تأثير الفطر

L.lundbergii Lagerband Melin
في مكافحة البعوضة Culex.quinquefasciatus

بحث مقدم لنيل شهادة البكالوريوس كلية العلوم/قسم علوم الحياة/جامعة القادسية

من قبل الطالبة

ابتهال نجم عبدالله

بإشراف الأستاذ

ا.م.د. محمد رضا عنون

٢٠١٧_م

١٤٣٨_هـ

بسم الله الرحمن الرحيم

(هو الذي انزل من السماء ماءً لكم منه شراب ومنه شجر فيه
تسيمون ۝ ينبت لكم به الزرع والزيتون والنخيل والاعناب ومن كل
الثمرات ان في ذلك لأيةً لقوم يتفكرون)

صدق الله العي العظيم

سورة النحل

الآية (١٠-١١)

الاهداء

الى من غرسا الايمان والحق وحب الخير في اعماق نفسي

يامن تعجز عن وصفهم الكلمات وكل الكلمات

الى روح ابـي المرحـوم و امـي حبـا وتقـديراً والى اخـوتي

محبة واعتزاز .الى كل من قدم لي النصح والعون

عرفانا واحتراماً

كلمة شكر

الحمد والشكر لله رب العالمين على النعم الكثيرة التي من بها علي والصلاة والسلام على سيدنا

محمد وعلى اله واصحابه ومن دعا بدعوته الى يوم الدين .

يسرني ان اتقدم بالشكر والتقدير للأستاذ المشرف الدكتور

(محمد رضا عنون) لتفضله بالأشراف على البحث ومتابعته المستمرة التي ساعد بإخراجه

بشكله الحالي ولا يفوتني ان اتقدم بالشكر الى اساتذتي في كلية العلوم لما قدموه من معرفة علمية

واخيرا شكري وتقديري الى جميع من ساعدني في اعداد هذا البحث وفاتني ذكر اسمه

الخلاصة :-

١- استهدفت الدراسية الحالية عزل الفطر
Leptographim lundbergii Logerb and Melin
من اليرقات الميتة لبعوضة Cx.quinquefasciatus وتنميته بنجاح في المختبر Inuitro على الوسط الزرعي Emeyson ypps agar وهذا يجري لاول مرة في العراق واستعماله كاملاً حيوياً في مكافحة بعوضة Cx.quinquefasciatus .

٢- اثرت تراكيز المعلق الفطري في جميع ادوار حياة البعوضة فقد بلغت نسبة هلاك البيوض ٢٣% عند التركيز 3×10^4 بوغ/مل وارتفعت الى ٥٦% عند تركيز 3×10^7 بوغ/مل اما بالنسبة لليرقات فقد بلغت اعلى نسبة هلاك 93,33 % عند معاملة يرقات الطور الاول بالتركيز 3×10^7 بوغ/مل بينما كانت 60% عند التركيز 3×10^4 بوغ/مل اما بخصوص العذارى فقد هلكت 50% عند تركيز 3×10^7 بوغ/مل اما بخصوص البالغات فقد سببت المعاملة بالتركيز الاعلى اقصى نسبة هلاك ٩٠% للذكور و 86,66% للاناث بينما كانت 56,66% و 50% عند معاملتها بالتركيز 3×10^4 بوغ/مل .

٣- اما بخصوص تأثير نواتج الايض الثانوية للفطر فقد هلكت يرقات الطور الاول للبعوضة Cx.quinquefasciatus 96,66% عند معاملتها بالتركيز 100% خلال ٧٢ ساعة بينما كانت 63,33% عند التركيز 25% .

المحتويات

التسلسل	العنوان	الصفحة
1	المقدمة	1
2	استعراض المراجع	3
1-2	البعوض	3
2-2	طرائق المكافحة	4
1-2-2	المكافحة الكيميائية	4
2-2-2	المكافحة الحيوية	4
3-2	شعبة الفطريات الكيسية Ascomycota	5
1-3-2	الفطر Leptographium lundbergii lagerb and melin	6
1-1-3-2	تصنيف الفطر	6
2-1-3-2	صفات الفطر L.lundbergii	6
3-1-3-2	الية اصابة الفطر	7
4-1-3-2	دور الفطر في المكافحة	8
3-2-2	المكافحة باستعمال منظمات النمو الحشري	9
4-2-2	المكافحة الوراثية	9
5-2-2	المكافحة بطريقة الهرمونات الحشرية	9
6-2-2	المكافحة المتكاملة	9
3	المواد وطرائق العمل	10
1-3	اعداد المزرعة الدائمية للبعوض Cx.quinquefasciatus	10
2-3	الأوساط الزرعية	10
1-2-3	الأوساط الزرعية للفطر	10
3-3	خطوات عزل الفطر	12

1-3-2	جمع اليرقات المصابة Cadaver	12
2-3-3	تشخيص ووصف الفطر L.lundbergii	12
3-3-3	حفظ عزلة الفطر L.lundbergii	12
4-3	تحضير المعلق الفطري	12
5-3	الاختبار الحيوي Bioassay	13
1-5-3	الاختبار الحيوي لمختلف تراكيز معلق الفطر L.lundbergii في مختلف ادوار حياة البعوض Cx.quinquefasciatus	13
1-1-5-3	الاختبار الحيوي في البيوض	13
2-1-5-3	الاختبار الحيوي في الاطوار اليرقية الاربعة	14
3-1-5-3	الاختبار الحيوي في دور العذراء	14
4-1-5-3	الاختبار الحيوي في البالغات	14
2-5-3	تحضير نواتج الايض الثانوية الخام للفطر L.lundbergii	14
4	النتائج والمناقشة	16
1-4	عزل الفطر L.lundbergii	16
2-4	الاختبار الحيوي لمختلف تراكيز معلق الفطر L.lundbergii في مختلف ادوار حياة البعوضة Cx.quinquefasciatus	18
1-2-4	الاختبار الحيوي في البيوض	18
2-2-4	الاختبار الحيوي في الاطوار اليرقية الاربعة	18
3-2-4	الاختبار الحيوي في دور العذراء	21
4-2-4	الاختبار الحيوي في البالغات	22
1-3-4	تأثير نواتج الايض الثانوية الخام للفطر في الاطوار اليرقية الاربعة للبعوضة Cx.quinquefasciatus	24
	الاستنتاجات	28
	التوصيات	29
	المصادر	30

قائمة الجداول

رقم الجدول	العنوان	الصفحة
1-2	بعض انواع الجنس Leptogrophium والحشرات المرافقة Scolytidae	7
1-4	تأثير تراكيز مختلفة من معلقات الفطر L.lundbergii في بيوض Cx.quinquefasciatus	18
2-4	تأثير التراكيز المختلفة في ملصقات فطر L.lundbergii في الاطوار اليرقة لبعوض Cx.quinquefasciatus	20
3-4	تأثير تراكيز مختلفة من المعلق الفطري في دور العذراء لبعوض Cx.quinquefasciatus	22
4-4	تأثير تراكيز مختلفة من المعلق الفطري في ذكور واناث بعوضة Cx.quinquefasciatus	23
٤-٥	تأثير تراكيز مختلفة من النواتج الايض الثانوية الخام للفطر L.lundbergii في الاطوار اليرقية الاربعة لبعوضة	26

	Cx.quinquefasciatus	

قائمة الصور

رقم الصورة	العنوان	الصفحة
1-4	يرقة Cx.quinquefasciatus مصابة بالفطر L.lundbergii تحت قوة تكبير 200 X .	17
2-4	مستعمرة الفطر L.lundbergii على الوسط الزرعي Emerson ypps agar بعمر اسبوع	17
3-4	مستعمرة الفطر L.lundbergii على الوسط الزرعي Emerson yppsagar بعمر شهر	17
4-4	صورة مجهرية للفطر L.lundbergii تحت قوة تكبير 400X	17
5-4	عذراء Cx.quinquefasciatus مصابة بالفطر L.lundbergii تحت قوة تكبير 200X	22
6-4	بالغة Cx.quinquefasciatus مصابة بالفطر	

	L.lundbergii تحت قوة تكبير 200X	24

قائمة الاشكال

رقم الشكل	العنوان	الصفحة
		21
1-4	حساسية الاطوار اليرقية الاربعة لمعلق الفطر L.lundbergii	
2-4	حساسية ذكور واناث Cx.quinquefasciatus لمعلق الفطر L.lundbergii	24
3-4	حساسية الاطوار اليرقية الاربعة النواتج الايض الثانوية الخام للفطر L.lundbergii	27

المقدمة

يعد البعوض . Cx.quinquefasciatus الناقل الرئيسي لداء الفيلاريا وفي مناطق عديدة من العالم (Sabtin elli et al , 1994) فضلاً عما يسببه البعوض من إزعاج وانعدام الراحة وامتصاص الدم من مختلف المضائف لذلك حضي باهتمام متزايد ومستمر من لدن الباحثين وخاصة في جانب المقاومة ولعل من أكثر الطرائق شيوعاً هي المقاومة الكيميائية حيث استعملت عدد من المبيدات مثل DDT ومبيدات الفسفور العضوية والتي ساهمت في الحد من أضرار البعوض في مناطق عديدة من العالم . ولكن لسهولة استعمال المواد الكيمياوية والحصول عليها ونتائجها السريعة قد سبب أفراطاً في استعمال خاطئ لهذه المواد مما أدى إلى ظهور مشاكل عديدة منها مقاومة الحشرات للمبيدات الكيمياوية والتأثيرات السامة في الأعداء الحيوية وتلويث البيئة (العادل وعبد ، 1979) (Loc; 1979 and Chi , 2005)

عدت الأحياء المجهرية الممرضة للحشرات هي الأخرى أكثر الأعداء الحيوية استعملاً في مجال مقاومة البعوض ومن بينها البكتريا Bacillusond thuringiensis Berliner والتي تمتاز بكفائتها العالية في مقاومة البعوض فضلاً عن الفطريات الممرضة للحشرات والتي يوجد ما يقارب 750 نوعاً حقق البعض منها نجاحاً ملحوظاً في مجال مكافئة البعوض وأن أعدادها في تزايد (توفيق 1977 المحنة 2010).

لقد تناولت الدراسات السابقة في العراق حول مكافحة البعوض استعمال الاسماك المفترسة (عبد القادر 1994) والمبيدات الكيمياوية (خلف وأخرون2004) ونال تأثير المستخلصات النباتية الاهتمام الأكثر عد الفطر L.lundbergii ومن الفطريات الكيسية

Ascomycetes المرافقة للحشرات ، الا أنه لم يذكر مدى تأثيره في الحشرات (Harrington,1993) .

