DOI: 10.22092/VJ.2022.358543.1969
شماره ۱۳۹ تابستان ۱۴۰۲
تحقیقات دامپزشکی و فرآورده های بیولوژیک

اثر ضد کنه‌ای عصاره‌های آبی، آبی الکلی و الکلی برگ گیاه گز رخ (مورینگا اولیفرا) روی تخم و لارو کنه هیالوما آناتولیکم آناتولیکم به روش غوطه وری

• علیرضا البرزی
گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
• سارا لرکی (نویسنده مسئول)
گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
• جواد جمشیدیان قلعه‌سفیدی
گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
• هدی خداداد
گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
تاریخ دریافت: ۱۴۰۱-۰۲-۱۲ تاریخ پذیرش:۱۴۰۱-۰۴-۲۶
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱-۰۴-۱۶ تاریخ انتشار:۱۴۰۲-۰۴-۱
Email: s.larki@scu.ac.ir

چکیده

امروزه یکی از مهمترین چالش های مبارزه و کنترل جمعیت کنه ای در صنایع دامپروری و کشاورزی، افزایش مقاومت دارویی در کنه‌ها و اثرات مخرب زیست محیطی ترکیبات شیمیایی ساختگی می باشد. در این مطالعه به بررسی اثرات تخم کشی و نوزاد کشی کنه هیالوما آناتولیکم آناتولیکم در مواجهه با عصاره های مختلف گیاه گز رخ (مورینگا اولیفرا) پرداخته شده است. پس از تهیه برگ گیاه، عصاره‌های آبی، آبی الکلی و الکلی به روش پرکولاسیون استخراج گردید. سپس اجزاي اصلی ترکیبات موجود در عصاره های گیاهی توسط دستگاه کروماتوگراف گازی (GC) شناسایی شد. تخم های استحصال شده از کنه های ماده در مجاورت رقت های مختلف عصاره (۲/۵ ، ۵ ، ۱۰ و ۲۰ درصد) غوطه ور شدند و در انکوباتور به مدت ۱۰ روز نگهداری و تخم‌های باز شده در گروه های آزمایش و کنترل شمارش گردید. همچنین نوزادان ۱۴ روزه کنه پس از غوطه وری در رقت های مختلف عصاره جهت بررسی زنده مانی نوزادان شمارش و درصد واقعی مرگ و میر محاسبه گردید. نتایج نشان داد که عصاره‌های آبی- الکلی و الکلی برگ گیاه موجب کاهش میزان باز شدن تخم ها و همچنین کاهش تعداد نوزادان کنه ای در مقایسه با عصاره آبی شدند. مهمترین ترکیبات شناسایی شده؛ ۳۲/۴۵ ٪ لیمونن، ۴۹/۷۸ ٪ بتا-بوربونن، ۲۵/۵۷ ٪ ترپینولن، ۲۱/۹۹ ٪ دلتا-تری-کارن و ۵۸/۳۸ ٪ کلوون بودند که به ترتیب در عصاره آبی الکلی هیدروالکلی برگ گیاه بیشتر از عصاره های الکلی و آبی بود. بنابراین برگ مورینگا اولیفرا دارای ترکیباتی است که میتوانند موثر فعالی جهت کاهش جمعیت کنه ای هیالوما آناتولیکم موثر می باشند.

کلمات کلیدی: مورینگا اولیفرا، هیالوما آناتولیکم ، ترکیبات ضد کنه

● Veterinary Researches & Biological Products No 139 pp: 22-31

Anti-tick effect of aqueous, aqueous-alcoholic and alcoholic extracts of *Moringa olifera* on hatching eggs process and the growth of *Hyalomma anatolicum anatolicum* larvae by Immersion test method

By: Alborzi, A., Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran. Larki, S., (Corresponding Author) Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran. Jamshidian Ghale Sefidi, J., Department of Basic sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran. and Khodadad, H., Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.

Received:2022-05-02 **Accepted:2022-07-17**
Revised: 2022-07-07 **Published: 2023-07-22**

Email: s.larki@scu.ac.ir

Background:These days one of the most significant challenges to the control and prevention of tick population in the livestock and agricultural industries is increased drug resistance in ticks and the destructive environmental effects of synthetic chemical compounds.

In this study, the effects of ovicidal and larvicidal of *Hyaloma anatolicum anatolicum* mite in exposure to different extracts of *Moringa oleifera* plant have been investigated. Aqueous, alcoholic and hydro-alcoholic extracts were prepared from *M. Oleifera* leaves according to Percolation method. Thence, the main components of the plant extracts were identified and analyzed by the gas chromatography (GC) method. The collected eggs from female ticks were immersed in the proximity of different dilutions of the extract (2.5, 5, 10 and 20%) and kept in the incubator for 10 days and the hatched eggs were counted in the experimental and control groups. Also, 14-dainfant ticks, after immersion in different dilutions of the extract, were counted to check the survival of the infant ticks and the actual mortality rate was calculated.

The results showed that hydro-alcoholic and alcoholic extracts of the leaves reduced the hatching rate of tick eggs as well as larval survival compared to aqueous extract. The most important compounds identified by GC were Limonene (32.45%), beta-Bourbonene (49.78%), Terpinolene (25.57), delta-3-Carene (21.99%) and Clovene (58.38%) which were higher in the hydroalcoholic extracts than in alcoholic and aqueous extractsrespectively.

Conclusion: Therefore, *M. oleifera* leaves contain compounds which can be effective in reducing the population of *Hyalomma anatolicum* ticks.

Key words:*Moringa oleifera* , *Hyalomma anatolicum anatolicum*, Anti-tick compounds

مقدمه

هیالوما یکی از جنس‌های مهم کنه های سخت خانواده اگزودیده است که دارای دامنه وسیع میزبانی و توزیع گسترده جغرافیایی در آفریقا، اروپای جنوبی و آسیا می‌باشد (۲۲). مهم‌ترین گونه آن هیالوما آناتولیکم آناتولیکم از فراوان‌ترین کنه‌ها در این خانواده آسیب‌های فراوانی به صنعت کشاورزی و دامپروری کشور وارد می‌کند. با توجه به سابقه حدود ۸۰ سال مطالعه کنه‌ها در ایران و نقش کنه‌ها در انتقال عوامل بیماری‌زا به انسان و دام و خسارات اقتصادی آن‌ها، مبارزه برای به حداقل رساندن آسیب‌های ناشی از این انگل‌های خارجی اجباری دوزیستان، پرندگان، خزندگان و پستانداران امری ضروری به نظر می‌رسد. اساس کنترل و پیشگیری از کنه گزیدگی عمدتا استفاده از حشره‌کش‌های شیمیایی می‌باشد. استفاده گسترده و مکرر از این کنه‌کش‌ها منجر به مقاومت و اثرات نامطلوب بر روی موجودات غیرهدف شده و نگرانی‌های جدی برای سلامت انسان محسوب می‌شود (۱۲). به گونه‌ای که درجات متفاوتی از مقاومت گونه‌های مختلف هیالوما نسبت به سموم سایپرمترین، گاماسای هالوترین، مالاتیون، پروپکسور و دیلدرین در مناطق مختلف کشور دیده شده است (۴، ۳). بدین منظور بکار گرفتن استراتژی‌های کنترل جایگزین بخصوص بر پایه گیاهان طبیعی می‌تواند تا حدودی موجب کاهش این آسیب‌های ناخواسته شود (۱۴). گزارشات بسیاری به فعالیت کنه‌کشی عصاره‌های خام گیاهان مختلف مانند کرچک هندی(کروتون)، کرچک، عصاره اتری راش هندی (۲)، عصاره برگ فلفل پروئی (۵)، عصاره برگ تفروزیا ووژلی (۱۱) و قشطه صدفی (۲۶) برعلیه کنه‌ها پرداخته‌اند که از

