تقويم كفاءة مركب الأزدراختين المعزول من ثمار نبات السبحبح *Melia azedarach* L. في أدوار البعوض *Anopheles pulcherrimus* Theobald (Diptera: Culicidae) مختبرياً

Laboratory evaluation of azadirachtin isolated from *Melia azedarach* L. fruits against *Anopheles pulcherrimus* Theobald (Diptera: Culicidae)

نوال صادق مهدي حسين فاضل الربيعي* محمد علي عبد المنعم
كلية التربية ابن الهيثم/ جامعة بغداد
*وزارة العلوم والتكنولوجيا
N. M. Mehdi H. F. Al-Rubeae* M. A, Ali
College of Education/Ibn Al-Haitham/ University of Baghdad
*Ministry of Science and Technology

المستخلص

اجريت الدراسة لتقويم كفاءة تراكيز من مركب الأزدراختين المعزول من ثمار نبات السبحبح *Melia azedarach* في أدوار حياة بعوض *Anopheles pulcherrimus* ، تحت ظروف المختبر . أظهرت النتائج تأثيراً غير معنوياً في نسب فقس البيوض ومعنوياً في نسب هلاك يرقات الطور الثاني والرابع اعتماداً على التركيز مع ظهور نسبة عالية من التشوهات المظهرية في اليرقات الميتة، كانت يرقات الطور الثاني أكثر حساسية من يرقات الطور الرابع، ووجد ان الـ LC_{50} والـ LC_{90} عند معاملة يرقات الطور الثاني كانا 35.99 و67.99 جزء من المليون على التوالي وليرقات الطور الرابع 63.09 و139.8 جزء من المليون على التوالي . وجد كذلك ان المدة اللازمة لأكمال الدور اليرقي اصبحت أطول بصورة معنوية عند معاملة يرقات الطور الثاني والرابع مقارنة باليرقات غير المعاملة .

كلمات مفتاحية : أزدراختين ، ثمار السبحبح ، بعوض الانوفلس

Abstract

Efficacy of different concentration of azadirachtin isolated from fruits of *Melia azedarach* was investigated on the different stages of *Anopheles pulcherrimus* under lab. condition. Results showed that there was non-significant reduction in eggs hatching rate. There were high significant in larval mortalities which were depending on concentration. Different larval deformities were found. Second instars larvae were more sensitive then fourth larva instar , LC_{50} and LC_{90} for the second instars larvae were 35.99 and 67.99 ppm respectively and for the fourth instars larvae it was 63.09 and 139.8 respectively, significant prolongation in larval development period.

Key words: azadirachtin, *Melia azedarach, Anopheles pulcherrimus*

المقدمة

الازدراختين مركب عضوي طبيعي يعود الى مجموعة الـ Tetranorterpenoids وهو من اقوى المركبات العضوية ذات الاصل النباتي. تركيبه الكيميائي يشابه هرمونات الانسلاخ المسماة الاكدايسون التي تسيطر على عمليات التشكل في الحشرات [1]. عُزل لاول مرة من اشجار النيم *Azadirachta indica* (A. Juss) التابع للعائلة الزنزلختية Meliceae وعرف تركيبه الكيميائي ($C_{35}H_{44}O_{16}$) من قبل [2]. وجد ان لهذا المركب تأثيراً مانعاً للتغذية ووضع البيض ومثبط لنمو وتطور الحشرات [3]. وقد اجريت الكثير من التجارب المختبرية والحقلية حول استخدام هذا المركب في السيطرة على مختلف الآفات الزراعية ولا سيما الحشرات نباتية التغذية من رتبتي حرشفية الاجنحة وغمدية الاجنحة [4، 5، 6] كما شخصت فعاليته الشديدة تجاه العديد من الحشرات ذات الاهمية الطبية [7].