ونظراً لندرة الأبحاث حول عزل المسببات الممرضة بصورة عامه والفطريات بصورة خاصة واستعمالها عاملاً حيوياً للمكافحة . فقد صمم هذا البحث لتقويم أحدى جوانب المكافحة باستعمال L.lundbergii المعزول محلياً وتسليط الضوء على أمكانية استعمال هذه الطريقة من خلال :-

- عزل الفطر L.lundbergii من يرقات البعوض Cx.quinquefasciatus ويعد تهيأة الوسط الملائم للعزل في المختبر وتنميته وإكثاره على الأوساط الحيوية .
- الاختبار الحيوي لمعلقات الفطر L.lundbergii على البعوضة Cx.quinquefasciatus
- الأختبار الحيوي لتراكيز مختلفة من نواتج الأيض الثانوية الخام للفطر .

استعراض المراجع

2-1 البعوض

يعد البعوض Cx.quinquefasciatus إلى العويلة Culicinae ومن العائلة Culicidae

التابعة إلى رتبة ثنائية الأجنحة Diptera (أبو الحب 1979) حيث ينتشر في العراق بكثرة ولا سيما في المناطق الجنوبية والوسطى ويتوفر في المدينة أكثر منه في الريف لأنه من الأنواع المحبة للإنسان ويعيش بالقرب منه مما حدا بعض الباحثين بتسمية البعوضة المنزلية House mosquito (جرجيس ، امين ، 1987) وأشار Choldi and Ouda 1986)) إلى أن هذه البعوضة تكثر في البرك المفتوحة والمياه الراكدة أو في المياه ذات المحتوى المعتدل من المواد العضوية ، كما أضاف عبد القادر 2000 إلى وجوده في مياه المجاري الثقيلة والتي أحتوت على نسبة عالية من النتروجين (17.6 - 12.5 ملغم \ لتر) ويتقدم فيها الأوكسجين وأن هذا النوع من البعوض تفضل مياه المجاري ذات التركيز العالي من النتروجين قد يكون السبب الذي جعل هذا النوع قريب من مناطق سكن الإنسان ، وصفت دورة حياة البعوض Culex حيث تضع الأنثى البيض على شكل قوارب يتكون كل واحد منها من 30- 300 بيضة تفقس البيوض عن يرقات تمر بأربع أطوار للتحول إلى عذراء نشطة غير متغذية تنسلخ بعدها إلى بالغة ، الذكور تتغذى على المواد السكرية في حين الأناث على الدم المختلف من المضائف الفقرية (ميرفس ، 1984) ومنها الإنسان ومن هنا جاءت الأهمية الطبية والصحية لهذا النوع من البعوض والتي تمثل بما يأتي الازعاج والضرر من جراء خسارة الدم والحكة والحساسية ونقل العديد من المسببات المرضية حيث عزل فايروس Chikungunya الذي يسبب الام مفاصل حادة في الإنسان وقد تم عزله في أفريقيا وتايلند من بعوض Cx.quinquefasciatus فضلاً عن عزل فايروس التهاب الدماغ الغربي Western encephalitis من هذا البعوض .

وذكر (Gillet1972) أن هذا البعوض ينقل مرض التهاب السحايا st.louis Encephalitis وذكرت 1975 WHO أن هذه الحشرة تعد ناقلاً للممرضات المسببة لحمى وادي الرفت Fever Vally Raft وفي مجال نقل الديدان الخيطية أشار ابو الحب 1979 إلى أن هذه الحشرة تعد ناقلاً للديدان الخيطية Dirofilaria immitis say واوضح Wichermesingh and Mendis 1980 ان لها دور في نقل الديدان الخطية من نوع Wucher eria bancrofti المسببة لمرض الفيلاريا (داء الفيل) أما في العراق فلم يسجل هذا البعوض ناقلاً لمسببات

الأمـراض الا أنهـا سـجلت فـي العديـد مـن بلـدان العـالم لعديـد مـن الطفيليـات ومختلـف الرواشح (الفيصل وزيا 1986)

2-2 طرائق المكافحة

2-2-1 المكافحة الكيميائية :-

من بداية أكتشاف المبيدات العضوية ولغاية الأن فأن الأنظار تتجه اليها عند الحاجة للمكافحة وذلك لسرعة تأثيرها وسهولة استعمالها رغم التحذيرات من فرطها وأخذت برامج السيطرة على البعوض استعمال هذه المبيدات التي تعود إلى مجاميع كيماوية مختلفة مجالاً واسعاً في مكافحة أدوار المختلفة والمركبات لا عضوية استخدم أخضر باريس Paris green في مكافحة يرقات البعوض والمركبات العضوية حيث استعملت الزيوت البترولية (العادل وعبد ، 1979) أن المشتقات النفطية كالأسود والأبيض وزيت الديزل استعملت رشاً لسنوات على مسطحات المائية لتشل الأدوار المائية للبعوض وأن اكتشاف مركب DDT الذي استعمل 1940 في مكافحة يرقات البعوض ساهم في القضاء على الملاريا في عدة مناطق ومن اهم مواصفات هذه المواد هي التأثير المتبقي طويل الأمد ونتيجة الاستعمال المتكرر والأسلوب الخاطئ العلمي في التطبيق أدى ظهور مشاكل ومنها ثبات هذه المواد في التربة وانسجة الحيوان والنبات وتبقى سامة ومؤثرة ولا تتأثر أو تتحلل بسرعة فضلاً عن ظهور مقاومة الحشرات لاسيما البعوض لعدد من هذه المبيدات .

أن البعوض Cx.pipiens أظهر في العديد من المناطق مقاومة للمبيدات الحشرية الفسفورية العضوية وأن بعوض Cx.quinquefasciatus قد يمتلك مقاومة للمبيدات الفسفورية وفي بحث أجراه كبيس واخرون 1987 استعمل فيه ثلاث مبيدات بيروترويدية هي سوماسيين ودلتامترين والسايبرمترين أوضحت النتائج أن يرقات العمر الثالث أكثر حساسيية للمبيدات من العمر اليرقي السادس.

2-2-2 المكافحة الحيوية :- وتشمل

١- المفترسات predators

أ- الأسماك :- تعد الأسماك من أكثر المفترسات السائدة ليرقات البعوض وقد استعمل أنواع من أجناس مختلفة في مجال المكافحة الحيوية الا أن تحت النوعين affinis Gamhosia و G.Affinis holo brookii قد استعملت على نطاق واسع من أي نوع أخر حيث أثبت عليها في بعض المناطق (Misch,1985)(عبد القادر1994) .

ب - الحشرات :- توجد أنواع عديدة من الحشرات المفترسة للبعوض وذكر (Service, 1967) أن هناك حشرات مائية مفترسة للبعوض Micro Covicola Paravili amyers (Family : Uellidae) وأشار جرجيس وأمين (1987) إلى أستعمال البعوض Coenagrion puella تكون ذات قابلية افتراسية عالية ليرقات البعوض وتعد حشرة Noloneda undulate من الا مفترسات المهمة ليرقات الطور الثاني من البعوض .

٢- الطيور

حيث لوحظ أفتراس بالغات البعوض بواسطة Apusapus وطير السنونو Hirundo rustica (Medlock and Snaw , 2008)

٣- الديدان الثعبانية الممرضة للحشرات Entomopathogenic مثل Culicimermis schakhovii ,Octomyomermis musprat

٤- الأحياء المجهرية الممرضة للحشرات

Entomopathogenic micro organism

الفطريات الممرضة للحشرات

تتوزع الفطريات الممرضة للحشرات على أربع شعب هي البازيدية Basidiomycota والكيسية Ascomycota والاقحية Zygomycota والناقصة Deuteromycota (samsonetal,1988)

3-2 شعبة الفطريات الكيسية Ascomycota

تعد هذه الشعبة من بين أكبر الشعب في مملكة الفطريات وتظم هذه أصناف ومنها Sordariomycetes الذي كان يعرف بـ Pyrenomyceltes بسبب أنتاجها السبورات الكيسية داخل أجسام ثمرية Perithecia كروية إلى دورقية الشكل تقريباً ومن الرتب المهمة التي تعود إلى هذا الصنف هي رتبة Ophiostimatalis التي تظم عدة أجناس من الفطريات الممرضة تمتاز بأن بعضها يتكاثر لا جنسياً ويطلق عليها Anamorphic

2-3-1 الفطر **Leptographium lundbergii lagerband melin**

2-1-3-2 تصنيف الفطر

أن التصنيف المعقد للفطر على وفق ما جاء به (Logerband Melin)

Kindom: fung
Sobkindom: Diakarya
Phylum: Ascomycote
Class: Sordariomycetes
Order: Ophiostomatales
Family: Ophiostomataceas
Genus: Leptorgraphium
Spocies: lundberg

2-1-3-2 صفات الفطر L.lundbergii

يعد هذا الفطر من الفطريات التربة وقد عزل من بالقات خنافس القلف Bark beetle وتدعى الأمراض التي يسببها هذا الفطر بأمراض الصبغة السوداء لآن مسفرات هذا الفطر تكون رصاصية مائلة للأسود ويتميز هذا الفطر بخصائص عدة منها نموه الواسع في الأوساط الزراعية بسهولة وإنتاج إعداد هائلة من الأبواغ التي تكون ذات فعالية عالية ضد الحشرات وأنتاجه للصبغات كما يمتاز بانتشار جيد والبقاء طويلاً تحت ظروف غير ملائمة في غياب المضائف حيث يمكن البقاء في التربة لأكثر من سنة .

لقد أفترض Jacobsatal 2001 ان علاقة هذا الفطر بالحشرة هي :-

١- أما أن يرافق الحشرة التي تصادفه وبذلك عد شيئاً ضاراً في بيئة الحشرة

٢- أو ينتقل بواسطة حشرة مقابل أولية لها فقد يكون مصدر للغذاء ، أو لد دور بسيط في نموها

الجـــــــــدول يوضـــــــــح انـــــــــواع الجـــــــــنس leptographiun والحشرات المرافقة لها

رقم الجدول (٢-١)

Patlnogen	Host	ReFernee
L.lundbergii	Hy lasts an gustatus orthotomicus erosus Hylarogus ligniperde.	Zhou etal,2001
L.truncatum	H.lgeniperdae	Zhou etal,2004
L.terbantus	Dendroctonas Jeffei D.ponderosa	Whitneyand farris 1970
L. guttulatum	Tomicus .sp ltlign perda ltylastsp	Roman etal ,2007
L.serpeus	Ltylastssp	Jacobs etal., 2001
L.pyrinum	Dendoctonas adjunctus	Six and Pian 1996
L. yunnanenes	Dendro ctonas vaens	Zhou etal,2000

.

