

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

خداداد پیرعلی خیرآبادی^{۱*}، امیر دهقانی سامانی^۲، صفورا نجفی دهکردی^۳، محمد صادقی مهر^۳

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 پذیرش: ۸ تیر ۱۳۹۲

تاریخ دریافت: ۴ خرداد 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 کنه 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 ۳-۵ ثانیه در سوسپانسیون قارچی حاوی $10^7 \times 2/4 \times$ 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 میسلیم‌های قارچی روی کنه‌های تحت درمان در جدایه‌ی DEMI 002 ۹۶/۶ درصد و در سه جدایه‌ی IRAN 437 C، DEMI 002 و IRAN 715 C ۱۰۰ درصد گزارش شد. به علاوه بین گروه‌های درمان و کنترل اختلاف معنی دار بود. مطابق نتایج، جدایه IRAN 437 C حادث‌ترین 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 مصرف‌کنندگان 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 باکتری‌ها، قارچ‌ها، عنکبوت‌ها، مورچه‌ها، سوسک‌ها، جوندگان، پرندگان و سایر عوامل کنترل بیولوژیک بر کاهش جمعیت کنه‌ها نشان می‌دهد که مهم‌ترین این عوامل کنترل‌کننده، برخی از قارچ‌ها از جمله جنس متاریزیوم (*Metarhizium*) می‌باشند و تاکنون چندین قارچ در این مورد شناسایی شده‌اند (۳، ۵، ۷، ۱۱، ۱۸، ۱۹، ۲۰، ۲۱، ۲۲، ۲۳). در حقیقت تعدادی از قارچ‌ها میزبان‌های متعددی دارند از جمله قارچ

متاریزیوم آنیزوپلیه که دارای گسترش جهانی است (۲۳ و ۱۳). تلاش‌های بسیار کمی برای ارزیابی پتانسیل و توانایی قارچ‌های انتوموپاتوزن در کنترل ناقلین بیماری‌های انسان و حیوان مانند آرگاس پرسیکوس انجام شده است. کنه‌ها انگل اجباری و خونخوار مهره‌داران به ویژه پستانداران و پرندگان می‌باشند که با گزش خود حیوانات اهلی را ضعیف و ناتوان کرده و موجب ضایعات ناشی از تروما، سوزش، التهاب و افزایش حساسیت در آن‌ها می‌شوند. تغذیه تعداد زیاد آنها حیوانات را مبتلا به کم‌خونی نموده و موجب کاهش تولید می‌شوند. ترشحات بزاقی برخی از گونه‌های کنه، حیوانات را دچار مسمومیت و فلجی نموده و عوامل مختلف بیماری‌زای ویروسی، ریکتریایی، تک‌یاخته‌ای و باکتریایی را به حیوانات انسان منتقل می‌کنند (۱۲ و ۱۷). قارچ‌های انتوموپاتوزن به فراوانی در طبیعت یافت شده، به آسانی قابل جمع‌آوری و تکثیر بوده و برای دام‌ها و گیاهان غیرپاتوزن هستند. این قارچ‌ها شامل گروه منحصر به فردی از قارچ‌های پاتوزن حشرات هستند که بلع آنها توسط میزبان‌شان ضروری نبوده و عفونت زایی توسط نفوذ مستقیم در کوتیکول کنه‌ها هم امکان‌پذیر است (۹ و ۱۹).

با توجه به مقاومت روزافزون حشرات به حشره‌کش‌های شیمیایی استفاده از عوامل بیماری‌زای بیولوژیک مانند قارچ‌ها می‌تواند به عنوان راه‌کاری درخور توجه به کار گرفته شود (۱ و ۲). 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 ریکتریایی، ویروسی، تک‌یاخته‌ای و باکتریایی به دام و طیور هستند به عنوان یکی از



در گروه‌های درمان، کنه‌ها به صورت انفرادی به وسیله‌ی پنس استریل ۳-۵ ثانیه در سوسپانسیون قارچی مربوطه و در گروه کنترل منفی نیز کنه‌ها ۳-۵ ثانیه در آب مقطر استریل همراه با توتین 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 جدول ۲ نشان داده شده است.