يعد جنس الانوفلس الاكثر أهمية طبية من الناحية الطبية ضمن الانواع التي تنتمي الى عائلة البعوض (Culicidae) [8]. ينتشر في جميع انحاء العالم ويكثر في المناطق الاستوائية والمعتدلة ومنها العراق وتُعد العديد من انواعه المسؤولة الوحيدة عن نقل مرض الملاريا [9]. وبقدر ما يعتقد ان عمليات مكافحة البعوض والقضاء عليه من العمليات السهلة نسبياً مقارنة بالآفات الحشرية الاخرى الا ان ما تم من جهود دولية في هذا الاطار لم يؤدي الى تحقيق الاهداف المرسومة بصورة مثلى وذلك بسبب العديد من العوامل منها ظهور المقاومة في كثير من انواع البعوض تجاه المبيدات المستخدمة [10، 11]. وتبعاً لذلك اضطر الانسان الى التفكير في ايجاد طرائق اخرى منها استخدام المبيدات ذات الاصل النباتي.

إن البحث عن هذه المبيدات يستند على أساس كونها ذات ضرر أقل في النظام البيئي أذ تتميز بالامان النسبي للانسان والاحياء الاخرى ذات الدم الحار فضلاً عن قابليتها للتحلل السريع في البيئة وفعاليتها الشديدة تجاه الآفات ومنها الحشرات وقد وجد ان اكثر المركبات فعالية والتي استطاع الانسان الحصول عليها من النباتات هي تلك التي استخلصها من ازهار البايرثرم *Chrysanthemum* والتي تم تصنيعها خلال الخمسينيات [12]. ومن المركبات المهمة ايضاً تلك التي تعرف بـ Limonoids وهي مركبات معقدة التراكيب خماسية الحلقة تتواجد في بعض العوائل النباتية منها Rutaceae والـ Meliaceae والـ Simaroubaceae تتميز هذه المركبات بطعمها المر وبفعاليتها الفسلجية الشديدة ضد الاصابة بالحشرات والاحياء الاخرى [13]. ومن المركبات الكيميائية التي تعود لمجموعة الـ Limonoids مركبا Solannin والـ Meliantriol اللذان امكن عزلهما بصورة نقية من بعض انواع العائلة الزنزلخية Meliaceae مثل النيم والسبحبح ووجد بأن لهما فعالية شديدة تجاه العديد من الآفات الحشرية المخزنية والمن والجراد [14]. الا انه يبقى مركب

الازدراختين من اهم المركبات التي تعود لمجموعة الـ Limonoids والذي أمكن عزله من اشجار النيم والسبحبح [15، 16]. لذا هدف البحث الى دراسة تأثير تراكيز من مركب الازدراختين الذي تم عزله من ثمار نبات السبحبح *Melia azedarach* المستزرع في بغداد في ادوار بعوض الانوفلس *Anopheles pulcherrimus*.

المواد وطرائق العمل

1 - تربية مستمرة البعوض: لغرض الحصول على ادوار البعوض المختلفة تمت تربية واكثار مستعمرة مختبرية في غرفة خاصة درجة حرارتها 27±2 م ورطوبتها النسبية 80±5 % ومدة اضاءة 12 ساعة جمعت بالغات برية حية من ناحية الكفل في محافظة بابل. وضعت البالغات في اقفاص خاصة للتربية ذي هيكل معدني مكعب الشكل (30×30×30 سم) مغلق بقماش التول وجهز القفص بطبق بتري قطره 9 سم يحوي طبقة رقيقة من القطن المرطب بالماء المقطر والمغطى بورقة ترشيح لغرض وضع البيض كما جهزت الاقفاص بطبق بتري صغير قطره 5 سم يحوي قطنة مشبعة بمحلول سكري تركيزه 10% لغرض تغذية البالغات الذكور ولغرض تغذية الاناث وضع طبق بتري يحوي 2-3 من صغار الفئران (عمر ثلاث ايام) داخل القفص لمدة 24 ساعة. نقلت البيوض التي وضعت من قبل البالغات على اوراق الترشيح بحذر بواسطة فرشاة ناعمة الى احواض تربية سعة 6×25×35 سم والحاوية على 2 لتر من محلول 0.08% ملح الطعام غذيت بأضافة 1 غم من مسحوق عليقة الارانب [17]. شخصت النماذج الحقلية اعتماداً على [18].