2-3-1-3 آلية إصابة الفطر

تشمل الإصابة بالفطر L.lundbergii المراحل التالية :-

١- مرحلة التصاق الأبواغ بالمضيف Conidia attachment to host ان المرحلة الأساسية للأصابة هي ملامسة البوغ للمضيف وأن هذه العملية تتأثر بالمكونات الكيميائية للطبقات الخارجية لكل من البوغ وكيوتكل الحشرة أذ أن أبواغ هذا الفطر تكون محبة للماء حيث ترتبط بكيوتكل المضيف بواسطة ارتباط القوى المحبة للماء (Hajak 1997)

٢- مرحلة الأنبات وأختراق الكيوتكل Germinationand Pentration وفي هذه المرحلة يحدث أنبات البوغ وتكوين الأنبوب الجرثومي Germ tube وهذه المرحلة تحدث خلال ساعات قليلة ربما حدثت بمساعدة عوامل تضمن عوامل حيوية وغير حيوية مثل درجة الحرارة المثلى ، إذ يجب أن تكون قادرة على النبات والنمو في درجات واسعة واينما يظهر مجتمع الأفة .

٣- النمو والتكاثر داخل المضيف Growth and Proliferation within

تحت ظروف البيئة الملائمة يستانف نمو الغزل الفطري وتنمو الخيوط الفطرية بعد موت المضيف إلى مستعمرات على سطحه .

2-3-1-4 دور الفطر في المكافحة

لم يذكر استعمال هذا الفطر في مكافحة الافات الحشرية في الأبحاث السابقة وأن المعلومات حوله ندرة بالرغم من التقصي ولمدة غير قصيرة في شبكة المعلومات العالمية (الانترنيت) والمجلات العلمية ذات الأختصاص وأنما ذكر كونه غير ممرض للنبات أو قليل المرضية (Kanek and Harrington 1990) وذكر Harrington أن الفطر المذكور يصيب جذور النباتات الصنوبرية مسبباً لها مرض الصبغة السوداء ذكر (Zhou etal,2002) أن الفطر لم يكن مسبباً رئيسياً لأمراض النباتات بينما الحشرات التي ترافقه يكون تأثيرها أشد على النبات ومن جانب أخر ذكر (Klepzingel,2010) أن هذا الفطر يؤثر في الحشرات إذ تصبح الحشرة ضعيفة منحنية وتموت بعد فترة من الزمن .

2-2-3 المكافحة باستعمال منظمات النمو الحشري Insect growth regulators
أن منضمات النمو الحشري هي مواد كيميائية تتداخل مع بعض الأنظمة الوظيفية في الحشرات مما يؤثر على نموها وتطورها وتكاثرها دون غيرها من الكائنات الحية وعليه فهي ذات تخصص نوعي لكونها تؤثر بتراكيز واطئة جداُ تصل إلى أقل من 1 مايكروكرام \ لتر وذات فعالية عالية في هلاك الحشرات المعاملة وهذه ميزة مهمة من الناحية البيئية والاقتصادية يوجد هناك نوعان من هذه المنظمات هي نظير هرمون الحب الذي يدخل في عملية ويؤدي إلى الأنسلاخ الميكي والنوع الاخر مثبطات تغليف الكاتيين أبدت مستوى عالي من الفاعلية في الحد من التكاثر وأنتشار الحشرات ومنها البعوض ومن خلال قدرتها على تثبيط النمو الجنيني داخل البيض وتعمل على أعاقة نمو وأنسلاخ اليرقات وحدوث تشوهات معدودة في الأطوار اليرقية .

أن مثبط تكوين الكايتيين Cyromyzine يسبب تشوهات مظهرية عديدة في بعوض Cx.quinqufasciatus عند معادلة يرقات الطور الرابع يعد الكاتيين من أهم مكونات جدار الحجم وهو عبارة عن سلسلة من الوحدات (NAGA) ويتركز وجود الكايثين في طبقة الكيوتكل الداخلية ويبدأ تكوينه من سكر الكلوكوز أذ يمر بمراحل مختلفة والمرحلة الاخير لتكوين الكايثين هي مرحلة البلمرة Polymevization وفي هذه المرحل يبدأ عمل الأنزيم Chtin Synthetase وضيفته أضافة NAGA إلى نهاية سلسلة الكايثين لحين أكتمالها يمتاز مثبط تكوين الكايتين Dimlin بفعالية السيطرة على افات حشرية مختلفة .

4-2-2 المكافحة الوراثية

هي عمليات تعديل وتبديل التكوين الوراثي الأفة الحشرية بصورة كافة وذلك لجعلها أقل نشاطاً أو عقيمة لفرض مقاومة أو أستئصال الحشرات عن طريق أرباك الوظيفة الوراثية لنوى النطف أو البويضات أو استعمال الهجائن العقيمة .

5-2-2 المكافحة بطريقة الهرمونات الحشرية

الهرمونات هي مواد كيماوية لها أهمية في عملية التحول والأنسلاخ وتكوين الكيوتكل الجديد له تأثيرات خاصة في مجال التكاثر لنمو المبايض والبويضات تستعمل في مكافحة الحشرات تمتاز عالية وانتخابية عالية جداً على الأنواع وتعد الثديات والطيور.

6-2-2 المكافحة المتكاملة

هو اسلوب جديد للمكافحة مع أقل قدر من المشاكل والأضرار وتعني أساساً استخدام مختلف طرائق المقاومة بحيث يسمح ببقاء الافات الضارة في مستوى يمكن تحمله أو دون الحد الاقتصادي .

٣-المواد وطرائق العمل

3-1 إعداد المزرعة الدائمية لبعوضة Cx.quinquefasciatus

لغرض الحصول على مزرعة دائمية نقية نقلت العذارى المتكونة حديثاً لبعوضة Cx.quinquefasciatus بواسطة قطارة عريضة الفجوة إلى أواني بلاستيكية أودعت في قفص مكعب الشكل طول ضلعه 1.5 م مغلف بقماش ووضعت بداخل أطباق بتري نحوي قطناً مشبعاً بمحلول سكري 10% لغرض تغذية البالغات أعداد شرائح للبالغات لغرض التشخيص وحسب الصفات التصنيفية الواردة في المفاتيح التصنيفية (Abulhab1968) (عبد القادر 2000) ثم تأكيد تشخيصها من قبل الاستاذ المساعد غيداء عباس / كلية الطب البيطري جامعة القادسية على أنها Cx.quinquefasciatus وللحصول على قوارب البيض أتبعت طريقة Mohsen amd Mohdi 1989 حيث غذيت البالغات بعد ثلاثة أيام من بزوغها على دم حمامة أنتزع ريشها من منطقة الصدر والبطن بعدها وثق جناحها وربطت رجليها ووضعت وفق قفص التربية طوال الليل كما وضع داخل القفص أناء ماء صغير ليكون محلاً لوضع البيض ثم عزل كل قارب بيض لوحده في أناء بلاستيكي سعة 650 مل يحتوي على 500مل ماء خال من الكلور ، وبعد فقس البيوض وغذيت اليرقات وثم متابعتها حتى ظهور البالغات وحذراً من حصول التعفن روعي تبديل الماء كل ثلاثة أيام (قدوري 1993) وهكذا كررت الطريقة حتى ظهور الجيل الثالث .

3-2 الأوساط الزرعية

3-2-1 الأوساط الزرعية للفطر L.lundbergii :-

تم التقصي على الفطريات التي تصيب يرقات البعوض وتنميتها في مختبر حيث استعملت عدد من الأوساط الزراعية لهذا الغرض منها :-

3-2-1-1 وسط Emerson Yppsagar (Thennis1971) يتكون هذا الوسط من المواد التالية

- 4 غم خلاصة الخميرة Yeast eaxtract
- 15 غم نشاء Starch
- 1غم فوسفات البوتاسيوم ثنائية الهيدروجين Kh_2Po_4
- 0.5 غم كبريتات المغنيسيوم $Mgso_4$
- 20 غم أكار Agar

أذيبت هذه المواد بحسب الكميات الموصى بها في لتر من الماء المقطر والمعقم في دورق زجاجي سعة 1لتر وعقم الوسط بجهاز الموحدة بدرجة حرارة 121م وضغط 15 باوند \ أنج^2 لمدة 15 دقيقة ثم ترك الوس\ ليبرد ثم أضيف له المضاد الحيوي chloromphenicol بمقدار 250ملغم\لتر ثم صب الوسط بأطباق بتري بقطر 9سم وترك ليتصلب ، بعد ذلك الأطباق لنمو الفطري من مزرعة الفطر (stock culture) الفمهيأة مسبقاً بواسطة أبرة معقمة وحضنت بدرجة حرارة 25 -+ 2 م ^{5} لمدة 7أيام .

كما استعمل وسط Emerson ypps broth لغرض أكثار الفطر والمكون من مكونات الوسط المذكور ولكن بدون أضافة الأكار .

2-1-2-3 وسط

Potato Dextrose agar (DDA) with Sucrose(Harrington 1992)

ويتكون هذا الوسط من :-

- 200غم بطاطا Potato
- 10 غم دكستروز Dextrose
- 15 غم أكار agar
- 40 غم سكروز Sucrose

وقد تم تحضيره كما في الفقرة (3-2-1-1)

3-1-2-3 وسط cyclo heximid streplomy cinmalt agar (SMA) (Hick etal, 1980 Harrimgton 1981)

يتكون هذا الوسك من

- 10غم خلاصة اللحم malt extract
- 200ملغم سايكلو hexomid cycho
- 100ملغم streptomycin sulfate
- 15 غم أكار agar

وقد تم تحضير الوسط كما في الفقرة (3-2-1-1)

3-3 خطوات عزل الفطري

3-3-1-3-2 جمع اليرقات المصابة Cadaver

جمعت مختلف الأطوار اليرقية من مياه البرك والمستنقعات والمبازل من مواقع مختلفة من مدينة الديوانية خلال شهرين تشرين الأول لعام 2010 وبالطريقة سابقة الذكر في الفقرة (3-1) ثم فحصت العينات للتقصي عن اليرقات المصابة بالفطر وذلك بالاعتماد على تغير لون اليرقة (Cey and Brookal 2007) أخذت اليرقات المصابة والميتة وعقمت بغمرها في كحول الأيثانول 70% ولمدة 10ثواني ثم نقلت إلى محلول هيبوكلورات الصوديوم 5% لمدة دقيقتين ثم غسلت بماء مقطر معقم وضعت على ورق ترشيح معقم ونقلت بواسطة ملقط معقم إلى أطباق بثري حاوية على الوسط الخاص بعزل الفطر L.lundbergii وحفظت الأطباق في حاضنة بدرجة حرارة 25+ - 2 م^5 امدة 9 أيام (Lgnon: martand milstead 1960)

3-3-2 تشخيص ووصف الفطر L.lundbergii

أخذ جزء صغير من النحو الفطري ووضع على شريحة زجاجية ثم وضعت قطرة من الماء المقطر ثم وضع غطاء الشريحة وفحص تحت المجهر الضوئي وتم تشخيص الفطر بالاعتماد على المفتاح التصنيفي (Ellis1971) .

