

Hyalomma tick combat using *Beauveria bassiana* spore

Mohammad Mirzaei^{1*}, Omid Dayani²,
Toba Molaei Javaran³

1. Professor, Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran
2. Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran
3. Student of Animal Science, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran
(Received: May 2, 2014 - Accepted: Apr. 22, 2016)

Abstract

This study was conducted with the aim to evaluate efficacy of applying 4 different formulations of *Beauveria Bassiana* (BB) fungus spore to combat *Hyalomma* ticks. Formulations used included: 1) Distilled water with 2% Tween and BB; 2) Distilled water with 10% cottonseed oil, 0.01% sucrose, 0.2% tween and BB; 3) Distilled water with 10% liquid paraffin, 0.01% sucrose, 0.2% tween and BB, and distilled water as the control group. Concentration of 1.76×10^8 was used in preparing formulations. The four prepared formulations were equally sprayed on 128 engorged mature ticks, in 4 groups. Number of dead tick due to spray of formulations were counted in the following days. Treatment effect on mortality of ticks, was assessed using time-survival analysis. 9 days after spraying different formulations, it was found that formulation containing BB fungus had eliminated 50 to 55% of the ticks. Due to the fatality of 55 percent *Hyalomma* ticks in this research, it can be hoped that in the future with further research, oil suspension containing BB fungus can be used to combat *Hyalomma* ticks.

Keywords: *Hyalomma* tick, suspension, biologic control, *Beauveria bassiana*.

مبارزه با کنه هیالوما با استفاده از اسپور *Beauveria bassiana* قارچ

محمد میرزایی^{۱*}، امید دیانی^۲، طوبی ملایی جواران^۳

۱. استاد گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران
۲. دانشیار بخش علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران
۳. دانشجوی مهندسی علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۲/۱۲ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۵/۲/۵)

چکیده

این مطالعه با هدف ارزیابی و مقایسه اثر بخشی کاربرد اسپور قارچ *Beauveria bassiana* (BB) با ۴ فرمولاسیون بر علیه کنه هیالوما انجام شد. فرمولاسیون‌های به کار رفته شامل: (۱) آب مقطر با ۰/۲ درصد توئین و BB، (۲) آب مقطر با ۱۰ درصد پارافین مایع، (۳) آب مقطر با ۰/۱ درصد ساکارز با ۰/۲ درصد توئین و BB، (۴) آب مقطر با ۱۰ درصد روغن پنبه دانه، ۰/۱ درصد ساکارز با ۰/۲ درصد توئین و BB، (۵) آب مقطر (شاهد) بودند. در تهیه فرمولاسیون‌ها از غلظت 1.76×10^8 استفاده شد. چهار فرمولاسیون تهیه شده روی بدن ۱۲۸ کنه بالغ در گروه‌های چهار تایی تکرار در شرایط یکسان پاشیده شد. پس از پاشیدن فرمولاسیون‌ها، تعداد کنه مرده در روزهای بعد شمارش شدند. تأثیر تیمارها بر مرگ و میر کنه‌ها با استفاده از آنالیز بقا برای زمان بررسی شد. پس از ۹ روز پاشیدن فرمولاسیون‌های مختلف مشخص شد که سوسپانسیون‌هایی که حاوی قارچ BB بودند، بین ۵۰-۵۵ درصد کنه‌ها را از بین بردند. با توجه به از بین رفتن ۵۵ درصدی کنه‌های هیالوما در این پژوهش، می‌توان امیدوار بود که در آینده با انجام تحقیقات بیشتر در این زمینه، از سوسپانسیون روغن حاوی قارچ BB برای مبارزه با کنه هیالوما استفاده شود.

