

ارزیابی روش پاکتی تعدیل یافته جهت سنجش میزان حساسیت کنه *Boophilus annulatus* در مقابل ترکیبات ضدکنه

- مهدی خلیج، عضو هیأت علمی سازمان دامپزشکی کشور
- صدیقه نبیان، استادیار دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران
- صادق رهبری، استاد دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران
- حسن لدنی، استاد دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران
- وحید عطارد، عضو هیأت علمی سازمان دامپزشکی کشور

تاریخ دریافت: خردادماه ۱۳۸۴ تاریخ پذیرش: اسفندماه ۱۳۸۴

Email: khalaj.mehdi@gmail.com

چکیده

معرفی روش استاندارد تشخیص مقاومت در برابر سموم یکی از نیازهای عمده نظارت و مراقبت مقاومت کنه‌ها در سطح مزرعه می‌باشد. انتخاب روش آزمایشگاهی مناسب، حساسیت روش به منظور شناسایی مقاومت، قابلیت انجام آزمایش برای کلیه گروه‌های شیمیایی مورد استفاده و ارزان بودن روش، مورد توجه کلیه مراکز تحقیقاتی می‌باشد. در این مطالعه به منظور رفع تنگنای دسترسی به پاکت‌های آغشته به سموم کیت فائو، تلفیقی از روش ساندویچ شاو و تست پاکتی فائو به عمل آمده است. این روش قابلیت انجام آزمایش با هر سم تجاری مورد نظر را به عنوان مآخذ دارد تجزیه و تحلیل نتایج بدست آمده بر اساس آزمون پروبیت نشان داد که کمترین میزان سم که ۵۰٪ لاروها را تلف نماید می‌تواند بعنوان اطلاعات پایه قلمداد گردد و این معیار در مقایسه با مقادیر بیشتر هر سم در مورد گونه‌های مشابه کنه می‌تواند تعیین‌کننده عامل مقاومت در هر منطقه باشد. در این مطالعه کمترین میزان غلظتی از سم دیازینون که ۵۰٪ نوزادان کنه *B. annulatus* را تلف نماید برابر ۰/۰۰۳ میلی گرم می‌باشد و غلظتی از سم که ۹۹٪ لاروها را تلف می‌نماید برابر با ۰/۰۱۰ میلی گرم بوده و این غلظت معادل ۱:۲۰ غلظت توصیه شده سم دیازینون می‌باشد. با توجه به مطالب فوق و نیز شیب خط رگرسیون این موضوع در ذهن تداعی می‌شود که جمعیت کنه مورد مطالعه در این تحقیق، گرایش به مقاومت را از خود نشان نمی‌دهد.

کلمات کلیدی: بوفیلوس، کنه‌کش، مقاومت، آزمایش پاکتی نوزادان کنه، ایران

Pajouhesh & Sazandegi: No 75 pp: 39-45

Evaluation of modified larval pocket test for determining the Sensitivity of *Boophilus annulatus* against acaricides

By: M. Khalaj, Academic Staff of Veterinary Organization of Iran

Nabian, S. Assistant Professor of Parasitology Department of Veterinary faculty Tehran University

Rabfari, S. Professor of Parasitology Department of Veterinary Faculty Tehran University

Ladoni, H. Professor of Health School of Tehran Medical Science University

Atarod, V. Academic Staff of Veterinary Organization of Iran

In order to assess of tick resistance against domestic commercial acaricidal compounds, a standard technique is the main requirement of a resistance test. It should be capable for application to any commercial formulated pesticide, the next requirement is simplicity and high susceptibility of test and also the low cost of the test has been interested. In this study, the lack of FAO's impregnated filter paper pocket has been dissolved, whereby, the filter paper can be easily impregnated with each concentration of commercial acaricides then instead of having sandwich paper, it was modified in pocket shape. Our modification might have some advantages in having the same suitability of resistance screening of each insecticide as reference material. Probit analysis of these results indicated that minimum lethal concentration to kill 50% of tick larvae of *Boophilus annulatus* was 0.003 and expected concentration to give 99% mortality of the tick larvae was 0.01 which equal to 1:20 of the recommended dose of diazinon. It can be concluded that obtained base line data and regression line are drawn to fit this point that it revealed, the tick populations did not show any resistance status in this monitoring test.

