

معرفی چهار پروتیسست بیمارگر حشرات از ایران

مهران غزوی

استادیار پژوهش، موسسه تحقیقات گیاه پزشکی کشور، بخش تحقیقات حشره شناسی کشاورزی
(تاریخ دریافت: ۹۱/۱/۲۳ - تاریخ تصویب: ۹۲/۳/۷)

چکیده

طی بررسی حاضر نمونه های متعددی از حشرات بیمار و مشکوک به بیماری مورد مطالعات بالینی و میکروسکوپی قرار گرفتند که منجر به جداسازی ۴ گونه پروتیسست گردید که همگی برای اولین بار از ایران معرفی می گردند.
گونه های جدا شده عبارتند از:

۱- *Doclostaeus maroccanus* از روی ملخ مراکشی *Gregarina acridiorum* Leger, 1893
Thunberg, 1815 و ملخ *Calliptamus barbarous* L., 1758 .

۲- *Tribolium confusum* از روی شپشه آرد، *Gregarina confusa* Janovy et al., 2007
Jacquelin du val .

۳- *Adelina tribolii* Bhatia, 1937 از روی سوسک های *T. confusum* Jacquelin du val
و *T. castaneum* Herbst .

۴- *Malamoeba locustae* King & Tylor, 1936 از روی ملخ *Chorthippus brunneus*
Thunberg, 1815 .

واژه های کلیدی: ایران، بیمارگرهای حشرات، پروتیسست ها، جداسازی، شناسایی

مقدمه

در سالیان اخیر به علت توجه روز افزون افکار عمومی به اثرات منفی سموم آلی صناعی و نیاز به جایگزین نمودن روش های مرسوم با روش های نوین کنترل آفات که بر حفظ و حمایت محیط زیست و توسعه پایدار تکیه دارند، استفاده از بیمارگرهای حشرات از اهمیت بیشتری برخوردار شده و به همین جهت تولیدکنندگان آفت کش ها علاقه بیشتری به تولید این محصولات نشان می دهند. بطوریکه در حال حاضر محصولات میکروبی متعددی برپایه قارچها، ویروسها، باکتریها، پروتیسستها و نماتدها تولید شده و با وجودیکه این محصولات بیش از ۱٪ کل فروش حشره کشها را تشکیل نمی دهند، نیاز برنامه های مدیریت انبوهی آفات به عوامل زنده مفید آینده روشنی را برای تولید و استفاده هرچه بیشتر از آن ها را نوید میدهد. پروتیسستها گروهی از بیمارگرها هستند که با دارا بودن گونه های متعدد و میزبان های

متنوع در میان حشرات نقش مهمی در تنظیم جمعیت حشرات دارند (Onstad and Maddox, 1989; Onstad and Carruthers, 1990). مهمترین گونه های بیمارگر حشرات متعلق به شاخه های Amoabozoa (آمیب ها) و Apicomplexa (گرگارین ها و Coccidia) هستند (Tanada and Kaya, 1993). از میان آمیب ها گونه *Malamoeba locustae* (King & Taylor 1936) در ملخ های بالا خانواده Acridoidea ایجاد بیماری نموده و با ایجاد همه گیری در تنظیم جمعیت این گروه از حشرات موثر می باشد. در تحقیقاتی که در آرژانتین روی گونه اخیر انجام گرفت مشخص گردید که *M. locustae* قادر است در جمعیت گونه های مضر ملخ های شاخک کوتاه مستقر شده و آن ها را تا حد مطلوبی کنترل نماید (Lange, 2004).
غیر از *M. locustae* گونه دیگری به نام *M. indica* نیز از هند گزارش شده که ملخ های *Poecilocera picta* را

مورد بررسی نیز جمع آوری و جهت مطالعات بعدی به آزمایشگاه منتقل گردید. حشرات جمع آوری شده در آزمایشگاه درون سالین ۰/۶٪ تشریح و قسمت هایی از بافت های مختلف آن ها شامل بافت چربی، بافت ماهیچه ای، روده میانی، بافت عصبی، همولنف و لوله های مالپیگی در زیر میکروسکوپ فاز کنتراست مطالعه شد. در صورت مشاهده اسپور، سیست یا دیگر مراحل زندگی پروتست ها نمونه مربوطه به عنوان حشره آلوده ثبت و اقدامات بعدی جهت شناسایی عامل بیماری صورت گرفت.

