جامعة بغداد
كلية التربية للعلوم الصرفة ابن الهيثم
قسم علوم الحياة

المكافحة الاحيائية لبعض أدوار الذبابة المعدنية *Chrysomya albiceps* (Wiedemann,1819) (Diptera:Calliphoridae) باستخدام الفطر *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin والبكتريا *Bacillus thuringiensis* Berliner مختبرياً

رسالة مقدمة الى

مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة (ابن الهيثم) – جامعة بغداد

وهي جزء من متطلبات نيل درجة ماجستير علوم في

علوم حياة / علم الحيوان/علم الحشرات

من قبل

زهراء سعد نوشي

بكالوريوس علوم حياة/ جامعة بغداد 2010

بأشراف

الأستاذ المساعد الدكتورة نوال صادق مهدي

جماد الأولى 1436هـ

اذار 2015م

www.manaraa.com

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

﴿يَا أَيُّهَا النَّاسُ ضُرِبَ مَثَلٌ فَاسْتَمِعُوا لَهُ إِنَّ الَّذِينَ تَدْعُونَ مِن دُونِ اللَّهِ لَن يَخْلُقُوا ذُبَابًا وَلَوِ اجْتَمَعُوا لَهُ وَإِن يَسْلُبْهُمُ الذُّبَابُ شَيْئًا لَّا يَسْتَنقِذُوهُ مِنْهُ ضَعُفَ الطَّالِبُ وَالْمَطْلُوبُ ﴿73﴾﴾

صَدَقَ اللَّهُ العَلِيُّ العَظِيمُ

(سورة الحج : الاية 73)

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

إقرار المشرف

أشهد بأن اعداد هذه الرسالة تم تحت اشرافي في قسم علوم الحياة/ كلية التربية للعلوم الصرفة – ابن الهيثم / جامعة بغداد، وهي جزء من متطلبات نيل درجة ماجستير علوم في علوم الحياة / علم الحيوان/ علم الحشرات.

التوقيع:

اسم المشرف: د. نوال صادق مهدي

المرتبة العلمية: أستاذ مساعد

العنوان: قسم علوم الحياة/ كلية التربية للعلم الصرفة/ ابن الهيثم

التاريخ:

توصية رئيس قسم علوم الحياة

استناداً إلى التوصية أعلاه من قبل المشرفة الأستاذ المساعد الدكتورة نوال صادق مهدي أرشح هذه الرسالة إلى لجنة المناقشة لدراستها وبيان الرأي فيها.

التوقيع:

الاسم: د. نهلة عبد الرضا البكري

المرتبة العلمية: أستاذ

العنوان: كلية التربية للعلوم الصرفة/ ابن الهيثم – جامعة بغداد

التاريخ:

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

إقرار لجنة المناقشة

نحن أعضاء لجنة المناقشة الموقعون ادناه ، نشهد اننا اطلعنا على الرسالة الموسومة (**المكافحة الاحيائية لبعض أدوار الذبابة المعدنية *Chrysomya albiceps* (Wiedemann,1819) (Diptera : Calliphoridae) باستخدام الفطر *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) Sorokin و البكتريا *Bacillus thuringiensis* Berliner مختبرياً**) من قبل الطالبة **زهراء سعد نوشي** و هي جزء من متطلبات نيل درجة ماجستير علوم في علوم الحياة / علم الحيوان / علم الحشرات و قد ناقشنا الطالبة في محتوياتها و في ما له علاقة بها ، و ذلك بتاريخ 5 / 3 / 2015 ووجدناها مستوفية لمتطلبات نيل درجة ماجستير و عليه نوصي بقبول الرسالة بتقدير **امتياز** .

التوقيع:

الاسم: حسن سعيد الاسدي

اللقب العلمي: استاذ

(رئيس اللجنة)

التوقيع:

الاسم: باسم شهاب حمد

اللقب العلمي: رئيس باحثين

(عضـــو)

التوقيع:

الاسم: ليلى جبار البهادلي

اللقب العلمي: استاذ مساعد

(عضو)

التوقيع:

الاسم: نوال صادق مهدي

اللقب العلمي:استاذ مساعد

و(عض (عضو/المشرف)

مصادقة عمادة كلية التربية للعلوم الصرفة / ابن الهيثم

التوقيع:

الاسم: د. خالد فهد علي

اللقب العلمي: أستاذ مساعد

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

إهداء

إلى الماس الذي لا ينكسر . . نبع العطاء الذي زرع الاخلاق بداخلي

وعلمني طرائق الإرتقاء . . . والدي الطيب

الزهرة التي لا تذبل . . نبع الحنان . . التي ساندتني ووقفت الى جانبي

حتى وصلت الى هذه المرحلة من التقدم والنجاح . . . إلى من تعجز الكلمات

عن وصفها وتسكن أمواج البحار لسماع اسمها . . . والدتي

ملائكة الأرض . . . شقائق النعمان . . . الذين احتضنوني وزرعوا الورد

في طريقي . . . إخوتي وأخواتي

إلى كل من قال لا إله إلا الله محمد رسول الله من أبناء وطني الجريح أهدي هذا الجهد المتواضع

١٤٣٥/٥/١٢

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

شكر وتقدير

الحمد الله رب العالمين والصلاة والسلام على اشرف الأنبياء والمرسلين وآله الاطهار .

الأن وانا في المرحلة الأخيرة من كتابة رسالتي أتقدم بشكري وتقديري الى عمادة كلية التربية للعلوم الصرفة / ابن الهيثم لاتاحة الفرصة لاكمال دراستي والى الأستاذة الدكتورة نهلة عبد الرضا البكري رئيس قسم علوم الحياة لرعايتها الكريمة لطلبة الدراسات العليا .

كما يشرفني ان أتقدم بفائق شكري واحترامي الى الدكتورة نوال صادق مهدي / أستاذ مساعد / كلية التربية للعلوم الصرفة – ابن الهيثم ،لاقتراحها موضوع الرسالة ولجهودها القيمة في تقديم التوجيهات والارشادات العلمية المتميزة والمتابعة المستمرة طيلة مدة البحث .

كما اقدم شكري و تقديري الى الأستاذ المساعد الدكتور رزاق شعلان عكل و الدكتورة هناء هاني في مركز بحوث ومتحف التاريخ الطبيعي / جامعة بغداد للمساعدة في تشخيص الحشرة الخاصة بالبحث و تزويدهما ببعض المصادرالعلمية . كما أتقدم بشكري وتقديري الى الأستاذ المساعد الدكتور حسام الدين عبد الله محمد / كلية الزراعة / قسم وقاية النبات لتزويده بالمبيد البكتيري ، ورئيس باحثين الدكتور هادي مهدي عبود دائرة البحوث الزراعية والبايولوجية / وزارة العلوم و التكنلوجيا لتزويده بالمبيد الفطري ، كما يدعوني العرفان و الجميل أن أتقدم بشكري و تقديري الى الدكتور محمد مهدي / كلية التربية للعلوم الصرفة – ابن الهيثم / قسم علوم الحياة لمساعدتي في تصوير النماذج ، و خالص شكري و تقديري الى الدكتور عامر مرحم العامري / أستاذ مساعد / فرع الطفيليات في كلية الطب البيطري / جامعة بغداد لتقديمه المشورة العلمية و بعض المصادر العلمية ، وجزيل الشكر و التقدير الى الأستاذ الدكتور نصر نوري الانباري / الاستشاري الاحصائي في قسم الانتاج الحيواني / كلية الزراعة / جامعة بغداد للمساعدة في اجراء التحليل الاحصائي ، و الأستاذ ذو الفقار ليث عز الدين / كلية الزراعة / قسم وقاية النبات والست وفاء برغش عبيد والسيد عمر عبد الله كاظم لدعمهم واسنادهم لي طيلة مدة البحث .

كذلك أتقدم بخالص الشكر الى جميع افراد عائلتي لتعاونهم معي على اكمال دراستي وتوفيرهم ما يلزم لاتمام الدراسة والبحث . شكري وتقديري الى كل من ساعدني بنصح أو مشورة وفاتني ذكره .. والله ولي التوفيق.

زهراء

المنارة للاستشارات

www.manaraa.com

الخلاصة

درس تأثير تراكيز متسلسلة من معلق ابواغ الفطر *Metarhizium anisopliae* و تراكيز متسلسلة من معلق بكتريا *Bacillus thuringiensis israelensis* في بعض أدوار حياة الذبابة المعدنية التابعة للنوع *Chrysomya albiceps* مختبرياً .

أوضحت النتائج إن أدوار الحشرة حساسة للفطر. وإن معاملة غذاء يرقات الطور الثاني ورشها بالتراكيز 2.8×10^{6} ، 2.8×10^{7}، 2.8×10^{8} بوغ/مل أدى الى حصول نسب هلاك تراكمية كلية معتمدة على التركيز والزمن مقدارها 16.60، 46.67، 53.30% على التوالي. وقد سجلت بعض التشوهات المظهرية في اليرقات المصابة الميتة تمثلت بانكماش الجسم احياناً أو اسوداده.

اظهر الفحص المجهري للمقاطع النسجية المتسلسلة لبعض اليرقات المصابة الميتة التصاق ابواغ الفطر على جدار جسم اليرقة ونمو خيوط الفطر عبر عضلات وتجويف الجسم وتفكك أعضاء الجسم الداخلية.

إن معاملة عذارى الحشرة بطريقة الرش بتراكيز معلق ابواغ الفطر المذكورة انفاً سجلت نسب هلاك تراكمية مقدارها 13.33، 26.67، 33.33% على التوالي وبذلك فأن نسب بزوغ البالغات تراوحت بين 66.67 – 86.67 % مقارنة بنسبة بزوغ البالغات في معاملة السيطرة 96.67%.

أظهرت نتائج الدراسة إن معاملة البالغات بطريقة الرش بالتراكيز آنفة الذكر من معلق ابواغ الفطر سجلت نسب هلاك مقدارها 46.67، 56.67، 70 % على التوالي بعد أسبوع من المعاملة.

أوضحت نتائج تأثير تراكيز متسلسلة من معلق المستحضر البكتيري المسمى Antrol لبكتريا *B. thuringiensis israelensis* في يرقات الطور الثاني وبالغات الذباب التابع للنوع *Ch. albiceps* مختبرياً ، اذ بينت النتائج إن يرقات الطور الثاني حساسة لهذه البكتريا وإن معاملة غذائها بالتراكيز 100، 200، 500، 1000، 2000 جزء بالمليون أدى الى حصول نسب هلاكات تراكمية لليرقات معتمدة على التركيز والزمن تراوحت بين 30 – 63.33% وسجلت نسب هلاكات تراكمية

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

كلية بعد مرور 12 يوماً من المعاملة مقدارها 53.30، 56.60، 60.00 ، 73.30 و 76.60% على التوالي ووجد إن نسب بزوغ البالغات من اليرقات المعاملة انخفض بشدة. وإن هذه النسبة كانت 26.67، 23.33 % عند معاملة غذاء اليرقات بالتركيزين 1000 و2000 جزء بالمليون على التوالي في حين كانت نسبة البزوغ في معاملة السيطرة 96.67 %. إن معاملة غذاء البالغات بتراكيز من معلق البكتريا سجل بعد أسبوع نسب هلاك تراوحت بين 33.33 – 73.33 % عند المعاملة بالتراكيز 100 – 2000 جزء بالمليون على التوالي.

أوضحت نتائج دراسة معاملة غذاء يرقات الطور الثاني بمزيج (توليفة) من تركيزين احدهما من معلق الفطر (2.8×10^6 أو 2.8×10^7 بوغ / مل) والاخر من معلق البكتريا (100 أو 200 جزء بالمليون) ورش اليرقات بأحد تركيزي الفطر يؤدي الى حصول نسب هلاك اسرع و اعلى من معاملة غذاء اليرقات ورشها بمعلق الفطر لوحده أو معلق البكتريا لوحده وإن التأثير كان تآزرياً.

وقد وجد إن استخدام توليفة من تركيز 2.8×10^6 بوغ/مل + 100 جزء بالمليون (معلق فطر ومعلق بكتريا على التوالي سميت توليفة A) سجل نسب هلاك في اليرقات المعاملة بلغت 30.00 % بعد مرور يوم واحد من المعاملة وإن نسبة الهلاكات التراكمية الكلية كانت 66.67 % . وأظهرت النتائج إن اعلى نسب هلاك سجلت عند المعاملة بالتوليفة B المتضمنة مزيج من تركيز 2.8×10^6 بوغ/مل + 200 جزء بالمليون (معلق فطر + معلق بكتريا على التوالي) إذ بلغت نسب الهلاك الكلية لليرقات المعاملة 86.67 % و نتيجة لذلك كانت نسبة البالغات البازغة 13.33 % في حين إن نسبة البزوغ في معاملة السيطرة كانت 96.67 % وعليه فأن استعمال تراكيز من المعلقين معاً بشكل توليفات كان ذا فعل تآزري.

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

((قائمة المحتويات))

التسلسل	الموضوع	الصفحة
1	الفصل الأول / المقدمة واستعراض المراجع	
1.1	المقدمة	1
2.1	استعراض المراجع	4
1.2.1	الذباب المعدني نوع *Chrysomya albiceps*	4
1.1.2.1	الموقع التصنيفي	4
2.1.2.1	نبذة عن حياتية وبيئية ذبابة *Ch. albiceps*	4
3.1.2.1	أهمية الذباب المعدني نوع *Ch. albiceps*	10
4.1.2.1	طرائق مكافحة الذباب المعدني	14
1.4.1.2.1	المكافحة الجرثومية Microbial Control	18
1.1.4.1.2.1	المكافحة الجرثومية باستخدام الفطريات	18
1.1.1.4.1.2.1	الفطر *Metarhizium anisopliae*	22
2.1.1.4.1.2.1	نبذة مختصرة عن الفطر *M. anisopliae*	22
3.1.1.4.1.2.1	إمراضية وتطفل الفطر *M. anisopliae* على حشرات رتبة ثنائية الأجنحة Diptera	25
4.1.1.4.1.2.1	انزيمات وسموم الفطر *M. anisopliae*	27
5.1.1.4.1.2.1	آلية الإصابة بالفطر *M. anisopliae*	29
6.1.1.4.1.2.1	اعراض الإصابة بالفطر *M. anisopliae*	31
7.1.1.4.1.2.1	العوامل المؤثرة في نمو وإمراضية الفطر *M. anisopliae*	32
8.1.1.4.1.2.1	المستحضرات التجارية للفطر *M. anisopliae*	33
2.1.4.1.2.1	المكافحة الجرثومية باستخدام البكتريا	35
1.2.1.4.1.2.1	بكتريا *Bacillus thuringiensis*	37
2.2.1.4.1.2.1	نبذة مختصرة عن بكتريا *B. thuringiensis* Berliner	37
3.2.1.4.1.2.1	المواد السامة لبكتريا *B. thuringiensis*	40
4.2.1.4.1.2.1	إمراضية بكتريا *B. thuringiensis israelensis* لحشرات رتبة ثنائية الأجنحة Diptera	41
5.2.1.4.1.2.1	آلية تأثير بكتريا *B. thuringiensis*	44

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

6.2.1.4.1.2.1	اعراض الإصابة بالبكتريا	46
7.2.1.4.1.2.1	العوامل المؤثرة في إمراضية البكتريا	47
8.2.1.4.1.2.1	المستحضرات التجارية للبكتريا	47
2	**الفصل الثاني / المواد وطرائق العمل**	
1.2	المواد والأجهزة المستعملة	49
1.1.2	المواد الكيميائية والأوساط الزرعية	49
2.1.2	الأجهزة المستعملة	50
2.2	تربية مستعمرة ذبابة *Chrysomya albiceps* (Wiedemann, 1819)	51
3.2	تنمية مستعمرة الفطر *M. anisopliae* مختبرياً	52
1.3.2	حساب عدد الابواغ وتحضير تراكيز متسلسلة من معلق ابواغ الفطر *M. anisopliae*	54
2.3.2	دراسة تأثير معلق ابواغ الفطر *M. anisopliae* في أدوار ذبابة *Ch. albiceps*	55
1.2.3.2	دراسة تأثير تراكيز معلق ابواغ الفطر *M. anisopliae* في يرقات الطور الثاني لذبابة *Ch. albiceps*	55
2.2.3.2	دراسة تأثير معلق ابواغ الفطر *M. anisopliae* في عذارى ذبابة *Ch. albiceps*	56
3.2.3.2	دراسة تأثير معلق ابواغ الفطر *M. anisopliae* في بالغات ذبابة *Ch. albiceps*	57
4.2	دراسة تأثير تراكيز من المبيد البكتيري Antrol في يرقات وبالغات ذبابة *Ch. albiceps*	58
1.4.2	تحضير تراكيز متسلسلة من معلق المبيد البكتيري Antrol	58
2.4.2	دراسة تأثير تراكيز متسلسلة من معلق البكتريا *B. thuringiensis israelensis* في يرقات الطور الثاني لذبابة *Ch. albiceps*	58
3.4.2	دراسة تأثير تراكيز متسلسلة من معلق البكتريا *B. thuringiensis israelensis* في بالغات ذبابة *Ch. albiceps*	59

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

5.2	دراسة تأثير توليفات من تركيزين من معلق ابواغ الفطر *M. anisopliae* وتركيزين من معلق البكتريا *B. thuringiensis israelensis* في يرقات الطور الثاني لذبابة *Ch. albiceps*	60
1.5.2	تحضير التراكيز المستخدمة في دراسة تأثير توليفات من معلق ابواغ الفطر *M. anisopliae* ومعلق البكتريا *B. thuringiensis israelensis*	60
2.5.2	دراسة تأثير توليفات من تركيزين من معلق ابواغ الفطر *M. anisopliae* وتركيزين من معلق البكتريا *B. thuringiensis israelensis* في يرقات الطور الثاني لذبابة *Ch. albiceps*	61
6.3	التحليل الاحصائي	62
3	**الفصل الثالث / النتائج والمناقشة**	
1.3	دراسة تأثير تراكيز متسلسلة من معلق ابواغ الفطر *Metarhizium anisopliae* في يرقات وعذارى وبالغات ذباب *Chrysomya albiceps*	63
1.1.3	دراسة تأثير تراكيز متسلسلة من معلق ابواغ الفطر *M. anisopliae* في يرقات الطور الثاني لذبابة *Ch. albiceps*	63
2.1.3	دراسة تأثير تراكيز متسلسلة من معلق ابواغ الفطر *M. anisopliae* في عذارى ذبابة *Ch. albiceps*	73
3.1.3	دراسة تأثير تراكيز متسلسلة من معلق ابواغ الفطر *M. anisopliae* في بالغات ذبابة *Ch. albiceps*	77
2.3	دراسة تأثير تراكيز متسلسلة من معلق بكتريا *B. thuringiensis israelensis* في هلاك يرقات الطور الثاني وبالغات ذبابة *Ch. albiceps*	81
1.2.3	دراسة تأثير تراكيز متسلسلة من معلق بكتريا *B. thuringiensis israelensis* في يرقات الطور الثاني لذبابة *Ch. albiceps*	81
2.2.3	دراسة تأثير تراكيز متسلسلة من معلق بكتريا *B. thuringiensis israelensis* في بالغات ذبابة *Ch. albiceps*	89

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

3.3	دراسة تأثير توليفات من تركيزين من معلق بكتريا *B. thuringiensis israelensis* و تركيزين من معلق ابواغ الفطر *M. anisopliae* في يرقات الطور الثاني لذبابة *Ch. albiceps*	91
	الاستنتاجات	105
	التوصيات	106
	المصادر العربية	107
	المصادر الاجنبية	111

المنارة للاستشارات

www.manaraa.com

((قائمة الجداول))

رقم الجدول	العنوان	الصفحة
1.2	المواد الكيميائية والأوساط الزرعية المستعملة والشركات المجهزة لها	49
2.2	الأجهزة المستعملة والشركات المصنعة لها	50
1.3	تأثير تراكيز متسلسلة من معلق ابواغ الفطر *M. anisopliae* في يرقات الطور الثاني لذبابة *Ch. albiceps*	64
2.3	تأثير تراكيز متسلسلة من معلق ابواغ الفطر *M. anisopliae* في عذارى ذبابة *Ch. albiceps*	74
3.3	تأثير تراكيز متسلسلة من معلق ابواغ الفطر *M. anisopliae* في بالغات ذبابة *Ch. albiceps*	78
4.3	تأثير تراكيز متسلسلة من معلق بكتريا *B. thuringiensis israelensis* في يرقات الطور الثاني لذبابة *Ch. albiceps*	82
5.3	تأثير تراكيز متسلسلة من معلق بكتريا *B. thuringiensis israelensis* في هلاك بالغات ذبابة *Ch. albiceps*	90
6.3	تأثير توليفات من تركيزين من معلق بكتريا *B. thuringiensis israelensis* وتركيزين من معلق ابواغ الفطر *M. anisopliae* في يرقات الطور الثاني لذبابة *Ch. albiceps*	92

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

((قائمة الصور))

رقم الصورة	العنوان	رقم الصفحة
1-1	دورة حياة الذبابة المعدنية نوع *Ch. albiceps*	5
2-1	صورة الفطر *M. anisopliae* قوة التكبير (40X)	24
1-2	عزلة الفطر *M. anisopliae* منماة على وسط PDA في المختبر (3X)	52
2-2	صورة بالمجهر الضوئي المركب تظهر ابواغ الفطر بشكل سلاسل. قوة التكبير (40X)	53
3-2	صورة بالمجهر الضوئي المركب توضح تفرعات الحوامل البوغية والفياليد Phialid ونشوء الابواغ منها. قوة التكبير (40X)	53
1-3	يرقات الطور الثاني لذبابة *Ch. albiceps* منكمشة نتيجة المعاملة بمعلق ابواغ الفطر *M. anisopliae*	65
2-3	يرقات الطور الثاني لذبابة *Ch. albiceps* معاملة بمعلق ابواغ الفطر *M. anisopliae*	65
3-3	اليرقات المصابة الميتة لذبابة *Ch. albiceps*	66
4-3	بالغات ذبابة *Ch. albiceps* ذات اجنحة متقصفة ناتجة من رش اليرقات وتغذيتها على غذاء معامل بمعلق ابواغ الفطر *M. anisopliae*	67
5-3	مقطع مستعرض ليرقة مصابة يوضح التحام الابواغ على جدار الجسم وبداية اختراقها. ملون الهيماتوكسلين والايوسين(40X).	70
6-3	مقطع مستعرض ليرقة مصابة يوضح نمو هايفات الفطر عبر عضلات الجسم. ملون الهيماتوكسلين والايوسين (40X).	71
7-3	مقطع مستعرض ليرقة مصابة يوضح نمو هايفات الفطر في التجويف الدموي. ملون الهيماتوكسلين والايوسين (40X).	71
8-3	عذارى ذبابة *Ch. albiceps* مصابة مشوهة بعد معاملتها بتراكيز الفطر *M. anisopliae*.	75

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

9-3	عذارى ذبابة *Ch. albiceps* مشوهة بعد معاملتها بتراكيز الفطر *M. anisopliae* حيث يلاحظ استطالتها.	75
10-3	عذراء ذبابة *Ch. albiceps* مصابة بالفطر *M. anisopliae* عليها الغزل الفطري بعد تنميتها على وسط PDA (10X).	76
11 - 3	بزوغ جزئي للبالغة ناتجة من عذارى ذبابة *Ch. albiceps* معاملة بمعلق ابواغ الفطر *M. anisopliae*.	76
12-3	جسم بالغة ذبابة *Ch. albiceps* مصابة ميتة مغطاة بالفطر *M. anisopliae* (10X).	79
13-3	يرقات ذبابة *Ch. albiceps* منكمشة نتيجة تغذيتها على غذاء معامل بتراكيز من معلق بكتريا *B. thuringiensis israelensis*.	83
14-3	يرقات ذبابة *Ch. albiceps* تظهر ذات لون غامق نتيجة تغذيتها على غذاء معامل بتراكيز من معلق بكتريا *B. thuringiensis israelensis*.	83
15-3	عذراء متخسفة ناتجة من يرقات ذبابة *Ch. albiceps* تغذت على غذاء معامل بتراكيز من معلق بكتريا *B. thuringiensis israelensis*.	84
16-3	بزوغ جزئي للبالغة نتيجة تغذية يرقات ذبابة *Ch. albiceps* على غذاء معامل بتراكيز من معلق بكتريا *B. thuringiensis israelensis*.	84
17-3	يرقات ذبابة *Ch. albiceps* معاملة بالتوليفة A يلاحظ انكماش اليرقات.	93
18-3	يرقات ذبابة *Ch. albiceps* معاملة بالتوليفة A يلاحظ تلون اليرقات باللون الغامق.	93
19-3	يرقات ذبابة *Ch. albiceps* معاملة بالتوليفة A يلاحظ تلون المنطقة الخلفية من الجسم باللون الغامق.	94

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

قائمة الاشكال

رقم الشكل	العنوان	رقم الصفحة
1-1	التركيب الحلقي لمركب الدستروكسين Destruxin .	28
2-1	آلية اختراق ابواغ الفطر لجليد الحشرة.	31
3-1	آلية تأثير بكتريا *B. thuringiensis*.	45
1-3	تأثير تراكيز معلق ابواغ الفطر *M. anisopliae* في هلاك يرقات الطور الثاني لذبابة *Ch. albiceps* بعد مرور 12 يوماً.	68
2-3	تأثير تراكيز معلق بكتريا *B. thuringiensis israelensis* في هلاك يرقات الطور الثاني لذبابة *Ch. albiceps* بعد مرور 12 يوماً.	86
3-3	تأثير التوليفة A و الرش بتركيز 2.8×10^6 بوغ / مل من معلق ابواغ الفطر في هلاك يرقات الطور الثاني لذبابة *Ch. albiceps* بعد مرور 12 يوماً.	95
4-3	تأثير التوليفة B و الرش بتركيز 2.8×10^6 بوغ / مل من معلق ابواغ الفطر في هلاك يرقات الطور الثاني لذبابة *Ch. albiceps* بعد مرور 12 يوماً.	97
5-3	تأثير التوليفة C و الرش بتركيز 2.8×10^7 بوغ / مل من معلق ابواغ الفطر في هلاك يرقات الطور الثاني لذبابة *Ch. albiceps* بعد مرور 12 يوماً.	99
6-3	تأثير التوليفة D و الرش بتركيز 2.8×10^7 بوغ / مل من معلق ابواغ الفطر في هلاك يرقات الطور الثاني لذبابة *Ch. albiceps* بعد مرور 12 يوماً.	102

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

المقدمة وإستعراض المراجع

Introduction and Literature Review

www.manaraa.com

1.1 المقدمة INTRODUCTION

الحشرات كائنات مهمة جداً للانسان اذ تسبب أنواعٌ مختلفة منها اضراراً متعددة للانسان والحيوان والنبات، ولا ترجع أهميتها لأعدادها الكبيرة فقط ولكن لأدوارها الخطيرة في حياة الانسان وبيئته والكائنات المتعايشة معه، فالكثير منها يكون ضررها مباشراً بتغذيتها على المنتجات أو المواد التي يستعملها الانسان أو يكون ضررها غير مباشر وذلك بنقلها للعديد من مسببات الامراض للإنسان والحيوان والنبات مؤديةً الى حدوث خسائر فادحة (أبو الحب،1982).

تّعد رتبة ثنائية الاجنحة (Order: Diptera) من الرتب الحشرية الكبيرة و تنفرد باحتوائها على زوج واحد من الاجنحة الغشائية هو الزوج الامامي أما الزوج الثاني فيكون مختزلاً الى تركيب دبوسي الشكل يعرف بعضو التوازن Halter (Hall and Gerhard, 2002).

تتراوح احجام ثنائية الاجنحة بين الصغيرة و المتوسطة والكبيرة و هناك أنواع منها ذات أهمية طبية وبيطرية واقتصادية ، يعتاش البعوض وذباب الخيل وذباب الاسطبل وغيرها من الحشرات على امتصاص دم الانسان والحيوانات الفقرية الأخرى أما ذباب المنزل وذباب اللحم فيعتاشون على المواد الغذائية المتفسخة وعلى اجسام الحيوانات الميتة (سيرفس، 1984).

تنقل ثنائية الاجنحة اعداداً من مسببات الامراض للإنسان والحيوانات وتصيب اعداد منها الحيوانات المختلفة في دورها اليرقي وتتطفل على انسجتها مسببةً التدويد Myiasis ، والتدويد بأنواعه المختلفة مضر في صحة الانسان والحيوانات مما يؤثر في الاقتصاد العام (Zumpt, 1965).

ينتمي النوع *Chrysomya albiceps* (Wiedemann,1819) الى عائلة الذباب المعدني Calliphoridae ، تنتشر في كل مكان تكثر فيه القمامة، فضلات الطعام والمجازر، جثث الحيوانات والانسان، فضلات وروث الحيوانات، وهي من الحشرات ذات الاهمية الطبية والبيطرية (متولي واخرون، 2008) . ويشكل وجودها بأعداد كبيرة مصدر ازعاج للانسان وحيواناته الداجنة

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

(Ihemanma *et al.*, 2013)، كذلك تقوم بنقل العديد من مسببات الامراض للانسان والحيوان، وتساهم في حدوث حالة التدويد الثانوي الاختياري في الحيوان والانسان مما يؤدي الى حصول اضرار صحية معقدة قد تترك اثاراً دائمة (Fernandes *et al.*, 2009).

لقد شجع النجاح الذي حققته المبيدات الحديثة العلماء على الاعتقاد بأن هناك مجالاً واسعاً لإبادة الحشرات والحد من انتشار الكثير من الامراض التي تنقلها ولذلك فأن هذه المبيدات أحدثت ثورة في الطب الوقائي في المناطق الاستوائية ، ولكن لم يستمر هذا النجاح كثيراً حيث جابهت العلماء مشكلتين لم تكونا بالحسبان احداهما نشوء مقاومة في الحشرات والثانية تلوث البيئة بهذه المواد الكيميائية المصنعة ، المشكلة الأولى جعلت من الصعب القضاء على الحشرات والمشكلة الثانية اثارت الصرخات والاستهجان لاسيما لأولئك المحبين للطبيعة لذلك كان الحل الأمثل لهاتين المشكلتين هو اللجوء الى بدائل أخرى، من هذه البدائل هو استخدام الكائنات الممرضة والتي تشكل نوعاً من المكافحة الاحيائية (أبو الحب، 1982) . اذ تعاني الحشرات من الإصابة بأمراض تسببها كائنات حية دقيقة وان هذه الإصابة قد تؤدي الى حدوث نسب موت عالية في مجتمع الحشرة وتشمل هذه الكائنات الرواشح والبكتريا والفطريات لذا فقد تم اللجوء الى استخدام مثل هذه الكائنات في القضاء على بعض الآفات الحشرية ، لا سيما وان العديد منها تكون ذات تأثير متخصص وطبيعة غير مؤثرة في البيئة وقد أمكن انتاج بعضها تجارياً كبدائل عن المبيدات الكيميائية وهذا ما يعرف بالمكافحة الجرثومية Microbial control (Oliveria *et al.*, 2006).

جرى الاهتمام اكثر بتلك المسببات المرضية الأكثر شيوعاً التي يمكن ان تسبب الأوبئة في مجتمع الحشرات و من هذه المسببات الجرثومية بكتريا *Bacillus thuringiensis israelensis* وبعض أنواع الفطريات لا سيما الفطر *Metarhizium anisopliae* اللذين أمكن إنتاجهما تجارياً

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

ويمثلان افضل العوامل المستخدمة في المكافحة الجرثومية (Ahmed, 2009) . ولقلة الدراسات حول مكافحة ذبابة *Chrysomya albiceps* (Wiedemann, 1819) هدفت الدراسة :-

1- دراسة تأثير تراكيز متسلسلة من معلق ابواغ الفطر *M. anisopliae* في يرقات الطور الثاني وعذارى و بالغات ذبابة *Ch. albiceps* .

2- دراسة التغيرات النسجية المرضية في اليرقات المصابة بالفطر *M. anisopliae* .

3- دراسة تأثير تراكيز متسلسلة من معلق بكتريا *B. thuringiensis israelensis* في يرقات الطور الثاني وبالغات ذبابة *Ch. albiceps* .

4- دراسة تأثير توليفات من بعض تراكيز معلق بكتريا *B. thuringiensis israelensis* و معلق ابواغ الفطر *M. anisopliae* في يرقات الطور الثاني لذبابة *Ch. albiceps* .

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

2.1 استعراض المراجع Literature Review

1.2.1 الذباب المعدني نوع *Chrysomya albiceps* (Wiedemann,1819)

1.1.2.1 الموقع التصنيفي

Class: Hexapoda

Subclass: Pterygota

Order: Diptera

Suborder: Cyclorrhapha

Family: Calliphoridae

Subfamily: Chrysomyinae

Genus: *Chrysomya*

Species: *Chrysomya albiceps*

(أبو الحب ،1982)

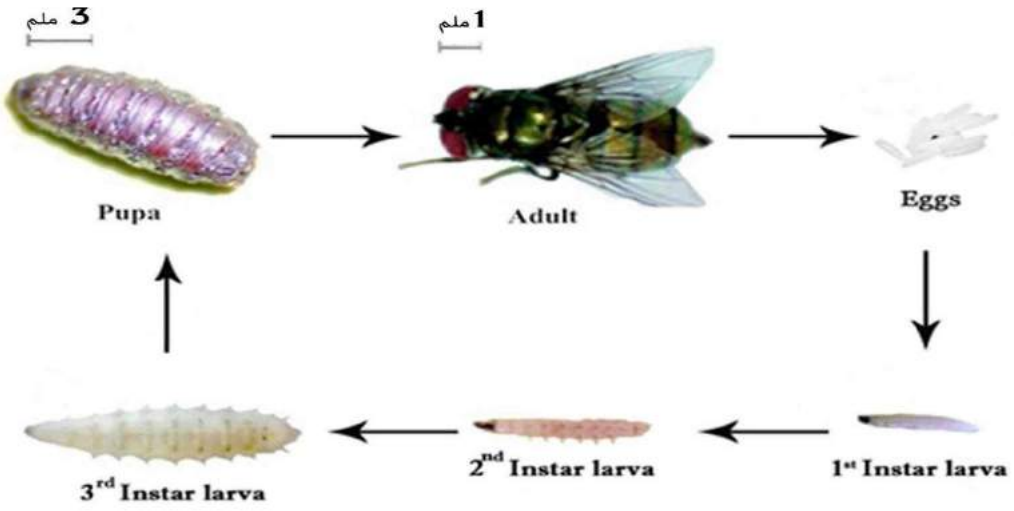
2.1.2.1 نبذة عن حياتية وبيئية ذبابة *Chrysomya albiceps*

تعد ذبابة *Chrysomya albiceps* من الحشرات ذات التحول الكامل Holometabola حيث أنها تمر بأربعة أدوار خلال دورة حياتها هي البيضة Egg ، اليرقة Larva ، العذراء Pupa والبالغة Adult ، تستغرق دورة حياتها مختبرياً من البيضة الى البالغة من 10–28 يوماً بدرجة حرارة 27–30 م° ورطوبة نسبية 70% (Prins,1982; Augul and Jassim, 2009).

الذبابة البالغة ذات لون اخضر لماع واحياناً يميل الى الزرقة يتراوح طولها من 5 – 10 ملم ، الاناث اكبر حجماً من الذكور، يحمل الرأس زوجاً مميزاً من العيون المركبة ذات لون بني غامق تكون متقاربة في الذكر ومتباعدة في الانثى ، يحمل الرأس ايضاً زوجاً من قرون الاستشعار تكون

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

بنية اللون وسفاءة قرن الاستشعار ريشية الى حد قمتها بنية داكنة اللون . Gena في وجه البالغات ذات لون بني مصفر يغطيها شعر ابيض كثيف . الصدر قليل التحدب يكون ذا لون اخضر أو اخضر مزرق ولا يظهر عليه تخطيط او نقش معين ، الفتحات التنفسية الامامية في المنطقة الصدرية بيضوية الشكل ذات لون ابيض–ابيض مصفر، أما الفتحات التنفسية الخلفية فتكون شبه دائرية وذات لون بني داكن . تتميز البطن من الناحية الظهرية بلونها الأخضر المعدني ، تحتوي الحافة الخلفية للصفائح الظهرية للحلقات البطنية على حزام متوسط العرض اسود اللون يمتد الى الأسفل ليظهر في الجهة القصية من البطن، حزام الصفيحة الظهرية للحلقتين البطنيتين الأولى والثانية المندمجتين معاً خالٍ من الشويكات ، في حين يحتوي الظهر البطني الثالث صفاً من اشواك صغيرة (شويكات) سوداء اللون ، وتمتاز الجهة القصية في الذكر والانثى بوجود خمس صفائح . الارجل ذات لون بني محمر او اسود ، ويكون لون النصف الامامي من الفخذ كلون الجسم نفسه أما النصف الخلفي فيكون ذا لون بني ، قطع الرسغ لاسيما النهائية منها متطاولة وهذه صفة تميز ذبابة *Ch. albiceps* عن الأنواع الأخرى من الذباب التابع للجنس *Chrysomya* (علي، 2000؛ Draber-Monko, 2004) (صورة1–1) .



صورة (1–1): دورة حياة الذبابة المعدنية نوع *Ch. albiceps*.

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

يتم التزاوج بين الذكور والاناث بعد يومين من خروجهما من غلاف العذراء، تضع الانثى البيض في اليوم السادس بعد التزاوج (Queiroz, *et al.*,1996) ، في المكان المناسب الذي يكون ملائماً لنمو اطوارها اليرقية اذ يجب ان تتوفر في هذه الأماكن السوائل المترشحة والمواد العضوية المتحللة والغنية بالمواد البروتينية التي يسهل هضمها وامتصاصها كالجثث المتفسخة (حيوانات أو انسان)، فضلات المجازر، اكوام القمامة، فضلات وروث الحيوانات، مخلفات مصانع تعليب اللحوم ، والأغذية والاسماك المعرضة للشمس في الخلاء لتجف (سيرفس، 1984؛ White, 2006؛ متولي واخرون، 2008).

تضع الانثى البيض بشكل كتل تتضمن الكتلة الواحدة حوالي 100 – 200 بيضة ، تكون البيضة بيضوية الشكل ، لؤلؤية اللون يتراوح طولها من 1.33–1.44 ملم وعرضها من 0.25–0.32 ملم (مولود، 2001) (صورة 1–1) .

تفقس البيوض بعد 24 – 36 ساعة اذا كانت درجة الحرارة تتراوح بين 27–30 م° ورطوبة نسبية 70%، ولكن المدة اللازمة لفقس البيض قد تطول خلال الطقس البارد، ولا يستطيع البيض مقاومة الجفاف ولا تحمل درجات الحرارة العالية. تتغذى اليرقات الفاقسة على عصارات المواد العضوية المتفسخة (أبو الحب، 1979؛ Augul and Jassim, 2009).

تمر اليرقات بثلاثة اطوار، تكون يرقات الطور الأول صغيرة الحجم بيضاء اللون، يتراوح طولها من 1.9–2.5 ملم وعرضها من 0.22– 0.33 ملم ، تحاط حلقة الرأس بحزمة متكاملة من اشواك دقيقة جداً أحادية، مزدوجة وثلاثية النهاية متجهة للخلف وتحتوي كل حزمة من جهتها الظهرية والبطنية من خمسة – ستة صفوف من الاشواك، كما تحوي جهتها الجانبية ستة – سبعة صفوف . توجد اسفل حلقة الرأس اثنان – ثلاثة صفوف من اشواك دقيقة جداً . الهيكل البلعومي الرأسيCephalopharyngeal Skeleton نامٍ بشكل جيد يحتوي على كايتين قليل يتراوح طوله

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

من 0.25 – 0.37 ملم يتضمن كلاليب صغيرة شبيهة بسنارة الصيد. النهاية الخلفية لليرقة تحتوي على زوج من الفتحات التنفسية واحدة منها عاملة فقط (Queiroz *et al.*,1997) ، تفتقد يرقات الطور الأول للبروزات اللحمية Fleshy Processes أو الحليمات Papillae على الحلقات الجسمية . (Zumpt, 1965)

تنسلخ يرقات الطور الأول بعد مرور 14 ساعة عند توفر درجة الحرارة المثلى (27– 30 م° ورطوبة نسبية 70%) ، وتتوقف عن النمو عند انخفاض درجة الحرارة الى 15 م°. يستغرق الطور اليرقي الثاني من يومين – ثلاثة أيام لينسلخ الى الطور اليرقي الثالث الذي يستغرق ثلاثة – خمسة أيام للتحول الى عذراء ، وبذلك يستغرق الدور اليرقي من اربعة – 12 يوماً (Prins, 1982) .