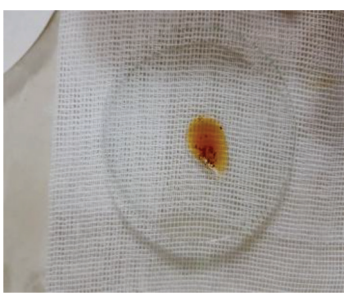
طریق مکانیسم‌های مختلف مانند کشتن کنه‌های بالغ، کاهش تغذیه، مهار تخم‌گشایی، پوست‌اندازی، باروری و زنده‌مانی تخم‌های کنه‌ای منجر به کاهش جمعیت کنه‌ها شده‌اند. بطوریکه عصاره گیاهان ارس، گل مینای صخره زی و همچنین صمغ آنقوزه بر نوزاد کنه هیالوما مارژیناتوم دارای اثرات ضدکنه‌ای خوبی بود که از آن‌ها می‌توان در کنترل بیولوژیک کنه‌ها استفاده کرد (۱۵). همچنین این اثرات کنه‌کشی در عصاره‌های گیاهی کانسولیدا اورینتالیس و آدونیس ورنالیس بر میزان تخم‌گشایی و زنده‌مانی نوزاد کنه هیالوما آناتولیکم نیز دیده شد که موجب عدم باز شدن تخم و تلف شدن نوزادان کنه‌ها شده بود (۲۳). مطالعات نشان می‌دهد که روغن چریش تلخ (۱)، عصاره اتانولی آرتمیسیا آبسینتیوم (۶) بر مراحل تخم، نوزادی و بالغ هیالوما آناتولیکم و عصاره اتانولی برگ زعفران پاییزی (۱۸) بر کنه بالغ گونه‌های هیالوما اثرات ممانعت کنندگی قابل توجهی دارد. مطالعات مختلف نشان داده است که حدود ۳۵۶ گونه از گیاهان متعلق به ۱۰۵ خانواده در برابر ۳۱ گونه کنه در سراسر جهان مورد ارزیابی قرار گرفته‌اند (۱۳).

درخت مورینگا اولیفرا (خانواده مورینگاسیه)، بومی کشور هندوستان و در کشورهای گرمسیری و نیمه گرمسیری جهان بخصوص جنوب ایران رشد می‌کند و از تمام قسمت‌های درخت برای اهداف مختلف در زمینه سلامت انسان و دام و همچنین طب سنتی استفاده می‌شود. با توجه به اثرات ضدمیکروبی گیاه در درمان بیماری های مختلف هدف از مطالعه حاضر بررسی اثرات عصاره‌های آبی، آبی الکلی و الکلی برگ گیاه گز رخ (مورینگا اولیفرا) روی تخم و لارو کنه هیالوما آناتولیکم آناتولیکم به روش غوطه‌وری در غلظت‌های مختلف می‌باشد، زیرا چنین تاثیراتی می‌تواند به عنوان یک ترکیب ضدکنه‌ای در برنامه‌های مدیریتی تلفیقی کنه‌های هیالوما آناتولیکم استفاده گردد.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری و استخراج عصاره‌های آبی، آبی الکلی و الکلی برگ گیاه گز رخ (مورینگا اولیفرا)

گیاه گز رخ (مورینگا اولیفرا) از شرکت سبزرویان در شهرستان دزفول واقع در استان خوزستان (ایران) در پاییز ۲۰۱۹ خریداری شد. پس از تایید گونه گیاه در آزمایشگاه گیاه‌شناسی دانشگاه ارومیه، برگ‌های گیاه پودر شده بر اساس روش پرکولاسیون عصاره‌های آبی، آبی-الکلی والکلی



شکل ۱- غوطه‌وری تخم‌ها در عصاره های برگ مورینگا اولیفرا

استخراج گردید. در این روش بطور خلاصه، از اتانول ۷۰٪ در دستگاه پرکولاتور (مدل ۱۰Lit ، شرکت فناوران بایامد، ایران) جهت جداسازی مایعات بر اساس چگالی‌شان استفاده گردید. جهت تهیه رقّت‌های ۲/۵، ۵، ۱۰ و ۲۰ درصد عصاره‌های آبی، آبی الکلی و الکلی برگ گیاه مورینگا اولیفرا از آب مقطر به عنوان حلال استفاده گردید.

آنالیز ترکیبات تشکیل‌دهنده عصاره‌های گیاهی توسط دستگاه کروماتوگراف گازي (Gas-Chromatography)

در این مطالعه جهت شناسایی ترکیبات تشکیل‌دهنده عصاره‌های برگ مورینگا اولیفرا از دستگاه کروماتوگرافی گازی (Varian-CP ۳۸۰۰) مجهز به آشکارساز یونش شعله‌ای (FID) و ستون موئینه از نوع (SP-Sil ۱۸۰) با ضخامت فیلم فاز ثابت ۰/۱ – ۱/۰ میکرومتر، طول ستون ۶۰ متر و محدوده دمایی ۳۸۰-۳۵ درجه سانتی‌گراد استفاده شد. سپس کروماتوگرام‌هاي مربوط به دست آمد و منوترپن‌های موجود در نمونه با مقایسه زمان بازداری آن‌ها در برابر استانداردهای منوترپنی شناسایی شدند.

جمع‌آوری و پرورش کنه‌ها

تعداد ۳۰۰ کنه سخت از گاو، گوسفند و بز مناطق مختلف استان خوزستان شامل؛ کشتارگاه صنعتی اهواز، منطقه دارخوین، روستاهای شیبان، غیزانیه و ام‌الطمیر، به مدت چهارده ماه (از فروردین سال ۱۳۹۷ تا خرداد ۱۳۹۸) به روش تصادفی ساده و با رعایت اصول ایمنی جمع‌آوری گردید. در تمام مناطق نمونه‌گیری شده دامداران برای تغذیه گاوها از چراگاه‌ها و مراتع طبیعی استفاده می‌کردند و به منظور کنترل کنه نیز از کنه‌کش‌ها به طور نامنظم استفاده شده بود. جهت جداسازی کنه‌ها، یک پنبه آغشته به الکل به مدت چند دقیقه و به آرامی روی ناحیه حضور کنه سخت ماده‌ای که کاملا خونخواری کرده بود، کشیده شد سپس با استفاده از پنس متوسط نوک خمیده و ظریف کنه‌ها با احتیاط و با زاویه ۴۵ درجه (به منظور جلوگیری از کنده شدن ضمائم دهانی) بیرون کشیده شدند و در ظروف پلاستیکی که در درب آن‌ها سوراخ‌های ریزی ایجاد شده بود قرار گرفتند. پس از پایان نمونه‌گیری کنه‌ها بلافاصله به آزمایشگاه انگل‌شناسی دانشگاه شهید چمران اهواز انتقال یافتند. سپس جنس و گونه کنه‌ها با استفاده از کلیدهای تشخیص(۱۰) مشخص گردید و کنه‌های ماده هیالوما آناتولیکم جداسازی شدند. بطور خلاصه، کنه‌ها بر اساس سوراخ تناسلی و ضمائم دهانی‌شان شناسایی شدند که باتوجه به وجود کوکسای یک، دو و سوم در بخش شکمی و فستون در سطح پشتی کنه‌ها صورت گرفت. در هیالوما آناتولیکم نر وجود کوکسای دو، سه و چهارم، سپر جانبی، مخرج، سپرهای آدنال، شیار مخرجی و سپرهای زیر مخرجی در سطح شکمی مشهود بود.

