۷±۸۵/۳۴$^{c\beta}$	۱۱۶۵±۴۹$^{c\gamma}$
۱٪ عصاره هیدروالکلی	غیراسپوروله	۲۰۱۸±۱۷/۵۶^{ba}	۱۶۰۰±۲۰$^{b\beta}$	۷۹۹/۷±۱۲/۵$^{b\gamma}$	۷۹۳/۳±۱۶/۰۷$^{b\gamma}$
۲٪ عصاره آبی	غیراسپوروله	۱۹۶۷±۴۱/۶۳^{ba}	۱۳۷۱±۲۷/۲۲$^{c\beta}$	۹۳۰/۳±۶۲/۸۲$^{d\gamma}$	۷۶۹/۳±۲۹/۱۴$^{b\delta}$
۲٪ عصاره هیدروالکلی	غیراسپوروله	۱۹۶۷±۴۱/۶۳^{ba}	۹۶۴/۳±۳۶$^{d\beta}$	۷۸۰±۲۸/۷۹$^{b\gamma}$	۷۶۵/۷±۲۳/۵$^{b\gamma}$
۵٪ عصاره آبی	غیراسپوروله	۱۹۴۶±۴۷/۰۶^{ba}	۱۱۶۴±۴۷/۰۶$^{e\beta}$	۷۸۰±۲۸/۷۹$^{b\gamma}$	۶۲۶/۷±۲۳/۲۹$^{d\delta}$
۵٪ عصاره هیدروالکلی	غیراسپوروله	۱۹۵۷±۳۷/۸۶^{ba}	۹۴۹/۳±۴۴/۷۹$^{d\beta}$	۷۵۶/۷±۳۳/۸۶$^{b\gamma}$	۷۵۳/۷±۲۱/۰۸$^{b\gamma}$

حروف نامتشابه انگلیسی در هر ستون نشانه اختلاف معنی‌دار است ($p<۰/۰۵$).
حروف نامتشابه لاتین در هر ردیف نشانه اختلاف معنی‌دار است ($p<۰/۰۵$).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲- مقایسه اثر غلظت‌های مختلف عصاره‌های آبی و هیدروالکلی گل برنجاسف بر تعداد اووسیست‌های اسپوروله *آیمریا ماکزیما*

غلظت	اووسیست	زمان			
		ساعت ۱	ساعت ۱۲	ساعت ۲۴	ساعت ۴۸
کنترل	اسپوروله	$۲۴۸۵\pm۱۸/۰۱^{a\alpha}$	$۲۴۷۰\pm۱۸/۵۳^{a\alpha}$	$۲۴۲۲\pm۲۸/۵۷^{a\alpha}$	$۲۲۶۹\pm۳۲/۴۷^{a\beta}$
۱٪ عصاره آبی	اسپوروله	$۲۱۵۶\pm۴۲/۵۵^{c\alpha}$	$۱۸۰۰\pm۱۶/۵^{c\beta}$	$۱۲۶۸\pm۱۰۶/۷^{bc\gamma}$	$۱۲۲۱\pm۵۷/۴۵^{b\gamma}$
۱٪ عصاره هیدروالکلی	اسپوروله	$۱۷۵۷\pm۵۹/۷۹^{b\alpha}$	$۱۵۷۸\pm۳۰/۰۷^{b\beta}$	$۱۴۳۴\pm۴۷/۰۸^{b\beta\gamma}$	$۱۳۵۴\pm۵۱/۸۳^{b\gamma}$
۲٪ عصاره آبی	اسپوروله	$۱۹۹۷\pm۱۵/۲۸^{c\alpha}$	$۱۳۷۱\pm۲۷/۲۲^{bd\beta}$	$۱۳۳۹\pm۷۵/۳۴^{b\beta\gamma}$	$۱۱۷۹\pm۲۹/۱۴^{b\gamma}$
۲٪ عصاره هیدروالکلی	اسپوروله	$۱۶۴۵\pm۴۰/۹۲^{b\alpha}$	$۱۲۱۸\pm۲۲/۳۴^{de\beta}$	$۱۲۶۲\pm۶۰/۵۲^{bc\beta}$	$۱۲۰۱\pm۲۱^{b\beta}$
۵٪ عصاره آبی	اسپوروله	$۲۰۱۰\pm۱۶۴/۳^{c\alpha}$	$۱۴۰۳\pm۷۳/۵۵^{b\beta}$	$۱۳۳۴\pm۶۲/۰۷^{b\beta}$	$۹۷۳/۷\pm۲۳/۷۱^{c\gamma}$
۵٪ عصاره هیدروالکلی	اسپوروله	$۱۴۵۷\pm۵۶/۰۱^{d\alpha}$	$۱۱۸۲\pm۲۶/۱۵^{e\beta}$	$۱۱۳۶\pm۱۴/۰۱^{c\beta}$	$۹۵۹\pm۳۶/۱^{c\gamma}$

