DOI: 10.22092/vj.2019.125113.1554
شماره ۱۲۶ بهار ۱۳۹۹
تحقیقات دامپزشکی و فرآورده‌های بیولوژیک

بررسی اثر ضدکرمی عصاره گیاه سیاه دانه *(Nigella sativa L.)* بر نوزاد عفونی کرم پار آسکاریس اکوروم *(Parascaris equorum)* در شرایط آزمایشگاهی

• **احسان رخشنده رو(نویسنده مسئول)**
استادیار بخش انگل شناسی (گروه پاتوبیولوژی) دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز
• **قاسم عنبری**
دانش آموخته دوره دکتری عمومی دامپزشکی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز
• **محسن قانع**
استادیار بخش داخلی دامهای بزرگ (گروه علوم درمانگاهی) دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز
تاریخ دریافت: ۱۳۹۷-۱۱-۰۹ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸-۰۱-۳۱
Emali: rakhshandehroo@shirazu.ac.ir

چکیده

مطالعه حاضر به منظور بررسی داخل آزمایشگاهی اثرات عصاره متانولی سیاه دانه بر میزان زنده‌مانی نوزاد عفونی کرم پارآسکاریس اکوروم *(Parascaris equorum)* انجام گردید. بدین منظور پس از جمع‌آوری کرم‌ها، تخم‌های موجود در بدن کرم‌ها را خارج کرده و با استفاده از محلول هیپوکلریت سدیم هچ گردیدند. سپس اثرات نوزادکشی عصاره متانولی سیاه دانه در غلظت‌های مختلف (۶,۲۵، ۱۲,۵، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر) در زمان‌های ۰، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰ و ۶۰ دقیقه پس از در معرض قرار گرفتن نوزادها مورد بررسی قرار گرفت. نتایج آماری نشان داد که عصاره مذکور در غلظت ۶,۲۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر در مدت یکساعت فاقد اثرات نوزادکشی مناسب بوده است. در مقابل، عصاره در غلظت‌های بالاتر اثر کاهشی معنی‌داری بر زنده‌مانی نوزاد کرم پارآسکاریس داشت. این تاثیر از ده دقیقه ابتدای آزمایش مشاهده گردید و با افزایش زمان، تاثیر کشندگی عصاره بر نوزادان به صورت معنی‌دار افزایش نشان داد. علاوه بر این، در غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، تمام نوزادهای زنده، به ترتیب، در مدت ۴۰، ۲۰ و ۱۰ دقیقه پس از قرارگیری در معرض عصاره غیرفعال شدند. این نتایج نشان می‌دهد که استفاده از عصاره گیاه سیاه دانه با ایجاد اثر کشندگی بر نوزادان، می‌تواند به کاهش شیوع آلودگی به کرم پارآسکاریس اکوروم در اسب سانان کمک کند.

کلمات کلیدی: عصاره سیاه دانه; پارآسکاریس اکوروم; اسب سانان; داروهای ضدکرمی

Veterinary Researches & Biological Products No 126 pp: 33-40

An investigation on the anthelmintic effect of *Nigella sativa L.* extract on the infective larva of *Parascaris equorum* in vitro

By: Rakhshandehroo, E., (Corresponding Author) Department of Pathobiology, School of Veterinary Medicine, Shiraz University. Anbari, Gh., Department of Pathobiology, School of Veterinary Medicine, Shiraz University. and Ghane, M., Department of Clinical Studies, School of Veterinary Medicine, Shiraz University.

Received: 2019-01-29 Accepted: 2019-04-20

Emali: rakhshandehroo@shirazu.ac.ir

In this study, the anthelmintic effects of the medicinal herb, *Nigella Sativa L.*, was screened in vitro against the infective larvae of *Parascaris equorum*. Follow the collection of *Parascaris* worms, the egg content were depleted and hatched using sodium hypochlorite solution. The recovered larvae of the parasite were exposed to six concentrations (6.25, 12.5, 25, 50, 100 and 200 mg/mL) of the *Nigella* extract and then examined for the viability at 0, 10, 20, 30, 40, 50 and 60 minutes after the challenge. The results revealed that the concentration of 6.25 mg/mL had not any significant anthelmintic effects on *P. equorum* larvae. In contrast, the statistics indicated that all the higher concentrations of the *Nigella* extract remarkably reduced the viability of larva. These results were obvious during the first ten minutes of the experiment. With increase in time of exposure, the mortality effect of the extract elevated significantly. In addition, all larvae were inactivated after 40, 20 and 10 minutes after exposure at the concentrations of 50, 100 and 200 mg/ml, respectively. These results confirmed that this herbal extract possess good antiparasitic effects against *P. equorum* infections.

