JVM Journal of Veterinary Microbiology

نشریه میکربیولوژی دامپزشکی/ دوره نهم، شماره دوم، ۱۳۹۲، پیاپی ۲۷: ۱۰۹-۹۹

کنترل بیولوژیک کنه بالغ *آرگاس پرسیکوس* توسط سویه‌های مختلف قارچ انتوموپاتوژن *متاریزیوم آنیزوپلیه* در شرایط آزمایشگاهی

خداداد پیرعلی خیرآبادی[1*]، امیر دهقانی سامانی[2]، صفورا نجفی دهکردی [3]، محمد صادقی مهر[3]

۱. دانشیار گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

۲. دانشجوی دوره دکترای عمومی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

۳. دانش آموخته دوره دکترای عمومی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

تاریخ دریافت: ٤ خرداد ۱۳۹۲ تاریخ پذیرش: ۸ تیر ۱۳۹۲

چکیده

آرگاس پرسیکوس به عنوان یکی از دغدغه‌های دامپزشکی در طیور اهلی و وحشی مطرح است که سبب بروز ضعف، کم خونی، کاهش در تولید، کاهش در رشد و حتی مرگ و میر در پرندگان می‌شود. این کنه ناقل بسیاری از بیماری‌های مهم نیز می‌باشد. در این مطالعه تعداد ۱۵۰ کنه‌ی بالغ آرگاس پرسیکوس در ۱۵ گروه ده تایی شامل گروه‌های درمان و کنترل به صورت ۳ بار تکرار قرار گرفتند. کنه‌ها به صورت انفرادی و استریل ۵-۳ ثانیه در سوسپانسیون قارچی حاوی $۲/۴\times ۱۰^{۷}$ کنیدیوم در هر میلی لیتر غوطه ور شدند و در گروه کنترل نیز در آب مقطر استریل همراه با توئین ۸۰ بدون اسپور غوطه ور شده و به مدت ۲۰ روز مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج نشان داد قارچ‌های مورد آزمایش حدت متفاوتی داشتند. روز بیستم در کنه‌های آرگاس مرگ و میر و رشد میسلیوم‌های قارچی روی کنه‌های تحت درمان در جدایه‌ی DEMI 002 ۹۶/۶ درصد و در سه جدایه‌ی IRAN 437 C، IRAN 715 C و DEMI 002 ۱۰۰درصد گزارش شد. به علاوه بین گروه‌های درمان و کنترل اختلاف معنی دار بود. مطابق نتایج، جدایه IRAN 437 C حادترین و DEMI 002 ضعیف‌ترین جدایه‌های قارچی مورد آزمایش در این مطالعه بودند. نتایج این تحقیق اثر کشندگی سویه‌های قارچی انتوموپاتوژن را به عنوان یک ترکیب بیوکنترل جایگزین علیه آرگاس پرسیکوس به عنوان یک کنه مهم در طیور نشان داد. تحقیقات بیشتری برای اثبات این نتایج در این زمینه نیاز است.

کلمات کلیدی: *آرگاس پرسیکوس، کنترل بیولوژیک، متاریزیوم آنیزوپلیه.*

* *نویسنده مسئول: خداداد پیرعلی خیرآبادی*

آدرس: گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران. تلفن: ۰۹۱۳۳۸۱۶۴۸۴

پست الکترونیک: khpirali@yahoo.com

مقدمه

کنترل یک آفت توسط دشمنان طبیعی و سایر آفات اختصاصی آن را کنترل بیولوژیک گویند. در سال‌های اخیر کنترل بیولوژیک حیوانات از جمله بندپایان به عنوان یکی از روش‌های جایگزین دارو درمانی مورد استقبال تعداد کثیری از محققان انگل شناسی قرار گرفته است. در حال حاضر یکی از مشکلات کنترل بندپایان انگلی، مقاومت آنها در برابر سموم است. کنترل شیمیایی و استفاده از ترکیبات ضدکنه‌ای ساده‌ترین و سهل‌الوصول‌ترین راهی بوده که دولت‌ها و تولیدکنندگان برای کنترل این آفت و کاهش زیان‌های وارده برگزیده‌اند. اختصاص ۲۸/۱ درصد از بازار جهانی ۱۱/۳ میلیارد دلاری فرآورده‌های بهداشتی دام در سال ۲۰۰۰ به داروهای ضدانگلی نشان از گرایش، تصمیم و فرهنگ رفتاری است که ریشه در عمق باور مصرف کنندگان دارد. طبق آمار انتشار یافته از سوی سازمان خوار و بار کشاورزی سازمان ملل (FAO)، ۸۵/۷٪ کشورهای جهان اعلام کرده‌اند که بازار داروهای ضدانگلی خوبی در کشورشان دارند و ترکیبات شیمیایی را تنها راه کنترل بیماری‌های انگلی به خصوص انگل‌های خارجی می‌دانند (۶).

