Journal of Education and Science (ISSN 1812-125X), Vol: 30, No: 3, 2021 (209-224)
Special Issue for Proceeding of 3rd National (1st international conference of biology) (ICBSUM 2021) 5, 6 July
College of Education for Pure Science, University of Mosul, Mosul, Iraq.

The larvicidal and non larvicidal histological effect of some aromatic plants on mosquito larvae *Culex pipiens molestus* (Diptera: Culicidae)

Muhammad J. Muhammad*[1] Atallah F. Mekhlif[2]

[1*] Directorate for Education Affairs, Ministry of Education, Mosul, Iraq
[2] Department of Biology, College of Education for Pure Science, Mosul University, Mosul, Iraq

E-mail: [1*]mohammed.esp44@student.uomosul.edu.iq, [2]Prof.atalla@uomosul.edu.iq

(Received May 22, 2021; Accepted June 27, 2021; Available online August 28, 2021)

DOI: 10.33899/edusj.2021.168649, © 2021, College of Education for Pure Science, University of Mosul.
This is an open access article under the CC BY 4.0 license (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

Abstract

This study included laboratory ovulation of the effect of alcoholic(ethanol) extract of *Teucrium polium*, *Peganum harmala*,*Thymus vulgaris* and *Physalis angulata*. It was values LC_{50} (102.5,101.0,78.0 and 53.0 ppm) and LC_{90}(130.0,128.0,136.0 and 80.0 ppm) for *Teucrium polium*,*Peganum harmala*,*Thymus vulgaris* and *Physalis angulata* respectively at 24 hrs. of exposure time. It was found that extract the *Physalis angulata* were more effective as larvicides at 24 hrs. exposure time with LC_{50}: 53.0 ppm for On the other side, the LC_{90} for the previous plants at the same exposure time were 80.0 pmm. Also, the sub-larvicidal effect of the studed plant extracts at LC_{25} had been illustrated through histopathological effect on midgut. These effects were respectively by alimentary tract curling as body reflex, separation of epithelial columnar cell layer and separation of external muscular mucosa. Erosion of the Peritrophic membrane causing microvilli disappearing.

Keywords: *Culex pipiens*, extract plant, Peganum harmala, histopathological

التأثير القاتل والنسيجي غير القاتل لبعض النباتات الأروماتية ليرقات البعوضة *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) *molestus*

محمد جاسم محمد[1*] ,عطا الله فهد مخلف[2]

[1*]مديرية تربية نينوى، وزارة التربية، العراق، نينوى
[2] قسم علوم الحياة، كلية التربية للعلوم الصرفة، جامعة الموصل، العراق، الموصل

الخلاصة

تم إجراء دراسة مختبرية لتقييم تأثير المستخلص الكحولي(الإيثانولي) لأربعة من النباتات في مكافحة يرقات البعوض *Culex pipiens molestus*، إذ كانت قيمLC_{50} (102.5 و101.0 و78.0 و53.0 ج ف م) بينما كانت قيم LC_{90}(130.0 و128 و 136.0

Downloaded from https://edusj.mosuljournals.com/

و80.0 ج ف م) لكل من الجعدة والبذور الناضجة للحرمل الزعتر البري والحرنكش بعد التعريض لمدة 24 ساعة وقد وجدت الدراسة الحالية أن مستخلص الأوراق الكأسية لثمار الحرنكش كان الأكثر فعالية، إذ كانت قيمة LC_{50} 53.0 ج ف م بعد التعريض لمدة 24 ساعة بينما كانت قيمة LC_{90} 80.0 ج ف م ولمدة التعريض أعلاه. وعند استعمال التركيز غير القاتل (LC_{25}) ظهرت تأثيرات نسيجية–مرضية في منطقة المعي المتوسط ليرقات العمر الثالث للبعوضة*Culex pipiens molestus*، إذ انفصلت الخلايا العمودية للطبقة الطلائية وكذلك الطبقة العضلية الخارجية وتمزق الغلاف حول الغذاء Peritrophic membrane مما سبب ضمور الزغابات الدقيقة Microvilli.

الكلمات المفتاحية: مستخلصات نباتية، بعوض الكيولكس، نبات الحرمل، تأثيرات نسيجية

1.المقدمة

يعد البعوض *Culex pipiens molestus* من الأنواع المنتشرة في العراق، فهو نوع مرتبط تواجده مع الانسان، إذ ينتشر في مراكز المدن والأرياف وفي مجاري المياه وحتى في الكهوف والسراديب [1]. ينقل البعوض الكثير من الأمراض للإنسان مثل داء الفيلاريا Filariasis والملاريا Malaria وحمى زيكا Zeka وغيرها[2]. ويعد البعوض من اهم المشاكل الصحية الرئيسية والمعقدة، وربما يعد الأسوأ من بين الحشرات الطبية [3] .وحسب منظمة الصحة العالمية فإن البعوض هو العدو الأول للإنسان إذ انه ينقل الامراض لأكثر من700,000,000شخص سنوياً في اكثر من 100 دولة حول العالم [4]. لقد حضي البعوض باهتمام كبير ومستمر من قبل الباحثين وبالأخص من جانب المقاومة، إذ أن المقاومة الكيماوية هي الأكثر انتشاراً فقد تم استخدام المبيد التركيبي DDT ومبيد الفسفور العضوي وقد ساهمت هذه المبيدات في الحد من تأثيرات البعوض في مناطق عديدة من العالم، وتجنباً لمشاكل المبيدات التركيبية فقد اوصت منظمة الصحة العالمية (WHO) باستخدام المبيدات النباتية Phytochemicals والتي تمتاز بأن لها قابلية على التحلل بصورة سريعة في البيئة، وكذلك عدم تأثيرها على الاحياء غير المستهدفة إضافة الى تكاليفها المادية القليلة [5]. وتوجهت الأنظار الى النباتات بإعتبارها مصدر للكثير من المركبات الكيميائية كالتربينات والقلويدات والفينولات [6]. وحالياً فان المبيدات ذات الأصل النباتي لها الدور الأول في مكافحة البعوض لما تمتلكه من فعالية عالية، إضافة الى كونها آمنة بيئياً وصحياً [7]. يعد الحرمل *Peganum harmala*(العائلة الغرقدية Nitrariaceae) من النباتات المعمرة العشبية، وينتشر في شمال افريقيا وغرب آسيا وجنوب شرق اوربا[8]. وينتشر في وسط وشمال العراق، وتمتلك بذور الحرمل سمية عالية ضد الكثير من الممرضات النباتية والحيوانية لامتلاكها الكثير من المركبات الفعالة وخاصة القلويدات و التربينات [9]. وبالنسبة لنبات الزعتر*Thymus vulgaris*(العائلة الشفوية Lamiaceae) فهو نبات معمر الى شجيري ينمو برياً، وينتشر في مختلف مناطق العالم[10]. ويمتلك الزعتر مركبات فعالة مهمة مثل الثايمول والكارفكول مما جعله مضاداً للكثير ممن الفطريات والفايروسات والطفيليات[11]. أما الجعدة *Teucrium polium*(العائلة الشفوية Lamiaceae) فهي نبتة عشبية معمرة، وتنتشر في مناطق مختلفة من العالم كما في حوض البحر الأبيض المتوسط والعراق والسعودية وايران، إذ يضم جنس الجعدة اكثر من 300 نوعاً [12]. تمتلك نبتة الجعدة العديد من المركبات الفعالة ومن اهما القلويدات والتربينات[13]. وأما نبات الحرنكش *Physalis angulata* (العائلة البإذنجانية Solanaceae) فهو وافد على الفلورا العراقية إذ أن موطنه الأصلي هو أمريكا الجنوبية والمكسيك، إذ ينتشر في المناطق الاستوائية[14]. ويمتلك الحرنكش على العديد من المركبات الثانوية الفعالة ومنها الفينولات والتربينات والزيوت الأساس[15].