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

آنالیز واریانس داده‌ها با استفاده از آزمون ANOVA در سطح $P < 0.05$ 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.

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 بومی جمع 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 چنانچه کنه‌ها در زیر یک منبع نور قرار می‌گرفتند کنه‌ها به سمت نور حرکت می‌کردند (۶). برای انجام آزمایش، سوسپانسیونی حاوی $10^7 \times 2/4$ 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.

نتایج

داشت ولی در انتها IRAN 437 C حادترین و DEMI

002 ضعیف‌ترین جدایه‌های مورد آزمایش بودند.

اولین موارد مشاهده میسلیم‌های قارچی روی کنه‌های آرگاس طی روز دوم در تمامی گروه‌های تحت درمان بود. در روز چهارم بیشترین و کمترین درصد رشد میسلیم‌های قارچی برای گروه‌های IRAN 715 C (۲۶/۶٪) و IRAN 437 C (۱۶/۶٪) بوده و بین گروه‌های درمان اختلاف معنی دار نبود ($P > 0/05$). روز هشتم، IRAN 715 C (۴۳/۳٪) بیشترین درصد رشد میسلیم‌های قارچی را داشت و سه گروه دیگر ۳۶/۶٪ بودند هم چنین بین گروه‌های درمان اختلاف معنی دار مشاهده نشد ($P > 0/05$). روز دوازدهم بیشترین درصد رشد میسلیم‌های 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 ($P > 0/05$). در روز شانزدهم IRAN 437 C (۹۳/۳٪) بیشترین و DEMI 002 (۷۶/۶٪) کمترین درصد رشد میسلیم‌های قارچی را به خود اختصاص دادند که بین این دو گروه اختلاف معنی داری مشاهده شد ($P < 0/05$). روز بیستم گروه DEMI 002 ۹۰٪ و سه گروه دیگر ۱۰۰٪ رشد میسلیم‌های قارچی در کنه‌های تحت درمان را باعث شدند. هم چنین میانگین بیست روز نیز اختلاف معنی داری بین گروه‌ها نشان نداد ($P > 0/05$).

در روزهای ۴ و ۸ و ۱۲ و ۱۶ و ۲۰ بین گروه‌های تحت درمان با گروه کنترل اختلاف معنی دار بود ($P < 0/05$). گروه‌های IRAN 437 C در روز هفدهم، DEMI 001 و IRAN 715 C در روز نوزدهم ۱۰۰٪ رشد میسلیم‌های قارچی داشتند. در روز بیست مرگ و میر و رشد میسلیم‌های قارچی روی کنه‌های ماده تحت درمان در گروه DEMI 002 ۹۶/۶٪ و ۹۰٪ و در سه

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 معنی دار نبود ($P > 0/05$). 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 ($P > 0/05$). 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 ($P < 0/05$). 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 ($P < 0/05$). 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 ($P > 0/05$).

در روزهای ۴ و ۸ و ۱۲ و ۱۶ و ۲۰ بین گروه‌های تحت درمان با گروه کنترل اختلاف معنی دار بود ($P < 0/05$). 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

نمودار ۲ نمایانگر آن است که در روزهای مختلف رشد میسلیم در بین جدایه‌ها چگونه بوده، ابتدا جدایه IRAN 715 C بالاترین توانایی رشد میسلیم را در بین جدایه‌های مورد آزمایش دارا بود ولی در انتها IRAN 437 C بیشترین رشد میسلیم را به خود اختصاص داد. شکل ۱ نشان دهنده‌ی میسلیم‌های قارچی رشد کرده بر روی پیکره‌ی کنه‌هاست. اطلاعات مربوط به درصد مرگ و میر کنه آرگاس پرسیکوس (میانگین \pm انحراف معیار) بر اساس نوع جدایه قارچی تا ۲۰ روز پس از غوطه‌وری کنه‌ها در سوسپانسیون قارچ‌های مختلف در جدول ۳ به تفکیک نمایش داده شده است. اطلاعات مربوط به درصد رشد میسلیم‌های قارچی روی کنه آرگاس پرسیکوس (میانگین \pm انحراف معیار) بر اساس نوع جدایه قارچی تا ۲۰ روز پس از غوطه‌وری کنه‌ها در سوسپانسیون قارچ‌های مختلف نیز در جدول ۴ به تفکیک نمایش داده شده است.

