*اختبار كفاءة فطر *Peincillium marneffei Segretain* في مكافحة الاطوار اليرقية لبعوضة *Culex quinquefasciatus Say* (Diptera:Culicidae)

عامرة عبد الهادي الغانمي

كلية العلوم

جامعة القادسية

amerahganmy24@gmail.com

محمد رضا عنون الحسناوي

كلية العلوم

جامعة القادسية

Balhasnawy@yahoo.com

الخلاصة:

استهدف البحث الحالي اختبار كفاءة فطر *Peicillium marneffei* في مكافحة الاطوار اليرقية للبعوضة *Cx. quinquefasciatus*, اثرت تراكيز المعلق الفطري ونواتج الايض الثانوية في يرقات هذا النوع من البعوض. حيث سجلت اعلى نسبة هلاك الطور اليرقي الاول 77.70 % عند المعاملة بتركيز $2x10^4$ بوغ/مل من المعلق الفطري للفطر بعد 120 ساعة , في حين كانت اوطأ نسبة هلاك59.5% عند تركيز 2×10^2 في المدة ذاتها , اما بخصوص تاثير تراكيز نواتج الايض الثانوي للفطر *P. marneffei* فقد بلغت اعلى نسبة هلاك 78.93% عند معاملة يرقات الطور الاول بتركيز 100 % بعد 72 ساعة من المعاملة اما اوطا نسبة هلاك فبلغت 55.77% عند تركيز 25 %وفي المدة ذاتها .

الكلمات المفتاحية:*Peincillium marneffei, Wuchereria bancrofti , Culex quinquefasciatus Say*, Bioassay

---

* البحث مستل من رسالة ماجستير للباحث الأول

المقدمة :

تخصصت انواعا من جنس بعوض *Culex* بكونها ناقلا كفواءا لبعض الممرضات(11) ,فمثلا عد النوع *Cx. quinquefasciatus*ناقلا رئيسا لفايروس سانت لويس (13) فضلا عن ديدان الفيلاريا *Wuchereria bancrofti* التي تهدر حياة مئات الملايين في 73 بلدا حول العالم (37). ولما كانت السيطرة على النواقل اسهل من السيطرة على المسبب الممرض نفسه(29). ,فقد اهتم الباحثون بمكافحة البعوض الناقل ولعل المكافحة الكيمائية كانت ولا زالت الاكثر فعالية في القضاء عليه لكن

الاضرار الناجمة عنها لم تكن بالشيء القليل فقد ادى استعمالها الى ظهور المقاومة في النواقل وتلوث البيئة والسمية العالية للمركبات الكيميائية للإنسان والحيوان والكلفة العالية لها وحدوث ظاهرة التضخيم الحيوي Biological amplification (18)، دعا ذلك للبحث عن بدائل منها المكافحة الجرثومية ضمن طرائق المكافحة الحيوية وعدت الفطريات الممرضة للحشرات من بين عواملها المهمة ولعدة اسباب منها سهولة اطلاقها في الطبيعة وتطبيق تقنيات الهندسة الوراثية عليها(19). يعد الفطر *P. marneffei* من الفطريات المرافقة للحشرات يعود الى شعبة الفطريات الكيسية Ascomycota ثنائية الشكل Dimorphism(15) حيث يمتك العديد من الانزيمات المهمة التي تعتبر عوامل ضراوة وهي(Catalase Peroxidase , Histidine Kinase, Glyceral , Superoxide dismutase (SD) dehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH), صبغة Isocitrate Lyase, الميلانين Melanin) وليس معروفا ان الفطر المذكور يفرز سموما او لا (17) ,لم يذكر استعمال هذا الفطر سابقا في مكافحة بعوض *Cx. quinquefasciatus* ولكون هذا النوع من البعوض الناقل الرئيسي لداء الفيلاريا في انحاء مختلفة من العالم فقد استهدف البحث عزل الفطر من يرقات البعوض المصابة حيث لم يسبق عزله من يرقات البعوض في العراق واستعماله في مكافحة هذا النوع من البعوض في المختبر باستعمال تراكيز مختلفة من المعلق الفطري ونواتج الايض الثانوي الخام في الاطوار اليرقية لبعوضة *Cx. quinquefasciatus* .

