



وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة القادسية
كلية العلوم
قسم علوم الحياة

تقييم كفاءة *Niger Aspergillus* في مكافحة بعوض
Cx. quinquefasciatus (*dipterap culicidae*) في محافظة
الديوانية

بحث مقدم الى قسم علوم الحياة في كلية العلوم كجزء من متطلبات
نيل درجة البكالوريوس في علوم الحياة

تقدم به الطالب
حسن اكرم رؤوف
بأشراف
ا.م.د محمد رضا عنون

2016م

1437هـ

بسم الله الرحمن الرحيم

ان الله لا يستحي ان يضرب مثلا ما بعوضة فما فوقها فاما الذين
امنوا فيعلمون انه الحق من ربهم واما الذين كفروا فيقولون ماذا اراد
الله بهذا مثلا يضل به كثيرا ويهدي به كثيرا وما يضل به الا

الفاسقين

صدق الله العلي العظيم

الى الهادي البشير والسراج المنير...
سيدنا محمد صلى الله عليه وسلم

الى التي اغرقتني بحنانها منذ ولدت...
وفي عينيها كل امالي وجدت

امي

الى الذي بالامان اشعرني
والى طريق الخير ارشدني
ابي

الى الاكف التي حملتني وشجعتني

اخوتي واخواتي....

والى كل من مد يد العون لي اهدي جهدي المتواضع ...

شكر وتقدير

في هذه المرحلة وقد شارف بحثي على الانتهاء يطيب لي ان أتقدم بجزيل
الشكر والتقدير الى اساتذتي الفاضل الدكتور محمد رضا عنون لاقتراحه خطة
البحث ولما ابداه لي من معونة وتشجيع طيلة مدة البحث وأتمنى من الله العلي
القدير ان يمدده بدوام الصحة والرفقي العلمي . واقدم الشكر م.م ولقاء ياس

لهمود السعيد

لما قدمته من دعم طول فترة البحث وكذلك اشكر طالبات الماجستير الاستاذة
سارة والاستاذة عامرة وأتمنى لهم التوفيق بكل المجالات العلمية والاجتماعية

الخلاصة

استهدفت الدراسة الحالية عزل الفطر *Niger Aspergillus* من يرقات البعوض *Cx. quinquefasciatus* وتنمية في المختبر *INVITRO* من اجل استعماله كعامل حيوي في مكافحة بعوضة *Cx. quinquefasciatus* وتم تنميته بنجاح على وسط PDA اثر تركيز المعلق البوغي في ادوار حياة البعوضة فقد بلغة نسبة الهلاك البوض 28% عند تركيز $10^2 \times 2$ مل وارتفعت الى 60.33 عند تركيز مل

اما بالنسبة لليرقات فقد سجلت اعلى نسبة هلاك 100% عند معاملة اليرقات الطور الاول بتركيز $10^5 \times 2$ مل فضلا عن وجود علاقة طردية بين عمر الطور اليرقي وقيمة $lc50$ اذا بلغت قيمة ال 1 $lc50$ بوغ/ مل للاطوار اليرقية الاول والثاني والثالث والرابع

اما بخصوص العذارى فقد هلكت بنسبة 50% عند التركيز $10^5 \times 2$ مل واخذت العلاقة بين تركيز المعلق الفطري ونسبة الهلاك البالغات منحنى مشابه لما حصل مع ادوار الحياة السابقة . فقد سببت المعاملة بالتركيز الاعلى اقصى نسب هلاك (100%) لذكور واناث 90% لذكور واناث البعوضة خلال 168 ساعة بينما كانت ادنى نسبة هلاك 66% لذكور واناث النوع الاول وصفت العلاقة بين تركيز نواتج الايض الثانوي ونسبة الهلاك لكل من الاطوار اليرقية والبالغات بكونها طردية فقد هلكت جميع يرقات الطور الاول

