

عزل وتشخيص بعض الفطريات المصاحبة لحشرة الأرضة *Microcerotermus gabriels* وأختبار تأثيرها كعوامل سيطرة حيوية

كاظم صالح الهدلك ؛ نجوى محمد جميل علي أبو مجداد و سناء جميل ثامر العلق

قسم علوم الحياة /كلية العلوم /جامعة البصرة

الخلاصة

تضمنت الدراسة الحالية عزل وتشخيص بعض الفطريات المصاحبة لحشرة الأرضة *Microcerotermus gabriels* والتي جمعت من موقع كرمة علي في محافظة البصرة. تم عزل الفطريات من عاملات الأرضة المعقمة سطحياً وغير المعقمة. أختبرت القابلية للأمراضية لثمانية عزلات فطرية على عاملات الأرضة أظهرت النتائج عن وجود 15 نوعاً من الفطريات التي تعود الى عشرة أجناس وهي *Chrysosporium sp*, *Rhizopus sp*, *Mucor sp*, *Aspergillus sp*, *Fusarium sp*, *Geotrichum sp*, *Trichoderma sp*, *Penicillium sp*, *Trichophyton sp*, *Candida sp*, وقد أظهر الفطر *Aspergillus niger* تفوق على بقية العزلات الفطرية المستخدمة في السيطرة الحيوية على عاملات الأرضة إذ سبب نسبة هلاك 100% في كل من معاملة التلوين و التغذية. ثم معاملة أنتقال الأصابة بنسبة 52% خلال عشرة أيام من التعريض , أما بقية العزلات فقد تفاوتت في التأثير وأظهرت خميرة ال *Candida albicans* والفطر *Trichophyton equanim* و *Rhizopus stolonifer* تأثير منخفض جداً في الهلاكات والتي لم تتجاوز ال 20% في معاملة التغذية ولم تظهر أي تأثير بطرية التلوين و أنتقال الأصابة .

Isolation and identification of some fungi associated with termites *Microcerotermus gabriels* and possible use in Biological control

Kadem Saleh Hassan Al-Hadlag, Najwa Mohammed Jameel Ali Abu-Mejdad, Sanna Jameel Thamer AL-Alalq

Dept. of Biology College of science/University of Basrah

Summary

present Study includes isolation and identification of fungi associated with termite *Microcerotermus gabriels* which collected from Karmat Ali region ,fungi was isolated genera were isolated from sterilized and non sterilized termite workers, then tested the pathogenicity of eight fungi species, result showed that 15 species belong to 10 genera namely *Aspergillus sp*, *Mucor sp*, *Rhizopus sp*, *Chrysosporium sp*, *Trichophyton sp*, *Geotrichum sp*, *Fusarium sp*, *Penicillium sp*, *Trichoderma sp* Also showed that *Aspergillus*

niger was the successful one in the control of termites workers caused 100 % mortality in feeding and direct contamination method , but in transfer infection method mortality reduce to 52 % during 10 days of exposure. Remening isolated fungi were different in their effective, however, the *Candida albicans*, *Trichophyton equanum*, *Rhizopus stolonifer* show very low effect not more 20 % mortality in feeding method , but not in contamination and transfer infection methods

المقدمة

تتواجد في البيئة انواع مختلفة من الفطريات قد تتجاوز ال 750 الف نوع المعروفة بقابليتها على احداث الاصابة في الحشرات , والتي استخدم بعضها علمياً في السيطرة البايولوجية على العديد من الحشرات الضارة ومنها حشرة الأرضة Termite (Streett & Hostetters, 2000) . أذ تعد من الحشرات الاقتصادية المهمة التي تتواجد في معظم دول العالم (Pearce, 1997; Edwards & mill, 1986). تصيب الأرضة معظم انواع الاخشاب والمواد المصنوعة منها كما تهاجم المحاصيل الزراعية والاشجار والمباني وتسبب اضرار اقتصادية كبيرة تقدر بملايين الدولارات سنوياً (Mauldin et.al., 1982) وتعد المكافحة الكيميائية من الطرق الشائعة في مكافحة الأرضة وهي طريقة لا تخلو من سلبيات متعددة كأزدياد تلوث النظام البيئي وسميتها العالية للكائنات الحية وبقائها الطويل بالبيئة (Pearce, 1997) . هذه الاسباب ادت الى البحث عن ايجاد وسائل بديلة للمبيدات المصنعة , وكانت احد هذه التوجهات هو استخدام السيطرة البايولوجية Biological Control والتي تشمل استخدام المفترسات والطفيليات والمسببات الممرضة كالبكتيريا والفطريات والتي تصيب الأرضة . وغالبا ما تتواجد في بيئتها بصورة طبيعية (Delate & Grace, 1995) واستخدمت الفطريات دون غيرها من المسببات الممرضة في السيطرة الحيوية للأرضة نتيجة للتوافق بين بيئة الفطريات وبيئة الأرضة فضلاً عن تكاثرها الذاتي في البيئة وطبيعتها غير المنفردة مما يجعلها ذات اهمية كبيرة (Morales-ramos et.al., 2000) وتهدف الدراسة الى البحث عن تأثير بعض الأنواع الفطرية المعزولة من عاملات حشرة الأرضة *Microcerotermus gabriels* ومقدار امراضيتها وكفاءة سيطرتها على الحشرة.

