Archive of SID

دانشور
پزشکی

تعیین اثر فاکتور کندکنندهٔ رشد (GRF) بر شاخص‌های بیولوژیکی آنوفل استفنسی *Anopheles stphensi* (Dip:Culicidae) و مقایسه دو روش حذف آن از محیط لاروی

نویسندگان: علیرضا بلندنظر[1] و دکتر محمدسعید دایر[2]

۱- دانش‌آموخته رشته حشره‌شناسی پزشکی دانشگاه تربیت مدرس

۲- استادیار گروه حشره‌شناسی پزشکی دانشگاه تربیت مدرس

دوماهنامه علمی – پژوهشی
دانشگاه شاهد
سال یازدهم – شماره ۵۱
تیر ۱۳۸۳

چکیده

لارو پشه‌ها در شرایط افزایش تراکم لاروی، فاکتور کندکننده رشد (GRF) تولید کرده، در محیط پرورش پراکنده می‌سازند که این ماده می‌تواند باعث کاهش وفور و پویایی پشه‌ها شود.

این مطالعه با هدف حذف این ماده از محیط پرورش لاروی آنوفل استفنسی با دو روش ابتکاری تعویض محیط پرورش (روش اول) و کاربرد محیط پرورش مشترک(روش دوم) و بررسی اثر آن بر شاخص‌های بیولوژیکی انجام گرفت.

نتایج مطالعه نشان داد که مرگ و میر لاروی با حذف GRF از محیط پرورش کاهش می‌یابد، به نحوی که از ۴۱ درصد در حالت بدون حذف (شاهد) به ۲۶ درصد در روش اول و ۱۸ درصد در روش دوم رسید. مرگ و میر شفیره با حذف GRF تغییر معناداری نداشت. مرگ و میر کل نیز کاهش یافت و از ۴۵ درصد در حالت بدون حذف (شاهد) به ۳۱ درصد در روش اول و به ۲۵ درصد در روش دوم رسید. نرخ بقا با حذف GRF افزایش یافت و از ۵۵ درصد در حالت بدون حذف (شاهد) به ۶۹ درصد در روش اول و ۷۵ درصد در روش دوم رسید. همچنین زمان رشد لاروی از ۲۱ روز در حالت بدون حذف (شاهد) به ۱۹/۵ روز در هر دو روش رسید. نسبت جنسی با حذف GRF به روش دوم نسبت به شاهد اختلاف معناداری داشت، اما با حذف به روش اول، اختلاف معناداری نداشت، به نحوی که نسبت جنسی در حالت بدون حذف (شاهد) ۵۴ درصد بود و در روش دوم به ۵۲ درصد رسید؛ یعنی نسبت جنسی به نفع کاهش تعداد نرها تغییر کرد. اندازه بدن بالغین نر و ماده در هر دو حالت حذف، نسبت به حالت بدون حذف، اختلاف معناداری را نشان نداد.

با توجه به مطالب بالا می‌توان نتیجه گرفت با حذف GRF از محیط پرورش، شاخص‌های بیولوژیکی در جهت افزایش وفور و پویایی پشه تغییر می‌کنند. همچنین روش دوم بیش از روش اول GRF را از محیط خارج می‌کند و بنابراین روش موفق‌تری برای حذف است.

واژه‌های کلیدی: فاکتور کندکنندهٔ رشد، GRF، تراکم لاروی، شاخص‌های بیولوژیکی، آنوفل استفنسی، شرایط آزمایشگاه، مالاریا