تهیه اسلاید میکروسکوپی

الف- گرگارین ها: پس از خارج نمودن دستگاه گوارش حشره، روده میانی آن از وسط شکافته و محتویات آن روی لام قرار گرفت. و پس از خشک شدن، با متیل الکل مطلق تثبیت و با محلول گیمسا رنگ آمیزی شد (Lacey, 2012). در روش دیگر تثبیت با AFA (Alcohol Formalin Acetic acid) صورت گرفت و نمونه ها با Semicohn carmin رنگ آمیزی شد (Kula & Clopton, 1999). برای مشاهده گامتوسیست ها، فضولات حشرات بیمار در آب مقطر استریل خیسانده شد و گامتوسیست ها با کمک سوزن ظریف و میکروپیت به روی لام منتقل و مطالعه گردید.

ب- کوکسیدی ها: بافت چربی حشرات آلوده خارج و پس از قرار گرفتن روی لام با AFA تثبیت و با Semicohn carmin رنگ آمیزی شد (Kula & Clopton, 1999).

ج- آمیب ها: برای رنگ آمیزی آمیب ابتدا لوله های مالپیگی و بافت چربی حشره از بدن آن خارج و پس از تثبیت با متیل الکل مطلق با گیمسا رنگ آمیزی شد (Lacey, 2012). کلیه اسلاید ها با استفاده از رزین Entellan لامل گذاری شدند. نمونه های رنگ آمیزی شده با میکروسکوپ نوری و نمونه های بدون رنگ آمیزی با میکروسکوپ فاز کنتراست مطالعه شد و عکسبرداری با دوربین نصب شده روی میکروسکوپ انجام پذیرفت. اندازه گیری ها با چشمی مدرج در بزرگنمایی ۵۰۰ انجام شد. شناسایی جنس و گونه ها با کمک کلید ها و منابع معتبر انجام گرفت که در قسمت مربوطه به آن ها اشاره شده است.

آلوده می سازد (Narasimhamurti & Nazeer Ahmad, 1980). گونه های مختلفی از پروتست ها آفات انباری را مورد حمله قرار می دهند که از آن ها می توان گونه های مختلف *Adelina* از کوکسیدی ها را نام برد (Ghosh et al., 2000).

گروه هایی مانند یوگرگارین ها که میزبان خود را نمی کشند قادرند با ایجاد بیماری مزمن تغذیه میزبان خود را کاهش داده و از این طریق از میزان خسارت آفت بکاهند. مورد اخیر در مورد *Leidyana subramanii* و *Pushkala & Muralirangan dhawanii* Pushkala, Johny & Muraliranagan مشاهده شده که باعث کاهش تغذیه ملخ های گونه *Atractomorpha crenulata* می شوند (Johny et al., 2000). گرگارین ها همچنین مدل های آزمایشی مناسبی برای مطالعه رابطه بین انگل و میزبان برای زیست شناسان می باشند (Clopton & Hays, 2006).

در ایران مطالعات منسجم و دامنه داری در مورد پروتست های بیمارگر حشرات صورت نگرفته است. تنها مطالعه چاپ شده در این زمینه توسط Theodorides (1961) انجام گرفته است. در این بررسی وی تعدادی گرگارین از خانواده های Dactylophoridae, Gregarinidae, Stylocephalidae و Actinocephalidae و دو گونه کوکسیدی به نام های *Adelina dimidiata* (از روی صد پایی با نام *Scolopendra camidens*) و *Adelina zonula* (از روی سخت بالپوشی به نام *Blaps* sp.) جدا نمود. تحقیق حاضر به منظور شناسایی پروتست های بیمارگر حشرات ایران و در راستای استفاده از آن ها در کنترل بیولوژیک آفات به مورد اجرا گذاشته شد.

مواد و روش ها

جمع آوری حشرات

از مکان هایی مانند مزارع محصولات مختلف، مراتع و جنگل ها در استان های تهران، مازندران و گلستان بازدید به عمل آمد و با کمک تور حشره گیری، آسپیراتور و دست نمونه های حشرات در مراحل مختلف زندگی جمع آوری شد. حشرات مشکوک به بیماری (دارای علائم تغییر رنگ و رفتار) و مرده در جمعیت حشرات

نتایج و بحث

در این بررسی جنس ها و گونه های زیر جمع آوری و شناسایی گردید:

جنس *Gregarina* Dufour, 1828

اپی مریت (Epimerite) مخروطی، دکمه ای شکل، کروی یا استوانه ای. اتصال تروفوزوئیت ها زود هنگام. ائوسپست ها به شکل بشکه، زورق یا کروی. محل زیست دستگاه گوارش حشرات. تا کنون ۳۱۷ گونه از این جنس معرفی شده است (Clopton, 2002). جنس *Gregarina* متعلق به رده *Conoidasida*، زیر رده *Gregarinasina* راسته *Eugregarinirida* و خانواده *Gregarinidae* می باشد (Adl et al., 2012). این خانواده با مشخصات زیر از دیگر خانواده های راسته *Eugregarinorida* تمیز داده می شود:

اپی مریت ساده، رشد و نمو ابتدایی درون سلولی، اتصال تر و فوزوئیت ها (سی زیگی) به صورت راسی - انتهایی (caudo-frontal) و زود هنگام، هم اندازه نبودن گامونت ها (anisogamy) تا حدی مشخص،

گامتوسپست ها دارای لوله خروج ائوسپست (sporoduct)، ائوسپست ها قرینه و مشخصا کشیده یا استوانه ای (Clopton, 2002).