3-3-3 حفظ عزلة الفطر L.lundbergii

هيأت أنابيب سعة 15 مل حاوية على وسط Emersonypps agar ووضع في كل منها لقاح داخل فسحة سبق عملها في الطبقة السطحية للوسط الزراعي بوسطة أبرة معقمة ووضعت الانابيب بصورة مائلة في الحاضنة بدرجة حرارة 25- + 2 م لمدة 7 أيام وبعدها حفظت تلك الانابيب في الثلاجة بدرجة حرارة 4م (Cavaclanti 1991).

4-3 تحضير المعلق الفطري

تم تنمية الفطر على 150مل من وسط Emersonypps broth في دوارق سعة كل منها 250مل وحضنت الدوارق بدرجة حرارة 2 - + 25 م° لمدة 7 أيام وكانت ترج يومياً لتوزيع النمو الفطري بعدها رشحت المزرعة بواسطة قطعة من الشاش وأخذ 1مل من الراشح ووضع على شريحة عدد الابواغ lmproved Neubauer

Haemcytometer حيث تم الحصول على تراكيز بوغ \ مل (ingilis and Gottel 1997) ولغرض الحصول على تركيز 1مل طبقت المعادلة (lacey 1997)

الحجم المأخوذ من المعلق الأصلي (مل) =

ثم يضرب الناتج في حجم المعلق المطلوب تحضيره وهكذا حضرت التراكيز

5-3 الاختبار الحيوي Bioassay

1-5-3 الاختبار الحيوي لمختلف تراكيز معلق الفطر L.lundbergii في مختلف ادوار حياة البعوض Cx.quinquefasciatus

1-1-5-3 الاختبار الحيوي في البيوض

أخذت قارب البيوض بعمر 24ساعة بعد أن وضعته أحدى أناث Cx.quinquefasciatusالمتغذية على الدم أو بيوض فرادى بعدد 100بيضة بواسطة فرشاة ناعم وضعت في أناء أبلاستيكي سعة 250 مل يحتوي على 100مل من كل تركيز من تراكيز معلق الفطري ، كما رش البيض سطحياً بالتركيز نفسه الذي وضع فيه بواسطة فرشة يدوية ولكيمة 2مل لكل من أرتفاع 15سم لضمات تعريض المعلق الفطري أما معاملة البيض تحتوي ماء مقطر ومعقم فقط ثم مراقبة البيض لحين الفقس وحسبت نسبة الهلاك (علي 2007) وصححت قيمة الهلاك بحسب معادلة and Orell Schneider (Abbot1925)

الهلاك المصححة % = × 100

2-1-5-3 الاختبار الحيوي في الأطوار اليرقية الأربعة

عزلت 40يرقة من كل طور من الأطوار الأربعة والتي هيأت كما ورد في الفقرة (3-1) لكل تركيز وزرعت على أربع أوان ثلاثة يحتوي كل منها 100مل من كل تركيز من تراكيز المعلق أما الرابع فيحتوي على ماء مقطر ومعقم فقط (للسيطرة) ، نقلت اليرقات المعاملة بعد دقيقتين بواسطة فرشاة ناعمة إلى أوان زجاجية سعة (250مل) تحتوي ماء مقطر ومعقم أضيف أليه غذاء اليرقات بمقدار 15غم\ أناء وأودعن في الحاضنة بدرجة

حرارة 2- + 25م^5 وفترة ضوئية light/dark 14/10 ساعة حسبت نسبة الهلاك يومياً ولمدة 5 أيام (Nadeeau and Baisoerd 1994) وصححت القيم كما حدث في الفقرة 3-5-1-1.

3-5-1-3 الاختبار الحيوي في دور العذراء

عزلت بعد الانسلاخ عدد من يرقات الطور الرابع لهذا النوع من البعوض وبعدد مماثل لما استعمل في تجربة كل من الأطوار كما طبقت طريقة الاختبار ذاتها في الفقرة (3-5-1-2) باستثناء عدم إضافة العليقة ومراعاة اغطية أوان المعاملات بقماش التول كثيفاً لظهور البالغات وحسبت نسبة الهلاك يومياً ولمدة 3 أيام (المحنة 2011) وصححت القيم كما في الفقرة 3-5-1-1 .

3-5-1-4 الاختبار الحيوي في البالغات

أخذت إعداد كافية من عذارى هذا النوع من المزرعة الدائمية ووضعت فرادى في أنابيب سعة (1لتر) وأغلقت بقطعة من القطن ، حتى تحولها إلى بالغات ثم هيأت بيكرات زجاجية سعة كل منها (1لتر) داخل كل منها قطعة مشبعة بمحلول سكري (10%) ووضعت في طبق بقطر 9سم ورش كل بيكر بـ (5 مل) من كل تركيز من التراكيز المعلق الفطري بواسطة مرش يدوي من أرتفاع (15 سم) تقريباً فيما رش معاملة السيطرة بالماء المقطر والمعقم وبعدها نقلت بواسطة (10بالغات) من الذكور والأناث الحديثة البزوغ إلى البيكرات المعاملة كررت هذه التجربة ثلاث مرات لكل تركيز حضنت البيكرات المعاملة في الظروف المشار اليها في الفقرة (3-5-1-2)(Scholete et al 2003) حسب نسبة الهلاك يومياً ولمدة 7 أيام صححت قيم الهلاك كما في الفقرة (3-5-1-1)

3-5-2 تحضير نواتج الايض الثانوية الخام للفطر L.lumdbegii

حضر وسط Emerson ypps broth ووزع في دورق سعة 250مل بمقدار(150مل) للدورق ولقح باقراص قطرها (0.5سم) من مزرعة الفطر بعمر 7أيام حضنت الدوارق بدرجة حرارة (2 + - 25م^5) ولمدة أسبوعين وبعده يتم الترشيح بورق الترشيح whatman No.1 ووضعت على قمع بختر وبمساعدة تفريغ الهواء واعيد الترشيح باستعمال المرشح الدقيق (12 m) وحضرت التركيز (100% 75% 50% 25%)

(Singh and prakash2010) (3-5-2-1) تأثير نواتج الأيض الثانوية الخام للفطر L.lumdbegii في الأطوار اليرقية الأربعة للبعوضة Cx.quinqufasciatus استعملت التراكيز المحضرة مسبقاً وأتبعت الطريقة المذكورة في الفقرة (3-5-1-2) حسب نسبة الهلاك يومياً ولمدة 3 أيام Nadea and Boisert 1994 وصححت قيم الهلاك كما في الفقرة (3-5-1-1)

4-النتائج والمناقشة

4-1 عزل الفطر L.lundbergii

لقد تم في الدراسة الحالية عزل الفطر L.lumdbegii من يرقات البعوض Cx.quinquefasciatus لآول مرة في العراق وتم اختبار فرضيات كوخ الأمراضية للفطر وذلك بتصويب الحشرة بالفطر ثم عزله منها كما تم تشخيصه لمستوى النمو اعتماداً على الصفات الواردة في المفتاح التصنيفي للفطريات (Ellis 1971) وشملت هذه الصفات :-

١- ظهور غزل فطري رصاصي مائل للأسود على جسم اليرقة الميته والتي تبدو وكأنها محنطة وذات جسم هش صورة (4-1) .

٢- نمو الفطر على وسط Emerson ypps كان نمو الفطر على الوسط الزرعي على هيئة مستعمرة منتشرة قطنياً ولزجة عند رفعها من على الوسط الزرعي بواسطة الناقلة المعقم ثم تحولت إلى اللون الرصاصي المائل للأسود صورة (4-2) و(4-3) وعند الفحص المجهري للفطر لوحظ أن الأبواغ تكون شفافة مستطيلة الشكل ذات أبعاد مايكروميتر (12-8)(6-3) وتتولد من الخلايا المكونة للأبواغ (Conidiogenous) التي تتميز بكونها أسطوانية منفردة وتميزت الحوامل الكونيدية بكونها متفرعة عادة وتحمل بواسطة ساق منتصبة وذات لون جوزي من الوسط صورة (4-14)

صورة (4 – 2) مستعمرة الفطر *L.lundbergii* على الوسط الزرعي Emerson Ypps agar بعمر اسبوع تحت قوة تكبير 50 x

صورة كاشيرا (4–1) يرقة *Cx.quinquefasciatus* مصابة بالفطر *L.lundbergii* تحت قوة تكبير 200 x

صورة (4 – 4) صورة مجهرية للفطر *L.lundbergii* تحت قوة تكبير *400X* *A: Conida* , B : Conidiogenous , C : *Condiophore*

صورة (4 – 3) مستعمرة الفطر *L.lundbergii* على الوسط الزرعي Emerson Ypps agar بعمر شهر تحت قوة تكبير 50 x

2-4 الاختبار الحيوي لمختلف تراكيز معلق الفطرL.lumdbegii في مختلف أدوار حياة بعوضة Cx.quinqufasciatu

4-2-1 الاختبار الحيوي في البيوض

يبين الجدول (4-1) نتائج تراكيز مختلفة من المعلق الفطري في نسب هلاك بيوض بعوضة Cx.quinqufasciatu اذ بلغت أعلاه 59.33% و 59 % عند التركيز 10^3X3 بوغ \ مل و 26% و23% عند تراكيز 10^4 X3 بوغ \ مل وعلى الترتيب نفسه بما يشير إلى وجود علاقة طردياً بين كل من التراكيز ونسب الهلاك لنوع الفطر وبلغت قيم LC_{50} $10^{5.1}X3$ و$10^{6.}$ $X3^5$10لنوع الفطر (ملحق 4-1) وهذا ما أكدت التحاليل الإحصائية ووجد المحنة 2011 عند معاملة بيوض البعوض Cx.quinqufasciatu بأبواغ الفطر M.anisopelice أدى إلى هلاك نسبة 58:66% عند التركيز X2 10^5 بوغ \ مل .

