

دراسة تأثير العوامل البيئية والتوزيع الشهري ليرقات البعوض المنزلي *Culex pipiens* مع استخدام تقنية كروماتوغرافيا الغاز GC–Ms في تشخيص البالغات في محافظة البصرة / جنوب العراق .

منى خضير مرزوق يعقوب

moonmarzouq@yahoo.com

جامعة البصرة / كلية التربية للعلوم الصرفة / قسم علوم الحياة

## الخلاصة

شملت الدراسة قياس مجموعة من العوامل البيئية وهي درجة حرارة الماء والملوحة والاس الهيدروجيني والاكسجين المذاب , وبينت التغيرات الشهرية لمدة ثمانية أشهر تأثير هذه العوامل على تواجد وكثافة يرقات البعوض المنزلي *Culex pipiens* من محطة تقع ضمن مجمع كليات كرمة علي التابع لجامعة البصرة فتميل مياه هذه المحطة ان تكون متعادلة الى قاعدية وذات محتوى أوكسجيني يتراوح بين 5.3 – 7.1 ملغم / لتر ولم تصل الى الحد الحرج في أي وقت, وتراوحت معدلات درجة حرارة الماء من 12.6م° الى 32.4 م° وتراوحت معدلات الملوحة بين 3 و 5.1 جزء بالالف . كما بينت النتائج اختلافا في توزيع وانتشار يرقات النوع فظهرت في ستة أشهر فقط وسجلت أعلى كثافة في شهر كانون الثاني وبلغت 2.4 يرقة / نصف لتر ماء , في حين أدنى كثافة 1.2 يرقة / نصف لتر ماء كانت في شهر آذار . استخدمت طريقة التحليل الكيميائي بتقنية كروماتوغرافيا الغاز والمزود بمطياف الكتلة لتشخيص بالغات البعوض المنزلي , اذ استخلصت المركبات الهيدروكاربونية الاعتيادية من جليد الحشرات وقد اظهر التحليل الكيميائي ان لهذا النوع تركيب هيدروكاربوني خاص به وكانت الهيدروكاربونات هي المواد الاكثر وفرة مقارنة ببقية المكونات المؤلفة لجدار جسم الحشرة وتبين ايضا وجود 32 مركبا مقسمة الى الالكان الخطي والالكين الخطي وسلاسل هيدروكاربونية تمتد من 6- 35 ذرة كاربون وسجل المركب Pentane أعلى نسبة تواجد وبلغت 38.46% وأن أقل ظهور كان للمركب Octadecane وبلغ 0.23% .

الكلمات المفتاحية : *Culex pipien* , العوامل البيئية , gas chromatography –mass , spectrometry

## المقدمة

يكتسب 10٪ من سكان العالم (أي 700 مليون نسمة) واحد أو أكثر من الأمراض المنقولة بواسطة البعوض كل

عام بما في ذلك الملاريا والحمى الصفراء وحمى الدنج وداء الفيلايريا وفيروس غرب النيل ( Caraballo and Anon, 2014 ; King, 4014; WHO, 2014 ) وفي الآونة الأخيرة فيروس زيكا (Vogel, 2016).

ينتشر البعوض المنزلي *Culex pipiens* على نطاق واسع في أوروبا ، في شمال وجنوب أفريقيا ، في المناطق غير

الاستوائية وجزء من آسيا ، في أمريكا الشمالية (إلى الشمال من 39 ° N) ، أمريكا الجنوبية (بين 32 درجة و 50 درجة جنوباً) وأستراليا وهوناقل لعدد من الأمراض البشرية (Vinogradova et al.,2013). يتواجد في مناطق مختلفة من العراق ومنها البصرة خاصة في المنازل ويتكاثر في بيئات عديدة مثل مياه الأمطار وفتحات المجاري والبرك الصغيرة والآواني المتروكة وتجمعات مياه الأمطار وينتمي الى عائلة Culicidae وتحت عائلة Culicinae , تعيش أدوراها غير البالغة معيشة مائية وتؤثر درجة حرارة الماء على مدة هذه الادوار , اما البالغات فتتواجد على اليابسة وتعتمد فترة بقائها على درجة حرارة البيئة والرطوبة النسبية (ابو الحب , 1979 , سيرفس , 1984). تتأثر بيئة وتطور وسلوك وبقاء البعوض من جهة ودينامكية أنتشار الأمراض التي ينقلها من جهة أخرى بالعوامل المناخية , منها درجة الحرارة والأمطار والرطوبة النسبية والرياح وفترة التعرض الضوئي(عبد ويونيس , 1980) . يشكل تغير المناخ تهديداً واضحاً للصحة الانسان والمرضات المسببة للأمراض ويشير التقرير الخاص عن تغير المناخ لمنظمة (IPCC) لعام 2007 بأن ارتفاع درجة حرارة الارض في السنوات المقبلة بمعدل 1.8- 4 م سيؤدي الى زيادة مسببات الامراض. أن هناك ثلاثة مجاميع من البعوض تظهر في اوقات مختلفة من الطقس , تشمل المجموعة الأولى الانواع التي تظهر في فصل الصيف مثل *Anopheles pheriones* والمجموعة الثانية تضم الانواع التي تظهر في الفصول المعتدلة (الربيع والخريف) مثل *Culex theileri* و *Culex univltatus* , بينما تتضمن المجموعة الثالثة الانواع التي يزداد عددها في الطقس البارد مثل *Aedes caspius*, *Culex pipiens* (Khalil,1998 ; Abdel-Aal et al.,1984). قام عبد القادر (2000) بدراسة التوزيع الجغرافي لعائلة Culicidae وتأثير العوامل البيئية على هذا التوزيع واهم الانواع المتواجدة في محافظة البصرة.