حروف نامتشابه انگلیسی در هر ستون نشانه اختلاف معنی‌دار است ($p<۰/۰۵$).
حروف نامتشابه لاتین در هر ردیف نشانه اختلاف معنی‌دار است ($p<۰/۰۵$).

بحث

نتیجه بررسی‌های متعدد نشان داده است که گیاه برنجاسف یا بومادران اثرات قابل توجهی در درمان بسیاری از بیماری‌ها دارد (۱۹). در پژوهش حاضر اثر کشندگی عصاره‌های آبی و هیدروالکلی گیاه گل برنجاسف بر اووسیست‌های *آیمریا ماکزیما* در شرایط آزمایشگاهی مورد ارزیابی قرارگرفت. نتایج این مطالعه نشان داد که تعداد اووسیست غیراسپوروله و اسپوروله در گروه‌های کنترل در زمان‌های مختلف کاهش داشته است؛ لیکن این کاهش تنها در ساعت ۴۸ نسبت به سایر زمان‌ها معنی‌دار بوده است ($p<۰/۰۵$). دلیل این کاهش را می‌توان این‌گونه توجیه کرد که با گذر زمان دسترسی اووسیست‌ها به انرژی مورد نیاز کم شده و بنابراین تعداد اووسیست‌های زنده با گذشت زمان کاهش یافته است. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که عصاره‌های آبی و هیدروالکلی گیاه گل برنجاسف در شرایط آزمایشگاهی اثرات کشندگی بر اووسیست‌های *آیمریا ماکزیما* در مقایسه با گروه کنترل دارند.

از نتایج به دست آمده مطالعه حاضر این گونه استنباط می‌شود که در شرایط آزمایشگاهی با افزایش غلظت عصاره‌های آبی و هیدروالکلی گیاه گل برنجاسف در زمان معین میانگین درصد کشندگی اووسیست‌های *آیمریا ماکزیما* افزایش می‌یابد؛ از سویی در این پژوهش با افزایش زمان مجاورت عصاره هیدروالکلی گیاه گل برنجاسف و تا حدودی عصاره آبی آن درصد کشندگی و تأثیر گیاهی در از بین بردن اووسیست‌ها به نحو معنی‌داری به ویژه در غلظت‌های ۲ و ۵٪ افزایش یافت. این بدان معنی است که اثر کشندگی این عصاره‌ها رابطه مستقیمی با افزایش غلظت و گذشت زمان داشته است. در همین راستا مطالعات متعددی که در آن‌ها تاثیر متغیرهای غلظت، دما و زمان بر درصد کشندگی عصاره‌های گیاهی بررسی شده است، ارتباط مستقیم میان این فاکتورها و اثر کشندگی را تأیید می‌کنند (۷، ۱۲، ۲۴ و ۲۵).