Keywords: *Boophilus annulatus*, Acaricide, Resistance Larval Packet test, Iran

مقدمه

اولین گزارش کنه از ایران توسط والدهایم (۱۸۲۴) در مورد *Argas persicus* می‌باشد، تولوزان پزشک ناصرالدین شاه ساس سفید مراغه را به عنوان ناقل تب راجعه معرفی نمود و Laboulbene ۱۸۷۶ آنرا *Ornithodoros tholozani* نامید (۲، ۳). در طول سال‌های ۱۹۴۶-۱۹۳۶ مطالعه وسیعی بر روی ناقلین تب راجعه توسط Baltazard و Delpi و رفیعی انجام پذیرفت (۲، ۳، ۴، ۵، ۱۷). Delpi و Raryi (۱۹۴۷) به منظور شناسایی کنه‌های ناقل تیلریا اولین گزارش کنه‌های سخت را منتشر نمودند (۴). عباسیان پراکنش کنه‌های سخت را در جنوب کشور گزارش نمود (۱). مظلوم انتشار جغرافیایی کنه‌های سخت را در کشور مورد توجه قرار داد (۱۴). Filipova در سال ۱۹۷۶ گزارش جامعی از نوزاد و نوچه کنه‌های سخت چونندگان ایران ارائه نمود (۹). Hoogstraal و همکاران در سال ۱۹۸۰ کنه‌های سخت پستانداران وحشی و اهمیت بهداشتی آنها را مورد مذاقه قرار دارند (۱۰). رهبری طی مطالعه‌ای دیدگاه‌های اکولوژی کنه‌های دامی ایران را بررسی نمود (۱۸).

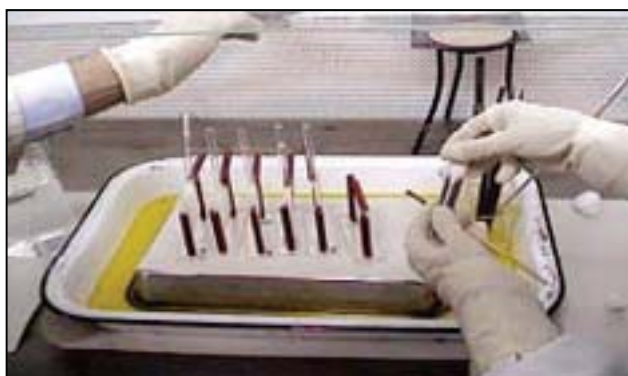
در بسیاری از مناطق جهان، کنه‌ها تهدیدی جدی برای سلامت دام‌ها و بهداشت عمومی محسوب می‌شوند. زیرا که آنها قادر به ایجاد صدمات مستقیم و همچنین انتقال بیماری‌های انگلی جدی مانند بابزی، آناپلازما و تیلریا می‌باشند. کنترل کنه‌ها و بیماری‌های منتقله از آنها مهمترین راهکار بهداشتی دام بمنظور حفاظت چهارپایان و پیشبرد سلامت محصولات دامی می‌باشد (۶). در مطالعه‌ای که به طور مشترک توسط دفتر خواروبار کشاورزی سازمان ملل (FAO)، آژانس توسعه بین‌المللی کشور دانمارک (DANIDA) و برنامه توسعه سازمان ملل (UNDP) طی سال‌های ۱۹۸۷-۱۹۸۶ صورت گرفت تخمین زده شده است که تقریباً ۸۰٪ جمعیت ۱/۲۸ میلیارد راسی گاو موجود در جهان، در معرض خطر کنه‌ها و بیماری‌های منتقله از آن قرار دارد و اعلام گردیده که هزینه‌های جهانی کنترل و نیز زیان‌های کاهش تولیدات دامی ناشی از گزش کنه‌ها سالیانه ۷ میلیارد دلار و یا به عبارت دیگر ۷ دلار به ازای هر راس در سال می‌باشد (۱۵).

بنا بر همین اهمیت، دامداران سعی نموده‌اند با استفاده از کنه‌کش‌ها در مواقع بروز آلودگی به طرق مختلف با آن مبارزه نمایند. کاربرد متوالی و یا استفاده از دوز نامناسب سموم باعث گردیده که در چند دهه اخیر گزارشات متعددی از بروز مقاومت در کنه‌ها نسبت به آفت‌کش‌ها انتشار یابد.