جدول (4-1) تأثير تراكيز مختلفة من معلقات الفطر L.lundbergii في بيوض Cx.quinquefasciatus

مل\ بوغ التراكيز	نسبة هلاك Cx.quinqufasciatu
10^4X3	23.00
10^5X3	33.00
10^6X3	43.00
10^7X3	56.00
Control	0.00

قيمة L.S.O تحت مستوى معنوية 0.05 حول تأثير تداخل تراكيز معلقات الفطر في نسب هلاك بيوض البعوض = 4.8

4-2-2 الاختبار الحيوي في الأطوار اليرقية الاربعة :-

يبين الجدول (4-2) تأثير تراكيز مختلفة لمعلقات الفطر في يرقات البعوض Cx.quinqufasciatus اذ كانت أعلى نسبة هلاك عند تركيز 10^7X3 والتي بلغت 93.33 ليرقات الطور الأول وسجلت أوطئ نسبة هلاك 66% عند تركيز 10^4X3

وانعدمت الهلاكات في معاملة السيطرة بما يؤكد وجود فروقات معنوية عند مستوى 0.05 للتراكيز كافة فضلاً عن العلاقة الطردية بين التركيز ونسب الهلاك ومن جانب أخر فأن لهذه العلاقة بدا واضحة بين كل من المدة الزمنية ونسبة الهلاك 50% ليرقات الطور الأول عند تراكيز10^7X3 بوغ \مل بعد 24ساعة من المعاملة وازدادت إلى 93.33% بعد 120 ساعة كما تشير النتائج إلى اختلاف حساسيية الأطوار لمختلف تراكيز المعلق البوغي اذ كان الطور الأول أشدها حساسية مقارنة مع بقية الأطوار الشكل (4-1) ولقياس ضراوة فطر المقاومة حسبت قيمة LC_{50}وLC_{90} اللذان يمثلان القيمة الاساسية في طرائق الاختبار الحيوي (Popieerok and Hajeck 1997) حيث يلاحظ الزيادة التدريجية في قيمها مع تقدم الطور واختلاف قيمها لكل من الأطوار أن تعريض يرقات الطور الأول لبعوض Cx.quinqufasciatus لأبواغ الفطر Mianisopeliae بتركيز x2 ^{5} 10بوغ \ مل أدى إلى هلاكها بنسبة 100% و93% بعد مرور خمسة أيام فضلاً عن الجهاز المناعي لليرقات يستطيع الدفاع عن الجسم فقط عند التراكيز الواطئة وعند زيادة التركيز يفقد الجهاز المناعي كفاءته (Scholete et al 2003) أن تعريض يرقات الطور الثالث لبعوض Cx.quinqufasciatu لأبواغ الفطر Bibassiana بتركيز 10^8x1 أدى إلى هلاكها بنسبة ١٠٠% خلال يومين ونسبة هلاك بلغت ٩٧,١٧% بتركيز ١٠^{٧}x1 بوغ \مل بعدد مرور خمسة أيام (Gayathr et al 2010) ،

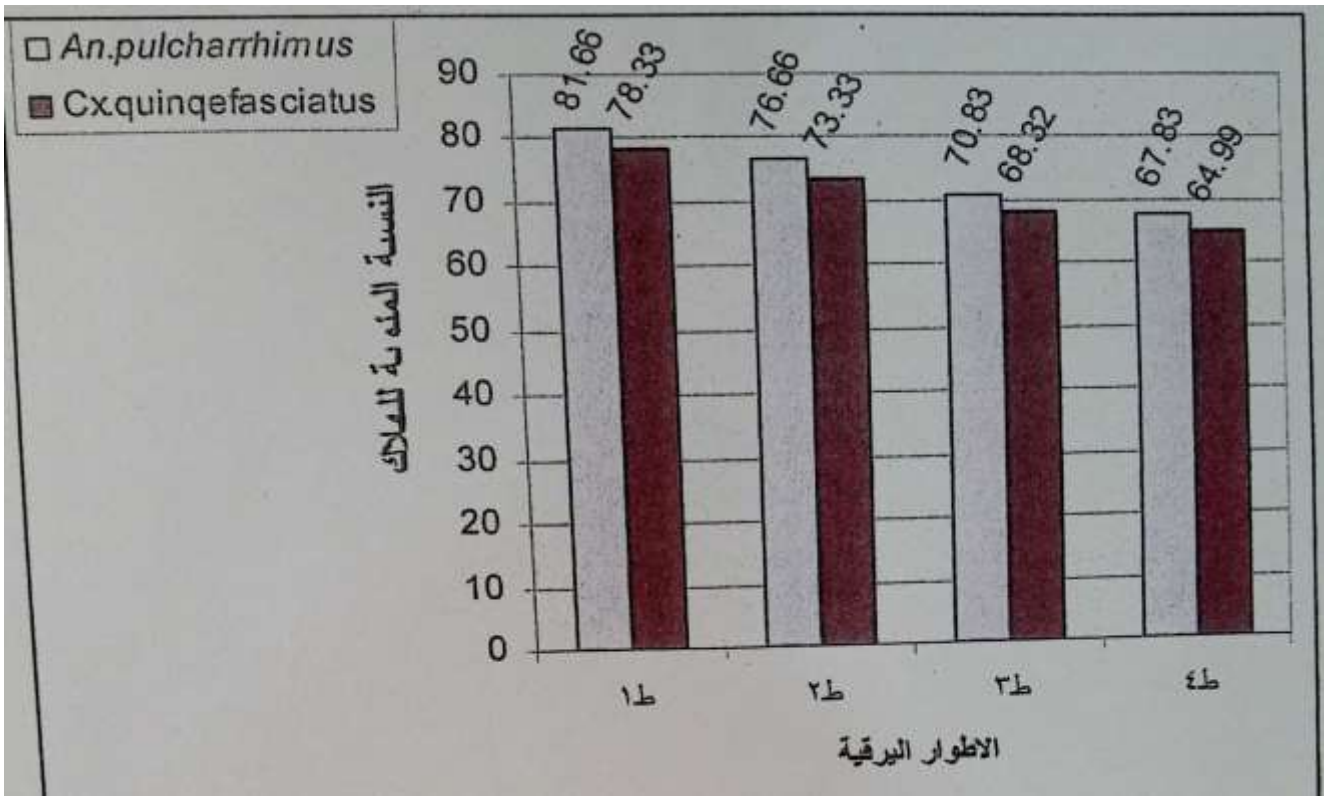
جدول (٤-٢)

تأثير التراكيز المختلفة من معلقات فطر L.lundbergii في الأطوار اليرقية لبعوض Cx.quinqufasciatu

الطور	التركيز بوغ / مل	النسبة المؤية للهلاك (ساعة)		
		24	72	120
الطور الاول	10^4X3	20.00	43.33	60.00
	10^5X3	26.66	53.33	73.83
	10^6X3	50.00	60.00	86.66
	10^7X3	50.00	70.00	93.33
	Control	0	0	0
الطور الثاني	10^4X3	16.66	40.00	53.33
	10^5X3	23.00	46.66	70.00
	10^6X3	33.33	56.66	80.00
	10^7X3	43.33	60.00	90.00
	Control	0	0	0
الطور الثالث	10^4X3	16.66	33.33	46.66
	10^5X3	20.00	40.00	66.66
	10^6X3	30.00	50.00	73.33
	10^7X3	33.33	53.33	86.86
	Control	0	0	0
الطور الرابع	10^4X3	13.33	26.66	13.33
	10^5X3	16.66	60.00	20.00
	10^6X3	26.66	73.33	30.00
	10^7X3	33.33	83.33	36.66
	Control	0	0	0

قيمة L.S.D تحت مستوى معنوية ٠,٠٥ حول تأثير تداخل تراكيز المعلق الفطري والمدة الزمنية في نسب هلاك الأطوار اليرقية الأربعة = ٢,٢٢

ألشكل (٤-١)



3-2-4 الاختبار الحيوي في دور الغذاء

يشير الجدول (3.4) الى تأثير تراكيز مختلفة من المعلق الفطري في عذاري البعوضة. Cx.quinquefasciatus صورة (5.4) سجلت اعلى نسبة هلاك عند التركيز 3×10^7 والتي بلغت 50% لعذارى الكيولكس وسجلت ابطأ نسبة هلاك 0.23.33 عند تركيز 3×10^4 بينما انعدمت الهلاكات في معاملة السيطرة وتشبه العلاقة بين التراكيز ونسبة الهلاك مع ما حصل مع الاطوار اليرقية بين الملحق (4-1) قيم التركيز اللازم لهلاك نصف العدد من عذارى البعوضة دعمت هذه النتائج احصائياً من خلال الفروقات المعنوية بين المعاملات . أكد المحنة (2011) ان تعريض عذارى بعوض Cx.quinquefasciatus لأبواغ الفطر M.anisopeliae بتركيز 2×10^5 ادى الى هلاك بنسبة 46.66% ويعود السبب الى هلاك عذارى البعوض الى انها تتطلب مدة اقصى لكي تتحول الى بالغة اي تستطيع الافلات من الفطر كما ان كيوتيكل العذارى اكثر صلابة من الاطوار اليرقية الاربعة (Nuakumusana1985) .

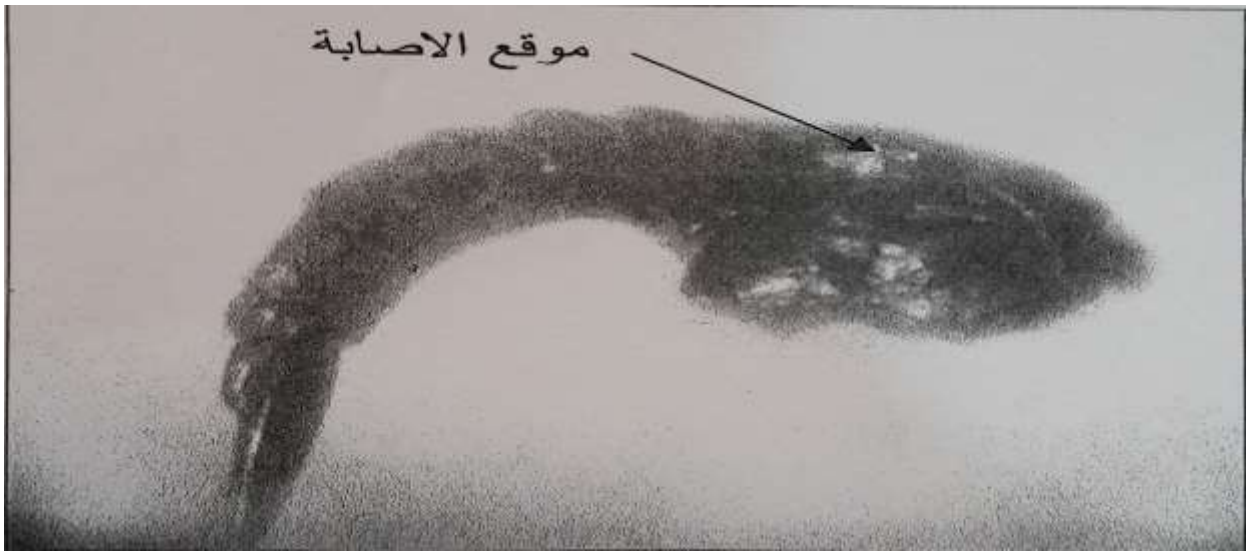
جـدول (3.4)تـأثير تراكيـز مختلفـة مـن المعلـق الفطـري فـي دور العـذراء لبعـوض Cx.quinquefasciatus

