University of Tehran Press

Journal of Veterinary Research

Homepage: jvr.ut.ac.ir

Online ISSN: 2251-6190

Original Article

J Vet Res, Volume 78, Number 2, 2023, 77-83

A Preliminary Investigation of the *Haemoproteus* Infection in Domestic Pigeons of Torkaman County, Iran by Microscopic and Molecular Methods

Saeid Iri[1]✉, Yaghoub Firouzivand[2]✉, Somayeh Hosseinzadeh[3]✉

[1] *Young Researchers Club, Shabestar branch, Islamic Azad University, Shabestar, Iran*
[2] *Department of Pathobiology, Malekan Branch, Islamic Azad University, Malekan, Iran*
[3] *Department of Microbiology, Islamic Azad University, Shabestar Branch, Faculty of Veterinary Medicine, Shabestar, Iran*

Received: *6 February 2023*, ***Accepted:*** *11 April 2023*

10.22059/jvr.2023.354541.3325 20.1001.1.20082525.

Abstract

BACKGROUND: The protozoan *Haemoproteus* belongs to the Phylum Apicomplexa, Class Sporozoa, and Order Haemosporina. Avian haemosporidian are protozoan parasites that use birds as hosts around the world. Many species of wild and domestic doves are natural hosts of different species of *Haemoproteus*. Blood-sucking arthropods are the main vectors of these blood parasites.

OBJECTIVES: The aim of this study was the microscopic and molecular investigation of the protozoan *Haemoproteus columbae* in the blood of infected pigeons in Torkaman County, Iran.

METHODS: Blood samples and tubes containing ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) anticoagulant were collected from 96 domestic pigeons randomly from 14 pigeon lofts and different parts of Torkaman County.
Pigeons were also inspected for infection with the host-vector *Pseudolynchia canariensis*. In the next step, blood smears were stained with Giemsa and examined microscopically. Also, blood tubes containing EDTA were tested by PCR method on the cytochrome b gene.

RESULTS: Microscopic and molecular examination of peripheral blood showed that 62 (64.58 %) and 73 (76.04 %) of the investigated pigeons were contaminated, respectively. Of the 62 infected pigeons infected with the *Haemoproteus*, 28 pigeons (66.66 %) were male, and 34 (62.96 %) were female. Also, the infestation with *Pseudolynchia canariensis* was observed in 4 (28.57 %) pigeon lofts.

CONCLUSIONS: The preliminary investigation shows the high rate of *Haemoproteus* infection in pigeons in Torkaman County. Further studies to determine the prevalence and accurate identification of the species infecting pigeons in this region require PCR testing and sequencing of infected blood samples.

Keywords: *Homoproteus*, Infection, Microscopic, Molecular, Pigeon

Copyright © Journal of Veterinary Research: Open Access; Copying, distribution and publication are free for full use with attribution. ©The Author(s).
Publisher: University of Tehran

Corresponding author: Yaghoub Firouzivand, Tel/Fax: +9841-33333674 / +9841-37842797

How to cite this article:

Figure Legends and Table Captions

Table 1. The sequence of Primers Used to Amplify Part of *Haemoproteus columbae* Cytochrome b Gene and the Size of the Amplified Product.
Table 2. Rate of Infection of Pigeons in Torkaman County With *Haemoproteus* Based on Sex by Microscopic Method**.**
Figure 1. Erythrocytes Infected With *Haemoproteus* Gametocytes (Stained With Giemsa).
Figure 2. Electrophoresis of PCR Products of *Haemoproteus* Samples. Note: 3-18 positive samples; 2 negative samples, M: marker.