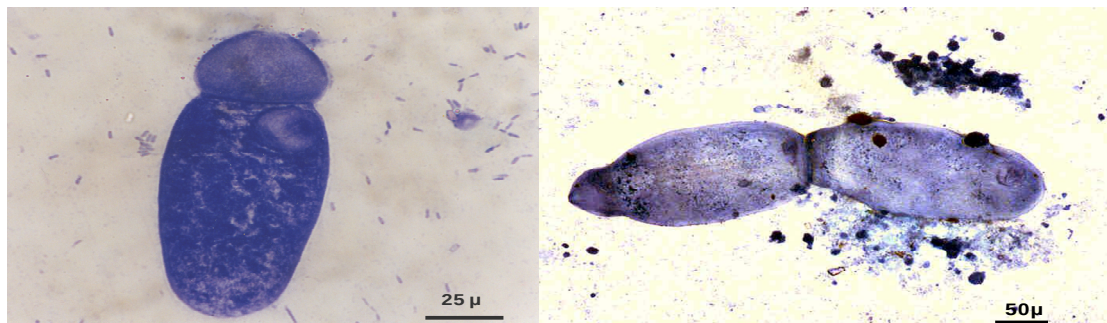
از جنس *Gregarina* دو گونه جمع آوری شد که هر دو برای فون ایران جدید می باشند:

گونه *Gregarina acridiorum*

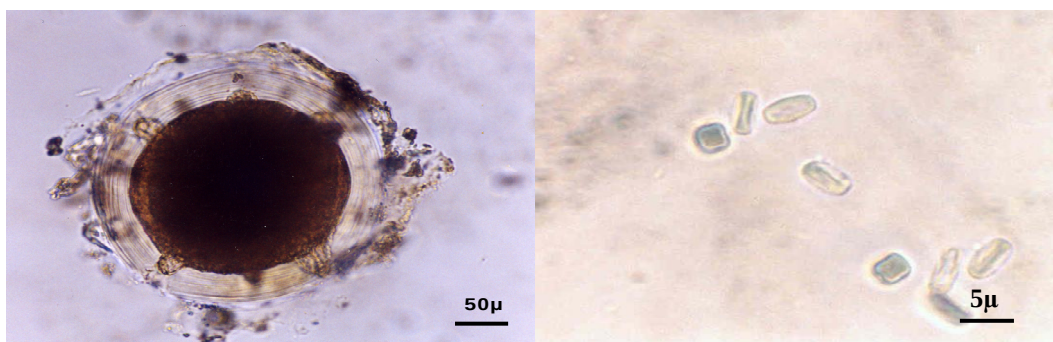
مشخصات

تروفوزوئیت (شکل ۱): پروتومریت تخم مرغی شکل پهن به طول $(50/28 \pm 9/07)$ $38/4 - 64$ میکرومتر، دوتومریت واژ تخم مرغی به طول $(38/75 \pm 152/14)$ $226/4 - 105/6$ میکرومتر، نسبت طول دوتومریت به پروتومریت $(3/05 \pm 0/79)$ $2/18 - 4/96$ ، اپی مریت کروی.

گامتوسپست (شکل ۲): کروی به قطر ۱۰۲-۳۷۲ میکرومتر، دارای تا ۱۰ عدد اسپورودوکت ائوسپست: بشکه ای شکل، دارای برآمدگی استحکام بخش به شکل گرده ماهی به ابعاد $4 \times 7 - 6/5$ میکرومتر.



شکل ۱- تروفوزوئیت *G. acridiorum* (سمت چپ)، گامونت ها در حال سی زیگی (سمت راست)



شکل ۲- گامتوسپست *G. acridiorum* با چندین اسپورودوکت (سمت چپ)، ائوسپست ها (سمت راست)
این گونه از ملخ های *Dociostaurus maroccanus* و *Calliptamus barbarus* جمع آوری شده از شهرستان گنبد کاووس جدا شد.