وإن الهدف من هذا البحث هو ايجاد بدائل للمبيدات التركيبية تكون اكثر فعالية ضد النواقل الحشرية وأكثر أمناً للنظام البيئي.

Downloaded from https://edusj.mosuljournals.com/

2. المواد وطرائق البحث

2-1:جمع وتربية الحشرات

تم جمع يرقات وعذارى البعوض *Culex pipens molestus* من منطقة جسر السويس في الجانب الايسر لمدينة الموصل وخلال شهري تشرين الاول وتشرين الثاني عام 2020 م، ونقلت الى مختبر الحشرات في الوحدة البحثية العائدة لقسم علوم الحياة / كلية التربية للعلوم الصرفة–جامعة الموصل . وقد تم تشخيص البعوضة *Culex pipens molestus*في المختبر عن طريق تشخيص اليرقات والتي سبق تشخيصها في متحف التأريخ الطبيعي/جامعة بغداد وحسب كتابها المرقم 267 في 2013/10/8. نُقلت الأطوار غير البالغة (يرقات وعذارى) داخل أواني بلاستيكية سعة 2000 مل تحوي على 1000 مل ماء حنفية متروك لمدة ثلاثة ايام ووضعت الأواني في غرفة تربية الحشرات وتحت ظروف مختبرية درجة حرارة 2±27 م° ورطوبة نسبية 70–80 % وإضاءة إلى ظلام 10:14ساعات [16]. استخدم في غذاء اليرقات البسكويت إذ غذيت اليرقات بإضافة 1 غم يومياً ولتلافي حصول التعفن في ماء التربية يتم استبداله كل ثلاثة أو أربعة أيام، وكذلك تم إزالة قشور الانسلاخ (محمود وآخرون، 2011). لغرض الحصول على البالغات، تم نقل العذارى الى وعاء بلاستيكي سعة 500 مل فيه ماء حنفية متروك لمدة ثلاثة أيام، وضع الوعاء بداخل قفص التربية أبعاده 2×1×1م، قاعدتها من الخشب والأوجه الأربعة من المشبك المعدني والوجه الأخير مغطى بقماش التول ذو فتحات صغيرة لا تسمح بخروج الحشرات، غُذيت الإناث والذكور البازغة حديثاً بوضع العنب بعد تقطيعه ثم وضعه في طبق بتري داخل القفص، وكذلك محلول سكري 10% إن هذه التغذية مهمة لحصول الحشرات على الطاقة للطيران والنشاطات الحياتية كالتزاوج، ولغرض الحصول على البيوض تم تغذية الإناث على دم حمامة، إذ وضعت حمامة منزوعة ريش الصدر والجناحين ومعزولة بقطعة خشبية مع ترك مساحة مفتوحة لغرض دخول البعوض الى الجزء الخاص بالحمامة وحسب طريقة[17].

2-2:جمع النباتات الخاصة بالدراسة

تم جمع النباتات (الحرمل *Peganum harmala* والجعدة *Teucrium polium* والزعتر *Thymus vulgaris* و الحرنكش *physalis angugata*من قضاء تلعفر على بعد 70كم شمال غرب الموصل(36 ° 22′35 N 43 ° 08′32 ″ E) في شهر ايار 2020.

2-1: تحضير المستخلصات الكحولية للنباتات

نُظفت الأجزاء النباتية المستخدمة في الدراسة من الأتربة ثم جُففت في الظل وسُحقت باليد جيداً، بعدها طُحنت بوساطة الهاون، ثم تم طحنها بمطحنة كهربائية وبالتالي تم الحصول_على مسحوق ناعم وحسب طريقة [18]. وتم وزن 25 غم من النباتات المطحونة الخمسة كل على حدا ووضعت داخل دوارق مخروطية سعتها500 مل، ثم أُضيف إليها 200 مل من كحول الإيثانول المطلق وبعد الرج جيداً حُفظت الدوارق مغلقة الفوهة داخل الثلاجة لغرض نقعها، ثم وضعت الدوارق على الخلاط المغناطيسي Magnetic stirrer لمدة تتراوح بين 24–48 ساعة، وترك بعدها المزيج لمدة 24 ساعة، وفي اليوم التالي وضع المزيج ثانيةً على الخلاط ليستقر داخل ثلاجة لمدة ثلاث ساعات أخرى، رُشح المزيج مرتين الأولى وقد استخدمت أوراق الترشيح من النوع Wattman رقم 1 بوساطة قمع بوخنر Buckhner تحت التفريغ وذلك باستعمال مضخة التفريغ الكهربائية نوع Pfelffer. تم تكرار عملية الترشيح عدة مرات، ثم جُمع الراشح وفصل المذيب بواسطة المبخر الدوار Rotery evaporator نوع Rotauapor–re عند درجة حرارة لم تتجاوز 45 م°، وضع بعدها الراشح المركز في

Downloaded from https://edusj.mosuljournals.com/

أطباق بتري لكي يجف بدرجة حرارة الغرفة طيلة الليل في المختبر لإتمام عملية إزالة المذيب تماماً، تم وزن المادة الجافة ووضعت في عبوات زجاجية محكمة الغلق وحُفظت في الثلاجة تحت درجة حرارة 20- م° [19].

2-3:احتساب تراكيز المستخلصات النباتية

تم وزن 0.1غم من المادة الجافة، ثم إذابتها في (10-5) مل من كحول الإثيانول المطلق ثم رجت باليد جيداً لغرض الحصـــول على محلول متجانس ثم أُكمل الحجم الى (100) مل بالماء المقطر، وبذلك نحصل على المحلول الاساس (Stock solution) تركيزه 1000 ج ف م، ومنه تم تحضـير التراكيز المسـتخدمة في الدراسـة وحسـب المعادلة : ح$_1$×ت$_1$=ح$_2$×ت$_2$ إذ أن: ح$_1$= حجم المسـتخلص، ت$_1$= تركيز المستخلص، ح$_2$= حجم المستخلص، ت$_1$= تركيز المستخلص.

2-4:معاملة اليرقات بالمستخلصات النباتية

تم اختيار العمر الرابع من الطور اليرقي، وتم معاملة اليرقات بالمستخلصات النباتية كما جاء في بروتوكول منظمة الصحة العالمية [20] مع القيام ببعض التعديلات. تم اختيار اربعة تراكيز لكل مســـتخلص نباتي وهي (75،100، 125،150) ج م ف للنباتات (الحرمل الناضـج ، الجعدة، الزعتر) وأما بالنسبة لنبات الحرنكش فقد تم استخدام التراكيز التالية (60،75،90،100) ج ف م، وتم اجراء التجارب في أكواب بلاستيكية سعتها 250 مل، وضع فيها 200 ماء حنفية، وتم اجراء التجارب بثلاثة مكررات لكل تركيز إضافةً الى المجموعة السيطرة، وقد تم استخدام 25 يرقة لكل مكرر، وتم فحص اليرقات بعد 24 و48 ساعة من التعريض وذلك لتقدير تأثير المستخلصات، إذ تم عد اليرقات الميتة.