مجله تحقیقات دامپزشکی
Homepage: jvr.ut.ac.ir
شاپا الکترونیکی: ۶۱۹۰-۲۲۵۱
انتشارات دانشگاه تهران
مقاله پژوهشی
دوره ۷۸، شماره ۲، ۱۴۰۲، ۸۳-۷۷

بررسی مقدماتی میزان آلودگی *هموپروتئوس* در کبوترهای خانگی شهرستان ترکمن با روش‌های میکروسکوپی و ملکولی

سعید ایری[۱]، یعقوب فیروزی‌وند[۲]، سمیه حسین‌زاده[۳]

[۱] *باشگاه پژوهشگران جوان، واحد شبستر، دانشگاه آزاد اسلامی، شبستر، ایران*
[۲] *گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ملکان، ملکان، ایران*
[۳] *گروه میکروبیولوژی، واحد شبستر، دانشگاه آزاد اسلامی، شبستر، ایران*

تاریخ دریافت: ۱۷ بهمن ماه ۱۴۰۱، **تاریخ پذیرش:** ۲۲ فروردین ماه ۱۴۰۲
10.22059/jvr.2023.354541.3325 20.1001.1.20082525.

چکیده

زمینه مطالعه: انگل *هموپروتئوس* متعلق به شاخه آپی کمپلکسا، رده اسپوروزوآ و راسته هموسپورینا می‌باشد. هموسپوریدیای پرندگان، انگل‌های تک‌یاخته‌ای می‌باشند که از اکثر پرندگان در سرتاسر جهان به عنوان میزبان استفاده می‌کنند. بسیاری از گونه‌های کبوترهای وحشی و اهلی و قمری میزبان طبیعی گونه‌های مختلف *هموپروتئوس* می‌باشند. بندپایان خونخوار ناقل عمده این انگل‌های خونی می‌باشند.

هدف: بررسی میکروسکوپی و مولکولی تک‌یاخته *هموپروتئوس کولومبه* در خون کبوترهای آلوده در شهرستان ترکمن.

روش‌کار: برای این منظورگسترش خون و لوله‌های خون حاوی ماده ضد انعقاد EDTA از تعداد ۹۶ قطعه کبوتر خانگی به صورت تصادفی از ۱۴ کبوترخانه از نقاط مختلف شهرستان ترکمن جمع‌آوری شد. همچنین کبوترها از نظر آلودگی به میزبان ناقل پسود*ولینشیا کانارانسیس* بازرسی شدند. در مرحله بعد، گسترش‌های خونی با گیمسا رنگ‌آمیزی شد و مورد آزمایش میکروسکوپی قرار گرفت. همچنین لوله‌های خون حاوی EDTA با روش PCR بر روی ژن سیتوکروم b مورد آزمایش قرار گرفتند.

نتایج: بررسی میکروسکوپی و مولکولی خون محیطی به ترتیب بیانگر ۶۲ (۶۴/۵۸ درصد) و ۷۳ (۷۶/۰۴ درصد) میزان آلودگی در کبوترها بود. از تعداد ۶۲ کبوتر آلوده به تک‌یاخته هموپروتئوس تعداد ۲۸ کبوتر (۶۶/۶۶ درصد) نر و تعداد ۳۴ (۶۲/۹۶ درصد) کبوتر ماده بودند همچنین آلودگی به پسود*و لینشیا کانارانسیس* در تعداد ۴ (۲۸/۵۷ درصد) کبوترخانه مشاهده شد.

نتیجه‌گیری نهایی: بررسی مقدماتی مطالعه حاضر نشانگر میزان آلودگی بالای *هموپروتئوس* در کبوترهای شهرستان ترکمن بود. مطالعات بیش‌تر جهت تعیین میزان شیوع و شناسایی دقیق گونه‌های آلوده‌کننده کبوترها در این منطقه نیاز به آزمایش PCR همراه با تعیین توالی بر روی نمونه‌های خون‌های آلوده کبوتر دارد.