Keywords: *Nigella sativa*; *Parascaris equorum*; equid; anthelmintic drugs

مقدمه

کرم پارآسکاریس اکوروم، عامل ایجاد کننده آسکاریازیس در اسب‌های جوان و به عنوان یک آلودگی شایع در جهان محسوب می‌شود. آسکاریس‌ها بیشترین تاثیر سوء را بر کره اسب‌هایی که سیستم ایمنی آن‌ها هنوز نابالغ می‌باشد دارا هستند (۱۲). سطوح آلودگی متوسط تا شدید می‌تواند علایم شدید تنفسی و کم اشتهایی همراه با انتریت، انسداد روده و پریتونیت را ایجاد نماید (۱۱). برنامه‌های کنترل عفونت به این کرم مبتنی بر استفاده استراتژیک از ضد کرم‌ها می‌باشد. با این حال، مواردی از مقاومت به این داروهای شیمیایی دیده شده است (۲۴). استفاده بی‌رویه از داروهای ضد کرمی ترکیبی، باعث ایجاد جمعیت‌های مقاوم در گله‌ها می‌گردد (۲۳). برخی از مطالعات حاکی از آن است که درمان و کنترل با داروی آیورمکتین در جمعیت های آلوده به پارآسکاریس اکوروم با شکست مواجه شده است (۱۰).

همچنین شواهد نشان می‌دهد که اثر پذیری ضد کرمی این دارو به نسبت ارزیابی‌های گذشته روند نزولی داشته است (۱۰). علاوه بر این، هزینه محصولات شیمیایی، آلودگی محیط زیست و باقی مانده های مواد غذایی محدودیت‌های بیشتری را در استفاده از آنها نشان می‌دهد (۱).

این مشکلات، سرآغاز تحقیقات در مورد استفاده ازگیاهان دارویی با خواص ضد کرمی آن‌ها در سطح جهان شده است (۲ ، ۱۴). در میان انواع گونه‌های گیاهی با خواص دارویی ضد کرمی می‌توان به گونه‌هایی نظیر درمنه (*Artemisia dracunculus*) (۲۷) و نوعی نعناع (*Mentha villosa*) اشاره کرد (۴). مطالعات اخیر نیز نشان داده‌اند که گیاهان حاوی تانن به منظور کنترل عفونت‌های انگلی می‌توانند موثر باشند (۲۹). همچنین گزاراشات متعددی از موثر بودن گیاهان حاوی ماده موثره تانن و خاصیت‌های ضد نماتودی آن‌ها به منظور کاهش جمعیت انگل‌های نماتودی در محیط درون بدن و آزمایشگاه گزارش شده است (۱۹،۸، ۱۷، ۲۵، ۲۱، ۲۰). این تحقیقات اکثرا با تاکید بر روی انگل‌های گوارشی، در نشخوارکنندگان آلوده به انگل انجام گردیده است و مطالعات کمی روی گونه‌های اسب سانان انجام شده است.

مطالعات حاکی از اثربخشی عصاره گیاه سیاه دانه به منظور داروی ضد نماتودی (۳) و ضد شیستوزومایی دارد (۲۲). همچنین عصاره گیاه سیاه دانه بر علیه آلودگی به کرم *Hymenolepis nana* (۹) و هیداتیدوز در موش موثر واقع گردیده است (۵) اما تحقیقات بیشتری بر روی اثر ضدکرمی گیاه سیاه دانه انجام نشده است. با توجه به اهمیت داروهای گیاهی به منظور کنترل جمعیت‌های انگلی، مطالعه حاضر به منظور ارزیابی اثربخشی ضد نماتودی عصاره سیاه دانه بر مرحله نوزادی کرم پارآسکاریس اکوروم انجام می‌شود.

مواد و روش کار

جمع‌آوری تخم انگل و هچ کردن آن‌ها

برای جمع‌آوری نمونه کرمی، از لاشه اسب سانانی که جهت تعیین علت مرگ به بخش کالبدگشایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز آورده

شده بودند نمونه تهیه شد، پس از باز کردن لاشه حیوانات و بررسی روده باریك اسب‌های آلوده، کرم‌های ماده پارآسکاریس که حاوی تخم بودند، جمع‌آوری گردیدند. سپس رحم کرم‌های ماده جدا گردیده و در سالین نرمال قرار داده شد. با ایجاد برش بر روی بافت رحم، تخم‌ها از داخل آن خارج گردیدند. به علت وجود بافت‌های زائد همراه تخم‌ها، محلول حاوی تخم کرم ابتدا از صافی با روزنه ۳۰۰ میکرون عبور داده شده و سپس به سیلندرهای مدرج انتقال داده شد. در سیلندرها پس از رسوب تخم‌ها در کف، مایع‌رویی حاوی بافت‌های زائد باقیمانده خارج شد. این عمل با اضافه کردن سالین نرمال و خارج‌سازی مواد زائد تا حد امکان ادامه یافت. در انتها، تخم‌ها حداقل سه بار با آب مقطر شست شو شده و سپس در محلول دی کرومات پتاسیم ۲,۵ درصد (به عنوان ماده نگهدارنده با اثرات ضدمیکروبی) در درجه حرارت ۲۸-۲۵ درجه سانتی‌گراد، با هوادهی مناسب، در دستگاه انکوباتور قرار داده شد تا نوزاد داخل تخم‌ها تشکیل شود. بررسی تخم‌های انگل تا زمانی که در بیش از ۹۰ درصد از تخم‌های قابل رشد، نوزاد عفونی (L2) مشاهده شود به طور مکرر انجام پذیرفت و در نهایت محلول حاوی تخم‌های حاوی نوزاد به یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد انتقال یافتند.

