

معرفی غذای جدید لاروی جهت پرورش آنوفل استغفنی و تعیین میزان مصرف بهینه آن در انساکتوریومها

علیرضا بلندنظر^{۱*}، دکتر محمدسعید دایر^۱، علیه موسوی^۱

۱- گروه حشره‌شناسی پزشکی و مبارزه با ناقلین، دانشگاه تربیت مدرس

Title: Study of new larval food for rearing *Anopheles stephensi* and determination of its optimum utilization amount in insectaria

Authors: Bolandnazar AR, (MSc); Dayer MS, (PhD); Moosavi E, (MSc).

Introduction: The mosquito *Anopheles stephensi* is a common pest of medical importance (malaria vector) that has been reported from most parts of Iran. The study of its biological and ecological characteristics is a prerequisite for its effective control. However, its successful rearing in laboratory remains the first step in this respect. In this study we investigated a new rearing method for raising the *Anopheles stephensi* in the lab conditions using a commercial brand of milk powder for larval feeding.

Methods: Optimum utilization amount of commercial milk powder was assessed by measuring seven ecological characters (larval mortality, pupal mortality, total mortality, survival rate, speed of larval development, sex ratio and body size) with four different food amounts.

Results: We observed significant decreases of larval, pupal and total mortality and sex ratio and significant decreases of speed of larval development and survival rate by an increase in food amounts. Body sizes did not show any significant difference among individuals of both sexes.

Conclusion: Our results indicate that the new rearing method supported the *Anopheles stephensi* population of higher abundance and fitness for lab experiments.

Keywords: *Anopheles stephensi*, rearing, larval feeding, ecological index, malaria.

Hakim 2006;9(1):9-15.

* نویسنده مسؤول: کاشان، مدخل شهر، شهرک انقلاب، کوچه دوم (شهید کلاهدوز)، پ. ۳۸، کدپستی: ۱۳۹۷۴-۸۷۱۵۹-۵۵۷۵۱۲۱-۳۶۱-۰۳، شماره: ۳-۴۴۵۱۶-۳۶۱-۰۳
پست الکترونیک: bolandnazar@yahoo.com

چکیده

مقدمه: پشه آنوفل، حشره‌ای با اهمیت پزشکی بوده که در نقاط مختلف ایران انتشار دارد. مطالعه هرچه بیشتر ویژگی‌های بیولوژیک و اکولوژیک این پشه با توجه به توانایی آن در انتقال بیماری مالاریا، پیش‌نیاز مبارزه و کنترل موفق آن است. بنابراین پرورش آزمایشگاهی این پشه، گامی در این راستا به حساب می‌آید. در مطالعه حاضر از روشی جدید برای پرورش پشه آنوفل استفسنی در شرایط آزمایشگاهی استفاده شده است که آن بهره‌گیری از پودر شیر تجاری جهت تغذیه مراحل لاروی می‌باشد. استفاده از پودر شیر دارای مزایای زیادی نسبت به سایر مواد غذایی می‌باشد از جمله: سهولت در دسترسی، مشخص بودن محتویات غذایی و کاربرد آسان‌تر. بنابراین با مشخص کردن میزان مصرف بهینه این ماده غذایی که در این تحقیق صورت پذیرفته، می‌توان این ماده غذایی را جایگزین سایر مواد غذایی نمود.

روش کار: میزان مصرف بهینه با محاسبه هفت شاخص اکولوژیکی عمده (مرگ‌ومیر لاروی، مرگ‌ومیر شفیره، مرگ‌ومیر کل، سرعت رشد لاروی، نرخ بقا، نسبت جنسی و اندازه بدن) و با اعمال ۴ کمیت غذایی مختلف مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج: مشاهدات نشان داد که با افزایش کمیت غذا، مرگ‌ومیر لاروی کاهش (از مرگ‌ومیر لاروی ۶۳٪ در کمترین کمیت غذایی و بیشترین تراکم لاروی به صفر در بیشترین کمیت غذایی و کمترین تراکم لاروی)، مرگ‌ومیر شفیره کاهش (از مرگ‌ومیر شفیره ۶٪ در کمترین کمیت غذایی و بیشترین تراکم لاروی به صفر در بیشترین کمیت غذایی و کمترین تراکم لاروی)، مرگ‌ومیر کل کاهش (از مرگ‌ومیر کل ۶۳٪ در کمترین کمیت غذایی و بیشترین تراکم لاروی به صفر در بیشترین کمیت غذایی و کمترین تراکم لاروی) و نسبت جنسی کاهش (از نسبت جنسی ۵۶٪ در کمترین کمیت غذایی و بیشترین تراکم لاروی به ۵۰٪ در بیشترین کمیت غذایی و کمترین تراکم لاروی) داشتند اما سرعت رشد لاروی افزایش (از ۲۵ روز در کمترین کمیت غذایی و بیشترین تراکم لاروی به ۱۰ روز در بیشترین کمیت غذایی و کمترین تراکم لاروی) و نرخ بقا افزایش (از نرخ بقا ۳۴٪ در کمترین کمیت غذایی و بیشترین تراکم لاروی به ۱۰۰٪ در بیشترین کمیت غذایی و کمترین تراکم لاروی) نشان دادند. اما بر خلاف دیگر شاخص‌ها، اندازه بدن تغییر معنی‌داری را نشان نداد.

