

ارزیابی اثرات عصاره گیاه زالک (کراتگوس سودوملانوکارپا) در گوسفندان آلوده به کرم‌های تریکوسترونژیلید

شاهرخ رنجبر بهادری^{۱*} سعید حصارکی^۲ غلامحسین واعظی^۳ نیما فرهادی^۱ حسین جهانیان^۱ امین پور محمود^۱ محمدرضا سعیدی^۱

(۱) گروه انگل شناسی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرمسار، گرمسار - ایران.

(۲) گروه پاتوبیولوژی، دانشکده تخصصی دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران، تهران - ایران.

(۳) گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان، دامغان - ایران.

(دریافت مقاله: ۲ بهمن ماه ۱۳۸۹، پذیرش نهایی: ۲ خرداد ماه ۱۳۹۰)

چکیده

زمینه مطالعه: استفاده از گیاهان حاوی تانن بعنوان یک ترکیب جایگزین در کنترل نماتودهای دستگاه گوارش نشخوارکنندگان مطرح می‌باشد. **هدف:** هدف از بررسی حاضر، ارزیابی اثر ضدکرمی احتمالی عصاره گیاه زالک (کراتگوس سودوملانوکارپا) روی کرم‌های تریکوسترونژیلید گوسفند بود. **روش کار:** بدین منظور دو گروه هشت تایی گوسفند بطور تجربی با خوراندن ۲۰۰۰ نوزاد عفونی زای کرم‌های تریکوسترونژیلید آلوده شدند. پس از چهار هفته، عصاره گیاه زالک در ۲۰۰ میلی لیتر آب در حرارت ۲۵ درجه سانتی گراد رقیق شد و دوبار در روز برای هشت روز به یکی از دو گروه خوراند شد. در گوسفندان گروه دوم نیز بعنوان شاهد به همان حجم آب خالی تجویز گردید. سپس در روز نهم پس از اخذ نمونه مدفوع، همه گوسفندان کالبدگشایی شده و تعداد تخم دفع شده در مدفوع، تعداد کرم‌های بالغ موجود در شیردان و روده باریک، ضریب جنسیت (کرم‌های نر/ ماده) و ضریب باروری کرم‌های جدا شده در دو گروه احتساب و نتایج حاصله روش آماری t-test با یکدیگر مقایسه گردید. در ضمن نمونه‌های بافتی از نواحی پیلور، فوندوس و روده باریک تهیه و تعداد ماست سل‌ها، لکوسیت‌های گلوبول و ائوزینوفیل‌ها در مخاط شیردان شمارش گردید. **نتایج:** نتایج نشان داد که استفاده از گیاه فوق می‌تواند سبب کاهش معنی دار دفع تخم در مدفوع دام (۸۲/۵۷ درصد) و ضریب باروری کرم‌های ماده (۸۴/۸۵ درصد) گردد. همچنین بررسی آسیب‌شناسی مقاطع بافتی اخذ شده از شیردان و دوازدهه نیز نشان‌دهنده حضور فراوان ترائوزینوفیل‌ها و ماست سل‌ها در شیردان و روده باریک گوسفندان گروه شاهد نسبت به گوسفندان گروه تحت درمان با عصاره زالک بود که البته بررسی آماری انجام شده اختلاف معنی داری را در شمارش سلول‌های مذکور در این دو گروه نشان نداد. **نتیجه‌گیری نهایی:** بنابراین نتایج بدست آمده از تحقیق فوق نشان می‌دهد که استفاده از عصاره گیاه زالک که حاوی ترکیبات تانن می‌باشد، می‌تواند در کنترل نماتودهای تریکوسترونژیلید گوسفند موثر بوده و نقش بسزایی در همه گیرشناسی کرم‌های مذکور داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: تریکوسترونژیلید، زالک، کراتگوس سودوملانوکارپا، تانن، نشخوارکننده.

بررسی گردیده است (۱۰). نتایج اولیه بدست آمده در نیوزلند پیشنهاد می‌نماید که استفاده از گیاهان مذکور می‌تواند موجبات تاثیر روی زیست شناسی گونه‌های مختلف کرمی گردد و عصاره تانن را مسئول این اثرات می‌دانند (۱۹). همچنین بر اساس این بررسی‌ها استفاده از گیاهان حاوی تانن می‌تواند سبب کاهش تولید تخم توسط انگل و در نتیجه تاثیر روی همه گیرشناسی این بیماری‌ها داشته باشد. مطالعات تجربی انجام گرفته با استفاده از عصاره گیاهانی مانند پسته و خرزهره که حاوی مقادیر فراوانی از عصاره تانن می‌باشد، این حدس را تایید می‌کند (۳، ۲۰).

تانن‌ها متابولیت‌های گیاهی هستند که به نوعی مکانیسم دفاعی آن در برابر حشرات محسوب می‌گردند (۲۱) و معمولاً بر اساس ساختمان و خواص شیمیایی آنها را به دو دسته تقسیم بندی می‌کنند: ۱- محلول در آب (Hydrolysable) و ۲- متراکم (Condensed) که دومی گروه وسیعی از تانن‌های موجود در طبیعت را تشکیل داده و می‌توانند موجب اثرات وسیعی در حیوانات گردند. بطور مثال وجود عصاره فوق در جیره نشخوارکنندگان می‌تواند سبب افزایش وزن، رشد بهتر پشم، تولید بیشتر