المواد وطرائق العمل

جمع عينات حشرة الأرضة وتهيئة مستعمراتها مختبرياً

جمعت عينات الحشرة من منطقة كرمة علي في محافظة البصرة , وتضمنت العينات افرع وسيقان نباتات مصابة بالحشرة , نقلت العينات الى المختبر بعد وضعها في اكياس بلاستيكية وترطيبها بكمية من ماء الحنفية , تم تأكيد تشخيص النوع في مختبر ابحاث الحشرات /كلية العلوم /بالاعتماد على المفاتيح التصنيفية المختلفة و لأقلمة الحشرة على الظروف المختبرية فقد استخدمت عدة احواض زجاجية ابعادها 50 x 35 x 20 سم , وضعت كمية من التربة المعقمة داخل كل حوض وأدخلت الافرع والسيقان المصابة , رشّت التربة بكمية من الماء المقطر وغطيت الاحواض بغطاء بلاستيكي مثقب بثقوب دقيقة , نقلت الاحواض الى غرفة مظلمة درجة حرارتها بي 25 و 35 م⁰ والتي قيست باستخدام Mininum-Maximum Thermoglaph

الاوراق الزرع

استخدمت الأوساط الزرع التالية لدراسة الفطريات المعزولة :-

- 1- وسط أكار البطاطا والجزر Potato Carrot Agar (PCA)
 بطاطا 20 غم
 جزر 20 غم
 أكار 20 غم
 ماء مقطر 1000 مل
 ثم عقم المزيج باستخدام المؤصدة Autoclave لمدة 20 دقيقة بدرجة حرارة (121) م° وضغط 15 باوند /أنج .

- 2- وسط أكار خلاصة الشعير Malt Extract Agar (MEA)
 مسحوق خلاصة الشعير (Macnur - كندا) 15 غم
 أكار 20 غم
 ماء مقطر 1000 مل

وعقم المزيج كما في الطريقة السابقة

- 3- أضيف 20 غم من مادة الاكار الى لتر واحد من الماء المقطر وعقم المزيج كما هو سابقاً.

- 4- وسط اكار السابروود Sabourauds Dextrose Agar (SDA)
 ببتون 10 غم
 دكستروز 40 غم
 أكار 20 غم
 ماء مقطر 1000 مل

وقد اضيف 250 ملغم/لتر من المضاد الحيوي chloramphenicol الى كل من الاوساط الزرعية

السابقة لتنشيط نمو البكتيريا (McGinnis, 1980)

عزل الفطريات من حشرة الارضة

الطريقة الاولى : اتبعت طريقة منصور (1999) وذلك بغسل الحشرات تحت ماء جار لمدة ساعة واحدة وذلك بوضعها بدورق مخروطي سدت فوهته بقماش من الشاش ثم غسلت الحشرات بالماء المقطر المعقم بعدها وضعت على ورق ترشيح معقمة حتى جفت ثم نقلت الى أطباق حاوية على الاوساط الزرعية (PCA, MEA, WA, SAD) وبمعدل 15 حشرة لكل وسط بعدها حضنت الاطباق بدرجة حرارة 27 م° .
الطريقة الثانية : اتبعت طريقة منصور (1999) وذلك بغسل الحشرات تحت ماء جار كما في الطريقة السابقة ثم عقت سطحيا بمادة هايبيوكلوريد الصوديوم NaOCl (10%) لمدة 10 دقائق بعدها غسلت بالماء المقطر المعقم ووضعت على اوراق الترشيح معقمة بعدها نقلت الى اطاق حاوية على أوساط زرعية وكما في الطريقة السابقة .