2.المواد وطرائق العمل :

2-1:عزلة الفطر *P. marneffei*:

تم عزل الفطر *P. marneffei* من يرقات البعوض المصابة التي جمعت من بركة خلال شهر تشرين الاول2014 ولغاية شهر مايس 2015,ونقلت اليرقات بواسطة ملقط معقم بعد تعقيمها وزرعت على الوسط الزرعي المذكور بالفقرة (2-3)وحضنت لمدة 5-7 ايام , وتم تشخيصه بالاستعانة بالاستاذ الدكتور توفيق محمد محسن /كلية التربية /جامعة البصرة

2-2 :اعداد المزرعة الدائمية لبعوضة *Cx. quinquefasciatus*:

جمعت مختلف الادوار غير البالغة (اليرقات والعذارى) لبعوضة *Cx. quinquefasciatus* من احد اماكن تصريف المياه والبرك والمستنقعات والمبازل وحقول الرز من مدينة الديوانية خلال شهر تشرين الاول لعام 2014 واتبعت طريقة (5) في تربية البعوض وتم تشخيصها حسب الصفات التصنيفية الواردة في المفاتيح التصنيفية(8, 9,2) وذلك بواسطة اعداد شرائح للبالغات وتم تأكيد التشخيص من قبل الاستاذ المساعد الدكتورة غيداء عباس / كلية

الطب البيطري / جامعة القادسية على أنها *Cx.quinquefasciatus*ولغرض تهيأة الاعداد الكافية من كل طور يرقي والعذارى والبالغات فقد عزلت أعداد كافية من البيوض للحصول على الطور اليرقي الاول أما الطور الثاني والثالث والرابع فقد هيأ كل منها للتجربة وذلك بعزل أعداد كافية من يرقات الطور الذي سبقه و تم ضعها في انابيب التربية فرادى ومراقبتها لحين الانسلاخ ووصولها الطور المطلوب.

2-3 : الاوساط الزرعية للفطر *P. marneffei*

استعمل وسط أكار السابروید المدعم بخلاصة الخميرة Sabouraud dextrose agar supplemented with yeast extract (SDAY) واستعملت طريقة (12)في تحضير الاوساط الزرعية . كما استعمل وسط Sabouraud dextrose broth supplemented with yeast extract (SDBY) لغرض إكثار الفطر والمكون من مكونات وسط Sabouraud dextrose agar supplemented with yeast extract (SDAY)ولكن بدون إضافة الاكار .

2-4 :حفظ عزلة الفطر *P. marneffei* :

اتبعت طريقة (9) في حفظ عزلة الفطر اذ نميت العزلات على وسط SDA الصلب بسطح مائل Slant وحضنت بدرجة حرارة 28±1 مْ لمدة أسبوع ثم حفظت في الثلاجة لاستعمالها في التجارب اللاحقة . وقد تم تجديد المزروع كل ثلاثة أشهر.

2-5 :تحضير المعلق الفطري للفطر *P. marneffei*:

حضر المعلق الفطري بتنمية الفطر على وسط (SDBY)في دوارق زجاجية سعة كل منها 250 مل بمقدار 150 مل من الوسط المستعمل ، حضنت الدوارق بدرجة حرارة 25 ± 2 مْ لمدة 168 ساعة وكانت ترج يومياً لتوزيع النمو الفطري بعدها رشحت المزرعة بوساطة قطعة من الشاش وأخذ 1 مل من الراشح ووضع على شريحة عد كريات الدم المحورة لعد الأبواغ Improved Neubauer Haemocytometer, لتقدير عدد الأبواغ لكل وحدة حجم حيث تم الحصول على تركيز 2×10^5 (بوغ/مل) بالنسبة للفطر *P. marneffei* (14)ولغرض الحصول على تركيز اقل طبقت المعادلة الاتية (20) :-

الحجم (مل) المأخوذ من المعلق الاصلي = **خطأ!**

ثم يضرب الناتج في حجم المعلق الذي نرغب بالحصول عليه، وهكذا حضرت التراكيز(2×10^4 ,2×10^3 ,2×10^2)

2-6 :الاختبار الحيوي Bioassay :