2-5:التأثيرات النسيجة للمستخلصات النباتية في يرقات العمر الثالث *C.Pipiens.molestus*

بعد معاملة يرقات العمر الثالث للبعوض لمدة خمسة ايام بالمستخلصات النباتية تم تثبيت النمإذج في محلول بوين الكحولي والذي تم تحضيره كما جاء في طريقة [21]

(كحول الايثانول 80 % 150 ml + فورمالين 60 ml + حامض البكريك 10 ml)

2-6:التحضيرات النسيجية: -

1-الانكاز Dehydration

من اجل نزع الماء تم وضع النمإذج في كحول 96% ولمدة ساعتين، ثم نقلت الى كحول الايثانول المطلق100% ولمدة ساعتين ايضاً[22].

2-الترويق Clearing

تم وضـع النمإذج في محلول مكون من بنزويت مثيل والبنزول وبحجمين متسـاويين ولمدة سـاعة ثم وضـعت النمإذج في البنزول لمدة خمس دقائق لإكمال عملية الترويق [22].

3-التشريب والطمر Infiltration and Embedding

لأجل تشرب النمإذج تم وضعها في الشمع الذائب، ثم وضعت في خليط مكون من حجمين متساويين من الشمع الذائب والبنزول ولمدة 12 ساعة ، وبعدها نقلت النمإذج الى الشمع لاكمال عملية التشريب وتم وضـعها داخل الفرن الكهربائي لمدة 24 ساعة وتحت درجة حرارة 35 م° وبعدها بدأت عملية الطمر إذ تم صب الشمع في القوالب الحديدية تم تصميمها لهذا الغرض [24].

Downloaded from https://edusj.mosuljournals.com/

4-التشذيب والتقطيع والتحميل Tremining, Sectioning and Mounting

تم تشذيب النمإذج بواسطة آلة حادة ،وتم تثبيت القوالب المشذبة التي تحتوي على النمإذج بواسطة الشمع الذائب على قطع من الخشب مستطيلة الشكل مصممة لهذا الغرض ،ثم ثبتت بواسطة ماسك حديدي في جهاز التقطيع الدوار لغرض التقطيع الدقيق، وقد استخدم سمك المقاطع مايكرومتر، وبعد الحصول على شريط شمعي حاوٍ على المقاطع تم تحميل المقاطع على شرائح زجاجية نظيفة ثم اضيف اليها قطرات من خليط الالبومين المخفف والكليسيرول من اجل التصاق المقاطع على الشرائح ،بعدها تم وضع الشرائح على صفيحة ساخنة Hotplate نوع Medex عند درجة حرارة 30 م° ولمدة 5 دقائق من اجل انبساط الشمع والنمإذج وتثبيتها جيداً قبل صبغها [25].

5- صبغ العينات Staining

تم صبغ الشرائح باستعمال صبغتي eosin و Mayer hematoxylin ثم حملت في مادة DPX وبعدها تم تغطيت النمإذج بغطاء الشريحة cover slaides، وتم فحص النمإذج بالمجهر الكهربائي وتم تصوير المقاطع بواسطة كاميرا خاصة مثبتة على المجهر[26].

2-7:التحليل الاحصائي للنتائج

تم تقدير قيم التراكيز القاتلة LC_{10} وLC_{25} وLC_{50} وLC_{90} باستعمال خطوط السمية probite lines وكما في طريقة [27]. وتم تحليل البيانات وفق نظام التجارب البسيطة وبالتصميم العشوائي الكامل وباستخدام اختبار دنكن Duncan's test المتعدد المدى، إذ تم التمييز بين المعاملات المختلفة معنوياً بأحرف هجائية مختلفة عند مستوى احتمال 1% [28].

3.النتائج

3-1:التأثير القاتل للمستخلصات النباتية

الجدول1: يظهر التراكيز القاتلة وقيم LC_{50} و LC_{90} للمستخلصات النباتية ضد يرقات العمر الرابع للبعوض *Culex pipiens molestus*

المستخلصات النباتية	التركيز ج ف م	مدة التعريض(ساعة)		LC_{50}		LC_{90}	
		24	48	24	48	24	48
الحرمل *Peganum harmala*	150	25.0± 0.0a (100)	25.0± 0.0a (100)	101	128	88.0	123.0
	125	18.0±1.0bc (72.0)	18.7±1.5b (74.8)				
	100	11.7±0.7d (46.8)	15.0±1.0c (60.0)				
	75	7.3±2.1e (29.2)	11.3±2.1d (45.2)				
		0.0±0.0f	0.0±0.0 f				

Downloaded from https://edusj.mosuljournals.com/

				25.0± 0.0a (100)	25.0± 0.0a (100)	150
				19.7±0.6b (74.8)	17.7±0.6bc (70.8)	125
124.0	80.0	130.0	102.5	16.3±0.6cd (65.2)	13.3±1.5de (53.2)	100
				13.3±1.5d (53.2)	8.3±2.5e (33.2)	75
				0.0±0.0 f	0.0±0.0f	السيطرة
				25.0± 0.0a (100)	25.0± 0.0a (100)	150
				23.7±0.6a (93.8)	21.0±1.0b (84.0)	125
120.0	52.0	136.0	78.0	18.0±2.0c (72.0)	13.7±1.5d (54.8)	100
				12.3±2.5d (49.2)	5.0±1.0ef (20.0)	75
				0.0±0.0 f	0.0±0.0f	السيطرة
				25.0± 0.0a (100)	25.0± 0.0a (100)	100
				22.7±0.6a (90.8)	20.3±0.6c (81.2)	90
73.0	45.0	80.0	53.0	19.0±1.0c (76.0)	16.3±0.6d (65.2)	75
				15.3±1.5d (49.2)	9.7±0.6f (20.0)	60
				0.0±0.0h	0.0±0.0h	السيطرة

الجعدة *Teucrium polium*	
الزعتر البري *Thymus vulgaris*	
الحرنكش *Physalis angulata*	

*تشير الحروف الهجائية المختلفة افقياً وعمودياً الى وجود فروقٍ معنوية عند الاحتمالية P≤1
* الأرقام بين الاقواس تمثل نسبة القتل Mortality
*عدد اليرقات المعاملة 25

من خلال الجدول رقم (1) يظهر أن المستخلص الإيثانولي للبذور الناضجة ripe seeds لنبات الحرمل *Peganum harmala* L. ضد يرقات العمر الرابع للبعوض*Culex pipiens molestus*، إذ كانت نسبة القتل 100% عند التركيز 150 ج ف م بينما كانت اوطأ نسبة للقتل 29.2% عند التركيز 75 ج ف م وبعد 24 ساعة من التعريض. وقد انخفضت نسبة القتل بتقليل التركيز إذ بلغت 72 و46.8% للتركيزين 125و 100 ج ف م على التوالي. ويظهر من خلال الجدول أن نسبة القتل تزداد بزيادة مدة التعريض الى 48 ساعة، وقد أظهرت نتائج التحليل الاحصائي وجود فروقٍ معنوية بين التركيزين 100 و 75 ج ف م اما التراكيز الباقية فلا يوجد فروق معنوية مقارنة مع السيطرة وخلال فترتي التعريض 24 و48 ساعة. تبين نتائج الجدول رقم (1) إن تأثير المستخلص الإيثانولي للأجزاء الهوائية للجعدة *Teucirum Polium* ضد يرقات العمر الرابع للبعوض*Culex pipiens molestus* ، ظهر واضحاً إذ كانت اعلى نسبة قتل 100% عند التركيز 150ج ف م ولمدة 24 ساعة من التعريض، بينما كانت اقل نسبة قتل 33.2% عند التركيز 75 ج ف م ولمدة 24 ساعة من التعريض. وقد اظهرت النتائج أن نسبة القتل تتناسب طردياً مع مدة التعريض، فقد ارتفعت النسبة من 70.8 الى 78.8% ومن 53.2