کلمات کلیدی: آلودگی، کبوتر، مولکولی، میکروسکوپی، *هموپروتئوس*

کپی‌رایت © تحقیقات دامپزشکی: دسترسی آزاد؛ کپی‌برداری، توزیع و نشر برای استفاده کامل با ذکر منبع آزاد است، © نویسندگان.
ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

نویسنده مسئول: *یعقوب فیروزی‌وند، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ملکان، ملکان، ایران*

مقدمه

انگل *هموپروتئوس* متعلق به شاخه آپی کمپلکسا، رده اسپوروزوآ و راسته هموسپورینا می‌باشد. این تک یاخته در بین هموسپوریدیای پرندگان (*لوکوسیتوزئون*، *پلاسمودیوم*، *هموپروتئوس* و *فالیسیا*) بیشترین جنس را به خود اختصاص داده است (۱).

بندپایان خونخوار ناقل عمده این انگل‌های خونی می‌باشند (۲). مراحل غیر جنسی و جنسی هموسپوریدیای پرندگان به ترتیب در بدن میزبان پرنده و ناقل طی می‌شود (۳). بسیاری از گونه‌های کبوترهای وحشی و اهلی و قمری میزبان طبیعی گونه‌های مختلف *هموپروتئوس* می‌باشند (۴). گونه‌های *هموپروتئوس* از طریق گزش پشه‌های ریز کولیکوئیده، سراتوپوگونیده و مگس هیپوبوسیده منتقل

می‌شوند (۵). ناقل بندپای *هموپروتئوس* در کبوترهای ایران، مگس *پسودولینشیا کانارنسیس* *Pseudolynchia canariensis* تعیین شده است (۶).

اسپوروزوآیت‌های انگل طی خون‌خواری پشه به پرنده منتقل می‌شود، سپس شیزونت‌های نسل اول و دوم در بدن میزبان ایجاد می‌شود. شیزونت‌های نسل دوم انگل *هموپروتئوس* در طحال، کبد و ریه تشکیل شده و گامتوسیت‌ها در داخل گلبول‌های قرمز به صورت ساختارهای دمبلی شکل ظاهر می‌شوند. این انگل بیشتر در کبوترهای جوان کشنده است و در پرندگان بالغ غیر بیماریزاست (۷، ۸).

مطالعات مختلفی در زمینه بررسی *هموپروتئوس* در نقاط مختلف جهان و ایران انجام شده است. مطالعات قبلی بر اساس منطقه نمونه‌برداری و روش‌های تشخیص، میزان آلودگی به هموپروتئوس را بین ۰ تا ۱۰۰ درصد در گونه‌های پرندگان در سراسر جهان نشان داده است (۹). میزان آلودگی به *هموپروتئوس* در ایران به میزان ۶/۸ تا ۸۸ درصد گزارش شده است (۱۰-۱۲).

Ghaemitalab و همکاران در سال ۲۰۲۱، مطالعه‌ای را بر روی ۲۳۷ پرنده از مناطق مختلف جنوب و جنوب شرقی ایران با بررسی ملکولی بر روی ژن سیتوکروم b براساس پرایمرهای اختصاصی انجام دادند و نشان دادند که ۵۱/۱ درصد از این پرندگان آلوده به *هموپروتئوس* می‌باشند (۱۳).

همچنین در بررسی انجام شده توسط Nourani و همکاران در سال ۲۰۲۱ در پرندگان ایران میزان آلودگی به *هموپروتئوس* در کبوترها با آنالیز مولکولی ۲۲/۳۶ درصد و با روش میکروسکوپی ۱۷/۷۶ درصد گزارش شده است (۹).

Tabaripour و همکاران در سال ۲۰۱۷ طی مطالعه خود در استان مازندران، میزان آلودگی در کبوترهای خانگی را با روش میکروسکوپی ۱۱/۳۳ درصد تعیین کردند و بررسی مولکولی نشان داد همه نمونه‌های *هموپروتئوس* از گونه *کولومبه* بوده است (۱۴).

اطلاعات موجود نشان می‌دهد که استفاده از توالی‌های میتوکندریایی ابزار مناسبی برای تشخیص گونه‌های *هموپروتئوس* فراهم می‌کند (۱۵).

