

بررسی تأثیر قارچ متاریزیوم آنیزوپلیه به عنوان عامل کنترل بیولوژیک سوسنی آلمانی

علی عابدی^{۱*}، محمدسعید دایر^۲

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه حشره‌شناسی پزشکی دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

۲- استادیار، گروه حشره‌شناسی پزشکی و مبارزه با ناقلان، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

چکیده

هدف: هدف از این تحقیق بررسی قابلیت استفاده از قارچ متاریزیوم آنیزوپلیه به منظور کنترل بیولوژیک سوسنی آلمانی بوده است.

مواد و روشها: اسپورهای قارچ به دو روش غوطه‌ورسانی و تزریقی بر بالغان نر و ماده سوسنی آلمانی به کار برده شد. در بررسی و آنالیز داده‌های به دست آمده، میانگین مرگ و میر سوسنیها در گروههای شاهد و آزمون محاسبه شد. در روش تزریقی با استفاده از آنالیز پروفیت محاسبه گردید. سپس مقایسه داده‌ها با استفاده از مجدور R^1 و رسم رگرسیون خطی انجام شد.

نتایج و بحث: در روش غوطه‌ورسانی متاریزیوم آنیزوپلیه با $LC_{50} = 5/65$ اسپور بر میلی لیتر در مرگ و میرنرها و $LC_{50} = 7/65$ اسپور بر میلی لیتر در مرگ و میر ماده‌ها مؤثر بود. در روش تزریقی نیز معلوم شد قارچ متاریزیوم آنیزوپلیه با $LD_{50} = 2/5 \times 10^6$ اسپور بر حشره تأثیر بیشتری بر نرها نسبت به ماده‌ها با $LD_{50} = 7/5 \times 10^6$ اسپور بر حشره داشته است. مقایسه LC_{50} و LD_{50} روش‌های غوطه‌ورسانی و تزریقی نیز نشان می‌دهد که عملکرد قارچ در مرگ و میر سوسنیها تا قبل از گذر از سد کوتیکول و پس از آن با یکدیگر متفاوت بوده است.

نتیجه‌گیری: بنابراین به نظر می‌رسد که استفاده از اسپورهای قارچ در محل حضور سوسنی می‌تواند به کاهش قابلیت اکولوژیکی سوسنی آلمانی در این نواحی کمک کند.

کلید واژگان: متاریزیوم آنیزوپلیه، سوسنی آلمانی، کنترل بیولوژیک.

۱- مقدمه

سوسنیها به عنوان مهمترین حشرات خانگی در سراسر جهان محسوب شده [۱، ۲] و در این بین سوسنی آلمانی مهمترین ناقل مکانیکی عوامل بیماریزا به انسان می‌باشند [۳، ۴]. این حشرات معمولاً در نقاط گرم و مرطوب فعالیت بیشتری از خود نشان می‌دهند و تمام دوره زیستی آنها در داخل اماکن انسانی طی می‌شود [۴، ۵].

سوسنیها به دلیل همه چیز خوار بودن و نیز قابلیت تغذیه از

مدفع و غذای سالم انسانها، باعث پخش و انتقال انواع میکروارگانیسمهای بیماریزا و تخم انواع گوناگونی از انگلها انسانی می‌شوند که می‌توانند سبب ایجاد انواع بیماری گردند [۶، ۷].

با توجه به مقاومت روزافزون حشرات به حشره‌کش‌های شیمیایی استفاده از عوامل بیماریزا بیولوژیک مانند قارچها می‌تواند به عنوان راهکاری درخور توجه به کار گرفته شود [۵، ۷].

26°C به مدت ۱ هفته)، عملیات خالص‌سازی اسپور اجرا و شمارش چهار غلظت مختلف اسپورهای متاریزیوم آنیزوپلیه به‌وسیله لام نتوبار انجام شد. در این عمل از اسپورهای تخلیص شده قارچ واقع در سرم فیزیولوژی استفاده گردید. برای انجام آزمایشها و نگهداری سوسريهای تیمار شده اتفاقکی به طول 3m ، عرض 1m و ارتفاع 3m ساخته شد. از این اتفاک به‌منظور سهولت تنظیم رطوبت نسبی و دمای محیط داخل آن استفاده شد. سوسريها پس از بیهوشی با گاز دی‌اکسید کربن به داخل ظروف مربوط منتقل شدند و در ظروف با پارچه متقابل بسته شد. در ادامه آزمونهای زیستی به دو روش زیر انجام گرفت.

