

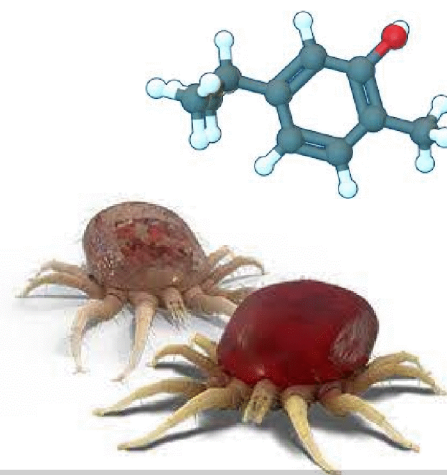
ISPITIVANJE KONTAKTNE I REZIDUALNE TOKSIČNOSTI KARVAKROLA U KONTROLI *Dermanyssus gallinae* U USLOVIMA *IN VITRO*

Radomir Ratajac, Jelena Petrović, Ivan Pušić,
Igor Stojanov, Ivan Pavlović, Aleksandar Pavlićević

Naučni Institut za veterinarstvo "Novi Sad", Novi Sad, Srbija

Naučni institut za veterinarstvo Srbije, Beograd, Srbija

"Aves mit" d.o.o., Bajmok –Subotica, Srbija

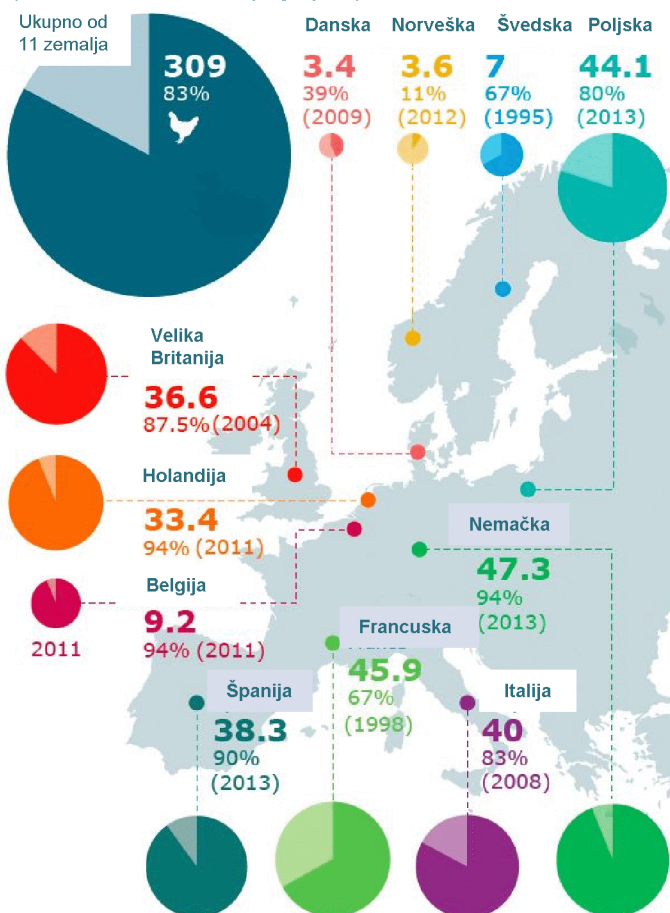


Dermanissus gallinae De Geer (1778) - crvena kokošija grinja

Smatra se najvažnijom štetčinom u industriji proizvodnje jaja, posebno u Evropi.

