المكافحة الاحيائية للاعمار اليرقية المختلفة لبعوض *Culex pipiens* بأستخدام المبيد الاحيائي *Bacillus thuringiensis isrealeansis* ومنظم النمو **Dimilin**

زينب عباس عودة

معن عبد العزيز شفيق

كلية العلوم / الجامعة المستنصرية

الخلاصة:

اجريت هذه الدراسة في مختبر بحوث الحيوان / البيت الحيواني /كلية العلوم /الجامعة المستنصرية لتقيم كفاءة منظم النمو Dimilin المثبط لتصنيع الكايتين بواقع ثلاث تراكيز مختلفة 0.5، 1.0 و 1.5 جزء بالمليون وكفاءة عالق البكتريا *Bacillus thuringiensis israelensis* بالتراكيز 6.25×10^{9}، 6.25×10^{10} و 6.25×10^{11} بوغ / مل على الأعمار اليرقية المختلفة لبعوض *Culex pipiens*.

وبلغت اعلى نسبة قتل 100% لمنظم النمو بالتركيز 1.5 جزء بالمليون للفترة 48 ساعة واقل نسبة قتل بلغت 26.67% للفترة 12 ساعة للتركيز 0.5 جزء بالمليون للعمر اليرقي الاول على التوالي. واعلى نسبة قتل بلغت 86.67% لمنظم النمو بالتركيز 1.5 جزء بالمليون خلال 48 ساعة واقل نسبة قتل بلغت 20 % خلال 12 ساعة للتركيز 0.5 جزء بالمليون للعمر اليرقي الثاني على التوالي. واظهرت النتائج بأن اعلى نسبة قتل بلغت 73.33% خلال 48 ساعة للتركيز 1.5 جزء بالمليون واقل نسبة قتل بلغت 33.33% للتركيز 1.0 جزء بالمليون خلال 12 ساعة للعمر اليرقي الثالث على التوالي. واعلى نسبة قتل للعمر اليرقي الرابع بلغت 80% خلال 48 ساعة واقل نسبة قتل بلغت 26.67% للتركيزين 0.5 و 1.0 جزء بالمليون لمنظم النمو .

واظهرت النتائج بأن اعلى نسبة قتل للمبيد الحيوي Bti بلغت 100% للعمر اليرقي الاول بالتركيز 6.26×10^{11} بوغ /مل خلال 24 و 48 ساعة واقل نسبة قتل بلغت 40% للتركيز 6.26×10^{9} بوغ/مل خلال 12 ساعة. وكانت اعلى نسبة قتل للعمر اليرقي الثاني

100% بالتركيزين 6.25× 10^{10} و 6.25 ×10^{11} بوغ /مل خلال 24 و 48 ساعة على التوالي واقل نسبة قتل بلغت 53.33% للتركيز 6.25×10^{9} بوغ/مل خلال 12 ساعة واعلى نسبة قتل بلغت للعمر اليرقي الثالث والرابع 100% على التوالي خلال 48 ساعة للتركيز 6.25×10^{11} بوغ /مل، واقل نسبتي قتل للتركيز 6.25×10^{9} بوغ/مل بلغت 40% و 33. 33% للعمرين على التوالي خلال 12 ساعة.

لمقدمة INTRODUCTION

يعد البعوض من الد اعداء الانسان اذ ينتقل له امراضا خطيرة ادت الى موته مثل الملاريا والفلاريا والحمى الصفراء وغيرها ففي عام 2008 بلغ عدد المصابين بمرض الملاريا في العالم 243 مليون شخص مات منهم قرابة 863000 شخص (Howard *et al*; 2010).

ينتشر البعوض بصورة رئيسية في العراق من اقصى شماله وحتى جنوبه اذ يوجد في العراق 16 نوعا من الانوفلس *Anopheles* spp. قسم منها لم يسجل في العراق سابقا و 18 نوعا من Culex، ينتمي بعوض الكيولكس الى عائلة *Culicidae* وهي من اهم العائلات في رتبة ثنائية الاجنحة Diptera. وتضم تحت عائلة Culicinae وينتمي لهذه العائلة العديد من الاجناس وهي *Culex* , *Anopheles* , *Aedes* اما بالنسبة لجنس *Culex*فيضم انواعا عديدة من اهمها *Culex pipiens* ويسمى هذا النوع *Cx*.complex لانه يضم ثلاثة نويعات هي :

Cx.pipiens pipiens ,*Cx.pipiens molestus* , *Cx pipiens quinquefasciatus*,

ينتشر بعوض *Cx.pipiens quinquefascitus* في العراق بكثرة في المنطقتين الوسطى والجنوبية ، اما*Cx.pipiens molestus* فينتشر في شمال العراق ولاسيما في منطقة الموصل ، امابعوض *Cx.pipiens pipiens* فأنه ينتشر في مناطق مختلفة من العراق ومنها بغداد وخاصة في المنازل ويتكاثر في بيئات مختلفة مثل مياه الفضلات وفتحات المجاري والبرك الصغيرة والاواني والعلب المتروكة وتجمعات مياه الامطار والسراديب والابار (ابو الحب، 1979).

وقد استخدمت العديد من المبيدات الكيميائية لمكافحة البعوض والحشرات المختلفة والمائية الضارة ومنها البعوض على الرغم من ماقدمته المبيدات الكيمائية من نجاحات كبيرة في القضاء على مسببات الأمراض التي تنقلها الحشرات للانسان والحيوان والنبات وقتل

أنواع اخرى من الحشرات النافعة (العادل وعبد، 1979)، ألا ان السيطرة على هذه الأمراض اصبحت صعبة جدا وذلك بسبب ازدياد مقاومة الحشرات للمبيدات على الرغم من مساهمتها الكبيرة في السيطرة على الامراض فأن لها القدرة على تلوث المياه والتربة والغذاء ويؤدي وجودها الى تغير الصفات النوعية لأجواء المحيط الحيوي (Rajkumar and Jebanesan , 2005).

يمكن التخلص من يرقات وبالغات البعوض ايضا عن طريق الوقاية والمكافحة ، فالوقاية تعني الحد من تكاثر البعوض وذلك بأزالة الماء الصالح لتكاثر البعوض وردم البرك وسكب الماء المتبقي في الأواني والبراميل وعدم السماح لها بالتجمع وتصريفها وتنظيف الشواطئ والمجاري والجداول وحواف القنوات، اما البالغات فيمكن ابعادها ومنع وصولها الى الانسان والحيوان وذلك بأستعمال الشبك المعدنية ذات فتحات صغيرة على الشبابيك والابواب وتعريض الغرف للضوء ومنع الرطوبة وتضبيب الساحات والقاعات الكبيرة (ابو الحب، 1979).

ان الفشل في ايجاد مجاميع جديدة من المبيدات الحشرية قاد العديد من العلماء الى اكتشاف دراسات جديدة للبحث عن وسائل حيوية واقتصادية بديلة (Shalaan *et al* ; 2006).