آماده‌سازی عصاره گیاه سیاه دانه

دانه‌های گیاه سیاه دانه از مراکز محلی و معتبر فروش گیاهان دارویی (شهر شیراز) خریداری شد. در دستگاه آون با درجه حرارت ۵۰ درجه سانتی‌گراد کاملا خشک شده و توسط یک خرد کن الکتریکی به صورت مکانیکی کاملا پودر گردیدند. برای تهیه عصاره متانولی از گیاه، ۱۰۰ گرم از پودر خشک شده دانه‌های گیاه به ۴۰۰ میلی‌لیتر متانول خالص اضافه شد و محلول بدست آمده به مدت یک ساعت با استفاده از یک همزن مغناطیسی استریل به آرامی هم زده تا کاملا مخلوط شوند. سپس محلول بدست آمده پس از آنکه به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق قرار گرفت دوباره به هم زده و پس از عبور از صافی پارچه‌ای و جمع‌آوری مواد زائد باقیمانده، محلول حاوی عصاره از کاغذ صافی (کاغذ Whatman شماره‌ی ۱ با قدرت عبور ذرات کمتر از ۱۱ میکرون، ساخت آمریکا) نیز عبور داده شد. سپس حلال (متانول) با تبخیر در دستگاه تبخیر کننده (روتاری) حذف شد. عصاره بدست آمده با استفاده از دستگاه لیوفیلایزر به پودر خشك تبدیل شده و در یک ظرف شیشه‌ای استریل در شرایط انجماد قرار داده شد. در زمان انجام مطالعه، شش غلظت ۶,۲۵، ۱۲,۵، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از عصاره در آب مقطر استریل تهیه و تا زمان انجام کار در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید.

اثر نوزادکشی عصاره گیاهی

تخم‌های کرم پارآسکاریس با استفاده از هیپوکلریت سدیم ۶ درصد و سدیم هیدروکسید ۰,۵ درصد مطابق با روش قبلی استخراج و هچ گردیدند (۲۶). با استفاده از قیف برمن، نوزادهایی که از لحاظ قابلیت تحرک و سطح انعطاف‌پذیریشان در حد مطلوبی بودند جدا شده و سپس در درمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردیدند. قبل از شروع فرایند آزمایش، نوزادها ۳ بار با محلول سالین نرمال شستشو و سانتریفیوژ شده و سپس به مدت یک ساعت در داخل آنکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۱۵ دقیقه تحت منبع نور قرار گرفتند. به منظور بررسی اثر نوزادکشی عصاره در هر غلظت، ۳۰ میلی‌لیتر از محلول نوزاد حاوی حداقل ۳۰ نوزاد را به یک اسلاید شیشه‌ای دارای چاهک منتقل کرده و پس از شمارش نوزادها، با همان مقدار عصاره گیاهی در غلظت‌های مختلف (به عنوان گروه درمان) و سالین نرمال (به عنوان گروه کنترل) همراه گردیدند. با استفاده از میکروسکوپ نوری (در بزرگ نمایی ۴۰×) میزان تحرک نوزادها پس از گذشت ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰ و ۶۰ دقیقه پس از اضافه کردن عصاره‌ها در غلظت‌های مختلف مشاهده و بررسی شدند. سپس درصد نوزادهای زنده و مرده محاسبه گردید. لازم به ذکر است که تمام آزمایشات ۳ بار تکرار شدند.

تحلیل آماری

اثرات نوزادکشی عصاره در غلظت‌های مختلف توسط آزمون آماری Repeated measures ANOVA و آزمون Tukey مورد بررسی قرار گرفت (P<۰/۰۵). آنالیز ANOVA یک طرفه نیز برای مقایسه درصد زنده‌مانی بین گروه کنترل و گروه درمان در هر زمان به صورت مستقل انجام شد. علاوه بر این، غلظت موثر برای غیر فعال کردن ۵۰٪ از نوزادها (EC50) با استفاده از روش Probit تعیین شد. تمام تجزیه و تحلیل‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS انجام شد (SPSS Inc, Release ,۱۶ ۲۰۱۲).

نتایج

نتایج نشان داد که غلظت‌های مختلف عصاره گیاه سیاه دانه دارای اثرات ضد نماتودی بر روی مرحله نوزادی پارآسکاریس اکوروم می باشد (P<۰/۰۰۱) (شکل ۲ و ۳). هرچند این عصاره در غلظت ۶,۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اثرات قابل توجهی بر نوزادها نشان نداد اما تحلیل آماری حاکی است که بین دو عامل غلظت عصاره (و اثر آن بر نوزاد کرم) و زمان ارتباط معناداری وجود دارد (P<۰/۰۰۱).