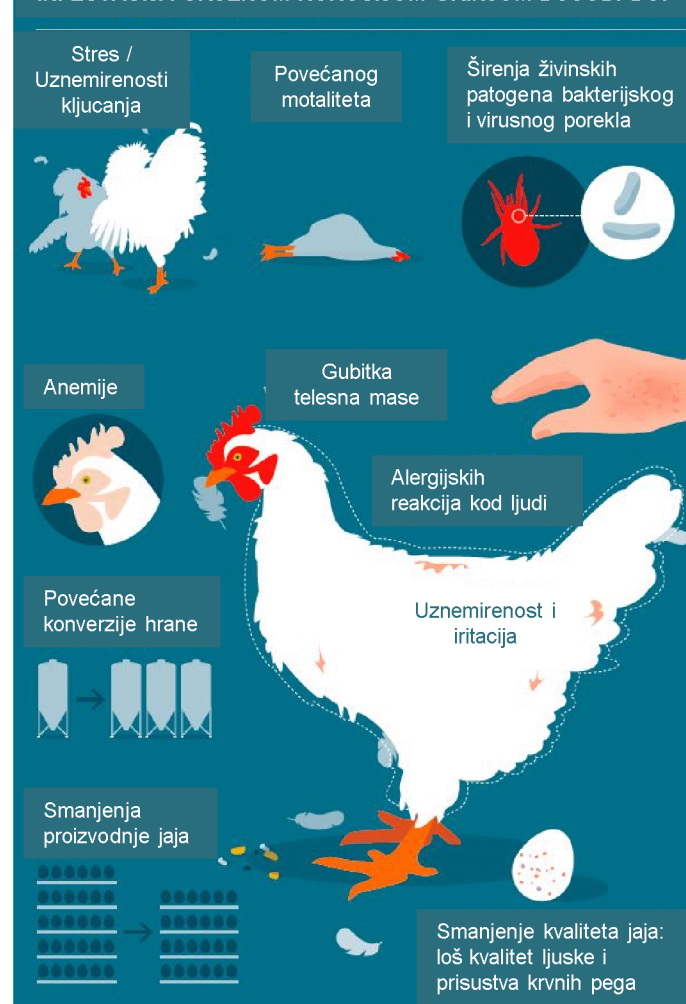
INFESTACIJA CRVENOM KOKOŠIJOM GRINJOM U EVROPI

Broj koka nosilja po državama u milionima (2012) i prevalenca crvene kokošije grinje u procentima.