الهدف من الدراسة The aim of study

تهدف الدراسة الحالية الى استخدام وسائل غير تقليدية لمكافحة يرقات بعوض *Culex pipiens* وذلك بدراسة :

1- تأثير منظم النمو Dimilin على الاعمار اليرقية لبعوض *Culex pipiens*.

2- تأثير منظم النمو Dimilinعلى الاعمار اليرقية المختلفة ومقارنته مع المبيد الاحيائي *Bacillus thuringiensis isrealiensis*.

3- دراسة تأثير المبيد الاحيائي كواسائل بديلة للمكافحة الكيمياوية للاعمار اليرقية المختلفة لبعوض *Culex pipiens* بأستخدام المبيد الاحيائي *Bacillus thuringiensis isrealiensis*r

المواد وطرائق العمل Materials and Methods

جمع وتربية بعوض *Culex pipiens* Say

جمعت يرقات بعوض Culex pipiens Say من مركز الامراض الانتقالية /وزارة الصحة/ ساحة الاندلس/ في شهر نيسان عام2013 .تمت تربية اليرقات في مختبرالحشرات /البيت الحيواني/ قسم علوم الحياة /كلية العلوم /الجامعة المستنصرية حيث وضعت اليرقات في احواض لدائنية سعة500مل حاوية على ماء الحنفية 150مل متروك اكثرمن 72 ساعة معرضا للشمس للتخلص من مادة الكلور الموجودة في الماء الاعتيادي(Huho,2007). وغذيت هذه اليرقات بعليقة اسماك المتكونة من (بروتين 35% ، دهون2.5% ، الياف 2.5% ، كالسيوم 0.9-2% ،فوسفات0.8- 1.8%) مع ملاحظة تبديل ماء الحوض من 3-4 ايام لتلافي تعفن المياه وبعد تحول اليرقات الى عذارى وضعت في اقفاص خشبية مكعبة الشكل خاصة لتربية الحشرات.و للحصول على البالغات وضعت البالغات في وعاء لدائني نبيذي سعة 500 مل يضم 150 مل ماء حنفية متروك لمدة 72 ساعة ، ووضعت الاواني داخل اقفاص تربية خشبية ذات ابعاد (30 × 30 × 30 سم) مغلق بالمشبك المعدني من اربعة جوانب ومغطى بقطعة قماش اسطوانية من احد الجوانب ، والقاعدة من الخشب وضعت الاقفاص بالحاضنة بدرجة حرارة 27 مْ ± 2 ، واضاءة 12 ساعة يومياً ، بعد بزوغ البالغات غذيت الذكور بأستخدام قطعة قطن مشبعة بمحلول سكري بتركيز 10% وضعت في طبق زجاجي داخل القفص ، اما الاناث غذيت بأستخدام حمامة (Pigeon) نزع الريش منها من منطقة الصدر وضعت الحمامة فوق القفص بعد ربط اجنحتها ، وارجلها طوال الليل (Over night) بحيث تتمكن الاناث من الحصول على وجبة الدم بسهولة (Sivagnanme Kalyanasundaram ، 2004). بعد مرور 2- 3ايام جمعت قوارب البيض (Egg rafts) الموضوعة من قبل الاناث المتغذية على الدم نقلت القوارب بواسطة فرشاة ناعمة الى الأحواض زجاجية نظيفة تضم الماء المتروك لمدة 72ساعة مع مراعاة عدم تحريك القارب لتلافي تفككه وتكسره ، ربيت المستعمرة لمدة ثلاثة اجيال قبل البدء بأجراء المعاملات لغرض التخلص من بقايا المبيدات الكيمياوية والاحيائية المستخدمة في مكافحتها (البندر، ايناس حاتم 2013) .

تحضير البيبتون المائي Peptone water

حضر pepton water من 15 غم من باودر البيتون الى 1 لتر من الماء المقطر بعدعملية تعقيمه بالؤصدة لمدة 15 دقيقة تحت درجة حرارة 121 درجة مئوية وضغط 1 جو الاس الهيدروجيني له 2_+7.2، المتكون من 10.0غم من pepton و 5.0 غمsodium chloride .

تحضير الوسط المغذي Nutrient agar

حضر الوسط المغذي المناسب هو Nutrient Agar حسب توصيات الشركة المصنعة (Basingstoke ,Hampshire ، England) بأستخدام 28 غم من الوسط في واحد لتر من ماء مقطر ثم عقم بجهاز الموصدة Autoclave عند درجة حرارة 121 مْ لمدة 15 دقيقة ، وضغط 1جو، وصب في اطباق بتري زرعت عزلة Bti بطريقة التخطيط بواسطة Loop معقم حضنت بدرجة حرارة 37 مْ ± 2 ولمدة 24 ساعة لوحظ النمو البكتيري بصورة نقية للعزلات جميعها .

تنمية وتنشيط بكتريا *Bacillus thuringiensis isrealensis*

تمت عملية تنشيط البكتريا بأضافة 1غم من مسحوق البكتريا الى 9مل من pepton water، وزرع بالوسط المغذي nutrient agar باطباق بتري معقمة لتغذية البكتريا ومن ثم زرعت بطريقة التخطيط بواسطة Loop معقم، ووضعت الاطباق في حاضنة عند درجة حرارة معقم، ووضعت الاطباق في حاضنة عند درجة حرارة 2^{+}-37 م لمدة 24 ساعة ، لوحظ نمو البكتريا وحصدت بواسطة Loop معقم على شكل حرف L لتحضير التراكيز المختلفة لمعاملة يرقات بعوض *Culex pipiens* كما في الصورة الموضحة ادناه ، حيث صورت العزلة بأستخدام المجهر المركب واستخدام الكاميرا الرقمية.

تحضير التراكيز وحساب عدد الابواغ للبكتريا

اضيف5 مل من الماء المقطر والمعقم الى المزرعة البكتيرية المحضرة على الوسط المغذي Nutrient agar في اطباق البتري مع اضافة 0.2 مل من مادة Tween- 20 بتركيز 0.20%، وحصدت الابواغ بواسطة قضيب زجاجي على شكل حرف L، ورشحت محتويات الراشح بواسطة قمع زجاجي مثبت يحوي قطعة شاش معقمة مع اضافة 5 مل من الماء المقطر والمعقم لضمان ترشيح جميع ابواغ البكتريا وجمع الراشح في دورق زجاجي

يحتوي على 10مل من معلق الماء المقطر والابواغ البكتيرية حيث يعتبر المعلق الاساس Stocck suspension .

ولحساب عدد الابواغ البكتيرية تم استخدام شريحة العد Haemocytometer الخاصة بعد كريات الدم البيض حيث اضيف1 مل من المحلول الاساس الى 99 مل من الماء المقطر المعقم .ثم وضع 0.1 مل منه على شريحة العد بعد وضع غطاء الشريحة وتم حساب عدد الابواغ استنادا الى المعادلة التالية (Aube and Gagnon,1969) .

