جمهورية العـــراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة القادسيـــة – كلية العلـــوم
قســم علـــوم الحيـــاة

عزل وتشخيص بعض الطفيليات المرضية المرافقة لحشرة الذبابة المنزلية *Musca domestica* واستخدام الفطر *Paecilomyces lilacinus* في مكافحتها حيوياً

رسالة مقدمة إلى

مجلس كلية العلوم – جامعة القادسية

وهي جزء من متطلبات نيل شهادة الماجستير في علوم الحياة

من قبل

عباس حسن برهان النائلي

بكالوريوس علوم حياة / جامعة القادسية / 2012

إشراف

أ.م.د. محمد رضا عنون

كانون الاول/2019 م ربيع الثاني / 1440 هـ

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَٰنِ الرَّحِيمِ

يَا أَيُّهَا النَّاسُ ضُرِبَ مَثَلٌ فَاسْتَمِعُوا لَهُ ۚ إِنَّ الَّذِينَ تَدْعُونَ مِنْ
دُونِ اللَّهِ لَنْ يَخْلُقُوا ذُبَابًا وَلَوِ اجْتَمَعُوا لَهُ ۖ وَإِنْ يَسْلُبْهُمُ الذُّبَابُ
شَيْئًا لَا يَسْتَنْقِذُوهُ مِنْهُ ۚ ضَعُفَ الطَّالِبُ وَالْمَطْلُوبُ ﴿٧٣﴾

صَدَقَ اللَّهُ الْعَلِيُّ الْعَظِيمُ

سورة الحج

(الآية73)

الإهداء

إلى... صاحب الفردوس الأعلى وسراج الأمة المنير وشفيعها النذير البشير

محمد صلى الله عليه وعلى آل بيته الطيبين الطاهرين

إلى . . نبع الحياة ونبضها وأمنها . . . المرحوم والدي

إلى . . دفء الحياة وعطفها وحنانها . . .أمي الغالية

إلى . . سند الحياة وظلها وعزها . . .إخوتي

إلى . . . ورود المحبة وينابيع الوفاء . . . أخواتي

إلى . . . رفيقة دربي ومن سهرت الليالي لأجلي . . زوجتي

إلى . . .بأقة ورد حياتي وعطرها . . .أطفالي

إلى . . كل من يسأل لي الخير والتوفيق في الدنيا والآخرة

اهدي ثمرة جهدي .

عباس النائلي

شكر وتقدير

الحمد لله كما ينبغي لجلال وجهه العظيم، شاكرا فضله الكبير ونعمته لما منحني من قوة وصبر وتوفيق على انجاز هذا العمل ، والصلاة والسلام على أشرف خلق الله محمد صلى الله عليه واله وسلم الهادي الأمين .

أتقدم بجزيل الشكر والامتنان إلى أستاذي الفاضل ومشرفي الأستاذ المساعد الدكتور محمد رضا عنون لاقتراحه مشروع البحث ولرعايته الكريمة لي طيلة مدة البحث ولإرشاداته العلمية القيمة ، اسأل الله القدير أن ينعم عليه بالصحة والنجاح الدائم .

وأقدم الشكر والعرفان الى عمادة كلية العلوم / جامعة القادسية ممثلة بالسيد العميد الأستاذ الدكتور نبيل عبد عبد الرضا ، والى رئاسة قسم علوم الحياة ممثلة بالأستاذ المساعد الدكتور حبيب وسيل كاظم لاتاحتهم فرصة أكمال دراستي . ويسرني أن أتقدم بالشكر الجزيل الى الاستاذ المساعد الدكتور علي بستان لمساندتي في الدراسة .كما أتوجه بوافر الشكر والامتنان إلى الاستاذ الدكتور عدنان حمد جامعة القادسية /كلية الطب ، وأ.م. د . عبد الامير سمير سعدون جامعة القادسية /كلية العلوم ، و أ .م .د ماجد كاظم جامعة القادسية /كلية التربية لمساعدتهم في تشخيص الفطر .و أ.د هادي الميالي لمساعدته في تشخيص الطفيليات .

ولايسعني الا أن أتقدم بالشكر الجزيل الى أساتذتي ، د . فراس سرحان ، د . حيدر مشكور، د . ليث سريع ، المدرس حسين رياض المشهداني كلية العلوم/جامعة القادسية للملاحظات والتوجيهات القيمة .

وأخيرا أتقدم بالشكر لزملائي من طلبة الدراسات العليا راجيا لهم دوام الموفقية والنجاح وبالأخص أخي وصديقي غالب حسين عبيد الذي قدم لي كل ما بوسعة من جهد وصبر، والأخ مالك الياسري ، وزميلاتي الست رشا و تمارة ورجوان ، كما أتقدم بالشكر والعرفان إلى كل من أعانني ولو بكلمة تشجيع داعيا الله عز وجل إن يجزي الجميع عني خير الجزاء .

عباس النائلي

اقرار المشرف

أشهد أن رسالة الماجستير الموسومة بـ : (**عزل وتشخيص بعض الطفيليات المرضية المرافقة لحشرة الذبابة المنزلية .Linn *Musca domestica* واستخدام الفطر *Paecilomyces lilacinus* في مكافحتها حيويا**) المقدمة من الطالب (عباس حسن برهان النائلي) تم اعدادها بأشرافي ، وهي من متطلبات نيل شهادة الماجستير في علوم حياة .

الامضاء :

الاسم : أ.م. د. محمد رضا عنون

المرتبة العلمية : أستاذ مساعد

التاريخ : / /2019

توصية رئيس قسم علوم الحياة

اشارة الى التوصية المقدمة من الأستاذ المشرف أحيل هذه الرسالة الى لجنة المناقشة لدراستها وبيان الرأي فيها .

الامضاء :

المرتبة العلمية :استاذ مساعد

الاسم : أ.م.د. حبيب وسيل كاظم

التاريخ: / /2019

إقرار المقوم اللغوي

أشهد أن الرسالة الموسومة بـ : **(عزل وتشخيص بعض الطفيليات المرضية المرافقة لحشرة الذبابة المنزلية *Musca domestica* Linn. واستخدام الفطر *Paecilomyces lilacinus* في مكافحتها حيويا) قد قومت من قبلي ،وأصبحت سليمة من حيث الأسلوب والصياغة اللغوية.**

الامضـــــــــــــاء:

الاســـــــــــــــم:

المرتبة العلمية:

التاريـــــــــــــــخ: / /2019

الخلاصة

Summary

الخلاصة: Summary

تضمن البحث الحالي عـــــزل وتشخيـص الطفيليـات الممرضة للإنسان والمعزولة مـن بالغـــات الذبابـة المنزليـة *Musca domestica* التي جمعت من بيئات محيطة ومتداخلة مع المناطق السكنية في مدينة الديوانية . وعزل الفطر*Paecilomyces lilacinus* الممرض للحشرات والديدان الخيطية ، واستعماله لمكافحة جميع أدوار حياتها، فضلا عـــــن التحري عن عوامل ضراوة الفطر وتشخيص نواتج الايض الثانوي له بتقنيتي السائل ذي الأداء العالي (HPLC) وتقنية كروموتوغرافيا الغاز (GC) وتم الحصول على النتائج الآتية :

- تم عـزل تسعـة أنـــواع من الاطوار الطفيلية هي : *Cryptospridum* sp. (Oocyst) و *Entamoeba histolytica* (cyst) (cyst) *Giardia lamblia* و *Taenia* sp.(Ova) و Hookworm *Ancylostoma duodenale* (ova) و *Ascaris lumbricoides* (ova) و *Hyminolepis nana* (ova) و *Trichuris trichiura* (ova) *Enterobius vermicularis*

وشخصت مختبريا و كانت أعلى نسبة لظهور الطفيليات في بيئة حضائر الحيوانات اذ بلغت 28.36%، وأقل ظهور لها في بيئة المستشفيات بنسبة 9.13%، وسجلت الاطوار الطفيلية أعلى نسبة لها خلال شهر نيسان بنسبة % 16.99 ، وأقل نسبة لظهورها كان في شهر كانون الاول بنسبة 3.94%، وكانت اعداد الطفيليات المعزولة من السطح الخارجي للذباب 284، ومن قناتها الهضمية 200 .

- أظهر الفطر المضاد سمية عالية ضد بيوض الذبابة المنزلية ،اذ بلغت أعلى نسبة فقس عند التركيز $1x10^5$ بوغ/مل 43.077 %، وتحققت أوطأ نسبة فقس للبيوض 6.145% عند التركيز $1x10^9$ بوغ/مل ، ولوحظ وجود فرق معنوي بين جميع التراكيز ونسبة الفقس.

- أثرت معلقات الفطر تأثيرا واضحا في هلاك الأطوار اليرقية، إذ حقق التركيز 1×10^5 بوغ/مل أوطأ نسبة هلاك بلغت (26.07 و23.86و21.15)% للطور اليرقي الأول والثاني والثالث على التتالي، بينما كانت اعلى نسبة هلاك الاطوار اليرقية (83.86 و 77.71 و 75.00) %، بعد تعريضها للتركيز 1×10^9 بوغ/مل بالتتالي بعد 72ساعة من المعاملة، في حين كان تأثير الفطر طفيفاً في دوري العذراء والبالغة.

-أثرت مركبات أيض الفطر الناتجة من مدد حضانة مختلفة للفطر في وجود فعالية سمية عالية ضد الأطوار اليرقية، اذ حقق التركيز 25% نسبة هلاك بلغت 26.07 % للطور اليرقي الاول بمدة حضانة 10 أيام

وارتفعت نسبة الهلاك لتصل إلى (33.00 و48.85 و54.78) % خلال مدة حضن 14 و21 و28 يوماً بالتتالي، لنفس الطور وبلغت نسبة الهلاك(23.86 و31.00 و 43.08 و48.85) % خلال نفس مدد الحضانة المذكورة على التتالي للطور اليرقي الثاني، بينما كانت نسبة هلاك الطور اليرقي الثالث (21.15 و 28.78 و 41.15 و 46.92)% لنفس التركيز ولمدد الحضانة المذكورة بالتعاقب ، بينما تفوق التركيز 100% بفرق معنوي على باقي المعاملات بنسبة هلاك بلغت (52.78 و54.78 و68.86 و83.86) % و(46.92و 54.78و 66.15 و77.71) % و(43.08 و 48.85 و61.22 و75.00) % للأطوار اليرقية الثلاثة ومدد حضانة الفطر المذكورة آنفاً على التتالي.

- التحري عن نواتج أيض الفطر :

- أظهرت نتائج فحص HPLC أن راشح الفطر يحتوي على العديد من نواتج الايض الثانوي، والتي تعد من عوامل الضراوة للفطر إذ يفرز سم Paecilotoxin وحوامض امينية Phenylalanine و Valine و Methionin وMethylphenylalanine و Aspartic acid و Glutamate و Leucine و Tyrosine و Serine تباينت تراكيزها حسب مدة حضانة الفطر حيث كانت معظم هذه النواتج تزداد تراكيزها بزيادة مدة الحضانة والتي اثرت على الاطوار اليرقية للذباب، اذ ازدادت نسب الهلاك بزيادة مدة حضانة الفطر .

- أظهرت نتائج كروموتوغرافيا الغاز GC ان راشح الفطر يحتوي على العديد من الحوامض الدهنية مثل Palmatic acid وStearic acid و Lenolic acid وOleic acid وLenolenic acid والمركبات الفعالة Tetramic acid و Acetic acid وDipicolinic acid ازدادت تراكيزها بزيادة مدة الحضن .

قائمة المحتويات

التسلسل	الموضوع	الصفحة
1	الفصل الاول : المقدمة Introduction	2-1
1-1	المقدمة العامة General Introduction	2-1
2-1	هدف الدراسة Aim of the present study	2
2	الفصل الثاني : استعراض المراجع Literature review	3
1-2	الذبابة المنزلية *Musca domestica L.*	3
2-2	الأهمية الطبية والبيطرية	4
1-2-2	نقل مسببات الامراض: Pathogens	4
2-2-2	الذبابة المنزلية بوصفها مسبباً للأمراض	6
3-2	طرائق المكافحة Methods of control	6
1-3-2	المكافحة الكيميائية Chemical of control	6
2-3-2	المكافحة الوراثية Genetic control	6
3-3-2	منظمات النمو الحشرية Insect growth organizations	7
4-3-2	المكافحة الحيوية Biological control	7
4-2	الفطريات الممرضة للحشرات Entomopathogenic fungi	8
1-4-2	الرتبة Moniliales	8
2-4-2	الأهمية الطبية للفطر *Paecilomyces lilacinus*	9
3-4-2	تصنيف فطر *P.lilacinus*	9
4-4-2	آلية الإصابة بالفطر *P.lilacinus*	9
5-4-2	دور الفطر *P. lilacinus* في المكافحة الجرثومية	11
6-4-2	السموم وعوامل الضراوة في الفطر *P.lilacinus*	12
3	الفصل الثالث المواد وطرائق العمل Materials and methods	الصفحة
1-3	الاجهزة والمواد Apparatus and Materials المستعملة للدراسة	17
1-1-3	الأجهزة Apparatus	17
2-1-3	المواد والمحاليل المستعملة	18

3-1-3	الأدوات	18
2-3	تحضير الصبغات والمحاليل والأوساط الزرعية	19
3-3	التحري عن الطفيليات التي تحملها بالغات الذبابة المنزلية	20
4 -3	إعداد مزرعة الذبابة المنزلية	21
5-3	عزل الفطر *Paecilomyces lilacinus*	21
6-3	التأثير الحيوي لعالق الفطر*P.lilacinus* في ادوار حياة الذبابة المنزلية	24
7-3	التأثير الحيوي لرواشح فطر *P.lilacinus* بمدد حضن مختلفة في ادوار حياة الذبابة المنزلية	25
8-3	اختبار قدرة الفطر *P.lilacinus* على إنتاج السموم و بعض مركبات الايض الثانوية وبمدد حضن مختلفة بتقنيتي الـ HPLCوال GC	25
1-8-3	الكشف عن إنتاج السموم بتقنية HPLC	25
2-8-3	استخلاص الاحماض الامينية بتقنية HPLC	26
3-8-3	استخلاص الاحماض الدهنية من النموذج بتقنية GC	27
4-8-3	استخلاص المركبات الفعالة من النموذج بتقنية GC	27
5-8-3	التحليل الإحصائي Statistical analysis	28
4	الفصل الرابع النتائج والمناقشةResults and Discussion	الصفحة
1 - 4	عزل وتشخيص الطفيليات المحمولة على السطح الخارجي وفي القنوات ضمية للذباب المنزلي	29
2-4	عزل وتشخيص ووصف الفطر	36
3-4	الاختبار الحيوي لمعلق الفطر *P.lilacinus* في مختلف ادوارحياة الذبابة المنزلية*M.domestica*	37
1-3-4	دور البيضة	37
2-3-4	الاطوار اليرقية	39
3-3-4	دورا العذراء والبالغات	41
4-4	الاختبار الحيوي لراشح للفطر*P.lilacinus* في يرقات الذبابة المنزلية *M.domestica*	41

5-4	التحري عن نواتج الأيض الثانوي للفطر *P.lilacinus*	44
1-5-4	سم Paecilotoxin والاحماض الامينية باستعمال تقنية كروموتوكرافي السائل ذي الاداء العالي (HPLC)	44
2-5-4	الكشف عن الاحماض الدهنية والمركبات الفعالة باستعمال تقنية كروموتوغرافيا الغاز (GC).	49
	الاستنتاجات والتوصيات Conclusions and Recommendation	الصفحة
	الاستنتاجات	56
	التوصيات	57
	المصادر References	الصفحة
اولا	المصادرباللغة العربية	58
ثانيا	المصادرباللغة الانكليزية	60

قائمة الجداول

رقم الجدول	عنوان الجدول	الصفحة
1-2	المسببات المرضية التي ينقلها الذباب المنزلي والامراض	5
1-3	الاجهزة المستعملة في الدراسة و الشركة المصنعة	17
2-3	المواد والمحاليل المستخدمة	18
3-3	الأدوات	18
4-3	درجات الحرارة و معدل جريان الغاز	27
1-4	النسبة المئوية للطفيليات المعزولة من الذبابة المنزلية*M.domestica*حسب الموقع ومدة البحث	34
2-4	النسبة المئوية واعداد الطفيليات المعزولة من القناة الهضمية للذبابة المنزلية *M.domestica* في مدة البحث الميداني	35

3-4	النسبة المئوية واعداد الطفيليات المعزولة من السطح الخارجي للذبابة المنزلية *M.domestica* خلال مدة البحث الميداني	35
4-4	تأثير تراكيز مختلفة من معلقات الفطر *P.lilacinus* في النسب المئوية لهلاك الاطوار اليرقية للذبابة المنزلية *M.domestica*	40
5-4	تأثير راشح الفطر *P.lilacinus* على الاطوار اليرقية للذبابة المنزلية بمدد حضن مختلفة	42
6-4	تراكيز مركبات نواتج الايض الثانوي المفصولة لفطر *P. lilacinus* مع ازمان احتجازها بالمقارنة مع عينات قياسية بتقنيةHPLC	46
7-4	النسبة المئوية للاحماض الدهنية التي ينتجها الفطر *P.lilacinus* مع أزمان احتجازها من خلال بالمقارنة مع عينات قياسية بتقنية جهاز GC	50
8-4	تركيز المركبات الفعالة التي يفرزها فطر *P.lilacinus* بتقنية جهاز GC	50

قائمة الأشكال

رقم الشكل	عنوان الشكل	الصفحة
1	طريقة اختراق الفطر لطبقة الكيوتكل في الحشرات	10
2	تأثير تراكيز مختلفة من معلق الفطر *P.lilacinus* في بيوض الذبابة المنزلية*M. domestica*	38
3	تأثيرمعلق الفطر 1×10^{9}بوغ/مل في دوري العذراء والبالغة للذبابة المنزلية *M.domestica*	41
4	بيانات كروموتوغرافيا السائل ذي الاداء العالي لسموم Paecilotoxin لفطر*P. lilacinus* (A) القياسي (B,C,D ,E) العينات لمدد الحضن (28 , 21, 10,14) يوماً على التتالي	47
5	بيانات كروموتوغرافيا السائل ذي الاداء العالي للاحماض الامينية لفطر *P. lilacinus*(A) القياسي (B,C,D ,E) العينات لمدد الحضن (21, 10,14 , 28) على التتالي	48

6	العينات القياسية للأحماض الدهنية بتقنيةGC	51
7	العينات لراشح الفطر*P.lilacinus* مدة حضانةA -10يوماً وB -14يوم	52
8	العينات لراشح الفطر*P.lilacinus* مدة حضانةA -10يوماً وB -14يوم	53
9	العينات القياسية للمركبات الفعالة بتقنية GC	54
10	عينات المركبات الفعالة من راشح الفطر لمدة حضن 10 و14 يوماً	55
11	عينات المركبات الفعالة من راشح الفطر لمدة حضن 21 و28 يوماً	56

قائمة الصور

رقم الصورة	عنوان الصورة	الصفحة
1	تطفل فطر *Paecilomyces lilacenus*على بيضة الديدان الخيطية (Brand *et al* ،2014) (أ) البيضة قبل الاصابة (ب) بعد الاصابة	10
2	الحشرة الناقل الرئيسي لطفيلي *Schizotrypanum cruzi* مصابة بالفطر*P.lilacinus* (2006),Gerardo *et al*.	11
3	**بداية تكون الغزل الفطري الممتد من داخل جسم الذبابة الى الوسط الفطري PDA** 3- تشخيص ووصف الفطر *P.lilacinus*	22
4	جهازHPLC	27
5	لمجموعة أكياس الاوالي وبيوض الديدان الطفيلية تحت قوة تكبير X 400	33
6	لفطر*P. lilacinus* تحت المجهر الضوئي بقوة تكبير X400	36
7	**لفطر*P. lilacinus* تحت المجهر الضوئي بقوة تكبير X400**	36

الملاحق

رقم الملحق	عنوان الملحق	
1	ملحق (1) البيانات القياسية والعينات) لتقدير سم Paecilotoxin الذي ينتجة الفطر *P.lilacinus* باستعمال تقنية	
2	ملحق (2) البيانات القياسية والعينات للاحماض الامينية بتقنية HPLC	

3	ملحق(3) البيانات القياسية والعينات للاحماض الدهنية بتقنية GC	
4	ملحق(4) البيانات القياسية والعينات للمركبات الفعالة بتقنية GC	

قائمة المختصرات

abbreviation	No. page	Key
ppm	25	Part per millions
HPLC	26	High- Performance Liquid Chromatography
GC	27	Gas chromatography
L.S.D	40	Least Significant Differentation

الفصل الأول

المقدِّمة

Introduction

1- المقدمة Introduction:

1-1: المقدمة العامة : General Introduction

تعد الذبابة المنزلية *Musca domestica* Linn. من أكثر أنواع الذباب شيوعاً في العالم، وهي تابعة لعائلة Muscidae من رتبة ثنائية الأجنحة Diptera ،اذ تشكل تقريبا 90% من باقي الذباب الموجود في أماكن معيشة الانسان والحيوان (Balla *et al* , 2014)، ويعود السبب في ذلك الى التوسع في انتاج حقول الدواجن ومزارع تربية المواشي، لما توفره هذه البيئات من اماكن خصبة لتكاثرالعديد من الآفات الحشرية ، فضلاً عن عدم وجود شبكات الصرف الصحي والمجاري في بعض المناطق السكنية والتخلص العشوائي من النفايات وغيرها من العوامل التي تؤثر في انتشارها وتكاثرها (Axtell , 1999)، ومما يزيد الأمر خطورةً وتعقيداً هو قصر دورة حياتها، وخصوبتها العالية (Ogg , 2007).

تنافس الذبابة المنزلية البعوض في الاهمية الطبية والبيطرية والاقتصادية ، إذ أشارت الدراسات السابقة الى نقلها العديد من المسببات المرضية في مختلف مناطق العالم(Olsen and Hammack ; 2000) فضلاً عن يرقات الذباب التي تسبب التدويدMyasis ، أما من الناحية الاقتصادية فقد عدت مصدر ازعاج للحيوانات والدواجن، وهوما يسبب في تقليل انتاجها بسبب تواجد الذباب بأعداد كبيرة في أماكن تربيتها (Service, 1996).

لقد بات معروفاً بأن السيطرة على النواقل أسهل من السيطرة على المسبب المرضي نفسه، لذلك اتبعت اغلب طرائق المكافحة ضد هذه الحشرة وعلى الرغم من كون المبيدات الكيميائية ذات نتيجة سريعة في المكافحة، ولكن بسبب الاستعمال المفرط والأسلوب غير العلمي في الاستخدام ادى الى ظهور مشاكل بيئية فضلاً عن ظهور مقاومة لهذه الحشرة ضد المبيدات (Georghiou , 1990). كما استعملت العديد من المستخلصات النباتية لمكافحة هذه الحشرة (المرمضي ،2014). ومنظمات النمو الحشرية(المحنة،2011) والتشعيع (Anantiko *et al.*,1982).) الا انها لم تحقق الهدف المنشود للقضاء على هذه الحشرة وهذا ما دفع الباحثين لإيجاد بدائل اخرى واحدها هي استعمال الأحياء المجهرية الممرضة للحشرات Entomopathogenic micro- organisims كالبكتريا والفطريات اذ تتميز اغلب هذه الاحياء المستخدمة بتأثير مماثل لتأثير المبيدات الكيميائية في القضاء على الحشرات وأمينة من الناحية البيئية وذات تأثير طويل الامد (الزبيدي ،1992).

ومن الفطريات الممرضة للحشرات (Entomopathogenic fungi) التي شاع استخدامها في مكافحة الذباب المنزلي هي و *Entomophthora musca* (المشهداني ،2010) و *Beauveria bassiana* (Mwamburi *et al* ., 2011) و *Metarrhizium anisopliae* (الياسري،2012) و*Paecilomyces fumosoroseus* (Asaff, 2005).

يعدُّ الفطر *Paecilomyces lilacinus*(Thom.) رتبة Moniliales شعبة Deteuromycota من الفطريات الممرضة للحشرات ،إذ استعمل للقضاء على العديد من الحشرات ثنائية الأجنحة لكفاءته العالية في المكافحة الجرثومية(Mwamburi *et al* ., 2011) .

2-1 هدف الدراسة الحالية : Aim of the present study

نظراً لكون الابحاث السابقة التي أسهمت بعزل أنواع محلية من الفطريات الممرضة للحشرات واستعمالها عوامل مقاومة تكاد تكون نادرة فضلا عن كونها لم تتطرق الى الفطر *P.lilacinus* واستخدامه في برامج المكافحة الجرثومية ، لذلك كان هدف البحث الحالي هو عزل الفطر المذكور من بالغات الذبابة المنزلية طبيعياً، واختباره حيوياً ضد مختلف ادوار حياة الحشرة؛ وتوخياً في معرفة الدور المحتمل للذبابة المنزلية في نقل وانتشار بعض مسببات الأمراض الطفيلية للإنسان في مدينة الديوانية، لذلك تضمنت الدراسة الحالية المحاور الآتية:

1-عزل مختلف الطفيليات الممرضة للإنسان في محافظة الديوانية من السطح الخارجي للذباب، وقناته الهضمية، وتحديد تكرارها، ونسبة الاصابة لعشرة أشهر من السنة .

2-عزل الفطر من بالغات الذباب المصاب طبيعياً cadaver .

3-الاختبار الحيوي للمعلق الفطري وبتراكيز مختلفة لجميع أدوار الحشرة .

4- الاختبار الحيوي لنواتج أيض الفطر والناتجة من خلال مدد حضن (10 يوم – 14 يوماً – 21يوماً -28 يوماً) ضد الأطوار اليرقية .

5- الكشف عن مركبات نواتج الأيض الثانوي بواسطة تقنية Gas chromatography(GC) التي نتجت خلال مدد الحضن المذكورة آنفاً.

6- تحديد سموم الفطر كميا ونوعيا من خلال تقنية HPLC التي نتجت خلال مدد الحضن المذكورة آنفاً.

الفصل الثاني

استعراض المراجع

Literature Review

2 – استعراض المراجع Literatures Review

1-2 الذبابة المنزلية *Musca domestica L.*

تنتشر الذبابة المنزلية في جميع البيئات دون استثناء، وفي مزارع الحيوانات ، وتعود هذه الحشرة الى رتبة ثنائية الأجنحة (Order : Diptera) من عائلة Muscidae وهي إحدى العائلات الرئيسة في سلسلة الذباب ذات الدرز الجبهي Schizophora من مجموعة الذباب المقنع ذوات الحرشفة Calyptera في رتيبة قصيرة اللوامس الارستية دائرية الشق Cyclorrhapha (أبو الحب ،1979).

و هي حشرة متوسطة الحجم (ينحصر طولها بين 5 ،3- 5 ،6) ملم . لونها رمادي مائل إلى السواد، و الرأس كروي، والأعين المركبة كبيرة، قرون الاستشعار من النوع الأريستي وتكون الأريستا مغطاة بشعر كثيف، وأجزاء الفم من النوع الإسفنجى. البطن منتفخة وعريضة في منطقة اتصالها بالصدر، وتوجد على سطحها الظهري بقع سوداء متصلة، أما سطحها السفلي وجوانبه فتكون بلون فاتح وتمتلك زوجاً واحداً من الأجنحة،أما الزوج الثاني فهو متحور إلى عضو التوازن (Halters) ويكون العرق الطولي الرابع في الجناح الأمامي منحنياً للأعلى، وهذه الصفة يعتمد عليها في تميز الذبابة المنزلية عن الأنواع الأخرى من الذباب (Donald , 2001) .يمكن التمييز بين الجنسين من خلال المسافة بين العيون المركبة إذ تكون عريضة (Dicoptic) في الأنثى و متلاصقة في الذكر (Holoptic) فضلاً عن كبر حجم الأنثى (Sanchez-Arryo ,2008) تنضج الأنثى جنسياً بعد يومين أو ثلاثة أيام من خروجها من العذراء وتلقح مرة واحدة ، أما الذكر فيتزاوج مع عدة إناث، و أفضل أوقات تكاثرها من شهر نيسان إلى النصف من تشرين الأول (ابوالحب ،1972).

وهي من الحشرات ذات التحول الكامل (Holometabolus)،اذ تضع الأنثى بيضها فى القمامة و القاذورات، و الذى يفقس عن يرقات دودية الشكل تمر بثلاثة اطوار و التى بدورها تتحول إلى عذارى غير متحركة مستورة داخل الجلد اليرقي الأخير puparium (Sanchez -Arryo,1998) يخرج منها الذباب الكامل بعد ذلك. يستغرق الجيل الواحد نحو أسبوعين، وللحشرة حوالي عشرة أجيال خلال العام .هذه الحشرة عالمية الإنتشار، و تنشط على مدار العام ولكنها تكثر في أبريل ومايو ويونيو وسبتمبر في المدن والقرى العراقية إذ تسنح البيئة الملائمة لتكاثرها .وتعيش الذبابة البالغة نحو شهر في الصيف وثلاثة أشهر في الشتاء (ابوالحب ،2004).

يتغذى الجنسان (الذكر و الأنثى) على عصارة النبات والإفرازات السكرية وبقايا الطعام وعلى القاذورات. وتتغذى اليرقات على بقايا المخلفات في القمامة، حيث مكان معيشتها، وهوما جعلها عاملاً مهماً في نقل المسببات المرضية والأوبئة (Donald , 2001) .

2 - 2 الأهمية الطبية والبيطرية :

ان الكميات الكبيرة من النفايات العضوية التي تنتجها الأنشطة البشرية، تعتبر بيئة ملائمة لنمو الذباب الذي يؤثرفي الصحة العامة للإنسان ،اذ تُعد هذه النفايات مصدرا لنقل انواع مختلفة من مسببات الامراض التي تصيب الانسان والحيوان على حد السواء (Bernard,2003 Greenbrg,1971;Olsen,1998; Banjo *et al* .,2005) وتتضمن الاهمية الطبية للحشرة جانبين:

.2-2-1 نقل مسببات الامراض: Transmission of pathogens

- أكياس الحيوانات الأبتدائية والأكياس البيضية وبيوض الديدان الطفيليةHelminthes و Protozoa الممرضة للانسان: للذبابة المنزلية دورٌ مهمٌ في نقل العديد من مسببات الأمراض الطفيلية للإنسان والحيوان ميكانيكياً أثناء ارتياد هذه الحشرة لمختلف المناطق الموبوءة بتلك المسببات ، ولعل أبرز هذه المناطق هي مكان فضلات وغوائط الإنسان والحيوان نتيجة لالتصاق اكياس وبيوض هذه الطفيليات بالأرجل وأجزاء الفم، بالإضافة الى الشعيرات الكثيفة التي تغطي السطح الخارجي لجسم الحشرة اثناء تواجدها في اماكن تجمع النفايات والقاذورات، ومن ثم نقله إلى غذاء الإنسان ومن عادات هذه الحشرة التقيؤ ولا يعرف سبب ذلك وربما لمزج الغذاء، وهو ما جعلها عاملاً مهماً في نقل أنواع عديدة من الطفيليات الممرضة. كما أن بعض انواع الطفيليات مثل الديدان الشريطية تتخذ الحشرة مضيفاً وسطياً قبل نقلها إلى الإنسان والحيوان(ابو الحب، 1972) ومن بين أهم انواع الطفيليات التي تنقلها الذبابة المنزلية هي:

Chilomastrix mesnili و*Cryptospridum parvum* و*Entamoeba histolytica* و *Isospra belli* و*Enterobius vermicularis* و Hookworm (*Ancylostoma*, *Necator americanus* (*duodenale* و*Ascaris lumbricoides* و *Strongloides stecoralis* و *Dicrocobius hospes* و*G.lamblia* و*H.nana* و *Toxoplasma gondii* و*Trichomonas sp* و *Fasciola hepatica* و *Capillaria hepatica* و*Toxocara canis*

(Nmorsi *et al* .,2006 ; Getachew *et al*.,2007; Oghale *et al* ; 2013 ;Hadi ;2013 Onyenwe *et al*.,2016)

- نقل البكتريا والفطريات والفيروسات الممرضة للانسان والحيوان كما في الجدول (1) التالي:

جدول (2-1) المسببات المرضية التي ينقلها الذباب المنزلي والامراض

المسبب المرضي	الامراض التي تسببها	المصدر
البكتريا *Vibrio cholerae* و *Shigella sp* و *Staphylococcus aureus* و *Bacillus anthracis* و *Salmonella typhi* و *Helicobacter pylori* و *Morganella morganii* و *Yersinia pseudotuberculosis* و *E.coli 157H* و *Streptococcus faecalis* و *S.pyogens* و *Pseudmonas auriginosa*	المسؤولة عن تسبيب أمراض الكوليرا والزحار العصوي والتسمم الغذائي العنقودي والجمرة الخبيثة وحمى التيفويد والقرحة والالتهابات بعد العمليات الجراحية وإصابات الدواجن بالإضافة إلى الإصابات البشرية وإصابات الأبقار والتهاب المجاري البولية والحمى القرمزية والإصابات الانتهازية	**(Gangrosa and Beisel, 1966; Greenberg, 1971;Greenberg,1973; Grubel *et al*., 1997 ;Gebhart-Muller et al.,1998; Aleksic and Bockemmuhi,199; Saski *et al*., 2000 ; Banjo *et al.* , 2005)**
الفطريات مثل الفطر *Trichophyton mentagrophytes* و *Microsporum gypseum*	تسبب امراضاً جلدية للانسان	**(Zarrin *et al* ., 2007)**
الفيروسات وتشمل Trichoma Bovine Conjunctivitis poliomyelitis mastitis Hepatitis A+ B	فيروس التهاب ملتحمة العين التراخوما و وفيروس التهاب الضرع عند الأبقار و فيروس شلل الأطفال وفيروس التهاب الكبد	**(Gough and Jongerson , 1983**
الريكتسيا مثل *Coxinella brunette*	تسبب حمى كيو Q fever في الحيوانات البرية والداجنة	(Hucko , 1984) .

2-2-2 الذبابة المنزلية بوصفها مسبباً للأمراض

تسبب يرقات الذبابة المنزلية (التدويد) الجلدي Cutaneous myiasis عند وجودها داخل الخدوش و الجروح والتجاويف الجسمية(Ferraz *et al*., 2010) كما انها مسؤولة عن التسبب بخسائر اقتصادية كبيرة ، في حقول تربية الماشية والحيوانات كونها مصدر ازعاج عند تواجدها باعداد كبيرة في هذه الاماكن وهذا ما يسبب انخفاض انتاجية هذه الحقول من اللحم والبيض(Muhammad and Ludekz,2004;Henning *et al* .,2005).

2 - 3 طرائق المكافحة : Methods of control

تتضمن طرائق مكافحة نواقل الأمراض ومنها الحشرات مايأتي :

1-3-2 المكافحة الكيميائية : Chemical of control

استعملت العديد من المركبات الكميائية للقضاء على الذباب المنزلي اذ تؤدي الى انخفاض أعداده بشكل مؤقت ،ولكن مع استمرار استعمال المبيدات الكيميائية أبدت هذه الحشرة مقاومة لها بالإضافة إلى ماتتركه هذه المواد من تأثيرات ضارة على البيئة ومن هذه المبيدات الكلوردين Chloridane واللندين lindane ومبيدات الفسفور العضوية كمبيد Trichorfon و Dimethoat و Idioferphos و Bromophos و Azamethiphos (Keiding and Skovoman,1983) ومبيدات الكاربامیت مثل Propoxur و Dioxacard و Methomyl و Dimetholion و Mancozeb (Rupes *et al*., 1987) و المبيدات البيروثرودية مثل Bioresmethrin و Permethrin و Deltamethrine (Pickens and Miller 1987;Cilek and Greene 1994 ; Kocisova *et al* ., 2002 ; Marcon *et al* ., 2003 ;Malik *et al* 2007).

2-3-2 المكافحة الوراثية : Genetic control

يتضمن هذا الجانب طريقتين الأولى هي مكافحة سكان الحشرة وخفضها والقضاء عليها عن طريق إطلاق حشرات عقيمة بأعداد كافية للتغلب على قدرة الإخصاب في المجتمع الطبيعي للحشرة، أما الطريقة الثانية فتتضمن إطلاق حشرات تمتلك مناعة قوية للإصابة بمسببات الأمراض في البيئة، على أمل أن تتنافس بنجاح مع المجتمع الطبيعي للحشرة وتحل محلها تدريجياً (Anantiko *et al*., 1982)

3-3-2 : منظمات النمو الحشرية : Insect growth organizations

أطلق عليها مبيدات الجيل الثالث واستخدمت منظمات النمو الحشرية في مكافحة الذبابة المنزلية ،اذ لها القدرة على ايقاف نمو الحشرة بالإضافة الى سميتها العالية، وذلك لوجود تشابه في التركيب الكميائي لهذه المواد مع بعض المركبات الطبيعية المهمة في جسم الحشرة ومع ذلك اظهرت الذبابة المنزلية مقاومة تجاهها في المناطق التي استخدمت فيها ،وصنفت الى ثلاثة انواع اعتماداً على آلية العمل هي مشابهات هرمونات الصبا (Juvenile hormones) ومثبطات تخليق الكايتين (Diflobenzeuron) وهرمون (cryomazin) ، (Shen and Palp , 1990) .

4-3-2 المكافحة الحيوية : Biological control

تتضمن المكافحة الحيوية للذبابة المنزلية :

أ. المفترسات predators

تعد بعض الحشرات مفترسات فعالة ضد بيوض ويرقات هذه الحشرة من خلال تغذيتها عليها ومن أهم هذه المفترسات خنافس *Pumolio carcinops* و*Gnathorncus nanus* (Coleoptera : Histeridae) وبعض يرقات المفترسات من ثنائية الاجنحة مثل *Ophyra capensis* و *Hyarotaea anescens* (Diptera : Muscidae) والعنكبوتيات مثل حلم *Machrocheles muscadomesticae* و *M. glabor* والنمل المفترس *Oecophylla smaragdina*(Axtell , 1999 ; Statford and Bay , 1994) .

ب. المتطفلات أو أشباه الطفيليات Parasitoids

ومن أهم متطفلات الحشرات العائدة الى عائلة Pteromalidae ، وسجلت نجاحات عديدة في أغلب مناطق العالم، جراء تطفلها على عذارى هذه الحشرة وخصوصا الزنابير الطفيلية مثل *Spalangia nigro* و *S. cameroni raptor Mucidifurx* و *Nosonia vitripennis* (Hymenoptera : Pteromalidae) (Gibson,*et al* 1997; Sureshan and Nareudran,2003; Gibson, 2009) .

ج. الديدان الممرضة للحشرات Entomopathogenic nematode

استعملت الديدان الخيطية الممرضة للحشرات في مكافحة الذباب المنزلي مثل *Paraiotonchium muscadomesticae* (Nematoda : Itonchilidae)) و *Steinernema feltiae* و (Nematoda :

(Steinernematidae) و *Heterohabditis megidis* (Nematoda : Heterohabditidae) اذ كان لها دور كبير في خفض اعدادها في حقول تربية الماشية والدواجن من خلال تغذيتها على يرقات الذبابة المنزلية (Geden,1997; Renn , 1998 ;Iqbal *et al* ., 2014)

د. الأحياء المجهرية الممرضة للحشرات Entomopathogenic micro-organisms

تصاب الذبابة المنزلية بمختلف الأمراض التي تسببها الأحياء المجهرية، ولعل من اشهر الأمثلة على ذلك استعمال البكتريا الممرضة للحشرات *Bacillus thuringensis* .اما حول استخدام الفيروسات والريكتيسيا لمكافحة الحشرة فهي نادرة جدا ان لم تكن معدومة .في حين كان للفطريات الممرضة للحشرات (entomopathogenic fungi)الدور الأكبر في مكافحة حشرة الذبابة المنزلية .اذ أظهرت كفاءة عالية في القضاء على هذه الحشرة والحد من انتشارها (Jesperson and keiding,1990) .

2 – 4 الفطريات الممرضة للحشرات Entomopathogenic fungi

تعود معظم الفطريات الممرضة للحشرات الى خمس شعب في المملكة الفطرية وتتضمن شعبة الفطريات الكيسيةAscomycota وشعبة الفطريات اللاقحية Zygomycota وشعبة الفطريات الناقصة Deteuromycota وشعبة الفطريات المائية ذات الأبواغ السابحة Mastigomycota وشعبةالفطريات البازيدية Basidomycota تعد الفطريات من المسببات الممرضة للحشراتً ، اذ يهلك عدد كبير من الآفات بالأمراض الفطرية سنوياً ولم يعد استعمال هذه الفطريات في طور التجريب والاختبار بل ان كثيراً من هذه الفطريات متوفر بشكل مستحضرات تجارية في الأسواق ، كما أن كثيراً منها مازال في مرحلة التطوير. (Samson *et al*.,1988).

2-4-1 الرتبة Moniliales

تضم هذه الرتبة عدداً من الفطريات الممرضة للحشرات التي تعود إلى شعبة الفطريات الناقصة Deteuromycota وتضم اجناساً تتطفل على الحشرات والديدان الخيطية ، وتعود المضائف الحشرية لإفراد هذه الرتبة الى رتبة نصفية الأجنحة Hemiptera ومتشابهة الأجنحة Homoptera وثنائية الأجنحة Diptera وحرشفية الأجنحة Lepidoptera (**Zimmermann, 2008**) . يعد جنس *Paecilomyces* العائد لهذه الرتبة من اكبر الأجناس، ويتضمن العديد من الانواع الفطرية الممرضة للحشرات وللديدان الخيطية ومنها *P. farinosus, P. fumosoroseus, P.amoeneroseus, P. lilacinus, P. javanicus* and *P. tenuipes* (Samson ,1974).

2-4-2 الأهمية الطبية للفطر *Paecilomyces lilacinus*

يعد الفطر *P.lilacinus* واسع الأنتشار حيث يستوطن في التربة، ومن الممكن عزله من الاراضي الزراعية وغير الزراعية وله قدرة عالية للتطفل على انواع مختلفة من الديدان الخيطية والحشرات، ويوجد ايضا في المنطقة التي تحيط بجذور النباتات ،وللفطر قدرة لتحمل مدى واسع للأس الهيدروجيني pH من النمو على المواد العضوية التي تكون مجمعاً لأنواع الحشرات (Anderson *et al* .,1995). استعمل هذا الفطر في مجال المكافحة الجرثومية للحشرات الطبية والاقتصادية (Wakil *et al* .,2012) . والحلم (Sanjaya *et al* .,2016) . ومختلف انواع النيماتود (Jamali and Ghasemi .,2016) . ولنتائجه الجيدة التي تحققت في مجال المكافحة الجرثومية فقد تم انتاجه كمبيد حيوي على المستوى التجاري بأسماء متعددة منها : Melcon WG(wettable granular) .و Bioact WG .
(Kiewnick and Sicora .,2006).

3-4-2 تصنيف فطر *P.lilacinus*

التصنيف الحديث للفطر على وفق ما جاء به(Al Ajrami ،2016)

Kingdom : Fungi

Phylum: Deuteromycota

Class: Hyphomycetes

Order : Moniliales

Family : Moniliaceae

Genus : *Paecilomyces*

Species :*P. lilacinus* (Thom.)