وابستگی اثر کشندگی به زمان ممکن است به دلیل مجاورت بیشتر انگل با عصاره و نفوذ بیشتر ترکیبات کشنده و افزایش میزان آن‌ها درون انگل یا به علت نفوذ تدریجی ترکیبات فعال و تبدیل آن‌ها به شکل توکسیک به واسطه فعالیت آنزیم‌ها در داخل سیتوپلاسم انگل باشد (۲۰).

تشدید اثر کشندگی و ارتباط آن با زمان در معرض قرارگیری، از سوی رحیمی اسبویی و همکاران در سال ۱۳۹۱ در مورد گیاه گندنا نیز گزارش گردیده است (۵). شهابی و همکاران در سال ۱۳۸۷ با بررسی اثر کشندگی عصاره هیدروالکلی و اسانس گیاه زنیان بر کیست‌های *ژیاردیا لامبلیا* در شرایط آزمایشگاهی نتایج مشابهی به

www.SID.ir

Archive of SID

دست آوردند (۸). مشابه مطالعه حاضر در پژوهش **Bahri Najafi** و همکاران هرچه زمان مجاورت انگل با عصاره و اسانس گیاهان دارویی طولانی‌تر باشد، در غلظت‌های کمتر نیز رشد انگل در محیط کشت متوقف می‌شود (۱۳).

نکته قابل توجه در این مطالعه و مطالعات مشابه این است که با افزایش زمان مجاورت انگل با عصاره می‌توان با غلظت کمتری از عصاره، رشد انگل را در محیط کشت مهارکرد. همچنین نتایج فرسنگی و همکاران نشان داد که زمان، تأثیر بسیار مهمی در کشتن انگل‌ها با عصاره‌های مختلف گیاهی دارد (۱۶). در این پژوهش مشخص گردید که عصاره هیدروالکلی نسبت به عصاره آبی گل برنجاسف به مراتب تاثیر کشندگی بیشتری بر اووسیست‌های *آیمریا ماکزیما* دارد. کشندگی بیشتر عصاره اتانولی نشانگر این است که ترکیبات ضد آیمریایی گل برنجاسف محلولیت بیشتری در اتانول دارند. بنابراین، احتمالاً حل نشدن مواد موثره گیاه در آب و تبخیر آن‌ها در اثر گرما دلیل کمتر بودن اثر عصاره آبی است. **Hammad** و همکاران نیز با استفاده از تکنیک **HPLC-MS** در عصاره هیدروالکلی *آشیلا فالکاتا* (*Achillea falcata*) ۸ ترکیب فنلی و در عصاره آبی ۶ ترکیب فنلی شناسایی کردند (۱۸).

Sokmen و همکاران در سال ۲۰۰۴، خاصیت ضد میکروبی اسانس و عصاره‌های آبی و متانولی گونه *آشیلا سینتنیسی* (*Achillea sintenissi*) را بر ۱۲ گونه باکتری و دو مخمر به صورت مقایسه‌ای مورد بررسی قرار دادند و نتیجه گرفتند که عصاره آبی این گیاه هیچ فعالیت ضد میکروبی ندارد، در حالیکه عصاره متانولی و اسانس آن فعالیت ضدمیکروبی قابل قبولی داشته است (۲۸).

شهابی و همکاران با بررسی گیاه زنیان دریافتند که عصاره آبی زنیان اثر کشندگی بر روی کیست ژیاردیا ندارد (۸) که، مشابه تحقیق رضایی‌منش و همکاران در سال ۱۳۹۲ است که آن‌ها نیز دریافتند عصاره آبی گیاه درمنه ترکی، اثر قابل ملاحظه‌ای بر کیست ژیاردیا ندارد (۶).