عدد الابواغ (بوغ/مل)= معدل الابواغ ×معامل التخفيف ×25×10^4

دراسة تأثير تراكيز ابواغ البكتريا القياسية Bti في يرقات بعوض *Culex pipiens* على الاعمار اليرقية الاربعة:

لدرس تأثير ثلاثة تراكيز من بكتريا Bti على الاعمار اليرقية الاول والثاني والثالث والرابع وتراكيز(10^9×6.25 , 10^{10}×6.25 , 10^{11}l×6.25 بوغ/مل) حيث اخذت 5 يرقات من كل عمر ووضعت في اناء نبيذي سعة 250 مل وضع 150 مل ماء حنفية متروك لمدة 72 ساعة اضيف 3 مل من كل تركيز من المعلق البكتيري Bti مع اضافة 1.5 غم من عليقة الاسماك لغرض تغذية اليرقات كررت التجربة بثلاث مكررات لكل تركيز ، مع اضافة عليقة الاسماك لغرض تغذية اليرقات وكررت التجربة ثلاث مرات وغطيت جميع الاواني المعاملة بقطع من قماش التول وربطت برباط مطاطي، وأخذت القراءة الاولى بعد 12 ساعة وبعد24 ساعة وبعد 48 ساعة ، لتحديد نسبة القتل لكل عمر يرقي وملاحظة التشوهات الحاصلة في اليرقات ونسبة بزوغ البالغات (Ishii and Ohba 1993) .

امامعاملة السيطرة وضعت 5 يرقات من كل عمر يرقي في حوض نبيذي سعة 250 مل، وضع 150 مل ماء حنفية متروك لمدة 72 ساعة مع اضافة محلول مائي مع مادة Tween-20 بتركيز 0.02% وكررتمعاملة السيطرة بثلاث مكررات لكل عمر من الاعمار اليرقية ولكل تركيز.

دراسة تأثير منظم النمو Dimillin في يرقات بعوض *Culex pipiens*:

حصل على مبيد الدميلين من كلية الزراعة – جامعة بغداد لمكافحة يرقات بعوض *culex pipiens* بعد نقلت 5 يرقات لكل عمر ووضعت في وعاء لدائني نبيذ سعة 250 مل ،

وضع 150 مل من الماء الاعتيادي المعرض للشمس والمحضر مسبقا، واضيف تراكيز مختلفة من هذا المبيد وهي (0.5 , 1.0 , 1.5) جزء بالمليون ولكل عمر يرقي مع اضافة 1.5 غم من عليقة الاسماك لغرض تغذية اليرقات وكررت التجربة ثلاث مكررات لكل تركيز ولكل عمر يرقي من الاعمار اليرقية ، اما معاملة السيطرة وضعت 5 يرقات من كل عمر في وعاء لدائني سعة 250 مل ، وضع 150 مل من الماء الاعتيادي المعرض للشمس مسبقا مع اضافة محلول مائي مع مادة Tween-20 بتركيز 0.02% وعليقة اسماك وكررت معاملة السيطرة بثلاث مكررات لكل عمر يرقي من الاعمار اليرقية ولكل تركيز وغطيت جميع الاوعية المعاملة والسيطرة بغطاء قماش التول وربطت برباط مطاطي وتم متابعة اليرقات وسجلت القراءة بعد 24,12 ,48 ساعة ، لتحديد نسبة القتل لكل عمر يرقي وملاحظة التشوهات الحاصلة في اليرقات ونسبة بزوغ البالغات.

حساب عدد الابواغ البكتيرية وتحضير التراكيز المطلوبة ودراسة تأثيرها على الاعمار اليرقية لبعوض *Culex.pipiens* .

اضيف 5 مل من الماء المقطر والمعقم الى المزرعة البكتيرية المحضرة على وسط المغذي Nutrient agar في اطباق بتري ، وحصدت الابواغ بواسطة قضيب زجاجي بشكل حرف L .جمع الراشح في دورق زجاجي المتضمن حوالي 10 مل من عالق الماء المقطر والابواغ الفطرية والذي عد العالق الاساس Stock suspension .

النتائج والمناقشة Resulte and Discussion

1- تأثير التركيزالمختلفة لمنظم النمو Dimillin في العمر اليرقي الاول لبعوض *Culex pipiens*

اظهرت النتائج المسجلة في جدول (1) تأثيرالوقت ثلاثة تراكيز لمنظم النمو Dimillin هي 0.5 و 1.0 و 1.5 جزء بالمليون والوقت في نسبة قتل يرقات العمر الاول ليرقات بعوض *Cx. pipiens* ويلاحظ ان اعلى نسبة قتل 100%بالتركيز 1.5 جزء بالمليون بعد مرور 48 ساعة من المعاملة بمنظم النمو Dimilin واقل نسبة قتل لنفس التركيز بلغت 73.33% جزء بالمليون عند مرور 12 ساعة واعلى نسبة للقتل عند التركيز 0.5 جزء بالمليون 73.33% جزء بالمليون عند 48 ساعة واقل نسبة قتل بلغت 26.67%جزء بالمليون عند مرور 12 ساعة بينما بلغت اعلى نسبة قتل 86.67 % عند

التركيز 1.0 جزء بالمليون اما اقل نسبة قتل بلغت 53.33% لنفس التركيز خلال 12 ساعة. ويبين الجدول حساسية العمر اليرقي الاول لزيادة التركيز وبزيادة الفترة المعرضة لها اليرقات كما هو واضح بالشكل (1)ارتفاع نسبة القتل للتركيز 1.5جزء بالمليون للفترة 48 ساعة واقل نسبة قتل كانت بالتركيز 0.5 جزء بالمليون للفترة 12 ساعة ويعمل منظم النمو على حصول حالة تشوه بجدار الجسم وبطبقة الكايتين كما مبينة بالصورة (1). اوضح التحليل الاحصائي وجود فروقات معنوية بين التراكيز ووقت القتل.

وجاءت هذه النتائج متفقة مع Hoetal(1987)عند تعريض الاطوار الغير بالغة الى منظم النمو Dimilin تحصل تشوهات لجسم اليرقة التي تعتمد على التركيز حيث ان الاعمار اليرقية الصغيرة اكثر حساسية من الاعمار اليرقية المتقدمة. وتتفق الى ماجأت به نجوى وجماعتها (2004) ان نسبة القتل ليرقات البعوض Cx.pipiens تتناسب مع التركيز ووصلت نسبة القتل الى 90% بتركيز 40 جزء بالمليون بعد 3 ايام من المعاملة .

جدول 2. تأثير الوقت والتركيزالمختلفة لمنظم النمو Dimilin في نسب قتل العمر الاول ليرقات *بعوض Culex pipiens*

التركيز (جزء بالمليون)	الوقت (ساعة)			قيمة LSD
	12	24	48	
0.0	0.00 ± 0.0	0.00 ± 0.0	0.00 ± 0.0	0.00
0.5	6.67 ± 26.67	6.67 ± 53.33	6.67 ± 73.33	* 23.07
1.0	6.67 ± 53.33	6.67 ± 73.33	6.67 ± 86.67	* 23.07
1.5	6.67 ± 73.33	6.67 ± 86.67	0.0 ± 100.00	* 18.83
قيمة LSD	* 23.07	* 23.07	* 18.83	---
* (P<0.05).				