به منظور پرورش کنه ابتدا کنه‌های ماده خون خورده پس از شستشو با آب و خشک کردن با دستمال کاغذی، به منظور از بین بردن اجرام و ضد عفونی، هریک از آن‌ها درون پلیت‌های حاوی الکل ۷۰ ٪ به مدت یک دقیقه قرار داده شدند و مجددا با آب شسته و خشک شدند. سپس به منظور تخم‌گذاری، هر کنه در یک لوله آزمایش مجزا با ثبت مشخصات و در انکوباتور با دمای ۲۷ تا ۲۸ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۷۵ تا ۸۵٪ و به

مدت ۷ تا ۱۰ روز قرار گرفتند. پس از تخم‌گذاری کنه‌ها، تعداد مورد نیاز از تخم‌ها در تعدادی لوله آزمایش به مدت ۱۲ تا ۱۴ روز در انکوباتور با دمای ۲۷ تا ۲۸ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۷۵ تا ۸۵٪ قرار گرفت تا تعداد مناسب نوزاد برای مطالعه فراهم گردد (۳).

آزمایش غوطه وری تخم‌ها (Egg Immersion Test) (EIT)

تخم‌های کنه با رعایت اصول ایمنی و شرایط مطلوب دما و رطوبت در دسته‌های صدتایی شمارش و با قلم مو روی شیشه ساعت قرار گرفتند. برای هرکدام از رقت‌ها ۳۰۰ تخم در سه دسته ۱۰۰ تایی جدا شد. سپس تخم‌های استحصال شده از کنه‌های ماده بطور جداگانه در مجاورت هریک از رقت های مورد آزمایش عصاره‌های آبی، آبی الکلی و الکلی برگ گیاه به مدت ۵ دقیقه غوطه‌ور گردید (۸). پس از گذشت مدت زمان ذکر شده به کمک کاغذ صافی، عصاره اضافی جمع‌آوری و تا حد امکان عصاره اطراف تخم‌ها کاملا خشک گردید، سپس به کمک قلم مو تخم‌های تیمار شده به کاغذ صافی دیگری جهت اطمینان از فرآیند خشک شدن منتقل گردید. سرانجام هر دسته ۱۰۰ تایی از تخم‌های تیمار شده به درون یک لوله آزمایش برچسب زده شده با مشخصات کامل آزمایش انتقال و سر لوله به کمک پنبه به نحوی که رطوبت و اکسیژن کافی به درون لوله تبادل داشته باشد، مسدود و در انکوباتور با دمای ۲۷ تا ۲۸ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۷۵ تا ۸۵٪ قرار داده شد. برای هر رقّت یک گروه کنترل ۱۰۰ عدد تخم تحت تیمار حلال فاقد عصاره (آب مقطر) در نظر گرفته شد. پس از گذشت ۱۰ تا ۱۴ روز وضعیت تخم‌های باز شده و تعداد نوزادان زنده بطور جداگانه بررسی و شمارش گردید. سپس نتایج هر گروه بطور مستقل با گروه کنترل مقایسه و نتایج بدست آمده ثبت گردید. آزمایش غوطه‌وری تخم کنه برای هریک از عصاره‌های آبی، آبی الکلی و الکلی برگ گیاه مورینگا اولیفرا بطور جداگانه انجام گرفت (شکل ۱).

آزمایش غوطه‌وری نوزادها (Larva Immersion Test) (LIT)

این روش بر اساس دستورالعمل سازمان خواروبار و کشاورزی با اندکی اصلاحات انجام گرفت، در این روش ابتدا نوزادان ۱۴ روزه کنه به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد یخچال به منظور کاهش تحرک آنها، قرار داده شدند. سپس برای هر رقّت از عصاره‌های آبی، آبی-الکلی و الکلی برگ گیاه، تعداد ۱۰۰ نوزاد با رعایت نکات ایمنی و در شرایط کاملاً حفاظت شده توسط قلم مو بر روی شیشه ساعت انتقال داده شدند. در ادامه به هریک از دسته‌های صدتایی نوزادان زنده رقت‌های مختلف عصاره‌های گیاهی (۲/۵، ۵، ۱۰ و ۲۰ درصد) افزوده شد و اجازه داده شد که به مدت ۲ دقیقه کاملاً در محلول‌های عصاره غوطه‌ور بمانند. پس از آن، نوزادها به‌وسیله قلم مو به روی کاغذ صافی انتقال داده شد تا بخوبی خشک گردند. سپس هر دسته صدتایی نوزاد تیمار شده با عصاره بر روی

جدول ۱- تاثیر عصاره آبی برگ مورینگا اولیفرا بر تخم‌های کنه هیالوما آناتولیکم آناتولیکم.

ردیف	غلظت عصاره	تعداد تخم	تخم های هچ نشده		٪ واقعی مرگ و میر	٪ میانگین واقعی مرگ و میر± خطای معیار
			آزمایش	کنترل		
۱	۲/۵	۱۰۰	۶	۴	۲/۱	[b] ۰/۶۱± ۱/۰۷
۲	۲/۵	۱۰۰	۵	۴	۱/۱	
۳	۲/۵	۱۰۰	۴	۴	۰	
۴	۵	۱۰۰	۸	۴	۴/۱	[b] ۹/۴۳± ۴/۵۹
۵	۵	۱۰۰	۲۱	۴	۱۷/۷	
۶	۵	۱۰۰	۱۱	۴	۷/۲	
۷	۱۰	۱۰۰	۱۰	۴	۶/۲	[b] ۱۳/۱۳± ۷/
۸	۱۰	۱۰۰	۲۵	۴	۲۱/۸	
۹	۱۰	۱۰۰	۱۵	۴	۱۱/۴	
۱۰	۲۰	۱۰۰	۲۵	۴	۲۱/۸	[a] ۳۷/۴± ۴/۶۸
۱۱	۲۰	۱۰۰	۵۰	۴	۴۷/۹	
۱۲	۲۰	۱۰۰	۴۵	۴	۴۲/۷	

تفاوت حروف در هر ستون نشانه اختلاف معنی‌دار با $P<0/05$ می‌باشد.