2 - جمع ثمار النبات وعزل وتنقية مركب الازدراختين: جمعت ثمار اشجار السبحبح *Melia azedarach* من اشجار في مناطق متفرقة من بغداد وتم تشخيصها من قبل المعشب الوطني العراقي في ابي غريب. تركت الثمار في الظل وطحنت بمطحنة كهربائية 50-60 mesh ولغرض عزل مركب الازدراختين اتبعت طريقة [19]. تم الكشف وتنقية المركب استناداً الى [20].

3 - دراسة تأثير تراكيز من مركب الازدراختين في ادوار بعوض الانوفلس: لدراسة تأثير التراكيز 5، 10، 25، 50، 100 جزء في المليون اتبعت طريقة [17] لمعرفة تأثيرها في الادوار غير البالغة (بيوض، يرقات وعذارى). ولدراسة تأثير التراكيز 50، 100، 250، 500 جزء في المليون في البالغات اتبعت طريقة [21]. وذلك بأستخدام جهاز اختبار حساسية البالغات للمبيدات.

4 - عند حساب النسب المئوية لهلاكات اليرقات والعذارى والبالغات صححت النسب المئوية استناداً الى معادلة [22]. وحددت معنوية الاختلافات بين المعدلات بأستخدام اختبار دنكن (Duncun test) عند مستوى معنوية $P \leq 0.01$ بأستخدام البرنامج الاحصائي الجاهز [23] حسبت التراكيز القاتلة لـ 50 ،90% والميل على اساس قيم المشاهدات بضمنها قيم مشاهدات السيطرة بأستخدام برنامج Probit analysis.

النتائج

يظهر في جدول (1) ان النسب المئوية لفقس البيوض المعادلة بالتراكيز 5-100 جزء بالمليون من مركب الازدراختين المعزول من ثمار السبحبح تراوحت بين 83.07-91.49 على التوالي وبدون فروق معنوية.

جدول (1): تأثير مركب الأزدراختين في معدل فقس بيوض بعوض *An. pulcherrimus*

التركيز ج.ف.م	معدل نسبة فقس البيض ± الخطأ القياسي
5	**1.76±91.49 a**
10	**3.42±86.79 a**
25	**3.64±86.59 a**
100	**4.37±83.07 a**

الحروف الإنكليزية المتشابهة تعني عدم وجود فروق معنوية حسب اختبار دنكن متعدد الحدود وبمستوى معنوية $p \leq 0.01$

اما عند معاملة يرقات الطور الثاني والرابع بنفس التراكيز اعلاه فقد سجلت نسب هلاكات بلغت 12.25-93.33 للطور الثاني و 5.17-63.74 للطور الرابع وبفروق معنوية بين التراكيز المستخدمة وسجلت اعلى نسبة للتشوهات 35.71% عند معاملة يرقات الطور الرابع بالتركيز 100 جزء بالمليون وتم تحديد التركيز القاتل لـ 50 و90% في اليرقات المعاملة من الطور الثاني بـ 35.99 و67.99 جزء بالمليون على التوالي وللطور الرابع 63.09 ،139.8 جزء بالمليون على التوالي عند معاملة يرقات الطور الرابع جدول (2).