واژه‌های کلیدی: کنه هیالوما، سوسپانسیون، کنترل بیولوژیک، *Beauveria bassiana*

مقدمه

انگل‌های خارجی در تمام گونه‌های جانوری وجود داشته و خسارت فراوانی به دام‌ها وارد می‌نمایند. این انگل‌ها باعث کاهش بازدهی دام‌ها به علت ایجاد بیماری‌های پوستی، کم خونی، لاغری و کاهش رشد می‌شوند. همچنین عوامل بیماری‌زای مانند تیلریوز، بیماری ویروسی تب خونریزی‌دهنده کریمه-کنگو و انسفالیت توسط کنه‌ها منتقل می‌شوند. کنه‌ها از طریق ایجاد خسارت به پوست و چرم و فرآورده‌های دامی، و کاهش تولید گوشت بر عملکرد دام تأثیر گذارند (Telmadarhe et al., 2009). مطالعات انجام شده نشان می‌دهند بهترین راه برای پیشگیری از انتقال بیماری‌ها و نیز برای جلوگیری از ایجاد خسارات اقتصادی در دام‌ها، از بین بردن کنه‌ها می‌باشد (Ren et al., 2011). در حال حاضر، برای از بین بردن کلیه انگل‌های خارجی دام از حمام ضد کنه یا سموم شیمیایی از جمله سموم کلره، فسفره و کاربامات استفاده می‌شود (Sanzydi, 2002). اما کاربرد این سموم برای دام‌ها و انسان مسموم‌کننده بوده، به صورت اختصاصی عمل نکرده و نیز پایداری آنها در محیط و مشکلات متعدد زیست‌محیطی زیاد می‌باشد (Grahaman, 1990) از طرفی در گونه تحت مبارزه مقاومت به سم ایجاد می‌شود (Brent, 1987).

بین روش‌های غیرشیمیایی مبارزه با کنه‌ها، بیشترین کاربرد مربوط به روش‌های بیولوژیک است. برای استفاده از روش کنترل بیولوژیک از دو قارچ متارایزیوم *آنیزوپیله* و *بووریا باسیانا* که پارازیت اختصاصی حشرات هستند، استفاده شده است (Mossavi, 2000). مکانیزم عمل دو قارچ متارایزیوم *آنیزوپیله* و *بووریا باسیانا* بر روی کنه‌ها به این صورت است که این قارچ‌ها به علت داشتن برخی از آنزیم‌ها از جمله آنزیم کیتیناز و لیپاز می‌توانند پوشش و سطح محافظتی کنه را که کیتین می‌باشد تجزیه کرده در نتیجه با از بین بردن لایه سطحی بدن کنه به درون بندپا نفوذ می‌کنند، سپس

با استفاده از آنزیم لیپاز و سایر آنزیم‌ها باعث تجزیه بندپا از درون می‌شوند در نتیجه موجب مرگ و از بین رفتن کنه می‌گردند (Frazzon et al., 2000). برای ساخت فرمولاسیون کاربردی، بالا بردن راندمان این فرمولاسیون، ایجاد چسبندگی لازم و افزایش طول عمر اسپور قارچ‌ها از دو نوع روغن گیاه پنبه دانه و پارافین مایع استفاده شده است (Connick et al., 1990). استفاده از فرمولاسیون روغنی، اسپور قارچ‌ها را تا حدی در برابر اشعه UV خورشید محافظت می‌کند (Moore et al., 1993). به منظور تامین رطوبت لازم برای افزایش کارایی فرمولاسیون از توئین ۸۰ استفاده شده است. توئین موجب افزایش کشش سطحی و تندش اسپورها می‌شود، و باعث می‌گردد در فرمولاسیون روغن و آب مقطر به صورت امولسیون درآیند (Connick et al., 1990). برای افزایش سرعت رشد اسپورها به فرمولاسیون ساکارز اضافه می‌شود تا پیش از ایجاد آلودگی، قارچ در کنه *هیالوما* رشد کند (Walker, 1981). بنابراین هدف از این مطالعه استفاده از روغن پنبه دانه، پارافین مایع، توئین و ساکارز به منظور تهیه سوسپانسیون با اسپور قارچ *بووریا باسیانا* با غلظت 10×10^6 برای مبارزه با کنه *هیالوما* بود.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری کنه‌ها

تمام کنه‌های جمع‌آوری شده به آزمایشگاه انگل‌شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید باهنر کرمان منتقل شدند و با استفاده از خصوصیات ریخت‌شناسی و کلیدهای تشخیصی تعیین جنس گردیدند و فقط کنه‌های جنس *هیالوما* جهت آزمایشات بعدی انتخاب شدند. ماده‌های بالغ جمع‌آوری شده این جنس خون خورده بودند. تعداد زیادی کنه ماده بالغ از نواحی گوش، کشاله ران و زیر دم گاوها به وسیله پنس جمع‌آوری شدند. در طول دوره آزمایش، کنه‌ها در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۶۵-۷۰