يعد طول سلسلة الهيدروكربون في الحشرات مهماً في التقليل من فقدان الماء من جسم الحشرة عبر الجليد بالإضافة الى أنه يعمل بصورة واسعة على تأمين وسائل الاتصال بين الأفراد في حال انعدام الاتصال الكيميائي (Blomquist and Bagneres ,2010) , تتركب طبقة الجليد الفوقي Epicutical لجدار الجسم من خليط من الدهون تتكون بدورها من هيدروكربونات اعتيادية مشبعة اوغير مشبعة وحوامض دهنية حرة وكحولات واسترات وستيرولات والديهيدرات (Lokey,1988;Hacman,1984). والهيدروكربونات CHC3 الصنف الاكثر وفرة من المركبات الكيميائية المكونه للجليد واكثرها تغايراً" بين الانواع المختلفه وهي علامات ممتازة لتصنيف الحشرات لانها باقية دائماً في الجليد وهي تنتظم في سلاسل مكونه من 11-40 ذرة كاربون (Akino,2006) وفي ثلاث اصناف هيكلية هي الالكانات n-alkanes والالكينات n-alkenes وmono,di&tri methyle-branches alkanes (Ricarada and Stephen ,2012), وهي ربما تعمل كفيرمونات جنسية Sex pheromones او Kairomones اوتفيد في التعرف على نوع وجنس الطبقة والتعرف على أعشاش التزاوج mating nests والسيطرة والسيادة Dominance للحشرات الاجتماعية والمحاكاة الكيميائية Chemical mimicry والمغازلة Courtship والخصوبة Fecundity والنسبة الجنسية Sex ratio (Brandle et al.,1992;Haward )

(and Blomquist,2005). وترتبط معدلات فقدان الماء من جسم الحشرة بتركيب و طول سلسلة الكاربون والدرجة والموقع المشيع وتفرع المثيل وتشكل الالكانات على الارجح الطبقات غير المنفذة للماء بينما الالكينات هي الطبقات الاكثلا نفاذية (Gibbs,2002). أن تحليل مكونات الكيوتكل في رتبة ثنائية الاجنحة بواسطة تقنية كروماتوغرافيا الغاز Gas Chromatography بدأ قبل أكثر من عشرين سنة مضت وكان ذلك لذبابة الفاكهة *Drosophilla melanogaster*. ان التغيرات الرئيسية في تلك المكونات لا يستند على وجود او عدم وجود مكون دون اخر وانما على النسب الكمية لتلك المكونات وهذه النسب المختلفة تعد خصائص تركيبية للانواع المختلفة مكون دون اخر وانما على النسب الكمية لتلك المكونات وهذه النسب المختلفة تعد خصائص تركيبية للانواع المختلفة *Anopheles gambiae* (Page et al.1997;Dore et al.,1986). كانت أول دراسة على بعوض *An. culicifacies* و *An. culicifacies* s.s. Gilles (Carison and Service,1980), تبعتها دراسات على الانواع *An. anyanwu et al.* (1987:Phillis et al.,1986) *An. arabiensis* Millgan et al.,1986). قام *An. stephensi* Liston (1993).al بدراسة تشخيصية للنوع عن طريق تحليل مكونات هيدروكربونات الجليد في بالغات النوع المذكور, و استخدمت هذه التقنية لمعرفة وتميز الانواع المستترة والمتقاربة للنوع *An. gambiae* s.s (Caputto et al.,2005). وأعتمدت لتشخيص بعض أنواع بعوض *Aedes* مثل *Home and Stegomyia aegypti*(Linnaeus) و *A. albopictus*(Skuse) (Priestiman,2002;Kruger and Pappas,1993), وأشار Al-Ahmed et al.(2013) ان آلية تحليل مكونات الجليد ممكن ان تستخدم كوسيلة تصنيفية لتمييز الاختلافات في ثمانية من النواقل المرضية ضمن رتبة ثنائية الاجنحة .

## المواد وطرائق العمل

### 1- الدراسة البيئية

#### 1-1: وصف منطقة الدراسة

اختيرت بركة ضمن مجمع كليات كرمة علي التابع لجامعة البصرة/ محافظة البصرة لجمع عينات النوع *Culex pipiens* وشخصت باستخدام المفاتيح التصنيفية (Pringle,1952; Mattingly and Knight) و 1956عبد القادر (2000,

#### 2- 1 : قياس العوامل البيئية وجمع عينات اليرقات

سجلت درجة حرارالماء لمنطقة الدراسة بواسطة الحرار الزئبقي اذ وضع الحرار في الماء بعمق (5-10) سم ولمدة 5 دقائق . كما تم قياس درجة الاس الهيدروجيني للماء , كمية الاوكسجين المذاب في الماء(ملغم /لتر ) ودرجة الملوحة(جزء بالف) . ولأجراء المسح البيئي جمعت يرقات النوع *Culex pipiens* للفترة من أيلول 2016 ولغاية نيسان 2017

بصورة عشوائية كل اسبوعين او شهريا حسب كثافة النوع بوساطة مغرفة مكعبة الشكل مصنوعه من الالمنيوم حجمها 500سم ذات مقبض طوله 50 سم . تدفع المغرفة ببطء تحت سطح الماء بصورة مائلة بحيث يتسرب اليها حاملا" اليرقات وجمعت اليرقات ووضعت في قناني النماذج واضيف لها المادة الحافظة وجلبت العينات الى المختبر اذ جرى تعداد اليرقات لتحديد الكثافة العددية .وتركت مجموعة من اليرقات لتكمل دورة الحياة والاستفادة منها في تجربة GC-mass .

## 2- تحليل الهيدروكربونات analysis of hydrocarbons

تعد الكروموتوغرافيا الغازية طريقة فعالة لغرض فصل وكشف المركبات العضوية القابلة للتطاير اضافة للعديد من مخاليط الغازات والمركبات اللاعضوية ,أنجزت هذه العملية بوساطة جهاز كروموتوغرافيا الغاز المزود بمطياف الكتلة وتفيد هذه طريقة لفصل مركبات تصل كمياتها الى عدة مايكروغرامات وذلك بتمرير العينة بالحالة البخارية عبر عمود فصل يحتوي على وسط ساكن او مادة صلبة فتتحرك مكوناتها بسرعات متفاوتة تبعا لدرجة غليانها او ذوبانها او امتصاصها فتنفصل عن بعضها البعض ويحدد التقدير الكمي لها .