مقدمه

آلودگی به نماتودهای دستگاه گوارش از عوامل مهم ضایعات اقتصادی در نشخوارکنندگان کوچک می‌باشند (۸) و از حدود سال ۱۹۶۰ که داروی تیاندازول به عنوان نخستین داروی وسیع الطیف کرمی جهت مبارزه با این آلودگی‌ها معرفی گردید، استفاده از ترکیبات شیمیایی به عنوان مهمترین سیاست در کنترل آنها بوده است (۲). البته در سالیان اخیر توجه فراوانی به استفاده از روش‌های جایگزین در کنترل نماتودهای گوارشی نشخوارکنندگان کوچک شده است (۱۴). در این میان استفاده از روش‌هایی نظیر واکسیناسیون، پرورش گونه‌های دامی مقاوم به انگل، کنترل زیستی نماتودها، افزودن مکمل‌های غذایی به جیره حیوانات و همچنین استفاده از گیاهان با خواص ضدکرمی از این دسته می‌باشند (۲). بنابراین با توجه به مقاومت‌های دارویی گزارش شده (۱۴) و همچنین نظر به بقایای شیمیایی موجود در تولیدات دام ناشی از مصرف داروهای شیمیایی، امکان استفاده از گیاهان حاوی تانن در مطالعات متعددی



بود. جهت تعیین درصد رطوبت عصاره بدست آمده، مقداری از آن پس از توزین (۰/۵۲ گرم) روی فویل آلومینیومی منتقل شده و در حرارت ۵۰ درجه سانتی گراد کاملاً خشک شده و مجدداً توزین گردید (۰/۴۰۵ گرم). با استفاده از مقادیر بدست آمده درصد رطوبت عصاره موجود (۲۱ درصد) تعیین گردید.

ج- آماده سازی دام: شانزده راس گوسفند نژاد سنگسری با وزن تقریبی 40 ± 5 کیلوگرم پس از درمان ضد کرمی با داروی آلبندازول به میزان $3/75$ تا 5 میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن دام به منظور پاک سازی از آلودگی احتمالی کرمی تهیه و در محلی سر بسته نگهداری شدند. لازم به ذکر است که جیره هر ۱۶ راس گوسفند یکسان و شامل مخلوطی از کنسانتره و یونجه خشک می باشد. پس از ۱۵ روز و اطمینان از عدم آلودگی انگلی دام های نگهداری شده، ایجاد آلودگی تجربی به کرم های تریکوسترون تولید در این دام ها انجام پذیرفت. برای این منظور مدفوع آلوده به تخم کرم های تریکوسترون تولید به مدت هفت روز در انکوباتور ۲۷ درجه سانتیگراد جهت کشت قرار داده شد و در نهایت در روز هشتم با استفاده از روش برمن نوزاد مرحله سوم جدا گردید. سپس به هر یک از گوسفندان، تعداد ۲۰۰۰ نوزاد عفونی را خوراندند و پس از چهار هفته نمونه مدفوع جهت تایید آلودگی اخذ و به روش کلیتون لین (۹) مورد بررسی قرار گرفت و تعداد تخم موجود در یک گرم از مدفوع دام های مذکور گزارش گردید.

د- خوراندن عصاره گیاهی: گوسفندان آلوده شده به کرم های تریکوسترون تولید به دو گروه هشت راسی تقسیم شدند. در یک گروه از دام های فوق عصاره گیاه زالزالک برای مدت هشت روز خوراندند. ۵ میلی لیتر از عصاره تهیه شده (حاوی ۳/۹۵ گرم ماده خشک) در ۲۰۰ میلی لیتر آب در حرارت ۲۵ درجه سانتیگراد رقیق و بصورت خوراکی دوبار در روز تجویز گردید. در گروه هشت راسی دیگر نیز به عنوان کنترل، تنها به همان حجم آب خالی تجویز شد.

ه- روش های انگل شناسی: در روز نهم هر دو گروه گوسفندان کالبدگشایی شده و پس از شستشوی محتویات شیردان و روده باریک، تعداد کرم های بالغ شمارش گردید. همچنین نسبت جنسیت کرم های نر/ ماده (Sex ratio) نیز تعیین گردید. سپس تعداد تخم موجود در هر گرم مدفوع دام در روز کشتار بر تعداد کرم های ماده جدا شده از دستگاه گوارش همان دام تقسیم و میزان باروری کرم (Fecundity per capita) تعیین گردید (۲۰). در نهایت نمونه های بافتی از نواحی پیلور و فوندوس تهیه و تعداد ماست سل ها، لکوسیت های گلوبول و ائوزینوفیل ها در مخاط شیردان شمارش گردید. سلول های رنگ آمیزی شده در بزرگنمایی ۴۰۰ در وسعت ۰/۲۵ میلیمتر مربع شمارش گردید و میانگین تراکم سلولی برای هر بافت و هر نوع سلول با استفاده از شمارش ده زمینه که بطور تصادفی انتخاب شده بودند، انجام گردید و نتایج بطور کلی بصورت میانگین تعداد سلول ها در میلیمتر مربع از مخاط گزارش گردید.

شیر (۵) و همچنین کاهش میزان آلودگی به انگل های گوارشی گردد (۱). بنابراین عصاره تانن می تواند بصورت یک ترکیب ضد انگلی و بصورت مستقیم بر علیه مراحل نوزادی و بالغین کرم ها اثر نماید و با بصورت غیر مستقیم روی میزبان تاثیر نماید. عبارتی تانن توانایی اتصال به پروتئین های تغذیه ای را داشته و بنابراین از هضم آنها در داخل شکمبه ممانعت نموده و سبب افزایش پروتئین موجود در روده باریک میزبان می گردند (۱۸) و افزایش پروتئین موجود سبب بروز واکنش های ایمنولوژی یک در برابر کرم های می گردند (اثر غیر مستقیم میزبانی) (۷). اخیراً نیز اثرات مستقیم ضد کرمی یک عصاره گیاهی حاوی مقادیر فراوانی از تانن روی کرم بالغ تریکوسترون ژیلوس کلوریفورمیس به اثبات رسیده است (۳).