قارچ، دو نوع سوسپانسیون دیگر ساخته شد. به گونه‌ای که جمعاً ۴ فرمولاسیون تهیه و بر روی کنه‌ها اسپری شد. فرمولاسیون‌های ساخته شده عبارت بودند از: (۱) آب مقطر با ۰/۲ درصد توئین و BB، (۲) آب مقطر با ۱۰ درصد پارافین مایع، ۰/۰۱ درصد ساکارز با ۰/۲ درصد توئین و BB، (۳) آب مقطر با ۱۰ درصد روغن پنبه دانه، ۰/۰۱ درصد ساکارز با ۰/۲ درصد توئین و BB، (۴) آب مقطر (شاهد). پس از تهیه سوسپانسیون‌ها، به منظور یکنواخت شدن آنها به مدت ۳۰ دقیقه شیکر (۲۵۰ دور در دقیقه) شدند (جدول ۱). در مجموع ۱۲۸ کنه خون خورده جمع‌آوری شده، بین چهار تیمار تقسیم‌بندی شدند. بنابراین برای هر تیمار ۳۲ کنه در نظر گرفته شد و با توجه به این که در هر لیوان ۴ کنه قرار داده شده بود، در نتیجه برای هر تیمار ۸ تکرار در نظر گرفته شد. فرمولاسیون‌های تهیه شده، به‌طور یکسان بر روی بدن کنه‌ها پاشیده شد. برای نگهداری کنه‌ها از لیوان‌های یکبار مصرف به طول ۹ سانتی‌متر استفاده شد. کف لیوان‌ها با شن و ماسه مرطوب پوشیده شد. در هر لیوان ۴ عدد کنه قرار داده شد، و لیوان‌ها در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۸۰-۷۵ درصد نگهداری شدند (Durrani & Shakoori, 2009). با توجه به مطالعات قبلی، هر لیوان با چهار کنه به عنوان یک تکرار برای هر تیمار در نظر گرفته شد (Pourseyed et al., 2010). مرگ و میر کنه‌ها در یک دوره ۹ روزه مورد بررسی قرار گرفت. تأثیر تیمارها بر مرگ و میر کنه‌های هیالوما با استفاده از آنالیز بقاء برای زمان و نرم‌افزار آماری SPSS بررسی شد.

درصد بر روی خاک نگهداری شدند و از بین آنها ۱۲۸ کنه هیالوما خون خورده مناسب تحقیق انتخاب گردید (Durrani & Shakoori, 2009).

تهیه قارچ

قارچ *Beauveria bassiana* (PTCC 5197) برای مبارزه با کنه هیالوما، از وزارت علوم تحقیقات و فناوری سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه شد.

کشت قارچ

قارچ در محیط کشت Potato Dextrose Agar (PDA) کشت داده شد، پس از ۷ روز کلنی‌های *Beauveria bassiana* در انکوباتور در دمای ۲۸-۲۹ درجه سانتی‌گراد رشد کردند. برای ایجاد سوسپانسیون اسپور قارچ، ۵۰ سی‌سی آب مقطر و ۰/۱ سی‌سی توئین ۸۰ به همراه چند پرل شیشه‌ای استریل به لوله‌های حاوی قارچ باوریا باسیانا اضافه شد، سپس به منظور جداسازی اسپورها از میسیلیوم‌ها لوله‌ها به شدت تکان داده شدند و سوسپانسیون به دست آمده در ارلن استریل جمع‌آوری شد. در نهایت سوسپانسیون به مدت ۱۵ دقیقه در شیکر (۱۵۰ دور در دقیقه) قرار داده شد.

ساخت فرمولاسیون و تأثیردهی آنها بر کنه‌ها

سوسپانسیون‌های ساخته شده با استفاده از لام نتوبار تعیین غلظت شدند، و با مرور پژوهش‌های قبلی که در این زمینه انجام گرفته بود (Ren et al., 2011; Tavassoli et al., 2011)، از قارچ سوسپانسیون‌های با غلظت $10^8 \times 1/76$ ساخته شد. از هر سوسپانسیون

جدول ۱. فرمولاسیون‌های ساخته شده با قارچ *Beauveria bassiana*

شماره	فرمولاسیون	قارچ
۱	آب مقطر با ۲ درصد توئین و قارچ BB	<i>Beauveria bassiana</i>
۲	آب مقطر با ۱۰ درصد پارافین مایع، ۰/۰۱ درصد ساکارز، ۰/۲ درصد توئین و قارچ BB	<i>Beauveria bassiana</i>
۳	آب مقطر با ۱۰ درصد روغن پنبه دانه، ۰/۰۱ درصد ساکارز، ۰/۲ درصد توئین و قارچ BB	<i>Beauveria bassiana</i>
۴	آب مقطر (شاهد)	

تشریح اجساد کنه‌ها

به منظور اثبات تأثیر فرمولاسیون‌های ساخته شده حاوی قارچ بر روی کنه‌ها، و اطمینان از مرگ و میر آنها در اثر فعالیت قارچ، کنه‌های مرده بر روی لام قرار داده شدند. با استفاده از سوزن تشریح اجساد آنها شکافته شد، سپس بافت‌های بدن کنه‌ها که در اثر فعالیت قارچ‌ها تجزیه شده بود در زیر میکروسکوپ بررسی شد.

