Isolation of Fungi on the House Fly, *Musca domestica L.*(Diptera: Muscidae), Body Surface in Karbala and Thi-qar provinces, Iraq

عزل وتشخيص الفطريات من السطح الخارجي لحشرة الذباب المنزلي *(Musca domestica.L)* Diptera: Muscidae في كربلاء وذي قار

حسين علي باقر طه موسى محمد ثامر سلمان جبر
كلية الزراعة جامعة كربلاء
husseinbaqir@yahoo.com

المستخلص

اجريت هذه الدراسة في كلية الزراعة جامعة كربلاء، وتضمنت عزل و تشخيص الفطريات المرافقة للذبابة المنزلية اذ شخصت ست فطريات تعود الى اربعة اجناس ، اظهرت الدراسة تفوق الفطر *Aspergillus niger* اذا بلغت نسبة الظهور39.06, 55.55% في محافظتي كربلاء وذي قار على التوالي تلتها الفطريات *Aspergillus flavus* ، *Penicillium sp* ، *Entomophthora sp* ، *Mucor sp*، *Aspergillus terreus* اذا بلغت النسب المئوية للظهور 23.43 و14.06 و 9.37 و 7.81 و 6.25% على التوالي في محافظة كربلاء اما في محافظة ذي قار فكانت النسبة المئوية للظهور لكلا الفطرين*Aspergillus niger* و*Aspergillus flavus*هي55.55 و 44.44 % على التوالي . اما عن امراضية الفطريات *Aspergillus niger* و*Entomophthora sp* اعلى نسبة قتل من الفطريات المعزولة من الذباب المنزلي في كربلاء المقدسة اذا بلغت 82.4 % لكلا الفطرين اذا لم يختلفا عن بعضهما بعد 72 ساعة من المعاملة وان نسبة القتل تزداد بزيادة المدة الزمنية ، اما الفطريات المعزولة من الذباب المنزلي في محافظة ذي قار فحقق الفطر *Aspergillus niger* نسبة قتل عالية 77.3 % وبنفس المدة الزمنية .

Abstract

A study was conducted at the Department of Plant Protection-University of Karbala to isolate and identify of the fungi associated with house fly (*Musca domestica* L). Results showed that six fungi belonged to four genera. The *Aspergillus niger* fungus gave the highest presence that was reached to 39.06% and 55.55%, among the other fungi, in Karbala and Thi-qar provinces, respectively, followed by the other fungi *Aspergillus flavus* ، *Penicillium sp* ، *Entomophthora sp* ، *Mucor sp*، *and Aspergillus terreus* was 23.43,14.06,9.37,7.18,6.25%,respectively in the isolates obtained from Karbala province. While, the isolates obtained from Thi-qar province gave the percentages of the *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus* (55.55,44.44%) respectively .The study showed that the percentage of mortality of the adults house fly reached to 82.4% when spraied with fungal filterate of *Aspergillus niger and Entomophthora sp* in Karbala province , and there was no different after 72 hours from the treatment , while *Aspergillus niger* that isolated from Thi-qar provinces caused mortality of the adults house fly 77.3% after 72 hours from the treatment.

المقدمة

حشرة الذباب المنزلي *(Musca domestica.L)* من الحشرات التي تنتمي لعائلة Muscidae رتبة حشرات ثنائية الاجنحة Diptera والتي تعد من اكبر رتب الحشرات اذ تضم انواعا كثيرة ذات اهمية طبية واقتصادية ، وقد اجريت عليها العديد من الدراسات المختبرية لاهميتها من الناحية الطبية والبيطرية ولسهولة توفيرها وتربيتها مختبريا وقصر دورة حياتها (1). من الخصائص السلوكية لحشرة الذباب المنزلي هي اتصاله بالغذاء ونفايات الانسان و حيواناته (2). ان الصفات المظهرية والتي مكنت الذباب من ان يكون ناقل جيد للمسببات المرضية تتمثل في ان خرطوم اجزاء الفم يحتوي على العديد من الشعيرات الدقيقة والتي ساعدته على التقاط الملوثات بسهولة من الوسط بالاضافة الى ان الاقدام الست لها تحتوي على الشعيرات و الوسادات وهذه تكون بمثابة اجزاء لاصقة للمسببات المرضية وبدوره اعطتها فعالية عالية في نقل المسببات المرضية وليس من الغريب ان وجود (10^6×6) بكتريا على السطح الخارجي لحشرة الذباب منزلي واحدة (3).هنالك ما يقارب 500000 من الكائنات المجهرية موجودة على جسم وارجل الذباب المنزلي(4).و يسبب الذباب المنزلي العديد من الاضرار منها ماهو مباشر مثل الازعاج ومنها ما هو غير