گونه *G. confusa*

مشخصات

تروفوزوئیت (شکل ۳): اپی مریت به شکل مخروط طویل، پروتومریت تخم مرغی شکل به طول $(18/13 \pm 3/41)$ میکرومتر، دوتومریت تقریباً استوانه ای به طول $13-22$ میکرومتر، نسبت طول $(44/33 \pm 166/2)$ - $216-75$ میکرومتر، نسبت طول دوتومریت به پروتومریت $(9/09 \pm 1/40)$ - $11/9$ - $6/81$. گامونت ها نامساوی (شکل ۴) و پری مایت در برخی موارد دارای اپی مریت (شکل ۶).

گامتوسیست: به هنگام دفع توسط حشره نیمه شفاف تاسفید، تقریباً کروی تا بیضوی، دارای پوششی

شفاف (شکل ۵) به قطر حدود ۱۰ میکرومتر که توده سیتوپلاسمی را احاطه می نمود.

اوسیسیت: بشکه ای شکل (شکل ۷)، با قطر متوسط $4/8$ میکرومتر، اوسیسیت ها هنگام خروج از اسپوروکوت به شکل زنجیر.

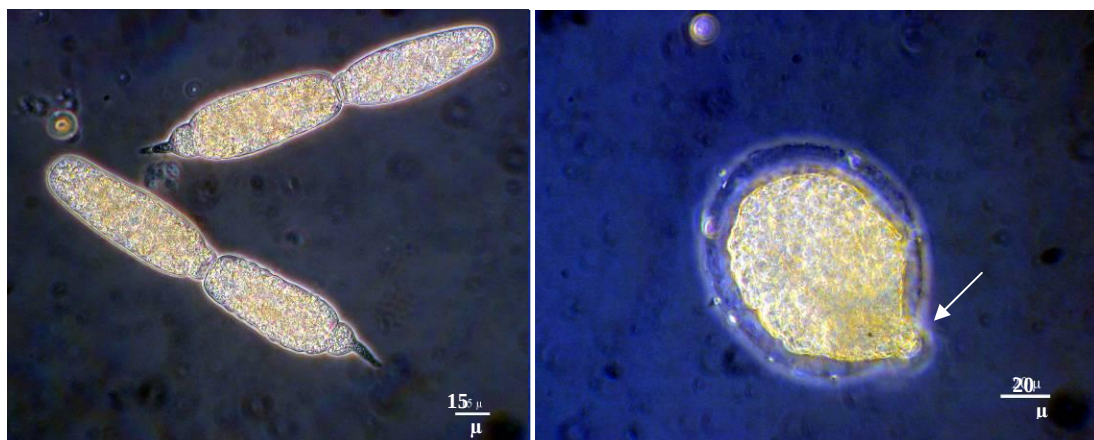
تا کنون ۳ گونه از جنس *Gregarina* در سطح جهان از سوسک های جنس *Tribolium* جدا شده است (Janovy et al., 2007) که گونه معرفی شده از ایران با توجه به مشخصات مورفولوژیک و مورفومتریک بخصوص وجود اپی مریت مخروطی شکل در تروفوزوئیت ها، *G. confusa* می باشد.



شکل ۳- تروفوزوئیت *G. confusa* بدون اپی مریت



شکل ۴- گامونت های *G. confusa* در حال سی زیگی



شکل ۵- گامتوسیت *G. confusa* دارای یک اسپوروذوکت ۶- گامتوت‌های *G. confusa* دارای اپی مریت



شکل ۷- زنجیر ائوسیت های *G. confusa*

ملخ های میزبان شامل، کاهش فعالیت و اشتها به موازات پیشرفت آلودگی، قادر نبودن به حفظ تعادل، ظهور تشنج های کزازي در ماهیچه های پاها و قطعات دهانی و در نهایت مرگ حشره بود.

در بررسی های میکروسکوپی لوله های مالپیگی حشرات بیمار مملو از سیست های بیضی شکل عامل بیماری بود (شکل ۹).

گونه *Adelina tribolii*

این گونه متعلق به شاخه Apicomplexa رده Eucoccidiora، زیر رده Coccidia راسته Eucoccidiora و خانواده Adeleidae می باشد (Adl et al., 2012). خانواده Adeleidae دارای ۹ جنس می باشد. سه جنس *Ithania*، *Adeleia* و *Adelina* در زیر خانواده Ithaniinae

گونه *Malamoeba locustae*

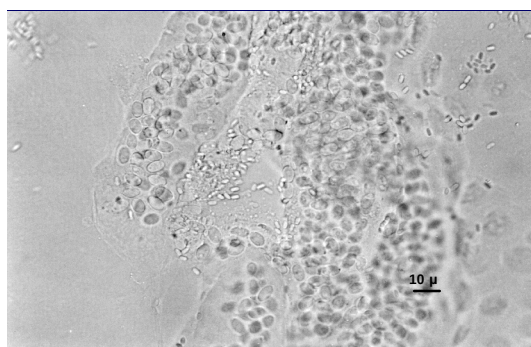
این گونه متعلق به شاخه Amoebozoa بوده ولی در حال حاضر با توجه به اطلاعات موجود قابل طبقه بندی در هیچ گروهی از این شاخه نمی باشد (Adl et al., 2012)