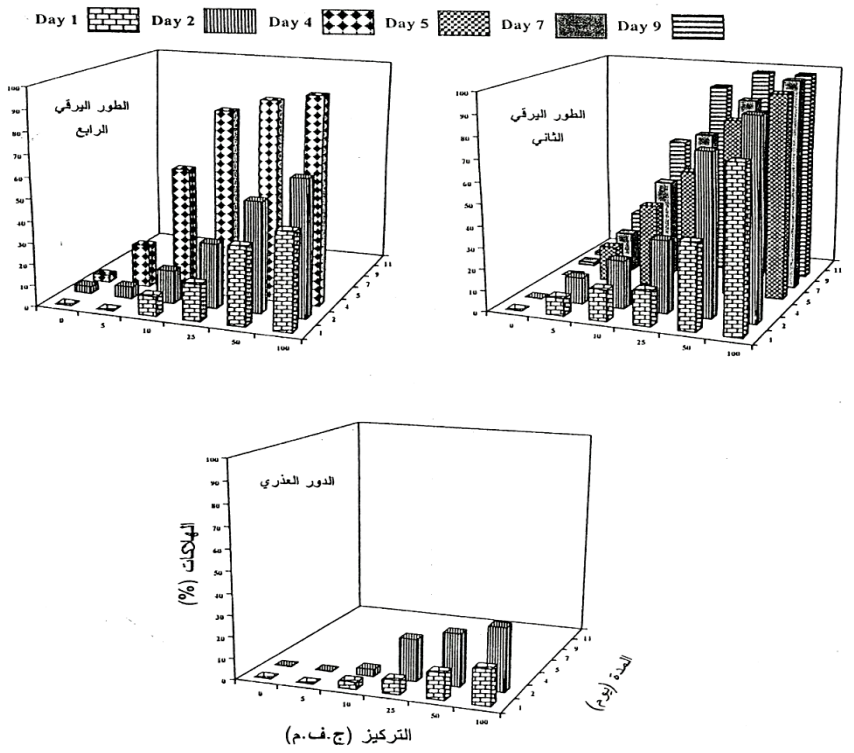
جدول (2): معدل نسب الهلاك المصححة ونسب التشوهات في يرقات وعذارى بعوض الأنوفلس *An. pulcherrimus* المعاملة بتراكيز من مركب الأزدراختين.

التركيز ج.ف.م	الطور اليرقي الثاني		الطور اليرقي الرابع		الدور العذري	
	الهلاكات% ± الخطأ القياسي	التشوهات %	الهلاكات% ± الخطأ القياسي	التشوهات %	الهلاكات% ± الخطأ القياسي	التشوهات %
5	A** 3.19±12.25 c*	16.66	A 3.53±5.17 c	0.00	A 0.00±0.00 b	0.00
10	A 2.79±22.66 bc	21.52	AB 3.93±15.19 bc	20.00	B 3.33±3.33 b	0.00
25	AB 4.21±34.37 b	23.80	A 11.20±38.06 ab	30.03	B 3.33±6.67 ab	0.00
50	A 6.53±76.24 a	25.13	B 1.85±51.85 a	38.70	C 2.89±12.42 ab	0.00
100	A 3.33±93.33 a	35.71	B 4.69±63.74 a	40.50	C 3.33±16.67 a	0.00
ت.ق. 50	35.99		63.09		158.5	
حدود الثقة ت.ق. 50	33.18-38.8		55.57-70.61		121-196	
ت.ق. 90	67.99		139.8		251.8	
حدود الثقة ت.ق. 90	67.99-73.75		120.8-158.8		181.2-322.4	
الخطأ ±الميل القياسي	0.0085±0.0686		0.0051±0.02865		0.0086±0.0235	

*** الحروف الإنكليزية الصغيرة المتشابهة عمودياً تعني عدم وجود فروق معنوية حسب اختبار دنكن متعدد الحدود وبمستوى معنوية ($p \leq 0.01$).**

**** الحروف الإنكليزية الكبيرة المتشابهة أفقياً تعني عدم وجود فروق معنوية حسب اختبار دنكن متعدد الحدود وبمستوى معنوية ($p \leq 0.01$).**

ويلاحظ من شكل (1) ان استمرار تعريض اليرقات لتراكيز المركب المذكور يزيد من نسب هلاكتها التراكمي بصورة طردية أذ كان هناك هلاك كامل بعد مرور تسعة ايام عند المعاملة بالتركيزين 50 و100 جزء بالمليون.



شكل (1): معدل نسب الهلاك التراكمي ليرقات وعذارى بعوض الانوفلس *An. Pulcherrimus* المعاملة بتراكيز من مركب الازدراختين.

كما وتشير النتائج الموضحة في جدول (3) ان استمرار تعريض اليرقات لمركب الازدراختين ادى الى زيادة الفترة اللازمة لاكمال دروها اليرقي اذ اصبحت 10.33 و10.67 يوم عند معاملة يرقات الطور الثاني بالتراكيز 25 و50 جزء بالمليون على التوالي في حين كانت ثمانية ايام فقط في معاملة السيطرة في حين لم تُؤثر المعاملة في فترة الدور العذري.