مرور تحقیقات انجام شده از شروع قرن بیستم تا سال ۱۹۹۹ در مورد مقایسه اثر باکتری ها، قارچ ها، عنکبوت ها، مورچه‌ها، سوسک‌ها، جوندگان، پرندگان و سایر عوامل کنترل بیولوژیک بر کاهش جمعیت کنه‌ها نشان می‌دهد که مهم‌ترین این عوامل کنترل کننده، برخی از قارچ‌ها از جمله جنس *متاریزیوم* (*Metarhizium*) می‌باشند و تاکنون چندین قارچ در این مورد شناسایی شده‌اند (۲۳،۲۲،۲۱،۲۰،۱۹،۱۸،۱۱،۷،۵،۳). در حقیقت تعدادی از قارچ‌ها میزبان‌های متعددی دارند از جمله قارچ *متاریزیوم آنیزوپلیه* که دارای گسترش جهانی است (۲۳و۱۳). تلاش‌های بسیار کمی برای ارزیابی پتانسیل و توانایی قارچ‌های انتوموپاتوژن در کنترل ناقلین بیماری‌های انسان و حیوان مانند *آرگاس پرسیکوس* انجام شده است. کنه‌ها انگل اجباری و خونخوار مهره داران به ویژه پستانداران و پرندگان می‌باشند که با گزش خود حیوانات اهلی را ضعیف و ناتوان کرده و موجب ضایعات ناشی از ترومـا، سوزش، التهاب و افزایش حساسیت در آن ها می‌شوند. تغذیه تعداد زیاد آنها حیوانات را مبتلا به کم خونی نموده و موجب کاهش تولید می‌شوند. ترشحات بزاقی برخی از گونه‌های کنه، حیوانات را دچار مسمومیت و فلجی نموده و عوامل مختلف بیماری‌زای ویروسی، ریکتزیایی، تک یاخته ای و باکتریایی را به حیوانات و انسان منتقل می کنند (۱۲و۱۷). قارچ‌های انتوموپاتوژن به فراوانی در طبیعت یافت شده، به آسانی قابل جمع آوری و تکثیر بوده و برای دام ها و گیاهان غیرپاتوژن هستند. این قارچ ها شامل گروه منحصر به فردی از قارچ های پاتوژن حشرات هستند که بلع آنها توسط میزبانشان ضروری نبوده و عفونت زایی توسط نفوذ مستقیم در کوتیکول کنه‌ها هم امکان پذیر است (۹و۱۹).

با توجه به مقاومت روزافزون حشرات به حشره کش‌های شیمیایی استفاده از عوامل بیماری زای بیولوژیک مانند قارچ‌ها می‌تواند به عنوان راه کاری درخور توجه به کار گرفته شود (۱و۲). در کشور ما به دلیل بافت سنتی دامداری و خسارات ناشی از بندپایان خصوصا کنه‌ها لزوم مطالعه‌ای در خصوص کنترل بیولوژیک کنه‌های *آرگاس پرسیکوس* که معضل بزرگی در انتقال اجرام ریکتزیایی، ویروسی، تک یاخته ای و باکتریایی به دام و طیور هستند به عنوان یکی از

روش‌های جایگزین یا همزمان با سموم شیمیایی ضروری به نظر می‌رسد.

مواد و روش کار

کنه‌های *آرگاس* خون خورده مورد نیاز از مناطق مرکزی ایران (استان قم) از جایگاه نگهداری مرغان بومی‌جمع آوری و در ظروف مخصوص با قابلیت تهویه و رطوبت مناسب (حدود ۲۵- ۱۵ کنه در هر ظرف) به آزمایشگاه منتقل گردید. چهار جدایه بومی از قارچ *متاریزیوم آنیزوپلیه*، از موسسه تحقیقات آفات و بیماری‌های گیاهی وزارت جهاد کشاورزی تهیه گردید. مشخصات قارچ‌های مورد استفاده در جدول ۱ آمده است.

کنه‌ها بلافاصله پس از رسیدن به آزمایشگاه در الکل اتیلیک ۷۰٪ ضدعفونی شدند. سالم بودن کنه‌های بالغ خون خورده مهم بود و در اسرع وقت پس از جمع آوری مورد ارزیابی قرار گرفتند. کنه‌های صدمه دیده و تغییر رنگ داده حذف شدند. کنه‌های سالم دارای حرکت بودند و برای ارزیابی چنان چه کنه‌ها در زیر یک منبع نور قرار می‌گرفتند کنه‌ها به سمت نور حرکت می‌کردند (۶). برای انجام آزمایش، سوسپانسیونی حاوی $۲/۴\times۱۰^{۷}$ کنیدیوم در هر میلی لیتر از هر کدام از ۴ جدایه تهیه گردید و در یخچال با دمای ۴ درجه سانتیگراد نگه داری شد.

برای هر جدایه قارچی سه گروه درمان (۳ بار تکرار) از هر کنه‌ی مورد آزمایش، در غالب گروه‌های ۱۰ تایی کنه در نظر گرفته شد، هم چنین ۳۰ عدد کنه به عنوان گروه کنترل منفی در سه گروه ۱۰ تایی جای گرفتند که در مجموع ۱۵۰ عدد کنه‌ی *آرگاس پرسیکوس* (ماده، بالغ و خون خورده) مورد استفاده قرار گرفت.

در گروه‌های درمان، کنه‌ها به صورت انفرادی به وسیله‌ی پنس استریل ۵-۳ ثانیه در سوسپانسیون قارچی مربوطه و در گروه کنترل منفی نیز کنه‌ها ۵-۳ ثانیه در آب مقطر استریل همراه با توئین ۸۰ بدون اسپور، غوطه ور شدند. پس از غوطه وری، کنه‌ها به پتری دیش‌هایی که حاوی کاغذ صافی (کاغذ واتمن) مرطوب بود منتقل گردیدند. سپس در ژرمیناتور با دمای ۲۵ درجه سانتیگراد و رطوبت ۷۰ درصد قرار گرفتند. لازم به ذکر است کاغذهای واتمن قبل از استفاده اتوکلاو شدند و هر روز پس از مطالعه کنه‌ها چند قطره آب مقطر استریل به کف ظروف جهت تامین رطوبت اضافه گردید. تمامی گروه‌های مورد آزمایش به صورت روزانه، به مدت ۲۰ روز مورد مشاهده و بازبینی قرار گرفتند و تلفات و رشد قارچ روزانه‌ی آن‌ها ثبت شد.