اگرچه تحقیقاتی در مناطق مختلف دنیا در زمینه تاثیر احتمالی گیاهان حاوی عصاره تانن روی کرم های تریکوسترون تولید انجام پذیرفته است (۳، ۱۷). اما با توجه به وسعت گستردگی کرم های فوق در نواحی وسیعی از جهان به خصوص در ایران، ضرورت تحقیق حاضر جهت بررسی اثر احتمالی برخی از گیاهان دارای تانن به عنوان جایگزین جهت کنترل کرم های فوق در گوسفند احساس می شد. همچنین به نظر می رسد که گیاه زالزالک حاوی مقادیر فراوانی تانن بوده و استفاده از عصاره آن می تواند در این خصوص مفید باشد (۲۳). بنابراین هدف از تحقیق فوق، بررسی اثرات ضد کرمی مستقیم و احتمالی عصاره تانن موجود در گیاه زالزالک روی میزان دفع تخم، زنده ماندن کرم بالغ و میزان باروری تریکوسترون تولید های گوارشی در گوسفند می باشد.

مواد و روش کار

الف- جمع آوری گیاه: گیاه زالزالک مورد استفاده در تحقیق حاضر، کراتگوس سودوملانوکارپا (*Crataegus pseudomelanocarpa*) بود که درختچه ای کوچک و دارای شاخه های جوان کمی کرکدار، برگ های تخم مرغی پهن تا تخم مرغی به طول ۱/۵ تا ۳/۵ سانتیمتر و عرض ۰/۸ تا ۳/۵ سانتیمتر و دارای ۳ تا ۷ لب می باشد. لازم بذکر است که محل نمونه برداری گیاه از منطقه قازان قاپر و همچنین مناطق نسبتاً مرتفع در شمال شرقی استان گلستان انجام گرفت.

ب- تهیه عصاره گیاهی: جهت استخراج عصاره گیاهی، ابتدا برگ های گیاه جدا و در سایه خشک گردید. سپس برگ های خشک شده توسط آسیاب برقی پودر شده و در ظروف تیره نگهداری گردید. ۴۰۰ گرم از پودر برگ های خرد شده در ۱۶۰۰ میلی لیتر الکل ۸۰ درصد اتانول قرار داده شد و به مدت ۷۲ ساعت در دمای محیط (۳۰-۲۸ درجه سانتیگراد) نگهداری گردید. هر ۱۲ ساعت محتویات ظرف با همزن، کاملاً مخلوط گردید. سپس محتویات شیشه توسط کاغذ صافی واتمن و قیف بوختر صاف شد و در نهایت با استفاده از دستگاه روتاری (مدل ۴۰۰۰ ساخت آلمان) عمل عصاره گیری انجام گردید. میزان عصاره بدست آمده ۳۰ میلی لیتر



باروری کرم‌های موجود در دستگاه گوارش و در نتیجه کاهش دفع تخم در مدفوع دام آلوده گردد (جدول ۱).

بررسی آسیب‌شناسی مقاطع بافتی اخذ شده از شیردان و دوازدهه نیز نشان‌دهنده حضور فراوان ائوزینوفیل‌ها و ماست سل‌ها در گوسفندان گروه شاهد بود (تصویر ۱). بطوری که متوسط ائوزینوفیل و ماست سل در شیردان به ترتیب $1/49 \pm 9/25$ و $1/28 \pm 6/75$ سلول و در دوازدهه نیز به ترتیب $2/55 \pm 21$ سلول و $0/92 \pm 8/63$ سلول گزارش گردید. همچنین بررسی‌های بافتی انجام شده در گوسفندان گروه تحت درمان با عصاره زالزالک نیز شدت آماس کمتری را نسبت به گروه شاهد نشان داد (تصویر ۲). به طوری که متوسط تعداد ائوزینوفیل و ماست سل در شیردان دام‌های تحت درمان به ترتیب $0/10 \pm 2/88$ و $0/10 \pm 2/13$ و در دوازدهه نیز $0/92 \pm 2/38$ و $0/89 \pm 2/60$ سلول شمارش گردید. البته بررسی آماری انجام شده اختلاف معنی‌داری را در تعداد ائوزینوفیل و ماست سل‌های شمارش شده در دام‌های شاهد و تحت درمان با عصاره زالزالک نشان نداد ($p > 0/05$). لازم بذکر است که تعداد لوکوسیت‌های گلوبولار شمارش شده در هر دو گروه گوسفندان شاهد و تحت درمان نیز اختلاف محسوسی را نشان نداد ($p > 0/05$) و میانگین تعداد آنها $0/2 \pm 0/35$ سلول گزارش گردید.

