مجلة العلوم البحثة والتطبيقية
Journal of Pure & Applied Sciences
www.Suj.sebhau.edu.ly ISSN 2521-9200
Received 8/11/2017 Revised 28/01/2018 Published online 30/06/2018

تأثير مستخلصات أوراق الدفلة Nerium oleander على يرقات العمر الرابع لبعوضة Culex pipiens

*عائشة حامد امحمد البوسيفي[1] و طلعت السيد عمارة[2]
[1]قسم علم الحيوان– كلية العلوم– جامعة سبها، ليبيا
[2]علم الحيوان – كلية العلوم– جامعة المنوفية، مصر
*المراسلة: Ais.Omar@sebhau.edu.ly

الملخص أجريت هذه الدراسة في معامل قسم علم الحيوان – كلية العلوم –جامعة سبها لمعرفة التأثيرات البيولوجية لمستخلص الإيثانول و البترولييم إيثر Culex pipiens . لأوراق نبات الدفلة على يرقات العمر الرابع لبعوضة عند التراكيز 0.3 ، 0.7 ، 1.5 ، 3.0 ، 6.0 و 12.0 جزء بالمليون أظهرت نتائج الدراسة بأن المستخلصات النباتية المستخدمة كان لها تأثير معنوي على نسب الموت ليرقات العمر الرابع المعاملة مقارنة بمعاملات الشاهد. ومن ناحية أخرى أوضحت النتائج بأن للاختلاف في درجات الحرارة فيما بين27 ± 2 و 32 ± 2 مْ تأثير واضح على اليرقات أيضاً بينت النتائج بأن مستخلص البترولييوم إيثر كان أكثر تأثيراً عن مستخلص الإيثانول للنبات قيد الدراسة.

الكلمات المفتاحية: مستخلصات نباتية ، ايثانول ، بترولييم إيثر، بعوضة .

Toxicity of Nerium Oleander extracts on Culex pipiens Mosquitoe

*A.H.Albosefy[a], T.E.Emaraa[b]
[a] Zoology Department, Faculty of science/ SabhaUniversity, Libya
[b] Zoology Department, Faculty of science/ Manoufia University, Egypt
*Corresponding author: Ais.Omar@sebhau.edu.ly

Abstract This study was carried out to evaluate the bio efficacies of Etanol and petroleum ether extracts from Nerium oleander (Leaves) against 4th instar larvae of Culex pipiens mosquitoes by using six concentrations 0.3 , 0.7, 1.5 , 3.0 , 6.0 and 12.0 ppm .The toxicity increased with increasing the period of exposure .On the other hand , Petroleum ether extract elicited the highest effect on larvae than ethanol extract . The results revealed that the difference of temperatures between 27 ± 2 and 32 ± 2 C° elicited on larvae sensitivity especially with decreased values of Mortality at all treatments.
Keywords: (Culex pipiens, Nerium oleander, Toxicity, mosquitoes).

المقدمة

يعتبر بعوض Culex pipiens من أهم مفصليات الأرجل الماصة للدم و الواسعة الانتشار ذات العلاقة بصحة الإنسان والحيوان ، و تنتمي لرتبة ثنائية الأجنحة. حشرات هذه العائلة تتميز بأجزاء فم ماصة و ثاقبة ماصة ، حيث تتغذى الذكور على رحيق الأزهار أما الإناث فهي مكيفة لتمتص دماء الحيوانات الثديية [6] [12]. طبيعة أجزاء الفم الثاقبة الماصة التي تمتاز بها إناث البعوض والتي تتغذى بها على دم الإنسان و الحيوان جعلت منها ناقل جيد وفعال للعديد من الأمراض للإنسان و الحيوان مثل مرض الفيلاريا ، الملاريا ، حمى الدنج و الحمى الدماغية إضافةً إلى ما تسببه الحشرة من إزعاج لما تصدره من صوت أثناء الطيران والألم الناتج عن الوخز عند التغذية [1] [9] [16]. في أواخر القرن العشرين برزت الأهمية الكبيرة للمستخلصات النباتية وأصبحت محل اهتمام الكثير من العلماء ، لما لها من دلالات معملية واضحة و سريعة حيث ظهر استخدام المستخلصات النباتية منذ القدم عند العديد من أطباء الأعشاب ، فقد كانوا يستخرجون المواد الفعالة في العديد من النباتات بطرق مختلفة تختلف باختلاف نوع النبات و طبيعته و الغرض المستخدم لأجله ومن ضمن هذه الطرق النقع ، السحق ، العصر و الطحن[5] [15] . للحشرات مدى حراري محدد يميز النوع تنمو و تتطور خلاله و خارج هذا المدى تتعرض الحشرات للموت. تؤثر درجة حرارة البيئة على مراحل النمو المختلفة و عدد الأجيال ، حيث تزداد سرعة النمو في الحشرات بارتفاع درجة الحرارة حتى تصل إلى حد معين ، بعدها يصبح تأثير درجة الحرارة العالية عكسي ، كما أن النمو يتوقف إذا انخفضت درجة الحرارة عن حد معين و الذي يعرف بالحد الحرج [8] [3] [2].