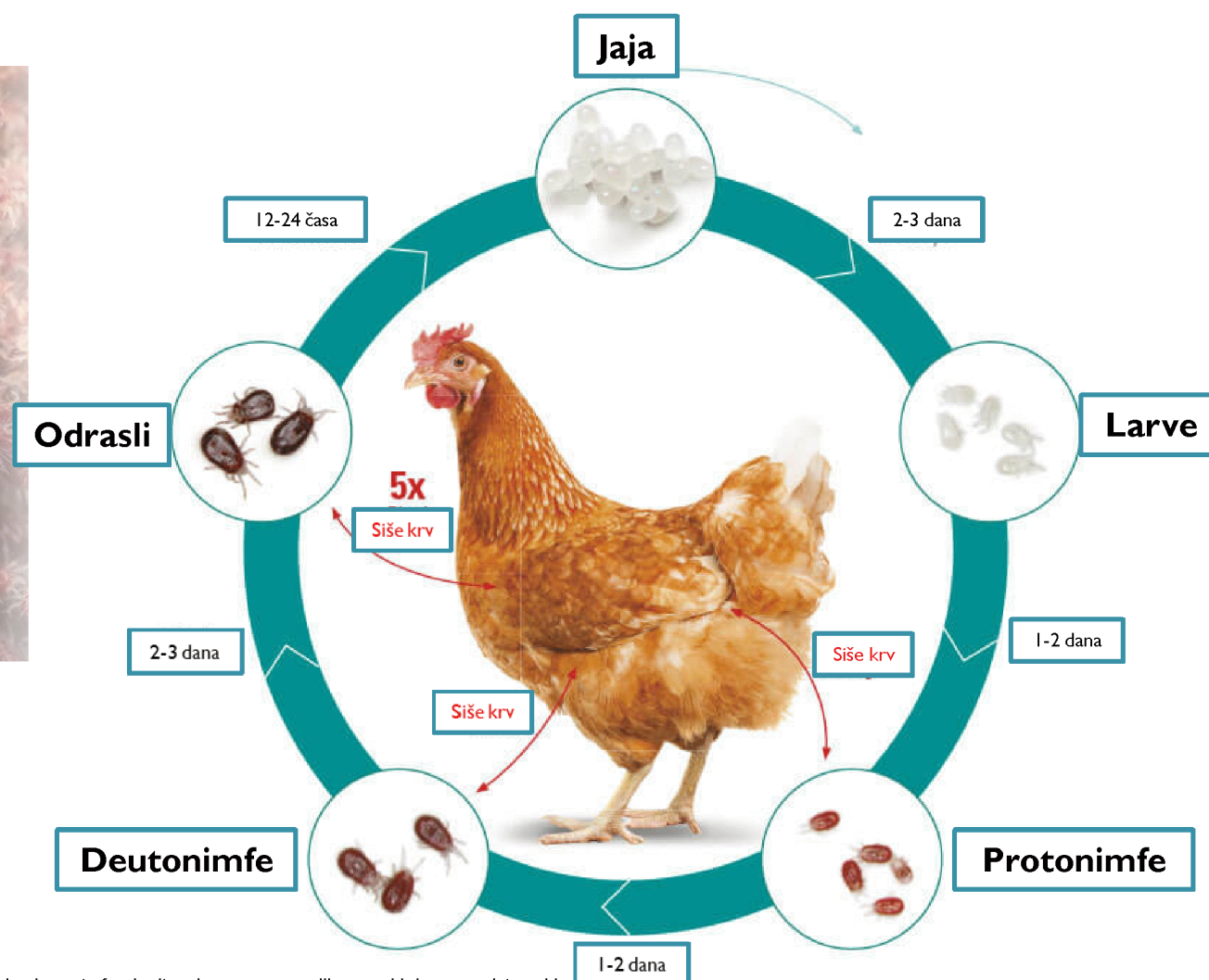


<http://www.henhub.eu/fp/4-5-1-poultry-red-mites/>

INFESTACIJA CRVENOM KOKOŠIJOM GRINJOM DOVODI DO:



Životni ciklus crvene kokošije grinje – *Dermanyssus gallinae*



<https://www.thepoultrysite.com/articles/growing-impact-of-red-mites-dermanyssus-gallinae-on-birds-a-complete-guide>

Dermanissus gallinae De Geer (1778) - crvena kokošija grinja

- Grinje mogu poslužiti kao nosioci patogeni živine
 - bakterije: *Salmonella spp.*, *P. multocida*, *Chlamydia spp.*, *Borrelia anserina*, *Erysipelothrix rhusiopathiae*, *Listeria monocytogenes*, *Coxiella Burnetti*
 - viruse: Newcastle bolest (paramyxovirus), Avian Influenza A, ptičija leukoza, ptičije boginje, Equine Encephalitis Virus, St. Louis Encephalitis (arbovirus)
- Zoonoza: čovjek - može poslužiti kao potencijalni domaćin (Chauve 1998; Sparagano *et al.* 2009).

Zabeleženi su slučajevi (gamasoidosis – dermanyssosis) i prenosa bolesti kod ljudi povezanih sa crvenim kokošijim grinjama - George *et al.* (2015) .

- Najvažniji faktori rizika za unošenje *D. gallinae* na živinske farme
 - Izvan farme:
 - uvođenje novih jata
 - transportni kavezi i vozilo
 - polovni kavezi i oprema
 - polovna ambalaža
 - Unutar farme:
 - linija izdubavanja i čišćenja
 - transporteri za jata
 - remont kaveza i opreme
 - osoblje
 - sredstva za održavanje
 - velike invazije glodara, muva i divljih ptica

Kontrola populacije *Dermanissus gallinae* na živinarskim farmama

- Biocidi (foksim, avermektin, ciflutrin, fluralaner)

