

بررسی تأثیر قارچ متاریزیوم آنیزوپلیه به عنوان عامل کنترل بیولوژیک سوسری 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 سوسری آلمانی بوده است.

مواد و روشها: اسپورهای قارچ به دو روش غوطه‌ورسازی و تزریقی بر بالغان نر و ماده سوسری آلمانی به کار برده شد. در بررسی و آنالیز داده‌های به دست آمده، میانگین مرگ و میر سوسریها در گروههای شاهد و آزمون محاسبه شد. LC_{50} در روش غوطه‌ورسازی و LD_{50} در روش تزریقی با استفاده از آنالیز پروبیت محاسبه گردید. سپس مقایسه داده‌ها با استفاده از مجذور R^2 و رسم رگرسیون خطی انجام شد.

نتایج و بحث: در روش غوطه‌ورسازی متاریزیوم آنیزوپلیه با $LC_{50} = 0/75 \times 10^6$ اسپور بر میلی‌لیتر در مرگ و میرنها و $LC_{50} = 7/75 \times 10^6$ اسپور بر میلی‌لیتر 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 غوطه‌ورسازی و تزریقی نیز نشان می‌دهد که عملکرد قارچ در مرگ و میر سوسریها 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 سوسری می‌تواند به کاهش قابلیت اکولوژیکی سوسری آلمانی در این نواحی کمک کند.

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

۱- مقدمه

مدفوع 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 بیماریزای بیولوژیک مانند قارچها می‌تواند به عنوان راهکاری درخور توجه به کار گرفته شود [۵، ۷].

سوسریها به عنوان مهمترین حشرات خانگی در سراسر جهان محسوب شده [۱، ۲] و در این بین سوسری 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]. سوسریها به دلیل همه چیز خوار بودن و نیز قابلیت تغذیه از

۲۶°C به مدت ۱ هفته)، عملیات خالص سازی اسپور اجرا و شمارش چهار غلظت مختلف اسپورهای متاریزیوم آنیزوپلیه به وسیله لام نئوبار انجام شد. در این عمل از اسپورهای تخلیص شده قارچ واقع در سرم فیزیولوژی استفاده گردید. برای انجام آزمایشها و نگهداری سوسریهای تیمار شده اتاکی به طول ۳m، عرض ۱m و ارتفاع ۳m ساخته شد. از این اتاکی به منظور سهولت تنظیم رطوبت نسبی و دمای محیط داخل آن استفاده شد. سوسریها پس از بیهوشی با گاز دی اکسید کربن به داخل ظروف مربوط منتقل شدند و در ظروف با پارچه متقال بسته شد. در ادامه آزمونهای زیستی به دو روش زیر انجام گرفت.

۲-۱- روش غوطه ورسازی

در روش غوطه ورسازی از چهار غلظت $1/1 \times 10^7$ ، $1/1 \times 10^6$ ، $1/1 \times 10^5$ ، $1/1 \times 10^4$ اسپور بر میلی لیتر استفاده گردید. در این روش تعداد ۱۰ سوسری آلمانی بالغ نر و ماده به طور جداگانه در لیوان (۱۰۰ml) یکبار مصرف پلاستیکی قرار داده شدند. برای هر یک از چهار غلظت قارچ، تعداد ۳۰ سوسری آلمانی در سه تکرار مساوی استفاده گردید. تعداد ۳۰ سوسری نیز در گروه شاهد مثبت با آب مقطر تیمار شده و ۳۰ عدد دیگر به عنوان شاهد منفی مستقیماً از محل پرورش به ظروف آزمون منتقل گردید. با توجه به چهار غلظت اسپوری مختلف به کار رفته و تعداد مورد نیاز برای هر غلظت (۳۰ سوسری آلمانی)، در مجموع برای دو جنس نر و ماده، ۹۶۰ سوسری استفاده شد [۱۷].