يصل طول يرقة الطور الثالث الى 18 ملم، تسمى يرقات الطورين الثاني والثالث لذبابة *Ch. albiceps* باليرقات المشعرة Hairy Maggots لامتلاكها بروزات لحمية على الحلقة الصدرية الثالثة وجميع حلقات البطن وهذه الصفة تجعل من السهولة تميزها عن باقي يرقات عائلة الذباب المعدني Calliphoridae (Draber-Monko,2004) .

تعمل يرقات الطورين الثاني والثالث لذبابة *Ch. albiceps* كعامل سيطرة احيائي حيث انها تسلك سلوك افتراسي اختياري Behavioral Selective Predation وقد ذكر Omar (1995) إن يرقات الطورين الثاني والثالث المبكر تفترس يرقات الطور الأول ، و أشار Tantawi *et al.*(1996) كذلك الى إن يرقات الطور الثالث لذبابة *Ch. albiceps* يمكن ان تفترس عذارى نفسها . حيث ان يرقات الطور الثالث لذبابة *Ch. albiceps* تفضل افتراس يرقات الطور الثاني التابعة للنوع نفسه على يرقات الطور الأول لأن الأخيرة يصعب ايجادها من قبل المفترس (Faria *et al.* 2004a) وكذلك يرقات خنافس الجثث الميتة ويرقات ثنائية الاجنحة الاخرى مما يؤدي الى تقليل اعدادها في الوسط الذي تتواجد فيه معها (أبو الحب، 1979؛ Faria *et al.* 2004b) ، كما وجد

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

انها تفضل افتراس يرقات النوع *Cochliomyia macellaria* على يرقات النوع *Ch. megacephala* تحت ظروف التجويع وغير التجويع (Faria *et al.*, 2001؛ Faria *et al.*, 2007) ، ويمكن ان تفترس يرقات *Ch. putoria* وقد لوحظ انها تسلك هذا السلوك في حالة عدم توفر الغذاء أو التزاحم (Rosa *et al.* 2006) ، وأشار Reigada and Gody (2005) الى ان يرقات *Ch. albiceps* تهاجم يرقات *Ch. megacephala* في حالة وجودهما معاً. ومن خلال الدراسات التي اجراها Grassberger *et al.* (2003) حول الكفاءة الافتراسية ليرقات *Ch. albiceps* في المختبر سجلوا نسبة افتراس عالية ليرقات *Lucilia sericata* وصلت الى حوالي 99%.

تغادر يرقات الطور الثالث بعد أربعة أيام الى المحلات الجافة لكي تتحول الى عذراء ، تبدأ مرحلة التعذر بانكماش الجليد اليرقي وتصلبه وتحوله الى اللون الداكن ، تكون العذراء برميلية الشكل سطحيها الظهري محدب و البطني مسطح ، نهايتها الخلفية مستديرة و الامامية بيضوية ضيقة ذات لون بني محمر الى بني داكن ، يتراوح طولها 7.4 – 9.6 ملم وعرضها 2.9 – 4.4 ملم ، تكون حلقة الرأس غير واضحة المعالم تحمل طيات وتجاعيد قليلة وعميقة ذات لون اسود ولا توجد حدود واضحة بينها وبين الحلقة الصدرية الأولى ، تحمل اغلفة العذراء على الحلقة الصدرية حزام وبروزات لحمية مشابهة لما هو موجود على ظهر الحلقة الصدرية الثالثة للطور اليرقي الثالث الا أنها اصغر منها. أثار الفتحات التنفسية الامامية واضحة حمراء اللون ، أما اثار الفتحات التنفسية الخلفية فتقع في تجويف متوسط العمق على القرص الخلفي وهي دائرية الشكل ذات لون احمر (Pujol-Luz and Barros-Cordeiro, 2012) (صورة 1–1). يستغرق الدور العذري خمسة – 15 يوماً (أبو الحب، 1979) .

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

تبزغ الذبابة الكاملة من غلاف العذراء وذلك بدفع نهايتها الامامية حيث تتلوى وتخرج وتبدأ بالطيران بعد فرد وتصلب اجنحتها.

أشارا Augul and Jassim (2009) من خلال الدراسات المختبرية ان الدرجة المثلى لوضع اعداد كثيرة من البيض كانت 30 م° حيث تضع الاناث 226± 10 بيضة ، في حين تضع 105 بيضة عند درجة حرارة 32 م° ولا تضع البيض عند درجة حرارة 24 م°.

وأشارا ايضاً الى تأثر النسب الجنسية بدرجة الحرارة التي تعيش بها الحشرة ، حيث وجد ان النسبة تميل الى انتاج الذكور عند درجة حرارة 25 م° ورطوبة نسبية 70 % ، ولوحظ ان نسبة الذكور الى الاناث تتقارب نسبياً عند ارتفاع درجة الحرارة .

تنتشر ذبابة *Ch. albiceps* في انحاء مختلفة من العالم ، حيث يكثر انتشارها في المناطق الاستوائية وشبه الاستوائية كالهند ووسط وجنوب أمريكا وافريقيا وجنوب أوربا (إيطاليا) ومصر والعراق لكونها من الأنواع التي تفضل العيش في المناطق الحارة الرطبة (Bharti, 2009; Vanin *et al.*, 2009 ؛هادي، 2013) .

تفضل ذبابة النوع *Ch. albiceps* العيش في الأماكن التي تتواجد فيها اكوام القمامة ، فضلات وروث الحيوانات ، جثث الحيوانات والانسان المتفسخة ، الحدائق ، مصانع تعليب اللحوم والاسماك واللحوم المعرضة للشمس في الخلاء لتجف (سيرفس، 1984؛ White, 2006) ، وقد ذكر متولي واخرون (2008) ان اعداد هذه الذبابة تكثر في مكة المكرمة لا سيما خلال موسم الحج قرب المجازر وأماكن تجمع القمامة والقاذورات ومخلفات الذبح بعد موسم الحج.

أشار الباحثون حسون (1999) وعبد الرسول واخرون (2009) الى أن ذبابة النوع *Ch. albiceps* يكثر تواجدها في بغداد خلال شهر تشرين الأول . وقد ذكر Alahmed *et al.* (2006) أن ذروة انتشار هذه الذبابة في مدينة الرياض يكون خلال شهري نيسان وتشرين الثاني .

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

3.1.2.1 أهمية الذباب المعدني نوع *Chrysomya albiceps*

تعد ذبابة *Ch. albiceps* من الحشرات ذات الأهمية البيئية ، الجنائية ، الطبية و البيطرية ، (متولي و اخرون ، 2008).

حيث انها من الحشرات القمامة Scavengers و تصل هذه الذبابة الى الجثث بعد يومين – ثلاثة أيام من الوفاة و انبعاث رائحتها حيث تضع بيوضها حالاً في حالة توفر الظروف البيئية الملائمة من درجة حرارة و رطوبة نسبية ، وبعد فقس البيوض تتغذى اليرقات الفاقسة على السوائل المترشحة والمواد العضوية المتحللة مما يؤدي الى تحلل الجثث بالكامل (Omar, 1995) . والحقيقة إن الذباب ركن أساسي في الحفاظ على بيئتنا حيث يعمل على تنظيف البيئة من المخلفات العضوية التي يتركها الانسان أو الحيوان وراءه كما إنه يؤدي دور عامل النظافة في الطبيعة حيث يقوم بتخليص البيئة من الجيف الميتة التي اذا تركت على حالها فأنها تؤدي الى انتشار امراض واوبئة يصعب علاجها (http://www.teb-(badil.com/forum/index.php?showtopic=5395

.

تعد هذه الحشرة مهمة في الكشف عن الجرائم و ملابسات و ظروف الجريمة و وقت ارتكابها و مرتكبها و معرفة أسباب الوفاة ومكان حدوثها و ما اذا تم نقل الجثة من مكانها (موسى، 2012 ؛ Sathe *et al.*, 2013) ، بهذا الصدد ذكر Singh and Sharma (2008) انه يمكن تحديد وقت الوفاة من خلال اخذ اكبر يرقة عمراً موجودة على الجثة والعد بصورة عكسية للحصول على بيانات حول اصغر اليرقات عمراً وهذا يعطي تقديراً تقريبياً للموت ، ويمكن من خلالها معرفة الوقت الذي فقد فيه الشخص المتوفى وما اذا كان مطابقاً لوقت تحديد الوفاة . وكذلك اشارت Galal *et al.* (2009) الى امكانية استخدام يرقات النوع *Ch. albiceps* في عملية التحري الجنائي من خلال

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

ملاحظتهم لوجود اعداد كبيرة من يرقات هذه الذبابة حول الأجزاء الادمية المكشوفة بمدينة أسيوط في مصر.

أوضحت الدراسات امكانية الاستعانة بالحشرات المتغذية على الجثث المتحللة في تشخيص المركبات الكيميائية أو الادوية أو السموم في اجسام الحيوانات الميتة (Carvalho *et al.*,2001). كما ذكر Bourel *et al.* (2001) امكانية عدُّ الحشرات كعينات بديلة لتحديد سبب الوفاة في حالة عدم توفر العينات التقليدية كالادرار و الدم (لا سيما بعد الوفاة) ، وقد اشارتا Shaheen and Fathy (2008) الى امكانية استخدام التغيرات المظهرية والاحيائية التي تحدث في يرقات ذباب *Ch. albiceps* كدليل على الوفاة بسبب الجرعات المميتة لبعض المواد مثل فوسفات الكواديين . إن تواجد ذبابة *Ch. albiceps* بأعداد كبيرة يشكل مصدر ازعاج للانسان وحيواناته الداجنة (Ihemanma *et al.*, 2013) ، حيث تعد هذه الذبابة من الحشرات غير كاملة الصلة او الارتباط بالانسان (Hemisynanthropic Fly) (Verves, 2004) ، وبذلك يقوم هذا النوع من الذباب بنقل العديد من مسببات الامراض للانسان والحيوان هذا ما اشارت اليه هادي (2013) الى ان ذباب *Ch. albiceps* الذي تم جمعه من مدينة بغداد كان حاملاً للعديد من مسببات الامراض ، اذ وجدت انها كانت تحمل أكياساً وبيوضاً لعشرة أنواع من الطفيليات ، ثمانية منها بيوض للديدان الخيطية من ضمنها بيوض ديدان *Ancylostoma duodenal* و *Ascaris lumbrecoides* وأكياس نوعين من الحيوانات الابتدائية منها *Entamoeba* sp. و *Iodomoeba bütschlii* ، كما اظهر الفحص الداخلي بعد صبغ سوائل القناة الهضمية بصبغة الزيل نلسن وجود أكياس ثلاثة أنواع من الحيوانات الابتدائية منها *Cyclospora parvum* و *C. muris* وبيوض احد أنواع الديدان الشريطية *Taenia* sp. ، هذه الطفيليات تحملها عن طريق تعلقها بأرجلها و الشعيرات الموجودة على جسمها و أجزاء فمها اثناء وقوفها و تغذيتها (على الجثث او الفضلات) وان التنوع في حملها

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

للطفيليات يشير الى الانتشار الواسع لمثل هذا النوع من الذباب في بغداد و مناطق أخرى من العالم مما يشكل خطراً على الصحة العامة. كذلك وجد ان ذباب Blow flies (منها ذبابة *Ch. albiceps*) تقوم بنقل بعض أنواع البكتريا والرواشح والفطريات المسببة للأمراض حيث وجد انها تقوم بنقل بكتريا *Shigella dysentariae* المسببة لمرض الاسهال وبكتريا *Salmonella typhi* المسببة لحمى التيفوئيد و ضمات الكوليرا المسببة لمرض الكوليرا (Youdeowei and Service, 1995).

تسبب يرقات ذباب *Ch. albiceps* حالة التدويد الثانوي الاختياري Facultative Secondary Myiasis و يقصد به تواجد يرقاتها في الجروح المصابة اصلاً بيرقات أنواع أخرى من الذباب الاجبارية التواجد في الجروح (Zumpt, 1965).

يقصد بالتدويد Myiasis هو إصابة تحصل للانسان الحي او الحيوانات الفقرية عن طريق يرقات الذباب من رتبة ثنائية الاجنحة التي تتغذى على الانسجة الحية او الميتة والدم والمواد السائلة للجسم او الغذاء المهضوم ويعد التدويد من المشاكل الخطيرة جداً التي تهدد تربية الأغنام والمواشي والحيوانات الأخرى حيث تسبب خسائر اقتصادية كبيرة جداً (أبو الحب، 2004).

يقسم التدويد تبعاً لطبيعة تطفل اليرقات الى ثلاثة أصناف: إذ أما ان يكون تدويد اجباري Obligatory Myiasis كما في حالة إصابة الجروح Trumatic بيرقات ذباب النوع *Ch. bezziana* و *Cochliomyia hominivorax* حيث تضع هذه الأنواع بيوضها في الجروح المفتوحة فحسب بعدها تخترق اليرقات بعمق الجلد والعضلات وتتغذى عليها وعلى سوائل الجسم (سيرفس، 1984) . وأنواع أخرى تدخل الجسم من خلال فتحات الانف و الاذن و العيون و الشفاه مثل يرقات ذباب النوع *Oestrus ovis* المسبب لنغف الانف في الماعز والاغنام (العامري، 2007) ، وأنواع من الذباب التابع للجنس *Hypoderma* الذي يسبب اوراماً في العيون ويمكن ان يسبب

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

العمى في الابقار (سيرفس، 1984) . والنوع *Gastrophilus intestinalis* الذي يصيب الخيول و فيه تستقر اليرقات في المعدة مسببةً نغف المعدة (Stomach bot fly) وهو نوع من النغف الاجباري المعوي (Daoud *et al.*,1990).

ومن أنواع التدويد الأخرى هو التدويد الاختياري الثانوي Secondary Facultative Myiasis الذي يحدث نتيجة للإصابة بيرقات ذباب يمكن ان تنمو و تتطور بصورة طبيعية في الانسجة المتعفنة والميتة وعلى الجثث ومثالها الإصابة بيرقات أنواع من ذباب *Chrysomya* ، *Calliphora* ، *Lucilia* ، اذ تسبب يرقات ذباب النوع *Ch. albiceps* حالة التدويد الثانوي الاختياري للانسان والحيوان أي انها لا تتمكن من مهاجمة الحيوان لوحدها قبل تواجد يرقات لأنواع أخرى مثل يرقات ذبابة *Ch. bezziana* التي تعد من المتطفلات الاجبارية على حيوانات ذوات الدم الحار حيث تكون الإصابة بها حافزاً لجذب أنواع أخرى منها ذبابة *Ch. albiceps* وان هذه الأنواع اذا تمكنت من الدخول فأنها تكون اكثر ضرراً للحيوانات المصابة وقد تسبب لها الهلاك وقد تترك اضراراً صحية معقدة يمكن ان تترك اثاراً دائمة (أبو الحب، 1979 ; Fernandes *et al.*, 2009) .

إن التدويد الثانوي للأغنام يمكن ان يؤدي الى حدوث خسائر اقتصادية في انتاج الصوف (Nedehchev, 1984).

أشار Radhakrishnan *et al.* (2012) الى تسجيل اول حالة تدويد لغزال في الهند بيرقات ذبابة *Ch. albiceps* وعثر على يرقات هذه الذبابة في المعدة والقصبة الهوائية بسبب دخول هذه اليرقات عن طريق الصدفة اثناء لعق الغزال لفكه المجروح بلسانه ووجود هذه اليرقات في منطقة الجرح اصلاً أدت الى دخولها الى المعدة.

إن التدويد أو النبر يمكن ان يحدث بصورة عرضية Accidental Myiasis عندما تدخل بيوض او يرقات بعض أنواع الذباب مع الغذاء الملوث بها او تدخل عن طريق الفتحات البولية او

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

التناسلية او فتحة المخرج للانسان او الحيوانات وان الإصابة بهذه الأنواع غالباً ما يرافقها آلام في البطن وتقيؤ واسهال يمكن ملاحظة اليرقات فيه وحسب شدة الإصابة مثالها الإصابة بأنواع من *Musca* و *Fannia* ، ويبدو ان الذباب هذا قد ينجذب نحو الافرازات غير الصحية ويضع بيضه قرب الفتحات التناسلية وعندما يفقس البيض تدخل اليرقات الصغيرة خلال الفتحات التناسلية او البولية وتشق طريقها اعلى الجهاز البولي التناسلي وبذلك يحدث ألم شديد ناشئ عن اليرقات التي تسد هذه الممرات وقد يطرح مع البول مخاطاً ودماً واخيراً يرقات، وقد أشار عبد الرسول والعاني (2002) الى تسجيل حالة تدويد بولي تناسلي بيرقات الذبابة المنزلية حيث تم عزل 50 يرقة من يرقات الطور الثالث من عينة بول امرأة وذكر ان هذه الحالة نتجت بسبب وضع الذبابة المنزلية لبيوضها قرب الفتحة البولية و إن اليرقات الفاقسة يمكن ان تكون وصلت الى المثانة من خلال القناة البولية . وذكر Sehgal *et al.* (2002) تسجيل حالتين من التنغيف المعوي بسبب يرقات الذبابة المنزلية الحالة الأولى في رجل عمره 44 سنة و الحالة الثانية في شاب عمره 19 سنة . نتيجة لما سبق كان لابد من مكافحة هذا النوع من الذباب باستخدام طرائق مختلفة .

4.1.2.1 طرائق مكافحة الذباب المعدني

يقصد بمكافحة الآفة هو العمل على تقليل الضرر الذي تحدثه الآفة وذلك بإبعادها أو منع وصولها الى العائل أو تهيأة ظروف غير مناسبة لتكاثرها أو القضاء عليها باستخدام وسائل متنوعة. إن طرائق مكافحة الآفات يجب ان تقلل الخسائر التي تسببها للانسان أو ممتلكاته من حيوان ونبات ، وقد أمكن في حالات كثيرة التغلب على بعض الآفات الخطيرة وتحويلها الى آفات ثانوية قليلة التأثير (إبراهيم وعبد المجيد، 2014).

إن طرائق مكافحة الذباب المعدني Blow fly هي نفسها التي تستخدم في مكافحة الذباب المنزلي (سيرفس، 1984) . وإن انجح الوسائل للتخلص من الذباب هو اتباع الطرائق الصحية

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

والوقائية لمنع تكاثره ففي المدن تعد أماكن تكاثر الحشرة الأساسية أكوام القمامة وفضلات المجازر ومصانع تعليب اللحوم والأغذية لذا لابد من سرعة التخلص منها والاهتمام بتجميعها في حاويات سليمة من المعدن أو البلاستيك ذات اغطية محكمة وان يتم اخراج أكياس القمامة يومياً الى أماكن تجمعها حيث يتم رفعها بالطرائق الصحية السليمة وكذلك العناية بانشاءات الصرف الصحي والاهتمام بصيانتها بصورة مستمرة لضمان عدم تسرب أي مواد تجذب الذباب اليها (Rozendaal,1997).

أما في القرى فيشكل روث الحيوانات والدواجن أماكن مثالية لتكاثر الذباب إذ يجب اتباع الطرائق الصحية لتأمين نظافة أماكن تربية الحيوانات وتجميع فضلاتها والتخلص منها كونها افضل البيئات لتكاثر الذباب، وعند استخدام هذه الفضلات كأسمدة عضوية يجب جمعها في أماكن بعيدة عن المنازل أو نثرها بشكل طبقة رقيقة ، كما يمكن تغطيتها بطبقة رقيقة من الطين لمنع وصول الذباب اليها (أبو الحب، 1982) ، كذلك تشكل جثث الحيوانات الميتة والبيض المتكسر في حقول الدواجن اماكن مثالية لتكاثر الذباب ، لذا يجب تنظيف حضائر الحيوانات وحقول الدواجن باستمرار لمنع الذباب من وضع البيض عليها والتخلص من الجثث بحرقها أو دفنها، كما يجب تصريف مياه المجاري بانتظام وان تنقل بعيداً عن المنازل لأن تجمع هذه المياه يوفر أماكن مثالية لتكاثر الذباب (Loftin *et al.*, 2001).

هناك العديد من الوسائل السهلة الاستخدام التي يمكن لها ان تحد من تواجد ذباب الـ Blow fly لا سيما في المجازر ومعامل تصنيع الأغذية ولكنها قد لا تكون كافية للقضاء عليه عندما يتواجد بأعداد كبيرة ، من هذه الوسائل استعمال اغطية سلكية ذات ثقوب صغيرة توضع على الشبابيك ومنافذ الهواء ، أو استخدام مراوح تعمل على احداث تيار هوائي لتقليل اعداد الذباب ، وكذلك يمكن استخدام المصائد التي تحوي على مواد لاصقة تساعد في التصاق الذباب عليها وبالتالي التخلص منه ، أو استخدام مصائد ضوئية ذات صاعق كهربائي، وقد وجد ان استخدام

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

المصائد كفوء ويخفض من اعداد الذباب بنسبة 46 % (Ward, 2001) . كذلك يمكن وضع أبواب تغلق بصورة اوتوماتيكية لمنع دخول الذباب في محلات بيع اللحوم والخضراوات والفواكه (http://www.vector.ifas.ufl.edu.) .

إن معالجة روث الحيوانات في الحضائر ونشره ومنع تجمعه تعد من الوسائل الفعالة في التخلص من الذباب (Kirby, 2008). كما وجد إن استخدام مصائد متحركة اثناء رعي الحيوانات في المراعي تتحرك مع تحرك الأغنام كفيل بخفض اعداد الذباب الذي يهاجمها ولتقليل هجوم ذباب النوع *Chrysomya bezziana* وكذلك لابد من الحد من انتشار وتواجد ذباب النوع *Cochliomyia hominivorax* الذي يسبب الإصابة بالتدويد الجلدي (الاجباري) لغرض تقليل وجود ذباب النوع *Ch. albiceps* لكون الأخير يؤدي الى حدوث تدويد ثانوي اختياري (Heath and Leathwick, 2001) .

إن اكثر الطرائق الناجحة للحد من انتشار ذباب التدويد هو استخدام تقنية تعقيم الحشرات حيث يتم تعقيم اعداد كبيرة من ذكور الذباب المربى صناعياً ثم اطلاقه في البيئة فتتنافس الذكور العقيمة مع الذكور الخصبة (الطبيعية) الموجودة في البيئة على التزاوج وتلقيح الاناث الطبيعية مما يؤدي الى وضع الاناث الطبيعية الملقحة بالذكور العقيمة بيضاً غير مخصب لا يستطيع ان ينمو الى يرقات. ويتم تعقيم الذكور المرباة بوساطة مواد كيميائية مشعة أو اشعة كاما، وقد استخدمت هذه الطريقة بنجاح في جنوب الولايات المتحدة الامريكية لمكافحة ذباب النوع *Co. hominivorax* (الباروني،1991). وبهذا الصدد ذكر الطويل واخرون (1999) إمكانية استعمال اشعة كاما في احداث العقم لعذارى ذبابة الدودة الحلزونية *Ch. bezziana* ولاحظوا تأثير هذا النوع من الاشعاع في بزوغ البالغات سواء كانت ذكوراً ام اناثاً وان نسبة بزوغ البالغات تقل كلما زادت الجرعة الاشعاعية المستعملة.

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

من الطرائق الأخرى لمكافحة ذباب الـ Blow fly هو معاملة الحيوانات الزراعية وقائياً بمركب من حبيبات طويلة المفعول (بطيئة الانطلاق) تحتوي على مادة النفرمكتين (Invermictin) الذي يزود الحيوان بوقاية طويلة المفعول ضد نمو يرقات الذباب في الانسجة وتعطى هذه المادة للحيوان عن طريق الفم أو بالحقن. وفي الإطار السريري أو البيطري ربما يكون الخيار العلاجي مباشراً بشق الجرح واقتلاع اليرقات من خلال الضغط حول موضع الإصابة وباستخدام ملقط بعدها لابد من تنظيف وتطهير الجرح لتجنب تجدد الإصابة (Kirby, 2008).

إن استخدام مبيدات الفسفور العضوية كمبيد Coumaphous و Dichhlorovous و Trichlorophon و Chlorfenvinphus تقلل من تواجد الذباب المسؤول على حالات التدويد Myiasis في الماشية (الكسندر، 1988)، ولكن استخدام هذه المبيدات المتكرر أدى الى ظهور سلالات مقاومة منها و بقاء متبقياتها السامة في البيئة لمدة طويلة (الزبيدي، 1992). لذلك برز الاهتمام بالمبيدات ذات الأصل النباتي ومنها مبيد البيرثرويد المصنع الذي يتميز بفعاليته التي تصل الى عشرة اضعاف فعالية المبيدات الكيميائية ضد بعض أنواع الآفات، ويمتاز هذا المبيد بكونه غير سام للانسان والأحياء الأخرى كما ان له القابلية على التحلل في البيئة وذلك للتخلص من المشاكل التي تسببها المبيدات الكيميائية (WHO, 1975).

توجد أحياء متنوعة تعمل على خفض اعداد ذباب الـ Blow fly بصورة طبيعية دون الحاجة لتدخل الانسان من هذه الأحياء الطيور والسحالي والضفادع والعناكب وأنواع كثيرة من الحشرات التي تعمل على افتراس احد أدوار حياة الذباب (Peck and Anderson, 1969). وهناك بعض أنواع الزنابير (غشائية الاجنحة) التي تتطفل على عذارى الذباب، حيث تضع اناث الزنابير بيوضها داخل عذارى الذباب وتتغذى اليرقات الفاقسة على اليرقات الموجودة داخل العذارى وبالتالي تعمل على منع بزوغ الذباب ، من هذه الزنابير النوع *Nasonia vitripennis* و *Spalangia cameroni*

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

و *Muscidifurax zaraptor* وقد وجد ان اطلاق احد أنواع هذه الزنابير في حضائر الحيوانات عمل على تقليل اعداد ذباب الـ Blow fly وكذلك الأنواع الأخرى من الذباب (Kaufman, 2002).

1.4.1.2.1 المكافحة الجرثومية Microbial Control

نعني بها استعمال مسببات الأمراض من الاحياء الدقيقة أو منتجات تلك الأحياء في مكافحة الآفات الحشرية وتعد جزءاً من المكافحة الاحيائية Biological Control (الزبيدي، 1992).

إن مسببات الأمراض (فطريات، بكتريا، رواشح) يمكن ان تكون عاملاً رئيسياً في تحديد الكثافة العددية لآفة معينة ولكونها كائنات دقيقة فأن اغلبها تكون موجودة بصورة طبيعية في البيئة وبالتالي يمكن انتاجها بكميات كبيرة لغرض استخدامها بالطرائق الاعتيادية المتداولة للمكافحة كما وقد تبقى في الطبيعة بصورة مستمرة لمكافحة الآفات (علي وعبدالعزيز، 1986).

وقد اصبح من المهم التعرف على اعراض الإصابة بهذه الكائنات لأهميتها في تقييم جودة وفعالية تلك الممرضات اذ تبدي الحشرات المريضة تغيرات في السلوك وقد يلاحظ على الحشرات المصابة مظاهر غير طبيعية مثل عدم تناسق حركات الجسم أو انحرافات في النمو مثل تأخره وعدم القدرة على الانسلاخ وصعوبة في الهضم وقلة في التغذية واضطرابات تكاثرية منها انخفاض الخصوبة وقلة وضع البيض (Federic , 1995)، كذلك تظهر تغيرات في لون الجسم وشكله و ظواهر أخرى مثل انكماشه وسهولة تحلله وتكسره واخيراً قد يكون من السهل ملاحظة الممرض لاسيما في حالة الإصابة بالفطريات الممرضة بشكل نمو فطري يحيط بجسم الحشرات الميتة (Jankevica , 2004).

1.1.4.1.2.1 المكافحة الجرثومية باستخدام الفطريات

تُهاجم الحشرات من قبل عدة مئات من أنواع الفطريات بعضها شائع ويمكن ان يسبب أمراضاً وبائية مما يتطلب دراسة هذه الأنواع بشكل جيد والتركيز على كفاءتها كعوامل مكافحة

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

جرثومية، وتسمى الفطريات التي تسبب إصابات ممرضة للحشرات Entomopathogenic Fungi

.

إن جميع رتب الحشرات يمكن ان تصاب بالفطريات ومنها رتبة ثنائية الاجنحة Diptera (Scholte *et al.*, 2004a) ومن هذه الفطريات الممرضة أنواع تابعة للأجناس الآتية: *Leptolegnia*، *Culicinomyces*، *Lagenidium*، *Coelomomyces*، *Entomophthora*، *Beauveria*، *Metarhizium* (الزبيدي ، 1992 ; Hallman *et al.* , 2000; Poopathi and Tyagi, 2006) .

بدأ الاهتمام بالفطريات وعدها واحدة من عوامل المكافحة الجرثومية من خلال ملاحظة الأمراض الفطرية التي تصيب الحشرات النافعة للانسان مثل نحل العسل *Apis mellifera* ودودة الحرير *Bombyx mori* ففي الصين عانت صناعة الحرير من الأمراض الفطرية التي تصيب يرقات دودة الحرير التي عدها المربون اول الامر امراضاً بيئية، وقد كان اول تسجيل لفطر ممرض للحشرات كان للفطر التابع لجنس *Cordyceps* الذي يتطفل على فراشة تابعة لعائلة Noctuidae من رتبة حرشفية الاجنحة وقد تم ملاحظة ذلك عام 1726م (Vyas *et al.*, 2006)، وفي عام 1835 لاحظ العالم Agostino Bassi (الذي لقب بأبِ علم الأمراض) إصابة ديدان الحرير بمرض فطري ويحدث هذا عن طريق الإصابة بأحد أنواع الفطريات التي تتكاثر داخل جسم الحشرة ويمكن ان تحدث عدوى للأفراد السليمة (الزبيدي، 1992).

يعد Shimer اول عالم حشرات لاحظ إصابة احد أنواع البق الشديد الضرر على محاصيل الحبوب بفطر *Beauveria globuliferak* وسرعان ما نشط البحث حول هذا الفطر وقد حاول Lugger عام 1888 احداث عدوى وبائية بالفطر *Beauveria* sp. وذلك عن طريق نشر وتوزيع الحشرات الميتة في المساحات المزروعة و قد أحرزت هذه التجربة النجاح، و في عام 1891 أنشئت

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

محطة أبحاث في ولاية كانساس لهذا الغرض وقد امكن انتاج كميات كبيرة من هذا الفطر الذي عرف بالفطر الأبيض White Fungus (الباروني والحجازي، 1994).

تمتلك الفطريات طريقة فريدة في احداث الإصابة للعائل فهي على العكس من الاحياء المجهرية الأخرى كالرواشح والبكتريا والأبتدائيات والديدان الخيطية لا تحتاج ان تدخل الى داخل القناة الهضمية للعائل لكي تحدث الإصابة، حيث انها يمكن ان تصيب العائل عن طريق اختراق الأماكن الرقيقة من جدار الجسم (الجليد) بما في ذلك منطقة الجنب والمساحات المحصورة ما بين الحلقات البطنية وقد تدخل الى داخل تجويف جسم العائل من خلال الثغور التنفسية وتهاجم انسجة العائل وتبدأ بالنمو والتكاثر وبالتالي يمتلئ التجويف الجسمي للحشرة بالغزل الفطري Hyphae مما يؤدي الى موت الحشرة نتيجة عرقلة عمل أعضاء جسم العائل وتوقف دوران الدم (Charnley, 2003; Lacey *et al.*, 1988)، فضلاً عن ذلك قد يحدث موت العائل نتيجة قيام الفطر بإفراز مواد سامة (Mohanty *et al.*, 2008) .

لقد سجل في الطبيعة 1800 حالة إصابات بين مختلف أنواع الحشرات بالفطريات (Jankevica, 2004) ، ومن هذه الحالات ترافق أنواع عديدة من الفطريات مع بالغات الذباب المنزلي منها الأنواع *Fuserium* sp. و*Aspergillus flavus* و *Corylophilium* و *Pencillium* و*Alterniva alternate* و*Beauveria bassiana* وان بعض هذه الفطريات تكون ممرضة لبالغات الذباب او تسبب امراضاً وبائية فيها لا سيما عند توفر الظروف الملائمة لتطور ابواغ هذه الفطريات (Sales *et al.*, 2002) ، كما وجد ان الفطر التابع لرتبة Entomophthoraleane الذي يصيب بالغات الذبابة المنزلية والمسمى *Entomophthor musca* يمتاز بسرعة قتله للذباب ويلاحظ ملتصقاً على الجدران والزجاج بوساطة الخيوط الفطرية التي تبرز من جسم الحشرة الميتة ، وتحاط الحشرة الميتة بهالة بيضاء قطرها 2 سم هي عبارة عن

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

ابواغ انفصلت من الفطر وتظهر بطن الذبابة منتفخة ذات اشرطة بيضاء، ويمتاز هذا الفطر بمدى عائلي واسع لرتبة ثنائية الاجنحة التي تتضمن عوائل Muscidae و Anthomyiidae و Fanniidae (Keller, 1984) .

من الفطريات الممرضة للحشرات المهمة الأخرى فطر *Beauveria* وهو من الفطريات الناقصة Deuteromycota ومن أوائل الفطريات المستعملة كمبيد احيائي وعرف بأنه عامل سيطرة فعال ضد العديد من الآفات الحشرية ويسبب مرض المسكردين الأبيض White Muscardine Disease، وقد وجد ان هذا الفطر يستعمل للأغراض الطبية كمطهرات Antiseptic للجروح وتقرحات البلعوم (Boucias and Pendland, 1998).

يعد فطر *Verticillium lecanii* من الفطريات الناقصة الأخرى المستعمل لمكافحة الحشرات التابعة لرتبة Homoptera كالمن والذباب الأبيض (Butt , *et al.*, 2001).

و من ابرز الفطريات المستعملة بنجاح لمكافحة العديد من الآفات الحشرية هو الفطر *Metarhizium anisopliae* ويعد هذا الفطر من اكثر الفطريات انتشاراً إذ يتواجد في التربة ويصيب غالباً جميع حشرات التربة، ويمكن ان يصيب حشرات لا تعد عوائل طبيعية له مثل البعوض (Scholte , *et al.*, 2003) .

ذكر Boucias and Pendland (1998) ان الفطر *M. anisopliae* يتطفل على حشرات معظم الرتب ومنها Coleoptera و Diptera و Lepidoptera و Orthoptera و Hemiptera وأشار العالم Zimmermann(1993) الى ان هذا الفطر له القدرة في اصابة مجاميع مهمة من الآفات الحشرية و منها البق الباصق Spittle bugs والارضة والجراد والخنافس. ويمكن خزنه بسهولة وامكانية انتاجه بكميات كبيرة على أوساط زرعية اصطناعية رخيصة (Ghanbary, *et al.*, 2009).

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

وجد إن هذا الفطر غير ضار للطيور والأسماك والانسان والبيئة (Strasser *et al*., 2000; Zimmermann, 2007).

1.1.1.4.1.2.1 الفطر *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin

الموقع التصنيفي للفطر:

Kingdom: Fungi
Division: Ascomycota
Class: Deutromycetes (Hyphomycetes)
Order: Hypocreales
Family: Clavicipitacea
Genus: *Metarhizium*
Species: *Metarhizium anisopliae*

(Mouatcho, 2010 مقتبس عن Robert, 1970)

2.1.1.4.1.2.1 نبذة مختصرة عن الفطر *M. anisopliae*

ينتمي فطر *M. anisopliae* الى صف الفطريات الناقصة Deutromycetes، يتواجد بصورة عامة في التربة، ويعد من اهم الفطريات الناقصة التي تصيب الحشرات ويسبب لها مرض المسكردين الأخضر Green Muscardine Disease وذلك لكون ابواغه ذات لون اخضر عندما تغطي اجسام الحشرات الميتة، عزل هذا الفطر لأول مرة عام 1879م من قبل العالم الروسي Metschnikoff من يرقات خنافس الحنطة الميتة *Anisoplia austriaca* وكان يعرف آنذاك *Entomophora anisopliae*، أعاد العالم Sorokin عام 1883م عزله وسمي حينذاك *Metarhizium* . (Boucias and Pendland , 1998)

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

يتضمن الجنس *Metarhizium* ثلاثة أنواع هي *M. anisopliae* var. *anisopliae* و *M. flavoviridae* و *M. album*، يعد النوعين *M. anisopliae* و *M. flavoviridae* ممرضين للحشرات (Tulloch,1976).

ذكر العالم Bischoff (2006) ان للفطر *M. anisopliae* تصنيف معقد وذلك اعتماداً على الصفات المظهرية للابواغ والخلايا المولدة للابواغ Conidiogenous cells وقد وجد ان هذا الفطر يمتلك عدة ضرب منها *M. anisopliae* var. *majus* (طول بوغه اكثر من 9µm) و *M. anisopliae* var *anisopliae* (طول بوغه 5-8µm) و *M. anisopliae* var. *frigidum* الذي يكون مشابهاً للنوع *M. anisopliae* var. *anisopliae* من حيث المظهر ولكنه يتميز بأبواغه ذات اللون الأخضر الغامق وتخصصه على حشرات رتبة غمدية الاجنحة فقط.

أوضح العالم Driver *et al*. (2000) امكانية تصنيف الفطر وذلك اعتماداً على المعلومات الجزيئية المتعاقبة والناتجة من تقنية Internal Transcribed Spacer (ITS) وتقنية The Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) وقد أوضحت هذه التقنيات ان هناك من 10 – 15 ضرباً للنوع *M. anisopliae* منها:

M. anisopliae var. *anisopliae*

M. anisopliae var. *acridum* والمعروف سابقاً باسم *M. flavoviridae*

M. anisopliae var. *majus*

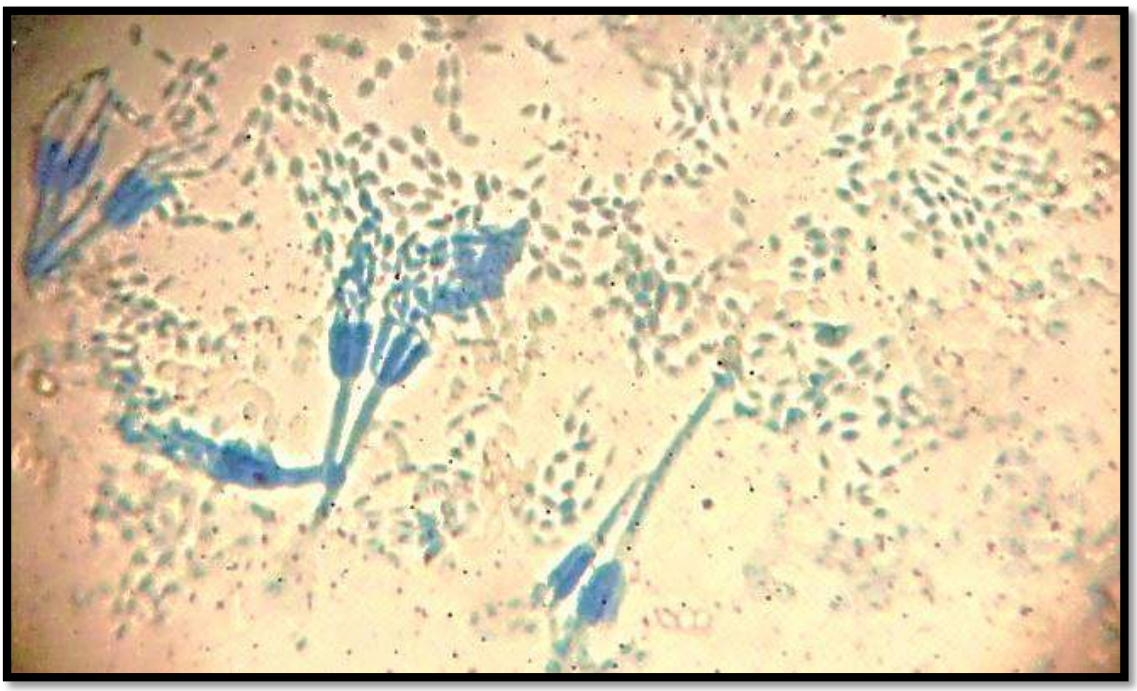
M. anisopliae var. *lepidiotum*

وقد وجد ان النوع *M. anisopliae* var. *acridum* يصيب بالدرجة الأساس حشرات رتبة غشائية الاجنحة، اما النوع *M. anisopliae* var. *anisopliae* فأنه يتطفل على مدى واسع من الحشرات، وان النتائج المختبرية اثبتت كفاءة هذا الفطر في مكافحة خنافس جذور قصب السكر في ولاية داكوتا في الولايات المتحدة الامريكية عام 1995 ويرقات خنافس الذرة

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

وسوس وحفارات الجذور (Ment *et al*., 2010 ; Denny and Donhue, 2007)، وكذلك وجد ان هذا الفطر فعال اتجاه يرقات وبالغات القراد في المختبر والحقل (Ángel-Sahagún *et al*.,2010 Romo-Martinez *et al*., 2013) .