به منظور سنجش کیفی سموم، متداول‌ترین روش استفاده از Bioassay می‌باشد. به عبارت دیگر در این روش از موجودات زنده برای اندازه‌گیری کیفی سموم استفاده می‌گردد. مشکل عمده در راه‌اندازی و استمرار سیستم ارزیابی مقاومت کنه‌ها فقدان روش‌های استاندارد می‌باشد که خوشبختانه به دلیل اهمیت موضوع مورد توجه مؤسسات بین‌المللی قرار گرفته است و هم اکنون آزمایشگاه مطالعه مقاومت اکاریسیدها واقع در برلین از طریق فائو مسئولیت تهیه این روش‌های استاندارد را یافته است. در این مطالعه کوشش گردیده که با اعمال تغییراتی در روش پاکتی فائو، روشی ساده جهت ارزیابی کیفی سموم معرفی گردد (۸).

طول تا خورده و بر روی هم قرار می‌گرفت. سپس از طریق دو شیرازه ۸ سانتی متری از دو ضلع طولی مسدود می‌گردید به شکلی که بخش باز پاکت کاغذی در قسمت فوقانی قرار می‌گرفت. پاکت کاغذی بر روی پایه شیشه‌ای که واجد دو میله فلزی در حد فاصل ۸ سانتی متری بود قرار داده می‌شد (شکل ۲؛ ۰/۴ میلی لیتر از رقت سم مورد نظر می‌توانست تمام سطح پاکت را آغشته نماید. چنین پاکت هائی آمادگی دریافت نوزادهای کنه را خواهند داشت.

حدود ۱۰۰ لارو ۱۴ تا ۲۱ روزه از نتاج کنه‌های مشکوک به کاهش حساسیت نسبت به سم دیازینون به هر یک از پاکت‌های حاوی رقت‌های مختلف سم اضافه می‌گردید و بلافاصله درب قسمت فوقانی پاکت توسط یک شیرازه دیگر مسدود می‌گشت و متعاقباً به ظروف دو جداره انتقال داده و به مدت ۲۴ ساعت تحت شرایط انکوباتور ۲۸



شکل شماره ۲ - روش تعدیل یافته لارو پاکتی جهت ارزیابی سموم

درجه سانتی گراد و رطوبت نسبی ۸۵ درصد نگهداری می‌گردید (۱۳) به منظور کنترل نوزاد کنه و ممانعت از فرار آنها کلیه عملیات معرفی نوزاد کنه به پاکت بر روی یک تشتک وارونه شده در درون تشتک بزرگتر حاوی ساوین انجام می‌پذیرفت. حداقل ۵ تکرار آزمایش و در هر آزمایش برای کنترل و رقت‌های مختلف ۲ تکرار و مجموعاً ۱۱۰ مورد آزمایش از نتاج اولیه کنه صورت پذیرفت.

به منظور شمارش میزان مرگ و میر لاروها، پس از قرار دادن پاکت در روی پایه شیشه‌ای، با برداشتن گیره‌های پلاستیکی، کاغذ را باز کرده و با سنجاق دو طرف آن ثابت می‌شد، با کمک ذره بین تمامی لاروهای دارای حرکت به عنوان لارو زنده شمارش می‌شد و در این روند برای اطمینان از شمارش کامل لاروهای زنده، با هوای بازدم کمی آنها تحریک می‌شدند. مابقی لاروهای بدون حرکت و یا آنها که در جا ضمام خود را تکان می‌دادند به عنوان کنه مرده محسوب می‌شدند، در مواقعی که تمامی لاروها زنده و یا مرده بودند شمارش صورت نمی‌گرفت و میزان مرگ و میر صفر و یا صد در صد منظور می‌گردید، شمارش، همواره از پاکت‌های کنترل آغاز و با پاکت‌های از غلظت پایین به بالا ادامه می‌یافت تمامی نتایج در فرم‌های مخصوص درج می‌گردید.