با مرور بر مطالعاتی که اثرات بعضی از گیاهان دارویی را بر روی رشد تک‌یاخته‌های مختلف انجام داده‌اند و مقایسه با مطالعه حاضر به نظر می‌رسد که ماده مؤثره گیاه گل‌برنجاسف با ماده مؤثره این گیاهان شبیه به هم بوده است. مطالعات زیادی نشان داده اند که کارواکرول و تیمول از مهم‌ترین ترکیبات موجود در اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی هستند که اثرات ضدباکتریایی زیادی دارند (۱۴ و ۳۳). این دو ترکیب از جمله فعال‌ترین ترکیبات علیه باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی، قارچ و تک‌یاخته هستند (۳، ۸، ۱۶ و ۱۹). تیمول و کارواکرول از لحاظ ساختمانی بسیار شبیه به هم هستند و یک گروه هیدروکسیل در حلقه فنولیک خود دارند. هر دو این ترکیبات موجب افزایش نفوذ پذیری غشا سلولی باکتری می‌شوند (۲۱). این گونه گزارش شده است که تیمول و کارواکرول از مهم‌ترین ترکیبات موجود در گیاهان جنس بومادران است (۳۰). تیمول و کارواکرول باعث افزایش نفوذ پذیری غشای سلولی، بر هم خوردن تعادل یونی دو طرف غشا، تغییر **pH** و در نهایت منجر به تخریب غشا سلولی میکروب‌ها می‌شوند؛ همچنین این مواد می‌توانند غشای خارجی میکروب‌ها را تجزیه و لیپوپلی ساکاریدها را آزاد کنند و نفوذپذیری غشای سیتوپلاسمی را افزایش دهند (۱۵).

Aljancic و همکاران در مطالعه‌ای در سال ۱۹۹۹ نشان دادند که گیاه بومادران در شرایط آزمایشگاهی اثر مهاری قابل ملاحظه‌ای بر رشد *کاندیدا آلبیکنس* (*Candida albicans*) و *باسیلوس سابتیلیس* (*Bacillus subtilis*) دارد، به اعتقاد این پژوهشگران فلاونوئیدهای موجود در عصاره بومادران علاوه بر اثر مهاری بر دو میکروارگانیسم یاد شده از رشد *آسپرژیلوس نایجر* (*Aspergillus* **niger**) نیز جلوگیری می‌کنند (۱۱). پژوهش‌های انجام گرفته روی اسانس *آشیلا لگوستیکا* (*Achillea ligustica*) خواص ضدمیکروبی آن را به وجود ترکیباتی مانند سابینول و بورنئول و سایر ترکیبات سزکوئی ترپنوئیدی نسبت داده است (۳۱). از

www.SID.ir

Archive of SID

این‌رو ممکن است یکی از دلایل اثرگذاری گیاه برنجاسف بر اووسیست‌های *آیمریا ماکزیما* همین مواد باشند.

مطالعه حاضر نشان داد که عصاره‌های آبی و هیدروالکلی گیاه گل برنجاسف در مقایسه با کنترل در همه غلظت‌های مورد استفاده قادرند تعداد اووسیست‌های *آیمریا ماکزیما را کاهش دهند* ($p<۰/۰۵$)؛ همچنین میزان اثر مهاری ارتباط مستقیم با زمان دارد و این مهار به طور مداوم پس از ساعات ۱۲، ۲۴ و ۴۸ افزایش می‌یابد. این نتایج همچنین دلالت بر این می‌کند که عصاره هیدروالکلی اثر بهتری از عصاره آبی دارد، با این حال، مطالعات بیشتری برای نشان دادن اثرات این عصاره‌ها در مدل‌های حیوانی مورد نیاز است.

تشکر و قدردانی

این پژوهش در قالب پایان‌نامه و با حمایت مالی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهرکرد اجرا شده است که بدین‌وسیله پژوهشگران مراتب تشکر و سپاس خود را اعلام می‌دارند.

منابع

۱- ادیب نیشابوری، محمود؛ رزمی، غلامرضا و کلیدری، غلامعلی؛ بررسی کوکسیدیوز در تعدادی از مزارع پرورش مرغ تخم‌گذار شهرستان مشهد؛ پژوهش و سازندگی در امور دام و آبزیان؛ ۱۳۸۵؛ ۱۹: ۳۱-۳۵.