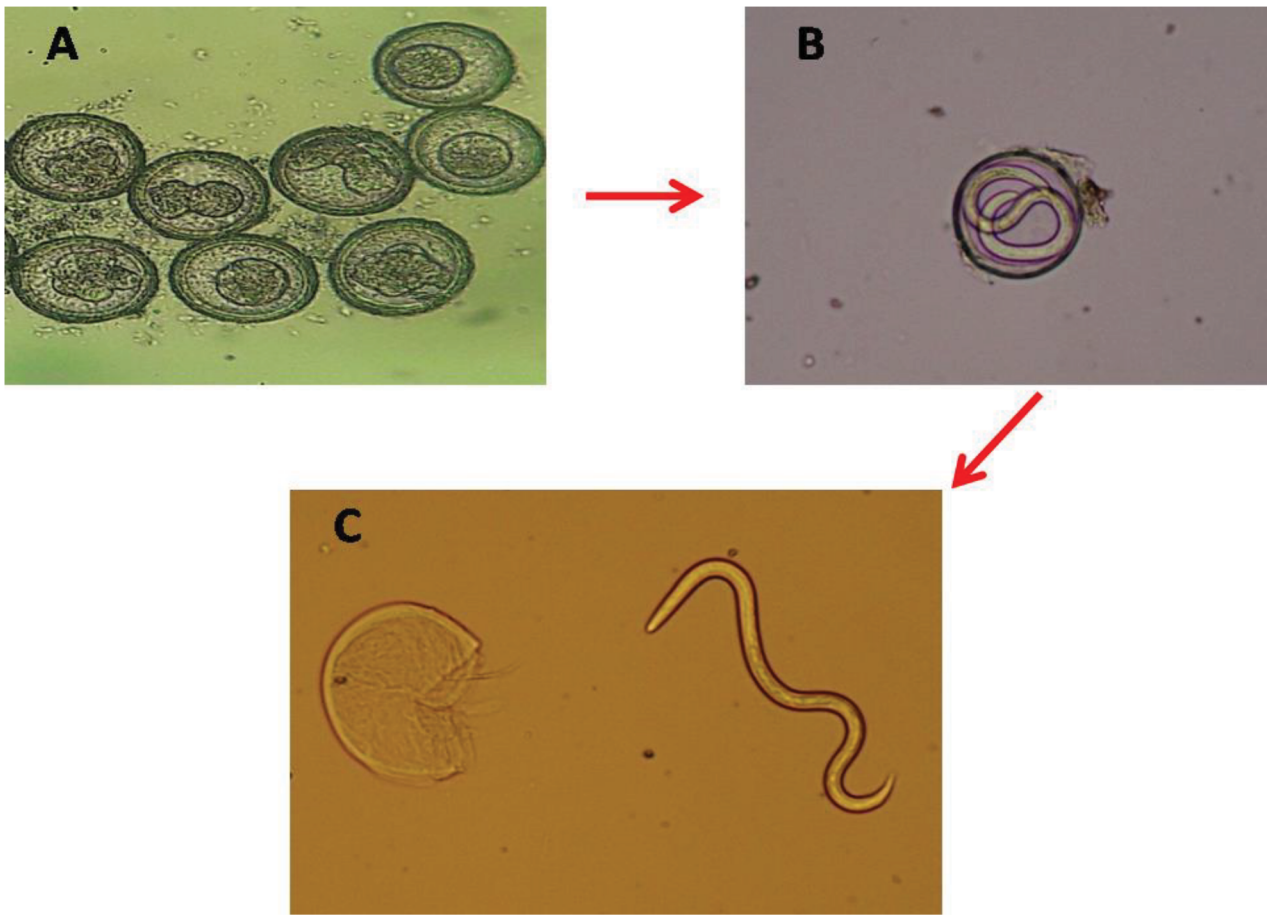
اگرچه در مقایسه با گروه کنترل، استفاده از عصاره سیاه دانه در غلظت ۶,۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در طی زمان یکساعت اثرات نوزاد کشی معنی داری را نشان نداد (شکل۲) اما در غلظت‌های بالاتر، استفاده از عصاره سیاه دانه تاثیرکشندگی بالایی را بر روی نوزاد کرم‌ها ایجاد کرد به گونه‌ای که این تاثیر در همان ده دقیقه ابتدایی آزمایش مشهود بود (شکل۲). علاوه بر این، در غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، تمامی نوزادهای زنده، به ترتیب، در مدت ۴۰، ۲۰ و ۱۰ دقیقه پس از قرارگیری در معرض عصاره به حالت غیرفعال درآمدند (شکل ۳). مقدار LC۵۰ عصاره سیاه دانه ۱۳,۷ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بدست آمد. در این غلظت نیز اثرات ضد نماتودی معنی‌داری بر روی زنده‌مانی نوزاد کرم دیده شد (شکل ۳).

بحث

مطالعات نشان داده‌اند که مواد ضدکرمی با منشا گیاهی می‌توانند تاثیرات کنترلی را بر علیه آلودگی‌های کرمی حیوانات داشته باشند (۲۱). البته باید گفت که نتایج منتشر شده در قبل نشان‌دهنده وجود اعداد و ارقام مختلفی برای میزان اثربخشی هر عصاره گیاهی بوده است.در هر حال استفاده از این مواد معمولا رایج است زیرا به طور کلی ارزان و

دوستدار محیط زیست بوده و برای حیوانات و انسان‌ها ایمن می‌باشند (۱۸).