مباشر هو امكانية نقل العديد من المسببات المرضية (البكتريا ، الفطريات، الفايروسات ، البرتوزوا ، و النيماتودا) (5) ، اثبتت الدراسة التي قام بها (6) بان الاحياء الدقيقة يمكن ان تعيش داخل او على سطح جسم الذباب المنزلي لمدة تتروح من 5 ساعات الى اكثر من 35 يوم. في دراسة قام بها الباحث (7) على حشرة الذباب المنزلي والتي تعد من النواقل المهمة للمسببات المرضية من مناطق مختلفة في محافظة البصرة ومن ضمنها المستشفيات اذ عزلت أنواع مختلفة من البكتريا والفطريات أيضا .واشار (8) الى عزل وتشخيص انواع مختلفة من الفطريات المحمولة على السطح الخارجي للذباب المنزلي منها*Aspergillus,Penicillium, Yeasts, Cladosporium ,Fusarium* في الاهواز.

تشيرالدراسات الى ان الذباب المنزلي قد طور مقاومة ضد مبيدات Carbamate, Pyrethroid,Organophosphateعلى مر السنين و نتيجة الاستخدام المتكرر لهذه المبيدات. لذا إهتم العديد من الباحثين بالبحث عن وسائل اخرى بديلة وجديده لمكافحتها ومنها استخدام الاحياء المجهرية (9) . اذ اظهرت العديد من الدراسات الى وجود نجاحات متحققه في استخدام المكافحة الاحيائية للسيطرة على الافات الحشرية والطبية. حيث إن الفطريات ألعفنية من نوع *Entomophthora musca* هي من المسببات ألمرضية المعروفة التي تصيب الذباب المنزلي وبقية الحشرات المنزلية (10) تدخل هذة الفطريات إلى المجرى الدموي عن طريق إختراق الجلد وتكوين اجسام سبورانجية والتي بدورها تتكاثر وخلال 28ساعة تخترق مجرى الدم خاصة في منطقة البطن والأماكن الدهنية (11). فقد اشار (12) إلى امكانية استخدام الفطر *Entomophthora musca* في برامج المكافحة الاحيائية للذبابة المنزلية. و اشار (13) الى الحساسية العالية في الذباب المنزلي للاصابة بـ -*E. muscae , E. schizophorae* اذ يقتل الذباب خلال 4-6 ايام بعد تعرضه الى ابواغ هذين الفطرين. ونظرا للاهمية الطبية والبيطرية لحشرة الذباب المنزلي وصلتها المباشرة بحياة الانسان فقد اجريت هذه الدراسة لغرض عزل وتشيخص الفطريات المنقولة خارجيا على جسم الذباب المنزلي.

المواد وطرائق العمل

جمع النماذج

جمعت 40 حشرة من بالغات الذباب المنزلي (*Musca domestica*.L) عشوائياً اثناء المدة من شهر تموز ولغاية شهر آب لسنة 2012م جمعت من محافظتي كربلاء المقدسة وذي قار ومن أماكن مختلفة لتشمل(الأغذية ألمكشوفة,حظائر الدواجن,القمامة) اذ شملت الذباب الذي لوحظت عليه علامات الإصابة والتي قد تكون سبب الإصابة . اصطيد الذباب بوساطة شبكات خاصة اذ وضع الذباب في أنابيب زجاجية معقمة وبعد مدة من الجمع نقلت الحشرات إلى المختبر وقتلت جميعاً من خلال وضعها داخل المجمدة Frezzing على درجة حرارة صفر درجة مئوية لمدة 5 دقائق.