بحث

عصاره تهیه شده از گیاه زالزالک (کراتگوس سودوملانوکارپا) حاوی ترکیبات مهمی شامل فلاونونوئید (کوئرکتین، ویتکسین-۴ - رامنوزید، روتین، هایپروسیدفلاون، گلیکوزیدها و اورینیتین)، اولیگوامریک پروسیانیدین، گلیکوزیدها، آنتوسیانین‌ها و پروآنتوسیانین‌ها، ساپونین، تانن، کراته ژین، ویتامین C و دیگر محتویات شیمیایی شامل آمین‌های کاردیوتونیک، کولین و استیل کولین، مشتقات پورین، آمیگدالین، پکتین، اسیدهای تری پرین می‌باشد (۲۵). در بررسی حاضر برای نخستین بار اثرات ضدکرمی گیاه مذکور روی کرم‌های تریکوسترونژیلید موجود در دستگاه گوارش گوسفند مطالعه گردید و نتایج حاصله نشان داد که تجویز عصاره گیاه فوق که حاوی مقادیر فراوانی تانن می‌باشد (۲۳) قادر است سبب کاهش معنی‌دار تعداد تخم‌های دفع شده در مدفوع حیوان آلوده و همچنین میزان باروری کرم‌های موجود در دستگاه گوارش دام گردد. البته در سایر تحقیقات انجام شده با استفاده از برخی گیاهان حاوی تانن نیز نتایجی مشابه بدست آمد. آتاناز یاد و وهمکاران در سال ۲۰۰۱ اثرات کوتاه مدت عصاره تانن حاصله از گیاه پسته را روی کرم تریکوسترونژیلوس کلور یفور میس بررسی کرده و دریافتند که عصاره مذکور موجب کاهش در تعداد کرم‌های بالغ و ضریب باروری کرم فوق می‌گردد (۳).

البته مکانیسم اثر تانن بطور کامل مشخص نمی‌باشد و احتمالاً سبب اختلال در مراحل حیاتی کرم شامل تغذیه و تولیدمثل آن می‌گردد. همچنین ممکن است که سبب از بین رفتن پیوستگی در کوتیکول

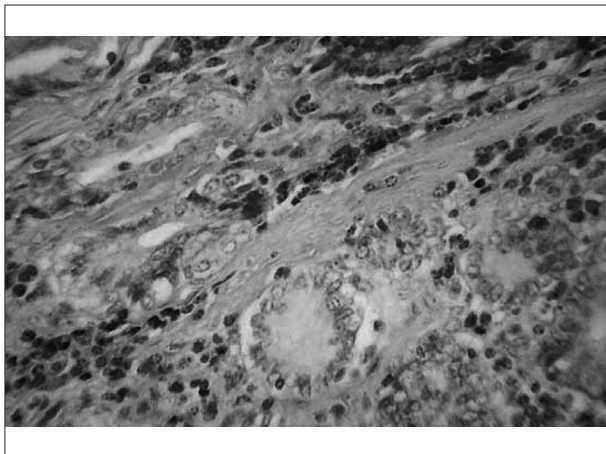
و- روش‌های آسیب‌شناسی: نمونه‌های بافتی برداشت شده از شیردان و دوازدهه بمدت ۲۴ ساعت در فرمالین ۱۰ درصد ثابت گردید و سپس با روش تهیه بولوک‌های پارافینی برش‌های بافتی آماده گردید. سپس نمونه‌های تهیه شده با استفاده از روش‌های گیمسای بافتی و هماتوکسیلین- ائوزین رنگ آمیزی و مورد بررسی قرار گرفت. رنگ آمیزی گیمسای برای شمارش ماست سل‌ها و ائوزینوفیل‌ها توسط میکروسکوپ نوری و رنگ آمیزی معمولی برای مشاهده لوکوسیت‌های گلوبولار توسط میکروسکوپ فلورسنت صورت پذیرفت. مبنای ارزیابی شدت واکنش آماسی و در نتیجه میزان آلودگی به انگل با شمارش سلول‌های ائوزینوفیل، ماست سل و لوکوسیت گلوبولار از سطوح مخاطی تا سروز شیردان و دوازدهه بصورت بدست آوردن متوسط شمارش این سلول‌ها در ۱۰ صحنه میکروسکوپی $400\times$ انجام گردید.

و- بررسی آماری: جهت بررسی آماری نتایج بدست آمده شامل میزان تخم دفع شده در مدفوع دام‌ها، تعداد کرم‌های جدا شده از شیردان و روده باریک، ضریب جنسیت (کرم‌های نر/ ماده)، ضریب باروری و سنجش‌های بافت‌شناسی انجام شده در گروه‌های تحت درمان و کنترل با استفاده از نرم افزار SPSS 10.0 و روش آماری Independent samples t-test با یکدیگر مقایسه شدند.

نتایج

قبل از آغاز به درمان گوسفندان با عصاره گیاه زالزالک تفاوت محسوسی در میزان دفع تخم انگل در مدفوع دو گروه درمانی و شاهد محسوس نبود (روز صفر) ($t=0/435$ و $sig=0/67$). اما پس از تجویز عصاره مذکور به مدت هشت روز و بررسی میزان تخم دفع شده در مدفوع اخذ شده، مشخص گردید که اختلاف بین گروه درمانی و شاهد در روز نهم معنی‌دار بوده و عبارتی میزان تخم‌های دفع شده در مدفوع گروه درمان شده با عصاره زالزالک نسبت به گروه شاهد $82/57$ درصد کاهش یافته است ($t=11/819$ و $sig=0/004$). البته مطالعات آماری اختلاف معنی‌داری را بین تعداد کل کرم‌های بالغ جدا شده از شیردان دام‌های هردو گروه درمانی و شاهد نشان نداد ($t=0/183$ و $sig=0/944$) و میانگین تعداد کرم‌های جدا شده به ترتیب در گروه درمانی و شاهد، $1655/75 \pm 421/64$ و $1616/50 \pm 437/20$ عدد گزارش گردید. در ضمن ضریب جنسیت کرم‌های جدا شده (کرم‌های نر/ ماده) نیز تعیین گردید که البته ضریب بدست آمده در گوسفندان درمان شده با عصاره زالزالک تقریباً شبیه به عدد حاصله در گوسفندان شاهد بود و بررسی آماری نیز اختلاف معنی‌داری را در این خصوص نشان نداد ($t=0/253$ و $sig=0/554$). در ضمن نتایج نشان داد که ضریب باروری تعیین شده در گروه گوسفندان درمانی با عصاره گیاهی بطور محسوسی ($84/85$ درصد) نسبت به گروه گوسفندان شاهد کاهش یافته بود ($t=7/942$ و $sig=0/10$). بنابراین نتایج حاصله نشان می‌دهد که استفاده از عصاره تانن می‌تواند سبب کاهش میزان