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 میسلیم‌های قارچی مربوط به گروه IRAN 715 C بود و از روز چهاردهم تا آخر بیشترین درصد رشد میسلیم‌های قارچی در گروه IRAN 437 C ثبت شد که در روز هجدهم روی تمامی کنه‌های این گروه (۱۰۰٪) میسلیم‌های قارچی مشاهده شد. از بین جدایه‌های تحت مطالعه جدایه متاریزیوم آنیزوپلیه IRAN 437 C حادترین جدایه بود که باعث حداکثر مرگ و میر و رشد میسلیم‌های قارچی در کمترین زمان شد. پس از آن DEMI 001 سپس IRAN 715 C و DEMI 002 قرار گرفتند.

جدول ۱- جدایه‌های قارچی مورد استفاده در این مطالعه

غلظت مورد استفاده	محل	میزبان	جدایه	قارچ
$2/4 \times 10^7$	رشت	کرم ساقه خوار برنج	IRAN 437 C	متاریزیوم آنیزوپلیه
$2/4 \times 10^7$	اهواز	ملخ	IRAN 715 C	متاریزیوم آنیزوپلیه
$2/4 \times 10^7$	سراوان	سوسک سرخرطومی حنایی خرما	DEMI001	متاریزیوم آنیزوپلیه
$2/4 \times 10^7$	نور		DEMI002	متاریزیوم آنیزوپلیه

جدول ۲- گروه‌های تحت درمان در اثر کنیدیوم‌های مختلف قارچی

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

جدول ۳- اطلاعات مربوط به درصد مرگ و میر کنه آرگاس پرسیکوس (میانگین \pm انحراف معیار) بر اساس نوع جدايه فارچی تا ۲۰ روز پس از غوطه وری کنه‌ها در سوسپانسیون فارچ‌های مختلف