در مطالعه حاضر اثر نوزادکشی عصاره متانولی سیاه دانه در غلظت‌های مختلف مورد ارزیابی قرار گرفت. بر این اساس عصاره سیاه دانه در غلظت‌های بالاتر از ۶,۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به طور معنی‌داری بر روی نوزاد کرم پارآسکاریس اکوروم موثر واقع شده و این اثرات از ابتدای آزمایش قابل مشاهده بود. علاوه بر این، بین افزایش غلظت عصاره و میزان مرگ و میر نوزاد این کرم همبستگی معنی‌داری مشاهده می‌شود. بنابراین می‌توان پیشنهاد کرد که استفاده از عصاره گیاه سیاه دانه می‌تواند به عنوان یک ضد کرم طبیعی به منظور درمان اسب سانان استفاده گردد. اگر چه مطالعات دقیق‌تر به منظور تعیین فعالیت محافظتی این عصاره در برابر عفونت‌های کرمی در میزبان‌های مختلف باید انجام شود. فعالیت ضد کرمی عصاره سیاه دانه در برابر نماتودهای گوارشی گوسفندان در محیط‌های داخل بدنی و داخل آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفته است. استفاده از عصاره آبی و الکلی سیاه دانه باعث کاهش حرکات خودبه خودی و فعالیت‌های عصبی-عضلانی در کرم *Setaria cervi* می‌گردد. غلظت ۵۶۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر این عصاره در مدت زمان ۹۰ دقیقه منجر به فلجی غیر قابل برگشت در این کرم انگلی می‌شود (۲۸). همچنین مطالعات داخل آزمایشگاهی بر روی عصاره‌های آبی و اتانولی سیاه دانه نشان داده که این عصاره درغلظت‌های ۳,۱۲، ۶,۳، ۱۲,۵ و ۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اثر تخم‌کشی مناسبی در نماتودهای گوارشی دارد (۶). به طور مشابه، درمان‌های داخل



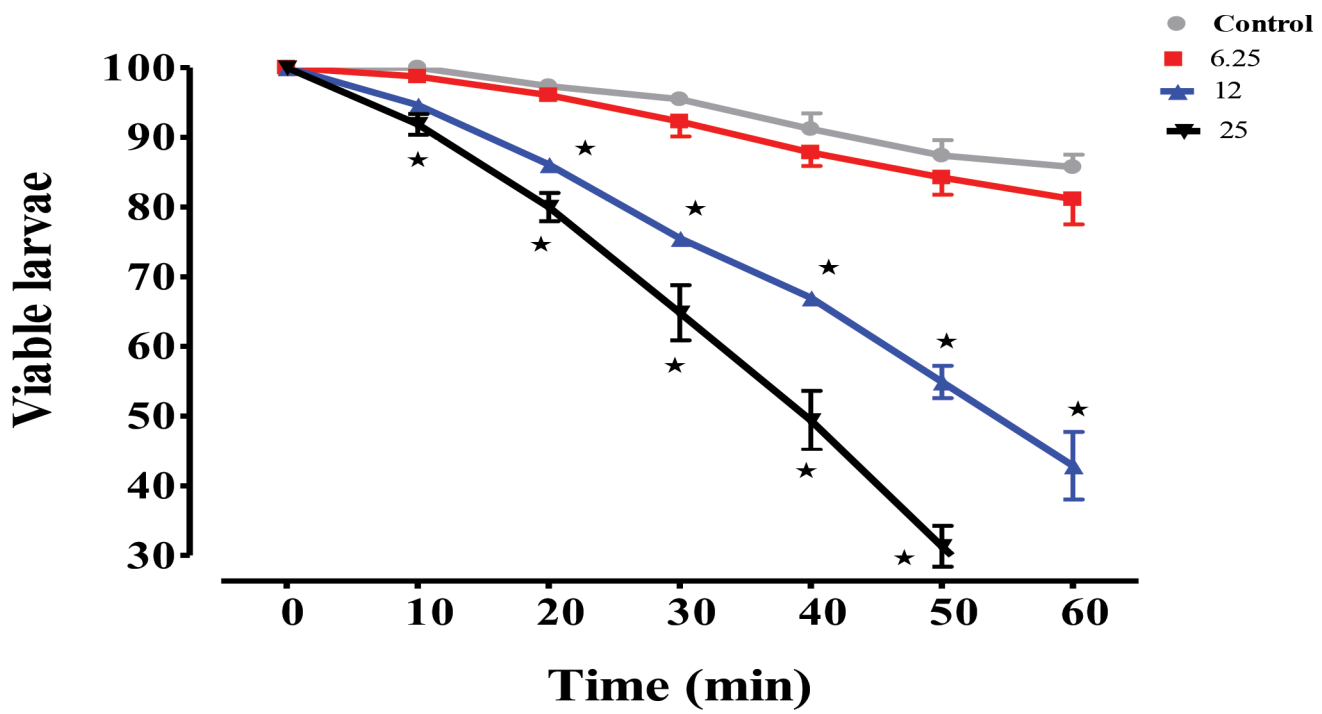
شکل ۱- مراحل مختلف تکاملی و هچ شدن تخم کرم پارآسکاریس اکوروم در شرایط آزمایشگاهی؛ (A) تخم های حاوی توده جنینی. در برخی از تخم ها تقسیم و تکامل جنین اولیه نیز دیده می شود؛ (B) تخم حاوی نوزاد رشد یافته (L۲) در شرایط آزمایشگاهی در داخل تخم؛ (C) نوزاد هچ شده از داخل تخم.