طی این مطالعه تاثیر جدایه‌های قارچی *متاریزیوم آنیزوپلیه* DEMI 001، DEMI 002، IRAN 437 C، IRAN 715 C بررسی شد و تعداد ۱۵ گروه ده تایی از کنه‌های ماده خون خورده *آرگاس پرسیکوس* مورد ارزیابی قرار گرفت که در جدول۲ نشان داده شده است.

تمامی اطلاعات بدست آمده به صورت میانگین ± انحراف معیار (Mean ± SD) ارائه شده است.

آنالیز واریانس داده‌ها با استفاده از آزمون ANOVA در سطح $P<۰/۰۵$ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و در صورت وجود اختلاف معنی دار تست توکی (Tukey) جهت مقایسه میانگین‌ها در روزهای مختلف و در مجموع ۲۰ روز استفاده شد. آنالیزهای آماری با استفاده از نرم افزارهای MSTAT30 و MINITAB-13 انجام گرفت.

نتایج

روز اول، اولین موارد مرگ و میر کنه‌های *آرگاس* در اثر قارچ *متاریزیوم آنیزوپلیه* جدایه‌های IRAN 437 C، DEMI 001 و IRAN 715 C مشاهده شد و مرگ و میر گروه DEMI 002 از روز دوم شروع شد. در روز چهارم بیشترین و کمترین درصد مرگ و میر به ترتیب برای گروه‌های IRAN 715 C (۲۳/۳٪) و IRAN 437 C (۱۶/۶٪) بود و بین گروه‌های درمان اختلاف معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵). در روز هشتم، IRAN 715 C (۴۰٪) بیشترین درصد مرگ و میر را داشت و سه گروه دیگر دارای ۳۶/۶٪ مرگ و میر بودند هم چنین بین گروه‌های درمان اختلاف معنی دار مشاهده نشد (P>۰/۰۵). روز دوازدهم بیشترین درصد مرگ و میر در گروه IRAN 437 C (۷۳/۳٪) و کمترین آن در گروه DEMI 002 (۶۰٪) بود و بین گروه DEMI 002 با سه گروه درمان دیگر اختلاف معنی داری مشاهده شد (P<۰/۰۵). در روز شانزدهم IRAN 437 C (۹۶/۶٪) بیشترین و DEMI 002 (۸۳/۳٪) کمترین درصد مرگ و میر را به خود اختصاص دادند و بین گروه DEMI 002 با سه گروه درمان دیگر اختلاف معنی داری مشاهده شد (P<۰/۰۵). روز بیستم گروه DEMI 002 ۹۶/۶٪ و سه گروه دیگر ۱۰۰٪ مرگ و میر در کنه‌های تحت درمان را باعث شدند. میانگین بیست روز نیز اختلاف معنی داری بین گروه‌ها نشان نداد (P>۰/۰۵).

در روزهای ۴ و ۸ و ۱۲و ۱۶و ۲۰ بین گروه‌های تحت درمان با گروه کنترل اختلاف معنی دار بود (P<۰/۰۵). گروه‌های IRAN 437 C در روز هفدهم، DEMI 001 در روز نوزدهم و IRAN 715 C در روز بیستم به ۱۰۰٪ مرگ و میر رسیدند. همان طور که در نمودار ۱ مشهود است در ابتدا جدایه IRAN 715 C بیشترین مرگ و میر را در بین جدایه‌های مورد آزمایش داشت ولی در انتها IRAN 437 C حادّترین و DEMI 002 ضعیف‌ترین جدایه‌های مورد آزمایش بودند.

اولین موارد مشاهده میسلیوم‌های قارچی روی کنه‌های *آرگاس* طی روز دوم در تمامی گروه‌های تحت درمان بود. در روز چهارم بیشترین و کمترین درصد رشد میسلیوم‌های قارچی برای گروه‌های IRAN 715 C (۲۶/۶٪) و IRAN 437 C (۱۶/۶٪) بوده و بین گروه‌های درمان اختلاف معنی دار نبود (P>۰/۰۵). روز هشتم، IRAN 715 C (۴۳/۳٪) بیشترین درصد رشد میسلیوم‌های قارچی را داشت و سه گروه دیگر ۳۶/۶٪ بودند هم چنین بین گروه‌های درمان اختلاف معنی دار مشاهده نشد (P>۰/۰۵). روز دوازدهم بیشترین درصد رشد میسلیوم‌های قارچی در گروه IRAN 715 C (۶۳/۳٪) و کمترین آن در گروه DEMI 002 (۵۳/۳٪) گزارش شد و بین گروه‌های درمان اختلاف معنی دار نبود (P>۰/۰۵). در روز شانزدهم IRAN 437C (۹۳/۳٪) بیشترین و DEMI 002 (۷۶/۶٪) کمترین درصد رشد میسلیوم‌های قارچی را به خود اختصاص دادند که بین این دو گروه اختلاف معنی داری مشاهده شد (P<۰/۰۵). روز بیستم گروه DEMI 002 ۹۰٪ و سه گروه دیگر ۱۰۰٪ رشد میسلیوم‌های قارچی در کنه‌های تحت درمان را باعث شدند. هم چنین میانگین بیست روز نیز اختلاف معنی داری بین گروه‌ها نشان نداد (P>۰/۰۵).