تهدف هذه الدراسة إلى معرفة مدى إمكانية استخدام مستخلصات أوراق نبات الدفلة كبدائل طبيعية للمبيدات المصنعة في مكافحة بعوضة Culex pipiens من خلال حساب

نسب الموت لليرقات المعاملة بالمستخلصات المدروسة تحت ظروف مختلفة من درجة الحرارة .

المواد وطرق العمل

تربية الحشرة : تم تجميع عدد من البالغات من بعوض Culex pipiens و صنفت طبقاً لـ [18]. تم وضع البالغات في أقفاص التربية(صورة 1) مع تغذيتها على المحلول السكري . عند الحاجة للبيوض تم إدخال طائر الحمام لقفص التربية لمدة محدودة حتى تتحصل الإناث على وجبة الدم الضرورية لنضج البيض ، بعد ذلك تم وضع كؤوس بها ماء مخزن لمدة 4 أيام لوضع البيض مع وضع فتات خبز لضمان تغذية اليرقات . تركت الحشرات تتكاثر لعدة أجيال مع المتابعة الدورية لظروف التربية و التدقيق في فحص و عزل اليرقات لضمان نقاء المزرعة.

صورة 1 : أقفاص تربية الحشرة

تجهيز العينات النباتية للاستخلاص : تم جمع أوراق نبات الدفلة و نقلها إلى المعمل حيث تم تنظيفها بالماء العادي و إزالة الأتربة . تركت تجف في مصافي (للمساعدة في عملية التجفيف) وذلك في أماكن ظليلة جيدة التهوية بعيداً عن أشعة الشمس . تم طحن العينات بعد جفافها بواسطة خلاط كهربائي للحصول على مسحوق وحفظه في أوعية محكمة الإغلاق لحين إجراء عملية الاستخلاص

طريقة استخلاص العينات : تم وزن (250 جم) من مسحوق أوراق الدفلة وتم الاستخلاص بطريقة النقع حيث تم وضع المسحوق في زجاجة بنية وأضيف لها(1000 مل) من مذيب البترولييم إيثر و أغلقت بإحكام و تركت لمدة 72 ساعة مع الرج المستمر بأوقات ثابتة أربع مرات يومياً كل 6 ساعات لمدة 10 دقائق و ذلك لضمان حدوث تلامس تام بين المذيب و المكونات النباتية. بعد (72 ساعة) أجريت عملية الترشيح للحصول على الراشح المحتوي على المكونات النباتية المستخلصة من أوراق الدفلة بواسطة مذيب البترولييم إيثر.

أجريت عملية التبخير باستخدام Rotary evaporator جهاز الذي يعمل على تبخير المذيب ليتبقى المستخلص الخام المطلوب و الذي ينقل إلى زجاجة بنية محكمة الإغلاق بعد وزنه و يحفظ بالمبرد لحين الحاجة لها وأضيف (1000 مل) من مذيب الإيثانول إلى المسحوق المتبقي بعد الترشيح و بنفس الكيفية السابقة تم الحصول على مستخلص المكونات النباتية لنبات الدفلة بهذا المذيب والتي حفظت في المبرد لحين الحاجة [5] .