*تدل على وجود فروق معنوية بين المعاملات المختلفة عند مستوى احتمال (P<0.05) بحسب اختبار اقل فرق معنوي (L.S.D)

2- تأثير الوقت والتركيزالمختلفة لمنظم النمو Dimilin للعمر اليرقي الثاني لبعوض *Culex pipiens*

اظهرت نتائج جدول (3) الى اعلى نسبة قتل للتركيز 0.5 جزء بالمليون بلغت جزء بالمليون بلغت 73.33% خلال 48 ساعة واقل نسبة قتل بلغت 20% خلال 12 ساعة ، واعلى نسبة قتل للتركيز 1.5 جزء بالمليون بلغت 86.67% خلال 48 ساعة واقل نسبة قتل بلغت 60% خلال 12 ساعة والتحليل الاحصائي اوضح فروقات معنوية بين التركيزين اعلاه وللاوقات المختلفة ، اما عند التركيز 1.0 جزء بالمليون فبلغت العلى نسبة قتل 60% واقل نسبة قتل بلغت 46.67% وبيبن التحليل الاحصائي عدم وجود فروقات معنوية للاوقات المختلفة . ونلاحظ مقاومة قليلة للعمر اليرقي الثاني اي انه اقل حساسية للعمر اليرقي الاول لمنظم النمو Dimilin ويلاحظ لم تتحقق نسبة القتل 100%.

وتختلف هذه النتائج الى ماجاء بها Mohsen(1986) حيث ان حساسية اليرقات تزداد بزيادة التعريض لمنظم النمو وكذلك ان اعلى نسبة لقتل اليرقات Cx.pipiens كانت 96% و 100% عند التركيزين 1.3 و 3.23 جزء بالمليون لمنظم النمو Dimilin بعد 3 ايام من التعريض.

وتتفق هذه النتائج مع Mulla (1995) في نفس التأثير على Cx.quinquefasciatus حيث كانت نسبة القتل 74.4%عند التركيز 0.1 جزء بالمليون حيث يسبب في تأخير تطور المراحل غير الناضجة .

جدول 3. تأثير الوقت والتركيز المختلفة لمنظم النمو Dimilin في نسبة قتل العمر الثاني ليرقات بعوض *Culex pipiens*

التركيز (جزء بالمليون)	وقت نسبة القتل			قيمة LSD
	12	24	48	
0.0	0.00 ± 0.0	0.00 ± 0.0	0.00 ± 0.0	0.00
0.5	0.00 ± 20.00	6.67 ± 53.33	6.67 ± 73.33	* 18.63
1.0	6.67 ± 46.67	6.67 ± 46.67	11.5 ± 60.00	29.78
1.5	0.00 ± 60.00	6.67 ± 66.67	6.67 ± 86.67	* 18.63
قيمة LSD	* 13.31	* 23.07	* 29.78	---
* (P<0.05).				

3- تأثير الوقت والتركيز المختلفة لمنظم النمو Dimilin في نسبة قتل يرقات العمر الثالث لبعوض *Culex pipiens*

تبين النتائج جدول (3) الى اعلى نسبة قتل للعمر اليرقي الثالث عند التركيز 0.5 جزء بالمليون بلغت 53.33% للوقت 48 ساعة واقل نسبة قتل بلغت 40% للوقت 12 ساعة ويبين التحليل الاحصائي عدم وجود فروقات معنوية للاوقات المختلفة ، واعلى نسبة قتل بلغت % للوقت 48 ساعة واقل نسبة قتل بلغت 40% للوقت 12 ساعة ويبين التحليل الاحصائي عدم وجود فروقات معنوية للاوقات المختلفة ، واعلى نسبة قتل بلغت 73.33% عند التركيز 1.5 جزء بالمليون للوقت 48 ساعة واقل نسبة قتل بلغت 46.67% للوقت 12 ساعة، واعلى نسبة قتل كانت 66.67% واقل نسبة قتل بلغت 33.33% للوقت 12 ساعة عند التركيز 1.0 جزء بالمليون ويبين التحليل الاحصائي الى وجود فروقات معنوية للتركيزين 1.0 ,1.5 جزء بالمليون وللاوقات المختلفة .

تتفق هذه النتائج مع ماجاء به Deul (1978) الى ان مركبات منظمات النمو لاتحدث على الموت السريع وانما يحث على تثبيط تخليق الكايتين وينفصل عن البشرة خلال عملية الانسلاخ.

وتختلف هذه النتائج الى ماتوصلت به نجوى (2004) توضح ان منظم النمو كان له تأثير قاتل ضد يرقات Cx.pipiens.وقد يعزى الاختلاف في النتائج الى اختلاف الوقت والظروف البيئية المختلفة وطريقة اجراء المعاملات.

جدول 4. تأثير الوقت والتركيز المختلفة لمنظم النمو Dimilin في نسبة قتل يرقات العمر الثالث لبعوض *Culex pipiens*

التركيز (جزء بالمليون)	الوقت (ساعة)			قيمة LSD
	12	24	48	
0.0	0.00 ± 0.0	0.00 ± 0.0	0.00 ± 0.0	0.00
0.5	0.00 ± 40.00	6.67 ± 53.33	6.67 ± 53.33	18.63
1.0	6.67 ± 33.33	6.67 ± 46.67	6.67 ± 66.67	* 23.07
1.5	6.67 ± 46.67	6.67 ± 66.67	6.67 ± 73.33	* 23.07
قيمة LSD	* 18.83	* 23.07	* 23.07	---
* (P<0.05).				

4 – تأثيرالوقت والتراكيزالمختلفة لمنظم النمو Dimilin في نسبة قتل يرقات العمرالرابع لبعوض *Culex pipiens*