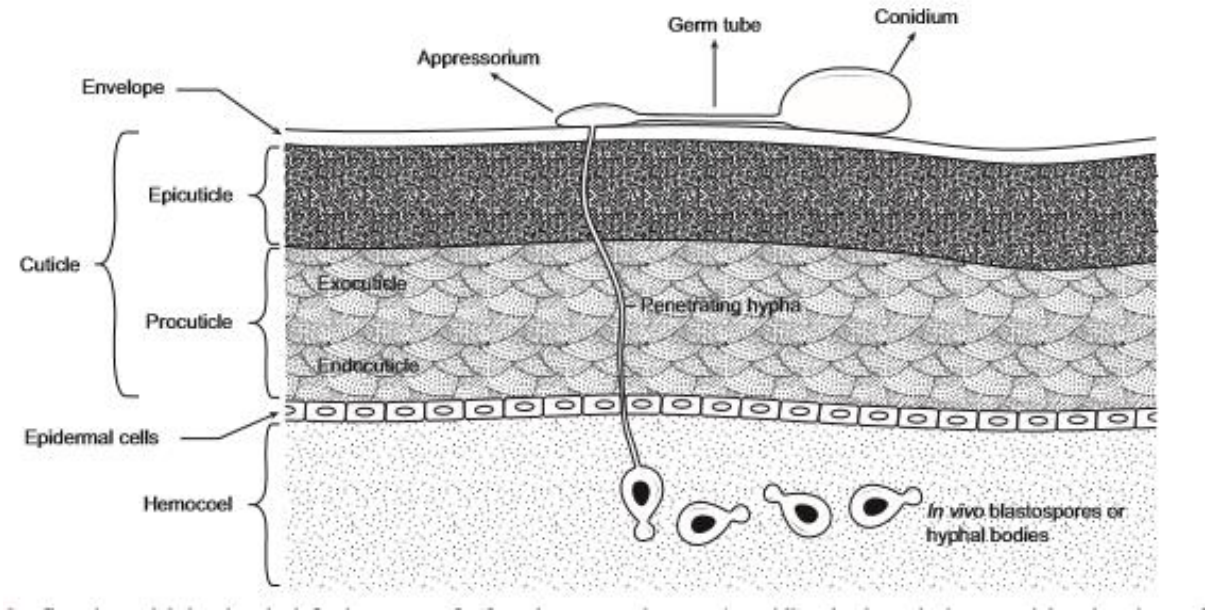
4-4-2 آلية الإصابة بالفطر *P.lilacinus*

تحدث الإصابة بهذا الفطر عن طريق إنبات الأبواغ وتكوُّن الأنبوب الجرثومي ، فعند الاستقرار على سطح البيضة تبدأ الخيوط الفطرية بأنتفاخ نهاياتها لتكون ممصات على سطح البيضة ،وتحت تلك الممصات يمتد عضو الاختراق (Appressorium) باتجاه غلاف البيضة وهو ما يسبب انتفاخها وانبعاجها وبأستمرار الاختراق تنفصل طبقة المح لثلاث حزم مع وجود عدد كبير من الفجوات واختفاء الطبقة الدهنية وتحطم الجنين (Brand,2004) كما في الصورة (1) .اما فيما يخص البالغات فيتم اختراق الكيوتكل بإفراز

الإنزيمات المحللة للكايتين Chitinases و الإنزيمات المحللة للدهون Lipases والإنزيمات المحللة للبروتين Proteases (Urbanzyk *et al* . , 1990). ثم يبدأ الفطر بالتكاثر داخل جسم الحشرة في التجويف الدموي وتتشكل blastopores (hyphae bodies) وتنمو الخيوط الفطرية باتجاه الأنسجة وتتغذى على المواد الدهنية ويعتبر الانهيار الفسيولوجي هو السبب في موت الحشرة (Wraight *et al*., 1990) كما في الشكل (1)

(ب) البيضة بعد الإصابة (أ) البيضة قبل الإصابة

صورة (1) تطفل فطر *Paecilomyces lilacenus* على بيضة الديدان الخيطية (Brand ،2004)



شكل(1) طريقة اختراق الفطر لطبقة الكيوتكل في الحشرات (Wraight *et al*., 1990)

5-4-2 : دور الفطر*P. lilacinus* في المكافحة الجرثومية

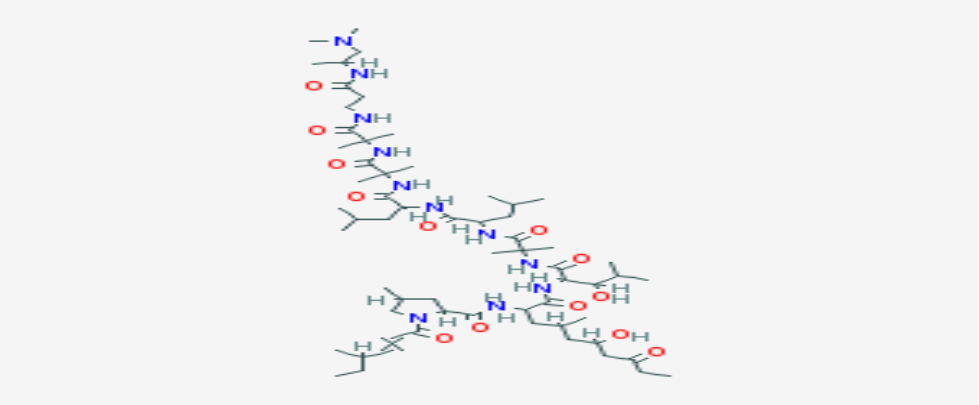
لهذا الفطر دورٌ هامٌ في المكافحة الجرثومية للحشرات في معظم أنحاء العالم و استعمل هذا الفطر بأعتباره مبيداً حيوياً لمكافحة انواع مختلفة من الحشرات ،إذ ذكر(Rowbach *et al*.,(1986 ان لهذا الفطر فعالية عالية ضد حشرة نطاطات الارز (Homoptera: Delphacidae) *Nilaparvata lugens*. اختبر (Fielder and Sosnowska .,(2007 تاثيرهذا الفطر على أربعة انواع من الحشرات الاقتصادية هي حشرات الذبابة البيضاء *Trialeurodes vaporariorum*وحلم العنكبوت الاحمر *Tetranychus urticae* ومن القطن*Aphis gossypii* وعث الازهار الغربي *Frankliniella occidentalis* في بولندا. اشار(Marti *et al* (2006 ان لهذا الفطر فعالية عالية في مكافحة حشرة *Triatoma infestans* Klug (Hemiptera: Reduviidae) الناقل الرئيسي لطفيلي *Schizotrypanum cruzi* الذي يسبب داء المثقبيات الاميركي او مايسمى بمرض(شاكاس) في الارجنتين كما في الصورة (2) , كما يهاجم هذا الفطر بالغات ويرقات حشرة الذبابة المنزلية(Mwamburi *et al* ., 2011) و استعمل الفطر *P. lilacenus* لمكافحة يرقات الفراشة المتطفلة على شجرة الجوز (Rao *et al* ., 2012) .

صورة (2): الحشرة الناقل الرئيسي لطفيلي مرض شاكاس *Triatoma infestans klug* مصابة بالفطر*P.lilacinus* (Marti *et al*., 2006)

6-4-2 : السموم وعوامل الضراوة في الفطر *P. lilacinus*

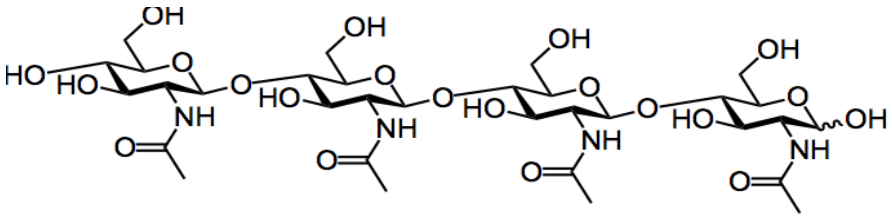
تفرز من الفطرعدد من السموم و الانزيمات الممرضة للحشرات والتي تعد من اكثر عوامل الضراوة فتكا بالمضيف اذ تسهل من عملية اختراق جسم المضيف والتاثير على التفاعلات الخلوية وهو الامر الذي يمهد الطريق امام الفطر لاحداث الاصابة والحركة خارج وداخل الخلايا وفي نفس الوقت تحمي هذه الانزيمات والسموم الفطر من الجذور الحرة والمواد الكميائية التي يفرزها المضيف وان الجينات المسؤولة عن انتاج عوامل الضراوة هذه تسمى (Putative virulence genes)، ويمكن تلخيص بعض المواد الايضية والأنزيمات التي يفرزها الفطر بالنقاط الآتية: (James and Hardwood ,2006).

1-سموم Paecilotoxins وتشمل سموم leucinostatins بنوعيها A و B هي ببتيدات تحتوي على أحماض دهنية غير مشبعة وبقايا مركبات امينية، والتي لها فعالية سمية عالية تجاه اجنة بيوض الحشرات والديدان الخيطية كما تعمل على تثبيط تخليق ATPالميتوكوندريا والفسفرة التاكسدية بتأثيرها في الخلايا العصبية، وهذا ما يؤدي الى شلل المضيف (Ricci *et al*.,2000)

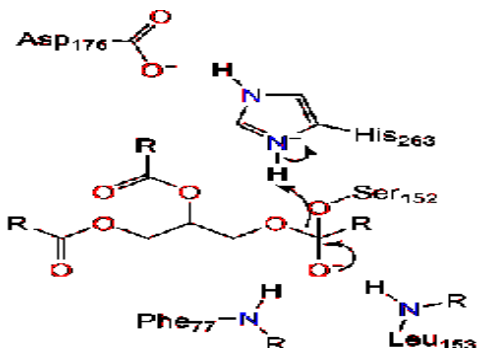


leucinostatin (Ricci *et al*.,2000)

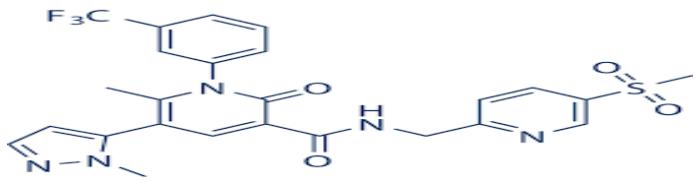
2-إفراز انزيمات التحلل المائي وchitinase وlipase و protease و التي لها دور فعال في تطفل الفطر و في عملية اختراق الفطر جسم المضيف، وخصوصا بيوض وبالغات الحشرات والديدان الخيطية. (Dackman *et al*.1989)



Chitinase (Dackman *et al*.1989)

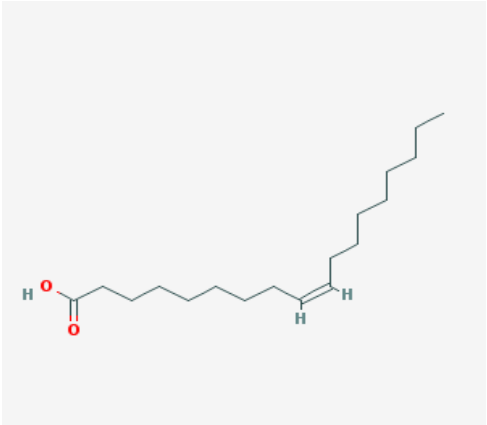


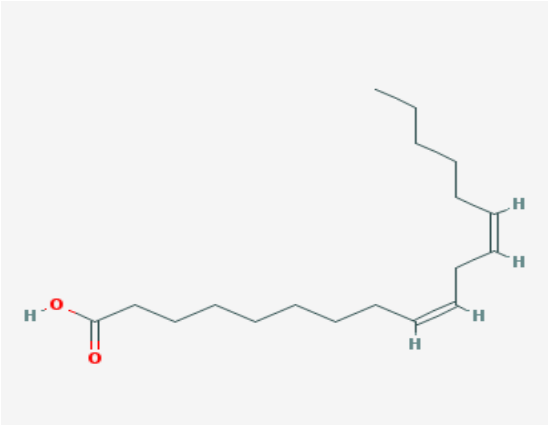
(Dackman *et al*.1989) Lipase



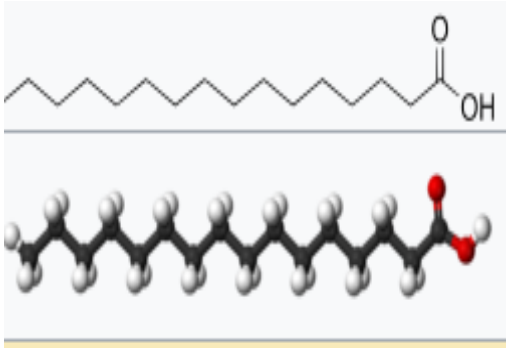
(Dackman *et al*.1989) Protase

3-الأحماض الدهنية oleic وlinoleic وpalmitic acid لها فعالية سمية عالية تجاه الديدان الخيطية وبعض الحشرات، اذ تعمل على تثبيط عملية التكاثر وتزيد من مسامات الطبقة الدهنية في الغشاء الخلوي (Beven *et al*.1998).



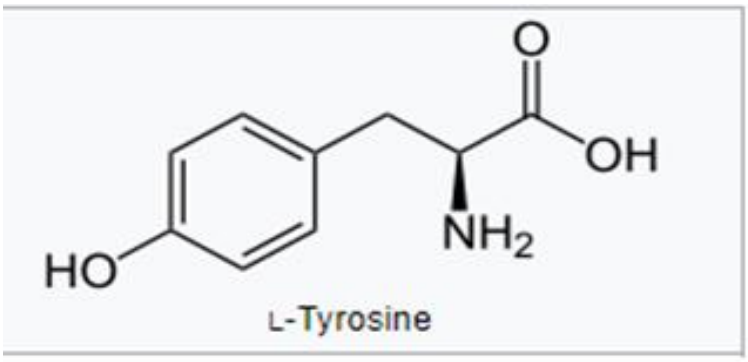


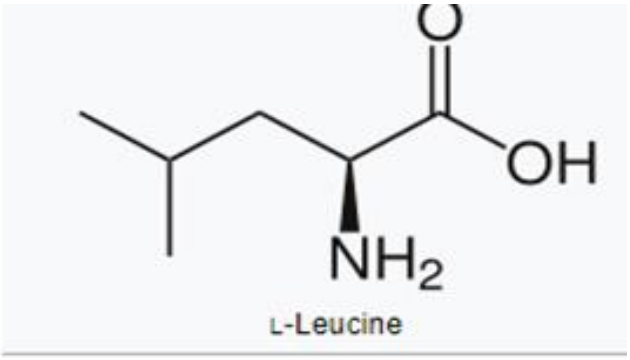
Oleic acid) و (Beven *et al*.1998) (linoleic acid

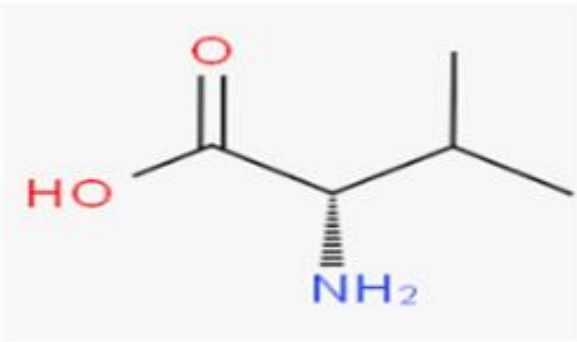


(Beven *et al*.1998) Palmitic acid

4-الأحماض الأمينية وتشمل tyrosin و leucin وvalin يفرزها الفطر كمواد أيضية تؤثر على درجة حامضية وقاعدية الوسط مما يؤدي الى توقف بعض العمليات الحيوية (Szentivanyi *et al*.2006) .





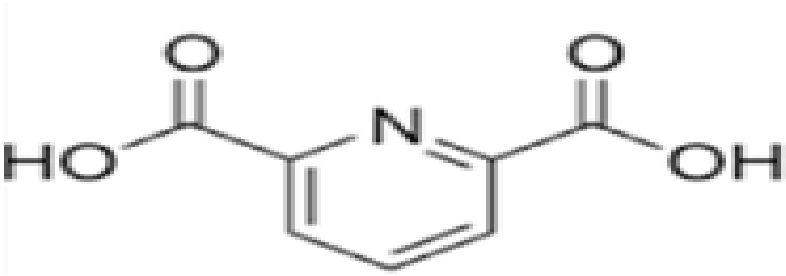


Valine

(Szentivanyi *et al*.2006) valin وleucin و tyrosin

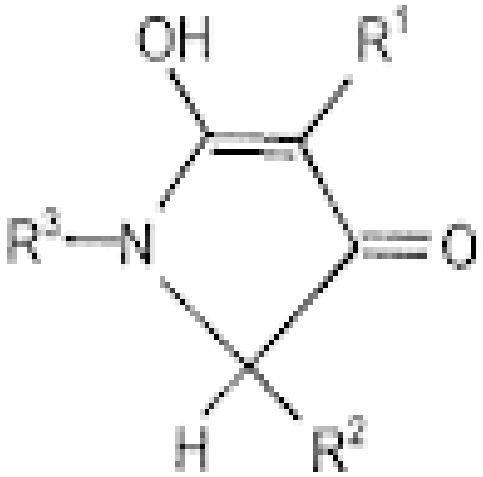
5- مركبات فعالة

1-المادة الفعالة Dipicolinic acid حيث يفرز هذا الحامض كمادة ايضية ثانوية بواسطة بعض الفطريات الممرضة للحشرات ويعمل كمركب مخلبي(chelated compound) لمسك الايونات في خلايا المضيف مما يعرقل من سير العمليات الحيوية كما ان له فعالية سمية تجاه اليرقات (Isaka et al.2003)



Isaka *et al*.2003) Dipicolinic acid

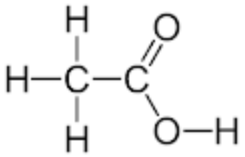
2- المركب الفعال tetramic acid تفرزه بعض الفطريات الممرضة للحشرات كمادة ايض ثانوي اذ يمتلك القابلية للارتباط بمركبات اخرى، وتكوين معقد كيميائي (Sharma *et al* .,2016) .



(I)

(Sharma *et al* .,2016) tetramic acid

3-المركب الفعال acetic acid تفرزه بعض الفطريات الممرضة للحشرات كنواتج ايض ثانوية له دور فاعل في مكافحة الحشرات والديدان الخيطية والحلم ويساعد في تثبيط العفن الازرق الذي يصيب بعض الفاكهة اذ يحفز المقاومة الطبيعية للنباتات ضد بعض الفطريات (Djian *et al* .,1991).



(Djian *et al* .,1991) acetic acid

الفصل الثالث

المواد وطرائق

العمل

Materials &Methods

3- المواد و طرائق العمل

3-1 الأجهزة والموادApparatus and Materials المستعملة للدراسة

3 -1-1 الأجهزة Apparatus

جدول(3-1) الأجهزة المستعملة في الدراسة و الشركة المصنعة

ت	أسم الجهاز		الشركة المصنعة
1	المؤصدة	Autoclave	Memmert
2	ميزان حساس	Sensitive Electric Balanc	Gallankamp
3	جهاز تقطير	Distillation apparatus	Memmert
4	حاضنة	Incubator	Memmert
5	مجهر مركب	Compound Microscope	Olympus
6	مجهر تشريح	Dissecting- microscope	Optica (Japan)
7	فرن كهربائي	Oven	Memmert
8	جهاز قياس الحموضة	PH-meter	Lobcco
9	ثلاجة	Refrigerator	Chiller
10	خلاط كهربائي	Blander	توشيبا العربي
11	ومحرك مغناطيسي	Magnetic Stirrer	Lobcco
12	حمام مائي	Water Bath	Memmert
13	جهاز تفريغ هوائي	Vacuum pump	Burchi
14	كابينة العزل المجهري	Hood	Philips
15		High performance Liquid chromatograph HPLC	Koria
16	جهاز قياس الرطوبة	Hygrometer	Lobcco
17	محاقن نبيذة	Disposable syringes	Pharmapian International (Germany)
18	كروماتوغرافيا الغاز	Gas chromatography	Philips
19	مصيدة حشرات	Insect trap	Local made

2-1-3 : المواد والمحاليل المستعملة:

ت	أسم المادة		الشركة المصنعة
1	محلول ناشر	Tween 80%	vapco
2	صبغة المثلين الزرقاء	Methyleen blue	syrbio
3	محلول الفورمال سلاين	Formal saline	BDH(England)
4	المحلول الملحي الطبيعي	Normal saline	Fluka(England)
5	محلول اليود المائي (يود لوكول)	Lugul Iodin	BDH(England)
6	الكلورامفنيكول	Chloramphenicol	Ajanata Pharma Limited

3-1-3 الأدوات

الأداة		الشركة المصنعة
مرشحات دقيقة حجم 0.45 µ و 0.22µ	Millipore filters	Difco
أوراق الترشيح	Filter papers	Grenier
ماصة دقيقة	Micro pipette	Oxford
أطباق بتري بلاستيكية مختلفة الاحجام	Disposable Petri dishes	Grenier
دوارق حجمية مختلفة	Volumetric flasks	Jlassco
انابيب اختبار	Test tubes	Pytex
قمع بخنر	Bukhner,s funnel	Griffin
قناني محكمة الغلق	Secrew cap Bottles	Universal tube
شرائح زجاجية	Slides	Leatz
غطاء سلايد	Cover slide	Hirshman
شريحة عد الابواغ	Neubauer haemocytometer	Boeco
مجففات	Desiccator	Grinier

2-3 : تحضير الصبغات والمحاليل والاوساط الزرعية

- **محلول الفورمل سلاين Formal saline**

أذيب 9 غم من كلوريد الصوديوم Nacl في 900مل ماء مقطر، واضيف اليه 100مل فورمالديهايد Formaldehyde ذي التركيز 40% ويستخدم لحفظ نماذج القناة الهضمية.

- **محلول صبغة اللاكتوفينيول الزرقاء Lacto phenol blue : -**

أذيبت مادة الفينول البلوري بالماء المقطر مع الاستعانة بالحرارة قبل اضافتها الى الكليسيرول و حامض اللاكتيك ، ثم أذيبت المكونات (الفينول البلوري ، كليسيرول، حامض اللاكتيك) في 20 مل من الماء المقطر ، بعدها تمت اضافة 3 قطرات من صبغة أزرق القطن ، وحفظ المحلول في قنينة معتمة واستعمل المحلول لغرض تصبيغ الفطر لإجراء الفحص المجهري .

- **محلول اليود المائي (يود لوكول)**

حضر لغرض الكشف عن الأطوار المتكيسة للأوالي الطفيلية اذ أذيب 10 غم كلوريد البوتاسيوم في 100 مل من الماء المقطر، ثم اضيف اليه وببطء 5 غم من بلورات اليود المطحونة مع التحريك بلطف، حتى ذوبان البلورات، ثم رشح المحلول الناتج، ووضع الراشح (محلول الخزن)في قناني داكنة بعيدة عن ضوء الشمس.

ولتحضير محلول العمل من محلول الخزن خفف الثاني بمقدار جزء واحد منه ،الى خمسة أجزاء ماء مقطر، ويبقى محلول العمل صالحا لمدة أسبوعين الى ثلاثة اسابيع ، اما محلول الخزن فانه يصبح غير صالحاً للعمل في حالة اختفاء بلورات اليود من قاع القنينة .

- **صبغة الكاربول فوكسين**

حضرت مادة Alcohol basic fuchsin باذابة 3 غم من مسحوق الصبغة القاعدية في 100 مل من الكحول الاثيلي بتركيز 95%.

تم مزج 10 مل من Alcohol basic fuchsin مع 90% من الفينول بتركيز 5% وترك المزيج ليستقر مدة 24 ساعة ثم رشح المحلول باستعمال ورق الترشيح ليصبح جاهزاً للاستعمال اذ استخدم لصبغ الأكياس البيضية لطفيلي الابواغ الخبيئة *C. parvam* (Coles and Apline,1991).

- **الاوساط الزرعية**

1) وسط أكار البطاطا والديكستروز الجاهز (Potato's Dextrose Agar(P.D.A. :

حضر بإذابة 39 غم وسط أكار البطاطا و الديكستروز الجاهز / لتر من الماء المقطر في دورق زجاجي سعة 1000 مل، سخن لدرجة الغليان ليذوب بالكامل، وضبط الأس الهيدروجيني

عند pH = 6.5 ± 2 باستعمال جهاز pH meter , وبحسب تعليمات الشركة المنتجة و عقم بجهاز المؤصدة بدرجة حرارة 121 ْم وتحت ضغط 1 جو أو (15باوند / انج ²) لمدة 20 دقيقة ، بعد انتهاء التعقيم ترك ليبرد لدرجة حرارة (45-50)ْ م، ثم أضيف المضاد الحيوي Chloramphenicol بمقدار 250 ملغم /لتر قبل التصلب، ثم وزع الوسط المحضر في أطباق سعة 9 سم، وتركت حتى تتصلب ، مع الأخذ بنظر الاعتبار مزج الوسط قبل الصب (Collee *et al*., 1996) ، واستعمل الوسط المحضر لعزل الفطريات وتنميتها، وحفظ النماذج الفطرية المعزولة .

2) وسط أكارالسابرويد و الديكستروز الجاهز (Sabourud Dextrose Agar(S.D.A.

حضر بإذابة 62 غم من وسط أكارالسابرويد و الديكستروز الجاهز / لترمن الماء المقطر في دورق زجاجي سعة 1000 مل، سخن لدرجة الغليان ليذوب بالكامل، وضبط الأس الهيدروجيني عند pH=6.5±2 ، وبحسب تعليمات الشركة المنتجة، واتبعت خطوات التعقيم في تحضير وسط (P.D.A.) ،ثم استعمل الوسط المحضرلعزل الفطريات وتنميتها وحفظ النماذج الفطرية المعزولة من الذباب .

3) وسط مرق البطاطا ديكستروز (Potato's Dextrose Broth (PDB :

حضر بطريقة تحضير أكار البطاطا والديكستروز مختبرياً، ولكن من دون اضافة اكار استعمل هذا الوسط لتحضير العوالق و الرواشح الفطرية (ديوان و يحيى ، 1984) .

3-3 : التحري عن الطفيليات التي تحملها بالغات الذبابة المنزلية :

اولا :- جمع بالغات الذبابة المنزلية :

جمعت بالغات الذبابة المنزلية من خمس بيئات مختلفة(بيئة مستشفيات ،اسواق ،مجازر، بيوت، حظائر حيوانات) من محافظة الديوانية خلال مدة الدراسة وبمقدار 80 ذبابة لكل بيئة شهرياً طيلة مدة الدراسة من تشرين الاول /2017 ولغاية آب /2018.استعملت شبكة لصيد الحشرات حيث وضعت الحشرات التي جمعت في قناني بلاستيكية شفافة، وتم نقلها الى مختبر الحشرات في جامعة القادسية/كلية العلوم حيث وضعت الحشرات في الثلاجة لمدة 3 دقائق بدرجة 0ْم لغرض تثبيط نشاطها .

ثانيا :- عزل الطفيليات من السطح الخارجي والقناة الهضمية للذباب المنزلي :

وضعت الحشرات في أنابيب معقمة ونظيفة بمعدل 10 حشرات في أنبوبة اختبار أضيفت إليها 5مل من المحلول الفسيولوجي، ورجت بقوة لغرض تحرير الطفيليات العالقة على جسم الذبابة

وخاصة الشعيرات التي تغطي جسمها، ثم نقل السائل بعدها الى انابيب مخروطية وضعت في جهاز الطرد المركزي ونبذت بسرعة 3000دورة /دقيقة .وأخذت قطرة من الراسب وضعت على شريحة زجاجية ومزجت مع قطرة من محلول لوكال ايودين وتفحص تحت المجهر الضوئي بقوة 40x و100x وشخصت انواع الطفيليات المعزولة التي تم تأكيدها من قبل أ.د هادي الميالي /كلية التربية /جامعة القادسية.

وشرحت البالغات بعد فحصها سطحياً وسحقت قنواتها الهضمية معاً في أنبوبة اختباربواسطة أسطوانة زجاجية(glass rode) وأضيف اليها 5 مل من محلول الفور مال سلاين ونبذت بجهاز الطرد المركزي، وفحص الراسب كما في أعلاه .وأخذت قطرة من الراسب ووضعت على شريحة زجاجية أضيفت اليها قطرة من صبغة زيل- نلسن للتحري عن طفيلي *Cryptosporidium parvam*. وتم حساب اعداد الاطوار الطفيلية و النسبة المئوية لكل طور بالطريقة التالية:

$$\text{النسبة المئوية لكل طورطفيلي} = \frac{\text{عدد النوع لكل طور طفيلي}}{\text{المجموع الكلي للاطوار الطفيلية}} \times 100$$

(Nmorsi ; 2006 ، Oghale1 *et al* .,2013)

4-3 : إعداد مزرعة الذبابة المنزلية :

أعدت مزرعة دائمية للحشرة في المختبر، اذ جمع أعدادٌ من البالغات ووضعت في أقفاص تربية صممت على شكل متوازي مستطيلات(40×35×40)سم قاعدته خشبية وغطيت أوجهه كافة بقماش ألتول عدا سطحه العلوي فقد غطي بالزجاج وغذيت البالغات باستعمال القطن المبلل بالماء ومسحوق الحليب في أطباق بتري وبمعدل طبقين لكل قفص . جمعت البيوض ونقلت إلى أواني زجاجية حاوية على وسط صناعي لتنمية اليرقات مكون من60غم روث حصان و10غم سكر شعير و5غم خميرة (عبد الفتاح ، 1989) ،وأودعت في أقفاص تربية أخرى، وتم متابعتها وصولاً إلى الدور الكامل وهكذا نقيت المزرعة لثلاثة أجيال قبل إجراء التجارب عليها .

3- 5 : عزل الفطر *Paecilomyces lilacinus*

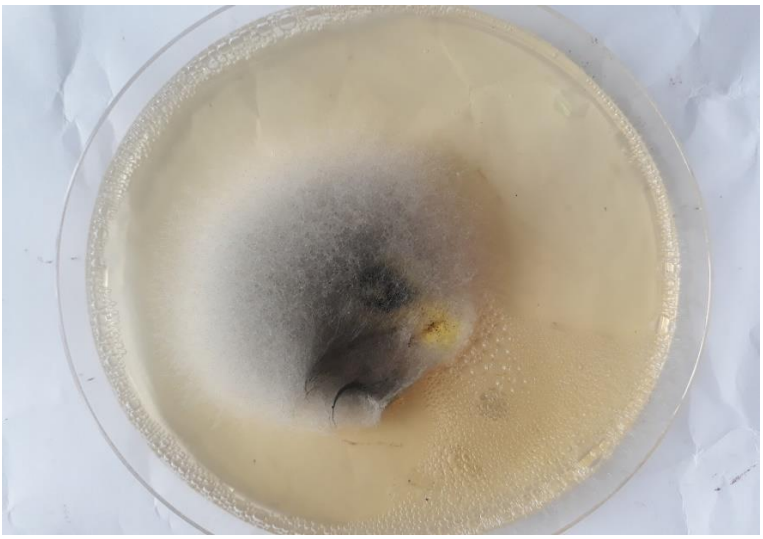
1-جمع الحشرات المصابة Cadaver :

جمعت جثث البالغات الميتة لحشرة الذبابة المنزلية التي بدت عليها أعراض الإصابة بالفطريات الممرضة ، ولعل أشهرها وجود هالة بيضاء تحيط بجسم الحشرة ، إذ رفعت بوساطة

ملقط معقم من على جدران وزجاج الشبابيك من بعض البيوت، ووضعت في أنابيب زجاجية سبق تعقيمها، وغطيت فوهتها بقطعة من الشاش منعاً من ازدياد الرطوبة ونقلت إلى المختبر بداخل حاوية .

2- طريقة عزل الفطر *P. lilacinus*

وضعت الذبابة الميتة داخل انبوبة معقمة ونظيفة أضيف اليها 3مل من الماء المقطر، وبعدها يتم تفريغ الماء المقطر واضافة 2مل من محلول هايبوكلورات الصوديوم لغرض تعقيم السطح الخارجي للذبابة، وبعده تم غسلها ثلاث مرات بالماء المقطر ووضعت على ورق ترشيح لغرض تجفيفها ،ونقلت بعدها الى وسط زرعي PDA لمدة 5-7 ايام كما في الصورة (3)، بعدها أخذ بواسطة ناقل معقم قليل من المزرعة وفحص على شريحة زجاجية عليها قطرة من اللاكتوفينول أعدت لهذا الغرض للتأكد من نوع الفطر .



الصورة (3)بداية تكون الغزل الفطري الممتد من داخل جسم الذبابة الى الوسط الفطري PDA

3- تشخيص ووصف الفطر *P .lilacinus* :

أخذ جزء صغير من النمو الفطري بوساطة ناقل معقم من مزرعة الفطر ووضع على ورقة ترشيح معقمة لصقت داخل غطاء طبق بتري، ثم قلب الغطاء على شريحة زجاجية لجمع الابواغ، بعدها وضع غطاء الشريحة، ودرست صفات المستعمرة تحت المجهر الضوئي، وتم تشخيص الفطر بالاستعانة بالمفاتيح التصنيفية(Ellis ;1971;Burgess ,2007) وتم تاكيد تشخيص الفطر من قبل أ. م. د عبد الأمير سمير سعدون / قسم علوم الحياة / كلية العلوم/جامعة

القادسية وتم تأكيدها من قبل أ د عدنان حمد /كلية الطب /احياء مجهرية و أ م د ماجد كاظم / كلية التربية /علوم حياة /جامعة القادسية .

4-حفظ عزلة الفطر *P. lilacinus* :

نقل جزء صغير من النمو الفطري بوساطة ناقل معقم الى أنابيب سعة 15 مل محتوٍ على الوسط الـ PDA ووضع اللقاح داخل فسحة تم عملها في الطبقة السطحية للوسط الزرعي بوساطة ناقل معقم وكررت العملية باستعمال أنابيب أخرى.ووضعت الأنابيب في الحاضنة بصورة مائلة بدرجة حرارة (18-20) مْ لمدة أسبوعين ، ثم حفظت الأنابيب بعد ذلك بدرجة حرارة 8مْ في الظلام (Gustafson, 1965).

5- تحضير راشح الفطر:

حضر الوسط PDB خال من الاكار ووزع في دوارق سعة 250 مل وبمقدار150 مل للدورق ولقح الوسط باقراص قطرها 0.5 سم بثاقب الفلين من مزرعة الفطر بعمر خمسة أيام. حضنت الدوارق بدرجة حرارة 23 مْ وبمدد حضن مختلفة (10و14و21و28) يوماً،بعدها تم الترشيح باستخدام ورقة ترشيح Whatman No.1 بقمع بخنر وبمساعدة جهاز تفريغ الهواء وأعيد الترشيح باستخدام المرشح الدقيق. 0.22µ وحضرت التراكيز 25% و50% و75% و100% مل وذلك عن طريق التخفيف بالماء المقطر.

6- تحضير المعلق الفطري :

حضر المعلق الفطري في وسط Potato's Dextrose Broth **(PDB)** في دوارق زجاجية سعة كل منهما 250 مل بمقدار 150 مل من الوسط المستعمل . حضنت المزرعة بدرجة حرارة 25مْ لمدة 7 أيام وكانت ترج يومياً لتوزيع النمو الفطري، ثم رشحت بوساطة قطعة من الشاش ، اخذ 1مل من الراشح ووضع على شريحة عد كريات الدم الحمر المحورة لعد الأبواغ Improved Neubauer Haemocytometer لتقدير عدد الأبواغ لكل وحدة حجم اذ حُسب عدد الأبواغ في كل مربع من المربعات الأربعة الكبيرة الموجودة في أركان الشريحة ، بعد ذلك قُسم عددها الكلي على أربعة للحصول على معدل عدد الأبواغ في المربع الواحد ، ثم ضُرب هذا الناتج في 1×10^4 (عامل التحويل للحجم) للحصول على عدد الأبواغ في 1مل من المعلق الفطري .اذ تم الحصول على:

تركيز 1×10^9(بوغ/مل) (Goettel and Inglis,1997)

ولغرض الحصول على تركيز اقل من ذلك طبقت المعادلة الآتية (Lacey,1997) :

الحجم (مل) المأخوذ من المعلق الرئيسي = $\frac{\text{التركيز المطلوب}}{\text{تركيز المعلق الاصلي}}$

ثم يضرب الناتج في حجم المعلق المطلوب تحضيره،وهكذا حضرت تراكيز:

$(10^{5} \times 1 ، 10^{6} \times 1 ، 10^{7} \times 1 ، 10^{8} \times 1)$

6-3 : التأثير الحيوي لعالق الفطر*P.lilacinus* في أدوار حياة الذبابة المنزلية:

أختبر في هذا الجانب تأثيرعالق الفطر في البيضة والأطوار اليرقية الأول والثاني والثالث ودوري العذراء والبالغة.

1- تأثير عالق الفطر في البيضة:

هيأت بيوض بعمر 24ساعة من إناث المزرعة الدائمة في المختبر ووضعت 100 بيضة في كل طبق بتري وفي ظروف المختبر ورشت البيوض بـ 5مل من كل تركيز من تراكيز المعلق الفطري المذكورة في النقطة (6) بوساطة مرشة يدوية من ارتفاع 15 سم تقريباً، اما معاملة المقارنة فقد رشت بالماء المقطر. وكررت التجربة ثلاث مرات ومثلها معاملة المقارنة وتمت مراقبة فقس البيض يومياً، وحسبت نسبة فقس البيض بعد 24 ساعة .

2- تأثير الفطر في الاطوار اليرقية:

لمعرفة التأثير الحيوي للفطر في الأطوار اليرقية الثلاث فقد أخذت يرقات الطور الاول ضمن عمر 24 ساعة بعد فقس عدد كافٍ من البيوض، اما يرقات الطور الثاني والثالث فقد هيأت من اعداد كافية من الطور الذي سبقه، اذ وضعت فرادى في انابيب زجاجية وحاوية على مايكفي من غذاء اليرقة المعقم، وتم مراقبتها يومياً لحين الانسلاخ. وضعت 10 يرقات من كل طور من الاطوار الثلاث في اناء زجاجي معقم سعة 250 مل وعوملت مكررات الاختبار الحيوي بتراكيز المعلق الفطري المذكورة ومعاملة السيطرة بالطريقة المذكورة في النقطة (1). وكررت التجربة ثلاث مرات لكل تركيز ومعاملة السيطرة وحسبت الهلاكات يوميا ولمدة ثلاث ايام .

3 - تأثير الفطر في دور العذراء

اخذت 50 عذراء بعد انسلاخ عدد كافٍ من يرقات الطور اليرقي الثالث. ووزعت على خمس أواني زجاجية معقمة بسعة 250 مل وتم معاملتها وكذلك معاملة السيطرة كما ذكر سابقاً، ونقلت إلى اواني جديدة ولكن من دون غذاء وحسبت الهلاكات يومياً ولمدة خمسة أيام.

4 - التأثير الحيوي للفطر في البالغات:

وضعت 5 ازواج من البالغات في قناني زجاجية معقمة سعة 500مل وعوملت بالطريقة نفسها المذكورة في دور العذراء آنفاً وبمعدل ثلاثة مكررات لكل تركيز فيما رشت معاملة

السيطرة بالماء المقطر.نقلت الحشرات المعاملة والمقارنة مباشرة الى أقفاص التربية وتم تغذيتها كما في الفقرة (3-4) . وحسبت الهلاكات بعد(5 و 6 و 7) أيام من المعاملة وصححت القيم حسب معادلة Orell and shneider (شعبان والملاح، 1993).

$$\text{النسبة المئوية المصححة} = \frac{\%\ \text{للهلاك في المعاملة} - \%\ \text{للهلاك في السيطرة}}{100 - \%\ \text{للهلاك في السيطرة}} \times 100$$

3-7 :التأثير الحيوي لرواشح فطر *P.lilacinus* بمدد حضن مختلفة في أدوار حياة الذبابة المنزلية:

تم دراسة تأثير رواشح الفطر الناتجة من مدد حضن مختلفة (10، 14، 21، 28) يوما وبتراكيز مختلفة هي: (1×10^9، 1×10^8، 1×10^7، 1×10^6 ، 1×10^5) في أدوار حياة الذبابة المنزلية في المختبر وحسب طريقة العمل في الفقرة (3-6) المذكورة آنفاً.

3 -8 : اختبار قدرة الفطر *P.lilacenus* على إنتاج السموم و بعض مركبات الايض الثانوية وبمدد حضن مختلفة بتقنيتي الـ HPLCوال GC :

3-8-1 : الكشف عن انتاج السموم بتقنية HPLC :

أجري التحليل في مختبرات دائرة البيئة والمياه التابعة لوزارة العلوم والتكنلوجيا ،إذ تم الكشف عن السموم التي ينتجها فطر*p.lilcinus* ومن هذه السموم Paecilotoxin باستعمال تقنية HPLC موديل Skyam ، وباستعمال طور ناقل مكون من (Mobile phase = D.W: 5% Formic acid: methanol (20 : 5 : 75) وعمود فصل C18-ODS(25 cm 4.6mm) وباستعمال كاشف Fluorescence detection وكان الطور المتحرك (Flow rate = 1ml/min) . وبعد اجراء التحليل للمادة القياسية التي حضرت بأخذ 0.1 g من السم القياسي واذابتها بحجم 250 ml في قنينة حجمية سعة 250 ml إذ كان التركيز الأولي 40 µg/ml أي 40 ppm ، وحضر تركيز 10 ppm وذلك بأخذ 0.4 ml من التركيز الأولي وإكمال الحجم الى 10 ml في قنينة حجمية سعة 10 ml .وتم أخذ 100 µl من التركيز الأخير وحقن في جهاز HPLC تحت الظروف أعلاه نفسها (Tolgyesi *et al*.,2015) . وباستعمال المعادلة التالية الموصوفة من (Akiyma *et al*., 1999) تم حساب تركيز السموم في عينات راشح الفطر حسب المعادلة الآتية:

مساحة العينة

تركيز النموذج = ---------- x عامل التخفيف x تركيز المحلول القياسي

المساحة القياسية

2-8-3 : استخلاص الأحماض الأمينية بتقنية HPLC :

أخذ 10 غم من العينة واضيف اليها 15 مل من حامض الهيدروكلوريك المركز 6 عيارية واضيف إليها محلول منظم بفر فوسفيت وميثانول بنسبة 80 : 20 ووضعت في قنينة محكمة الغلق وبعد اكتمال التحلل جففت تحت ضغط منخفض وبعدها وضعت في المجفف لمدة 24 ساعة للتخلص من الحامض بواسطة إضافة هيدروكسيد الصوديوم 6 عيارية وبعدها خفف الى 200 مل ورشحت وركزت باستعمال المبخر الدوار إلى 1 مل وأجري عليها الاشتقاق .

أ - عملية الاشتقاق :

أخذ 10 مايكرو ليتر من المحلول القياسي أو العينة المجهولة ومزجت مع 10 مايكرو ليتر من الكاشف (phenyl isothiocyanat PTIC) لمدة دقيقة وأضيف اليها 50 مايكرو ليتر من خلات الصوديوم بتركيز 0.1 مولاري PH=7 ومزج المحلول جيداً لمدة دقيقة ثم أخذ منها 40 مايكرو ليتر وحقنت في الجهاز .

ب- تقدير الاحماض الامينية:

تم إجراء التحليل في مختبرات البيئة والمياه / وزارة العلوم والتكنولوجيا باستخدام جهاز تحليل الأحماض الأمينية (Amino Acid Analyzer) الكوري المنشأ ،و تم تقدير إلمركبات استناداً

إلى الطريقة المقدمة من قبل (Scriver *et al*.,2001) وحسب الظروف المبينة ادناه :

Mobile phase	MeOH : D.W : Buffer (20 : 10 : 70)
Column	ZORBAX Eclipse-AAA; 3.5µm; L x i.d.=150 x 4.6 mm
Detection wavelength	ex = 313 nm , em = 445 nm

صورة(4) جهاز HPLC

3-8-3 :استخلاص الأحماض الدهنية من النموذج بتقنية GC:

أجري التحليل في مختبرات دائرة البيئة والمياه التابعة لوزارة العلوم والتكنلوجيا تم تقدير الدهون استنادا إلى طريقة (AOAC, 1995) باستخدام جهاز استخلاص الدهون (Soxholet) .

أ- أسترة الدهون :

حضرت العينة حسب الطريقة المعتمدة من قبل (AOAC, 1995) والمعتمدة على أسترة الدهون ، وذلك بتفاعلها مع هيدروكسيد البوتاسيوم الميثانولي والمحضر من اذابة 11.2 غم من هيدروكسيد البوتاسيوم وإذابتها في 100 مل من الميثانول ، وبعدها أخذ 1 غم من الدهن وأضيف إليها 8 مل من هيدروكسيد البوتاسيوم الميثانولي مع 5 مل من الهكسان ورجت سريعا لمدة 30 ثانية ثم تركت لكي تفصل الى طبقتين ، تؤخذ من الطبقة العليا (طبقة الهكسان) التي تحوي على الدهن المؤستر وتحقن في الجهاز.