۲-۲- روش تزریقی

در این روش از چهار غلظت $5/5 \times 10^3$ ، $5/5 \times 10^2$ ، $5/5 \times 10^1$ ، $5/5 \times 10^0$ اسپور بر حشره استفاده شد. تزریق اسپورها با استفاده از دستگاه میکروپلیکاتور قابل تنظیم و سرنگ انسولین مجهز به سوزن ۱۶ در محل پلانتای^۲ سومین جفت پا انجام شد. در این آزمون، تعداد سوسریهای آلمانی بالغ نر و ماده مورد نیاز به طور جداگانه در لیوانهای یکبار مصرف پلاستیکی به تعداد ذکر شده در روش غوطه ورسازی قرار داده شدند [۱۷].

۳- نتایج

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

قارچهای بیمارزا موجب بروز اختلالات فیزیولوژیک در حشرات شده و با پیشرفت بیماریزایی باعث انهدام آنها می شوند [۸].

همچنین قارچهای بیمارزای حشرات نسبت به سایر میکروارگانیسمها می توانند حشرات زیادتری را آلوده کنند [۸، ۶]؛ در حقیقت تعدادی از قارچها میزبانهای متعددی دارند از جمله قارچ متاریزیوم آنیزوپلیه که دارای گسترش جهانی است [۱۱-۱۳]. این قارچ از گروه قارچهای ناقص بوده و به صورت انگل (پارازیت) روی حشرات یا به صورت ساپروفیت در خاک زندگی می کند [۶، ۱۴]. کنیدیهای این قارچ به شکل تخم مرغی و به رنگ سبز زیتونی می باشد [۱۴]. این قارچ نه تنها از راه خوراکی بلکه از راه تماسی باعث بیماریزایی و مرگ و میر در حشره می شود و امروزه تحت عنوان حشره کش قارچی به بازارهای جهانی عرضه می شود.

بنابراین در تحقیقات حاضر آثار مهارکنندگی قارچ متاریزیوم آنیزوپلیه روی نژاد بیمارستانی سوسری آلمانی با دو روش تزریقی و غوطه ورسازی مطالعه شد و شاخصهای LC_{50} ، LT_{50} و 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 به دست آمده می توان 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 جمع آوری سوسریهای آلمانی از مکانهایی با آلودگی بالا استفاده شد که مرتب سمپاشی شده بودند. بنابراین نژاد مقاوم از بیمارستان بوعلی شهرستان ساری انتخاب و جمع آوری شد؛ سپس در انسکتاریوم تا دستیابی به تعداد مورد نیاز پرورش داده شد [۱۷]. بدین منظور سوسریها در ظروف شیشه ای 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 آب خوری پرندگان زینتی در اختیار سوسریها قرار داده شد. دمای اتاق پرورش سوسریها بین ۲۵-۳۰°C و رطوبت نسبی آن بین ۶۰-۷۰٪ در نظر گرفته شد. برای کشت قارچ نیز از محیط آماده PDA^۱ استفاده شد. پس از کشت قارچ روی محیط مذکور و سپری شدن زمان لازم برای رشد قارچ (حرارت ۲۴-

1. Potato Dextrose Agar

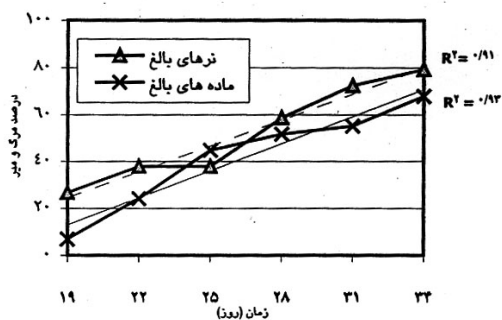
2. Plantar

جدول ۱ آورده شده است. درصد مرگ و میر گزارش شده در این جدول نشان‌دهنده تأثیر سریعتر اسپورها در روش تزریقی است.