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

لارو پشه‌ها با تراکم لاروی مختلف در محیط‌های زیست طبیعی و مصنوعی وجود دارد که معمولاً تراکم آن به ازای تعداد لارو در هر سانتی‌مترمربع از سطح آب یا به ازای تعداد لارو در هر میلی‌لیتر از حجم آب بیان می‌شود. چنانچه میزان تراکم لاروی در واحد سطح یا حجم آب افزایش یابد تغییراتی در بیولوژی و چرخه زندگی پشه‌ها روی خواهد داد که حائز اهمیت است. به‌طور خلاصه در تراکم‌های لاروی بالا، این اتفاقات حادث می‌شود: میزان غذا به ازای هر لارو در واحد حجم کاهش می‌یابد، برخورد فیزیکی لاروها زیاد می‌شود، در برخی گونه‌ها همنوع‌خواری یا کانی‌بالیسم روی می‌دهد، بازدارنده‌های شیمیایی یا فاکتورهای کندکننده رشد (GRF) توسط لاروها تولید و در محیط آزاد می‌شوند که حالت سمی دارند و بالاخره میزان فضولت و مواد حاصل از پوست‌اندازی و سایر مواد زائد در آب زیاد می‌شود [۱].

در این مقاله اطلاعاتی در مورد فاکتور کندکننده رشد (GRF) بیان شده و همچنین آزمایش‌هایی که در مورد این فاکتور صورت گرفته ارائه گردیده است.

GRF (Growth Retardent Factor) یک اتوتوکسین (autotoxin) درون‌گونه‌ای و در برخی موارد بین‌گونه‌ای است که اولین بار توسط مور و فیشر (Moor & Fisher) در سال ۱۹۶۹ معرفی و نامگذاری شد. مور و فیشر بیان داشتند که وظیفه طبیعی GRF کمک به تنظیم طبیعی جمعیت و یا به‌عنوان یک مزیت رقابتی نسبت به سایر گونه‌ها است [۲]. مزیت رقابتی GRF تولیدی *Aedes aegypti* روی *Ae. albopictus* [۲] و همچنین روی *Culex pipiens* [۳و۴] بررسی شده و به اثبات رسیده است. اتوتوکسین لاروهای آئدس اجیپتی در شرایط کمبود غذا و یا فضا ترشح شده، روی گونه دیگر تأثیر می‌گذارد و شاخص‌های بیولوژیکی آن‌ها، همچون رشد لاروی (Larval growth) و بقا (survival) را کاهش می‌دهد. این مزیت ممکن است به‌عنوان یک عامل کنترل جمعیت پشه‌ها به کار رود. GRFها بیش‌تر یک اتوتوکسین درون‌گونه‌ای هستند تا بین‌گونه‌ای و باعث تنظیم جمعیت طبیعی همان‌گونه می‌شوند.

GRF در شرایط کمبود بحرانی غذا، تولید می‌شود [۵و۶] و در نتیجه انبوهی جمعیت گونه کاهش می‌یابد هر چند این میزان غذا بتواند بقا و تولید جمعیت بیش‌تر را تأمین کند [۷]. همچنین دیده شده که GRF در هنگام تراکم جمعیت تولید و باعث کاهش انبوهی جمعیت گونه‌ها می‌شود [۲،۵،۸و۹]. در این حالت، محدودیت فضایی ایجاد شده باعث کاهش پویایی و فعالیت جمعیت گردیده، به‌عنوان اهرم‌تعادلی عمل‌می‌کند. جانز نشان داده که در حضور فلور باکتریایی (bacterial flora) نیز GRF تولید می‌شود، اما علت این مسأله توضیح داده نشده است [۸].

گرچه منابع در مورد جداسازی GRF (Isolation) از آب محیط لاروی کم است، اما آزمایش‌های کروماتوگرافی (chromatography) به‌منظور شناسایی و طبقه‌بندی آن انجام شده است [۹،۱۰و۱۱]. به هر حال GRF تمام مراحل زیستی اعم از تخم، لارو، شفیره و بالغ پشه‌ای را که لاروهایش در محدودیت غذایی یا فضایی پرورش یافته تحت تأثیر قرار می‌دهد.