ان تكوين الابواغ هي طريقة التكاثر اللاجنسي في هذا الفطر وتكون الابواغ اسطوانية الشكل ومرتبة بشكل سلاسل منتظمة و متوازية ذات لون اخضر براق – الأخضر الزيتوني Olivaceaous green (Tangthirasunun *et al*., 2010 ;Bischoff, 2006). ومن مميزات المظهر الخارجي للفطر هو وجود هايفات بيضاء اللون عند بداية نموها وتكون مقسمة بحواجز عرضية، والحوامل البوغية تتجمع بشكل حزم متراصة والحامل البوغي له تفرعات من طرفه النهائي ويتخذ شكل الشمعدان Candleabrum-like (Saksamrit *et al*., 2008) (صورة 1-2) .



صورة (1-2): الفطر *M. anisopliae* قوة التكبير (40X).

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

3.1.1.4.1.2.1 امراضية وتطفل الفطر *M. anisopliae* على حشرات رتبة ثنائية الاجنحة (Diptera)

أثبتت الدراسات فعالية فطر *M. anisopliae* اتجاه حشرات رتبة ثنائية الاجنحة التي تضم العديد من الآفات ذات الأهمية الطبية والبيطرية والاقتصادية.

أشار Mouatcho (2010) ان اناث بعوض *Anopheles funestus* الناقل الرئيسي لمرض الملاريا حساسة اتجاه الفطر *M. anisopliae* عند تعريضها الى تراكيز مختلفة من معلق ابواغ الفطر و ان نسبة الهلاكات تزداد بزيادة وقت التعريض، فضلاً عن ان الاناث المعاملة بالفطر تكون ذات خصوبة اقل مقارنة مع الاناث غير المعاملة بالفطر. كما أشار Paula *et al.* (2011) الى حساسية بالغات اناث بعوض *Aedes aegypti* المسببة لحمى الضنك Dengue fever للفطر *M. anisopliae* حيث وجد ان المعاملة بتركيز 10^9 بوغ/ مل من الفطر ادت الى قلة عدد البالغات التي بقت على قيد الحياة ووجد انه بزيادة وقت التعريض تزداد نسبة وفيات البالغات المعاملة بالفطر. كذلك وجدت قرة داغي (2012) إن جميع أدوار بعوض *Cx. quinquefasciatus* الناقل الرئيسي لمرض الفيلاريا حساسة لتراكيز معلق ابواغ الفطر *M. anisopliae* في المختبر وان نسب الهلاكات التراكمية ليرقات الطور الثاني والبالغات وصلت الى 100 % عند المعاملة بالتركيز 2.5×10^8 بوغ/ مل وسجلت نسب تشوهات عالية في اليرقات المصابة.

أوضحت أبحاث عديدة فعالية عزلات مختلفة من الفطر *M. anisopliae* اتجاه يرقات وبالغات ذبابة البحر المتوسط *Ceratitis capitata* اذ توصل Boudjelida and Soltani (2011) الى ان يرقات الطور الرابع والبالغات حساسة جداً وان نسبة الهلاك التراكمي عند معاملة اليرقات بالتركيزين 10^5 و 10^8 بوغ/ مل وصلت الى 26.13 % و 89.5 % على التوالي و ان

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

الذكور البالغة كانت اكثر حساسية من الاناث حيث وصلت نسبة الهلاكات الى 88.5 % عند المعاملة بتركيز 10^5 بوغ/ مل مقارنة مع نسبة هلاك الاناث والتي بلغت 76.05%.

إن النتائج الإيجابية لفعالية الفطر *M. anisopliae* ضد يرقات الحرمس الواخز *Culicoids nubeculoses* شجعت في تجربته مختبرياً ضد بالغاته الناقلة لراشح Blue tongue في شمال اوربا حيث وجد ان البالغات المعرضة لمسحوق الفطر كانت اكثر حساسية للإصابة من تلك المعرضة لعالق الابواغ حيث ظهرت عليها الإصابة بعد 4 أيام من المعاملة وعدت هذه اول دراسة من نوعها لتحديد كفاءة الفطر *M. anisopliae* ضد بالغات الحرمس من خلال رش مسحوق الفطر على السطوح التي تمثل أماكن راحة للبالغات. وان انتقال الابواغ بين الذكور والاناث من خلال التلامس اثناء التزاوج سببت زيادة في مستوى هلاك البالغات مما نتج عنه انخفاض في نقل المسبب المرضي (Ansari *et al*.,2011).

يُعد الذباب المنزلي من الحشرات الحساسة اتجاه الفطر حيث وجد Anderson *et al*. (2011) ان تعريض البالغات لتراكيز 10^7 و10^9 بوغ/ مل يؤدي الى هلاكات كبيرة اعتماداً على التركيز. وفي العراق توصلت عبيد (2011) في دراستها عن تأثير الفطر في الذبابة المنزلية *Musca domestica* L. الى ان جميع أدوار الحشرة حساسة لتراكيز الفطر 10^6 و 10^7 و 10^8 بوغ/ مل و لا سيما البالغات.

كما أوضح Wright *et.al* (2004) حساسية اناث ذبابة *Lucilia sericata* التي تسبب التدويد الجلدي للاغنام وتؤدي الى حصول خسائر اقتصادية الى الفطر *M. anisopliae*. وكذلك أوضح Mahmoud (2009) حساسية بالغات ذباب *Bactrocera aleae* التي تصيب محصول الزيتون في مصر للفطر *M. anisopliae* عند تعريضها الى تركيز 10^8 بوغ/ مل من معلق ابواغ الفطر وكانت نسبة القتل من 39.2 – 92 % بعد 20 يوماً من المعاملة.

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

كما أشار Zimmer *et al.*(2010) الى حساسية ذباب الاسطبل *Muscina stabulans* الى الفطر *M. anisopliae* عندما تم تعريض اليرقات الى التراكيز 10^5 و10^6 و10^7 و10^8 بوغ/مل من معلق ابواغ الفطر ولوحظ ان نسبة القتل تزداد بزيادة تراكيز معلق ابواغ الفطر.

4.1.1.4.1.2.1 انزيمات وسموم الفطر *M. anisopliae*

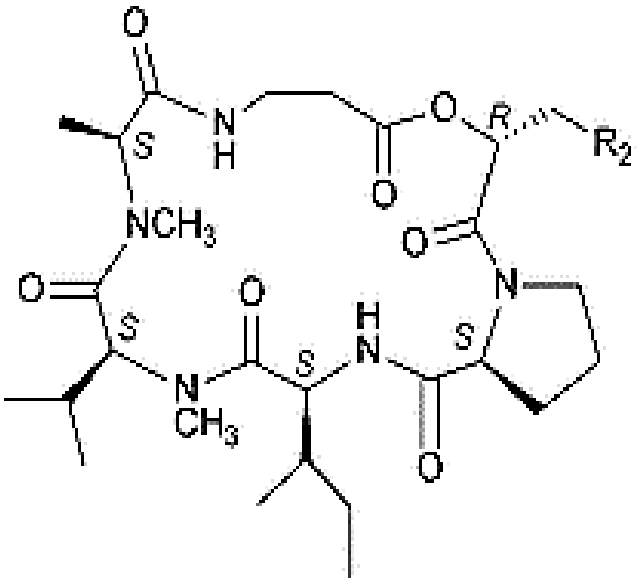
تتميز العديد من الفطريات بقدرتها في انتاج بعض المركبات الايضية السامة عند اصابتها لعوائلها الحشرية، وان انتاجها لمثل هذه المركبات الايضية يجعل منها عوامل مكافحة احيائية ذات كفاءة عالية (Mohanty *et al*., 2008).

إن بدء الإصابة بالفطر واستمرارها يتطلب افراز أو انتاج بعض الانزيمات الضرورية، وقد وجد إن الفطر *M. anisopliae* ينتج العديد من الانزيمات التي تعمل على تحليل الجليد والتي تسمى Cuticule degrading enzymes والتي تساهم مع الضغط الميكانيكي للعضو الضاغط Appressoria باختراق الجليد ومن هذه الانزيمات انزيمي Protease و Esterase والتي تنتج بعد التصاق ابواغ الفطر على جليد الحشرة (St Leger, 1995) ، كذلك ينتج الفطر مجموعة انزيمات Endoprotease التي تساعد في اختراق جليد الحشرة وتقوم بالسيطرة على نمو وتمايز الفطر، وهناك انزيمات يقوم الفطر بإنتاجها لتكسير الأواصر الببتيدية الموجودة في المركبات المكونة لجليد الحشرة بتحفيز من انزيمات Endoprotease وهذه الانزيمات تشمل Aminopeptidase، Dipeptidyl – aminopeptidase Carboxypeptidase (Charnley, 2003)، ينتج الفطر كذلك انزيم Lipase الذي يقوم بتحطيم طبقة الجليد السطحي Epicuticular layer من خلال هضم مادة Lipoprotien وانزيم Chitinase الذي يساعد الخيوط الفطرية في النمو داخل جسم الحشرة (Silva *et al*., 2005) .

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

أشار Smith and Grula (1983) الى ان هذه الانزيمات ينتجها الفطر بصورة متسلسلة وذلك من خلال قيامه بتنمية الفطر في أوساط زرعية سائلة تتضمن مسحوق الجليد، حيث لاحظ ان انزيمات Esterase و Proteolytic التي تضم Aminopeptidase و Carboxypeptidase و Endomoprotease تنتج بعد 24 ساعة ، بعدها تنتج انزيمات N- acetylglucosaminidas (NAGase) ، أما بالنسبة لأنزيمي Chitinase و Lipase فأنهما ينتجان بعد ثلاثة – أربعة أيام .

إن أهم ما يميز الفطر *M. anisopliae* هو انتاجه لبعض المركبات السامة التابعة لمجموعة المركبات الببتيدية الحلقية Cyclicpeptide و المعروف باسم Destruxins (DTX) (شكل 1-1)



شكل (1-1): التركيب الحلقي للدستروكسين Destruxin عن (Molnàr *et al.*, 2010)

تنتج هذه المواد داخل جسم العائل لاسيما عند غزوه للتجويف الدموي Haemocoel (Engler, 2004; Amiri- Besheli *et al.*, 2000). إن DTX عبارة عن مركبات حلقية سداسية الببتيد تتكون من خمسة احماض امينية هي β-alanine و alanine و Valine و Isoleusin و Prolin وحامض α-hydroxy acid (Golo *et al.*, 2011 ; Male *et al.*, 2009). وقد وجد

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

ان هنالك خمسة أنواع من DTXs هي A , B , C , D , E و ان النوعين A , B من اهم الأنواع التي تعمل كمبيدات احيائية (Cloyd, 1999) .

إن الأعضاء التي تستهدفها مركبات ال DTXs نوع A, B في جسم الحشرة هي القناة الهضمية، انابيب مالبيجي، جهاز الدوران، أما بالنسبة DTXs نوع E, C فأنها تعمل على تثبيط الجهاز المناعي للحشرة (العائل) حيث تؤثر في الخصائص المظهرية والفسلجية لبعض الخلايا لا سيما Plasmatocytes التي لها دور في عملية الالتهام Phagocytosis والكبسلة Encapsulation (Male *et al.*,2009 ; Samuels, 1998). وقد وجد ان DTXs يكون ساماً للحشرات فقط عندما يهضم من قبل الحشرة أو عند حقنه في جسمها ولا يعد ساماً اذا ما تم تعريض جسم الحشرة للرش به (Silva *et al.*, 2005).

ذكر Golo *et al.* (2011) ان DTXs تسبب حالات تشنج وضمور عضلات يرقات حرشفية الاجنحة وبالغات ثنائية الاجنحة اذا عوملت بالجرعات الواطئة أما اذا كانت الجرعات عالية فأنها تسبب لها الموت، كما يقوم DTXs بتثبيط عمل انابيب مالبيجي من خلال تأثيرها في قنوات الكالسيوم مما يؤدي الى الموت (James *et al.*, 1993)، وكذلك يعمل على منع تحفيز الغدد العصبية الصدرية في يرقات النوع *Manduca sexta* على افراز هرمون الانسلاخ و كذلك يعمل على زيادة عدد ضربات القلب (Sloman and Reynolds, 1993; Samuels, 1998).

5.1.1.4.1.2.1 آلية الإصابة بالفطر *M. anisopliae*

إن الفطريات الممرضة للحشرات لا تشبه بقية عوامل المكافحة الاحيائية الأخرى في احداثها الإصابة للعائل فهي لا تتطلب أن تتناول من قبل العائل لكي تحدث الإصابة كالبكتريا والرواشح والابتدائيات والديدان الخيطية، لكنها يمكن ان تصيب العائل عن طريق اختراق ابواغ الفطر لجدار جسم العائل لا سيما عند الأماكن الرقيقة، وقد تحدث الإصابة عن طريق سيفون الهواء كما هو الحال

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

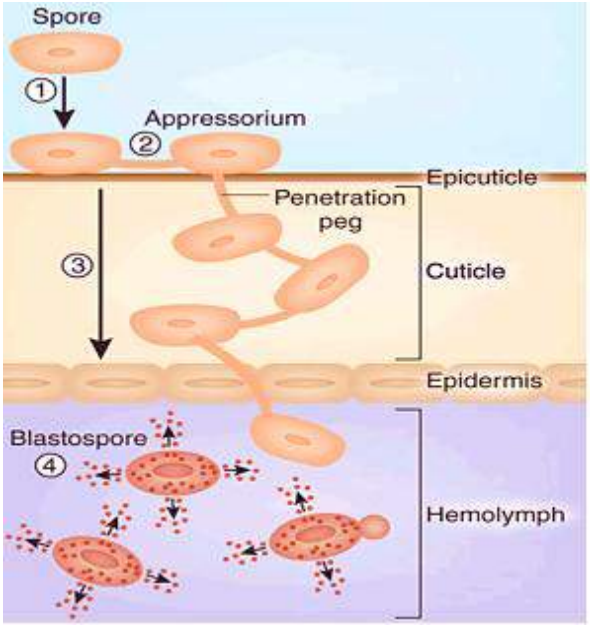
في يرقات وعذارى البعوض (Charnley, ;St.Leger *et al*., 1995 ;Lacey *et al*., 1988 2003).

إن تكوين أنبوب الانبات Germination tube بعد التصاق ابواغ الفطر يعد اول خطوة مهمة تحصل عند الإصابة الفطرية، التي تنتهي بالعضو الضاغط Appressorium الذي تنمو من خلاياه خلايا إضافية منفصلة عن بعضها بحواجز يكون جدار العضو الضاغط محاطاً بمادة هلامية كثيفة تساعد على التصاق البوغ وامتلاء الفسحة الموجودة ما بين العضو الضاغط وأنبوب الانبات وهذا يؤدي الى حصول الارتباط الوثيق الذي يؤدي الى الاختراق، وقد وجد ان الطبقة الخارجية للبوغ تكون ذات تركيب بروتيني ومرتبة بشكل صفوف اسطوانية ملساء تدعى القضيبيات Rodlets وتكون هذه الطبقة مسؤولة عن تعريف البوغ بالعائل، والذي يساعد على اختراق البوغ للطبقة الشمعية الخارجية للجليد هو كون هذه الطبقة كارهة للماء التي تشبه الطبقة الخارجية الشمعية للجليد التي تكون كارهة للماء ايضاً (Bukhari ;Ment *et al*., 2010 ;Boucias and Pendland, 1998 *et al*., 2011).

يبدأ الفطر بالنمو خلال جليد الحشرة بصورة افقية بعد حصول الالتحام وتكوين وتد الاختراق Penetration peg بدءاً من الطبقة الخارجية للجليد الاولي Procuticle مسبباً تضخم طبقة تحت الجليد السطحي Subepicuticular layer وتكسرها وبالتالي سهولة عملية الاختراق. ان الطبقة الخارجية للجليد الاولي تقاوم الاختراق الميكانيكي بسبب وجود البروتينات المتصلبة، بينما طبقة الجليد الداخلي Endocuticle تكون مرنة وسهلة الاختراق بسبب عدم وجود البروتينات المتصلبة (Bidochka *et al*., 1998). بعدها تتكون صفيحة الاختراق Penetration plate التي تكون موازية للطبقة الداخلية للجليد. مما يؤدي الى تحطم الجليد والطبقات الموجودة اسفله، ويبدأ الفطر

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

بتكوين الاجسام الهايفية Hyphal bodies التي تغزو الاجسام الدهنية للحشرة والتجويف الدموي (Clarkson and Charnley, 1996) (شكل 1-2).



شكل (1-2): آلية اختراق ابواغ الفطر لجليد الحشرة عن (Thomas and Read,2007)

وعند تقدم الإصابة فأن الفطر يخترق الانسجة والأعضاء الداخلية بالترتيب الآتي: الاجسام الدهنية – الجهاز الهضمي – انابيب مالبيجي – الجهاز العصبي – العضلات والقصبات الهوائية. وبعد موت الحشرة خلال 48 – 60 ساعة تنمو الهايفات خارج جدار الجسم ويحصل خروج الخيوط الفطرية من المناطق الضعيفة للجسم كالأغشية التي تربط قطع الارجل ونقر أعضاء الحس (الباروني والحجازي، 1994). ينمو الفطر خارج جسم الحشرة بعد موتها لينتج الابواغ لا سيما عند توفر الظروف الملائمة التي بدورها تصيب افراداً أخرى من النوع المستهدف نفسه (Alves *et al*., 2002; Scholte *et al*., 2004b) .

6.1.1.4.1.2.1 اعراض الإصابة بالفطر *M. anisopliae*

إن الحشرات المصابة بالفطريات تظهر عليها مجموعة من الاعراض المظهرية والسلوكية التي تتمثل بفقدان الشهية للحشرة وقلة نشاطها وسكونها وقلة في الوزن، فضلاً عن عدم تناسق

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

حركاتها، والحشرات الموجودة تحت التربة تنتقل للعيش على سطح التربة، وقد يظهر عليها علامات الشلل الجزئي والنحول نتيجة قيام الفطر بإفراز الانزيمات والسموم وقد يتغير لونها (الباروني والحجازي، 1994؛ طه، 2007)، وقد أشار Xia *et al*. (2013) الى انه عند إصابة يرقات العث نوع *Plutella xylostella* يظهر على كيوتكل اليرقة المصابة بالفطر بقع غامقة تدعى الملننة Melanization وظهور هذه البقع يدل على اختراق الفطر لجدار جسم الحشرة ويحصل هذا بعد 30 ساعة من المعاملة بإحدى سلالات الفطر *M. anisopliae* ولاحظ كذللك انكماش جسم اليرقة بعد 72 ساعة من المعاملة ويصبح شكل اليرقة المصابة بالفطر بشكل حرف C وبعد 56 ساعة من المعاملة يصبح لون جسمها احمر ومغطى بالقليل من الهايفات ذات اللون الأبيض. وقد تموت الحشرة المصابة بالفطر مباشرة بعد معاملتها بالفطر، كما يحصل تغيراً في الوان الحشرات المصابة تبعاً لنوع الفطر الذي تصاب به حيث أشار Mouatcho (2010) الى ان بعوض *Anopheles funestus* يتلون باللون الأبيض عند الإصابة بفطر *Beauveria bassiana* ويتلون باللون الأخضر عند الإصابة بفطر *M. anisopliae*.

7.1.1.4.1.2.1 العوامل المؤثرة في نمو وامراضية الفطر *M. anisopliae*

تتأثر الفطريات كغيرها من الأحياء المجهرية الأخرى التي تصيب الحشرات بمجموعة من العوامل منها ما يتعلق بالحشرة نفسها ومنها ما يتعلق بالظروف البيئية التي تحيط بالفطر والحشرة، ومن العوامل البيئية المؤثرة في كفاءة الممرضات الفطرية درجة الحرارة، اشعة الشمس، الرياح، الرطوبة، الامطار وعوامل التغذية (Alves *et al*., 2002). حيث تؤثر درجة الحرارة في نمو الفطريات اذ يتوقف النمو الفطري عند درجات الحرارة العالية وان الدرجة المثلى التي يتطلبها نمو الفطريات الممرضة تتراوح بين20– 30 م° ويتم احداث الإصابة عند درجة حرارة 15– 30 م°، وقد لوحظ ان الفطر لا يستطيع ان ينمو عند درجة حرارة من 37– 40 م° وبهذا فهو يعد غير ضار

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

باللبائن أو الأحياء ذات الدم الحار (Mustafa and Kaur, 2009). ومن العوامل الأخرى التي تؤثر بالممرضات الفطرية الرطوبة حيث أن للرطوبة تأثيراً كبيراً في الممرضات الفطرية اكثر من درجة الحرارة ويتطلب نمو الفطريات رطوبة نسبية عالية تصل الى 98% (Ibrahim *et al.*,1999).

إن لأشعة الشمس تأثيراً ضاراً بالفطريات الممرضة لا سيما الأجناس التابعة لصف الفطريات الناقصة، حيث وجد ان هناك 14 عزلة من الفطر *M. anisopliae* معظمها حساسة جداً لأشعة الشمس، وان زيادة التعرض لأشعة الشمس يخفض معدل تجرثم الابواغ لهذا يجب ان نأخذ بنظر الاعتبار حساسية عزلة الفطر المستعمل في برامج المكافحة الاحيائية لاشعة الشمس (Mustafa and Kaur, 2009). ولكن أشار Farenhorst *et al.*, (2008) الى أن الفطر *M. anisopliae* يستطيع مقاومة الظروف البيئية غير الملائمة من خلال تكوينه جداراً سميكاً يحيط بالابواغ والتي تسمح له بالبقاء حياً، وكذلك يتميز هذا الفطر بتحمله لمدى واسع من الرقم الهيدروجيني pH يتراوح بين 5 – 8 وهو المدى الملائم لنموه وانباته .

8.1.1.4.1.2.1 المستحضرات التجارية للفطر *M. anisopliae*

إن تطوير الممرضات الحشرية الفطرية بشكل مبيدات حيوية يرجع الى أسباب أهمها إن هذه الاحياء ذات تخصص عالٍ اتجاه عوائلها وكونها غير مؤذية للأحياء الأخرى غير المستهدفة كالنباتات كما انها لا تشكل خطراً في البيئة وليست لها اضرار على الانسان والحيوان ولا تسبب تلوث المياه والهواء مقارنة بالمبيدات الكيميائية (Engler, 2004) إن تخصصها العالي للعوائل التي تصيبها جعلها تؤدي دوراً مهماً في تنظيم اعداد الآفة طبيعياً كما إن تأثير الممرضات في مجتمع الآفة لا يحدث فقط عند الحد الاقتصادي الحرج لتلك الآفات الذي يتطلبه استخدام المبيدات الكيميائية. إن عوامل المكافحة الاحيائية امكن تحسين صفاتها لكي تلائم استعمالاتها التجارية كأن تكون بشكل مستحضرات سائلة او جافة و كيفية المحافظة على فعاليتها تحت ظروف الخزن ، ومن اكثر

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

الفطريات المستعملة كعوامل مكافحة حيوية تلك التي تعود الى رتبة Hypocerales لا سيما الفطر *M. anisopliae* (Goble, 2009).

لقد تبنت العديد من المنظمات الدولية المعنية بالمجال البيئي عام 1981م برنامج LUBILOSA والمختصر عن الفرنسية Lutte Biologique contre les Locustesetles Sauleriaux التي يقصد بها السيطرة الاحيائية على الجراد والنطاطات عن طريق استعمال سلالة الفطر *M. anisopliae* var. *acridum* لكون هذه السلالة متخصصة على الجراد، وامكن تنميته على أوساط زرعية وبكميات كبيرة يسمح باستعمالها من قبل المزارعين حتى في الظروف الجافة وباستعمال معدات بسيطة عن طريق استخدام تقنية الرش بالحجم المتناهي بالصغر Ultra (ULV) – Low Volume في مكافحة الجراد الصحراوي (Hong *et al.*,1997).

أشار Hajek (2004) الى ان خلط مستحضرات الفطر *M. anisopliae* var. *acridum* مع الزيت ورشها يمكن ان تقتل حوالي 70 – 90 % من الجراد المعامل بها.

لقد تم انتاج الفطر *M. anisopliae* بشكل مستحضرات تجارية تحمل أسماء متنوعة منها Cobican و Bio – path و Biogreen (Scholte *et al.*, 2004b) . وقد تم تطوير مستحضر تجاري استعمل في عدة دول افريقية كزامبيا و نامبيا و موزمبيق يعرف Green Muscle® لمكافحة الجراد والنطاطات، وكذلك المبيد الاحيائي Green Guard® المستعمل في مكافحة الجراد في استراليا منذ عام 2005 والى الأن (Moazami, 2005). وقد أشار Leland (2001) الى ان سبب نجاح هذه المبيدات في مكافحة الجراد هو استخدام المستحضرات بطريقة الرش التي تؤدي الى التصاق ابواغ الفطر على جدار جسم الحشرة.

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

2.1.4.1.2.1 المكافحة الجرثومية بإستخدام البكتريا

تتواجد في الطبيعة أنواع مختلفة من البكتريا التي تصيب مجاميع مختلفة من الحشرات وتقضي عليها لا سيما عند توفر الظروف الملائمة لنموها وانتشارها وتسمى البكتريا الممرضة للحشرات بـ Entomopathogenic Bacteria، درست امراض الحشرات البكتيرية لأول مرة من قبل العالم الفرنسي لويس باستور عام 1870م حيث عزل المسببات البكتيرية المسؤولة عن مرض Flacherie الذي يصيب دودة الحرير، وفي سنة 1885م قام العالمان Cheshire و Cheynes بدراسة مرض الحضنة الأوربي Europeanfoulbrood الذي يصيب النحل وكانت تلك الدراسات بداية لمعرفة دور البكتريا في إصابة و قتل الحشرات الضارة (الزبيدي، 1992).

توجد مجموعتان من البكتريا الممرضة للحشرات، مجموعة تتضمن انواعاً غير مكونة للابواغ Non spore forming bacteria منها النوع *Pseudomonas septica* التابع لعائلة Pseudomonaceae وقد وجد ان هذا النوع ممرض لبعض أنواع الخنافس الجعالية، وبالغات الذباب المنزلي وان سمية هذه البكتريا مرتبطة بإفرازها لسم خارجي اثناء مرحلة نموها داخل تجويف الحشرة (الباروني والحجازي، 1994) .

والمجموعة الثانية تمثل البكتريا المكونة للابواغ Spore forming bacteria وقد عرف منها اكثر من مئة نوع عزل من حشرات مصابة. وتعد البكتريا المكونة للابواغ من افضل أنواع البكتريا المستعملة في برامج المكافحة الجرثومية بسبب امكانية خزنها لمدة طويلة دون ان تفقد حيويتها. إن الابواغ البكتيرية عبارة عن اجسام جافة تمتاز بشدة مقاومتها للحرارة والضوء والمواد الكيميائية، يمكنها ان تبقى حرة في الطبيعة لعدة سنوات، وتنحصر أنواع هذه المجموعة ضمن جنسين مهمين من اجناس البكتريا العصوية هما *Bacillus* و *Closteridium* (الزبيدي، 1992).

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

تعد انواع البكتريا التابعة للجنس *Bacillus* من اكثر الأنواع المستعملة في برامج مكافحة الآفات، ويتضمن هذا الجنس الأنواع التي تسبب المرض اللبني Milky disease في يرقات بعض أنواع الخنافس منها الخنافس اليابانية *Popilia japonica* منها بكتريا *B. popilliae* (وهي بكتريا عصوية مكونة للابواغ)، وقد حازت في السنوات الأخيرة على اهتمام كبير من قبل الباحثين لاستعمالها كبدائل او مساعدات للمبيدات الكيميائية في مكافحة الآفات لكونها محددة العوائل ولا تصيب الحشرات النافعة وآمنة للانسان والفقريات الأخرى ما يجعلها مقبولة بيئياً (الباروني،1991؛ الحاج إسماعيل، 2009).

تعد بكتريا *B. sphaericus* من أنواع الجنس *Bacillus* المهمة والمستعملة في مكافحة البعوض حيث تتواجد في جميع انحاء العالم في التربة والبيئات المائية، وقد تم عزلها من يرقات بعوض مصابة في ولاية كاليفورينا من قبل العالمين Myers و Kellen عام 1964، وقد وجدت منها عدة عزلات شخصت في معهد باستور اثبتت كفاءتها في مكافحة البعوض، وتعد العزلة المعزولة من نيجيريا من اهم العزلات واطلق عليها *B. sphaericus* 2362 ومن مميزاتها انها فعالة ضد اغلب أنواع الجنسين *Culex* و *Anopheles* وذات فعالية اقل ضد أنواع البعوض الأخرى (Connelly and Carlson, 2009). كما وجد انها ممرضة ليرقات ذباب *Chaoborus astictopus* (الباروني والحجازي، 1994).

أشار Medeiros *et al.* (2005) الى إن فعالية المستحضر المصنع على شكل أقراص سريعة التفكك من بكتريا *B. sphaericus* 2362 في يرقات بعوض *Cx. quinquefasciatus* إذ كانت نسبة الوفيات لليرقات 100 % من اليوم الأول من المعاملة وحتى شهرين من تطبيق المستحضر في الحقل، وقد اشارت النتائج عدم تأثر البكتريا بالأشعة فوق البنفسجية، وفي البرازيل استعملت هذه البكتريا في 2500 موقع من الأماكن المحتملة لتكاثر البعوض فيها وقد لوحظ انخفاض

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

البعوض بنسبة 60 % (Regis *et al*.,2000)، لكن تبقى بكتريا *B. thuringiensis* اهم أنواع البكتريا المستعملة بنجاح في مكافحة الحشرات.

1.2.1.4.1.2.1 بكتريا *Bacillus thuringiensis* Berliner

الموقع التصنيفي للبكتريا

Kingdom: Eubacteria
Domain: Bacteria
Phylum: Firmicutes
Class: Bacilli
Order: Bacillales
Family: Bacillaceae
Geuns: *Bacillus*
Species: *Bacillus thuringiensis*

(القناوي، 2011).

2.2.1.4.1.2.1 نبذة مختصرة عن بكتريا *Bacillus thuringiensis*

تعد بكتريا *Bacillus thuringiensis* من البكتريا المكونة للابواغ والبلورات Crystals and spores forming bacteria من اهم الأنواع البكتيرية والأكثر فعالية واستعمالاً في مكافحة الآفات الحشرية حيث يتميز هذا النوع بتكوينه بلورة بروتينية اثناء مرحلة تكوين البوغ، هذه البلورة تكون ذات تأثير سام لكثير من أنواع الحشرات، وقد تم عزل هذه البكتريا لأول مرة عام 1911 من قبل العالم Berliner عند فحصه ليرقة من يرقات فراشة طحين البحر الأبيض المتوسط *Anagasta kuhniella* التي أرسلت اليه من مدينة Thuringia الألمانية، وقد عزلت فيما بعد سلالات عديدة تابعة لهذا النوع فعالة جداً في إصابة وقتل الحشرات، وتعد بعض عوائل رتبة حرشفية الاجنحة من

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

الأكثر الحشرات حساسية لها فضلاً عن بعض عوائل رتبة ثنائية الاجنحة (الباروني، 1991؛ الزبيدي، 1992) .

بكتريا *B. thuringiensis* عصوية الشكل، موجبة لصبغة كرام، متحركة بواسطة سوط جانبي، لا هوائية اختيارية (هوائية لكنها تبقى على قيد الحياة في حالة عدم وجود الهواء)، فهي تحتاج الى الاوكسجين لكي تنمو وتتكاثر ولاسيما في الأوساط التخمرية، تحتاج الى درجة حرارة 15–40 م° لتكوين الابواغ والدرجة المثلى لنموها هي 30 م°، تتكاثر بكتريا *B. thuringiensis* لاجنسياً بطريقة الانشطار الثنائي (Boucias and Pendland,1998 ;Höfte and Whitley,1989).

تتميز مستعمرات بكتريا *B. thuringiensis* بكونها بيضاء خشنة تنتشر وتملأ الطبق بسرعة، والابواغ بيضوية الشكل غير منتفخة، وموقعها تحت طرفي Subterminal. تمتلك هذه البكتريا جدار جسم غير سميك يتركب بصورة أساسية من الببتيوكلايكان (ببتيدات الاحماض الامينية وسكر معقد)، يوجد بين جدار الجسم والغشاء البلازمي فراغ صغير يدعى الفسحة قبل الهيولية Periplasmic space وهو ضروري جداً للتخليق الحيوي والحماية (Allwain *et al.*, 2007).

إن اهم ما يميز بكتريا *B. thuringiensis* هي تكوينها لبروتينات بلورية Crystal protein داخلية مجاورة للبوغ خلال عملية تكوين البوغ Sporulation، ويمكن ملاحظة البلورة بسهولة تحت المجهر الالكتروني، التي يختلف شكلها باختلاف السلالات، إذ قد تكون البلورة ثنائية الهرم وهي فعالة ضد الحشرات حرشفية الاجنحة، أو كروية الشكل والتي تكون فعالة ضد الحشرات ثنائية الاجنحة ، أو مكعبة الشكل وهي فعالة ضد الحشرات غمدية الاجنحة (WHO, 2009) .

تؤلف بروتينات البلورة 30 % من وزن الخلية الجاف، لهذا فهي تتأثر بالحرارة ولا تذوب بالماء او المذيبات العضوية ولكنها تذوب بسهولة في المحاليل القلوية المختزلة، تبلغ ابعادها واحد مايكرون طولاً و0.5 مايكرون عرضاً، وللتميز بين البوغ والبلورة يتم تحضير شريحة ثم تثبيتها حرارياً

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

وتصبيغها اما بصبغة الفاكسين القاعدية او النفثالين السوداء او الكرستال البنفسجية، حيث تُظهر هذه الصبغات البلورة مصطبغة بجانب البوغ البيضوي الشكل غير المصطبغ (Hajek, 2004).

يتميز البوغ عن الخلية البكتيرية الناضجة باحتوائه على جدار سميك مؤلف من طبقات كيراتينية وقائية مؤلفة من مركبات معقدة أهمها حامض Diaminopimelic acid الذي يعطي البوغ صفة المقاومة للظروف الخارجية وكذلك قدرته الحيوية على تصنيع بروتينات بلورية (Cranshaw, 2008) .

يُمكن اكثار بكتريا *B. thuringiensis* في بيئات صناعية و بهذا امكن انتاجها بكميات كبيرة على شكل مساحيق قابلة للبلل او التعفير (القناوي، 2011) .

تم تشخيص عدة سلالات من بكتريا *B. thuringiensis*، هذه السلالات تختلف باختلاف الأنماط المصلية وجميعها تنتج سبورات وجسم جار السبور خلال عملية تكوين البوغ، يحتوي الجسم جار السبور على واحد او العديد من بلورات بروتينات السموم الأولية، وتسمى البلورات في بكتريا *B. thuringiensis* ب Delta – endotoxin (Boucias and Pendland, 1998). ومن هذه السلالات *B. thuringiensis thuringiensis* فمن خلال الدراسات التي اجراها Sarjan (1993) في المختبر وجد ان هذه السلالة فعالة ضد ذباب التدويد، وإن السلالة *B. thuringiensis kurstaki* فعالة ضد يرقات حرشفية الاجنحة وان سميتها تختلف باختلاف السموم التي تنتجها، وإن السلالة *B. thuringiensis tenebrionis* فعالة ضد الحشرات غمدية الاجنحة (Hajek,2004).

تم اكتشاف سلالة جديدة من بكتريا *B. thuringiensis* في عام 1976 في صحراء النقب من قبل العالمين Margalit and Goldberg (1977) وهذه السلالة هي *B. thuringiensis israelensis* (H- 14) *B. t. i.* المعروفة بفعاليتها في مكافحة البعوض والذباب

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

الأسود، وقد تم انتاجها تجارياً وأصبحت متوفرة لغرض المكافحة (Ben-Dov, 2014). إن هذا النوع من البكتريا غير سام للحشرات غير المستهدفة والانسان والأسماك والحيوانات (Ahmedani *et al*., 2007 ;Ginsburg, 2006 ;Glare and O′callaghan, 1998).

3.2.1.4.1.2.1 المواد السامة لبكتريا *B. thuringiensis*

تنتج هذه البكتريا اثناء عملية تكوين البوغ Sporulation بلورات تحتوي على مواد سامة تعزى إليها القابلية في إمراضية الحشرات وبالتالي موتها ، اهم هذه السموم مواد سامة داخلية تعرف بDelta - endotoxin وقد صنفها Höfte and Whiteley (1989) الى سموم فعالة ضد حشرات حرشفية الاجنحة وهي CryII, CryI والسموم CryII, CryIV فعالة ضد ثنائية حشرات الاجنحة، اما السم CryIII فيكون فعال ضد غمدية الاجنحة، فضلاً عن هذا فأنها تنتج مواد سامة خارجية هي α–exotoxin (الفا) وهو عبارة عن انزيم يحطم الدهون الفسفورية الموجودة في انسجة الحشرات وهو المسؤول عن هلاك العائل حيث وجد إن 3 مايكوغرام هي الجرعة النصف مميتة (LC_{50}) للطور اليرقي الخامس للزنبور المنشاري ، اما السم β–exotoxin (بيتا) يحتوي على أجزاء متساوية من الادنين والرايبوز ويعمل على تثبيط الحامض النووي الرايبوزي منقوص الاوكسجين DNA و يعد ساماً لمدى واسع من الحشرات وكذلك بعض الفقريات ولذلك ينصح باستبعاده من المستحضرات التجارية لبكتريا *B. thuringiensis* ويتم ازالته بسهولة عن طريق غسله بالماء حيث انه يذوب بسهولة في الماء وقد وجد انه عند معاملة يرقات الذباب بجرعات غير قاتلة من هذه المادة السامة ظهرت حشرات مشوهة غير كاملة ذات اجنحة مختزلة وبطن مدببة.

γ–exotoxin (كاما) وهو عبارة عن انزيم يعمل على تحطيم الدهون الفسفورية وقد يزيل أو يحرر الاحماض الدهنية الموجودة في الانسجة، δ–endotoxin (دلتا) يوجد داخل الجسم البلوري للخلية البكتيرية ويتحمل هذا المركب درجات الحرارة ويذوب في المحاليل القلوية وقد وجد انه ينشط في القناة

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

الهضمية ذات الوسط القاعدي ليرقات حرشفية الاجنحة محرراً المكونات السامة الموجودة داخل الجسم البلوري التي تسبب الشلل خلال دقائق (الباروني، 1991).