عزل الفطريات

إستخدم الوسط الزرعي الجاهز Potato dextrose agar (PDA) من انتاج شركة Himedia واضيف له المضاد الحيوي Chloramphinacolبتركيز250ملغم /لتر لمنع نمو البكتريا .عقم الوسط في الموصدة Autoclave بدرجة حرارة 121مْ وضغط 15باوند/إنج^2 لمدة 20 دقيقة بعدها صب الوسط المعقم في اطباق بتري معقمة في غرفة العزل hood المعقمة وبعد تصلب الوسط زرعت الحشرات التي جمعت من كل محافظة على حد وبواقع 4 لكل طبق وبعدة مكررات خضنت الاطباق في درجة حرارة 25± 2مº لمدة 3-7ايام.(14) بعد انتهاء دورة الحضن نقيت المستعمرات النامية من كل عينة على انفراد.

وشخصت الفطريات النامية إعتماداً على المفاتيح التصنيفية المعتمدة (15). بعدها حسبت النسبة المئوية لتردد الفطريات المعزولة من السطح الداخلي للذباب المنزلي من المعادلة التالية (16).

$$\text{النسبة المئوية لتردد الفطر} = \frac{\text{عدد مرات ظهور الفطر}}{\text{عدد العينات الكلي}} \times 100$$

تحضير رواشح الفطريات

حُضر الوسط الغذائي السائلPDB. اذ تم إضافة المضاد الحيوي Chloramphenical بمقدار 250ملغم / لتر، لقح بثلاثة أقراص قطرها 0,5سم بثاقب الفلين من المستعمرات الفطرية المشخصة والنامية على وسط زرعي PDA بعمر سبعة أيام، حُضنت الدوارق في درجة حرارة 25±2 مْ مع رج الدوارق كل ثلاثة إلى أربعة أيام لتوزيع النمو الفطري ، وبعد 28 يوماً رشح اللقاح باستخدام ورق الترشيح1 .What man No بقمع بوخنر بمساعدة جهاز تفريغ الهواء Vacuum pump وأعيد الترشيح باستخدام المرشح الدقيق وأستعمل الراشح في التجارب اللاحقة.

اختبر تاثير رواشح الفطريات المعزولة من حشرة الذباب المنزلي لمحافظتي كربلاء وذي قار على كاملات حشرة الذباب المنزلي عن طريق الرش اذا تم وضع عشرة حشرات في قناني زجاجية سعة 500سم^3 رشت المكررات بمعدل 3 مل راشح لكل مكرر باستعمال مرشة صغيرة معقمة اجريت التجربة في ظروف المختبر في درجة حرارة 25± 2 سجلت النسبة المئوية للهلاكات بعد 24و 48و72 ساعة من المعاملة وصححت القيم و حللت البيانات احصائياً وفق Schneider, Orell الواردة في (17)

$$\text{النسبة المئوية للهلاك} = \frac{\text{نسبة الموت في المعاملة} - \text{نسبة الموت في المقارنة}}{100 - \text{نسبة الموت في المقارنة}} \times 100$$

النتائج و المناقشة

اظهرت النتائج(جدول1) الى عزل و تشيخص 6 انواع من الفطريات المنقولة خارجياً من 32 عينة من الذباب المنزلي والمجموعة من اماكن مختلفة وبصورة عشوائية من محافظة كربلاء المقدسة *Musca domestica* (L) اذ كان الفطر *Aspergillus niger* اكثر الفطريات ظهورا اذ سجل 39.06% واقل نسبة ظهور كانت للفطر *Aspergillus terreus* بنسبة 6.25% .واظهرت الفطريات*Aspergillus flavus* و*Penicillium sp* و*Entomophthora sp* و*Mucor sp*نسب ظهور بلغت 23.43و14.06و 9.37و 7.81% على التوالي .