کاغذ صافی دیگری قرار داده و پس از تا کردن کاغذ به لوله فالکون انتقال و در انکوباتور با دمای ۲۷ تا ۲۸ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۷۵ تا ۸۵٪ به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفتند. برای هر رقّت یک گروه کنترل با ۱۰۰ عدد نوزاد که با حلال فاقد عصاره (آب مقطر) غوطه‌ور شده بودند در نظر گرفته شد. هر رقت مورد آزمایش حداقل با سه تکرار انجام شد. پس از گذشت مدت انکوباسیون، کاغذهای حاوی نوزادان از لوله فالکون خارج و باز شده و تعداد نوزادهای زنده و مرده در دو گروه آزمون و کنترل با استفاده از استریومیکروسکوپ و با توجه به حرکت آنها شمارش و نتایج ثبت گردید.

بررسی آماری

تعیین درصد میزان واقعی مرگ و میر (روند تصحیح نتایج) با استفاده از فرمول آبوت انجام و نتایج به دست آمده در رقت‌های مختلف برای هر دو آزمایش غوطه وری تخم‌ها (EIT) و نوزادها (LIT) با گروه کنترل هر یک از عصاره‌های آبی، آبی-الکلی و الکلی به صورت جداگانه بررسی و مورد مقایسه قرار گرفت. فرمول آبوت تاثیر همزمان پارامترهایی از قبیل مرگ و میر و عدم توانایی تخم‌های سالم در تبدیل شدن به لارو را دربر می‌گیرد.

[۱۰۰ × [(٪ مرگ و میر کنترل – ۱۰۰)/ (٪ مرگ و میر تست - ٪ مرگ و میر کنترل)] = درصد واقعی مرگ و میر

سپس تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه‌ی ۱۶ با آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون تکمیلی LSD صورت گرفت. نتایج بر حسب میانگین ± خطای معیار بیان شده و سطح معنی‌داری آزمون‌ها، $P<0/05$ در نظر گرفته شد.

نتایج

در این مطالعه به بررسی تاثیر هر یک از عصاره‌های آبی، آبی-الکلی و الکلی به صورت جداگانه در غلظت‌های ۲/۵، ۵، ۱۰ و ۲۰ درصد برگ گیاه مورینگا اولیفرا (گز رخ) بر روی مراحل تخم و نوزاد کنه هیالوما آناتولیکم آناتولیکم به روش‌های غوطه‌وری تخم (EIT) و نوزاد (LIT) پرداخته شد. نتایج حاصل از آزمایش غوطه‌وری تخم هریک از عصاره‌های برگ گیاه در غلظت‌های مختلف بدین صورت ارائه شد. عصاره آبی برگ گیاه

جدول ۲- تاثیر عصاره آبی-الکلی برگ مورینگا اولیفرا بر تخم‌های کنه هیالوما آناتولیکم آناتولیکم .

ردیف	غلظت عصاره	تعداد تخم	تخم های هچ نشده		٪ واقعی مرگ و میر	٪ میانگین واقعی مرگ و میر± خطای معیار
			آزمایش	کنترل		
۱	۲/۵	۱۰۰	۸۰	۸	۷۸/۲	[a] ۶۸/۵±۱۲/۲۸
۲	۲/۵	۱۰۰	۸۲	۸	۸۰/۴	
۳	۲/۵	۱۰۰	۸۵	۸	۸۳/۶	
۴	۲/۵	۱۰۰	۴۰	۱۲	۳۱/۸	
۵	۵	۱۰۰	۹۱	۸	۹۰/۲	[a] ۷۷±۱۳/۵۷
۶	۵	۱۰۰	۹۰	۸	۸۹	
۷	۵	۱۰۰	۹۳	۸	۹۲/۳	
۸	۵	۱۰۰	۴۴	۱۲	۳۶/۳	
۹	۱۰	۱۰۰	۹۴	۸	۹۳/۴	[a] ۷۹±۱۴/۶
۱۰	۱۰	۱۰۰	۹۲	۸	۹۱/۳	
۱۱	۱۰	۱۰۰	۹۶	۸	۹۵/۶	
۱۲	۱۰	۱۰۰	۴۴	۱۲	۳۶/۳	
۱۳	۲۰	۱۰۰	۹۷	۸	۹۶/۷	[a] ۸۲±۱۴/۶۵
۱۴	۲۰	۱۰۰	۹۵	۸	۹۴/۵	
۱۵	۲۰	۱۰۰	۹۸	۸	۹۷/۸	
۱۶	۲۰	۱۰۰	۴۶	۱۲	۳۸/۶	

تفاوت حروف در هر ستون نشانه اختلاف معنی‌دار با $P<0/05$ می‌باشد.

با یک روند وابسته به دوز می‌تواند از هچ شدن تخم‌ها ممانعت کند و از این نظر تفاوت معنی‌داری در غلظت ۲۰ ٪ با غلظت‌های پایین‌تر مورد آزمایش مشاهده گردید (P<۰/۰۵) (جدول ۱). عصاره آبی-الکلی برگ گیاه با یک روند وابسته به دوز می‌تواند از هچ شدن تخم‌ها ممانعت کند، اما عملاً تفاوت معنی‌داری بین اثر غلظت‌های مورد نظر وجود نداشت (P>۰/۰۵) (جدول ۲). همچنین عصاره الکلی برگ گیاه با یک روند وابسته به دوز می‌تواند از هچ شدن تخم‌ها ممانعت کند، اما عملاً تفاوت معنی‌داری بین اثر غلظت‌های مورد نظر این عصاره مشاهده نگردید (P>۰/۰۵) (جدول ۳). نتایج حاصل از مقایسه اثرات عصاره‌های (آبی، الکلی، آبی-الکلی) برگ روی تخم که بصورت نمودار ترسیم گردید (شکل ۲). عصاره‌های آبی- الکلی و الکلی برگ گیاه موجب کاهش میزان باز شدن تخم کنه در مقایسه با عصاره آبی گیاه شد که از نظر آماری معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). هرچند بین غلظت های مختلف عصاره های آبی-الکلی و الکلی برگ گیاه هیچگونه تفاوت معنی داری مشاهده نگردید (P>۰/۰۵).

نتایج آزمایش غوطه‌وری نوزادهای کنه (LIT) در هریک از غلظت‌های مختلف عصاره‌های برگ گیاه نشان داد که عصاره آبی برگ گیاه در غلظت‌های مختلف بر روی نوزادان کنه بی‌تأثیر بودند. در حالی‌که عصاره آبی-الکلی برگ گیاه با یک روند وابسته به دوز تا اندازه‌ای باعث مرگ نوزادان می‌شد و تفاوت معنی‌داری در غلظت‌های ۱۰ و ۲۰ درصد با غلظت‌های پایین‌تر مورد آزمایش مشاهده گردید (P<۰/۰۵). همچنین عصاره الکلی برگ گیاه فقط در غلظت ۲۰ ٪ تا اندازه‌ای باعث مرگ نوزادان شد و تفاوت معنی‌داری در این غلظت با غلظت‌های پایین‌تر مورد آزمایش مشاهده گردید (P<۰/۰۵). نتایج آماری نشان داد که بین اثر عصاره الکلی و آبی-الکلی برگ بر روی نوزادان کنه تفاوت معنی‌داری وجود داشت (P<۰/۰۵) (شکل ۳).