۲- حاجی مهدی‌پور، هما؛ خانوی، مهناز؛ شکرچی، مریم؛ عابدی، زهرا و پیرعلی همدانی، مرتضی؛ بررسی بهترین روش استخراج ترکیبات فنلی موجود در گیاه سرخارگل؛ گیاهان دارویی؛ ۱۳۸۸؛ ۸: ۱۴۵-۱۵۲.

۳- خلیلی دهکردی، بهمن؛ رفیعیان، محمود؛ حجازی، سید حسین؛ یوسفی، حسین علی؛ یکتائیان، نرگس و شیرانی بیدآبادی، لیلا؛ بررسی تأثیر عصاره‌های گیاهی افسنطین، بومادران و برگ گردو بر انگل تریکوموناس واژینالیس در محیط کشت آزمایشگاهی؛ مجله دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد؛ ۱۳۸۹؛ ۱۲: ۶۲-۶۹.

۴- دوازده امامی، سعید؛ کاربرد گیاهان دارویی؛ چاپ اول؛ انتشارات نصوح؛ ۱۳۸۲؛ جلد اول؛ صفحه ۳۲-۴۶.

۵- رحیمی اسبویی، بهمن؛ غلامی، شیرزاد؛ آزادبخت، محمد و ضیائی، هاجر؛ بررسی تأثیر عصاره هیدروالکلی گیاه گندنا (**Artemisia annua**) بر روی مرحله کیستی انگل ژیاردیا لامبلیا در شرایط آزمایشگاهی؛ مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران؛ ۱۳۹۱؛ ۲۲: ۷۱-۸۰.

۶- رضائی‌منش، محمدرضا؛ شیربازو، شهناز و نائمه‌پور، یعقوب؛ بررسی آزمایشگاهی اثر کشندگی عصاره آبی و الکلی درمنه ترکی بر کیست ژیاردیا لامبلیا؛ فصلنامه علمی دانشکده علوم پزشکی تربت حیدریه؛ ۱۳۹۲؛ ۱: ۱۹-۳۰.

۷- سرکاری، بهادر؛ تدین حدیثا؛ عسکریان شهربانو؛ فرنیا، الهام و عسکریان، مهرانگیز؛ اثر عصاره سیر و آنغوزه بر رشد و تکثیر انگل تریکوموناس واژینالیس؛ مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی گرگان؛ ۱۳۸۸؛ ۱۳:۱۱-۱۷

۸- شهابی، ساعد؛ ایازی روزبهانی، فاطمه؛ کمالی‌نژاد، محمد و ابدی، علیرضا؛ بررسی اثر کشندگی عصاره و اسانس گیاه زنیان بر روی کیست ژیاردیا لامبلیا؛ پژوهش در پزشکی؛ ۱۳۸۷؛ ۳۲: ۳۰۳-۳۰۷.

۹- مظفریان، ولی‌الله؛ فرهنگ نامهای گیاهان ایران؛ انتشارات فرهنگ معاصر؛ ۱۳۸۶؛ صفحه: ۷۴۰-۷۴۲.

۱۰- یخچالی، محمد و خسروی، علیرضا؛ مطالعه اثر ضد آیمریایی اسانس گیاه درمنه (**Artemisia sieberi**) در خرگوش آزمایشگاهی در شرایط In

www.SID.ir

Archive of SID

vivo و In vitro، پژوهش و سازندگی در امور دام و آبزیان؛ ۱۳۸۳؛ ۱۷: ۴۸-۵۱.

11- Aljancic, I; Vajs, V; Menkovic, N; Karadzić, I; Juranić, N; Milosavljević, S. and Macura, S; Flavones and sesquiterpene lactones from *Achillea atrata* subsp multifida: Antimicrobial activity. J. Nat. Prod; 1999; 62: 909-911.

12- Arab, H.A; Katadj, J.K; Rahbari, S; Nabian, S; Mohammadi, A.S. and Pirali-Kheirabadi, K; Comparison between anticoccidial effect of granulated Artemisia siberi extract and pure Artemisinin in affected broilers. J. Vet. Res; 2012; 67: 119-125.