### 2-1 : جمع العينات والتشخيص

وضعت اليرقات بعمر الرابع بداخل قناني بلاستيكية مغطاه بقطعة من التول مع كمية من الماء والغذاء وتمت مراقبتها حتى خروج الحشره البالغة , قتلت الحشرات حديثة الظهور بالتجميد (-20 م) لمدة 30 دقيقة . تم تثبيت البعوض البالغ باستخدام طرف دبوس مطاطي وتخزن تحت التجفيف ليحفظ وللتقليل من تسرب السائل الداخلي للجسم الذي يحتوي الشحوم الداخلية التي تؤثر على عملية استخلاص الهيدروكربونات (Al-Ahmed et al,2013) .

### 2-2 : الاستخلاص الكيميائي

تمت عملية أستخلاص الهيدروكربونات من جليد الحشرات حسب (Phillis et al,1988) و Greg et al (2000) وكمايلي : جففت بالغات للنوع *Culex pipiens* في فرن كهربائي بدرجة حرارة 45م ولمدة 12 ساعة ,ثم وزنت العينات بعد التأكد من فقدانها التام للماء بوساطة ميزان حساس ووضعت العينات المجففة بداخل قمع من ورق الترشيح وأحكم اغلاق القمع . أستخدم جهاز الاستخلاص المتقطع مع 400 مل من الهكسان الاعتيادي ولمدة 24 ساعة بعدها يبرد المستخلص الناتج وينقل الى جهاز المبخر الدور حيث تبخر العينة تحت الضغط ويتم تركيز العينة لغاية 2 مل ثم تجفف في حاويات ليعاد أذابة المستخلص في الهكسان مرة أخرى قبل حقنه في جهاز GC-MS .

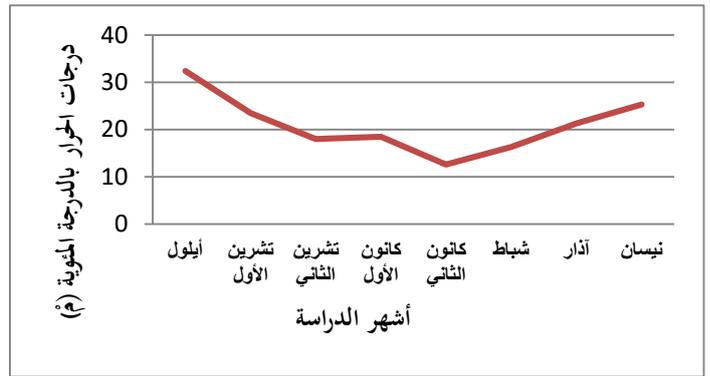
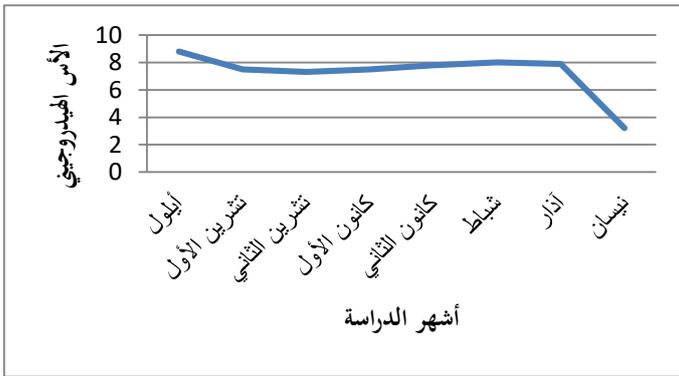
### 2-3 : طريقة حقن العينة في جهاز ال GC-MS

تحقن 1 مايكروليتر من المستخلص في عمود الفصل وحسب الظروف سابقة الذكر ويتم الرفع التدريجي لدرجة الحرارة من 60 الى 250 درجة مئوية بواقع 5 درجة مئوية بالدقيقة , ثم من 200 الى 280 درجة مئوية بواقع 3 درجة مئوية بالدقيقة وتبقى بالدرجة النهائية لمدة 10 دقائق للحصول على النتيجة المطلوبة (Al-Ahmed et al,2013) .

## النتائج

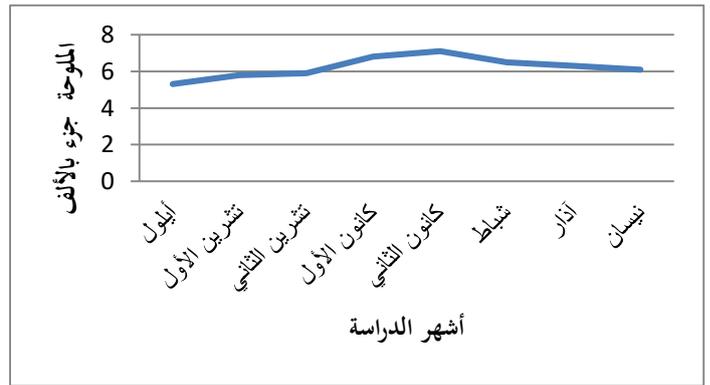
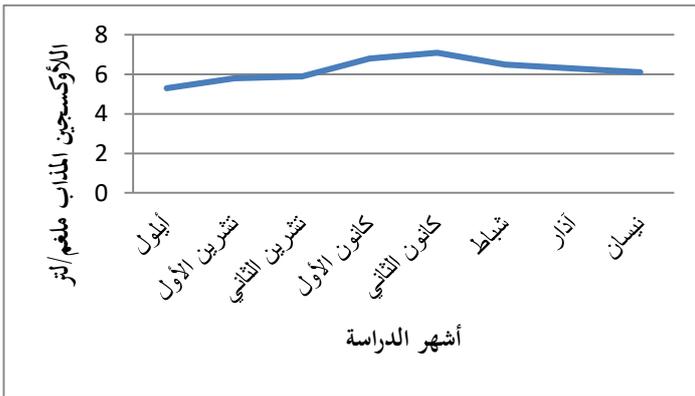
### 1- قياس العوامل البيئية

تبين الاشكال (1,2,3 و4) الاختلافات الشهرية للعوامل البيئية في منطقة الدراسة فيلاحظ أن قيم الأس الهيدروجيني تراوحت بين 7.3 لشهر تشرين الثاني و8 لشهر أيلول ,في حين سجلت أعلى درجة حرارة للماء في شهر أيلول وبلغت 32.4 م° وأدنى درجة حرارة للماء في كانون الثاني لعام 2017 وبلغت 12.6 م°. وتراوحت قيم الاوكسجين المذاب بين 5.3 ملغم /لتر في شهر أيلول و7.1 ملغم /لتر في شهر كانون الثاني , في حين سجلت أعلى قيمة للملوحة في شهر أيلول وبلغت 5.1 جزء بالالف وأقل قيمة كانت في شهر كانون الثاني وكانت 3 جزء بالالف .