معاملة اليرقات (العمر الرابع) : استخدمت في هذه التجربة 10 يرقات لكل تركيز من التراكيز المستخدمة 12 ، 6 ، 3 ، 1.5 ، 0.5 و 0.3 جزء في المليون لكل من مستخلص البترولييم ايثر و الايثانول بثلاث تكرارات . تم تحضير التراكيز بطريقة التخفيف حسب [11] حيث تم وضع 250 ملجم من المستخلص الخام لأوراق نبات الدفلة في قارورة قياسية، وإضافة 4 مل من المذيب المستخدم في تجهيز المستخلص الخام ، و كذلك 0.1 مل من Tween80 كمستحلب للمساعدة على امتزاج المستخلص بالماء و إضافة ماء مخزن لإكمال 250 مل لمحلول الستوك و من ثم إجراء التخفيفات لتحضير التراكيز المستخدمة . تم وضع 50 مل من كل تركيز في أكواب بلاستيك و أضيف لها عدد 10يرقات عمر رابع و تم تغطية الأكواب بقطعة من الشاش . حفظت الأكواب تحت ظروف التربية (27+2 C°، 70% +2RH) تم تسجيل نسبة الموت يومياً .

تأثير المستخلصات تحت ظروف مختلفة من درجات الحرارة : تم دراسة تأثير المستخلصات النباتية في ظروف مختلفة تمثلت في استخدام الماء المخزن فقط كبيئة توالد حيث استخدمت في هذه التجربة 10 يرقات (عمر رابع) في أكواب تحوي50 مل من التراكيز المستخدمة من كل مستخلص بثلاث تكررات عند درجة حرارة 27±2 و رطوبة 70 ± 2 . و تغطية الأكواب بقطعة من الشاش و تسجيل نسبة الموت كل يوم. تم تكرار نفس التجربة السابقة بنفس الكيفية عند درجة حرارة 32 ±2 و رطوبة 70 ± 2 . تم إجراء تجربة الشاهد باستخدام ماء مخزن مخلوط بالمذيب المستخدم.

تأثير المستخلصات على نمو و تطور يرقات (العمر الرابع): استخدمت في هذه التجربة 10 يرقات (عمر رابع) لكل تركيز من التراكيز المستخدمة 12 ، 6 ، 3 ، 1.5 ، 0.7 و 0.3 جزء في المليون لكل من مستخلص البترولييم إيثر و الإيثانول لكل نبات بثلاث تكررات . تم وضع 50 مل من كل تركيز في أكواب و أضيف لها عدد 10 يرقات عمر رابع و تغطية

الأكواب بقطعة من الشاش . حفظت الأكواب تحت ظروف التربية (C° 27+2 ، 2RH + 70). تم تسجيل نسبة الموت كل يوم و مدة البقاء في الطور اليرقي و عدد العذارى الناتجة من اليرقات المعاملة و مدة بقائها في طور العذراء و نسبة خروج البالغات.

التحليل الإحصائي : تم تحليل النتائج إحصائياً بتحليل التباين (ANOVA) باستخدام البرنامج الإحصائي (SPSS V.12.0) وتم مقارنة المتوسطات باستخدام اختبار أقل فرق معنوي LSD و المعادلة التالية :

$$Yij = \mu + Ti + eij$$

حيث :

Yij = الصفة المراد قياسها μ = المتوسط العام Ti = تأثير التركيز eij = الخطأ التجريبي .

النتائج و المناقشة

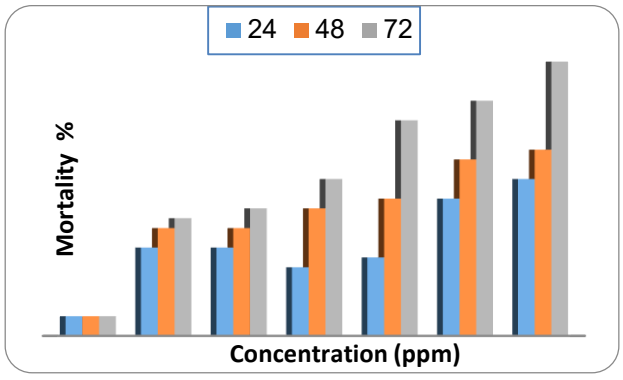
تأثير مستخلصات أوراق الدفلة على نسب الموت ليرقات العمر الرابع في الماء المخزن عند درجة حرارة 27± 2 :