لدرجة حرارة تأثير واضح في فعالية المعلق الفطري حيث ازدادت نسبة الهلاك ليرقات الطور الثالث للبعوضة الى 86% عند درجة حرارة 25 م بينما انخفضت الى 30% في درجة حرارة 10م

اثرت قيمة الاس الهيدروجني في فعالية المعلق الفطري عند معاملة اليرقات فقد بلغت اعلى نسبة هلاك 86% عند قيمة $ph=6$ بينما كانت اوطا نسبة هلاك 50% عند درجة حموضة 10

بينت النتائج العلاقة بين تركيز كلوريد الصوديوم $NaCl$ وفعالية الفطر في قتل اليرقات اذا وصلت اعلى نسبة هلاك الى 80% في تركيز 0ppt وانخفضت الى 36% عند زيادة التركيز الى 6ppt

الفصل الاول

..المقدمة..

البعوض

الاسم العلمي: (*dipterap culicidae*)

فصيلة حشرات من رتبة ذوات الجناحين تتغذى إناثها على دم الإنسان وأكثر الحشرات الماصة للدماء انتشاراً، ويسبب المضايقة بلدغاته المتكررة، وينقل العديد من الأمراض منها المالاريا، كما يتغذى البعوض أيضا على دم الحيوانات والطيور.

أنثى البعوضيات هي وحدها التي تتغذى على الدم لأنه ضروري لنضج البيض، في حين أن الذكر يتغذى على عصارة النباتات ورحيق الأزهار . ويتميز فم الأنثى بأنه مزود بأجزاء دقيقة تساعد على ثقب الجلد وامتصاص الدم (اللسان الثاقب الماص).



الزاعجة المصرية تقرص إنساناً

أنواع البعوض

هناك أكثر من 3,000 نوع من البعوض. ويصنّف علماء الأحياء أنواع البعوض فيما يقرب من 35 جنساً. فمثلاً ينتمي نوع من أكثر أنواع البعوض شيوعاً، وينقل أنواعاً معينة من الديدان الطفيلية، إلى جنس كيولكس أو البرغش، وقد يحمل هذا النوع وكذلك أنواع أخرى من جنسه فيروسات التهاب الدماغ. وينقل بعض أنواع البعوض من جنس الأنوفليس البرداء، ويحمل بعض أنواع البعوض من جنس الأيس فيروس الحمى الصفراء.

أماكن تجمع البعوض

تعمل وجبة الدم التي تناولتها الأنثى على تكوين البيض، وتضع الأنثى البيض فوق سطح الماء الذي يعتبر أساسياً لفقس البيض. وتعتبر تجمعات مياه الأمطار والبرك، وحمامات السباحة غير المستعملة وخزانات المياه غير المغطاة ومياه الرشح الأرضي وما شابه ذلك، كلها أماكن صالحة لوضع البيض.

يفقس البيض خلال يوم أو يومين وتخرج من كل بيضة يرقة صغيرة لا يزيد طولها عن مليمتر واحد، لها رأس وصدر، وعليها شعيرات تساعد على العوم في الماء باحثة عن غذائها من الطحالب وكائنات حية دقيقة، وتتغذى اليرقة أوكسجين الهواء الجوي عند سطح الماء.

حياة اليرقة

وتنسلخ اليرقة أربعة انسلاخات خلال فترة حياتها التي تمتد من سبعة إلى عشرة أيام، وتتخلص في كل مرة من جلدها الخارجي بعد أن يتكون لها جلد جديد يساعدها على النمو، وفي الانسلاخ الرابع تتحول اليرقة إلى عذراء تختلف في الشكل عن اليرقة، ولا تتغذى، ولكنها تتحرك في الماء وتتغذى

الأوكسجين. ويستمر طور العذراء من يومين إلى ثلاثة أيام، تتكون خلالها أجزاء جسم العوضة البالغة مثل الأرجل والجناحين وأجزاء الفم. وينشق جلد

العذاري ويخرج البعوض البالغ وقت الغروب، وتطير الذكور والإناث، ويحدث التلقيح، وتواصل إناث البعوض طيرانها باحثة عن العائل الذي تمتص منه الدم، وقد تبلغ مسافة طيران الأنثى



عدة كيلومترات، ثم تضع الأنثى البيض فوق سطح الماء وتكرر دورة الحياة.