تشخيص العينات

فحصت الاطباق بعد ثلاثة أيام من الزرع و استمرت مراقبة نمو الفطريات لمدة أربعة اسابيع , وتم الفحص باستخدام مجهر التشريح , أذ عزلت الفطريات بأستخدام أبرة معقمة على اطاق حاوية على الاوساط الزرعية لغرض تنقيتها , وبعد نمو المستعمرات الفطرية نقلت المستعمرات النقية الى وسط زرعي مائل في أنابيب معقمة وحفظت في الثلاجة بعد النمو , وللاغراض التصنيفية فقد حُضرت شرائح مثبتة بمادة اللاكتوفينول Lactophenol لكل عزلة فطرية وفحصت تحت المجهر الضوئي , وتم التصنيف بالاعتماد على المراجع الاتية :

Hoogde & Guarro (1995), McGinnis(1980), Ellis (1976), Ellis (1971)

وتم حساب النسبة المئوية لظهور النواع الفطرية حسب القانون :

$$\text{النسبة المئوية للظهور} = \frac{\text{عدد العينات التي ظهر فيها الجنس او النوع}}{\text{العدد الكلي للعينات}} \times 100$$

اختبار القابلية الامراضية للأنواع الفطرية على حشرة الارضة

1- طريقة التلوين المباشر (Wright et.al ,2003)

وضعت 25 عاملة على المزرعة الفطرية المراد اختبارها وتركزت العاملات لتتحرك عليها لمدة 10 دقائق , ورج الطبق قليلا للسماح لأكبر عدد من الكونيديات من الالتصاق على اجسام العاملات ,نقلت بعدها العاملات الى اطباق حاوية على اوراق ترشيح معقمة .استخدمت ثلاث مكررات لكل عزلة و لكل معامل سيطرة وذلك بعد تعريض العاملات للمزارع الفطرية ,حضنت الاطباق في حاضنة مظلمة بدرجة حرارة 25 م° مع توفير الرطوبة داخل الاطباق بترطيب اوراق الترشيح الملصقة في غطاء كل طبق بماء مقطر معقم ,حسبت عدد الحشرات الميتة وتم رفعها يوميا الى اطباق حاوية على الاوساط الزرعية للتاكيد من وجود الفطر المستخدم في التجربة .

2- طريقة أنتقال الاصابة (Hanel ,1982)

وضعت 12 عاملة من مجموع 25 على كل مزرعة من العزلات الفطرية المستخدمة كما في الطريقة السابقة ,نقلت بعدها الى أطباق الحاوية على اوراق ترشيح معقمة والحاوية على 13 عاملة سليمة استخدمت 3 مكررات لكل عزله ولكل معامل سيطرة بأستخدام 25عاملة سليمة ,وحضنت الاطباق كما في الطريقة السابقة .

3- طريقة التغذية (Milner&staples ,1996)

لوثت المادة الغذائية للعاملات بوضع قطعة من ورقة ترشيح على المزرعة الفطرية المراد اختبارها وقلبت عدة مرات بواسطة ملقط معقم ثم نقلت الى اطباق التربية وادخلت عليها 25 عاملة سليمة ,استخدمت ثلاث مكررات لكل عزله ولكل معامل سيطرة بأستخدام اوراق ترشيح معقمة ,وحضنت في الحاضنة بظروف مظلمة وبدرجة 57م° مع ترطيب اوراق الترشيح في غطاء كل طبق كلما دعت الحاجة لذلك

التحليل الاحصائي

اجريت جميع التجارب حسب التصميم تام التعشية بتجارب عاملية ,وتم استخراج النسب المئوية للهلاك وحللت احصائيا بأستخدام جدول تحليل التباين (ANOVA (general liner model ,تمت مقارنة المتوسطات حسب طريقة اقل فرق معنوي معدل Revised Least Significant Differences(R.L.S.D) (الراوي وخلف الله (1980,

النتائج والمناقشة

اظهرت النتائج ان هناك خمسة انواع من الفطريات تابعة لعشرة اجناس جدول(1) وقت تفاوتت تلك الانواع في نسب ظهورها , الا ان النوع *A.niger* سجل اعلى نسبة ظهور بلغت 30% , بينما سجلت الانواع *Penecillium sp* , *A.terrus* , *A.fumigatus* بنسبة 10% , اما بقية الانواع فقد كانت دون 10%