مشخصات

تروفوزوئیت ها کروی به قطر ۷ تا ۱۱ میکرومتر در داخل بافت پوششی لوله های مالپیگی، دارای یک هسته که در هنگام تقسیم دوتایی (binary fission) دو هسته ای دیده می شدند. سیست ها (شکل ۸) بیضوی، به طول $(9/96 \pm 1/60)$ ۷-۱۲ میکرومتر و عرض $(6/43 \pm 0/72)$ ۵-۸ میکرومتر، نسبت طول به عرض سیست ها $1/57 \pm 0/19$ ۲-۱/۲۵. علائم بالینی بیماری آمیبیاز در

طبقه‌بندی می‌شوند (Ludwig, 1947). این سه جنس به دلیل داشتن دو اسپوروزوئیت در هر اسپوروسیست و اتصال ۴ میکروگامت به هر ماکروگامت و نفوذ یک

میکروگامت به داخل ماکروگامت از دیگر جنس‌ها متمایز بوده و در زیر خانواده Ithaniinae جای می‌گیرند.



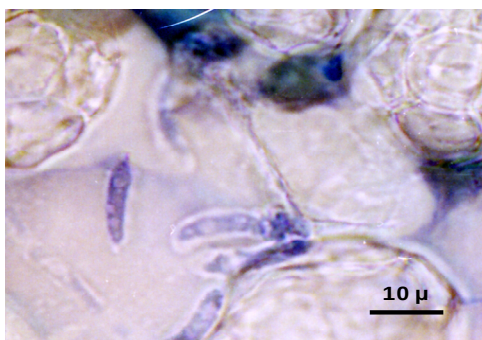
شکل ۸- سیست *M. locustae* رنگ آمیزی شده با گیمسا شکل ۹- لوله‌های مالپیگی ملخ مملو از سیست‌های آمیب

بیضوی به طول $(33/06 \pm 4/46)$ ۲۲-۴۲ میکرومتر و عرض $(27/56 \pm 4/15)$ ۱۸-۳۵ میکرومتر (شکل ۱۱)، اسپوروسیست‌ها کروی به قطر $(10/93 \pm 0/73)$ ۱۰-۱۲ میکرومتر (شکل ۱۲)، تعداد اسپوروسیست در ائوسیست ۱۴-۲ عدد. تاکنون ۴ گونه از جنس *Adelina* از سخت بالپوشان آفت انباری در سراسر جهان جدا شده است (Ghosh et al., 2000). گونه جدا شده در ایران از سوسک *Tribolium confusum* و *T. castaneum* جدا شد و با توجه به مشخصات مرفولوژیک و مورفومتریک *A. tribolii* تشخیص داده شد (جدول ۱).

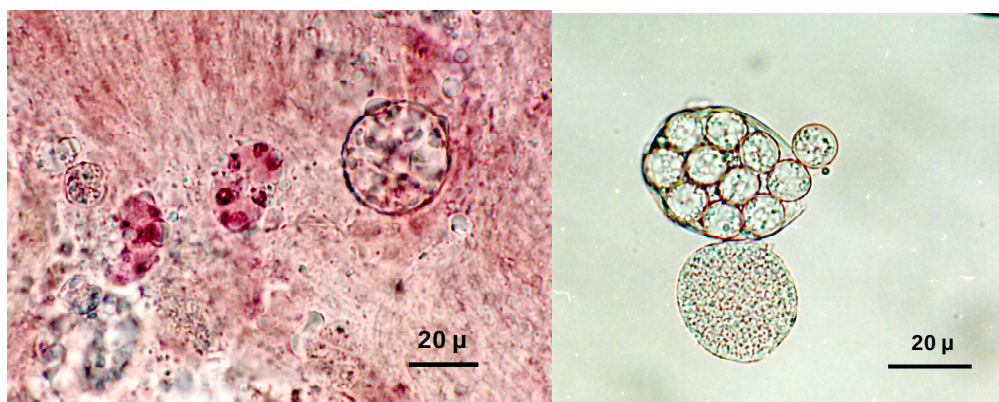
جنس *Adelina* با دارا بودن اسپوروسیست‌های کروی از جنس *Adelea* (در *Adelea* اسپوروسیست‌ها بشقابی شکل است) (Hess, 1911) و از نظر تعداد اسپوروسیست و اسپوروزوئیت از جنس *Ithania* قابل تفکیک است (Lacey, 2012). مشخصات گونه: مرون‌ها بیضوی تا کروی، مروزوئیت‌ها (شکل ۱۰) کوچک و کرمی شکل به طول $(14/28 \pm 1/03)$ ۱۳-۱۵ میکرومتر، ماکروگامتوسیت‌ها بیضوی به قطر ۲۲-۴۶ میکروگامتوسیت کروی تا بیضوی به قطر $(10/8 \pm 3/63)$ ۶/۲-۱۵ میکرومتر (شکل ۱۰)، ائوسیست‌ها کروی تا