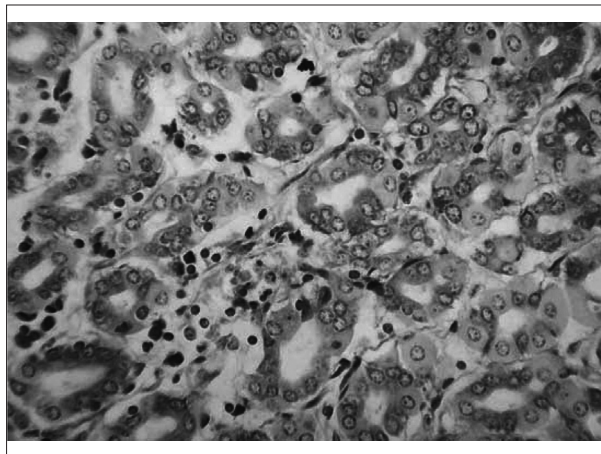


تصویر ۲- مقطع بافتی تهیه شده از دوازدهه یکی از گوسفندان درمان شده با عصاره زالزالک. همانطور که مشاهده می‌گردد ارتشاح انوزینوفیل‌ها در بافت بین غدد مخاطی بوضوح کاهش یافته است. کاهش حضور ماست سل‌ها نیز مشخص می‌باشد (رنگ آمیزی گیمسای بافتی $450\times$).

تریکوسترونز تولید تاکید داشته و معتقدند که تانن قادر است پروتئین‌های تغذیه‌ای را از مراحل تجزیه شدن در شکمبه مصون داشته و موجب افزایش در محتوای پروتئینی روده باریک گردد که امر فوق می‌تواند سبب افزایش پاسخ‌های ایمنونولوژیک در میزبان شود (۷).

همانطور که مشاهده می‌گردد نتایج حاصله از تحقیق حاضر دلالت بر کاهش معنی دار میزان دفع تخم در مدفوع گوسفندان آلوده به تریکوسترونز تولید می‌نماید. در بررسی انجام گرفته توسط پائولینی و همکاران در سال ۲۰۰۳ نیز پس از استفاده از عصاره تانن بدست آمده از گیاه پسته روی گوسفندان آلوده به کرم همونکوس کونتور توس نتایج مشابه بدست آمد و میزان تخم دفع شده در مدفوع گوسفندان تحت درمان با عصاره تانن به میزان ۶۴ درصد در مقایسه با گوسفندان شاهد کاهش یافت که این کاهش میزان دفع تخم می‌تواند نقش بسزایی در میزان آلودگی محیط پیرامون دام و در نتیجه همه گیری انگل داشته باشد (۲۰). تحقیقات نشان داد که استفاده از پلی اتیلن گلیکول به عنوان یک مهارکننده تانن می‌توان سبب افزایش میزان دفع تخم در بزهای آلوده به کرم‌های دستگاه گوارش گردد (۱۵) و تحقیق فوق تا حدود زیادی نقش تانن‌ها را در کاهش میزان دفع تخم اثبات می‌نماید. امر فوق می‌تواند در اثر دو عامل ایجاد گردد: ۱) کم شدن جمعیت کرم‌های بالغ. ۲) کاهش در میزان باروری کرم‌های ماده.

البته نتایج حاصله اختلاف معنی داری را در جمعیت کرم‌های بالغ جدا شده از شیردان و روده باریک دام‌های مورد نظر و ترکیب جنسیتی آنها نشان نداد که البته امر فوق با مطالعه انجام گرفته توسط آتاناز یادو و همکاران در سال ۲۰۱۱ب مطابقت دارد (۳). اما در بررسی انجام شده توسط Cenci و همکاران در سال ۲۰۰۷ اثر عصاره تانن گیاه *Acacia mearnsii* روی کرم‌های دستگاه گوارش گوسفند شامل تریکوسترونز نیلوس کلوبریفورمیس، همونکوس کونتور توس، ازوفاگوستوموم کلومیانوم،



تصویر ۱- مقطع بافتی تهیه شده از دوازدهه یکی از گوسفندان گروه شاهد. ارتشاح تعداد قابل توجهی انوزینوفیل در بافت بین غدد مخاطی مشهود است (رنگ آمیزی گیمسای بافتی $400\times$).