ت	العزلة الفطرية	النسبة المئوية للظهور
1	<i>Aspergillus fumigatus</i>	10%
2	<i>A.terrus</i>	10%
3	<i>A.flavus</i>	8%
4	<i>A.niger</i>	30%
5	<i>Candida albicans</i>	4%
6	<i>Chrysosporium tropicum</i>	2%
7	<i>Fusarium sp.</i>	4%
8	<i>Fusarium sp2.</i>	2%
9	<i>Geotrichum candidum</i>	2%
10	<i>Mucor sp</i>	2%
11	<i>Penecillium sp</i>	10%
12	<i>Rhizopus sp</i>	2%
13	<i>Rhizopus stolonifer</i>	6%
14	<i>Trichoderma sp</i>	4%
15	<i>Trichophyton equanim</i>	2%

توضح الاشكال (1),(2),(3) النسب المئوية لهلاك عاملات حشرة الارضة *Microcerotermus gabriels* باستخدام ثمانية عزلات فطرية مختلفة وللطرائق الثلاث المستخدمة في مكافحة .

أظهرت نتائج التحليل الاحصائي أن الفطر *Aspergillus niger* اعطى اعلى قابلية امراضية لعاملات حشرة الارضة وبفارق معنوي عالي عن بقية الفطريات المستخدمة اذ بلغت الهلاكات 100% خلال 10 ايام ولكل من معاملة التلوين والتغذية تلتها طريقة أنتقال الاصابة بنسب 52% وقد يعود السبب في ذلك الى القابلية الانزيمية العالية للفطر او السموم الفطرية المتنوعة التي يفرزها فقد ذكر (Manocha & Govindsamy, 1998) ان تأثير الفطريات على الحشرات في عمليات السيطرة الحيوية تتم بنمو الفطريات بالاعتماد في تغذيتها على الحشرة Chemotrophic growth اذ تفرز الفطريات انزيمات الـ Chitinase وانزيمات محللة اخرى التي تحلل

السكريات المتعددة و البروتينات في كيو تيكل الحشرة ثم يقوم الفطر باستغلال المصادر العضوية الحية وغير الحية لغرض نموه يكون بعدها غزل فطري كثيف ليؤدي بالنهاية الى موت الحشرة ومنها انواع فطرية لجنس الـ *Aspergillus*, وكذلك اشار Pinto et.al.(2002) الى وجود انواع مختلفة من الانزيمات وهي Chymoelastase, Cysteine protease, Serine protease group, Trypsin like enzyme, Metalloprotease, تسهل اختراق الفطر لكيوتكل الحشرة بتكسير اواصر الببتيد في الكيو تيكل حيث يتغلغل الفطر الى داخل الحشرة مما يؤدي الى قتلها و بين Rose et.al.(1999) الى وجود انواع من الفطريات سببت موت انواع مختلفة من الزنابير في سويسرا اذ اظهرت فعالية عالية في السيطرة الحيوية بسبب قابلية هذه الفطريات على انتاج السموم الفطرية ومنها انواع للاجناس

Aspergillus و *Fusarium* تلاه في التأثير *Aspergillus fumigatus* و *Mucor* و *Chrysosporium* و *tropicum* و *Rhizopus stolonifer* بدون فارق معنوي بينهما ,بينما كان الفطر *Trichophyton* و *Candida albicans* و *equanim* اقل الفطريات تأثيرا في الهلاكات وبدون فارق معنوي وتحت مستوى احتمال ($P \leq 0.01$)