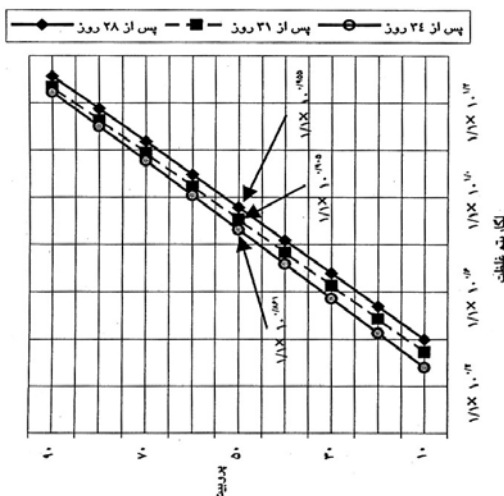
جدول ۱ نتایج درصد مرگ و میر حاصل از تأثیر بالاترین غلظت اسپوری به‌کار رفته در روشهای غوطه‌ورسازی و تزریقی

درصد مرگ و میر در روزهای پس از تماس با غلظت $1/1 \times 10^9$ اسپور بر میلی‌لیتر (روش غوطه‌ورسازی)							
روز	۱۹	۲۲	۲۵	۲۸	۳۱	۳۴	گروههای آزمایشی
نرها	۲۳٪	۳۷٪	۳۸٪	۵۸٪	۷۲٪	۸۰٪	
ماده‌ها	۵٪	۲۲٪	۴۳٪	۵۱٪	۵۶٪	۷۰٪	
شاهد	۰	۰	۰	۰	۰	۰	

درصد مرگ و میر در روزهای پس از تماس با غلظت $5/5 \times 10^0$ اسپور بر سوسری (روش تزریقی)									
روز	۴	۷	۱۰	۱۳	۱۶	۱۹	۲۲	۲۵	گروههای آزمایشی
نرها	۱۰٪	۳۴٪	۵۲٪	۷۸٪	۸۲٪	۸۹٪	۹۵٪	۹۵٪	
ماده‌ها	۱۲٪	۲۵٪	۳۴٪	۶۲٪	۷۳٪	۷۹٪	۸۹٪	۱۰۰٪	
شاهد	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	



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



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

در نمودار ۱ نتایج حاصل از تأثیر بالاترین غلظت از غلظتهای چهارگانه متاریزیوم آنیزوپلیه ($1/1 \times 10^9$ اسپور/میلی‌لیتر) بر نرها و ماده‌های بالغ در روش غوطه‌ورسازی مقایسه شده است. مرگ و میر سوسریهای آلمانی نر از روز نوزدهم بیش از مرگ و میر ماده‌ها بود به طوری که تا روز سی و چهارم ۸۰٪ مرگ و میر حاصل شد؛ اما مقدار مذکور در سوسریهای ماده حدود ۷۰٪ محاسبه شد.

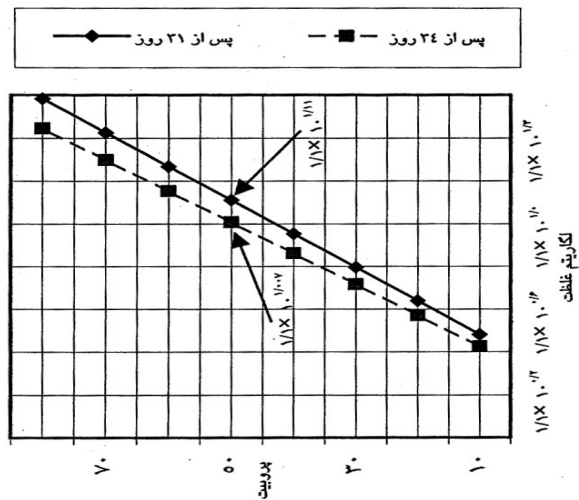
نمودار ۲ و ۳ نیز بترتیب نشان‌دهنده لگاریتم غلظت و نتایج حاصل از آنالیز پروبیت داده‌های به‌دست آمده از مرگ و میر سوسریهای نر و ماده در روزهای ۲۸، ۳۱ و ۳۴ برای نرها و روزهای ۲۸ و ۳۱ برای ماده‌ها پس از اعمال اسپورهای قارچ است. مقایسه این نمودارها نشان می‌دهد که در روزهای ۳۱ و ۳۴ پس از اعمال اسپورهای قارچ،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