13- Bahri Najafi, R; Motazedian, M; Azadbakht, M. and Sodagar, R; Effect of essential oils from some medicinal plants on *Giardia lambelia* cyst in comparison with metronidazole. Res. J. Univ. Isfahan; 2003; 17: 199-206.

14- Boyraz, N. and Ozcan, M; Inhibition of Phytopathogenic Fungi by essential Oil, Hydrosol, Ground Material and Extract of Summer Savory (*Satureja hortensis* L.) Growing Wild in Turkey. Int. J. Food. Microbiol; 2006; 107: 238-242.

15- Burt, S; Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. Int. J. Food. Microbiol; 2004; 94: 223-253.

16- Farsangi, M; Killing effect of *Zataria multiflora* on cysts of *Giardia lamblia* in vitro. J. Clin. Microbiol; 2001; 4: 88-95.

17- Fudge, A.M; Laboratory medicine: Avian & Exotic pets. 1st Ed; Saunders London, 2000; pp: 251-360.

18- Hammad, H.M; Litescu, S.C; Matar, S.A; Al-Jaber, H.I. and Afifi, F.U; Biological Activities of the Hydro-alcoholic and Aqueous Extracts of *Achillea falcata* L. (Asteraceae) Grown in Jordan. Europ. J. Med. Plants; 2014; 4: 259-270.

19- Honda, G; Yesilada, E; Tabata, M; Sezik, E; Fujita, T; Takeda, Y; Takaishi, Y. and Tanaka, T; Traditional medicine in Turkey VI. Folkmedicine inWest Anatolia: Afyon, Kutahya, Denizli, Mugla, Aydin provinces, J. Ethnopharm; 1996; 53: 75-87.

20- Kumar, P. and Singh, D;. Molluscicidal activity of *Ferula asafoetida*, *Syzygium aromaticum* and *Carum carvi* and their active components against the snail *Lymnaea acuminata*. Chemosphere;

www.SID.ir

Archive of SID

coccidiosis in broiler chickens. Exp Parasitol; 2014; 141: 129-133.

26- Riviere, J.E. and Papich, M.G; Veterinary Pharmacology and Therapeutics, 9th Ed. John Wiley & Sons, London, 2013, pp: 961-977.

27- Saeidnia, S; Gohari, A; Mokhber-Dezfuli, N; Kiuchi, F; A review on phytochemistry and medicinal properties of the genus Achillea. *Daru*; 2011; 19: 173-186.

28- Sokmen, A; Sokmen, M; Daferera, D; Polissiou, M; Candan, F; Unlü, M. and Akpulat, H.A; The in vitro antioxidant and antimicrobial activitias of the essential oil and methanol extracts of *Achillea biebersteini* Afan. (Astraceae). Phytother. Res; 2004; 18: 451-456.

29- Soulsby, E.J.L; Arthropods, Protozoa and Helminthes of domesticated animals. 7th Ed., Lea & Febiger, Philadelphia, 1986, pp: 657-661.

30- Torki, M. and Amjad, L. Comparative Analysis of Chemical Composition of Achillea Wilhelmsii Flowers in Phenological Different Stages. Indian J. Fundament. Appl. Life Sci; 2015; 5: 90-93.

31- Tuberose, C.I.G; kowalczyk, A; Coroneo, V; Russo, M.T. and Cabras, P; Chemical composition and antioxidant, antimicrobial, and 2006; 63: 1568-1574.

21- Lambert, R.J; Skandamis, P.N; Coote, P.J. and Nychas, G.J; A Study of the Minimum Inhibitory Concentration and Mode of Action of Oregano Essential Oil, Thymol and Carvacrol. J. Appl. Microbiol; 2001; 91: 453-462.

22- Mozaffarian, V. Flora of Iran no. 59. Compositae: Anthemideae & Echinopeae. Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, 2008, pp: 123-125.