در شهرستان ترکمن تاکنون هیچ‌گونه مطالعه‌ای درباره آلودگی *هموپروتئوس* در کبوترها صورت نگرفته است. بنابراین هدف از مطالعه حاضر تعیین میزان آلودگی کبوترهای شهرستان ترکمن با دو روش بررسی میکروسکوپی و بررسی مولکولی بود.

مواد وروش کار

جمع‌آوری نمونه: از تعداد ۹۶ قطعه کبوتر اهلی به صورت تصادفی طی ماه‌های مهر تا اسفند سال ۱۳۹۸ از نقاط مختلف شهرستان ترکمن، پس از تعیین جنسیت آن‌ها، خونگیری به عمل آمد و همچنین قسمت‌های مختلف بدن آن‌ها از نظر آلودگی به *پسودولینشیا کانارنسیس* مورد ارزیابی قرار گرفت. برای خونگیری، ۱ سی سی خون از ورید زیر بال کبوترها با استفاده از سرنگ انسولین اخذ شد. ابتدا یک قطره از خون گرفته شده به منظور تهیه گسترش خونی مورد استفاده قرار گرفت و مابقی آن بلافاصله به لوله حاوی ماده ضدانعقاد EDTA انتقال داده شد و پس از درج کد مربوطه، نمونه‌های خون در شرایط خنک به آزمایشگاه منتقل شد و تا زمان انجام آزمایشات مولکولی در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. همچنین در مطالعه حاضر آلودگی کبوترخانه‌ها به مگس *پسولینشیا* مورد ارزیابی قرار گرفت.

بررسی‌های میکروسکوپی: گسترش‌های خونی تهیه شده با استفاده از متانول، به مدت ۱ دقیقه تثبیت شدند، سپس به وسیله رنگ گیمسا (شرکت MERCK) رقت ۱:۲۰ با محلول بافر فسفاته تهیه شده pH ۶/۸ و به مدت ۳۰-۲۵ دقیقه رنگ‌آمیزی گردیدند و پس از شستشو با آب و خشک شدن در جریان هوای آزمایشگاه به وسیله میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ۱۰۰ مورد مشاهده و بررسی قرار گرفتند.

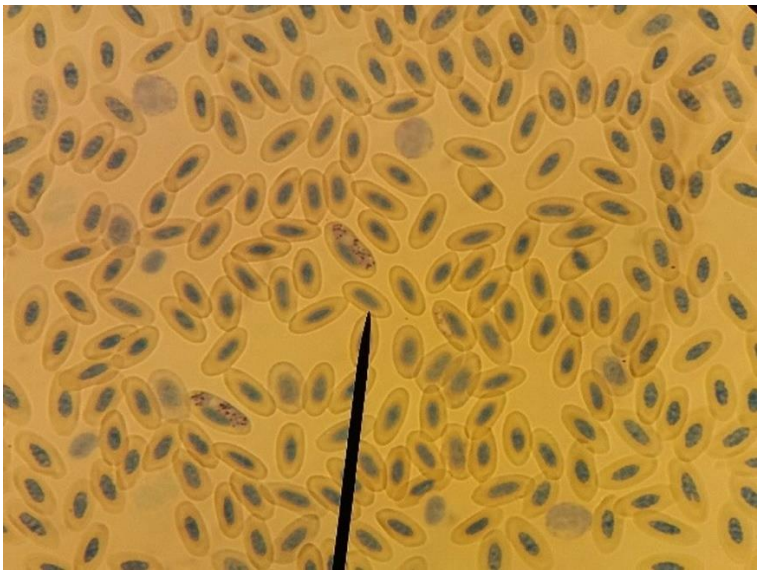
بررسی‌های مولکولی (استخراج DNA از نمونه‌های خون): به منظور استخراج DNA ژنومی از تمام نمونه‌های خون اخذ شده، از کیت استخراج DNA ژنومی (سیناکلون، ایران) استفاده گردید. روند استخراج بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده کیت انجام گرفت.