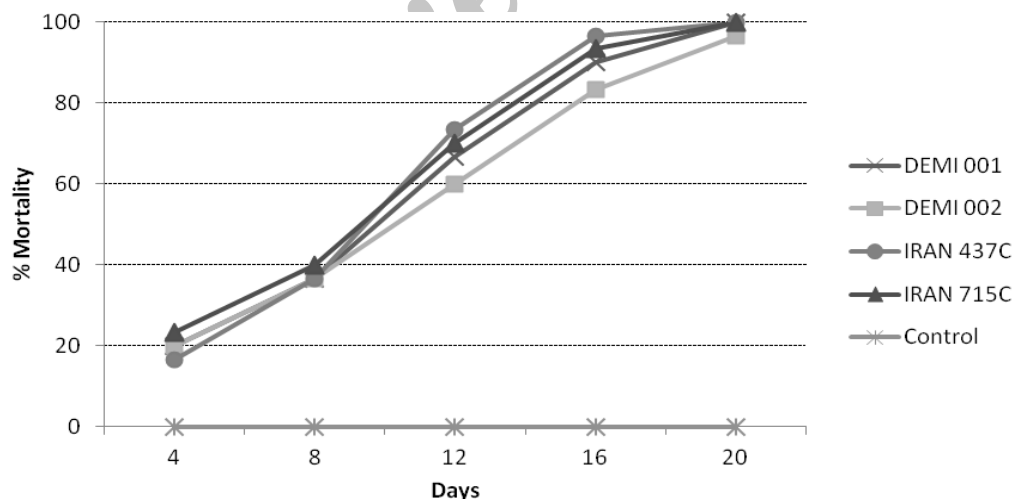
درصد مرگ و میر	درصد مرگ و میر Mean \pm SD					جدايه‌های متاریزوم آنیزوپلیه
	روز ۲۰	روز ۱۶	روز ۱۲	روز ۸	روز ۴	
میانگین ۲۰ روز	۲۰ روز	۱۶ روز	۱۲ روز	۸ روز	۴ روز	
a ^{۳۲/۹±۵۵/۵}	a ^{۰±۱۰۰}	ab ^{۰±۹۰}	ab ^{۵/۷±۶۶/۶}	a ^{۵/۷±۳۶/۶}	a ^{۰±۲۰}	DEMI 001
a ^{۳۰/۷±۵۲/۳}	a ^{۵/۷±۹۶/۶}	b ^{۱۵/۳±۸۳/۳}	b ^{۱۰±۶۰}	a ^{۵/۷±۳۶/۶}	a ^{۰±۲۰}	DEMI 002
ab ^{۳۵/۲±۵۷/۱}	a ^{۰±۱۰۰}	a ^{۵/۷±۹۶/۶}	a ^{۵/۷±۷۳/۳}	a ^{۵/۷±۳۶/۶}	ab ^{۵/۷±۱۶/۶}	IRAN 437C
ab ^{۳۲/۱±۵۸/۱}	a ^{۰±۱۰۰}	ab ^{۵/۷±۹۳/۳}	ab ^{۱۰±۷۰}	ab ^{۰±۴۰}	a ^{۵/۷±۲۳/۳}	IRAN715C
c ^۰	b ^۰	c ^۰	c ^۰	c ^۰	c ^۰	کنترل

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

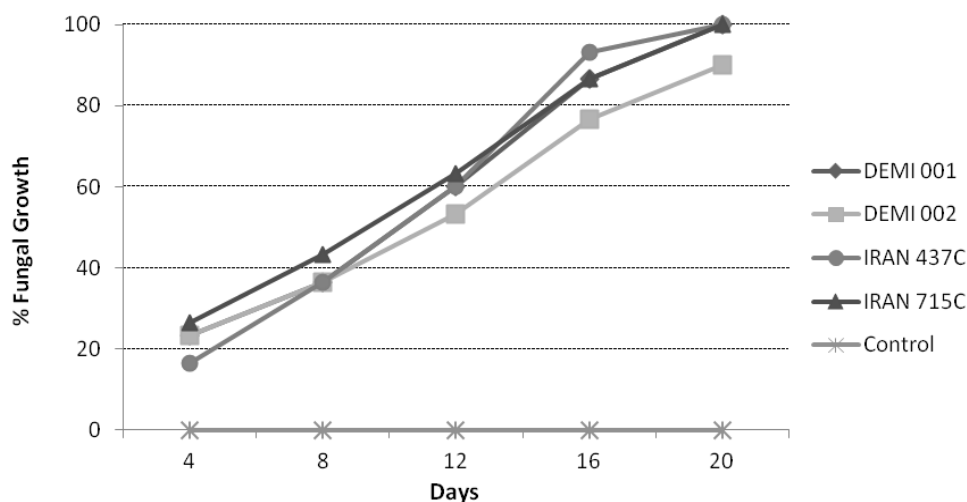
جدول ۴- اطلاعات مربوط به درصد رشد میسلیم‌های فارچی روی کنه آرگاس پرسیکوس (میانگین \pm انحراف معیار) بر اساس نوع جدايه فارچی تا ۲۰ روز پس از غوطه وری کنه‌ها در سوسپانسیون فارچ‌های مختلف