ب- تقدير الأحماض الدهنية :

تم تحليل مركبات الأحماض الدهنية باستخدام جهاز كرموتوغرافيا الغاز (GC – 2010) موديل شيمادزو ياباني المنشأ إذ استخدم كاشف اللهب المتأين (FID) واستخدم عمود فصل شعري نوع (SE- 30) بأطوال (30m * 0.25 mm) تبعا للظروف الاتية :

جدول (3-4) درجات الحرارة و معدل جريان الغاز:

ت	اسم الفقرة	درجة الحرارة
1	درجة حرارة منطقة الحقن	280 C
2	درجة حرارة الكاشف	310 C
3	درجة حرارة عمود الفصل	120 – 290 (10 C / MIN)
4	معدل جريان الغاز	100 Kpa

4-8-3 : استخلاص المركبات الفعالة من النموذج بتقنية GC :

أجري الفحص في مختبرات وزارة العلوم والتكنولوجيا / دائرة البيئة والمياة باستخدام جهاز كرموتوغرافيا الغاز موديل شيمادزو 2010 ياباني المنشأ باستخدام كاشف اللهب المتأين (FID) وباستخدام عمود فصل شعري نوع (DB - 1) باطوال (30m * 0.25 um * 0.25 mm) إذ كانت درجة حرارة منطقة الحقن والكاشف على التوالي : (280 , 330 C) بينما كانت درجة حرارة عمود الفصل تدريجية تبدأ من (150 – 90) درجة مئوية بمعدل ارتفاع 5 درجات / دقيقة . استخدام غاز النتروجين الخامل باعتباره غازاً ناقل بمعدل 105 KPa .

5-8-3 : التحليل الإحصائـــــــــــــي :Statistical analysis:

اتبع التصميم العشوائي الكامل Completely Randomized Factorial Design (C.R.D) في تنفيذ التجارب وتم استخدام مربع كاي X^2-value و اقل فرق معنوي Least significant Difference (L.S.D) عند مستوى معنوية $P \leq 0.05$ وحولت النسب المئوية المصححة للهلاك إلى قيم زاوية لإدخالها في التحليل الاحصائي (الراوي وخلف الله، 2000).

الفصل الرابع

النتائج والمناقشة

Results & Discussion

4 : النتائج والمناقشة :

4 - 1 :عزل وتشخيص الطفيليات المحمولة على السطح الخارجي وفي القنوات الهضمية للذباب المنزلي :-

تم عزل وتشخيص أكياس الأوالي الطفيلية وبيوض الديدان المعوية تعود لتسعة أنواع من الطفيليات هي *Cryptospridum parvum* و*Entamoeba histolytica* و *Enterobius vermicularis* و Hookworm (*Ancylostoma duodenale*) و*Ascaris lumbricoides* و*Giardia lamblia* و *Hyminolepis nana* و *Trichuris trichiura* و *Taenia sp* كما في لوحة الصور (5) وتم تأكيد تشخيصها من قبل أ. د .هادي الميالي / جامعة القادسية / كلية التربية / قسم علوم الحياة ، اذ يبين الجدول (4-1) ان أعلى نسبة مئوية لظهور الطفيليات من بين المواقع كان لحظائر الحيوانات إذ بلغت 28.36% وكانت اعلى نسبة فيها هي لبيوض الديدان الشريطية *Taenia sp.* والبالغة 4.55% واقل نسبة كانت لأكياس الأبواغ الخبيئة *C. parvum* % 1.25 و أعلى نسبة لمجموع الطفيليات كانت خلال شهر حزيران 5.37% إذ حقق فيه ظهور جميع الأنواع الطفيلية أعلاه فيما كانت اقل نسبة لظهور الطفيليات خلال شهري كانون الثاني وشباط إذ بلغت نسبة كل منهما % 1.24 اذ لم يسجل ظهور للطفيليات *C. parvum* و*E. vermicularis* و *G.lamblia* خلالهما فضلا عن ان شهر كانون الثاني لم تسجل فيه كل من *H. nana* و*Taenia* sp. وشهر شباط لم تظهر فيه كل من *A. lumbricoides* و*E. histolytica* . فيما سجلت بيئة المجازر المستوى الثاني لظهور الطفيليات اذ بلغت نسبتها 24.61% وكانت ايضا أعلى نسبة فيها لبيوض الديدان الشريطية *Taenia* sp. اذ بلغت 4.14% واقل نسبة فيها لـ *C. parvum* 0.42% .وأعلى نسبة تحققت لمجموع الطفيليات كانت خلال شهرحزيران 4.52% متمثلة بظهور جميع الأنواع الطفيلية اعلاه ماعدا *C. parvum* وأقل نسبة لظهور الطفيليات كانت خلال شهركانون الاول بواقع % 0.42 إذ لم يظهر سوى *A. lumbricoides* و*Taenia* sp. ، وتليها بيئة الأسواق لتحقق المستوى الثالث بظهور الطفيليات اذ حققت نسبة % 21.55 ايضا سجلت بيوض الديدان الشريطية أعلى نسبة فيها إذ بلغت 3.53% وأقل نسبة كانت ايضاً لـ *C. parvum* بمقدار% 0.84 اذ لم يظهر في الأشهر تشرين الاول و تشرين الثاني وكانون الاول وكانون الثاني وشباط ومايس اي من الأنواع الطفيلية ، وسجلت في شهر تموز كل أنواع الطفيليات اعلاه بنسبة مقدارها 4.14% ماعدا *H. nana* لم يسجل ظهورها خلال هذا الشهر، فيما كانت أقل نسبة خلال شهري كانون الاول و كانون الثاني اذ بلغت % 0.42 لكل منهما و لم يظهر سوى *A. lumbricoides* و *E. vermicularis* خلال شهر كانون الأول و*Ancylostoma duodenale* و*E. Histolytica* خلال شهر كانون الثاني ، وتليها بيئة المنازل

بنسبة % 16.4 إذ حققت أكياس أميبا النسيج *E. histolytica* أعلى نسبة من بين الأنواع الطفيلية الموجودة فقد بلغت 2.70% إذ ظهرت في كل اشهر الدراسة ماعدا شهري كانون الاول وكانون الثاني في حين كانت كل من *T.trichures* و *C. parvum* إقل نسبة بقيمة 1.04% و أعلى قيمة لنسبة ظهور جميع الطفيليات كانت خلال شهر حزيران اذ بلغت % 2.69 فقد ظهرت جميع أنواع الطفيليات المذكورة انفاً ماعدا *T.trichures* و*H. nana* في حين أن أقل نسبة لظهور الطفيليات كانت خلال شهر تشرين الاول إذ بلغت 0.63% وسجلت فقط ظهور كل من و*E. histolytica* و *E. vermicularis* و *Taenia sp.* ، اما بيئة المستشفيات المركز فقد كانت الأقل في ظهور وأنتشار الطفيليات بنسبة 9.13% فقد سجلت أعلى نسبة لأكياس أميبا النسيج بلغت % 1.46 وأقل نسبة لطفيلي *C. parvum* 0.42% وبلغت أعلى نسبة لمجموع الطفيليات خلال شهر مايس% 2.27 فيما كان أقل ظهور لمجموع الطفيليات خلال شهري تشرين الأول وآذار بنسبة 0.21% لكل منهما إذ لم تظهر اي من الطفيليات المذكورة آنفاً سوى *E. vermicularis* خلال شهر تشرين الاول و *T.trichures* خلال شهر آذار.

ويوضح الجدولان(4-2) و (4-3) النسب المئوية للطفيليات المعزولة من القناة الهضمية و السطح الخارجي لبالغات الذبابة المنزلية خلال مدة البحث إذ كانت نسبة الطفيليات المعزولة من السطح الخارجي للذباب 58.59% حققت *Taenia* sp. أعلى نسبة من بين جميع الطفيليات فقد بلغت 9.72% ، بينما لم يعزل طفيلي *C. parvum* من السطح الخارجي للذباب طيلة مدة البحث ، و أعلى نسبة لمجموع الطفيليات كانت خلال شهر مايس فقد بلغت % 10.34 كانت الأعلى نسبة فيه هو *A. duodenale* وبلغت % 2.27 وأقل نسبة للطفيليات المعزولة من السطح الخارجي كانت خلال شهر كانون الأول إذ بلغت % 2.07 .واما نسبة الطفيليات المعزولة من القناة الهضمية للذباب فقد بلغت 41.41% فقد كانت أعلى نسبة فيها هي لطفيلي *A. lumbricoides* بمقدار 6.01% و أقل نسبة لطفيلي *C. parvum* بمقدار 3.73% وبلغت أعلى نسبة لمجموع الطفيليات خلال شهر نيسان إذ كانت % 7.26 وكان لطفيلي *A . lumbricoides* أعلى نسبة خلاله فقد بلغت 1.24%و أقل نسبة لمجموع الطفيليات كانت خلال شهر كانون الثاني إذ بلغت 1.47%.

أشارت Hadi (2011) الى عزل ثلاثة أنواع من أكياس الأولي الطفيلية Protozoa هي (*E.coli* ، *E.histolytic* ، *Iodamoeba* sp) وأربعة انواع من بيوض الديدان الخيطية هي (*A.lumbricoides* , *Ascaridia* sp , *Strongyloides* sp. and *Habronema* sp.) ، بينما عزلت Hadi(2013) أيضا عشرة أنواع مختلفة من الطفيليات ، ثمانية منها هي بيوض الديدان الخيطية وأكياس

نوعين من الحيوانات الابتدائية في نوعين من الذباب هما *Chrysomya albiceps*, و *Chrysomya megacephala*، ومن القناة الهضمية لذباب الأسطبل (*Stomoxys calcitrans*) تم عزل وتشخيص بعض طفيليات الدم وهي (*Trypanosoma* sp , *Microfilaria*(*Babesia* and Al- *Theileria* (Hadi and Amery .,2012) ، وقد ذكرت (Hadi ، 2013) أن الذباب المنزلي الذي تم جمعه من مناطق متفرقة من بغداد سجلت فيها لأول مرة ظهور *Toxoplasma* sp. في القناة الهضمية للذباب المنزلي .وفي دراسة مماثلة اجرتها (Hadi ,2014) على ذباب اللحم *Sarcophaga africa* شخصت أربعة أنواع من الطفيليات كانت على السطح الخارجي وهي (*Ascaris vitulorium* , 10.7% *Paramphistomum* sp. 7.8%, *Strongyloides westri* 5%, *Taenia* sp. 10.6%) وفي القناة الهضمية شخصت ثمان أنواع من الطفيليات وهي :

(*Trichuris* sp.2.8%, *Toxocara* sp.20% and *A. lubrecoides* 12.8% C.*parvum*17.8%,*C.muris* 8.5%, *Cyclospora cayetanensis* 6.8%, *Thieleria* sp. 5% and *Trypanosoma* sp. 2.1%) ، اذ كانت نسبة الطفيليات في القناة الهضمية للذباب تفوق نسبتها على السطح الخارجي .كما عـزلت من السطح الخارجي لثمانية أنواع من الذباب احدها الذبابة المنزلية (*E. histolytica* cysts, Hookworm ova, *A. lumbricoides* ova, and *T. trichiura* ova) اربعة أنواع من البيوض والاكياس الطفيلية وعزلت اعلى نسبة من الطفيليات من الذبابة المنزلية (Nwangwu *etal*.,2013) تم تشخيص أربعة انواع طفيلية هي :

(*E. histolytica* cysts, Hookworm ova, *A. lumbricoides* ova, and *T. trichiura* ova) أذ عزلت جميعها من السطح الخارجي للذباب وأن أعلى نسبة لظهور الطفيليات من بين انواع الذباب كانت في الذباب المنزلي فقد بلغت 84.6% ، بينما وجد (Motazedian *et al* .,2014) بأن الذباب المنزلي يحمل الحلم من جنس (Acari: Macrochelidae) *Macrocheles* ويرقات الديدان الخيطية *A. lumbricoides* والطور المتغذي لطفيلي *G.lamblia* *واكياس* *E. histolytica* . كما عزلت من السطوح الخارجية والقنوات الهضمية للذباب المنزلي ستة انواع من الطفيليات *E. histolytica* ، *G. lambli* ، A.lumbrocoides ، T. trichiuria ، *H. nana* ، *E. vermicularis*، حيث كان اعلى معدل لانتشار الطفيليات في أماكن طرح الفضلات إذ بلغت % 57.6 في حين كانت اقل انتشاراً في المطاعم بنسبة 30.93 % (Oghale *et al* .,2013) وقد اتفقت هذه النتائج مع النتائج الحالية بخصوص تفوق نسبة

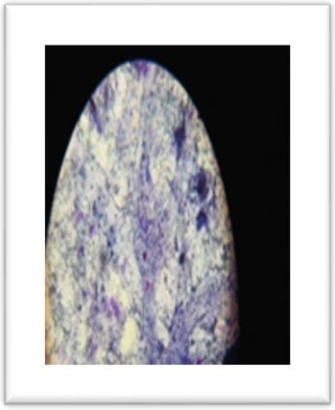
الطفيليات الموجودة على السطح الخارجي للذباب على نسبتها في القناة الهضمية . تقاربت النتائج مع ماذكره Al-Aredhi (2015) في دراسة أجراها على مناطق مختلفة من محافظة الديوانية إذ وجدت عشرة انواع من الطفيليات وقد تم عزلها من السطح الخارجي والقناة الهضمية للذباب المنزلي وهي (*E. histolytica, G.* lamblia , A. lumbricoides, *E. vermicularis* , *H.nana T. trichiura, Strongyloides* sp, *C. parvum,C. muris* and *Cyclospora cayetanensis*) وذكر (Oyetunde *et al*.,2016) بأن نسبة الطفيليات المعزولة من الذباب المنزلي كانت 74.66% فيما كانت نسبتها في الصراصر 25.44% وهذا دليل على ان انتشار الذباب كان اكثر في البيئات الملوثة بالطفيليات الممرضة .

وقد عزل Adenusi and Adewoga (2013) عدد من الطفيليات *A. lumbricoides* و*H.nana* و *E. vermicularis* و *G.* lamblia و*T. trichiura* و*Taenia* sp و*E. histolytica* و*C. parvum* و *A. duodenale* المحمولة على انواع من الذباب :

Musca domestica و *Chrysomya megacephals* و *Muscas orbena* و *Lucilia cuprina* و*Calliphora vicin* و *Sarcophaga* spp. و *Fannia scalaris* إذ كانت اعلى نسبة للطفيليات المعزولة هي من الذبابة المنزلية *M. domestica* والتي اتفقت مع ما ظهر من الانواع الطفيلية خلال هذا البحث .

وفي دراسة Onyenwe *et al*., (2016) عزلت ثلاث انواع من الطفيليات هي *A. lumbricoides* و *Fascola hepatica* و *Necator americanus* . وقد تبين من خلال النتائج بأن البيئات المفتوحة وغير المحمية مثل بيئة حظائر الحيوانات والمجازر، تكون أكثر عرضة للتلوث وانتشار الطفيليات، كون الذباب المنزلي يرتادها وينتشر فيها بكثرة على خلاف البيئات المحمية مثل بيئة المستشفيات والبيوت التي اظهرت اقل نسبة من البيئات المذكورةآنفاً .

E. vermicularis ova

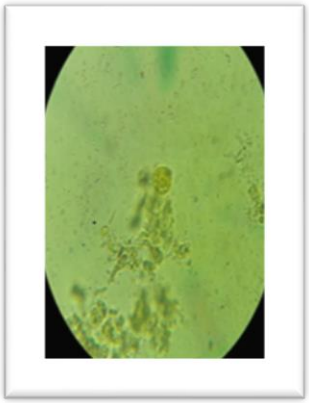


C . parvum Oocyst

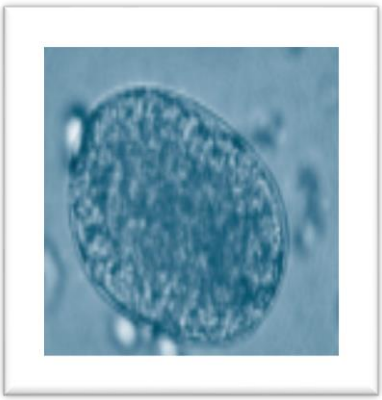
G.lamblia cyst

A.lumbrocoides ova

H. nana ova



E. histolytica cyst



,*A. duodenale*

Taenia sp

T. trichiura

صورة (5) لمجموعة أكياس الاوالي وبيوض الديدان الطفيلية تحت قوة تكبير X 400

جدول (4-1)النسبةالمئوية للطفيليات المعزولة من الذبابة المنزليةM.domesticaحسب الموقع ومدة البحث

قيمة مربع كاي X2-values بين الشهر والنوع	قيمة مربع كاي X2-values بين الموقع والنوع	% للطفيليات المعزولة في											اسم الطفيلي	الموقع
		Total %	تموز	حزيران	مايس	نيسان	اذار	شباط	ك2	ك1	ت2	ت1		
		3.31	0.83	0.21	0.41	0.41	0.41	0.21	0	0.21	0.4	0.21	*A. lumbricoides*	اسواق
		1.86	0.41	0.21	0.41	0	0.21	0.41	0	0	0.21	0	*T. trichiura*	
		3.11	0.62	0.21	1.04	0.62	0	0	0.21	0	0	0.41	*A. duodenale*	
		3.1	0.41	0.62	0.41	0.83	0.41	0	0.21	0	0	0.21	*E. histolytica*	
		1.46	0.21	0.21	0.41	0	0	0.21	0	0	0.21	0.21	*G.* lamblia	
		0.84	0.21	0.21	0	0.21	0.21	0	0	0	0	0	*C. parvum*	
		2.07	0	0.21	0	0.62	0.41	0.21	0	0	0	0.62	*H.nana*	
		3.53	1.04	0.21	0.83	0.62	0.21	0.41	0	0	0	0.21	*Taenia* sp	
		2.27	0.41	0.41	0.21	0.41	0	0.21	0	0.21	0	0.41	*E. vermicularis*	
		21.55	4.14	2.5	3.72	3.72	1.86	1.66	0.42	0.42	0.83	2.28	Total %	
		3.52	0.62	0.62	0.41	0.62	0.21	0.21	0.41	0.21	0.21	0	*A. lumbricoides*	مجازر
		2.48	0.62	0.41	0.21	0	0.41	0.21	0	0	0.41	0.21	*T. trichiura*	
		2.48	0	0.62	0.62	0.41	0.41	0.21	0	0	0	0.21	*A. duodenale*	
		2.89	0.20	0.41	0.62	0.62	0.21	0.21	0	0	0.21	0.41	*E. histolytica*	
		2.47	0	0.20	0.62	0.21	0.41	0.41	0.21	0	0.41	0	*G.* lamblia	
		0.42	0	0	0.21	0.21	0	0	0	0	0	0	*C. parvum*	
		3.74	41	1.03	0.62	0.83	0.21	0	0.21	0	0.21	0.21	*H.nana*	
		4.14	0.83	1.03	0.62	0.41	0	0.21	0.21	0.21	0.21	0.41	*Taenia* sp	
		2.48	0.41	0.20	0.41	0.62	0.21	0	0.21	0	0.21	0.21	*E. vermicularis*	
		24.61	3.09	4.52	4.34	3.93	2.07	1.46	1.25	0.42	1.87	1.66	Total %	
		1.03	0.21	0	0.21	0.41	0	0.21	0	0	0	0	*A. lumbricoides*	بيئة مستشفيات
		1.03	0	0.20	0.41	0	0.21	0.21	0	0	0	0	*T. trichiura*	
		1.03	0.21	0	0.20	0.41	0	0.21	0	0	0	0	*A. duodenale*	
		1.46	0.21	0.21	0.21	0.41	0	0	0.21	0.21	0	0	*E. histolytica*	
		1.04	0	0	0.41	0.21	0	0.21	0	0.21	0	0	*G.* lamblia	
		0.42	0	0	0.21	0.21	0	0	0	0	0	0	*C. parvum*	
		1.25	0.21	0.21	0.41	0.21	0	0	0.21	0	0	0	*H.nana*	
		0.84	0.21	0	0.21	0	0	0	0	0.21	0.21	0	*Taenia* sp	
		1.03	0.20	0	0	0.20	0	0	0	0.21	0.21	0.21	*E. vermicularis*	
		9.13	1.24	0.62	2.27	2.06	0.21	0.84	0.42	0.84	0.42	0.21	Total %	
53.313	15.918	2.28	0.41	0.21	0.41	0.21	0.21	0.41	0.21	0	0.21	0	*A. lumbricoides*	منازل
		1.04	0.41	0	0.21	0	0.21	0	0	0.21	0	0	*T. trichiura*	
		2.49	0.21	0.83	0.21	0.21	0.41	0	0	0.21	0	0	*A. duodenale*	
		2.70	0.21	0.41	0.21	0.62	0.41	0.21	0	0	0.42	0.21	*E. histolytica*	
		1.45	0.21	0.41	0.62	0	0	0	0.21	0	0	0	*G.* lamblia	
		1.04	0.41	0.21	0	0.21	0.21	0	0	0	0	0	*C. parvum*	
		2.08	0.41	0	0.21	0	0.21	0.41	0.21	0.42	0.21	0	*H.nana*	
		2.08	0	0.21	0.21	0.62	0.41	0.21	0.21	0	0	0.21	*Taenia* sp	
		1.24	0	0.41	0.21	0.41	0	0	0	0	0	0.21	*E. vermicularis*	
		16.4	2.27	2.69	2.7	2.28	2.07	1.24	0.84	0.84	0.84	0.63	Total %	
		3.72	0.62	0.21	0.62	1.03	0.41	0	0.21	0.41	0	0.21	*A. lumbricoides*	حضائر حيوانية
		2.9	0.41	0.41	0.21	0.62	0.21	0.41	0.21	0	0.21	0.21	*T. trichiura*	
		3.92	0.41	0.41	0.83	0.62	0	0.21	0.41	0.21	0.41	0.41	*A. duodenale*	
		3.72	0.41	0.62	0.41	0.83	0.21	0	0.41	0.21	0.21	0.41	*E. histolytica*	
		1.66	0.41	0.62	0.21	0.21	0	0	0	0.21	0	0	*G.* lamblia	
		1.25	0.21	0.41	0	0.21	0.21	0	0	0	0.21	0	*C. parvum*	
		2.48	0.62	0.41	0	0.62	0	0.21	0	0.21	0	0.41	*H.nana*	
		4.55	0.62	1.24	0.41	0.83	0.21	0.41	0	0	0.21	0.62	*Taenia* sp	
		4.16	1.24	1.04	0.83	0	0.63	0	0	0.21	0.21	0	*E. vermicularis*	
		28.36	4.95	5.37	3.52	4.97	1.88	1.24	1.24	1.46	1.46	2.27	Total %	

جدول (4-2) النسبة المئوية واعداد الطفيليات المعزولة من القناة الهضمية للذبابة المنزلية *M.domestica* في مدة البحث الميداني :

X^2-value	Total	عدد الطفيليات المعزولة من القناة الهضمية للذباب خلال شهر العدد %										اسم الطفيلي
		تموز	حزيران	آيار	نيسان	اذار	شباط	ك2	ك1	ت2	ت1	
30.663	29 14.5%	5 2.5%	3 1.5%	4 2.0%	6 3.0%	3 1.5%	3 1.5%	1 0.5%	1 0.5%	2 1.0%	1 0.5%	*A. lumbricoides*
	18 9.0%	3 1.5%	2 1.0%	3 1.5%	1 0.5%	3 1.5%	2 1.0%	1 0.5%	1 0.5%	1 0.5%	1 0.5%	*T. trichiura*
	22 11.0%	3 1.5%	4 2.0%	4 2.0%	4 2.0%	1 0.5%	1 0.5%	1 0.5%	0	2 1.0%	2 1.0%	*A. duodenale*
	22 11.0%	3 1.5%	5 2.5%	2 1.0%	4 2.0%	2 1.0%	1 0.5%	1 0.5%	1 0.5%	1 0.5%	2 1.0%	*E. histolytica*
	23 11.5%	2 1.0%	3 1.5%	5 2.5%	2 1.0%	2 1.0%	3 1.5%	1 0.5%	2 1.0%	2 1.0%	1 0.5%	*G. lamblia*
	19 9.5%	4 2.0%	4 2.0%	2 1.0%	5 2.5%	3 1.5%	0	0	0	1 0.5%	0	*C. parvum*
	21 10.5%	3 1.5%	3 1.5%	3 1.5%	5 2.5%	1 0.5%	1 0.5%	1 0.5%	1 0.5%	1 0.5%	2 1.0%	*H. nana*
	26 13.0%	2 1.0%	5 2.5%	4 2.0%	5 2.5%	1 0.5%	3 1.5%	1 0.5%	1 0.5%	1 0.5%	3 1.5%	*Taenia sp.*
	20 10.0%	4 2.0%	4 2.0%	2 1.0%	3 1.5%	1 0.5%	1 0.5%	0	2 1.0%	1 0.5%	2 1.0%	*E. vermicularia*
	200 100%	29 14.5%	33 16.5%	29 14.5%	35 17.5%	17 8.5%	15 7.5%	7 3.5%	9 4.5%	12 6.0%	14 7.0%	Total

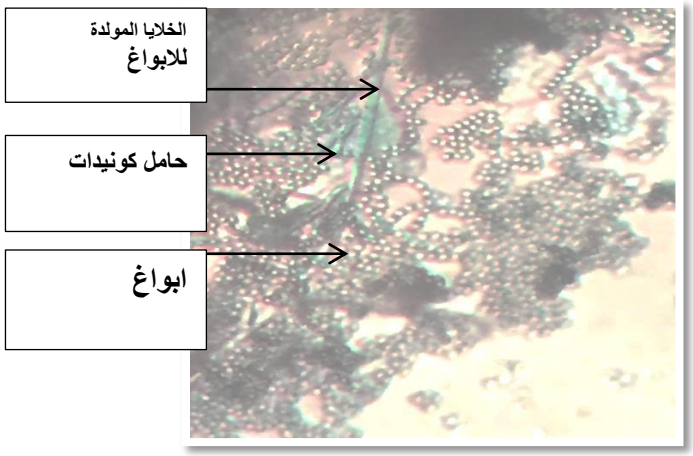
جدول (4-3) النسبة المئوية واعداد الطفيليات المعزولة من السطح الخارجي للذبابة المنزلية *M.domestica* خلال مدة البحث الميداني :

X^2-value	Total	الطفيليات المعزولة من السطح الخارجي للذباب خلال شهر العدد %										اسم الطفيلي
		تموز	حزيران	آيار	نيسان	اذار	شباط	ك2	ك1	ت2	ت1	
49.681	38 13.4%	8 2.8%	3 1.1%	6 2.1%	7 2.5%	3 1.1%	2 0.7%	3 1.1%	3 1.1%	2 0.7%	1 0.4%	*A. lumbricoides*
	27 9.5%	6 2.1%	4 1.4%	4 1.4%	2 0.7%	3 1.1%	4 1.4%	0	0	3 1.1%	1 0.4%	*T. trichiura*
	40 14.1%	4 1.4%	6 2.1%	11 3.9%	7 2.5%	3 1.1%	2 0.7%	2 0.7%	2 0.7%	0	3 1.1%	*A. duodenale*
	45 15.8%	4 1.4%	6 2.1%	7 2.5%	12 4.2%	4 1.4%	1 0.4%	3 1.1%	1 0.4%	3 1.1%	4 1.4%	*E. histolytica*
	18 6.3%	2 0.7%	4 1.4%	6 2.1%	1 0.4%	0	1 0.4%	0	0	2 0.7%	2 0.7%	*G. lamblia*
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	*C. parvum*
	35 12.3%	6 2.1%	6 2.1%	3 1.1%	6 2.1%	3 1.1%	4 1.4%	2 0.7%	0	1 0.4%	4 1.4%	*H. nana*
	47 16.5%	9 3.2%	8 2.8%	7 2.5%	7 2.5%	3 1.1%	3 1.1%	1 0.4%	3 1.1%	2 0.7%	4 1.4%	*Taenia sp.*
	43 12.0%	7 2.5%	6 2.1%	6 2.1%	5 1.8%	3 1.1%	0	1 0.4%	1 0.4%	2 0.7%	3 1.1%	*E. vermicularia*
	284 100%	46 16.2%	43 15.1%	50 17.6%	47 16.5%	22 7.7%	17 6.0%	12 4.2%	10 3.5%	15 5.3%	22 7.7%	Total

2-4 : عزل وتشخيص ووصف الفطر :

لقد تم في البحث الحالي عزل الفطر*P.lilacinus* من بالغات الذباب المنزلي *M.doumestica* وتنميته على وسط PDA صورة(6)، واعتمد في تشخيص الفطر لمستوى الجنس على الصفات الواردة في المفتاح التصنيفي لأجناس الرتبة (Moniliales (Hyphomycetes (Inglis and Tigano, 2006) إذ ان الفطر يتصف بغزل فطري كثيف تنشأ منه حوامل بوغية (conidiophores)،تتكون الأبواغ (spores) بشكل سلاسل متشعبة بيضوية متطاولة الى مغزلية الشكل ذات جدران ناعمة وذات نهايات خشنة تقريباً ولاتحتوي سبورات كلاميدية (clamydospores) ممتدة من نهاية الخلايا المولدة للأبواغ وهذه الأبواغ تنمو عند توفر الرطوبة والمغذيات اللازمة صور(7) المستعمرات تنمو على وسط PDA او وسط اكار الشعير إذ يكون نموها بشكل سريع ويتحقق النمو بقطر من 5-7 سم بعد 14 يوم حضانة بدرجة 25 م° مكونة شعيرات قاعدية ونمو عفني كثيف للخيوط الهوائية (aerial mycelium) في البداية بيضاء اللون، لكن بعد تكوين السبورات تميل الى اللون الأحمر ،والخيوط الفطرية (hyphae) ناعمة الجدار شفافة وعرضها من 4- 2.5 مايكروميتر . الحوامل البوغية تنشأ من الخيوط الفطرية المغمورة وطولها من 600-400 مايكروميتر أو تنشأ من الخيوط الفطرية الهوائية، وفي منتصفها تتكون الخلايا المولدة للابواغ من انتفاخ الجزء القاعدي وتتناقص تدريجيا لتنتهي بعنق ضيق ورفيع ومتميز .(Jepson, 1987).

صورة (6) لمزرعة فطر *P. lilacinus* على الوسط الزرعي PDA .



صورة(7) لفطر*P. lilacinus* تحت المجهر الضوئي بقوة تكبير X400 .

3-4 : الاختبار الحيوي لمعلق الفطر *P.lilacinus* في مختلف أدوار حياة الذبابة المنزلية *M.domestica*

1-3-4 دور البيضة

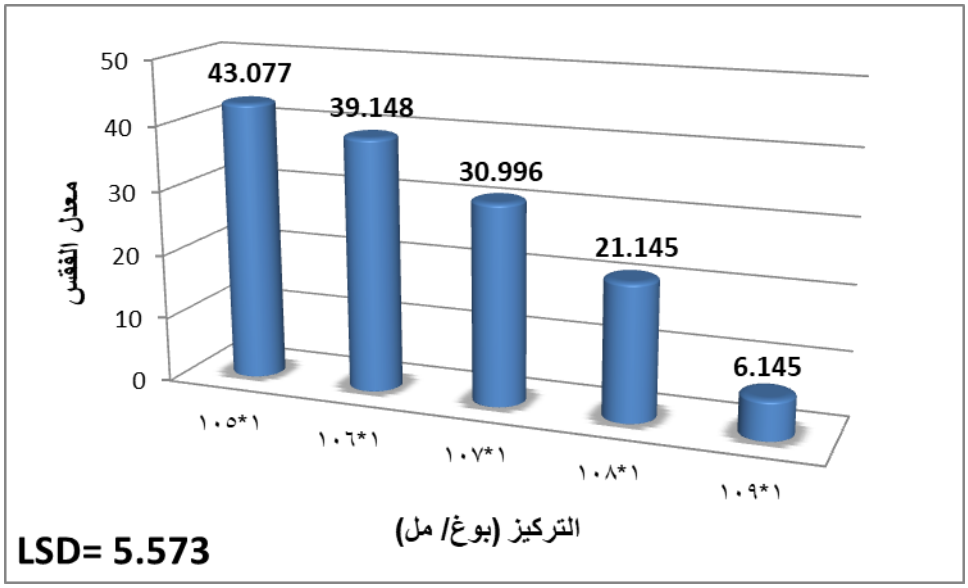
يوضح الشكل (15) تأثير تراكيز مختلفة للمعلق الفطري في بيوض الذبابة المنزلية اذ بلغت أعلى نسبة فقس عند التركيز $1x10^5$ بوغ/مل 43.077 %،وانخفضت نسب الفقس تدريجيا الى 39.148% و30.996% و 21.145% في التركيز 1×10^6 و 1×10^7 و1×10^8بوغ/ مل على التتالي وتحققت ادنى نسبة فقس للبيوض 6.145% عند التركيز $1x10^9$ بوغ/مل ، اذ لوحظ وجود فرق معنوي بين جميع التراكيز مع نسبة الفقس اذ كانت قيمة LSD للتراكيز(5.573) .كلما زاد التركيز انخفضت نسبة الفقس و يعود السبب في ذلك الى تخصص الفطر المذكور في اصابة البيوض والاطوار اليرقية للحشرات والديدان الخيطية.(Fiedler and Sosnowska, 2007). ورجح العديد من الباحثين السبب في عدم فقس البيوض عند معاملتها بالفطر المذكور يعود الى ان للخيط الفطري دوراً هاماً في تسهيل عملية اختراق الفطر لغلاف البيضة بسهولة وبذلك يتمكن من الولوج لداخل البيضة ويحطم الاجنة بسبب المواد الايضية التي يفرزها الفطر كالسموم والاحماض الدهنية غير المشبعة او يسبب الفطر تشوهات على البيوض، وبذلك لاتتمكن تلك البيوض من النضج أو الفقس (Jatala ,1986;Bonants *et al*. 1995; Khan,2013a).

يتطفل الفطر *P.lilacinus* على بيوض الديدان الخيطية بشكل عام ،إذ لوحظ انخفاض مجتمعات الديدان الخيطية مثل الديدان الخيطية التي تصيب الموز *R. similison banana* و*Heterodera spp* و *H. schachtii* و*H. glycines* بشكل كبير عند معاملة البيوض بمعلقات الفطر المذكور (Davide and Zorilla, 1985). وتسبب الفطر *P.lilacinus* في خفض بمعدلات فقس البيض بنسبة بلغت 63% عند اختبار فعاليته الحيوية ضد بيوض الديدان الخيطية *Meloidogyne hapla* (Bonants *et al* .1995) كما عزل(Olivares-Bernabeu and López-Llorca(2002 الفطر المذكور من بيوض الديدان الخيطية *H. avenae* واختبر تأثيره مختبريا على معدل فقس البيض ،إذ بلغت النسبة المؤية للبيض المصاب 70-100%. وجد(Pau *et al*.,(2012 ان بيوض الديدان الخيطية الذي تمت معاملتها بمعلقات ثلاث سلالات مختلفة هي PLAو PLB و PLM للفطر *P.lilacinus* قد انخفضت نسبة الفقس للبيوض بشكل معنوي بنسبة تراوحت بين 88-89% مقارنة مع معامل السيطرة بعد سبعة أيام من المعاملة .

فسرت الية الفطر المذكور من قبل عدة باحثين، اذ سجل Khan, *et al*. (2013b) اختراق خيوط الفطرية للفطر المذكور لطبقة الكيوتكل باستخدام المجهر الالكتروني .

اختبر Hofstätter *et al*(2017) تاثير الفطر المذكور في فقس البيض لديدان الانكلستوما إذ انخفضت نسبة فقس البيض و بلغت 68.43% مقارنة ب56.43% و 52.25% للفطرين *Trichoderma harizianum* و *T.virens* على التتالي . وبينت نتائج التجارب المختبرية قدرة الفطر قيد البحث على تثبيط فقس بيض النيماتودا المتطفلة على الطماطم*Meloidogyne javanica* بنسبة بلغت 94% وخاصة عند استخدام التركيز 3000 بوغ/مل بعد 48 ساعة من وضع البيض في اطباق بتري داخل الحاضنة(AL-Ajrami,2016)

تعارضت نتائج البحث الحالي مع ما ذكره (المشهداني ،2010) من عدم وجود تأثير لمعلقات الفطر الممرض للحشرات للفطر *E. muscae* في فقس بيوض حشرة الذبابة المنزلية ،إذ تساوت نسبة الهلاك مع معاملة السيطرة وفسر ذلك الى تخصص الفطر المذكور في إصابة البالغات دون غيرها من الأطوار الاخرى. اشار الياسري(2014) الى ان نسبة هلاك بيوض الذبابة المنزلية بلغت 18.66% للتركيز 2×10^3 بوغ/مل وارتفعت الى 36.66% للتركيز 2×10^6بوغ/مل عند معاملتها بمعلقات تعود للفطر *Metarrhizium anisopliae* .



الشكل(2)تأثير تراكيز مختلفة من معلق الفطر *P.lilacinus* في بيوض الذبابة المنزلية *M. domestica*

2-3-4 : الاطوار اليرقية

يوضح الجدول(4-4) النسب المئوية لهلاكات الأطوار أليرقية بعد معاملتها بمعلقات الفطر المحضرة مسبقاً، إذ حقق التركيز 1×10^5 بوغ/مل اوطأ نسبة هلاك بلغت(26.07 و23.86و21.15)% للطور اليرقي الأول والثاني والثالث على التوالي، بينما كانت اعلى نسبة هلاك الاطوار اليرقية(83.86 و 77.71 و 75.00)% بعد تعريضها للتركيز 1×10^9 بوغ/مل بالتتالي بعد 72ساعة من المعاملة واتضح وجود علاقة طردية بين كل من التركيز ونسبة هلاك ،ودعمت هذه النتائج إحصائيا من خلال الفرو ق المعنوية بين المعاملات المذكورة. ذكر(2010) Oka *et al* و(2004)Park *et al* الى ان الفطر المذكور يخترق طبقة الكيوتكل بمساعدة انزيمية ويصاحبه افراز عدد من المواد الايضية مثل Acetic acid والسموم المعروفة ب Paecilotoxins او leucinotoxins التي تسبب توقف التفاعلات الكيموحية التي تحدث في الخلية من خلال تثبيط تخليق ATP في الميتوكوندريا ،وعمليات الفسفرة التأكسدية مسبباً هلاك اليرقات.

تتشابه نتائج الدراسة الحالية مع تاثير الفطر*Paecilomyces fumosoroseus* في الطور اليرقي الرابع لحشرة الذبابة البيضاء *Trialeurodes vaporariorum*اذ انحصرت نسبة هلاك الطور اليرقي المذكور 84-100% بعد 7 ايام من المعاملة (2004)Avery *et al*، بينما هلك الطور اليرقي الثالث والرابع لنفس الذبابة بنسبة بلغت60% عند معاملتها بمعلقات الفطر *P.lilanicus* (Fiedler and Sonowska ,2007) سجل(2006)Marti et al لأول مرة في العالم اصابة البق الترياتومي الناقل لمرض شاكاس *Triatoma infestans* Klug (Hemiptera: Reduviidae) بالفطر المذكور، وحقق نجاحاً فائقاً في مكافحة الحشرة المذكورة بنسبة هلاك بلغت 100% ليرقات الطور الحوري الخامس في الارجنتين.

اوضح (2014)Lopez *et al* ان الفطر *P.lilacinus* تفوق على الفطر *B.bassiana* في القضاء على يرقات الطور الثاني لحشرة من القطن بنسبة هلاك بلغت 60% مقارنة معاملة السيطرة .

تقاربت نتائج البحث الحالي مع ما ذكره (2016)Abdul –Raheem *et al* بان الفطر *P. fumosoroseus* اثر في تطور ونمو يرقات الطور الثالث للذبابة المنزلية، و بلغت نسبة الهلاك 54%.وأشار الياسري(2014) الى ان معلقات الفطر *M. anisopliae* تسببت بهلاك يرقات الطور الأول للذبابة المنزلية بنسبة هلاك بلغت 56.66% عند التركيز 2×10^3 بوغ/مل.

جدول (4-4) تأثير تراكيز مختلفة من معلقات الفطر *P.lilacinus* في النسب المئوية لهلاك الأطوار اليرقية للذبابة المنزلية *M.domestica*

الاطوار	التركيز	النسبة المئوية للهلاك الاطوار اليرقية بعد مرور (ساعة)			تأثير تداخل التركيز+الطور	تأثير الطور
		24 ساعة	48 ساعة	72 ساعة		
الأول	1×10^5	26.07	31.00	35.22	30.76	51.35
	1×10^6	31.00	39.15	43.08	37.74	
	1×10^7	39.15	46.92	48.85	44.97	
	1×10^8	54.78	66.15	72.29	64.41	
	1×10^9	75.00	77.71	83.86	78.86	
تأثير تداخل الاطوار+ الوقت		45.20	52.18	56.66	51.35	
الثاني	1×10^5	23.86	26.07	28.78	26.24	46.88
	1×10^6	28.78	35.22	37.23	33.74	
	1×10^7	37.23	45.00	46.92	43.05	
	1×10^8	48.85	59.00	61.22	56.36	
	1×10^9	72.29	75.00	77.71	75.00	
تأثير تداخل الاطوار+ الوقت		42.20	48.06	50.37	46.88	
الثالث	1×10^5	21.15	23.86	26.07	23.69	44.08
	1×10^6	26.57	33.00	35.22	31.60	
	1×10^7	33.00	43.08	45.00	40.36	
	1×10^8	47.01	57.00	59.00	54.34	
	1×10^9	63.93	72.29	75.00	70.41	
تأثير تداخل الاطوار+ الوقت		38.33	45.84	48.06	44.08	
تأثير تداخل التركيز+الوقت	1×10^5	23.69	26.97	30.02	26.90	تأثير التركيز
	1×10^6	28.78	35.79	38.51	34.36	
	1×10^7	36.46	45.00	46.92	42.79	
	1×10^8	50.21	60.72	64.17	58.37	
	1×10^9	70.41	75.00	78.86	74.75	
تأثير الوقت		41.91	48.70	51.70	الوسط الحسابي العام = 47.43	

LSD بين الاطوار = 3.11 ، LSD بين التراكيز = 4.02، LSD بين الوقت = 3.11 ،

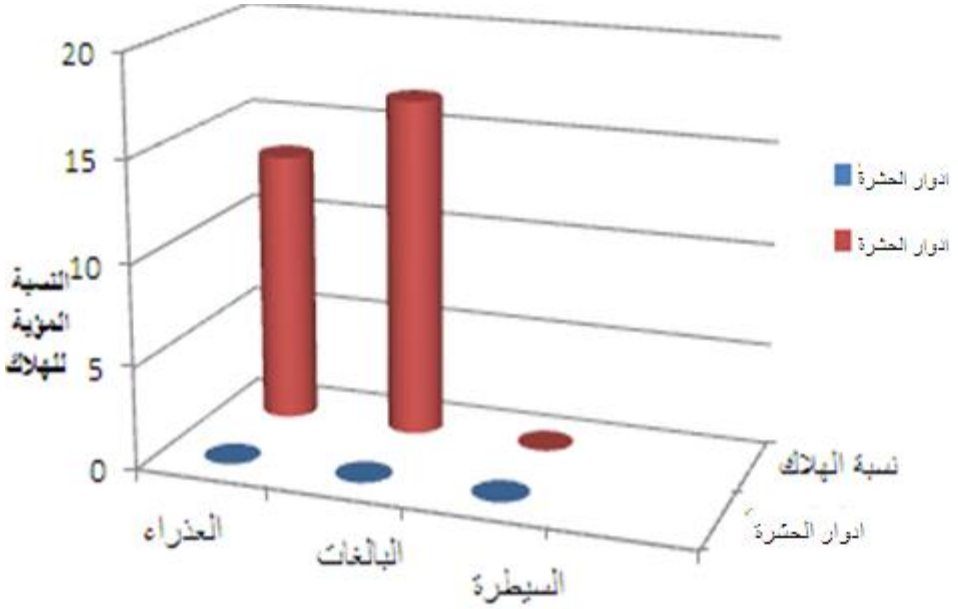
LSD لتداخل عاملي الطور والتركيز= **6. 96**

LSD لتداخل عاملي الطور والوقت= **5.39** ، LSD لتداخل عاملي التركيز والوقت = **6.96** ،

LSD لتداخل العوامل الثلاث = **12.06**

3-3-4 : دورا العذراء والبالغات

انتخب تركيز العالق الفطري 1×10^{9}بوغ/مل والذي حقق أعلى نسبة هلاك عند اختبار تأثيره في الأطوار اليرقية والبيوض لاختبار تأثيره في دوري العذراء والبالغة، واتضح بأن تأثير الفطر كان طفيفاً في الدورين المذكورين(الشكل16)، إذ بلغت نسبة الهلاك 16.66 و13.33% على التتالي ويرجع السبب في ذلك إلى تخصص هذا الفطر في إصابة البيوض ولاطوار اليرقية وتتطابق هذه النتائج مع ماأكده Mwamburi *et al*(2011) بأن معلقات الفطر *P. lilacinus* ليس لها تأثير ضد بالغات الذبابة المنزلية .