شكل (2) الأس الهيدروجيني خلال أشهر الدراسة

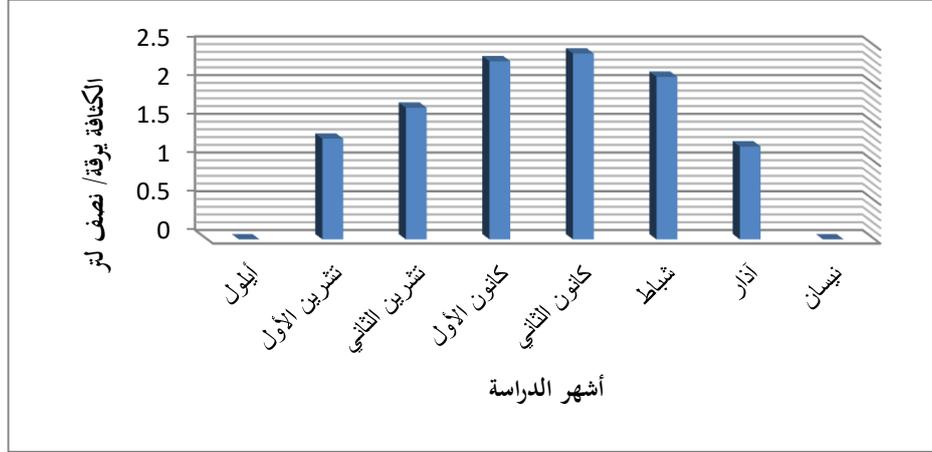
شكل (1) درجة حرارة الماء خلال أشهر الدراسة



شكل (4) الأوكسجين المذاب خلال أشهر الدراسة

شكل (3) الملوحة خلال أشهر الدراسة

ويوضح شكل (5) كثافة يرقات النوع *Culex pipiens* (يرقة /نصف لتر ماء) خلال مدة الدراسة اذا يلاحظ عدم ظهوره في شهري أيلول ونيسان وبلغت أعلى كثافة له في شهري كانون الأول وكانون الثاني وتراوحت مابين 2.3-2.4 يرقة /نصف لتر ماء وكان اقل تواجداً في شهري أيلول (1.3 يرقة /نصف لتر ماء) وأذار (1.2 يرقة /نصف لتر ماء).



شكل (5) كثافة يرقات النوع *Culex pipiens* خلال اشهر الدراسة

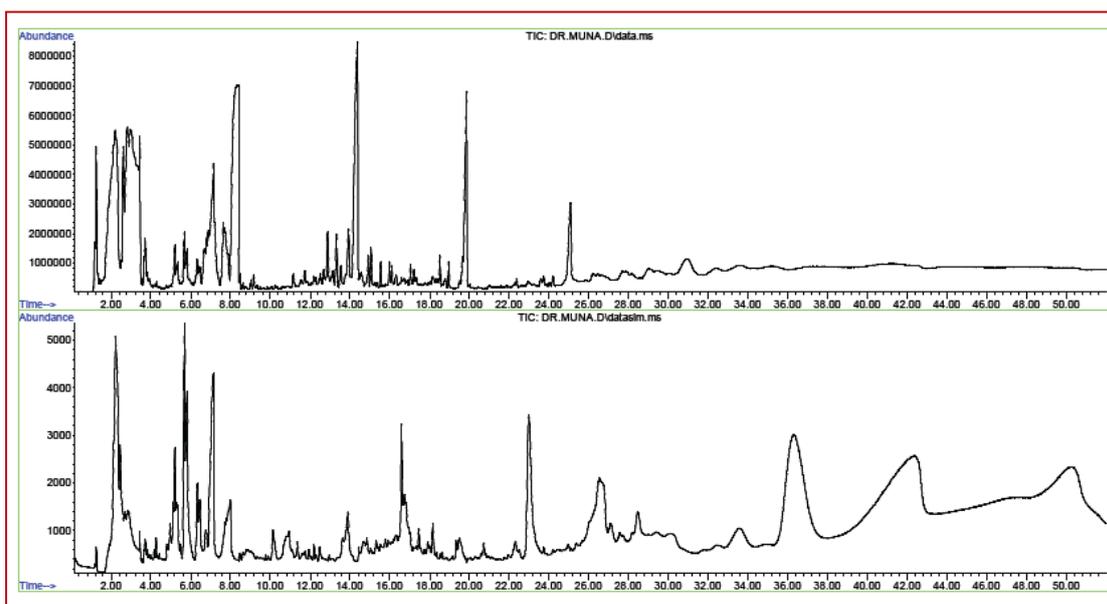
## 2- تحليل الهيدروكربونات

تم تحليل المركبات الهيدروكربونية لجليد النوع *Culex pipiens* والمستخلصة من البالغات (ذكور + اناث) بواسطة جهاز كروموتوغرافيا الغاز المجهز بمطياف الكتلة وقد اظهرت نتائج جدول (1) وشكل (6) وجود 32 مركب بسلسلة كاربونية تمتد من 6-35 ذرة كاربون وتراوح زمن الجريان (RTs) بين 1.256-33.587 دقيقة . أن أعلى تواجد كان للمركب Pentane بنسبة 38.46% ويزمن احتباس 2.829 , بينما أدنى تواجد كان للمركب Octadecane بنسبة 0.23% ويزمن احتباس 25.648 .