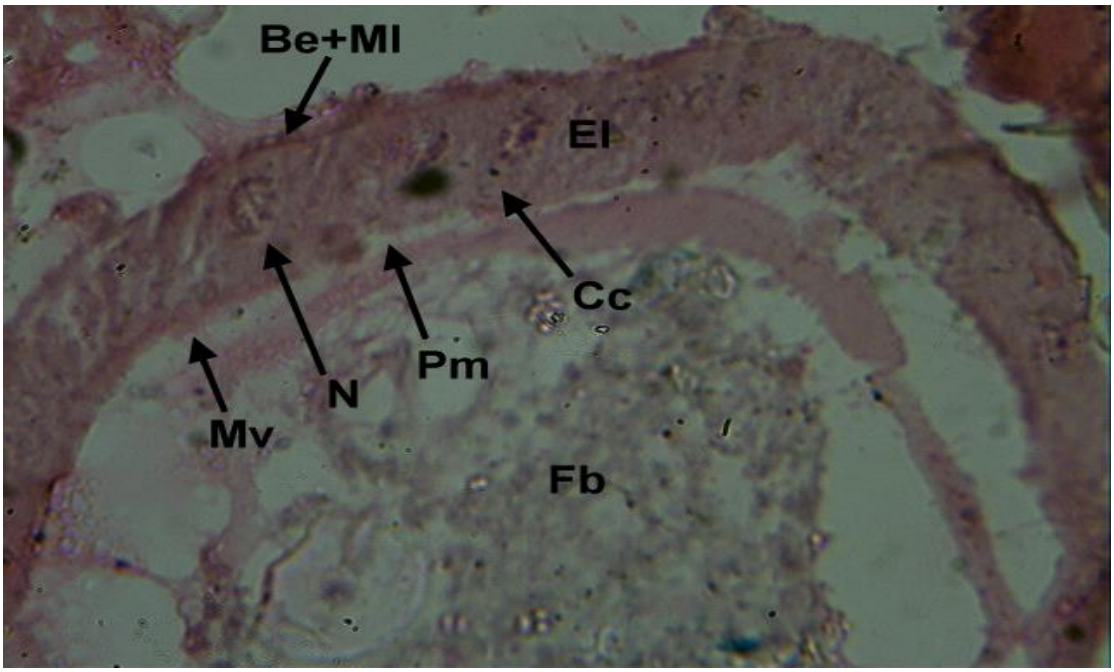
Downloaded from https://edusj.mosuljournals.com/

الى 65.2% للتركيزين 125 و100 ج ف م على التوالي عند زيادة مدة التعريض الى 48 ساعة. واظهرت نتائج التداخلات الاحصائية وجود فروقاً معنوية واضحة بين تأثير التراكيز المستخدمة في الدراسة (150،125،100،75) ج ف م بالمقارنة مع السيطرة، إذ ظهرت الفروق واضحة وحتى للتركيز نفسه خلال فترتي التعريض24 و48 ساعة. توضح التحليلات الاحصائية في الجدول رقم (1) تأثير المستخلص لأوراق الزعتر البري *Thymus vulgaris* في يرقات العمر الرابع للبعوض *Culex pipiens molestus*، إذ سبب التركيز 150 ج ف م اعلى نسبة قتل بلغت 100% ولمدة 24 ساعة تعريض، في حين كانت أوطأ نسبة للقتل 20% للتركيز 75 ج ف م بعد 24 ساعة من التعريض، بينما سبب التركيزين 125و100 ج ف م نسب قتل بلغت 84 و54.8% على التوالي وبعد التعريض لمدة 24 ساعة. كما بينت نتائج التداخلات الاحصائية وجود فروقٍ معنوية لجميع التراكيز اعلاه بالمقارنة مع السيطرة، وعند مضاعفة مدة التعريض الى 48 ساعة ارتفعت نسب القتل لجميع التراكيز المستخدمة في الدراسة إذ سببت التراكيز125و 100و 75 ج ف م زيادة في نسب القتل بلغت 9 و18و28% على التتالي، وعند مقارنة نتائج التحليل الاحصائي بين فترتي التعريض 24 و48 ساعة ظهر وجود فروقٍ معنوية عند جميع التراكيز المستخدمة في الدراسة. ومن خلال الجدول رقم (1) يظهر التأثير السمي القاتل للمستخلص الإيثانولي للأوراق الكأسية لثمار الحرنكش *Physalis angulata* في يرقات العمر الرابع للبعوض *Culex pipiens molestus*. خلال مدة التعريض 24 ساعة إذ سبب المستخلص الإيثانولي للأوراق الكأسية لثمار الحرنكش *P. angulata* نسبة قتل بلغت 100% للتركيز 100 ج ف م، بينما سبب التركيز 60 ج ف م اقل نسبة قتل بلغت 38.8%، وبين الجدول أن نسب القتل للتركيزين 90 و75 ج ف م تناقصت مع نقصان التركيز إذ بلغت نسب القتل 81.2 و65.2 % للتركيزين اعلاه على التوالي. عند مضاعفة فترة التعريض الى 48 ساعة ارتفعت نسب القتل للتراكيز 90 و60 و75 ج ف م إذ سجلت نسب قتل بلغت 90.8 و76و61.2% وعلى التتالي، ومن خلال المقارنة بين نتائج التحليل الاحصائي لفترتي التعريض 24 و48 ساعة تبين وجود فروقٍ معنوية بين التراكيز المستخدمة في الدراسة وحتى بين نفس التركيز خلال فترتي التعريض اعلاه.

3-2:التأثيرات النسيجية في المعي المتوسط Midgut

يظهر في المقطع العرضي للمعي المتوسط بدءاً من الداخل طبقة طلائية واحدة ومستندة على الغلاف القاعدي Basement envelope ، واسطحها الحرة بمواجهة الغلاف حول الغذاء Peritrophic membrane، وتكون مكسوة بالزغابات الدقيقة Microvilli، ويستند الغلاف القاعدي على طبقة مصلبة من النسيج الرابط وعضلات دائرية ويليها الهيمولف، تكون خلايا المعي المتوسط عمودية وذات نوى كروية والسايتوبلازم قاعدي وكما في الصورة رقم (1)، توضح المقارنة بين الصورتين 1 و2 تأثير مستخلص بذور الحرمل الناضج في فسلجة وعمل المعي المتوسط قوة تكبير10x. إذ تبدأ الخلايا العمودية للطبقة الطلائية بالانفصال عن بعضها وفك الروابط للنسيج الطلائي الدسموسومية Desmosome junctions، وكما في (الصورة 2)، ثم يبدأ تآكل Emrsion أجزاء من الخلايا الطلائية كما في (الصورة 3).