درصد رشد میسلیم فارچی	درصد رشد میسلیم‌های فارچی Mean \pm SD					جدايه‌های متاریزوم آنیزوپلیه
	روز ۲۰	روز ۱۶	روز ۱۲	روز ۸	روز ۴	
میانگین ۲۰ روز	روز ۲۰	روز ۱۶	روز ۱۲	روز ۸	روز ۴	
a ^{۳۱/۹±۵۱/۶}	a ^{۰±۱۰۰}	ab ^{۵/۷±۸۶/۶}	ab ^{۱۰±۶۰}	ab ^{۵/۷±۳۶/۶}	a ^{۵/۷±۲۳/۳}	DEMI 001
a ^{۲۸/۱±۴۸}	ab ^{۱۰±۹۰}	b ^{۱۱/۵±۷۶/۶}	abc ^{۵/۷±۵۳/۳}	ab ^{۵/۷±۳۶/۶}	a ^{۵/۷±۲۳/۳}	DEMI 002
ab ^{۳۴/۵±۵۴/۵}	a ^{۰±۱۰۰}	a ^{۵/۷±۹۳/۳}	ab ^{۱۰±۶۰}	ab ^{۵/۷±۳۶/۶}	ab ^{۵/۷±۱۶/۶}	IRAN 437C
ab ^{۳۰/۵±۵۶/۵}	a ^{۰±۱۰۰}	ab ^{۵/۷±۸۶/۶}	a ^{۵/۷±۶۳/۳}	a ^{۱۱/۵±۴۳/۳}	a ^{۵/۷±۲۶/۶}	IRAN715C
c ^۰	c ^۰	c ^۰	d ^۰	c ^۰	c ^۰	کنترل

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



نمودار ۱- مقایسه مرگ و میر کنه‌های آرگاس پرسیکوس در اثر جدايه‌های فارچی متاریزوم طی روزهای مختلف



نمودار ۲- مقایسه رشد میسلیم‌های قارچی روی کنه آرگاس پرسیکوس در اثر جدا به‌های قارچی متاریزوم طی روزهای مختلف



شکل ۱- مشاهده میکروسکوپی رشد میسلیم‌های قارچی روی کنه‌های آرگاس پرسیکوس

بحث

و بررسی‌های آزمایشگاهی و فیلدی بسیاری از ارگانسیم‌ها 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 هر حال 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

کنه‌ها در موقعیت اکولوژیکی اختصاصی خود بیشترین موفقیت را دارند. بنابراین عوامل کنترل بیولوژیک باید با هر محیط خاص و گونه‌های کنه‌ای 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

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 ۷۲۴۵ موثرترین قارچ در مطالعه آنها بوده که باعث ۱۰۰٪ تلفات، ۱۸ روز پس از درمان در بالاترین غلظت مورد آزمایش (۱۰^۷ کینیدی در میلی لیتر) 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 می باشد.

Habib و Sewify در سال ۲۰۰۱ به بررسی اثرات قارچ‌های *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).

جمله قارچ‌های متاریزیوم معرفی می‌نماید. تاکنون چندین قارچ در این مورد شناسایی شده‌اند (۲۰). با توجه به افزایش 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 صنعت گران 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 ویرولانسی متفاوتی داشتند (۷، ۸، ۱۴ و ۱۸). از بین جدایه‌های تحت مطالعه جدایه متاریزیوم آنیزوپلیه IRAN 437 C حادترین جدایه بود که باعث حداکثر مرگ و میر و رشد میسلیم‌های 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 4×10^9 Spore/ml طی چهار هفته ثبت شد (۴) که تقریباً با نتایج مطالعه ما مشابهت داشت.

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 species 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

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 (۱۰^۷ کونیدی در میلی‌لیتر) حداثرین جدایه قارچی بررسی شده ۱۸ روز 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 کنه‌ای تجاری به تولید انبوه رسانید و در فواصل استفاده از سموم شیمیایی در فیلد مورد استفاده قرار داد. هر چند نمی‌توان این عوامل را کاملاً 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 سوسریه‌های 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

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). Pathogens and predators 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 *Blattella germanica*. *Roczniki Państwowego Zakładu Higieny* **4**: 67-72.
- 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 implications. *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: Blattellidae), 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 Conference on Tick Loom Diseases and Their Vectors, Edinburg, U.K.: 163-6.

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