4.2.1.4.1.2.1 امراضية بكتريا *B. thuringiensis israelensis* لحشرات رتبة ثنائية الاجنحة Diptera

استعملت عزلة بكتريا *B. t. i.*(H-14) كعامل من عوامل المكافحة الجرثومية لمكافحة العديد من الآفات الحشرية التابعة للعديد من الرتب الحشرية، ومن الرتب التي تختص بكتريا *B. t. i.*(H-14) بإصابتها رتبة ثنائية الاجنحة التي تضم العديد من الآفات المهمة من الناحية الطبية والبيطرية والاقتصادية ، وقد وجد ان بكتريا *B. thuringiensis israelensis* ذات امراضية عالية للعديد من الأنواع التابعة لعوائل Culicidae، Chironomidae، Simuliidae، بهذا الصدد أشار Cao *et al.* (2012) الى حساسية يرقات *Chironomus kiiensis* اتجاه هذه العزلة، عندما تم تعريضها للبكتريا بشكل مساحيق قابلة للبلل أو الخلط مع الزيت. كما ذكر Cavados *et al.* (2004) حساسية يرقات الذباب الأسود نوع *Simulium pertinax* وهو الناقل الرئيسي لمرض عمى الأنهار Onchocerciasis الى بكتريا *B. thuringiensis israelensis* عند تعريضها لعدة تراكيز من البكتريا خلال اربع ساعات ومن خلال ملاحظته للدراسات النسجية التي اجراها اظهر الفحص بالمجهر الضوئي تحطم الخلايا الطلائية الداخلية للقناة الهضمية الوسطى وظهور فجوات في الخلايا العمودية للأمعاء وبهذا الصدد ايضاً أوضح Pereira *et al.* (2013) حساسية النوع *S. perflavum* الى هذه البكتريا حيث كانت نسبة القتل 100% عند المعاملة بتركيز 18.3 ملغم/ مل وكانت قيمة LC_{50} المحسوبة 9.5 ملغم/ مل.

أظهرت الدراسة التي اجراها Fillinger and Lindsay (2006) حساسية يرقات احد أنواع الجنس *Anopheles* الناقل الرئيسي لمرض الملاريا اتجاه هذه البكتريا حيث وجد ان عدد

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

اليرقات يقل في المياه المعاملة بنسبة 95%. وتوصل العالم Ritchie *et al*. (2010) الى إمكانية استعمال الجرع العالية من بكتريا *B. thuringiensis israelensis* بشكل مستحضرات قابلة للبلل وأخرى بشكل مساحيق كمتبقيات سامة في الاوعية الصغيرة لمكافحة البعوض التابع للنوع *Aedes aegypti* المسبب لحمى الضنك Dengue fever عندما استخدمت جرع عالية (10x , 20x , 50x) والمقترح استخدامه 8 ملغم/ لتر حيث كانت نسبة القتل 80% على مدى ستة اشهر تحت ظروف المختبر. وقد وجد انه عند استعمال مستحضر البكتريا المسمى Vectobac بشكل حبيبات قابلة للذوبان في الماء لمكافحة يرقات الطور الثالث لستة أنواع من البعوض في استراليا منها *A. aegypti* و *Ochlerotatus vigilax* و *O. notoscriptus* و *Culex sitiens* و *Cx. annulirostris* و *Cx. quinquefasiatus* كانت معظمها حساسة جداً لهذا المستحضر (Russell *et al*., 2003)، وفي العراق توصل صالح (2013) الى حساسية بعوض *Cx. quinquefasiatus* لبكتريا *B. thuringiensis israelensis* عندما قام بمعاملة يرقات الطور الثالث بالتركيزين 0.03، 0.04 جزء بالمليون وقد سجلت المعاملة نسبة قتل 100 % بعد ساعة ونصف من المعاملة.

كذلك اوضح Vidal – Quist *et al*. (2010) حساسية يرقات ذبابة البحر الأبيض المتوسط *Ceratitis capitata* التي تسبب اضراراً كبيرة للفاكهة اتجاه هذه البكتريا. كما أشار Mwamburi (2008) الى حساسية يرقات الذباب المنزلي *Musca domestica* اتجاه هذه البكتريا بعد رش حقول تربية الدواجن وخلطها مع غذاء الدجاج وقد لاحظ انه كلما زادت مدة التعريض والتركيز المستعمل زادت نسبة القتل. وأشار Olivera *et al*.(2006) الى حساسية يرقات ذبابة التدويد *Chrysomya putoria* الى بعض سلالات بكتريا *B. thuringiensis israelensis*، كما

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

اشارت Sabry (2004) الى حساسية ذباب التدويد الثانوي *Ch. albiceps* اتجاه بكتريا *B. thuringiensis israelensis* في المختبر .

إن الاهتمام بتصنيع المبيدات الكيميائية لغرض مكافحة الحشرات بدأ بالتناقص بسبب المقاومة التي بدأت تظهر في العديد من أنواع الآفات نتيجة للاستعمال المتكرر والمفرط لها (الزبيدي، 1992)، وكذلك الحال مع استعمال بعض المبيدات الجرثومية مثل الرواشح والبكتريا (الباروني والحجازي، 1994).

لقد وجد إن الحشرات التي تكون بتماس ثابت ومستمر مع سم واحد من بكتريا *B. thuringiensis* اكتسبت وسائل دفاع خلوية أو تكيف (تحمل) وظيفي أدت بالتالي الى نشوء مقاومة اتجاهه، ولكن عند استعمال السموم التي تنتجها البكتريا كلها في انتاج المبيدات الجرثومية فأن المقاومة تكون ضعيفة، بهذا الصدد ذكر Georghiou and Wirth (1997) بأن بعوض *Cx. quinquefasiatus* اصبح مقاوماً للسموم CryIIA ، CryIVA and Cry4B عند دراستها في المختبر ولكنه حساس جداً للسموم Cry and CytIAa. لقد وجد إن آلية المقاومة هذه تتضمن انخفاض ارتباط السم بالمستقبلات الخاصة الموجودة بسطح الخلايا الطلائية للقناة الهضمية الوسطى أو تحدث نتيجة لعمل انزيم البروتيز الموجود في القناة الهضمية الذي يساهم في تحلل البكتريا وتحرير السم (Escriche *et al*., 1995). وقد تم تسجيل أولى حالات المقاومة في حشرة *Plodia interpunctella* التابعة لرتبة حرشفية الاجنحة باستعمال بكتريا *B. thuringiensis* وقد لوحظ إن المقاومة تزداد الى 100 ضعف بعد 15 جيلاً مربى في المختبر و250 ضعفاً بعد 36 جيلاً (Mcgaughey and Beeman, 1988 ; Mcgaughey, 1985). كما سجلت مقاومة في الحقل اتجاه بكتريا *B. thuringiensis israelensis* عند معاملة بعوض *Aedes aegypti* و *Ae. vexans* (Becker and Ludwig, 1993 ; Goldman *et al*., 1986). وقد أشار Saleh

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

B. thuringiensis الى ان مستوى المقاومة في الحقل 2.82 ضعف اتجاه بكتريا *et al.* (2003) *israelensis* سجلت في يرقات بعوض *Cx. pipiens* بعد 20 جيلاً مربى في المختبر .

وعليه فأن السيطرة الناجحة على الآفات الحشرية قد تتطلب استعمال اكثر من عنصر من عناصر المكافحة معاً للحصول على النتائج المرجوة وهذا ما يعرف المكافحة المتكاملة Integrated Control، حيث استعملت توليفات من بعض المبيدات النباتية الأصل أو الفطريات على اعتبار انها غير مضرة بالبيئة لغرض السيطرة على الآفات. لاسيما وقد لوحظ إن عناصر المكافحة تتأزر مع بعضها وتؤدي الى نتائج افضل مما لو استعملت لوحدها (Reddy and Manjunatha,2000 ; Mwamburi, 2008 ; Kumar *et al.*, 2012).

5.2.1.4.1.2.1 آلية تأثير بكتريا *B. thuringiensis*

بين كل من Gill (1995) و Schünemann *et al.* (2014) إن آلية عمل هذه البكتريا في الحشرات الحساسة لها تتضمن مايأتي:

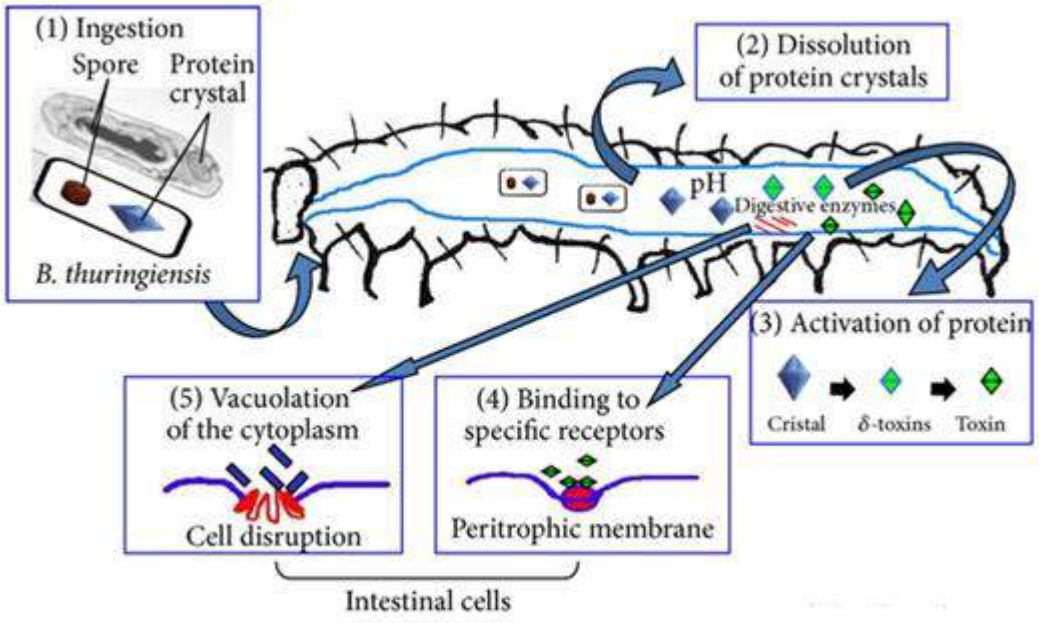
عندما تتناول الحشرة البكتريا الحاوية على السم البلوري الموجود مع الغذاء يصل الى القناة الهضمية الوسطى للحشرة، ولكون الوسط الموجود داخل القناة الهضمية الوسطى قاعدياً (pH8) فأن السم البلوري يذوب ويتجزأ بفعل الانزيمات الحّالة للبروتين منتجاً بذلك سماً ذا وزن جزيئي يتراوح بين 70 _ 130 كيلودالتون، هذه السموم ترتبط بمستقبلات خاصة موجودة على سطح الخلايا الطلائية للبطانة الداخلية للقناة الهضمية في الحشرات الحساسة للبكتريا (شكل1-3) فينتج عن ذلك انفجار الخلايا بسبب انتفاخها وتمددها مما يؤدي الى موت الحشرة نتيجة لأحد الآليات الاتية:

الأولى: توقف الحشرة عن تناول الغذاء وموتها جوعاً نتيجة لحدوث شلل في القناة الهضمية بعد مرور 24 ساعة من غير أن يحدث شلل عام للحشرة.

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

الثانية: يحدث شلل للقناة الهضمية وبسبب تحلل خلاياها يرتفع الرقم الهيدروجيني للدم نتيجة لعبور المواد القلوية الى القناة الهضمية الوسطى مما يؤدي الى شلل كامل للحشرة بعد مرور ساعة واحدة فقط.

الثالثة: يكون فيها موت الحشرة بعد دخول البكتريا الى قناتها الهضمية بيومين – أربعة أيام دون حصول شلل للقناة الهضمية.



شكل (1–3): آلية تأثير بكتريا *Bacillus thuringiensis* عن (Schünemann *et al*., 2014)

من ملاحظة آلية التأثير يمكن استنتاج انه على الأقل هناك أربعة مقاييس تشترك في وصف فعالية السم البلوري وهي فاعلية التحلل، كفاءة تحول البروتين قبل ان يكون ساماً الى البروتين السام، تخصص ارتباط المستقبل الغشائي وتكوين الفجوات، وهذه المقاييس جميعها وبتفاعلها مع بيئة القناة الهضمية الوسطى هي التي تحدد التخصص للبروتين البلوري (Zavala *et al*., 2011).

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

يحدث التسمم في الحشرات نتيجة لاحتواء الجسم البلوري على أربعة أنواع من السموم وهي CytA، Cry4A، Cry4B و Cry11 اوزانها الجزيئية 27 ، 128 ، 134 ، 72 كيلو دالتن على التوالي (Ben-Dov, 2014).

بهذا الصدد ذكر Glare and O'Callaghn (1998) إن آلية عمل بكتريا *B. thuringiensis israelensis* تتضمن التآزر بين السموم الأربعة في البلورة، وإن يرقات البعوض المعاملة بهذه البكتريا توقف تغذيتها بعد ساعة واحدة من المعاملة، وتظهر انخفاضاً للنشاط بعد ساعتين، وشلل عام بعد ست ساعات من المعاملة.

6.2.1.4.1.2.1 اعراض الإصابة بالبكتريا

تبدي الحشرات المصابة بالبكتريا *B. thuringiensis* مجموعة من الاعراض منها بطئ الحركة وقلة في الشهية، وقد يتغير لون الجسم و يصبح ابيض كما في حالة إصابة يرقات الخنافس اليابانية *Popillia japonica* ببكتريا *B. popillia* حيث تسمى الإصابة بالمرض اللبني Milky disease (الزبيدي، 1992)، وقد يصبح لون الجسم غامقاً لا سيما اذا كانت الحشرة في مرحلة الدور اليرقي وذو ملمس ناعم ولا شكل له وتصبح الانسجة في الداخل متحللة لزجة وذات رائحة كريهة ، وقد يلاحظ انكماش اجسام اليرقات أو استطالتها أو خروج جزء من جسم الحشرة الكاملة من غلاف التعذر (Sabry, 2004) .

وقد أشار Olivera *et al.* (2006) الى انه عند تعريض يرقات ذبابة *Ch. putoria* الى سلالات مختلفة من بكتريا *B. thuringiensis israelensis* يحصل انخفاض في اوزانها مقارنةً مع اليرقات الطبيعية. وذكر Costa *et al.* (2001) انه عند تعريض يرقات خنافس *Leptinotarsa decemlineata* لبكتريا *B. thuringiensis* يؤدي ذلك الى حصول نقصان في اوزان اليرقات والبالغات المعاملة.

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

7.2.1.4.1.2.1 العوامل المؤثرة في امراضية البكتريا

تتأثر إمراضية بكتريا *B. thuringiensis* عند اصابتها لعوائلها الحشرية بمجموعة من العوامل منها ما يتعلق بالبيئة و أخرى بطبيعة البكتريا والحشرة، إن من بعض العوامل البيئية درجة الحرارة حيث وجد إن درجة الحرارة العالية تؤدي الى التقليل من كفاءة البكتريا في إصابة الحشرات، وكذلك لوحظ ان اشعة الشمس المباشرة تؤدي الى فقدان كفاءة البكتريا، لذا ينصح استعمال مستحضرات بكتريا *B. thuringiensis israelensis* في الليل لتجنب ضوء الشمس المباشر، كما تؤثر الرطوبة وكمية الامطار في كفاءة بكتريا *B. thuringiensis israelensis* عند اصابتها للحشرات حيث تعمل مياه الامطار على إزالة تراكيز المستحضرات البكتيرية المرشوشة على أوراق النباتات، لذا تستعمل مواد لاصقة تعمل على تثبيت مثل هذه المستحضرات على الأوراق النباتية بحيث لا تتأثر بتساقط الامطار (Hunsberger, 2000) .

أما فيما يتعلق بالعوامل التي تخص الحشرة (العائل) أهمها عمر العائل إذ وجد ان يرقات الاعمار الصغيرة اكثر حساسية للإصابة بالبكتريا من يرقات الاعمار الكبيرة (مهدي، 1990; Cao *et al.*, 2012). ودرجة الرقم الهيدروجيني pH. إن وجود المستقبلات في بطانة امعاء الحشرات والتجويع والتزاحم بين افراد العائل كلها تشكل عوامل تزيد من حساسية تلك الممرضات في البيئة (Glare and O′Callaghan, 1998).

8.2.1.4.1.2.1 المستحضرات التجارية للبكتريا

تؤدي بكتريا *B. t. i.* دوراً مهماً في السيطرة على مجتمع الآفات الحشرية لذلك توجه اهتمام العلماء الى انتاج وتطوير مثل هذا النوع من البكتريا بشكل مبيدات تجارية تستعمل في مكافحة الآفات، وان تطوير مثل هذه الممرضات الحشرية بشكل مبيدات يرجع لكونها غير ضارة بالأحياء غير المستهدفة وليست لها اضرار للانسان والحيوان عند تلويثها لمياه الشرب مقارنةً مع المبيدات

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

الكيميائية (WHO, 2009 ; Ahmedani *et al*., 2007). فضلاً عن تخصصها وهي بذلك تؤدي دوراً في تنظيم مجتمع الآفة الحشرية من خلال عدم تأثيرها في الأعداء الطبيعية للآفة التي تقوم بتنظيمها طبيعياً وليست ضارة كالمبيدات الكيميائية (الزبيدي، 1992). وتصنع مثل هذه المستحضرات بطريقة التخمير Fermentation باستخدام تقنيات اذ تعمل الشركات المصنعة على إضافة (مواد كيموغذائية منشطة Prebiotic) للبكتريا لكي تزيد من مدة بقائها في البيئة وقد وجد من خلال الدراسات ان هذه البكتريا تبقى محتفظة بنشاطها في البيئة لمدة من خمسة – سبعة أيام، ويمكن ان تطول هذه المدة اذا تركت يرقات البعوض الميتة في البرك المعاملة بالبكتريا، لقد تم انتاج العديد من المستحضرات التجارية من هذه البكتريا تحت اسماء عديدة منها Teknar و Vectobac و Diple و Acrobe (Weinzierl *et al*., 2005) وقد استعملت هذه المستحضرات بنجاح لمكافحة البعوض والذباب الأسود، وان طبيعة هذه المستحضرات اما ان تكون سائلة أو صلبة أو على شكل أقراص أو مسحوق قابل للخلط مع الزيت أو حبيبات قابلة للانتشار بالماء أو مساحيق قابلة للبلل أو التعفير أو مستحلبات تتكون من 4 % مادة فعالة (الاجسام البلورية فقط أو اجسام بلورية مع جراثيم) والباقي 96 % مادة حاملة أو ناشرة وذلك ليسهل استعمالها رشاً أو تعفيراً على النباتات وباستعمال الآت الرش العادية نفسها، إن المساحيق القابلة للبلل أو التعفير قابلة للخزن لمدة عامين تحت درجات الحرارة الاعتيادية ، وقد وجد انه يمكن خلط هذه المستحضرات البكتيرية مع معظم المبيدات الحشرية الكيميائية دون ان يتأثر السبور الممرض أو يفقد الجسم البلوري خواصه (Cranshaw, 2008 ; القناوي، 2011).

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

المواد وطرائق العمـــــل

Materials and Methods

www.manaraa.com

2: المواد وطرائق العمل Materials and Methods

1.2 المواد والأجهزة المستعملة

1.1.2 المواد الكيميائية والاوساط الزرعية

استعملت في هذه الدراسة المواد الكيميائية والأوساط الزرعية المدرجة في الجدول (2−1) أدناه مبيناً كذلك الشركات المجهزة لها.

جدول (2−1) : المواد الكيميائية والاوساط الزرعية المستعملة والشركات المجهزة لها.

ت	اسم المادة	الصيغة الكيميائية	الشركة المصنعة	المنشأ
1	مبيد بكتيري تحت اسم Antrol		Russel-IPM	British
2	كحول اثيلي Ethyl alchohol 96%	CH_3CH_2OH	Teeba product	Iraq
3	صبغة Lactophenol Cotton Blue		Oxid	England
4	وسط PDA	Potato Dextrose Agar	Basingstoke	England
5	Tween-80	$C_{32}H_{60}O_{10}$		
6	مضاد حيوي	Chloramphenicol	Indofarma	Bekasi-Indonesia
7	فورمالين 10 % Formalin	CH_2O or HCHO		
8	ماء مقطر	Distilled water		
9	أح البيض الطري	Fresh egg albumen		
10	ايوسين Y	Eosin Y		
11	ملون الهيماتوكسلين ارلخ	Ehrlich's Haematoxylin stain		
12	شمع البرافين Paraffin wax	$C_{31}H_{64}$ C_nH_{2n+2}		
13	كندا بلسم	Canada balsam		
14	زايلين Xylene	$C_6H_4(CH_3)_2$		

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

2.1.2: الأجهزة المستعملة

استعملت في الدراسة الأجهزة المدرجة اسماؤها في ادناه والشركات المصنعة ازاء كل منها في جدول (2-2).

جدول (2-2): الأجهزة المستعملة والشركات المصنعة لها

ت	الجهاز		الشركة المصنعة	المنشأ
1	حاضنة	Incubator	Seedburo	U.S.A
2	حاضنة هزازة	Shaking Incubator	Jelotech	Korea
3	شريحة عد خلايا الدم	Haemocytometer	Marienfeld	Germany
4	فرن كهربائي	Electric Oven	Griffin	England
5	ميزان حساس	Sensitive balance	Metter	Switzerland
6	مؤصدة	Autoclave	Gallen Kamp	England
7	مجهر تشريح	Binocular dissecting microscope	Olympus	Japan
8	مجهر ضوئي مركب	Compound light microscope	Kruss	Germany
9	مجهر مركب مزود بكاميرا	Biological microscope with camera	Meijl	Japan
10	مجهر للتصوير	Yaxun.YX-AK15		China
11	كاميرا رقمية للتصوير	Digital still camera	Sony	Japan
12	المشراح الدوار	Rotary microtome	Leitz, wetzlan	Germany
13	ثلاجة	Refrigerator	General electric	Turkey
14	مسطح ساخن	Hot plate	Gallen camp	England

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

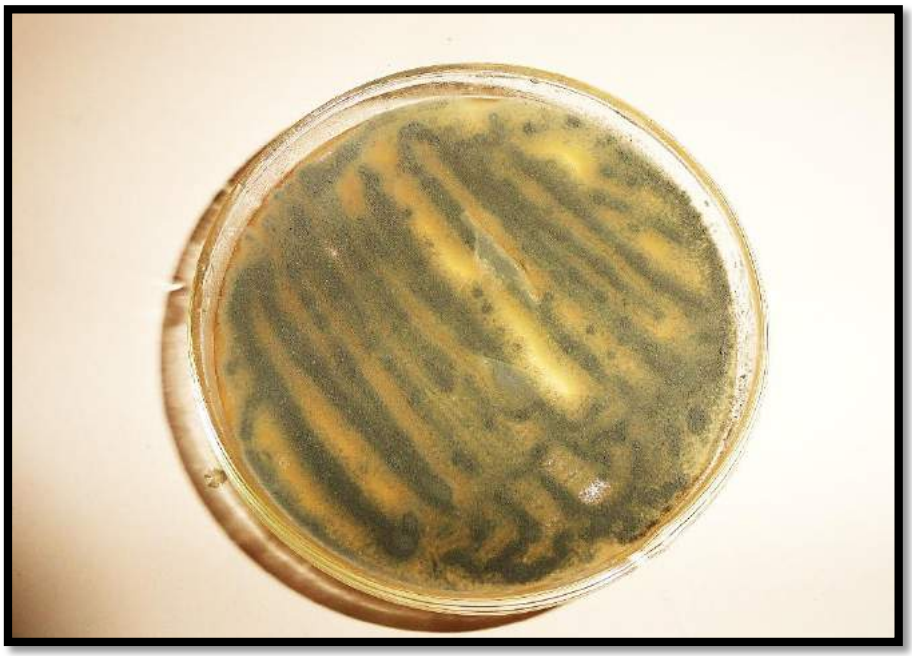
2.2 تربية مستعمرة ذبابة *Chrysomya albiceps* (Wiedemann., 1819)

جمعت يرقات ذبابة *Ch. albiceps* من منطقة العطيفية / محافظة بغداد خلال شهر أيلول 2013 وذلك بترك قطعة من لحم العجل داخل حاوية مفتوحة لمدة خمسة أيام ، نقلت اليرقات الى مختبر الحشرات المتقدم في كلية التربية للعلوم الصرفة (ابن الهيثم) تم وضعها داخل حاويات لدائنية مستطيلة القاعدة (9×17سم) وارتفاعها 7 سم تحتوي على لحم عجل مفروم خالٍ من الدهن مضافاً اليه بضع قطرات من الماء المقطر والدم بنسبة 1:1 ، تم خلط المواد جيداً مع مراعاة تبديل جزء من الغذاء كل 24 ساعة (لتلافي جفافه وتعفنه) واضافة الغذاء القديم المتواجدة عليه اليرقات الى الغذاء الجديد وزيادة كمية الغذاء وذلك بسبب تقدم اليرقات بالعمر ، وعند بلوغ اليرقات بداية دور العذراء نقلت الى حاويات لدائنية اكبر تحتوي على نشارة الخشب المعقم بوساطة جهاز المؤصدة لغرض اتمام التعذر (الزبيدي، 2000) ، ولغرض بزوغ وادامة البالغات وضعت حاويات العذارى داخل اقفاص مكعبة ذات هياكل حديدية ابعادها 25×25×25 سم مثبت على جوانبها مشبك معدني وترك احد جوانبها بصورة كم من قماش التول، جهز القفص بأوعية لدائنية نبيذة اسطوانية قطر قاعدتها 4.5 سم وارتفاعها 3.5 سم تحتوي على خليط من مسحوق السكر والحليب المجفف بنسبة 1:1، ووعاء يحتوي على قطن مشبع بالمحلول السكري تركيزه 10%، ولغرض وضع البيض وضعت اوعية لدائنية تحتوي على كمية قليلة من لحم العجل المفروم الخالي من الدهن المضاف اليه بضع قطرات من الماء المقطر والدم السائل (العزي واخرون، 1999). تم متابعة تربية الحشرة لعدة أجيال قبل اجراء التجارب. تم تأكيد تشخيص الحشرة من قبل مركز بحوث ومتحف التاريخ الطبيعي/ جامعة بغداد على انها النوع *Chrysomya albiceps* (Wiedemann, 1819).

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

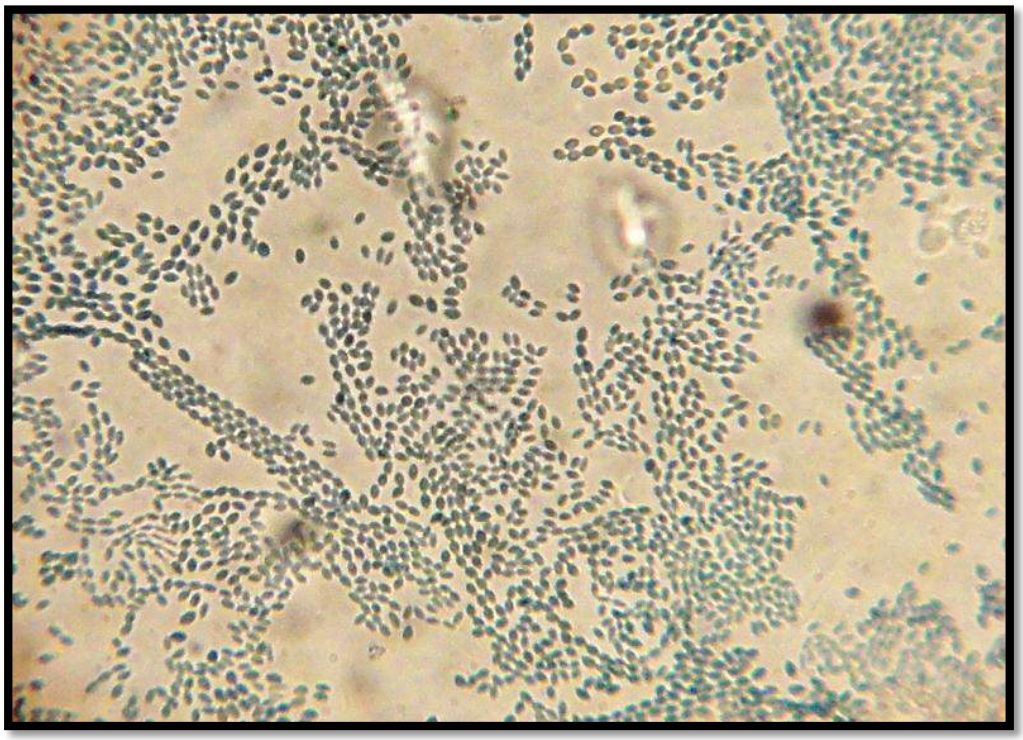
3.2 تنمية مستعمرة الفطر *Metarhizium anisopliae* مختبرياً

استعملت عزلة من فطر *M. anisopliae* تم الحصول عليها بوساطة الدكتور هادي مهدي عبود، نميت العزلة في اطباق بتري حاوية على الوسط الزرعي Potato Dextrose Agar (PDA) المعقم بجهاز المؤصدة (Autoclave) لمدة 10 دقيقة تحت درجة حرارة 121 م° وضغط واحد جو وبعد التعقيم تم إضافة المضاد الحيوي Chloramphenicol، نقلت الاطباق الى الحاضنة الكهربائية بدرجة حرارة 27±2 م° ورطوبة نسبية 80±5% لمدة من سبعة – 14يوم (Hoe *et al*. 2009) ، تم تأكيد تشخيص الفطر بوساطة الدكتور سمير خلف عبدالله/أستاذ الفطريات / كلية العلوم/ جامعة زاخو على انه *Metarhizium anisopliae* var.*anisopliae* (صورة2 –1، 2–2 ،3–2) .

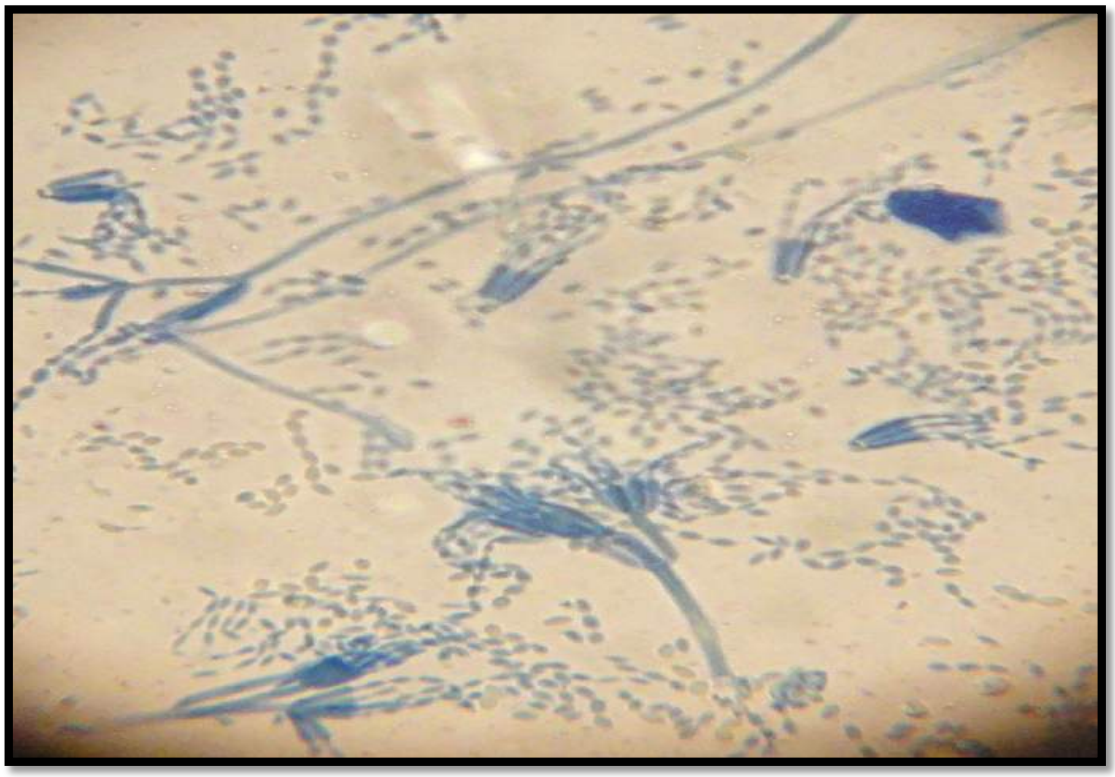


صورة(2–1): عزلة الفطر *M. anisopliae* منماة على وسط PDA في المختبر (3X).

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com



صورة(2-2): صورة بالمجهر الضوئي المركب تظهر ابواغ الفطر بشكل سلاسل، قوة التكبير (40X).



صورة(2-3): صورة بالمجهر الضوئي المركب توضح تفرعات الحوامل البوغية والفياليد phialid ونشوء الابواغ منها، قوة التكبير (40X).

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

1.3.2 حساب عدد الابواغ وتحضير تراكيز متسلسلة من معلق ابواغ الفطر *M. anisopliae*

اضيف 5 مل من الماء المقطر المعقم الى مزرعة فطرية بعمر سبعة أيام مع اضافة 0.2 مل من مادة Tween-80 بتركيز 0.01%، وتم حصد وفصل الابواغ بوساطة قضيب زجاجي على شكل حرف L، رشحت محتويات الطبق بوساطة قمع زجاجي مثبت يحتوي على قطعة شاش معقمة مع اضافة 5 مل من الماء المقطر المعقم مرة أخرى لضمان ترشيح جميع الابواغ الفطرية، جمع الراشح في دورق زجاجي (المتضمن حوالي 10 مل من معلق ابواغ الفطر) الذي عدّ المحلول الأساس Stock solution، ولحساب عدد الابواغ في المعلق الفطري استعملت شريحة العد الخاصة بعد كريات الدم الحمر Haemocytometer ، حيث نقل 1 مل من المحلول الأساس الى 99 مل من الماء المقطر المعقم لغرض تخفيف المحلول الاساس، وللعد وضع 0.1 مل منه على شريحة العد ووضع غطاء الشريحة وتم حساب عدد الابواغ في خمسة مربعات داخلية، وتم تحديد عدد الابواغ استناداً الى المعادلة الاتية (Aube and Gagnon, 1969) .

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

وبعد تطبيق المعادلة كان معدل عدد الابواغ في المحلول الأساس ولعدة مرات يساوي 2.8×10^9 بوغ/ مل.

ولتحضير تراكيز معلق الفطر المراد دراسة تأثيرها وهي 2.8×10^8 , 2.8×10^7 , 2.8×10^6 بوغ/مل استعملت المعادلة الاتية:

$$V1\times C1=V2\times C2$$

حيث ان:

V1= الحجم المطلوب استعماله من الماء للمعاملة

C1= التركيز المطلوب ايجاده من المعلق الفطري

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

V2= الحجم المطلوب اضافته من المحلول الأساس الى حجم الماء(V1)

C2= تركيز الابواغ في المحلول الأساس

2.3.2 دراسة تأثير تراكيز معلق ابواغ الفطر *M. anisopliae* في أدوار ذبابة *Ch. albiceps*

1.2.3.2 دراسة تأثير تراكيز معلق ابواغ الفطر *M. anisopliae* في يرقات الطور الثاني لذبابة *Ch. albiceps*

حضرت التراكيز 2.8×10^{6} , 2.8×10^{7} , 2.8×10^{8} بوغ / مل من معلق ابواغ الفطر *M. anisopliae* لدراسة تأثيرها في يرقات الطور الثاني لذبابة *Ch. albiceps*، حيث تم نقل 10 يرقات من الطور الثاني من مستعمرة التربية الى وعاء لدائني نبيذ اسطواني قطر قاعدته 4.5 سم وارتفاعه 3.5 سم بعدها رشت بحوالي 2 مل من معلق ابواغ الفطر بتركيز 2.8×10^{6} بوغ/ مل المضاف اليه Tween-80 بتركيز 0.01 % بوساطة مرشة يدوية سعتها 20 مل رشاً مباشراً من مسافة 10-15 سم بعدها نقلت اليرقات الى وعاء لدائني نبيذ يحتوي على 10 غم من الوسط الغذائي (اللحم المفروم الخالي من الدهن) والمعامل بـ 2 مل من تركيز معلق ابواغ الفطر المذكور انفاً وبالنسبة لمعاملة السيطرة رشت 10 يرقات و 10غم من الوسط الغذائي ب2 مل من الماء المقطر المضاف اليه Tween-80بتركيز 0.01 %، تم تغطية اوعية المعاملة بأغطية لدائنية مثقبة لغرض تنفس اليرقات وعدم خروجها. تم عمل ستة مكررات للتجربة وثلاثة مكررات لمعاملة السيطرة ، تركت اوعية التجربة في الحاضنة بدرجة حرارة 2±27 م° ورطوبة نسبية 5±80%ومدة اضاءة 12 ساعة. تم متابعة اليرقات يومياً وسجل عدد اليرقات الميتة والمشوهة لحساب نسب الهلاكات ونسب التشوهات ونسب هلاك العذارى ونسب بزوغ البالغات (Sharififard *et al.*, 2011)، تم تصوير اليرقات المشوهة

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

بوساطة آلة تصوير رقمية نوع Sony و مجهر لهذا الغرض نوع Yaxun.YX-AK15 (عبيد، 2011). اعيدت التجربة باستعمال تركيزي معلق ابواغ الفطر 2.8×10^{7} و2.8×10^{8} بوغ/ مل.

نقلت بعض اليرقات الميتة الى محلول تثبيت (فورمالين 10%) ، عملت مقاطع نسجية متسلسلة لغرض دراسة التأثير المرضي النسجي للفطر، حيث أجريت عليها عملية الغسل Washing والتجفيف Dehydration والترويق Clearing والترشيح Infiltration بعد ذلك طمرت بشمع البرافين وقطعت بسمك 5 ملم باستخدام المشراح الدوار Rotary microtome وعوملت المقاطع بصبغة الهيماتوكسلين ارلخ الممزوج مع الايوسين (Bancroft and Stevens, 1982) ، ثم فحصت وصورت المقاطع النسجية المنتخبة باستخدام مجهر ضوئي مركب مزود بكاميرا والمتوفر في المختبر الخدمي المركزي في كلية التربية للعلوم الصرفة / ابن الهيثم . لتأكيد الإصابة نقلت بعض اليرقات الميتة الى طبق بتري يحتوي على الوسط الزرعي PDA وحضنت في الحاضنة وتم تأكيد الإصابة عن طريق الفحص المجهري للنمو الفطري (عبيد، 2011).

2.2.3.2 دراسة تأثير معلق ابواغ الفطر *M. anisopliae* في عذارى ذبابة *Ch. albiceps*

نقلت 10 عذارى من مستعمرة التربية بعمر 24 ساعة الى وعاء لدائني نبيذ سعة 100 مل مبطن بورقة ترشيح نوع Whatman No.1 رشت العذارى بحوالي 2 مل من معلق ابواغ الفطر ذي التركيز 2.8×10^{6} بوغ / مل بوساطة مرشة يدوية سعتها 20 مل، تم تغطية اوعية التجربة بأغطية مثقبة، تم عمل ستة مكررات. اعيدت التجربة باستعمال معلق ابواغ الفطر ذي التركيزين 2.8×10^{7} و2.8×10^{8} بوغ / مل، اما معاملة السيطرة فقد رشت العذارى بـ 2 مل من الماء المقطر المضاف اليه Tween-80 بتركيز 0.01%، نقلت اوعية التجربة الى الحاضنة بدرجة حرارة2±27م° ورطوبة نسبية 5±80% واضاءة 12 ساعة . تم متابعة التجربة يومياً وسجلت نسبة هلاك وتشوهات العذارى

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

ونسبة بزوغ البالغات (عبيد، 2011). ولتأكيد الإصابة بالفطر *M. anisopliae* نقلت بعض العذارى التي لم يتم بزوغ بالغاتها والمشوهة الى طبق بتري يحتوي على الوسط الزرعي PDA وحضنت لمدة ثلاثة أيام وفحص النمو الفطري بوساطة المجهر الضوئي المركب وتم التأكد من انه الفطر *M. anisopliae* (عبيد، 2011).