پوششی نماتود گردد (۲۴). اثر احتمالی دیگر آن ممکن است ایجاد تغییرات بیوشیمیایی و فیزیولوژیک در روده میزبان باشد، بطوریکه نشان داده شده است که عصاره تانن می‌تواند سبب کاهش میزان هضم و جذب غذا و در نتیجه افزایش میزان مدفوع در دام شود و در نتیجه با افزایش میزان دفع مدفوع سبب رقیق شدن تخم کرم‌های موجود و در نتیجه کاهش تعداد آنها در مدفوع حیوان تحت مطالعه گردد (۴). در ضمن تغییرات فیزیولوژیک ایجاد شده توسط تانن می‌تواند جمعیت کرم‌های بالغ در دستگاه گوارش میزبان را تحت تاثیر قرار دهد و این مشابه همان چیزی است که در هنگام آلودگی با سایر گونه‌های کرمی مشاهده می‌گردد (۳). البته برخی از تحقیقات انجام شده در گوسفند، اثرات غلظت‌های مختلف تانن بررسی نموده و نشان داده اند که تنها در غلظت‌های بیش از ۱۶ درصد آن، علائم کلینیکی ظاهر می‌گردد.

بررسی اثرات ضدکرمی عصاره تانن استخراج شده از گیاهان مختلف به هر دو شکل آزمایشگاهی و داخل بدنی صورت می‌پذیرد. در روش آزمایشگاهی تاثیر عصاره روی مراحل پیش انگلی کرم (نوزاد آزادزی) صورت می‌پذیرد و طبیعتاً تاثیر مثبت تانن روی این مراحل نمی‌تواند دلیلی برای عملکرد آن روی مراحل انگلی (درون بدن) نیز تلقی گردد (۱۱). در بررسی انجام شده توسط Athanasiadou و همکاران در سال ۲۰۱۱ب نشان داده شد که تانن می‌تواند توانایی زنده ماندن نوزاد را کاهش دهد (۲). بدیهی است که استفاده از عصاره تانن نمی‌تواند سبب کاهش تعداد تخم‌های موجود در رحم کرم ماده گردد اما بررسی حاضر نشان داد که ضریب باروری کرم‌های ماده جدا شده بطور معنی داری کاهش یافته است و شاید بتوان آنرا به اثرات سمی تانن روی کرم‌های موجود در دستگاه گوارش دام آلوده مرتبط دانست که البته این اثر کاهش روی ضریب باروری کرم را متعاقب تجویز داروهای ضدکرمی مانند آیورمکتین نیز گزارش نموده اند (۲۲). برخی نیز بر اثرات غیرمستقیم تانن بر کرم‌های



جدول ۱ - میانگین میزان تخم دفع شده در مدفوع، کرم‌های بالغ به تفکیک جنسیت آنها، ضریب جنسیت و ضریب باروری کرم‌های بالغ جدا شده از گوسفندان تحت درمان با عصاره گیاه زالزالک و گوسفندان شاهد. * میانگین \pm انحراف معیار. ** وجود اختلاف معنی دار بین گوسفندان تحت درمان با عصاره گیاه زالزالک و شاهد ($p < 0.05$).

گروه شاهد	گروه تحت درمان با گیاه زالزالک
تعداد تخم شمارش شده در گرم مدفوع	تعداد تخم شمارش شده در گرم مدفوع
(روز صفر) $492/63 \pm 112/57$ *	(روز صفر) $467/88 \pm 114/88$
(روز نهم) $522/75 \pm 98/56$	(روز نهم) $91/13 \pm 30/90$ **
تعداد کل کرم‌های جدا شده از شیردان	تعداد کل کرم‌های جدا شده از شیردان
$1655/75 \pm 421/64$	$1616/50 \pm 437/20$
تعداد کرم‌های نر	تعداد کرم‌های نر
$811/88 \pm 216/51$	$795/38 \pm 297/26$
تعداد کرم‌های ماده	تعداد کرم‌های ماده
$844/63 \pm 245/98$	$821/13 \pm 163/82$
ضریب جنسیت کرم‌های جدا شده	ضریب جنسیت کرم‌های جدا شده
$0/98 \pm 0/20$	$0/95 \pm 0/22$
ضریب باروری کرم‌ها	ضریب باروری کرم‌ها
$0/33 \pm 0/07$	$0/05 \pm 0/02$ **

در شیردان و هم در روده باریک بیانگر یک التهاب عمومی در بخش‌های مذکور می‌باشد و نتایج نشان می‌دهد که لکوسیت‌های گلوبول از ماست سل‌ها مشتق می‌گردند (۱۲). نتایج نشان می‌دهد که لکوسیت‌های گلوبول و به میزانی کمتر ماست سل‌ها از عوامل مهم ایمنی موضعی در برابر نماتودها در گوسفند و بز محسوب می‌گردند (۲۰).

همچنین به نظر می‌رسد که عصاره تانن علاوه بر اثر روی نماتودها، در افزایش میزان تولید دام نیز نقش موثری داشته باشد، بطوری که در بررسی Iqbal و همکاران در سال ۲۰۰۷ گوسفندان آلوده به همونکوس کونتور توس در معرض مقادیر متفاوت عصاره تانن (دو و سه درصد) قرار گرفتند و نتایج نشان داد که بیشترین میزان وزن بدست آمده در حیواناتی مشاهده شد که جیره غذایی حاوی سه درصد تانن دریافت داشتند (۱۳). در نهایت نتایج بدست آمده از بررسی فوق نشان داد که اثر عمده عصاره تانن حاصل از گیاه زالزالک (کراتگوس سودو ملانوکارپا) کاهش میزان دفع تخم کرم در مدفوع دام‌های آلوده به تریکوسترونز یلیدها و همچنین کاهش میزان باروری کرم‌های ماده بوده، بنابراین گیاهان حاوی ترکیبات تانن می‌توانند بعنوان یک عامل احتمالی در کنترل انگل‌های دستگاه گوارش نشخوارکنندگان بخصوص در بحث همه گیری آنها بوده و در این میان ضروری است تا نقش گیاهان مذکور روی تولیدات دامی نیز مدنظر قرار گیرد.