Downloaded from https://edusj.mosuljournals.com/



الصورة (1) مقطع عرضي لمنطقة المعي المتوسط ليرقة غير معاملة

Mv= الزغابات الدقيقة(Microvilli)

N= النواة (Nucleus)

Pm= الغلاف حول الغذاء(Peritrophic membrane)

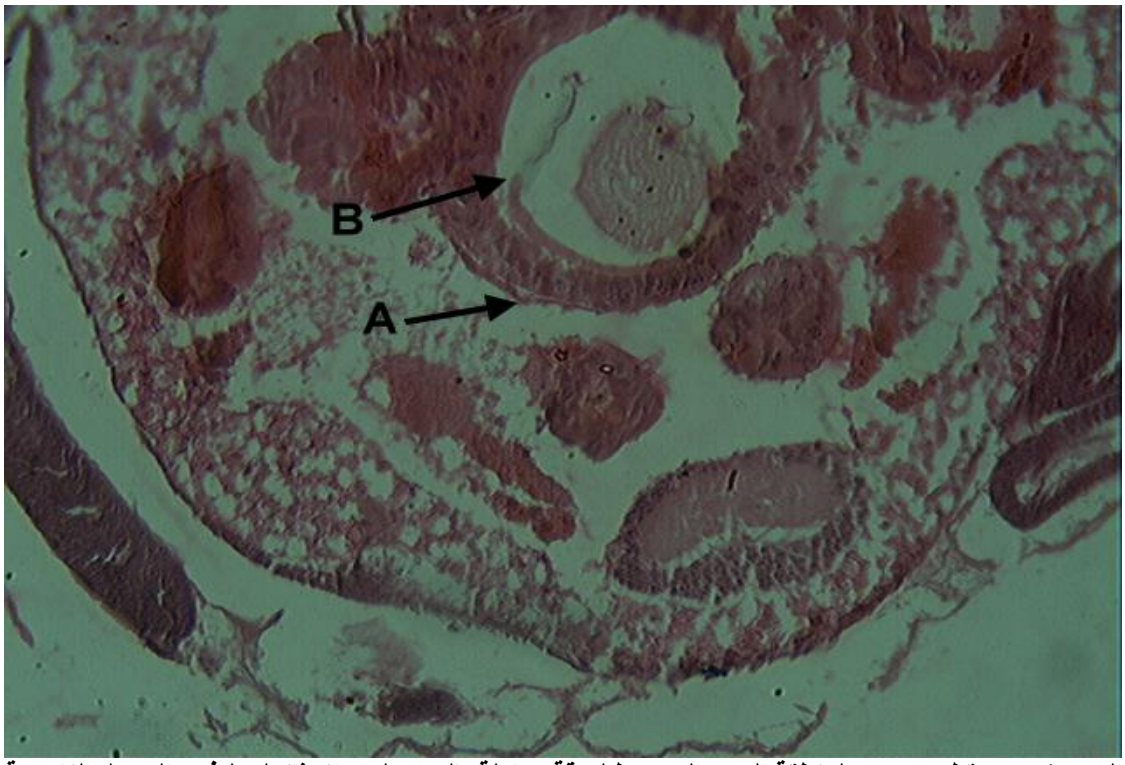
Cc=الخلايا العمودية (Colmunar cell)

El= الطبقة الطلائية (Epethelium layer)

Fb=كرة الغذاء(Food bouls)

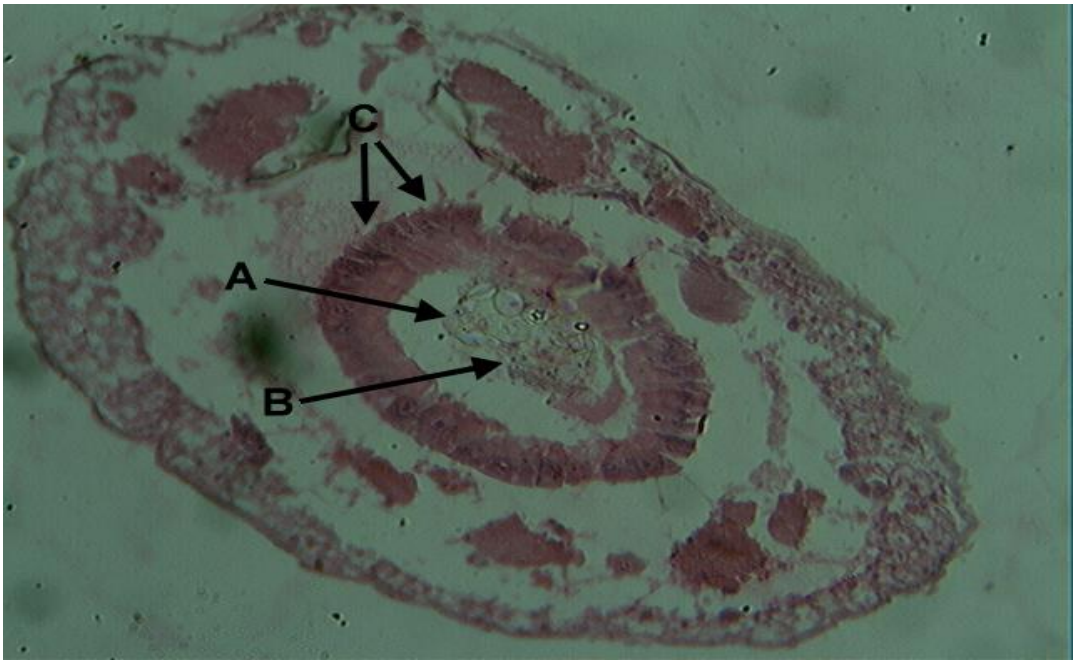
Be+Ml=الغلاف القاعدي+الطبقة العضلية (Basement envelope+ muscular layer)

Downloaded from https://edusj.mosuljournals.com/



الصورة (2) مقطع عرضي لمنطقة المعي المتوسط ليرقة معاملة بالمستخلص الإيثانولي لبذور الحرمل الناضجة

A=انفصال النسيج الرابط B=انفصال الطبقة العضلية



الصورة(3) مقطع عرضي لمنطقة المعي المتوسط ليرقة معاملة بالمستخلص الإيثانولي لبذور الحرمل الناضجة
A=كرة الغذاء B= اختفاء الغلاف خول الغذاء C= بدء تفكك خلايا الطبقة العضلية