3.2.3.2 دراسة تأثير معلق ابواغ الفطر *M. anisopliae* في بالغات ذبابة *Ch. albiceps*

لدراسة تأثير تراكيز معلق ابواغ الفطر *M.anisopliae* 2.8×10^{8},2.8×10^{7},2.8×10^{6} بوغ / مل في بالغات ذباب *Ch.albiceps*، تم وضع القفص الحاوي على البالغات المعدة للتجربة في المجمدة مدة دقيقتين لتقليل حركتها، نقلت 10 بالغات (ذكور واناث) الى حاويات لدائنية اسطوانية سعتها 120 مل (ارتفاعها 7.5 سم وقطرها 4.5 سم) مبطنة قواعدها وجوانبها بورقة ترشيح نوع Whatman No.1، رشت بحوالي 4 مل من معلق ابواغ الفطر بتركيز 2.8×10^{6} بوغ / مل، تم تغطية الحاويات بقماش التول وربطت برباط مطاطي وضع فوقها قطنة مشبعة بالماء والسكر بنسبة 10 % لغرض ادامة البالغات ، كررت المعاملة ستة مرات ، اما معاملة السيطرة فقد عوملت أوراق الترشيح بالماء المقطر المضاف اليه Tween-80 بتركيز 0.01 % كررت هذه المعاملة ثلاث مرات، اعيدت التجربة باستعمال تركيزي معلق الفطر 2.8×10^{7} و 2.8×10^{8} بوغ / مل، بعدها نقلت حاويات التجربة والسيطرة الى الحاضنة بدرجة حرارة 2±27 م° ورطوبة نسبية 5±80% ومدة اضاءة 12 ساعة، تم تسجيل نسبة هلاك البالغات كل 24 ساعة (عبيد، 2013). ولتأكيد الإصابة حضنت البالغات الميتة داخل حجرة رطبة (Moist Champer) لملاحظة النمو الفطري عليها بعدها نقلت الى طبق بتري يحتوي على الوسط الزرعي PDA وبعد نمو الفطر اخذت مسحة وفحصت بالمجهر الضوئي المركب وتم التأكد من انه الفطر *M. anisopliae* (عبيد، 2011).

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

4.2 دراسة تأثير تراكيز من المبيد البكتيري Antrol في يرقات وبالغات ذبابة *Ch. albiceps*

استعمل مستحضر البكتريا على شكل مغلف سعة 250 غم حاوٍ على بكتريا *Bacillus thuringiensis israelensis* بصورة مسحوق من شركة Russel IPM Ltd البريطانية وتحت الاسم التجاري Antrol . وبمعدل 3600 وحدة دولية/ ملغم تمثل بكتريا *B.t.i* النمط المصلي H-14 والمعروفة بفعاليتها في مكافحة يرقات البعوض والذباب الأسود. وتم الحصول على المستحضر التجاري للبكتريا من الأستاذ المساعد الدكتور حسام الدين عبدالله محمد من قسم وقاية النبات / كلية الزراعة / جامعة بغداد.

1.4.2 تحضير تراكيز متسلسلة من معلق المبيد البكتيري Antrol

تم وزن 0.1 غم من المبيد البكتيري (Antrol) واضيف الى 10 مل من الماء المقطر المعقم وتم رجه بصورة جيدة جداً الناتج يمثل المحلول الأساس الذي تركيزه 1% والذي يعادل 10 000 جزء بالمليون وحضرت منه التراكيز البكتيرية المتسلسلة المراد دراسة تأثيرها وهي 100 ، 200 ، 500 ، 1000 ، 2000 جزء بالمليون .

2.4.2 دراسة تأثير تراكيز متسلسلة من معلق البكتريا *B. thuringiensis israelensis* في يرقات الطور الثاني لذبابة *Ch. albiceps*

حضرت التراكيز 100 ، 200 ، 500 ، 1000 ، 2000 جزء بالمليون لغرض دراسة تأثيرها في يرقات الطور الثاني لذبابة *Ch. albiceps*، حيث تم وزن 10 غم من الوسط الغذائي (اللحم المفروم الخالي من الدهن) ووضع في اوعية لدائنية نبيذة اسطوانية قطر قاعدتها 4.5 سم وارتفاعها 3.5 سم اضيف له 2 مل من تركيز 100 جزء بالمليون من معلق المبيد البكتيري ، خلطا معاً بصورة جيدة ثم نقلت 10 يرقات من الطور الثاني من مستعمرة التربية ووضعت في هذه

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

الاوعية ، تم تغطية هذه الاوعية بأغطية لدائنية مثقبة لغرض تنفس اليرقات وعدم خروجها، اما بالنسبة لمعاملة السيطرة عومل الوسط الغذائي بـ 2 مل من الماء المقطر، تم عمل ستة مكررات للتجربة وثلاث مكررات لمعاملة السيطرة . اعيدت التجربة باستعمال التراكيز المذكورة انفاً، ثم نقلت الاوعية الى الحاضنة بدرجة حرارة 2±27 م° ورطوبة نسبية 5±80% ومدة اضاءة 12 ساعة. تم متابعة التجربة يومياً لتسجيل نسبة الهلاكات ونسبة التشوهات في اليرقات الميتة ونسبة هلاك العذارى ونسبة بزوغ البالغات (Oliveira *et al*., 2006).

3.4.2 دراسة تأثير تراكيز متسلسلة من معلق البكتريا *B. thuringiensis israelensis* في بالغات ذبابة *Ch. albiceps*

حضرت التراكيز 100 ، 200 ، 500 ، 1000 ، 2000 جزء بالمليون لغرض دراسة تأثيرها في بالغات ذبابة *Ch. albiceps* ولغرض دراسة التراكيز المذكورة انفاً وضع القفص الحاوي على البالغات في المجمدة لمدة دقيقتين لغرض تقليل حركتها، وتم وزن حوالي 20 غم من اللحم المفروم الخالي من الدهن ووضع داخل وعاء لدائني نبيذ واضيف اليه 5 مل من معلق المبيد البكتيري بتركيز 100 جزء بالمليون وخلط بصورة جيدة ووزع الخليط بالتساوي داخل حاويات لدائنية اسطوانية سعتها 120 مل (ارتفاعها 7.5 وقطر قاعدتها 4.5 سم) نقلت بعد ذلك 10 بالغات (ذكور و اناث) اليها، تم تغطية الحاويات بقماش التول وربطت برباط مطاطي ووضع فوقها قطنة مشبعة بالمحلول السكري بتركيز 10 % كررت المعاملة مرتين، اما معاملة السيطرة فقد اضيف للوسط الغذائي (اللحم المفروم الخالي من الدهن) 5 مل من الماء المقطر ووضعت قطنة مشبعة بالمحلول السكري تركيزه 10% فوق الحاويات المغطاة بقماش التول. اعيدت التجربة باستعمال بقية التراكيز المذكورة انفاً، بعدها نقلت حاويات التجربة والسيطرة الى الحاضنة بدرجة حرارة 2±27 م° ورطوبة نسبية5 ±80% ومدة اضاءة 12 ساعة، تم تسجيل نسبة الهلاك للبالغات كل 24 ساعة (Mwamburi, 2008).

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

5.2 دراسة تأثير توليفات من تركيزين من معلق ابواغ الفطر *M. anisopliae* وتركيزين من معلق البكتريا *B. thuringiensis israelensis* في يرقات الطور الثاني لذبابة *Ch. albiceps*

1.5.2 تحضير التراكيز المستخدمة في دراسة تأثير توليفات من معلق ابواغ الفطر *M. anisopliae* ومعلق بكتريا *B. thuringiensis israelensis*

تم تحضير أربع توليفات من التراكيز الدنيا من معلق ابواغ الفطر *M. anisopliae* والتراكيز الدنيا من معلق بكتريا *B. thuringiensis israelensis* (100 ، 200 جزء بالمليون) لغرض دراسة تأثيرها في يرقات الطور الثاني لذبابة *Ch. albiceps*، حيث تم تحضير التركيزين 2.8×10^6, 2.8×10^7 بوغ/مل من معلق ابواغ الفطر *M. anisopliae* والمحضرة حسب الفقرة 1.3.2 و التركيزين 100 ، 200 جزء بالمليون من معلق بكتريا *B. thuringiensis israelensis* والمحضرة حسب تجربة 1.4.2.

نقل3 مل من معلق ابواغ الفطر بتركيز 2.8×10^6 بوغ/مل ووضع في وعاء لدائني نبيذ ارتفاعه 3.5 سم وقطر قاعدته 4.5 سم واضيف اليه 3 مل من معلق بكتريا *B. thuringiensis israelensis* بتركيز 100 جزء بالمليون

نقل3 مل معلق ابواغ الفطر بتركيز 2.8×10^6 بوغ/ مل واضيف اليه 3 مل من معلق البكتيريا الذي تركيزه 200 جزء بالمليون.

تم نقل 3 مل من معلق ابواغ الفطر بتركيز 2.8×10^7 بوغ/مل واضيف اليه 3 مل من معلق البكتيريا الذي تركيزه 100 جزء بالمليون.

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

تم اخذ3 مل من معلق ابواغ الفطر بتركيز 2.8×10^7 بوغ/مل واضيف اليه 3 مل من معلق البكتيريا الذي تركيزه 200 جزء بالمليون مع الخلط جيداً (Mwamburi, 2008). و بذلك فأن التوليفات التي تم دراستها هي:

100 جزء بالمليون + 2.8×10^6 بوغ / مل يرمز لها A

200 جزء بالمليون + 2.8×10^6 بوغ / مل يرمز لها B

100 جزء بالمليون + 2.8×10^7 بوغ / مل يرمز لها C

200 جزء بالمليون + 2.8×10^7 بوغ / مل يرمز لها D

2.5.2 دراسة تأثير توليفات من تركيزين من معلق ابواغ الفطر *M. anisopliae* وتركيزين من معلق بكتريا *B. thuringiensis israelensis* في يرقات الطور الثاني لذبابة *Ch. albiceps*

لدراسة تأثير توليفات من تركيزين من معلق ابواغ الفطر *M. anisopliae* وتركيزين من معلق بكتريا *B. thuringiensis israelensis* ، اضيف 2 مل من مزيج التوليفة A الى 10 غم من الوسط الغذائي (اللحم المفروم الخالي من الدهن) ، تم الخلط بصورة جيدة في اوعية اسطوانية لدائنية نبيذة ارتفاعها 3.5 سم وقطر قاعدتها 4.5 سم ، نقلت اليها 10 يرقات من الطور الثاني من مستعمرة التربية بعد ان تم رشها بـ 2 مل من معلق ابواغ الفطر بتركيز 2.8×10^6 بوغ / مل ، اما بالنسبة لمعاملة السيطرة فقد عومل الوسط الغذائي (اللحم المفروم الخالي من الدهن) بـ 2 مل من الماء المقطر المضاف اليه Tween-80 بتركيز 0.01 % ، غطيت اوعية التجربة والسيطرة بأغطية مثقبة لغرض تنفس اليرقات ومنع خروجها، تم عمل ستة مكررات للتجربة وثلاث مكررات للسيطرة . اعيدت التجربة باستعمال مزيج التوليفة B مع رش اليرقات ب2 مل من معلق ابواغ الفطر بتركيز

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

$10^6 \times 2.8$ بوغ / مل . كما تم إعادة التجربة باستعمال مزيج التوليفة C مرة ومزيج التوليفة D مرة أخرى وفي هذه الحالة تم رش اليرقات بعد نقلها من مستعمرة التربية الي اوعية التجربة بتركيز $10^7 \times 2.8$ بوغ / مل من معلق ابواغ الفطر. تم نقل اواني التجربة والسيطرة الى الحاضنة بدرجة حرارة 27± 2 م° ورطوبة نسبية 5±80% ومدة اضاءة 12ساعة ، تم متابعة التجارب وتسجيل نسب الهلاكات اليومية ونسب التشوهات ونسب التعذر وهلاك العذارى ونسب بزوغ البالغات (Mwamburi, 2008).

6.3 التحليل الاحصائي

صححت النسب المئوية للهلاكات استناداً الى معادلة Abbott (1925) التي تنص على

$$\% \text{ الهلاك} = \frac{\% \text{ هلاك المعاملة} - \% \text{ هلاك السيطرة}}{100 - \% \text{ هلاك السيطرة}} \times 100$$

ثم استعمل البرنامج SAS (2012) في التحليل الاحصائي لدراسة تأثير تراكيز البكتريا والفطر والتداخل بينهما في نسب الهلاكات والتشوهات والبزوغ لذبابة *Ch. albiceps* ، وقورنت الفروق المعنوية بين المتوسطات باختبار أقل فرق معنوي LSD.

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

النتائج والمناقشة

Results and Discussion

www.manaraa.com

3: النتائج والمناقشة Results and Discussion

1.3 دراسة تأثير تراكيز متسلسلة من معلق ابواغ الفطر *Metarhizium anisopliae* في يرقات وعذارى وبالغات ذباب *Chrysomya albiceps*

1.1.3 دراسة تأثير تراكيز متسلسلة من معلق ابواغ الفطر *M. anisopliae* في يرقات الطور الثاني لذبابة *Ch. albiceps*:-

يعد الفطر *M. anisopliae* من اهم الفطريات الممرضة للحشرات وقد وجد إن الكثير من أنواع الحشرات حساسة للاصابة به ، وعند دراستنا لتأثير تراكيز متسلسلة من معلق ابواغ الفطر في يرقات الطور الثاني للذباب المعدني التابعة للنوع *Ch. albiceps* أظهرت النتائج المدونة في الجدول (3-1) إن معاملة غذاء اليرقات ورشها بتراكيز الفطر 2.8×10^{6} أو 2.8×10^{7} أو 2.8×10^{8} بوغ/مل لم يسبب الهلاك بعد مرور يومين من المعاملة وقد يعود السبب في ذلك الى انسلاخ اليرقة وتحولها الى الطور اليرقي الثالث وبذلك يتم التخلص من وجود ابواغ الفطر الملتصقة وعدم امكانية دخولها الى داخل الجسم عبر الجليد ولكن تم تسجيل نسبة هلاكات تراكمية لليرقات مقدارها 16.67 و 33.33 % عند المعاملة بالتركيزين 2.8×10^{7} و 2.8×10^{8} بوغ/مل على التوالي .

لوحظت بعض التشوهات المظهرية في اليرقات المصابة الميتة تمثلت بانكماش الجسم (صورة 3-1) ، واحياناً اسوداد اليرقة المعاملة (صورة 3 -2أ) أو اسوداد مقدمة الجسم فقط (صورة 3-2ب) وكذلك لوحظت بعض التغيرات في سلوك اليرقات المعاملة منها بطء الحركة وقلة النشاط وموت الحشرة وهي بمرحلة وسطية بين الطور اليرقي الثالث ودور العذراء ، وتم تأكيد الاصابة عن طريق حضن اليرقات الميتة على الوسط الزرعي PDA لمدة ثلاثة أيام حيث اظهر الفحص العياني والمجهري وجود النمو الفطري عليها (صورة 3 -3 أ، ب).

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

جدول (3 – 1): تأثير تراكيز متسلسلة من معلق ابواغ الفطر *M. anisopliae* في يرقات الطور الثاني لذباب *Ch. albiceps*

التركيز بوغ / مل	% الهلاك المصححة± الخطأ القياسي بعد 48 ساعة	% الهلاك التراكمي المصححة ± الخطأ القياسي	% التشوهات ± الخطأ القياسي	% الهلاك التراكمي الكلي المصححة (يرقات+عذارى) ± الخطأ القياسي	% بزوغ البالغات ± الخطأ القياسي
معاملة السيطرة	0 ± 0.00	0 ± 0.00	0 ± 0.00	1.35 ± 3.33	3.33 ± 96.67
2.8×10^{6}	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	3.16 ±16.60	3.33 ± 83.33
2.8×10^{7}	0.00 ± 0.00	16.6 ± 16.67	6.00 ± 13.33	26.67 ± 46.67	26.67 ± 53.33
2.8×10^{8}	0.00 ± 0.00	16.67 ± 33.33	3.33 ± 6.67	14.54 ± 53.30	12.01 ± 46.67
قيمة LSD	Ns 0.00	Ns 47.09	Ns 28.78	* 31.02	Ns 58.81

Ns تعني عدم وجود فرق معنوي Non significant ، * تدل على وجود فروق معنوية بين بعض المعاملات بين مستوى احتمال ($P \leq 0.05$) بحسب اختبار اقل فرق معنوي (LSD)

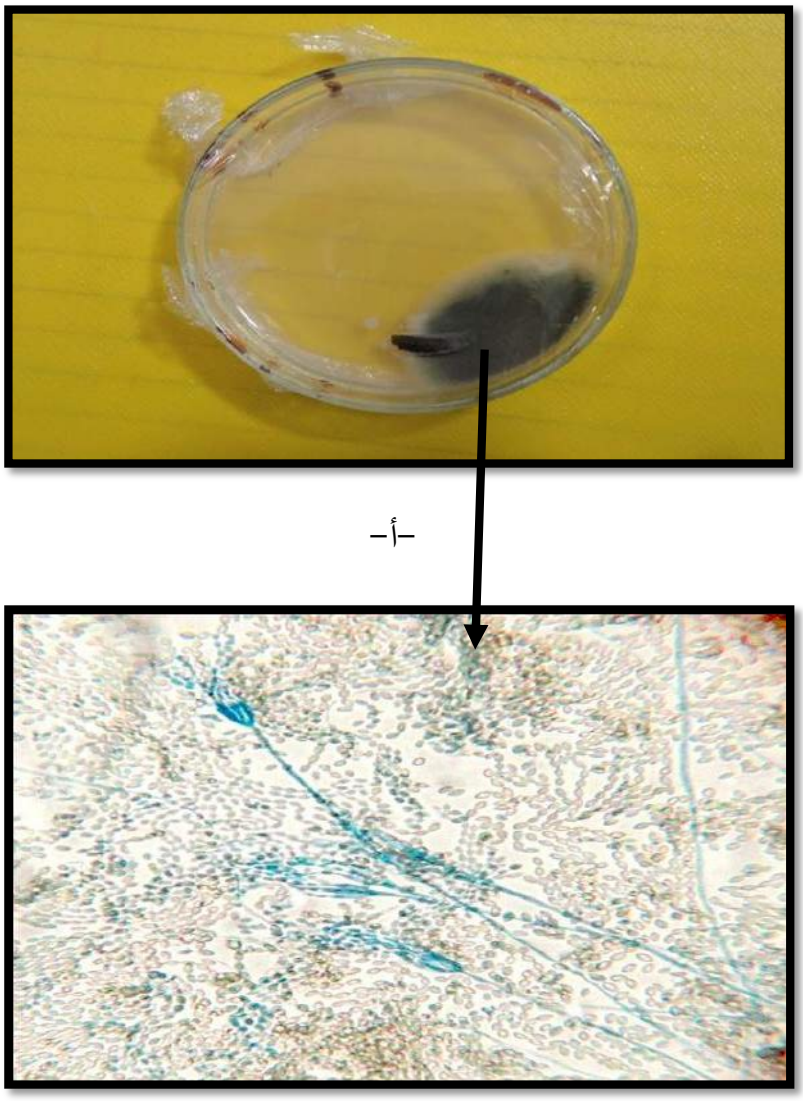
المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

صورة (3– 1): يرقات الطور الثاني لذبابة *Ch. albiceps* منكمشة نتيجة المعاملة بمعلق ابواغ الفطر *M. anisopliae*.

– ب – – أ –

صورة (3–2): يرقات الطور الثاني لذبابة *Ch. albiceps* معاملة بمعلق ابواغ الفطر *M. anisopliae* حيث يلاحظ (أ) اسوداد جسم اليرقة بالكامل ،(ب) اسوداد مقدمة جسم اليرقة فقط .

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com



-أ-

-ب-

صورة(3-3): اليرقات المصابة الميتة للذبابة *Ch. albiceps*، (أ) يلاحظ النمو الفطري يغطيها، (ب) عزل الفطر *M. anisopliae* باستخدام المجهر الضوئي المركب (40X).

كما ويظهر في الجدول (3 – 1) إن نسب الهلاك التراكمي الكلية المصححة (يرقات وعذارى) ازدادت بزيادة التراكيز المستخدمة حيث بلغت 16.60 و 46.67 و 53.30 % عند المعاملة بالتراكيز 2.8×10^{6} و 2.8×10^{7} و 2.8×10^{8} بوغ/مل على التوالي وقد اظهر التحليل الاحصائي وجود فروق معنوية بين بعض نسب الهلاك المعاملة بالتراكيز أعلاه ومعاملة السيطرة ، ويوضح الجدول (3 – 1) كذلك إن نسب بزوغ البالغات الناتجة من اليرقات المعاملة بتراكيز معلق ابواغ الفطر كانت

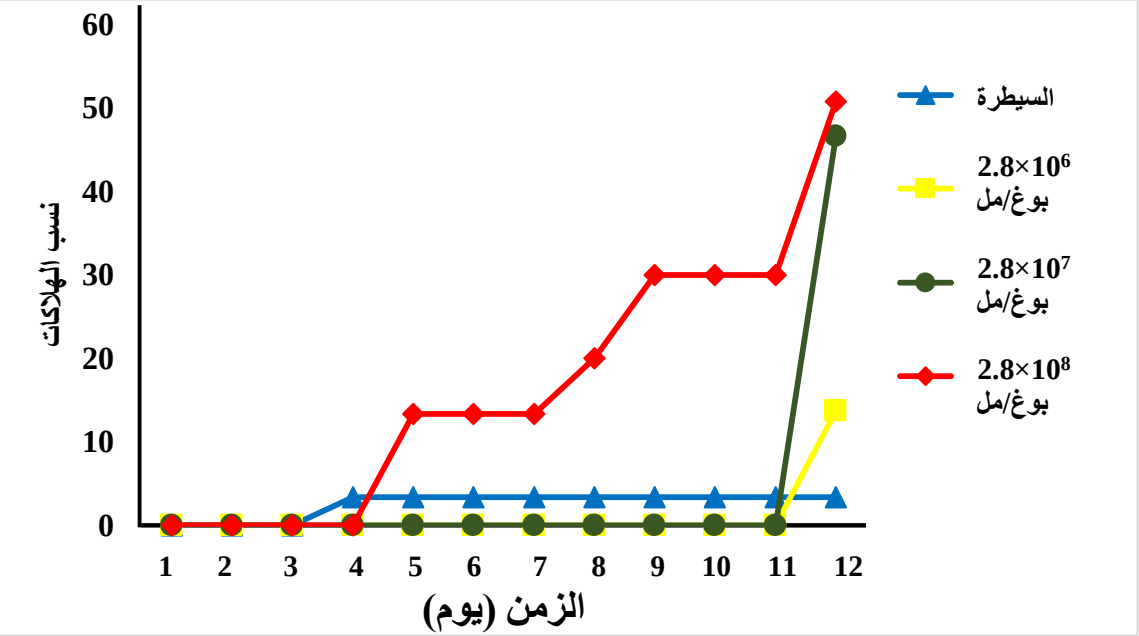
المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

تتناسب عكسياً مع التركيز المستعمل إذ بلغت 83.33 و 53.33 و 46.67 % على التوالي عند المعاملة بالتراكيز أعلاه في حين كانت نسبة بزوغ البالغات في معاملة السيطرة 96.67% . وقد سجلت حالات من التشوهات في البالغات التي بزغت بعد نمو و تطور اليرقات المعاملة متمثلة بتقصف اجنحتها (صورة 3-4) .

صورة (3-4): بالغات ذبابة *Ch. albiceps* ذات اجنحة متقصفة ناتجة من رش اليرقات وتغذيتها على غذاء معامل بمعلق ابواغ الفطر *M. anisopliae*.

إن موت أو هلاك اليرقات قد يعود الى وجود الابواغ الفطرية مع الغذاء الذي احدث تأثيراً طارداً لتغذية اليرقات وبالتالي قلل من استهلاكها للغذاء مما أدى الى تجويعها وبالتالي قلة نشاطها وإن نمو الابواغ الفطرية داخل تجويف جسمها أدى الى اعاقة تمثيل الغذاء والنمو. ويشير الشكل (3 - 1) الى إن نسب موت اليرقات والعذارى التراكمي تزداد مع مرور الوقت حيث إن نسب الهلاك بلغت بعد مرور 12 يوماً من المعاملة 13.70و 46.6 و 50.74 % عند المعاملة بالتراكيز 2.8×10^{6} و 2.8×10^{7} و 2.8×10^{8} بوغ/مل على التوالي بعد ان كانت هذه النسب 0.00 و 0.00 و 16.67% بعد مرور أسبوع من المعاملة .

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com



شكل (3 – 1) : تأثير تراكيز معلق ابواغ الفطر *M. anisopliae* في هلاك يرقات الطور الثاني لذباب *Ch. albiceps* بعد مرور 12 يوماً .

وذلك بسبب إن الاصابة الفطرية والنمو الفطري يزداد مع مرور الوقت مما يؤدي الى ارتفاع نسب الهلاك وإن نمو الفطر هذا قد يصاحبه انتاج وافراز العديد من الأنزيمات والمركبات السامة التي تؤدي الى تحلل أعضاء وأجهزة الجسم . إن هذه النتائج تتفق مع ما توصلت اليه عبيد (2011) من إن يرقات الذباب المنزلي *Musca domestica* المعاملة بتركيز 2.3×10^8 بوغ/مل من معلق ابواغ الفطر *M. anisopiae* أظهرت خمولاً ، وإن اليرقات المصابة الميتة كانت منكمشة وذات لون غامق وإن نسب الهلاك التراكمي ليرقات الطور الثالث المعاملة كانت 43.33 %، كما ذكر Xia *et al.* (2013) إن يرقات *Plutella xylostella* التابعة لرتبة حرشفية الأجنحة والمعاملة بمعلق ابواغ الفطر *M. anisopliae* تصبح منكمشة وتشبه الحرف C وتظهر عليها بقع سوداء بعد مرور 56 ساعة وامكن ملاحظة النمو الفطري على اليرقات المصابة بعد مرور 72 ساعة. كما تتفق مع ما توصل اليه Gabarty *et al.* (2014) حيث أوضحت دراستهم بإن يرقات الطور الثاني لحشرة

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

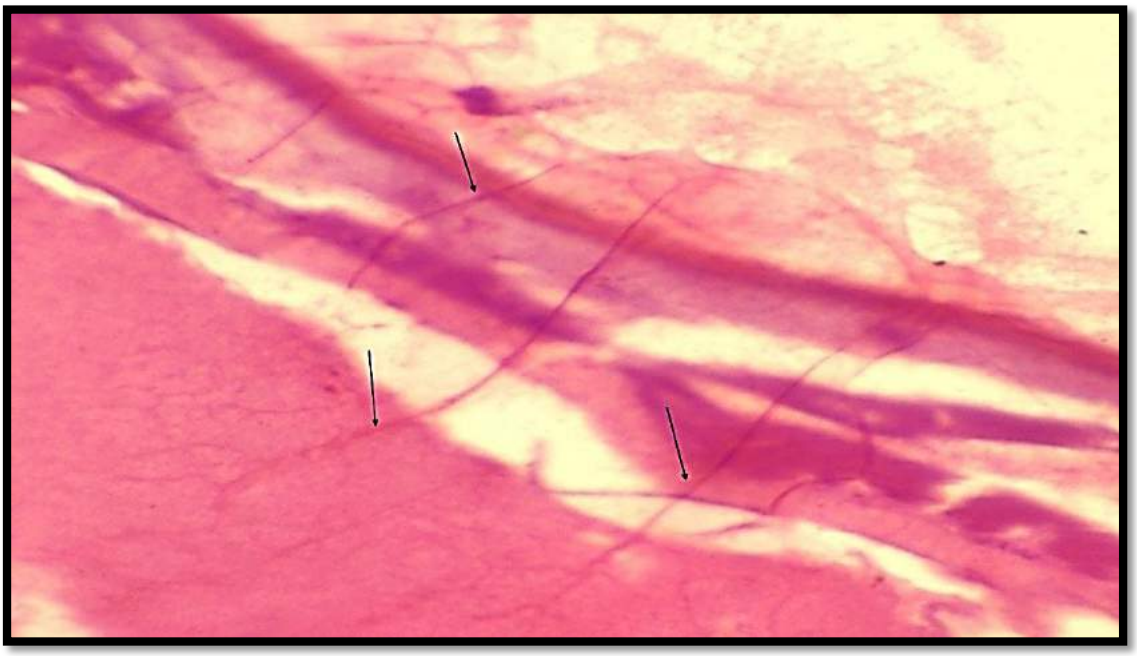
Agrotis ipsilon التابعة لرتبة حرشفية الاجنحة كانت حساسة لمعلق ابواغ الفطر *M. anisopliae* وإن التركيز القاتل لـ 50% من اليرقات المعاملة (LC_{50}) هو 1.9×10^{8} بوغ/مل وإن اليرقات المصابة تبدو منكمشة واول مظاهر الاصابة الفطرية تظهر بعد سبعة أيام من المعاملة وتبدو اليرقات الميتة مغطاة بالغزل الفطري الأخضر بالكامل بعد مرور 15 يوماً من المعاملة. وأوضحت النتائج التي توصل اليها Benserradj and Mihoubi (2014) الى ان يرقات الطور الرابع لبعوض *Culex pipiens* حساسة لتراكيز معلق ابواغ الفطر *M. anisopliae* وان التركيز القاتل لـ 50 و 90 %(LC_{50} و LC_{90}) كانت 5.1×10^{5} و 1.5×10^{8}بوغ/مل على التوالي بعد أربعة أيام من المعاملة وإن نسبة الموت تزداد كلما زادت مدة التعريض حيث وجد بإن نسبة موت اليرقات المعاملة بتركيز 10^{7} بوغ/مل كانت 44 % ولكن هذه النسبة ازدادت لتصبح 76 % بعد مرور أربعة أيام من المعاملة. وأشار Hussain *et al.* (2009) الى ان معاملة اليرقات التابعة للنوع *Ocinara varians* بالتركيز 1×10^{7} بوغ/مل من الفطر *M. anisopliae* مختبرياً أدت الى حدوث نسب مئوية معنوية في هلاك يرقات الطور الثالث والرابع حيث وجد ان اليرقات هلكت بنسبة كبيرة جداً، اما اليرقات التي وصلت الى الطور الخامس لم تستطع ان تبزغ كبالغات، وان اليرقات المعاملة والمصابة بالفطر كان نموها بطيئاً ويبدو ان الاصابة اعاقت النمو والحركة وبدت صغيرة وبطيئة الحركة مقارنة مع معاملة السيطرة كما انها لم تستجيب للمؤثرات الخارجية بسرعة عند تحفيزها وأظهرت اليرقات المريضة فرقاً معنوياً في الوزن مقارنة مع يرقات معاملة السيطرة واستغرقت وقتاً أطول لإكمال الدور اليرقي. وكذلك تتفق مع ما توصلت اليه قرة داغي (2012) من ان معاملة يرقات الطور الثاني لبعوض *Cx. quinquefasciatus* بتركيز 2.5×10^{6} بوغ/مل من معلق ابواغ الفطر *M. anisopliae* أدى الى نحافة اليرقات وظهور بقعة غامقة احياناً على الصدر وموتها خلال الدور الوسطي بين الطور اليرقي الرابع والعذراء .

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

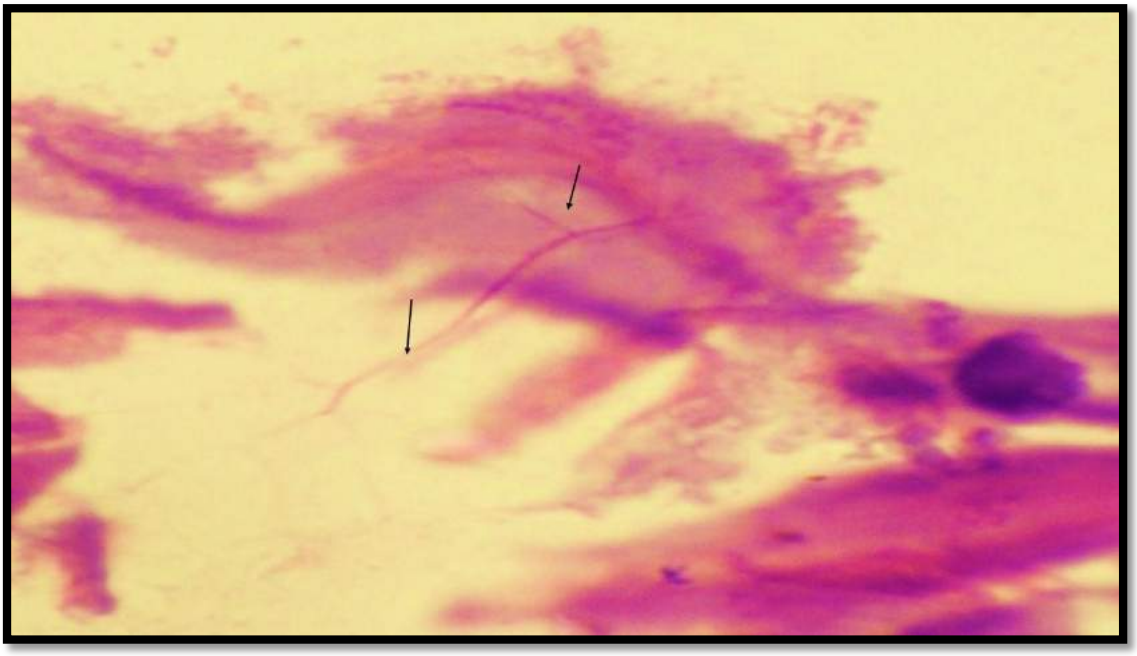
عند دراسة التغيرات النسجية لليرقات المصابة المعاملة بمعلق ابواغ الفطر أظهر الفحص المجهري للمقاطع النسجية المتسلسلة التي أجريت التصاق ابواغ الفطر على جليد اليرقة وتكوين أنبوب انبات Germination tube وبداية اختراق الابواغ لجدار الجسم الكايتيني (صورة3-5)، كما ولوحظ وجود الغزل الفطري مخترقاً عضلات الجسم مما أدى الى تحلل وتمزق أعضاء وأجهزة الجسم (صورة3-6) وإن نمو هايفات الفطر وصل الى التجويف الدموي مما أدى الى إعاقة الدورة الدموية وبالتالي إعاقة جميع الفعاليات الحيوية وموت الحشرة (صورة3-7)

صورة (3-5): مقطع مستعرض ليرقة مصابة يوضح التحام الابواغ على جدار الجسم وبداية اختراقها. ملون الهيماتوكسلين والايوسين (40X).

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com



صورة(3-6): مقطع مستعرض ليرقة مصابة يوضح نمو خيوط الفطر عبر عضلات الجسم. ملون الهيماتوكسلين والايوسين (40X).



صورة (3-7): مقطع مستعرض ليرقة مصابة يوضح نمو خيوط الفطر في التجويف الدموي . ملون الهيماتوكسلين والايوسين (40X).

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

إن نتائج البحث تتفق مع ما ذكره Sajap and Kaur (1990) حول اصابة الارضة *Coptoterms curvignathus* بمعلق ابواغ الفطر *M. anisopliae* إذ وجد ان ابواغ الفطر نبتت واخترقت جدار جسم الحشرة بعد 24 ساعة من المعاملة وان اعراض الإصابة والموت ظهرت بعد ذلك إذ أصبحت الحشرة خاملة وامتنعت عن التغذية وأظهرت عدم تناسق بحركات جسمها وقد عزي السبب الى الافرازات السامة التي تنتج اثناء نمو الخيوط الفطرية داخل جسم الحشرة وأظهرت المقاطع النسجية وجود خيوط الفطر مخترقة عضلات الجسم والاجسام الدهنية. وذكر Tefera and Pringle (2003) ايضاً إن الاصابة بالفطريات ونموها داخل جسم العائل يؤدي الى افراز مركبات سامة وان كتلة الخيوط الفطرية التي تكونت داخل التجويف الجسمي أدت الى تمزيق وتلف أجهزة الجسم لاسيما الجهاز الهضمي وبالتالي اثرت في كمية استهلاك الغذاء من قبل اليرقات. وحول الموضوع نفسه توصلت عبيد واخرون (2012) الى ان المقاطع النسجية المتسلسلة ليرقات الذباب المنزلي *M. domestica* المصابة بالفطر *M. anisopliae* أظهرت التصاق ابواغ الفطر على جليد اليرقة ، وامتلاء القناة الهضمية بالغزل الفطري، كما اظهر الفحص تحلل وتمزق جدران القناة الهضمية بسبب الضغط الفيزياوي للغزل الفطري .

وفي هذا المجال ذكر Sahayaraj *et al.*(2013) ايضاً ان معاملة حشرة النوع *Dysdercus cingulatus* التابعة لرتبة نصفية الاجنحة بمعلق ابواغ الفطر *M. anisopliae* أدت الى الموت بعد 72 ساعة على الأقل، وان اول مراحل الإصابة تحدث بعد ستة ساعات من التصاق الابواغ ثم تبدأ بالإنبات والدخول عبر جدار الجسم ويحدث الموت عندما يصل الغزل الفطري أو يجتاح أعضاء الجسم الداخلية مما يؤدي الى تمزق تلك الأعضاء ، وبالتالي يصل الى تجويف الجسم الدموي وبذلك يقل حجم الدم، وقد أكد Xia *et al.* (2013) حيث ذكروا انه بعد 72 ساعة من معاملة النوع *Plutella xylostella* بمعلق ابواغ الفطر *M. anisopliae* فأن

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

الجوف الجسمي يمتلئ بالخيوط الفطرية التي تغزو القناة الهضمية وانابيب مالبيجي مما يؤدي الى الموت .

كما اشارت قرة داغي واخرون (2012) الى ان معاملة يرقات الطور الرابع لبعوض *Cx. quinquefasciatus* بمعلق ابواغ الفطر *M. anisopliae* أدى الى حصول نسب هلاك عالية وتشوهات مرضية وأوضح الفحص المجهري لليرقات المصابة وجود البلاستوسبور في التجويف الدموي وامتلاء القناة الهضمية به وتحلل جدرانها العضلية.

إن تحلل بعض مناطق جدار الجسم وظهور الخيوط الفطرية تغطي جسم الحشرة ونمو الابواغ الهوائية وتحولها الى اللون الأخضر لا يظهر الا بعد 120 ساعة حيث تنضج الابواغ ويصبح لون الحشرة الميتة خضراء ومغطاة بالغزل الفطري بالكامل (Sajap and Kaur, 1990).

إن انتاج الابواغ الهوائية التي تنتشر في البيئة كفيلة باصابة عوائل أخرى ضمن مجتمع الحشرة (Scholte *et al*., 2004b). كذلك فأن الابواغ الهوائية الساكنة التي تنتج بعد موت الحشرة تساهم في الحفاظ على بقاء الفطر لمدة طويلة عند توفر الظروف البيئية غير الملائمة (Shah and Pell, 2003).

2.1.3 دراسة تأثير تراكيز متسلسلة من معلق ابواغ الفطر *M. anisopliae* في عذارى ذبابة *Ch. albiceps*

إن نتائج معاملة عذارى ذباب *Ch. albiceps* بتراكيز متسلسلة من معلق ابواغ الفطر *M. anisopliae* تظهر بالجدول (3 – 2) إذ يلاحظ إن نسب الهلاك التراكمي تتناسب طردياً مع التركيز المستخدم إذ كانت هذه النسب 13.33 و 26.67 و 33.33% عند المعاملة بالتراكيز 2.8×10^{6} و 2.8×10^{7} و 2.8×10^{8} بوغ/مل على التوالي. في حين إن نسب الهلاك في معاملة

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

السيطرة كانت 3.33 % فقط وعند اجراء التحليل الاحصائي كانت هناك بعض الفروق المعنوية بين هذه النتائج ومعاملة السيطرة.

جدول(3– 2) تأثير تراكيز متسلسلة من معلق ابواغ الفطر *M. anisopliae* في عذارى ذبابة *Ch. albiceps*.