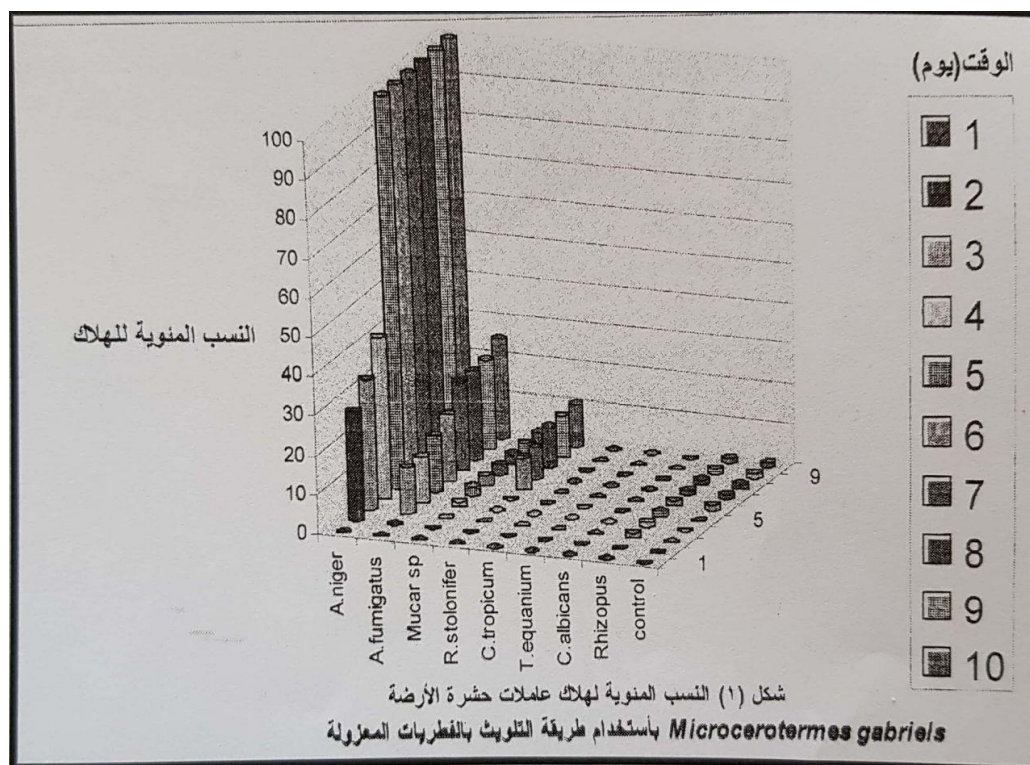
ودلت النتائج الاحصائية ان الفطر *A.niger* اعطى افضل قابلية للسيطرة على العوامل بطريقة التغذية و التلوين وبفارق معنوي عن طريق انتقال الاصابة فبلغت نسبة الهلاك للطريقتين في اليوم الثاني 24% و 28% على التوالي واستمرت النسبة بالتزايد لتصل الى اعلى قيمة لها في اليوم الخامس وبنسبة 100% , تلتها طريقة الانتقال بنسبة 52% خلال مدة التعريض كذلك اعطى اعلى نسبة ظهور مقارنة بالفطريات الاخرى التي اعطت نسب هلاك اقل جدول (1) . وقد يعزى ذلك الى قابلية الفطر العالية على اختراق جسم الحشرات والتغلغل في داخله واحداث الاصابة او قدراته على النمو داخل القناة الهضمية للحشرات عند دخوله مع الغذاء الملوث بالكونيديات وافراز السموم مما يؤدي الى الهلاك ومن ناحية التأثير فإنه يتفق مع ما حصلت عليه منصور (1999) اذ سبب الفطر *A.flavus* و *A.terrus* نسب هلاك 100% و 86% لعاملات الارضة *M.diversus* بطريقة التلوين والتغذية تلتها انتقال الاصابة بنسبة 73.3% و 81.3% بعد 10 ايام من المعاملة . كذلك ذكر (Keiths & Levesque 2004) أن انواع من الفطريات مثل *Aspergillus* و *Fusarium* و *Penicilium* تنتج أنواع مختلفة من السموم مثل Ochratoxins , Fumonisin, Deoxy nivalenol , Zearalenone, Alfatoxins, والتي تسبب قتل الحشرات كما بين (Scully & Bidochka 2006) الى احتياج الفطريات *A.niger* و *A.fumigatus* الى الاحماض الامينية Cystine و Methionine في التغذية الخارجية للفطريات Auxotrophic على الحشرات اذ تمتلك الفطريات انزيمات تحول الـ Sulfite الى Sulfide والاستفادة من الكبريت المتحرر في تصنيع الحوامض الامينية التي يحتاجها الفطر لنموه وتطوره داخل الحشرة او ياخذها الفطر مباشرة من الحشرة اذ اغلب هذه الاحماض الامينية متواجدة في كيو تيكل ولمف الحشرة (Strak, 2006)

أما الفطر *A.fumigatus* فقد أختبر تأثيره كعامل سيطرة حيوية أذ كانت نسبة ظهوره عالية على العوامل و اعطى اعلى نسبة هلاك بواسطة طريقة التغذية , اذ بلغت النسبة في اليوم الثاني 5.3% وازدادت خلال فترة التعريض لتصل الى 46.6% في اليوم العاشر اما طريقة التلوين و الانتقال فكان تأثيرهما اقل من التغذية و بدون فارق معنوي بينهما وبنسبة 22.6% و 21.3% على التوالي وخلال عشرة ايام