جدول ۱- مشخصات گونه‌های مختلف *Adelina* جدا شده از سخت بال‌پوشان آفت انباری

نمونه ایران	<i>A. palori</i>	<i>A. picei</i>	<i>A. castana</i>	<i>A. tribolii</i>	
۱۳-۱۵	۱۲/۵-۱۸	۱۳-۱۵	۸/۵-۱۳	۱۵	طول مروزوئیت
۶/۲-۱۵	۶-۸	۶/۵-۱۰	۸/۵-۱۱/۵	۷/۸-۱۵	قطر میکروگامتوسیت
۲۲-۴۶	۱۵-۳۰	۲۱/۵-۳۱/۵	۱۳-۳۳	۲۰/۸-۴۸/۶	قطر ماکروگامتوسیت
۲۲-۴۲	۱۶/۵-۴۱	۲۸-۳۸	۲۰-۳۳	۲۶-۵۰	طول ائوسیست
۱۸-۳۵	۱۳-۲۳	۲۵-۳۵	۱۵-۳۰	۲۲/۵-۳۶/۵	عرض ائوسیست
۱۰-۱۲	۸	۸-۱۰	۶/۵-۱۰	۱۰/۴	قطر اسپوروسیست
۲-۱۴	۴-۱۲	۸-۱۸	۴-۱۲	۲-۱۴	تعداد اسپوروسیست در هر ائوسیست



شکل ۱۰- مروزوئیت‌های *A. tribolii* (سمت راست)، ماکرو و میکروگامتوسیت در حال سی‌زیگی (سمت چپ)



شکل ۱۱- ائوسیت جوان و رسیده *A. tribolii* (سمت راست)، اسپوروبلاست (سمت چپ)



شکل ۱۲- اسپوروسیت *A. tribolii*

ملخ های *Calliptamus italicus* و *Dociostaurus* تا سال ۱۹۸۸، ۱۳ گونه از جنس *Gregarina* از ملخ های شاخک کوتاه (خانواده Acrididae) جدا سازی و معرفی شده بود (Levine, 1988). بر اساس مطالعات بعدی این تعداد به ۱۰ گونه تقلیل یافت (Lipa et al., 1996, Kula & Clopton, 1999). در سال ۲۰۰۸ Modak و همکاران ۲ گونه دیگر به این لیست اضافه کردند (Modak et al., 2008) که جمع گونه های جدا شده از این گروه از حشرات را به ۱۲ گونه رساند. از مهمترین معیارهایی که برای تفکیک گونه های *Gregarina* بخصوص گونه های جدا شده از ملخ های شاخک کوتاه مورد استفاده قرار می گیرد متفاوت بودن گونه میزبان و منشاء جغرافیایی می باشد (Lipa et al., 1996, Biswas et al., 2004, Lange, 2004) به خصوصیات مورفولوژیک، اندازه های مورفومتریکی، منشاء جغرافیایی و میزبان و همچنین مشخصات ارائه شده توسط Lipa (1996) گونه جدا شده از

بحث

اولین گونه از جنس *Gregarina* که از *Tribolium* جدا شد *G. minuta* نامگذاری گردید (Ishii, 1914). از آن زمان تاکنون دو گونه دیگر از این جنس به نام های *G. tribolium* و *G. confusa* از *Tribolium* spp. جدا شده است (Janovy et al., 2007). Janovy در توصیف خود از گونه *G. confusa* می نویسد که مهمترین مشخصه متمایز کننده این گونه از دیگر گونه هایی که جنس *Tribolium* را پارازیت می کنند وجود اپیمریت مخروطی و طولی در این گونه است. وجود این مشخصه در نمونه های جمع آوری شده از ایران و دیگر خصوصیات ذکر شده در بخش نتایج نشانگر تعلق نمونه ها به گونه *G. confusa* می باشد. Solokova و همکاران اعلام نمودند که کلیه گونه های جنس *Adelina* انگل بی مهرگان به خصوص بند پایان هستند. ۱۴ گونه از ۲۰ گونه شناخته شده *Adelina* انگل حشرات بوده و بقیه