مواد و روش کار

در این تحقیق از آزمایش تغییر یافته پاکتی لاروها (LPT) استفاده و کنه‌های ماده *B. annulatus* بعنوان موجود زنده برای اندازه‌گیری کیفی سم به کار گرفته شد (۱۶) این کنه‌ها مستقیماً از بدن گاو در پایان خونخواری و قبل از رها کردن میزبان در استان‌های مازندران و گیلان جمع‌آوری شدند و برای جداسازی، کنه‌ها را از نزدیکی پوست بدن میزبان گرفته و با حرکتی مخالف جهت اتصال با قدری فشار از بدن میزبان جدا کرده و دقت لازم برای اجتناب از ایجاد صدمه به ضمام دهانی به عمل آمد. کنه‌های هر راس دام، پس از جدا سازی از بدن میزبان وارد ظروف نمونه‌برداری پلاستیکی که درب آن دارای روزنه‌های ریز بود، گردیده و مشخصات مورد نظر بر روی آن نوشته می‌شد. همچنین در هنگام انتقال به آزمایشگاه، ضمن تامین رطوبت، از طریق قرار دادن پنبه مرطوب در مقابل درب ظروف نمونه، آنها را در کیسه پلاستیکی قرار داده سپس به منظور حفاظت از حرارت و نور در داخل جعبه‌های مقوایی قرار می‌گرفت. در آزمایشگاه، آن دسته از کنه‌ها که دارای تحرک، رنگ طبیعی و به طور نسبتاً کامل خون خورده بودند برای انجام آزمایش انتخاب شدند. سپس در الکل ۷۰ درجه غوطه ور و شستشو شدند تا از آلودگی‌های بعدی جلوگیری شود. پس از خشک کردن کنه‌ها، آنها در لوله‌های استریل به قطر ۱۰ میلیمتر و ارتفاع ۱۵۰ میلیمتر قرار می‌گرفتند که درب این لوله‌ها با پنبه‌های مصنوعی (پنبه شکسته بندی) مسدود می‌گردید. لوله‌ها را در انکوباتور تحت رطوبت ۸۵-۸۰ درصد و درجه حرارت ۲۹-۲۷ درجه سانتیگراد نگهداری و پس از مرحله تخم گذاری تخم‌ها را در لوله مجزا تقسیم (حدوداً ۱۰۰۰ تخم) جهت تولید لارو (شکل ۱) آنها مجدداً به انکوباتور انتقال داده شدند سم دیازینون در رقت‌های مختلف: توصیه شده، ۱:۵، ۱:۱۰، ۱:۲۰، ۱:۴۰، ۱:۸۰، ۱:۱۶۰ و ۱:۳۲۰ و ۱:۶۴۰ و ۱:۱۲۸۰ رقت توصیه شده مورد استفاده قرار گرفت. همچنین از آب مقطر نیز برای گروه کنترل استفاده گردید.

به منظور تهیه پاکت‌های کاغذی از فیلتر کاغذی واتمن شماره ۴ به ابعاد ۱۰ در ۸ سانتیمتر استفاده گردید که این قطعه کاغذ از قسمت میانی



شکل شماره ۱ - نوزاد کنه *B. annulatus* در لوله کشت

تصحیح نتایج

می‌توان از خط مستقیم طرف راست (c) تمیز داد. خط c در سمت راست که مشخص‌کننده LC ۵۰ بیش از حد طبیعی است، شاخص مقاومت همگون خواهد بود. حال با توجه به میزان شیب خط می‌توان تمایل به طرف حساسیت و یا مقاومت را تعیین نمود به این معنی که افزایش شیب که خط را به طرف راست متمایل می‌کند می‌تواند نشانگر تمایل جمعیت به سوی نا همگونی زیاد و ایجاد مقاومت که نهایتاً جمعیت همگون مقاوم را بوجود می‌آورد، باشد (۱۱).

نتایج

اطلاعات برحسب تفاوت درصد تلفات لاروهای کنه در برابر رقت‌های مختلف سم دیازینون در جدول شماره ۱ درج گردید. همانطوری که در این جدول مشاهده می‌شود تا رقت ۱/۳۲۰ غلظت توصیه شده سم دیازینون ۱۰۰٪ لاروهای کلیه کنه‌های مورد آزمایش تلف شده‌اند و از ظاهر اینگونه می‌توان برداشت کرد که هیچگونه مقاومتی در کنه‌های بووفیلوس در برابر این سم بوجود نیامده است.

نتایج آزمون پروبیت

به منظور تجزیه و تحلیل داده‌های این تحقیق و معرفی میزان دز و یا غلظتی از سم که بتواند ۵۰ و ۹۹ درصد لاروها را تلف نماید، از برنامه نرم افزار کامپیوتری پروبیت استفاده گردید و در این برنامه پس از ارائه داده‌های آماری آزمایشات به کامپیوتر، متغیرهای مختلف استخراج گردید و سپس بر اساس آن نتایج مورد ارزیابی قرار گرفت (جدول ۲). نتایج بدست آمده از پروبیت سم دیازینون با توجه به شیب خط رگرسیون، اختلاف معنی‌دار مربع کای محاسبه شده (۳۶/۸) و مربع کای استاندارد (۱۵/۵۰۷) بیانگر جمعیت غیر همگن و تنوع ژنتیکی کنه‌های مورد آزمایش با سم دیازینون می‌باشد (جدول ۳) ولی از آنجاکه در نتایج حاصل از آزمون پروبیت، پس از استخراج غلظت‌هایی از سم که ۵۰ و ۹۹ درصد لاروها را تلف نمود، معادل تلفات در رقت‌های ۱/۳۲۰ و ۱/۱۶۰ رقت