- ?
 - pitanja bezbednosti
 - neželjenih efekata na neželjanim vrstama
 - rezidua u hrani animalnog porekla
 - kontaminaciji životne sredine
 - pojave rezistencije na akaricide

- Biološka

- bakterije (**spinosad** (*Saccharopolyspora spinosa*) i *Bacillus thuringensis* → neki sojevi proizvode egzotoksine)
- gljive (*Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Trichoderma album*, *Paecilomyces fumosoroseus* i *Aspergillus orizae*)
- predatorske grinje (*Androlaelaps casalis*, *Stratiolaelaps scimitus*, *Hipoaspis aculeifer*, *Hipoaspis miles* i *Cheiletus malaccensis*)

- Fizička

- Barijere
 - SiO₂, praškasti i tečni oblik
- Toplota (45°C)
 - Inertna ulja
- Svetlosni režim
 - Struja i dr.

Kontrola populacije *Dermanissus gallinae* na živinarskim farmama

- Upotreba akaricida biljnog porekla

Etarska ulja, biljni ekstrakti i sokovi,

- prednosti:
 - niži rizik od kontaminacije životne sredine
 - niska toksičnost kod sisara
 - smanjenoj mogućnosti stvaranja rezistencije (kompleksni hemijski sastav) - ?

- Vakcinacija

- prednosti:
 - može pružiti dugu zaštitu - ?
 - nema rezidua i kontaminacije životne sredine
 - manja mogućnost razvoja rezistencije
- nedostatak:
 - još uvek ne postoji vakcina koja bi praktično kontrolisala infestaciju crvenim kokošijim grinjama

- Kombinacija dve ili više ovih mera

- Zbog ograničenja navedenih mera kontrole, smatralo se da za efikasnu kontrolu crvene kokošije grinje u okviru integrisanog suzbijanja štetočina (IPM / Program kontrole tekuti) treba da se kombinuje dve ili više ovih mera.

Akaricidi – proizvodi biljnog porekla (PBP)

- Biljke se brane od napada artropoda tako što proizvode brojna hemijska jedinjenja
- Proizvodi dobijeni iz biljaka pokazuju akaricidni potencijal protiv crvenih kokošijih grinja i mogućnost da budu praktična komponenta integrisanog suzbijanja štetočinama
- Ovaj rad ima za cilj da prikaže rezultate ispitivanja spoljašnje primene aktivne komponente PBP (karvakrola) sa aspekta njene efikasnosti i mogućih ograničenja u suzbijanju *Dermanissus gallinae*.
- Poznavanje farmakološkog profila, odnosno poznavanje najvažnijih osobina proizvoda, i metode presudni su za (ne)osnovanost izbora, odnosno njihovo pravilno korišćenje
- Potencijale i ograničenja različitih PBP-a treba identifikovati kako bi se formulisao efikasan proizvod (kombinacija dva ili više PBP-a) za kontrolu *D. gallinae* koji deluje na različite razvojne faze životnog ciklusa grinje.

Akaricidi – proizvodi biljnog porekla (PBP)