نتیجه‌گیری: بنابراین توصیه می‌شود با در نظر گرفتن مزایای پودر شیر و با توجه به مشخص شدن میزان مصرف بهینه آن در این تحقیق که باعث افزایش وفور و پویایی پشه آنوفل استفسنی در محیط آزمایشگاه می‌گردد، از این ماده غذایی جهت تغذیه لاروی استفاده شود.

کلواژگان: آنوفل استفسنی، پرورش آزمایشگاهی، تغذیه لاروی، شاخص اکولوژیکی، مالاریا.

مقدمه

پشه‌های آنوفل حشراتی از راسته دیپترا^۱، زیر راسته نماتوسرا^۲، خانواده کولیسیده^۳ و زیرخانواده آنوفلینه^۴ می‌باشند. گونه‌های این جنس دارای انتشار جهانی بوده و در اکثر مناطق دنیا یافت می‌شوند. وفور این جنس و گونه آنوفل استفسنی در ایران نیز بالا بوده و از مناطق مختلف کشور گزارش شده است (۱ و ۲). چنانچه می‌دانیم ناقل اصلی بیماری مالاریا در اکثر نقاط دنیا، پشه آنوفل بوده و آنوفل استفسنی ناقل مهم مالاریا در ایران می‌باشد. با توجه به اهمیت آنوفل استفسنی، مطالعه هر چه

بیشتر بیولوژی و اکولوژی آن به منظور دستیابی به راهکارهای کنترل و مبارزه با این پشه بسیار مهم است. لذا پرورش آزمایشگاهی این پشه جهت انجام این مطالعات ضروری به نظر می‌رسد.

معمولاً جهت تغذیه لاروهای آنوفل استفسنی در انسکتاریوم‌ها از مخلوط غذای سگ^۵ و مخمر آبجو^۶ به نسبت ۱:۱ (۳ و ۴) و یا مخلوط پودر جگر^۷ و نوعی غذای سگ^۸ به نسبت ۱:۲ (۵) و در مواردی از غذای ماهی^۹ و پودر بmaks^{۱۰} و

^۵ - Dog food

^۶ - Brewer's yeast

^۷ - Liver powder

^۸ - Dog chow

^۹ - Fish food

^{۱۰} - Bemax

^۱ - Diptera

^۲ - Nematocera

^۳ - Culicidae

^۴ - Anophelinae



شکل ۱- پودر شیرتجاری و چگونگی توزین آن به وسیله ترازوی دیجیتال

محتویات غذایی پودر شیر استفاده شده در این مقاله به قرار زیر است:

اطلاعات تغذیه‌ای (مقادیر متوسط در ۱۰۰ گرم)	
انرژی	۱۴۸۴KJ (۳۴۹Kcal)
پروتئین	۳۵/۶g
کربوهیدرات	۵۰/۴g
چربی	۰/۶g
فیبر	۰/۰g
سدیم	۰/۶g
ویتامین آ	۴۵۰۰µg
ویتامین د	۱/۶µg

جهت بررسی اثر کمیت‌های غذایی مختلف روی شاخص‌های بیولوژیکی آنوفل استفسنی، ابتدا رژیم غذایی پایه (X) به قرار زیر مشخص گردید:

روز ۲ ← ۰/۰۵۰ میلی‌گرم پودر شیر (غذای لاروی) به ازای هر لارو

روز ۴ ← ۰/۱۰۰ میلی‌گرم پودر شیر به ازای هر لارو

روز ۶ ← ۰/۱۵۰ میلی‌گرم پودر شیر به ازای هر لارو

روز ۸، روز ۱۰ و ... ← ۰/۱۲۵ میلی‌گرم پودر شیر به ازای هر لارو

۰/۱۲۵ میلی‌گرم پودر شیر ادامه می‌یابد تا اینکه تمامی لاروها تبدیل به شفیره شوند یا بمیرند.