شناسایی مهم‌ترین ترکیبات مواد موثره با دستگاه GC

مهمترین ترکیبات مواد موثر که توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی GC انجام شد، ۲۲ ترکیب در عصاره‌های مختلف برگ مورینگا

جدول ۳- تاثیر عصاره الکلی برگ مورینگا اولیفرا بر تخم‌های کنه هیالوما آناتولیکم آناتولیکم.

ردیف	غلظت عصاره	تعداد تخم	تخم های هچ نشده		٪ واقعی مرگ و میر	٪ میانگین واقعی مرگ و میر± خطای معیار
			آزمایش	کنترل		
۱	۲/۵	۱۰۰	۷۸	۵	۷۶/۸	[a] ۶۷/۵±۱۴/۴۴
۲	۲/۵	۱۰۰	۹۰	۵	۸۹/۴	
۳	۲/۵	۱۰۰	۸۰	۵	۷۸/۹	
۴	۲/۵	۱۰۰	۳۴	۱۲	۲۵	
۵	۵	۱۰۰	۹۴	۵	۹۳/۶	[a] ۷۷/۴±۱۴/۴۸
۶	۵	۱۰۰	۹۱	۵	۹۰/۵	
۷	۵	۱۰۰	۹۲	۵	۹۱/۵	
۸	۵	۱۰۰	۴۲	۱۲	۳۴	
۹	۱۰	۱۰۰	۹۳	۵	۹۲/۶	[a] ۸۰±۱۱/۵۴
۱۰	۱۰	۱۰۰	۹۱	۵	۹۰/۵	
۱۱	۱۰	۱۰۰	۹۲	۵	۹۱/۵	
۱۲	۱۰	۱۰۰	۵۲	۱۲	۴۵/۴	
۱۳	۲۰	۱۰۰	۹۶	۵	۹۵/۷	[a] ۸۴±۱۱/۴۴
۱۴	۲۰	۱۰۰	۹۵	۵	۹۴/۷	
۱۵	۲۰	۱۰۰	۹۷	۵	۹۶/۸	
۱۶	۲۰	۱۰۰	۵۶	۱۲	۵۰	

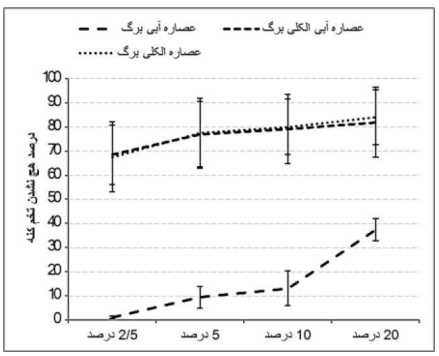
تفاوت حروف در هر ستون نشانه اختلاف معنی‌دار با P<۰/۰۵ می‌باشد.

اولیفرا شناسایی گردید، که مهم‌ترین آن‌ها عبارتند از ۶ ترکیب لیمونن (Limonene) (۳۲/۴۵ ٪)، بتا-بوربونن (Beta-Bourbonene) (۴۹/۷۸ ٪)، ترپینولن (Terpinolene) (۲۵/۵۷ ٪)، دلتا-تری-کارن (Carene-۳-Delta) (۲۱/۹۹ ٪) و کلوون (Clovene) (۵۸/۳۸ ٪) بوده که مقدار این ترکیبات در عصاره هیدروالکلی برگ گیاه به ترتیب بیشتر از عصاره‌های الکلی و آبی بوده است (شکل ۴).

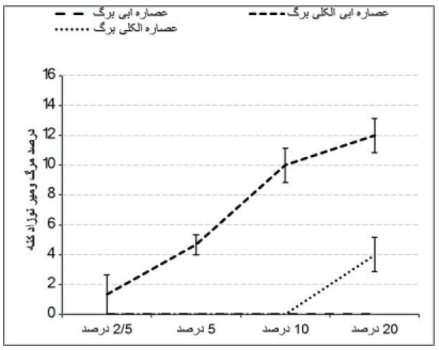
به عبارتی می‌توان بیان کرد با توجه به این که عصاره هیدروالکلی برگ داراي بیشترین درصد ترکیبات منوترپن‌های فنولی است، به همین دلیل اثرات باز نشدن تخم‌های کنه و مرگ و میر نوزادان کنه‌ای بهتری نسبت به سایر عصاره‌ها از خود نشان داد (جدول ۴).

بحث

افزایش مقاومت کنه‌ها در برابر ترکیبات شیمیایی ساختگی و هزینه‌های بالای مبارزه و کنترل جمعیت کنه‌ای، جستجو برای یافتن ترکیبات جایگزین به منظور کاهش جمعیت و جلوگیری از آسیب‌های ناشی از گزش این بندپایان انگلی را ضروری می‌سازد. در مطالعه حاضر مشاهده



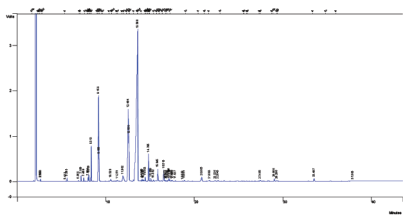
شکل ۲- مقایسه اثرات عصاره‌های مختلف برگ مورینگا اولیفرا بر تخم‌های کنه هیالوما آناتولیکم آناتولیکم.



شکل ۳- مقایسه اثرات عصاره‌های مختلف برگ مورینگا اولیفرا بر نوزادان کنه هیالوما آناتولیکم آناتولیکم.

شد که هریک از عصاره‌های آبی، آبی-الکلی و الکلی برگ گیاه مورینگا اولیفرا با یک روند وابسته به دوز می‌تواند از باز شدن تخم‌های کنه هیالوما آناتولیکم آناتولیکم و عصاره‌های آبی-الکلی و الکلی برگ این گیاه از رشد نوزادان کنه‌ای به روش غوطه‌وری جلوگیری کند. همانطور که دیده شد عصاره آبی-الکلی و الکلی به ترتیب دارای بالاترین اثر کشندگی بر نوزادان کنه بود.