در این مقاله با ایجاد محدودیت فضایی در بین لاروهای آنوفل استفنسی با قرار دادن لاروها در تراکم بالا، نوسانات جمعیتی آن‌ها مورد بررسی قرار گرفت. همچنین دو روش جهت حذف GRF از محیط زندگی لاروی پیشنهاد گردید و مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

۱. جمعیت مورد مطالعه

جمعیت مورد مطالعه، آنوفل‌استفنسی جمع‌آوری شده از شهرستان‌کازرون بود که‌در اتاق‌پرورش (Rearing room) انسکتاریوم (Insectarium) گروه حشره‌شناسی پزشکی دانشگاه تربیت مدرس پرورش یافت. آزمایش‌ها روی لاروهای آنوفل استفنسی انجام شد که در دو گروه تست و شاهد با حجم محیط آبی برابر و اندازه گیری شده به روش تصادفی ساده (Simple random sampling) استقرار یافته بودند.

www.SID.ir

Archive of SID

۲. شرایط آزمایشگاه

از آن‌جا که برای انجام آزمایش‌های این تحقیق شرایط محیطی باید کاملاً ثابت باشد تا این عوامل نتوانند به‌عنوان عوامل مخدوشگر در آزمایش‌ها وارد شوند و نتایج را تغییر دهند، لذا شرایط اتاق پرورش در دمای ۲ ± ۲۷ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۵ ± ۸۰ درصد و پریود نوری ۱۲L:۱۲D ثابت گردید.

۳. شاخص‌های بیولوژیکی

۳-۱. مرگ و میر لاروی

برای محاسبه مرگ و میر لاروی از فرمول زیر استفاده گردید [۲،۷و۹]:

$$\text{درصد مرگ و میرلاروی} = \frac{\text{تعداد لاروهای مرده سنین مختلف در هر ظرف}}{\text{تعداد لاروهای اولیه هر ظرف}}$$

۳-۲. سرعت رشد لاروی

برای بررسی سرعت رشد لاروی از شاخص زمان رشد لاروی (P۵۰) استفاده شد؛ یعنی مدت زمانی که طول می‌کشد تا ۵۰ درصد لاروهای‌سن‌یک اولیه (First instar) که‌در ظروف قرار گرفته‌اند به‌شفیره تبدیل‌شوند به‌عنوان زمان‌رشد لاروی (P۵۰) برای هر ظرف‌جداگانه محاسبه شد. با دستیابی به زمان رشد لاروی (P۵۰) می‌توان سرعت‌های رشد لاروی را با هم مقایسه کرد [۲و۹].

$$\text{سرعت رشد لاروی} \propto \frac{۱}{\text{زمان رشد لاروی (P۵۰)}}$$

۳-۳. نسبت جنسی

برای بررسی نسبت جنسی بالغین از فرمول زیر استفاده شد [۷و۱۲] (شکل ۱):

$$\text{نسبت جنسی} = \frac{\text{تعداد بالغین نر هر ظرف}}{\text{تعداد کل بالغین در هر ظرف}}$$

شکل ۱ حشره بالغ ماده (سمت راست)، حشره بالغ نر (سمت چپ)

۳-۴. اندازه بدن بالغین

برای‌بررسی اندازه بدن‌بالغین، میانگین‌طول‌بال حشره‌بالغ (wing - length) (از شکاف محوری (axillary incision) تا انتهای بال به استثنای حاشیه بال) به‌عنوان شاخصی برای اندازه بدن در نظر گرفته شد و شاخص طول بال برای نرها و ماده‌ها به‌صورت جداگانه توسط بینوکولر با عدسی مدرج اندازه‌گیری شد [۲،۹و۱۳]. (شکل ۲)

شکل ۲ بال متصل به بدن حشره (سمت راست)، بال جدا شده از بدن حشره (سمت چپ)

۳-۵. سایر شاخص‌های بیولوژیکی اندازه‌گیری شده

علاوه بر شاخص بیولوژیکی یاد شده، شاخص‌های دیگری همچون مرگ و میر شفیره [۷و۹]، مرگ و میر کل [۷]، و نرخ بقا نیز محاسبه گردید.