King و Taylor گونه‌ای دیگر از این جنس را از ۳ گونه ملخ از جنس *Melanoplus* جدا نموده و آن را *Malpighiamoeba locustae* نامگذاری نمودند (King & Taylor, 1936). کمی بعد این دو محقق با مقایسه این گونه با گونه جدا شده از زنبور عسل دریافتند که گونه اخیر باید در جنس جدیدی طبقه‌بندی شود و نام جنس جدید را *Malamoeba* گذارند (Taylor & King, 1937). از این جنس گونه دیگری به نام *M. indica* از ملخ‌های شاخک کوتاه هند جداسازی شده است (Narasimhamurti & Nazeer Ahmed, 1980). *M. indica* با داشتن تروفوزوئیت و سیست‌های به طور معنی دار بزرگتر از *M. locustae* متمایز است. با توجه به شکل و اندازه سیست‌ها و تروفوزوئیت‌ها گونه جمع آوری شده از ایران *M. locustae* معرفی می‌گردد.

کنه‌ها، هزارپایان و کرم‌های حلقوی را بیمار می‌سازند (Solokova et al., 1999). Gosh و همکاران با معرفی ۳ گونه جدید این تعداد را به ۱۷ رساندند (Gosh et al., 2000). از این ۱۷ گونه ۴ گونه انگل سخت بالپوشان آفت انباری هستند که با توجه به جدول شماره ۱ و دیگر خصوصیات ذکر شده در متن گونه جدا شده از *T. confusum* و *T. castaneum* در ایران *A. tribolii* می‌باشد. تاکنون ۶ گونه آمیب که در حشرات ایجاد بیماری می‌کنند معرفی شده است (Vega & Kaya, 2012). این ۶ گونه متعلق به جنس‌های *Malamoeba*، *Malpighiella* و *Vahlkampfia* هستند (Vega & Kaya, 2012). Prell (1926) جنس *Malpighiamoeba* را برای نامگذاری گونه‌ای که از لوله‌های مالپیگی زنبور عسل جدا کرده بود معرفی کرد.

REFERENCES

- Adl, S. M., Simpson, A. G. B., Lane, C. E., Lukeš, J., Bass, D., Bowser, S. S., Brown, M. W., Burki, F., Dunthorn, M., Hampl, V., Heiss, A., Hoppenrath, M., Lara, E., le Gall, L., Lynn, D. H., McManus, H., Mitchell, E. A. D., Mozley-Stanridge, S. E., Parfrey, L. W., Pawlowski, J., Rueckert, S., Shadwick, L., Schoch, C. L., Smirnov, A. & Spiegel, F. W. (2012). The revised classification of Eukaryotes. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 59, 429–514.
- Biswas S., Chatterjee M., Haldar D. P. (2004). *New species of Odonaticola Sarkar et Haldar, 1981 (Apicomplexa: Conoidasida) from Dragon flies (Insecta : Odonata) in West Bengal, India. Acta Protozoologica*, 43, 183–191.
- Clopton, R. E. (2002). Phylum Apicomplexa Levine, 1970: Order Eugregarinorida Léger, 1900. In J. J. Lee, G. Leedale, D. Patterson, and P. C. Bradbury, (Ed.) *Illustrated Guide to the Protozoa*. (pp. 205–288), 2nd edition., Society of Protozoologists, Lawrence, Kansas.
- Clopton, R. E. (2004). Standard nomenclature and metrics of plane shapes for use in Gregarine taxonomy. *Comparative Parasitology*, 71(2), 130–140.
- Clopton, R. E. & Hays, J. J. (2006). Revision of the genus *Protomagalhaensia* and description of *Protomagalhaensia wolfi* n. comb. (Apicomplexa: Eugregarinida: Hirmocystidae) and *Leidyana haasi* n. comb. (Apicomplexa: Eugregarinida: Leidyaniidae) parasitizing the lobster cockroach, *Nauphoeta cinerea* (Dictyoptera: Blaberidae). *Comparative Parasitology*, 73(2), 137–156.
- Ghosh, C., Choudhury A. & Misra, K. K. (2000). Life Histories of three new Coccidian parasites from three Coleopteran stored-grain pests of India. *Acta Protozoologica*, 39, 233 – 240
- Hesse E. (1911). Sur le genre *Adelea* á propos d'une nouvelle coccidie des oligochètes. *Archives de Zoologie Experimentale et Generale*, 47, 15–20
- Ishii, S. (1914). On four polycystid gregarines from the intestine of *Tribolium ferrugineum* F. *Annotiones Zoologicae Japonenses*, 8, 435–441.
- Janovy, Jr., Detwiler, J., Schwank, S., Bolek, M. G., Knipes, A. K., & Langford, G. J. (2007) New and emended descriptions of gregarines from flour beetles (*Tribolium* spp. and *Palorus subdepressus* Coleoptera, Tenebrionidae). *Journal of Parasitology*, 93(5), 1155–1170
- Johny, S., Muralirangan M.C. & Sanjayan K.P. (2000). Parasitization potential of two cephaline gregarines, *Leidyana subramanii* Pushkala and Muralirangan and *Retractocephalus dhawanii* sp. n. on the tobacco grasshopper, *Atractomorpha crenulata* (Fab.). *Journal of Orthoptera Research*, 9, 67–70
- King, R. L., & Taylor, A. B. (1936). *Malpighiamoeba locustae*, n. sp. (Amoebidae), a protozoan parasitic in the malpighian tubes of grasshoppers. *Transactions of the American Microscopical Society*, 55, 6–10.