الامراض التي يسببها البعوض

و تسبب لدغة البعوضة التهابا في الجلد خاصة عند الأطفال، وتظهر بقعة حمراء حول مكان اللدغة وقد يتورم الجلد نتيجة لذلك .وهناك أنواع من البعوض قد تنقل لمرض للإنسان أثناء تغذيتها على الدم، ومن أهم الأمراض

التي ينقلها البعوض مرض المالاريا ومرض الفالاريا (داء الفيل) ومرض الحمى الصفراء.

و من المعروف أن أنثى البعوض هي وحدها التي تتغذى على الدم وتنقل الأمراض. أنواع البعوض: ذكر العلماء والبيولوجيين أنواع وسلالات منها 1- الأيدس منها أنواع كثيرة أ-أيدس اجبتاي وتنقل حمى الضنك وتعيش بالقرب من المناطق السكانية في فتحات المكيفات وتحت الخزانات وكفارات السيارات ب-أيدس فكسن اربينسز وتعيش في الأودية والمياه الصافية وتعيش بكثرة في المناطق الريفية قرب السدود والأنهار ومسؤولة عن مرض حمى الوادي المتصدع مرض مشترك بين الإنسان والحيوان ويبقى الفيروس مع البيض لسنوات طويلة -2 الانوفيلس :مسؤولة عن الملاريا والفالاريا وتعيش في الأودية والمناطق الريفية -3 الكيولكس تقوم بنقل فيروس حمى الوادي

المتصدع ولا تحمله في البيض وتعيش في كل مكان حتى في الصرف الصحي.

مكافحة البعوض

يكافح الناس الحشرات بطرق عديدة، منها رش المبيدات الحشرية الكيميائية لقتل البعوض في المنازل والمرائب) جمع مرآب، وهو مكان حفظ السيارات (والمباني الأخرى. كما تُرش في الحقول والغابات والحدائق سحابات كثيفة من المبيدات الحشرية لقتل هذه الحشرات. ويكافح الناس أيضاً البعوض بإتلاف

الأماكن التي يتكاثر فيها. ومن المعروف أن البعوض يضع بيضه في المستنقعات وبرك المياه الراكدة، وفي الإطارات والعلب الصغيرة التي تحتوي على مياه راکدة. وقد تُصرف المياه من تلك الأماكن أو يُرش الزيت أو المبيدات الحشرية على سطح الماء فيها.

ومنذ ستينيات القرن العشرين الميلادي، يولي العلماء اهتماماً متزايداً بالمقاومة الحيوية) التحكم الحيوي (للحشرات، ويشمل ذلك البعوض، عن

طريق برامج صُممت لمقاومة أنواع معينة من الحشرات دون تدمير المقومات البيئية الأخرى. ومن هذه البرامج استعمال أنواع معينة من

الأسماك التي تتغذى ببيرقات البعوض. وهناك برنامج آخر يستعمل أبواغ بكتيريا العُصية الثرنجيسية لقتل اليرقات. أيضاً يمكن معرفة متى تظهر

البعوض, حينما تكون درجات حرارة الطقس معتدلة لأخذ الحيطه والمكافحة قبل ظهورها.