التركيز بوغ / مل	%الهلاك التراكمي ± الخطأ القياسي	% التشوهات ± الخطأ القياسي	% بزوغ البالغات ± الخطأ القياسي
معاملة السيطرة	1.17 ± 3.33	0 ±0.00	3.33 ± 96.67
2.8×10^6	3.33 ± 13.33	3.33 ±6.67	3.33 ± 86.67
2.8×10^7	8.82 ± 26.67	1.17 ± 3.33	8.82 ± 73.33
2.8×10^8	8.82 ± 33.33	1.17 ± 3.33	8.82 ± 66.67
قيمة LSD	* 21.74	Ns 9.41	* 21.74

Ns تعني عدم وجود فرق معنوي Non significant ، * تدل على وجود فروق معنوية بين بعض المعاملات بين مستوى احتمال ($P \leq 0.05$) بحسب اختبار اقل فرق معنوي (LSD)

ويوضح الجدول ايضاً تسجيل نسب تشوهات قليلة في العذارى الميتة تمثلت بتخسفها (صورة 3 –8)، واستطالتها (صورة 3 –9) و لتأكيد الإصابة بالفطر تم ملاحظة النمو الفطري على العذارى المعاملة بعد حضنها في حجرة رطبة Moist chamber وتم زراعة النمو الفطري على وسط الـ PDA (صورة 3–10) وأكد الفحص المجهري للمزرعة كونه الفطر *M. anisopliae* ومن التشوهات الأخرى ظهور حالات من البزوغ الجزئي للبالغات (صورة3 –11).

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

صورة (3-8): عذارى ذبابة *Ch. albiceps* مصابة مشوهة بعد معاملتها بتراكيز الفطر *M. anisopliae* .

صورة (3-9): عذارى ذبابة *Ch. albiceps* مشوهة بعد معاملتها بتراكيز الفطر *M. anisopliae* حيث يلاحظ استطالتها.

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

صورة (3–10): عذراء ذبابة *Ch. albiceps* مصابة بالفطر *M. anisopliae* ويظهر عليها الغزل الفطري بعد تنميتها على وسط PDA (10X) .

صورة (3–11): بزوغ جزئي للبالغة ناتجة من عذارى ذبابة *Ch. albiceps* معاملة بمعلق ابواغ الفطر *M. anisopliae*.

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

ويمكن ان يعزى سبب الموت والتشوهات الى ان الإصابة بالفطر أدت الى حدوث استنزاف انسجة جسم العذراء الداخلية وبالتالي عدم امكانية اتمام البزوغ أو موت الحشرة داخل غلاف العذراء وبالتالي عدم بزوغها ، كما وجد ان البالغات التي أكملت البزوغ تموت بعد أيام قليلة مقارنة بمعاملة السيطرة. وقد يعزى السبب الى انها قد تصاب بالفطر اثناء خروجها من غلاف العذراء الملوث بابواغ الفطر.

إن هذه النتائج تتفق مع ما توصل اليه Anand *et al*. (2009) من ان معاملة عذارى *Spodoptera litura* التابعة لرتبة حرشفية الاجنحة بتركيز 10^8 بوغ/مل من معلق ابواغ الفطر *M. anisopliae* أدى الى حصول نسبة هلاك مقدارها 85.8 %.

كما اشارت عبيد (2011) الى ان معاملة عذارى الذبابة المنزلية *M. domestica* بتراكيز مختلفة من معلق ابواغ الفطر *M. anisopliae* أدت الى حصول نسبة هلاكات عالية وصلت الى 83.33% عند المعاملة بالتركيز 2.3×10^7 بوغ/مل مع تسجيل نسبة تشوهات تمثلت بتخسفها. وذكرت قرة داغي واخرون (2014) أنَّ معاملة عذارى بعوض *Cx. quinquefaciatus* بتركيز 2.5×10^6 بوغ/مل أدت الى حصول نسبة هلاكات وصلت الى 65.47 % فضلاً عن حصول بعض التشوهات تمثلت بقصر ونحافة العذارى المعاملة الميتة.

3.1.3 دراسة تأثير تراكيز متسلسلة من معلق ابواغ الفطر *M. anisopliae* في بالغات ذبابة *Ch. albiceps*

يوضح الجدول (3 – 3) نتائج معاملة بالغات ذبابة *Ch. albiceps* بالرش المباشر بتراكيز متسلسلة من معلق ابواغ الفطر *M. anisopliae* إذ كانت نسب الموت بعد 24 ساعة من المعاملة 33.33 و 16.67 و 26.67 % عند المعاملة بالتراكيز 2.8×10^6 و 2.8×10^7 و 2.8×10^8 بوغ/مل على التوالي في حين كانت نسبة الهلاك في معاملة السيطرة 3.33 % فقط، أما بعد مرور أسبوع على المعاملة فقد ارتفعت نسب الهلاك الى 46.67 و 56.67 و 70.00% على التوالي في حين

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

كانت نسب الهلاك في معاملة السيطرة 10% وعند اجراء التحليل الاحصائي ظهرت بعض الفروق المعنوية بين نسب الهلاكات . ولتأكيد الإصابة وضعت بعض البالغات الميتة وحضنت في حجرة رطبة لمدة ثلاثة أيام وتم فحص النمو الفطري النامي على جسم الحشرة اذ أصبحت مغطاة بالكامل بالغزل الفطري ذي اللون الأخضر الغامق مع ملاحظة إن جسم الحشرة اصبح بشكل هيكل خارجي فقط و مجوف من الداخل (صورة3 –12) و ذلك بسبب استنزاف جميع اعضاء و أجهزة جسم الحشرة عند نمو الفطر عليها.

جدول (3 – 3): تأثير تراكيز متسلسلة من معلق ابواغ الفطر *M. anisopliae* في بالغات ذبابة *Ch. albiceps*

التركيز بوغ / مل	% الهلاك بعد 24 ساعة ± الخطأ القياسي	% الهلاك بعد أسبوع ± الخطأ القياسي
معاملة السيطرة	1.17 ± 3.33	5.0 ± 10.00
2.8×10^6	12.02 ± 33.33	14.52 ± 46.67
2.8×10^7	8.82 ± 16.67	14.52 ± 56.67
2.8×10^8	8.82 ± 26.67	5.77 ± 70.00
قيمة LSD	* 28.76	* 38.43

Ns تعني عدم وجود فرق معنوي Non significant ، * تدل على وجود فروق معنوية بين بعض المعاملات المختلفة بين مستوى احتمال ($P \leq 0.05$) بحسب اختبار اقل فرق معنوي (LSD)

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

صورة (3-12): جسم بالغة ذبابة *Ch. albiceps* مصابة ميتة مغطاة بالفطر *M. anisopliae* قوة التكبير (10X).

إن سبب موت البالغات بعد معاملتها بمعلق ابواغ الفطر قد يعزى الى إن نمو الفطر داخل جسم الحشرة قد أدى الى تمزيق الأعضاء وأجهزة جسمها وبالتالي إعاقة العمليات الحيوية والدورة الدموية كما وان نمو الفطر قد يؤدي الى افراز العديد من الانزيمات والسموم التي تؤدي الى تحلل وموت الانسجة وبالتالي موت الحشرة.

إن هذه النتائج تتفق مع ما توصل اليه Castillo *et al.* (2000) من إن بالغات ذبابة البحر المتوسط *Ceratitis capitata* حساسة جداً للفطر *M. anisopliae* إذ وجدوا ان معاملة البالغات بتركيز 10^6 بوغ/مل يسبب هلاكات 100%. كذلك تتفق مع ما ذكره ThiLoc *et al.* (2004) من إن الفطر *M. anisopliae* فعال في السيطرة على بالغات خنافس جوز الهند *Brontispa longissima* عند استخدامه بتركيز 1.5×10^7 بوغ/مل حيث أدت المعاملة الى حدوث هلاك بنسبة 29.4 % بعد ثلاثة أيام وان هذه النسبة ازدادت الى 84.6 % بعد عشرة أيام. وكذلك تتفق مع ما أشار اليه Kannan *et al.* (2008) من ان بالغات بعوض *Anopheles stephensi* حساسة للفطر *M. anisopliae* وان تعريض البالغات لتركيز 10^6 بوغ/مل أدى الى حصول نسبة

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

موت بلغت 40 % بعد يوم واحد من المعاملة الا ان هذه النسبة قد ازدادت الى 96 % بعد ثمانية أيام واوضحوا ان نمو الفطر داخل جسم الحشرة أدى الى غزو جميع أجهزة الجسم وكذلك تعطيل الجهاز المناعي للحشرة.

وأوضحت قرة داغي واخرون (2012) ان بالغات بعوض *Cx. quinquefasciatus* حساسة جداً للفطر *M. anisopliae* إذ وجدو إن معاملة البالغات بتركيز 2.5×10^{8} بوغ/مل أدى الى تسجيل نسب هلاك وصلت الى 100 % وان الفحص المجهري للبالغات الميتة اظهر غزو الخيوط الفطرية لجميع أجزاء الجسم.

واشارت عبيد واخرون (2013) الى ان معاملة بالغات الذباب المنزلي بتركيز 2.3×10^{8} بوغ/مل من معلق ابواغ الفطر *M. anisopliae* أدى الى نسبة هلاكات بلغت 17.50 % بعد 24 ساعة وان هذه النسبة ازدادت الى 92.50 % بعد مرور ثمانية أيام.

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

2.3 دراسة تأثير تراكيز متسلسلة من معلق بكتريا *Bacillus thuringiensis israelensis* في هلاك يرقات الطور الثاني وبالغات ذبابة *Chrysomya albiceps*

1.2.3 دراسة تأثير تراكيز متسلسلة من معلق بكتريا *B. thuringiensis israelensis* في يرقات الطور الثاني لذبابة *Ch. albiceps*

تعد بكتريا *B. thuringiensis* من اكثر أنواع البكتريا أهمية في مجال المكافحة الجرثومية للآفات بل وان سلالاتها المختلفة مثل *israelensis* و *kurstaki* اهم السلالات التي تستخدم في السيطرة على الآفات الحشرية. لذا فأنه عند دراسة فعالية سلالة هذه البكتريا *B. thuringiensis israelensis* في يرقات ذبابة *Ch. albiceps* أظهرت النتائج المدونة في الجدول (3 – 4) ان المعاملة بالتراكيز 2000,1000,500,200,100 جزء بالمليون ليرقات الطور الثاني لذبابة *Ch. albiceps* سجلت نسبة هلاكات تراكمية مقدارها 30.00 و 46.67 و 30.00 و 43.33 و 63.33% على التوالي وقد اظهر التحليل الاحصائي وجود بعض الفروق المعنوية بين التراكيز المستخدمة.

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

جدول(3 – 4) تأثير تراكيز متسلسلة من معلق بكتريا *B. thuringiensis israelensis* في يرقات الطور الثاني لذبابة *Ch. albiceps*

التركيز جزء بالمليون	% الهلاك المصححة بعد 24 ساعة± الخطأ القياسي	% الهلاك التراكمي المصححة لليرقات± الخطأ القياسي	% التشوهات ± الخطأ القياسي	% الهلاك التراكمي الكلي (لليرقات+العذارى) المصححة ± الخطأ القياسي	% بزوغ البالغات ± الخطأ القياسي
معاملة السيطرة	0 ± 0.00	0 ± 0.00	0 ± 0.00	1.35 ± 3.33	3.33 ± 96.67
100	0.0 ± 0.00	15.27 ± 30.00	0.00± 0.00	11.69 ±53.30	12.02 ± 46.67
200	5.00 ± 10.00	29.05 ± 46.67	0.00 ± 0.00	22.79 ±56.60	21.85 ± 43.33
500	0.0 ± 0.00	20.81 ± 30.00	0.00 ± 0.00	11.04 ± 60.00	10.00 ± 40.00
1000	0.0 ± 0.00	23.33 ± 43.33	0.00 ± 0.00	11.76 ± 73.30	12.02 ± 26.67
2000	0.00 ± 0.00	12.01 ± 63.33	3.00 ± 6.67	10.23 ± 76.60	8.81 ± 23.33
قيمة LSD	Ns 14.09	* 26.09	Ns 9.39	* 15.04	Ns 43.31

Ns تعني عدم وجود فرق معنوي Non significant ، * تدل على وجود فروق معنوية بين بعض المعاملات بين مستوى احتمال ($P \leq 0.05$) بحسب اختبار اقل فرق معنوي (LSD)

وأظهرت النتائج حصول تشوهات مظهرية ناتجة من معاملة غذاء اليرقات بتركيز 2000 جزء بالمليون من بكتريا *B. thuringiensis israelensis* إذ كانت 6.67 % وتمثلت التشوهات بانكماش اليرقات (صورة3 –13) المعامل غذائها بالبكتريا وتلون بعضها باللون الغامق (صورة3 –

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

14)، فضلاً عن طول مدة الدور اليرقي بالمقارنة مع معاملة السيطرة، وطول مدة التعذر وقلة عدد اليرقات التي وصلت الى الدور العذري.

صورة (3–13): يرقات ذبابة *Ch. albiceps* منكمشة نتيجة تغذيتها على غذاء معامل بتراكيز من معلق بكتريا *B. thuringiensis israelensis*.

صورة (3 –14): يرقات ذبابة *Ch. albiceps* تظهر ذات لون غامق نتيجة تغذيتها على غذاء معامل بتراكيز من معلق بكتريا *B. thuringiensis israelensis*.

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

كما يظهر في الجدول حصول هلاكات للعذارى الناتجة من معاملة غذاء اليرقات الآنفة وظهور تشوهات فيها تمثلت بتخسفها وصغر حجمها (صورة3 –15) وحصول بزوغ جزئي للبالغات (صورة 3 –16).

صورة (3 – 15): عذراء متخسفة ناتجة من يرقات ذبابة *Ch. albiceps* تغذت على غذاء معامل بتراكيز من بكتريا *B. thuringiensis israelensis*.

صورة (3 –16): بزوغ جزئي للبالغة نتيجة تغذية يرقات ذبابة *Ch. albiceps* على غذاء معامل بتراكيز من معلق بكتريا *B. thuringiensis israelensis*.

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

وقد أظهرت معاملة اليرقات إن النسبة المئوية للهلاك التراكمي الكلي (اليرقات والعذارى) كانت معتمدة على التركيز إذ إن هذه النسبة ازدادت زيادة طردية بزيادة التراكيز المستخدمة، حيث كانت الهلاكات عند معاملة الغذاء بتركيز 100جزء بالمليون بمقدار 53.3 % وبالتركيز 200 جزء بالمليون كانت 56.6 % وبالتركيز 500 جزء بالمليون كانت 60 % وبالتركيزين 1000 و 2000 جزء بالمليون كانت 73.3 و 76.6 % على التوالي ، وقد اظهر التحليل الاحصائي وجود فروق معنوية بين هذه النسب.

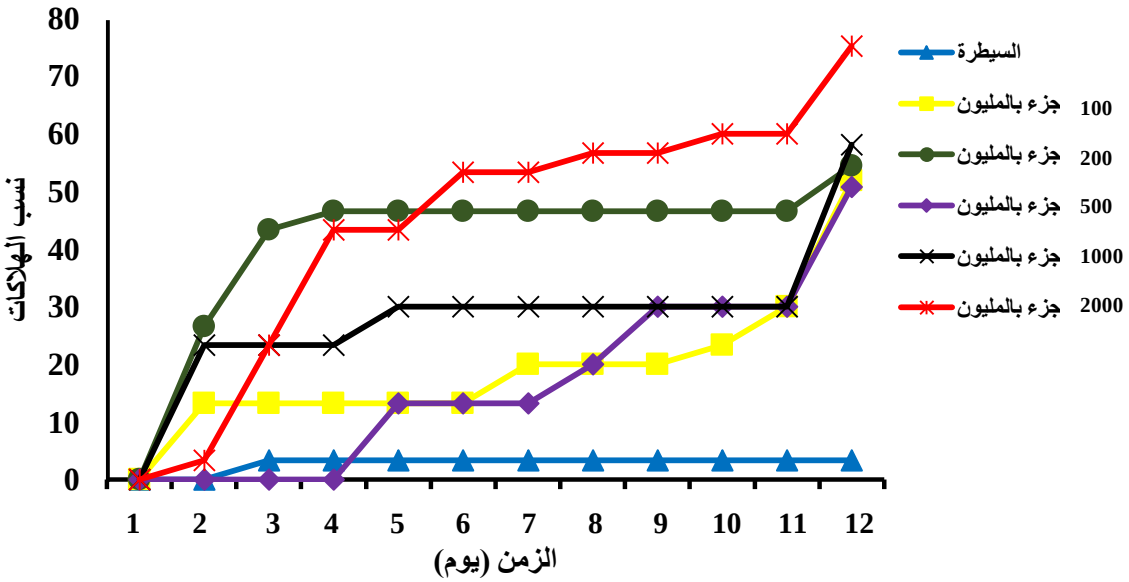
أما بالنسبة لبزوغ البالغات فقد أظهرت النتائج إن اعلى نسبة مئوية لبزوغ البالغات ظهرت عند معاملة الغذاء بتركيز 100 جزء بالمليون حيث كانت 46.67 % واقل نسبة مئوية لبزوغ البالغات كانت عند معاملة الغذاء بتركيز 2000 جزء بالمليون حيث كانت 23.33 %، وقد اظهر التحليل الاحصائي عدم وجود فروق معنوية بين التراكيز المستخدمة.

إن معاملة غذاء اليرقات بتراكيز متسلسلة من بكتريا *B. thuringiensis* أدى الى زيادة نسبة الهلاك مع مرور الوقت، يوضح الشكل (3 – 2) إن استمرار التأثير يؤدي الى زيادة نسبة الهلاك إذ يلاحظ إن المعاملة بالتركيز 100 جزء بالمليون أدى الى حصول نسبة هلاك بمقدار 20 % بعد مرور سبعة أيام ولكن نسبة الهلاك تزداد الى 51.85 % بعد مرور 12 يوماً ، و عند المعاملة بالتركيز 2000 جزء بالمليون كانت نسبة الهلاك بمقدار 43.33 % بعد مرور خمسة أيام وإن نسبة الهلاك ارتفعت الى 75.18 % بعد مرور 12 يوماً.

إن معاملة غذاء اليرقات بتراكيز المعلق البكتيري أدى الى ظهور اعراض خمول وقلة حركة وانكماشها وبالتالي موتها وقد لوحظ إن بعض اليرقات الميتة ظهرت بلون غامق وقد يعزى السبب في ذلك الى تأثير البكتريا السام بفعل السموم الموجودة في البلورة داخل القناة الهضمية الوسطى للحشرة وتحريرها وبالتالي ارتباطها بالمستقبلات الخاصة الموجودة في بطانة الأمعاء مما يجعل

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

الحشرة تمتنع عن التغذية بسبب شلل القناة الهضمية، فضلاً عن احداثها تحلل لجدار القناة الهضمية الداخلي مما يؤدي الى دخول وخروج السوائل من والى داخل القناة الهضمية وبالتالي موت اليرقات مباشرة أو بعد وصولها الى دور العذراء لكنها قد تفشل في البزوغ أو يحصل لها بزوغ جزئي أو تنتج عنها عذارى صغيرة الحجم ذات تخسفات. كما وإن احد السموم التي تتضمنها البكتريا وهو Delta endotoxin - يكون بطيء الذوبان في القناة الهضمية ويحتاج الى وقت أطول لكي يظهر تأثيره في الحشرة.



شكل (3 – 2): تأثير تراكيز معلق بكتريا *B. thuringiensis israelensis* في هلاك يرقات الطور الثاني لذباب *Ch. albiceps* بعد مرور 12 يوماً.

إن النتائج أعلاه تتفق مع ما ذكره Hodgman *et al.* (1993) حول فعالية سلالات من بكتريا *B. thuringiensis israelensis* في قتل يرقات الذباب المنزلي وان LC_{50} لها بحدود 10.2 ملغم/مل. كما أشار Kondo *et al.* (1995) الى فعالية بكتريا *B. thuringiensis israelensis* ضد يرقات *Chironomus kiiensis* و *C. yoshimatsui* التابعتين لعائلة

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

Chironomidae إذ وجد ان نسبة اليرقات الميتة كانت 70–100 % بعد 2 يوم من المعاملة بالتركيز 17 ملغم/مل من البكتريا.

وكذلك تتفق مع ما ذكره Chilcott *et al*. (1998) حول فعالية بروتينات بكتريا *B. thuringiensis* ضد ثلاثة أنواع من الذباب الأزرق المسبب للتدويد في الأغنام و هذه الأنواع هي *Lucilia sericata* و *L. cuprina* و *Calliphora stygia* .

كما تتفق النتائج مع ما ذكره Gough *et al*. (2002) حول فعالية عزلة البكتريا المسماة JLF17.22.7 اتجاه قمل المواشي التابع للنوع *Bovicola bovis* الذي يعد طفيلياً خارجياً مهماً على الأغنام في استراليا ووجد إن نسبة الهلاك تزداد من 56 % بعد ثلاثة أيام من المعاملة الى 85 % بعد ستة أيام.

وكذلك تتفق مع ما توصلت اليه Sabry (2004) عند معاملة يرقات ذباب *Ch. albiceps* بتراكيز من بكتريا *B. thuringiensis israelensis* إذ وجدت إن التركيز 4000 جزء بالمليون أدى الى هلاك جميع اليرقات المعاملة (100 %) وإن اليرقات الميتة ظهرت عليها تشوهات كثيرة تمثلت بإسوداد اجسامها واستطالتها احياناً، وفي حالة وصلت اليرقات المعاملة لدور العذراء فأنها تتشوه احياناً وتأخذ شكل حرف C وتكون منكمشة وتفشل البالغات بالبزوغ. وبهذا الصدد ايضاً أشار Olivera *et al*. (2006) الى ان يرقات *Ch. putoria* حساسة لبكتريا *B. thuringiensis israelensis* عندما تضاف تراكيز منها الى غذاء هذه اليرقات وبالتالي تؤدي الى نسبة هلاك عالية وخفض في اوزان اليرقات ونسبة بزوغ البالغات منها.

وبهذا الصدد ايضاً توصل deSouza Jr. *et al*. (2009) الى إن عزلات من بكتريا *B. thuringiensis israelensis* فعالة اتجاه يرقات حشرة *Spodoptera frugiperda* التابعة لرتبة حرشفية الاجنحة وهي من الآفات الخطيرة التي تصيب نباتات القطن و الذرة والرز وان الـ LC_{50}

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

لاحد هذه العزلات وهي العزلة *B. thuringiensis israelensis* IPS82 كان 69.07 $mgcm^{-2}$.

وكذلك تتفق مع ما أشار اليه Mardi *et al.* (2009) حول فعالية المستحضر التجاري لبكتريا *B. thuringiensis* المسمى Agerin ضد يرقات الطور الثاني من فراشة الحمضيات *Papilio demodocus* إذ وجدوا انه لم تسجل هلاكات لليرقات بعد يوم واحد من المعاملة بتركيز 1.66 g/L ولكن بعد أربعة أيام أصبحت نسبة الهلاكات 10%.

كما أشار Monnerat *et al.* (2012) الى حساسية يرقات سوسة القطن *Anthonomus grandis* التابعة لرتبة غمدية الاجنحة لعزلات من بكتريا *B. thuringiensis israelensis* إذ كانت قيمة ال LC_{50} للعزلة *B. thuringiensis israelensis* S1804 بمقدار 0.30 ملغم/مل فقط. وكذلك تتفق مع ما ذكره Hajgozar *et al.* (2013) حول حساسية يرقات العث التابع للنوع *Tortrix viridana* التابعة لرتبة حرشفية الاجنحة التي تعد من الآفات المهمة التي تصيب أشجار البلوط في ايران لبكتريا *B. thuringiensis israelensis* إذ وجدوا إن التركيزين 4000 و 5000 جزء بالمليون يوصى به لمكافحة هذه الحشرة في الغابات.

كما وجد Pereira *et al.* (2013) انه عند استعمال سلالات من بكتريا *B. thuringiensis israelensis* ضد أنواع من يرقات الذباب الأسود التابعة للجنس *Simulium* الناقل لمسبب مرض عمى الأنهار (Onchocerciasis) إن ال LC_{50} لسلالة S2271 من بكتريا *B. thuringiensis israelensis* 9.5 ملغم/مل. وبهذا الصدد أشار Mbewe *et al.* (2014) ايضاً الى إن استعمال بكتريا *B. thuringiensis israelensis* في مكافحة الذباب الأسود التابع للنوع *S. damnosum* كانت فعالة في خفض نسبة تواجد اليرقات في الأنهار حيث انخفضت كثافة اليرقات من 6.89 الى 4.08 يرقة/16 $سم^2$ (في الأشرطة الخاصة بتواجد اليرقات) عند المعاملة بالتركيز 0.05 – 2.5 جزء بالمليون .

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

2.2.3 دراسة تأثير تراكيز متسلسلة من معلق بكتريا *B. thuringiensis israelensis* في بالغات ذبابة *Ch. albiceps*

توضح النتائج المدونة في جدول (3 – 5) إن معدل النسبة المئوية لهلاك بالغات ذبابة *Ch. albiceps* كان 16.67 ، 13.33 ، 26.67 ، 33.33 ، 16.67% عند معاملة غذائها بالتراكيز 100 ، 200 ، 500 ، 1000 ، 2000 جزء بالمليون على التوالي بعد مرور 24 ساعة، في حين كانت نسبة الهلاك في معاملة السيطرة 6.66 %، واظهر التحليل الاحصائي عدم وجود فروق معنوية بين التراكيز المذكورة ومعاملة السيطرة، ولكن بعد مرور أسبوع على معاملة غذاء البالغات بالتراكيز أعلاه ارتفعت نسبة الهلاك وبزيادة تعتمد على التركيز إذ وصلت نسبة الهلاك الى 33.33 و 50 و 63.33 و 63.33 و 73.33 % على التوالي، اما في معاملة السيطرة فقد كانت نسبة الهلاك 6.67 % فقط، وعند اجراء التحليل الاحصائي ظهرت بعض الفروق المعنوية بين النتائج.

إن هذه النتيجة تعزى الى تأثير السموم المتحررة من البلورة الموجودة في البكتريا بعد دخولها مع الغذاء الى داخل القناة الهضمية الوسطى وارتباط هذه السموم بمستقبلات خاصة ضمن الطبقة الطلائية الداخلية للقناة الهضمية وبالتالي تحللها واحداث ثقوب تعمل على دخول وخروج الايونات من والى داخل الخلايا وكذلك حدوث شلل للقناة الهضمية الوسطى للحشرة وامتناعها عن تناول الطعام مما يؤدي الى قلة حركتها وتصلب أطرافها.

إن هذه النتائج تتفق مع ما ذكره Walters and English (1995) حول حساسية بالغات من البطاطا التابعة للنوع *Macrosiphum euphorbiac* لسم Delta – endotoxin الذي يتحرر داخل القناة الهضمية عند تغذية الحشرة على غذاء ملوث بالبكتريا وان هلاك البالغات حصل بعد مرور 4 –5 أيام من التغذية. وبهذا الصدد ايضاً أشار Robacker *et al.* (1996) الى حساسية

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

بالغات الذباب التابعة للنوع *Anastrepha ludens* (Mexican fruit fly) لبعض عزلات بكتريا *B. thuringiensis* إذ سجلت نسبة هلاك تراوحت بين 65 – 80 % بعد مرور عشرة أيام من استمرار تغذيتها لمدة يومين على غذاء ملوث بهذه البكتريا في حين كانت نسبة الهلاك في معاملة السيطرة 2.7 % فقط.

جدول (3 – 5): تأثير تراكيز متسلسلة من معلق بكتريا *B. thuringiensis israelensis* في هلاك بالغات ذباب *Ch. albiceps*.

التركيز جزء بالمليون	% الهلاك بعد 24 ساعة ± الخطأ القياسي	% الهلاك بعد مرور أسبوع ± الخطأ القياسي
معاملة السيطرة	3.33 ± 6.66	3.33 ± 6.67
100	3.33 ± 16.67	8.82 ± 33.33
200	8.82 ± 13.33	15.27 ± 50.00
500	17.63 ± 26.67	6.67 ± 63.33
1000	3.33 ± 33.33	3.33 ± 63.33
2000	8.82 ± 16.67	8.82 ± 73.33
قيمة LSD	Ns 28.851	* 30.09

Ns تعني عدم وجود فرق معنوي Non significant، * تدل على وجود فروق معنوية بين بعض المعاملات بين مستوى احتمال ($P \leq 0.05$) بحسب اختبار اقل فرق معنوي (LSD).

إن نتائج البحث تتفق مع ما ذكره Mwamburi (2008) من ان تعريض بالغات الذباب المنزلي *Musca domestica* الى تركيز 250 ملغم /كغم من بكتريا *B. thuringiensis israelensis* يؤدي الى حصول نسبة قتل تصل الى 46.33 % بعد ستة أسابيع من معاملة الغذاء

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

بالبكتريا، وعند زيادة تركيز البكتريا الى 500 ملغم/ كغم من بكتريا *B. thuringiensis israelensis* ازدادت نسبة القتل الى 54.89 % بعد ستة أسابيع من معاملة الغذاء بالبكتريا .

كما أشار Mbewe, *et al.* (2014) الى انه عند استعمال بكتريا *B. thuringiensis israelensis* للسيطرة على بالغات ذباب Black fly أدى الى خفض وجود البالغات من 19.58% الى 1.84%.

3.3 دراسة تأثير توليفات من تركيزين من معلق بكتريا *B. thuringiensis israelensis* وتركيزين من معلق ابواغ الفطر *M. anisopliae* في يرقات الطور الثاني لذباب *Ch. albiceps*

تمت دراسة تأثير مزيج من تركيزين من بكتريا *B. thuringiensis israelensis* ومعلق ابواغ الفطر *M. anisopliae* (بشكل توليفات) في يرقات الطور الثاني لذبابة *Ch. albiceps*.

يوضح الجدول (3-6) إن استعمال التوليفة A و المؤلفة من مزيج تركيزي 100 جزء بالمليون و 2.8×10^6 بوغ / مل لمعلق بكتريا *B. thuringiensis israelensis* ومعلق ابواغ الفطر *M. anisopliae* على التوالي بعد خلطهما معاً واضافتهما الى غذاء اليرقات، ورش اليرقات ايضاً بتركيز 2.8×10^6 بوغ / مل من معلق ابواغ الفطر *M. anisopliae* أدى الى ظهور نسبة هلاكات مقدارها 30.00% بعد مرور 24 ساعة من المعاملة في حين لم تسجل أي نسبة هلاكات عند تغذية اليرقات على غذاء معامل بتركيز 100 جزء بالمليون من معلق البكتريا لوحدها خلال هذه المدة، وكذلك لم تسجل أية نسبة هلاكات عند معاملة غذاء اليرقات ورشها بتركيز 2.8×10^6 بوغ /مل من معلق ابواغ الفطر لوحده بعد مرور 24 ساعة من المعاملة. وكانت نسبة الهلاكات التراكمية لليرقات بحدود 63.33 %، وظهرت تشوهات في اليرقات نسبتها 13.33 % تمثلت بانكماش اجسام اليرقات صورة (3-17) وتلون بعضها باللون الغامق صورة (3-18) أو تلون المنطقة الخلفية من الجسم باللون

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

الغامق صورة (3–19)، في حين لم تسجل أية نسبة تشوهات عند المعاملة بتركيزي المعلق البكتيري ومعلق ابواغ الفطر لوحدهما وقد اظهر التحليل الاحصائي وجود بعض الفروق المعنوية بينها.

جدول (3–6): تأثير توليفات من تركيزين من معلق بكتريا *B. thuringiensis israelensis* وتركيزين من معلق الفطر *M. anisopliae* في يرقات الطور الثاني لذبابة *Ch. albiceps*

رمز التوليفة / التركيز جزء بالمليون+ بوغ/مل	%الهلاك 24 بعد ساعة ± الخطأ القياسي	%الهلاك التراكمي لليرقات ± الخطأ القياسي	%التشوهات ± الخطأ القياسي	%الهلاك التراكمي الكلي (يرقات + عذارى)± الخطأ القياسي	%بزوغ البالغات ± الخطأ القياسي
معاملة السيطرة	0 ± 0.00	0 ± 0.00	0 ± 0.00	1.35 ± 3.33	3.33 ± 96.67
100	0 ± 0.00	15.27 ± 30.00	0 ± 0.00	12.01 ± 53.33	± 46.67 12.01
200	± 10.00 5.00	29.05 ± 46.67	0.0 ± 0.00	21.85 ± 56.67	± 43.33 21.85
$10^6 \times 2.8$	0 ± 0.00	0 ± 0.00	0 ± 0.00	3.33 ± 16.67	± 83.33 3.33
$10^7 \times 2.8$	0 ± 0.00	8.00 ± 16.67	7.50 ± 13.33	26.67 ± 46.67	± 53.33 26.67
A+ الرش ب2.8 $\times 10^6$	± 30.00 15.0	31.79 ± 63.33	7.50 ± 13.33	33.33 ± 66.67	± 33.33 33.33
B + الرش ب2.8 $\times 10^6$	± 36.67 13.33	11.54 ± 50.00	3.33 ± 13.33	3.33 ± 86.67	± 13.33 3.33
C + الرش ب 2.8 $\times 10^7$	± 30.00 20.81	17.63 ± 73.33	10.00 ± 20.00	17.63 ± 73.33	± 26.67 17.63
D + الرش ب 2.8 $\times 10^7$	± 36.67 18.55	17.63 ± 53.33	6.67 ± 26.67	14.00 ± 66.67	± 33.33 14.00
قيمة LSD	Ns 43.79	* 55.34	* 22.39	* 54.24	* 54.24

Ns تعني عدم وجود فرق معنوي Non significant ، * تدل على وجود فروق معنوية بين بعض المعاملات بين مستوى احتمال ($P \leq 0.05$) بحسب اختبار اقل فرق معنوي (LSD).

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

صورة (3-17) يرقات ذبابة *Ch. albiceps* معاملة بالتوليفة A يلاحظ انكماش اليرقات.

صورة (3-18): يرقات ذباب *Ch. albiceps* معاملة بالتوليفة A يلاحظ تلون اليرقات باللون الغامق.

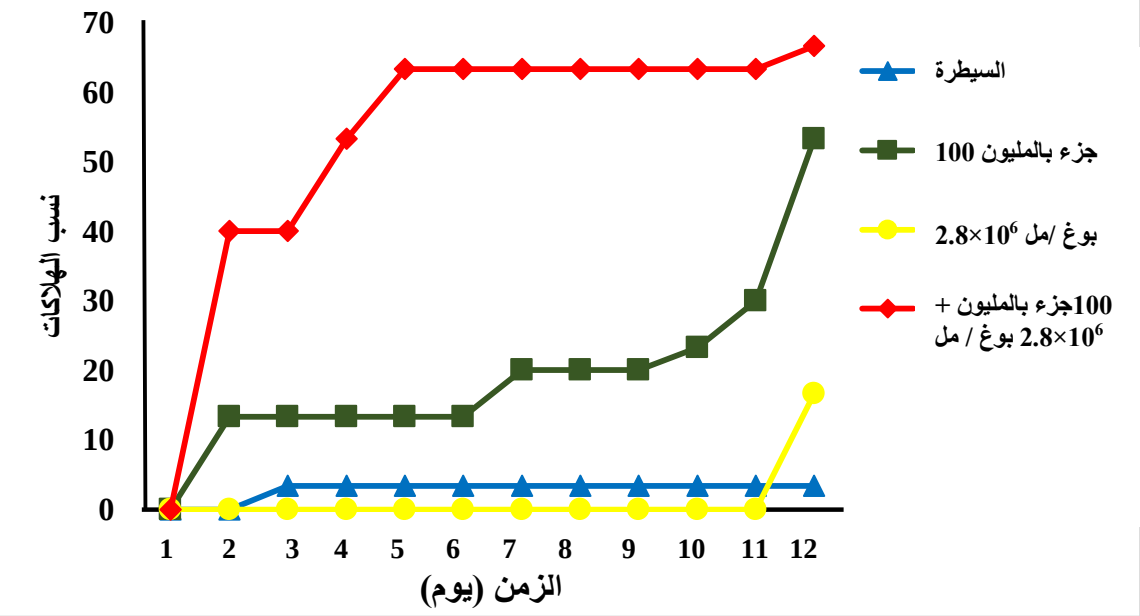
المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

صورة (3–19): يرقات ذبابة *Ch. albiceps* معاملة بالتوليفة A يلاحظ تلون المنطقة الخلفية من الجسم باللون الغامق.

كما يظهر الجدول إن نسبة الهلاكات التراكمية (يرقات و عذارى) عند تغذية اليرقات على غذاء معامل بالتوليفة A و رش اليرقات بتركيز 2.8×10^6 بوغ / مل من معلق ابواغ الفطر كانت 66.67% وبالتالي أدى ذلك الى إن نسبة بزوغ البالغات كانت 33.33 %، في حين كانت نسبة الهلاكات التراكمية عند معاملة غذاء اليرقات بتركيز 100 جزء بالمليون من معلق البكتريا لوحدها و تغذيتها عليه 53.33 % وكانت نسبة البالغات البازغة 46.67 %، والهلاكات التراكمية الناتجة من معاملة غذاء اليرقات ورشها بتركيز 2.8×10^6 بوغ /مل من معلق ابواغ الفطر لوحده 16.67 % والبالغات البازغة نسبتها 83.33 %، وقد اظهر التحليل الاحصائي وجود بعض الفروق المعنوية بين التوليفة A ومعلق البكتريا لوحدها ومعلق ابواغ الفطر لوحده ومعاملة السيطرة التي كانت فيها نسبة الهلاكات التراكمية الكلية (يرقات وعذارى) 3.33 % ونسبة البالغات البازغة 96.67 %.

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

إن معاملة غذاء اليرقات بالتوليفة A و رشها بتركيز 2.8×10^6 بوغ /مل من معلق ابواغ الفطر أدى الى زيادة نسبة الهلاكات بمرور الزمن و يوضح الشكل (3-3) إن استمرار التأثير يؤدي الى حصول نسبة هلاكات اعلى، إذ إن نسبة الهلاك في اليوم الرابع من المعاملة كانت 53.3 % و بعد مرور 12 يوماً ازدادت هذه لتصل الى 63.3 % ، في حين كانت نسبة الهلاك عند معاملة غذاء اليرقات بالمعلق البكتيري لوحده و تغذيتها عليه بتركيز 100 جزء بالمليون 13.3 % و ازدادت هذه النسبة لتصل الى 51.85 % بعد مرور 12 يوم من المعاملة .



الشكل (3-3): تأثير التوليفة A و الرش بتركيز 2.8×10^6 بوغ / مل من معلق ابواغ الفطر في هلاك يرقات الطور الثاني لذبابة *Ch. albiceps* بعد مرور 12 يوماً.

بينما لم تسجل أية نسبة هلاكات عند معاملة غذاء اليرقات ورشها بتركيز 2.8×10^6 بوغ /مل من معلق ابواغ الفطر لوحده ولكن وجد إن نسبة الهلاك أصبحت 13.70 % بعد مرور 12 يوماً من المعاملة. إن هذه النتائج تشير الى إن معاملة غذاء اليرقات بالتوليفة A ورشها بتركيز 2.8×10^6 بوغ /مل من معلق ابواغ الفطر أدى الى حدوث هلاكات اكثر من الهلاكات التي سجلت عند استخدام كل ممرض لوحده.