بدنی با دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از عصاره‌های آبی و یا اتانولی سیاه دانه منجر به کاهش شدید دفع تخم کرم‌های گوارشی گوسفند از روز ۱۴ پس از درمان گردیده است (۶). در مطالعه دیگری تاثیر روغن سیاه دانه بر روی کوتیکل کرم توکسوکارا ویتولوروم در گاو به صورت داخل آزمایشگاهی و با استفاده از میکروسکوپ الکترونی بررسی گردید. این مطالعه نشان داد که روغن سیاه دانه در غلظت ۰,۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اثرات ناچیزی بر روی کوتیکل کرم دارد. در غلظت ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، این روغن موجب ایجاد تغییر شکل بر روی پوست ناحیه لب‌ها و پاپیلی‌های حسی کرم داشته است. این در حالی است که در غلظت ۱,۵، اثرات تخریبی قابل توجهی بر روی کوتیکل بدن کرم و همچنین سیستم عضلانی آن داشته است (۳۰). علاوه براین آنکوبه شدن کرم بالغ توکسوکارا ویتولوروم با روغن سیاه دانه با غلظت ۰,۵ میلی‌گرم به مدت ۲۴ ساعت می تواند موجب غیرفعال شدن آنها می‌شود (۳۰).

در تحقیقات ذکر شده عمدتا تاثیر عصاره‌های مختلف سیاه دانه در غلظت‌های اندک بر روی مراحل بالغ کرم‌ها نشان داده شده است اما تاثیر این گیاه بروی مرحله نوزادی کرم‌های گرد مورد توجه نبوده است حال آنکه مرحله نوزادی در بسیاری اوقات از بیماری‌زایی بالاتری برخوردار است. در تایید تحقیقات قبل، مطالعه حاضر نشان داد که عصاره سیاه دانه تاثیر قابل توجهی بر روی نوزاد کرم گرد پارآسکاریس دارد.

ظهور مقاومت دارویی در عفونت‌های کرمی باعث بروز مشکلاتی متعددی می‌شود که از این رو میل به استفاده از ترکیبات گیاهی با خاصیت ضدکرمی در بین محققان روز به روز در حال افزایش می‌باشد (۱۳). در گذشته اکثر مطالعات آزمایشگاهی بر روی نماتودهای نشخوارکنندگانی که دارای مرحله آزاد زی هستند، تمرکز داشت. از این نماتودهای انگلی می‌توان به نوزاد کرم هموئکوس کونتورتوس اشاره کرد (۷). برای مثال، طی تحقیقی بر روی خواص ضد انگلی چهار عصاره الکلی (از خانواده گیاهان گرمسیری) مشخص گردیده که این عصاره‌ها تاثیرات داخل آزمایشگاهی منفی بر روی تخم، نوزادان عفونی و کرم بالغ هموئکوس کونتورتوس دارند (۱۶). این مطالعه همراه با تحقیقات مشابه نشان می‌دهد که استفاده از محصولات گیاهی و طبیعی ضد کرمی به عنوان یک روش جایگزین جدید به منظور کنترل عفونت‌های کرمی در نشخوارکنندگان در سراسر جهان در حال گسترش می‌باشند (۱۸).

علیرغم موارد ذکر شده، کاربرد داروهای گیاهی به منظور پیشگیری از عفونت‌های کرمی در اسب سانان به خوبی مورد توجه قرار نگرفته



شکل ۲- اثر غلظت های مختلف عصاره متانولی گیاه سیاه دانه (۶,۲۵، ۱۲,۵ و ۲۵ میلی گرم بر میلی لیتر) بر زنده مانی نوزاد عفونی کرم پارآسکاریس اکوروم.

است. عصاره گیاهان *Artemisia dracunculus* و *Mentha pulegium* (در ۵۰ میلی گرم بر میلی‌لیتر و بالاتر) و همچنین آویشن شیرازی (*Zataria multiflora*) (در ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و بالاتر) اثرات مهلکی بر روی نوزادهای کرم پارآسکاریس در آزمایشگاه دارد (۲۷). علاوه بر این، در آزمایشی که روی عصاره الکلی سه گیاه فلفل (*Capsicum annuum*)، دارچین (*Cinnamomum zeylanicum*) و گل انار (*Punica granatum*) انجام شد مشخص گردید که عصاره متانولی گل انار اثرپذیری و آسیب‌رسانی مناسبی بر روی نوزاد پارآسکاریس اکوروم دارد. با این حال، *C. annuum* بیشتر از سایر عصاره‌ها مورد توجه قرار گرفت زیرا به نسبت سایر عصاره‌ها در زمان کمتری (ده دقیقه آغاز آزمایش)، بیشترین اثرپذیری خود را بر روی نوزادهای انگلی در آزمایشگاه نشان داد (۲۷). با وجود این، نتایج مطالعه حاضر نشان دادکه عصاره گیاه سیاه دانه نسبت به سایر عصاره‌ها اثرپذیری بسیار بالایی را بر روی نوزادان این کرم نماتودی دارد و می‌تواند به عنوان یك ضدکرم بالقوه مطرح شود.

نتیجه‌گیری کلی

در نهایت، آزمایش حاضر ثابت نمود که عصاره متانولی سیاه دانه دارای خواص ضد کرمی بسیار خوبی بخصوص برای انگل پارآسکاریس اکوروم می‌باشد و بنابراین می‌توان در استراتژی‌های کنترلی به منظور کاهش جمعیت انگل‌ها از این عصاره استفاده نمود. با این حال مطالعات بیشتری برای شناسایی بهتر اثرات این گیاه دارویی لازم و ضروری می‌باشد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله بابت حمایت مالی دانشگاه شیراز از این تحقیق تشکر و قدردانی می‌نمایند.