وضع البيض

ضع أنثى البعوض نحو 100-300 بيضة في المرة الواحدة حسب النوع. وقد تضع الأنثى نحو 3,000 بيضة طيلة حياتها. يخرج البيض عبر فتحة توجد في طرف منطقة البطن. وتضع إناث معظم أنواع البعوض البيض في الماء

أو بالقرب منه، ولكن لكل أنثى مكانها المفضل لوضع البيض فيه. تفضل بعض الإناث المستنقعات العذبة، بينما تفضل إناث أخرى المستنقعات

المالحة، كما تفضل بعض الإناث وضع بيضها في المياه المتجمعة داخل علب الصفيح أو مجاري الأمطار أو البالوعات أو جذوع الأشجار الساقطة أو قطع الأشجار المجوفة.

وفي بعض الأنواع، تضع الأنثى بيضها، واحدة تلو أخرى، وهذا البيض له أجزاء مزخرفة وشفافة من القشرة تسمى العوامات تُبقية طافياً إلى أن يفقس. وتضع أنواع أخرى من الإناث بيضها في مجموعات تبدو كالأطواف. وفي هذه الحالة، تبقى الأنثى على سطح الماء، عند وضع بيضها الذي يأخذ شكلاً

ضيقاً من أعلاه، وبوساطة أرجلها الخلفية تدفع الأجزاء العريضة من البيض لأسفل بعناية، مُكوّنة مجموعات شبيهة بالأطواف. ويفقس بيض معظم أنواع البعوض خلال يومين أو ثلاثة في الجو الدافئ.

يحتاج بيض كل أنواع البعوض إلى الرطوبة حتى يفقس. ولكن ليس كل إناث البعوض تضع بيضها في الماء. وهناك بعوض معين يُسمى بعوض مياه الفيضان يضع بيضه في التربة الرطبة في السهول الفيضية وفي مواقع الري. ويفقس ذلك البيض عند الفيضان الذي قد يحدث بعد عام. وهناك أنواع أخرى

يطلق عليها - أحياناً - اسم بعوض البرك تضع بيضها في البرك التي جفّت عنها المياه، ويفقس ذلك البيض بعد امتلاء البرك بمياه الأمطار. ولا يفقس كل بيض ذلك البعوض عند هطول أول الأمطار، فقد يحتاج لأن يُغمر بمياه الأمطار مرتين أو ثلاث مرات حتى يفقس

الفصل الثاني

Aspergillus niger

أولاً: عزل وتشخيص فطر *Aspergillus.niger* فطر الاسبرجلاص
نايجر من احد انواع الرشاشيات واكثرها انتشارا .يسبب امراضا
للفواكه والخضروات يدعى بالعفن الاسود .ينتشر بشكل واسع في

التربة بالاضافه لتواجده داخل المنزل حيث يسبب عفنا اسود ع
البصل

حيث تظهر الابواغ السوداء بين قشور البصل .لايسبب هذا الفطر
امراضا للانسان بشكل واسع مالم يتم استنشاق كميات كبيره من
الابواغ وبالتالي يسبب مشكال رئويه وينتشر بشكل خاص بين عمال
البساتين ويعتبر هذا الفطر من احد

اهم فطار الاذن والذي يترافق بالاضافه للالام مع اضرار في القناه
السمعيه غشاء الحلزون.

تصنيف الفطر

Kingdom:fungi

Phylum:Ascomycota

Order:Eurotiales

Family:trichocomaceae

Genus:Aspergillus

species:niger

المستعمره لونها اسود

الفحص المجهرى: الخيوط الفطريه طويله كبيره الحجم بنيه اللون

فاتحه. الخيوط الفطريه رفيه.

النمو الانتشار

تكون أنواع الرشاشيات هوائية وتتواجد في جميع البيئات الغنية بالأوكسجين .
تنمو الفطريات المواد الغنية بالكربون بشكل شائع مثل السكريات الأحادية (غلوكوز (والسكريات المتعددة) أميلوز .(كما تتواجد الرشاشيات على الأغذية النشوية مثل الخبز و البطاطا كما تنمو على العديد من الأشجار و النباتات.