$$\text{درصد مرگ‌ومیر شفیره} = \frac{\text{تعداد شفیره‌های مرده}}{\text{تعداد شفیره‌های زنده اولیه}}$$

$$\text{درصد مرگ‌ومیر کل} = \frac{\text{تعداد لارو مرده + تعداد شفیره مرده}}{\text{مجموع تعداد لاروهای سن یک اولیه}}$$

$$\text{نرخ بقا} = \frac{\text{مجموع تعداد بالغین به‌دست آمده}}{\text{مجموع تعداد لاروهای سن یک اولیه}}$$

www.SID.ir

Archive of SID

٤. حذف فاکتور کندکننده رشد GRF

٤-١. روش اول) تعویض محیط پرورش

در این روش ۵ تراکم لاروی مختلف (۰/۱، ۰/۵، ۱، ۲ و ۳ لارو در هر سانتی‌مترمربع از سطح آب) در ۵ لیوان در نظر گرفته شد و برای هر تراکم لاروی رژیم غذایی ثابتی جهت تغذیه لاروها مورد استفاده قرار گرفت (گروه تیمار). همین ۵ تراکم لاروی در ۵ لیوان دیگر و با رژیم غذایی مشابه اعمال شد (گروه شاهد). در گروه تیمار، یک روز درمیان با استفاده‌از دستگاه پوآر (Poire)، آب داخل لیوان‌ها تخلیه و آب تازه جایگزین شد، اما در گروه شاهد این عمل صورت نگرفت (شکل ۳). در این حالت، آب داخل لیوان‌هایی که دارای تراکم بالای لاروی بودند و درنتیجه در آن‌ها GRF تولید شده بود، تخلیه و آب تازه جایگزین گردید. تمامی شاخص‌های بیولوژیکی برای گروه شاهد و تیمار محاسبه شد. در این آزمایش‌ها هر تیمار دارای ۳ تکرار بود.

شکل۳ روش پیشنهادی اول جهت حذف GRF (روش تعویض محیط پرورش)

٤-٢. روش دوم) استفاده از محیط پرورش مشترک

در این روش، ابتدا با استفاده از تیغ، دو برش مربعی شکل در دو طرف ۵ لیوان ایجاد و سپس با توری نازک این دو حفره پوشانده شد. پس از آن لیوان‌ها در داخل یک ظرف مشترک قرار گرفتند و به آن‌ها آب اضافه شد، به طوری‌که آب داخل لیوان‌ها با فضای خارج (آب داخل ظرف مشترک) ارتباط داشته باشد. سپس همچون آزمایش قبل ۵ تراکم لاروی مختلف در ۵ لیوان در نظر گرفته شد و جهت تغذیه آن‌ها در داخل ظرف مشترک از یک رژیم غذایی استفاده گردید. در این حالت وقتی لاروها در شرایط محدودیت فضایی قرار می‌گیرند، GRF تولید شده توسط لاروها از داخل لیوان‌ها خارج شده، در تمامی آب ظرف مشترک پخش خواهد شد و بدین ترتیب اثر سمی بودن GRF، توزیع و برای همه لاروها یکسان می‌گردد. گروه شاهد نیز با همان ۵ تراکم مختلف لاروی در لیوان‌های معمولی (بدون داشتن حفره و توری) اعمال شد (شکل ٤). تمامی شاخص‌های بیولوژیکی در این آزمایش نیز محاسبه گردید. در این آزمایش‌ها نیز هر تیمار دارای ۳ تکرار بود.

شکل ٤ روش پیشنهادی دوم جهت حذف GRF (روش محیط پرورش مشترک). چگونگی ساخت لیوان مخصوص در سمت راست. چگونگی قرار گرفتن لیوان‌های مخصوص در ظرف مشترک در سمت چپ.

۷. تجزیه و تحلیل داده‌ها

این مطالعه از نوع مطالعات تجربی و آینده‌نگر (cohort) است که در آن، مشاهده فردی ملاک است. اطلاعات جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. نتایج از طریق آنالیز واریانس یک طرفه (one-way ANOVA) و دو طرفه (two-way ANOVA) به‌دست آمد. در مواردی که آزمون معنادار بود، معنادار بودن بین اجزای آزمون از طریق آزمونLSD بررسی گردید [۱۴].