مستخلصات أوراق الدفلة أدت إلى تأثير معنوي على يرقات العمر الرابع . هذا التأثير ازداد مع زيادة فترة التعرض ، حيث أدت التراكيز المستخدمة من مستخلص الإيثانول لأوراق الدفلة إلى تأثير معنوي تمثل في نسب موت بلغت 26.66 ، 46.66 و 53.33 % للتراكيز 3.0 ، 6.0 وppm 12.0 على التوالي بعد 24 ساعة من المعاملة . بينما أدت التراكيز المختبرة إلى ارتفاع عالي المعنوية في التأثير بعد 48 ساعة من خلال نسب الموت التي بلغت 46.66 ، 60.00 و 63.33 % للتراكيز 3.0 ، 6.0 و 12.0 جزء في المليون على التوالي مقارنةً بالشاهد و الذي بلغت نسبة الموت فيه 6.66 % بعد مرور 72 ساعة من المعاملة (جدول1صورة 2). مستخلص البتروليم إيثر لأوراق الدفلة كان الأكثر تأثيراً مقارنةً بمستخلص الإيثانول ، حيث أدى إلى تأثير عالي المعنوية على اليرقات المعاملة و بلغت نسب الموت 56.66 ، 56.66 و 66.66 % للتراكيز 3.0 ، 6.0 و 12.0 جزء في المليون على التوالي بعد مرور24 ساعة من المعاملة مقارنةً بالشاهد 6.66 %. نسب الموت ازدادت بزيادة فترة التعرض حيث بلغت 80.00 ، 90.00 و 93.33 % للتراكيز 3.0، 6.0 و 12.0 جزء في المليون على التوالي بعد 48 ساعة من المعاملة بالمقارنة كانت نسبة الموت للشاهد 6.66 % . أما بعد مرور 72 ساعة من المعاملة كان لمستخلص البتروليم إيثر تأثير عالي المعنوية ، حيث بلغت نسب الموت 96.66 % للتراكيز 3.0 ، 6.0 و 12.0 جزء في المليون بينما بلغت نسبة الموت 10.00 % للشاهد (جدول 2 صورة 3).

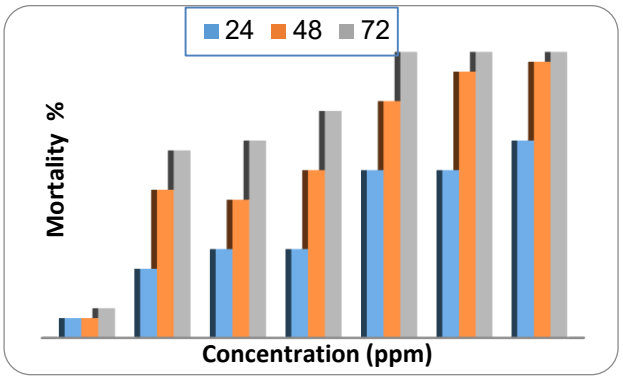
جدول (1) تأثير مستخلص الإيثانول لأوراق الدفلة على نسب الموت ليرقات العمر الرابع

Extract	Con. (ppm)	24h				48h				72h			
		27		32		27		32		27		32	
		Mean ± SE		Mean ± SE		Mean ± SE		Mean ± SE		Mean ± SE		Mean ± SE	
Ethanol	0	6.6	3.3	0.0	0.0	6.6	3.3	6.6	3.3	6.6	3.3	6.6	3.3
	0.3	30.0	11.5	16.6	8.8	36.6	12.0	30.0	5.7	40.0	11.5	43.3	6.6
	0.7	30.0	11.5	26.6	6.6	36.6	8.8	33.3	6.6	43.3	12.0	53.3	6.6
	1.5	23.3	6.6	30.0	5.7	43.3	3.3	40.0	11.5	53.3	3.3	73.3	6.6
	3.0	26.6	3.3	33.3	24.0	46.6	6.6	40.0	20.0	73.3	3.3	80.0	0.0
	6.0	46.6	3.3	40.0	11.5	60.0	5.7	43.3	8.8	80.0	5.7	83.3	3.3
	12.0	53.3	3.3	43.3	8.8	63.3	8.8	60.0	11.5	93.3	3.3	93.3	6.6
F test		*		Ns		**		Ns		**		**	
LSD (P = 0.05)		21.62		Ns		22.93		Ns		21.62		16.21	

** : Significant at the 0.01 level . * : Significant at the 0.05 level . Ns : Non-Significant.



صورة 2: تأثير مستخلص الإيثانول لأوراق الدفلة على نسب الموت ليرقات العمر الرابع عند درجة حرارة 27± 2.