۱-۲- روش غوطه‌ورسازی

در روش غوطه‌ورسازی از چهار غلظت $1/1 \times 10^{-7}$ ، $1/1 \times 10^{-6}$ ، $1/1 \times 10^{-8}$ ، $1/1 \times 10^{-9}$ اسپور بر میلی‌لیتر استفاده گردید. در این روش تعداد ۱۰ سوسري آلمانی بالغ نر و ماده به‌طور جداگانه در لیوان (100 ml) یکبار مصرف پلاستیکی قرار داده شدند. برای هر یک از چهار غلظت قارچ، تعداد ۳۰ سوسري آلمانی در سه تکرار مساوی استفاده گردید. تعداد ۳۰ سوسري نیز در گروه شاهد مثبت با آب مقتدر تیمار شده و عدد دیگر به‌عنوان شاهد منفی مستقیماً از محل پرورش به ظروف آزمون منتقل گردید. با توجه به چهار غلظت اسپوری مختلف به‌کار رفته و تعداد مورد نیاز برای هر غلظت (۳۰ سوسري آلمانی)، در مجموع برای دو جنس نر و ماده، ۹۶۰ سوسري استفاده شد [۱۷].

۲-۲- روش تزریقی

در این روش از چهار غلظت $5/5 \times 10^{-1}$ ، $5/5 \times 10^{-2}$ ، $5/5 \times 10^{-3}$ ، $5/5 \times 10^{-4}$ اسپور بر حشره استفاده شد. تزریق اسپورها با استفاده از دستگاه میکروایلکاتور قابل تنظیم و سرنگ انسولین مجهز به سوزن ۱۶ در محل پلاتنتای^۱ سومین جفت پا انجام شد. در این آزمون، تعداد سوسريهای آلمانی بالغ نر و ماده مورد نیاز به‌طور جداگانه در لیوانهای یکبار مصرف پلاستیکی به تعداد ذکر شده در روش غوطه‌ورسازی قرار داده شدند [۱۷].

۳- نتایج

نتیجه تمام آزمایش‌های انجام شده به روش غوطه‌ورسازی و تزریقی برای بالاترین غلظت اسپوری مورد استفاده در

قارچهای بیماریزا موجب بروز اختلالات فیزیولوژیک در حشرات شده و با پیشرفت بیماریزا باعث انعدام آنها می‌شوند [۸].

همچنین قارچهای بیماریزا حشرات نسبت به سایر میکروارگانیسمها می‌توانند حشرات زیادتری را آلوود کنند [۶، ۸؛ ۱۳]. این قارچ از گروه قارچهای ناقص بوده و به صورت انگل (پارازیت) روی حشرات یا به صورت ساپروفت در خاک زندگی می‌کند [۶، ۱۴]. کنیدیهای این قارچ به شکل تخم مرغی و به رنگ سبز زیتونی می‌باشد [۱۴]. این قارچ نه تنها از راه خوارکی بلکه از راه تماسی باعث بیماریزا و مرگ و میر در حشره می‌شود و امروزه تحت عنوان حشره‌کش قارچی به بازارهای جهانی عرضه می‌شود.

بنابراین در تحقیقات حاضر آثار مهارکنندگی قارچ متاریزیوم آنیزوپلیه روی نژاد بیمارستانی سوسري آلمانی با دو روش تزریقی و غوطه‌ورسازی مطالعه شد و شاخصهای LT_{50} ، LD_{50} در هر دو روش و همچنین نسبت مرگ و میر در بالغان نر و ماده تعیین گردید [۱۷]. به این ترتیب با استناد به نتایج به‌دست آمده می‌توان قابلیت این قارچ در مبارزه علیه حشرات مذکور را سنجید و با نتایج مشابه در تحقیقات دیگر قابل مقایسه کرد.