23- Naidoo, V; McGaw, L.J; Bisschop, S.P; Duncan, N. and Eloff, J.N; The value of plant extracts with antioxidant activity in attenuating coccidiosis in broiler chickens. Vet. Parasitol; 2008; 153: 214-219.

24- Ola-Fadunsin, S.D. and Ademola, I.O; Direct effects of Moringa oleifera Lam (Moringaceae) acetone leaf extract on broiler chickens naturally infected with Eimeria species. Trop Anim Health Prod; 2013; 45: 1423-1428.

25- Pirali Kheirabadi, K; Kaboutari Katadj, J; Bahadoran, S; Teixeira da Silva, J.A; Dehghani Samani, A. and Cheraghchibashi, M; Comparison of the anticoccidial effect of granulated extract of Artemisia sieberi with monensin in experimental

www.SID.ir

Archive of SID

antifangal activities of the essential oil of *Achillea ligustica* All. J. Agric. Food Chem; 2005; 53: 10148-10153.

32- Vanzutphen; L.F.M; Bauman, S.V; Beynen, A.C; *Principals of Laboratory Animal Science*, Revised Ed; Elsevier, London, 2001; pp: 265-267.

33- Varvaresou, A; Papageorgiou, S; Tsirivas, E; Protopapa, E; Kintziou, H; Kefala, V. and Demetzos, C; Self-preserving cosmetics. Int. J. Cosmetic Sci; 2009; 31: 163-175.

34- Zaman, M.A; Iqbal, Z; Abbas, R.Z. and Khan, M.N; Anticoccidial activity of herbal complex in broiler chickens challenged with Eimeria tenella. Parasitology; 2012; 139: 237-243.

www.SID.ir

Archive of SID

Evaluation of lethal effect of aqueous and hydroalcoholic extracts of *Achillea talagonica* on the *Emeria maxima* oocysts *in vitro*

Rajaei, N.[1]; Pirali, Kh.[2]; Habibian, S.[2]; Azizi, H.[3]

1. Graduated Student, Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord University, Shahrekord-Iran.
2. Associate Professor, Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord University, Shahrekord-Iran.
3. Assistant Professor, Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord University, Shahrekord-Iran.

Recieved: 12 November 2015 ***Accepted:*** 18 April 2016

Summary

Avian coccidiosis is one of the most expensive infectious diseases in poultry. *Achillea talagonica* is one of the plants which due to its anti-inflammatory, antimicrobial and anti-oxidant properties have been applied from ancient times for the treatment of parasitic diseases. So, this study aimed to assess the efficiency of the *Achillea talagonica* aqueous and hydroalcoholic extracts, on *Eimeria maxima* oocysts in vitro. The oocysts used in this study were obtained by challenging the 14th day-old broiler chicks with 75,000 oocysts of *E. maxima*. To obtain sporulated oocsts, 9 g of stool samples were soaked in 2% Potassium bichromate and incubated at 27 ° C for 72 hrs. The harvested oocysts (sporulated or unsporulated) were then exposed to the 1, 2 and 5% concentration of aqueous or hydroalcoholic herbal extracts at 25 - 28°C for 48 hrs. Thereafter, number of Sporulated and unsporulated of oocytes were counted at 1, 12, 24 and 48 hours. In order to prevent any error in the results, the experiment was repeated three times. The results showed that both extract in all concentration were able to reduce the number of sporulated and unsporulated of oocytes compared with control ($p<0.05$). The rate of inhibitory effect had direct relationship with time and inhibition was continuously increased after 12, 24 and 48 hours. These results also indicated that hydroalcoholic extract had better effect than aqueous extract. However, further studies are needed to show the effects of these extracts in animal models

Keywords: *Achillea talagonica*, **Sporulated and unsporulated oocytes**, *Eimeria maxima*, *In vitro*.

* Corresponding Author E-mail: habibian@vet.sku.ac.ir

www.SID.ir