جدول (1) المحتوى الهيدروكربوني للنوع *Culex pipiens*

اسم المركب	الصيغة الكيميائية	الوزن الجزيئي	زمن الجريان RTs (بالدقيقة)	المساحة %	مجموع الكلي %
Butane, 2,3-dimethyl	C6H14	86	1.256	15.66%	2.102%
Heptane	C7H16	100	2.616	19.45%	2.612%
Pentane	C5H12	72	2.829	38.46%	5.165%
Butane, 2,2,3-trimethyl	C7H16	98	3.437	13.53%	1.817%
Hexane, 3,4-dimethyl	C8H18	114	3.704	6.34%	0.851%
Octane, 4-methyl	C9H20	128	5.201	4.44%	0.597%
Cyclopentane, propyl	C8H16	112	5.688	4.76%	0.639%
Cyclopentane, pentyl	C10H20	140	5.815	6.64%	0.891%
Cyclopentane, butyl	C9H18	126	6.335	4.37%	0.586%

Cyclododecane	C12H24	168	8.634	%0.43	%0.058
Cyclodecane, methyl	C11H22	154	9.034	%0.73	%0.098
Decane	C10H22	142	9.167	%1.12	%0.151
Decane,2,3,5,8-tetra methyl	C14H30	199	9.334	%0.44	%0.060
Decane, 5-methyl	C11H24	156	10.241	%0.55	%0.073
Octadecane, 6-methyl	C19H40	268	13.923	%11.27	%1.513
Octane, 4,5-diethyl	C12H26	170	16.890	%1.17	%0.157
Tridecane	C13H28	184	18.160	%2.29	%0.307
Pentadecane, 7-methyl	C16H34	226	18.515	%3.26	%0.437
Naphthalene, deca hydro-1,6-dimethyl-	C12H22	166	18.967	%2.07	%0.278
Dodecan, 6-cyclohexyl	C18H36	252	19.508	%0.73	%0.098
Tridecan, 7-cyclohexyl	C19H38	270	19.857	%33.06	%4.439
Eicosane,2-cyclohexyl	C26H52	364	22.276	%0.61	%0.082
Tetradecane,2,6,10-tri methyl	C17H36	240	22.375	%0.85	%0.114
Dodecane,2,6,10-tri methyl	C15H32	212	23.728	%1.09	%0.146
Hexadecane	C16H34	226	24.198	%1.01	%0.136
Nonadecane	C19H40	268	25.077	%18.86	%2.532
Octadecane	C18H38	254	25.648	%0.23	%0.031
Heptadecane	C17H36	240	25.853	%0.27	%0.037
Heneicosane	C21H44	296	26.209	%2.04	%0.273
Eicosane	C20H42	282	26.642	%5 1.0	%0.141
-17Pentatriacontene	C35H70	490	28.151	%1.44	%0.194
Heptacosane	C27H56	380	33.587	%9.41	%1.263



شكل (6) مرتسم كروماتوغرافيا الغاز للنوع *Culex pipiens*

## المناقشة

تعد العوامل البيئية ذات تأثير كبير على العديد من مظاهر مجتمعات الحشرات وبشكل مباشر من خلال العلاقة بين تغير درجة الحرارة والرطوبة وسرعة الرياح وأعداد الحشرات وبشكل غير مباشر من خلال تأثير تغيرها على وفرة الغذاء والعوامل البيئية محددة بفصول السنة ولذا فهي تؤثر على المجتمعات ولا تتأثر بها (عبد ويونس, 1980). وتشير معظم الدراسات البيئية الى ان الحرارة عامل حرج وان لها التأثير الاعظم من بقية العوامل اذ ترتفع درجات حرارة البيئة المائية لعدة ساعات خلال النهار فتكون اليرقات قادرة على البقاء في هذه الفترة القصيرة , بينما تتمكن من البقاء لفترة أطول بمدى حراري يتراوح ما بين 12-20 م° وبعض الافراد تبقى لمدة 40 يوما" (Bayho and Lindsay, 2004). وأوضح من الدراسة الحالية عدم ظهور يرقات النوع *Culex pipiens* في شهري أيلول ونيسان لأرتفاع درجة حرارة الماء والتي تراوحت ما بين 32.4 م° و 25.3 م° وتواجدها بكثافة قليلة في شهري تشرين الأول وأذار بمدى حراري تراوح ما بين 23.5 م° و 21.3 م° , وكان لانخفاض درجة حرارة الماء نفس التأثير أذ انخفضت الكثافة بانخفاض درجة الحرارة الى 18 م°. وأشار عبد القادر (2000) الى غياب يرقات النوع قيد الدراسة في أشهر الصيف الحاره وظهوره فقط في شهري آذار وتشرين الثاني وبكثافة قليلة عندما كانت درجة حرارة الماء بين 17-21 م°. وعامل الأوكسجين المذاب من العوامل المهمة في تواجد انواع عويلة *Culicinae* لان انواعها تتواجد في بيئات متنوعة كميها المجاري الملوثة والمياه النظيفة وسجلت الدراسة ادني القيم في شهر أيلول وبلغت 5.3 ملغم /لتر بينما أعلى قيمة كانت في شهر كانون الثاني وبلغت 7.1 ملغم /لتر وذلك لعلاقة الارتباط العكسية بين درجة الحرارة وذائبية الاوكسجين (Perkins, 1974), وذكر عبد القادر (2000) أن الحد الحرج 4 ملغم /لتر يدل على التلوث العضوي للمياه ولم يتم تسجيل اي قيمة اقل من هذا الحد دليل على ان يرقات النوع المدروس لا تفضل المياه شديدة التلوث. وتتفق نتائج الدراسة مع عبد القادر (2000) الذي بين ان النوع يظهر في المناطق الريفية وهذا يرجع لنظافة المياه وقلة تلوثها , وذكر Jupp (1978) انه يتواجد في الريف أكثر من المدينة لأنه من الانواع الغير محبة للإنسان Zoophilic . ذكر Bradley (1987) من أن أغلب انواع البعوض يعيش في مواطن التربة القاعدية وان يمكنها البقاء في مياه متعادلة او قاعدية (Pelizza *etal.*, 2007) فظهر النوع عندما تراوح الاس الهيدروجيني بين 7.3- 8 . ظهر ان تركيز الملوحة يتراوح ما بين 3- 4.7 جزء بالالف واعتمادا على تصنيف Reid (1961) يمكن اعتبارها مياه قليلة الملوحة Oligohaline وهذا يتفق مع ما ذكره (Goma, 1966, عبد القادر, 2000) من أن بعض الانواع تستطيع العيش في المياه العذبة او قليلة الملوحة وايضا في المياه المالحة .