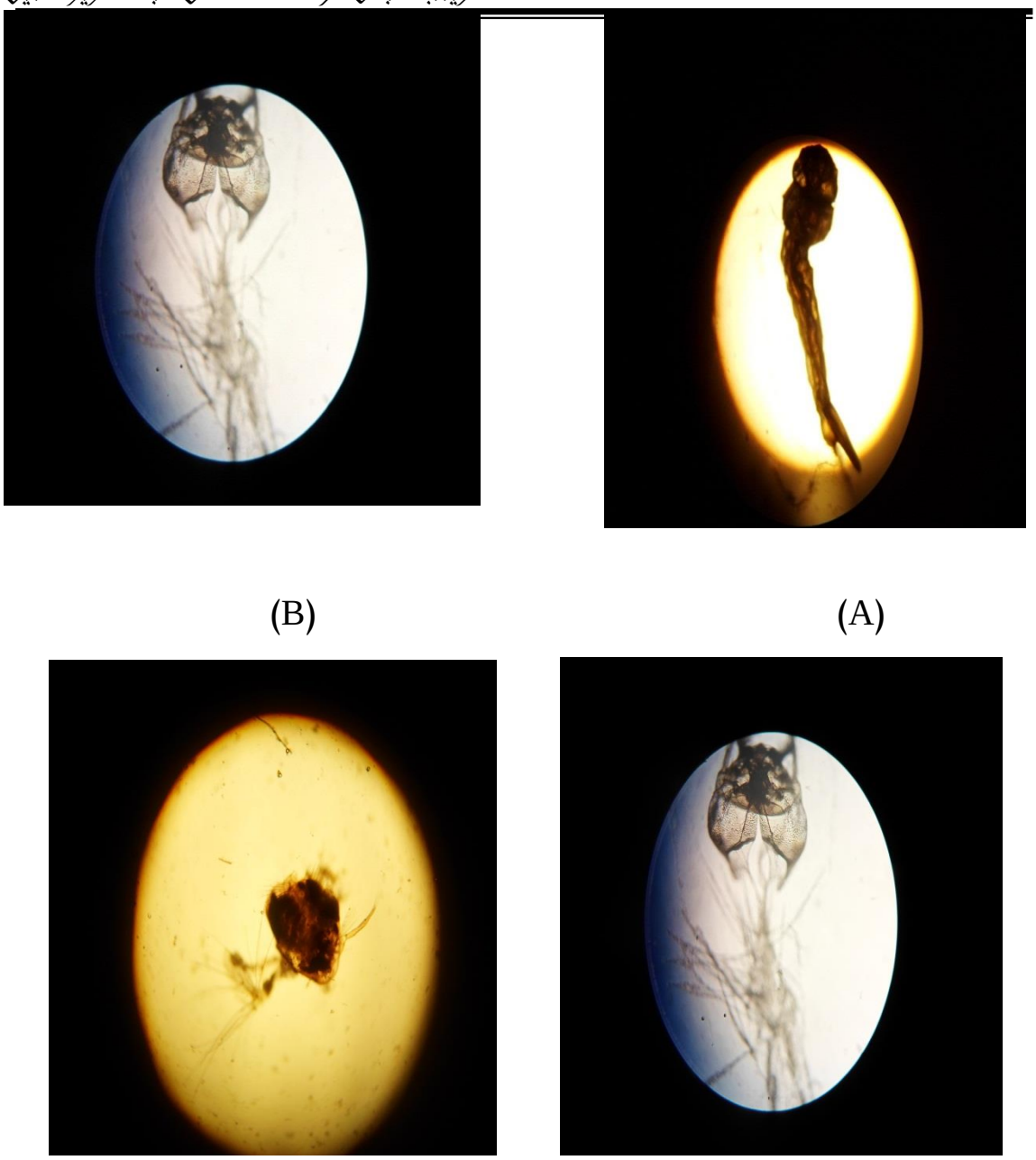
يبين جدول (5) الى ان اعلى نسبة قتل كانت للتركيز 1.5 جزء بالمليون بلغت 80% خلال 48 ساعة واقل نسبة قتل بلغت 53.33% للوقت 12 ساعة وبين التحليل الاحصائي عدم وجود فروقات معنوية للتركيز وللاوقات المختلفة، اما اعلى نسبة قتل بلغت للتركيزين 0.5, 1.0 جزء بالمليون 66.67%, 53.33% عالتوالي للوقت 48 ساعة، وان اقل نسبة قتل للتركيزين كانت متساوية 26.67% خلال 12 ساعة ويبين التحليل الاحصائي الى وجود فروقات معنوية بالنسبة للتركيزين وللاوقات المختلفة .

ونلاحظ حصول تشوهات مظهرية واضحة كتغير بجذع الجسم للبالغة البازغة من المعاملة وتشوه الرأس بوتكون انحف من البالغة الغير معاملة بمنظم النمو بالنسبة للعمر اليرقي الثالث والرابع كما موضح بالصورة(5) (B, C, E) حيث تتفق هذه النتائج الى ماتوصل به Prakash(1993) حيث اثبت ان لمنظم النمو تأثير سام المستعمل لمكافحة يرقات بعوض Cx.pipiens. ووجد Mulla(1995) بأن مركبات منظمات النمو لاتحث على الموت السريع ، وعند معاملة اليرقات بمنظم النمو سيؤدي الى قتلها خلال الانسلاخ وبهذا نلاحظ غياب العذارى اوحصول تشوهات لكل من اليرقات والعذارى والبالغات كما موضح بالصورة (6) وبالتالي سوف تفشل اليرقات والعذارى في ازالة الكيوتكل القديم ،واشاران نسبة قتل يرقات بعوض *Cx.quinquefacium* بلغت 74.4% عند تركيز 0.1 جزء بالمليون لمنظم النمو Dimilin.

وقد تعزى الاختلاف في نتائج هذه الدراسة الى طريقة اجراء الاختبارات والاختلاف في نوع البعوض وكذلك الاختلاف في عوامل الظروف البيئية .

جدول 5. تأثير الوقت والتراكيز المختلفة لمنظم النمو Dimilin في نسبة قتل يرقات العمر الرابع لبعوض *Culex pipiens*

التركيز (جزء بالمليون)	الوقت (ساعة)			قيمة LSD
	12	24	48	
0.0	0.00 ± 0.0	0.00 ± 0.0	0.00 ± 0.0	0.00
0.5	6.67 ± 26.67	6.67 ± 46.67	6.67 ± 53.33	* 23.07
1.0	6.67 ± 26.67	11.5 ± 40.00	6.67 ± 66.67	* 29.78
1.5	6.67 ± 53.33	11.5 ± 60.00	11.5 ± 80.00	35.24
قيمة LSD	* 23.07	* 35.24	* 29.78	---
* (P<0.05).				



(A) (B)

(C) (D)

صورة(5)(A): توضح يرقة طبيعية غير معاملة بمنظم النمو Dimilin
(B): يرقة معاملة بمنظم النمو نلاحظ تحلل طبقة الكيوتكل
(C): صورة توضح تحلل جسم اليرقة بالكامل
(D): صورة توضح تشوه رأس اليرقة المعاملة
قوة التكبير(40X)

5- تأثير الوقت والتراكيز المختلفة للمبيد الاحيائي Bti في نسبة قتل يرقات العمر الاول لبعوض *Culex.pipiens*

اظهرت النتائج في جدول (5) الى اعلى نسبة قتل بلغت 100% عند التركيز 6.25 $\times 10^{11}$ بوغ/مل للوقت 48 ساعة واقل نسبة قتل للتركيز نفسه 73.33% للوقت 12 ساعة، واعلى نسبة قتل للتركيزين 6.25×10^{9} , 6.25×10^{10} بوغ /مل بلغت 86.67للوقت 48 ساعة واقل نسبة قتل بلغت للتركيز 40%عند تركيز 6.25×10^{9}بوغ /مل، واقل نسبة قتل بلغت 53.33% عند التركيز 6.25×10^{10} بوغ /مل للوقت 12 ساعة كما مبين بالشكل (5) الى تأثير المبيد الاحيائي Bti وتأثيره في نسب قتل يرقات العمر اليرقي الاول، ويبين التحليل الاحصائي وجود فروقات معنوية بين المعاملات المختلفة وللاوقات المختلفة.