مطالعه حاضر با بسیاری از مطالعات که به بررسی اثرات کنه کشی عصاره‌های گیاهی بر تخم و نوزاد کنه هیالوما آناتولیکم پرداخته بودند، همخوانی داشت. عثمان و همکاران (۲۰۱۴) با بررسی فعالیت کنه کشی عصاره‌های اتر نفتی و اتانولی خام برگ سابارا (*Guiera senegalensis*) بر تخم، نوزاد و بالغ کنه هیالوما آناتولیکم به روش غوطه‌وری، دریافتند که عصاره‌های مختلف این گیاه زنده‌مانی، تخم‌گشایی و پوست‌اندازی نوزادان کنه را مهار کرده و از تغذیه و تخم‌گذاری کنه‌های ماده زنده باقی مانده جلوگیری می‌کند (۱۹). همچنین ماهران و همکاران (۲۰۲۰) با بررسی تاثیر عصاره چریش (از تیره سنجدتلخیان) و هندوانه ابوجهل بر فرایند تخم‌گشایی و پوست‌اندازی نوزادان کنه شتر، هیالوما درومداری، به روش غوطه‌وری مشاهده کردند که عصاره متانولی این گیاهان تاثیرگذاری قابل توجهی در مقایسه با عصاره آبی دارد، همچنین اثرات کنه کشی عصاره چریش بیشتر از هندوانه ابوجهل می‌باشد (۱۶). تاثیر عصاره‌های گیاهی کانسولیدا اورینتالیس و آدونیس ورنالیس بر تخم و نوزادان کنه هیالوما آناتولیکم به روش غوطه‌وری توانست در میزان تخم‌گشایی و زنده‌مانی نوزادان کنه‌ای کاهش چشمگیری ایجاد کند (۲۳). در حالی‌که عصاره اتانولی اندام‌های هوایی آرتمیسیا آبسینتیوم در مقایسه با ترکیب شیمیایی آمیتراز بر روی کنه بالغ، تخم و نوزاد هیالوما اناتولیکم به ترتیب با استفاده از روش‌های غوطه وری بالغین و تخم‌ها و همچنین آزمون پاکتی نوزاد تاثیر معنی‌داری بر افزایش تعداد نوزدان تکامل نیافته و مرده در روند تخم‌گشایی کنه، مرگ و میر نوزادان و بالغین داشت (۶). روش غوطه‌وری را با هدف بکار بردن سمومی با ساختار طبیعی در حمام‌های ضد کنه‌ای به عنوان مهم‌ترین راه مبارزه با کنه‌ها در دام‌های اهلی می‌باشد که در صورت بلع اتفاقی سموم بکار رفته در این روش، عوارض جانبی آن بر بدن دام در مقایسه با داروهای شیمیایی به میزان قابل توجهی کاهش می‌یابد. علاوه بر این از این سموم طبیعی می‌توان در روش‌های ریختنی و اسپری روی بدن و ضدعفونی اصطبل و جایگاه‌های حیوانات آلوده به کنه‌های هیالوما استفاده کرد.



شکل ۴- ترکیبات استخراج شده عصاره هیدروالکلی برگ مورینگا اولیفرا توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC).

مطالعات مختلف این تاثیرات ضدکنه‌ای را به وجود متابولیت‌های ثانویه در عصاره‌های گیاهانی از جمله مورینگا اولیفرا که شامل ساپونین‌ها، تانن‌ها، ترپن‌ها، استروئیدها، تری ترپنوئیدها، آلکالوئیدها، ترکیبات پلی فنلی، فلاونوئیدها، کربوهیدرات‌ها، گلیکوزیدهای قلبی و آنتراکینون‌ها می‌باشند، نسبت داده‌اند (۲۵). این متابولیت‌های ثانویه بافت‌های گیاهی که به صورت پیش‌سازهای غیرفعال در گیاهان ذخیره می‌شوند و به علت خاصیت مهارکنندگی و کشندگی میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا در درمان و پیشگیری از بیماری‌های مختلف میکروبی مورد توجه می‌باشند. بررسی

جدول ۳- تاثیر عصاره الکلی برگ مورینگا اولیفرا بر تخم‌های کنه هیالوما آناتولیکم آناتولیکم.

ردیف	(فرمول مولکولی*) نام ترکیبات	عصاره هیدروالکلی		عصاره الکلی		عصاره آبی	
		RT **	Peak ٪***	RT	Peak ٪	RT	Peak ٪
۱	α-Thujene (C۱۰H۱۶)	۵/۵۴	۰/۱۵	۲/۴۲	۲/۲۰	۱/۸۱	۰/۲۷
۲	α-Pinene (C۱۰H۱۶)	۶/۸۳	۰/۰۸	۲/۴۵	۰/۲۵	۲/۳۷	۰/۹۲
۳	α-Fenchene (C۱۰H۱۶)	۷/۱۳	۱/۵۸	۲/۵۷	۰/۱۲	۲/۵۱	۰/۲۳
۴	Myrcene (C۱۰H۱۶)	۷/۴۴	۰/۴۲	۶/۸۶	۰/۰۶	۶/۷۸	۰/۰۹
۵	β-Pinene (C۱۰H۱۶)	۷/۹۳	۰/۴۹	۷/۱۶	۱/۵۳	۷/۰۸	۱/۴۳
۶	Octanone (C۸H۱۶O-۳)	۸/۰۱	۱/۱۴	۷/۴۶	۰/۱۹	۷/۳۸	۰/۵۰
۷	α-Terpinene (C۱۰H۱۶)	۸/۲۷	۱/۱۴	۷/۹۵	۰/۸۰	۷/۸۷	۰/۶۶
۸	Limonene (C۱۰H۱۶)	۹/۱۴	۳۲/۴۵	۸/۰۲	۱/۳۸	۷/۹۴	۱/۲۵
۹	Octanol (C۸H۱۸O-۳)	۱۰/۵۲	۰/۰۷	۸/۲۸	۱/۵۱	۸/۲۰	۲/۰۷
۱۰	α-Phellandrene (C۱۰H۱۶)	۱۰/۹۵	۰/۰۶	۸/۴۰	۰/۰۵	۸/۴۸	۰/۰۸
۱۱	Carene (C۱۰H۱۶-۳-δ)	۱۱/۲۳	۰/۰۷	۸/۵۶	۰/۱۰	۹/۰۲	۲۱/۹۹
۱۲	Terpinolene (C۱۰H۱۶)	۱۱/۸۸	۰/۵۳	۹/۱۳	۲۵/۵۷	۹/۰۷	۱/۳۲
۱۳	Trans-Sabinene hydrate (C۱۰H۱۸O)	۱۱/۹۸	۰/۰۸	۹/۱۷	۰/۵۳	۱۰/۴۰	۰/۲۱
۱۴	Thymol (C۱۰H۱۴O)	۱۲/۴۰	۳/۷۵	۱۰/۲۵	۰/۰۶	۱۱/۶۸	۰/۱۳
۱۵	Camphor (C۱۰H۱۶O)	۱۲/۹۷	۰/۴۷	۱۰/۴۸	۰/۱۳	۱۱/۷۵	۱/۴۸
۱۶	Carvacrol (C۱۰H۱۴O)	۱۳/۲۰	۱/۰۱	۱۰/۵۲	۰/۰۸	۱۱/۹۰	۰/۱۶
۱۷	β-Bourbonene (C۱۵H۲۴)	۱۳/۴۴	۴۹/۷۸	۱۰/۹۲	۰/۰۴	۱۱/۹۴	۰/۱۳
۱۸	Trans-Caryophyllene (C۱۵H۲۴)	۱۳/۹۰	۰/۱۰	۱۱/۲۳	۰/۰۷	۱۲/۲۹	۱/۵۴
۱۹	β-Gurjunene (C۱۵H۲۴)	۱۴/۷۴	۰/۰۴	۱۱/۷۵	۰/۱۴	۱۲/۷۹	۰/۵۰
۲۰	Aromadendrene (C۱۵H۲۴)	۱۵/۰۳	۰/۶۱	۱۱/۸۳	۰/۳۴	۱۳/۱۱	۲/۰۶
۲۱	Clovene (C۱۵H۲۴)	۱۵/۳۳	۰/۶۲	۱۱/۹۷	۰/۲۹	۱۳/۳۰	۵۸/۳۸
۲۲	α-Humulene (C۱۵H۲۴)	۱۵/۸۳	۰/۶۰	۱۲/۳۷	۱/۱۰	۱۳/۷۸	۰/۰۸

هیدروکربنه، C۱۰H۱۶ منوترپن های هیدروکربنه، C۱۰H۱۴O منوترپن‌های فنولی، C۱۰H۱۶O منوترپن‌های کتونی، C۱۰H۱۸O منوترپن‌های الکلی، C۸H۱۶O هیدروکربن‌های کتونی، C۸H۱۸O الکل‌های آلیفاتیک (چربی‌دار) و C۱۵H۲۴ سزکوئی ترپن‌ها.