یک بار شاخص‌های بیولوژیکی مختلف برای رژیم غذایی پایه (X) اندازه‌گیری شد. سپس برای افزایش میزان غذای لاروی، رژیم‌های غذایی هم ارز با رژیم غذایی پایه (X) را در آزمایش‌های بعدی روی ظروف با تراکم‌های مختلف (تراکم‌های ۰/۱، ۰/۵، ۱، ۲ و ۳ لارو در هر سانتیمتر مربع) اعمال کردیم. در این حالت مقادیر غذایی، دو برابر (۲X)، چهار برابر (۴X) و شش برابر (۶X) شده و شاخص‌های بیولوژیکی متفاوت، برای کمیت‌های غذایی مختلف (X، ۲X، ۴X و ۶X) محاسبه گردید. در این آزمایش‌ها رژیم غذایی پایه (X) به‌عنوان گروه شاهد در نظر گرفته شد (۵-۷).

غیره استفاده می‌شود؛ ولی در این تحقیق از پودر شیر تجاری^۱ جهت تغذیه لاروها استفاده شده است که دارای مزایایی نسبت به سایر غذاهای لاروی می‌باشد. همچنین میزان مصرف بهینه این غذا تعیین شده است به این ترتیب که از کمیت‌های مختلف یک رژیم غذایی برای تغذیه لاروها در تراکم‌های لاروی متفاوت استفاده شده و اثر این کمیت‌های غذایی روی ۷ شاخص بیولوژیکی عمده مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفته است. بدین ترتیب مشخص خواهد شد که در کدام کمیت غذایی، شاخص‌های بیولوژیکی درجهت وفور و پویایی هر چه بیشتر این پشه (پرورش موفق‌تر) پیش خواهند رفت.

روش کار

۱- جمعیت مورد مطالعه

جمعیت مورد مطالعه، آنوفل استفسنی جمع‌آوری شده از شهرستان کازرون و پرورش یافته در اتاق پرورش^۲ انسکتاریوم گروه حشره‌شناسی پزشکی دانشگاه تربیت مدرس بود. آزمایش‌ها روی ۳۱۶۸ لارو از لاروهای آنوفل استفسنی انجام شد که در دو گروه تست (۲۳۷۶ لارو) و شاهد (۷۹۲ لارو) با حجم محیط آبی برابر و اندازه‌گیری شده به روش تصادفی ساده^۳ استقرار یافته بودند. این مطالعه از اردیبهشت ۱۳۸۱ آغاز و تا اسفند همان سال به طول انجامید.

۲- شرایط آزمایشگاه

برای انجام آزمایش‌های این تحقیق، شرایط محیطی باید کاملاً ثابت باشد تا این عوامل نتوانند به عنوان عوامل مخدوشگر در آزمایشات وارد شده و نتایج را تغییر دهند. لذا شرایط اتاق پرورش در دمای ۲۷±۲ درجه سانتیگراد (به‌وسیله بخاری برقی و دماسنج دیجیتالی)، رطوبت نسبی ۸۰±۵ (به‌وسیله دستگاه بخار و رطوبت‌سنج دیجیتالی) درصد و پریود نوری ۱۲L:۱۲D (به‌وسیله لامپ مجهز به دستگاه تنظیم ساعات روشنی و خاموشی) ثابت گردید.

۳- کمیت‌های غذایی مختلف

در این تحقیق از پودر شیر تجاری جهت تغذیه لاروها استفاده شد (شکل ۱).

^۱ - Commercial milk powder

^۲ - Rearing room

^۳ - Simple random sampling

۴- شاخص‌های بیولوژیکی

۴-۱- مرگ‌ومیر لاروی

برای به دست آوردن اثر کمیت‌های غذایی مختلف روی مرگ‌ومیر لاروی، درصد مرگ‌ومیر لاروی از طریق فرمول زیر محاسبه شد (۷-۱۰).

$$\text{تعداد لاروهای مرده سنین مختلف در هر ظرف} \times 100 = \text{درصد مرگ‌ومیر لاروی} \\ \text{تعداد لاروهای اولیه هر ظرف}$$

۴-۲- سرعت رشد لاروی

برای بررسی اثر کمیت‌های غذایی مختلف روی سرعت رشد لاروی از شاخص زمان رشد لاروی (P50) که رابطه معکوسی با سرعت رشد لاروی دارد، استفاده شد. یعنی مدت زمانی که طول می‌کشد تا ۵۰٪ لاروهای سن یک^۱ اولیه که در ظروف قرار گرفته‌اند به شفیره تبدیل شوند به عنوان زمان رشد لاروی (P50) برای هر ظرف، جداگانه محاسبه گردید و با دستیابی به زمان رشد لاروی (P50) توانستیم سرعت‌های رشد لاروی را با هم مقایسه کنیم (۷ و ۹ و ۱۱).