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱ خلاصه نتایج مربوط به اثر جداگانه و متقابل وضعیت‌های مختلف GRF و تراکم‌های لاروی متفاوت روی شاخص‌های بیولوژیکی آنوفل استفنسی

عوامل تأثیر گذار / شاخص بیولوژیکی	وضعیت‌های مختلف GRF df*=2	تراکم‌های لاروی(density) df*=4	اثر متقابل وضعیت‌های مختلف GRF و تراکم‌های لاروی (GRF *density) df*=8
مرگ و میر لاروی	P-value = 0.006**	P-value = 0.000**	P-value = 0.013**
سرعت رشد لاروی	P-value = 0.012**	P-value = 0.000**	P-value = 0.304
مرگ و میر شفیره	P-value = 0.525	P-value = 0.000**	ــــــــــ
مرگ و میر کل	P-value = 0.000**	P-value = 0.000**	ــــــــــ
نرخ بقا	P-value = 0.000**	P-value = 0.000**	ــــــــــ
نسبت جنسی	P-value = 0.000**	P-value = 0.000**	ــــــــــ
اندازه بدن بالغین نر	P-value = 0.500	P-value = 0.012**	ــــــــــ
اندازه بدن بالغین ماده	P-value = 0.135	P-value = 0.000**	ــــــــــ

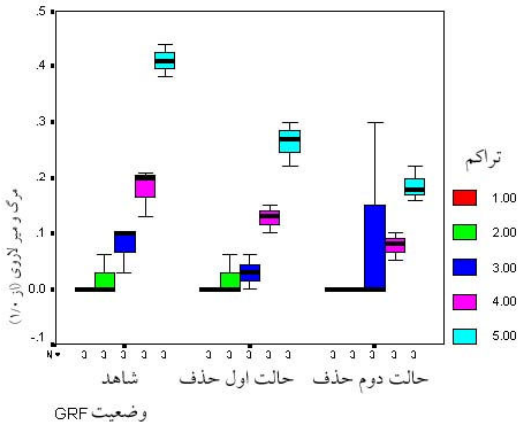
* درجه آزادی ** معناداری در سطح ۰/۹۵

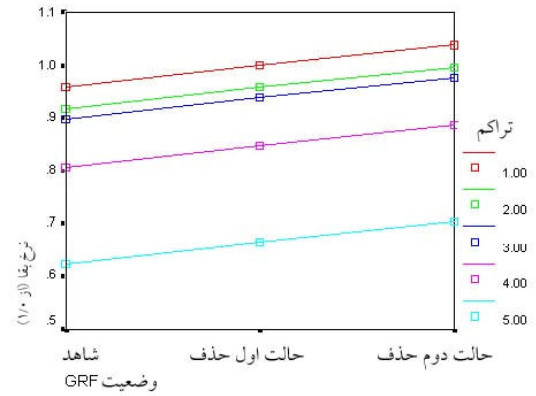
نتایج

خلاصه نتایج به‌دست آمده از اثر وضعیت GRF و تراکم لاروی هر کدام به‌صورت جداگانه و در برخی موارد به‌صورت توأمان روی ۷ شاخص بیولوژیکی عمده در جدول ۱ آورده شده است.

با توجه به نتایج به‌دست آمده از این آزمایش‌ها مشخص شد که مرگ و میر لاروی با حذف GRF از محیط توسط هر دو روش، کاهش‌معنادار پیدا کرده، به نحوی که از ٤١ درصد در بالاترین‌تراکم لاروی مربوط به گروه شاهد (بدون‌حذف) به ٢٦ درصد در روش اول و به ١٨ درصد در روش دوم رسیده است (نمودار۱).

مرگ و میر شفیره با حذف GRF تغییر معناداری نداشته است. مرگ و میر کل (مجموع مرگ و میر لارو و مرگ و میر شفیره) نیز با حذف GRF به هر دو روش نسبت به حالت بدون حذف (شاهد) کاهش معناداری پیدا کرده؛ به‌طوری‌که از ٤٥ درصد در بالاترین تراکم لاروی به ٣١ درصد در روش اول و به ٢٥ درصد در روش دوم رسید. همچنین نرخ بقا (میزان بالغین ایجاد شده) با حذف GRF افزایش معناداری پیدا کرده است، به این صورت که از ٥٥ درصد در بالاترین تراکم لاروی به ٦٩ درصد در روش اول و به ٧٥ درصد در روش دوم رسید (نمودار ۱).