جدول ۱. توالی پرایمرهای مورد استفاده جهت تکثیر بخشی از ژن سیتوکروم b *هموپروتئوس کولومبه* و اندازه فرآورده حاصل از تکثیر.

پرایمر	توالی نوکلئوتیدی پرایمر	اندازه محصول PCR (جفت باز)
پرایمر F	۵'ATGGTGCTTTCGATATATGCATG۳'	۶۱۷
پرایمر R	۵'GCATTATCTGGATGTGATAATGGT۳'	

جدول ۲. میزان آلودگی کبوترهای شهرستان ترکمن به *هموپروتئوس* بر اساس جنسیت با روش میکروسکوپی.

میزان آلودگی (درصد)	تعداد آلوده	تعدادکبوتر (درصد)	جنس
۶۶/۶۶	۲۸	۴۲ (۴۳/۷۵ درصد)	نر
۶۲/۹۶	۳۴	۵۴ (۵۶/۲۵ درصد)	ماده



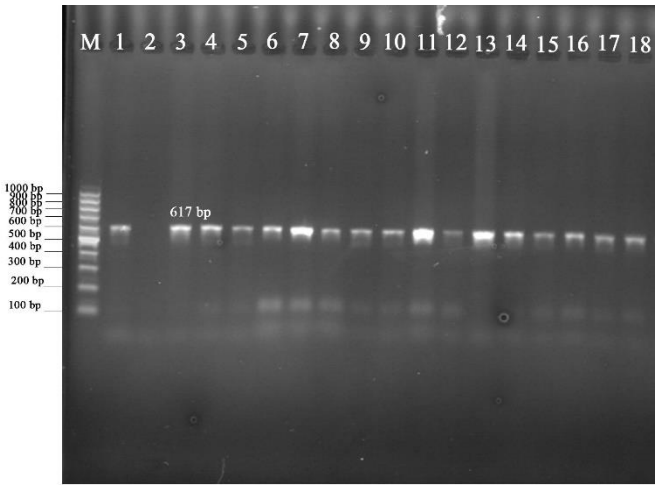
تصویر ۱. گلبول‌های قرمز آلوده به گامتوسیت‌های *هموپروتئوس* (رنگ‌آمیزی با گیمسا).

تکثیر بخشی از ژن سیتوکروم b به روش PCR: تکثیر بخشی از ژن سیتوکروم b به روش PCR و با استفاده از پرایمری که قبلاً توسط Bensch و همکاران در سال ۲۰۰۰ (۱۶) طراحی شده بود، با کمی تغییر انجام گرفت (جدول ۱). اندازه فرآورده حاصل از تکثیر توسط مارکر bP plus ۱۰۰ (سیناژن، ایران) مشخص گردید. در این روش، نمونه‌های مثبت واجد باندی به میزان bp ۶۱۷ می‌باشند. در مطالعه حاضر جهت کنترل مثبت، از مقایسه اندازه باندهای به دست آمده در مطالعه Bensch و همکاران در سال ۲۰۰۰ و یکسان بودن آن‌ها با اندازه نمونه‌های مثبت و برای کنترل منفی از آب مقطر به جای DNA استفاده گردید.

نتایج

طبق بررسی‌های انجام شده با روش میکروسکوپی، نتایج نشان داد که از ۹۶ نمونه خون جمع‌آوری شده از کبوترهای خانگی شهرستان ترکمن، تعداد ۶۲ (۶۴/۵۸ درصد) عدد از آن‌ها آلوده به تک‌یاخته *هموپروتئوس* بودند که از این تعداد ۲۸ کبوتر (۶۶/۶۶ درصد) نر و تعداد ۳۴ (۶۲/۹۶ درصد) ماده بودند (جدول ۲). در گسترش خونی، گامتوسیت‌های *هموپروتئوس* در داخل گلبول‌های قرمز مشاهده شد (تصویر ۱).