أن الطبقة الخارجية لجليد جميع الحشرات تتألف من طبقة رقيقة من الدهن والذي له الدور الأساس في بقاءها إذ يوفر لها الحماية من الجفاف علاوة على انه يعمل كعائق ضد الاحتكاك وهجمات الكائنات الدقيقة والمواد الكيميائية , يتكون هذا الدهن من خليط من المواد أبرازها وأكثرها وفرة هي الهيدروكربونات وهي مركبات نقية غير ذائبة في الماء وتظهر تغيرات كبيرة في الأنواع المختلفة مما يجعلها صفات تصنيفية دقيقة (Blomquist and Dillwith, 1985) . وأكدت معظم الدراسات ان الجماعات السكانية لأغلب الحشرات تمتلك عموما من 10-40 مكون رئيس في خليط

الهيدروكربونات لكل نوع وقد يفوق الرقم 100 مركب في بعض الانواع ( Handley,1982 ; Howard,1993). ويفترض أن هناك أكثر من عامل رئيسي يحدد تركيب الهيدروكربون كالعوامل الوراثية التطورية والظروف البيئية الفيزيائية إضافة الى تدخل عوامل أخرى مثل مراحل النمو المختلفه ,وينتج هيدروكربون الكيوتكل من خلايا متخصصة تسمى Oenocytes وتكون مصاحبة لخلايا البشرة الداخلية أو الاجسام الدهنية وتنتقل لخلايا البشرة بوساطة حامل بروتيني دهني متعدد الوظائف يدعى Lipophorin على هيئة مركبات مكونة من الكاربون والهيدروجين فقط وهي تمثل أبسط أنواع الدهون (Chino,1985). أثبتت تقنية GC-MS بانها مفيدة جدا" في التعرف على بالغات البعوض البرية الجمع وهي ممكنة في تحليل عينات البالغات المجموعة بتقنيات المراقبة النموذجية كالمصائد اللبلة والفخاخ ومراقبة العذارى , إضافة الى امكانية استخدامها لعينات المتاحف والعينات المتضررة (Carison and Service,1980). تمت عملية تحليل المركبات الهيدروكربونية والمستخلصة بتقنية كروموتوغرافيا الغاز واطهرت النتائج ظهور الالكانات وهي جزئيات مشبعة تجعل طبقة الدهون المغطية للجلد اقل سيولة مما يزيد من قلة نفاذيتها للماء وهذا يجعل الحشرات أكثر مقاومة للظروف الصعبة (Roux and Legal,2008) وهذا يتفق مع دراسة Carlson et al.(1993) التي اثبتت ان الالكانات تشكل كميات كبيرة في 26 نوعا ونوعا من ذبابة *Glossina* ومع دراسة Spradbery(2002) للنوع *Ch.megacephala* , كما تتفق مع دراسة ( Al-Ahmed et al (2013) الذي وضع ان زمن الجريان (RTs) يختلف في انواع البعوض الناقل للأمراض اذ تراوحت للنوع *Cx.pipens* بين 2.98-9.71 دقيقة وللنوع *Cx.quinquelasiciatus* بلغ 17.44 دقيقة و بلغ 2.78 دقيقة للنوع *Cx.tritaeniorhynchus* و 22.0 دقيقة للنوع *St.aegypti* و 12.91 دقيقة للنوع *An.stephensi* .

بينت الدراسة الحالية ان لبالغات البعوض المنزلي سلاسل هيدروكربون مستقيمة طويلة من 6-35 ذرة كاربون وهي طويلة نوعا ما وهذا يتفق مع عدة دراسات لانواع مختلفة من البعوض فكانت تتراوح بين 17-47 ذرة كاربون للنوع *An.gambiae* (Caputto et al.,2005) و 15-32 ذرة كاربون لبعوض *Anopheles* و 16 الى 33 ذرة كاربون للنوع *St.aegypti* ( Home & Priestiman,2002 ; Rasoolian & Nikbakhtz ( adeh,2009) , وقد اكدت الدراسات ان طول سلسلة الهيدروكربون يتناسب عكسيا مع فقدان الماء وان الاختلافات بين الانواع المختلفة للبعوض تعود لعمر الافراد المستخدمة والجنس والمنطقة الجغرافية إضافة الى العوامل الوراثية والبيئية التي تؤثر على طول سلسلة الهيدروكربون في انواع البعوض ( Phillis et al.,1987 ; Carison and Service, (1980) . وقد تغاير طول سلاسل الكاربون في بقية انواع الحشرات كالنوع *Apis mellifera* من نحل العسل اذ بلغ 21-43 ذرة كاربون (David ,1988) والنوع *Phormia regina* 23-32 ذرة كاربون وفي بعض حشرات الحبوب المخزونة سجل طول السلسلة 16-35 ذرة كاربون ( Nawrot et al.,1995).

أبو الحب ,جليل كريم .(1997). الحشرات الطبية والبيطرية في العراق (القسم النظري ) مطبعة جامعة بغداد . صفحة 450 .

سيرفس ,م.و. (1984). المرشد الى علم الحشرات الطبية . ترجمة علي محمود سليط ,زهير يونس الصفار ورياض احمد . العراق ,مديرية دار الكتب للطباعة والنشر . جامعة الموصل .صفحة 485.