**RT: Retention time،

***Peak٪: سطح زیر پیک تابعی از غلظت ترکیبات در نمونه است.

فیتوشیمیایی حاصل از کروماتوگرافی گازی این مطالعه نشان داد که برگ گیاه مورینگا اولیفرا دارای مقادیر متفاوتی ترکیبات ترپنی می‌باشد. ترپن‌ها یا ترپنوئیدها بزرگترین گروه متابولیت‌های ثانویه را در گیاهان تشکیل می‌دهند. عمده این ترپن‌ها اعمال مشخصی در رشد و نمو گیاهان بر عهده دارند. ترپن‌ها قادر هستند که به غشاي سلولی آسیب بزنند و در ساختار لیپیدهای دیواره سلولی میکروارگانیسم‌ها از جمله باکتري‌ها نفوذ یابند، بنابراین موجب دناتوره شدن پروتئین‌ها و از هم پاشیدن ساختمان سلولی و تراوش سیتوپلاسم و در نهایت مرگ سلولی می‌شوند (۲۰). در مطالعه حاضر میزان این ترکیبات موثره در عصاره هیدروالکلی بیش از سایر عصاره‌های موجود مشاهده گردید که می‌تواند بر تاثیرگذاری این عصاره بر باز نشدن تخم و کشندگی نوزادان کنه‌ای اهمیت قابل توجهی داشته باشد. پایکرا و همکاران (۲۰۱۷) طی آنالیز عصاره‌های مختلف برگ گیاه مورینگا اولیفرا مشاهده کردند که در عصاره هیدروالکلی، ترکیبات فعال و موثر گیاهی بسیار بیشتری در مقایسه با عصاره‌های آبی و یا الکلی جداسازی گردید (۲۱). مطالعات بسیاری به بررسی خاصیت ضدانگلی برگ گیاه مورینگا اولیفرا پرداخته‌اند. مولیسا و همکاران (۲۰۱۸) با مطالعه درون تنی (In-vivo) عصاره استونی برگ مورینگا اولیفرا بر موش‌های آزمایشگاهی آلوده به پلاسمودیوم برگئی دریافتند که تاثیرات ضدمالاریایی گیاه به علت وجود آلکالوئیدهای آن می‌باشد، همچنین سایر اجزای فیتوشیمیایی گیاه از جمله ترکیبات فلاونوئیدی به علت فعالیت‌های ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی آن، در بروز اثرات ضد پلاسمودیایی مورینگا اولیفرا بی تاثیر نمی‌باشد (۱۷).

همی و همکاران (۲۰۲۰) مشاهده کردند که عصاره‌های برگ مورینگا اولیفرا اثرات ضدلیشمانیایی قابل توجهی در مقایسه با آمفی تریسین B دارد. تجزیه و تحلیل HPLC گیاه نشان داد که عصاره برگ گیاه دارای ترکیبات فنولی مانند رزورسینول، لوتئولین ۷-O-گلوکوزید و سیرینگیک اسید می‌باشند که مانع رشد مراحل مختلف تکاملی لیشمانیا ماژور می‌شود (۷). علاوه بر اثرات تخم‌کشی و لاروکشی بندپایان و ضد تک یاخته‌ای برگ مورینگا اولیفرا، مشاهده شد که عصاره آبی و الکلی برگ گیاه، اثرات تخم‌کشی و لاروکشی روی کرم‌های نماتودی و ترماتودی را نیز دارا می‌باشد. تایو و همکاران (۲۰۱۴) این تاثیر ضدکرمی گیاه را به وجود ساپونین‌ها، استروئیدها، کربوهیدرات‌ها، آلکالوئیدها، تانن‌ها و فلاونوئیدها نسبت دادند که از طریق پوسته تخم یا کوتیکول نوزاد و یا انتشار در سلول‌های روده‌ای، اثر مهاری خود را اعمال می‌کند و موجب مرگ تخم و نوزادان هومونکوس کونتورتوس می‌شود (۲۴). در مطالعه‌ای در مصر نیز با اثر تخم‌کشی عصاره‌های آبی و الکلی برگ مورینگا اولیفرا بر تخم‌های فاسیولا ژیگانتیکا مشاهده گردید، که عصاره آبی و الکلی برگ گیاه دارای فعالیت تخم‌کشی قابل ملاحظه‌ای بوده به نحوی که تخم‌های فاسیولا بدون جنین نسبت به تخم‌های تکامل یافته به عصاره آبی حساس‌تر بودند (۹). هرچند برخی تفاوت‌ها در روند تخم‌کشی و نوزادکشی عصاره‌های گیاهی در مطالعات مختلف می‌تواند به علت تفاوت در ویژگی‌های ساختاری پوسته تخم و تگومنت نوزادهای کنه و بالطبع تغییر در نفوذپذیری جداره آن‌ها باشد که با نفوذ بیشتر ترکیبات گیاهی، اثر بخشی آنها نیز افزایش می‌یابد.

نتیجه‌گیری کلی

عصاره‌های برگ گیاه مورینگا اولیفرا دارای ترکیبات فیتوشیمیایی بسیار فعالی است که می‌تواند با یک روند وابسته به دوز از باز شدن تخم‌های کنه هیالوما آناتولیکم آناتولیکم و رشد نوزادان کنه‌ای به روش غوطه‌وری جلوگیری کند. با توجه به درجات متفاوت مقاومت گونه‌ای هیالوما در برابر سموم پیروتروئید و ارگانوفسفره در کشور، استفاده از روش‌های جایگزینی پیشگیری و کنترل آفات نظیر استفاده از ترکیبات گیاهی بصورت عصاره یا اسانس‌های روغنی بیش از پیش احساس می‌شود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله مراتب قدردانی خود را از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز که هزینه‌ی این تحقیق را در قالب پژوهانه از طریق هزینه کرد پایان‌نامه‌های دانشجویان (پایان‌نامه‌ی کارشناسی ارشد انگل‌شناسی دانشکده‌ی دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز) فراهم نموده‌اند، اعلام می‌دارند.

منابع مورد استفاده

1. Abdel-Shafy, S. and A. A. Zayed. 2002. In vitro acaricidal effect of plant extract of neem seed oil (Azadirachta indica) on egg, immature, and adult stages of *Hyalomma anatolicum excavatum* (Ixodoidea: Ixodidae). *Veterinary Parasitology* 106: 89-96.