$$\alpha = \frac{\text{سرعت رشد لاروی}}{\text{زمان رشد لاروی (P50)}}$$

۴-۳- نسبت جنسی

برای بررسی اثر کمیت‌های غذایی مختلف روی نسبت جنسی بالغین، از فرمول زیر استفاده گردید (۸ و ۱۲).

$$\text{نسبت جنسی} = \frac{\text{تعداد بالغین نر هر ظرف} \times 100}{\text{تعداد کل بالغین در هر ظرف}}$$

۴-۴- اندازه بدن بالغین

برای بررسی اثر کمیت‌های غذایی مختلف روی اندازه بدن بالغین، میانگین طول بال حشره بالغ^۲ (از شکاف محوری^۳ تا انتهای بال به استثنای حاشیه بال) به عنوان شاخصی برای اندازه بدن در نظر گرفته شد و شاخص طول بال برای نرها و ماده‌ها به صورت جداگانه توسط بینوکولر با عدسی مدرج اندازه‌گیری شد (۸ و ۹ و ۱۱ و ۱۳).

۴-۵- سایر شاخص‌های بیولوژیکی اندازه‌گیری شده

علاوه بر شاخص‌های بیولوژیکی یاد شده شاخص‌های دیگری همچون مرگ‌ومیر شفیره (۹ و ۱۰)، مرگ‌ومیر کل (۹) و نرخ بقا (۷) نیز طبق فرمول‌های زیر محاسبه گردید:

$$\text{تعداد شفیره‌های مرده} \times 100 = \text{درصد مرگ‌ومیر شفیره} \\ \text{تعداد شفیره‌های زنده اولیه}$$

$$\text{تعداد لارو مرده} + \text{تعداد شفیره مرده} \times 100 = \text{درصد مرگ‌ومیر کل} \\ \text{مجموع تعداد لاروهای سن یک اولیه}$$

$$\text{مجموع تعداد بالغین آمده} \times 100 = \text{نرخ بقا} \\ \text{مجموع تعداد لاروهای سن یک اولیه}$$

۵- روش انجام آزمایش‌ها

جهت انجام آزمایش‌ها از لیوان‌های یک بار مصرف حاوی آب دکلره شهری استفاده شد و لاروهای سن یک تازه تفریخ شده (۴ ساعت پس از تفریخ) به این لیوان‌ها منتقل شدند. با قرار دادن ۳، ۱۵، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ لارو سن یک در هر لیوان به ترتیب تراکم‌های ۰/۱، ۰/۵، ۱، ۲ و ۳ لارو در هر سانتیمتر مربع از سطح آب ایجاد گردید. بدین ترتیب ۵ تراکم لاروی مختلف ایجاد گردید و برای هر تراکم ۴ تکرار در نظر گرفته شد.

به منظور تغذیه لاروها، ابتدا رژیم غذایی پایه (x) در تمام لیوان‌ها اعمال شد. کار تغذیه یک روز در میان ادامه یافت تا تمام لاروها تبدیل به شفیره شدند یا مردند. میزان مرگ‌ومیر لاروی در هر لیوان، یک روز در میان بررسی و یادداشت می‌شد. هر روز شفیره‌های ایجاد شده، همچنین مدت زمانی که طول می‌کشید تا شفیره مورد نظر ایجاد شود یادداشت می‌گردید. برای تغذیه لاروها با هر یک از کمیت‌های غذایی (۲x)، (۴x) و (۶x) نیز ۲۰ لیوان دیگر به روش مشابه آماده شد. شفیره‌های جمع‌آوری شده از ۴ تکرار مربوط به هر تراکم لاروی که رژیم غذایی (x) روی آنها اعمال شده بود مجموعاً در یک لیوان یک بار مصرف قرار گرفتند و داخل یک قفس گذاشته شدند تا تفریخ در آنها صورت پذیرد. برای کمیت‌های غذایی (۲x)، (۴x) و (۶x) نیز همین عمل انجام شد. بنابراین در پایان کار ۲۰ قفس داشتیم که در داخل هر قفس یک لیوان محتوی شفیره قرار داشت.