جدول (3): تأثير مركب الأزدراختين في المدة الزمنية اللازمة لإكمال دورة حياة الطور اليرقي الثاني والرابع وعذارى بعوض الأنوفلس *An. pulcherrimus*.

التركيز ج.ف.م	المدة الزمنية اللازمة لإكمال دورة الحياة (يوم) ± الخطأ القياسي		
	الطور اليرقي الثاني	الطور اليرقي الرابع	الدور العذري
5	0.00±8.00 b	0.00±4.00 b	0.00±2.00 a
10	0.33±8.67 ab	0.00±4.00 b	0.00±2.00 a
25	0.33±10.33 a	0.33±4.67 ab	0.00±2.00a
50	0.33±10.67 a	0.33±4.76 ab	0.00±2.00 a
100	**	0.33±5.76 a	0.00±2.00 a

***الحروف الإنكليزية المتشابهة في كل عمود تعني عدم وجود فروق معنوية حسب اختبار دنكن متعدد الحدود وبمستوى معنوية ($p \leq 0.01$).**
**** لم تحدد المدة لكون جميع اليرقات هلكت قبل الوصول لدور البالغة.**

اثرت معاملة اليرقات بتراكيز المركب في نسب بزوغ البالغات منها حيث كان هناك تثبيط كامل للبزوغ عند معاملة يرقات الطور الثاني بالتراكيز 50 ،100 جزء بالمليون وتثبيط بزوغ بنسبة 96.67 عند معاملة يرقات الطور الرابع بالتركيز 100 جزء بالمليون. اما عند معاملة العذارى فكانت نسب التثبيط اقل اذ بلغت 30% عند المعاملة بالتركيز 100 جزء بالمليون جدول (4).

جدول (4): تأثير مركب الأزدراختين في تثبيط بزوغ بالغات بعوض الأنوفلس *An. Pulcherrimus*

التركيز ج.ف.م	الخطأ القياسي±معدل نسبة تثبيط بزوغ البالغات		
	الطو اليرقي الثاني	الطور اليرقي الرابع	الدور العذري
5	2.36±24.37 c	6.28±19.89 c	0.00±0.00 b
10	4.96±62.86 b	6.78±58.92 b	3.33±3.33 b
25	5.81±91.50 a	3.59±87.15 a	0.00±2.00 a
50	0.00±100.0 a	3.33±93.33 a	5.78±24.85 a
100	0.00±100.0 a	3.33±96.67 a	0.00±30.00 a

*** الحروف الإنكليزية المتشابهة تعني عدم وجود فروق معنوية حسب اختبار دنكن متعدد الحدود وبمستوى معنوية ($p \leq 0.01$).**

يؤثر مركب الازرداختين في بالغات بعوض الانوفلس *An. Pulcherrimus* بنسبة ضئيلة هلاكات تراوحت 0.18-3.70 عند المعاملة بالتركيز 50-500 جزء بالمليون على التوالي وتم تحديد التركيز القاتل لـ 50 و90% من الحشرات المعاملة بـ 3010-6572 جزء بالمليون على التوالي جدول (5).

جدول (5): تأثير مركب الأزدراختين في هلاك بالغات بعوض الأنوفلس *An. pulcherrimus*.

التركيز ج.ف.م	معدل النسبة المئوية لهلاك البالغات (مصححة) ± الخطأ القياس
50	1.25±0.18 a*
100	4.33±3.52 a
250	8.76±6.21 a
500	8.67±3.70 a
ت.ق. 50	3010
ت.ق. 90	6572
الميل	0.00061