نمودار ۴ نیز نشان‌دهنده مقایسه مرگ و میر حاصل از تأثیر بالاترین غلظت از غلظتهای چهارگانه ($5/5 \times 10^0$ اسپور بر حشره) بر سوسریهای 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.

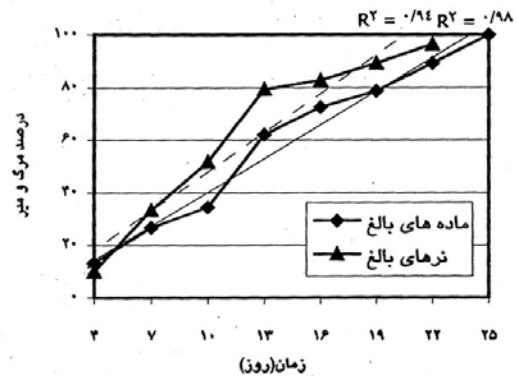
در بالاترین غلظت اسپوری، ۳۴ روز پس از شروع آزمایش به ۷۰٪ رسیده است؛ بنابراین ماده‌ها مقاومت بیشتری را نسبت به نرهای بالغ از خود نشان داده‌اند [۱۷]. نتایج حاصل از تحقیق حاضر با نتایج به دست آمده از مطالعه زوکوسکی^۱ و همکارانش در سالهای ۱۹۹۷ و ۱۹۹۸ در خصوص تأثیر قدرت کشندگی قارچ متاریزیوم آنیزوپلیه در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

الف- گونه و نژادهای متاریزیوم آنیزوپلیه باعث مرگ و میر سوسریهای 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 سوسری 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 بووریا باسیانا^۳ علیه سوسری 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 تشدید بر فعالیت‌های بیماریزایی قارچ دارد؛ شایان ذکر اینکه این مطلب مؤید تحقیق ما می‌باشد [۲۱]. تزریق اسپورهای متاریزیوم آنیزوپلیه به همولف سوسریهای نر و ماده براساس پیش‌بینیهای انجام شده، مرگ و میر را جلو انداخت به گونه‌ای که این مقدار به ۱-۴ روز تنزل یافت (نمودار ۱ و ۴). اما نکته قابل توجه در این مرحله مقاومت سوسریهای ماده است، امری که در گذشته نیز در روش غوطه‌ورسازی مشاهده گردید. در این مرحله سوسریهای ماده با وجود تزریق اسپور توانستند به مدت ۴ روز مقاومت از خود نشان دهند در حالی که در سوسریهای 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 $10^5 \times 0/5$ اسپور بر میلی‌لیتر به ۱۰۰٪ رسید. اما در نرها در همین



نمودار ۳ لگاریتم غلظت و نتایج حاصل از آنالیز پروبیت داده‌های به دست آمده از مرگ و میر سوسریهای 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 سوسریهای نر و ماده به روش تزریقی

۴- بحث

برای مطالعه بیماریزایی و کشندگی قارچ متاریزیوم آنیزوپلیه از دو روش آلودگی در قالب آزمون فرو بردن بالغان نر و ماده در مایع حاوی اسپور (روش غوطه‌ورسازی) و روش دیگر در قالب مایه‌کوبی (تزریقی) 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 بیماریزایی 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 بیماریزایی خود را طی آزمونهای تماسی و تزریقی در سطح نسبتاً بالایی 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 سوسریهای ماده نیز

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

ناقلین، دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی، دانشگاه علوم پزشکی تهران؛ ۱۳۷۵-۱۳۷۴، ص ۱۱-۱۳.