پس از شمارش پاکت‌های کنترل در صورتیکه درصد تلفات کمتر از ۵ درصد بود، نتایج مستقیم مورد استفاده قرار می‌گرفت. اگر تلفات لاروهای کنترل بین ۵-۱۰ درصد بود، درصد تلفات در کلیه غلظت‌ها با استفاده از فرمول آبوت اصلاح می‌شد و نتایج در جدول وارد می‌گردید و چنانچه درصد تلفات کنترل بیش از ۱۰ درصد بود آزمایش مورد قبول واقع نمی‌گردید.

$$\text{فرمول آبوت} = \frac{\text{درصد تلفات کنترل} - \text{درصد تلفات آزمایش} * 100}{\text{درصد تلفات کنترل} - 100}$$

محاسبه نتایج مطالعه

به منظور ارزیابی میزان حساسیت و یا وجود مقاومت احتمالی کنه‌ها در برابر سموم باید نسبت به تعیین رقتی از سم که بتواند ۵۰ و ۹۹ درصد لاروها را تلف نماید اقدام نمود. و برای این منظور ابتدا میزان ماده موثر در مقداری از محلول سم که سطح پاکت حاوی لارو را به ترکیبات ضد کنه آغشته می‌نمود محاسبه گردید (۰/۴ میلی لیتر محلول سم در این آزمایش برای آغشته کردن سطح پاکت‌ها، که ۶۳ سانتیمتر مربع مساحت داشت، استفاده شد؛

آزمون پروبیت (probit)

برای نمایش منحنی پروبیت، درصد غلظت روی محور X و مرگ و میر پروبیت (لگاریتم مقادیر مورد انتظار با ۵ درصد احتمال خطا و ۹۵ درصد سطح اطمینان) روی محور Y قرار می‌گیرد. چنانچه جمعیت از حساسیت همگون برخوردار باشد، خط همبستگی مستقیم (a) خواهد بود (با غلظت کم) اگر نمایش خط به صورت منحنی (خط b) باشد، مشخص‌کننده آنست که جمعیت ناهمگون و مخلوطی از حساس و مقاوم است. قسمت افقی این خط بسته به نسبت کنه‌های مقاوم در نمونه جمعیت، متغیر است. اگر عامل مقاومت کم باشد قسمت صاف را به سختی

جدول ۱- تاثیر میزان ماده مؤثره دیازینون ۶۰٪ در رقت‌های مختلف

درصد تلفات اصلاح شده	درصد میلیگرم ماده مؤثر در یک سانتیمتر مربع	کنترل
۴/۵	آب مقطر	
۱۰۰	۱/۶	توصیه شده
۱۰۰	۰/۳۲	۵:۱
۱۰۰	۰/۱۶	۱۰:۱
۱۰۰	۰/۰۸	۲۰:۱
۱۰۰	۰/۰۴	۴۰:۱
۱۰۰	۰/۰۲	۸۰:۱
۱۰۰	۰/۰۱	۱:۱۶۰
۸۴	۰/۰۰۵	۱:۳۲۰
۴۷	۰/۰۰۲۵	۱:۶۴۰
۵/۵	۰/۰۰۱۲۵	۱:۱۲۸۰

جدول ۲- پروبیت سم دیازینون بر حسب تلفات اصلاح شده و نسبت تلفات پیش بینی شده

نسبت تلفات پیش بینی شده	تلفات اصلاح شده نسبت به کنترل	درصد تلفات	تعداد کنه‌های مرده	تعداد کنه‌های مرده و زنده	غلظت (درصد میلی گرم در ۱ سانتیمتر مربع)
۰/۰۳۹۷	۰/۰۰۰۰	۰/۰۴۳۸	۶۱	۱۳۹۲	کنترل
۰/۰۵۸۳	۰/۰۱۵۴	۰/۰۵۴۵	۲۹	۵۳۲	۰/۰۰۱۲
۰/۳۸۳۳	۰/۴۴۹۱	۰/۴۷۱۰	۳۵۷	۷۵۸	۰/۰۰۲۵
۰/۸۳۵۳	۰/۷۹۹۶	۰/۸۰۷۵	۷۹۳	۹۸۲	۰/۰۰۵۰
۰/۹۸۷۷	۰/۹۹۸۲	۰/۹۹۸۳	۵۷۸	۵۷۹	۰/۰۱۰۰
۰/۹۹۸۸	۱/۰۰۰۰	۱/۰۰۰۰	۵۰۰	۵۰۰	۰/۰۲۰۰
۱/۰۰۰۰	۱/۰۰۰۰	۱/۰۰۰۰	۵۰۰	۵۰۰	۰/۰۴۰۰
۱/۰۰۰۰	۱/۰۰۰۰	۱/۰۰۰۰	۵۰۰	۵۰۰	۰/۰۸۰۰
۱/۰۰۰۰	۱/۰۰۰۰	۱/۰۰۰۰	۵۰۰	۵۰۰	۰/۱۶۰۰
۱/۰۰۰۰	۱/۰۰۰۰	۱/۰۰۰۰	۵۰۰	۵۰۰	۰/۳۲۰۰
۱/۰۰۰۰	۱/۰۰۰۰	۱/۰۰۰۰	۵۰۰	۵۰۰	۱/۶۰۰۰