جدول(1) النسبة المئوية لظهور الفطريات المعزولة من حشرة الذباب المنزلي(*Musca domestica*) في محافظة كربلاء

ت	الفطر المعزول	عددالعينات	تردد الفطر
1	*Aspergillus niger*	25	%39.06
2	*Aspergillus flavus*	15	%23.43
3	*Penicillium sp*	9	%14.06
4	*Entomophthora sp*	6	%9.37
5	*Mucor sp*	5	%7.81
6	*Aspergillus terreus*	4	%6.25

اما جدول رقم (2) يشير الى عزل وتشيخص نوعين من الفطريات المنقولة خارجيا من 32 عينة والتي جمعت من اماكن مختلفة وبصورة عشوائية من محافظة ذي قار حيث كانت اعلى نسبة مئوية للظهور للفطر *Aspergillus niger* حيث بلغت 55.55% فحين ان الفطر *Aspergillus flavus* كان اقل نسبة ظهور حيث بلغت 44.44% .

جدول(2) النسبة المئوية لظهور الفطريات المعزولة من حشرة الذباب المنزلي *Musca domestica* في محافظة ذي قار

ت	الفطر المعزول	عددالعينات	تردد الفطر
1	*Aspergillus niger*	10	55.55
2	*Aspergillus flavus*	8	44.44

اظهرت الدراسات عزل الفطريات *Aspergillus flavus*و*Aspergillus niger* و*Penicillium* corylophilum من نحل العسل (18)، بينما عزل (19و20)الفطريات*A niger, A. flavus, Penicillium. corylophilum*و *Cladosporium ladosporoides* و *Alternaria spp* من نحل العسل. وعزلت *Staphylococus aureus*و*pseudomonas sp* و *Aspergillus niger*و *Aspergillus flavus* من المعدة والسطح الخارجي ليرقات للذباب المنزلي(21). واستطاع (22) عزل فطر *Aspergillus niger* من عذراى الذباب المنزلي . واشار (23) في الدراسة التي أجراها في تايلاند الى عزل كلا من الجنسين *Aspergillus niger* و*Penicillium spp* من بالغات الذباب المنزلي.توصل (24) الى ان محتويات التربة مسؤولة عن انتشار الابواغ والاصابة في الطبيعة ليرقات عائلة Muscidae مشيرا الى انتقال الاصابة بهذه المسببات الفطرية من اليرقات الى العذراى ومن ثم الى البالغات عن طريق الملامسة مع هذه المسببات الفطرية. وعزل (25) فطر *Penicillium* من البعوض الناقل للامراض الاستوائية في البرازيل. وفي دراسة في البرازيل استطاع (26) عزل نوعين من الفطريات هما *P. corylophilum*و*P. fellutanum* من بالغات الذباب المنزلي.

اختبار امراضية بعض الفطريات المعزولة

يتضح من النتائج في جدول (3) ان الفطرين *Aspergillus niger*،*Entomophthora* sp حققا نسبة قتل عالية لحشرة الذباب المنزلي في المختبر اذا بلغت النسبة 82.4 % بعد 72 ساعة من المعاملة لكل من الفطرين واختلف الفطرين معنوياً عن معاملة المقارنة البالغة 6.7 % تلاها الفطر *Aspergillus flavus* اذا بلغت النسبة المئوية للقتل 78.5 % وبنفس المدة الزمنية. اما عن تاثير الفطريات المعزولة من الذباب المنزلي في محافظة ذي قار جدول(4) فقد وجد ان الفطر *Aspergillus niger* حقق نسبة قتل بلغت 77.3 % بعد 72 ساعة من المعاملة والتي تفوقت معنوياً على معاملة المقارنة اما الفطر *Aspergillus flavus* فقد بلغت نسبة القتل 68.3 % وبنفس الفترة الزمنية وهذا متفق مع العديد من الدراسات التي قام بها الباحثين و التي اشارت الى ان الفطر *Aspergillus niger* حقق نسبة قتل عالية وصلت الى 95% بعد 7 ساعات من التعريض الى راشح الفطر ضد بالغات بعوض الانوفلس *Anopheles stephensi* (27). وفي دراسة اخرى فقد وجد (28) ان الفطر *Aspergillus flavus* حقق نسبة قتل عالية في بالغات بعوض الانوفلس بعد تعرضها الى 24 و48 ساعة من المعاملة .