۲- مواد و روشها

برای جمع‌آوری سوسريهای آلمانی از مکانهایی با آلوودگی بالا استفاده شد که مرتب سپاهشی شده بودند. بنابراین نژاد مقاوم از بیمارستان بوعلى شهرستان ساری انتخاب و جمع‌آوری شد؛ سپس در انسکتاریوم تا دستیابی به تعداد مورد نیاز پرورش داده شد [۱۷]. بدین منظور سوسريها در ظروف شیشه‌ای به حجم ۱۲۱ قرار داده شدند. کف ظروف پرورش با استفاده از براده چوب یا سبوس گندم پوشیده شد. به منظور تغذیه، مواد غذایی شامل نان خشک، غذای آماده موشهای آزمایشگاهی، قند، نشاسته، سویا و آب در ظروف آب‌خوری پرنگان زیستی در اختیار سوسريها قرار داده شد. دمای اتاق پرورش سوسريها بین -25°C و -30°C و رطوبت نسبی آن بین ۶۰-۷۰٪ درنظر گرفته شد. برای کشت قارچ نیز از محیط آماده PDA^۲ استفاده شد. پس از کشت قارچ روی محیط مذکور و سپری شدن زمان لازم برای رشد قارچ (حرارت ۲۴-

جدول نشان‌دهنده تأثیر سریعتر اسپورها در روش تزریقی است.

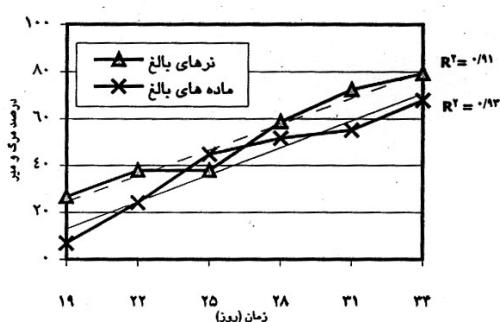
جدول ۱ آورده شده است. درصد مرگ و میر گزارش شده در این

جدول ۱ نتایج درصد مرگ و میر حاصل از تأثیر بالاترین غلظت اسپوری به کار رفته در روشهای غوطه‌ورسازی و تزریقی

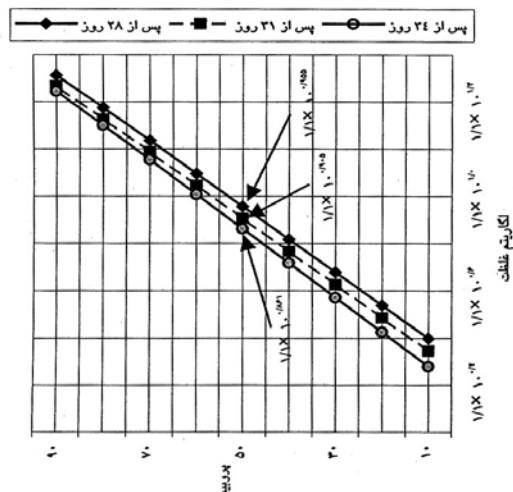
درصد مرگ و میر در روزهای پس از تماس با غلظت $10^4 \times 1/1$ اسپور بر میلی لیتر (روش غوطه‌ورسازی)						
روز						
گروههای آزمایشی						
۳۴	۳۱	۲۸	۲۵	۲۲	۱۹	
%۸۰	%۷۲	%۵۸	%۳۸	%۳۷	%۲۳	نرها
%۷۰	%۵۶	%۵۱	%۴۳	%۲۲	%۵	ماده‌ها
۰	۰	۰	۰	۰	۰	شاهد

درصد مرگ و میر در روزهای پس از تماس با غلظت $10^5 \times 5/5$ اسپور بر سوسنی (روش تزریقی)

درصد مرگ و میر در روزهای پس از تماس با غلظت $10^5 \times 5/5$ اسپور بر سوسنی (روش تزریقی)							
روز							
گروههای آزمایشی							
۲۵	۲۲	۱۹	۱۶	۱۳	۱۰	۷	۴
%۹۵	%۹۵	%۸۹	%۸۲	%۷۸	%۵۲	%۳۴	%۱۰
%۱۰۰	%۸۹	%۷۹	%۷۳	%۶۲	%۳۴	%۲۵	%۱۲
۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰



نمودار ۱ نتایج حاصل از تأثیر بالاترین غلظت متاربزیوم آنیزوپلیه بر نرها و ماده‌های بالغ در روش غوطه‌ورسازی



نمودار ۲ لگاریتم غلظت و نتایج حاصل از آنالیز پروبیت داده‌های به دست آمده از مرگ و میر سوسنیهای نر و ماده در ۲۸ و ۳۱ روز پس از شروع آزمایش

در نمودار ۱ نتایج حاصل از تأثیر بالاترین غلظت از غلظتهای چهارگانه متاربزیوم آنیزوپلیه ($10^4 \times 1/1$ اسپور/میلی لیتر) بر نرها و ماده‌های بالغ در روش غوطه‌ورسازی مقایسه شده است. مرگ و میر سوسنیهای آلمانی نر از روز نوزدهم بیش از مرگ و میر ماده‌ها بود به طوری که تا روز سی و چهارم مرگ و میر حاصل شد؛ اما مقدار مذکور در سوسنیهای ماده حدود %۷۰ محاسبه شد.

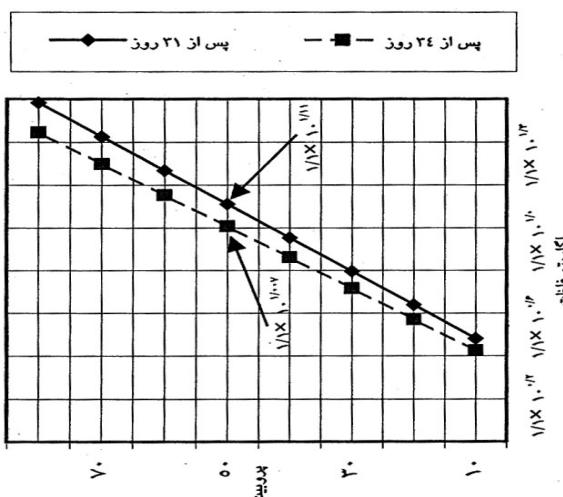
نمودار ۲ و ۳ نیز بترتیب نشان‌دهنده لگاریتم غلظت و نتایج حاصل از آنالیز پروبیت داده‌های به دست آمده از مرگ و میر سوسنیهای نر و ماده در روزهای ۲۸، ۲۵ و ۳۱ و ۳۴ برای نرها و روزهای ۲۸ و ۳۱ برای ماده‌ها پس از اعمال اسپورهای قارچ است. مقایسه این نمودارها نشان می‌دهد که در روزهای ۳۱ و ۳۴ پس از اعمال اسپورهای قارچ، لگاریتم غلظت به کار رفته برای ایجاد %۵۰ مرگ و میر در سوسنیهای ماده بیشتر از همین مقدار در سوسنیهای نر بوده است.

نمودار ۴ نیز نشان‌دهنده مقایسه مرگ و میر حاصل از تأثیر بالاترین غلظت از غلظتهای چهارگانه ($10^5 \times 5/5$ اسپور بر سوزن) بر سوسنیهای نر و ماده است که به روش تزریقی از روز چهارم شروع شد. در این روش نیز مرگ و میر در جمعیت نرها بتدریج بیشتر از ماده‌ها شد و حدود %۹۵ مرگ و میر پس از ۲۲ روز اتفاق افتاد؛ با وجود این درصد مرگ و میر در جمعیت ماده‌ها در بیست و پنجمین روز به ۱۰۰٪ رسید.