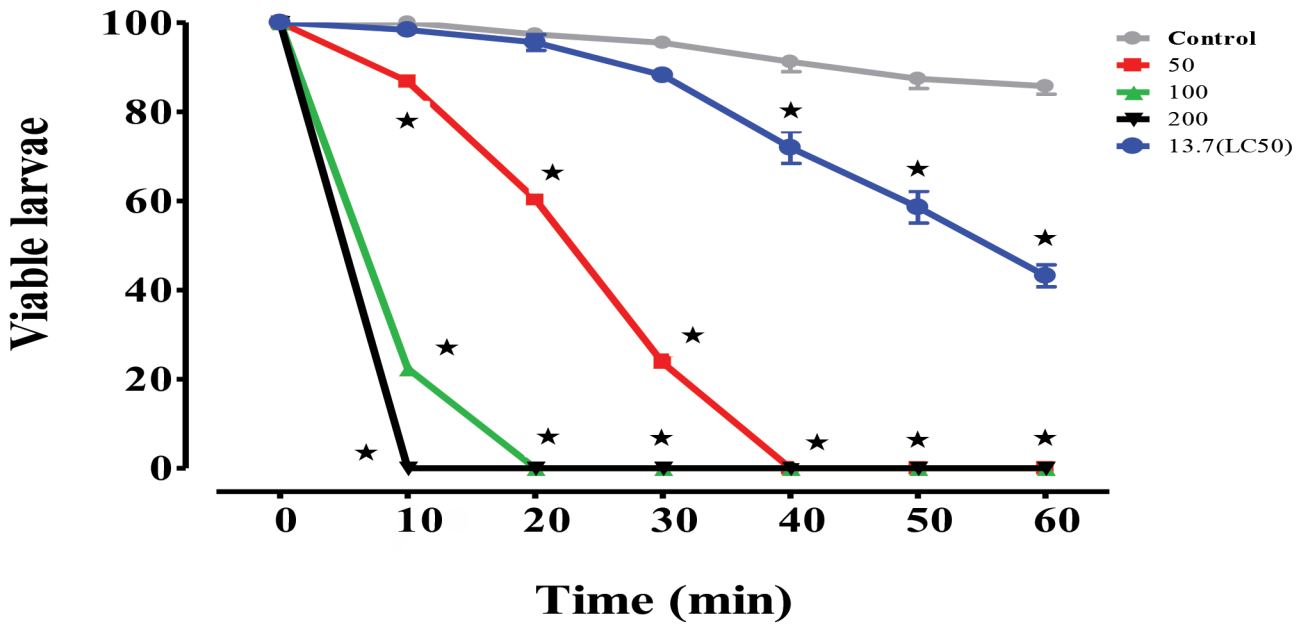
منابع مورد استفاده

1- Ademola, I.O. and J.N. Eloff. 2010. In vitro anthelmintic activity of Combretum molle (Combretaceae) against *Haemonchus contortus* ova and larvae. *Veterinary Parasitology*, 169: 198-203.

2- Akhtar, M.S., Z. Iqbal, M.N. Khan and M. Lateef. 2000. Anthelmintic activity of medicinal plants with particular reference to their use in animals in the Indo Pakistan subcontinent. *Small Ruminant Research*, 38: 99-107.

3- Akhtar, M.S. and S. Riffat. 1991. Field trial of *Saussurea lappa* roots against nematodes and *Nigella sativa* seeds against cestodes in children. *Journal of Pakistan Medical Association*, 41: 185-187.

4- Albuquerque, U.P., P.M. Medeiros, A.L. Almeida, J.M. Monteiro and E.M.F.L. Neto, J.G. Melo and J.P. Santos. 2007. Medicinal plants of the caatinga (semi-arid) vegetation of NE Brazil.



شکل ۳- اثر غلظت های مختلف عصاره متانولی گیاه سیاه دانه (۵۰، ۱۰۰،۲۰۰ و ۱۳,۷ میلی گرم بر میلی لیتر) بر زنده مانی نوزاد کرم پارآسکاریس اکوروم.

Journal of Ethnopharmacology,114: 325-354.

5- Al-Mayah, K.Sh., N.M. Al-Bashir and B.M. Al-Azzawi. 2012. In vivo efficacy of *Nigella Sativa* aqueous seed extract against metacestode of *Echinococcus granulosus*. *Medical Journal of Babylon*, 9(1): 140-151.

6- Al-Shaibani, I.R.M., M.S. Phulan, A. Arijo, T.A. Qureshi and A.M. Kumbher. 2008. Anthelmintic activity of *Nigella sativa* L, seeds on gastrointestinal nematodes of sheep. *Pakistan Journal of Nematology*, 26(2): 207-218.

7- Asase, A., A.A. Oteng-Yeboah, G.T. Odamtten, M.S.J. Simmonds. 2005. Ethnobotanical study of some Ghanaian anti-malarial plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 99(2): 273-27.

8- Athanasiadou, S., O. Tzamaloukas, I. Kyriazakis, F. Jackson and R. Coop. 2005. Testing for direct anthelmintic effects of bioactive forages against *Trichostrongylus colubriformis* in grazing sheep. *Veterinary Parasitology*, 127: 233-243.

9- Ayaz, E., H. Yilmaz, H. Ozbek, Z. Tas and O. Orunc. 2007. The effect of *Nigella sativa* oil against *Aspiculuris tetraptera* and Hymenolepis nana in naturally infected mice. *Saudi medical Journal*, 28: 1654-1657.