جدول (3) **يوضح تاثير الفطريات المعزولة على حشرة الذباب المنزلي***Musca domestica* **في محافظة كربلاء**

الفطر	نسبة القتل /ساعة			متوسط الفطر
	24	48	72	
Aspergillus niger	35.6	55.1	82.4	57.7
Aspergillus flavus	39.0	55.1	78.5	57.5
Aspergillus terreus	32.2	37.8	60.6	43.5
Penicillium sp	49.1	55.1	66.0	56.7
Entomophthora sp	45.8	65.5	82.4	64.5
Mucor sp	18.7	30.9	46.4	32.0
Control	1.6	3.4	6.7	3.9
معدلات نسبة القتل	31.7	43.2	60.4	

L.S.D للمعاملات =9.361 , L.S.D للوقت = 6.128 , L.S.D للتداخل = 9.385

جدول (4) **يوضح تاثير الفطريات المعزولة على حشرة الذباب المنزلي***Musca domestica* **في محافظة ذي قار**

الفطر	نسبة القتل /ساعة			متوسط الفطر
	24	48	72	
Aspergillus niger	39.6	60.0	77.3	58.9
Aspergillus flavus	31.6	49.1	68.3	49.6
Control	0	8.3	11.6	6.6
معدلات نسبة القتل	23.7	39.1	52.4	

L.S.D للمعاملات =10.597, L.S.D للوقت = 9.177 , L.S.D للتداخل = 8.273

المصادر

1. Roush, R.T.and Wright, J.E. (1986). Abamectin: toxicity to house flies resistance to synthetic organic insecticides. J. Econ. Entomol. 79: 562-564.
2. Gupta, S.R., Rao, C.K., Biswas, H.,Krishnaswami. A.K., Wattal, B.L. &Raghavan, N.G. (1972). Role of the house fly in the tramsmission of intestinal parasitic cysts-ova. Indian Journal of Medical. Research 60(8): 1120 – 1125.
3. Esten, W.N. and Mason, C.J. (1908). Sources of bacteria in milk.Conneticut Agriculture Experimental Station Bulletin 51: 94-98.
4. Thirumalai, V., Immanual, G.,and Selvaraj, P. (2008).Vector competence of *Musca domestica* Linn. With reference to the virulent strains of *Salmonella typhi* in bus stands and markets at Madurai.Tamil Nadu. Current Biotica.2 (2):154-160.
5. Gliniewicz A, Sawicka B and Czajka E.(2003) Occurrence of insect pests in hospitals in Poland. Przegl Epidemiol;57:329-34.
6. Graczyk TK, Knight R, Gilman RH(2001).The role of non-biting flies in the epidemiology of human infectious diseases. Microbes and Infection;3:231-5.
7. مانوك, البير اورانيس. 2006. دراسة نوعية وكمية للبكتريا المتواجدة في الذباب المنزلي البالغ النمو (*Mucsa domestica* L.) في محافظة البصرة. رسالة ماجستير. كلية التربية. جامعة البصرة.
8. Zarrin M, Babak Vazirianzadeh, Setareh Shams Solary, Ali Zarei Mahmoudabad, Mahmoud Rahdar (2007) Isolation Of fungi from housefly *Musca Domestica* in Ahwaz, Iran. Pak J Med Sci. 23(6): 917–919.
9. Huber, D.M. (1983). Non-fungicidal chemical control of soil borne disease proceeding poth annual fertilizer. Conference of the Pacific North west, Idaho-Moscow: 95-98.
10. Mullens, B.A., (1989). Cross-transmission of *Entomophthora musca* (Zygomycetes: Enthomophthoraceae) among naturally infect muscoid fly (Diptera: Muscidae) hosts. J. Invertebr. Pathol. 53:272-275.