وهذا التأثير القاتل نتيجة لتأثيرات السمية التي تحدثها بكتريا Bti وتتفق هذه النتيجة الى ماجاء به Ibrahim (1990) القاتل لليرقات Cx.pipiens وتصل نسبة القتل 100% خلال 3 ايام عند التركيز 1.6×10^{3} بوغ/مل .

وكذلك تتفق الى ماجاء به Shoukry (1986) الى السمية القاتلة التي تنتجها بكتريا Bti لليرقات المعاملة حيث يؤثر على العمليات الفسيولوجية داخل القناة الهضمية مما يؤدي الى قتل اليرقات.

جدول 6. تأثير الوقت والتراكيز المختلفة للمبيد الاحيائي Bti في نسب قتل يرقات العمر الاول لبعوض *Culex pipines*

التركيز Bti (بوغ/مل)	الوقت (ساعة)			قيمة LSD
	12	24	48	
0.0	0.00 ± 0.0	0.00 ± 0.0	0.00 ± 0.0	0.00
$10^{9} \times 6.25$	11.5 ± 40.00	6.67 ± 73.33	6.67 ± 86.67	* 29.78
$10^{10} \times 6.25$	6.67 ± 53.33	6.67 ± 73.33	6.67 ± 86.67	* 23.07
$10^{11} \times 6.25$	6.67 ± 73.33	0.0 ± 100.00	0.0 ± 100.0	* 13.31
قيمة LSD	* 29.78	* 18.83	* 18.83	---
* (P<0.05).				

* تدل على وجود فروق معنوية بين المعاملات المختلفة عند مستوى احتمال (P<0.05) بحسب اختبار اقل فرق معنوي (L.S.D)

6- تأثيرالوقت والتراكيز المختلفة للمبيد الاحيائي Bti في نسبة قتل يرقات العمر الثاني لبعوض *Culex pipiens*

يبين جدول (6) الى انخفاض المقاومة ليرقات العمر اليرقي الثاني حيث بلغت اعلى نسبة قتل 100% بالنسبة للتركيزين 6.25×10^{10} ،6.25×10^{11} بوغ/ مل للوقت 24 ساعة واقل تركيز بلغت10% عند التركيز 6.25×10^{10}بوغ / مل خلال 12 ساعة و93.33% للتركيز ،6.25×10^{11} بوغ/ مل خلال نفس الفترة وتساوت جميع نسب القتل وبلغت 100% للوقت 48 ساعة ويبين التحليل الاحصائي وجود فروق معنوية للتركيزين 6.25×10^{9} ،6.25×10^{10} بوغ/ مل وعدم وجود فروق معنوية للتركيز 6.25×10^{11} بوغ/ مل. وهذه النتائج مبينة بالشكل (6) توضح ارتفاع نسب القتل.

وجاءت النتائج متفقة مع ماكده نتائج Lee واخرون (2003) ان بكتريا Bti تعطي نسبة قتل تتراوح 85 – 100% ضد يرقات بعوض Culex pipiens ، و اثبت هذه النتائج الباحثان Poopathi و Abidha (2010) حيث اظهرت نسبة قتل 96% من يرقات البعوض.

جدول 6. تأثير الوقت والتراكيز المختلفة للمبيد الاحيائي Bti في نسب قتل يرقات العمر الثاني لبعوض *Culex pipiens*

تركيز Bti (بوغ /مل)	الوقت (ساعة)			قيمة LSD
	12	24	48	
0.0	0.00 ± 0.0	0.00 ± 0.0	0.00 ± 0.0	0.00
$10^{9}\times6.25$	± 53.33 6.67	± 93.33 6.67	0.0 ± 100.0	* 18.83
$10^{10}\times6.25$	± 60.00 11.5	0.0 ± 100.0	0.0 ± 100.0	* 23.07
$10^{11}\times6.25$	± 93.33 6.67	0.0 ± 100.0	0.0 ± 100.0	13.31
قيمة LSD	* 29.78	* 13.31	* 10.00	---
* ($P<0.05$).				

7- تأثيرالوقت والتراكيز المختلفة للمبيد الاحيائي Bti في نسبة قتل يرقات العمر الثالث لبعوض *Culex pipiens*

يبين من الجدول (7) وجود فروقات معنوية بالنسبة للتراكيز الثلاثة المختلفة وللفترات المعرضة لها اليرقات.

واعلى نسبة قتل بلغت 100% عند التركيز المنخفض للمبيد الاحيائي 6.25×10^9 بوغ/مل ولفترة تعريض 48 ساعة وكذلك بالنسبة للتركيزين 6.25×10^{10} و 6.25×10^{11} بوغ/مل ولنفس الفترة التعريض .

واقل نسبة قتل كانت 40% للتركيز 6.25×10^9 بوغ/مل خلال 12 ساعة ، واقل نسبة قتل للتركيزين 6.25×10^{10} و 6.25×10^{11} بوغ/مل بلغت 53.33% ، 80% خلال 12 ساعة.وتساوت نسب القتل 73.33% للتركيزين 6.25×10^9 ،6.25×10^{10}بوغ/مل للوقت 24 ساعة.

فنلاحظ من النتائج تأثر يرقات الطور الثالث بعزلات بكتريا Bt وهذه النتائج جاءت متفقة مع جميل (2007) ، وبلغت معدل القتل ضمن مدى (91 – 100) بأستخدام تراكيز مختلفة من عزلات محلية من العراق ضد يرقات الطور الثالث لبعوض Cx pipiens.

جدول 7. تأثير الوقت والتراكيز المختلفة للمبيد الاحيائي Bti في نسبة قتل يرقات العمر الثالث لبعوض *Culex pipiens*

التركيز (مل)	الوقت (ساعة)			قيمة LSD
	12	24	48	
0.0	0.00 ± 0.0	0.00 ± 0.0	0.00 ± 0.0	0.00
6.25×10^9	0.00 ± 40.00	6.67 ± 73.33	0.0 ± 100.0	* 13.31
6.25×10^{10}	6.67 ± 53.33	6.67 ± 73.33	0.0 ± 100.0	* 18.83
6.25×10^{11}	0.00 ± 80.00	6.67 ± 93.33	0.0 ± 100.0	* 13.31
قيمة LSD	* 13.31	* 23.07	* 10.00	---
* ($P<0.05$).				