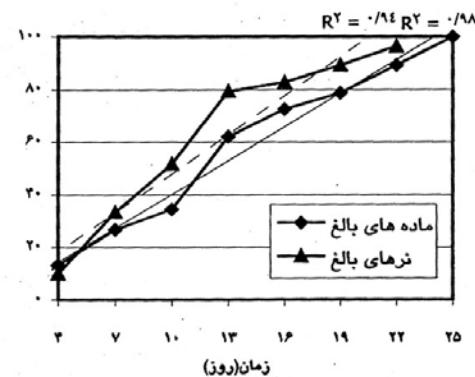
در بالاترین غلظت اسپوری، ۳۴ روز پس از شروع آزمایش به ۷۰٪ رسیده است؛ بنابراین ماده‌ها مقاومت بیشتری را نسبت به نرهای بالغ از خود نشان داده‌اند [۱۷]. نتایج حاصل از تحقیق حاضر با نتایج به دست آمده از مطالعه زوکووسکی^۱ و همکارانش در سالهای ۱۹۹۷ و ۱۹۹۸ در خصوص تأثیر قدرت کشندگی قارچ متاریزیوم آنیزوپلیه در کاهش تعداد سوسربهای آلمانی منطبق است. این نتایج عبارتند از:

الف- گونه و نژادهای متاریزیوم آنیزوپلیه باعث مرگ و میر سوسربهای آلمانی شده‌اند؛ ب- میزان مرگ و میر جنس نر از ماده بیشتر بوده است؛ ج- در این دو تحقیق مشخص شد هر قدر غلظت اسپورها افزایش یابد میزان مرگ و میر هم در مدت زمان کوتاهی رخ می‌دهد؛ بنابراین مرگ و میر سوسربی آلمانی به نژاد قارچ، غلظت اسپور قارچ و جنسیت حشره بستگی دارد [۱۹]. [۲۰]

همچنین نتایج حاصل از این تحقیق با نتایج حاصل از تحقیق استینبرگ^۲ و همکارانش که در سال ۱۹۹۸ با استفاده از اسپورهای قارچ بوروریا باسیانا^۳ علیه سوسربی آلمانی با غلظت بالایی از اسپور مورد مطالعه قرار گرفته است، هماهنگی دارد. البته محققان دیگر مانند حسن^۴ به این نتیجه رسیدند که خیساندن اسپورهای قارچ پیش از استفاده در برنامه مبارزه با آفات اثر تشدیدی بر فعالیتهای بیماریزابی قارچ دارد؛ شایان ذکر اینکه این مطلب مؤید تحقیق ما می‌باشد [۲۱]. تزریق اسپورهای متاریزیوم آنیزوپلیه به همولف سوسربهای نر و ماده براساس پیش‌بینیهای انجام شده، مرگ و میر را جلو انداختت به گونه‌ای که این مقدار به ۱-۴ روز تنزل یافت (نمودار ۱ و ۴). اما نکته قابل توجه در این مرحله مقاومت سوسربهای ماده است، امری که در گذشته نیز در روش غوطه‌ورسازی مشاهده گردید. در این مرحله سوسربهای ماده با وجود تزریق اسپور توانستند به مدت ۴ روز مقاومت از خود نشان دهند در حالی که در سوسربهای نر در ۲۴ ساعت نخست تزریق مرگ و میر آغاز شده است. این در حالی است که در نرها بیشترین تلفات در روز بیست و دوم ۹۵٪ بود اما در ماده‌ها در روز بیست و پنجم ۱۰۰٪ شده است. به عبارت دیگر با وجود مقاومت ابتدایی در ماده‌های بالغ و تأخیر وقوع مرگ و میر در آنها تا روز بیست و پنجم، درصد تلفات در آخرین روز در ماده‌های بالغ بیشتر از نرهای بالغ بود به طوری که در غلظت $5/5 \times 10^5$ اسپور بر میلی لیتر به ۱۰٪ رسید. اما در نرها در همین



نمودار ۳ لگاریتم غلظت و نتایج حاصل از آنالیز پرویت داده‌های به دست آمده از مرگ و میر سوسربهای نر و ماده در ۲۸، ۳۱ و ۳۴ روز پس از شروع آزمایش



نمودار ۴ مرگ و میر حاصل از تأثیر بالاترین غلظت اسپوری بر سوسربهای نر و ماده به روش تزریقی