پس از تفریخ شفیره‌ها با استفاده از پارچه آغشته به کلروفورم که برای چند ثانیه روی قفس‌ها انداخته می‌شد، پشه‌های بالغ را بی‌هوش کرده و پس از خارج کردن آنها از قفس، ابتدا تشخیص‌نر و ماده بودن آنها با استفاده از بینوکولر انجام می‌پذیرفت و سپس با جدا کردن بال از بدن پشه‌ها، طول بال با استفاده از بینوکولر با عدسی چشمی مدرج اندازه‌گیری می‌شد. کلیه اطلاعات به دست آمده در بالا نیز یادداشت گردید.

۶- آنالیز داده‌ها

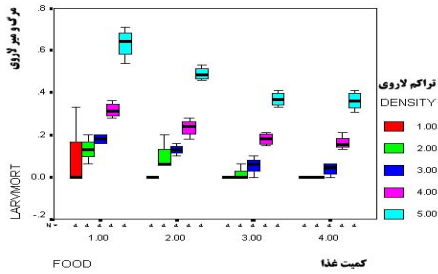
این مطالعه از نوع مطالعات تجربی و آینده‌نگر^۴ است که در آن مشاهده فردی ملاک می‌باشد. اطلاعات جمع‌آوری شده با استفاده

1 - First instar

2 - Wing - length

3 - Axillary incision

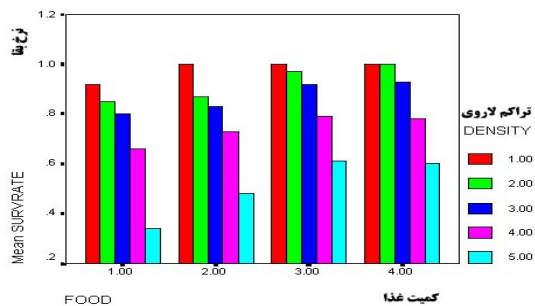
4 - Cohort



نمودار ۱- اثر کمیت‌های غذایی مختلف و تراکم‌های لاروی متفاوت بر مرگ‌ومیر لاروی

در مورد مرگ‌ومیر شفیره، مرگ‌ومیر شفیره‌هایی که لاروهایشان در کمیت‌های غذایی مختلف قرار داشته‌اند نیز معنی‌دار شده است؛ یعنی کمیت‌های غذایی مختلف اثر معنی‌داری روی مرگ‌ومیر شفیره‌ها داشته‌اند (از مرگ‌ومیر شفیره ۶٪ در کمترین کمیت غذایی و بیشترین تراکم لاروی به صفر در بیشترین کمیت غذایی و کمترین تراکم لاروی).

اثر کمیت‌های غذایی مختلف روی مرگ‌ومیر کل نیز معنی‌دار شده است (از مرگ‌ومیر کل ۶۳٪ در کمترین کمیت غذایی و بیشترین تراکم لاروی به صفر در بیشترین کمیت غذایی و کمترین تراکم لاروی). این امر بدیهی به نظر می‌رسد زیرا اثر این تیمارها روی مرگ‌ومیر لاروی و مرگ‌ومیر شفیره به صورت جداگانه معنی‌دار بود. بنابر مطالب ذکر شده با افزایش کمیت غذایی، مجموع مرگ‌ومیر لاروها و شفیره‌ها (مرگ‌ومیر کل) کاهش معنی‌دار خواهد داشت در نتیجه پشه بالغ بیشتری ایجاد خواهد شد که این موضوع با بررسی نتایج نرخ بقا اثبات می‌گردد. چنانچه در قسمت نتایج نشان داده شده اثر تیمارها روی نرخ بقا نیز معنی‌دار شده است یعنی با افزایش میزان کمیت غذا، نرخ بقا نیز افزایش معنی‌دار می‌یابد (از نرخ بقا ۳۴٪ در کمترین کمیت غذایی و بیشترین تراکم لاروی به ۱۰۰٪ در بیشترین کمیت غذایی و کمترین تراکم لاروی) (نمودار ۲).



نمودار ۲- اثر کمیت‌های غذایی مختلف و تراکم‌های لاروی متفاوت بر نرخ بقا

از نرم افزار SPSS^۱ مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. نتایج از طریق آنالیز واریانس یک طرفه^۲ بدست آمد و در مواردی که آزمون معنی‌دار بود، معنی‌دار بودن بین اجزای آزمون از طریق آزمون LSD بررسی گردید (۱۴).