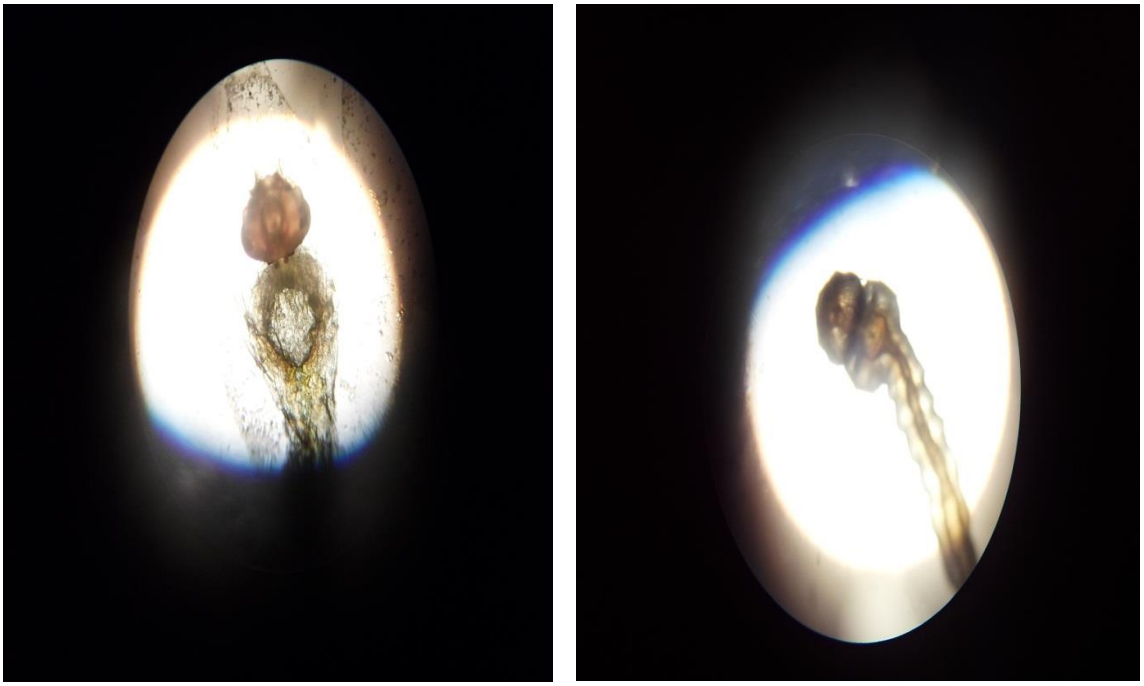
8- تأثيرالوقت والتراكيز المختلفة للمبيد الاحيائي Bti في نسب قتل يرقات العمر الرابع لبعوض *Culex pipiens*

اوضحت النتائج الظاهرة في جدول (8) للعمر اليرقي الرابع الى اعلى نسبة قتل بلغت 100% للتركيزين 6.25×10^{9}، 6.25×10^{11} بوغ/مل للوقت 48 ساعة. واقل نسبة قتل بلغت 33.33% للتركيز 6.25×10^{9} بوغ/خلال 12 ساعة ، واقل نسبة قتل بلغت 73.33% للتركيز 6.25×10^{11} بوغ/مل خلال 12 ساعة، ونلاحظ عند الوقت 24 ساعة قد تساوت نسب القتل بالنسبة للتركيزين 6.25×10^{10} ، 6.25×10^{11} بوغ/مل في حين بلغت اعلى نسبة قتل للتركيز 6.25×10^{10} بوغ/مل وللوقت 48 ساعة وكما مبين بالشكل (8) يبين ارتفاعع نسبة القتل لكلا التركيزين 6.25×10^{9}، 6.25×10^{11}بوغ/مل .ويؤدي القتل الى تشوه اليرقات المعاملة بالبكتريا وتشوه القناة الهضمية كما موضح بالصورة(6)، اما اليرقات المتبقية لطور العذارى فأنها تموت عند طور البالغات نتيجة للتشوه الذي لجسم الحشرة كما مبين بالصورة (7)، وهذه النتيجة جاءت متفقة مع(2004) ME و AS حيث لاحظ تأثير البكتريا على العذارى عند بزوعها للبالغات حيث لاحظ حدوث تشوهات بالحجم للبالغات حيث يكون حجم البالغات غير طبيعي مما يؤدي الى موتها عند البزوغ مباشراً .

والنتائج تتفق مع ماتوصل اليه Hafez (2000) و(2005) Lima *et al* حيث بلغت نسبة القتل 95% لبعوض Cx.quinquefasciatus خلال فترة 24 ، 48 ساعة عند تعرضه للبكتريا Bti خلال العمر اليرقي الرابع .

جدول 8. تأثيرالوقت والتراكيز المختلفة للمبيد الاحيائي Bti في نسب قتل يرقات العمر الرابع لبعوض *Culex pipiens*

التركيز Bti (بوغ/مل)	الوقت (ساعة)			قيمة LSD
	12	24	48	
0.0	0.00 ± 0.0	0.00 ± 0.0	0.00 ± 0.0	0.00
$10^{9}\times6.25$	6.67 ± 33.33	6.67 ± 66.67	0.0 ± 100.0	* 18.83
$10^{10}\times6.25$	6.67 ± 66.67	0.0 ± 80.00	6.67 ± 93.33	* 18.83
$10^{11}\times6.25$	6.67 ± 73.33	0.0 ± 80.0	0.0 ± 100.0	* 13.31
قيمة LSD	* 23.07	* 13.31	* 13.31	---
* ($P<0.05$).				



(B) (A)

صورة(6): (A): يرقة غير معاملة بالمبيد الاحيائي Bti قوة التكبير(40x).
(B): يرقة معاملة بالمبيد الاحيائي Bti نلاحظ تحلل القناة الهضمية قوة التكبير (40x)

الأستنتاجات

1- أشارت الدراسة الى تأثير منظم النمو Dimilin بالتراكيز المختلفة على نسبة قتل الأعماراليرقية لبعوض *Culex pipiens* وخاصة بالتركيز المرتفع 1.5 جزء بالمليون وبلغت نسبة القتل 100%.

2- تأثير منظم النمو على تكوين طبقة الكايتين حيث يعتبر مثبط لتصنيع الكايتين أثناء تطور اليرقات المعاملة مما يؤدي الى تشوه اليرقات للأعمار اليرقية المختلفة وبالتالي تشوه العذارى والبالغات البازغة من العذارى الناتجة من يرقات المعاملة.

3- تظهر النتائج أن المبيد الأحيائي *Bacillus thuringiensis israelensis* ولجميع التركيز المستخدمة في الدراسة أكثر فعالية من تأثير منظم النمو Dimilin

المصادر العربية

- ابو الحب ، جليل كريم . 1979 . الحشرات الطبية والبيطرية في العراق (القسم النظري) مطبعة بغداد. ص 450
- البندر، ايناس حاتم(2013). تقويم كفاءة بكتريا Bacillus thuringeneasis المعزولة محليا والمبيد الاحيائي في مكافحة بعوض Culex quinquefasciatus Say(Diptera: culicidae).
- . العادل ، خالد محمد . 2006 . مبيدات الافات مفاهيم اساسية ودورها في المجالين الزراعي والصحي . الطبعة الاولى ، كلية الزراعة _ جامعة الموصل . العراق . 422 صفحة.
- جميل ، جاسر محمد . 2007 .تقييم كفاءة البكتريا Bacillus thuringiensis المعزولة محلياً كمبيد حيوي على الحشرات . اطروحة دكتوراه . كلية الزراعة . جامعة بغداد .