References

- Aerts, R. J., Barry, T. N., McNabb, W. C. (1999) Polyphenols and agriculture: beneficial effects of proanthocyanidins in forages. *Agric. Ecosyst. Environ.* 75: 1-12.
- Athanasiadou, S., Kyriazakis, I., Jackson, F., Coop, R. L. (2001a) Direct anthelmintic effects of condensed

کوپریاس پی، استرو نژیلوئیدس پایپلوزوس، تریشوریس گلوبوسا و مونزیاکسپانسا بررسی گردید، نتایج نشان داد که تعداد کرم‌های بالغ در دام‌هایی که عصاره تانن را دریافت نموده بودند بطور معنی داری کمتر از حیوانات شاهد بود (۶). در ضمن تاثیر محسوس عصاره گیاهی استفاده شده در تحقیق فوق روی میزان باروری کرم‌های ماده جدا شده از شیردان و روده باریک دام‌هایی با یافته‌های Paolini و همکاران در سال ۲۰۰۳ مطابقت دارد که البته نوع اثر تانن در این خصوص کاملاً شناخته شده نبوده و احتمالاً آنرا مربوط به اثر مستقیم تانن روی اندام‌های مختلف نماتود مانند سیستم جنسی و یا گوارشی آن می‌دانند (۲۰). بنابراین به نظر می‌آید که کاهش میزان دفع تخم در مدفوع دام‌های آلوده پس از درمان با عصاره زالزالک بیشتر از اینکه به تعداد کرم‌های بالغ موجود در دستگاه گوارش دام بستگی داشته باشد مربوط به کاهش میزان باروری آنها باشد.

در بررسی بافت شناسی انجام شده نیز اگرچه شمارش تعداد سلول‌های التهابی شامل ائوزینوفیل و ماست سل‌ها در گوسفندان گروه شاهد بالاتر از گوسفندان تحت درمان با عصاره زالزالک بود اما بررسی آماری انجام شده اختلاف معنی داری را در این خصوص نشان نداد و یافته فوق با بررسی Paolini و همکاران در سال ۲۰۰۳ مطابقت دارد و نتایج حاصل از تحقیق ایشان افزایش تراکم سه نوع سلول التهابی مورد بررسی در ناحیه فوندوس دام‌های تحت درمان با تانن را نشان داد که البته در بررسی آماری انجام گرفته این اختلاف معنی دار نبود (۲۰). بررسی‌های انجام گرفته روی ایمنی موضعی ایجاد شده بر علیه تریکوسترونز یلیدها در گوسفند، نقش تاثیر گذار ماست سل‌ها و لکوسیت‌های گلوبول اپیتلیال را نشان داده است (۱۶). Huntley و همکاران در سال ۱۹۸۴ رابطه معکوس بین میزان تولید تخم توسط کرم تریکوسترونز یلوس کلوریفورمیس و تعداد لکوسیت‌های گلوبول روده‌ای را نشان دادند (۱۲). در بررسی پائولینی و همکاران در سال ۲۰۰۳ نیز این ارتباط معکوس مشاهده شد و در نتیجه نقش عمده این نوع سلول‌های التهابی را در امری زایی در مقابل انگل نشان می‌دهد (۲۰). همچنین افزایش تعداد هر سه نوع سلول‌های التهابی هم