2-6-1: الاختبار الحيوي لمختلف تراكيز معلق الفطر *P. marneffei* في الأطوار اليرقية المختلفة لبعوضه *Cx.quinquefasciatms* :

أخذت 40 يرقة من كل طور من الأطوار اليرقية الأربعة والتي هيأت كما في الفقرة (2-2) لكل تركيز ووزعت على أربع أوانٍ ثلاث يحتوي كلٌ منها على (100 مل) من كل تركيز من تراكيز المعلق أما الرابع فيحتوي على ماء مقطر معقم فقط (معاملة السيطرة) ولمدة دقيقتين ثم نقلت اليرقات المعاملة بوساطة فرشاة ناعمة إلى أوان زجاجية سعة (250 مل) تحوي ماءً مقطراً معقماً اضيف اليه غذاء اليرقات بمقدار 10 ملغم / مل بعد ذلك وضعت الأواني في الحاضنة وحضنت بدرجة حرارة 25 ± 2 م° وفترة ضوئية (L / D) 10 : 14 ساعة ثم حسبت نسبة الهلاك خلال 24 ، 72 ، 120 ساعة من المعاملة (35) وصححت القيم بحسب معادلةOrell and Schneider (7) .

% الهلاك المصححة = **خطأ!** × 100

2-6-2:تحضير نواتج الايض الثانوية الخام للفطر *P. marneffei*:

حضرت نواتج الايض الثانوية الخام كما في الفقرة (2-5)و حضنت الدوارق بدرجة حرارة 25 ± 2 مْ لمدة أسبوعين بعدها تم الترشيح باستعمال ورقة ترشيح Whatman (No.1) بقمع بخنر وبمساعدة جهاز تفريغ الهواء Vacuum pump واعيد الترشيح باستعمال المرشح الدقيق Millipore filters(0.22 µ) وحضرت التخافيف 25%, 50% , 75%, 100%(32).

2-6-2-1 : تاثير نواتج الايض الثانوية الخام للفطر *P. marneffei* في الاطوار اليرقية الاربعة لبعوضة *Cx.quinquefasciatus*:

استعملت التراكيز المحضرة مسبقا في الفقرة (2-6-2)واتبعت الطريقة نفسها المذكورة في الفقرة(2-6-1)،وحسبت نسبة الهلاك يوميا ولمدة 24 ,48 ,72 ساعة وصححت قيم الهلاك كما في الفقرة(2-6-1).

2-6: التحليل الاحصائي :

صممت التجارب المختبرية على وفق نموذج التجربة العاملية (Factorial experiment)والنموذج العشوائي الكامل Completely Randomized Design (C.R.D) ، وأستعمل اختبار أقل فرق معنوي (L.S.D) Least Significant Difference تحت مستوى معنوية (0.05) لبيان الفروقات العشوائية بين المعاملات (1).

3.النتائج والمناقشة :

3-1 :الاختبار الحيوي لمختلف تراكيز معلق الفطر *P. marneffei* في الأطوار اليرقية المختلفة لبعوضه *Cx.quinquefasciatms*:

يبين الجدول (1) تأثير تراكيز مختلفة لمعلقات الفطر قيد البحث في يرقات بعوض *Cx. quinquefasciatus* اذ كانت اعلى نسبة هلاك ليرقات الطور الأول عند التركيز 2×10^{4} بوغ /مل والتي بلغت % 77.70 بعد مرور 120 ساعة بينما سجلت أوطأ نسبة هلاك 59.5% عند التركيز 2×10^{2} بوغ /مل للطور المذكور نفسه . وبما يؤكد وجود فروقات معنوية للتراكيز كافة ، وبما يشير الى وجود علاقة طردية بين كل من التراكيز المستعملة ومدة التعريض من جهة ونسب الهلاك للاطوار الاربعة حيث ازدادت نسب الهلاك مع ازدياد التركيز ومدة التعريض عند استعمال المعلق الفطري للفطر ***P. marneffei*,** فمثلا بلغت نسبة الهلاك(26.56 ,50,34,41.15)% بعد 24 ,72 , 120 ساعة على التوالي عند التركيز 2×10^{2} بوغ /مل للطور الاول بينما بلغت نسبة القتل(35.21 ,48.21 60.00)% في المدة الزمنية ذاتها وعند التركيز 2×10^{3} بوغ / مل نسب القتل (46.92 ,77.70,57.07) % وبنفس المدد الزمنية وفي التركيز الاعلى ايضا ,تعزى الزيادة بنسب الهلاك بزيادة التركيز الى الزيادة في عدد الابواغ ومن ثم ازدياد نسبة الابواغ النامية عند مهاجمة المضيف واضعاف النظام المناعي للحشرة فضلا عن كون الجهاز المناعي لليرقات يستطيع الدفاع عن الجسم فقط عند التراكيز الواطئة وعند زيادة التركيز يفقد الجهاز المناعي كفاءتهُ(30) وبالتالي الزيادة في النسب المئوية للهلاك وقد اثبت التحليل الاحصائي وجود فروقات معنوية في النسب المصححة للقتل بين الاطوار اليرقية الاربع عند مستوى معنوية 0.05 .وفضلا عن ذلك فان النتائج تبين علاقة عكسية بين نسب الهلاك وعمر اليرقة حيث تقل نسب الهلاك كلما ازداد عمر اليرقة فمثلا عند تعريض الاطوار اليرقية للمعلق الفطر***P. marneffei*,** وبالتركيز الاعلى بعد 120 ساعة كانت نسب الهلاك للاطوار الاربعة وبالترتيب كالاتي 77.70%و70.45% و 67.57% و 64.69 %,قد تعلل هذه العلاقة العكسية الى ان النظام المناعي للاطوار اليرقية الاولى غير مكتمل كما ان انسجة الجسم في الطور اليرقي الاول تكون رهيفة مما يسمح بسهولة اختراقها من قبل ابواغ الفطر اذ ان الطريقة الاساسية لدخوله بواسطة الاختراق المباشر للجدار الجسم عن طريق الانبوب الجرثومي الذي يتكون بعد يومين من ملامسة الابواغ جدار الجسم وتحصل الاصابة عند توفر الحرارة والرطوبة المناسبتين (35) تتفق هذه النتيجة تتفق مع ماوجده (27) عند استعمال ابواغ الفطر *Leptolegnia chapmanii* ضد يرقات الطور الثالث لبعوضة*Aedes aegpti* , ادى الى هلاكها بنسبة 100% بتركيز 1.8×10^{5} . وتتفق النتائج ايضا مع ماوجدت (5) اذ حصلت على نسبة هلاك 90% عند تعريض يرقات لبعوضة *Cx. quinquefasciatus* لأبواغ الفطر *C.keratinophilum* بتركيز 2×10^{6}بوغ /مل . واكدت(6)هذا الامر عند تعر يض يرقات عثة

الشمع الكبرى*Galleria mellonella* لابواغ الفطر *M. anisopliae* ادى الى هلاكها بنسبة 100 % .

جدول (1) تأثير تداخل تراكيز مختلفة من معلقات الفطر *P. marneffei* في هلاك الاطوار اليرقية المختلفة لبعوض *Cx.quinquefasciatus*

الطور	التراكيز	النسبة المئوية للهلاك بعد(ساعة)		
	الفترة الزمنية	24	48	120
الاول	2×10^{2}	26.56	41.15	59.5
	2×10^{3}	35.21	48.21	60
	2×10^{4}	46.92	57.07	77.70
	السيطرة	0	6.14	6.13
الثاني	2×10^{2}	26.56	39.33	55
	2×10^{3}	35.21	43.07	58.41
	2×10^{4}	41.15	53.34	70.45
	السيطرة	0	6.146	6.14
الثالث	2×10^{2}	25.72	37.14	47.00
	2×10^{3}	30.78	40.93	54.89
	2×10^{4}	35.21	50.34	67.57
	السيطرة	6.14	6.14	12.14
الرابع	2×10^{2}	23.85	30.99	41.15
	2×10^{3}	26.56	37.42	50.34
	2×10^{4}	30.48	46.03	64.69
	السيطرة	0	12.29	12.29

قيمة L.S.D للتداخل بين جميع العوامل=9.7

3-2: تأثير نواتج الايض الثانوية الخام للفطر *P. marneffei* في الاطوار اليرقية الاربعة لبعوض *Cx.quinquefasciatus*