بالإضافة لقدرتها على النمو على مصادر الكربون تظهر أنواع الرشاشيات خاصة النمو في ظروف قليلة التغذية .حيث أنها تنمو في بيئات مستنزفة المواد الغذائية أو بيئات فاقدة بشكل كامل لمكونات الغذاء الأساسية .وتعتبر الرشاشية السوداء نموذج رئيس لتلك الخاصة حيث أنها تنمو على الجدران الرطبة كمكون رئيس من مكونات العفونة.

الأهمية

ترتبط العديد من أنواع الرشاشيات باهتمامات طبية واقتصادية. حيث أن أكثر من 60 نوع منها ذو أهمية طبية ويسبب عدوى للإنسان والحيوان. تتراوح العدوى من الالتهاب الأذن الخارجية والآفات الجلدية إلى القرحات.

بينما تنطوي أنواع أخرى على أهمية اقتصادية تتجلى على شكل إنتاج مواد بواسطة التخمر. فعلى سبيل المثال: الساكيه اليابانية، نوع من أنواع المشروبات الروحية، تصنع من الرز ومركبات نشوية أخرى بواسطة الرشاشية أوريزه.

كما تعتبر أعضاء من جنس الرشاشيات مصدراً طبيعياً للعديد من المواد الطبيعية ذات الأهمية الطبية لمعالجة أمراض الإنسان. ولعل الرشاشية السوداء من المصادر الرئيسية لحمض الليمون، حيث تشكل ما يعادل 99%

من الإنتاج. كما أن الرشاشية السوداء تنتج بشكل شائع بعض الأنزيمات، سواء الأصلية أو الغريبة، منها أنزيم أكسدة الجلوكوز.

الأبحاث

على مدى سنوات تم استخدام الرشاشية المعششة بشكل واسع كنموذج في الأبحاث من قبل جيدو بونتيكورفو لإثبات الخطل الجنسي في الفطريات. كما أنها من طلائع الأحياء التي تم معرفة تسلسل أحماضها الأمينية لكامل الجينوم

من قبل باحثون في معهد برود .وفي وقت لاحق تم الانتهاء أيضاً من جينوم كل من الرشاشية السوداء والرشاشية أوريزه و الرشاشية الدخناء.

من المعروف أيضاً أن إجهاد الأكسدة هي عبارة عن مؤشر لمعرفة العمليات الاستقلابية المختلفة في كل الأحياء .حيث أظهرت الأبحاث أن نقص الجين

المعروف ب ApyapA يؤدي إلى زيادة في إجهاد الأكسدة والتبوغ الغير ناضج وتشكيل الأفلاتوكسينات .وفي نفس الدراسة تم اكتشاف أن ApyapA يحمل نفس الوظيفة في تثبيط إجهاد الأكسدة في العديد من الفطور
الامراضية

تسبب العديد من أنواع الرشاشيات أمراض خطيرة في الإنسان والحيوان . ولعل أهم هذه الأنواع هي الرشاشية الدخناء و الرشاشية الصفراء .تنتج الرشاشية الصفراء الأفلاتوكسين والتي تعتبر مسرطنة و سمية في أن واحد

كما أن كل من الرشاشية الدخناء والمقرعية من أهل العوامل المسببة للحساسية .بينما تحمل بقية أنواع الرشاشية أخطاراً إمراضية للنباتات.

طريقة العمل

ضحر المعلق الفطري بتنمية الفطر على وسط PDA في دورق سعته 250 مل بمقدار 150 مل من الوسط المستعمل . حضنت المزرعة بدرجة حرارة 25م لمدة 7 ايام وكانت ترج يوميا لتوزيع النمو الفطري ثم رشحت بواسطة قطعة من الشاش اخذ1 مل من الراشح ووضع على شريحة عد كريات الدم