*** الحروف الإنكليزية المتشابهة تعني عدم وجود فروق معنوية حسب اختبار دنكن متعدد الحدود وبمستوى معنوية ($p \leq 0.01$).**

المناقشة

اظهرت النتائج ان معاملة بيوض يعوض الانوفلس بتركيز مركب الازدراختين لم تؤثر معنوياً في نسب فقس البيوض وهذه النتيجة تتفق مع [24، 25] اذ اشاروا الى ان منتجات نبات النيم التي تتضمن مركب الازدراختين تكون غير فعالة تجاه البيوض الا ان تأثيراتها المتبقية غالباً ما تكون فعالة في الاطوار غير البالغة والناتجة من فقس تلك البيوض. كان لمعاملة يرقات البعوض بتراكيز مركب الازدراختين تأثيراً كبيراً جداً في نسب هلاكاتها وكان هذا التأثير معتمداً على التراكيز حيث ان نسب الهلاكات تتناسب طردياً مع التراكيز المستخدمة وقد اكد هذه النتيجة [26] حيث اوضحا ان معاملة يرقات بعوض *An. pulcherrimus* و *Cx. quinquefasciatus* بتراكيز متزايدة من مبيد Neemarin الحاوي على مركب الازدراختين يزيد من نسب هلاكها كلما ازداد التركيز المستخدم . وقد تم تسجيل حالات من التشوهات تمثلت بظهور بقع سوداء في منطقة الصدر والبطن وحالات انسلاخ جزئي اتفقت هذه

النتيجة مع [27] حيث ذكر ان اليرقات الميتة بسبب المعاملة بالازدراختين يحدث فيها انتفاخ بالصدر مع ظهور بقع سوداء وموتها اثناء الانسلاخ. واشارت نتائج هذا البحث الى ان المعاملة بتراكيز محددة من مركب الازدرختين يؤدي الى اطالة المدة الزمنية اللازمة ليرقات الطور اليرقي الثاني والرابع لاكمال دورة الحياة والتحول الى بالغة التي تكون مزعجة للانسان ومتغذية على الدم وناقلة للامراض، هذا يتطابق مع ما وجده [28] الى ان حقن حوريات الصرصر الامريكي *Periplantia americana* بتركيز 0.75 ملغم/ مل من مركب الازدراختين يؤخر انسلاخها وبلوغها دور البالغة بمقدار 15 يوم مقارنة بالحوريات غير المعاملة. كان للمركب تأثيراً كبيراً في هلاك اليرقات وقد يعزى السبب في ذلك الى تأثيره في خلايا القناة الهضمية اذ اشارت البحوث [27، 28] الى ان هذا المركب يؤدي الى تحلل الطبقة العضلية الطولية وعدم تميز الغشاء القاعدي وانفصال طبقة العضلات الدائرية وانحلال البطانة الطلائية وكذلك تأثيره في الغدد الصم للحشرة والمسؤولة عن افراز الهرمونات الخاصة بعملية الانسلاخ. وقد وجد ان الحشرات المعاملة بالمركب تعاني من عدم انتظام افراز مستوى هرمون الانسلاخ في الدم مما يؤدي الى تأخر عملية الانسلاخ وبالتالي زيادة المدة اللازمة لاكمال دورة الحياة [25، 29]. يؤثر مركب الازدراختين كذلك في بالغات الحشرات سواء كان عن طريق الملامسة او الحقن داخل الجسم وقد وجد ان تأثيره يكون اكبر اذا ما حقن بتراكيز معينة داخل جسم الحشرة وقد اظهرت نتائج هذا البحث ان معاملة البالغات عن طريق الملامسة بتراكيز من هذا المركب يؤدي الى هلاكها . هذه النتيجة تتفق مع [30] اذ وجد ان معاملة بالغات الصراصر *Blatta orientalis* سطحياً بمركب الازرداختين يؤدي الى هلاكها ووجد كذلك ان لمركب الازرداختين تأثير مميت لاغلب الآفات الحشرية منها *Tribolium castanum* و *Schistocerca gregaria* و *Solanum lycopersicum* و *Rhynchophorus ferrugineus* [31، 32، 33، 34].

واخيراً نستنتج ان مركب الازرداختين له تأثيراً مميتاً في يرقات وعذارى وبالغات البعوض و يؤخر نموها وانسلاخها ويؤدي الى ظهور تشوهات فيها، لذا يمكن ان يكون فعالاً جداً في الحد من انتشار هذه الحشرة والسيطرة على الامراض التي تقوم بنقلها .