المصادر الاجنبية

- Aube, C, and Gangnon, C. (1969). Effect of carbon on and nitrogen nutrition on growth and sporulation of *Trichoderma viride*. Pers. Exfires, Canadian J. Microbiol, 703 – 706Deul, D.H.; B.J.Dejong and K.Jam(1978) Inhibition of chitin synthesis by two 1-(2,6-disubstituted benzoyl) -3-phenylurea Insecticides. Pesti. Biochem. Physiol. 8: 98-105.
- Hafez, G. A. (2000) Extended effect of *Bacillus thuringiensis* H-14 on *culex pipien* adult surviving larval treatment. J. Egyp. SOC. Parasitol., 30(2): 377-386.
- Howard, A. F. V.; Koenraadt, C. J. M.; Farenhoorrst, M.; Knols, B. O. J. and Takken, W. (2010). Pyrethroid resistance in *Anpheles gambiae* leads to increased susceptibility to the entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana*. Malaria Journal, 9:168.
- Ishii , T. and Ohba , M. 1993 . Diversity of Bacillus thuringiensis environmental isolates showing Larvicidal activity Specific for mosquito . Journal of General Microbiology 139 :2849 – 2854 .
- Ibrahim (1990) Factors affecting performance of Bacillus thringiensis H-14 on culex pipiens larvae (Diptera: culicidae) with preference to its Joint action with four insecticides. Bull Ent. Egypt. Econ. Ser. 18:59-71. J. Sanitary Zoo., 28 (3): 333-336.
- Lee L ; Saxena , D ; Stotzky,G . 2003 . Activity of free and Clay_ bound insecticidal proteins from Bacillus thuringiensis Sub. Israelensis against the Mosquito Culex pipiens . Appl Environmicrobiol , 69(7): 4111-5. 44 .
- Lima , Josê , Bento ; Nilson , Vieira de Melo ; Denise , Valle . 2005 . Residual effect of tow Bacillus thuringiensis var israelensis Products Assayed against Aedes aegypti (Diptera : Culicidae) in Laboratory and outdoors at Rio de Janeiro , Brazil . Rev . Inst . Med . trop . S. Paulo . 47 (3) : 125 – 130 .

- ME . Zayed ; Bream , AS . 2004 . Biossay of som Egyptian isolates of Bacillus thuringiensis against Culex pipiens (Diptera : Culicidae) . Commun Agric . Appl Biol . Sci . 69 (3) : 219 – 28 .
- Mohsen , Z.H. ; N.A. Ouda ; A. AL- Faisal and N.S. Mehdi . 1985 . Toxicity of 16 : 273 – 282 .
- Mulla, M. S. (1995) The future of insect growth regulators in vectors control. J. Am. Mosq. Control Assoc., 11(2): 269-273.
- Negwa, E. Ahmed; Mohsen M. Negm El- Din; Lubna, M. El- Akabawy; Hanem, F.Khater 1rst. Ann. Confr., FVM., Moshtohor, Sept. 2004: 22-42.
- Parakash, A (1993). Differential suscepitibility of Variou life stages of mosquitoes to certain chitin synthesis inhibitors. Entomon. 18(3 and 4): 151-157.
- Poopathi , Subbiah and S. Abidha . 2010 . Mosquitocidal Bacterial toxins (Bacillus sphaericus and *Bacillus thuringiensis* serovar israelensis) Mode of action , cytopathological effects and Mechanism of resistance . Journal of Physiology and Pathophsiology . Vol . 1 (3) . pp. 22 – 38 .
- Rajasekar , S. and Jebanesan , A. 2012 . Efficacy of IGRs Compound Novaluron and Buprofezin agains Culex quinquefasciatus Mosquito larvae and pupal Control in pools , drains and tanks . Internation Journal of Research in Biological Sciences . ISSN 2249 – 9687 .
- Shoukry, M. A. (1986). Effect of the biological insecticide, *Bacillus thuringensis serotype H-14* on mosquito transmission of diseases. Ph. D. Degree Entomol. Dep. Fae. Science Ain Shams Univ.; cairo.
- Shaalan, E. A. and Canyon, D. V. (2009). Review paper aquatic insect predators and mosquito control. Tropical Biomedicine, 26(3): 223-261.
- Sivagnaname , N. and Kalyanasundaram , M . 2004 . Laboratory Evaluation of methanolic extract of Atlantia monophlla (Family : Rutaceae) against immature stages of mosquito and Non – target organisms . J. Mem . Inst. Oswaldocruz . 99 (1) : 115- 118

ABSTRACT

This study was conducted at the Researches Laboratory / Animal House / College of Science / Mustansiriyah University to evaluate the efficiency of the growth regulator Dimilin Chitin synthesis inhibitor by three different concentrations of 0.5, 1.0 and 1.5 ppm and efficiency suspension bacteria *Bacillus thuringiensis israelensis* at concentrations 6.25×10^9, 6.25×10^{10} and 6.25×10^{11} spores / ml at different instars of larval mosquito *Culex pipiens*.

The highest mortality reached 100% of the growth regulator at concentration1.5 ppm for a period of 48 hours and lowest mortality was 26.67 % for a period of 12 hours for the concentration of 0.5 ppm for the first larval instar, respectively. The highest mortality was86.67 % for the growth regulator at concentration1.5 ppm within 48 hours and lowest mortality was 20 % during the 12hours at concentration of 0.5 ppm for the second larval instar, respectively. The results showed that the highest mortality was73.33 % during the 48hours at concentration of 1.5 ppm and lowest mortality was33.33 % for the concentration of 1.0 ppm during the 12 hours of third larval instar, respectively. The highest mortality of the fourth larval instar reached 80 % in 48 hours and lowest mortality was 26.67 % at two concentrations 0.5 and 1.0 ppm for Dimilin.

The results showed that the highest mortality of bio-pesticide Bti was100% of the first larval instar at concentration 6.25×10^{11} spores / ml within 24 to 48 hours and lowest mortality was 40% of the concentration 6.26×10^9 spore / ml within 12 hours. The highest mortality of second larval instar was 100% at two concentrations 6.25×10^{10} and 6.26×10^{11} spores / ml within 24 and 48 hours, respectively, and lowest mortality was 53.33% of the concentration of 6.25×10^9 spore / ml within 12 hours and the highest mortality reached 100% for the third and fourth larval instars respectively, during the 48hours at concentration of 6.25×10^{11} spore /ml, The lowest mortalities at concentration 6.25×10^9 spore / ml were 40 and 33. 33% for the same two instars, respectively, within 12 hours.