در مجموع ۹۶ نمونه خون مورد استخراج DNA ژنومی قرار گرفت و ژن سیتوکروم b با استفاده از روش واکنش رنجیره‌ای پلیمراز (PCR) تکثیر داده شد. تعداد ۷۳ نمونه واکنش مثبت در آزمایش PCR نشان دادند (تصویر ۲)، تعداد ۱۱ نمونه مثبت در آزمایش PCR در آزمایش میکروسکوپی فاقد آلودگی گامت در گلبول‌های قرمز بودند. همچنین از ۱۴ کبوترخانه مورد بررسی، تعداد ۴ (۲۸/۵۷ درصد) کبوترخانه، آلوده به مگس *پسودو لنشیا کانارانسیس* بودند.



تصویر ۲. الکتروفورز محصولات PCR حاصل از تکثیر ژن سیتوکروم b بر روی ژل آگاروز. چاهک M: مارکر GeneRulerTM 100 bp DNA ladder marker؛ چاهک ۲: کنترل منفی؛ چاهک‌های ۱ و ۳-۱۸: جدایه‌های منتخب با واکنش مثبت.

بحث

در مطالعه حاضر، هر دو بررسی میکروسکوپی و مولکولی جهت شناسایی دقیق تک‌یاخته *هموپروتئوس* انجام شد و نتایج به دست آمده از بررسی‌های میکروسکوپی و روش PCR نشان داد که به ترتیب ۶۴/۵۸ و ۷۶/۰۴ درصد از نمونه‌ها آلوده به تک‌یاخته *هموپروتئوس* بودند. مطالعه Nematollahi و همکاران در سال ۲۰۱۲ در اصفهان، نشان داد که از تعداد ۱۰۰ کبوتر مورد آزمایش با روش میکروسکوپی، تعداد ۶۲ (۶۲ درصد) عدد آلوده به *هموپروتئوس* بودند (۱۷).

در مطالعه Tavassoli و همکاران در سال ۲۰۱۸ در استان‌های شمال‌غرب و غرب کشور، میزان آلودگی کبوترها به *هموپروتئوس* با روش میکروسکوپی و مولکولی به ترتیب ۱۳/۹۷ درصد و ۲۴/۷۳ درصد گزارش گردیده است (۱۸).

همچنین در بررسی Bahrami و همکاران در سال ۲۰۲۰، ۳۴/۲ درصد کبوترها آلوده به *هموپروتئوس*، ماکرو و میکروگامتوسیت را در داخل گلبول‌های قرمز نشان دادند، در حالی‌که با روش Semi-nested PCR میزان آلودگی ۶۳/۸ درصد تعیین گردید (۱۹). مطالعات Samani و همکاران در سال ۲۰۱۳، نشان داد از ۱۰۰ کبوتر مورد آزمایش، ۳۷/۵ درصد کبوترهای نر و ۳۷/۵ درصد کبوترهای ماده آلوده به هموپروتئوس بودند و ارتباط معنی‌داری بین جنسیت کبوتر و میزان آلودگی انگلی یافت نشد (۲۰). همچنین مگس *پسودولینشیا کانارنسیس* از ۲۸/۵۷ درصد کبوترخانه‌ها و در مجموع از ۳۶ درصد کبوترها جدا گردید. در مطالعات صورت گرفته در مناطق مختلف ایران، میزان آلودگی کبوترها به مگس *پسودولینشیا کانارنسیس* از ۱۳/۳ درصد تا ۶۳/۷۲ درصد گزارش گردیده است (۱۱، ۱۲، ۲۰، ۲۱).

این تفاوت در میزان آلودگی عامل و ناقل بیماری احتمالاً ناشی از عوامل مختلفی مانند زیستگاه جغرافیایی، شرایط آب و هوایی، سن، تغذیه، درمان و یا عدم درمان ضد انگلی و جمعیت ناقلین این انگل می‌باشد (۲۲). Gomes و همکاران در سال ۲۰۲۰، نشان دادند که میزان آلودگی به *هموپروتئوس* در مناطق با رطوبت بالا بسیار بیشتر از مناطق با رطوبت پایین می‌باشد (۲۳).