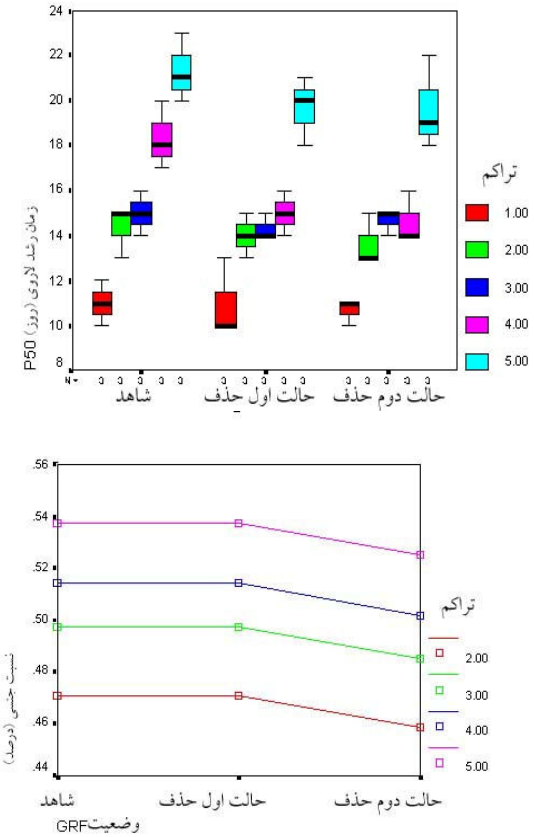
نمودار ۱ نمودار سیلندری مربوط به رابطه مرگ و میر لاروی با وضعیت GRF و تراکم لاروی (بالا) و نمودار مربوط به رابطه نرخ بقا با وضعیت GRF و تراکم لاروی (پایین)

www.SID.ir

Archive of SID

در مورد سرعت رشد لاروی مشخص شد که با حذف GRF از محیط لاروی، تغییر معناداری در این شاخص روی داده، به طوری‌که زمان رشد لاروی (P50) از ۲۱ روز در بالاترین تراکم مربوط به گروه شاهد (بدون‌حذف) به ۱۹/۵ روز در روش اول و دوم رسید (نمودار ۲).

نسبت جنسی نیز با حذف GRF به روش دوم نسبت به حالت بدون حذف (شاهد) کاهش معناداری داشت، اما با حذف به روش اول، اختلاف معناداری نداشت، به‌طوری‌که نسبت جنسی در بالاترین تراکم لاروی مربوط به گروه شاهد (بدون‌حذف) ٥٤ درصد بود، اما این نسبت در روش دوم حذف به ٥٢ درصد رسید؛ یعنی با حذف GRF در روش دوم، تعداد نرها کاهش یافته است (نمودار ۲).



نمودار ۲ نمودار سیلندری مربوط به رابطه زمان رشد لاروی(**P50**) با وضعیت **GRF** و تراکم لاروی (بالا) و نمودار مربوط به رابطه نسبت جنسی با وضعیت **GRF** و تراکم لاروی (پایین)

اندازه بدن بالغین نر و ماده با حذف GRF به هر دو روش نسبت به حالت بدون حذف (شاهد) اختلاف معناداری نداشته است؛ هرچند خود بالغین نر و ماده از نظر اندازه اختلاف معنادار داشته‌اند و اندازه بالغین ماده بزرگ‌تر از بالغین نر بوده است.