در روزهای ۴و ۸ و ۱۲و ۱۶و ۲۰ بین گروه‌های تحت درمان با گروه کنترل اختلاف معنی دار بود (P<۰/۰۵). گروه‌های IRAN 437 C در روز هجدهم، DEMI 001 و IRAN 715 C در روز نوزدهم ۱۰۰٪ رشد میسلیوم‌های قارچی داشتند. در روز بیست مرگ و میر و رشد میسلیوم‌های قارچی روی کنه‌های ماده تحت درمان در گروه DEMI 002 ۹۶/۶٪ و ۹۰٪ و در سه

گروه دیگر ۱۰۰٪ گزارش شد. تا روز هشتم IRAN 715 C بالاترین سطح مرگ و میر را در بین جدایه‌های قارچی داشت که از روز دوازدهم، IRAN 437 C در بالاترین سطح مرگ و میر قرار گرفت و در روز هفدهم مرگ و میر کنه‌ها در اثر این جدایه به ۱۰۰٪ رسید. از طرف دیگر تا روز دوازدهم بیشترین رشد میسلیوم‌های قارچی مربوط به گروه IRAN 715 C بود و از روز چهاردهم تا آخر بیشترین درصد رشد میسلیوم‌های قارچی در گروه IRAN 437 C ثبت شد که در روز هجدهم روی تمامی کنه‌های این گروه (۱۰۰٪) میسلیوم‌های قارچی مشاهده شد. از بین جدایه‌های تحت مطالعه جدایه *متاریزیوم آنیزوپلیه* IRAN 437 C حاّدترین جدایه بود که باعث حداکثر مرگ و میر و رشد میسلیوم‌های قارچی در کمترین زمان شد. پس از آن DEMI 001 سپس IRAN 715 C و DEMI 002 قرار گرفتند.

نمودار۲ نمایانگر آن است که در روزهای مختلف رشد میسلیوم در بین جدایه‌ها چگونه بوده، ابتدا جدایه IRAN 715 C بالاترین توانایی رشد میسلیوم را در بین جدایه‌های مورد آزمایش دارا بود ولی در انتها IRAN 437 C بیشترین رشد میسلیوم را به خود اختصاص داد. شکل ۱ نشان دهنده‌ی میسلیوم‌های قارچی رشد کرده بر روی پیکره‌ی کنه‌هاست. اطلاعات مربوط به درصد مرگ و میر کنه *آرگاس پرسیکوس* (میانگین±انحراف معیار) بر اساس نوع جدایه قارچی تا ۲۰ روز پس از غوطه وری کنه‌ها در سوسپانسیون قارچ‌های مختلف در جدول ۳ به تفکیک نمایش داده شده است. اطلاعات مربوط به درصد رشد میسلیوم‌های قارچی روی کنه *آرگاس پرسیکوس* (میانگین±انحراف معیار) بر اساس نوع جدایه قارچی تا ۲۰ روز پس از غوطه وری کنه‌ها در سوسپانسیون قارچ‌های مختلف نیز در جدول ۴ به تفکیک نمایش داده شده است.

جدول ۱- جدایه‌های قارچی مورد استفاده در این مطالعه

غلظت مورد استفاده	محل	میزبان	جدایه	قارچ
$۲/۴\times ۱۰^{۷}$	رشت	کرم ساقه خوار برنج	IRAN 437 C	*متاریزیوم آنیزوپلیه*
$۲/۴\times ۱۰^{۷}$	اهواز	ملخ	IRAN 715 C	*متاریزیوم آنیزوپلیه*
$۲/۴\times ۱۰^{۷}$	سراوان	سوسک سرخرطومی حنایی خرما	DEMI001	*متاریزیوم آنیزوپلیه*
$۲/۴\times ۱۰^{۷}$	نور		DEMI002	*متاریزیوم آنیزوپلیه*

جدول ۲- گروه‌های تحت درمان در اثر کنیدیوم‌های مختلف قارچی

گونه	جدایه	*آرگاس پرسیکوس*	
		تکرار	تعداد
متاریزیوم آنیزوپلیه	DEMI 001	۳	۳۰
	DEMI 002	۳	۳۰
	IRAN 437 C	۳	۳۰
	IRAN 715 C	۳	۳۰
کنترل	-	۳	۳۰
جمع		۱۵	۱۵۰

جدول ۳ - اطلاعات مربوط به درصد مرگ و میر کنه *آرگاس پرسیکوس* (میانگین± انحراف معیار) بر اساس نوع جدایه قارچی تا ۲۰ روز پس از غوطه وری کنه‌ها در سوسپانسیون قارچ‌های مختلف