نتیجه‌گیری نهایی: بر اساس نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر، می‌توان نتیجه گرفت که گونه‌های تک‌یاخته *هموپروتئوس* در میان کبوترها در شهرستان ترکمن شایع می‌باشد. رعایت اصول بهداشتی در نگهداری کبوترها و نیز درمان ضد انگل‌های خارجی و خونی کبوترها در کاهش میزان شیوع انگل‌های خونی مؤثر خواهد بود. مطالعات بیش‌تر جهت تعیین دقیق گونه‌های آلوده‌کننده کبوترها در این منطقه و میزان توزیع آن‌ها در میان میزبانان و ناقلین آن‌ها به روش مولکولی در شهرستان ترکمن لازم و ضروری است.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از همکاری و مساعدت‌های باشگاه پژوهشگران جوان و کارشناسان آزمایشگاه انگل‌شناسی دانشگاه آزاد واحد شبستر که در انجام مطالعه حاضر ما را یاری دادند کمال تشکر و سپاسگزاری را داریم.

تعارض منافع

بین نویسندگان تعارض در منافع گزارش نشده است.

References

1. Valkiūas G. Avian Malaria Parasites and Other Haemosporidia. 1st ed. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA; 2005.
2. Clark NJ, Drovetski SV, Voelker G. Robust geographical determinants of infection prevalence and a contrasting latitudinal diversity gradient for haemosporidian parasites in Western Palearctic birds. Mol Ecol. 2020;29(16):3131-43. doi: 10.1111/mec.15545
3. Valkiūnas G, Palinauskas V, Križanauskienė A, Bernotienė R, Kazlauskienė R, Iezhova TA. Further observations on in vitro hybridization of hemosporidian parasites: patterns of ookinete development in Haemoproteus spp. J Parasitol. 2013;99(1):124-36. doi: 10.1645/GE-3226.1
4. Nourani L, Djadid ND, Rabiee K, Mezerji MS, Shakiba M, Bakhshi H, et al. Detection of haemosporidian parasites in wild and domestic birds in northern and central provinces of Iran: Introduction of new lineages and hosts. Int J Parasitol Parasites Wildl. 2020;13:203-12. doi: 10.1016/j.ijppaw.2020.10.001 PMID: 33209581
5. Bukauskaitė D, Žiegytė R, Palinauskas V, Iezhova TA, Dimitrov D, Ilgūnas M, et al. Biting midges (Culicoides, Diptera) transmit Haemoproteus parasites of owls: evidence from sporogony and molecular phylogeny. Parasit Vectors. 2015;8(1):1-11. doi: 10.1186/s13071-015-0910-6
6. Pirali-Kheirabadi K, Dehghani-Samani A, Ahmadi-Baberi N, Najafzadeh V. A first report of infestation by *Pseudolynchia canariensis* in a herd of pigeons in Shahrekord (Southwest of Iran). J arthropod borne dis. 2016;10(3):424-8. PMID: 27308301
7. Varshney JP, Deshmukh VV, Chaudhary PS. Pseudomalaria (Haemoproteus columbae) in pigeon shelter. Intas Polivet. 2014;15(1):176-7.
8. Maharana BR, Kumar B. Pseudomalaria in a domestic pigeon: a case report. J Parasit Dis. 2017;41(1):295-7. doi: 10.1007/s12639-016-0764-7 PMID: 28316429
9. Nourani L, Baghkheirati AA, Zargar M, Karimi V, Djadid, ND. Haemoproteosis and avian malaria in Columbidae and Corvidae from Iran. Vet Med Sci. 2021;7(5):2043-50. doi: 10.1002/vms3.549 PMID: 34240581
10. Mirzaei F, Siyadatpanah A, Norouzi R, Pournasir S, Nissapatorn V, Pereira MDL. Blood parasites in domestic birds in central Iran. Vet Sci. 2020;7(3):126. doi: 10.3390/vetsci7030126 PMID: 32899724
11. Sadeghi-Dehkordi Z, Azami S, Gharekhani J, Yousefi M, Gerami-Sadeghian A, Sadeghi D, et al. Ecto and endo-parasites of domestic pigeons (Columba livia) in Hamadan, west part of Iran. Mun Ent Zool. 2019;14(2):489-95.
12. Chaechi-Nosrati M-R, Eslami A, Rahbari S, Houshmand E, Yousefi A. The survey of parasitic infections of wild pigeons (Columba livia) in Lahijan city, Guilan, Iran. Comp Clin Path. 2018;27:1405-8. doi: 10.1007/s00580-018-2779-1
13. Ghaemitalab V, Mirshamsi O, Valkiūnas G, Aliabadian M. Prevalence and Genetic Diversity of Avian Haemosporidian Parasites in Southern Iran. Pathogens. 2021;10(6):645. doi: 10.3390/pathogens10060645 PMID: 34071073
14. Tabaripour R, Youssefi MR, Rahbari S, Arghavan M. Molecular identification of Haemoproteus in domestic pigeons (Colombia livia domestica) in Mazandaran province. J Vet Res. 2017; 72(4):397-402. doi: 10.22059/JVR.2018.217312.2532 (In Persian)
15. Santiago-Alarcon D, Outlaw DC, Ricklefs RE, Parker PG. Phylogenetic relationships of haemosporidian parasites in New World Columbiformes, with emphasis on the endemic Galapagos dove. Int J Parasitol. 2010;40(4):463-70. doi: 10.1016/j.ijpara.2009.10.003 PMID: 19854196
16. Bensch S, Stjernman M, Hasselquist D, Hannson B, Westerdahl H, Pinheiro RT. Host specificity in avian blood parasites: a study of Plasmodium and Haemoproteus mitochondrial DNA amplified from birds. Proc R Soc Lond B Biol Sci. 2000;267(1452):1583-9. doi: 10.1098/rspb.2000.1181 PMID: 11007335