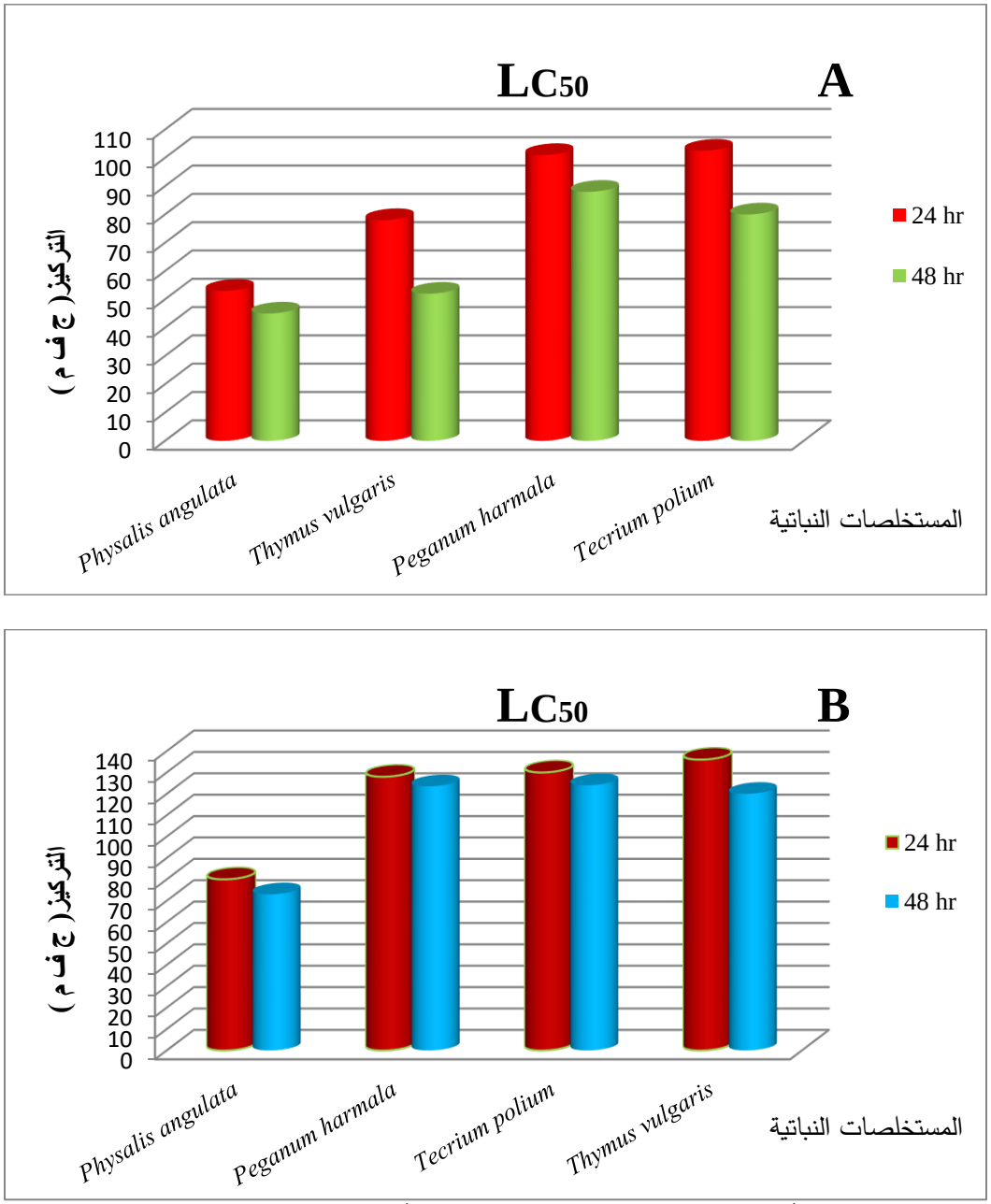
Downloaded from https://edusj.mosuljournals.com/

4.المناقشة

4-1:التأثير القاتل للمستخلصات النباتية

سبب مستخلص البذور الناضجة للحرمل ضد يرقات العمر الرابع للبعوض *Culex pipiens molestus* نسبة قتل 50% و90% من اليرقات عند التركيزان 101.1 و128.0ج ف م عند التعريض لمدة 24 ساعة. وحين التعريض لمدة 48 ساعة فكانت قيمتي LC_{50} و LC_{90}عند101.0 و129.0ج ف م وهي متطابقة تقريباً مع التعريض لمدة 24 ساعة. مما يدل على انخفاض الفعل السمي للمواد الفعالة القاتلة في المستخلص وبدء تفككها. وحين المقارنة مع الدراسات السابقة نجد تباين بين النتائج الحالية والدراسات السابقة فكان التأثير مضاعفاً في دراسة[29] فكانت نسبة القتل 97.6% ليرقات العمر الرابع للبعوض *Aedes aegypti* بالتركيز 200 ج ف م من مستخلص بذور الخروع *Ricinus communis* بعد24 ساعة من التعريض، بل وجد[30]قيمة LC_{50} خلال فترة التعريض 48 ساعة ضد يرقات البعوض *C. pipiens* هي 209.4 ج ف م (مضاعفة القيمة) مقارنة مع الدراسة الحالية. اما معاملة يرقات البعوض *C. pipiens molestus* بمستخلص الجعدة الإيثانولي، وخلال فترتي التعريض 24 و48 ساعة فان قيمتي LC_{50} 102.5 و80.0 ج ف م بينما قيمتي LC_{90} لفترتي التعريض أنفتي الذكر 130.0 و124.0ج ف م على التتالي . خلال الدراسة الحالية، فان الفعل القاتل لمستخلصي الجعدة و البذور الناضجة للحرمل وحين مقارنتها مع الدراسات السابقة، فان نتائج الدراسة الحالية فيها اختلافات في قيمLC_{50} و LC_{90} عما جاء في دراسة [31] [32] [33]. إن مصدر هذا التباين هو اختيار المستوى التصنيفي الكيمياوي Chemotaxonomy للنبات أي احتوائه للمواد الفعالة الثانوية Secondary metabolity [34]. أما تأثير المستخلص الإيثانولي للزعتر البري، فقد أدى التركيز 150 ج ف م الى قتل100% من اليرقات بعد 24 ساعة من التعريض، وأن التركيز القاتل لنسبة 50% (LC_{50})عند التعريض لمدة 24 و48 ساعة 78 و52 ج ف م والتركيز القاتل لنسبة 90%(LC_{90}) بعد 48 ساعة من التعريض هو136 و120 ج ف م على التتالي. وتنسجم نتائج الدراسة الحالية مع ما توصل [35] حين تم اختبار فعالية مستخلص الصنوبر.*Pinus pinea* L في قتل يرقات الرابع للبعوض *C. pipiens molestus* إذ كانت قيمة LC_{50} 75 ج ف م بعد التعريض لمدة 24 ساعة و دراسة [36] ضد نفس البعوضة 100 و65 ج ف م بمستخلص القيصوم *Achelia fragrantissima* بعد التعريض لمدتي 24 و48 ساعة. ويعد النبات الوافد في الفلورا العراقية الحرنكش*Physalis angulata* ذو فعالية متفوقة على باقي المستخلصات المستعملة في الدراسة الحالية. فسبب مستخلص الحرنكش نسبة قتل100% عند التركيز100 ج ف م وأقل نسبة قتل38.8% عند التركيز60 ج ف م. اماقيمتي LC_{50} و LC_{90} خلال فترتي التعريض 24 و48 ساعة فكانت متقاربة ، إذ كانت عند 53 و80 ج ف م على التتالي عند التعريض لمدة 24 ساعة، بينما كانت قيمتي LC_{50} و LC_{90}بعد التعريض لمدة 48 ساعة عند 45 و73 ج ف م على التتالي. وهذا يعود الى انخفاض الفعل السمي المتبقي للمستخلص الإيثانولي للحرنكش وسرعة تفككه. وحين مقارنة نتائج الدراسة الحالية مع الدراسات السابقة وجد أنها مماثلة لدراسة [37] إذ كانت قيمة LC_{50} بعد تعريض يرقات البعوض *Aedes aegypti* لزيت الخروع عند التركيز51.38ج ف م بعد التعريض لمدة 24 ساعة، وكذلك دراسة [38]إذ كانت قيمة LC_{50} عند التركيز75 ج ف م وذلك عند معاملة يرقات العمر الرابع للبعوض *C. pipiens molestus* بمستخلص نبات الياس.*Myrtus communis* L بالهكسان وبعد 48 ساعة من التعريض.