- tannins towards different gastrointestinal nematodes of sheep: in vitro and in vivo studies. *Vet. Parasitol.* 99: 205-19.
3. Athanasiadou, S., Kyriazakis, I., Jackson, F., Coop, R. L. (2001b) The effects of condensed tannins supplementation of foods with different protein content on parasitism, food intake and performance of sheep infected with *Trichostrongylus colubriformis*. *Br. J. Nutr.* 86: 697-706.
 4. Barry, T. N., Manley, T. R. (1984) The role of condensed tannins in the nutritional value of *Lotus pedunculatus* for sheep. *Br. J. Nutr.* 51: 493-504.
 5. Barry, T. N., McNabb, W. C. (1999) The implications of condensed tannins on the nutritive value of temperate forages fed to ruminants. *Br. J. Nutr.* 81: 263-272.
 6. Cenci, F. B., Louvandini, H., McManus, C. M., Dell'Porto, A., Costa, D. M., Araújo, S. C. et. al. (2007) Effects of condensed tannin from *Acacia mearnsii* on sheep infected naturally with gastrointestinal helminthes. *Vet. Parasitol.* 144: 132-7.
 7. Coop, R. L., Kyriazakis, I. (1999) Nutrition-parasite interaction. *Vet. Parasitol.* 84: 187-204.
 8. Eslami, A. (1998) *Veterinary Helminthology*. University of Tehran press. Tehran, Iran. (In Persian).
 9. Eslami, A., Ranjbar-Bahadori, Sh. (2004) *Diagnostic Methods of Helminth Infection*. Islamic Azad University, Garmsar branch press. Garmsar, Iran. (In Persian).
 10. Genchi, C. (2006) Therapy and anthelmintic resistance. *Parassitologia.* 48: 423-31.
 11. Githiori, J. B., Athanasiadou, S., Thamsborg, S. M. (2006) Use of plants in novel approaches for control of gastrointestinal helminthes in livestock with emphasis on small ruminants. *Vet. Parasitol.* 139: 308-20.
 12. Huntley, J. F., Newlands, G. F., Miller, H. R. (1984) The isolation and characterization of globule leucocytes: their derivation from mucosal mast cells in parasitized sheep. *Parasite. Immunol.* 6: 371-390.
 13. Iqbal, Z., Sarwar, M., Jabbar, A., Ahmed, S., Nisa, M., Sajid, M. S. et. al. (2007) Direct and indirect anthelmintic effects of condensed tannins in sheep. *Vet. Parasitol.* 144: 125-31.
 14. Jackson, F., Coop, R. L. (2000) The development of anthelmintic resistance in sheep nematodes. *Parasitology.* 120: 95-107.
 15. Kabasa, J. D., Opuda-Asibo, J., Ter Meulen, U. (2000) The effect of oral administration of polyethylene glycol on faecal helminth egg counts in pregnant goats grazed on browse containing condensed tannins. *Trop. Anim. Health. Prod.* 32: 73-86.
 16. Meeusen, E. N. T. (1999) Immunology of helminth infections, with special reference to immunopathology. *Vet. Parasitol.* 84: 259-273.
 17. Molan, A. L., Alexander, R. A., Brookes, I. M., Mac Nabb, W. C. (2000) Effect of an extract from *Sulla (Hedysarum coronarium)* containing condensed tannins on the migration of three sheep gastrointestinal nematodes in vitro. *Proc. N. Z. Soc. Anim. Prod.* 60: 21-25
 18. Mueller-Harvey, I., McCallan, A. B. (1992) Tannins: their biochemistry and nutritional properties. *Adv. Plant. Cell. Biochem. Biotechnol.* 1: 151-217.
 19. Niezen, J. H., Robertson, H. A., Waghorn, G. C., Charleston, W. A. G. (1998) Production, faecal egg counts and worm burdens of ewe lambs which grazed six contrasting forages. *Vet. Parasitol.* 80: 15-27.
 20. Paolini, V., Bergeaud, J. P., Grisez, C., Prevot, F., Dorchies, P., Hoste, H. (2003) Effects of condensed tannins on goats experimentally infected with *Haemonchus contortus*. *Vet. Parasitol.* 113: 253-61.
 21. Schultz, J. C. (1989) Tannin-insect interactions. In: *Chemistry and Significance of Condensed Hemingway*, RW., Karchesy, JJ. (eds.). Plenum Press, New York. USA. p. 417-433.
 22. Scott, E. W., Baxter, P. (1991) Fecundity of anthelmintic-resistant adult *Haemonchus contortus* after exposure to ivermectin or benzimidazoles in vivo. *Res. Vet. Sci.* 50: 247-249.
 23. Svedström, U., Vuorela, H., Kostianen, R., Tuominen, J., Kokkonen, J., Rauha, J. P. et. al. (2002) Isolation and identification of oligomeric procyanidins from *Crataegus* leaves and flowers. *Phytochemistry.* 60:



821-825.

24. Thompson, D. P., Geray, T. G. (1995) The structure and function of helminth surfaces. In: *Biochemistry and Molecular Biology of Parasites*. Academic Press. London, UK. p. 203-232.
25. Verma, S. K., Jain, V., Verma, D., Khamesra, R. (2007) *Crataegus oxyacantha*- A cardioprotective herb. *J. Herbal Med. Toxicol.* 1: 65-71.



The effects of hawthorn (*Crataegus pseudomelanocarpa*) extract on Trichostrongylids in infected sheep

Ranjbar-Bahadori, Sh.^{1*}, Hesaraki, S.², Vaezi, Gh.H.³, Farhadifar, N.¹, Jahanian, H.¹, Poor Mahmood, A.¹, Saeedi, M.R.¹

¹Parasitology Department, Veterinary Faculty, Islamic Azad University, Garmsar branch, Garmsar- Iran.

²Pathobiology Department, Veterinary Faculty, Islamic Azad University, Sciences and researches branch, Tehran- Iran.

³Biology Department, Islamic Azad University, Damghan branch, Damghan- Iran.

(Received 23 January 2011 , Accepted 24 May 2011)

Abstract:

BACKGROUNDS: The use of tanniferous plants in ruminants has been documented as an alternative to anthelmintics, for the control of gastrointestinal nematodes. **OBJECTIVES:** The objective of this study was to assess the possible impact of *Crataegus pseudomelanocarpa* extract on the Trichostrongylids helminthes found in sheep. **METHODS:** Two groups of sheep were experimentally infected with 2.000 L3 of Trichostrongylids. After 4 weeks, Hawthorn Extract was diluted in 200 ml of water at 25 0C and was orally administered two times a day. The 8 remaining animals comprised as infected control group which received an equal volume of water daily during the same period of time. On the 9th day, all of the sheep were necropsied and calculations were made for individual egg excretion adult worm counts in the abomasum and small intestines sex rate (male/female); and the fecundity rate. The results were compared using statistical test. Moreover, histological samples from the fundus and pyloric regions were taken to enumerate the number of mucosal mast cells, globule leukocytes and eosinophils. **RESULTS:** The results showed that the administration of this tanniferous plant was associated with a significant decrease in egg excretion (82.57%) and female fecundity (84.85%). Pathological findings showed a greater presence of mucosal eosinophils and mast cells in the abomasums and small intestines of the control group in compare with treated sheep. However, statistical analyses did not show a significant difference between these groups. **CONCLUSIONS:** These results indicate that the administration of *Crataegus pseudomelanocarpa*, which has tannin extract, could be effective in the control of Trichostrongylids infected sheep.

Key words: Trichostrongylids, hawthorn, *crataegus pseudomelanocarpa*, tannin, sheep.

*Corresponding author's email: bahadori@iau-garmsar. ac. ir, Tel: 0232-4229706, Fax: 0232-4229706