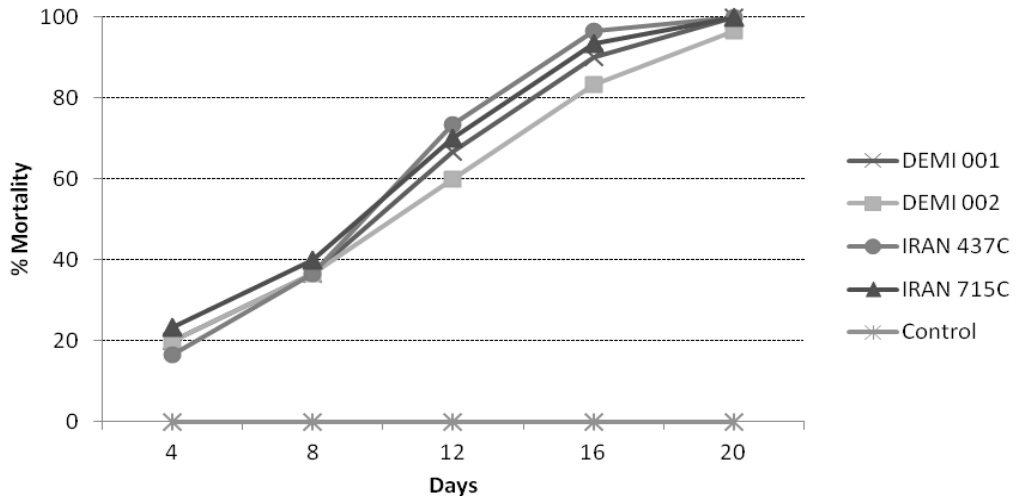
جدایه‌های *متاریزیوم آنیزوپلیه*	درصد مرگ و میر Mean ± SD					درصد مرگ و میر
	روز٤	روز۸	روز۱۲	روز۱٦	روز۲۰	میانگین ۲۰ روز
DEMI 001	a۰±۲۰	a۵/۷±۳۶/۶	ab۵/۷±۶۶/۶	ab۰±۹۰	a۰±۱۰۰	a۳۲/۹±۵۵/۵
DEMI 002	a۰±۲۰	a۵/۷±۳۶/۶	b۱۰±۶۰	b۱۵/۳±۸۳/۳	a۵/۷±۹۶/۶	a۳۰/۷±۵۲/۳
IRAN 437C	ab۵/۷±۱۶/۶	a۵/۷±۳۶/۶	a۵/۷±۷۳/۳	a۵/۷±۹۶/۶	a۰±۱۰۰	ab۳۵/۲±۵۷/۱
IRAN715C	a۵/۷±۲۳/۳	ab۰±۴۰	ab۱۰±۷۰	ab۵/۷±۹۳/۳	a۰±۱۰۰	ab۳۲/۱±۵۸/۱
کنترل	c۰	c۰	c۰	c۰	b۰	c۰

* حروف غیر مشترک دال بر وجود اختلاف معنی دار بین جدایه‌های مختلف در یک روز (ستون) می‌باشد.

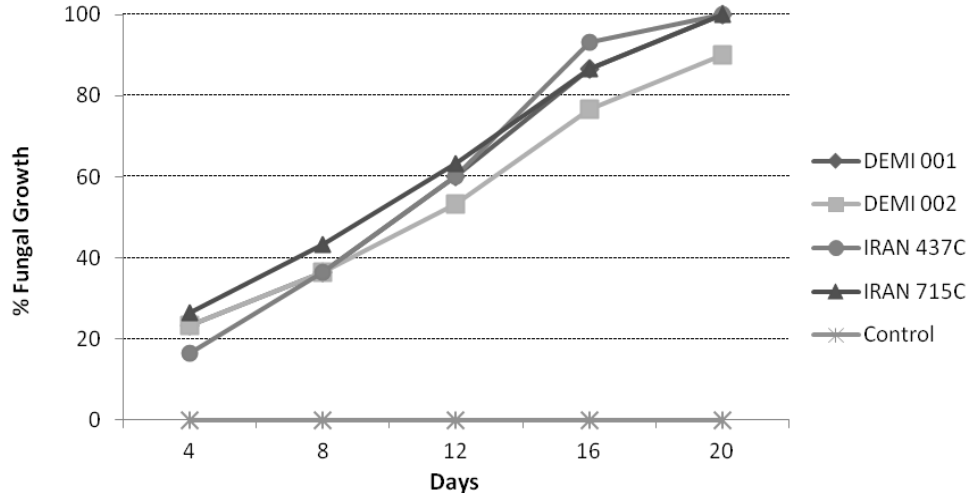
جدول ٤- اطلاعات مربوط به درصد رشد میسلیوم‌های قارچی روی کنه *آرگاس پرسیکوس* (میانگین± انحراف معیار) بر اساس نوع جدایه قارچی تا ۲۰ روز پس از غوطه وری کنه‌ها در سوسپانسیون قارچ‌های مختلف

جدایه‌های *متاریزیوم آنیزوپلیه*	درصد رشد میسلیوم‌های قارچی Mean ± SD					درصد رشد میسلیوم قارچی
	روز ۴	روز ۸	روز ۱۲	روز ۱۶	روز ۲۰	میانگین ۲۰ روز
DEMI 001	a۵/۷±۲۳/۳	ab۵/۷±۳۶/۶	ab۱۰±۶۰	ab۵/۷±۸۶/۶	a۰±۱۰۰	a۳۱/۹±۵۱/۶
DEMI 002	a۵/۷±۲۳/۳	ab۵/۷±۳۶/۶	abc۵/۷±۵۳/۳	b۱۱/۵±۷۶/۶	ab۱۰±۹۰	a۲۸/۱±۴۸
IRAN 437C	ab۵/۷±۱۶/۶	ab۵/۷±۳۶/۶	ab۱۰±۶۰	a۵/۷±۹۳/۳	a۰±۱۰۰	ab۳۴/۵±۵۴/۵
IRAN715C	a۵/۷±۲۶/۶	a۱۱/۵±۴۳/۳	a۵/۷±۶۳/۳	ab۵/۷±۸۶/۶	a ۰±۱۰۰	ab۳۰/۵±۵۶/۵
کنترل	c۰	c۰	d۰	c۰	c۰	c۰

* حروف غیر مشترک دال بر وجود اختلاف معنی دار بین جدایه‌های مختلف در یک روز (ستون) می‌باشد.