بحث

چنان‌که بیان گردید از موادی که در شرایط کمبود غذا و یا تراکم بالای لاروی، توسط لاروها تولید و در محیط آزاد می‌شود فاکتور کندکننده رشد GRF است که برای سایر لاروها حالت سمی بودن دارد. بنابراین GRF یک عامل مثبت از نظر اکولوژیکی برای تنظیم جمعیت گونه است که در شرایط نامساعد تولید و باعث می‌شود وفور و پویایی جمعیت لاروی کاهش یابد؛ اما لاروهای باقیمانده می‌توانند شرایط نامساعد ایجاد شده را پشت سر بگذارند و جمعیت خود را از انقراض نجات دهند. آنچه مسلم است GRF تأثیرات منفی شدیدی بر چرخه زندگی طبیعی لاروهای همان‌گونه [۵،۷،۸،۹،۱۰،۱۱و۱۵] و در مواردی روی مراحل زندگی لاروهای سایر گونه‌ها [۲،۳و۴] می‌گذارد که این موضوع باعث شده در سال‌های اخیر GRF به‌عنوان یک عامل کنترلی مورد توجه قرار گیرد. خلاصه‌ای از این تأثیرات بر شاخص‌های بیولوژیکی، توسط افراد مختلف و روی پشه‌های گوناگون به‌دست آمده که در ادامه ذکر می‌شود:

۱. کاهش مرگ و میر لاروی (مور و فیشر، ۱۹٦۹ [۲])

۲. افزایش مرگ و میر لاروی (ایکیشوجی و ملا (Ikeshoji & Mulla)، ۱۹۷۰ [۱۰و۱۱]).

۳. ممانعت از متابولیسم لاروی (ایکیشوجی وملا، ۱۹۷۰ [۱۰و۱۱] و باربوسا و پیترز (Barbosa & Peters)، ۱۹۷۳ [۱٦]).

٤. کاهش اندازه شفیره بالغ (پیترز و همکاران، ۱۹٦۹ [۱۵] و ویلیام و ریسون، ۱۹۷۵ [۹]).

www.SID.ir

Archive of SID

۵. کاهش خونخواری و تخم گذاری ماده‌ها (بارزو (Bar-Zeev)، ۱۹۷۵ [۱۷] و ویلیام و ریسون، ۱۹۷۵ [۹]).

۶. کاهش بقای ماده (ایکیشوجی و ملا، ۱۹۷۰ [۱۰و۱۱] و ویلیام و ریسون، ۱۹۷۵ [۹]).

۷. تغییر نسبت جنسی به نفع جنس نر (سلمان، ۱۹۸۲ [۷]).

نکته حائز اهمیت این است که بتوان با روش‌های مناسب آثار GRF تولید شده توسط لاروها را شناسایی و راهکارهایی برای کنترل سایر لاروها در زیستگاه‌های طبیعی آن‌ها طراحی کرد.

در این مقاله سعی شد با انجام آزمایش‌های ابتکاری، GRF موجود در محیط لاروی بررسی شود. هدف از انجام این آزمایش‌ها مشخص کردن این نکته بود که آیا تغییرات حاصل در شاخص‌های بیولوژیکی که در اثر ایجاد شرایط تراکم بالا در گروه شاهد صورت گرفته، به علت وجود GRF در محیط لاروی است یا خیر؟ یعنی آیا حذف GRF از محیط لاروی تغییری در شاخص‌های بیولوژیکی اندازه‌گیری شده نسبت به حالت عدم‌حذف (شاهد) ایجاد خواهد کرد یا خیر؟

با توجه به مطالب ذکر شده در قسمت نتایج می‌توان گفت: تغییراتی که در شاخص‌های بیولوژیکی در اثر ایجاد شرایط تراکم بالا رخ داده به علت وجود GRF در محیط لاروی بوده است؛ زیرا با حذف GRF از محیط لاروی با استفاده از دو روش ابتکاری، شاخص‌های بیولوژیکی نسبت به حالت بدون حذف (شاهد) تغییر کرده و این تغییرات در جهت نزدیک شدن به حالتی است که محدودیت فضایی در محیط وجود نداشته و در نتیجه GRF نیز تولید نشده است. بنابراین پیشنهاد می‌شود GRF موجود در محیط‌های با تراکم لاروی بالا، شناسایی و استخراج شوند و امکان سنتز مصنوعی آن جهت مبارزه و کنترل پشه مورد نظر ایجاد گردد. بدیهی است انجام این عمل مستلزم همکاری‌های علمی و عملی رشته‌های متعدد علوم طبیعی است.