۴- بحث

برای مطالعه بیماریزابی و کشنده‌گی قارچ متاریزیوم آنیزوپلیه از دو روش آلدگکی در قالب آزمون فروبردن بالغان نر و ماده در مایع حاوی اسپور (روش غوطه‌ورسازی) و روش دیگر در قالب مایه‌کوبی (ترریقی) استفاده شد و نتایج مقایسه گردید. در آزمون اول توانایی اسپورهای طبیعی در عبور از مهمترین مانع بیولوژیکی یعنی کوتیکول حشره و پس از ایجاد رابطه بیماریزابی مورد مطالعه قرار گرفت؛ اما در آزمون دوم با عبور مصنوعی اسپورهای قارچ از کوتیکول توانمندی آنها در غلبه بر سیستم ایمنی حشره و ایجاد بیماری بررسی شد (جدول ۱). ایزوله قارچ متاریزیوم آنیزوپلیه بیماریزابی خود را طی آزمونهای تماشی و تزریقی در سطح نسبتاً بالای ثابت نگه داشته است [۸].

با توجه به نمودارهای ۱ و ۴، با افزایش غلظت اسپور جهش زیادی در درصد مرگ و میر نرها ایجاد می‌شود به طوری که با گذشت ۳۴ روز به ۸۰٪ می‌رسد. مرگ و میر سوسربهای ماده نیز

1. Zukowski
2. Steenberg
3. Beauveria bassiana
4. Hassan

- ناقلين، دانشکده بهداشت و انسٽيتو تحقیقات بهداشتی، دانشگاه علوم پزشکی تهران؛ ۱۳۷۴-۱۳۷۵، ص ۱۱-۱۳.
- [8] Kaya GP, Munyi DM. Biocontrol of the entomogenous fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* for tsetse flies (*Glossina* spp) at developmental site. *J. Invertebr. Pathol.* 1995; 66(3): 237-41.
- [9] عبدالغُدرزى م. قارچهای بیماریزای لارو پشه‌ها در استان گیلان و مازندران. پایان‌نامه کارشناسی ارشد علوم بهداشتی، رشته حشره‌شناسی پزشکی و مبارزه با ناقلين، دانشکده بهداشت و انسٽيتو تحقیقات بهداشتی، دانشگاه علوم پزشکی تهران؛ ۱۳۶۹-۱۳۶۸، ص ۵۱-۵۵.
- [10] Kaya HK, Tenada Y. *Insect pathology*. New York: Academic Press; 1984. p. 357-62.
- [11] Kaake W, Reid BL, Bohnert TJ, Bennet GW. Toxicity of imidacloprid in German cockroach (Dictyoptera: Blattellidae), and the synergism between imidacloprid and *Metarhizium anisopliae* (Imperfect fungi: Hyphomycetes). *J. Econ. Entomol.* 1997; 90(2): 473-82.
- [12] Andis M. The bio-path cockroach chamber uses to control nature. *J Pest control* 1994; 62: 44-48.
- [13] Zukowski K, Bajan C, Popwska E. Evaluation of effect of *Metarhizium anisopliae* on reduction of numbers of *blattella germanica*. *Roczn. Panstw. Zakl. Hig.* 1999; 4(1): 67-72.
- [14] موسوی س. مبارزه بیولوژیکی. چاپ اول، مشهد: انتشارات دانشگاهی مشهد؛ ۱۳۷۹. ص ۳۵۳-۳۵۴.
- [15] میناسیان و، علیزاده ع. قارچهای ناقص (جنسهای مشروح و مصور). اهواز: انتشارات دانشگاه شهید چمران، دانشکده کشاورزی؛ ۱۳۶۸. ص ۲۵۷.
- [16] شاذی ش. قارچ‌شناسی پزشکی قارچها و اکتنیومیستهای بیماریزا، چاپ سوم، اصفهان: چاپ نشاط اصفهان؛ ۱۳۷۶. ص ۳۸۵.
- [17] عابدی ع. بررسی مقایسه‌ای تأثیر سه عامل قارچی بووریاباسیانا، متاریزیوم آنیزوپلیه و ورتیسیلیوم لکانی برای کنترل سوسنی آلمانی. پایان‌نامه کارشناسی ارشد علوم بهداشتی، حشره‌شناسی پزشکی و مبارزه با ناقلين. دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس؛ تابستان ۱۳۸۱. ص ۲۱۶-۱۱۶.