يبين الجدول (2) تأثير تراكيز مختلفة من نواتج الايض الثانوية الخام في الاطوار اليرقية الاربعة لبعوض *Cx.quinquefasciatus* حيث سبب التركيز 100% أعلى نسبة هلاك في جميع الاطوار اليرقية فمثلا بلغت نسبة هلاك الطور الأول 78.93% بعد 72 ساعة ، بينما سجل التركيز 25% أوطأ نسبة هلاك بلغت 55.77% بنفس المدة الزمنية ، اوضح الباحثان(21)ان استعمال نواتج الايض الثانوية للفطريات الممرضة للبعوض تكون اكثر تاثيرا من استعمال المعلق الفطري ضد يرقات البعوض حيث وجدو ان هذه النواتج لها القدرة على تقليل اعداد اليرقات لمدة شهرين لو استعملت على بركة او مستنقع . وتجدر الاشارة الى ان العلاقة بين كل من تراكيز نواتج الايض الثانوية ومدة التعريض ونسب القتل

مشابه لما حصل عند استعمال معلق الفطريات . تتفق النتائج الحالية للنواتج الايض الثانوية مع ما توصل اليه (16)عندما استعملا تركيز 20 ملغرام/مل من المستخلص الخام للفطر (Beauvercin) الذي ينتجه فطر *B.bassiana* ضد يرقات *Ae.eagypti* حيث أدى الى هلاكها بنسبة 86% بعد مرور 48 ساعة من مدة التعريض ، وحصل(36)على نسبة هلاك بلغت 100% عندما استعمل المستخلص الخام لمركب (ToLypin) المنتج من فطر *Tolypocladium niveum* بتركيز 100 ملغم/لتر ضد يرقات كل من بعوضتي *Cx.pipiens* و *An.maculipennis* ، يرجع السبب في ذلك ان تراكم المركبات الهيدروجينية في كتلة خلايا الفطر الممرض تعطي هذا الفطر الممرض ضراوة كامنة كمبيد حيوي حشري (26), اختبر الباحثان(22,23) نواتج الايض الثانوية للفطرين *Trichophyton ajelloi*, *C.lobtum* ضد يرقات بعوض *An. stephensi Cx. quinquefasciatus* حيث كانت اكثر تاثيرا على يرقات الطور الاول من بقية الاطوار و في كلا النوعين . وقد بين الباحث(16) ان الفطر *A.flavus* هو الفطر الاكثر امراضية ليرقات البعوض *Cx. quinquefasciatus* وبذلك كان اكثر تاثيرا على يرقات الطور الثالث من الفطريات المستعملة A.*parasiticus, P. falicum, F.vasinfectum, T. viride* على الطور المذكور حيث اشار الى ان نواتج الايض الثانوية للفطر المذكور ذات تاثير سمي عالي اي يفرز سموم الافلاتوكسين . اختبر الباحث (28) تاثير نواتج ايض الفطر *F.oxysporium* على يرقات الطور الاول والرابع لبعوضتي *Cx. quinquefasciatus, An. stephensi,* فوجد ان نسب هلاك الطورين المذكورين للنوع الثاني كانت اعلى من النوع الاول وعلل ذلك بان المساحة السطحية للنوع الثاني تكون اكبر .اختبر الباحثان(24) امراضية سبعة اجناس من الفطريات *C.pseudomerdarium A. flavus. ,C. verruculatum,A. niger A.fumigatus P. chrysogenum* فوجدا ان راشح الفطر *T. ajelloi* كان الاكثر امراضية اذ سبب نسبة هلاك عالية لليرقات البعوض *Cx. quinquefasciatus* . كما اتفقت هذه النتائج مع (4)عندما عرض يرقات الطور الاول لبعوض *An.stephensi* و *Cx. quinquefasciatus* لنواتج الايض الثانوية الخام للفطر *M. anisoplia* بتركيز 100% فكانت نسبة الهلاك 100% و 96.66% لكلا النوعين على التوالي. يعود سبب ارتفاع نسب هلاك الطور الاول عن باقي الاطوار اليرقية للاسباب التي سبق ذكرها عند المعاملة بالمعلق الفطري .(10). كما حصلت (3) على نسب هلاك 100% ليرقات الطور الأول *An.pulcharrhimus* و 96.66% ليرقات *Cx.quinquefasciatus* عندما أستخدمت تركيز 100% من نواتج الأيض الثانوية الخام لفطر *L.lundbergii* . اكدت (5) ان نواتج الايض الثانوية للفطر *C.*