نمودار ۱- مقایسه مرگ و میر کنه‌های *آرگاس پرسیکوس* در اثر جدایه‌های قارچی *متاریزیوم* طی روزهای مختلف



نمودار ۲- مقایسه رشد میسلیوم‌های قارچی روی کنه *آرگاس پرسیکوس* در اثر جدایه‌های قارچی *متاریزیوم* طی روزهای مختلف

شکل ۱- مشاهده ماکروسکوپی رشد میسلیوم‌های قارچی روی کنه‌های *آرگاس پرسیکوس*

بحث

کنه‌ها در موقعیت اکولوژیکی اختصاصی خود بیشترین موفقیت را دارند. بنابراین عوامل کنترل بیولوژیک باید با هر محیط خاص و گونه‌های کنه ای موجود در آن محیط سازگار شوند، عدم موفقیت در توسعه محصولات کنترل بیولوژیک، با فقدان دانش در مورد سیستم‌های بیولوژیک پیچیده طبیعی انگل و آنتاگونیست‌ها ارتباط دارد. این وضعیت توسعه محصولات بیولوژیک را محدود نموده است. مشاهدات و بررسی‌های آزمایشگاهی و فیلدی بسیاری از ارگانیسم‌ها از قبیل ویروس‌ها، باکتری‌ها، تک یاخته‌ها، نماتودها و جرب‌ها را به عنوان دشمنان و آنتاگونیست‌ها در برابر کنه‌های حیوانات اهلی نشان داده است اما به هرحال تعداد بسیار کمی از این‌ها کیفیت امیدوارکننده‌ای به عنوان عوامل بیوکنترل در علوم دامپزشکی از خود نشان داده‌اند و مرور تحقیقات از شروع قرن ۲۰ از میان تمام عوامل کنترل بیولوژیک، مهمترین این عوامل را به خصوص برخی از قارچ‌ها از

جمله قارچ‌های *متاریزیوم* معرفی می‌نماید. تاکنون چندین قارچ در این مورد شناسایی شده‌اند (۲۰). با توجه به ا فزایش مشکلات در کاربرد سموم شیمیایی از جمله افزایش مقاومت به سموم و افزایش قیمت داروهای شیمیایی تولیدی جدید و نگرانی عمومی در مورد باقیمانده‌های مواد شیمیایی در محصولات حیوانی روش مبارزه بیولوژیک را دارای جایگاهی خاص و ممتاز نموده است. با توجه به معضلات فوق الذکر امکان دارد صنعت‌گران که تاکنون تمایل چندانی به توسعه محصولات بیولوژیک نداشته‌اند در آینده علاقه بیشتری از خود نسبت به تولید انبوه محصولات کنترل بیولوژیک برای کنترل کنه‌های حیوانات اهلی نشان دهند (۱۰).

در مطالعه حاضر تاثیر چهار جدایه قارچی *متاریزیوم آنیزوپلیه* DEMI 001، DEMI 002، IRAN 437 C، IRAN 715 C روی کنه‌های ماده خون خورده *آرگاس پرسیکوس* به مدت ۲۰ روز مورد ارزیابی قرار گرفت که همانند مطالعات مشابه، قارچ‌های مورد آزمایش ویرولانس متفاوتی داشتند (۷، ۸، ۱۴ و ۱۸). از بین جدایه‌های تحت مطالعه جدایه *متاریزیوم آنیزوپلیه* IRAN 437 C حاّدترین جدایه بود که باعث حداکثر مرگ و میر و رشد میسلیوم‌های قارچی در کمترین زمان شد. پس از آن DEMI 001 سپس IRAN 715 C و DEMI 002 قرار گرفتند.

در یک مطالعه تاثیر قارچ‌های *متاریزیوم آنیزوپلیه* روی کنه *Ixodes scapularis* در آزمایشگاه و محیط بررسی گردید که در آزمایشگاه در حدود ۹۶ درصد و در محیط به صورت اسپری حدود ۵۳ درصد مرگ و میر در غلظت ۴×۱۰^{۹} Spore/ml طی چهار هفته ثبت شد (۴) که تقریبا با نتایج مطالعه ما مشابهت داشت.

پورسید و همکاران (۲۰۱۰) به بررسی اثرات قارچ انتوموپاتوژن *متاریزیوم آنیزوپلیه* روی مراحل مختلف زندگی کنه *Argas persicus* پرداخته و عنوان کردند که *متاریزیوم آنیزوپلیه* سویه V۲۴۵ موثرترین قارچ در مطالعه آنها بوده که باعث ۱۰۰٪ تلفات، ۱۸ روز پس از درمان در بالاترین غلظت مورد آزمایش ($۱۰^{۷}$ کنیدی در میلی‌لیتر) شده است (۱۶).

در یک بررسی توسط پیرعلی خیرآبادی و همکاران (۲۰۰۸) اثر دو جدایه قارچ انتوموپاتوژن *متاریزیوم آنیزوپلیه* در شرایط فیلد روی زنبورستان آلوده ای در شمال تهران انجام گردید که با موفقیت همراه بوده است (۱۵).