12. Kula, R.R., Clopton, R.E. (1999). *Amoebogregarina nigra* n. gen., n. comb. (Apicomplexa: Gregarinidae) from adult *Melanoplus differentialis* (Orthoptera: Acrididae) in southeastern Nebraska. *Journal of Parasitology*, 85, 321–325.
13. Lange, C. E. & Wittenstein, E. (2002). The life cycle of *Gregarina ronderosi* n. sp. (Apicomplexa: Gregarinidae) in the Argentine grasshopper *Dichroplus elongatus* (Orthoptera: Acrididae). *Journal of Invertebrate Pathology*, 79 : 27–36
14. Lange, C. E. (2004). Debilitative amoebiasis of orthopterans and its potential for the biological control of acridians (Orthoptera: Acridoidea) in Argentina. *Revista de Investigaciones Agropecuarias*, 31(3), 25-8
15. Lacey, L. A. (2012). *Manual of Techniques in Invertebrate Pathology*. Academic Press. Great Britain
16. Lipa, J.J., Hernandez-Crespo, P. & Santiago-Alvarez, C. (1996) Gregarines (Eugregarinorida: Apicomplexa) in natural populations of *Dociostaurus maroccanus*, *Calliptamus italicus* and other Orthoptera. *Acta Protozoologica*, 35, 49–59.
17. Ludwig F.W. (1947). Studies on the protozoan fauna of the larvae of the crane-fly, *Tipula abdominalis*; the life history of *Ithania wenrichi* n. gen., n. sp., a coccidian, found in the caeca and mid-gut, and a diagnosis of *Ithaniinae*, n. subfamily. *Transactions of the American Microscopical Society*, 66(1), 22-33
18. Modak, B., Basu, S. & Haldar, D. (2008). Two new species of *Gregarina* Dufour, 1828 (Apicomplexa: Conoidasida) from Orthopteran insects of West Bengal, India. *Acta Protozoologica*, 47, 269–278
19. Narasimhamurti, C. C. and Nazeer Ahmad, S. (1980). *Malamoeba indica* n.sp. from the malpighian tubules of *Poecilocera picta*. *Proceeding of the Indian Academy of Science (Animal Sciences)*, 82 (2) , 141-145
20. Onstad D. W., & Maddox, J. V. (1989). Modeling the effects of the Microsporidium, *Nosema pyrausta*, on the population dynamics of the insect, *Ostrinia nubilalis*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 53, 410-421.
21. Onstad D. W., & Carruthers, R. I. (1990). Epizootiological models of insect diseases. *Annual Review of Entomology*, 35, 399-419
22. Sokolova, Y. Y., Butaeva, F. G. & Dolgikh, V. V. (1999). Light and electron microscopic observations on life cycle stages of *Adelina grylli* Butaeva 1996 (Sporozoa, Adeleidae) from the fat body of the cricket *Gryllus bimaculatus*. *Protistology*, 1, 34-42
23. Tanada, Y. and Kaya, H. K. (1993). *Insect Pathology*. Academic Press, London. pp. 666.
24. Taylor, A. B. & King R. L. (1937). Further observation on the parasitic amoeba found in grasshoppers. *Transactions of the American Microscopical Society*, 56, 172-176.
25. Theodorides, J. (1961). Sporozoaires (Gregarines et Coccidies) parasites d'Arthropodes d'Iran. *Annales de Parasitologie Humaines et Comparée*. T. XXXVI, N. 1&2: 1-38
26. Vega, F. E. and Kaya, H. (2012). *Insect pathology*. Academic Press, London, UK.
27. Watwood, S., Janovy, J., Peterson E. and Addison M. A. (1997). *Gregarina triboliorum* (Eugregarinida: Gregarinidae) n. sp. from *Tribolium confusum* & resolution of the confused taxonomic history of *Gregarina minuta* Ishii, 1914. *Journal of Parasitology*, 83(3), 502-507.