keratinophilum كانت اكثر تاثيرا على الاطوار اليرقية الثلاثة *Cx. quinquefasciatus* للبعوض في حين كانت اقل تاثيرا على يرقات الطور الرابع . وهذه النتائج مخالفة لماوجده(33) حيث وجد ان يرقات الطور الرابع لبعوضة *Cx. quinquefasciatus* اكثر الاطوار حساسية لنواتج الايض الثانوية للفطر *Verticillium lecanii* .

جدول (2) تأثير تداخل تراكيز مختلفة من نواتج الايض الثانوية الخام للفطر *P. marneffei* في هلاك الاطوار اليرقية المختلفة لبعوض *Cx.quinquefasciatus*

الطور	التراكيز	النسبةالمئوية للهلاك (ساعة)		
	الفترة الزمنية	24	48	72
الأول	25	37.22	48.93	55.77
	50	43.07	55.5	60
	75	52.77	60	70.45
	100	59.00	70.45	78.93
	السيطرة	0	4.61	9.22
الثاني	25	35.21	43.11	52.77
	50	40.00	46.08	59.00
	75	48.59	57.07	64.71
	100	54.78	68.85	71.21
	السيطرة	0	4.61	9.22
الثالث	25	33	44.90	48.84
	50	41.15	51.85	54.77
	75	46.92	54.77	59.00
	100	52.52	63.44	70.45
	السيطرة	4.61	4.61	9.22
الرابع	25	30	40.07	43.90
	50	39.23	43.07	50.34
	75	41.15	50.34	57.07
	100	52.77	59.44	66.14
	السيطرة	0	9.22	13.83

قيمة L.S.D للتداخل بين جميع العوامل=7.3

المصادر :

1. **الراوي ، خاشع محمود وخلف الله ، عبد العزيز محمد . 2000 . تصميم وتحليل التجارب الزراعية . وزارة التعليم العالي والبحث العلمي . دار الكتب للطباعة والنشر . جامعة الموصل . الطبعة الثانية 488 صفحة.**
2. **عبد القادر ، أياد عبد الوهاب . 2000 . دراسة تصنيفية لعائلة البعوض (*Diptera : Culicidae*) في محافظة البصرة . اطروحة**

دكتوراه . كلية العلوم/ جامعة البصرة . 230 صفحة.

3. الكرعاوي ، هناء رحمن لفته . 2012 . دراسة مختبرية لكفاءة بعض طرائق السيطرة في نوعين من البعوض (*Diptera* : *Culicidae*) في محافظة الديوانية . رسالة ماجستير . كلية العلوم / جامعة القادسية 94 صفحة.

4. المحنة ، احمد غانم نوري . 2011 . تقييم كفاءة الفطر *Metarhizium anisopliae(Metschnikoff) Sorokin* في مكافحة نوعين من البعوض (*Diptera* : *Culicidae*) فـي محافظة الديوانية . رسالة ماجستير . كلية العلوم / جامعة القادسية 69 صفحة .

5. المشكور ,براء جليل سعيد .2014 . تقويم كفاءة بعض عوامل المكافحة الجرثومية في السيطرة على البعوض *Culex quinquefasciatus* (Diptera:culicidae) ,رسالة ماجستير .كلية العلوم /جامعة القادسية .64 صفحة.

6. الموسوي ,منى ابراهيم جاسم .2015 . إنتاج وتوصيف أنزيم البروتييز القاعدي من الفطر *Metarhizium anisopliae* كعامل من عوامل السيطرة الحيوية تجاه عثة الشمع الكبرى *Galleria mellonella*,اطروحة دكتوراة كلية التربية للعلوم الصرفة /جامعة كربلاء .201 صفحة