[8] Kaya GP, Munyi DM. Biocontro 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.

[۹] عبدی گودرزی م. قارچهای بیماریزای لارو پشه‌ها در استان گیلان و مازندران. پایان‌نامه کارشناسی ارشد علوم بهداشتی، رشته حشره‌شناسی پزشکی و مبارزه با ناقلین، دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی، دانشگاه علوم پزشکی تهران؛ ۱۳۶۸-۱۳۶۹، 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. *Rocz. Panstw. Zakl. Hig.* 1999; 4(1): 67-72.

[۱۴] موسوی سم. مبارزه بیولوژیکی. چاپ اول، مشهد: انتشارات دانشگاهی مشهد؛ ۱۳۷۹. ص ۳۵۳-۳۵۴.

[۱۵] میناسیان و، علیزاده ع. قارچهای ناقص (جنسهای مشروح و مصور). اهواز: انتشارات دانشگاه شهید چمران، دانشکده کشاورزی؛ ۱۳۶۸. ص ۲۵۷.

[۱۶] شادزی ش. قارچ‌شناسی پزشکی قارچها و اکتینومیستهای بیماریزا، چاپ سوم، اصفهان: چاپ نشاط اصفهان؛ ۱۳۷۶. ص ۳۸۵.

[۱۷] عابدی ع. بررسی مقایسه‌ای تأثیر سه عامل قارچی بووریاباسیانا، متاریزیوم آنیزوپلیه و ورتیسیلیوم لکانی برای کنترل سوسری آلمانی. پایان‌نامه کارشناسی ارشد علوم بهداشتی، حشره‌شناسی پزشکی و مبارزه با ناقلین. دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس؛ تابستان ۱۳۸۱. ص ۲۱۱-۱۱۶.

غلظت از ۹۶٪ تجاوز نکرد.

بنابراین ویژگیهای گوناگونی در امر بیماریزایی دخیل می‌باشند. 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 سوسری آلمانی به حشره‌کشهای پرمترین به طریق تماسی و موضعی. پایان‌نامه کارشناسی ارشد علوم بهداشتی، رشته حشره‌شناسی پزشکی و مبارزه با ناقلین، دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، ۱۳۷۸-۱۳۷۷؛ 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 سوسریهای حساس و مقاوم سوسری آلمانی نسبت به سموم (دلتا مترین، پرمیفوس و پروبوکسور) و بررسی اثر دما و مخلوط سموم. پایان‌نامه کارشناسی ارشد علوم بهداشتی، رشته حشره‌شناسی پزشکی و مبارزه با ناقلین. دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس زمستان ۱۳۷۹؛ ص ۳.

[۴] طاهره نژاد ک. بررسی سطح حساسیت سوسری 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 ناقلین، 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 سوسریهای آلمانی به‌عنوان ناقلین عفونت‌های قارچی بیمارستانی. پایان‌نامه کارشناسی ارشد علوم بهداشتی، رشته قارچ‌شناسی پزشکی، دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران؛ ۱۳۷۴-۱۳۷۳، ص ۲-۳.

[۷] محمدی ج. تعیین گونه‌های فعال سوسریهای بیمارستانها و منازل مسکونی شهر زنجان و بررسی فعالیت فصلی میزان تحرک و آلودگی باکتریایی آنها. پایان‌نامه کارشناسی ارشد علوم بهداشتی، رشته حشره‌شناسی پزشکی و مبارزه با

- [18] Samuels KD, Heal JB, Lewellyn G. Characteristics relating to the pathogen city of *germanica L*). Roczn. Panstw. Zakl. Hig. 1995; 46(3): 293-97.
- [19] *Metarhizium anisopliae* toward nilaparvatalugens. J. Invertebr. Pathol. 1989; 53: 25-31.
- [20] 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.
- [21] Zukowski K. Testing the effectiveness of the new bioinsecticides proposed as reductants of the population of cockroaches (*Blattella*
- [22] 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.