نتایج

تأثیر فرمولاسیون‌های مختلف حاوی قارچ بر میزان مرگ و میر کنه‌ها پس از ۹ روز در جدول ۲ آورده شده است. به گونه ای که فرمولاسیون‌های حاوی قارچ BB ۵۴/۸۳ درصد کنه‌ها را با انحراف معیار ۲/۴۴۹ از بین بردند. در گروه شاهد، سوسپانسیون حاوی آب و بدون قارچ هیچ کنه‌ای تلف نشد.

در حالی که با قارچ BB، با سوسپانسیون حاوی آب مقطر، ۱۰ درصد پارافین مایع، ۰/۰۱ درصد ساکارز و ۰/۲ درصد توئین (تیمار ۲) بیشترین و سوسپانسیون حاوی آب مقطر، ۱۰ درصد روغن پنبه دانه، ۰/۰۱ درصد ساکارز و ۰/۲ درصد توئین (تیمار ۳)

کمترین میزان مرگ و میر در کنه‌ها مشاهده شد. کمترین اثرترین فرمولاسیون بر مرگ و میر کنه‌ها، سوسپانسیون حاوی آب مقطر، ۱۰ درصد پنبه دانه، ۰/۰۱ درصد ساکارز، ۰/۲ درصد توئین و قارچ BB بود. سوسپانسیون پارافین مایع حاوی اسپور BB مؤثرترین بودند (جدول ۲).

میزان مرگ و میر کنه‌های هیالوما تا ۴ روز پس از اسپری کردن فرمولاسیون‌های مختلف متفاوت نبود. در بین سوسپانسیون‌های حاوی اسپور قارچ، کمترین میزان مرگ و میر کنه‌ها پس از این مدت با سوسپانسیون آب مقطر، ۱۰ درصد روغن پنبه دانه، ۰/۰۱ درصد ساکارز و ۰/۲ درصد توئین با قارچ BB مشاهده شد.

تشریح اجساد کنه‌ها پس از تلف شدن نشان داد که فرمولاسیون‌های ساخته شده حاوی اسپور قارچ بر کنه‌ها اثر گذاشته، و مرگ و میر کنه‌ها در اثر فعالیت قارچ‌ها بوده است. همچنین با بررسی میکروسکوپی رشد میسلیم قارچ بر روی کنه‌ها مشخص شد که میسلیم قارچ‌ها بر سطح کوتیکول کنه هیالوما رشد کردند و در نتیجه باعث از بین رفتن کنه‌ها شدند.

جدول ۲. تأثیر فرمولاسیون‌ها بر میزان مرگ و میر کنه‌های هیالوما در طی ۹ روز پس از پاشیدن

شماره	فرمولاسیون	درصد مرگ و میر کنه‌ها در طی ۹ روز پس از پاشیدن
۱	آب مقطر با ۲ درصد توئین و قارچ BB	۵۳/۱۲
۲	آب مقطر با ۱۰ درصد پارافین مایع، ۰/۰۱ درصد ساکارز، ۰/۲ درصد توئین و قارچ BB	۵۴/۸۳
۳	آب مقطر با ۱۰ درصد روغن پنبه دانه، ۰/۰۱ درصد ساکارز، ۰/۲ درصد توئین و قارچ BB	۵۰
۴	آب مقطر (شاهد)	۰

بحث

با توجه به اینکه تحت شرایط آب و هوایی مختلف ایران، گونه‌های کنه متعلق به جنس هیالوما از شایع‌ترین کنه‌های سخت در تمامی نقاط کشور ایران می‌باشند و همچنین از ناقلین مهم بیماری‌ها به دام و انسان می‌باشند (Rahbari et al., 2007; Telmadarhe et al., 2009). لذا این مطالعه به