Downloaded from https://edusj.mosuljournals.com/



الشكل (1) المقارنة بين الفعل القاتل للمستخلصات الإيثانولية عند LC_{50} (A) و LC_{90} (B)

2-4:التأثيرات النسيجية

تم دراسة التأثيرات النسيجية– المرضية التي سببها المستخلص الإيثانولي لبذور الحرمل الناضجة في المعي المتوسط Midgut للبعوضة *C. pipiens molestus*.

لقد أدى تمزق الغلاف حول الغذاء Peritrophic membrane الى تماس كرة الغذاء(الخشنة) مع السطح القمي للخلايا للطلائية للمعي المتوسط مما سبب تخدش الخلايا وإزالة الزغابات الدقيقة Microvilli وكذلك زوال الفراغ بين الغلاف حول الغذاء والخلايا الطلائية للمعي

Downloaded from https://edusj.mosuljournals.com/

المتوسط، فتقل كفاءة الهضم والامتصاص، كذلك انفصال الطبقة العضلية الخارجية فيحصل اضطراب في حركة الأمعاء الدودية Peristaltic movement (الصورة 3). ثم تآكل Emrsion أجزاء من الخلايا الطلائية واختفاء الغلاف حول الغذاء وبدء تفكك الخلايا (الصورة4)، وحين المقارنة مع الدراسات السابقة عن فعل المستخلصات النسيجي في المعي المتوسط. فكانت النتائج الحالية متوافقة مع دراسة [39]، الذي ذكر أن إضافة مستخلص الصل والليمون الى ماء تربية يرقات البعوض قد احدث خللاً نسيجياً في المعي الوسطي لبعوضة *C. pipiens*، وتتطابق النتائج الحالية مع دراستي[40] بإحداث مستخلص السبحبح تلفاً للخلايا الطلائية والزغابات الدقيقة للمعي المتوسط ليرقات *C. pipiens molestus* ودراسة [41] لمستخلص عدداً من النباتات الصحراوية في المعي الوسطي ليرقات *C. pipiens*. وقد كانت دراسة [42] الأقرب من النتائج الحالية في تأثير مستخلص النباتات بالهكسان في إحداث عدم الوضوح النسيجي للقناة الهضمية والغلاف حول الغذاء وتحلل الطبقة العضلية للبعوضة *Aedes aegypti*.

5.الاستنتاجات

إن لمركبات الأيض الثانوية للنباتات المنتخبة في الدراسة الحالية تأثير قاتل ضد الطور اليرقي الرابع للبعوض *Culex pipiens molestus*، كما أن مستخلص الأوراق الكأسية لثمار الحرنكش كان الأكثر فعالية في الدراسة الحالية،وقد أحدث التأثير غير القاتل LC_{25} خللاً نسيجياً وتغيرات مرضية في أنسجة المعي المتوسط.

الشكر والتقدير

أتقدم بالشكر والتقدير الى جامعة الموصل / كلية التربية للعلوم الصرفة/ قسم علوم الحياة لما قدموه من تسهيلات لإنجاز هذا العمل.

المصادر

[1] M, Sarwar. Mosquito-borne viral infections and diseases among persons and interfering with the vector activities. *International Journal of Vaccines and Vaccination*, vol. 3, no.2 pp. 1-7,2016.

[2] Abu-Alhab, J.Geografical Distribution and anuval percestanse of mosquitoes in Iraq lecture summary about mosquitoes of Iraq.council of Scientific Research Biological Research center.pp16-20(1988)

[3] Abu-Alhab,J.Medical Veterinary Insects of Iraq. Baghdad Unvi.Pab.pp450,(1979).

[4] M, Govindarajan. Mosquito larvicidal and ovicidal activity of *Cardiospermum halicacabum* L.(family: Sapindaceae) leaf extract against *Culex quinquefasciatus* (Say.) and *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). *European review for medical and pharmacological sciences*, vol.15no.7, pp 787-794,2011

[5] L, Younoussa.;, F, Kenmoe.;, M, Oumarou. K.; A. C. S.; Tamesse, & E, N, Nukenine. Combined Effect of Methanol Extracts and Essential Oils of *Callistemon rigidus* (Myrtaceae) and *Eucalyptus*

Downloaded from https://edusj.mosuljournals.com/

camaldulensis (Myrtaceae) against *Anopheles gambiae* Giles larvae (Diptera: Culicidae), *International Journal of Zoology*, 2020.

[6] A, Sharma,. S, Kumar,. & P, Tripathi. Effects of Achyranthes aspera Extracts on the Survival and Midgut Histo-architecture of Aedes aegypti L. Early IV Instars. *The Open Parasitology Journal*, vol. 6no.1pp.41-51,2018.

[7], R, Pavela. Possibilities of botanical insecticides esploitation in plant Pretection . *Pest Technology*, vol.1no.1, pp 47-52, 2007.

[8] N. Goel, N, Singh., &, R, Saini. Efficient in vitro multiplication of Syrian Rue (Peganum harmala L.) using 6-benzylaminopurine pre-conditioned seedling explants. *Nature and Science*, vol.7no7, pp 129-134,2009.

[9] A. F. M. Abdel-Fattah., K, Matsumoto., Y, Murakami., H. A. K, Gammaz., M. F, Mohamed,. &, H, Watanabe. Central serotonin level-dependent changes in body temperature following administration of tryptophan to pargyline-and harmaline-pretreated rats. *General Pharmacology: The Vascular System*, vol.28no.3, pp 405-409, 1997.

[10] A, Pirbalouti., Z, Emami Bistghani,. &, F, Malekpoor. An overview on genus Thymus. *Journal of Herbal Drugs (An International Journal on Medicinal Herbs*, vol. 6no.2, pp 93-100,2015.

[11] A, Pirbalouti,. M, Rahimmalek,. F, Malekpoor,. & A, Karimi. Variation in Antibacterial Activity, Thymol and Carvacrol Contents of Wild Populations of'Thymus daenensis subsp. daenensis' Celak. *Plant Omics*, vol.4no.4,p 209,2011.

[12] N, Djabou., , A, Muselli., , H, Allali., , M. E. A, Dib., B, Tabti,. L, Varesi., &, J, Costa. Chemical and genetic diversity of two Mediterranean subspecies of *Teucrium polium* L. *Phytochemistry*, vol. 83,pp 51-62, 2012.

[13] Arbi, Guetat. &F. A, Al-Ghamdi. Analysis of the essential oil of the Germander (*Teucrium polium* L.) aerial parts from the northern region of Saudi arabia.*International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology*.vol.5no.2,pp128-135,2014.

Downloaded from https://edusj.mosuljournals.com/

[15] M. F, Zubair., I. I. Anibijuwon., Ameen, O. M., & Abdulrahim, H. A. Secondary metabolite constituents and antibacterial potency of *Physalis angulata* against some clinical isolates. *Nigerian Journal Biochemistry Molecular Biology*, vol.29no.2, pp 161-165, 2014.

[14] Al-Alak,S.A.J.morphological and anatomical study of selected wild Solanaceae plants of Iraqi.Msc.Thesis. Baghdad Unvi., College of science for woman.pp 200.(2006).