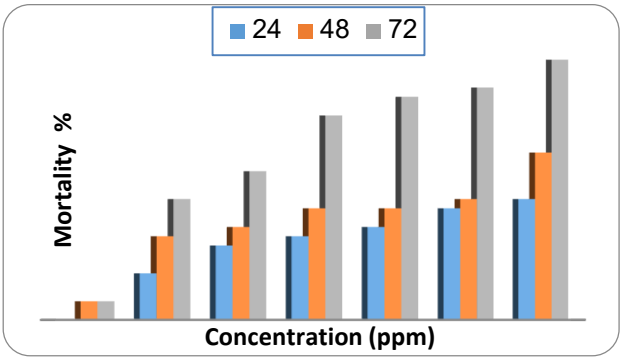
صورة 3: تأثير مستخلص البترولیم إيثر لأوراق الدفلة على نسب الموت ليرقات العمر الرابع عند درجة حرارة 27± 2.

تأثير مستخلصات أوراق الدفلة على نسب الموت ليرقات العمر الرابع في الماء المخزن عند درجة حرارة 32± 2 م°: أظهرت النتائج أن التراكيز المستخدمة من مستخلصات أوراق الدفلة أدت إلى موت اليرقات المعاملة و نسب الموت تناسبت طردياً مع زيادة فترة التعرض ، حيث أدت التراكيز المختبرة إلى تأثير غير معنوي خلال 24 ساعة الأولى من المعاملة و بلغت نسب الموت 33.33 ، 40.00 و 43.33 % للتراكيز 3.0 ، 6.0 و 12.0 على التوالي مقارنةً بالشاهد (0.00 %) ، بينما بلغت نسب الموت بعد 48 ساعة 40.00 ، 43.33 و 60.00 % للتراكيز 3.0 ، 6.0 و 12.0 على التوالي مقارنةً بالشاهد (6.66 %) . هذا التأثير في نسب الموت كان عالي المعنوية بعد 72 ساعة حيث بلغت نسب الموت 80.00 و 83.33 للتراكيز 3.0 و 6.0 على التوالي، وارتفع هذا التأثير ليصل 93.33 % عند التركيز 12.0 في حين بلغت نسبة الموت (6.66 %) عند الشاهد (جدول1 صورة 4) .التراكيز المختبرة من مستخلص البترولیم إيثر كانت الأكثر تأثيراً و كان التأثير عالي المعنوية على اليرقات المعاملة ، حيث بلغت نسب الموت 70.00 ، 73.33 و 80.00 % للتراكيز 3.0 ، 6.0 و 12.0 على التوالي بعد 24 ساعة من المعاملة في حين بلغت نسبة الموت (3.33 %) عند الشاهد . ازداد هذا التأثير بزيادة فترة التعرض، حيث بلغت نسب الموت 80.00 ، 83.33 و 93.33 % للتراكيز 3.0 ، 6.0 و 12.0 على التوالي بعد 48 ساعة من المعاملة مقارنةً بالشاهد (3.33 %) . في حين بلغت نسب الموت 86.66 و 96.66 % للتراكيز 3.0 و 6.0 على التوالي و ازداد التأثير ليصل إلى 100 % للتركيز 12.0 مقارنةً بنسبة موت 3.33 % للشاهد بعد مرور 72 ساعة من المعاملة (جدول 2 صورة 5).