منظور ساخت ماده بیولوژیک به عنوان جایگزینی مناسب برای سموم شیمیایی جهت مبارزه با کنه هیالوما انجام شد. به این منظور طبق روش کار Polar et al. (2005) فرمولاسیون‌های روغنی و آبی با استفاده از قارچ BB ساخته و بر روی کنه هیالوما پاشیده شد (Polar et al., 2005). در این مطالعه غلظت $10^8 \times 1/76$ اسپور قارچ در هر میلی‌لیتر

دارند، و با توجه به رقابت موجود بین این میکروارگانسیم‌ها، نتایج به دست آمده از این آزمایش نشان می‌دهد که اگر میکروارگانسیم غالب در شرایط خاک مزرعه قارچ BB باشد، می‌تواند به عنوان یک عامل بالقوه عمل کرده و موجب نابودی تخم‌ها، لاروها، و حتی کنه‌های بالغ هیالوما در زمان پوست اندازی شود. البته این در صورتی است که تحقیقات کاملتری در رابطه با اثرات این قارچ بر روی انسان، محیط زیست و سایر موجودات زنده انجام بگیرد و بی‌خطری آن ثابت گردد.

برای بررسی تأثیر فرمولاسیون‌های مختلف بر میزان مرگ و میر کنه‌ها از روش پاشیدن استفاده شد تا نتایج حاصل از آن به نتایج کاربردی نزدیک‌تر باشد. از طرفی در ساخت فرمولاسیون‌ها از آب مقطر استفاده شد چون یکی از روش‌های نگهداری اسپور قارچ‌ها در آب می‌باشد و مدت نگهداری آنها از ۷-۱ سال متغیر است (Sanei, 2008)، در نتیجه می‌توان این نوع فرمولاسیون‌ها را حداقل تا یک سال نگهداری کرد و به‌عنوان جایگزینی برای سموم به صورت تجاری برای نقاط آلوده در مزرعه در سطح وسیع به کار برد.

سپاسگزاری

از همه کسانی که ما را در انجام این طرح یاری کرده‌اند به ویژه پژوهشکده تعلیم و تربیت کرمان، مسئولین آزمایشگاه بیوتکنولوژی و بخش علوم دامی دانشگاه شهید باهنر کرمان، همچنین مهندس امینی، مهندس تجلی، دکتر شریفی، مهندس ناظری، دکتر رادفر و آقای امین‌زاده، تشکر و قدردانی می‌گردد.

REFERENCES

Bateman, RP.; (1992). Controlled droplet application of mycoinsecticides: an environmentally friendly way to control locusts. *Antenna*; 16(1): 6-13.
Bateman, RP.; Carey, M.; Moore, D.; Parior, C.; (1993). The enhanced

از سوسپانسیون استفاده شد که مبنای انتخاب این غلظت نزدیک بودن به غلظت مورد استفاده در مطالعات قبلی در این زمینه بود (Ren *et al.*, 2011; Tavassoli *et al.*, 2011). برای مبارزه با کنه‌های بوفیلوس میکروفیلوس توسط قارچ MA، در ساخت فرمولاسیون از روغن پارافین استفاده کردند و دریافتند که تأثیرپذیری فرمولاسیون تا ۲ برابر افزایش یافت (Bateman, 1992; Bateman *et al.*, 1993).

فرموله کردن قارچ BB با روغن پنبه دانه باعث کاهش تأثیرگذاری این نوع قارچ بر روی کنه‌ها شد در حالی که فرموله کردن قارچ BB با روغن پارافین مایع بیشترین تأثیر را داشت. در این مطالعه، بالاترین میزان مرگ و میر در کنه‌ها توسط قارچ BB با فرمولاسیون حاوی روغن پارافین مایع و کمترین میزان با فرمولاسیون حاوی روغن پنبه دانه به دست آمده است که احتمالاً دلیل آن می‌تواند رشد بهتر این قارچ در روغن پارافین مایع در مقایسه با روغن پنبه دانه باشد.

میزان مرگ و میر کنه‌های هیالوما تا ۴ روز پس از اسپری کردن فرمولاسیون‌های مختلف متفاوت نبود زیرا اسپورهای قارچ برای رشد و نمو و انهدام بافت‌های کنه‌ها و از بین بردن آنها نیاز به زمان دارد.