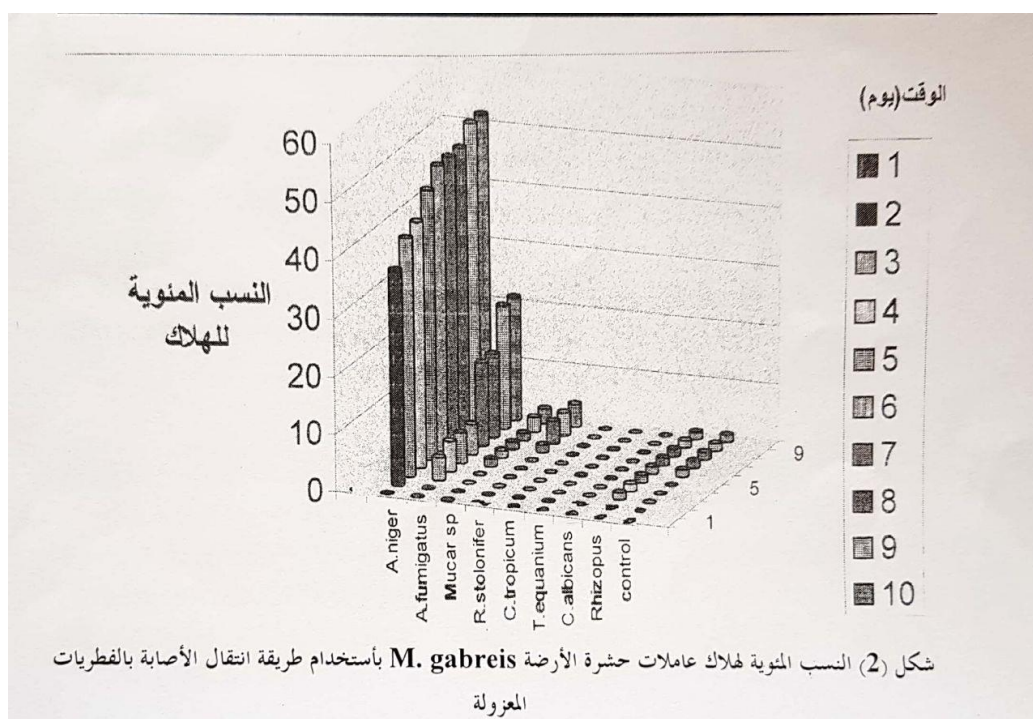
ويتطابق هذا مع ما ذكره (Milner & Staples 1996) في استراليا حول تأثير بعض أنواع الفطريات في الحد من تكون مستعمرات الارضة باستخدام طريقة التلوين لغذاء الارضة بكونيديات بعض الانواع الفطرية مثل

Aspergillus fumigatus وأنواع أخرى اذ اعطت هذه الطريقة نسبة هلاكات عالية. واعطى الفطر *Mucor sp.* افضل سيطرة بواسطة التغذية على الاوراق المعاملة وبنسبة 100% خلال اليوم التاسع, بينما لم تؤثر طريقة التلويث والانتقال على الهلاكات و التي لم تتجاوز 26% خلال مدة التعريض, أما بالنسبة للفطر *Rhizopus stolonifer* فأعطت طريقة التغذية اعلى نسبة للهلاك اذ ازدادت من 26.6 % في اليوم الثالث الى 52% في اليوم العاشر تلتها طريقة التلويث بنسبة 10.6% ثم الانتقال بنسبة 4 % بدون فارق معنوي و قد اشار Bidochka & Roberts(2000) الى دور الطريات من صنف الفطريات اللاقحية Zygomycetes مثل انواع *Rhizopus sp.* و *Mucor sp.* في السيطرة الحيوية تجاه انواع مختلفة من الحشرات الضارة ومنها مستعمرات الارضة .