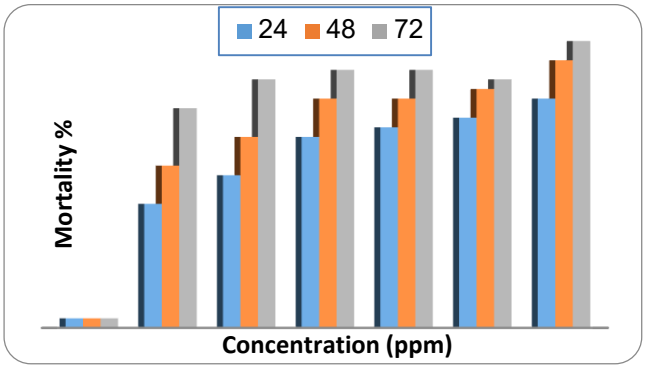
جدول (2) تأثير مستخلص البترولیم إيثر لأوراق الدفلة على نسب الموت ليرقات العمر الرابع

Extract	Con. (ppm)	24h				48h				72h			
		27		32		27		32		27		32	
		Mean ± SE		Mean ± SE		Mean ± SE		Mean ± SE		Mean ± SE		Mean ± SE	
Petr.Ether	0	6.6	3.3	3.3	3.3	6.6	3.3	3.3	3.3	10.0	5.7	3.3	3.3
	0.3	23.3	3.3	43.3	3.3	50.0	5.7	56.6	3.3	63.3	3.3	76.6	3.3
	0.7	30.0	5.7	53.3	3.3	46.6	8.8	66.6	3.3	66.6	3.3	86.6	3.3
	1.5	30.0	0.0	66.6	6.6	56.6	3.3	80.0	5.7	76.6	3.3	90.0	5.7
	3.0	56.6	8.8	70.0	5.7	80.0	5.7	80.0	5.7	96.6	3.3	86.6	3.3
	6.0	56.6	3.3	73.3	6.6	90.0	5.7	83.3	3.3	96.6	3.3	96.6	3.3
	12.0	66.6	3.3	80.0	5.7	93.3	3.3	93.3	3.3	96.6	3.3	100.0	0.0
F test		**		**		**		**		**		**	
LSD (P = 0.05)		14.30		15.76		16.66		12.68		11.47		10.81	

** : Significant at the 0.01 level . * : Significant at the 0.05 level . Ns : Non-Significant.



صورة 4: تأثير مستخلص الإيثانول لأوراق الدفلة على نسب الموت ليرقات العمر الرابع عند درجة حرارة 32± 2 مْ.



صورة5: تأثير مستخلص البترولم إيثر لأوراق الدفلة على نسب الموت ليرقات العمر الرابع عند درجة حرارة 32± 2 مْ.

العديد من الدراسات تشير إلى أن المركبات الفعالة المستخلصة من بعض النباتات لها تأثير فعال ضد الحشرات ، تعمل هذه المستخلصات من خلال تداخلها مع هرمونات الحشرة (Hostettman and Marston , 1995) . نتائج هذه الدراسة أشارت إلى أن المستخلصات النباتية المستخدمة كمبيدات طبيعية أظهرت فاعلية ضد يرقات العمر الرابع لبعوضة Culex pipiens من خلال نسب موت اليرقات المعاملة بلغت 100 % في بعض المعاملات من خلال تسجيل نسب الموت بعد 24 ، 48 و 72 ساعة على التوالي .فعالية المستخلصات المستخدمة سواء إيثانولي أو الايثر بترولي زادت بزيادة فترة التعرض للمستخلص وهذا يتماشى مع نتائج دراسة (محمود، 2010) .

من خلال نتائج هذه الدراسة تبين أن مستخلص البترولييم إيثر كان الأكثر سمية على اليرقات المعاملة مقارنة بمستخلص الايثانول وهذا يتماشى مع ما توصل إليه (Satoto,1993).

الدراسة الحالية أشارت إلى أن الاختلاف في درجات الحرارة فيما بين **27± 2** و **32± 2** مْ تأثير على حساسية اليرقات للمستخلصات النباتية قيد الدراسة حيث ازدادت حساسية يرقات العمر الرابع للمستخلصات بزيادة درجة الحرارة . وهذا يظهر من خلال نسب الموت المسجلة عند **32± 2** مْ و التي تعتبر أعلى من تلك المسجلة عند **27± 2** مْ. الأمر الذي يتفق مع ما توصل إليه (Rueda et al .,1990) كما يتفق مع دراسة (Swain et al ,. 2008) لتأثير درجة الحرارة العالية على يرقات بعوض Culex pipiens .