شكل(3) تأثير معلق الفطر1×10^{9}بوغ/مل في دوري العذراء والبالغة للذبابة المنزلية *M.domestica*

4-4 :الاختبار الحيوي لراشح الفطر*P.lilacinus* في يرقات الذبابة المنزلية*M.domestica*

يوضح الجدول (4-5) تأثير تراكيز مختلفة من راشح الفطر المذكور الناتج من مدد حضانة مختلفة هي 10 و14 و21و28 يوم في هلاك الأطوار اليرقية لحشرة الذبابة المنزلية ، اذ كانت يرقات الطور الاول هي الاكثر تاثراً مقارنة بيرقات الطور الثاني والثالث ،.اذ حقق التركيز 25% نسبة هلاك بلغت 26.07% للطور اليرقي الاول بفترة حضن 10 ايام وارتفعت نسبة الهلاك لتصل الى (33.00 و48.85و54.78)% خلال مدة حضن 14 و21 و28 يوم بالتتالي لنفس الطور، وبلغت نسبة الهلاك (23.86 و31.00 و

43.08 و48.85)% خلال نفس مدد الحضن المذكورة على التتالي للطور اليرقي الثاني في حين كانت نسبة هلاك الطور اليرقي الثالث (21.15و 28.78و 41.15 و 46.92)% لنفس التركيز ولمدد الحضن المذكور بالتعاقب. بينما تفوق التركيز 100% بفرق معنوي على باقي المعاملات بنسبة هلاك بلغت (52.78و54.78و68.86و83.86) % و(46.92و 54.78و 66.15 و77.71) % و(43.08 و 48.85 و61.22 و75.00) % للأطوار اليرقية الثلاثة ومدد الحضن المذكورة اعلاه على التتالي، اذ لوحظ زيادة نسبة الهلاك بزيادة التركيز والمدة الزمنية وهذا ما أكدته نتائج التحليل الإحصائي من خلال الفروقات المعنوية بين المعاملات ،إذ إن زيادة مدة الحضن تزيد من قابلية الفطر الممرض للحشرة على إفراز عدد كبير من المواد الأيضية، و أنواع مختلفة من السموم الفطريةMycotoxin وزيادة التركيز تؤدي الى تراكم المواد السامة في خلايا جسم الحشرة وهو الأمر الذي يسبب انفجار هذه الخلايا مما يزيد من معدلات نسبة الهلاك (Wattanalai *et al*.,2004). وتم تفسير سبب هلاك اليرقات إلى احتواء راشح الفطر المذكور على سموم leucino toxin ومركبات ايضية اخرى مثل الاحماض الدهنية غير المشبعة مثل oleic acid وlinoleic acid و linolenic acid لها فعالية سمية عالية تجاه الاطوار اليرقية للديدان الخيطية ومفصلية الارجل (Park *et al*.,2004) ويعتمد انتاج الفطر المذكور للسموم في الراشح على ظروف التخمر والاوساط الزرعية المستخدمة (Miao *et al* .2006) واشار Beven *et al*(1998) الى ان الفعالية الحيوية للمواد الايضية للفطر*P.lilacinus* تعود الى تاثيرها على النظام الايوني في مسامات الطبقة الثنائية للغشاء البلازمي للخلايا، او بتأثيرها على مستقبلات الخلايا العصبية.

جدول (4-5) تاثير راشح الفطر *P.lilacinus* على الاطوار اليرقية للذبابة المنزلية بمدد حضن مختلفة

الطور	التركيز%	%لهلاك اليرقات المعاملة براشح الفطر مدة حضانة (يوم)				تأثير تداخل التركيز+الطور	تأثير الطور
		10 يوم	14 يوم	21 يوم	28 يوم		
الأول	25	26.07	33.00	48.85	54.78	40.68	52.84
	50	30.79	43.08	52.78	66.15	48.20	
	75	41.07	46.92	63.93	77.71	57.41	
	100	52.78	54.78	68.86	83.86	65.07	
تأثير تداخل الاطوار+ مدة الحضن		**37.68**	**44.45**	**58.60**	**70.62**	**52.84**	
الثاني	25	23.86	31.00	43.08	48.85	36.69	48.04
	50	26.07	35.22	46.92	63.93	43.04	
	75	31.00	43.08	61.22	68.86	51.04	
	100	46.92	54.78	66.15	77.71	61.39	
تأثير تداخل الاطوار+ مدة الحضن		**31.96**	**41.02**	**54.34**	**64.84**	**48.04**	
الثالث	25	21.15	28.78	41.15	46.92	34.50	45.02
	50	21.15	33.21	45.00	61.22	40.14	
	75	28.78	39.15	59.00	66.64	48.39	
	100	43.08	48.85	61.22	75.00	57.04	
تأثير تداخل الاطوار+ مدة الحضن		**28.54**	**37.50**	**51.59**	**62.45**	**45.02**	
تأثير تداخل التركيز+مدة الحضن	25	23.69	30.93	44.36	50.18	**37.29**	تأثير التركيز
	50	26.00	37.17	48.23	63.76	**43.79**	
	75	33.62	43.05	61.38	71.07	**52.28**	
	100	47.59	52.80	65.41	78.86	**61.16**	
تأثير مدة الحضن		**32.72**	**40.99**	**54.85**	**65.97**	الوسط الحسابي العام = **48.63**	

LSD بين الاطوار = 2.27 ، **LSD بين التراكيز = 2.62** ، **LSD بين مدة الحضن = 2.62** ،
LSD لتداخل عاملي الطور والتركيز= **4.53** ،

LSD لتداخل عاملي الطور ومدة الحضن= **4.53** ، LSD لتداخل عاملي التركيز ومدة الحضن = **5.24** ،
LSD لتداخل العوامل الثلاث = **9.07**

جاءت نتائج هذه الدراسة مقاربة لما توصل اليه Rowbach *et al*(1986) عندما تم تعريض يرقات الطور الاول لحشرة نطاطات الأرز من حشرات متشابهة الاجنحة *Nilaparvata lugens*

(Homoptera: Delphacidae) الى راشح الفطر *P.lilanicus* و*Metarhizium anisopliae* ،إذ تراوحت نسسبة الهلاك بين 63-98% واشارت الدراسات الى ان لراشح هذا الفطر دوراً كبيراً في مكافحة يرقات الطور الثالث والرابع للبعوض وخاصة البعوض من نوع *Aedes aegypti*. بنسبة هلاك تراوحت بين 84-88%(Agarwala *et al*.,1996)، وسجلت الجبوري (2003) أعلى نسبة هلاك سجلها راشح الفطر *A. niger* بلغت 90% بعد مرور أربعة أيام من المعاملة، وهذا يتوافق مع ما توصلت إليه نتائج الدراسة الحالية. واشار ديوان واخرون(2009) الى ان راشح الفطرين *A.sydawii* و*A.terreus*اثر بشكل كبير على يرقات الطور الثالث للذبابة المنزلية بنسبة هلاك بلغت 66.81 و 64.91% على التوالي. وبينت نتائج الاختبارات الحيوية ان راشح الفطر*P. lilacinus* الذي تم تنميته على الوسط الزرعي Karanja cake medium أثر بشكل كبير على يرقات الديدان الخيطية *Meloidogyne incognita* larvae ،اذ بلغت نسبة الهلاك 100% بينما حقق راشح الفطر المذكور المنمى على الوسط الزرعيCzapeck-Dox نسبة هلاك 78.28 % ويصبح تاثير الراشح الفطري اكثر سمية كلما زادت مدة الحضن وان التاثير السمي لراشح الفطر المذكور تجاه الديدان الخيطية والحشرات يختلف باختلاف الوسط المستعمل (Nitao *et al*. 2002; Mukhtar *et al*.,2014; Sharma *et al*.2013) .حققت نواتج الراشح الخام للفطر *M.anisopliae* نسبة هلاك بلغت 100% و73% عند التراكيز 100%و75% بالتعاقب ضد يرقات الطور الاول للذبابة المنزلية(الياسري،2014). وفي دراسة اجريت لمعرفة تاثير الفطر *P.lilacinus* على الديدان الخيطية المسببة لتعقد الجذور في محصول الطماطة *Meloidogyne javanica* وجد ان راشح الفطر المذكور قد اظهر سمية عالية ضد يرقات الطور الثاني،اذ بلغت نسبة الهلاك 57% بعد 72 ساعة من المعاملة (AL-Ajramy,2016).

وذكرت (الخالدي ،2018) ان التأثير السمي لراشح الفطر *P.lilacinus* بتركيز 100% حقق نسبة هلاك ليرقات نيماتودا الحمضيات *Tylenchulus semipenetrans* بلغت 57.90% حيث تقاربت مع نتائج البحث الحالية عند راشح الفطر بتركيز 75% و مدة حضانة 21 يوم .

4 -5 : التحري عن نواتج الايض الثانوي للفطر *P.lilacinus*

4-5-1 : سم Paecilotoxin والاحماض الامينية بأستعمال تقنية كروموتوكرافي السائل ذي الاداء العالي (HPLC):

يوضح الجدول (4-6) والشكل(4 و5) ظهور قمم فصل لسم الفطر Paecilotoxin والأحماض

الأمينية جاءت متطابقة مع قيم زمن احتجازها (Retention time, Rt)، وتسلسل أشكالها مع قمم فصل وأزمان احتجاز العينات القياسية، وقد امتدت أزمان الاحتجاز لمركبات نواتج الأيض من (16.02- 5.38) دقيقة.وأن الفطر *P.lilacinus* قد انتج السم المعروف Paecilotoxin والأحماض الامينية طيلة مدة حضانته على الوسط السائل (PDB) وبتراكيز متباينة، حيث ان الفطر قد انتج اعلى تركيز بعد مدة (28) يوماً من الحضانة والتي بلغت 1.84 مايكرو غرام /مل في حين كان اوطأ تركيز بعد حضانة الفطر (10) ايام وهذا يتطابق مع (Wattanalai *et al* ., 2014) اذ اوضح ان زيادة تراكيز وكمية المادة الأيضية المفرزة تزداد حسب زيادة فترة الحضن وطبيعة الوسط الزرعي المستعمل وظروف التخمر .

ان سموم ال Paecilotoxin هي عبارة عن مزيج من احماض امينية ذات سلاسل ببتيدية مستقيمة مرتبطة بأحماض دهنية غير مشبعة والتي كان لها دور كبير في مكافحة الكثير من الحشرات والديدان الخيطية (Khan et al .,2004) .

ومن جانب آخريشيركل من الجدول (4-6) والشكلين (4) و(5) وجود(9) احماض امينية ضمن نواتج ايض الفطر هي Phenylalanine و Valine وMethionine وMethylphenylalanine و Aspartic acid و Glutamate و Leucine و Tyrosine و Serine وتجدر الاشارة الى ان الاحماض الامينية الستة الأولى بلغت اعلى تركيز لها عند حضانة الفطر لمدة (28) يوما حيث بلغت (12.31 و 5.59 و 12.15 و 2.83 و 3.81 و 2.70) مايكرو غرام /مل على التعاقب ، بينما كانت الاحماض الامينية الثلاث الباقية قد سجلت اعلى تركيز لها عند حضانة الفطر (21) يوما اذ بلغت (12.28 و 30.56 و5.53) مايكرو غرام /مل على التتالي .

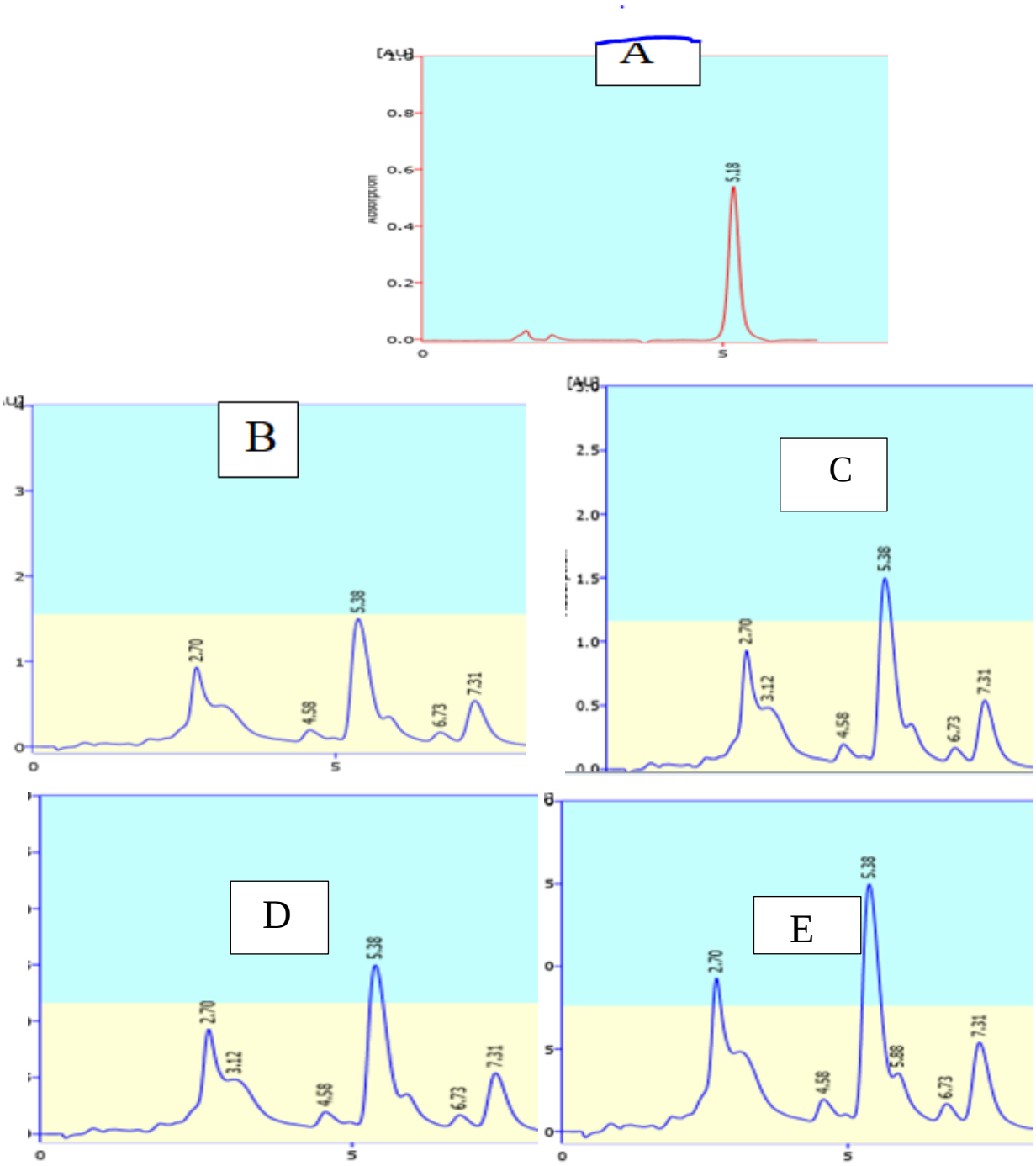
وأوضحت نتائج HPLC ان للفطر*P.lilacinus* النامي على الوسط الزرعي Karanja cake medium القابلية على إفراز سمPaecilotoxin بين زمني احتجاز3.75-7.5 دقيقة ., Sharma *et al* (2016) وهذا يتشابه مع نتائج البحث الحاليه حين سجل زمن احتجاز هذا السم عند5.38 دقيقة وأشار Mori *et al* (1982) ان للفطر*P.lilacinus* قابليةلأنتاج المضاد الحيوي Leucinostatin والحامض الاميني 4-methyl-6-(2-oxobutyl)-2- piperidinecrboxylic acid الذي يعتبر مضاد لبكتريا موجبة صبغة كرام تم عزله باستعمال تقنية السائل ذي الاداء العالي HPLC .

وأشار Frisvad *et al*.,(2006) الى تشخيص سم الأوكراتوكسين من الفطر *Penicillium* باستعمال تقنية السائل ذي الأداء العالي. وذكرت الغانمي(2016) ان الفطر *A.niger* يفرزالمواد الايضية oxalic acid ,Naptha-r-pyrun, Malformin A,C وسموم OCHRATOXIN

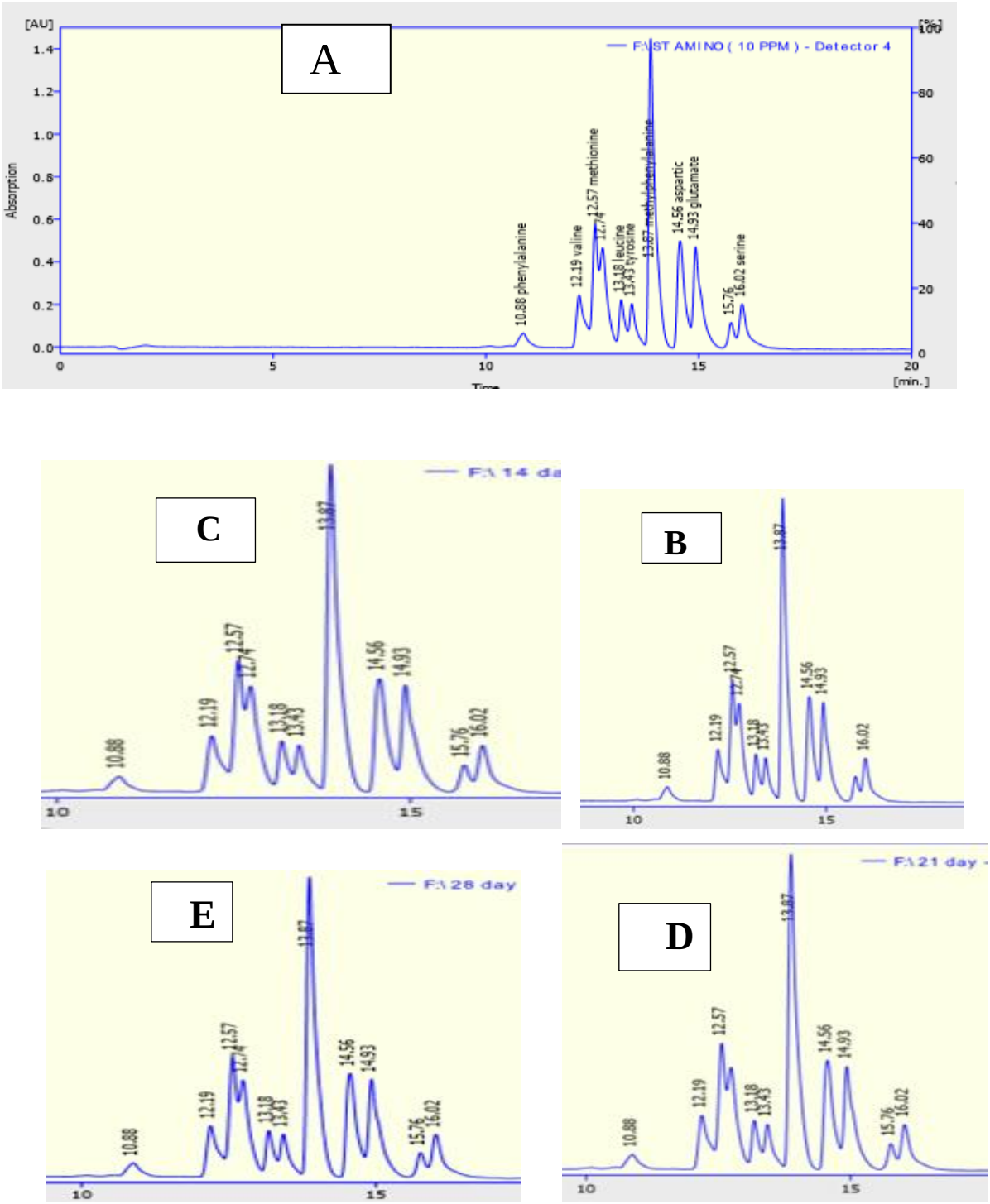
باستعمال تقنية السائل ذي الاداء العالي وتم اختبار هذا الفطر في مكافحة البعوض من نوع *Culex quinquefaciatus*. ذكرت الجميلي(2017) ان الفطر الممرض للحشرات *B. australiensis* ينتج سم Prehelminthosporal (PHL)،اذ بلغ أعلى تركيز (21.69) مايكرو غرام /مل باستعمال تقنية السائل ذي الاداء العالي ،. بينما كان تركيز السم Zeralonineالذي يفرزه الفطر *F. oxysporium* هو الاعلى من بين المركبات الأخرى اذ كان تركيزه (45.06) مايكرو غرام /مل يليه السم Fusaric acid بتركيز (21.55) مايكرو غرام /مل ،في حين كان لسم B2 اعلى تركيز بلغ7.85 مايكرو غرام /مل عند تقدير الفعالية السمية لرواشح هذه الفطريات ضد بعوض *Culex quinquefaciatus* .

جدول (4-6) تراكيز مركبات نواتج الايض الثانوي المفصولة لفطر *P. lilacinus* مع ازمان احتجازها بالمقارنة مع عينات قياسية بتقنية HPLC

ت	اسم المركب	زمن الاحتجاز للمادة القياسية	زمن الاحتجاز للمادة المختبرة	تركيزالعينة في ml/µg حسب مدة الحضن خلال (يوم)			
				10 يوم	14 يوم	21يوم	28 يوم
1	**Paecilotoxin**	5.18	5.38	0.23	1.65	1.64	1.84
2	**Phenylalanine**	10.87	10.88	6.72	10. 64	11.81	12.31
3	**Valine**	12.19	12.19	1.39	3.03	4.13	5.59
4	**Methionine**	12.56	12.57	2.29	5.67	6.77	12.15
5	**Leucine**	13.18	13.18	9.92	7.93	12.28	7.21
6	**Tyrosine**	13.42	13.43	0.40	8.70	30.56	8.22
7	**Methylphenylalanine**	13.87	13.87	0.20	1.04	2.15	2.83
8	**Aspartic acid**	14.56	14.56	0.57	2.78	0.86	3.81
9	**Glutamate**	14.92	14.93	1.44	1.59	1.22	2.70
10	**Serine**	16.02	16.02	4.77	5.19	5.53	5. 20



شكل (4) بيانات كروموتوغرافيا السائل ذي الاداء العالي لسموم Paecilotoxin لفطر *P. lilacinus*
(A) القياسي (B,C,D ,E) العينات لمدد الحضن (28 , 21, 10,14) على التتالي



شكل (5) بيانات كروموتوغرافيا السائل ذي الاداء العالي للاحماض الامينية لفطر*P. lilacinus* (A) القياسي (B,C,D ,E) العينات لمدد الحضن (28 , 21, 10,14) على التتالي

2-5-4 : الأحماض الدهنية والمركبات الفعالة باستعمال تقنية كروموتوغرافيا الغاز (GC) :

يشير الجدول (4-7) والأشكال(6و7و8) العينات القياسية و نتائج فحص الاحماض الدهنية اذ تم عزل و تشخيص خمسة منها هي Palmatic acid وStearic acid و Lenolic acid وOleic acid وLenolenic acid التي انحصرت أزمان احتجازها من (4.68-10.89) دقيقة وقد ظهرت بنسب مئوية مختلفة كانت اعلى نسب لها عند مدة حضن 28 يوم، حيث بلغت (18.3,32.2, 14.6, 10.5,8.6)% على ، واقل نسبة كانت عند مدة حضن 10 يوم اذ حققت (7.2, 10.8 3.5,4.6,1.5) %بالتعاقب .ان هذه الأحماض الدهنية تعد نواتج أيض ثانوية في راشح الفطر *P.lilacinus* اكدها Teles and Takahashi (2013) في تقنية كروماتوغرافيا الغاز .

ويشير الجدول (4-8) والاشكال(9و10و11) الى العينات القياسية و نتائج وقيم المركبات الفعالة الاخرى acetic acid و tetramic acid و Dipicolinic acid اذ كانت ازمان احتجازها 8.00 و9.12 و 10.20 دقيقة على التوالي حيث سجلت اعلى تركيز لها عند مدة حضانة (28) يوم ايضا اذ بلغت قيم التراكيز لكل منهما (12.31 ، 15.2 ,21.34) مايكرو غرام /مل على التوالي فيما كانت اقل تراكيز لهذه المركبات عند فترة حضن (10) يوم اذ بلغت (4.02 و 7.28) مايكرو غرام /مل على التوالي .

وقد ذكر (Sharma *et al* (2014 ان للفطر *P.lilacinus* القدرة على أنتاج عشرة احماض دهنية (Butric Palmitoleic ,Heptadecanoic ,Stearic ,Oleic ,Linoleic ,Archidic ,Erucic ,Pentadecanoic ,Palmitic,) عند تنميته على وسط غذائي Karanja deoiled cake و باستعمال تقنية ال GC وكانت هذه الاحماض على نسب مئوية مختلفة حيث كانت اعلى نسبة للحامضين Butyric acid، Erucic acid اذ بلغت (42.78,21.75)% على التوالي فيما كانت اقل نسبة للحامضين Archidic acid , Heptadeconic acid اذ بلغت (0.51، 0.02) على التوالي .

. وقد تشابهت النتائج اعلاه مع النتائج الحالية عندما حضن الفطر في الوسط الغذائي السائل PDB وبمدد مختلفة .

ان ظهور مركب acetic acid في نواتج الأيض لهذا الفطر اشار اليه (Djian *et al* .,1991)حيث يمتلك هذا المركب نفاذية قوية لاختراق كيوتكل الحشرات وهو مركب سام لكثير من الحشرات والديدان الخيطية . فيما ذكر (Isaka *et al*(2007; 2010 ان مركب tetramic acid له سمية عالية وفعالة ومؤثرة على يرقات الحشرات، وكذلك تشتق منه سموم Paecilodepsipeptide A التي تمثل Cyclohexadepeptide المضادة لطفيلي الملاريا والاورام والتي يفرزها الفطرالممرض للحشرات

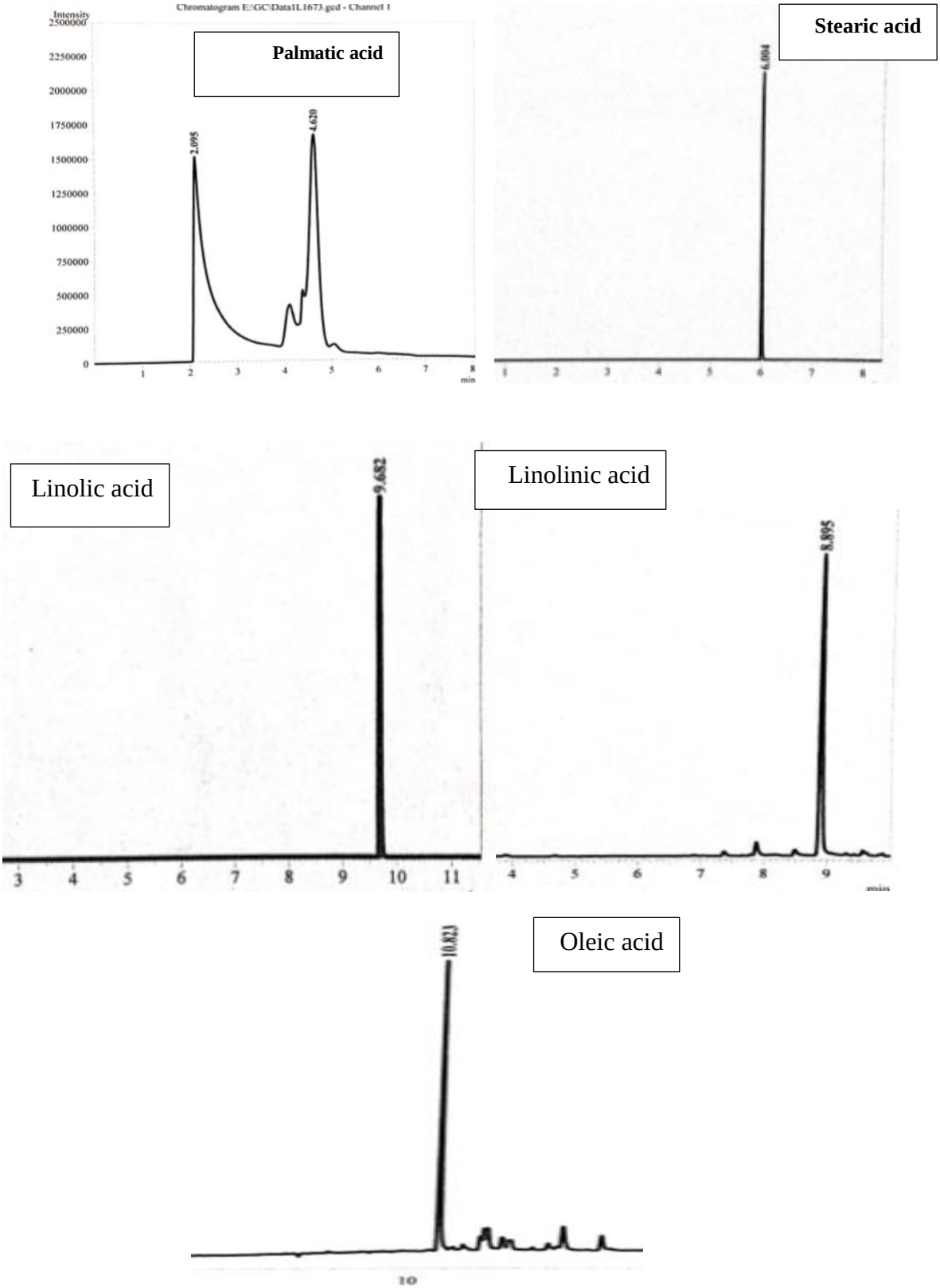
Paecilomyces cinnamomeus BCC 9616 ظهرت كنواتج ايض ثانوية تم الكشف عنها بتقنية كروماتوغرافيا الغاز أيضا .وعزل (Asaff *et al* (2005 المركب الفعال dipicolinic acid السام للحشرات والعناكب من الفطر *P. fumosoroseus* بتقنية كروماتوغرافيا الغاز .

جدول (4-7)النسبة المئوية للأحماض الدهنية التي ينتجها الفطر *P.lilacinus* مع أزمان احتجازها من خلال بالمقارنة مع عينات قياسية بتقنية جهاز GC:

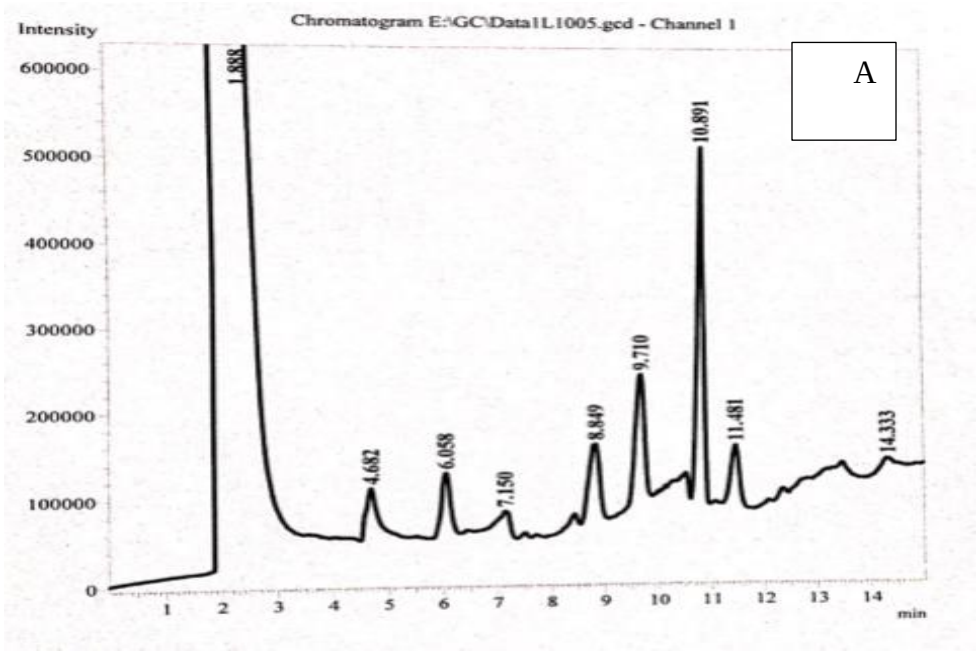
ت	اسم المركب	زمن الاحتجاز للمادة القياسية min	زمن الاحتجاز للمادة المختبرة min	%للعينة حسب مدة حضانة الفطر			
				10 يوم	14 يوماً	21 يوماً	28 يوماً
1	**Palmatic acid**	4.62	4.68	1.5	2.1	4.7	8.6
2	**Stearic acid**	6.00	6.05	4.6	6.9	8.6	10.5
3	**Lenolic acid**	8.89	8.84	3.5	5.6	9.5	14.6
4	**Oleic acid**	10. 82	10. 89	10.8	15. 3	28.9	32.2
5	**Lenolenic acid**	9.68	9.71	7.2	9.3	15.2	18.3

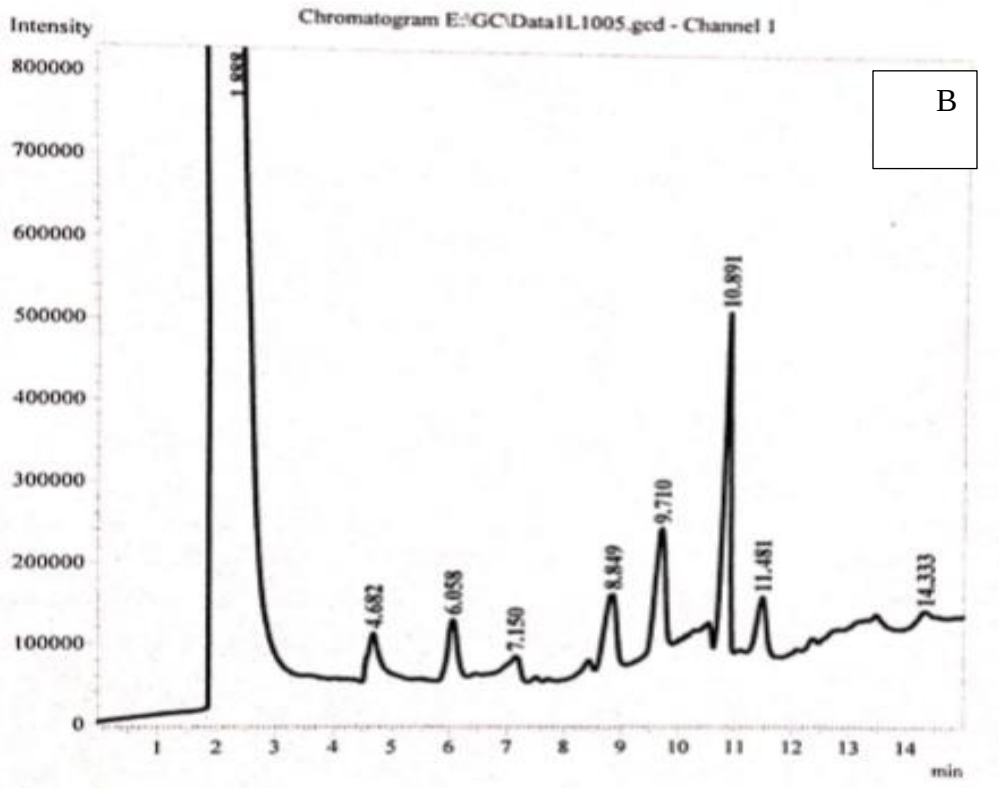
جدول (4-8) تركيز المركبات الفعالة التي يفرزها فطر *P.lilacinus* بتقنية جهاز GC

ت	اسم المركب	زمن الاحتجاز للمادة القياسية min	زمن الاحتجاز للمادة المختبرة min	تركيز العينة حسب مدة حضانة الفطر			
				10 يوم	14 يوماً	21 يوماً	28 يوماً
1	**Acetic acid**	8.00	8.11	7.28	11.04	12.31	15.2
2	**Tetramic acid**	9.12	9.19	4.02	6.33	10.54	12.31
3	**Dipicolinic acid**	10.20	10. 43	10.23	16.46	21.86	29.12