Proizvod biljnog porekla	Način aplikacije	Doza i efekti	Literatura
Kopitnjak (<i>Asarum sieboldii</i>), (cela biljka) Karanfilić (<i>Eugenia caryophyllata</i>) (pupoljak) Nana (<i>Mentha arvensis</i> var. <i>piperascens</i>) (cela biljka) - ekstrahovano metanolom	Direktni kontakt	Pri koncentraciji od 0,0063 do 0,0072 mg cm ⁻² , akaricidna aktivnost tokom 24 časa je ista kao kod profenofosa (LD ₅₀ , 0,003 mg cm ⁻²), ali slabija nego kod dichlorvos (LD ₅₀ , 0,004 mg cm ⁻²)	Kim et al. (2007)
	Isparljiva faza	Efikasnije u zatvorenim kontejnerima	
Lovorov list (<i>Laurus nobilis</i>), Citrusi (<i>Citrus</i> spp.), Pimento (<i>Pimento dioica</i>), Nana (<i>Mentha spicata</i>)	Direktni kontakt	100% mortalitet tokom 24-časa ekspozicije pri konc. 0,21 mg/cm ²	Kim et al. (2004) George et al. (2010)
Kleka (<i>Juniperus oxycerdus</i>)	Direktni kontakt	100% mortalitet tokom 24-časa ekspozicije pri konc. 0,21 mg/cm ² , mlade jedinke su više osetljive od odraslih	Kim et al. (2004) George et al. (2010)
Kasija (<i>Cassia fistula</i>)	Isparljiva faza/ Fumigacija	24 časa LD ₅₀ : 11,79–26,40 µg cm ⁻³	Na et al. (2011)
Macina trava (<i>Nepeta cataria</i>)	Terenske zamke (repelentna aktivnost)	Redukcija uhvaćenih grinja tokom 24 časa (5 mg/zamka)	Birkett et al. (2011)
Cimet (<i>Cinnamomum camphora</i>)	Direktni kontakt	Konc. 0,0063–0,0072 mg cm ⁻² , acaridna aktivnost tokom 24 časa je ista kao kod profenofosa (LD ₅₀ , 0,003 mg cm ⁻²), ali slabija nego kod dihlorvos (LD ₅₀ , 0,004 mg cm ⁻²)	Kim et al. (2007)
	Isparljiva faza	Efikasnije u zatvorenim kontejnerima	
Cimet (<i>Cinnamomum fistula</i>)	Isparljiva faza/ Fumigacija	24 časa LD ₅₀ : 11,79–26,40 µg cm ⁻³	Na et al. (2011)
Cimet (<i>Cinnamomum verum</i>)	Isparljiva faza/ Fumigacija	24 časa LD ₅₀ : 11,79–26,40 µg cm ⁻³ Povećana ovicidalna aktivnost	Na et al. (2011)
	Direktni kontakt	100% mortalitet tokom 24 časa ekspozicije pri konc. od 1,3 µg/m ²	George et al. (2010) Lee, Kim, et Kim (2019)
Karanfilić (<i>Eugenia caryophyllata</i>) pupoljak	Direktni kontakt	100% mortalitet tokom 24 časa ekspozicije; mlade jedinke su više osetljive nego odrasle (0,21 mg/cm ²)	George et al. (2010) Kim et al. (2004)
	Fumigacija	100% mortalitet tokom 24 časa ekspozicije pri konc. od 1,3 µg/m ²	Lee, Kim, et Kim (2019)
Korijander (<i>Coriandum sativum</i>)	Direktni kontakt	100% mortalitet tokom 24 časa ekspozicije; mlade jedinke su više osetljive nego odrasle (0,21 mg/cm ²)	Kim et al. (2004) Magdaş et al. (2010)
	Fumigacija	100% mortalitet tokom 24 časa ekspozicije	Kim et al. (2004)
Eukaliptus (<i>Eucalyptus citriodora</i>)	Direktni kontakt	85% mortalitet tokom 24 časa u poređenju sa E. radiata, E. globulus i E. staigeriana (0,21 mg/cm ²)	George et al. (2009)
Luk (<i>Allium sativum</i>)	Direktni kontakt	Povećana ovicidalna aktivnost (0,21 mg/cm ²) Visok mortalitet mladih (0,21 mg/cm ²)	George et al. (2010)
	Sprej	I dan: 92,05%; II dan: 74,62% (brz knock-down efekat ali niska rezidualna aktivnost)(0,07 mg/cm ²)	Ranjbar-Bahadori, Farhadifar, et Mohammadyar (2014)
	Direktni kontakt	Smanjenja reprodukcija 100% u poređenju sa kontrolom; Smanjeno preživljavanje 7 dana posle kontakta 66,1–91,5%, u poređenju sa kontrolom (100% koncentracija)	Maurer, Perler, et Heckendorn (2009)

Akaricidi – proizvodi biljnog porekla (PBP)