عبد,مولود كامل ويونس,مؤيد أحمد .(1980). بيئة الحشرات . منشورات جامعة بغداد , كلية الزراعة , صفحة 127.

عبد القادر ,أياد عبد الوهاب .(2000).دراسة تصنيفية لعائلة البعوض (Diptera:Culicidae) في محافظة البصرة . رسالة دكتوراه. كلية العلوم – جامعة البصرة . صفحة 192 .

Abul-hab ,J. (1967).Larvae of culicinae mosquitoes in north of Iraq (Diptera :culicidae).Bull.Entmol.Res.57(2)279-284.

Abdel-Aal ,A .A.;Hamad,N.F.;Okasha,S.N. and Shaalan, E.A. (1984). Ecological studies of mosquito larvae. Assuit.Vet.Med. J. 39(77):17-35.  
Al-Ahmed , M.A.; Ahmed, A.Y.H.; Al-Othman, Z.A. and Sallam, M.F. (2013). Identification of wild collected mosquito vectors of diseases using chromatography-mass spectrometry in Jazan Province, Saudi Arabia.

Akino ,T.(2006). Cuticle hydrocarbons of *Formica truncorum* (Hymenoptera: Formicidae) description of new very long chained hydrocarbon components .Appl.Entomol.Zool.41,667-677.

Anon .(2014). A Global Briefon Vector-Borne Diseases. Geneva: World Health Organization.

Anyanwn ,D.H.; Molyneux, D.H.;Phillips, A.and Milligan; P.J. (1993) . Cuticular hydrocarbon discrimination variation among strains of the mosquito ,*Anopheles (celia)stehpensi* Liston .Annals of Tropical Medicine and Parasitol .87(3):269-275.

Bayho ,M.N. and Lindsay , S.W. (2004). Temperature – related duration of a quatic stages of the Afrotropical vector mosquito *A.gambiae s.s.* in the laboratory . Bull.Entomol.Res.18:174-179.

Blomquist ,G.J. and Bagneres ,A.W.2010.Insect hydrocarbons Biology , Biochemisty ,and Chemical Ecology .Cambridge University Press,U.K.

Blomqusit,G.J. and Dillwith, J.W.(1985).Cuticular lipids In: Kerkut G.A.; Gilber ,L.I. eds, Comprehensive insect Physiology, Biochemistry and

pharmacology .Vol.3 Integument ,respiration and circulation .Oxford . Pergamon.,117-154.

Bradly ,T.L.(1987).Physiological of osmoregulation in mosquito.Annual review of Entomology ,32 :401-462.

Brandle ,R. ; Bagine, R.K, and Kaib, M. (1992). Cutical hydrocarbon profiles : a tool in insect taxonomy .Verh.Dtsch.2001.Ges.85 :185.

Carlson , D.A.; Millstry ,S.K .and Narang, S.K.(1993).Classification of tsetse flies *Glossina* spp.(Diptera :Glossinidae) by Gas chromatographic analysis of cuticular comonents.Bull.Entomol.Res.,83:507-515.

Caputto B.; Dani, F.R.; Home, G.L; Petarca, V.Turillazz, S.Coluzzi, A.A. and della Totte ,A.,(2005).Identification and composition of cuticular hydrocarbons of the major Afro tropical malaria vectors *Anopheles gambiaes.s* (Diptera:Culicidae): analysis of sexual dimorphism and age - related change. J.Mass.Spect. 40: 1595-1604.

Caraballo, H. and King K.(2014).Emergency department anagement of mosquito-borne illness :Malaria, dengue, andWest Nilevirus. Emerg. Med. Pract. 16,1-23.

Carison, D.A and Service, M.W.(1980).Identification of mosquitoes *Anopheles gambiae* spices complex A and B by analysis of cuticle coupons .Science .207:1089-1091.

Chino, H. (1985) .Lipid transport :biochemistry of hemolymph lipophorin, In: Kerkut G.A.; Gilbert, L.I. eds, Comprehensive insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology .Vol.3 Integument , respiration and circulation .Oxford .Pergamon.,115-135.

David , A.C.(1988). Hydrocarbon for identification and phonetic comparision :chockroaches ,honey bees and tsetse flies .Florida Entomologist , 17 (3) :333-345.

Dore ,J.C. ;Michlot, D.; Gordon, G.; Labia, R.; Zagatti, P.Renou, M. and Descoins,C.(1986).Approach factors des relation entre 8 tribus de Lepidoptera's Tortricidae et 41moleules a effect attractif sur les males.Ann.Soc.Entomol.Fr.,22 :387-402.

- Gibbs, A. (2002) .Lipids melting and cuticular permeability : new insight into and problem.J.Ins.Physiol.,48 :391-400.
- Goma,L.K. (1966) .The mosquitoes Hutchinson Tropical Monographs.
- Greg , I.A., David, H.M. and Angela ,Ph.(2000).Variation in cuticular hydrocarbons among strains of the *Anopheles gambiae* by analysis of circular hydrocarbons using gas liquid chromatography of larvae .Mem. Inst. Oswaldo Gruz ,Rio de Janeiro,95(3) :295-300.
- Hacman, R.H. (1984 ). Cutical : Biochemical in J. Bereiter-Hahn ,A.G. Matoltsy ,and K. S.Rchards (eds.).Biology of the integument ,Vol.1. Spring –Verlag.Berlin,583-610.
- Handley, N.F. (1982 ).Cuticle ultrastructure with respect to the lipid waterproofing barrier.J.Exp.Zool.222:239-248.
- Home ,G.L. and Priestiman, A.A.(2002).The chemical characterization of the epicuticular hydrocarbons of *Aedes aegypti* (Diptera:Culicidae). Bull.Entomol.Res.92:287-294.
- Howard, R.W.(1993).Cuticular hydrocarbon and chemical communication. Insect lipid :Chemistry ,Bio chemistry and Biology. University of Nebraska Press. 179-226.
- Howard, R.W. and Blomquist,G.J.2005.Ecological .behavioral and biochemical aspects of insect hydrocarbon .Annu.Rev.Entomol.50 :371-393.
- Jupp, P.G.(1978). (*Culex (culex) pipines* Linnaus and *Culex (culex) pipines quinquefasciatus* Say in South Africa). Morphological and reproductive Evidense in favour of three statuses as two species. Mosquito Systematics , 10(4) :461-467.
- Khalil, G.M.(1998 ).A preliminary survey for mosquito in upper Egypt . J. E. P. H. Assoc. ,55(5-6):355-362.
- Kruger , E.L. and Pappas, C.D.(1993) .Geographic variation of cuticular hydrocarbons among fourteen population of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) . J. Med. Entomol.30 :544-458.
- Lokey, K.H. (1988) .Lipids of the insect cutical :origin ,composition and function .Comp.Biochem.Physiol.Bull.89,595-645.