در تحقیقاتی اثرات قارچ‌های *متاریزیوم آنیزوپلیه* و *بواریا باسینا* روی مراحل تکاملی کنه *آرگاس* بررسی و مرگ و میر ۱۰۰ درصدی کنه‌ها پس از سه هفته از شروع درمان با قارچ‌های مذکور گزارش شد (۲۱) که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد.

در مطالعه ای دیگر تاثیر قارچ‌های انتوموپاتوژن *متاریزیوم آنیزوپلیه* روی مراحل مختلف رشد کنه *درمانیسوس گالینه* بررسی شد که تاثیر خاصی در کنه‌های بالغ تا روز چهارم نسبت به گروه کنترل مشاهده نشد اما از روز ششم مرگ و میر افزایش پیدا کرد (۲۲) نتایج حاصله از تجربه فوق با نتایج حاصل از آزمایشات ما هماهنگ و مشابه می‌باشد.

Sewify و Habib در سال ۲۰۰۱ به بررسی اثرات قارچ های *بیواریا باسینا* و *متاریزیوم آنیزوپلیه* روی مراحل تکاملی کنه *آرگاس* پرداخته و مرگ و میر ۱۰۰ درصدی کنه‌ها پس از سه هفته از شروع درمان با قارچ‌های مذکور را گزارش کردند طی این تحقیق قارچ‌های انتوموپاتوژن به عنوان عامل موثری برای مبارزه با کنه مذکور معرفی شده است (۲۱).

در بررسی دیگری اثرات قارچ‌های انتوموپاتوژن *متاریزیوم آنیزوپلیه* روی مراحل مختلف زندگی کنه *آرگاس پرسیکوس* مورد ارزیابی قرار گرفت و عنوان شد در بالاترین غلظت مورد آزمایش (10^7 کونیدی در میلی‌لیتر) حاّدترین جدایه قارچی بررسی شده ۱۸روز و بقیه جدایه‌ها ۲۱ روز پس از درمان باعث ۱۰۰٪ مرگ و میر شده‌اند (۱۶) که در مطالعه حاضر نیز نتایج مشابه به دست آمد.

نتایج حاصله در این تحقیق می‌تواند راه گشای تلاش‌های بیشتر به سوی کاربردهای عملی قارچ‌های انتوموپاتوژن بومی ایران به عنوان عوامل کنترل بیولوژیک کنه‌ها باشد. جدایه‌های قارچی که حدت بیشتری دارند را می‌توان پس از تایید نتایج در مطالعات تکمیلی و شرایط فیلد به عنوان عوامل ضد کنه ای تجاری به تولید انبوه رسانید و در فواصل استفاده از سموم شیمیایی در فیلد مورد استفاده قرار داد. هر چند نمی‌توان این عوامل را کاملا جایگزین سموم شیمیایی کرد ولی می‌توان دفعات سم پاشی را کم کرد یا اسپورهای قارچی را مخلوط با سموم شیمیایی به کار برد. با این حال تا رسیدن به این هدف مسیری طولانی باقی است که نیاز به انجام مطالعاتی جامع و دقیق در این راستا دارد.

منابع

۱. کاظمی، م.ح. (۱۳۷۴). *کنترل میکروبی آفات بیماری‌های گیاهی*. جلد اول، چاپ اول، انتشارات دانشگاه تربیت معلم، تبریز، صفحات ۴۷-۵۳.

۲. محمدی، ج. (۱۳۷۵). تعیین گونه‌های فعال سوسریهای بیمارستان‌ها و منازل مسکونی شهر زنجان و بررسی فعالیت فصلی میزان تحرک و آلودگی باکتریایی آنها. پایان نامه کارشناسی ارشد علوم بهداشتی، رشته حشره شناسی پزشکی و مبارزه با ناقلین، دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی، دانشگاه علوم پزشکی تهران؛ ۱۳۷۵-۱۳۷۴، صفحات ۱۳-۱۱.

3. Abolins, S., Thind, B., Jackson, V., Luke, B., Moore, D., Wall, R., Taylor, M.A. (2007). Control of sheep scab mite *Psoroptes ovis* in vivo and in vitro using fungal pathogens. *Veterinary Parasitology* **148**: 310–7.
4. Benjamin, M.A., Zhioua, E., Ostfeld, R.S. (2002). Laboratory and field evaluation of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycetes) for controlling questing adult *Ixodes scapularis* (Acari Ixodidae). *Journal of Medical Entomology* **39**: 723-8.
5. Briggs L.L., Colwell D.D., Wall R. (2006). Control of the cattle louse *Bovicola bovis* with the fungal pathogen *Metarhizium anisopliae*. *Veterinary Parasitology* **142**: 344–9.
6. FAO (2002). Guide lines for resistance management and integrated parasite control in ruminants.
7. Gindin, G., Samish, M., Alekseev, E., Glazer, I. (2001). The susceptibility of *Boophilus annulatus* ticks to entomopathogenic fungi. *Biocontrol Science and Technology* **11**: 111-8.
8. Gindin, G., Samish, M., Zangi, G., Mishoutchenko, A., Glazer, I. (2002). The susceptibility of different spesies and stages of tick to entomopathogenic fungi. *Experimental and Applied Acarology* **28**: 283-8.
9. Ginsberg, H.S., Lebrun, R.A., Heyer, K., Zhioua, E. (2002). Potential nontarget effects of *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycetes) used for biological control of ticks (Acari: Ixodidae). *Environmental Entomology* **31**: 1191-6.
10. Gronvold, J., Henriksen, S.A., Nansen, P., Wolstrup, J., Thylin, J. (1989). Attempts to control infection with *Ostertagia* (Trichostrongylidae) in grazing calves by adding mycelium of

the nematod trapping fungus *Arthrobotris oligospora* to cow pats. *Journal of Helminthology* **63**: 115-26.