الحمرة المحورة لعد الابواغ Improved Neubauer

haemocytometer التقدير عدد الابواغ لكل وحدة حجم حيث حسب عدد

الابواغ في كل مربع من المربعات الاربعة الكبيرة الموجودة في اركان الشريحة بعد ذلك قسم عددها الكلي على اربعة للحصول على معدل عدد الابواغ في المربع الواحد ثم ضرب هذا الناتج في 10000 عامل تحويل للحجم للحصول على عدد الابواغ في 1 مل من المعلق الفطري حيث تم الحصول على تركيز) 2000000 بوغ/ مل (goettel and Inglis) ولغرض الحصول على تركيز اقل من ذلك طبقت المعادلة الاتية

حجم (مل) المأخوذ من المعلق الرئيسي = تركيز المطلوب

تركيز المعلق الاصيل

ثم يضرب الناتج في حجم المعلق المطلوب تحضيره

الاستنتاجات

1_ ان فطر *Niger Aspergillus* يصيب يرقات البعوض بصورة طبيعية في البيئات المائية

2_ اثرت تراكيز المعلق الفطري ونواتج الايض ان امراضية الفطر اثر او اضحا في مختلف ادوار حياة البعوضة ولكن بصورة متباينة فقد ابدت البيوض والعذارى مقاومة ملحوضة بينما هلكت اليرقات والبالغات بنسبة اكثر وكان الطوران اليرقيان الاول والثاني اكثر حساسية لمعلقات الفطر ونواتج الايض من الطورين الثالث والرابع

3_ عدت درجة الحرارة 25 م الافضل من بين درجات الحرارة المستخدمة لتقويم فعالية الفطر

4- تتباين امراضية الفطر ليرقات البعوض بحسب قيم الاس الهيدروجيني للوسط المائي الذي تعيش فيه اليرقات و عد الاس الهايدروجيني $ph=6$ هو الامثل عند استعماله في السيطرة الحيوية

5 - استعمال الفطر في بيئات ذات تركيز عالي من كلوريد الصوديوم (6ppt) يقلل من كفاءة الفطر في مكافحة يرقات البعوض

6- يتعارض استخدام الرش بالمبيد الفطري مع استخدام الفطر للمكافحة في حين كان تاثير المبيدين الحشريين اقل

المراجع

- ١- ابو الحب , جليل كريم . 1979 . الحشرات الطبية والبيطرية في العراق , القسم النظري . كلية الزراعة -جامعة بغداد . ص450
- ٢- خلف, جنان مالك و عبد الوهاب, اياد عبد القادر وبنيان , ليلى عبد الرحيم , 2004 . المكافحة الاحيائية والكيميائية ليرقات وبالغات البعوض . *Niger Aspergillus* مختبريا ,مجلة البصرة للعلوم ب . 22 (1) : 46-62 .
- ٣- الزبيدي , حمزة كاظم . 1992 . المقاومة الحيوية للافات . دار الكتب للطباعة والنشر - الموصل . العراق ص440
- ٤- سيرفس , م .و . 1984 . المرشد الى علم الحشرات الطبية . ترجمة علي محمد سليط , زهير يونس الصفار ورياض احمد العراقي وزارة التعليم العالي والبحث العلمي - جامعة الموصل ص380

٥- عبد القادر ,اياد عبد الوهاب 1994 يرقات البعوض في البصرة ودور
بعض الاسماك في مكافحتها . رسالة ماجستير كلية الزراعة جامعة
البصرة . ص91

١- abul _ hab , j.k 1968 larvel of culicine mosquitoes of
iraq with akey for their identification bull end - dis
baghdad

٢- ahmed, s, ashraf , m.r ,: hassuin , A . and Riaz , m. A
.2009

3 - Daoust, R. A, and Ropert , D.W. 1989 -333

4 _ venkatsubbaiah, b:Tisserat , N, A and Chilton
, W. S 1994

5 _ Wahlman, m. and davdaison ,B,S.1993

- Harbach, Ralph (November 2, 2008). "[Family Culicidae Meigen, 1818](#)". *Mosquito Taxonomic Inventory*.