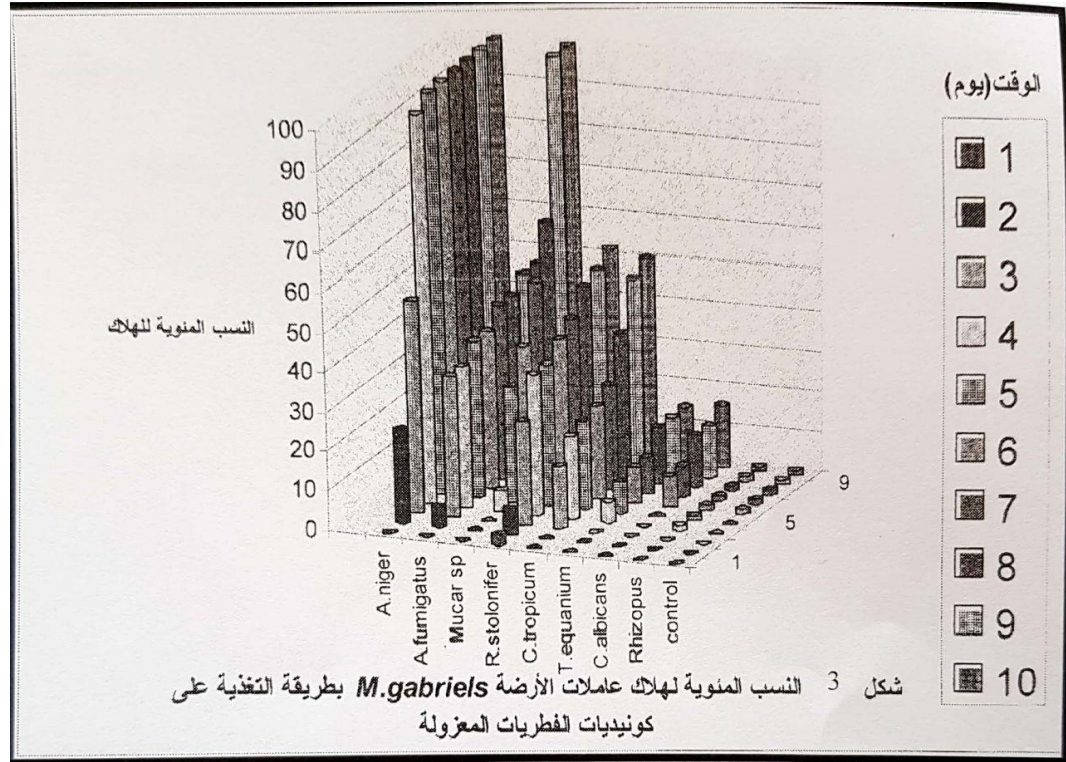
واشارت النتائج ان تغذية العاملات على كويندات الفطر *Chrysoporium tropicum* سجلت هلاكات تراوحت بين 21.3-50.6% خلال عشرة ايام وبفارق عن معاملة التلويث والانتقال اللتان لم تؤثر على نسب الهلاك. و أظهرت النتيجة نفسها في معاملة العاملات للفطر *Trichophyton equanum* و *Candida albicans* وبنسب 5.3 – 16% لطريقة التغذية و بدون تأثير لمعاملة التلويث و الانتقال. ودلت النتائج الاحصائية ان طريقة التغذية اعطت افضل قابلية للسيطرة وقد يعود ذلك الى قدرة الفطريات المذكورة على مقاومة الانزيمات الهاضمة والنمو داخل القناة الهضمية وافراز بعض السموم و التي تعرقل الفعاليات الحيوية للحشرات مما يؤدي الى موتها (Grace,1999), اما طريقة التلويث والانتقال فقد كمن تأثيرهما اقل وبدون فارق معنوي بينهما وقد يعود ذلك الى غياب الانزيمات المحللة لكيوتكل الحشرة او ان تأثيرها لا يكون الا بوجود اصابات او جروح في الحشرة او مسببات ممرضة أخرى والتي تساعد على اختراق الفطريات وحدوث الاصابة, وان انخفاض النسبة في طريق انتقال الاصابة قد يعود الى عدم انتقال العدد الكافي من الكويندات من الحشرات الملوثة الى السليمة (Tyrrel & Welten, 1988).



شكل (1) النسب المئوية للهلاك عاملات حشرة الأرض *M. gabriels* باستخدام طريقة التلويث بالفطريات المعزولة



شكل (2) النسب المئوية للهلاك عاملات حشرة الأرض *M. gabriels* باستخدام طريقة انتقال الإصابة بالفطريات المعزولة



شكل (3) النسب المئوية للهلاك عاملات الأرض *M. gabriels* بطريقة التغذية على كونيديات الفطريات المعزولة

المصادر العربية

الراوي, خاشع محمود و عبد العزيز خلف الله (1980). تصميم وتحليل التجارب الزراعية. دار الكتب للطباعة والنشر جامعة الموصل. 488 صفحة.