المراجع

[1]- الزميتي ، محمد سعيد الصالح (1997) . تطبيقات المكافحة المتكاملة للآفات الزراعية ،ط1 ، دار الفجر للنشر و التوزيع ، مصر ، 455 ص.

[2]- الشاذلي ، محمد محمد (2000) . مبادىء علم بيئة الحشرات ،ط1، الدار العربية للنشر و التوزيع القاهرة / مصر، 508 ص .

[3]- شابمان ، ر. ف (1995) . الحشرات التركيب و الوظيفة . ج1 . ط3 . الدار العربية للنشر و التوزيع. القاهرة. مصر . 356 : 370 ص.

[4]- صالح ، مصطفى سليمان (2004) . الحشرات الطبية و البيطرية . ط1 . منشأة المعارف بالإسكندرية / مصر . 423 ص.

[5]- عفيفي ، فتحي عبدالعزيز و عطي ، محمود السيد(2002) . المستخلصات النباتية و الفاعلية البيولوجية . ط1 . مكتبة الثقافة الدينية . بورسعيد . مصر . 388 ص.

[6]- عثمان ، صلاح الدين و برعي ، حسين (2000). المكافحة الحيوية .العلم و الأيمان للنشر و التوزيع ، كفر الشيخ . مصر . 474 ص.

[7]- محمود ، هدى إسماعيل (2010) تأثير المستخلصات النباتية لنبات العشار . عنب الديب و البلبال على الذبابة المنزلية (ذات الجناحين :ماسكيدي). رسالة ماجستير بقسم علم الحيوان.كلية العلوم . جامعة سبها. ليبيا. 109 ص.

[8]- Clements, A.N. (1992). The Biology of mosquitoes : Development , Nutrition and reproduction . Chapman&Hall, London.

[9]- Fradin M.S. and Day J.F. (2002).Comparative efficacy of insect repellents against mosquitoe bite . New

England Journal of Medicine . ; 347 (1): 13-18.

[10]- Hostettman K. and A. Marston (1995). Saponins(chemistry and pharmacology of natural products). Cambridge : Cambridge University :132.

[11]- Murugesan.S.; and Thilagavathy .D .(2008) Evalution of certain insecticidal plants for the control of vector mosquitoes viz. Culex quinquefasciatus, Anopheles stephensi and Aedes aegypti. Appl .Entomol. Zool. 43(1) : 57-63.

[12]- Okogun G.R.;Nwoke B.;Okere A.;Anosike J. and Esekhegbe A. (2003). Epideminological implications of preferences of breeding sites of mosquitoes species in Midwestern Nigeria . Ann Agric Environ med.;10(2):217-222

[13]- Rueda , L. M.; Patel , K. J.; Axtell , R. C.and Stinner, R. E(1990). Temperature-Dependent Development and Survival Rates of Culex quinquefasciatus and Aedes aegypti (Diptera: Culicidae). J. Med. Entomol., 27(5) 892-898(7).

[14]- Satoto TBT.A(1993) Laboratory study of the biological effects of some medicinal plants on Culex tritaeniorhynchus species. Bangkok, Thailand : faculty of Tropical Medicine , Mahidol Univirsity,: 121.

[15]- Sharma , P.,L. Mohan and C.N. Srivastava . (2006). Phytoextract-induced developmental deformities in malaria vector . Bioresource Technology , 97, 1599-1604.

[16]- Spielman,A. and Dantonio,M. (2004). Mosquitoes. Makays of chatham, ple chatham .Kent. 247 PP .

[17]- Swain, V.; Seth, R.; Mohanty , S.and Raghavendra , K. (2008). Effect of temperature on development , eclosion , longevity and survivorship of malathion –resistant and malathion – susceptible strain of Culex Quinquefasciatus . parasitol. Res. 103. (2). 299-303 (5).

[18]- Wayne J.G. (2004). A classification system for mosquito life cycles: life cycle types for mosquitoes of the northeastern United States. Mosquito Research and control, Department of Entomology , Rotgers University New BrunswNJ08901, U.S.A.