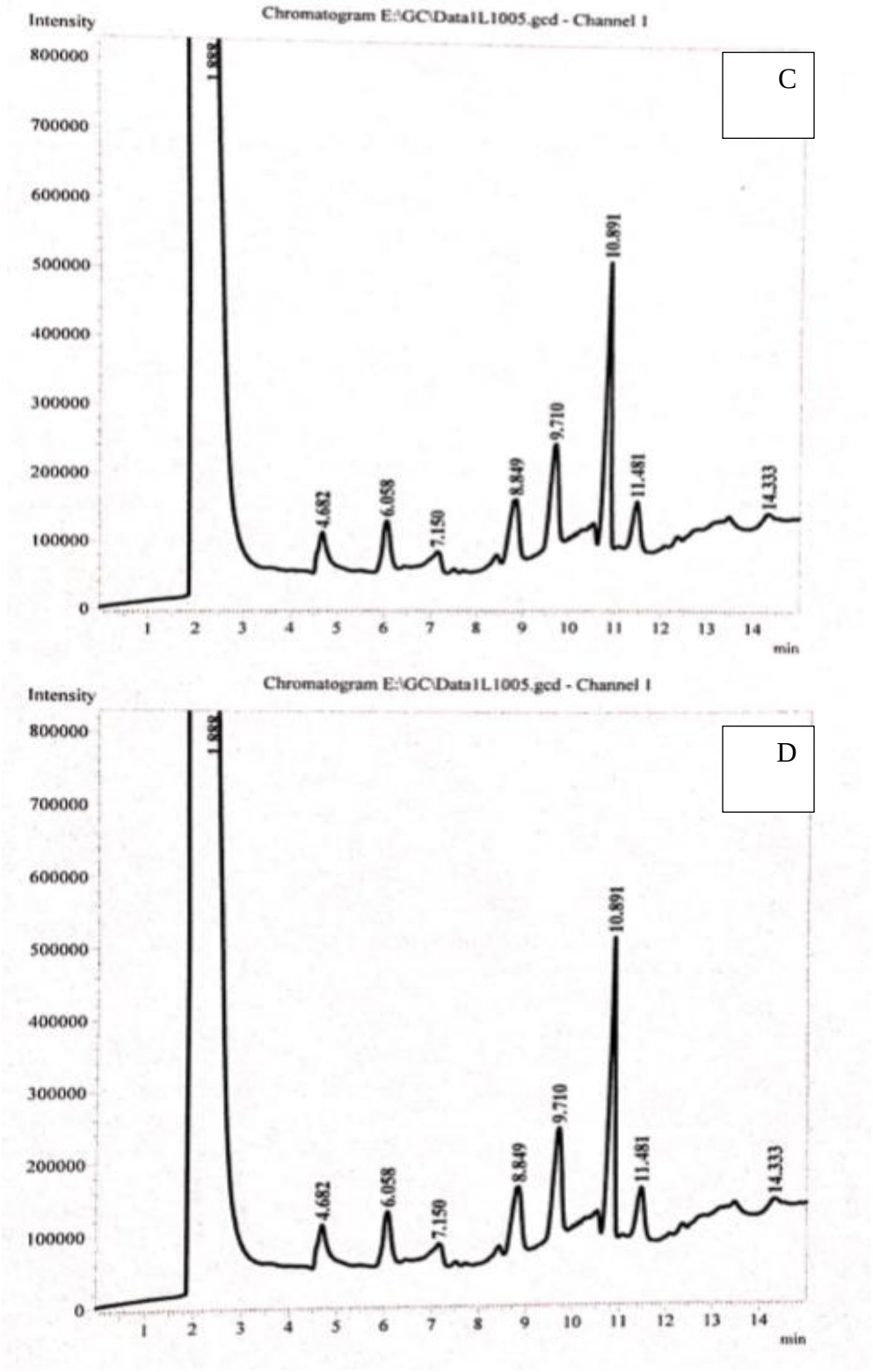


الشكل(6) العينات القياسية للأحماض الدهنية بتقنيةGC



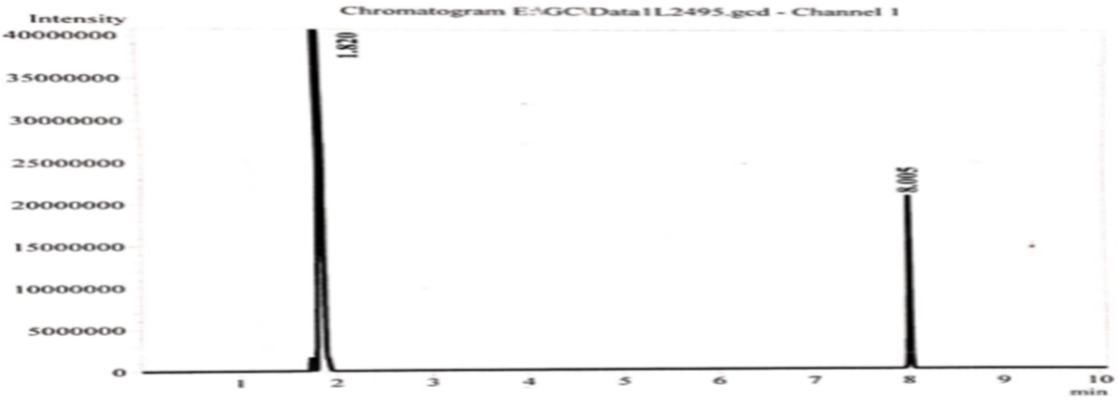


الشكل(7)العينات لراشح الفطر***P.lilacinus*** مدة حضانةA -10يوم وB -14يوماً

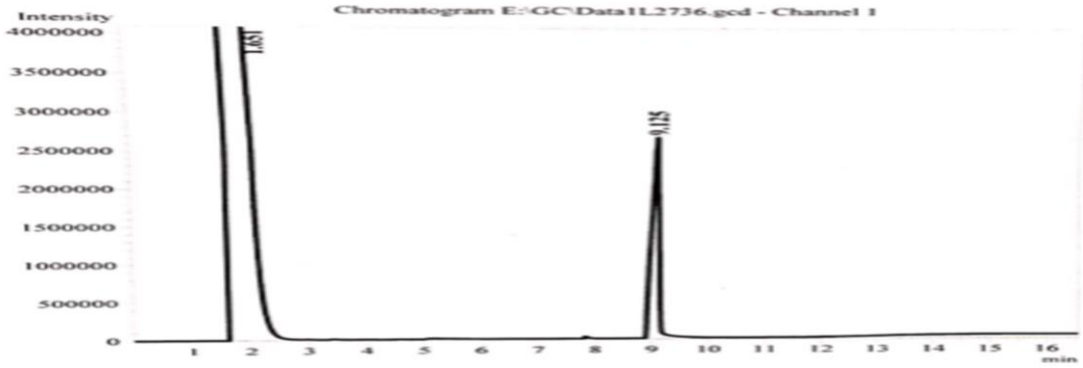


الشكل(8)العينات لراشح الفطر مدة حضانتهC -21يوماً وD -28يوماً

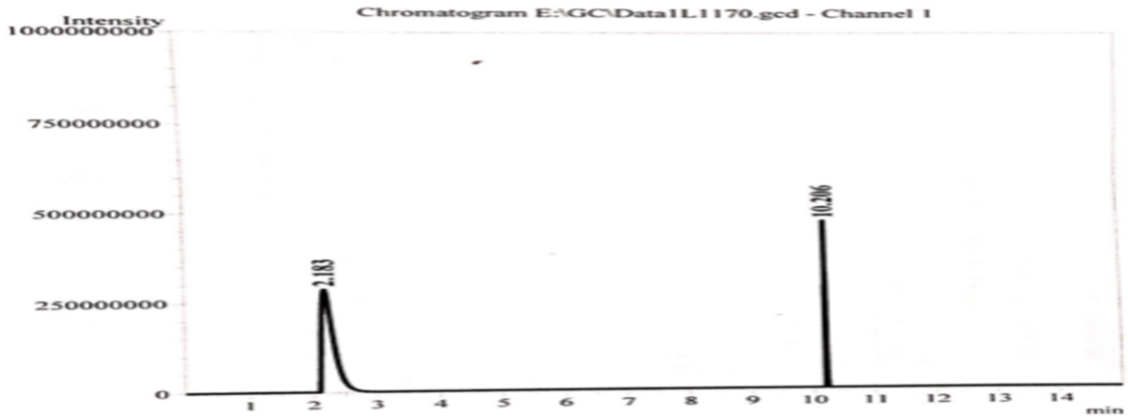
acetic acid



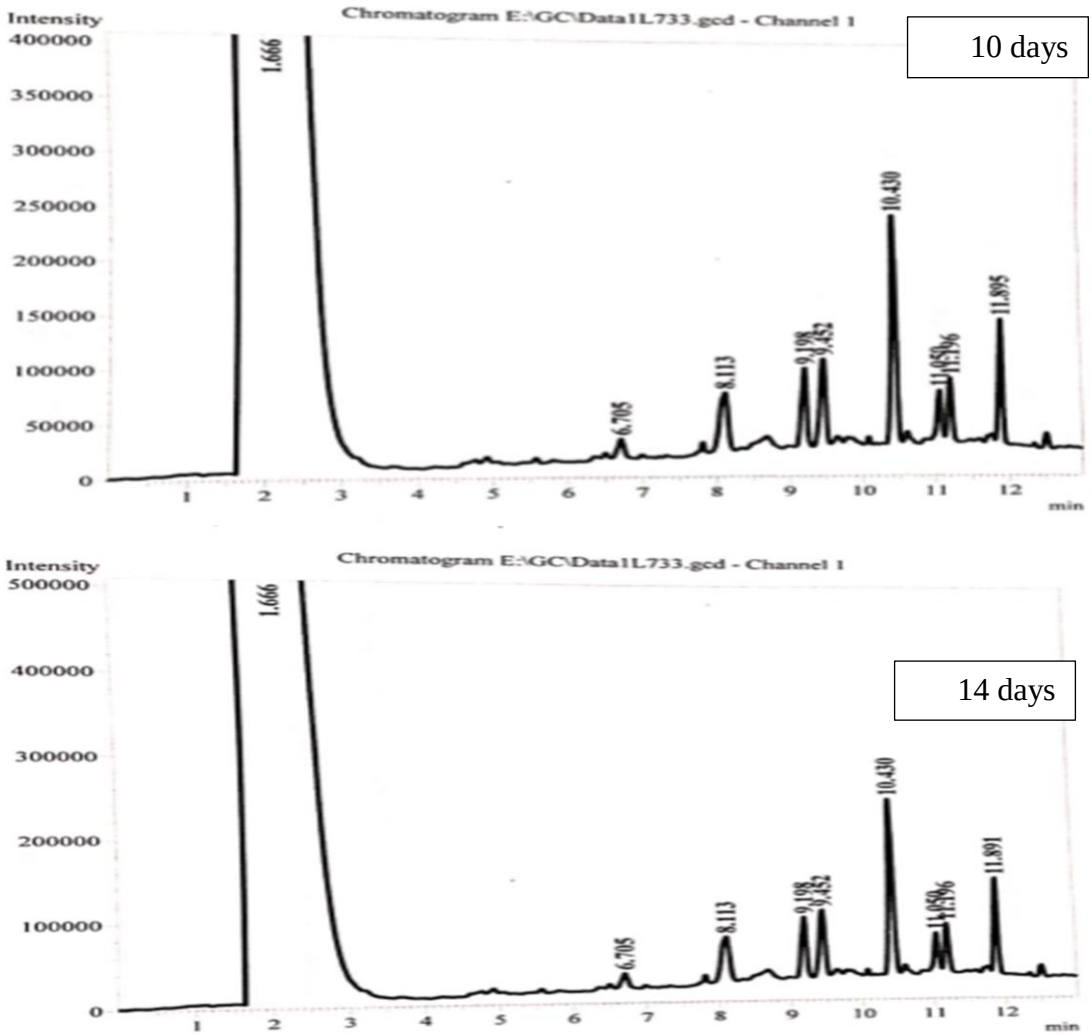
Tetramic acid



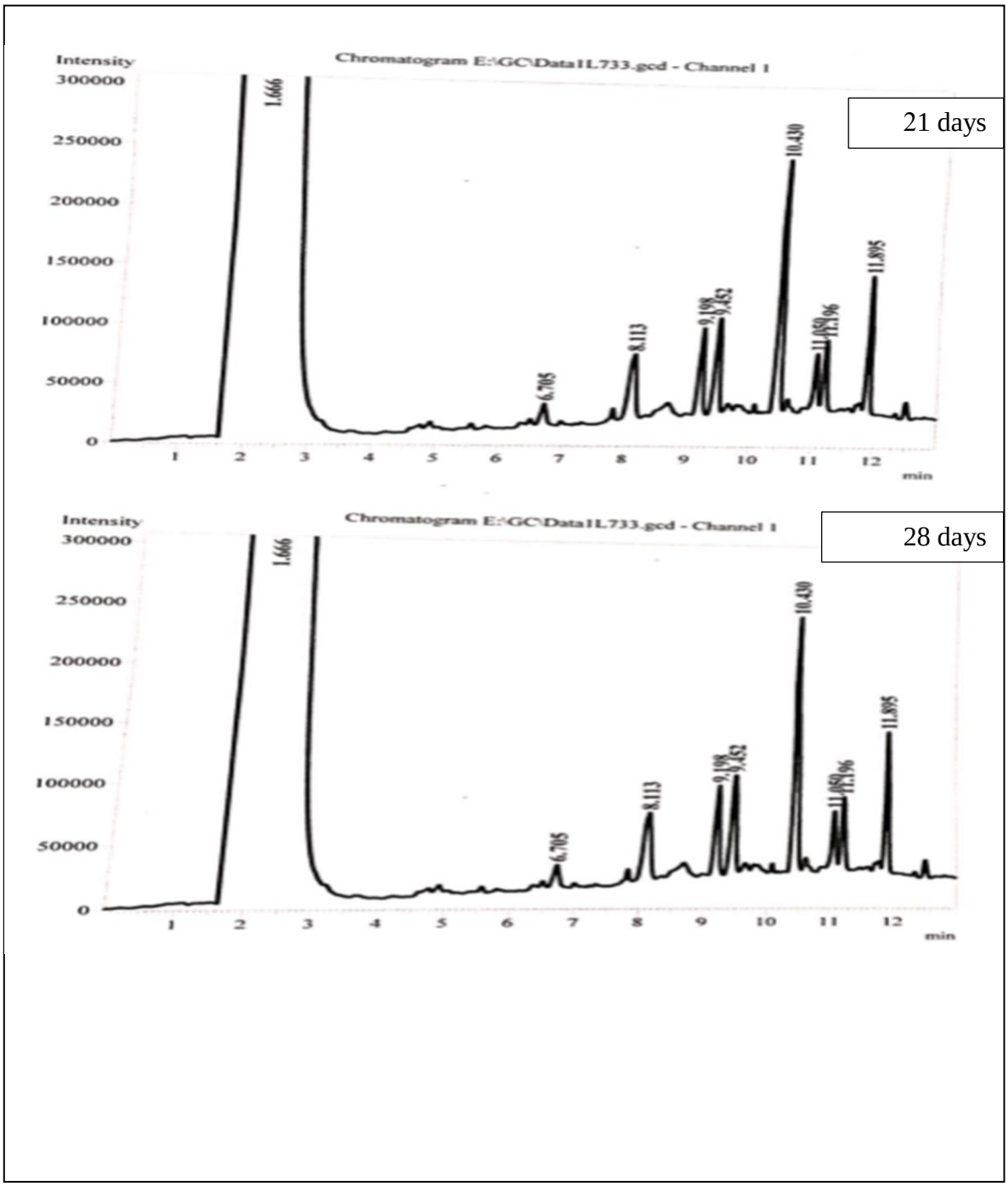
dipicolinic acid



شكل (9) العينات القياسية للمركبات الفعالة بتقنية GC



شكل (10)عينات المركبات الفعالة من راشح الفطر لمدة حضن 10 و14 يوماً



شكل (11)عينات المركبات الفعالة من راشح الفطر لمدة حضن 21 و28 يوماً

الاستنتاجات والتوصيات

Conclusions&

Recommendations

الاستنتاجات

1 – ان انتشار وتنوع الطفيليات، وظهورها في كل البيئات التي تم دراستها في الجانب العملي ؛ دليل على انتشار الذبابة المنزلية *M. domestica* في كل البيئات المدروسة .

2 – وجود علاقة طردية في نسب وظهور الطفيليات، مع اختلاف كثافة الذباب المنزلي في اشهر السنة .

3 – ان الفطر *P.lilacinus* متخصص في تطفله على البيوض واليرقات.

4 – أثرت تراكيز العالق الفطري ونواتج الأيض الثانوية الخام لراشح الفطر *P.lilacinus* ؛ في دوري البيوض واليرقات وخاصة الطور اليرقي الاول للذبابة المنزلية *M. domestica* وأبدت العذارى والبالغات مقاومة ملحوظة.

5– أظهر فحص تقنيتي (HPLC) و (GC) أن الفطر ينتج العديد من نواتج الأيض الثانوي ، والتي تعد من العوامل الأساسية في ضراوة الفطر مثل السم Pacilotoxin والأحماض الأمينية والدهنية، فضلاً عن المركبات الفعالة Acetic acid و Tetramic acid وDipicolinc acid ، والتي ازدادت تراكيزها بزيادة مدة الحضن.

التوصيات :

1 – التحري عن مسببات مرضية أخرى، لاسيما البكتريا التي ينقلها الذباب المنزلي، وأنواع أخرى من الذباب .

2– إجراء دراسة وبائية تبين ارتباط كثرة حالات الاسهال، عند الوفرة الموسمية للذباب المنزلي .

3 – دراسة تأثير الفطر في أنواع أخرى من الذباب .

4- دراسة تأثير درجات الحرارة والرطوبة على فعالية الفطر المضادة للحشرات .

5- اختبار قدرة الفطر في تخليق الجسيمات النانوية في المكافحة الجرثومية .

6 – اختبار تأثير بعض المبيدات الكيميائية في نمو الفطر .

7– استخدام الراشح الفطري المضاد للحشرات بعد مدة حضانة 28 يوماً للفطر .

المصادر

References

المصادر العربية

أبو الحب ، جليل كريم . (2004) . الحشرات الطبية والبيطرية في العراق ،(القسم النظري). كلية الزراعة – جامعة بغداد . 450 ص .

أبو الحب ، جليل كريم . (1979) . الحشرات المسببة للأمراض ، الجامعة المستنصرية ، كلية الطب . ط 1. بغداد.215 ص .

أبو الحب ، جليل كريم . (1972) .الحشرات المنزلية ومكافحتها –كلية الزراعة –جامعة بغداد ، 220 صفحة .

الجبوري ،دينا حسين هاتف .2003.دراسات مختبرية حول استخدام رواشح بعض الفطريات كطعوم سامة لمكافحة حشرة الذباب المنزلي *Musca domestica*.رسالة ماجستير –كلية العلوم /جامعة الكوفة .

الجميلي ، سارة نائر عبد الامير .(2017) . تقييم كفاءة بعض الفطريات المرافقة لبعوض *Culex quinquefasciatus* في مكافحته حياتيا. رسالة ماجستير . كلية العلوم – جامعة القادسية .

الخالدي ،أسراء جليل حسين . (2018) . التأثير المتكامل للفطر *Paecilomyces lilacinus* وخلاصة نبات الجعفري *Tagetes erecta* في مكافحة نيماتودا الحمضيات *Tylenchulus semipenestran* في محافظة واسط. رسالة ماجستير – كلية العلوم – جامعة واسط .

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.

الزبيدي، حمزة كاظم . (1992) . المقاومة الحيوية للآفات . دار الكتب للطباعـــــة والنـشر. جامعة الموصل .63-167 .

عبدالفتاح، نهاد مصطفى .(1989) . تأثير درجات الحرارة الثابتة والمتبادلة والرطوبة النسبية في نمو وبقاء وتكاثر الذبابة المنزلية *Musca domestica* L. .رسالة ماجستير –كلية العلوم /جامعة بغداد .

الغانمي، عامرة عبد الهادي رحمن . (2016) . مقارنة كفاءة بعض الفطريات ونواتج ايضها الثانوي في مكافحة بعوضة *Culex quinquefasciatus* . رسالة ماجستير– كلية العلوم – جامعة القادسية.

المحنة ، أحمد غانم نوري . (2011). تقييم كفائة الفطر *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorok في مكافحة نوعين من البعوض (Diptera : Culicidae) في محافظة الديوانية . رسالة ماجستير – كلية العلوم – جامعة القادسية .

المشهداني ، حسين رياض محمود .(2010). المكافحة الجرثومية للذبابة المنزلية *Musca domestica* L.(Diptera : Muscidae) باستخدام الفطر المضاد *(Entomophthora* رسالة ماجستير – كلية العلوم –جامعة القادسية .

الياسري ، علي مرتضى كاظم . (2014) . تأثير بعض عوامل المكافحة الحيوية في بعض الجوانب الحياتية للذبابة المنزلية *Musca domestica (L.) (Diptera:Muscidae)*. رسالة ماجستير- كلية العلوم – جامعة القادسية .

ديوان، مجيد متعب ويحيى ، عبد الرحمن حسن . (1984) . أمراض النبات العملي . وزارة التعليم العالي والبحث العلمي . هيئة المعاهد الفنية . العراق .

ديوان، مجيد متعب وعويد ،عايد نعمة و هاتف ،دينا حسين .(2009). دراسات مختبرية حول استخدام رواشح بعض الفطريات كطعوم سامة لمكافحة حشرة الذبابة المنزلية *Musca domestica*. مجلة الكوفة للعلوم الزراعية75-90 ,(2) 2

شعبان ،داوود عواد والملاح ، نزار مصطفى .(1993) . المبيدات .دار الكتب للطباعة والنشر-جامعة الموصل ،520 صفحة .

المرمضي ،ماجدة محمد عبد فلحي .(2014). تأثير مستخلصات المذيبات العضوية والمركبات الثانوية الخام لبعض النباتات في بعض الجوانب الحياتية للذبابة المنزلية *Musca domestica* ،

رسالة ماجستير –كلية العلوم–جامعة القادسية.

References

Abdel – Raheem , A. M. and Eldafrawy , B. M. (2016) . Economic Entomology and Agricultural Zoology Dept. , Faculty of Agriculture, Menoufia University, Menoufia, Egypt. *68*(3), 810-821.

Adenusi , A.A. and Adewoga , T.O.S. . (2013) . Human intestinal parasites in non-biting synanthropic flies in ogun state , Nigeria .Travel Medicine and infectious disease . 11 , 181-189.

Agarwal, V. K. and Sinclair, J. B. (1996). Principles of seed pathology . Second edition.Lewis publishers. NewYork, 539pp.

Akiyma , H. and Chen D.Y. (1999) . HPLC determination of aflatoxin B1.B2.G1.G2. in nut and corn , J. of food Hygienic scocity of Japan. 37 (4): 195-201 .

Al-Ajrami, H. M.(2016). Evaluation the effect of *Paecilomyces lilacinus* as a biocontrol agent of *Meloidogyne javanica* on tomato in gaza strip . Msc. thesis . Faculty of science . The Islamic University-Gaza .

Al -Aredhi, S. H.(2015). Role of House Flies (*Musca domestica*) as Vector Host for Parasitic Pathogens in Al-Diwaniya Province / Iraq. International Journal of Science and Research (IJSR).

ALeksic , S. and Bockemmuhi , J.(1999) .*Yersinia* sp.and other enterobacteria, Manual of clinical microbiology. ASM press.Washington.D.C.408 pp.

Anantiko, L. ; Banditsing, C. and Ketavan, C.(1982) . Studies on the life Cycle and the effect of gamma radiation on the house fly *Musca domestica* L**.** M.Sc. Thesis. Office of atomic energy for peaca. Bankok. (Thailand)(abstract).

Anderson, T. H. ; Domsch , K. H. and Gams,W.(1995). Compendium of soil fungi. *Volume 1*. Academic Press (London) Ltd .

Asaff. A. M.(2005). Isolation of dipicolinic acid as an insecticidal toxin from *Paecilomyces fumosoroseus***.** Appl Microbiol Biotechnol 68: 542–547.

Avery , B. ; Monique , J. f. ; Simmonds, S. J.(2004). Effect of photoperiods on the growth, infectivity and colonization of Trinidadian

strains of *Paecilomyces fumosoroseus* on the greenhouse white fly, *Trialeurodes vaporariorum*, using a glass slide bioassay. Journal of Insect Science, Issue 1, 1, 38.

AOAC (Association of Official Analytical Chemists) 1995. Official Methods of Analysis, 16th Edition. AOAC International, Gaithersburg, MD.

Axtell , R.C. (1999) . Poultry integrated pest management: Status and future. Integr. Pest. Manag . Rev, 4: 53–73.

Balla, H. J., Usman, Y., & Muhammad, A. (2014). The role of housefly (*Musca domestica*) in mechanical transmission of intestinal parasites in Maiduguri Metropolis, Northeastern Nigeria. *Journal of Natural Science Research*, *4*, 60-65.

Banjo , A. D. ; Lawal , O. A. and Adeduji , O. O. (2005). Bacteria and fungi isolated from house fly (*Musca domestica* L.) larvae. Afr. J. Biotechnol.,4:780-784.

Barson ,G.; Renn ,N. and Bywater, A.F. (1994). Laboratory evaluation of six species of entomopathogenic fungi for the control of the housefly *Musca domestica* L. J. Invert. Pathol. 64 : 107 - 113.

Bernard , D .R. (2003) . Control of fly - borne diseases Pesticide Outlook, *Journal of Natural Science Research* 14:222-228**.**

Beven, D. D.; Rebuffat, S.; Riddell. F.; Bodo, B. (1998). Membrane permeabilisation and antimycoplasmic activity of the 18 - residue peptaibols , trichorzins PA. Biochim Biophys Acta 1372:78–90**.**

Brand, D., Roussos, S., Pandey, A., Zilioli, P. C., Pohl, J., and Soccol, C. R. (2004). Development of a bionematicide with *Paecilomyces lilacinus* to control *Meloidogyne incognita*. *Applied biochemistry and biotechnology*, *118*(1-3), 81-88.

Gibson, G. A., Huber, J. T., and Woolley, J. B. (1997). *Annotated keys to the genera of Nearctic Chalcidoidea (Hymenoptera)*. NRC Research Press.

Bonants, P. J.; Fitters, P. F.; Thijs, H.; den Belder, E., Waalwijk , C. and Henfling , J. W. (1995). A basic serine protease from *Paecilomyces lilacinus* with biological activity against *Meloidogyne hapla* eggs. Microbiology, 141(4), 775-784.

Burges, H.D. (2007). Techniques for Testing Microbials for Control of Arthropod Pests in Greenhouses', in Field Manual of Techniques in Invertebrate Pathology: Application and Evaluation of Pathogens for Control of Insects and other Invertebrate Pests, eds. L.A. Lacey and H.K. Kaya (2nd ed.), Dordrecht, The Netherlands: Springer, pp. 37.

Cilek , J. E. and Greene, G. L. (1994). Stable fly (Diptera : Muscidae) resistance in Kansas cattle feedlots. J . Econ Entomol. 87 : 275 - 279.

Collee , J. G.; Fraser ,A.G.; Marmion , B. P. and Simmons , A. (1996) . Parctical Medical Microbiology .14 ted . Makie and Macarthy , Pearson Professional Limited .

Coles ,D . H and Apline ,D. K. (1991) . Diptera (Flies) . In : The Insect of Australia . Mel bourne university press, 2: 717-786 pp.

Dackman, C., Chet, 1. And Nordbring-Hertz, B. (1989). Fungal parasitism of the cyst nematode Heterodera schachtii: infection and enzymatic activity. Microb Ecol62, 201-208.

David ,R.A. and Zorilla , R. G. (1985). Evaluation of a fungus *Paecelomyces lilacinus* (Thom.) Samson for the biological control of the potato cyst nematode , Globodera rostachiensis Woll , as compared with some nematicides . Phil. Agric. 66 : 397- 407

Djian,C.; Pijarowski, L. ; Ponchet M. ; Arpin, N. and Favre-bonvin , j.(1991). Acetic acid a selective nematicidal metabolite from culture filtrates of *P. lilacinus* (thom) samson and *Trichoderma longibrachiatum* rifai nematology 37 :101-112,E.J.Brill,Leidein .

Donald, A.R. (2001). House fly *Musca domestica* L. description, Domestic animals effect damage caused, Adult habitat, Feeding, Methods of dispersal and seasonality.J.Entomol. 45: 491-498.

Ellis, M.B. (1971) . Dematiaceous Hyphomycetes . Common wealth Mycological Institute, Kew, UK.

Ferraz , A .C .P . B . Proença , B . Q. Gadelha , L. M. Faria, M.G.MBarbalho, V.M. Aguiar-Coelho, and C.S.S. Lessa.(2010). First Record of Human MyiasisCausedby association of the Species *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae), Sarcophaga (Liopygia) ruficornis (Diptera:

Sarcophagidae), and *Musca domestic* (Diptera: Muscidae). Entomological Society of America 10.1603/ME09143.

Fiedler, Z. and Sosnowska , D. (2007). Nematophagous fungus *Paecilomyces lilacinus* (Thom) Samson is also a biological agent for control of greenhouse insects and mite pests. Bio Control 52:547–558 .

Frisvad JC, Thrane U, Samson RA, Pitt J (2006) Important mycotoxins and the fungi which produce them. Adv Exp Med Biol 571:3–31

Gangarosa, E.J.and Beisel, W.R. (1966). The Nature of the Gastrointestinal lesion in Asiatie cholera and its relation to pathogensis: A biopsystudy,J.Med.Entomol.35: 125-135.

Gebhart-Muller,Y.; Muller,P. and Nixton,B.1998.Unusual case of postoperative infection caused by *Morganella morganii* . J.foot ankle surg.37:145-147.

Georgehiou , G. P.(1990). Overview of insecticide resistanse of house fly *Musca domestica* L. J. Entomol. 43: 18-14.

Geden, C. J. (1997). Evaluation of *Paraiotonchium muscadomesticae*, a potential biological control agent of the house fly. *Biological Control*, 10: 42-47.

Greenberg , B. (1973). The fly as host *In* Flies and disease . Princeton University Press , Princeton, NJ. , pp. 97-152.

Gough , P.M. and Jorgenson, R.D. (1983). Identification of porcine transmissible gastroenteritis virus in house flies (*Musca domestica* L.) Am. J. Vet. Res. 44: 2078-2082.

Greenberg , B. (1971) . Flies and disease . Ecology Classification and Biotic Associations. Princeton University Press, Princeton, 1:896.

Grubel, P.; Hoffman, J.S.; Chong, F.K.; Burstein, N.A. ; Mepani , C. and Cave, D.R . (1997) . Vector potential of house flies *Musca domestica* for *Helicobacter pylori* .J.Clin.microbiol..35 : 1300-1303.

Getachew , S. ; Gebre – Michael ,T. ; Erko , B. ; Balkew, M. and Medhin , G. (2007) . Non-biting cyclorrhaphan flies (Diptera) as carriers of Intestinahuman parasites in slum areas of Addis Ababa, Ethiopia. Acta Trop;103:186e94.

Gibson, G. A. P.(2009). Revision of new world spalangiinae (Hymenoptera: Pteromalidae),"Zootaxa, 2259:. 1–159 pp.

Goettel, M.S. and Inglis, D.(1997) . Fungi : Hyphomycetes. In. : Lacey, L. (ed.) Manual of Techniques in Insect Pathology. Academic Press. Sandiego .409 pp.

Gustafson , M. (1965) . One species of the genus *Entomophthora Fres* . in Sweden *Cultivation and Physiology*(Doctoral dissertation). .31:405-457.

Hadi A. M. (2011). A study of prevalence of some parasites and protozoa from *Musca demostica* in Baghdad . Al-Anbar J. Vet.Sci.vol.4(2) p:88- 92.

Hadi, A. M .(2013). Isolation and Identification of Some Intestinal parasites Egg Cysts and Oocysts From tow Species of Diptera: Calliphoridae in Baghdad. Natural History Research Center and Museum, University of Baghdad.

Hadi. A. M.(2014). Isolation and Identification of Intestinal parasites and protozoa from Flesh flies *Sarcophaga africa* in Baghdad Journal of Al - Nahrain University Vol.16 (3),pp.214-223**.**

Hadi, A. M., & Al-Amery, A. M. A. (2012). Isolation and identification of some blood parasites from midgut of stable fly (Stomoxys calcitrans). *AL-Qadisiyah Journal of Veterinary Medicine Sciences*, *11*(1), 28-33.

Henning, J. ; Schnitzler, F. R.; Pfeiffer, D .U. and Davies, P. (2005). Influence of weather conditions on fly abundance and its implications for transmission of rabbit haemorrhagic disease virus in the North Island of New Zealand . Medical and Veterinary Entomology 19: 251-262.

Hofstatter, B.D; Oliveira, S. F. A; Souza, M. F.F; Persici, B.M; Potter. L; Silveira, A; Antoniolli, Z.I and Brayer, P. D.I. (2017). Effect of *Paecilomyces lilacinus*, *Trichoderma harzianum* and *Trichoderma virens* fungal extracts on the hatchability of Ancylostoma eggs. Rev Iberoam Micol. ,34(1):28-31.

Hucko , M. (1984). The role of house fly *Musca domestica* L. in the transmission of *Coxiella Burnettii* . Folia parasitologica (prata) , 31: 177 – 181.

Iqbal , W.; Malik , M.F. ; Sarwar, M.K. ; Azam, I. ; Iram, N. and Rashda, A. (2014). Role of housefly (*Musca domestica*, Diptera; Muscidae) as a disease vector; a review . Journal of Entomology and Zoology Studies; 2 (2): 159-163 .

Inglis, P.W., and Tigano, M.S. (2006). Identification and Taxonomy of Some Entomopathogenic Paecilomyces spp. (Ascomycota) Isolates Using rDNA- ITS Sequences', Genetics and Molecular Biology, 29, 132-136.

Isaka M, Chinthanom P, Supothina S, Tobwor P, and Hywel-Jones NL. (2010). Pyridone and tetramic acid alkaloids from the spider pathogenic fungus Torrubiella sp. BCC .2165. J Nat Prod;73:2057–2060.

Isaka M, Palasarn S, Lapanun S, Sriklung K.(2007). Paecilo depsipeptide A, An Antimalarial and antitumor cyclohexadepsipeptide from the insect Pathogenic fungus *Paecilomyces cinnamo* meus BCC , 9616. J. Nat Prod ;70:675–678.

James ,M.T. and Hardwood ,R.F.(2006). Herms Medical Entomology , The Macmillan Company ,London .484 pp.

Jatala ,P. (1986). Biological control of nematodeisn : Sasser, J. N. and Carter C. C. (Eds) . An advanced treatise on *Meloidogyne incognita*. Biology and Control. Raleigh, Department of Plant Pathology. North Carolina State University &USAID : 302-308.

Jepson, S. B. (1987). Identification of root-knot nematodes (*Meloidogyne* species).

Jesperson, J.B. and Keiding, J. 1990**.** The effect of *Bacillus thuringiensis* on *Musca domestica* L. larvae resistance to insecticides. p.p. 215-229. In Rutz, D.A. and R.S. Patterson (Eds.) Biocontrol of arthropods affecting livestock and poultry. U.S.A. West view Press.430pp.

Jamali, S. and Ghasemi, F. (2016). Pathogenicity of *Paecilomyces marquandii* on eggs of Meloidogyne incognita. J. Crop Prot. , 5 (1) : 125-130.

Khan , H.A.; Akram , W.; Shad, S.A. (2013a). Resistance to conventional insecticides in Pakistani populations of *Musca domestica* L.(Diptera: Muscidae) : a potential ectoparasite of dairy animals. Ecotoxicol. doi:10.1007/s10646-013-1044-2.

Khan, H.A.A; Shad, S.A. and Akram, W. (2013b). Resistance to new chemical insecticides in the Housefly (*Musca domestica*) from dairies in Punjab, Pakistan. Parasitol Resistance; 9:18 .

Khan , A.; Williams , K. L. and Nevalainen, H. K. (2004). Effects of *Paecilomyces lilacinus* protease and chitinase on the eggshell structures and hatching of *Meloidogyne javanica* juveniles. Biol. control., 31: 346-352.

Kelling , F. J . (2001) . Olfaction in the house fly morphology Electrophysiology . Ph.D. thesis. University of Groningen.266PP.

Keiding,J. and Skovmand, O. (1983). Insecticide resistance in housefly. Danish pest infestation Laboratory Annual Report 23:55-58.

Kiewnick , S. and Sikora, R. A. (2006). Biological control of root- knot nematode *Meloidogyne incognita* by *paecilomyces lilacinus* strain 251 Biological control, 38:179-187.

Kiewnick , S.; Sikora, R. (2006) . Evaluation of *Paecilomyces lilacinus* Strain 251 for the biological control of the northern root – knot nematode *Meloidogyne hapla* Chitwood. Nematology ; 8: 69 - 78.

Kocisova , A. ; Novak, P. ; Toporcak , J. and Petrovsky , M. (2002) . Development of resistance in field house fly (*Musca domestica*): Comparisons of effects of classic spray regimes versus integrated control methods. Acta. Vet. Brno. 71: 401 -405.

Lacey , L. A. (1997) . Manual of techniques in Insect pathology (Biological techniques) . Academic press . Sadiego . London . Boston . 408pp.

Lopez, D. C., Zhu-Salzman, K., Ek-Ramos, M. J., & Sword, G. A. (2014). The entomopathogenic fungal endophytes *Purpureocillium lilacinum* (formerly Paecilomyces lilacinus) and *Beauveria bassiana* negatively affect cotton aphid reproduction under both greenhouse and field conditions. PloS one, 9(8), e103891.

Malik, A.; Singh, N. and Satya, S. (2007) . House fly (*Musca domestica*) : a review of control strategies for a challenging pest. J. Environ. Sci. Health B. 42: 453–469.

Marcon, P. C.; Thomas, G. D.; Siegfried, B. D.; Campbell J. B. and Skoda, S. R. (2003). Resistance status of house flies (Diptera: Muscidae) from southeastern Nebraska beef cattle feedlots to selected insecticides. J. Econ. Entomol. 72: 1016-1020.

Marti1 , G. M. ; Lastra 2 , C. L. ; Pelizza 2 , S. A. and Garcıa 2 , J. J. (2006) . Isolation of *Paecilomyces lilacinus* (Thom) Samson (Ascomycota: Hypocreales) from the Chagas disease vector, Triatoma infestans Klug (Hemiptera: Reduviidae) in an endemic area in Argentina. Mycopathologia 162: 369–372.

Miao , L.; Theresa, F.N. ; Qian , P.Y .(2006). Effect of culture conditions on mycelia growth, antibacterial activity and metabolite profiles of a marine-derived fungus Arthrinium c.f. saccharycola. Appl Microbiol Cell Physiol 72:1063–1073.

Motazedian ,M.H. ; Mehrabani , D. and Mehrabani , G. (2014). The Role of *Musca domestica* as a Carrier of Parasites in Shiraz, Southern Iran. Academic Journal of Entomology 7 (3): 84-87.

Mori, Y.; Tsuboi, M.; Suzuki, M.(1982). Isolation of luucinostatin A and one of ITS constituents, the new amino acid 4-methyl -6-(2-oxobutel)-2-piperidinecarboxylic acid from *Paecilomyces lilacinus*. The journal of antibiotics . Vol . .4

Muhammad , J. A. and LudekZ . (2004) . Association of Escherichia coli O157 : H7 with houseflies on a cattle farm. Applied and Environmental Microbiology 70(12): 7578-7580.

Mukhtar T., Kayani M.Z., Hussain M.A. (2013). Nematocidal activities of *Cannabis sativa* L. and *Zanthoxylum alatum* Roxb. against meloidogyne incognita. Ind Crop Prod 42:447–453.

Mwamburi , L.A. ; Laing, M.D. ; Miller ,R. (2011) . Laboratory screening of insecticidal activities of *Beauveria bassiana* and *Paecilomyces lilacinus* against larval and adult housefly (*Musca domestica*). African Entomology 2011a; 18:38-46.

Nitao, J.K.; Meyer ,S. L.; Olive , J.E.; Chitwood , D. J .(2002) .Isolation of falvipin, a fungus compound antagonistic to plant parasitic nematodes. Nematology 4:55–63.

Nmorsi , O.P. ; Ukwandu , N.C.; Agbozele , G. E. (2006) . Detection of some gastrointestinal parasites from four synanthropic flies in Ekpoma, Nigeria. J. Vect. Borne Dis. 43, 136–139.

Nwangwu , U. C. ; Onyido, A.E. ; Egbuche, C.M.; Iwueze , M.O. and

EzugboNwobi , I.K.(2013) . Parasites Associated with wild – caught houseflies in Awka metropololis. IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences (IOSR-JPBS) . e-ISSN: 2278-3008, p:2319-7676.

Ogg , B . (2007) . Flies in the house . University of Nebraska, Licoln, Academic press. NE .441pp.

Oghale O.O., Oluchi U.O. and Ebube C.A. (2013) ,parasitic load *on musca domestica* (Diptera : muscidae) from different synanthropic environments in Umuahia metropolis , journal of public health an ujhbujof plant-parasitic nematodes from Spanish soils.Rev. lberoam Mycol., 19: 104-110

Olsen , A. R. and Hammack , T. S.(2000) . Isolation of *Salmonella* spp. From the house fly *Musca domestica* L . and the dump fly *Hydrotaea aenescens* (Wiedemann) (Diptera: Muscidae) at caged layer houses . J. Food Prot. 63: 958-960 .

Olsen AR. (1998). Regulatory action criteria for filth and other extraneous materials. III. Review Toxicol Pharmacol.,28: 199-211.

Oka Y. (2010). Mechanisms of nematode suppression by organic soil Amendments - a review. Appl Soil Ecol 44:101–115.

Onyenwe , E. ;O ʼwoma , O. ; Ubiaru ,P.C. and Abel , C. (2016). Housefly-Borne Helminthes parasite of mouau and ITS public health implication for University community. Animal research International 13(1): 2352-2358.

Oyetunde ,T.O.; Agabje m.o.; Okrlue U.B.(2016) . Food –borne human parasitic pathogens associated with houselold cockroaches and houseflies in Nigeria . parasite Epidemiology and control .10-13.

Pau, C. G., Leong, S., Teck, C., Wong, S. K., Eng, L., Jiwan, M., . . . Majid, N. M. (2012). Isolation of Indigenous Strains of *Paecilomyces lilacinus* with Antagonistic Activity against *Meloidogyne incognita*. International Journal of Agriculture & Biology, 14(2).

Park, J.O. ; Hargreaves , J.R. ; McConville, E.J.; Stirling ,G.R.; Ghisalberti , E. L. ; Sivasithamparam , K. (2004) . Production of leucinostatins and

Nematicidal activity of Australian isolates of *Paecilomyces lilacinus* (Thom) Samson. Lett Appl Microbiol;38:271–6.

Paula, L. A., Bianchi, V. J., Gomes, C. B., & Fachinello, J. C. (2011). reacao porta-enxertos pessegueiro a meloidogyne incognita1. revista brasileira fruticultura, 33(2), 680-684.

Pickens, L. G. and Miller, R. W. (1987). Techniques for trapping flies on dairy farms. J. Agric. Entomol. 4: 305–313.

Rao , N. B. ; Snehalatharani , A. & Emmanuel , N. (2012) . New record of *Paecilomyces lilacinus* (Deuteromycota : Hyphomycetes) as an entomopathogenic fungi on slug caterpillar of coconut. *Insect Environ*, *17*(4), 151-153.

Renn , N. (1998) . the efficacy of entomopathogenic nematodes for controlling house fly infestations of intensive pig units. Med. Vet. Entomol. 12: 46- 51.

Ricci M, Sassi P, Nastruzzi C, Rossi, C .(2000). Liposome-based formulations for the antibiotic nonapeptide Leucinostatin A: fourier transform infrared spectroscopy characterization and in vivo toxicologic study. AAPS Pharm Sci Tech 1:E2

Rombach, M., Aguda, R., Shepard, B., & Roberts, D. (1986). Infection of rice brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Homoptera: Delphacidae), by field application of entomopathogenic Hyphomycetes (Deuteromycotina). Environmental Entomology, 15(5), 1070-1073.

Rupes, V. ; Ryba, J. ; Hanslova , H. and Weiser ,J. (1987) . The efficiency of beta-exotoxin on *Bacillus thuringiensis* on susceptible and resistant Housefly. In: Proceedings of the International Conference of Medical and Veterinary Dipterology ; 262 – 265 .

SAMSON , R. A. (1974) . *Paecilomyces* and some allied Hyphomycetes. Studies in Mycology 6.

Samson , A. R. ; Evans, H.C. and Latge, J.P. (1988). Atlas of entomopathogenic fungi Spring-Verlager. Berlin. 187 pp.

Sanchez , H. and Arroyo , D. (2008). House fly, *Musca domestica* L. University Of Floreda, EENY- 048 pp.

Sanchez – Arroyo, H. 1998. House fly *Musca domestica* L. Distribution, importance, life cycle, description and management. University of Florida

Sanjaya, Y. ; Virginia R. ; Ocampo, V. R. and Caoili, B. L. (2016). Pathogenicity of three entomopathogenic fungi , *Metarhizium anisopliae, Beauveria bassiana* and *Paecilomyces lilacinus* , to *Tetranychus kanzawai.*

Scriver CR, Beaudet AL, Valle D, Sly WS, Childs B, Kinzler KW, Vogelstein B, eds.(2001). The Metabolic and Molecular Bases of Inherite Disease8th ed. New York, NY: McGraw-Hill, Inc;;1665-2105.

Sharma ,A. ; Sharma,S. ;Aditya ,M. A. ; Naik1 , S. N.(2016). Evidence for The involvement of nematocidal toxins of *Purpureocillium lilacinum* 6029 cultured on Karanja deoiled cake liquid medium. World. J.Microbiol Biotechnol 32 : 82.

Sharma, A. ; Sharma, S. ; Dalela , M. (2014) . Nematicidal activity of *Paecilomyces lilacinus* 6029 cultured on Karanja cake medium. Microb Pathog 75:16–20 .

Saski, T.; Kobayashi, M. and Agui, N. 2000**.** Epidemiological potential of excretion and regurgitation by *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) in the dissemination of *Escherichia coli* 0157: H 7 to food. J. Med. Entomol. 37: 945-949.

Service, M.W. (1996). Medical Entomology for Students .Chapman and Hall, Londond 278 pp.

Shen, J. and Plapp, F.W. (1990). Cryomazine resistance in the House fly (Diptera:Muscidae): Genetics and cross resistance to diflubenzuron. Journal of Economic Entomology ; 83:1689-1697.

Stafford, K.C. and Bay , D.E. (1994). Dispersion statistics sample size estimates for house fly (Diptera: Muscidae) larvae and *Macrocheles muscae domesticate* (Acari : Macrochelidae) inpoultry manure.J. Med. Entomol.31(5) :732-737.

Sureshan , P.M. and Narendran, T.C. (2003). A checklist of Pteromalidae (Hymenoptera: Chalcidoidea) from the Indian subcontinent. Review Zoos' Print Journal 18(5): 1099-1110

Szentiva´nyi, O., Varga, K., Wyand, R., Slatter, H., and Kiss, L. (2006), *Paecilomyces farinosus* Destroys Powdery Mildew Colonies in Detached Leaf Cultures but not on Whole Plants', European Journal of Plant Pathology, 115, 351-356.

Teles, A. P. C., and Takahashi, J. A. (2013). Paecilomide, a new acetylcholinesterase inhibitor from *Paecilomyces lilacinus*. Microbiological research, 168(4), 204-210.

Tolgyesi , A . ; Stroka , J. and Zwickel ,T. (2015) . Simultaneous analysis of *Alternaria* toxtins and citrinin in tomato: an optimisd method using liquid chromatography- tandem mass spectrometry . Food Additives and Contaminants: Part A, 32,No. 9, 1512-1522.

Urbanczyk , J. A. ; Soloducho , J. and Zabza , A. (1990) . Hydrolytic properties of lipase produced by entomopathogenic fungus *Zoophthora (Erynia) ovispora.* Biotechnol. Lett. 12: 831-834.

Wakil, W. ; Ashfaq, M. ; Ghazanfar, M.U. ; Kwon, Y.J. ; Ullah , E. (2012). Testing *Paecilomyces lilacinus*, diatomaceous earth and *Azadirachta indica* alone and in combination against cotton aphid (*Aphis gossypii* Glover) (Insecta: Homoptera: Aphididae) . African J Biotech, 11(4): 821–828.

Wattanalai , R. ; Wiwat, C. ; Boucias , D.G. ; Tartar, A. (2004). Chitinase gene of the dimorphic mycopathogen, Nomaraea rileyi. J. Invert. Path. 85: 54-57.

Wraight, S.P.; Butt, T.M.; Galaini -Wraight, S.; Allec, I. ; Soper,R.S. and Roberts, D.W.(1990). Germination and infection processes of the entomophthoralean fungus *Erynia radicans* on the potato leafhopper, *Empusca jabae*. J. Invert.Pahol . 56 : 157-174.

Zarrin, M.; Vazarianzadaeh, B.; Solary, S.S.; Mahmoudabadi, A.Z. and Rahdar, M.(2007). Isolation of fungi from house fly (*Musca domestica*) in Ahwaz,Iran.J.Med.Sci.23 : 917-919.

Zimmermann, G. (2008). The entomopathogenic fungi *Isaria farinosa* (formerly *Paecilomyces farinosus*) and the *Isaria fumosorosea* species complex (formerly *Paecilomyces fumosoroseus*): biology, ecology and use in biological control. *Biocontrol science and technology*, *18*(9), 865-901.