یافته‌ها

نتایج مربوط به اثر کمیت‌های غذایی مختلف (۴ کمیت غذایی) روی ۷ شاخص بیولوژیکی با توجه به فرمول‌هایی که ذکر شد محاسبه گردید که خلاصه آن در جدول ۱ ارائه شده است:

جدول ۱- نتایج اثر کمیت‌های غذایی بر روی شاخص‌های بیولوژیکی

شاخص بیولوژیکی	P-Value df=۳
مرگ‌ومیر لاروی	۰/۰۰۰**
سرعت رشد لاروی	۰/۰۰۰**
مرگ‌ومیر شفیره	۰/۰۰۰**
مرگ‌ومیر کل	۰/۰۰۰**
نرخ بقا	۰/۰۰۰**
نسبت جنسی	۰/۰۰۰**
اندازه بدن بالغین نر	۰/۹۳۸
اندازه بدن بالغین ماده	۰/۲۰۲

* درجه آزادی ** معنی‌دار در سطح ۰/۰۵

با توجه به نتایج، اثر کمیت‌های غذایی مختلف روی شاخص بیولوژیکی اول یعنی مرگ‌ومیر لاروی معنی‌دار است همچنین بین تمامی کمیت‌های غذایی مختلف در تراکم‌های لاروی گوناگون اختلاف معنی‌دار وجود دارد. بنابراین، می‌توان چنین بیان داشت که اولاً مرگ‌ومیر لاروی بین چهار کمیت غذایی مختلف اختلاف معنی‌داری دارد؛ ثانیاً بین ۳ رژیم غذایی با شاهد (رژیم غذایی پایه x) اختلاف معنی‌دار است؛ ثالثاً با افزایش کمیت غذایی از x تا ۶x مرگ‌ومیر لاروی به صورت معنی‌دار کمتر شده است (از مرگ‌ومیر لاروی ۶۳٪ در کمترین کمیت غذایی و بیشترین تراکم لاروی به صفر در بیشترین کمیت غذایی و کمترین تراکم لاروی) (نمودار ۱).

^۱ - SPSS (Version 9.0, 1998)

^۲ -One-way ANOVA

۱- استفاده از پودر شیر جهت تغذیه لاروی در صورتی که به میزان مناسب استفاده شود شاخص‌های بیولوژیکی را در جهت دستیابی به وفور و پویایی بالای لاروی سوق خواهد داد و بدین ترتیب نتایج قابل قبولی را در پرورش لارو پشه آنوفل خواهیم داشت. میزان مصرف بهینه پودر شیر چنانچه بعداً توضیح داده خواهد شد، کمیت غذایی ۶x و حتی ۴x می‌باشد.

۲- تهیه پودر شیر آسان است به نحوی که در اکثر سوپرمارکت‌ها به فروش می‌رسد.

۳- محتویات غذایی آن مشخص و روی برچسب قوطی درج شده است.

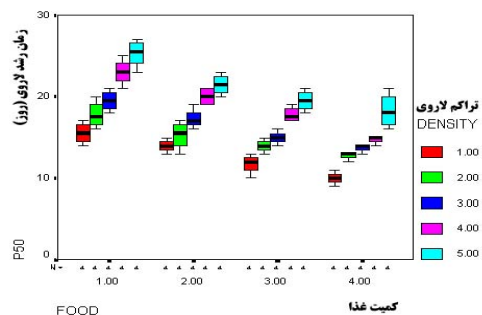
۴- میزان مصرف بهینه آن به صورت یک برنامه غذایی که در زیر آمده، ارایه می‌گردد. با تغذیه از روی این برنامه پیشنهادی می‌توان شرایط بهینه و یکسانی را برای لاروها در آزمایش‌های مختلفی که ممکن است با لارو آنوفل استنسی انجام شود (اعم از آزمایش‌های تست سم و بیواسی^۱ و ...) فراهم کرد تا بتوانیم با انجام یک تغذیه استاندارد از اینکه تغذیه لاروی به عنوان یک عامل مخدوشگر در آزمایش‌ها تأثیر بگذارد جلوگیری نماییم. برنامه غذایی زیر جهت تغذیه لاروهای آنوفل استنسی در محیط آزمایشگاه توصیه می‌گردد:

روز ۲ پس از تفریخ ← ۰/۳ میلی‌گرم پودر شیر به ازای هر لارو
 روز ۴ پس از تفریخ ← ۰/۶ میلی‌گرم پودر شیر به ازای هر لارو
 روز ۶ پس از تفریخ ← ۰/۹ میلی‌گرم پودر شیر به ازای هر لارو
 روز ۸، روز ۱۰ و ... ← ۰/۷۵ میلی‌گرم پودر شیر به ازای هر لارو
 ۰/۷۵ میلی‌گرم پودر شیر ادامه می‌یابد تا اینکه تمامی لاروها تبدیل به شفیره شوند یا حذف شوند.