10- Boersema, J.H., M. Eysker and J.W. Nas. 2002. Apparent resistance of *Parascaris equorum* to macrocyclic lactones. *Veterinary Record*, 150: 279-281.

11- Boyle, A.G. and R. Houston. 2006. Parasitic pneumonitis and treatment in horses; *Clinicla Techniques in Equine Practice*, 5: 225-232.

12- Clayton, H.M. 1986 Ascarids recent advances. Veterinary Clinics of North America: *Equine Practice*, 21: 313-328.

13- Githiori, J.B., S. Athanasiadou and Thamsborg S.M. 2006. Use of plants in novel approaches for control of gastrointestinal helminths in livestock with emphasis on small ruminants. *Veterinary Parasitology*, 139(4): 308-320.

14- Hammond, J.A., D. Fieding and S.C. Bishop. 1997. Prospects for plant anthelmintics in tropical veterinary medicine. *Veterinary Research Communications*, 2: 213-228.

15- Hearn, F.P.D. and A.S. Peregrine. 2003. Identification of foals infected with Parascaris equorum apparently resistant to ivermectin. *Journal of Veterinary Medicine Association*, 233: 482-485.

16-Hounzangbe-Adote, M.S., V. Paolini, I. Fouraste, K. Moutairou, H. Hoste. 2005. In vitro effects of four tropical plants on three life-cycle stages of the parasitic nematode, *Haemonchus contortus*. *Research in Veterinary Science*, 78: 155-160.

17- Hördegen, P., H. Hertzberg, J. Heilmann, W. Langhans and V. Maurer. 2007. The anthelmintic efficacy of five plant products against gastrointestinal trichostrongylids in artificially infected lambs. *Veterinary Parasitology*, 117: 51-60.

18- Hussain, A., M.N. Khan, Z. Iqbal and M.S. Sajid. 2008. An account of the botanical anthelmintics used in traditional veterinary practices in Sahiwal district of Punjab, Pakistan. *Journal of Ethnopharmacology*, 119: 185-190.

19- Iqbal, Z., M.A. Munir, M. Khan, M.S. Akhtar and I. Javed. 2001. In vitro inhibitory effects of *Sorghum bicolor* on hatching and moulting of *Haemonchus contortus* eggs. *International Journal of Agriculture and Biology*, 3: 451-453.

20- Iqbal, Z., M. Lateef, M. Ashraf and A. Jabbar. 2004. Anthelmintic activity of *Artemisia brevifolia* in sheep. *Journal of Ethnopharmacology*, 93: 265-268.

21- Jabbar, A., M.A. Zaman, Z. Iqbal, M. Yaseen and A. Shamim. 2007. Anthelmintic activity of *Chenopodium album* (L.) and *Caesalpinia crista* (L.) against trichostrongylid nematodes of sheep. *Journal of Ethnopharmacology*, 114: 86-91.

22- Mahmoud, M.R., H.S. El-Abhar and S. Saleh. 2002. The effect of *Nigella sativa* oil against the liver damage induced by *Schistosoma mansoni* infection in mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 79: 1-11.

23-Melo, A.C., I.F. Reis, C.M.L. Bevilaqua, L.S. Vieira, F.A.M. Echevarria and Melo, L.M. 2003. Nematódeos resistentes a anti-helmínticos em rebanhos de ovinos e caprinos do estado do Ceará, Brasil. *Ciênc Rural*, 33: 339-344.

24- Näreaho, A., K. Vainio and A.Oksanen. 2011. Impaired efficacy of ivermectin against *Parascaris equorum*, and both ivermectin and pyrantel against strongyle infections in trotter foals in Finland. *Veterinary Parasitology*, 182: 372–377.

25- Niezen, J., T. Waghorn, W. Charleston and G. Waghorn. 1995. Growth and gastrointestinal nematode parasitism in lambs grazing either lucerne (*Medicago sativa*) or sulla (*Hedysarum coronarium*) which contains condensed tannins. *Journal of Agricultural Science*, 125: 281-289.

26- Rakhshandehroo, E., M. Asadpour, A. Jafari and S.H. Malekpour. 2016. The effectiveness of *Cinnamomum zeylanicum*, *Punica granatum* flower and *Capsicum annuum* extracts against *Parascaris equorum* infective larvae. *Journal of Faculty of Veterinary Medicin Istanbul University*, 42(2): 132-137.

27- Rakhshandehroo, E., M. Asadpour, A. Jafari and S.H. Malekpour. 2016. The anthelmintic effects of five plant extracts on the viability of *Parascaris equorum* larvae. *Equine Veterinary Education*, 29: 219-224.

28- Rizvi, W., A. Kumar, N.H. Rizvi, R. Ahmad, K.C. Singhal and A. Khan. 2005. Antifilarial activity of *Nigella sativa* on *Setaria cervi*-an in vitro study. *Oriental Pharmacology and Experimental*

Medicine, 5(3): 240-245.

29- Rochfort, S., A.J. Parker and F.R. Dunshea. 2008. Plant bioactives for ruminant health and productivity. *Phytochemistry*, 69: 299-322.

30- Shalaby, H.A. and F.M. El-Moghazy. 2013. In vitro effect of *Nigella sativa* oil on adult *Toxocara vitulorum*. *Pakistan Journal of Biological Science* 16: 1557-1562.