جدول ۳- تعیین پارامترهای مورد محاسبه از جدول پروبیت برای کنه *B. annulatus*

مربع کای محاسبه شده	مربع کای استاندارد	میانگین	انحراف	شیب خط رگرسیون \pm خطای استاندارد
۳۶/۸۰۰	۱۵/۵۰۷	۳/۵۳۱۸۰۱	۰/۲۳۶۶۳۹	۴/۲۲۵۸۵۳ \pm ۰/۳۲۹۸۰۸

تروئیدهای سنتتیک توسعه داده است (۷) این روش طی سال‌های متمادی در کوئینزلند استرالیا و به صورت وسیعی در آمریکای لاتین و آفریقا جهت تشخیص مقاومت در کنه *B. micropolus* مورد استفاده قرار گرفته است. هم اکنون این روش بشکل کیت برای آزمایش انتخابی تشخیص مقاومت در کنه‌ها توسط فائو ترویج شده است. در استفاده از این روش برای آمیتراز مشکلاتی وجود دارد و لازم است تغییراتی در این خصوص ایجاد شود، این آزمایش نمی تواند برای تنظیم کننده‌های رشد آکارین‌ها مانند فلوازورون بکار رود (۷) آزمایش غوطه وری بالغین (Adult Immersion Test) توسط Rummond و همکارانش در سال ۱۹۷۳ ابداع گردید. در این روش از کنه‌های ماده خونخوره به منظور تعیین تاثیر نسبی آکاریسیدهای جدید بر علیه تعدادی از گونه‌های کنه استفاده می‌شود. این آزمایش حتی قبل از آن که استاندارد شود در آزمایشگاه‌های متعددی مورد استفاده قرار گرفت، این روش در مورد لاکتون‌های ماکروسیکلیک و فلوازورون هم کاربرد دارد (۱۹).

در این مطالعه به منظور رفع تنگنای دسترسی به پاکت‌های آغشته به سموم کیت فائو، ادغامی از روش ساندویچ شاو و تست پاکتی فائو به عمل آمد تا بدین طریق این قابلیت برای انجام آزمایش وجود داشته باشد که هر سم مورد نظر را بتوان به عنوان ماخذ استفاده نمود. پس از تجزیه و تحلیل داده‌ها بر اساس آزمون پروبیت، کمترین میزان غلظتی از سم که ۵۰٪ لاروها را تلف نمود به عنوان اطلاعات پایه قلمداد گردید و از آنجا که متداول‌ترین

توصیه شده می‌باشد تا مادامیکه آزمون مجددی صورت نگیرد ونتایج آن مقایسه نشود نمی توان در خصوص میزان حساسیت و یا مقاومت احتمالی کنه مورد مطالعه اظهار نظری نمود (جدول ۴ و ۵).

بحث

مشکل عمده راه‌اندازی و استمرار سیستم مراقبت مقاومت کنه‌ها، فقدان روش‌های استاندارد تشخیص مقاومت در برابر سموم می‌باشد و این مقوله بدلیل اهمیتش توجه دولت‌ها، موسسات بین المللی و مراکز علمی را بخود معطوف کرده است، و یکی از موضوعات اساسی مورد پیگیری مرکز مطالعات مقاومت آکاریسیدی وابسته به فائو می‌باشد (۸) به منظور انتخاب روش آزمایشگاهی مناسب، حساسیت روش جهت شناسایی مقاومت، قابلیت انجام آزمایش برای کلیه گروه‌های شیمیائی مورد استفاده و ارزان بودن روش، مورد توجه می‌باشد.