11. Mullens, B.A., Rodriguez, J.L.and Mayer, J.A., (1987). An epizootological study of *Entomophthora muscae* in muscoid fly populations on southern California poultry facilities, with emphasis on Musca domestica. Hilgardia. 55: 1–41.
12. Baird, R.B. (1957). Notes on a laboratory infection of Diptera caused by fungus *Empusa musca* Cohn. Can. Entomologist. 89: 432-435.
13. Kalsbeek, V., Pell, J. K. and Steenberg, T. (2001a). Sporulation by *Entomophthora schizophorae* (Zygomycetes:Entomophthorales) from housefly cadavers and the persistence of primary conidia at constant temperatures and relative humidities. Journal of Invertebrate Pathology,77: 149-157.
14. Warcup, J.H.(1950). The soil plate method for isolation of fungi from soil. Nature (London). 66:117-118.
15. Barnett, H. L. and B. B. Hunter.(2006) " Illusrated genera of Imperfect fungi " Burgess Publishing Company 241 pp.
16. Krebs, C.J. (1978). Ecology: the experimental analysis of Distribution and abundance. Harper and Row publisher, New York.
17. صالح ، يحيى عاشور, 2004 ،دراسة مجتمع لحقول قصب السكر في ميسان / العراق ،اطروحة دكتوراة ، كلية العلوم – جامعة البصرة ،صفحة 165.
18. Burnside, C.E. (1932) .Bulletin Technical of U.S. Department Agriculture, 149-279.
19. Gilliam M and Prest DB 1972. Fungi isolated from the intestinal contents of foraging worker honey bees, *Apis mellifera*. J Invert Pathol 20: 101-103.
20. Gilliam M, Prest DB and Morton HL (1974). Fungi isolated from Honey Bess, *Apis mellifera*, Fed 2,4-D and antibiotics. J Invert Pathol 24: 213-217.
21. Omalu, V Ayanwale, A Ajalaruru, A Mohammed, J Bala, V Chukwuemeka.(2009) Isolation Of Fungi And Bacteria From Housefly *Musca Domestica* L. Larvae. The Internet Journal of Microbiology. 9
22. Gołębiowski, M., Dawgul, M., Kamysz, W., Boguś, M.I., Wieloch, W. and Włóka, E. (2012b). Antimicrobial activity of alcohols from *Musca domestic*a. The Journal of Experimental Biology, 215: 3419-3428.
23. Srivoramas, T., Chaiwong,T., and Sanfords, M.R.(2012) Isolation Of Fungi From Adult House Fly; *Musca Domestica* And The Blow Fly Chrysomya megacephala In Ubon Ratchathani Province, Northeastern Thai-Land.International Journal of Parasitology Research.4:53-56.
24. Steinkraus, D.C., Geden, C.J., Rutz, D.A.and Kramer, J.P., (1990). First report of the natural occurrence of *Beauveria bassiana* (Moniliaceae-Moniliales) in *Musca domestica* (Diptera, Muscidae). Journal of Medical Entomology 27: 309-312.
25. Costa, G.L.and Oliveira, P.C., (1998). Penicillium species in mosquitoes from two Brazilian regions. Journal of Basic Microbiology 38: 343-347.
26. Sales, M. de Senna Nunes, da Costa, G. L., and Bittencourt Pinheiro, V. R. E (2002) Isolation of Fungi in *Musca domestica* Linnaeus, 1758 (Diptera: Muscidae) Captured at Two Natural Breeding Grounds in the Municipality of Seropédica, Rio de Janeiro, Brazil Mem Institute Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro 97(8): 1107-111
27. Singh G., and Prakash S., (2012d), Lethal effects of *Aspergillus niger* against mosquitoes vector of filarial, malaria, dengue: A liquid Mycoadulticide, The Sci World J., 2012:603984
28. Bhan S, Shrankhla, Sharma P, Mohan L and Srivastava C N. (2013a) Larvicidal toxicity of Temephos and entomopathogenic fungus, *Aspergillus flavus* and their synergistic activity against malaria vector, Anopheles stephensi. Journal of Entomology and Zoology Studies; 1 (6): 4-9.