7. **Abbot , W. 1925 . A method of computing the effectiveness of insecticide . J. Econ. Entomol. 18 : 265 – 267**
8. **Abul-hab , J.K. 1968 . Larvae of *culicine* mosquitoes of Iraq with akey for their Identification . Bull. End – Dis . Baghdad . X(1 – 4) : 23 .**
9. **Ashoor, A. and Abu-Baleer, Y. (2002) . Is the Classical Classification of aspergillosis paranasal sinuses to non-invasive and Invasive still valid or not? Bahrain Medical Bull. 24: 91-94.**
10. **Balachander, M.;Remadevi, O.K.; Sasidharan, T.O and Bai, N.S.(2012). Virulence and mycotoxic effects of *Metarhizium anisopliae* on Mahogany shoot borer, Hypsipyla robusta (Lepidoptera:pyralidea). Journal of Forestry Research.23(4):651-659.**
11. **Becker ,N.; Petric ,D.; Boase, C.; Madon, M.; Dahl ,C. and Kaiser,A.**

(2010). Mosquitoes and Their Control, Springer Heidelberg Dordrecht London. New York. Library of Congress Control.Second Edition.608pp.

12. **Benserradj ,O. and Mihoubi ,I.(2014) Larvicidal activity of entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* against *mosquito larvae in Algeria* . International Journal of Current Microbiology and applied Sciences . 3(1): 54-62**
13. **CDC. (June 2007). CDC answers your questions about St.Louis encephalitis. *Center for Disease Control*. http://www.cdc.gov/sle/technical/fact.html (2 June 2009).**
14. **Gottel , M.S. and Ingilis , D. 1997 . Fungi : Hyphomycetes . In lacey , L. (ed) Manual of techniques in insect pathology . Acadmic press . Sandiego . 409 pp .**
15. **Govindarajan, M.; Jebanesan, A.and Reetha, D. (2005) .Larvicidal effect of extracellular secondary metabolites of different fungi against the mosquito, *Culex quinquefasciatus Say*. Trop Biomed .22(1):1–3**
16. **Grove , J.F. and Pople , M. 1980 . The insecticidal activity of *Beauveria* and enniation complex . Mycopathology , 70 : 103 – 105.**
17. **James ,J. C.(2006). Understanding the Pathogenic Fungus Penicillium marneffei: A Computational Genomics Perspective.PHD thesis. University of Hong Kong.290pp.**
18. **Khan,S.;Guo,L.;Maimaiti,Y.;Mijit, M.;andQiu,D.(2012).Entomopathogenic Fungi as Microbial Biocontrol Agent. Molecular Plant Breeding .3(7):63-79.**
19. **Lau, S.K.; Chow, W.N.; Wong, A.Y.; Yeung, J.M.; Bao, J.; Zhang, N.; Lok ,S. ;Woo, P.C. and Yuen, K.Y. (2013).Identification of microRNA-likeRNAs in mycelial and yeast phases of the thermal dimorphicfungus Penicillium marneffei. PLoS Negl Trop Dis.7(8): 2398-2410pp.**
20. **Lacey , L.A. 1997 . Manual of techniques in insect pathology (Biological Techniques) . Acadmic press . Sandiego – London – Boston – 408 pp.**
21. **Mohanty, S.S.and Prakash, S. (2000). Laboratory evaluation of Trichophyton ajelloi a fungal pathogen of Anopheles stephensi and Culex quinquefasciatus. J Am Mosq Control Assoc .16:254–257pp.**