آزمایش غوطه وری لارو (Shaw Larval Immersion Test) یک روش سنجش زیستی لارو می‌باشد که توسط Shaw به شکل وسیع در تحقیقات ارزیابی مقاومت استفاده گردیده است. اما اکنون ثابت گردیده است که این روش نمی تواند در بررسی مقاومت بر علیه فلوازورون قابل استفاده باشد (۲۰) سازمان خواروبار جهانی از سال ۱۹۷۵ آزمایش پاکتی لاروها (Larval Packet Test) را به منظور مطالعات صحرائی تعیین مقاومت کنه‌ها در برابر سموم خصوصاً سموم ارگانوفسفره و پایرو

جدول ۴- محاسبه LC_{۹۹} و LC_{۵۰} بر حسب غلظت سم دیازینون بر علیه کنه بوفیلوس در جدول پروبیت

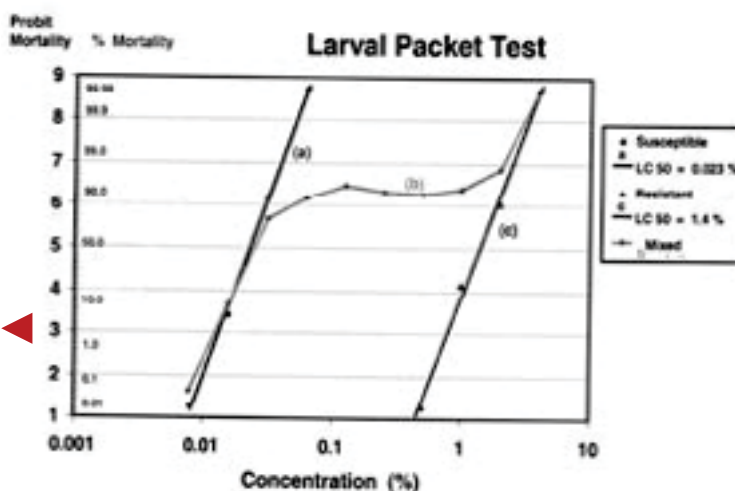
سطح اطمینان ۹۵٪		غلظت آزمایش	درصد تلفات
حداکثر	حداقل		
۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۱
۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۵
۰/۰۰۲	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۱۰
۰/۰۰۲	۰/۰۰۱	۰/۰۰۲	۱۵
۰/۰۰۳	۰/۰۰۳	۰/۰۰۳	۵۰
۰/۰۰۶	۰/۰۰۵	۰/۰۰۵	۸۵
۰/۰۰۷	۰/۰۰۵	۰/۰۰۶	۹۰
۰/۰۰۹	۰/۰۰۶	۰/۰۰۷	۹۵
۰/۰۱۴	۰/۰۰۹	۰/۰۱۰	۹۹

جدول ۵- تطبیق غلظت آزمایشات با نتایج پروبیت در مورد سم دیازینون

منطقه / غلظت	LC _{۵۰} (پروبیت)	معادل در آزمایش	LC _{۹۹} (پروبیت)	معادل در آزمایش
گیلان و مازندران	۰/۰۰۳	(۰/۰۰۵)۱:۳۲۰	۰/۰۱۰	(۰/۰۱)۱:۱۶۰

روالی نیز در مطالعه Luguru و همکاران در سال ۱۹۸۴ در آزمایش پاکتی لاروها و همچنین مطالعه Mathewson و Baker در سال ۱۹۷۵ با استفاده از آزمایش غوطه‌وری لاروها (روش شاو) صورت پذیرفته است (۱۱، ۱۲) بر این اساس می‌توان بیان نمود که در این مطالعه کمترین میزان غلظتی از سم دیازینون که بتواند ۵۰٪ نوزادان کنه *B. annulatus* را تلف نماید برابر ۰/۰۰۳ و غلظتی از سم که ۹۹٪ لاروها را تلف می‌نماید برابر با ۰/۰۱۰ بوده و این غلظت‌ها معادل ۱:۳۲۰ و ۱:۱۶۰ غلظت توصیه شده سم دیازینون می‌باشد. ولی با توجه به شیب خط رگرسیون و اختلاف معنی‌دار مربع کای محاسبه شده و استاندارد که مبین تنوع ژنتیکی در جمعیت کنه‌های تحت مطالعه می‌باشد. به علت عدم امکان دسترسی به گونه حساس استاندارد، تفسیر ارائه شده حاصل از این تحقیق را می‌توان به عنوان اطلاعات پایه برای انجام آزمایشات و مطالعات بعدی منظور نمود.