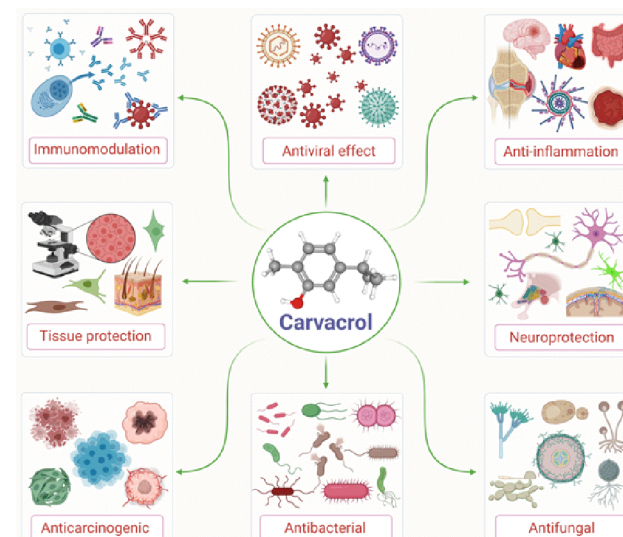
Proizvod biljnog porekla	Način aplikacije	Doza i efekti	Literatura
Geranol iz indijskog geranijuma (<i>Cymbopogon martinii</i>)	Direktni kontakt	100% mortalitet tokom 24 časa ekspozicije (0,02–0,07 mg/cm ²)	George et al. (2009)
Hren (<i>Armoracia rusticana</i>)	Direktni kontakt / Fumigacija	100% mortalitet tokom 24 časa ekspozicije	Kim et al. (2004)
Zvezdasti anis (<i>Illicium verum</i>), (plod) Protivak (<i>Lysimachia davurica</i>) (list)- ekstrahovano metanolom	Direktni kontakt	Pri konc. 0,09 mg cm ⁻² , akaricidna aktivnost je ista kao kod benfuracarba, protiofosa, propoksura, i fentiona (0,053–0,070 mg cm ⁻²)	Kim et al. (2007)
	Isparljiva faza	Efikasnije u zatvorenim kontejnerima	
Lavanda (<i>Lavandula spica</i>)	Direktni kontakt	66–90% mortalitet tokom 24 časa (neposredni kontakt sa tretiranim filter papirom)/≤11% mortalitet (tretirani filter papir ostavljen 24 časa pre kontakta) (0,14mg/cm ³)	George et al. (2008)
Crna slačica (<i>Brassica nigra</i>)	Direktni kontakt / Fumigacija	100% mortalitet tokom 24 časa ekspozicije	Kim et al. (2004)
Manuka (<i>Leptospermum scoparium</i>)	Direktni kontakt	89% mortalitet tokom 24 časa ekspozicije (0,21 mg/cm ²)	George et al. (2010)
	Fumigacija	Visok mortalitet u zatvorenom prostoru (0,21 mg/cm ²)	
Nim (<i>Azadirachta indica</i>)	Direktni kontakt	Populacija grinja se smanjila na impregniranim trakama sa 20% uljem nima	Lundh, Wiktelius, et Chirico (2005)
	Sprej	22.1–100% mortalitet zavisno od porekla grinja, dužine kontakta i doze (1:40 do –1:50 raspon rastvora)	Abdel-Ghaffar et al. (2009)
		80% redukcija u broju tokom prvog tretmana; povećana redukcija posle drugog tretmana (1:40 do –1:50 raspon rastvora)	Abdel-Ghaffar et al. (2008)
Narandža (<i>Citrus sinensis</i>)	Direktni kontakt	Smanjenje reprodukcije 100% u poređenju sa kontrolom; Smanjenje preživljavanja 7 dana posle kontakta za 87,8% u poređenju sa kontrolom (5 g/L)	Maurer, Perler, et Heckendorn (2009)