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

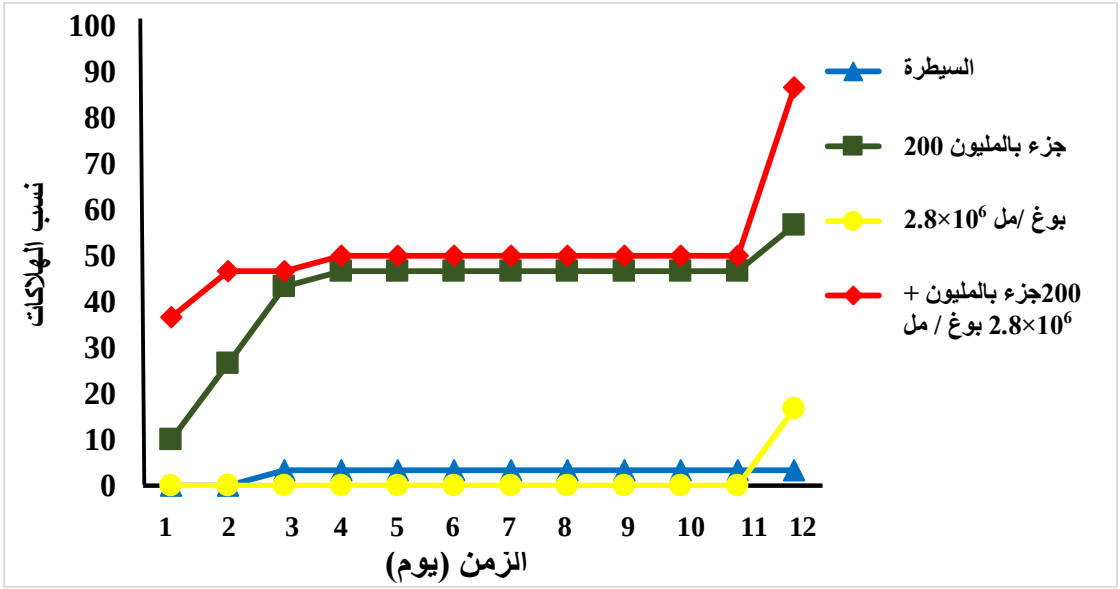
ويوضح الجدول (3-6) ايضاً إن معاملة غذاء اليرقات بالتوليفة B المتضمنة تركيز 200 جزء بالمليون من معلق البكتريا وتركيز 2.8×10^6 بوغ /مل من معلق ابواغ الفطر ورش اليرقات بتركيز 2.8×10^6 بوغ /مل من معلق ابواغ الفطر أدى الى حصول هلاكات بنسبة 36.67 % بعد يوم واحد من المعاملة وهلاك تراكمي لليرقات بنسبة 50.00 %، وتشوهات مظهرية بنسبة 13.33 %، في حين كانت نسبة الهلاك عند معاملة غذاء اليرقات بتركيز 200 جزء بالمليون من معلق البكتريا لوحدها وتغذيتها عليه 10.00 % بعد مرور يوم واحد من المعاملة، وكانت نسبة الهلاكات التراكمية لليرقات 46.67 % ولم تسجل أية نسبة تشوهات، ولكن وجد إن خلط غذاء اليرقات ورشها بتركيز 2.8×10^6 بوغ /مل من معلق ابواغ الفطر لوحده لم يسجل أية نسبة هلاكات بعد مرور يوم واحد وكذلك لم تسجل أية نسبة هلاكات تراكمية أو تشوهات مظهرية لليرقات عند المعاملة بمعلق ابواغ الفطر لوحده (بتركيز 2.8×10^6 بوغ /مل).

ويظهر الجدول كذلك إن نسبة الهلاكات التراكمية الكلية (يرقات وعذارى) عند معاملة غذاء اليرقات بالتوليفة B ورشها بتركيز 2.8×10^6 بوغ /مل من معلق ابواغ الفطر ارتفعت الى 86.67 % وبالتالي كانت نسبة البالغات البازغة من اليرقات المتغذية على غذاء معامل بالتوليفة B ورشها بتركيز 2.8×10^6 بوغ /مل من معلق ابواغ الفطر 13.33%، في حين كانت نسبة الهلاكات التراكمية الكلية (يرقات وعذارى) المتغذية على غذاء معامل بتركيز 200 جزء بالمليون من معلق البكتريا لوحدها 56.67% ونسبة البالغات البازغة 43.33 %، بينما كانت نسبة الهلاكات التراكمية الكلية (يرقات وعذارى) عند معاملة غذاء اليرقات ورشها بتركيز 2.8×10^6 بوغ /مل من معلق ابواغ الفطر لوحده 16.67% وكانت نسبة بزوغ البالغات 83.33 %، وقد اظهر التحليل الاحصائي وجود فروق معنوية بين التوليفة B ومعلق البكتريا لوحدها بتركيز 200 جزء بالمليون ومعلق ابواغ الفطر لوحده

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

بتركيز 2.8×10^6 بوغ /مل وبين معاملة السيطرة التي كانت فيها نسبة الهلاكات التراكمية الكلية (يرقات وعذارى) 3.33 % ونسبة بزوغ البالغات 96.67 %.

إن معاملة غذاء اليرقات بالتوليفة B ورشها بتركيز 2.8×10^6 بوغ /مل من معلق ابواغ الفطر أدى الى زيادة نسبة الهلاك بمرور الزمن ويوضح الشكل (3-4) إن استمرار تأثير التوليفة B في اليرقات المتغذية الى غذاء معامل بها أدى الى حصول نسبة هلاكات اعلى، إن نسبة الهلاكات في اليوم الثاني من المعاملة كانت 46.6 % وازدادت هذه النسبة لتصل الى 84.67 % بعد مرور 12 يوماً، في حين كانت نسبة الهلاك في اليوم الثاني من تغذية اليرقات على غذاء معامل بتركيز 200 جزء بالمليون من معلق البكتريا لوحدها 26.6 % وارتفعت هذه النسبة لتصل الى 54.44 % بعد مرور 12 يوماً، في حين كانت نسبة الهلاك بعد يومين من معاملة غذاء اليرقات ورشها بتركيز 2.8×10^6 بوغ /مل من معلق ابواغ الفطر لوحده صفر وبعد مرور 12 يوماً أصبحت نسبة الهلاك 13.70 %.



الشكل (3-4): تأثير التوليفة B و الرش بتركيز 2.8×10^6 بوغ / مل من معلق ابواغ الفطر في هلاك يرقات الطور الثاني لذبابة *Ch. albiceps* بعد مرور 12 يوماً.

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

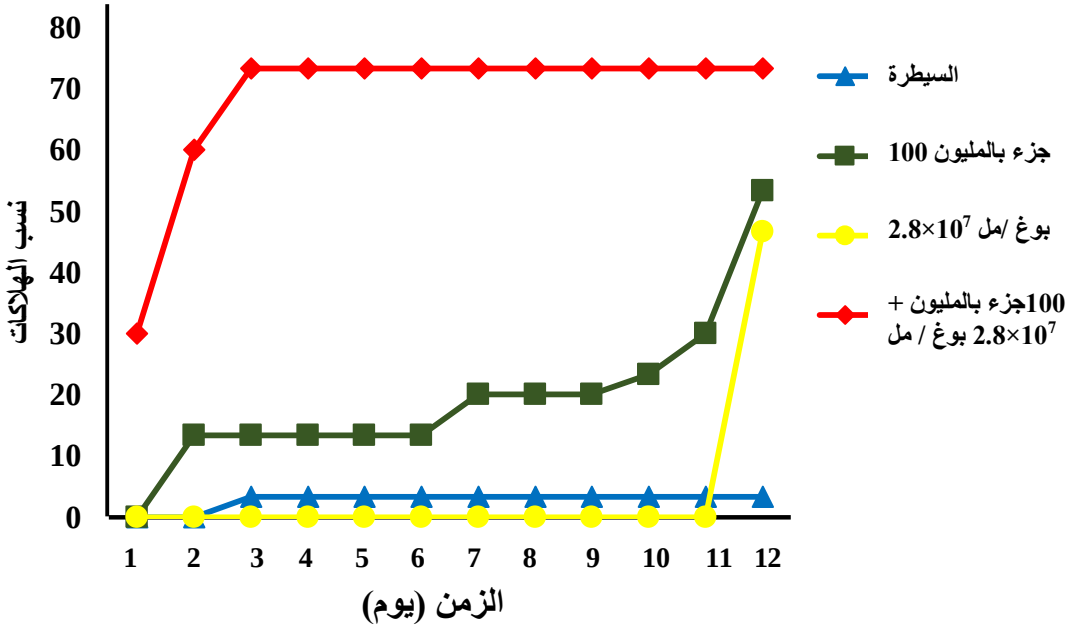
وتشير النتائج المدونة في الجدول (3–6) كذلك إن التوليفة C المتكونة من تركيز 100 جزء بالمليون وتركيز 2.8×10^7 بوغ / مل من معلق البكتريا ومعلق ابواغ الفطر على التوالي وخلطهما معاً ومعاملة غذاء اليرقات بها ورش اليرقات بتركيز 2.8×10^7 بوغ / مل من معلق ابواغ الفطر سجلت نسبة هلاكات 30.00% بعد مرور يوم واحد من المعاملة عند المعاملة بها، وكانت نسبة التشوهات لليرقات الميتة 20.00 % وكانت نسبة الهلاكات التراكمية لليرقات 73.33 %، في حين لم تسجل أي نسبة هلاكات لليرقات بعد مرور 24 ساعة من تغذيتها على غذاء معامل بتركيز 100 جزء بالمليون من معلق البكتريا لوحدها، وكانت نسبة الهلاكات التراكمية لليرقات المتغذية على غذاء معامل بتركيز 100 جزء بالمليون 30.00 % ولم تسجل أية نسبة تشوهات، وكذلك لم تسجل أية نسبة هلاكات لليرقات المعامل غذائها ورشها بتركيز 2.8×10^7 بوغ / مل من معلق ابواغ الفطر بعد مرور 24 ساعة وكانت نسبة التشوهات 13.33 % ونسبة الهلاكات التراكمية لليرقات المتغذية على غذاء معامل بمعلق ابواغ الفطر لوحده ورشها بتركيز بتركيز 2.8×10^7 بوغ / مل من معلق ابواغ الفطر 16.67 %.

كما يوضح الجدول (3–6) إن نسبة الهلاكات التراكمية الكلية (يرقات وعذارى) المتغذية على غذاء معامل بالتوليفة C والمرشوشة بتركيز 2.8×10^7 بوغ / مل من معلق ابواغ الفطر كانت 73.33 % والبالغات البازغة بنسبة 26.67 %، في حين كانت نسبة الهلاكات التراكمية الكلية (يرقات وعذارى) عند تغذيتها على غذاء معامل بتركيز 100 جزء بالمليون من معلق البكتريا لوحدها 53.33 % والبالغات البازغة كانت نسبتها 46.67 %، في حين كانت نسبة الهلاكات التراكمية الكلية (يرقات وعذارى) عند تغذيتها على غذاء معامل بتركيز 2.8×10^7 بوغ / مل من معلق ابواغ الفطر ورشها به لوحده 46.67% ونسبة بزوغ البالغات كانت 53.33 %، وقد اظهر التحليل الاحصائي وجود فروق معنوية بين التوليفة C وبين معلق البكتريا لوحده بتركيز 100 جزء بالمليون

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

ومعلق ابواغ الفطر لوحده بتركيز 2.8×10^7 بوغ / مل و بين معاملة السيطرة التي كانت فيها نسبة الهلاكات التراكمية الكلية (يرقات وعذارى) 3.33 % والبالغات البازغة بنسبة 96.67 %.

إن استمرار التأثير في اليرقات المتغذية على غذاء معامل بالتوليفة C فضلاً عن رشها بتركيز 2.8×10^7 بوغ / مل من معلق ابواغ الفطر أدى الى زيادة نسبة الهلاك بمرور الوقت ويوضح الشكل (3-5) إن نسبة الهلاك بعد مرور يوم واحد كانت 30 % وارتفعت هذه النسبة لتصل الى 60 % بعد مرور 12 يوماً، في حين لم تسجل أية نسبة هلاكات لليرقات المتغذية على غذاء معامل بتركيز 100 جزء بالمليون من معلق البكتريا لوحدها بعد مرور يوم واحد من المعاملة ، ولكن أصبحت هذه النسبة 51.85 % بعد مرور 12 يوماً، ويوضح الشكل (3-5) إنه لم تسجل أية نسبة هلاك لليرقات بعد مرور يوم واحد من تغذيتها على غذاء معامل.



الشكل (3-5): تأثير التوليفة C و الرش بتركيز 2.8×10^7 بوغ / مل من معلق ابواغ الفطر في هلاك يرقات الطور الثاني لذبابة *Ch. albiceps* بعد مرور 12 يوماً.

بتركيز 2.8×10^7 بوغ / مل من معلق ابواغ الفطر و رشها به لوحده و لكن بعد مرور 12 يوماً أصبحت هذه النسبة 46.6 %.

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

كما ويشير الجدول (3-6) إن التوليفة D و المتضمنة تركيز 200 جزء بالمليون من معلق البكتريا وتركيز 2.8×10^7 بوغ / مل من معلق ابواغ الفطر وخلطهما معاً واضافة الخليط الى غذاء اليرقات ورشها بتركيز 2.8×10^7 بوغ / مل من معلق ابواغ الفطر سجلت نسبة هلاكات لليرقات بمقدار 36.67 % بعد مرور 24 ساعة من تغذية اليرقات على غذاء معامل بالتوليفة D ورشها بتركيز 2.8×10^7 بوغ / مل من معلق ابواغ الفطر، في حين كانت نسبة الهلاكات التراكمية لليرقات 53.33 % وكذلك سجلت نسبة تشوهات مظهرية بمقدار 26.67 %، بينما تشير النتائج إن نسبة الهلاك لليرقات بعد مرور 24 ساعة من تغذيتها على غذاء معامل بتركيز 200 جزء بالمليون من معلق البكتريا لوحدها 10.00 % ونسبة الهلاكات التراكمية لليرقات 46.67 % ولم تسجل أية نسبة تشوهات، كما توضح النتائج انه لم تسجل أي نسبة هلاكات لليرقات بعد مرور يوم واحد من تغذيتها على غذاء معامل بتركيز 2.8×10^7 بوغ / مل من معلق ابواغ الفطر ورشها به لوحده، في حين كانت نسبة الهلاكات التراكمية لليرقات 16.67 % ونسبة التشوهات 13.33 %.

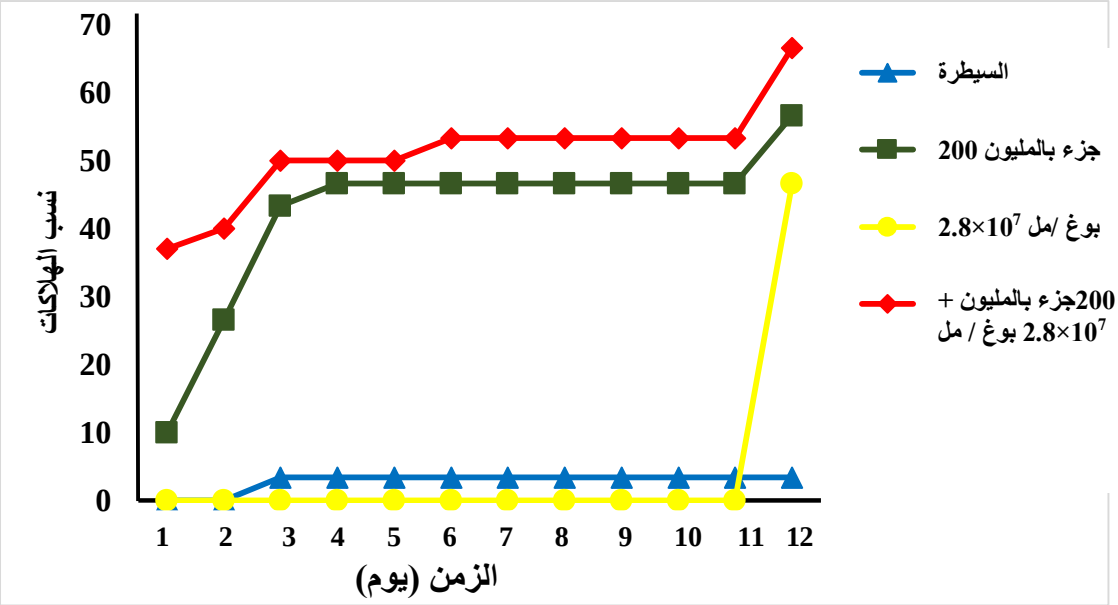
ويوضح الجدول (3-6) إن نسبة الهلاكات التراكمية الكلية (يرقات وعذارى) الناتجة من معاملة غذاء اليرقات بالتوليفة D ورشها بتركيز 2.8×10^7 بوغ / مل من معلق ابواغ الفطر كانت 66.67 % ونسبة بزوغ البالغات كانت 33.33 %، في حين كانت نسبة الهلاكات التراكمية الكلية (يرقات و عذارى) الناتجة من تغذية اليرقات على غذاء معامل بتركيز 200 جزء بالمليون من معلق البكتريا لوحدها 56.67 % والبالغات البازغة كانت نسبتها 43.33 %، وكانت نسبة الهلاكات التراكمية الكلية (يرقات وعذارى) الناتجة من تغذية اليرقات على غذاء معامل بتركيز 2.8×10^7 بوغ / مل من معلق ابواغ الفطر ورشها به 46.67 % ونسبة بزوغ البالغات 53.33%، وعند اجراء التحليل الاحصائي وجد إن هناك بعض الفروق المعنوية بين التوليفة D وبين معلق البكتريا بتركيز 200 جزء بالمليون ومعلق ابواغ الفطر بتركيز 2.8×10^7 بوغ / مل و بين معاملة السيطرة التي

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

كانت فيها نسبة الهلاكات التراكمية الكلية (يرقات وعذارى) 3.33 % ونسبة بزوغ البالغات 96.67 %.

إن استمرار التأثير في اليرقات المتغذية على غذاء معامل بالتوليفة D ورشها بتركيز 2.8×10^7 بوغ/مل من معلق ابواغ الفطر يؤدي الى زيادة نسبة الهلاك بمرور الوقت ويوضح الشكل (3-6) إن نسبة الهلاكات بعد مرور ثلاثة أيام من تغذية اليرقات على غذاء معامل بالتوليفة D ورشها بتركيز 2.8×10^7 بوغ / مل من معلق ابواغ الفطر كانت 50 % وازدادت هذه النسبة لتصل الى63.30 % بعد مرور 12 يوماً ، في حين كانت نسبة الهلاكات بعد مرور ثلاثة أيام من تغذية اليرقات على غذاء معامل بتركيز 200 جزء بالمليون من معلق البكتريا لوحدها 43.3 % وازدادت هذه النسبة لتصبح 54.44 % بعد مرور 12 يوماً، ولم يلاحظ تسجيل أية نسبة هلاكات بعد ثلاثة أيام من تغذية اليرقات ورشها بتركيز 2.8×10^7 بوغ / مل من معلق ابواغ الفطر لوحده وازدادت هذه النسبة لتصبح 46.6% بعد مرور 12 يوماً.

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com



الشكل (3-6): تأثير التوليفة D و الرش بتركيز 2.8×10^7 بوغ / مل من معلق ابواغ الفطر في هلاك يرقات الطور الثاني لذبابة *Ch. albiceps* بعد مرور 12 يوماً.

إن النتائج المذكورة انفاً توضح إن تأثير اكثر من ممرض (بكتريا + فطر) يؤدي الى حصول هلاكات (بعد يوم من المعاملة) اكبر واسرع في اليرقات والعذارى مما لو استخدم كل ممرض لوحده، وقد يعزى السبب في ذلك الى ان البكتريا تسبب تجويع الحشرة بفعل السموم الموجودة في البلورة عند وصولها الى القناة الهضمية الوسطى للحشرة و تحريرها وبالتالي ارتباطها بالمستقبلات الخاصة الموجودة في بطانة هذه القناة مما يجعل الحشرة تمتنع عن التغذية بسبب شلل القناة الهضمية، وهذا يؤدي الى خمول وضعف اليرقات وبالتالي حساسيتها لأبواغ الفطر، وكذلك يمكن ان يؤدي امتناع الحشرة عن تناول الغذاء الى اطالة المدة الزمنية بين كل انسلاخين وبالتالي يؤخر اتمام عملية تحولها وهذا ما يتيح المجال لنمو الخيوط الفطرية داخل جسم الحشرة ويصاحب نمو الفطر عادة افراز العديد من الانزيمات والسموم ويؤدي ذلك بالتالي الى تحلل أعضاء الجسم الداخلية كالعضلات مما يؤدي الى هلاك وموت الحشرة.

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

أظهرت النتائج إن استخدام (التوليفات A , B , D) يؤدي الى حصول فعل تأزري Synerjestic effect بين الممرض البكتيري والممرض الفطري حيث إن نسبة الهلاكات لهما معاً اكثر من مجموع نسبة هلاكات كل ممرض لوحده.

في حين إن استخدام (التوليفة C) يكون التأثير جمعياً Additive effect لأن استخدام الممرض البكتيري والفطري معاً أدى الى هلاكات اقل من مجموع هلاكات كل ممرض لوحده.

إن النتائج التي توصل اليها البحث تتفق مع Wraight and Ramos (2005) عندما قاما بعمل تجربة حقلية ضد يرقات خنافس البطاطا التابعة للنوع *Leptinotarsa decemlineata* باستعمال مستحضر تجاري من فطر *Beauveria bassiana* المسمى Mycotrol ومستحضر تجاري من بكتريا *B. thuringiensis* المسمى Novodor وخلطهما معاً، حيث لاحظا إن استعمال المستحضر البكتيري لوحده يعطي نسبة قتل من 50 – 85 % واستعمال المستحضر الفطري لوحده يعطي نسبة قتل 25 %، ولكن عند خلطهما معاً تزداد نسبة القتل بمقدار 6 – 35 %.

وللسيطرة على يرقات الذباب المنزلي تم اجراء تجربة حقلية بوساطة معاملة غذاء الدواجن بمعلق بكتريا *B. thuringiensis israelensis* ، و كذلك رش الغذاء بمعلق ابواغ الفطر *B. bassiana* ومعاملة ثالثة تضمنت رش الغذاء بخليط من بكتريا *B. thuringiensis israelensis* وفطر *B. bassiana* وقد أظهرت النتائج حصول انخفاض في مجتمع يرقات الذباب المنزلي التي أكملت دورة حياتها بتغذيتها على غذاء الدواجن حيث بلغت نسبة الهلاكات عند المعاملة بالفطر لوحده 11 % وبالبكتريا بتركيز 500 ملغم / كغم كانت النسبة 42 %، وعند خلط الفطر مع البكتريا ازدادت نسبة الهلاكات لليرقات لتصل الى 52 % وعليه فأن استعمال الفطر *B. bassiana* مع بكتريا *B. thuringiensis israelensis* يكون كفوءاً في السيطرة على مجتمع الذباب المنزلي في اقفاص تربية الدواجن اكثر من استعمال الفطر والبكتريا لوحدهما (Mwambburi, 2008).

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

كما أشار Kryukov *et al*. (2009) إن مكافحة يرقات خنافس البطاطا التابعة للنوع *L. decemlineata* باستعمال خليط من عزلة البكتريا *B. thuringiensis morrisoni* والفطر *M. anisopliae* أدى الى حصول موت سريع لجميع اليرقات المعاملة وقد ذكر إن البكتريا تعرقل تمثيل الغذاء في حين إن نمو الابواغ الفطرية يضعف نمو اليرقات و ان استعمال هذين الممرضين معاً ليس له تأثير تضادي Antagonesim effect عند اضافته لغذاء اليرقات وإن هذا الخليط من الممرضين معاً فعال جداً حتى عند استخدامه في الحقل حيث أدى الى حصول هلاكات قد تصل الى 90 %.

إن ما تم التوصل اليه من نتائج تشير الى إن التراكيز الواطئة من المبيد البكتيري والفطري عند استعمالهما بشكل توليفات أعطت نسب هلاك اعلى من نسب الهلاك للمبيد البكتيري أو الفطري لوحدهما. ولكون كلفة المبيدات الجرثومية عالية لذا فأن استخدام تراكيز واطئة بشكل توليفات يعد اقل كلفة من استعمال نوع واحد من هذه المبيدات بتراكيز اعلى للحصول على النتائج نفسها، كذلك فأن احتمالية ظهور حشرات مقاومة للمبيد البكتيري تنخفض عند استخدامه بشكل توليفة مع مبيد فطري.

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

الاستنتاجات والتوصيات

Conclusions and Recommendations

www.manaraa.com

Conclusions and Recommendations الأستنتاجات والتوصيات

Conclusions الاستنتاجات

- يرقات وبالغات ذباب *Ch. albiceps* حساسة لتراكيز بكتريا *B. thuringiensis israelensis* التي تم دراستها.
- يرقات وعذارى وبالغات ذباب *Ch. albiceps* حساسة لتراكيز الفطر *M. anisopliae* التي تم دراستها.
- ظهور تشوهات عديدة عند المعاملة بالعاملين الممرضين معاً.
- أظهرت المقاطع النسجية إن طريقة الرش المباشر ورش الغذاء بمعلق ابواغ الفطر فعالة في إصابة يرقات الحشرة وأظهرت المقاطع نمو الخيوط الفطرية في عضلات الجسم والتجويف الدموي واختراق ابواغ الفطر لجدار جسم اليرقة.
- إن دراسة تأثير توليفات من العاملين الممرضين بكتريا *B. thuringiensis israelensis* والفطر *M. anisopliae* في يرقات ذباب *Ch. albiceps* أظهرت فعالية اعلى مما لو استخدم كل ممرض لوحده.

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

التوصيات Recommendations

- التحري عن عزلات الفطر *M. anisopliae* والبكتريا *B. thuringiensis* من الترب المحلية.
- محاولة عزل سموم البكتريا *B.thuringiensis israelensis* والفطر *M. anisopliae* واستخدامها في مكافحة الحشرات.
- إجراء بحوث تتناول تأثير التداخل ما بين سموم الفطر والبكتريا.
- دراسة تأثير البكتريا *B. thuringiensis israelensis* و الفطر *M. anisopliae* في آفات حشرية أخرى لإمكانية استخدامها كمبيدات حيوية.

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

المصادر

References

www.manaraa.com

((المصادر العربية))

إبراهيم، يحيى وعبد المجيد، محمد (2014). التوصيات المعتمدة لمكافحة الآفات الزراعية. وزارة الزراعة واستصلاح الأراضي. جمهورية مصر العربية: 296 صفحة.

أبو الحب، جليل (1982). الحشرات الناقلة للأمراض. المجلس الوطني للثقافة والفنون والاداب. الكويت: 225 صفحة.

أبو الحب، جليل كريم (1979). الحشرات الطبية والبيطرية في العراق (القسم النظري). مطبعة جامعة بغداد: 450 صفحة.

أبو الحب، جليل كريم (2004). الحشرات المسببة للأمراض. الطبعة الأولى. مطابع دار الشؤون الثقافية العامة: 215 صفحة.

الباروني، محمد أبو مرداس (1991). اساسيات مكافحة الآفات الحشرية. الطبعة الأولى. منشورات جامعة عمر المختار. الجماهيرية الشعبية الليبية: 294 صفحة.

الباروني، محمد أبو مرداس والحجازي، عصمت محمد (1994). المكافحة الحيوية لممرضات الحشرات. الجزء الثاني. منشورات جامعة عمر المختار. الجماهيرية الشعبية الليبية: 635 صفحة.

الحاج إسماعيل، اياد يوسف. (2009). الإدارة المتكاملة للآفات الحشرية. جامعة الموصل: 89 صفحة.

الزبيدي، حمزة كاظم (1992). المقاومة الحيوية للآفات. دار الكتب للطباعة والنشر. جامعة الموصل: 271 صفحة.

الزبيدي، رزاق شعلان (2000). دراسة مقارنة لبعض الجوانب الحياتية والبيئية بين ذبابة الدودة الحلزونية للعالم القديم *Chrysomya bezziana* Villeneuve وذبابة التدويد الثانوي كبيرة الرأس *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae) في بغداد. رسالة ماجستير. كلية العلوم. جامعة بغداد: 76 صفحة.

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

الطويل، اياد احمد؛ العزي، محمد عبد جعفر وعبد الرسول، محمد صالح (1999). تأثير اشعة كاما في عذارى ذبابة الدودة الحلزونية الاسيوية *Chrysomya bezziana*. مجلة الزراعة العراقية (عدد خاص)، مجلد 4، عدد 7 :1 – 5.

العامري، عامر مرحم (2007). دراسة وبائية مصلية لداء النغف المتسبب عن يرقات نغف الأنف *Oestrus ovis*. أطروحة دكتوراه. كلية الطب البيطري. جامعة بغداد: 177 صفحة.

العزي، محمد عبد جعفر؛ الطويل ، اياد احمد وعبد الرسول، محمد صالح (1999). تربية ذبابة الدودة الحلزونية الاسيوية(Diptera: Calliphoridae) *Chrysomya bezziana* في المختبر للتهيئة للإنتاج الكمي. مجلة الزراعة العراقية (عددخاص). مجلد4 عدد7: 59 – 66.

القناوي، أحمد (2011). البكتريا الممرضة للحشرات Entomopathogenic Bacteria *Bacillus thuringiensis* (*B.t.*) . www . Iraqi . datepalms . net .

الكسندر، فرانك (1988). المدخل الى علم الادوية البيطرية. ترجمة د. الخياط، علي عزيز. مطبعة دار الكتب. جامعة الموصل: 474 صفحة.

حسون، رعد حمودي (1999). دراسة وبائية وحياتية ذبابة الدودة الحلزونية *Chrysomya bezziana* Villeneuve1914 (Diptera: Calliphoridae) في منطقة بغداد. اطروحة دكتوراه. كلية الطب البيطري. جامعة بغداد: 104 صفحة.

سيرفس، م. م. (1984). المرشد الى علم الحشرات الطبية. ترجمة د. سليط، علي؛ الصفار، السيد زهير والعراقي، سيد رياض. مديرية دار الكتب للطباعة والنشر. جامعة الموصل: 485 صفحة.

صالح، حسام الدين (2013). تأثير تراكيز مختلفة من بكتريا *Bacillus thuringiensis israelensis* على يرقات العمر الثالث لبعوض *Culex quinquefasicatus* مختبرياً. Egypt . J. Appl . Sci، 28 (9) :187–193 .

طه، الشحات محمد رمضان (2007). الأسمدة الحيوية والزراعة العضوية غذاء صحي وبيئة نظيفة. دار الفكر العربي، القاهرة: 200 صفحة.

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

عبد الرسول، محمد صالح والعاني، منتظر عبد العزيز (2002). نبر (تدويد) بولي تناسلي بسبب الذبابة المنزلية *Musca domestica* L. (عائلة الذباب المنزلي، رتبة ثنائية الاجنحة) في العراق. المؤتمر العلمي الخامس للأمراض المشتركة في بغداد. كلية الطب البيطري. 15-16 نيسان.

عبد الرسول، محمد صالح؛ عكل، رزاق شعلان وعبد الحسين، هناء هاني (2009). التواجد الموسمي ليرقات الطور الثالث للذباب المتواجد على الجثث المكشوفة. مركز بحوث ومتحف التاريخ الطبيعي .10(4) :1-9.

عبيد، وفاء برغش (2011). فعالية فطر *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin في المكافحة الاحيائية للذبابة المنزلية *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae) تحت ظروف المختبر مع دراسة نسجية مرضية لليرقات المصابة. رسالة ماجستير. كلية التربية ابن الهيثم. جامعة بغداد: 156صفحة.

عبيد، وفاء برغش؛ مهدي ، نوال صادق ومحمد، حسام الدين (2013). فعالية فطر *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) Sorokin في المكافحة الاحيائية للذبابة المنزلية *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae). مجلة تكريت للعلوم الصرفة .18 (5) :1662- 1813.

عبيد، وفاء برغش؛ مهدي، نوال صادق ومحمد، حسام الدين (2012). التغيرات النسجية المرضية للإصابة بفطر *Metarhizium anisopliae* ليرقات الذبابة المنزلية *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae). مجلة ابن الهيثم للعلو الصرفة والتطبيقية. 25 (2) :18 - 25 .

علي، حيدر بدري (2000). تشخيص وتصنيف الأدوار غير الكاملة والدور الكامل لذبابة الدودة الحلزونية للعالم القديم *Chrysomya bezziana* Villeneuve1914 (Diptera: Calliphoridae) وقريباتها في بغداد. رسالة ماجستير. كلية العلوم. جامعة بغداد: 129 صفحة.

علي، عبد الستار وعبد العزيز، فؤاد (1986). أُسس مكافحة الآفات الزراعية. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي. مؤسسة المعاهد الفنية. دار التقني للطباعة والنشر: 314 صفحة.

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

قرة داغي، نسرين احمد (2012). فعالية فطر *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin في المكافحة الإحيائية للبعوض *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae) تحت ظروف المختبر مع دراسة نسجية لليرقات المصابة. رسالة ماجستير. كلية التربية ابن الهيثم. جامعة بغداد: 125 صفحة.

قرة داغي، نسرين احمد؛ مهدي، نوال صادق وعبود، هادي مهدي (2014). فعالية فطر *Metarhizium anisopliae* Metschnikoff (Sorokin) كعامل مكافحة احيائية لبعوض *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) مع دراسة نسجية لليرقات المصابة. مجلة مدينة العلم. المجلد 6. العدد 2. (in press).

متولي، حامد بن محمد؛ سرحان، أسامة محمد؛ أبو زيد، إيهاب معاذ والحواجري، مجدي شعبان. (2008). دراسة عن بعض اهم الحشرات الطبية بمكة المكرمة اثناء موسم الحج. http .// www.pdf factory.com

مهدي، نوال صادق (1990). المكافحة الحياتية لبعوض *Culex quinquefasciatus* Say باستخدام نوعي البكتريا *Bacillus thuringiensis* Berliner و *Bacillus sphaericus* Neid. رسالة ماجستير. كلية العلوم. جامعة بغداد: 76 صفحة.

موسى، حوراء (2012). علم الحشرات الجنائي ودوره في الكشف عن الجريمة. مجلة المعهد: العدد 12: 31-32 .

مولود، نبيل عبد القادر (2001). دراسة تصنيفية لحشرات عائلة الذباب الأزرق المعدني (Diptera:Calliphoridae) في وسط العراق . أطروحة دكتوراه. كلية الزراعة. جامعة بغداد: 270 صفحة.

هادي، أفكار (2013). عزل وتشخيص بيوض، أكياس واكياس بيض بعض الطفيليات المعوية من نوعين من عائلة Calliphoridae في بغداد. مجلة ابن الهيثم للعلوم الصرفة والتطبيقية. 26(1) : 64 -74.

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

((المصادر الأجنبية))

Abbott, W. S. (1925). A method of computing the effectiveness of an insecticide. J. Econ. Entomol. , 18: 265 – 267.

Ahmed, S.; Ashraf, M. R.; Hussain, A. and Rias, M. A. (2009). Pathogenicity of Isolate of *Metarhizium anisopliae* from Gujranwala (Pakistan) against *Coptoterms heimi* (Wasmann) (Isoptera: Rhinotermitidae), J. Agr. Biol., 11: 707-711.

Ahmedani, M.; Khaliq, A. and Haqme, M. (2007). Scope of commercial formulations of *Bacillus thuringiensis* Berliner as an alternative to methyl bromide against *Trogoderma granarium* everts larvae. Pak. J. Bot., 39(3): 871-880.

Alahmed, A. M.; Al Dawood, A. S. and Kheir, S. M. (2006). Seasonal activity of flies causing myiasis in livestock animals using sticky traps baited with swormlure-4 in Riyadh Region, Saudi Arabia. Sci. Jo. King Faisal Univ. Bas. and Appl. Sci., 7(2): 109 – 119.

Allwin, L.; Kennedy, J. S. and Radhakrishnan, V. (2007). Characterization of different geographical strains of *Bacillus thuringiensis* from Tamil Nadu. Research J. Agr Biol. Sci., 3(5): 362-366.

Alves, S. B.; Alves, L. F.; Lopes, R. B.; Pereira, R. M. and Vieira, S. A. (2002). Penetration of some *Metarhizium anisopliae* isolates for control of *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). J. Appl. Entomol., 126: 504 – 509.

Amiri – Besheli, B.; Khambay, B.; Camerson, S.; Deadman, M. L. and Butt, T. M. (2000). Inter – and Intra – specific variation in destruxin production by insect pathogenic *Metarhizium* ssp. and its Significance to pathogensis. Mycological Res., 104: 447 – 452.

Anand, R.; Prasad, B. and Tiwary, B. N. (2009). Relative susceptibility of *Spodoptera litura* pupae to selected entomopathogenic fungi. Bio. Cont., 54: 85-92.

Anderson, R. D.; Bell, A.S.; Blanford, S.; Paaijmans, K. P. and Thomas, M. (2011). Comparative growth kinetics and virulence of four different isolates of entomopathogenic fungi in the house fly (*Musca domestica* L.). J. Invertebr. Pathol., 107: 179 – 184.

Ángel - Sahagùrn, C. A.; Lezama – Gutièrrez, R.; Molina – Ochoa, J.; Pescador – Rubio, A. ; Skoda, S. R.; Cruz - Vàzquez, C.; Lorenzoni,

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

A. G.; Galindo – Velasco, E.; Fragoso- Sànchez, H. and Foster, J. E. (2010). Virulence of Mexican isolates of entomopathogenic fungi (Hypocreales: Clavicipitaceae) up on *Rhipicephalus = Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) larvae and the efficacy of conidia formulations to reduse larval tick density under field conditions .J. Vet. Parasitol., 170: 278 – 286.

Ansari, M. A.; Pope, E. C.; Carpenter, S.; Scholte, E. J. and Butt, T. M. (2011). Entomopathogenic fungus as a biological control for an important vector of livestock disease: the *Culicoides* biting midge. Plos. one 6(1): e 16108. doi, 10, 1371/ Journal Pone. 0016108.

Aube, C. and Gagnon, C. (1969). Effect of carbon on and nitrogen nutrition on growth and sporulation of *Trichoderma viride*. pers. Exfires. Canadian J. Microbiol, 15(7): 703 – 706.

Augul, R. S. and Jassim, S. Y. (2009). Study of some biological and ecological aspects of the fly *Chrysomya albiceps* (Wiedemann, 1819) (Diptera: Calliphoridae). J. Al-anbar University Pure Sci., 3 (1): 1-4.

Bancroft, J. D and Stevens, A. (1982). Theory and practice of histology techniques 2nd ed. Churchill Livingston, London: 662.

Becker, N. and Ludwig, M. (1993). Investigations on possible resistance in *Aedes vexans* field populations after a 10 – year application of *Bacillus thuringiensis israelensis*. J. Am. Mosq. Contr. Assoc., 9: 221 – 224.

Ben-Dov, E. (2014). Review of *Bacillus thuringiensis* subp *israelensis* and its dipteran-specific toxins. J. Toxins., 6: 1222-1243.

Benserradj, O. and Mihoubi, I. (2014). Larvicidal activity of entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* against mosquito larvae in Algeria. Int. J. Curr .Microbiol. App. Sci., 3(1): 54 – 62.

Bharti, M. (2009). Some notes on medically important flies (Diptera: Calliphoridae) from India. Halteres., 1(1): 66-71 .

Bidochka, M. J.; Kasperski, J. E. and Wild, G. A. M. (1998). Occurrence of the entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* in soils from temperate and near – northern habitats. Canad J. Bot., 76: 1198 – 1204.

Bischoff, J. F. (2006). *Metarhizium frigidum* sp.: a cryptic species of *Metarhizium anisopliae* and a member of the *Metarhizium flavovirida* complex. Mycologia, 98(5): 737 – 745.

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

Boucias, D. G. and Pendland, J. G. (1998). Principles of insect pathology Kluwer Academic publisher Boston / Dordreant / London. 537 pp.

Boudjelida, H. and Soltani, N. (2011). Pathogenicity of *Metarhizium anisopliae* (Metsch) on *Ceratitis capitata* L. (Diptera: Tephritidae). Ann. Biol. Res. 2(2): 104-110.

Bourel, B.; Tournel, G.; Hedouin,V. ; Deveaux , M.; Goff, L. and Gossal, D. (2001) . Morphine extraction in necrophagous insect remains for determining ante-mortme opiate intoxication. Forensic Sci. Int., 120: 127 – 131.

Bukhari, T.; Takken, W. and Koenraadt, C. JM. (2011). Development of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* formulation for control of malaria mosquito larvae. Parasite and Vectors., 4 (23): 1-14 .

Butt, T.; Jackson, C. and Magan, N. (2001). Fungi as Biocontrol Agents progress, problems and potential. Library of Congress Cataloging in Publication Data. Printed and bound in the UK by Biddles Ltd, Guildford and Kings Lynn: 390 pp.