۵- تغذیه با پودر شیر احتیاج به چربی‌گیری از سطح آب ندارد؛ فقط تعویض آب در صورت تغییر رنگ آن توصیه می‌شود. البته در این مقاله مقایسه‌ای بین پودر شیر با سایر مواد غذایی از نظر تأثیر آنها بر شاخص‌های بیولوژیکی صورت نگرفته که این مسأله مستلزم تحقیقات بیشتر است.

اثر کمیت‌های غذایی مختلف بر شاخص‌های بیولوژیکی با توجه به نتایج بدست آمده (نمودار ۱) به نظر می‌رسد علت اینکه با کاهش کمیت غذا، مرگ‌ومیر لارو، شفیره و کل افزایش یافته و در نتیجه نرخ بقا کاهش یافته است این موضوع باشد که به صورت طبیعی با کاهش میزان غذا، اختلالات

نتایج نشان می‌دهد اثر غذا روی سرعت رشد لاروی معنی‌دار شده است. همان‌طور که ذکر شد جهت بررسی سرعت رشد لاروی از شاخص P50 استفاده شده است. بنابراین می‌توان چنین بیان داشت که اولاً P50 بین چهار کمیت غذایی مختلف اختلاف معنی‌دار دارد؛ ثانیاً بین ۳ رژیم غذایی با شاهد (رژیم غذایی پایه x) اختلاف معنی‌دار است؛ ثالثاً با افزایش کمیت غذایی از x تا ۶x زمان رشد لاروی به صورت معنی‌داری کم شده و به عبارت دیگر سرعت رشد لاروی افزایش یافته است (از ۲۵ روز در کمترین کمیت غذایی و بیشترین تراکم لاروی به ۱۰ روز در بیشترین کمیت غذایی و کمترین تراکم لاروی) (نمودار ۳).



نمودار ۳- اثر کمیت‌های غذایی مختلف و تراکم‌های لاروی متفاوت بر زمان رشد لاروی

در این تحقیق اثر کمیت‌های غذایی مختلف روی نسبت جنسی بالغین معنی‌دار شده و همچنین بین تمامی کمیت‌های غذایی مختلف اختلاف معنی‌دار وجود داشته است. بنابراین می‌توان چنین بیان داشت که اولاً از نظر نسبت جنسی بین چهار کمیت غذایی مختلف اختلاف معنی‌دار وجود دارد؛ ثانیاً بین ۳ رژیم غذایی با شاهد اختلاف معنی‌دار است؛ ثالثاً با افزایش کمیت غذایی از x تا ۶x نسبت جنسی به صورت معنی‌داری کم شده است (از نسبت جنسی ۵۶٪ در کمترین کمیت غذایی و بیشترین تراکم لاروی به ۵۰٪ در بیشترین کمیت غذایی و کمترین تراکم لاروی) (نمودار ۱).

در مورد اندازه بدن، از شاخص اندازه طول بال استفاده شد. تنها موردی که افزایش کمیت غذا اثر معنی‌داری روی یک شاخص بیولوژیکی نداشت، اندازه بدن بالغین بود.

بحث

چنانچه گذشت در این تحقیق از پودر شیر تجاری جهت تغذیه لاروها استفاده شد. به‌طور کلی به‌کارگیری پودر شیر جهت تغذیه لاروی دارای مزایای زیر می‌باشد:

¹ - Bioassay

۲- امکان دارد شاخصی که برای بررسی اندازه بدن بالغین انتخاب شده (طول بال) مناسب نبوده و می‌بایست از سایر شاخص‌ها مثل اندازه طول قفسه سینه و یا پهنای سر و ... استفاده می‌شد. یعنی ممکن است طول بال در برابر کمبود غذا یا افزایش تراکم لاروی هیچ تغییری را نشان ندهد.

از آنجایی که برای اندازه‌گیری طول بال از بینوکولر با عدسی چشمی مدرج استفاده شده ممکن است نیاز به استفاده از ابزار دقیق‌تری برای اندازه‌گیری وجود داشته باشد تا این اختلافات جزئی معلوم گردد.

بررسی نشان می‌دهد تا به حال تحقیقی در ایران و جهان در مورد مصرف پودر شیر جهت تغذیه لاروی صورت نگرفته و این تحقیق در نوع خود منحصر به فرد است. بنابر آنچه بیان گردید توصیه می‌شود با توجه به مزایای پودر شیر و با توجه به مشخص شدن میزان مصرف بهینه آن در این تحقیق (کمیت غذایی ۶x و حتی ۴x) که باعث افزایش وفور و پویایی پشه آنوفل استغنیسی در محیط آزمایشگاه نسبت به کمیت‌های غذایی کمتر می‌گردند، از این ماده غذایی جهت تغذیه لاروی استفاده شود. مناسب‌تر بودن روش پرورش در این تحقیق، با مقایسه اعداد و ارقام بدست آمده در این مطالعه با روش‌های پرورش دیگر مشخص می‌گردد که این مهم احتیاج به تحقیقات مقایسه‌ای بعدی دارد.