- Mattingly , P.F. and Knight, K.L.(1956).The mosquitoes of Arabia .  
1.Bull.Br.Mus.Entomol.4,89-141.
- Millgan ,P.J.; Phillips,A.;Molyeux,D.H.,Subbarao, S.K. and White,  
G.B.(1986). Differentiation of *Anopheles culicifacies* Gilles (Diptera:  
Culicidae) sibling species by analysis cuticle components. Bull. Entomol.  
Res.76:529-537.
- Nawrot ,J.; Malinski, E. and Szafrenek ,J.(1995).Function and composition  
of cuticular hydrocarbons of stored production insects. proceeding of the  
16 th international working conference on stored-product protection .1:553-  
561.
- Page , M.; Nelson,L.; Blomquist, G.J. and Seybold, S.J. (1997).Cuticular  
hydrocarbon as chemotaxonomic characters of pine engraver beetles ,in the  
*Genticollis subgeneric* group. J.Chem.Ecol., 23 :1053-1099. Pelizza  
etal.,2007
- Perkins, N.A.(1974) .The biology of Estuaries and costal water . Academic  
Press. London. pp 678.
- Pringle,G.(1952). The identification of *Anopheles superictus* in Iraq. Bull.  
Entomol. Res., 42 :779-784 .
- Phillis ,A.;Milligan,P.J.,M.;Coluzzi,M.;Toure, Y.; Broomfield, D.,H. and  
Molyneux, D.H.(1987).Studies of the chromosomal forms of *Anopheles*  
*gambiae s.str.* and *Anopheles arabiensis* using cuticle hydrocarbons ,in  
Proceedings of the 3rd international Conference on Malaria and Bobesiosis  
, Annecy ,France.pp164.
- Phillis, A.; Milligan,P .J.; Broomfield,G, and Molyneux, D. (1988).  
Identification of medically important Diptera by analysis of circular  
hydrocarbons .In Biosystematic of Haematophagous insect, ed. Service  
M.W. Oxford :Clarendon Press.pp39-59.
- Rasoolian ,M. and Nikbakhtzadeh,M.R.(2009).Ldentification of Iranian  
vectors of malaria by analysis of cuticular hydrocarbons .Animal Cells and  
Systems.13 :331-337.
- Roux , A.J. and Legal, L.( 2008). Ontogenetic study of three Calliphorid -  
ae of forensic importance through cuticular hydrocarbons analysis  
.Medical and Veterinary Entomol. 22 :309- 317.

Reid ,G.K.(1961).Ecology of Inland water and Estuaries "Rhienn hold corp ".NewYork.119(65-72).

Ricarada, K. and Stephen ,J.( 2012).Cutical hydrocarbon profiles as a taxonomic tool: advantages ,limitation and technical aspects .Physiological Entomology ,37:25-32.

Roux , O.; Gers, C. and Legal, L.(2006).When ,during Ontogeny, waxes in the blowfly (Calliphoridae) cuticle can act as phylogenetic markers. Biochemical Systematic and Ecology.34:406-416.

Spradbery ,J.P.(2002).A manual for the diagnosis of screw-worm fly.Canberra, Australia :Commonwealth Scientific and industrial Research Organization (CSIRO) Deparment of Agriculture Fisheries and Forestry .Division of Entomology. Pp 62.

Vinogradova, E. B , Ivshina, E. V. and Shaikevich ,E. V. (2013). A Study of the Mosquito *Culex pipiens* (Diptera, Culicidae) Population Structure in the Transcaucasia Using Molecular Identification Methods Entomological Review.Vol. 93, No. 1, pp. 14–18.

Vogel, G.(2016).Evidence grows for Zika viruses pregnancy danger. Science 351, 1123–1124.doi:10.1126/science.351.6278.1123

WHO .(2014). A Global Briefon Vector-Borne Diseases. WHO Reference Number: DC/WHD/2014. Geneva:World Health Organization.

**Study of the effect of environmental factors and monthly distribution of domestic mosquito larvae *Culex pipiens* with the use of GC-MS gas chromatography in the diagnosis of adults in Basra Governorate / southern Iraq.**

**Muna K. M. Al-yaqob**

**Biology dept. / College of Education for pure sciences / Basrah university**

**Summary**

The study included numbers of the water environmental factors like water temperature, the PH, salinity and dissolved oxygen. The monthly changes indicated the rates of water temperature was from 12.6c-32.4 c, while that salinity rates between 3 and 5.1ppt. Basra city water tends to be neutral to alkaline water which has a high oxygen content, about 5.3-7.1 mg/L., and it didn't reach the critical limit at any time. Results also showed the distribution of the *Culex pipiens* larvae stage and the effect of the environmental factors the species appeared in six months only. Chemo-analysis method, was used by using chromatography mass technique for classification of adults, the extracted normal hydrocarbon compound from insects cuticle. the hydrocarbon was more abundant than other the compounds that forming the composition insects body wall. The results showed that there were 32 compounds which categorized into a linear Alkanes and linear Alkenea with hydrocarbon chain between C6-C35 with a highest percentage of 38.46% for Pentane compound, whereas the lowest percentage was 0.23 % for Octadecane compound.

**Keywords:** *Culex pipien*, environmental factors, gas chromatography –mass spectro metry.