غلاظت از ۹۶٪ تجاوز نکرد.

بنابراین ویژگیهای گوناگونی در امر بیماریزایی دخیل می‌باشدند. شناسایی این عوامل می‌تواند به انتخاب ایزوله‌های مناسب برای مبارزه بیولوژیک و نیز مهندسی نژادهای قویتر کمک شایانی نماید [۱۷].

۵- منابع

- [۱] صدقیانی ش. تعیین سطح حساسیت نمفهای سن ۱ سوسنی آلمانی به حشره‌کشهای پرمترین به طریق تماسی و موضعی. پایان‌نامه کارشناسی ارشد علوم بهداشتی، رشته حشره‌شناسی پزشکی و مبارزه با ناقلين، دانشکده بهداشت و انسٽيتو تحقیقات بهداشتی، دانشگاه علوم پزشکی تهران؛ ۱۳۷۸. ص ۴.
- [2] Service MW. *Encyclopedia of arthropod transmitted infections of man and domestic animals*. 2nd ed. Cambridge: CABI publishing; 2001. p. 579.
- [۳] موسوی س. ب. ارزیابی سوسنیهای حساس و مقاوم سوسنی آلمانی نسبت به سموم (دلتا مترين، پرمیفوس و پروپوکسور) و بررسی اثر دما و مخلوط سموم. پایان‌نامه کارشناسی ارشد علوم بهداشتی، رشته حشره‌شناسی پزشکی و مبارزه با ناقلين. دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس زمستان ۱۳۷۹؛ ص ۳.
- [۴] طاهره نژاد ک. بررسی سطح حساسیت سوسنی آلمانی (*Blattella germanica*) جمع‌آوری شده از چند بیمارستان شهر تهران نسبت به حشره‌کشهای مختلف. پایان‌نامه کارشناسی ارشد علوم بهداشتی، رشته حشره‌شناسی پزشکی و مبارزه با ناقلين، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس؛ ۱۳۷۱، ص ۱.
- [۵] کاظمی مح. کنترل میکروبی آفات بیماریهای گیاهی، تبریز: انتشارات دانشگاه تربیت معلم تبریز؛ ۱۳۷۴. ص ۴۷-۵۳.
- [۶] صارمی ن. مطالعه نقش احتمالی سوسنیهای آلمانی به عنوان ناقلين عفونت‌های قارچی بیمارستانی. پایان‌نامه کارشناسی ارشد علوم بهداشتی، رشته قارچ‌شناسی پزشکی، دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران؛ ۱۳۷۳-۱۳۷۴، ص ۲-۳.
- [۷] محمدی ج. تعیین گونه‌های فعل سوسنیهای بیمارستانها و منازل مسکونی شهر زنجان و بررسی فعالیت فصلی میزان تحرک و آلوگی باکتریایی آنها. پایان‌نامه کارشناسی ارشد علوم بهداشتی، رشته حشره‌شناسی پزشکی و مبارزه با

- [18] Samuels KD, Heal JB, Lewellyn G. Characteristics relating to the pathogenicity of *Metarhizium anisopliae* toward nilaparvatalugens. *J. Invertebr. Pathol.* 1989; 53: 25-31.
- [19] Zukowski K, Bajan C. The study of usefulness of *Beauveria bassiana* in eradication of cockroaches *Blattella germanica*. Guaruj?, Brazil: Roczn Pzh; 1996. p. 181-83.
- [20] Zukowski K. Testing the effectiveness of the new bioinsecticides proposed as reductants of the population of cockroaches (*Blattella germanica L.*). *Roczn. Panstw. Zakl. Hig.* 1995; 46(3): 293-97.
- [21] Hassan AE, Dillon RJ, Charnley AK. Influence of accelerated germination of conidia on the pathogenicity of *Metarhizium anisopliae* for *Manduca sexta*. *J. Invertebr. Pathol.* 1989; 54:277-79.

Archive of SID