الملاحق

Appendixes

Clarity - Chromatography SW

DataApex

www.dataapex.com

Chromatogram Info:

File Name	: F:\10 day.PRM	File Created	: 20/09/2018 11:24:01 ص
Origin	: Acquired, Acquisition started 11/03/2013 12:18:33 م	Acquired Date	: 11/03/2013 12:38:33 م
Project	: C:\Clarity\Projects\Work1.PRJ	By	: Administrator

Printed Version Info:

Printed Version	: Modified	Printed Date	: 20/09/2018 11:41:59 ص
Report Style	: C:\Clarity\Common\Chromatogram.sty	By	: Administrator
Calibration File	: None		

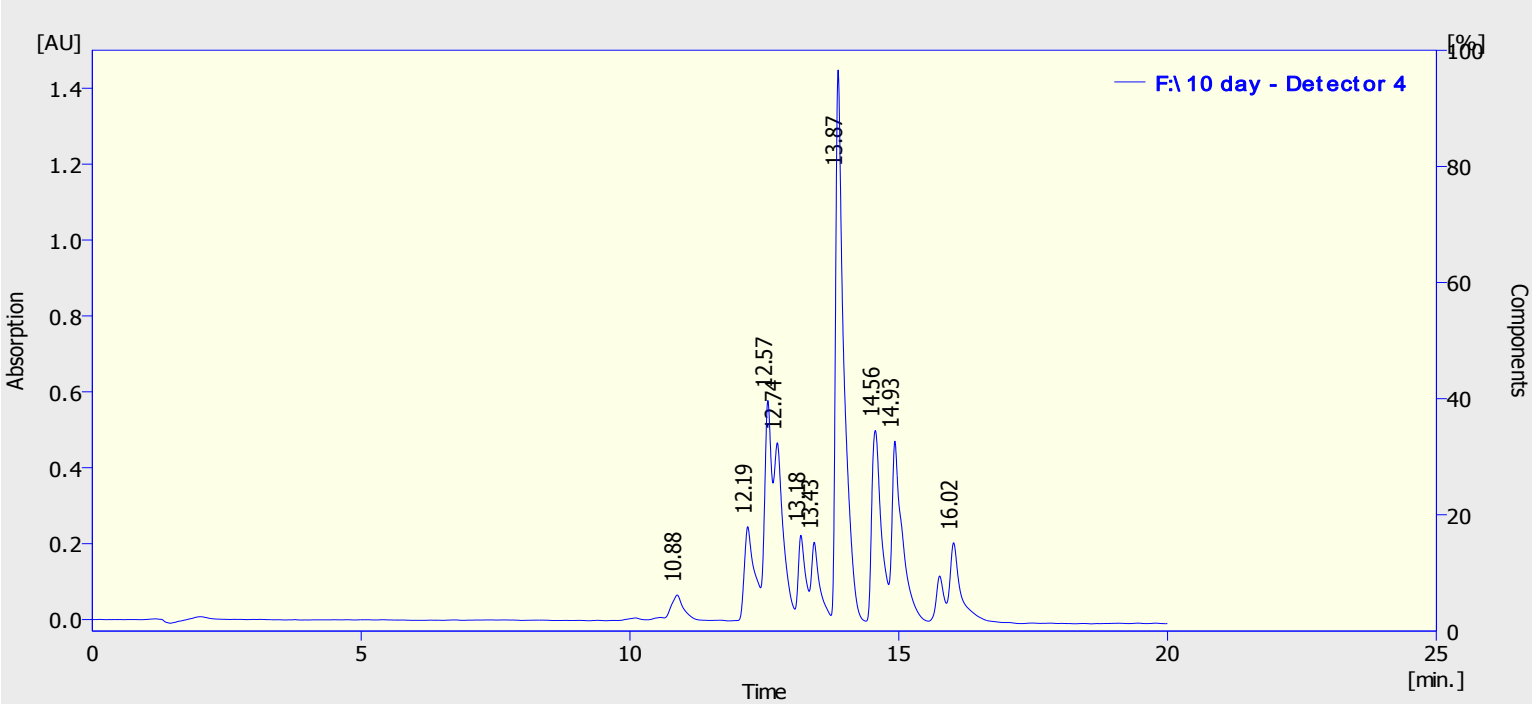
Sample Info:

Sample ID	: 10 day	Amount	: 0
Sample	: 10 day	ISTD Amount	: 0
Inj. Volume [mL]	: 0.1	Dilution	: 1

Method	: pah n	By	: Administrator
Description	: 10 day		
Created	: 05/03/2013 10:14 ص	Modified	: 20/09/2018 11:40 ص
Column	: C18	Detection	: PAHs
Mobile Phase	: CH3CN : H2O	Temperature	: 30C
Flow Rate	: 1.2ml/min	Pressure	:
Note	:		

Autostop	: 20.00 min	External Start	: Start - Restart, Down
Detector 4	: Detector 4	Range 4	: Bipolar, 2000 mAU, 10 Samp. per Sec.
Subtraction Chromatogram	: (None)	Matching	: No Change

Base	: Not Used	Calibration File	: None	Calculation	: Uncal
Scale Factor	: Not Used	Units After Scaling	: Not Used	Uncal. Response	: 0
Unretained Time	: 0.00 min	Column Length	: 250.00 mm	Column Calc.	: From Width at 50% of Height
Result Table Reports	: All Peaks	Hide ISTD Peak	: Enabled		



Result Table (Uncal - F:\10 day - Detector 4)

	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W05 [min]	Compound Name
1	0.123	3.980	0.633	0.1	0.1	0.09	
2	10.877	633.587	51.084	11.1	4.8	0.19	
3	12.190	274.454	64.216	4.8	6.1	0.07	
4	12.567	482.777	123.748	8.4	11.7	0.06	
5	12.740	698.994	123.123	12.2	11.6	0.09	
6	13.180	932.148	155.379	16.3	14.6	0.11	
7	13.427	44.277	4.314	0.8	0.4	0.01	
8	13.873	316.647	145.171	5.5	13.7	0.04	
9	14.563	338.441	71.994	5.9	6.8	0.06	
10	14.927	878.773	174.837	15.4	16.5	0.08	
11	16.020	1119.954	146.737	19.6	13.8	0.13	
	Total	5724.031	1061.237	100.0	100.0		

Clarity - Chromatography SW

DataApex

www.dataapex.com

Chromatogram Info:

File Name	: F:\10 day.PRM	File Created	: 17/04/2018 10:26:25 ص
Origin	: Acquired, Acquisition started 04/12/2014 09:32:37 ص	Acquired Date	: 04/12/2014 09:45:37 ص
Project	: C:\Clarity\Projects\Work1.PRJ	By	: Administrator

Printed Version Info:

Printed Version	: Modified	Printed Date	: 03/06/2018 10:43:59 ص
Report Style	: C:\Clarity\Common\Chromatogram.sty	By	: Administrator
Calibration File	: None		

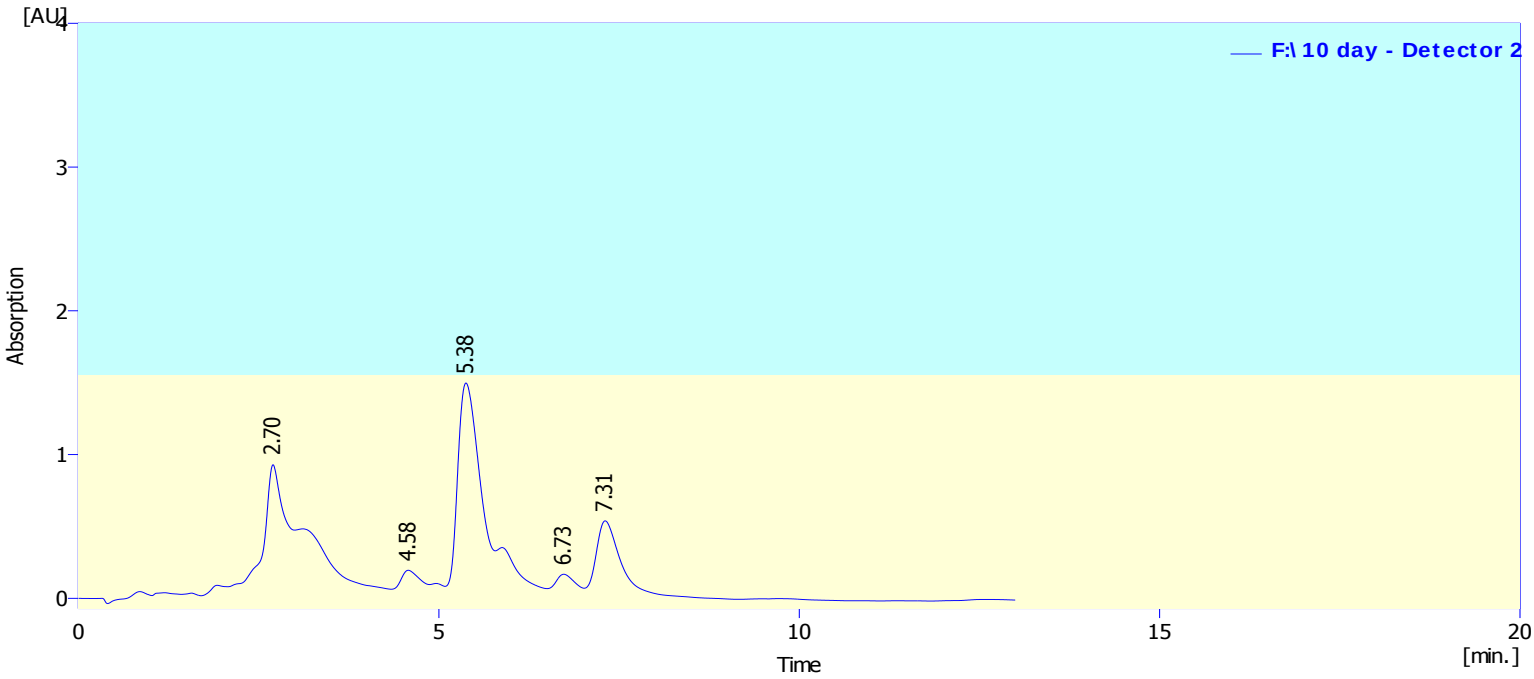
Sample Info:

Sample ID	: 10 day	Amount	: 0
Sample	: 10 day	ISTD Amount	: 0
Inj. Volume [mL]	: 0.1	Dilution	: 1

Method	: afl(M1)	By	: Administrator
Description	:		
Created	: 26/11/2014 09:30 م	Modified	: 03/06/2018 10:43 ص
Column	: C18	Detection	:
Mobile Phase	:	Temperature	: 30
Flow Rate	:	Pressure	:
Note	:		

Autostop	: 13.00 min	External Start	: Start - Restart, Down
Detector 2	: Detector 2	Range 2	: Bipolar, 2000 mAU, 10 Samp. per Sec.
Subtraction Chromatogram	: (None)	Matching	: No Change

Base	: Not Used	Calibration File	: None	Calculation	: Uncal
Scale Factor	: Not Used	Units After Scaling	: Not Used	Uncal. Response	: 0
Unretained Time	: 0.00 min	Column Length	: 50.00 mm	Column Calc.	: From Width at 50% of Height
Result Table Reports	: All Peaks	Hide ISTD Peak	: Enabled		



Result Table (Uncal - F:\10 day - Detector 2)

	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W05 [min]	Compound Name
1	2.700	1896.308	254.465	27.0	31.0	0.11	
2	4.577	573.288	59.391	8.2	7.2	0.16	
3	5.377	2181.937	272.944	31.1	33.3	0.13	
4	6.730	514.355	51.627	7.3	6.3	0.17	
5	7.307	1850.730	182.030	26.4	22.2	0.17	
	Total	7016.618	820.458	100.0	100.0		

Clarity - Chromatography SW

DataApex

www.dataapex.com

Chromatogram Info:

File Name	: F:\14 day.PRM	File Created	: 20/09/2018 11:24:01 ص
Origin	: Acquired, Acquisition started 11/03/2013 12:18:33 م	Acquired Date	: 11/03/2013 12:38:33 م
Project	: C:\Clarity\Projects\Work1.PRJ	By	: Administrator

Printed Version Info:

Printed Version	: Modified	Printed Date	: 20/09/2018 11:43:28 ص
Report Style	: C:\Clarity\Common\Chromatogram.sty	By	: Administrator
Calibration File	: None		

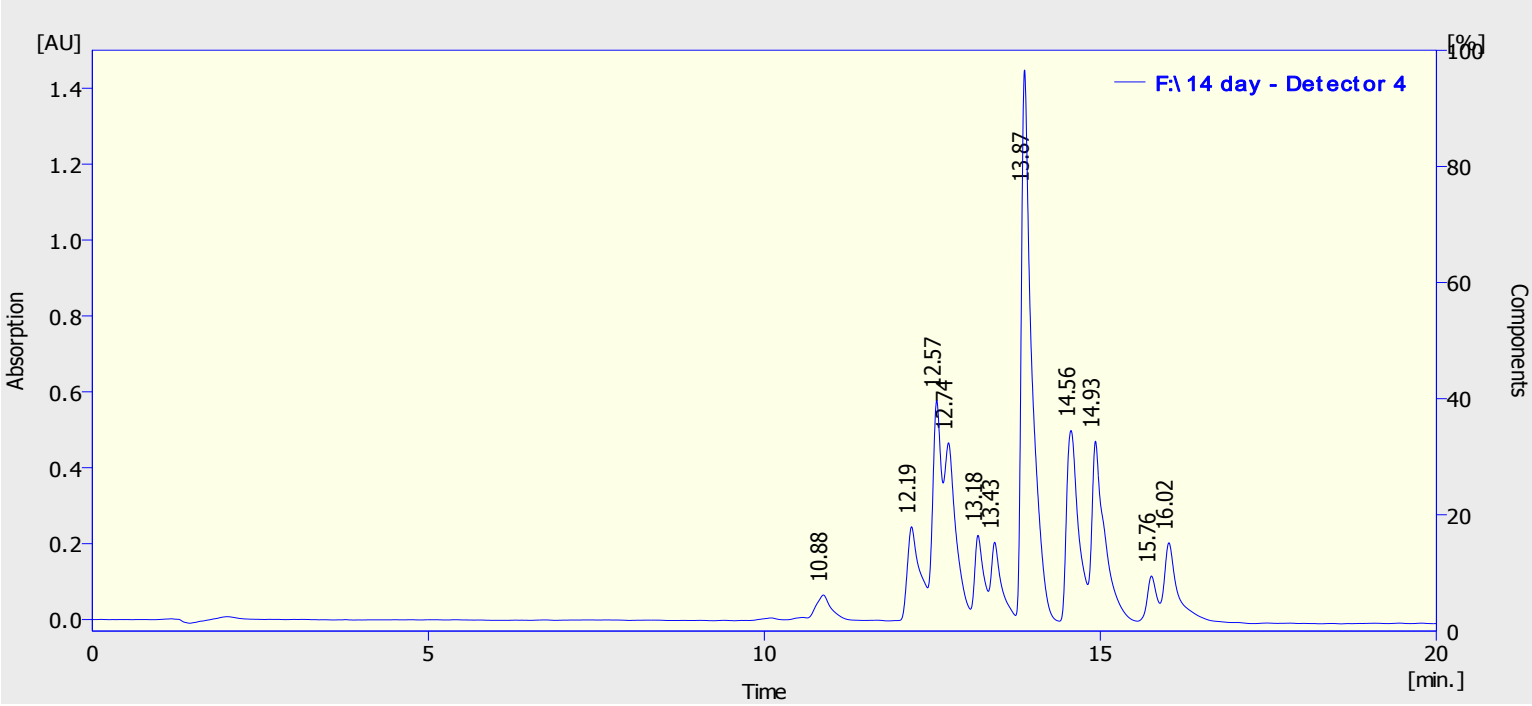
Sample Info:

Sample ID	: 14 day	Amount	: 0
Sample	: 14 day	ISTD Amount	: 0
Inj. Volume [mL]	: 0.1	Dilution	: 1

Method	: pah n	By	: Administrator
Description	: 14 day		
Created	: 05/03/2013 10:14 ص	Modified	: 20/09/2018 11:42 ص
Column	: C18	Detection	: PAHs
Mobile Phase	: CH3CN : H2O	Temperature	: 30C
Flow Rate	: 1.2ml/min	Pressure	:
Note	:		

Autostop	: 20.00 min	External Start	: Start - Restart, Down
Detector 4	: Detector 4	Range 4	: Bipolar, 2000 mAU, 10 Samp. per Sec.
Subtraction Chromatogram	: (None)	Matching	: No Change

Base	: Not Used	Calibration File	: None	Calculation	: Uncal
Scale Factor	: Not Used	Units After Scaling	: Not Used	Uncal. Response	: 0
Unretained Time	: 0.00 min	Column Length	: 250.00 mm	Column Calc.	: From Width at 50% of Height
Result Table Reports	: All Peaks	Hide ISTD Peak	: Enabled		



Result Table (Uncal - F:\14 day - Detector 4)

	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W05 [min]	Compound Name
1	0.123	3.980	0.633	0.0	0.0	0.09	
2	10.877	1002.477	64.050	8.0	3.3	0.23	
3	12.190	595.940	105.725	4.7	5.4	0.09	
4	12.567	1195.453	237.087	9.5	12.1	0.09	
5	12.740	1983.603	228.144	15.8	11.6	0.16	
6	13.180	745.240	126.252	5.9	6.4	0.09	
7	13.427	952.994	134.515	7.6	6.9	0.11	
8	13.873	1632.609	421.593	13.0	21.5	0.06	
9	14.563	1650.245	226.398	13.1	11.5	0.11	
10	14.927	969.456	178.701	7.7	9.1	0.08	
11	15.760	629.475	88.396	5.0	4.5	0.12	
12	16.020	1218.673	151.429	9.7	7.7	0.13	
	Total	12580.146	1962.924	100.0	100.0		

Clarity - Chromatography SW

DataApex

www.dataapex.com

Chromatogram Info:

File Name	: F:\14 day.PRM	File Created	: 17/04/2018 10:26:25 ص
Origin	: Acquired, Acquisition started 04/12/2014 09:32:37 ص	Acquired Date	: 04/12/2014 09:45:37 ص
Project	: C:\Clarity\Projects\Work1.PRJ	By	: Administrator

Printed Version Info:

Printed Version	: Modified	Printed Date	: 03/06/2018 10:48:02 ص
Report Style	: C:\Clarity\Common\Chromatogram.sty	By	: Administrator
Calibration File	: None		

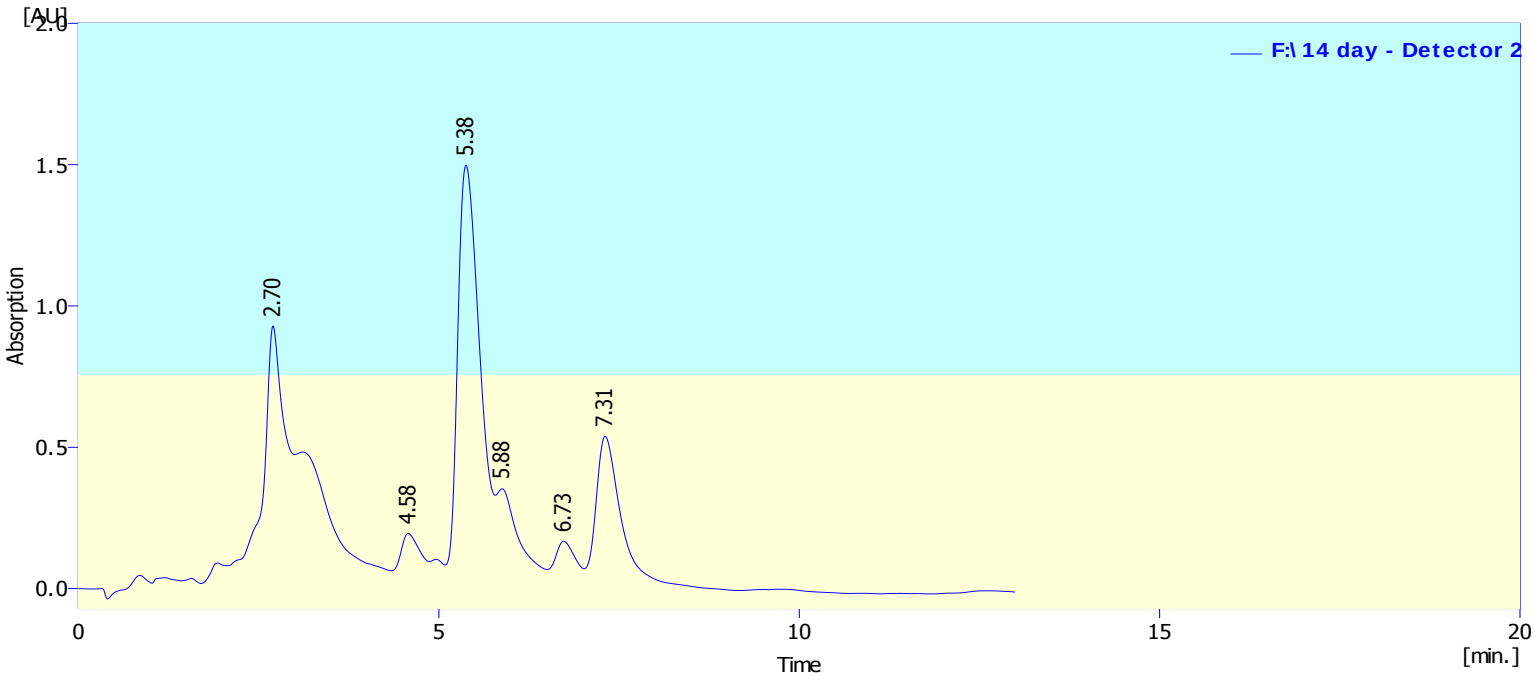
Sample Info:

Sample ID	: 14 day	Amount	: 0
Sample	: 14 day	ISTD Amount	: 0
Inj. Volume [mL]	: 0.1	Dilution	: 1

Method	: afl(M1)	By	: Administrator
Description	:		
Created	: 26/11/2014 09:30 م	Modified	: 03/06/2018 10:47 ص
Column	: C18	Detection	:
Mobile Phase	:	Temperature	: 30
Flow Rate	:	Pressure	:
Note	:		

Autostop	: 13.00 min	External Start	: Start - Restart, Down
Detector 2	: Detector 2	Range 2	: Bipolar, 2000 mAU, 10 Samp. per Sec.
Subtraction Chromatogram	: (None)	Matching	: No Change

Base	: Not Used	Calibration File	: None	Calculation	: Uncal
Scale Factor	: Not Used	Units After Scaling	: Not Used	Uncal. Response	: 0
Unretained Time	: 0.00 min	Column Length	: 50.00 mm	Column Calc.	: From Width at 50% of Height
Result Table Reports	: All Peaks	Hide ISTD Peak	: Enabled		



Result Table (Uncal - F:\14 day - Detector 2)

	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W05 [min]	Compound Name
1	2.700	6950.915	583.445	26.3	28.8	0.20	
2	4.577	1232.604	100.004	4.7	4.9	0.23	
3	5.377	14535.549	1014.980	54.9	50.1	0.27	
4	5.877	632.045	61.676	2.4	3.0	0.17	
5	6.730	1286.302	93.163	4.9	4.6	0.24	
6	7.307	1819.871	174.273	6.9	8.6	0.16	
	Total	26457.286	2027.542	100.0	100.0		

Clarity - Chromatography SW

DataApex

www.dataapex.com

Chromatogram Info:

File Name	: F:\21 day.PRM	File Created	: 20/09/2018 11:24:01 ص
Origin	: Acquired, Acquisition started 11/03/2013 12:18:33 م	Acquired Date	: 11/03/2013 12:38:33 م
Project	: C:\Clarity\Projects\Work1.PRJ	By	: Administrator

Printed Version Info:

Printed Version	: Modified	Printed Date	: 20/09/2018 11:47:35 ص
Report Style	: C:\Clarity\Common\Chromatogram.sty	By	: Administrator
Calibration File	: None		

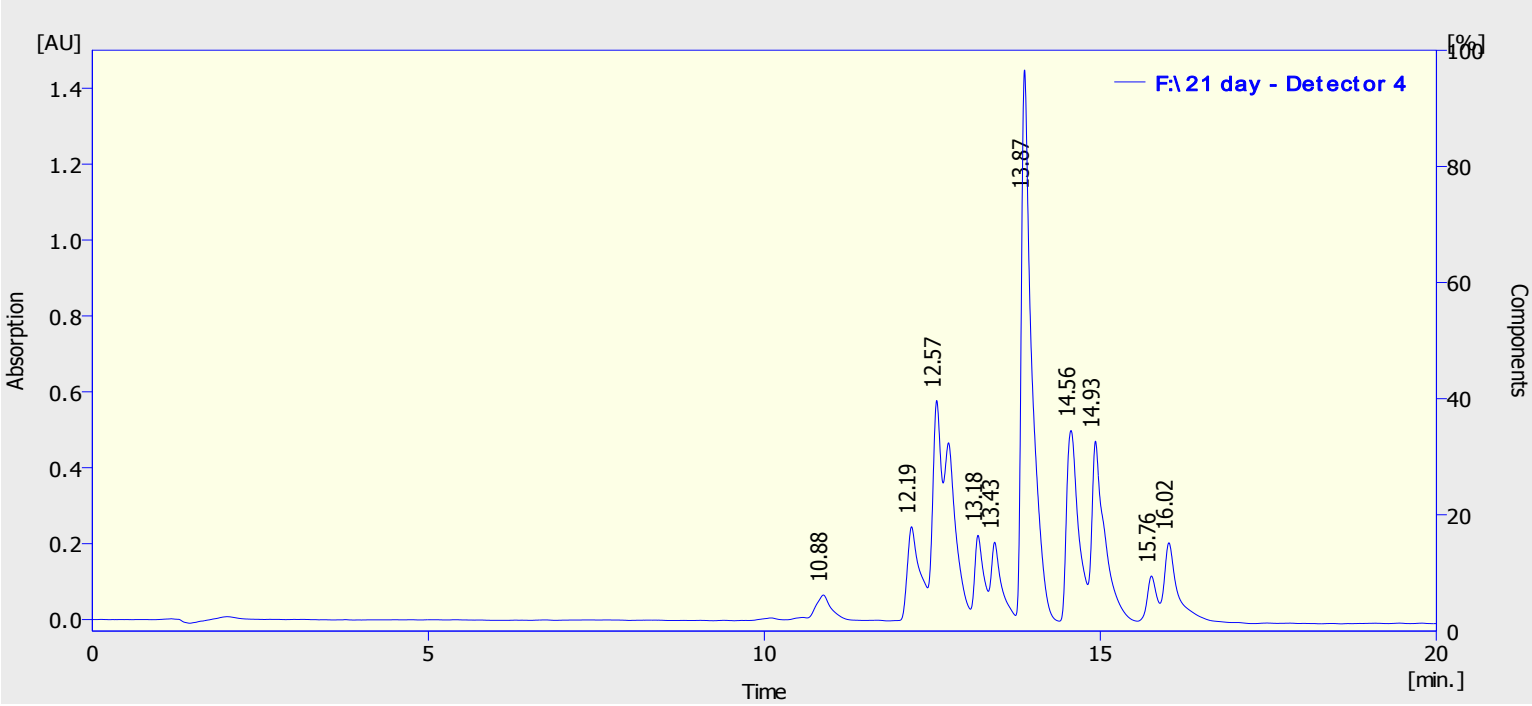
Sample Info:

Sample ID	: 21 day	Amount	: 0
Sample	: 21 day	ISTD Amount	: 0
Inj. Volume [mL]	: 0.1	Dilution	: 1

Method	: pah n	By	: Administrator
Description	: 21 day		
Created	: 05/03/2013 10:14 ص	Modified	: 20/09/2018 11:47 ص
Column	: C18	Detection	: PAHs
Mobile Phase	: CH3CN : H2O	Temperature	: 30C
Flow Rate	: 1.2ml/min	Pressure	:
Note	:		

Autostop	: 20.00 min	External Start	: Start - Restart, Down
Detector 4	: Detector 4	Range 4	: Bipolar, 2000 mAU, 10 Samp. per Sec.
Subtraction Chromatogram	: (None)	Matching	: No Change

Base	: Not Used	Calibration File	: None	Calculation	: Uncal
Scale Factor	: Not Used	Units After Scaling	: Not Used	Uncal. Response	: 0
Unretained Time	: 0.00 min	Column Length	: 250.00 mm	Column Calc.	: From Width at 50% of Height
Result Table Reports	: All Peaks	Hide ISTD Peak	: Enabled		



Result Table (Uncal - F:\21 day - Detector 4)

	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W05 [min]	Compound Name
1	0.123	3.980	0.633	0.0	0.0	0.09	
2	10.877	1112.482	65.970	8.5	3.2	0.24	
3	12.190	812.514	130.861	6.2	6.4	0.11	
4	12.567	1426.101	269.225	10.9	13.1	0.10	
5	13.180	1148.105	162.241	8.8	7.9	0.11	
6	13.427	1154.148	152.474	8.8	7.4	0.12	
7	13.873	3347.584	691.780	25.7	33.8	0.08	
8	14.563	1488.744	223.168	11.4	10.9	0.11	
9	14.927	509.828	97.568	3.9	4.8	0.05	
10	15.760	745.008	95.980	5.7	4.7	0.13	
11	16.020	1298.400	157.655	10.0	7.7	0.14	
	Total	13046.894	2047.553	100.0	100.0		

Clarity - Chromatography SW

DataApex

www.dataapex.com

Chromatogram Info:

File Name	: F:\21 day.PRM	File Created	: 03/06/2018 10:44:33 ص
Origin	: Acquired, Acquisition started 04/12/2014 09:32:37 ص	Acquired Date	: 04/12/2014 09:45:37 ص
Project	: C:\Clarity\Projects\Work1.PRJ	By	: Administrator

Printed Version Info:

Printed Version	: Modified	Printed Date	: 03/06/2018 10:51:02 ص
Report Style	: C:\Clarity\Common\Chromatogram.sty	By	: Administrator
Calibration File	: None		

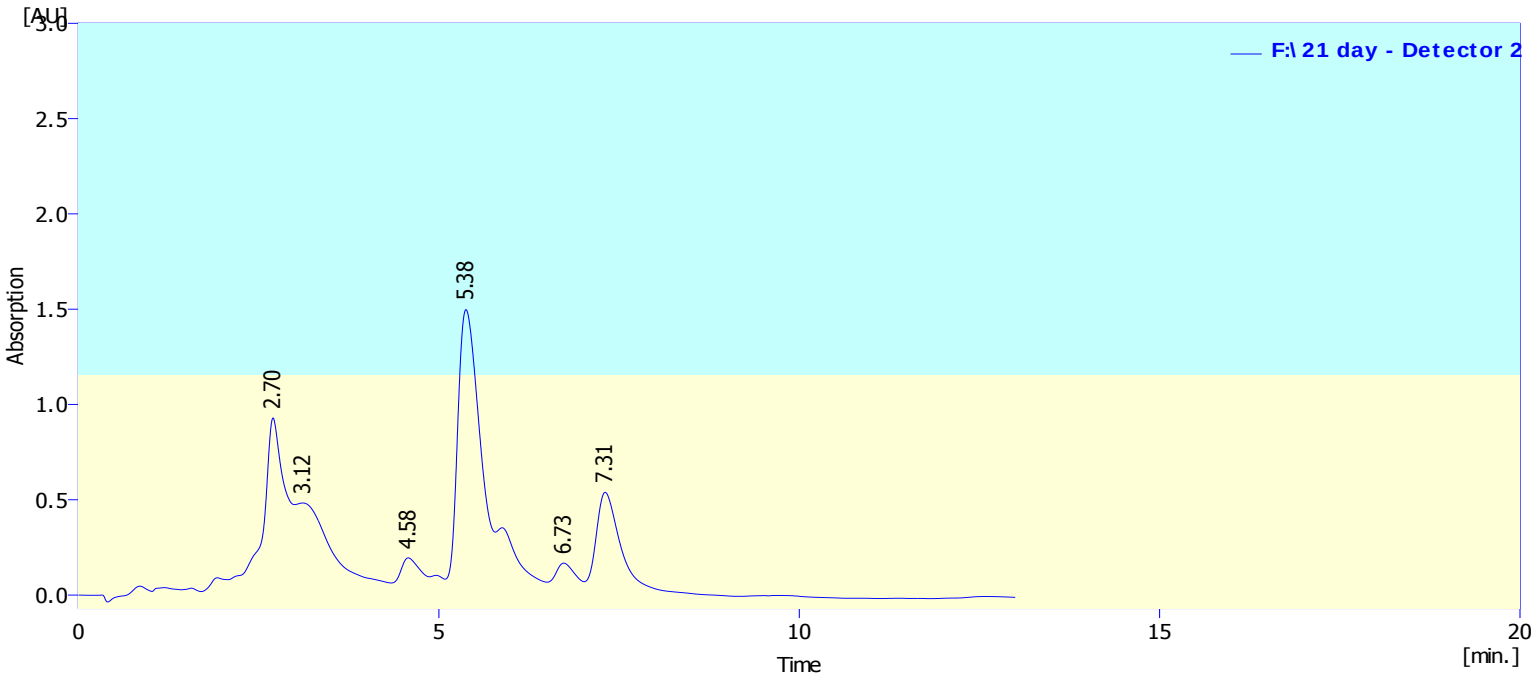
Sample Info:

Sample ID	: 21 day	Amount	: 0
Sample	: 21 day	ISTD Amount	: 0
Inj. Volume [mL]	: 0.1	Dilution	: 1

Method	: afl(M1)	By	: Administrator
Description	:		
Created	: 26/11/2014 09:30 م	Modified	: 03/06/2018 10:49 ص
Column	: C18	Detection	:
Mobile Phase	:	Temperature	: 30
Flow Rate	:	Pressure	:
Note	:		

Autostop	: 13.00 min	External Start	: Start - Restart, Down
Detector 2	: Detector 2	Range 2	: Bipolar, 2000 mAU, 10 Samp. per Sec.
Subtraction Chromatogram	: (None)	Matching	: No Change

Base	: Not Used	Calibration File	: None	Calculation	: Uncal
Scale Factor	: Not Used	Units After Scaling	: Not Used	Uncal. Response	: 0
Unretained Time	: 0.00 min	Column Length	: 50.00 mm	Column Calc.	: From Width at 50% of Height
Result Table Reports	: All Peaks	Hide ISTD Peak	: Enabled		



Result Table (Uncal - F:\21 day - Detector 2)

	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W05 [min]	Compound Name
1	2.700	3840.101	440.559	29.2	33.0	0.16	
2	3.117	685.520	43.229	5.2	3.2	0.23	
3	4.577	474.461	48.720	3.6	3.6	0.14	
4	5.377	5106.860	526.333	38.9	39.4	0.18	
5	6.730	558.819	56.712	4.3	4.2	0.18	
6	7.307	2463.759	221.152	18.8	16.5	0.19	
	Total	13129.519	1336.704	100.0	100.0		

Clarity - Chromatography SW

DataApex

www.dataapex.com

Chromatogram Info:

File Name	: F:\28 day.PRM	File Created	: 20/09/2018 11:24:01 ص
Origin	: Acquired, Acquisition started 11/03/2013 12:18:33 م	Acquired Date	: 11/03/2013 12:38:33 م
Project	: C:\Clarity\Projects\Work1.PRJ	By	: Administrator

Printed Version Info:

Printed Version	: Modified	Printed Date	: 20/09/2018 11:45:40 ص
Report Style	: C:\Clarity\Common\Chromatogram.sty	By	: Administrator
Calibration File	: None		

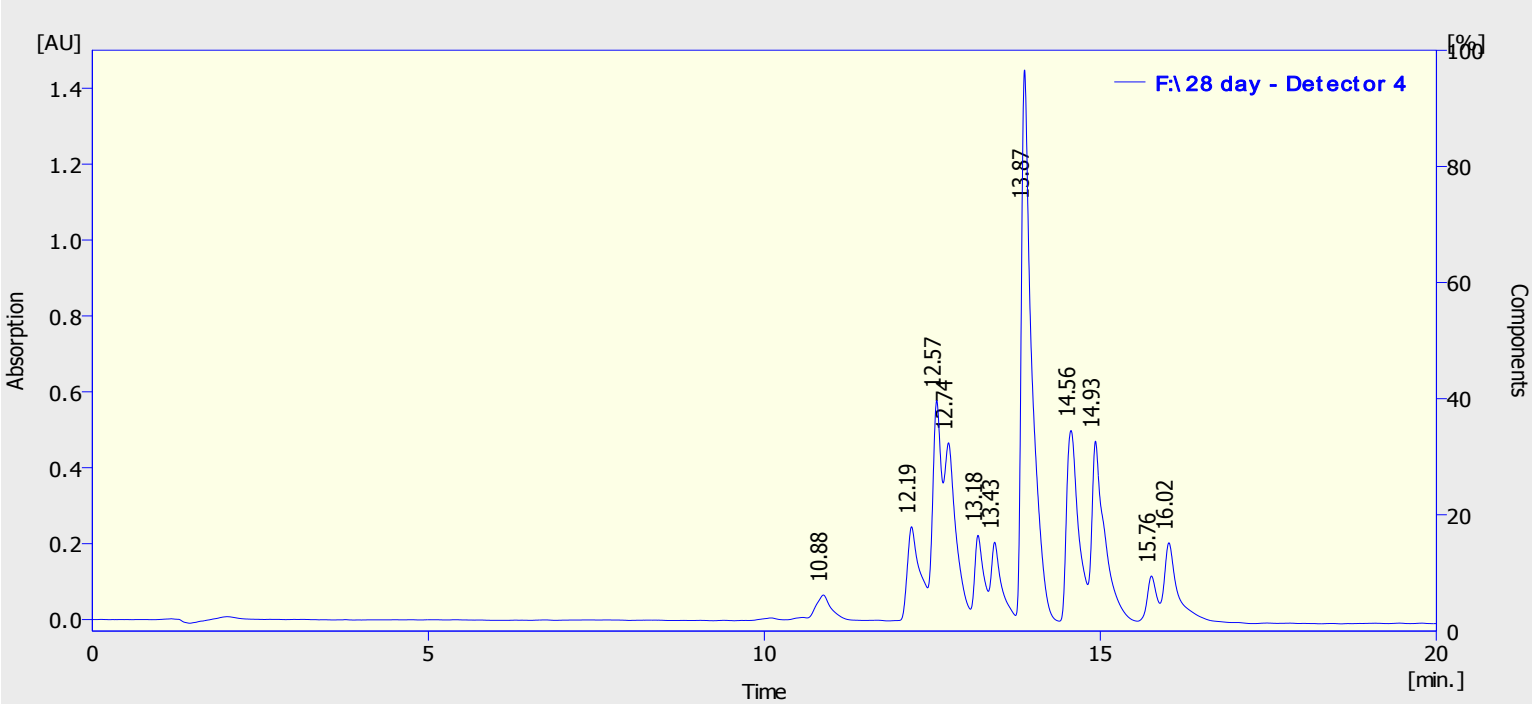
Sample Info:

Sample ID	: 28 day	Amount	: 0
Sample	: 28 day	ISTD Amount	: 0
Inj. Volume [mL]	: 0.1	Dilution	: 1

Method	: pah n	By	: Administrator
Description	:		
Created	: 05/03/2013 10:14 ص	Modified	: 10/09/2017 10:54 م
Column	: C18	Detection	: PAHs
Mobile Phase	: CH3CN : H2O	Temperature	: 30C
Flow Rate	: 1.2ml/min	Pressure	:
Note	:		

Autostop	: 20.00 min	External Start	: Start - Restart, Down
Detector 4	: Detector 4	Range 4	: Bipolar, 2000 mAU, 10 Samp. per Sec.
Subtraction Chromatogram	: (None)	Matching	: No Change

Base	: Not Used	Calibration File	: None	Calculation	: Uncal
Scale Factor	: Not Used	Units After Scaling	: Not Used	Uncal. Response	: 0
Unretained Time	: 0.00 min	Column Length	: 250.00 mm	Column Calc.	: From Width at 50% of Height
Result Table Reports	: All Peaks	Hide ISTD Peak	: Enabled		



Result Table (Uncal - F:\28 day - Detector 4)

	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W05 [min]	Compound Name
1	0.123	3.980	0.633	0.0	0.0	0.09	
2	10.877	1159.854	66.352	6.0	2.4	0.24	
3	12.190	1099.795	144.542	5.7	5.3	0.12	
4	12.567	2557.823	403.104	13.2	14.7	0.12	
5	12.740	3083.303	311.152	15.9	11.4	0.18	
6	13.180	677.921	122.617	3.5	4.5	0.09	
7	13.427	900.781	135.343	4.6	4.9	0.11	
8	13.873	4416.116	763.545	22.7	27.9	0.09	
9	14.563	2255.523	301.649	11.6	11.0	0.13	
10	14.927	1644.939	263.067	8.5	9.6	0.10	
11	15.760	424.889	71.325	2.2	2.6	0.11	
12	16.020	1218.673	151.429	6.3	5.5	0.13	
	Total	19443.596	2734.757	100.0	100.0		

Clarity - Chromatography SW

DataApex

www.dataapex.com

Chromatogram Info:

File Name	: F:\28 day.PRM	File Created	: 03/06/2018 10:44:35 ص
Origin	: Acquired, Acquisition started 04/12/2014 09:32:37 ص	Acquired Date	: 04/12/2014 09:45:37 ص
Project	: C:\Clarity\Projects\Work1.PRJ	By	: Administrator

Printed Version Info:

Printed Version	: Modified	Printed Date	: 03/06/2018 10:52:16 ص
Report Style	: C:\Clarity\Common\Chromatogram.sty	By	: Administrator
Calibration File	: None		

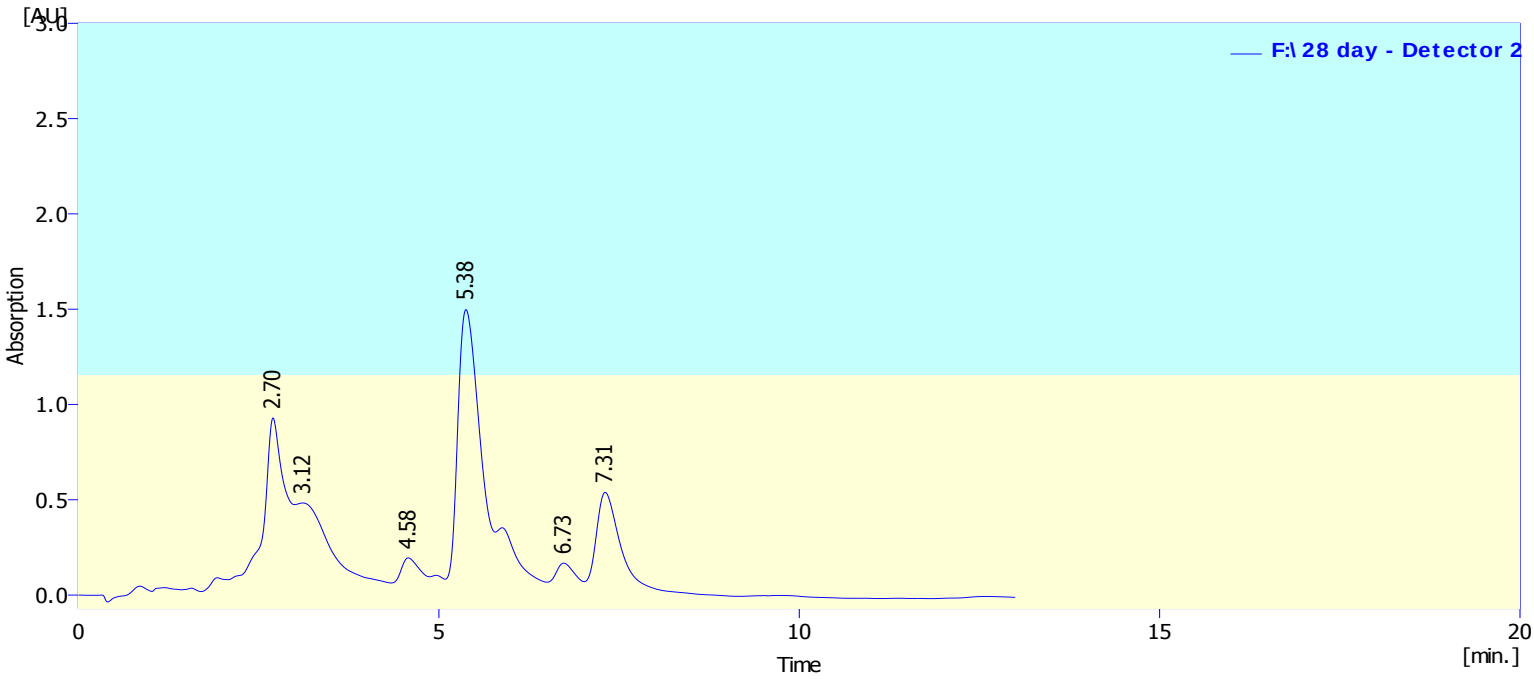
Sample Info:

Sample ID	: 28 day	Amount	: 0
Sample	: 28 day	ISTD Amount	: 0
Inj. Volume [mL]	: 0.1	Dilution	: 1