Cao, C.; Sun, L.; Wen, R.; Li, X.; Wu, H. and Wang, Z. (2012). Toxicity and affecting factors of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* on *Chironomus kiiensis* larvae. J. Insect Sci., 12(126):1-8.

Carvalho, L. M.; Linharis, A. X. and Trigo, J. R. (2001). Determination of the drug levels and the effect of diazepam on the growth of necrophagous flies of forensic importance in Southeastern Brazil. Forensic Sci. Int. 120: 140 – 144.

Castillo, M. A.; Moya, P. E. H. and Primo-Yufera, E. (2000). Susceptibility of *Ceratitis capitata* Wiedeman (Diptera: Tephritidae) to the entomopathogenic fungi extracts. Biological control. 19: 279-282.

Cavados, C.; Majerowicz, S.; Chaves, J.; Araujo-coutinoho, C. and Rabinovitch, L. (2004). Histopathological and Ultrastructural effects of δ-endotoxins of *Bacillus thuringiensis* serovar *israelensis* in the midgut of *Simulium pertinax* larvae (Diptera:Simuliidae). Mem Inst Oswaldo cruz, RiodeJaneiro., 99(5): 493-498.

Charnley, A. K. (2003). Fungal pathogen of insect: cuticle degrading enzymes and toxins Advances in Botanical Res., 40: 241 – 321 pp.

Chilcott, C. N.; Wigley, P. J.; Broadwell, A. H.; Park, D. J. and Ellar, D. J. (1998). Activities of *Bacillus thuringiensis* insecticidal crystal

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

proteins Cyt1Aa and Cyt2Aa against three species of sheep blow fly. Appl. Environ. Microb., 64(10): 4060 – 4061.

Clarkson, J. M. and Charnley, A. K. (1996). New insight in to the mechanisms of fungul pathogensis in insects. Trend Microb., 4: 197 – 203.

Cloyd, R. A. (1999). The entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae*. Mid-West biological control news, 5(7). Cited in (2012) قرة داغي

Connelly, C. R. and Carlson, D. B. (Eds.). (2009). Florida coordinating council on Mosquito control. Florida mosquito control: The state of the mission as defined by mosquito controllers; gulators, and enviromantal managers .Vero Beach FL: University of Florida medical Entomology Laboratory: 259pp .

Costa, S. D.; Barbercheck, M. E. and Kennedy, G. G. (2001). Mortality of Colorado potato beetle *Leptinotarsa decemlineata* after sublethal stress with the CrylllA δ- Endotoxin of *Bacillus thuringiensis* and subsequent exposure to *Beauveria bassiana*. J. Invertebr. Pathol., 77. 173 – 179.

Cranshaw, W. S. (2008). *Bacillus thuringiensis*. Colorado state university Extension entomologist and professor, bioagriculture sciences and pest management. Extension. 11/99. Revised 12/08.

Daoud, M. S.; Abid, T. A. and AL – Amary, A. M. (1990). Rectal prolapse due to *Gastrophilas intestinalis* larvae in horse – A case report. Iraqi J. Vet. Sci., 2 (1): 111 – 112.

de Souza Jr., J. D. A.; Jain, S.; de Oliveira, C. M. F.; Ayres, C. F. and Lucena, W. A. (2009). Toxicity of a *Bacillus thuringiensis israelensis* – like strain against *Spodoptera frugiperda*. Bio. Control., 54: 467 – 473.

Denny, J. B. and Donhue, K. M. (2007). Persistence of *Metarhizium anisopliae* incorporated in to soilless potting media for control of the black vine weevil, *Otiorhynchus sulcatus* in container – grown ornamentals. J. Invertebr. Pathol., 95: 146 – 150 .

Draber-Monko, A. (2004). Calliphoridae, plujki (Insect:Diptera) Fauna poloniae 23, Natura optima Dux foundation and MIZPAS ; Warsaw: 659.

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

Driver, F. M.; Milner, R. J. and Trueman, J. W. (2000). A taxonomic revision of *Metarhizium anisopliae* based on a phylogentic analysis of rDNA sequence data . Mycol. Res., 104: 134 – 150.

Engler, K. M. (2004). Effects of multiple generations of *Metarhizium anisopliae* on subterranean termite feeding and mortality. M.sc. thesis. Texas A and M University.

Escriche, B.; Tabashnik, B.; Finson, N. and Ferr′e, J. (1995). Immunohistochemical detection of binding of CryIA crystal proteins of *Bacillus thuringiensis* in highly resistant strains of *Plutella xylostella* (L.) from Hawaii. Biochem. Biophys. Res. Commun., 212: 388 – 395.

Farenhorst, M.; Farina, D.; Scholte, E. J.; Takken, W.; Hunt, R. H.; Coelzee, M. and Knols, B. G. J. (2008). African water storage post for delivery of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* to the malaria vector *Anopheles gambiae* s.s and *Anopheles funestus*. Amer. J. Trop. Med. Hyg., 78(6): 910 – 916.

Faria, L. D; Godoy, W. A. and Do, S. F. (2004b). Larval predation on different instars in blowfly population. An Inter National. J. 47(6): 887-894.

Faria, L. D. and Godoy, W. A. (2001). Prey choice by facultative predator larvae of *Chrysomya albiceps* (Diptera: Calliphoridae). Mem. Inst. Oswaldo Cruz., Riode Janeiro, 96(6): 875-878.

Faria, L. D.; Reigada, C.; Trinca, L. A. and Godoy, W. A. (2007). Foraging behaviour by an intraguild predator blowfly, *Chrysomya albiceps* (Diptera: Calliphoridae). J Ethol., 25: 287 – 294.

Faria, L. D.; Trinca, L. A. and Godoy, A. C. (2004a). Cannibalistic behavior and functional response in *Chrysomya albiceps* (Diptera: Calliphoridae). J. Insect Behav., 17 (2): 251 – 261 .

Federic, B. A. (1995). The future of microbial insecticides as vector control agents. J. Amer. Mosq. Cont. Ass., 11: 160 – 268.

Fernandes, L. F.; Pimenta, F. C. and Fernandes, F. F. (2009). First report of human myiasis in GoiaS state, Brazil: frequency of different types of myiasis, their various etiological agent, and associated factors. J. Parasitol., 95: 38-32.cited by http://cmr.asm.org/content /25/1/79 #ref-list-

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

Fillinger, U. and Lindsay, S. W.(2006) . Suppression of exposure to malaria vectors by an order of magnitude using microbial larvicides in rural Kenya. Trop. Med. Int. Health., 11: 1629 – 1642.

Gabarty, A.; Salem, H. M.; Fouda, M. A.; Abas, A. A. and Ibrahim, A. A. (2014). Pathogenicity induced by the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* in *Agrotis ipsilon* (Hufn.). J. Radiat. Res. Appl. Sci., 7: 95-100.

Galal, L. A.; Abd-El-hameed, S. Y.; Attia, R. A. and Uonis, D. A. (2009). Aninitial study on arthropod. Succession exposed human tissues in Assiut, Egypt. Mansoura J. Forensic Med .Clin .Toxicol., 17(1) : 55-74 .

Georghiou, G. F. and Wirth, M. C. (1997). Influence of exposur to single versus multiple toxine of *Bacillus thuringiensis israelensis* on development of resistance in mosquito *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). Appl. Envirom. Microbiol. 63(3): 1095 – 1101.

Ghanbary, M. A. T.; Asgharzadeh, A.; Hadizadeh, A. R. and Sharif, M. M. (2009). A guick method for *Metarhizium anisopliae* isolation form cultural soils. Amer. J. Agric. Biol. Sci., 4(2): 152 – 155.

Gill, S. S. (1995). Mechanism of action of *Bacillus thuringiensis* toxins. Mem Inst Oswaldo Cruz,Rio de Janeiro, 90 (1): 69 – 74 .

Ginsburg, C. (2006). The safety to Humans of *Bacillus thuringiensis* Insecticidal sprays: A Reassessment. No spray zone: 1-5.

Glare, T. and O´callaghan, M. (1998). Environmental and health impacts of *Bacillus thuringiensis israelensis*. Report for the Ministry of health. 58p.

Goble, T. N. (2009). Investigation of entomopathogenic fungi for control of false codling moth *Thaumatotibia leucoterta* Mediterranean fruit fly *Ceratitis capitata* and Natal fruit fly *C. rosa* in south African citrus . M.Sc. thesis. Rhodes University.

Goldman, I. F.; Arnold, J. and Carlton, B. C. (1986). Selection for resistance to *Bacillus thuringiensis* in field and laboratory populations of the mosquito *Aedes aegypti*. J. Inverteb. Pathol., 47: 317 – 324.

Golo, P. S.; Angelo, I. C.; Camargo, M. G.; Perinotto, W. M. and Bittencourt, V. R. E. (2011). Effect of destruxin a on *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* tick (Acari: Ixodidae). Rev. Bras. Parasitol. Vet. Jaboticabal, 20(4): 338 – 341pp

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

Gough, J. M.; Akhurst, R. J.; Ellar, D. J.; Kemp, D. H. and Wijffels, G. L. (2002). New isolates of *Bacillus thuringiensis* for control of livestock ectoparasites. Biological control, 23: 179 – 189 .

Grassberger, M.; Friedrich, E. and Reiter, C. (2003). The blowfly *Chrysomya albiceps* (Wiedemann) (Diptera: Calliphoridae) as a new forensic indicator in Central Europe. Int. J. Legal Med., 117: 75 – 81.

Hajek, A. (2004). Natural Enemies An introduction to biological control. Published in the United States of America by Cambridge University press, New York. First published in print format 2004. 378pp.

Hajgozar, A.; Pourbehi, H.; Eskuruchi, F.; Khormizi, M. Z.; Sharifnezhad, H. and Biranvand, A. (2013). Effects of *Bacillus thuringiensis* on the larval stages of *Tortrix viridanaon* oak trees. Int. Res. J. Appl. Basic Sci., 5(6): 762 – 765.

Hall, R. D. and Gerhard, R. R. (2002). Flies (Diptera). In. Mullen, G. R. and Durden, L. A. (ed.) Medical Veterinary Entomology, Elsevier Science, USA. :127- 183.

Hallman, C. F.; Schreiber, E. T.; Vo, T. and Bloomquist, M. A. (2000). Field trials of three concentration of Laginex as biological larvicide compared to Vectobac – 2 as biocontrol agent of *Culex quinquefasciatus*. J. Amer. Mosq. Cont. Ass., 16: 5 – 8.

Heath, A. and Leathwick (2001). Blow fly traps and prevention of fly strike; a review of the New Zealand. Proceedings of the FLICS Conference, Launceston. June: 273 – 278.

Hodgman, T. C.; Ziniu, Y.; Ming, S.; Sawyer, T.; Nicholls, C. M . and Ellar, D. J. (1993). Characterization of a *Bacillus thuringiensis* strain which is toxic to the house fly *Musca domestica*. FEMS Microbiol Lett. 114(1): 17 – 22.

Hoe, P.; Bong, C. J.; Jugah, K. and Rajan, A. (2009). Evaluation of *Metarhizium anisopliae* var.*anisopliae* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) Isolates and their effects on subterranean Termite *Coptotrtmes curvignathus* (Isoptera: Rhinotermitidae), Am. J. Agr. Biol. Sci. 4(4): 289-297.

Höfte, H. and Whiteley, H. R. (1989). Insecticidal crystal proteins of *Bacillus thuringiensis*. Microb. Rev., 53: 242-255.

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

Hong, T. D.; Ellis, R. H. and Moore, D. (1997). Development of a model to predict the effect of temperature and moisture on fungal spore longevity. Ann. Botany, 79: 121 – 128.

http://www.vector.ifas.ufl. edu.

http:// www. teb – badial. com / forum / index . php? showtopic = 5395.

Hunsberger, A. (2000). *B.t* (*Bacillus thuringiensis*), Amicrobial Insecticide. Urban. Horticulture Agent, Miami-Dade county and Entomologist: 1-6.

Hussain, A.; Ruan, L.; Tian, M. and He, Y. (2009). Pathogenic effect of *Metarhizium anisopliae* on the larval growth and development of *Ocinara varians* Walker. (Lepidoptera: Bombycoidae). Pak. Entomol. 31(2): 116-121.

Ibrahim, L.; Butt, T. M.; Beckett, A. and Clark, S. J. (1999). The germination of oil formulated conidia of the insect pathogen, *Metarhizium anisopliae*. Mycol. Res., 103: 901 – 907.

Ihemanma, C. A.; Etusim, P. E.; Kalu, M. K.; Adindu, R. U. and Iruoha, G. (2013). Diptera: the order of great public health nuisance. Glo. Adv. Res. J. Environ. Sci. Toxicol., 2(5): 135-143.

James, P. J.; Kershaw, M. I.; Reynolds, S. E. and Carnley, A. K. (1993). Inhibition of desert locust (*Schistocerca gregaria*) malpighin tubule fluid secretion by destruxins, cyclice peptide toxin from the insect pathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. J. Insect Physiol., 39:797 – 804.

Jankevica, L. (2004). Ecological association between entomopathogenic fungi in pest insects recorded in Latvia. Entomology, 41: 60-65.

Kannan, S. K.; Murugan, K.; Kumar, A. N.; Ramasubramanian, N. and Mathiyazhagan, P. (2008). Adulticidal effect of fungal pathogen *Metarhizium anisopliae* on malarial vector *Anopheles stephensi* (Diptera:Culicidae) . Afr. J. Biotechno., 7(6): 838-841.

Kaufman, P. E. (2002). Population dynamics of manure inhabiting arthropods under an integrated pest management (IPM) program in New York poultry facilities – 3 case studies. J. Appl. Poultry Res., 11: 90 – 103.

Keller, S. (1984). *Entomophthora musca* als Artenkomplex Mitteilungen der. Schweizerischen, Entomologischen Gesellschaft, 57: 131 – 132.

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

Kirby, C. (2008). Fly management Handbook AGuide to Biology, Dispersal, and Management of the House Fly and Related Flies for Farmers, Municipalities, and Public Health Offcials. Printed by EPS printing II, LLC, South Windsor, Connecticut: 36.

Kondo, S.; Ohba, M. and Ishii, T. (1995). Comparative susceptibility of chironomid larvae (Dipt., Chironomidae) to *Bacillus thuringiensis* serovar *israelensis* with special reference to altered susceptibility due to food difference . J Appl. Entomol., 119(1 - 5): 123 – 125.

Kryukov, V. Y.; Khodyrev, V. P.; Yaroslavtseva, O. N.; Kamenova, A. S.; Duisembekov, B. A. and Glupov, V. V. (2009). Synergistic action of entomopathogenic hyphomycetes and the bacteria *Bacillus thuringiensis* ssp. *morrisoni* in the infection of Colorado potato beetle *Leptinotarsa decemlineata*. Appl. Biochem. Microbiol., 45(5): 511 – 516 .

Kumar, K. P.; Murugan, K.; Kovendan, K.; Kumar, A. N.; Hwang, J. and Barnard, D. R. (2012). Combined effect of seaweed (*Sargassum wightii*) and *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* on the coastal mosquito, *Anopheles sundaicus*, in Tamil Nadu, India. Sci. Asia, 38: 141 – 146.

Lacey, C. M.; Lacey, L. A. and Roberts, D. W. (1988). Route of invasion and histopathology of *Metarhizium anisopliae* in *Culex quinquefasciatus*. J. Invertebr. Pathol., 52 (1): 108 – 118.

Leland, J. E. (2001). Enviromental stress tolerant formulation of *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* for control of African desert locust (*Schistoserca gregaria*)., Ph. D.Thesis, Blacksburg, Verginia.

Loftin, K.; Hopkins, J. and Steelman, C. (2001). Biology and control of flies in poultry facilities. University of Arkansas cooperative extension service printing services.

Mahmoud, M. F. (2009). Pathogenicity of three commercial products of entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* and *Lecanicillium lacanii* against adults of olive fly, *Bactrocera oleae* (Gmelin) (Diptera:Tephritidae) in the laboratory, plant protect . Sci. 45(3): 98 – 102.

Male, K. B.; Tzeng, Y. M.; Montes, J.; Liu, L. M.; Liao, W. C.; Kamen, A. and Loung, H. T. (2009). Probing in hibitory effects of destruxins from *Metarhizium anisopliae* using insect cell based impedance

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

spectroscopy: inhibition vs chemical structure. J. Royal. Soc. Chemist., 134: 1447 – 1452.

Mardi, H. G.; Idriss, R. E.; Abdella, M. Z. and Sid Ahmed, A. A. (2009). Effect of Nimbecidine® 0.03 % and Agerine® on the larvae of Lemon butter fly (*Papilio demodocus* Esper). J. Sci. Tech. 10(2): 100 – 107.

Mbewe, R.; Pemba, D.; Kazembe, L.; Mhango and Chiotha, S. (2014). The impact of *Bacillus thuringiensis israelensis* (*Bti*) on adult and larvae black fly populations. Malawi J. Sci. Technol. 10 (1): 86 – 92.

Mcgaughey, W. H. and Beeman, R. W. (1988). Resistance to *Bacillus thuringiensis* in colonies of Indianmeal moth and almond moth (Lepidoptera: Pyralidae). J. Econ. Ent. 81: 28 – 33.

Mcgaughey, W. H. (1985). Insect resistance to the biological insecticide *Bacillus thuringiensis*. Science, 229: 193 – 195.

Medeiros, F. P.; Varjal demelosantos, M. A.; Regis, L.; Rios, E. M. and Neto, P. J. (2005). Developmen of *Bacillus spharicus* tablet formulation and its evaluation as larvicide in the biological control of *Culex quinquefasciatus*. Recife PE, Brasil., 100 (4): 431-434.

Ment , D. ; Gindin , G. ; Rot , A. ; Soroker , V. ; Glazer , I. ; Baret , S. and Samish , M. (2010) . Novel technique for quantifying adhesion of *Metarhizium anisopliae* conidia to the tick cuticle . Appl. Environ . Microbiol. 76(11) : 3521 – 3528 .

Moazami, N. (2005). Biopesticide production http: // www . eolss . net / ebook / sample 20% chapter / cl17 / E6 – 58 – 05 – 0.

Mohanty, S. S.; Raghavendra, M. P. K. and Dash, A. P. (2008). Efficacy of culture filtrates of *Metarhizium anisopliae* against larvae of *Anopheles stephensi* and *Culex quinquefasciatus*. J. Microbiol. Biotechnol., 35: 1199 – 1202.

Molnàr, L.; Gibson, D. M. and Krasnoff, S. B. (2010). Secondary metabolites from entomopathogenic hypocrealean fungi. J. Nat. Product Report. 27: 1241 – 1275.

Monnerat, R.; Martins, E.; Praça, L.; Dumas,V. and Berry, C. (2012). Activity of Brazilian strain of *Bacillus thuringiensis israelensis* against the cotton boll weevil *Anthonomus grandis* Boheman (Coleoptera: Tenebrionidae). Neotrop Entomol., 41: 62 – 67.

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

Mouatcho, J. C. (2010). The use of entomopathogenic fungi against *Anopheles funestus* Giles (Diptera: Culicidae). Ph. D. Thesis, Witwatersrand Univ. Johannesburg .162 pp.

Mustafa, U. and Kaur, G. (2009). UV – B radiation and temperature stress causes variable growth responses in *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* isolates. Int. J. Microbiol., 7(1): 25 – 30 .

Mwamburi, L. (2008) . Biological control of the common House fly (*Musca domestica* L.) using *Bacillus thuringiensis* (ISHIWATA) Berlianer var. *israelensis* and *Beauveria bassiana* (BALS.) Vuilemin in caged poultary facilities. Ph. D.thesis. University of Kwazulu-Natal Pieter maritzubrg. Republic of South Africa: 214 pp.

Nedehchev, N. K. (1984). Distribution and causes of myiasis among farm Animals-Veterinarna Sbirka, 86: 33 – 35.

Olivera, M. S.; Nascimento, M. A.; Cavados, F. C.; Chaves, J. Q.; Rabinovitch, L.; Lima, M. M. and Queiroz, M. M. (2006). Biological activity of *Bacillus thuringiensis* strains against larvae of the blowfly *Chrysomya putoria* (Wiedemann, 1819) (Diptera:Calliphoridae). Neotrop. Entomol., 35(6): 852-849.

Omar, A. H. (1995). Cannibalism and predation behavior of the blowfly *Chrysomya albiceps* (Wiedemann, 1819) larvae (Diptera: Calliphoridae). J. Egypt Soci. Parasitol., 253: 729-743.(Abstract).

Paula, A. R.; Carolino, A. T.; Paula, C. O. and Samuels, R. I. (2011). The combination of entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* with the insecticide imidacloprid increases virulence against the dengue vector *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). Parasites and Vectors., 4(8): 1 – 8 .

Peck, J. H. and Anderson, J. R. (1969). Arthropoda predators of immature dipteral developing in poultry dropping in Northern California. J. Med. Ent., 6(2): 163 – 167.

Pereira, E.; Teles, B.; Martins, E.; Praça, L.; Santos, A.; Ramos, F.; Berry, C. and Monnerat, R. (2013). Comparative toxicity of *Bacillus thuringiensis* Berliner strains to larvae of Simuliidae (Insecta: Diptera). Bt Research 4(2): 8 – 13.

Poopathi, S. and Tyagi, B. K. (2006). The challenge of mosquito control strategies: from primordial to molecular approaches. Biotechnol. Mol. Biol. Rev., 1(2): 51 – 65.

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

Prins, A. J. (1982). Morphological and Biological. Notes on six South African blow-flies (Diptera: Calliphoridae) and their immature stages. Ann. S. Afr. Mus., 90(4): 201-217.

Pujol-Luz, J. and Barros-Cordeiro, K. (2012). Intra-puparial development of the females of *Chrysomya albiceps* (Wiedemann, 1819) (Diptera: Calliphoridae) Revista Braslleira deEntomologia., 56(3):269-272.

Queiroz , M. M.; Demello, R. P. and Lima, M. M. (1997). Morphological Aspects of the larval instar of *Chrysomya albiceps* (Diptera: Calliphoridae). Reared in Laboratory. Mem. Inst. Oswaldo. Cruz. Riode Janero, 92(2):187-196.

Queiroz, M. M.; Mello, R. P. and Freire, N. M. (1996). The effect of different proportions of males and females over the *Chrysomya albiceps* (Wiedemann, 1819) (Diptera: Calliphoridae) Biotic potential and Longevity under laboratory condition. Mem. Inst. Oswaldo Cruz., Rio de Janeiro, 91(2): 243 - 247.

Radhakrishnan, S.; Gopalan, A. K.; Ravindran, R.; Rajagopal, K.; Sooryadas, S. and Promod, K. (2012). First record of *Chrysomya albiceps* (Wiedemann, 1819) (Diptera: Calliphoridae) maggots from a sambar deer (*Rusa unicolor*) in Kerala, South India. J. Parasit. Dis., 36 (2): 280 – 282.

Reddy, G. V. P. and Manjunatha, M. (2000). Laboratory and field studies on the integrated pest management of *Helicoverpa armigera* (Hübner) in cotton, based on pheromone trap catch threshold level. J. Appl. Ent. 124: 213 – 221.

Regis, L.; Sinara, B.; Maria, A and Santo,V. (2000) . The use of bacterial larvicides in mosquito and black fly control programmers in Brazil. Mem. Inst. Oswoldo Cruz., Riodejaneiro, 95 (1): 207-210.

Reigada, C. and Godoy, W. A. (2005). Dispersal and predation behavior in larvae of *Chrysomya albiceps* and *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae). J. Insect Behav. 18 (4): 543- 555.

Ritchie, S.; Rapley, L. and Benjamin, S. (2010). *Bacillus thuringiensis* var *israelensis* (*Bti*) provides Reidual control of *Aedes aegypti* in small containers. Am. J. Trop. Med. Hyg., 82(6):1053-1059.

Robacker, D. C.; Martinez, A. J.; Garcia, J. A.; Diaz, M. and Romero, C. (1996). Toxicity of *Bacillus thuringiensis* to Mexican fruit fly (Diptera: Tephritidae). J. Econom. Entomol., 89(1): 104 – 110.

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

Robert, D.W. (1970). *Coelomomyces*, *Entomophthora*, *Beauveria* and *Metarhizium* as parasites of mosquitoes. Misc. Publ. Entom. Soc. Am., 7:140 – 155.

Romo – Martínez; Fernàndez – Ruvalcaba, M. ; Hernàndez – Velàzquez , V. M.; Peña – Chora, G.; Lina – García, L. P. and Osorio – Miranda, J. (2013). Evaluation of natural origin products for the control of *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* (Acari:Ixodidae) on cattle artificially infested . J. Agr. Sci. Rev., 2(3): 64 – 79.

Rosa, G. S.; Carvalho, L. R.; Reis, S. F. and Godoy, W. A. (2006). The dynamics of intrigued predation in *Chrysomya albiceps* Wied. (Diptera: Calliphoridae). Interactions between instars and species under different abundances of food. Neotrop Entomol., 35(6):775-780.

Rozendaal, J. A. (1997). Vector control, methods for use by individuals and communities, World Health Organization, Geneva: 412.

Russell, T.; Brown, M.; Purdie, D.; Ryan, P. and Kay, B. (2003). Efficacy of vectobac (*Bacillus thuringiensis* variety *israelensis*) formulations for Mosquito control in Australia. J Econom Entomol. 96(6):1786-1791.

Sabry, H. (2004). The use of some biological control agents against a myiasis producing fly. M.Sc. Thesis Faculty of Science. Zagazig University: 139 pp.

Sahayaraj, K.; Borgio, J. F. and Lucini, L. (2013). Route of infection and hematological effect of *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin on *Dysdercus cingulatus* (Fab.) adult. J. Basic Microbiol., 53: 1-12.

Sajap, A. S. and Kaur, K. (1990). Histopathology of *Metarhizium anisopliae*, an entomopathogenic fungus, Infection in the Termite, *Coptotermes curvignathus*, pertanika, 13(3): 331-334.

Saksamrit, J.; Montreesuksimikun, C.; Issaranon, T.; Atsawarat, S.; Jitjak, K.; Potikhun, P. and Piyaboon, O. (2008). The efficiency of the supernatant from *Metarhizium anisopliae* for eradicating the termite *Coptotermes curvignathus*. KMITL. Sci. J., 18 (2): 80 – 85.

Saleh, M. S.; EL- Meniawi, F. A.; Kelada, N. L. and Zahran, H. M. (2003). Resistance development in mosquito larvae *Culex pipiens* to bacterial agent *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*. J. Appl. Ent. 127: 29 – 32.

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

Sales, M. S. N.; Costa, G. L. and Elias, V. R. (2002). Isolation of Fungi in *Musca domestica* Linnaeus, 1758 (Diptera: Muscidae) Captured at two Natural Breeding Grounds in the Municipality of Seropedica, Rio de Janeiro, Brazil, Mem. Inst. Oswaldo Cruz., Rio de Janeiro, 97(8): 1107 – 1110.

Samuels, R. (1998). Systematic, morphology and physiology a sensitive bioassay for destruxin, cyclopsipeptides from the culture filtrates of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. Ann. Soc. Entomol. Brasil., 27(2): 229 – 235.

Sarjan, M. (1993). The susceptibility of sheep myiasis flies,other them *Lucilia cuprina* to *Bacillus thuringiensis*. M.Sc. Thesis. The University of Adeliade Faculty of Agriculturral and Natural Resource Sciences: 87 pp.

SAS (2012). Statistical Analysis System, User′s Guide. Statistical. Version 9.1th ed. SAS. Inst. Cary. N. C. USA.

Sathe, T. V.; Sathe, A and Sathe, N. A. (2013). Diversity of dipterous forensic insects from western Maharashtra, India. Int. J. Pharm. Bio. Sci. Apr., 4(2): 173-179.

Scholte, E. J.; Knols, B. G. J.; Samson, R. A. and Takken, W. (2004a). Entomopathogenic fungi for mosquito control: a review. J. Ins. Sci. 4(19): 1 – 24.

Scholte, E. J.; Knols, B. J. and Takken, W. (2004b). Autodissemination of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* amongst adult of malaria vector *Anopheles gambiae*. Malaria J., 3:45.

Scholte, E. J.; Njiru, B. N.; Smallegang, R. C.; Takken, W. and Knols, B. G. J. (2003). Infection of malaria (*Anopheles gambiae*) and filariasis (*Culex quinquefasciatus*) vector with the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. Malaria J., 2:29.

Schünemann, R.; Knaak, N. and Fiuza, L. M. (2014). Mode of action and specificity of *Bacillus thuringiensis* toxins in the control of caterpillars and Stink Bugs in Soybean culture. ISRN Microbiology. Hindawi Publishing Corporation. Article ID135675, 12 pp.

Sehgal, R.; Bhatti, H. S.; Bhasin, D. K.; Sood, A. K.; Nada, R.; Malla, N. and Singh, K. (2002). Intestinal Myiasis due to *Musca domestica*: A report of two cases. Jpn. J. Infect. Dis., 55: 191-193.

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

Shah, P. A. and Pell, J. K. (2003). Entomopathogenic fungi as biological control agents, Appl. Microb. Biotechnol., 61: 413-423 .

Shaheen, M. S. and Fathy, H. M. (2008). Surface ultrastructural changes on third instar larvae of *Chrysomya albiceps* (Diptera: Calliphoridae) induced by codeine phosphate. Mansoura J. Forensic Med. Clin. Toxicol., 16(1) : 61 – 72.

Sharififard, M.; Mossadegh, M. S.; Vazirianzadeh, B. and Mahmoudabadi, A. Z. (2011). Laboratory evaluation of pathogenicity of entomopathogenic fungi, *Beauveria bssiana* (Bals.) Vuill. and *Metarhizium anisopliae* (Metch.) Sorok. To larvae and adult of the house fly *Musca domestica* L. (Diptera:Muscidae). Asian J. Biol. Sci., 4(2): 128-137.

Silva, R. O.; Silve, H. H. G.; Ulhao, C. J. and Luz, C. (2005). Is there a relationship between N- acetyl – β-D- Glucosaminidase activity of *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorokin (Hyphomycetes) isolates from peridomestic areas in central Brazil and larvicidal effect of *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae). Blackwell, Berlin, J. Appl. Entomol., 129(3): 158-164.

Singh, J. and Sharma , B. R. (2008). Forensic entomology: A supplement to forensic death investigation. J. Pafmat., 8(1): 26-33.

Sloman, I. S. and Reynolds, S. E. (1993). Inhibition of ecdysteroid secretion from *Manduca* prothoracic gland in vitro by destruxins – cyclic depsipeptide toxins from the insect pathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*, Insect Biochem Molecul Biol. 23:43- 46.

Smith, R. J. and Grula, E. A. (1983). Chitinase is an inducible enzyme in *Beauveria bassiana*. J. Invertebr. Pathol., 42: 319 – 326 .

St. Leger, R. J. (1995). The role of cuticle – degrading protease in fungal pathogenesis of insects, Can. J. Bot., 73: 1119 –1125.

Strasser, H.; Vey, A. and Butt, T. M. (2000). Are any risk in using entomopathogenic fungi for pest control with particular reference to the bioactive metabolites of *Metarhizium*, *Tolypocladium* and *Beauveria* species, Biocontrol Sci. Technol., 10: 717 – 735.

Tangthirasunun, N.; Poeaim, S.; Soytong, K.; Sommartya, P. and Popoonsak, S. (2010). Variation in morphology and ribosomal DNA among isolates of *Metarhizium anisopliae* from Thaliland, J. Agr. Technol., 6(2): 317 – 329.

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

Tantawi, T. I.; El-Kady, E. M.; Greenberg, B. and El-Ghaffar, H. A. (1996). Arthropod succession on exposed rabbit carrion in Alexandria, Egypt. J. Med. Entomol., 33(4):566-580. (Abstract).

Tefera, T. and Pringle, K. L. (2003). Food consumption by *Chilo partellus* (Lepidoptera: Pyralidae) larvae infected with *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* and effects of feeding natural versus artificial diets on mortality and mycosis. J. Inverter. Pathol., 84: 220 – 225.

Thi Loc, N.; Bich Chi; V. T.; Nhan, N. T.; Thanh, N. D.; Be Honh, T. T. and Hung, P. Q. (2004). Biocontrol potential of *Metarhizum anisopliae* against coconut beetle *Brontispa longissima*. Omonrice. 12: 85-91.

Thomas, M. B. and Read, A. F. (2007). Fungal bio insecticide with a sting. Nat Bio Technol. 25 (12): 1367 – 1368.

Tulloch, M. (1976). The genus *Metarhizium anisopliae*. Trans. Br. Mycol. Soc., 66: 407 – 411.

Vanin, S.; Caenazzo, L.; Arseni, A.; Cecchetto, G.; Cattaneo, C. and Turchetto, M. (2009). Records of *Chrysomya albiceps* in Northern Italy: anecological and forensic perspective. Mem. Inst .Oswaldo Cruz., Rio de Janeiro., 104(4) :555-557.

Verves, Yu G. (2004). Records of *Chrysomya albiceps* in the Ukraine. Med. Vet. Entomol., 18 :308 - 310 . (Abstract).

Vidal-Quist, J. C.; Castañera, P. and González-Cabrera, J. (2010). Cyt1Aa protein from *Bacillus thuringiensis* (Berliner) serovar *israelensis* is active against the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata* (Wiedemann). Pest Manag. Sci., 66(9): 949 – 955.

Vyas, N.; Dua, K. K. and Prakash, S. (2006). Laboratory efficacy of metabolites of *Lagenidium giganteum* (Couch) on *Anopheles stephensi* (Liston) after filtrations by column chromatography. J. Commun. Dis., 38(2): 176 – 180.

Walters, F. S. and English, L. H. (1995). Toxicity of *Bacillus thuringiensis* δ – endotoxins toward the potato aphid in an artificial diet bioassay. Entomol. Exp. Appl., 77(2): 211 – 216.

Ward, M. P. (2001). Effectiveness of a synthetic lure to reduce blow fly strike incidence: preliminary observations. Vet parasitol. 97:77 – 82. cited by www.rspca.org.au.

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

Weinzierl, R.; Henn, T.; Koehler, P. and Tucker, C. (2005). Microbial insecticides. University of Florida. Institute of Food and Agricultural Science: 1-13 .

White, G. B. (2006). Filth flies: significance, surveillance and control in contingency operation, Technical Guide No.30. Published and Distributed by Armed forces pest management Board, Washington: 54p.

WHO, World Health Organization. (2009). *Bacillus thuringiensis israelensis* (*B.t.i*) in drinking-water. Background document for development of WHO Guide lines for Drinking-water Quality. Printed by the WHO document production services, Genera, Switzerland: 8p.

WHO (1975). Technical report services No. 561.

Wraight, S. P. and Ramos, M. E. (2005). Synergistic interaction between *Beauveria bassiana* and *Bacillus thuringiensis tenebriionis* based biopesticides applied against field population of Colorado potato beetle larvae. J. Invertebr. Pathol., 90: 139 – 150 .

Wright, C.; Brook, A. and Wall, R. (2004). Toxicity of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisoplia* (Deuteromyatina: Hyphomycetes) to adult females of the blowfly *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae), J. Pest Manag. Sci., 60(7): 639 - 644.

Xia, J.; Huang, Z. and Hu, Q. (2013). Histopathological study of *Plutella xylostella* infected by three entomopathogenic fungal species. J. Sci Res., 1(2): 15-19.

Youdeowei, A. and Service, M. W. (1995). Pest and Vector Management in the Tropics, Longma Nigeria. 399 pp. cited in Ihemanma , C. A.; Etusim, P. E.; Kalu, M. K.; Adindu, R. U. and Iruoha, G. (2013). Diptera: the order of great public health nuisance. Glo. Adv. Res. J. Environ. Sci. Toxicol., 2 (5): 135-143.

Zavala, L. E.; Pardo-Lopez, L.; Canton, P. C.; Gomez, I.; Soberon, M. and Alejandra, B. (2011). Domains π and π of *Bacillus thuringiensis* Cry1Ab Toxin Remain Exposed to the solvent after insertion of part of Domain 1 into the membrane. J. Bio. Chem., 286(21):19109-19117.

Zimmer, C. R.; Càrcamo, M. C.; Ribeiro, P. B. and Nascimento, J. S. (2010). Action of *Metarhizium anisopliae* fungi over the development of

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

Muscina stabulans dipteran laboratory. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 5(62): 1142 – 1147.

Zimmermann, G. (1993). The entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* and its potential as a biocontrol agent. Pestic. Sci., 37: 375 – 379.

Zimmermann, G. (2007). Review on safety of the entomopathogenic fungus, *Metarhizium anisopliae*. Biocontrol Sci. Technol., 17: 879 – 920.

Zumpt, F. (1965). Myiasis in man and animals in the old world. London Butter Worth: 267 pp.

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

Summary

The work involved studying effects of serial concentrations of *Metarhizium anisopliae* on the life stages of blow fly *Chrysomya albiceps* (Wiedemann,1819) (larvae, pupae, adults) were conducted under laboratory conditions.

The results showed that all insects stages were sensitive to the fungus. Treating of larval food and direct spraying larvae by the concentrations 2.8×10^{6}, 2.8×10^{7}, 2.8×10^{8} conidia/ml led to increasing accumulated mortalities percentages depending on the concentration and time. Various malformations were depected.

Examination of some serial histopathological sections for some dead infected larvae under compound microscope showed adhesion of fungal conidia on insects body wall and fungal hyphae invated insects internal muscles and hemocoel.

Treating of blow fly pupae by direct spraying with fungal suspension concentration mentioned above led to mortalities about 13.33, 26.67, 33.33 % respectively so that adult emergency percentages were about 86.67 – 66.67% while in the control treatment was 96.67%.

Adult stage showed high sensitivity when they were directly sprayed with the above concentrations which led to mortalities of about 46.67, 56.67, 70% respectively after a week of treatment.

The study also conducted to evaluate serial concentrations of commercial formulation suspension (Antrol) of *Bacillus thuringiensis israelensis*. As a microbial control agent against *Chrysomya albiceps* (blow fly) larvae and adults under laboratory conditions. The results revealed that percentages of accumulated mortalities of second instar larvae were 30 - 63.33% for the doses 100 – 2000 ppm respectively , Mortalities rate increased with increased of time, treating larval food with 1000 ppm of

www.manaraa.com

bacterial suspension caused mortality rate reached 30% after two days, later reached 72.96% after 12 days. The bio assays results of treating adults food showed that mortalities percentage were 33.33– 73.33 when their food was treated by 100 – 2000 ppm of bacterial suspension. The results indicated that *B thuringiensis* has a potential to be a bio control agent for *Ch. albiceps*.

Results of treatment of food of larvae by combination of mixed concentrations of fungal suspension (2.8×10^6 or 2.8×10^7 conidia / ml) and bacterial suspension (100 or 200 ppm) and direct spraying the larvae with fungal suspension led to high and rapid mortalities more than using fungus or bacterial suspension alone .

Treatment of the second instar larvae with the combination A(100 ppm + 2.8×10^6 conidia / ml , bacterium + fungus respectively) led to accumulated mortality percentage about 30 % after one day of treatment , this percentage raised up to 66.67 % . Combination B which was consists of concentration (200 ppm + 2.8×10^6 conidia / ml bacterium + fungal suspension respectively) caused larval mortality percentage about 86.67 % and the adult percentage emergency was 13.33 % , while in control treatment was 96.67 % . The combinations of fungal and bacterial suspension have a synergistic effect as indicated by the results .

www.manaraa.com

University of Baghdad
College of Education for Pure Science
(Ibn Al-Haitham)
Department of Biology

Biological Control of some stages of *Chrysomya albiceps* (Wiedemann, 1819) (Diptera:Calliphoridae) Using *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin and *Bacillus thuringiensis* Berliner Under Laboratory Conditions

A thesis

Submitted to the College of Education for Pure Sciences / Ibn Al-Haitham of the University of Baghdad in Partial Fulfillment of the Requirement for the Degree of

Master of Science

In

Biology / Zoology/ Entomology

By

Zahraa Saad Noshee

B.Sc., University of Baghdad, 2010

Supervised By

Assit. prof. Dr. Nawal Sadiq Mehdi

1436 A.H. 2015 A.C.

www.manaraa.com