التركيز بوغ /مل	النسبة المئوية لهلاك (ساعة)		
	24	48	72
$10^4 \times 3$	13.33	23.33	23.33
$10^5 \times 3$	20.00	26.33	33.33
$10^6 \times 3$	23.33	40.00	40.00
$10^7 \times 3$	26.66	50.00	50.00
Control	0	0	0

قيمة LSD تحت مستوى معنوية 0.05 للتدخل بين التراكيز والمدة الزمنية بنسبة هلاك العذارى =5.61

4-2-4 الاختبار الحيوي في البالغات

اشـار الجـدول (4.4) الـى تـأثير تراكيـز مختلفـة مـن المعلـق الفطـري فـي بالغـات بعوضـة Cx.quinquefasciatus صورة (5.4)



حيث دلت النتائج ان اعلى نسبة هلاك سجلت عند التركيز 3×10^7 بوغ/مل لكل من الذكور والاناث كانت نسبة هلاك الذكور 90% والاناث 86.66% بعد مرور 168 ساعة

وسجلت ابطأ نسبة هلاك عند التركيز 3×10^4 بوغ/ مل حيث كانت نسبة هلاك الذكور والاناث 53.33% و50% في المدة نفسها ولم تسجل هلاكات في المعاملة السيطرة وان العلاقة بين تراكيز المعلق الفطري وكل من نسب الهلاك ومدة التعريض كما كانت طردية

أما بخصوص حساسية جنس الحشرة يوضح الشكل (2.4) .

أن نسبة هلاك ذكور Cx.quinquefasciatus مما ادى الى هلاكها جميعاً خلال خمسة ايام واضاف ان نسبة هلاك ذكور Cx.quinquefasciatus بلغت 100% بعد مرور ستة ايام والاناث بعد مرور سبعة ايام وان استعمال الفطر Fusarium . Pallidoros حد اناث Cx.quinquefasciatus يؤدي الى هلاكها جميعاً خلال خمسة ايام (Mohantyetal 2008) وتتفاوض في الوقت نفسه مع ما وجدة (1998) Maniania and Oudulaja مع ذبابة الشي الشي G.morsitans morsitans عند تعريضها لأبواغ الفطر M.anisoplia حيث اكد ان الاناث تكون اكثر حساسية للإصابة بالفطر من الذكور حيث كانت نسبة هلاكها 98.8% للإناث و89.6% للذكور .

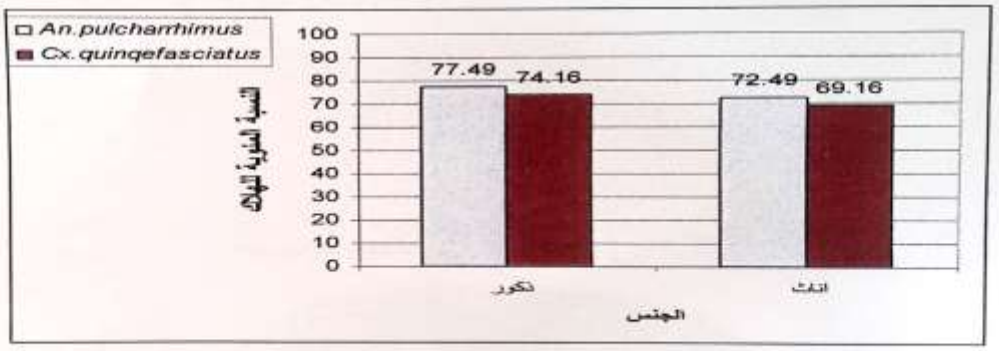
جدول(4.4)تأثير تراكيز مختلفة من المعلق الفطري في ذكور واناث بعوضة

Cx .quinquefasciatus

التراكيز	24		72		120		168	
بوغ/ مل	ذكور	اناث	ذكور	اناث	ذكور	اناث	ذكور	اناث
3×10^4	10.00	6.66	23.33	16.66	46.66	40.00	53.33	50.00
3×10^5	13.33	10.00	40.00	20.00	53.33	53.33	66.66	63.33
3×10^6	20.00	16.66	50.00	40.00	66.66	66.66	80.00	76.66
3×10^7	30.00	20.00	63.33	56.66	76.66	76.66	90.00	86.66
control	0	0	0	0	0	0	0	0

أن قيمة LSD تحت مستوى معنوية 0.05 للتداخل بين التراكيز والمدة الزمنية لذكور واناث =2.60

صورة كاميرا(4–6) بالغة *Cx.quinquefasciatus* مصابة بالفطر *L.lundbergii* تحت قوة تكبير 200 x



شكل (4 – 2) حساسية ذكور واناث *Cx.quinquefasciatus* و *An.pulcharrhimus* لمعلق الفطر *L.lundbergii*

4-3-1 تأثير نواتج الايض الثانوية الخام للفطر في الاطوار اليرقية الاربعة لبعوضة Cx.quinquefasciatus

يوضح الجدول (5.4) تأثير تراكيز مختلفة من نواتج الارض الثانوية في الاطوار اليرقية الاربعة لبعوضة Cx.quinquefasciatus حيث يسبب التركيز 100% أقصى نسبة هلاك في يرقات الطور الاول والتي بلغت 96.66% ليرقات الكيولكس بعد 72 ساعة بينما سجل التركيز 25% اوطأ نسبة هلاك بلغت 63.33 ليرقات البعوضة وانعدمت الهلاكات في معاملة السيطرة واتخذت العلاقة بين التركيز ونسبة الهلاك منحني مشابهاً لما حصل مع استعمال المعلف الفطري فضلاً عن الحساسية الاطوار وشكل (3.4) ويشير التحليل الاحصائي الى وجود فروقات معنوية بين التراكيز هذا وبين الملحق (1.4)قيم و لنواتج الايض الثانوية الخام للفطر في هلاك الاطوار اليرقية ان يرقات Trichophytonelloi بالاعتماد على قيم 16.25 ليرقات الطور الاول للكيولكس .

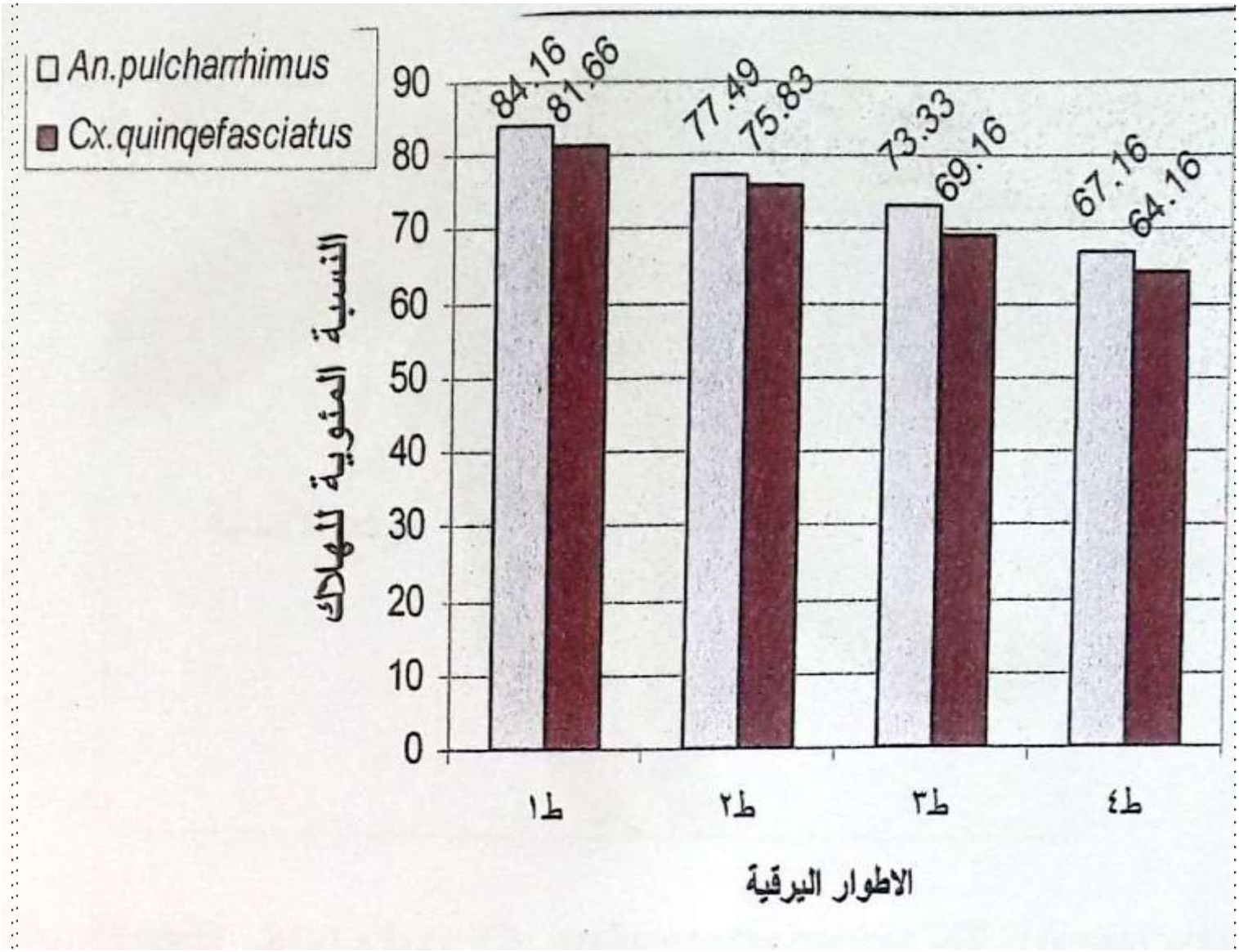
اضاف vegas etal (2007) ان استعمال نواتج الفطر L.giganteum ضد يرقات الطور الاول Cx.quinquefasciatus ادى الى هلاكها جميعاً بعد 24 ساعة وبالتركيز 2.17 جزء بالمليون اتفقت النتائج الحالية مع ما توصل اليه Singh and Pxakash (2010) بأن يرقات الكيولكس اقل حساسية لنواتج الارض الثانوية الخام للفطر B.bassians وان تعريض يرقات الطور الاول لبعوض الكيولكس لنواتج الايض الثانوية الخام للفطر M.anisoplia بتركيز 100% فأن الهلاك بلغت 96.66% تمتاز نواتج الايض الثانوية بقابليتها على التداخل مع الجهاز المناعي وتسببت بتغيرات في سلوك المضيف مثل خفض النشاط وشلل الحشرة وقلة التغذي وتغيرات في تراكيب الانسجة وبالتالي الموت السريع للمضيف (Charuley2003) .