المنصور, زينب فاضل (1999). المجموعة الفطرية المصاحبة لنوعين من حشرات الارض و امكانية استخدام بعض انواعها للسيطرة الحيوية. رسالة ماجستير زكلية العلوم-جامعة البصرة 93 صفحة.

المصادر الاجنبية

Bidochka MJ& Roberts.D. W.(2000) Identification of fungal pathogens of Grasshoppers. Florida Entomol.69:151-153.

Edwards,R.&Mill.A.E.(1980) Tennites in buldings,their biological&control Rentokil limited.E-ngland.p225.

Ellis,M.B.(1971).Demitiaceous hyphomycetes. Comm-on Wealth Mycological Institute,Kew,Suffey England p608

- Ellis, M.B. (1976) More Dematiaceous hyphomycetes. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey England. p507
- Grace, J.K (1997). Biological control strategies for suppression of termites. J Agric. Entomol. 14:281-289
- Hanel, H. (1982), Selection of fungus species suitable for the Biological control of the termite *Nasutitermes exitiosus*. ZANGEW. ENTOMOL. 94(3):237-245.
- Hoogde G.S. & Guarra, J. (1995) Atlas of clinical fungi. Center alba for the Study of Fungal Infections & Universitat Rovira i Virgili. Spain. p720.
- Hostetter, D.R. & Street, D.A. (2000), Grasshoppers pathogens & integrated pest management. J. of insect pathol. 60(1-6).
- Keith, S. & Levesque, C. (2004) Mycology & Molecular diagnosis of mycotoxigenic fungi. European J. Plant pathol. 10(5-6). p449-471.
- Manocha, M.S. & Govindsamy, V. (1998) Chitinolytic enzymes of fungi & their involvement in biocontrol of plant pathogens. J. Biocontrol. 1:309-328.
- Mauldin, J. K.; Beal, R. H and Jones, S. (1982). Subterranean termites research continues on methods to halt damage pest control. pp 26-50.
- McGinnis, M.R. (1980) Laboratory handbook of medical mycology. Academic Press. New York, p66 1.
- Milner, R.J. & Staples, J.A. (1998) Biological control of termites: Results & experiences with in a CSIRO project. Biocontrol Science & Technology 6(1):1-5
- Morales-ramos, J.A.; Rojas, M.G.; Sitterzbnatkar, H. & Saldana, G. (2000) Symbiotic Relation between *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae) & *Fusarium solan* (moniliales Tuberculariaceae). Ann. Entomo. Soc Am. 93: 541-547
- Pearce, M. J. (1997). Termites : Biology and pest management CAB International USA. 172 pp.
- Pinto, F.G.S. Fungaro, M.H.P, Feffreira, J.M. Inglis, M.C.V. & Furlanto, M.C (2002), Genetic variation in the cuticle degrading protease activity of the Entomopathogen *Metarhizium flavoviride* . Genetic & Molecular Biology 25(2):231-234.

Relate, K. M. and Grace, J. K. (1995). Potential use of pathogenic fungi in baits to control the formosan subterranean termites, *Coptotermes formosanus shiraki* (Isoptera: Rhinoteimitidae). Journal of Applied Entomology. 119: 429-433.

Rose,E.A.F:Harris,,R.J.H.&Glare.T,R.(1999) Possible pathogens of social wasp(Hymenoptera Vespidae) &their potential Biologicalcontrolagents.NewZealand.J.Zoology 26:179- 190.

Scully.L.R.& Bidochka J.(2006). Acysteine, methionine auxotrophic of the opportunistic fungus *Aspergillus flavus* is associated with host - rang restriction : Amodel for emerging diseases. Microbiol. 152:223-232.

Strack,B.H.(2006). Biological control of the termite by the fungal Entomopathogen *Metarhizium anisopliae* articles.

Tyffel.D& Welton.,M.A.(1988,Isoptera & growth of grasshopper pathogen *Entomophthora grylli* J. Inver. Pathol. 36:85-89.

Wright,M.S. Jackon,M.A.&Connick, J.R.W.(2003). Potential use of *Paecilomyces fimosoroseus* for control of the Formosan subterranean termites *Coptotermes formosanus*. Society of Invertebrate Pathology p 140.