[16] N, Sivagnaname, & M, Kalyanasundaram. Laboratory evaluation of methanolic extract of *Atlantia monophylla* (Family: Rutaceae) against immature stages of mosquitoes and non-target organisms. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, vol.99no.1, pp 115-118,2004

[17] Z. H, Mohsen. & N. S, Mehdi. Effects of insect growth inhibitor Alsystin on *Culex quinquefasciatus* Say (Culicidae: Diptera). International Journal of Tropical Insect Science, vol.10,no.1, pp 29-33, 1989.

[18] Mm Breuer,. & A, De Loof. Efficacy of an enriched Melia azedarach L. fruit extract for insect control. In "Practice oriented results on use and production of neem-ingredients and pheromones VI". Proceedings of the 6th Workshop in Hohensolms, Germany (pp. 173-183) 2000.

[19] J.B, Harbone. *Phytochemical methods*.Champan and Hall.NewYork,P.288, 1984.

[20]-WHO. Guidelines for laboratory and field testing of mosquito *larvicides*o. WHO/ CDS/ WHOPES/ GCDPP/ 2005. 13). *World Health Organization*. http://www.wikipedia.org.en 2005

[21] G. H, Schmidt,. A. A, Ahmed,. &, M, Breuer. Effect of *Melia azedarach* extract on larval development and reproduction parameters of *Spodoptera littoralis* (Boisd.) and *Agrotis ipsilon* (Hufn.)(Lep. Noctuidae). *Anzeiger für Schädlingskunde, Pflanzenschutz, Umweltschutz*, vol.70,no.1, pp 4-12,1997.

[22] Mekhlif,A.F. and Khazraji,A.Th. Sub-lethal effect of *Melia azedrach* L.Fruits extract on gomads of beet army worm,Spodoptera axxigua (Noctidae lepidoptera). Al-Anbar J.pure scince,2:31-38.

[23] G.L, Humason. Animal tissue techniques. San Francisco: W.H. Freeman and Company. p 661,1978

[24] Kawakeb,A.Al-Mokhtar,Suhela,M.Al-Allaf.Adnan,A.Al-Attar.Microscopic preparation,first Edition,Ministry of Higher Eduction and Scientific Research,1982.

Downloaded from https://edusj.mosuljournals.com/

[25] Al-Tarda,M.M.,Mohammed,J.O.,Abu Deah,M.;Al-Ratrot,O.K.Essentials in histological preparation science.2nd edition,cultural library for pub. And Dist.,Amman-Jordan, 2000.

[26] Gorges,N.S.,Histological study of ovary stracture and Oogensis of outogenous mosquites, *Culex pipiens molestus* forskål(Diptera:Culicidae) phD.Thesis College of science. Mosul Unvi.1996.

[27] D. I, finney. Probit analysis. Third edition. Cambridge University Press, London, pp 333, 1971, Available from https://doi.org/10.1002/jps, 2600600940.

[28] Hommmadi, S.A., Al-Wagaa,H.A.sStatasital analysis of agricultural experiments with SAS program.Diyala Unvi.College of Agric. And forests.2017

[29] O.F, Oluy. Emi. larvidical effects of castor plant *Ricinus communis* on anophetes mosquito. International Journal of Plant & Soil Science, vol.14no.5, pp 1-7,2017.

[30] F. A,Al-Mekhlafi, N, Abutaha,. A. M, Al-Malki,. & M, Al-Wadaan. Inhibition of the growth and development of mosquito larvae of *Culex pipiens* L.(Diptera: Culicidae) treated with extract from flower of *Matricaria chamomilla* (Asteraceae). *Entomological Research*, vol.50no.3pp,138-145,2020.

[31] S. I, Ali & V, Venkatesalu. Evaluation of the larvicidal potential of root and leaf extracts of *Saussurea costus* (Falc.) *Lipsch*. against three mosquito vectors: *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti*, and *Culex quinquefasciatus*. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, vol.53, 2020.

[32] A. H. S, Al-Dhaher. Effect of Some Plants Extracts on the Mortality of the 4th Larval Instar Mosquitoes *Culex quinquefasciatus*. *Al-Qadisiyah Journal of Pure Science*, vol.26no.2, pp, 9-21, 2021.

[33] A, Dokubo., F. G, Obomanu,. N, Ebere,. & G. I, Ndukwe. Chemical Constituents and Larvicidal Properties of n-Hexane Extract of Parinari excelsa Seeds. *Annual Research & Review in Biology*, pp,14-23, 2021.

[34] A, Hernandez- Colina., M, Gonzalez-Olvera., E, Lomax., F., Maddox, A, Townsend., J. C, Hesson., ... & M, Bailys. Blood-feeding ecology of mosquitoes in two zoological gardens in the United Kingdom. *Parasites & vectors*, vol.14no.1, pp, 1-18, 2021.

Downloaded from https://edusj.mosuljournals.com/

[35] A. F. Traboulsi., S, El-Haj., M, Tueni., K, Taoubi., N. A Nader., & A, Mrad. Repellency and toxicity of aromatic plant extracts against the mosquito *Culex pipiens molestus* (Diptera: Culicidae). *Pest Management Science: Formerly Pesticide Science*, vol.61no.6, pp 597-604, 2005.

[36] M.N.Al-Dulaimy. Effectiveness of some plants in the growth and development of mosquitoes. *Culex pipiens molestus* forskål (Diptera:Culicidae). MSc. Thesis College of pure science. Mosul Unvi.1996.

[37] N, Wamaket., H, Dieng., N, Komalamisra., C, Apiwathnasorn., R, E, Morales., B. W, Thanomsub., & S Attrapadung. Larvicidal and adulticidal activities of castor oil against the dengue vector, *Aedes aegypti*. *Tropical Biomedicine*, vol. 35, no.3, pp 610-618. 2018.

[38] Abd-Al-Reda ,A.A.,Nasser,A.A.,Hassan,S.Al-Daher.Evulation of the effectiveness of Hexane and the Etyl acetate extracts of some plant extract in killing mosquitoes larvae *Culex pipiens molestus* forskål (Diptera:Culicidae).Basra.Science.J,28(2):67-82,2010.

[39] A. A, Zayed., R. M. A, Saeed., A. H, El-Namaky., H. M, Ismail., & H. Y, Mady. Influence of *Allium sativum* and *Citrus limon* oil extracts and Bacillus thuringiensis israelensis on some biological aspects of *Culex pipiens* larvae (Diptera: Culicidae). *World Journal of Zoology*, vol. 4, no.2, pp 109-121,2009.

[40] A. A, Al-Khalaf & R. M, Al-Mehmadi. Larvicidal and histological effects of Melia azedarach extract on *Culex quinquefasciatus* Say larvae (Diptera: Culicidae). *Journal of King Saud University-Science*, vol. 22no.2, pp 77-85, 2010.

[41] N, Abutaha., F. A, Al-Mekhlafi., L. A, Al-Keridis., M, Farooq., F. A, Nasr., & M, Al-Wadaan. Larvicidal potency of selected xerophytic plant extracts on *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae*). Entomological Research*, vol.48, no.2, pp 362-371,2018.

[42] A, Sharma., S, Kumar., & P, Tripathi. Effects of Achyranthes aspera Extracts on the Survival and Midgut Histo-architecture of *Aedes aegypti* L. Early IV Instars. *The Open Parasitology Journal*, vol. 6, no.1, pp 41-51, 2018.

Downloaded from https://edusj.mosuljournals.com/