Nana (<i>Mentha pulegium</i>)	Direktni kontakt	100% mortalitet tokom 24 časa ekspozicije (0,21 mg/cm ²)	Kim et al. (2004)
		Visoka ovicidalna aktivnost; mladi su više osetljivi od odraslih (0,21 mg/cm ²)	George et al. (2010)
	Fumigacija	Visok mortalit u zatvorenom prostoru (0,21 mg/cm ²)	George et al. (2009)
		100% mortalitet tokom 24 časa ekspozicije pri konc. od 1,3 µg/m ²	Lee, Kim, et Kim (2019)
Ekstrakti hrizantema (<i>Chrysanthemum</i>)	Direktni kontakt	Smanjenje reprodukcije 100% u poređenju sa kontrolom; Smanjenje preživljavanja 4 časa posle kontakta za 50% u poređenju sa kontrolom; Smanjenje preživljavanja 7 dana posle kontakta za 69,6–98,8% u poređenju sa kontrolom	Maurer, Perler, et Heckendorn (2009)
Uljana repica (<i>Brassica napus</i>)	Direktni kontakt	Smanjenje reprodukcije 60% u poređenju sa kontrolom; Smanjenje preživljavanja 7 dana posle kontakta za 84,1% u poređenju sa kontrolom (1000 g/L)	Maurer, Perler, et Heckendorn (2009)
Muškatla (<i>Pelargonium graveolens</i>)	Direktni kontakt	100% mortalitet tokom 24 časa ekspozicije (0,1 mg/cm ²)	Ghrabi-Gammar et al. (2009)
Bosiljak (<i>Ocinum basilicum</i>), Nana (<i>Mentha piperita</i>), Čubar (<i>Satureja hortensis</i>)	Direktni kontakt	100% mortalitet tokom 24 časa ekspozicije (0,6 mg/cm ²)	Magdaş et al. (2010)
Timijan (<i>Thymus vulgaris</i>)	Fumigacija	100% mortalitet tokom 24 časa ekspozicije	Kim et al. (2004)
		Visok mortalitet u zatvorenom prostoru	George et al. (2009)
	Sprej	Posle aplikacije: 1 dan: 89,4%, 7 dan: 95,37% (0,21 mg/cm ²)	Ranjbar-Bahadori et al. (2014)
		100% mortalitet tokom 24 časa pri konc. 1,3 µg/m ²	Lee, Kim, et Kim (2019)
	Direktni kontakt	Visoko toksičan; brz knockdown efekat (0,21 mg/cm ²)	George et al. (2010a)
		78–88% decrease in total mite population (0,917 g/ml)	Pritchard et al. (2016)