17. Nematollahi A, Ebrahimi M, Ahmadi A, Himan M. Prevalence of Haemoproteus columbae and Trichomonas gallinae in pigeons (Columba domestica) in Isfahan, Iran. J Parasit Dis. 2012;36(1):141-2. doi: 10.1007/s12639-011-0082-z PMID: 23542461

18. Tavassoli M, Esmaeilnejad B, Malekifard F, Mardani K. PCR-RFLP detection of Haemoproteus spp. (Haemosporida: Haemoproteidae) in pigeon blood samples from Iran. Bulg J Vet Med. 2018;21:429-35. doi: 10.15547/bjvm.2014

19. Bahrami S, Esmaeilzadeh S, Alborzi AR, Niknejad S. Prevalence and new histopathological aspects of Haemoproteus spp. in pigeons from Iran. J Hell Vet Med Soc. 2020;71(1):1925-34. doi: 10.12681/jhvms.22929

20. Samani AD, Kheirabadi KP, Samani AD. Prevalence and rate of parasitemia of haemoproteus columbae in columba iiviadomesticain southwest of Iran. Iran J Parasitol. 2013;8(4):641-44. PMID: 25516748

21. Fakhar M, Kalani H, Rahimi-Esboei B, Armat S. Hemoprotozoa in free-ranging birds from rural areas of Mazandaran Province, northern Iran. Comp Clin Path. 2013;22(3):509-12. doi: 10.1007/s00580-012-1441-6

22. Tietz MS, Marinho DE, Cuadros R, Jardim DA, Silva C, Baldo M. Parasites of pigeons (Columba livia) in urban areas of lages, Southern Brazil. Parasitol latinoam. 2007;62(3-4):183-7. doi: 10.4067/S0717-77122007000200014

23. Gomes RC, Teixeira BL, Gusmão CL, Fernandes AM. Humidity effects on avian blood parasites in the Caatinga of Brazil. Ornithol Res. 2020;28:98-104. doi: 10.1007/s43388-020-00009-y