Method	: afl(M1)	By	: Administrator
Description	:		
Created	: 26/11/2014 09:30 م	Modified	: 03/06/2018 10:51 ص
Column	: C18	Detection	:
Mobile Phase	:	Temperature	: 30
Flow Rate	:	Pressure	:
Note	:		

Autostop	: 13.00 min	External Start	: Start - Restart, Down
Detector 2	: Detector 2	Range 2	: Bipolar, 2000 mAU, 10 Samp. per Sec.
Subtraction Chromatogram	: (None)	Matching	: No Change

Base	: Not Used	Calibration File	: None	Calculation	: Uncal
Scale Factor	: Not Used	Units After Scaling	: Not Used	Uncal. Response	: 0
Unretained Time	: 0.00 min	Column Length	: 50.00 mm	Column Calc.	: From Width at 50% of Height
Result Table Reports	: All Peaks	Hide ISTD Peak	: Enabled		



Result Table (Uncal - F:\28 day - Detector 2)

	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W05 [min]	Compound Name
1	2.700	3504.206	403.007	33.8	35.4	0.15	
2	3.117	364.177	26.192	3.5	2.3	0.16	
3	4.577	695.125	71.645	6.7	6.3	0.18	
4	5.377	3431.010	404.695	33.1	35.5	0.16	
5	6.730	514.355	51.627	5.0	4.5	0.17	
6	7.307	1850.730	182.030	17.9	16.0	0.17	
	Total	10359.603	1139.196	100.0	100.0		

Clarity - Chromatography SW

DataApex

www.dataapex.com

Chromatogram Info:

File Name	: F:\ST AMINO (10 PPM).PRM	File Created	: 26/09/2018 03:39:59 م
Origin	: Acquired, Acquisition started 11/03/2013 12:18:33 م	Acquired Date	: 11/03/2013 12:38:33 م
Project	: c:\Clarity\Projects\Work1.PRJ	By	: Administrator

Printed Version Info:

Printed Version	: Modified	Printed Date	: 26/09/2018 03:53:32 م
Report Style	: c:\Clarity\Common\Chromatogram.sty	By	: Administrator
Calibration File	: None		

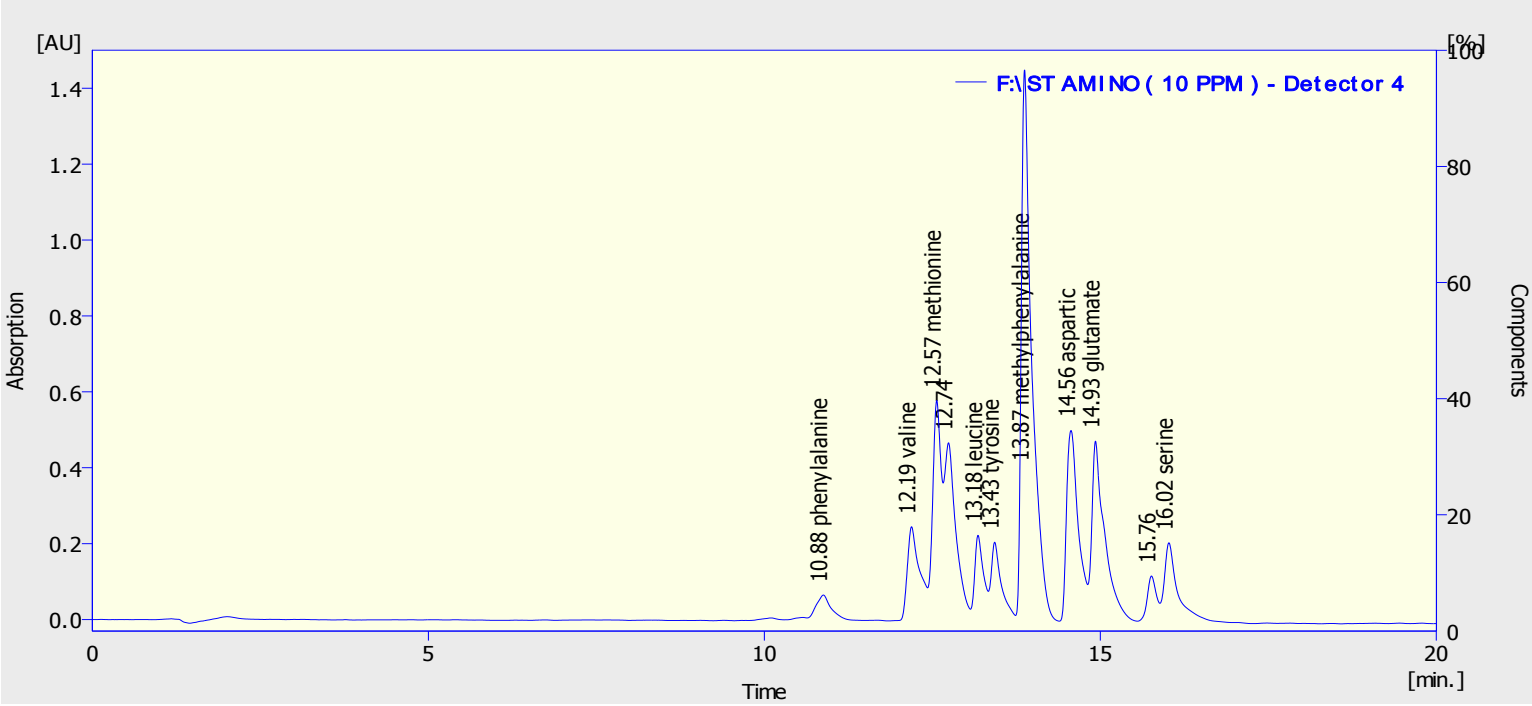
Sample Info:

Sample ID	: st amino (10 ppm)	Amount	: 0
Sample	: st amino (10 ppm)	ISTD Amount	: 0
Inj. Volume [mL]	: 0.1	Dilution	: 1

Method	: pah n	By	: Administrator
Description	: st amino (10 ppm)		
Created	: 05/03/2013 10:14 ص	Modified	: 26/09/2018 03:52 م
Column	: C18	Detection	:
Mobile Phase	: CH3CN : H2O	Temperature	: 30C
Flow Rate	: 1.2ml/min	Pressure	:
Note	:		

Autostop	: 20.00 min	External Start	: Start - Restart, Down
Detector 4	: Detector 4	Range 4	: Bipolar, 2000 mAU, 10 Samp. per Sec.
Subtraction Chromatogram	: (None)	Matching	: No Change

Base	: Not Used	Calibration File	: None	Calculation	: Uncal
Scale Factor	: Not Used	Units After Scaling	: Not Used	Uncal. Response	: 0
Unretained Time	: 0.00 min	Column Length	: 250.00 mm	Column Calc.	: From Width at 50% of Height
Result Table Reports	: All Peaks	Hide ISTD Peak	: Enabled		



Result Table (Uncal - F:\ST AMINO (10 PPM) - Detector 4)

	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W05 [min]	Compound Name
1	0.123	3.980	0.633	0.0	0.0	0.09	
2	10.877	941.527	62.810	2.4	1.7	0.23	phenylalanine
3	12.190	1966.276	206.853	5.0	5.5	0.17	valine
4	12.567	2104.762	336.867	5.4	8.9	0.11	methionine
5	12.740	1084.688	153.266	2.8	4.1	0.10	
6	13.180	939.655	154.315	2.4	4.1	0.11	leucine
7	13.427	1095.266	140.936	2.8	3.7	0.11	tyrosine
8	13.873	15583.692	1440.147	40.0	38.2	0.15	methylphenylalanine
9	14.563	5919.058	498.799	15.2	13.2	0.18	aspartic
10	14.927	6071.437	466.207	15.6	12.4	0.19	glutamate
11	15.760	915.387	112.643	2.3	3.0	0.15	
12	16.020	2344.331	195.672	6.0	5.2	0.16	serine
	Total	38970.058	3769.147	100.0	100.0		

Clarity - Chromatography SW

DataApex

www.dataapex.com

Chromatogram Info:

File Name	: F:\st paecitoxin (40 ppb).PRM	File Created	: 17/04/2018 10:26:25 ص
Origin	: Acquired, Acquisition started 19/02/2017 11:38:05 ص	Acquired Date	: 19/02/2017 11:44:40 ص
Project	: C:\Clarity\Projects\Work1.PRJ	By	: Administrator

Printed Version Info:

Printed Version	: Modified	Printed Date	: 03/06/2018 10:41:49 ص
Report Style	: C:\Clarity\Common\Chromatogram.sty	By	: Administrator
Calibration File	: None		

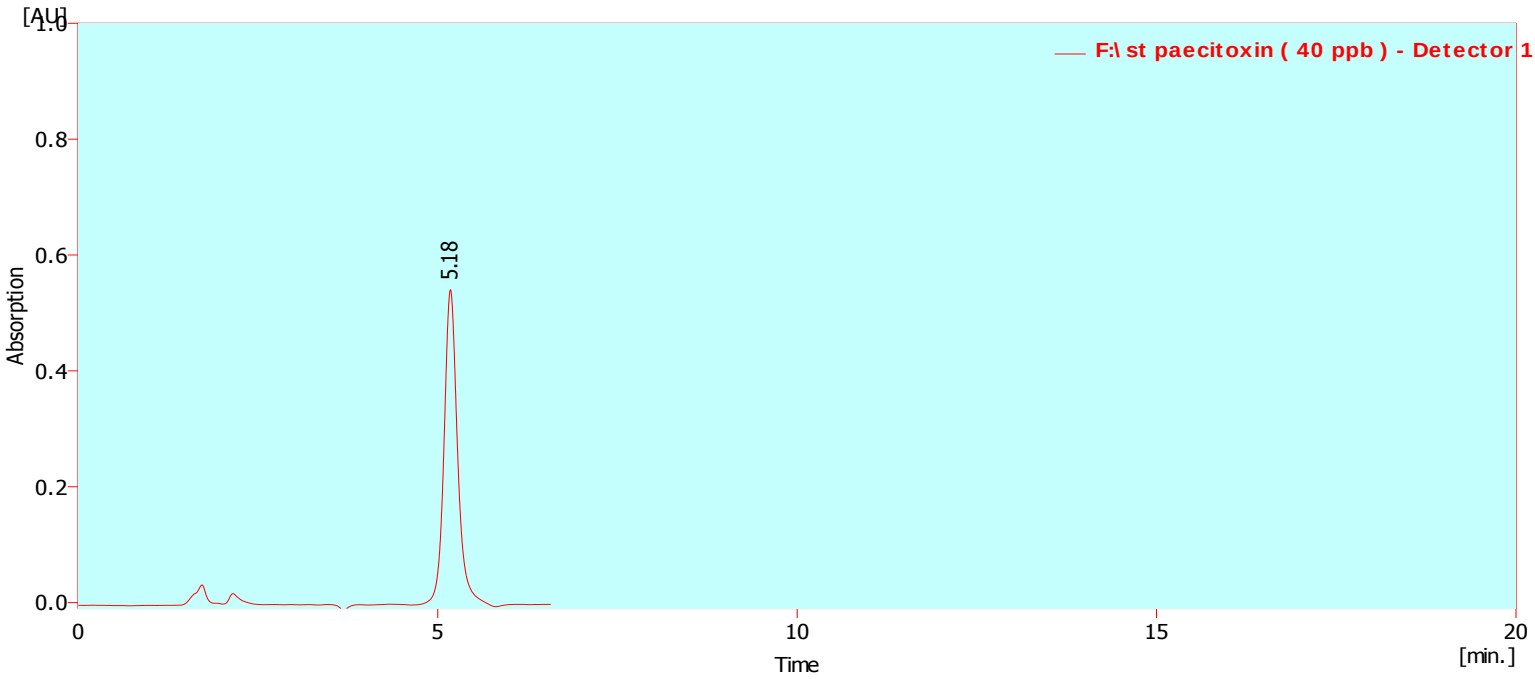
Sample Info:

Sample ID	: st	Amount	: 0
Sample	: st	ISTD Amount	: 0
Inj. Volume [mL]	: 0.02	Dilution	: 1

Method	: Default1	By	: DataApex Ltd.
Description	: 1		
Created	: 31/08/2006 05:43 م	Modified	: 17/04/2018 10:41 ص
Column	:	Detection	:
Mobile Phase	:)	Temperature	:
Flow Rate	:	Pressure	:
Note	:		

Autostop	: 16.00 min	External Start	: Start - Restart, Down
Detector 1	: Detector 1	Range 1	: Bipolar, 2000 mAU, 10 Samp. per Sec.
Subtraction Chromatogram	: (None)	Matching	: No Change

Base	: Not Used	Calibration File	: None	Calculation	: Uncal
Scale Factor	: Not Used	Units After Scaling	: Not Used	Uncal. Response	: 0
Unretained Time	: 0.00 min	Column Length	: 50.00 mm	Column Calc.	: From Width at 50% of Height
Result Table Reports	: All Peaks	Hide ISTD Peak	: Enabled		



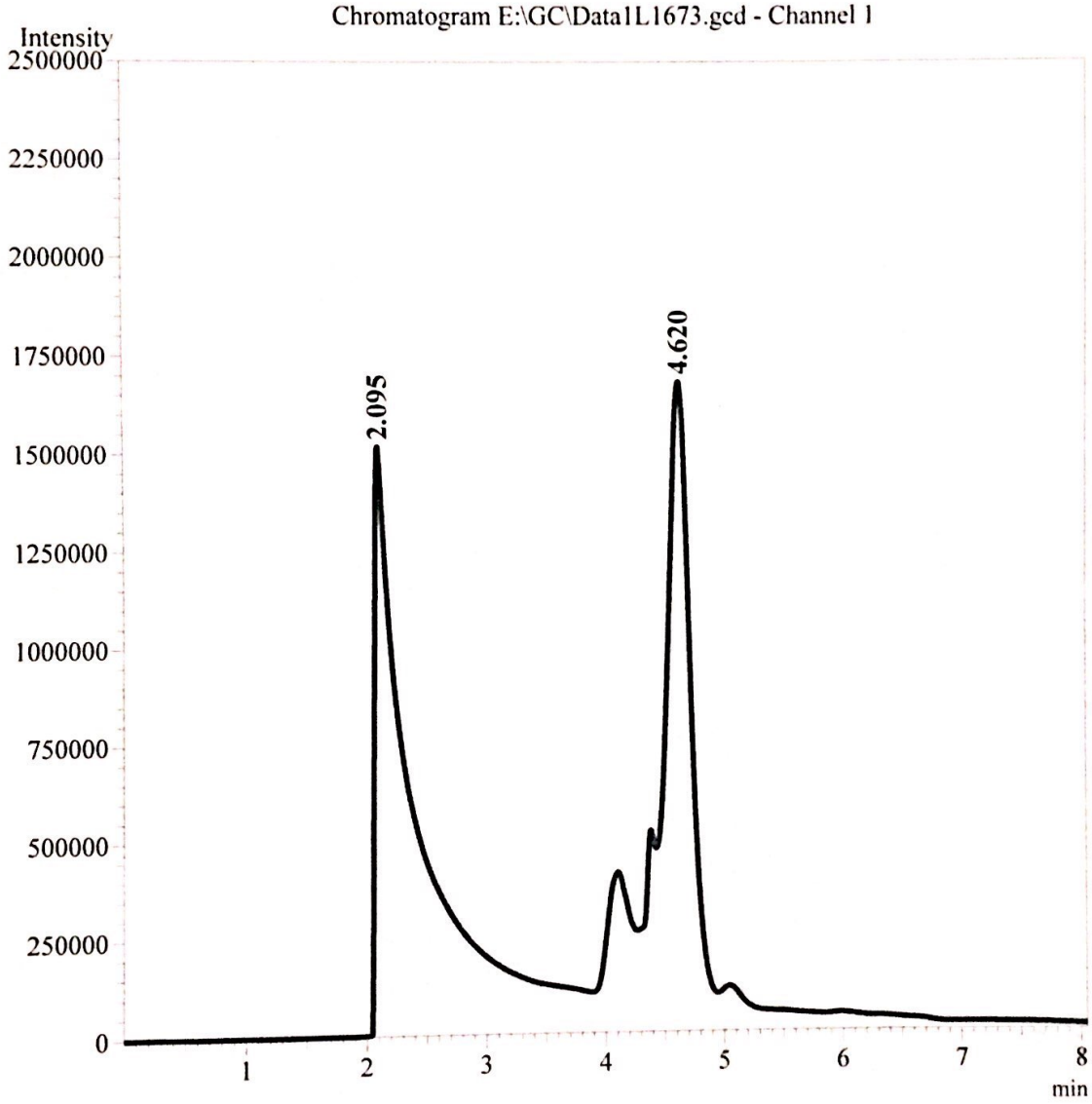
Result Table (Uncal - F:\st paecitoxin (40 ppb) - Detector 1)

	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W05 [min]	Compound Name
1	5.177	372.589	92.523	100.0	100.0	0.07	
	Total	372.589	92.523	100.0	100.0		

Sample Information

Sample Name = palmatic (7 %)
Injection Volumn = 1 uL
Tem Injector = 280 C
Tem Detecrot (FID) = 340 C
Column Oven (ZB - 1Ms) 100 - 270 C (10 C / min)
Presser = 100 KPa

Chromatogram E:\GC\Data1L1673.gcd - Channel 1



Peak Table - Channel 1

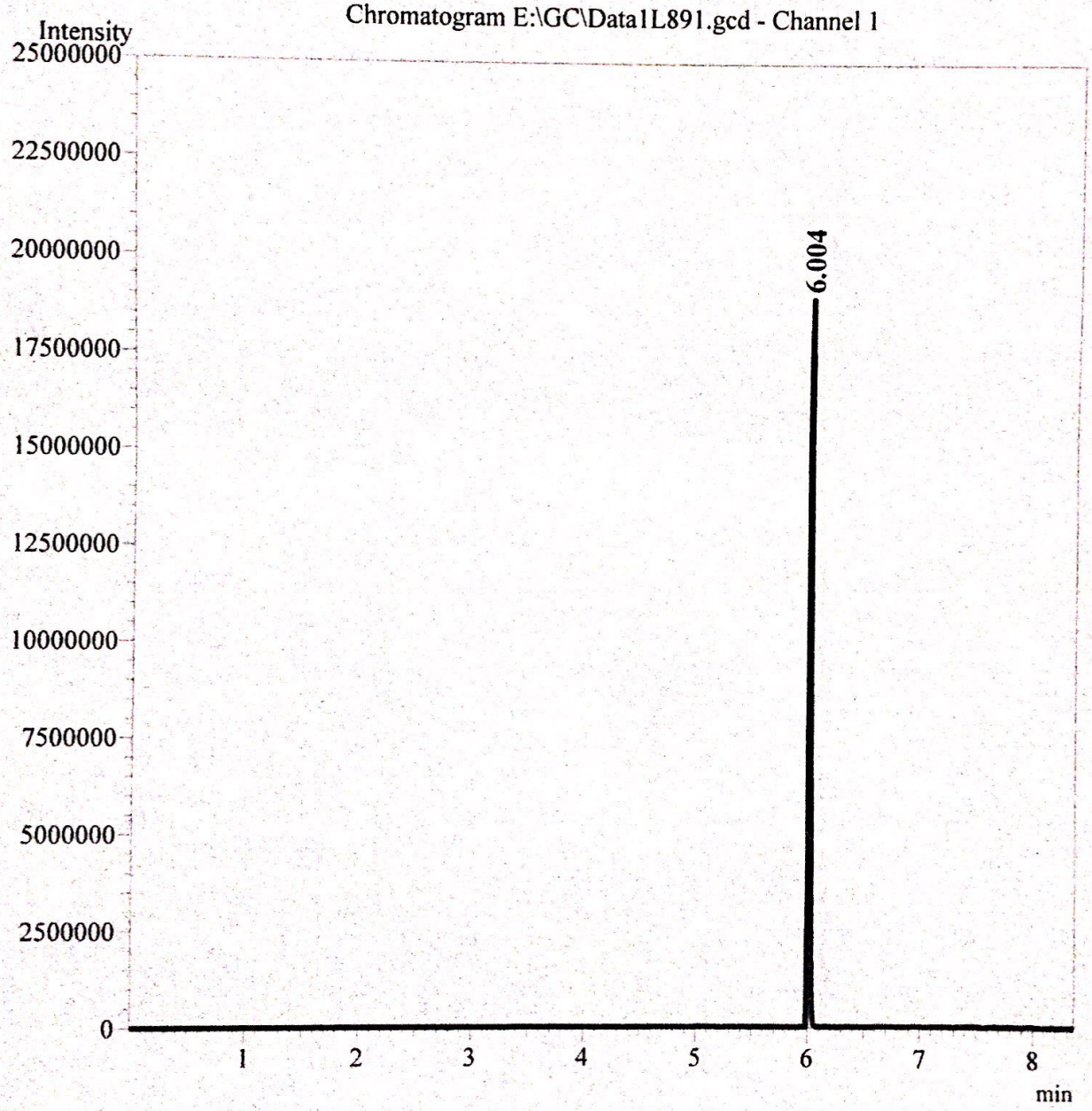
Peak#	Ret.Time	Area	Area%	Height	Name
1	2.095	33059656	64.8535	1510865	
2	4.620	17916270	35.1465	1413336	
Total		50975926	00.0000	2924201	

Scanned with CamScanner

Sample Information

Sample Name = stearic (10 %)
Injection Volumn = 1 uL
Tem Injector = 280 C
Tem Detecrot (FID) = 340 C
Column Oven (ZB - 1Ms) 100 - 270 C (10 C / min)
Presser = 100 KPa

Chromatogram E:\GC\Data1L891.gcd - Channel 1



Peak Table - Channel 1

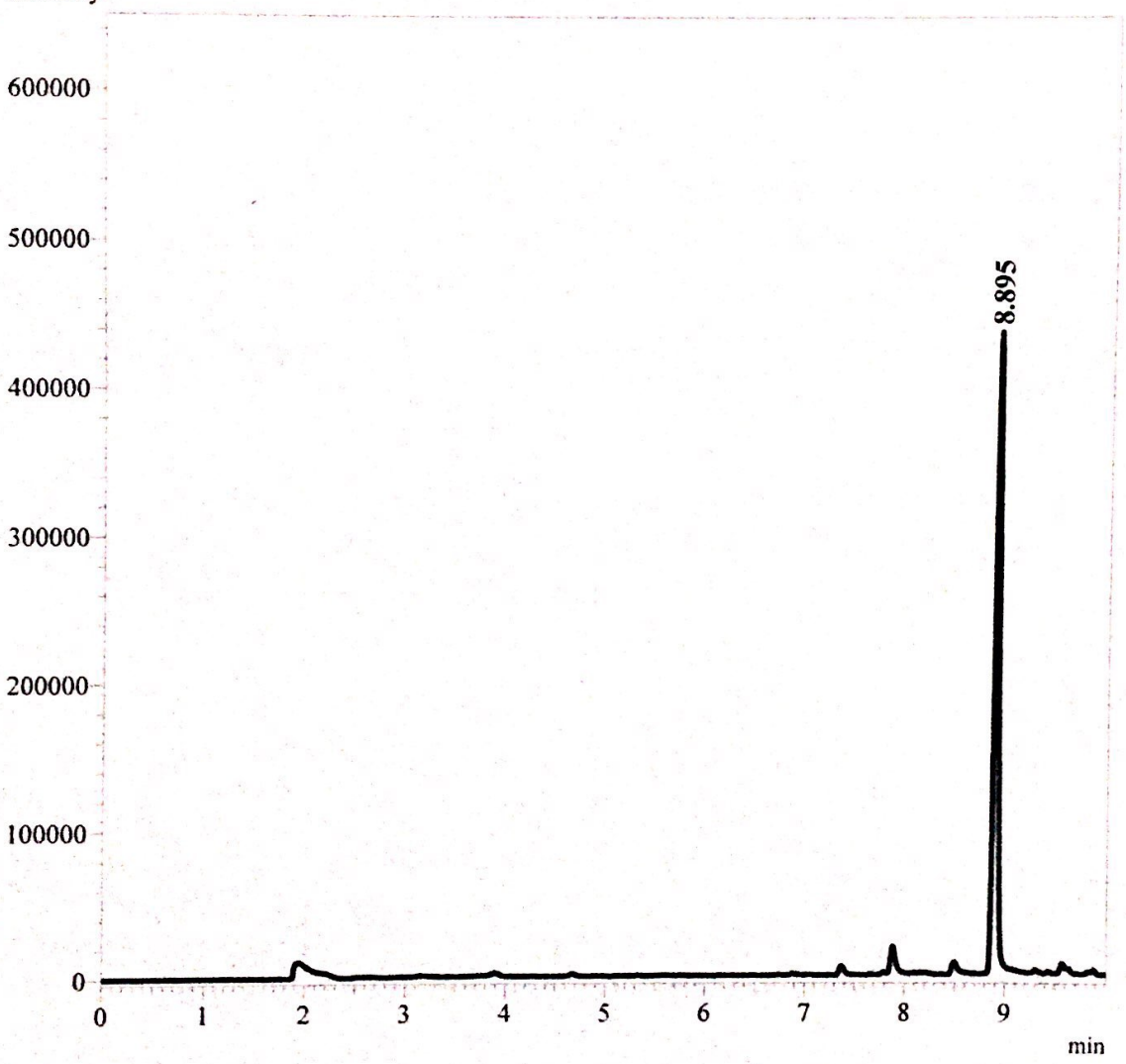
Peak#	Ret.Time	Area	Area%	Height	Name
1	6.004	11336113	00.0000	3114175	
Total		11336113	00.0000	3114175	

Scanned with CamScanner

Sample Information

Sample Name = lenolic (5 %)
Injection Volumn = 1 uL
Tem Injector = 280 C
Tem Detecrot (FID) = 340 C
Column Oven (ZB - 1Ms) 100 - 270 C (10 C / min)
Presser = 100 KPa

Chromatogram E:\GC\Data1L162.gcd - Channel 1



Peak Table - Channel 1

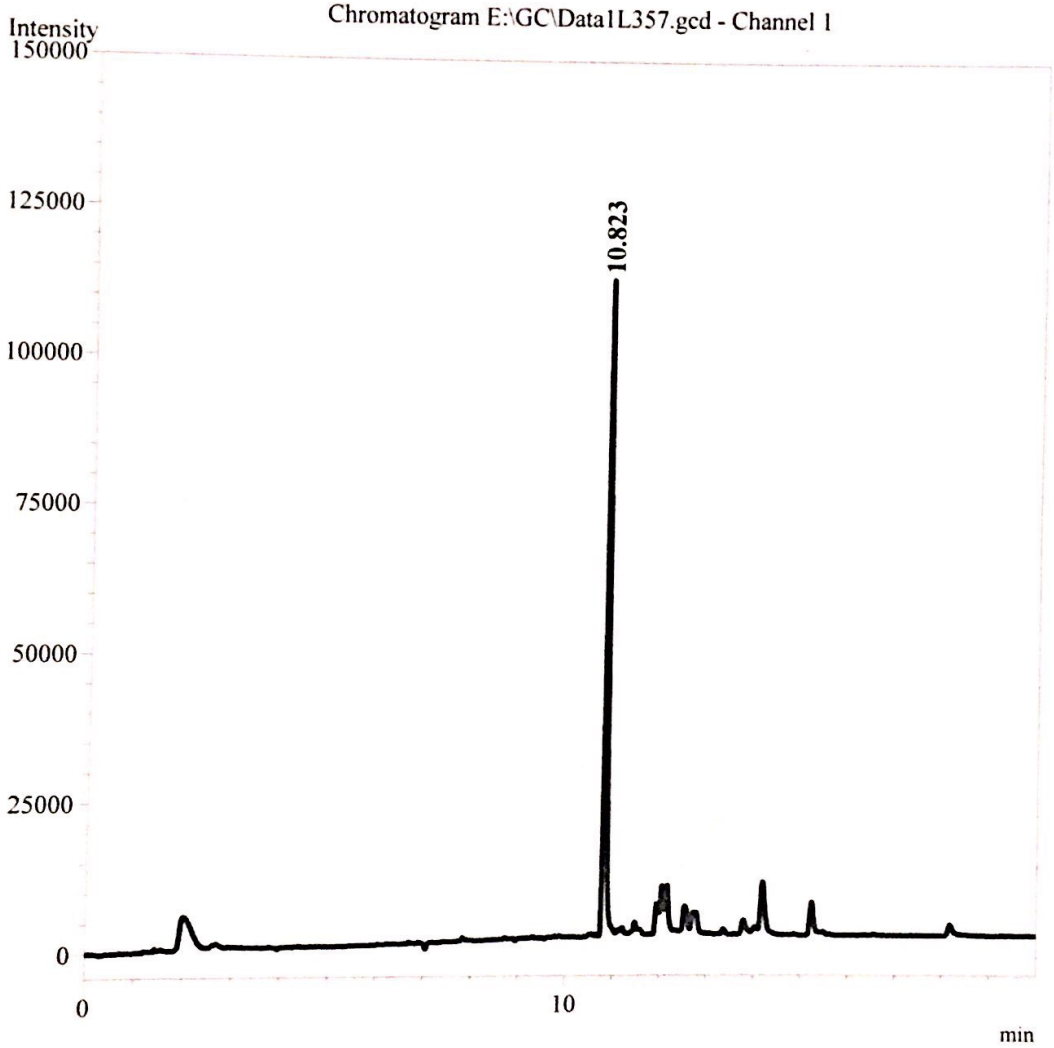
Peak#	Ret.Time	Area	Area%	Height	Name
1	8.895	74363	00.0000	66163	
Total		74363	00.0000	66163	

Scanned with CamScanner

Sample Information

Sample Name = oleic (15 %)
Injection Volumn = 1 uL
Tem Injector = 280 C
Tem Detecrot (FID) = 340 C
Column Oven (ZB - 1Ms) 100 - 270 C (10 C / min)
Presser = 100 KPa

Chromatogram E:\GC\Data1L357.gcd - Channel 1



Peak Table - Channel 1

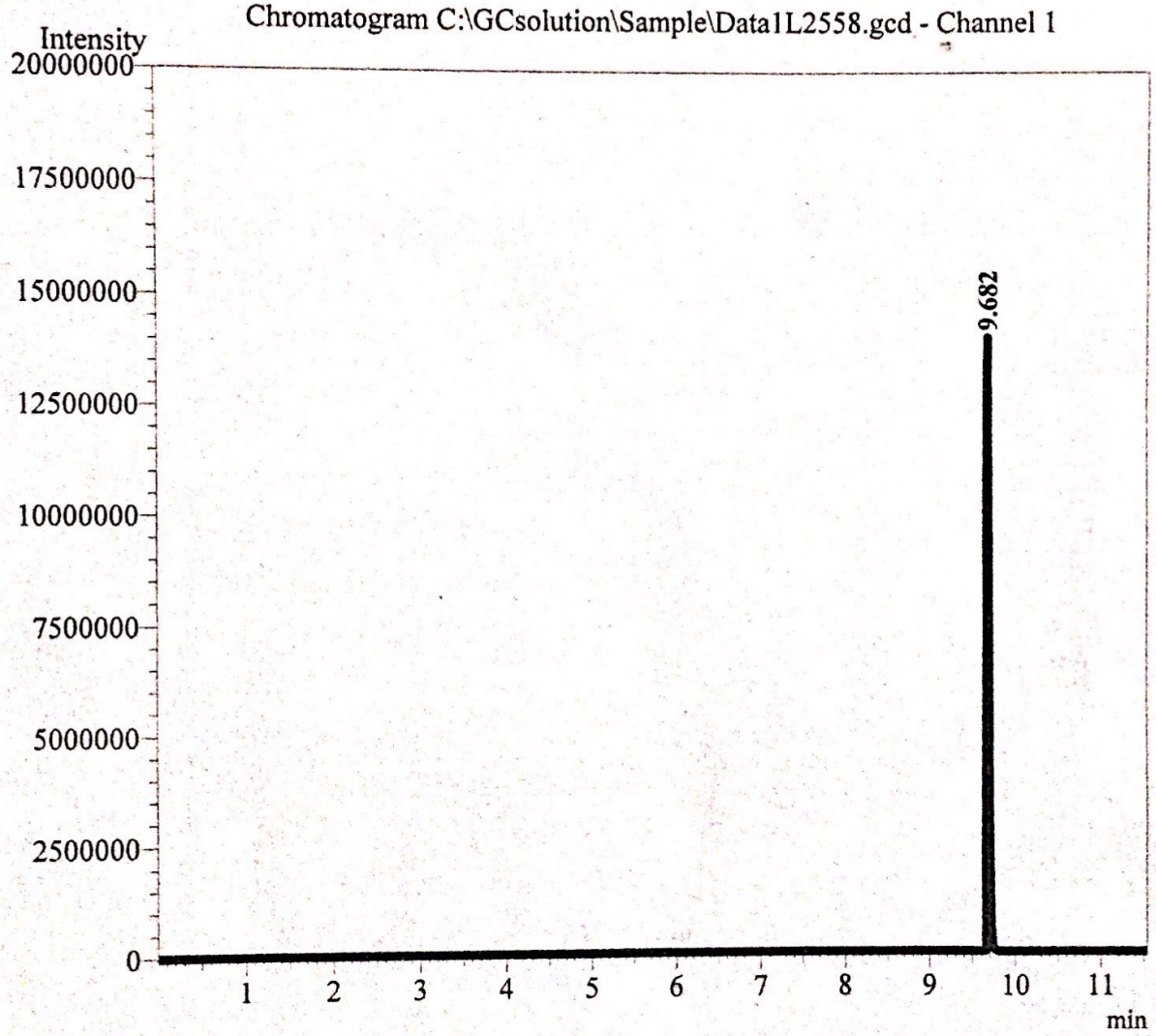
Peak#	Ret.Time	Area	Area%	Height	Name
1	10.823	33361	00.0000	22875	
Total		33361	00.0000	22875	

Scanned with CamScanner

Sample Information

User Name:
Sample Name = Limonene (25 ppm)
Injection Volume = 1 uL
Tem Injector = 280 C
Tem Detector (ECD) = 330 C
Column Oven (ZB- 1 m) = 100 - 270 c (10 c/ min)
Pressure = 100 kpa

Chromatogram C:\GCsolution\Sample\Data1L2558.gcd - Channel 1



Peak Table - Channel 1

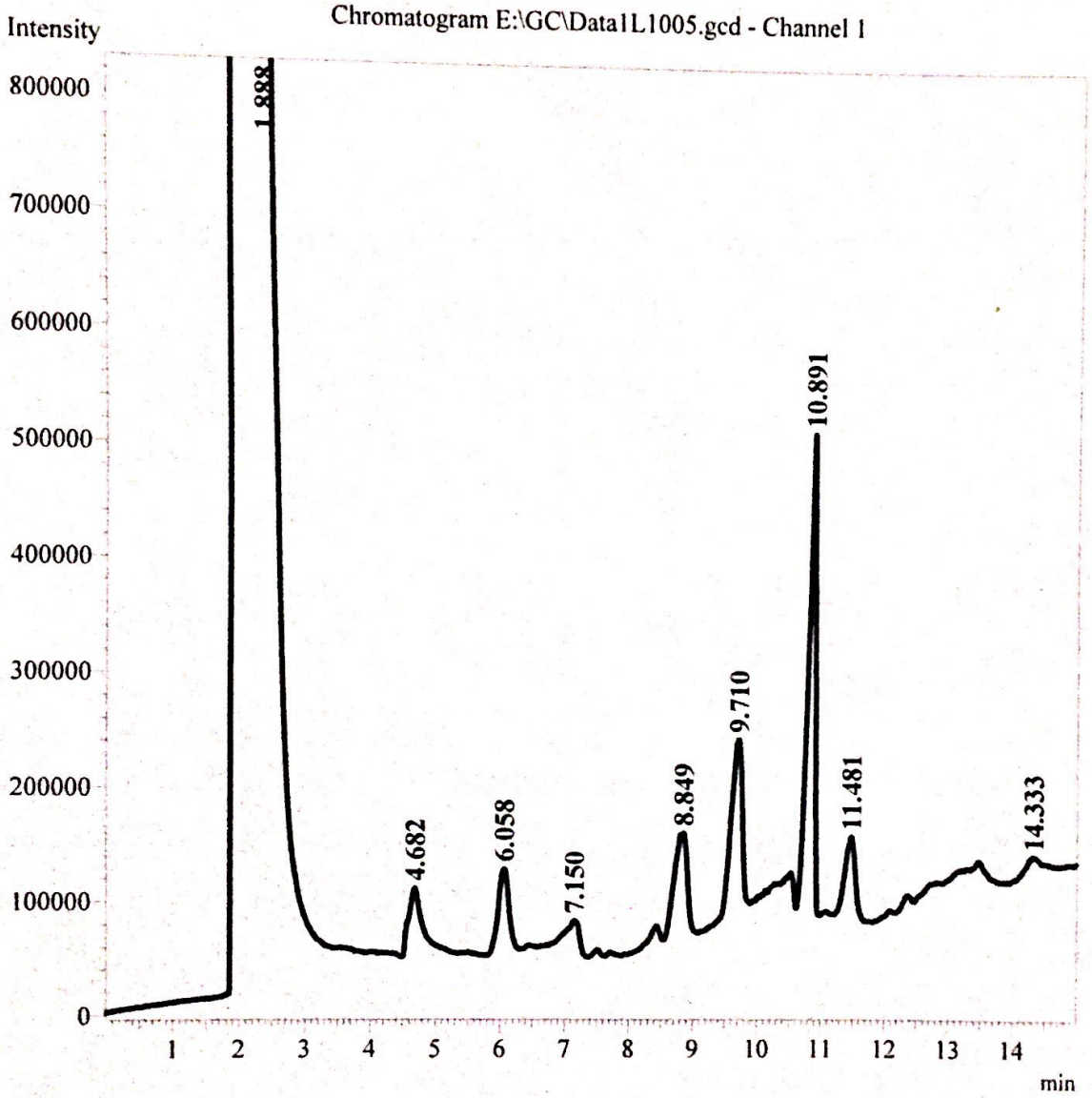
Peak#	Ret.Time	Area	Area%	Height	Name
1	9.682	1714302	100.0000	1943242	
Total		1714302	100.0000	1943242	

Scanned with CamScanner

Sample Information

Sample Name = 1
Injection Volumn = 1 uL
Tem Injector = 280 C
Tem Detecrot (FID) = 340 C
Column Oven (ZB - 1Ms) 100 - 270 C (10 C / min)
Presser = 100 KPa

Chromatogram E:\GC\Data1L1005.gcd - Channel 1



Peak Table - Channel 1

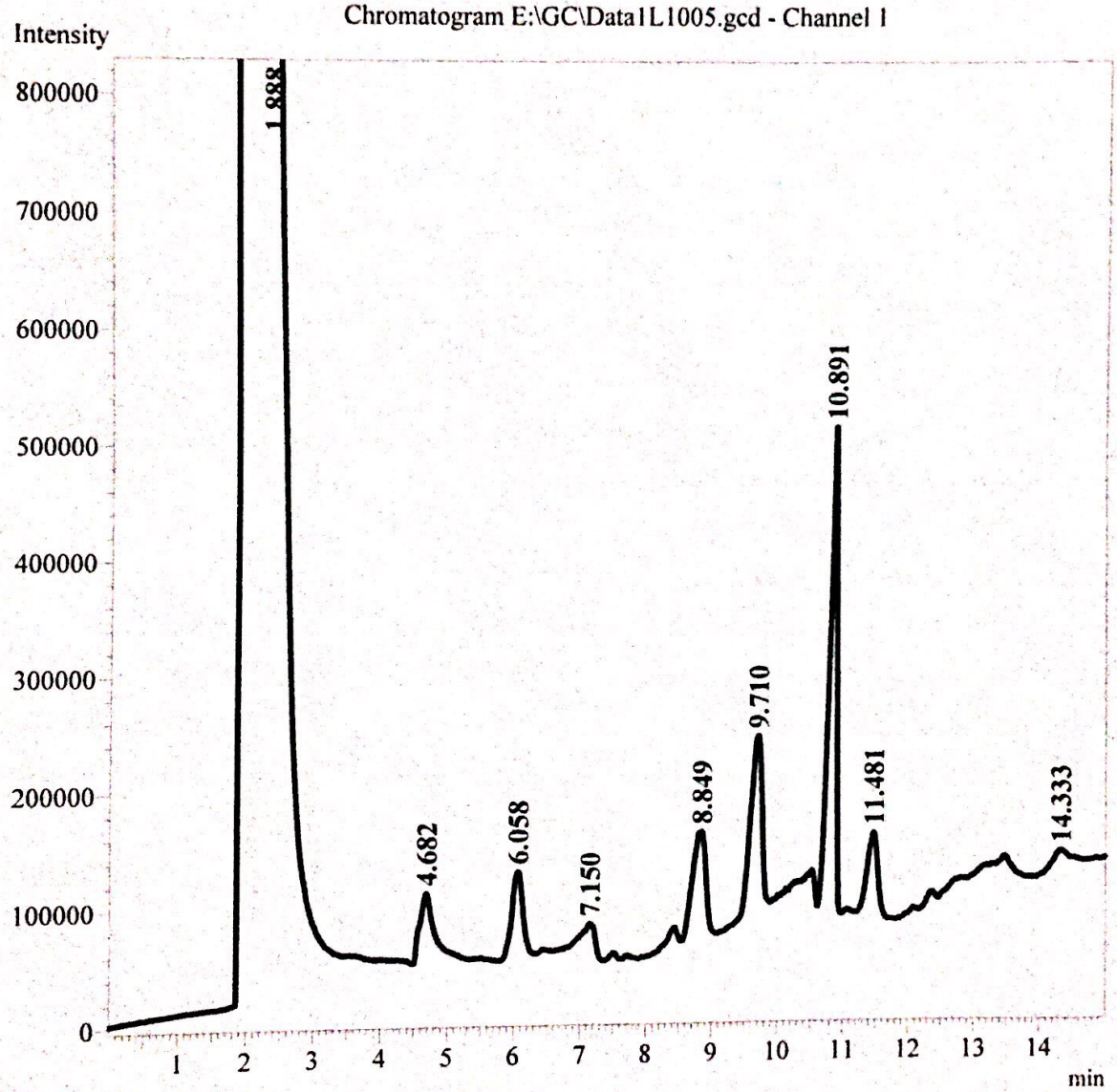
Peak#	Ret.Time	Area	Area%	Height	Name
1	1.888	321556993	99.5606	2239825	
2	4.682	100143	0.0310	19881	
3	6.058	132660	0.0411	21432	
4	7.150	85148	0.0264	11735	
5	8.849	132860	0.0411	20499	
6	9.710	125104	0.0387	25796	
7	10.891	602555	0.1866	226597	
8	11.481	183308	0.0568	31388	
9	14.333	57242	0.0177	6553	
Total		322976013	00.0000	2603706	

Scanned with CamScanner

Sample Information

Sample Name = 2
Injection Volumn = 1 uL
Tem Injector = 280 C
Tem Detecrot (FID) = 340 C
Column Oven (ZB - 1Ms) 100 - 270 C (10 C / min)
Presser = 100 KPa