فیزیولوژی لاروها در اثر کمبود انرژی افزایش یافته و مقاومتشان در برابر این محدودیت غذایی کاهش می‌یابد.

در مورد اثر غذا روی سرعت رشد لاروی چنانچه در قسمت نتایج بیان گردید (نمودار ۳) جهت بررسی سرعت رشد لاروی از شاخص P50 استفاده شده که بیانگر زمان رشد لاروی است و با سرعت رشد لاروی رابطه معکوس دارد. با افزایش کمیت غذا، زمان رشد لاروی به صورت معنی‌داری کم شده و به عبارت دیگر سرعت رشد لاروی افزایش یافته است. یعنی وقتی که غذا به اندازه کافی موجود باشد لاروها بهترین شرایط را جهت رشد خواهند داشت و در کوتاه‌ترین زمان به شفیره تبدیل خواهند شد.

در مورد نسبت جنسی نیز با توجه به این که نسبت جنسی، نسبت تعداد نرهای بالغ به تعداد کل بالغین می‌باشد بنابراین با افزایش کمیت غذایی لاروی، تعداد نرهای جمعیت کاهش یافته و به حالت تعادل اولیه (نسبت جنسی ۵۰٪) نزدیک‌تر شده است.

در مورد اندازه بدن بالغین از شاخص اندازه طول بال استفاده شده است. تنها موردی که افزایش کمیت غذا اثر معنی‌داری روی یک شاخص بیولوژیکی نداشته، اندازه بدن بالغین بوده است که علت این امر را می‌توان چنین توجیه کرد:

۱- ممکن است شاخصی که برای بررسی وضعیت کیفیت بالغین انتخاب شده (اندازه بدن) مناسب نبوده است و باید از شاخص‌های دیگری چون وزن بدن استفاده می‌شد.

منابع

- ۱- فقیه مع. مالاریشناسی و ریشه‌کنی مالاریا. تهران: انتشارات دانشگاه تهران. ۱۳۴۸.
- ۲- نوری قنبلانی ق. اکولوژی جمعیت حشرات. اردبیل: انتشارات جهاد دانشگاهی دانشگاه اردبیل. چاپ اول. ۱۳۷۳.
- 3- Thompson EG, Bell LH. Laboratory studies on the biology of *Anopheles stephensi* Liston. Mosq News 1968; 28(4): 639-43.
- 4- Peterson A. Entomology Techniques How to Work with Insect. 10th edition; Edwards Brothers Inc. 1964;245-9.
- 5- Reisen WK, William K. Intraspecific competition in *Anopheles stephensi* Liston. Mosq News 1975; 35(4): 473-82.
- 6- Peters TM. Interspecific competition in *Aedes aegypti* larvae. I. Equipment, techniques and methodology. Mosq News 1969; 29(4): 667-74.
- 7- Moor CG, Whitacre DM. Competition in mosquitoes. 2. Production of *Aedes aegypti* larval growth retardant at various densities and nutrition levels. Ibid 1972; 65: 915-18.
- 8- Suleman M. The effect of intraspecific competition for food and space on the larval development of *Culex quinquefasciatus*. Mosq News 1982;42 (3): 347-56.
- 9- Moor CG, Fisher BR. Competition in mosquitoes. Density and species ratio effects on growth, mortality, fecundity and production of growth retardant. Ibid 1969;62: 1325-31.
- 10- Siddiqui TF, Aslam Y, Reisen WK. The effects of larval density on selected immature and adult attributes in *Culex tritaeniorhynchus*. Trop Med (Nagasaki) 1976; 18: 195-200.
- 11- Wada Y. Effect of larval density on the development of *Aedes aegypti* (L.) and the size of adult. Quaest Ent 1929; I: 223-40.
- 12- Hickey WA. Factors influencing the distortion of sex ratio in *Aedes aegypti*. J Med Ent 1970; 7(6): 727-35.
- 13- Blackmore MS, Lord CC. The relationship between size and fecundity in *Aedes albopictus*. J Vect Ecol 2000; 25(2): 212-17.
- 14- Kinnear PR, Gray CD. SPSS for Windows Made Simple Release 10; 2000.