11. Guangfu, T. (1984). Experiment of infection and killing of *Hyalomma detritum* with fungi. *Journal of Veterinary Sciences (China)* **7**: 11-3.
12. Hoogstraal, H., Valdez, R. (1980). Tick from wild sheep and goats in Iran and medical and veterinary impliccations. *Fieldiana Zoology* **6**: 1-12.
13. Kaake, W., Reid, B.L., Bohnert, T.J., Bennet, G.W. (1997). Toxicity of Imidacloprid in German cockroach (Dictyoptera: Blattellildae), and the synergism between Imidacloprid and *Metarhizium anisopliae* (Imperfect fungi: Hyphomycetes). *Journal of Economical Entomology* **90**: 473-82.
14. Onofre, S.B, Miniuk, C.M, Debarros, N.M, Azevedo, J.L. (2001). Pathogenicity of four strains of entomopathogenic fungi against the bovine tick *Boophilus microplus*. *American Journal of Veterinary Research* **62**: 1478-80.
15. Pirali-kheirabadi, K.H., Jalil piran, M., Heidari-Nasirabadi, M., Khalili-Sadrabad, E., Khadivi- Borujeni, A. (2008). Biological control of adult stage of *Varroa jacobsoni* using two strains of entomopathogenic fungi. 1st International Congress and Exhibition of Veterinary Pharmacology and Pharmaceutical Sciences: 109.
16. Pourseyed, S.H., Tavassoli, M., Bernousi, I., Mardani, K. (2010). *Metarhizium anisopliae*: An effective alternative to chemical acaricides against different developmental stages of fowl tick *Argas persicus*. *Veterinary Parasitology* **172**: 305-10.
17. Rak, H. (1976). Tick born disease and their vectors In Iran, Proceedings of International Confrance on Tick Loorn Diseases and Their Vectors, Edinburg, U.K.: 163-6.
18. Samish, M., Gindin, G., Alekseev, E., Glazer, I. (2001). Pathogenicity. *Journal of Parasitology* **87**:1355-9.
19. Samish, M., Ginsberg, H., Glazer, I. (2004). Biological control of ticks. *Parasitology* **129**: 389-403.
20. Samish, M., Rehacek, J. (1999). Pathogensand pedotors of ticks and their potential in biological control. *Annual Review Entomology* **44**: 159-82.
21. Sewify, G.H., Habib, S.M. (2001). Biological control of the tick fowl *Argas persicus* by the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*. *Journal of Pest Science* **74**:121-3.
22. Tavassoli, M., Ownag, A., Pourseyed, S.H., Mardani, K. (2008). Laboratory evaluation of three strains of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* for controlling *Dermanyssus gallinae*. *Avian Pathology* **37**: 259-63.
23. Zukowski, K., Bajan, C., Popwska, E. (1999). Evaluation of effect of *Metarhizium anisopliae* on reduction of numbers of *Blattela germanica*. *Roczniki Państwowego Zakładu Higieny* **4**: 67-72.

Journal of Veterinary Microbiology, Volume 9, Issue 2, 2013

Biological Control of *Argas persicus* by Entomopathogen Fungi (*Metarhizium anisopliae*) In Vitro

Pirali Kheirabadi, Kh.[1*], Dehghani Samani, A.[2], Najafi Dehkordi, S.[3], Sadeghimehr, M.[4]

1- Associate Professor, Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Shahrekord, Shahrekord, Iran
2- Student of DVM, Faculty of Veterinary Medicine, University of Shahrekord, Shahrekord, Iran
3- Graduated from Faculty of Veterinary Medicine, University of Shahrekord, Shahrekord, Iran

Received Date: 25 May 2013 *Accepted Date: 29 June 2013*

Abstract

Argas persicus is of considerable veterinary importance as a parasite of poultry and wild birds causing weakness, anemia, reduction in egg production and growth, as well as death of poultry. Such a tick is the vector of many important diseases. In this study 150 adult ticks in 15 groups including control and experimental groups were studied, three replicates were made for the control and experimental groups. The virulence of each fungal strain was tested by immersing engorged A. persicus in conidial suspensions (2.4×10^7 conidia/ml) for 3–5 seconds and in negative control group in sterilized distilled water contains Tween 80%, then ticks were studied for 20 days and the results were finally reported. Experimental fungal strains had different virulence. In day 20 mortality rate of DEMI 002 was 96.6% and mortality rate of other three strains were 100%. There were significant differences between different groups. Metarhizium anisopliae IRAN 437 C was found to be the most virulent to adult stage of A. persicus and M. anisopliae DEMI 002 had least effect on adult form of soft ticks (A. persicus). The results obtained from this study showed the promising effect of entomopathogenic fungi as an alternative biocontrol agent against A. persicus as an important fowl tick. More studies need to confirm these results in field condition.

Keywords: *Argas persicus, Biological control, Metarhizium anisopliae.*

Corresponding author: Pirali Kheirabadi, Kh.
Address: Associate Professor, Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Shahrekord, Shahrekord, Iran. Tel: 9133816484
Email: khpirali@yahoo.com