روش بررسی مقاومت، مقایسه میزان مرگ و میر دو گونه حساس آزمایشگاهی و گونه وحشی تهیه شده از مزرعه در برابر غلظت‌های مختلف سموم و یا مقایسه غلظتی از سم که ۵۰٪ لاروها را در این دو گونه تلف نماید می‌باشد و در کشور ما که گونه حساس و استاندارد وجود نداشت لاجرم نمی‌توان میزان حساسیت و یا عامل مقاومت را در این مطالعه محاسبه نمود لیکن با راه‌اندازی این روش راه برای انجام آزمایشات ارزیابی مقاومت گونه‌های کنه در برابر سموم در مناطق مختلف هموار گردیده است. چنین



نمودار شماره ۱: چگونگی خط رگرسیون در ارتباط با مقاومت

Ent. Obozr., 55(2); 467-479.

10- Hoogstraal, H .1980; (Ixodidea) from wild sheep and goats in Iran and medical and veterinary implications. Fieiana Zoology,12: 1-16

11- Luguru,S.M, Banda,D.S., and Pegram,R.G.1984; Suceptibility of tick to acaracide in Zambia. Animal Hith.Prod.16,21-26.

12- Mathewson, Mdand Baker, J.A.F.1975; Arsenic resistance in species of multi – host ticks in the Republick of South Africa and swasiland, Afr.Vet. Ass.46(4) 341-344.

13- Mathewson, MD, Blackman,G.G and Hirst ,R.G.1980; Tick rearing in rabbit, Veterinary record 107, 491.

14- Mazloom, Z. .1971; Ticks of domestic animalsin Iran: Geographic distribution,host relation and seasonal activity.J.Vet Fac., Univ.Tehran,Iran,27:1-31.

15- Nari, A. and Hansen, J.w. .1999a; Animal production and Health Division, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Viale delle di Caracalla-00100 Rome, Italia.

16- Nari, A.,and Hansen, J.w. .1999b; Resistance of ecto- and endo-parasites: Current and future solutions, 67th General Session. International Committee. OIE. Paris. 17-21May.

17- Rafyi, A., Maghami, G. .1965; Etat actuel de nos connaissances sur les Argasidae de L, Iran. Arch.Inst.Razi, 17:1-16

18- Rahbari,S.1995; Studies on some ecological aspects of tick fauna of West Azarbajejan,Iran. J.Appl.Anim.Res.7: 189-194.

19- Rummond,R.O.,Ernst, S.E., Trevino,J.L, Gladny, W.J., Graham,O.H. .1973; *Boophilus annulatus* and *Boophilus micropolus*: Laboratory test insecticide. J.Econ. Entomol.66: 130-133.

20- Show, R.D.1996; Culture of an organophorous resistant strain of *Boophilus micropolus*. Bull.Ent. Res,56:907-914.

سپاسگزاری

از اداره کل دارو و مواد بیولوژیک سازمان دامپزشکی کشور و همچنین معاونت پژوهشی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران به دلیل همکاری در انجام این تحقیق، تشکر می‌شود.

پاورقی

1- LPT: Larval Packet Test

منابع مورد استفاده

1- Abbasian,L. 1961; Records of tick(Acarina: Ixodidae) occurring in Iran and their distributional data. Acarologia, 3: 546-559

2- Baltazard,M., Bahmanyar, M et Mofidi,CH, .1950; *Ornithodoros erraticus* et fievres recurrentes. Bull. Soc. Path. Exot.43: 595- 601

3- Baltazard,M., Bahmanyar, M et Mofidi,CH,1952; Sur les infections-A spirochetes transmises par les Ornithodoros en Iran, Ann.Parasit.27: 311-329

4- Delpi,L.1947; *Ornithodoros tholozani* persepoliensis (Var.N) Bull.Soc.Path.Exo.40

5- Delpi and Rafyi A.1939; Sur la fievre recurente sporadique en Iran contribution a letude experimentale do spirocheta persica. Ann. Parasit. 17: 45-62

6- de Castro, JJ.1997;Sustainable tick and tickborne disease control in livestock improvement in developing countries,Vet.Parasitol.71: 77-97

7- FAO .1977; Acaricide resistance test kit instruction for use , Rom , FAO

8-FAO 2002; Guidlines for resistance management and integrated parasite control in ruminants.

9- Filipova,N.A., Neronov, V.M., and Farhang-Azad, .1976;Data on the ixodid fauna (Acarina, Ixodidae) of small mammals in Iran.