2. Askale, G. 2015. In vitro efficacy of methanolic extracts of *Vernonia amygdalina, Croton macrostachyus, Ricinus communis* and petroleum ether extract of *Millettia ferruginea* against Bovicola ovis and *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *decoloratus*. MSc. Thesis. Addis Ababa University. Addis Ababa. Ethiopia.

3. Enayati, A. A., F. Asgarian, A. Amouei, M. Sharif, H. Mortazavi, H. Boujhmehrani and J. Hemingway. 2010. Pyrethroid insecticide resistance in *Rhipicephalus bursa* (Acari, Ixodidae). *Pesticide biochemistry and physiology* 97(3): 243-248.

4. Eshghi, M., M. M. Emami and M. Ahmadi. 2005. Susceptibility status of *Hyalomma* Spp. to acaricides Propoxure, malathione and Dieldrin. *Health Hygiene* 1: 11-15.

5. Feyera, T. and E. Abdisa. 2016. In vitro acaricidal activity of crude extracts of *Schinus molle* (L.) leaves against field population of *Bophilus decoloratus* and *Rhipicephalus pulchellus* ticks. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology* 10 (36): 772–777.

6. Godara, R., S. Parveen, R. Katoch, A. Yadav, M. Katoch, J. K. Khajuria, D. Kaur, A. Ganai, P. K. Verma, V. Khajuria and N. K. Singh. 2015. Acaricidal activity of ethanolic extract of *Artemisia absinthium* against *Hyalomma anatolicum* ticks. *Experimental and applied acarology* 65(1): 141–148.

7. Hammi, K. M., R. Essid, O. Tabbene, S. Elkahoui, H. Majdoub and R. Ksouri. 2020. Antileishmanial activity of *Moringa oleifera* leaf extracts and potential synergy with amphotericin B. *South Afri-*

can Journal of Botany 129: 67-73.

8. Haque, M., Jyoti, N. K. Singh and S. S. Rath. 2014. Effect of various acaricides on hatchability of eggs of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *BioMed research international* 425423.

9. Hegazi, A. G., K. N. Abdel Megeed, S. E. Hassan, M. M. Abdelaziz, N. I. Toaleb, E. E. El-Shanawany and D. Aboelsoued. 2018. Comparative ovicidal activity of *Moringa oleifera* leaf extracts on *Fasciola gigantica* eggs. *Veterinary World* 11(2): 215-220.

10. Hosseini-Chegeni, A., R. Hosseini, M. Tavakoli, Z. Telmadarraiy and M. Abdigoudarzi. 2013. The Iranian *Hyalomma* (Acari: Ixodidae) with a key to the identification of male species. *Persian Journal of Acarology* 2(3): 112-120.

11. Kalume, M. K., B. Losson, L. Angenot, M. Tits, J. N. Wauters, M. Frédérich and C. Saegerman. 2012. Rotenoid content and in vitro acaricidal activity of *Tephrosia vogelii* leaf extract on the tick *Rhipicephalus appendiculatus*. *Veterinary Parasitology* 190(1-2): 204–209.

12. Kim, H. K., J. R. Kim and Y. J. Ahn. 2004. Acaricidal activity of Cinnamaldehyde and its congeners against *Tyrophagus putrescentiae* (Acari: Acaridae). *Journal of stored products research* 40: 55-63.

13. Kumar, B., H. V. Manjunathachar and S. Ghosh. 2020. A review on *Hyalomma* species infestations on human and animals and progress on management strategies. *Heliyon* 6(12): e05675.

14. Madzimure, J., E. T. Nyahangare, H. Hamudikuwanda, T. Hove, P. C. Stevenson, S. R. Belmain and B. M. Mvumi. 2011. Acaricidal efficacy against cattle ticks and acute oral toxicity of *Lippia javanica* (Burm F.) Spreng. *Tropical animal health and production* 43(2): 481-489.

15. Mahdavian, A., R. Hossayni, A. G. Pirbalouti and R. Abdizadeh. 2014. Effect of the extract from some medicinal plants against *Hyalomma marginatum*. *Journal of Medicinal Herbs* 4(4): 157-161.

16. Mahran, M. O., A. A. Wahba and K. M. Mansour. 2020. In Vitro Acaricidal Effect Of Neem Leaves (*Azadirachta Indica*) and *Citrullus Colocynthis* Extracts against the Camel Ticks, Hyalomma *Dromedarii* (Acari:Ixodidae). *Journal of ecosystem and ecography* 10: 264.

17. Mulisa, E., B. Girma, S. Tesema, M. Yohannes, E. Zemene and W. Amelo. 2018. Evaluation of In vivo Antimalarial Activities of leaves of *Moringa oleifera* against Plasmodium berghei in Mice. *Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products* 13(1): 0-0.

18. Norouzi, R., M. Hejazy, A. Shafaghat and A. Shafaghat. 2021. Acaricidal Activity of *Colchicum autumnale* (autumn crocus) Extract against *Hyalomma* spp. In vitro. *Archives of Razi Institute* 76(2): 293-301.

19. Osman, I. M., A. S. Mohammed and A. B. Abdalla. 2014. Acaricidal properties of two extracts from *Guiera senegalensis* J.F. Gmel. (Combrataceae) against *Hyalomma anatolicum* (Acari: Ixodidae). *Veterinary parasitology* 199 (3-4): 201–205.

20. Oussalah, M., S. Caillet and M. Lacroix. 2006. Mechanism of action of *Spanish oregano*, *Chinese cinnamon*, and savory oils against cell membrane and walls of Escherichia coli O157:H7 and *Listeria monocytogenes*. *Journal of Food Protection* 69(5): 1046-1055.

21. Paikra, B. K., H. Dhongade and B. Gidwani. 2017. Phytochemistry and Pharmacology of *Moringa oleifera* Lam. *Journal of pharmacopuncture* 20(3): 194–200.

22. Sonenshine, D. E., R. Lane and W. Nicholson. 2002. Ticks (ixodida). Pp. 517–558. In: G. Mullen and L. Durden (eds.). Medical and veterinary entomology. Academic press. Orlando.

23. Tavassoli, M., M. Maham, A. Imani, J. Rostami, A. Khezri and S. H. Pourseyed. 2012. Evaluation of *Consolida orientalis* and *Adonis vernalis* Extracts on Eggs and Larval of *Hyalomma anatolicum anatolicum* and *Rhipicephalus bursa*. *Journal of Medicinal Plants* 11(41 And S8): 141-148.

24. Tayo, G., J. Poné, M. Komtangi, J. Yondo, A. Ngangout and M. Mbida. 2014. Anthelminthic Activity of *Moringa oleifera* Leaf Extracts Evaluated in Vitro on Four Developmental Stages of *Haemonchus contortus* from Goats. *American Journal of Plant Sciences* 5: 1702-1710.

25. Toma, A. and S. Deyno. 2014. Phytochemistry and pharmacological activities of *Moringa oleifera*. *International journal of pharmacognosy* 1(4): 222-231.

26. Vongkhamchanh, B., R. Paweena and B. Prapassorn. 2013. Acaricidal activities of crude extract derived from *Annona squamosa Linnaeus* leaves against cattle tick, *Rhipicephalus microplus Canestrini* (Acari: Ixodidea). *Journal of Science and Technology of Mahasarakham University* 33(2): 211–216.