جـدول (4-5) تـأثير تراكيـز مختلفـة مـن النـواتج الأيـض الثانويـة الخـام للفطـر L.lundbergii في الأطوار اليرقية الأربعة لبعوض Cx.quinquefasciatus

الطور	التركيز بوغ / مل	النسبة المؤية للهلاك (ساعة)		
		24	72	120
الطور الاول	25	33.33	63.33	63.33
	50	46.66	63.33	76.66
	75	56.66	73.33	90.00
	100	70.00	80.00	96.66
	Control	0	0	0
الطور الثاني	25	30.00	40.00	60.00
	50	33.33	53.33	70.00
	75	56.66	70.00	83.33
	100	60.00	80.00	90.00
	Control	0	0	0
الطور الثالث	25	26.66	33.33	53.33
	50	30.00	43.33	63.33
	75	50.00	60.00	76.66
	100	53.33	60.00	83.33
	Control	0	0	0
الطور الرابع	25	23.33	33.33	46.66
	50	30.00	43.33	56.66
	75	43.33	56.66	70.00
	100	46.33	63.33	83.33
	Control	0	0	0

قيمة L.S.D تحت مستوى معنوية 0.05 للتداخل بين تراكيز والمدة الزمنية الأطوار اليرقية الأربعة = 3.92 .

الشكل(٤-٣)


An.pulcharrhimus
Cx.quinqefasciatus
النسبة المئوية للهلاك
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
84.16
81.66
77.49
75.83
73.33
69.16
67.16
64.16
ط١
ط٢
ط٣
ط٤
الاطوار اليرقية

الاستنتاجات :-

١- ان الفطـر : Leptographium lundbergii يصـيب يرقـات البعـوض بصـورة طبيعية في البيئات المائية ويؤثر في خفض إعداد الحشرة .

٢- أثرت تراكيز المعلق الفطري ونواتج الايض الثانوية ألحام تأثيراً واضحاً في مختلف ادوار حيـاة Cx.qinquefasciatus لكـن بصـورة متباينـة فقـد أبـدت البيـوض والعـذارى مقاومـة ملحوظـة بينمـا هلكـت اليرقـات والبالغـات بنسـبة اكبـر الا ان تأثيرها كان اكثر في النوع الثاني .

التوصيات :-

١- إجراء دراسات تفصيلية على الفطر *L.lundbergii* وتقدير إمكانية استعماله في المقاومة الحيوية لأنواع أخرى عن البعوض .

٢- محاولة دراسة عزل واستخلاص عوامل السيطرة الحيوية التي ينتجها الفطر وتحضيرها تجارياً .

٣- إجراء بحوث مستفيضة لتطوير فعالية الفطر *L.lundbergii* ولاسيما معرفة الظروف البيئية وتأثيرها في استعماله في التجارب الحقلية فضلاً عن إمكانية استعمال الفطر على أنواع أخرى من الحشرات الطبية .

٤- عزل أنواع أخرى من الفطريات المعرضة ليرقات البعوض المصابة طبيعياً وتقويم أمراضيتها .

المصادر باللغة العربية

ابو الحب , جليل كريم ١٩٩٧ الحشرات الطبية والبيطرية في العراق (القسم النظري) , كلية الزراعة , جامعة بغداد , ٤٥٠ صفحة .

الإمارة , محمد صبري جبر , ٢٠٠٩ تأثير بعض عوامل المكافحة الحيوية في بعض اوجه حياتية حشرة خنفساء الحبوب الشعرية الخابرا Trogoderma granarm (Euerts) رسالة ماجستير كلية الزراعة , جامعة البصرة , ١٠٧ صفحة .

توفيق , محمد فؤاد , ١٩٩٧ , المكافحة البايلوجية للآفات الزراعية , المكتبة الأكاديمية , الرقي , القاهرة , ٧٥٧ صفحة .

خلف , جنان مالك وعبد الوهاب , اياد عبد القادر وبنيان ليلى عبد الرحيم , ٢٠٠٤ المكافحة الاحيائية والكيميائية ليرقات البعوض Culex . quinquefasciatus (D.iptera : Culicdae) say مختبرياً , مجلة البصرة للعلوم , 22(1):46-62 .

جاسم , هناء كاظم . ٢٠٠٢ تأثير بعض عناصر المكافحة الإحيائية في السيطرة على ثاقبة الحبوب الصغرى R:hzoprtro dominica على بذور الرز . مجلة الزراعة العراقية , المجلة (٧) عدد خاص كانون الثاني , ٢٠٠٢ .

جرجيس , سالم جميل وامين , عادل حسن , ١٩٨٧ , الحشرات والعنكبوتات الطبية والبيطرية , كلية الزراعة والغابات جامعة الموصل , ٢٥٥-٢٦٥ صفحة .

الزبيدي , حمزة كاظم , ١٩٩٢ , المقاومة الحيوية للافات دار الكتب للطباعة والنشر الموصل . العراق , ٤٤٠ صفحة .

السلامي, فاطمة هاشم, ٢٠١٠ تأثير الفطر Beauveria bossiona Bols.Wuill في بعض الجوانب الحياتية للدعسوقة ذات النقاط الإحدى عشر : Coccinella undecimp un ctata Coleo ptera Coccinellidoe , رسالة ماجستير كلية العلوم للبنات , جامعة بابل , ٥٧ صفحة .

سيرفس ٦ م ٩ ١٩٨٤ , المرشد الى علم الحشرات الطبية . ترجمه علي محمد سليط زهير يونس الصفار وريـاض احمد العراقي . وزارة التعليم العالي والبحث العلمي جامعة الموصل .

العادل , خالد محمد وعبد مولود كامل , ١٩٤٩ المبيدات الكيميائية في وقاية النباتات وزارة التعليم العالي والبحث العلمي دار الكتب للطباعة والنشر , جامعة بغداد .

عبد الله , باسمة احمد والسماك , اسراء غانم , ٢٠٠٧ المكافحة الاحيائية ليرقات بعوض الكيولكس من نوع Pipiens . Culex بواسطة بعض سلالات النوعين B.sphaericus , Bacillus thuringiensis , مجلة وقاية النبات العربية , العدد ٢٥ المجلد ١ .

عبد الحميد , زيدان هندي ومحمد , ابراهيم عبد الحميد , ١٩٨٨ الاتجاهات في المبيدات ومكافحة الحشرات , الجزء الثاني التواجد البيئي والتعلم المتكامل , الدار العربية للنشر والتوزيع , ٢١٣ صفحة .

عبد القادر , اياد عبد الوهاب ١٩٩٤ . يرقات البعوض في البصرة ودور الاسماك المفترسة في مكافحتها , رسالة ماجستير , كلية الزراعة – جامعة البصرة ٩١ صفحة .

عبد القادر اياد عبد الوهاب ٢٠٠٠ , دراسة تصنيفية لعائلة البعوض Diptera:Culiadae في محافظة البصرة . اطروحة دكتوراه . علوم حياة . جامعة البصرة .

علي , هالة هيثم محمد , ٢٠٠٧ دراسة تأثير المستخلص الايثانوي لاوراق وثمار نبات الدورانثا . Duranta Repensl وفطر Beauveria bassiana على الاداء الحياتي لبعوضة Culex . Pipiens Pipiens . رسالة ماجستير . كلية العلوم للبنات – جامعة بغداد ١٣٧ صفحة .

عبيس , حمزة كاظم جواد , شعبان داود , سليمان اردیني وطه ونزار مصطفى ١٩٨٧ دراسات على دودة ثمار الفستق (عنه الطحين الهندية) مع طرق مكافحتها باستخدام مبيدات البابروتروید مجلة الرافدين المجلد (١٩) العدد ١: ٢٢١ – ٢٣٣ .
الغزالي , مشتاق طالب كريم , ١٩٩٩ الدور الحيوي لمستخلصات نباتية مختلفة الاوراق فرشاه البطل Callistemon citrinus Curtis Skeels في بعض جوانب حياتيه بعوض الكيولكس Culex . Pipinesl رسالة ماجستير . كلية العلوم – جامعة بغداد .
الفيصل , عبد الحسين موين وهيلدا حبيب زيا , ١٩٨٦ تأثير درجات الحرارة المختلفة على بعض الجوانب الحياتية للاطوار المائية للبعوض
Culex quinquefaseiatus Say , مجلة بحوث علوم الارصاد العدد (١٧) المجلد ١ , ٦٩-٧٢ .
قدوري , ندى عبد الفتاح , ١٩٩٣ تأثير نوع الغذاء اليرقات على حياتية الادوار المختلفة لبعوضة Culex . Pipiens molestus Co:ptera:Culicidoe رسالة ماجستير , كلية العلوم , الجامعة المستنصرية .
المحنة , احمد غانم نوري , ٢٠١١ , تقييم كفاءة المطر Metarhizium anisopliae Sorokin (metschnikoff) في مكافحة نوعين من البعوض (Diptera:Culicidoe) محافظة الديوانية , رسالة ماجستير , كلية العلوم , جامعة القادسية , ٦٩ صفحة .
مهدي , حياة محمد رضا , ٢٠٠٢ المكافحة الكيميائية والإحيائية للحلم ذو البقعتين Teranychus urticae (koch)
المشهداني , حسين رياض محمود , ٢٠٠٩ , لمكافحة الجرثومة للذبابة المنزلية Musca dgmestica (Diptera : culicidae) باستخدام الفطر المضاد Entomophlhaora musca رسالة ماجستير , كلية العلوم , جامعة القادسية ٦٩ صفحة .

المصادر باللغة الانكليزية :-

Abbot , 1925 , Amethod of computing the effectiveness of Insectic : de .J.E Con . Entomol . 18 . : 265 – 267 .

Abul – hub , J.K.1968 . Lavval of culicine mosquitoes of Iraq With akey for their I dentification . Bull . End – Dis . Baghdad . X (1-4) : 23 .