Akaricidi – proizvodi biljnog porekla (PBP)

- Niz istraživanja *in vitro*, i manji broj *in vivo*, spoljašnje primene PBP ukazuju na prisustvo i karakter dejstva EU na *Dermanissus gallinae*
- Postoji bitna razlika u metodologiji (spoljašnje primene PBP) ispitivanja istraživača. Metoda ispitivanja *in vitro* ima zadatak da simulira praktične uslove, kako bi dobijene informacije mogle biti primenjive u živinarstvu
- Kontaktno dejstvo → prvi uslov efikasnosti preparata → dalje treba da proistekne produženo delovanje → efikasnost i trajanje produženog delovanja je odlučujući faktor za uspešnu kontrolu *D. gallinae*.
- Samo kontaktno – direktno dejstvo → kratkotrajni ili prividni rezultat suzbijanja (ne utiče na veliki deo invazije, posebno onaj skriveni deo) → nije dovoljno za racionalnu kontrolu *D. gallinae*

Karvakrol

- Karvakrol je monoterpenski fenol koji se pojavljuje kod mnogih etarskih ulja iz familije usnatice (*Lamiaceae*), uključujući *Origanum* (origano...), *Satureja* (Rtanjski čaj ...), *Thymus* (majkina dušica...) vrste
- Karvakrol je pokazao u dosadašnjim istraživanjima da ima široku insekticidnu i akaricidnu aktivnost protiv poljoprivrednih, skladišnih i medicinskih štetočina – artropoda
- Efikasnost prema *D. gallinae*:
 - Direktna - karvakrola $1\mu\text{g}/\text{cm}^2$, - timola $3,15\mu\text{g}/\text{cm}^2$, - permetrin $31,95\mu\text{g}/\text{cm}^2$, ali većim delom zasnovana na isparljivoj fazi (Tabari *et al.*, 2015).
 - Kontaktno dejstvo karvakrola i timola u conc. 0,5% / 24č → 100% efikasnost (Sauers, 2009).
 - Karvakrol i timol / sinergetsko dejstvo – najduže rezidualno dejstvo ispoljava u odnosu 4:1
Dozno zavisno - ↑ conc. 2% / ekspozicija 48č:
→ 100% efikasnost (I-III dana)



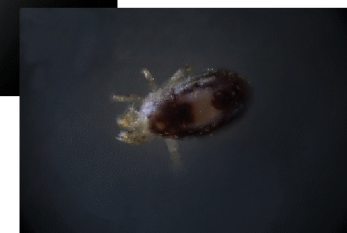
Korišćeni materijal i metode



- Biološki test je vršen na adultima *D. gallinae* (uzorkovani sa kaveza visoko infestiranih farmi)
- U laboratorijskim uslovima primenom metode Petrijeve posude, akaricidna efikasnost karvakrola, u koncentracijama od 0,5 i 0,3%.
- Broj jedinki *D. gallinae*
 - ogledne grupe 100 (5 x 20 jedinki)
 - kontrolna grupa 20 jedinki po testu.
- Ispitivanje kontaktne toksičnosti (direktno izlaganje *D. gallinae* u trajanju od 1 minuta ispitivanoj supstanci)
- Ispitivanje rezidualne toksičnosti (1dan nakon nanošenja ispitivane supstance na površinu posude, izlaganje *D. gallinae* u trajanju od 1 sata)
- Mortalite se procenjivao nakon 48 časova vizuelnim pregledom: položaj ekstremiteta i tela, pokretljivost, morfološke promene

Rezultati ispitivanja

- Kontaktna toksičnost karvakrola u koncentracijama od:
 - 0,5% → 100% mortalitet
 - 0,3% → 99% mortalitet
- Rezidualna toksičnosti karvakrola u koncentracijama od:
 - 0,5% → 6% mortalitet
 - 0,3% → 3% mortalitet
- Preživljavanje adultnih formi grinja prati i prinos jaja. U testu rezidualne toksičnosti prinos jaja je bio:
 - Koncentracija karvakrola 0,3% → 47% slučajeva
 - Koncentracija karvakrola 0,5% → 33% slučajeva



Zaključci

- Dobijeni rezultati ukazuju na to da se efikasnost karvakrola protiv grinja, koje su bile direktno izložene, u velikom procentu gubi naknadnim izlaganjem, tako da se ne očekuje produženi efekat od značaja.
- Uzimajući u obzir dobijene rezultate ispitivanja i neophodne elemente za suzbijanje *D. gallinae*, možemo zaključiti da kod potencijalne eksterne primene karvakrola, uprkos nekim dobrim karakteristikama, postoje ograničenja i da u čistoj formulaciji nije racionalan izbor za suzbijanje grinja kod živine.
- Dosadašnji izostanak masovne upotrebe preparata na biljnoj bazi u praksi, koji bi se koristio kao akaricid putem spoljašnje primene, dodatno potvrđuje ispravnost iznesene procene.
- Sa razvojem novih tehnoloških postupaka dobijanja PBP i izradom novih formulacija, otvaraju se nove perspektive. Samo poboljšanja koja bi dovela do drastičnog povećanja rezidualnog dejstva, mogu dovesti do šireg uključivanja PBP u kontrolu *D. gallinae*



HVALA
NA
PÅZEN
19