همچنین با توجه به نتایج مربوط به مرگ و میر لارو، شفیره و کل و نرخ بقا (نمودار ۱) چنین استنتاج می‌شود که روش دوم یا روش استفاده از محیط پرورش مشترک توانسته بیش از روش اول، GRF را از محیط خارج کند؛ چون در این حالت مرگ و میر کاهش و نرخ بقا افزایش یافته است. بنابراین روش دوم، روش موفق‌تری در حذف آثار GRF بوده است.

منابع

1. Clements, A.N. The Biology of Mosquitoes. London School of Hygiene and Tropical Medicine. 1992. Vol.1, p.509.
2. Moor. C.G. and B.R. Fisher. Competition in mosquitoes. Density and Species ratio effects on growth، mortality, fecundity, and production of growth retardant. Mosq. News. 1969, 62: 1325-1331.
3. Peters, T. M., B. I. Chevone, and R. A. Callahan. Interactions between larvae of *Aedes aegypti* (L.) and *Culex pipiens* (L.) in mixed experiment population. Mosq. News. 1969 a. 29: 435-438.
4. Whittaker, R.H. and P.P. Fenny. Allelochemics: Chemical intraction between species. Science (Wash. D.C.) 1971. 171: 757-770.
5. Moor, C.G. and D.M. Whitacre. Competition in mosquitoes. 2. Production of *Aedes aegypti* larval growth retardant at various densities and nutrition levels. Mosq. News. 1972, 65: 915-918.
6. Wharnton, D.R.A., J.E. Lola, and M.L. Wharton. Growth factors and population density in the American cockroach, *Periplanta americana*. J. Insect Physiol. 14: 637-653.
7. Suleman, M. The effect of intraspecific competition for food and space on the larval development of *Culex quinquefasiatus*. Mosq. News. 1982, 42 (3): 347-356.
8. Jones، W.L. The Effect of Crowding on the Larval of *Aedes agypti* When Reared Under Aseptic and Non-Septic Conditions. Doctoral Dissertation, Ohio State University, Columbus Ohio. 1960, P.72.
9. Reisen, W.K. and K. William. Intraspecific competition in *Anopheles stephensi* Liston. Mosq. Mews. 1975, 35(4): 473-482.
10. Ikeshoji, T. and Mulla M. S. Overcrowding factors of mosquito larvae. J. Econ. Ent. 1970 a, 63: 90-96.
11. Ikeshoji, T. and Mulla, M. S. Overcroding factors of mosquito larvae. 2. Growth retarding and bacteriostatic effects of the over crowding factors of mosquito larvae. Mosq. News. 1970 b, 63: 1737-1743.
12. Hickey, W.A. Factors influencing the distortion of sex ratio in *Aedes aegypti*. J. Med. Ent. 1970, 7(6): 727-735.
13. Wada, Y. Effect of larval density on the development of *Aedes aegypti* (L.) and the size of adult. Quaest. Ent. I: 1929, 223-240.
14. Kinnear, P.R., and C.D. Gray. SPSS for Windows Made Simple Release 10. Department of Psychology University of Aberdeen. 2000, P.416.
15. Peters, T.M. et al. Interaspecific competition in *Aedes aegypti*. Larvae: I. Equipment، techniques and methodology. Mosq. News. 1969, 29(4): 667-674.

www.SID.ir

Archive of SID

16. Barbosa, P., Peters، T.M. and Greenough N.C. Overcrowding on the respiration of larval *Aedes aegypti* to stress. Env. Entomol. I. 1972, 89-93.

17. Bar-Zeev, M. The effect of dinsity on the larvae of a mosquito and its influence on fecundity. Bull. Res. Counc. Israel. 1957, 6B: 220-228.

❖❖ ❖❖ ❖❖ ❖❖

www.SID.ir