Chromatogram E:\GC\Data1L1005.gcd - Channel 1



Peak Table - Channel 1

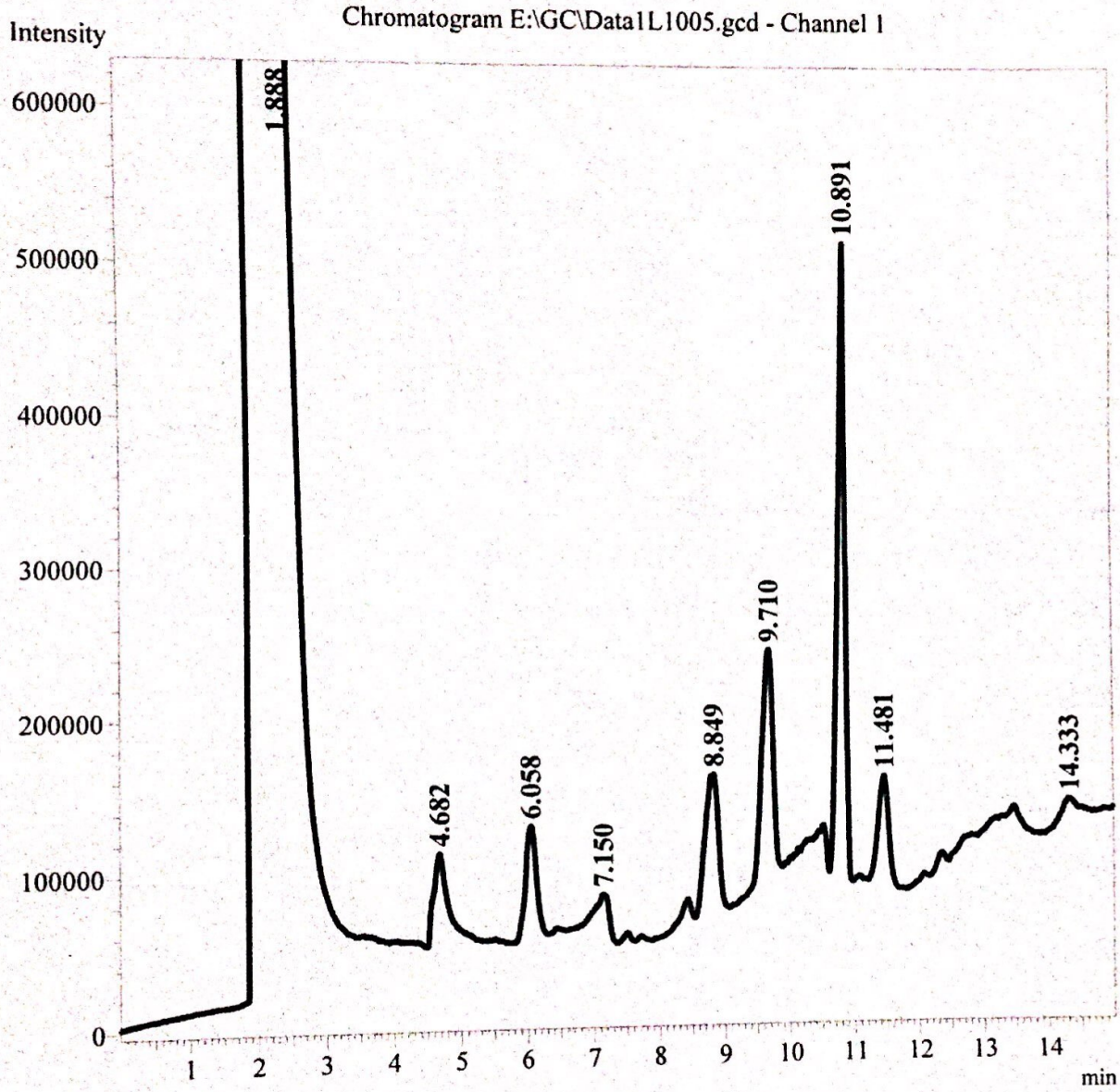
Peak#	Ret.Time	Area	Area%	Height	Name
1	1.888	330816941	99.3157	2269746	
2	4.682	139282	0.0418	23758	
3	6.058	197606	0.0593	30758	
4	7.150	113377	0.0340	14093	
5	8.849	210755	0.0633	24240	
6	9.710	319906	0.0960	52556	
7	10.891	1021164	0.3066	267901	
8	11.481	226134	0.0679	34835	
9	14.333	51166	0.0154	6210	
Total		333096331	00.0000	2724097	

Scanned with CamScanner

Sample Information

Sample Name = 3
Injection Volumn = 1 uL
Tem Injector = 280 C
Tem Detecrot (FID) = 340 C
Column Oven (ZB - 1Ms) 100 - 270 C (10 C / min)
Presser = 100 KPa

Chromatogram E:\GC\Data1L1005.gcd - Channel 1



Peak Table - Channel 1

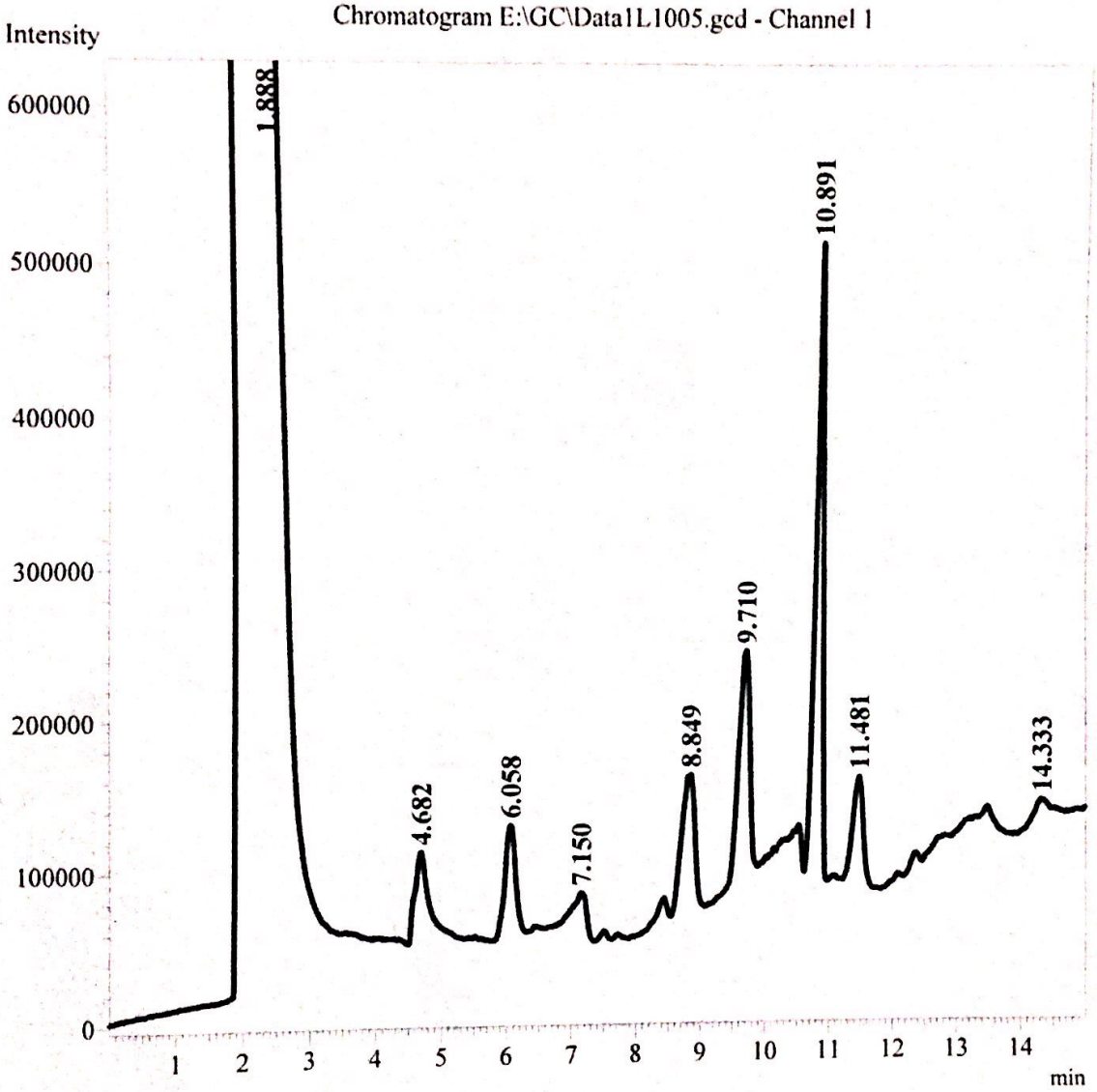
Peak#	Ret.Time	Area	Area%	Height	Name
1	1.888	329833473	98.6397	2268515	
2	4.682	301559	0.0902	36230	
3	6.058	471563	0.1410	53354	
4	7.150	219760	0.0657	21006	
5	8.849	691268	0.2067	61173	
6	9.710	588003	0.1758	65796	
7	10.891	1831884	0.5478	298088	
8	11.481	360884	0.1079	41763	
9	14.333	83763	0.0251	7643	
Total		334382157	00.0000	2853568	

Scanned with CamScanner

Sample Information

Sample Name = 4
Injection Volumn = 1 uL
Tem Injector = 280 C
Tem Detecrot (FID) = 340 C
Column Oven (ZB - 1Ms) 100 - 270 C (10 C / min)
Presser = 100 KPa

Chromatogram E:\GC\Data1L1005.gcd - Channel 1



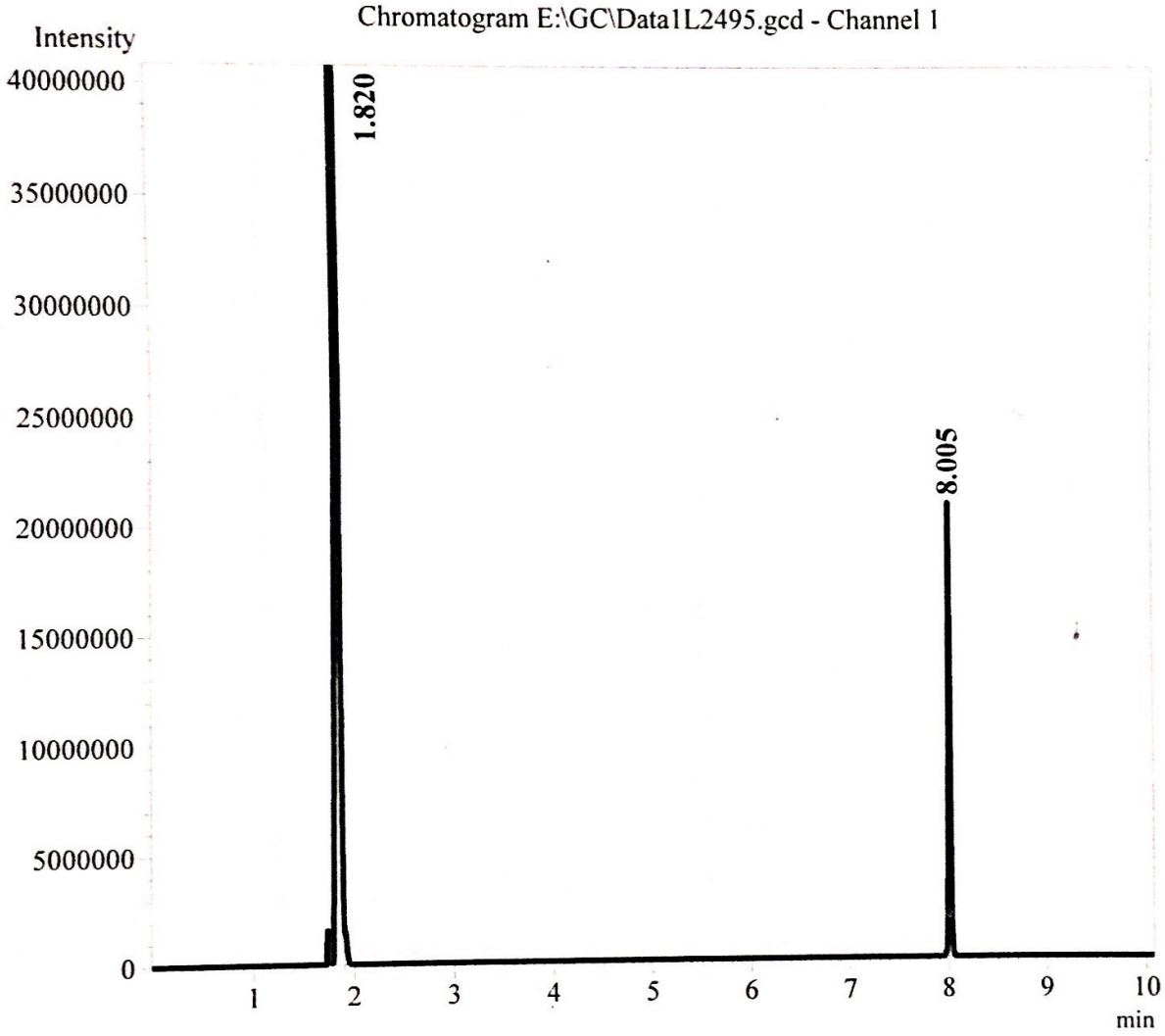
Peak Table - Channel 1

Peak#	Ret.Time	Area	Area%	Height	Name
1	1.888	329553293	98.2012	2266064	
2	4.682	421919	0.1257	43215	
3	6.058	552003	0.1645	59839	
4	7.150	244144	0.0728	21170	
5	8.849	955453	0.2847	75040	
6	9.710	1037757	0.3092	101846	
7	10.891	2012556	0.5997	301057	
8	11.481	586134	0.1747	60907	
9	14.333	226787	0.0676	14186	
Total		335590046	00.0000	2943324	

Scanned with CamScanner

Sample Information

Sample Name = acietic acid (15 ppm)
injection Volumn = 1 uL
Tem Injector = 280 C
Tem Dector (FID) = 340 C
Column Oven (SE - 30) 100 - 300 C (15 C / MIN)
Pressuer = 105 Kpa



Peak Table - Channel 1

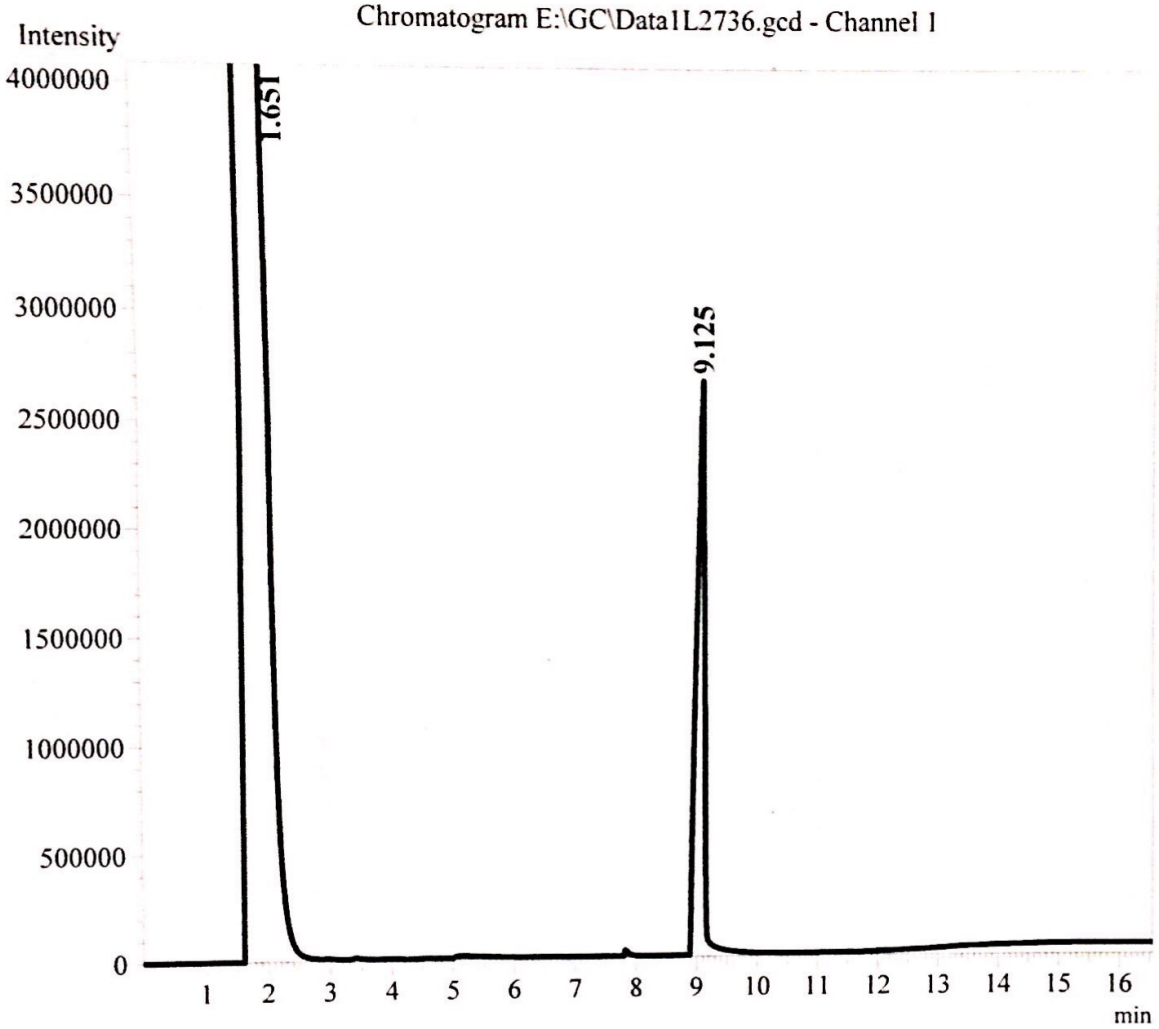
Peak#	Ret.Time	Area	Area%	Height	Name
1	1.820	215581535	97.3919	2594090	
2	8.005	5773168	2.6081	7936468	
Total		221354703	00.0000	0530558	

Scanned with CamScanner

Sample Information

Sample Name = tetramic acid (10 ppm)
injection Volumn = 1 uL
Tem Injector = 280 C
Tem Dector (FID) = 340 C
Column Oven (SE - 30) 100 - 300 C (15 C / MIN)
Pressuer = 105 Kpa

Chromatogram E:\GC\Data1L2736.gcd - Channel 1



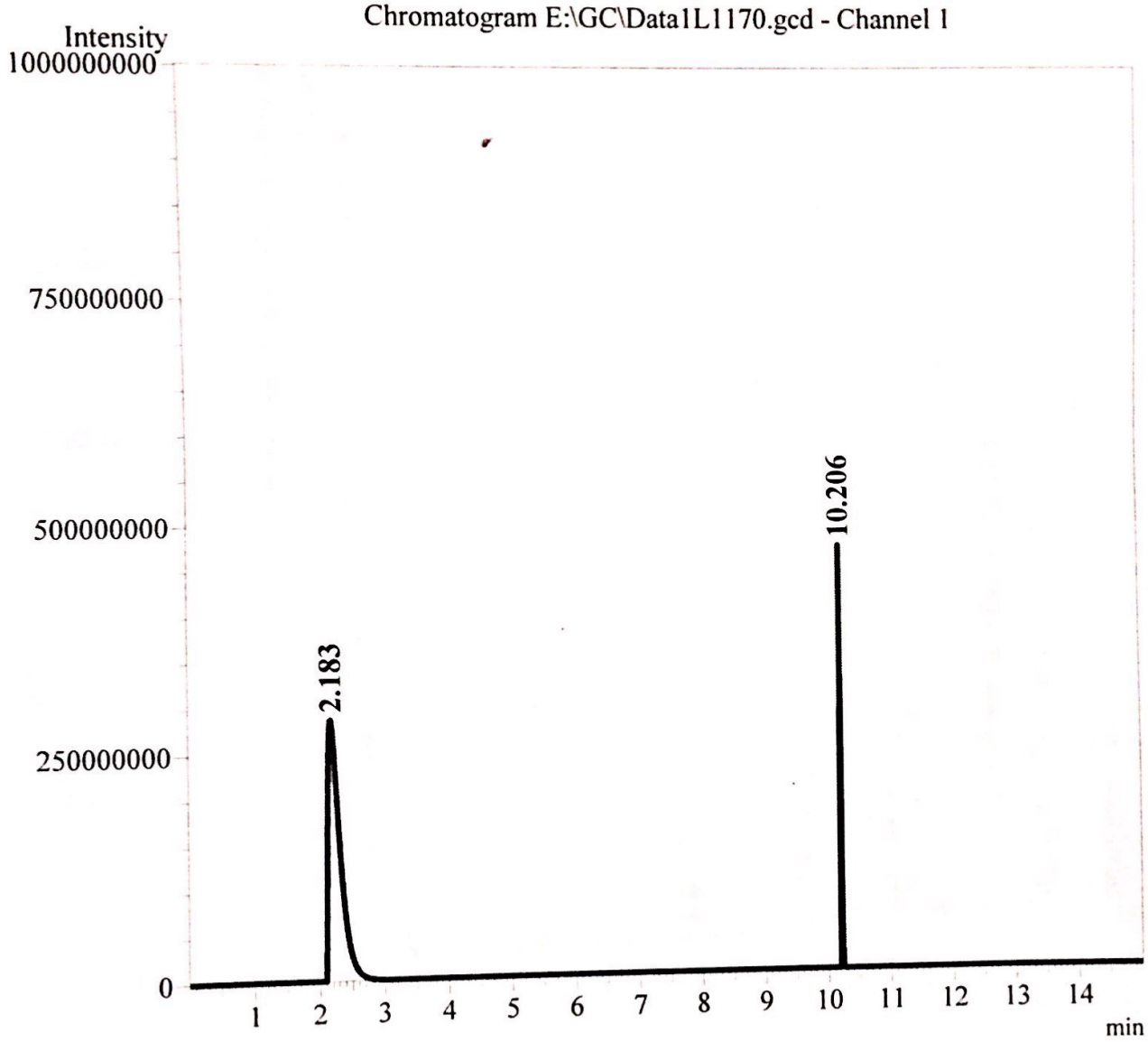
Peak Table - Channel 1

Peak#	Ret.Time	Area	Area%	Height	Name
1	1.651	966423968	97.5988	3648493	
2	9.125	23776268	2.4012	2655308	
Total		990200236	00.0000	6303801	

Scanned with CamScanner

Sample Information

Sample Name = dipicolinic acid (15 ppm)
injection Volumn = 1 uL
Tem Injector = 280 C
Tem Dector (FID) = 340 C
Column Oven (SE - 30) 100 - 300 C (15 C / MIN)
Pressuer = 105 Kpa



Peak Table - Channel 1

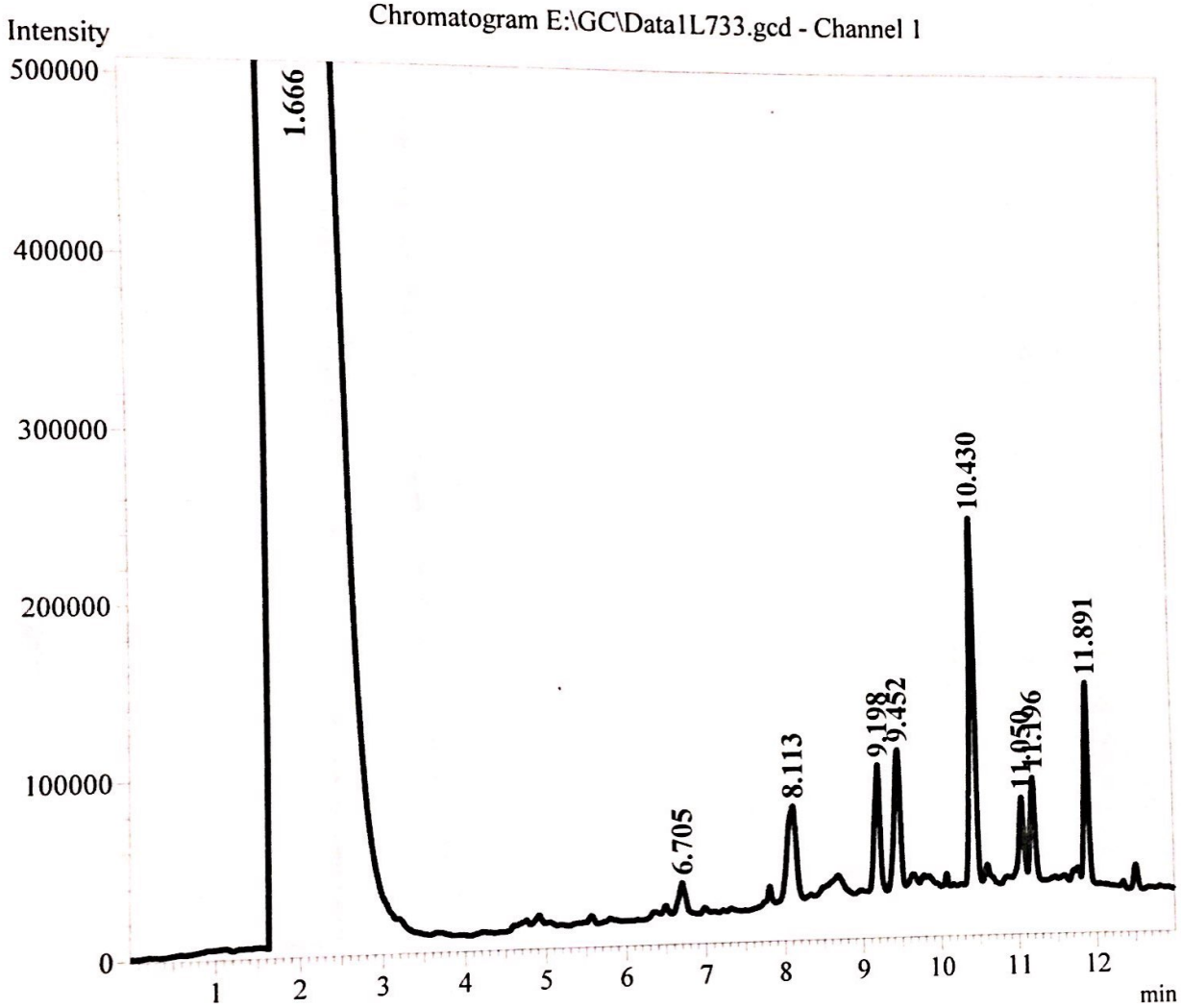
Peak#	Ret.Time	Area	Area%	Height	Name
1	2.183	730420111	94.2707	7090393	
2	10.206	226714910	5.7293	7598997	
Total		957135021	00.0000	14689390	

Scanned with CamScanner

Sample Information

Sample Name = 10 day
injection Volumn = 1 uL
Tem Injector = 280 C
Tem Dector (FID) = 340 C
Column Oven (SE - 30) 100 - 300 C (15 C / MIN)
Pressuer = 105 Kpa

Chromatogram E:\GC\Data1L733.gcd - Channel 1



Peak Table - Channel 1

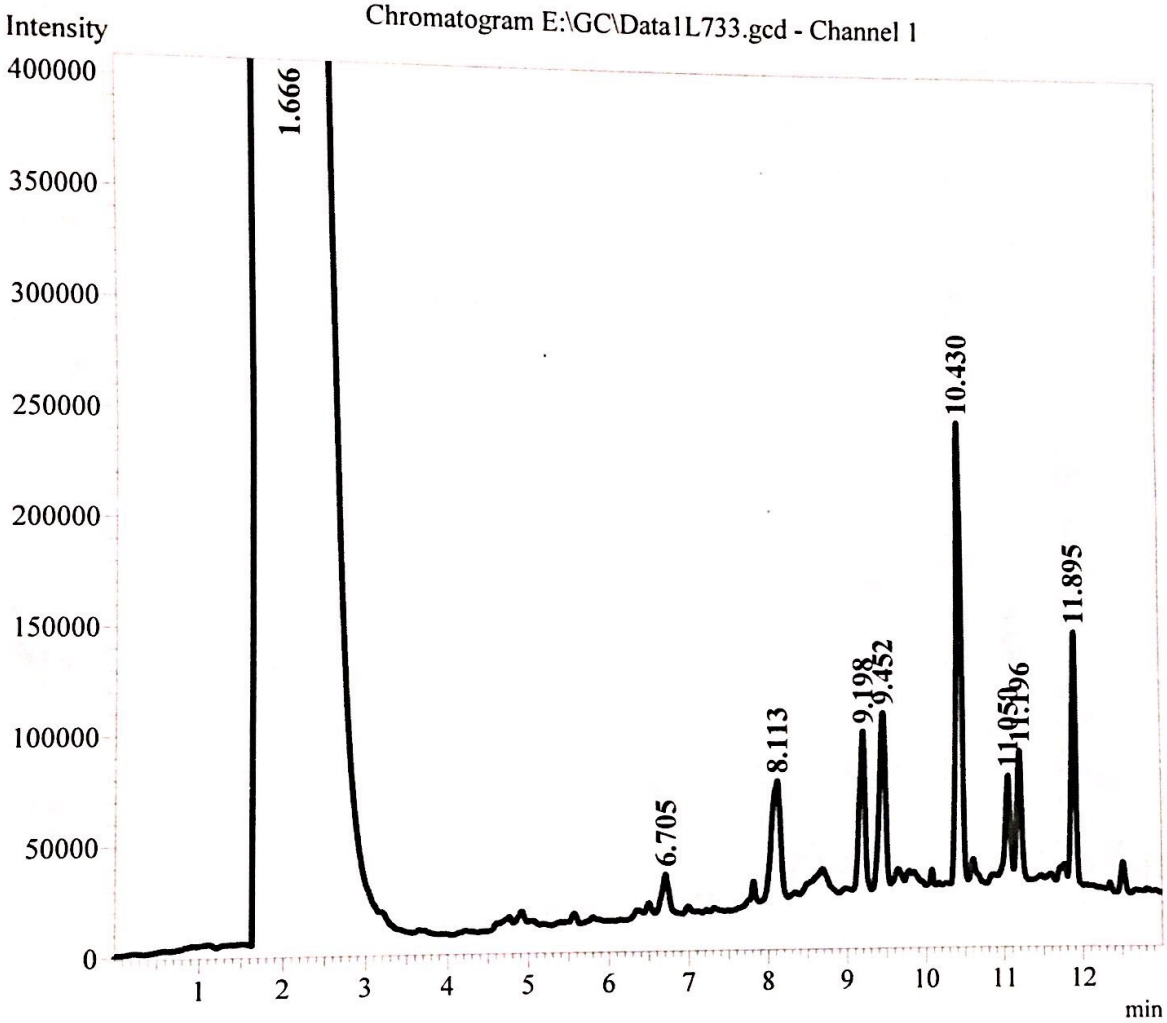
Peak#	Ret.Time	Area	Area%	Height	Name
1	1.666	238402706	99.9617	5900100	
2	6.705	34821	0.0028	9148	
3	8.113	81231	0.0066	18967	
4	9.198	36628	0.0030	18300	
5	9.452	100587	0.0081	29548	
6	10.430	144791	0.0117	49198	
7	11.050	6814	0.0006	3093	
8	11.196	52638	0.0042	22936	
9	11.891	17249	0.0014	8170	
Total		238877465	00.0000	7059460	

Scanned with CamScanner

Sample Information

Sample Name = 14 day
injection Volumn = 1 uL
Tem Injector = 280 C
Tem Dector (FID) = 340 C
Column Oven (SE - 30) 100 - 300 C (15 C / MIN)
Pressuer = 105 Kpa

Chromatogram E:\GC\Data1L733.gcd - Channel 1



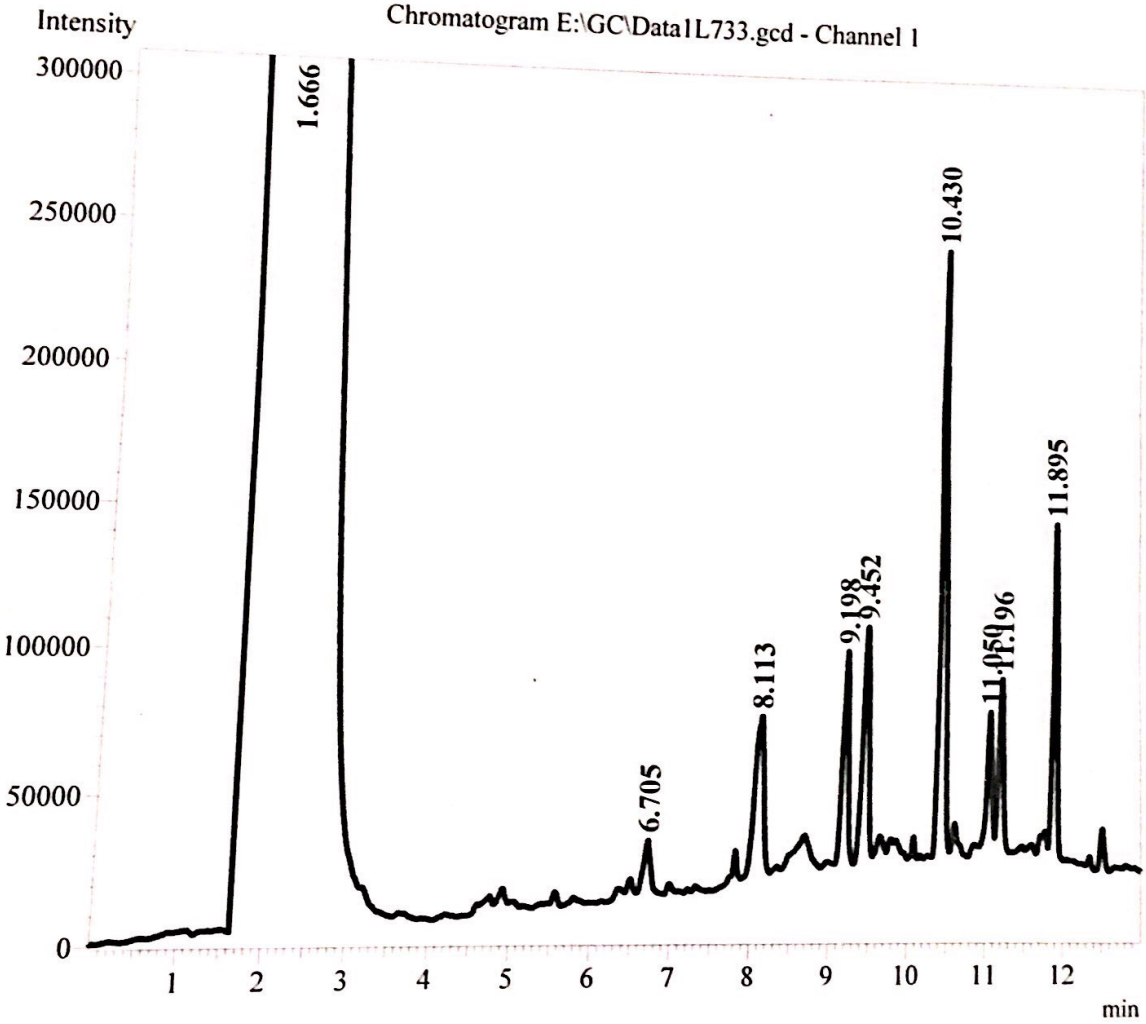
Peak Table - Channel 1

Peak#	Ret.Time	Area	Area%	Height	Name
1	1.666	236560066	99.9139	5897797	
2	6.705	24877	0.0020	6603	
3	8.113	133150	0.0108	22927	
4	9.198	160719	0.0130	45082	
5	9.452	234558	0.0190	56306	
6	10.430	306934	0.0248	111726	
7	11.050	58513	0.0047	21273	
8	11.196	55864	0.0045	20942	
9	11.895	91226	0.0074	46475	
Total		237625907	00.0000	7229131	

Scanned with CamScanner

Sample Information

Sample Name = 21 day
injection Volumn = 1 uL
Tem Injector = 280 C
Tem Dector (FID) = 340 C
Column Oven (SE - 30) 100 - 300 C (15 C / MIN)
Pressuer = 105 Kpa



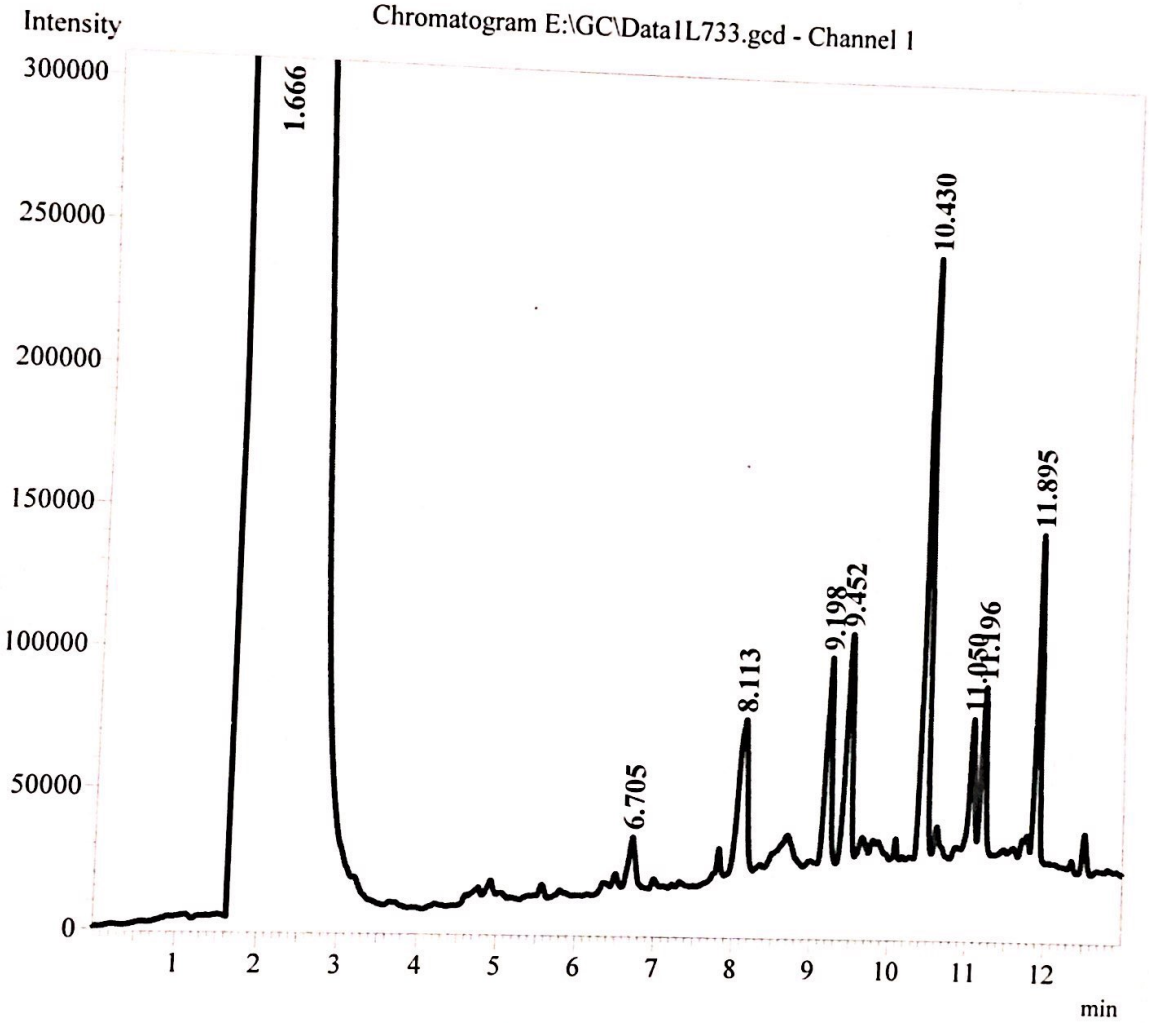
Peak Table - Channel 1

Peak#	Ret.Time	Area	Area%	Height	Name
1	1.666	236560066	99.8019	5897797	
2	6.705	93362	0.0075	16636	
3	8.113	293853	0.0237	44202	
4	9.198	294860	0.0238	65797	
5	9.452	357701	0.0289	72103	
6	10.430	868605	0.0701	203236	
7	11.050	104525	0.0084	32654	
8	11.196	122753	0.0099	38778	
9	11.895	318232	0.0257	98063	
Total		239013957	00.0000	7469266	

Scanned with CamScanner

Sample Information

Sample Name = 24 day
injection Volumn = 1 uL
Tem Injector = 280 C
Tem Dector (FID) = 340 C
Column Oven (SE - 30) 100 - 300 C (15 C / MIN)
Pressuer = 105 Kpa



Peak Table - Channel 1

Peak#	Ret.Time	Area	Area%	Height	Name
1	1.666	238985040	99.7536	5900213	
2	6.705	102439	0.0082	17332	
3	8.113	422448	0.0340	54295	
4	9.198	345395	0.0278	72516	
5	9.452	435097	0.0350	80713	
6	10.430	979025	0.0788	214855	
7	11.050	175817	0.0142	43907	
8	11.196	222653	0.0179	56661	
9	11.895	377992	0.0304	111994	
Total		242045906	00.0000	7552486	

Scanned with CamScanner

Summary

The current research aimed at isolating and diagnosing human pathogenic parasites from the domestic population of *Musca domestica* collected from surrounding environments and overlapping with residential areas. And isolating the fungus *P. lilacinus*, the pathogen for insects and nematodes, and its use for all its life roles as well as the investigation of the factors of virility of fungi and the diagnosis of secondary metabolites with high performance liquid technology (HPLC) and the technique of gas chromatography (GC) and obtained the following results:

- Nine types of parasites were isolated: *Cryptospridum parvum* Oocyst and *Entamoeba histolytica* cyst , *Enterobius vermicularis* ova ,*Taenia* sp., *Ascaris lumbricoides* ova ، Hookworm *(Ancylostoma duodenale* ova*), Trichuris trichiura* ova *Hyminolepis nana* ova and *Giardia lamblia* cyst. The researchers found that the highest showed of parasites in the animal habitat was 28.36% and the lowest in the hospital environment was 9.13% and the parasites recorded the highest rate during the month of April by 16.99% and the lowest rate of emergence was in December by 3.94% and the proportion of parasites isolated from the outer surface of flies 284and its digestive tract 200. .

- The fungi showed a high toxicity against domestic fly eggs, with a mean mortality rate of $1x10^5$ spor / ml of 43.077%. The highest loss of eggs was 6.145 % at $1x10^9$ spor / ml , A significant difference was observed between all concentrations with kill rate and time period necessary for destruction.

- The fungus suspension had a significant effect on larval instars, with a concentration of $10^5 \times 1$ spor / ml with a mortality rate of (26.07، 23.86 and

21.15)% for the larval first, second and third larvae, while the larvae mortality was highest (83.86 , 77.71 and 75.00)% after exposure to $10^9 \times 1$ spor / ml sequentially after 72 hours of treatment, while the effect of the fungus was slight in the adalt and pupa period.

- The fungus metabolites resulting from different incubation periods were affected by high toxicity effect against larval instars. The concentration achieved 25% mortality rate of 26.07 % for the first larval instar with incubation duration of 10 days. The mortality rate reached (33.00 , 48.85and 54.78)% during the period 14 , 21 and 28 days Respectively for the same instar and the rate of mortality (23.86, 31.00, 43.08and 48.85%) during the same period of incubation respectively for second larval instar . The third larval instar was (21.15, 28.78, 41.15and 46.92)% for the same concentration and incubation periods while the concentration was 100% with a significant difference on the rest of the treatment with a mortality of (52.78, 54.78, 68.86, 83.86)% and 46.92, 54.78, 66.15 and 77.71)% and (43.08, 48.85, 61.22 and 75.00)% for the three larval instars extended the custody of *P. lilacinus* on the above-mentioned sequence.

- Investigation of fungus metabolites **:**

- **A** -The results of the HPLC test showed that extract of *P. lilacinus* contains many of the secondary metabolites, Which is one of the factors of virility of the fungus where secreted poison Paecilotoxin and amino acids Phenylalanine, Valine, Methionin, Methylphenylalanine, Aspartic acid, Glutamate, Leucine, Tyrosine and Serine have different concentrations fungus incubation where most of these products were increased by increasing incubation duration.
- **B** - The results of gas chromatography GC that the extract of *P. lilacinus* contains many fatty acids such as Palmatic acid ,Stearic acid , Lenolic acid ,

Oleic acid , Lenolenic acid and active compounds tetramic acid , acetic acid and dipiclonic acid increased concentrations by increasing the incubation duration.

Summary

Republic of Iraq

Ministry of Higher Education & Scientific Research

University of AL-Qadisiya

Collage of Science

Biology of Department

Isolation and Identification of some pathogenic parasites associated with house fly *Musca domestica* and its biocontrol by fungus *Paecilomyces lilacinus* .

A thesis

Submitted to The Council of The College of Science ,University of Al- Qadisiya in Partial Fulfillment of The Requirements for The Degree of Master of Science in Biology

By

Abbas Hasan Burhan Al-Naeli

Supervision by

Assist. Prof. Dr. **Mohammed R. Annon**

2019 A.D 1440 A.H