در این مطالعه برای نخستین بار کنه هیالوما در شرایط غیر استریل و شبیه‌سازی شده با شرایط مزرعه نگهداری شد و تأثیرگذاری فرمولاسیون‌های مختلف بر کنه هیالوما در چنین شرایطی بررسی گردید، تا نتایج به دست آمده به نتایج کاربردی در مزرعه نزدیک‌تر باشد. با توجه به اینکه در خاک مزرعه گونه‌های بسیاری از میکروارگانسیم‌ها وجود

infectivity of *Metarhizium flauoviride* in oil formulations to desert locusts at low humidities. *Annals of Applied Biology*; 122: 145-152.

Connick Jr, W.; Lewis, J.; Quimby Jr., P.; (1990). Formulation of biocontrol

- agents for use in plant pathology. In: UCLA symposia on molecular and cellular biology. New York, USA. pp. 345-372.
- Durrani, AZ.; Shakoori, AR.; (2009). Study on ecological growth conditions of cattle Hyalomma ticks in Punjab, Pakistan. Iranian Journal of Parasitology; 4: 19-25.
- Graham, F.; (1990). Since Silent Spring. Houghton Mifflin Co., Boston, Massachusetts, U.S.A.
- Frazzon, APG.; Junior, IDSV.; Masuda, A.; Schrank, A.; Vainstein, MH.; (2000). *In vitro* assessment of *Metarhizium anisopliae* isolates to control the cattle tick *Boophilus microplus*. Veterinary Parasitology; 94: 117-125.
- Polar, P.; Kairo, MT.; Moore, D.; Pegram, R.; John, SA.; (2005). Comparison of water, oils and emulsifiable adjuvant oils as formulating agents for *Metarhizium anisopliae* for use in control of *Boophilus microplus*. Mycopathologia; 160: 151-157.
- Pourseyed, SH.; Tavassoli, M.; Bernousi, I.; Mardani, K.; (2010). *Metarhizium anisopliae* (Ascomycota: Hypocreales): An effective alternative to chemical acaricides against different developmental stages of fowl tick *Argas persicus* (Acari: Argasidae). Veterinary Parasitology; 172: 305-310.
- Moore, D.; Bridge, P. Higgins, P.; Bateman, R.; Prior, C.; (1993). Ultra-violet radiation damage to *Metarhizium flavoviride* conidia and the protection given by vegetable and mineral oils and chemical sunscreens. Annals of Applied Biology; 122: 605-616.
- Mossavi, SMR.; (2000). Biological Control. First edition, Mashhad SID Press, Iran. pp: 220-226. (in Persian)
- Rahbari, S.; Nabian, S.; Shayan, P.; (2007). Primary report on distribution of tick fauna in Iran. Parasitology Research; 101: 175-177.
- Ren, Q.; Sun, M.; Guan, G.; Li, Y.; Liu, Z.; Liu, A.; Ma, M.; Niu, Q.; Liu, J.; Yin, H.; (2011). Biological control of engorged female *Haemaphysalis qinghaiensis* (Acari: Ixodidae) ticks with different Chinese isolates of *Beauveria bassiana*. Parasitology Research; 109: 1059-1064.
- Samuels, K.; Pinnock, D.; Bull, R.; (1990). Scarabeid larvae control in sugarcane using *Metarhizium anisopliae*. Journal of Invertebrate Pathology; 55: 135-137.
- Sanei, J.; (2008). Mycology Laboratory Agenda. Gorgan: Payk Rihan Publication. (Persian)
- Sanzydi, D.; (2002). Principles of Animal and Poultry. Translated to Persian by: Moghaddam GH, Pashmi M. Tehran: Amid Press, Iran. pp: 203-205. (Persian)
- Tavassoli, M.; Pourseyed, SH.; Ownagh, A.; Bernousi, I.; Mardani, K.; (2011). Biocontrol of pigeon tick *Argas reflexus* (Acari: Argasidae) by entomopathogenic fungus *Metarhizium Anisopliae* (Ascomycota: Hypocreales). Brazilian Journal of Microbiology; 42: 1445-1452.
- Telmadarhe, Z.; Vatandoost, H.; Rafinejad, J.; Mohebali, M.; Tavakoli, M.; Abdi Goodarzi, M.; (2009). Prevalance of argasidea and ixodidea ticks and determination of their sensitivity to cypermethrin in Meshginshahr. Journal of Ardabil University Medical Sciences; 9(2): 127-133.
- Walker, HL.; (1981). *Fusarium lateritium*: a pathogen of spurred anoda (*Anoda cristata*), prickly sida (*Sida spinosa*), and velvetleaf (*Abutilon theophrasti*). Weed Science; 629-631.