22. **Mohanty, S.S.and Prakash, S. (2002). Efficacy of Chrysosporium lobatum against larvae of malaria vector, Anopheles stephensi in the laboratory. curr Sci. 83:1585–1588pp.**
23. **Mohanty, S.S.and Prakash, S. (2004). Extracellular metabolites of Trichophyton ajelloi against Anopheles stephensi and Culex quinquefasciatus larvae. Curr Sci. 86(2):323–325pp.**
24. **Mohanty,S.S. and Prakash,S. (2010). Comparative efficacy and pathogenicity of keratinophilic soil fungi against *Culex quinquefasciatus* larvae. Indian J Microbiol .50:299–302.**
25. **Nadeau , M.P. and Boisvert , J.I. 1994 . Larvicidal activity of the entomopathogenic fungus *Tolypocladium cylindrosporum* (*Deuteromycotina:Hyphoophomycetes*) on the mosquito *Aedes triseviatus* and the black fly *Simulim vittatum* (*Diptera : Simulidae*) . J. Am. Mosq. Control Assoc . 10 : 487 – 491 .**
26. **Nisbet, L.J., and Fox, F.M. (1991).The Biodiversity of Microorganisms and Invertebrates: Its Role In Sustainable Agriculture. London: CAB International.p. 445-650.**
27. **Pelizza , S.A. , Lopezlastra , C.C. and Becnel , J.J. 2008 . Research on the production , Longevity and Infectivity of the zoospores of *Leptolegnia chapmanii Seymor* (*Oomycota : Peronosporomycetes*) . J. Invertbr. Pathol ., 98 : 314 – 319 .**
28. **Prakash, S.; Singh, G.; Soni, N.and Sharma, S.(2010). Pathogenicity of Fusarium oxysporum against the larvae of Culex quinquefasciatus (Say) and Anopheles stephensi (Liston) in laboratory. Parasitol Res . 107(3): 651-655.**
29. **Rajesh ,K.; Dhanasekaran,D. and Tyagi,K. (2014).Mosquito survey and larvicidal activity of actinobacterial isolates against Culex larvae (Diptera: Culicidae), Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences. 2 (6): 233-239 pp**
30. **Scholete , E.J. ; Taken , W. and Knols , B.G.J.(2003) . pathogencity of five East African entomopathogenic Fungi to adult Anopheles gambiae (Diptera : Culicidae) mosquitoes , Netherlands Entomol. society 14 : 25 –29.**
31. **Singh, G and Prakash, S. 2010. Fungi Beauveria bassiana (Balsamo) metabolites for**

controlling malaria and filarial in tropical countries. Advan. in Biomed. Res.9: 238-242.

32. **Soni , N. and Prakash, S.E.(2013). Possible Mosquito Control by Silver Nanoparticles Synthesized by Soil Fungus (Aspergillus niger 2587). Advances in Nanoparticles.2: 125-132pp.**
33. **Soni ,N. and Prakash,S. (2012). Larvicidal effect of *Verticillium lecanii* metabolites on *Culex quinquefasciatus* and *Aedes aegypti* larvae. Asian Pacific Journal of Tropical Disease . 2(3):220-224.**
34. **Soni ,N. and Prakash,S.(2011). *Aspergillus Niger* Metabolites Efficacies Against the Mosquito Larval (C*ulex Quinquefasciatus, Anopheles Stephensi* and A*edes Aegypti*) Population after Column Chromatography. American Journal of Microbiology . (1): 15-20.**
35. **Steinhause,E.A.(1949).Principle 0f in Pathology .NewYork.Tornto.London .Mc Graw-Hill book company INC.757.**
36. **Weiser , J. and Matha , V. (1988) . Tolypin , anew insecticidal metabolite of fungi of the genus Tolypocladium. J. of the invertebrate Pathol. 51 : 94 – 96.**
37. **WorldHealthOrganization.2013b.Lymphaticfilarias.http//:www.who.int/mediacentre/factsheets/fs102/e/**

*Evaluation of the Efficiency of *Penicillium marneffei Segretain* in control of larval instars of the mosquito *Culex quinquefasciatus Say* (Diptera: culicidae)

Amerah AbduL-Hadi Alganimi

Collage of science

Al-Qadisiya university

amerahganmy24@gmail.com

Mohammed R. Annon Alhasnawy

Collage of science

Al-Qadisiya university

Balhasnawy@yahoo.com

Abstract:

The current research evaluate the efficacy of the fungus *P. marneffei* and using it as biological agent in the control of larval instars of the mosquito *Cx. quinquefasciatus*. Different

concentrations of fungus suspention and its secondary metabolism were used in larvae of of mosquito, the result showed that the higher mortality percentage of first larval instars was 77.70% at the concentration of 2×10^{4}spore / ml after 120 hours, while the lowest mortality percentage was 59.5% at the lowest concentration of 2×10^{2} spore / ml at the same period.

But the application secondary metabolism showed high mortality percentage when 100% concentration was used against the mentioned instar and it reached 78.93% after 72 hours .while alower mortality percentage was recorded 55.77% concentration of 25% of secondary metabolism was used at the same period.

Keyword: *Culex quinquefasciatus Say ,Wuchereria bancrofti ,Peincillium marneffei,* Bioassay.

---

* The research is a part of M.sc. thesis in the case of first researcher.