Ansari , MA : Razdan , R.K and Sreehari . 2005 , Laboratory and field evalvation of hilmilin against J.AM Mosq . Assoc . 21:432-436 .

Awad . T.I and M.S. Mulla , 1984 . Morphogentic and Bistofatho – logical effect of the insect growth regulation Cyromazine in Musca domes tica (D: Ptera : Muscidae) . J. Med-Entomo , 21 : 419 – 426 .

Awad , T.I. And mulla , M.S 1984 . Movphogentic and Histopatholo gical ef fect of thein sect growth regulalator Cyroma zine in larua of culex quinqua fasciatus (Diptera:Culicidae) . J . Med . Entomaol , 21:427-431 .

Bidochka , M.J. and khochatourians , G.G 1987 . Haemeocytic Defence response to the entomopatho genic Fungus Beauveria Bassianain the migratory grasshopper melanoplus sanginipes . Entomot EXP . PPPL . 45 : 151 – 156 .

Bisht , G.S , Joshi , C. and khulbe , R.D. 1996 , Watermolds : Potential biological control a gents of malaria vector Anopheles Culici facies . Carrent Science , 70:393-395 .

Blaustein , L . 1998 , In fluence of the predatory Back Swimmer notonecta macelate , on in vertebrate Community Structure Ecol , Entomol , 23:246-256 .

Bloomquist , R 1996 . Ion channels as target for insecticides . Annu Rev . Entomol , 41 : 163 – 190 .

Bocaias , D.G . and pendland . J.C. 1998 . Principle of insect Pathology . Klumer Academic . Publishers , Baston , Dordrecht , London , 537 PP .

Bradbury , S.P. and coats , 1989 . compartiue toxicology of the pyrothroids insecticides , Rev , Environ , contom , Toxicol . 108 : 148 – 177 .

Chandre , F : Darriet , F , Doannio , J.M.C , Riviere , F , I , Pasteur , N and Guillet , P . 1997 , Distribution of organ ophosphate and Carbomate resistance in Culex quin quefascitus (Diptera : Dulieidae) in west African .J . Med . Entomol , 34:664-671 .

Covaclanti , M.A.D 1991 , Vibility of Basidiomyco tina cultures Preserued in mineral oil . Rev . Latinoam . Microbiol . 32:265-268 .

Chapmen , H.C. Petersen J.J. and Fukuda , T . 1972 . Predotores and puthogens for mosquito control the American Society of Tropical med : cine and Hygiene . 777 – 781 .

Charnely . A.K . 2003 . Fangal Pathogens of insect cuticle Degrading enzymes and toxins , Advanced in botanical Resarch . 40 : 242 – 300 .

Clark , T.B ; Kellen , W.R ; Fukuda , T , and lindegren , J.E , 1968 Field and laboratory studies on the pathogenicity of the fungus Beauveria bassian to three genera of mosqnitoes J.Invert Pothol 11(1) : 1-7 .

Ellis , M . B . 1971 , Principl my gist . Common Wealth Myconlogical Insitute , kew , Surrey , Englands .

Fedric , B.A. Porak H.W. ; Bi deschi , D.K ; Writh , M.C ; Johnson J.J.; Sakano , Y. and tang , M . 2007 .
Devloping combinant bateria for contro of mosquito lavvae , In **Floore** T.G (ed) . Bia vational control of mosquitos . Am . Mosq . Control Assoc , Allen , Press , Inc , 7 : 164 – 175 .

Gayathri , G . ; Blasulramonian , C . Marthi , P.V. and Kybendran . T 2010 . Larvicidal Potential of Beauvaria bassiana (Balsamo) Vuillemiy and paeci lomyces fumosoroseus (wize Brown and smith on culex . Quinquefasciotus (say) Journal of Bio pestcides , 3 (1) : 147 – 151 .

Gottel M.S. and lngilis , D , 1997 . Fungi Hyphomy cetes In Locey . L . (ed) Manual of techniques insect pathology . Academic press Sandi ego . 409 . PP .

Grosscut . A.C. 1978 . Difubenzuron , T , ; Some as Pacts of Its ovicidal and larvicidal mod of action and evaluation Grove , J.F. and Pople , M , 1980 , The insecticidal activity of Beauveria and enniation complex mycopathology 70:103-105.

Hajek , A.E 1997 ; Ecology of terrestrial fungal fungal Entomopathogenlc , Adv microbial Ecol . 15; 193-249 .

Hall , R.D and fohse . M.C, 1980 Loboratory and field tests of CGA 72662 for control of the hous fly inpoultry , bovine or Swin manure , J. Econ entomol 73(4) , 564 – 569 .

Hicks B.R ; Cobb , F . W . J R . and Gersper , P.L 1980 , Isolation of Ceratocystis wagneri from forest soil with As Elective medium phytoathology , 70 ; 880 – 883 P .

Jacobs , K ; wingfield , M . J ; Pasbenova N . V . and Retrora V . P . 2000 Anew leptographium species from Russia mycol . Res . 104 : 1524 – 1529 .

Kamal , H. A and fallatah . S.A , 2008 , Eualuation of efficacy of bioinsecticide and three insecticidal compounds . against the Mosquitoes calex pipiens reyadh sudia Arabia . 123 PP .

Kanek . S . and Harrington . T . C . 1990 , Leptographium Truncatum isolated from japanse red and black pines report of the my cological Instute . 28 : 171 – 174 .

Klepzing , K . D . Moser , J . C . Lombardero , F . J . Hofstter R . W . and Agres , M . P . 2001 , Symbiosis and competition : Complex interactions amoug beetles fungi and mites . Symbiosis 30 : 83 – 46 .

Lacey , L.A and orr . B . K . 1994 , The role of biological Control of mosquitoes inintegrated vector control Am , J . Trop . Hyg . 5 , (60) . 97 – 115 .

Lacey , L . A . 1997 , Manual of techni ques in ininsect Pathology (Biological Techniques) . Acadmic press sandiego – London – Boston – 208 PP .

Logerbery , T , ; Lundbery , G , and melin . E . 1928 Leptogra Phium lundbergi ; Svenska skogsv for tidsk , 1927 , Haft 2 . Och . 4 ; 257 .

Ioc . N . T . and Chi ; V.T.B. 2005 . EFF : Cacy of some new Isolate of metarhizium anisopliae and beaveria bassiana a gainst Rice earhead buy ieptocorisa acuta . Omonrice . 13:84-75 .

Mather . Tin and lake R . W . 1982 Plot evala bron of toxicity of an experimental l G R to salt marsh mosquitoes and non Target organisim mosq . News , 42 (1) ; 188-195 .

Medllock . J.M and snow , K.R. 2008 Natural predators and Para sites of british mosquito – a review Journal of the Eurpean Mosquito control Association , 25 : 1-11 .

Meisch , M . U , 1985 . Gambusia a ffinis , In : Chapman , H.C. (Ed) , Biological control of mosquitoes , A w , mosq . Control Assoc , Bull , (6) ; 17-73 .

Mohsen , Z.H and me bdi , N.S. 1988 , the efficacy of Arosul . and MSF and peteroleum oils GB-1111 and GB – 1356 against Culex quinquie fasciatas say (Diptera:Culicidue) . Insect sci , APPI . 10:33-219 .

Mohsen , Z.H . Oudu , N.A ; Mehdi , N.S. Zaiya . H.H and Al-chalab ; , B.M. 1989 . Toxi cty of uarious laruici Des and formulation .

Nadeau . M.P. : Boisuert , J.I. 1994 . larvicidal activity of the entompatho genic fungus toly pocladium cylindro Sporum (Deuteromy cotina) : Hyphoo phomy cetes on the Mosquito aedes trisevatus and the black fly simulim Vittatum (D:ptera ; Simulidae) J . Am Mosq . control assoc . 10:487-491 .

Papieerok , B, and hajeck , 1997 . Fungi entomoph thorak , Les – In : lacey L : (ed) Manual of techuigues in insect Pathology , Acadmic press . sandiego . 188-212 .

Roberts , D. W . 1974 – Funglinfections of Mosquitoes Control , 143-193 .

Sabtinell G , E ; Ranieuif , ; Gianzi , P , ; Papakay M , and Cancrini G. 1994 Role of Culex quinque fasciatus in the Transmission of republic of Comoros (Indian) ocan Parasite (1) : 71 – 76 .

Samson , A . R . ; Euans H.C. and lage , J.I.P. 1988 Atlase of Entomo patholo genic fungi , Spring – Uerlager . Berlin . 187 – 200 PP .

Scholete . E.J. Nhiru . B.N. Samliegane R.C. Takken W, and knol , B.G.J. 2003 Infectption of malaria (Ano pheles Gamb : ae , s.s.) and filari asis (Culex quinque fasciatus) Ucctor with entomo pathogenic pungus Metarhizium aniso Pliae , Malaria Jouvnal , 2:1-10 .

Service , M.W. 1967 – Tachydromia spp. (Diptera : Empididae) as pred otors of a dull anophelime Mosquitoes Entomologists monthy magazine . 104:250-251 .

Steel . J . E . 1976 . Hormonal control I of metabolism in Insects . Adb . Ins . Physiol . , 12:239-323 .

Subra . R . 1983 . Biology and control of celex pipiens Quinque fasiatrus say (Diptera : Culicid with special to Africo Insect Se : PPP li : 314-338 .

Thennis W . 1997 . Techniques and media for Isolation Culture . Sorage and bioassay of metarhium anisopeliae and

beaveria brongniarti ; pacific regional Agriculture Progrmme . 4:1-11 .

Tomlin , C. 1994 . the pesticide menual incorporating the Agro chemiculs handbook loth (ed) , Cropprotection Qublications , U.K. 546 P .

Vyas , N , ; Dua , K.K. and prakash , S . 2007 , Efficacy of lagenidium giganteum metabolites on Mosquito larva With refernce to non target or ganisms . Parasitol . Res . 101 : 385 – 390 .

Weiser J . and motha , U . 1988 . Tolypin anew Insecticidal metabolite of fung : of the gonus toly Pocladium . Journal of

W.H.O. 1985 . Informal the invertebrate pathology 51:94-96 consuitation the development of

Bacellus sphaericus as amicrobial larricide . Geneva .

U.W.D.P . Sup .

Williams . C.M. 1964 Third generation pesticides sci . AM . 217 : 13-17 .

Yaduv , J.S. 2009 Centera for bioin for a tics vector Control Environmental . information system Imdia , 1-5 .

Zhou . X.D. Beer . Z.W. ; Wingfield , B.D. and wing Field . M.J. 2001 . Ophios tompatoid pung : associated With three pine – infesting barke beetles in south Africa – Sydowia . 53 : 290 – 300 .