المصادر

1. Verch, G. E., Boyer, A. and Ley, S.V. (2008). The azadirachtin story. Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 47:9402-9429.
2. Zanno, P. R., Miura, I. and Nakanishi, K. (1975). Structure of the insect phagorepellent, Azadirachtin, Application of PRFT/CWD carbon-13. Nuclear magnetic resonance. J. Am. Chem. Soc. 97: 1975-1977.
3. Aerta, R. J. M. (1997). Feeding and toxicity of neem triterpenoids. J. Chem. Ecol. 23: 2117-2132.
4. Akhter, Y., Yeoung, Y. R. and Isman, M. B. (2008). Comparative bioactivity of selected extract from Meliaceae and some commercial botanical insecticides against two Noctuids (Caterpillars, *Trichoplusia ni* and *Pseudodaletia unipuncta*. Phytochem. Rev. 7: 77-88.
5. Xic, Y. C., Fields, P. G. and Isman, M. B. (1995). Repellency and toxicity of azadirachtin and neem concentration to three stored-product beetles. J. Econ. Entomol. 88(4): 1024-1031.
6. Cherry, R. and Nuessly, G. (2010). Repellency of the biopesticide, azadirachtin, to wireworms (Coleoptera: Elateridae) florida. Entomologist. 93(1): 52-55.
7. Mulla, M. S. and Su, T. (1999). Activity and biological effects of neem product against arthropods of medical and veterinary importance. J. Am. Mosq. Control. Assoc. 15: 133-152.
8. Eldrige, B. F. and Edman, J. D. (eds.) (1999). Medical Entomology. A textbook on public health and veterinary problems caused by arthropods. Kulwer Academic Publisher. 659 pp.
9. Rozendaal, J. A. (1997). Vector control, methods for use by individuals and communities. World Health Organization, Geneva. 412 pp.
10. Raafat, H. R. (1974). DDT as chemical insecticide and the biological control. Bull. End. Dis. Baghdad. 15: 63-70.
11. Raghavendra, K., Barik, T. K., Niranjan, R. B. P., Sharma, P. and Dash, A. P. (2011). Malaria vector control from past to future. Parasit. Res. 108: 757-779.
12. Balandrin, M. F., Klocke, J. A., Wurtele, E. S. and Bollinger, W. H. (1985). Natural plant chemicals: Sources of industrial and medicinal materials. Science. 228: 1154-1160.
13. Harborne, J. B. (1984). Phytochemical method, A guide to modern technique of plant analysis. Chapman and Hall, 2nd ed. New York. 288 pp.
14. Warthen, J. D. Jr. (1979). *Azadirachta indica*: a source of insect feeding inhibitors and growth regulators. U.S.D.A. SEA. Agric. Revs. Manual ARM-NE-4.
15. Butterworth, J. H. and Morgan, E. D. (1968). Isolation of a substance that supresses feeding in locust. J. Chem. Soc. Commun. pp: 23-24.
16. Morgan, E. D. and Thornton, M. D. (1973). Azadirachtin in the fruit of *Melia azedarach*. Phytochemistry., 12: 391-392.
17. مهدي، نوال صادق مهدي؛ الربيعي، حسين فاضل وعبد المنعم، محمد علي . (2005). تأثير المستخلصات الخام لثمار نبات السبحبح *Melia azedarach* في الاداء الحياتي لبعوض *Anopheles pulcherrimus* (Diptrea: Culicidae). مجلة ابن الهيثم للعلوم الصرفة والتطبيقية. 18: 23-37.
18. Pringle, G. (1954). The identification of the adult anopheline mosquitoes of Iraq and Neighbouring territories. Bull. End. Dis. Baghdad Vol. 1: 66-93.
19. Yamasaki, R. B., Kloke, J. A., Lee, S. M., Stone, G. A. and Darlington, M. V. (1986). Isolation and purification of azadirachtin from neem (*Azadirachtin indica*) seeds using flash chromatography and high-performance liquid chromatography. J. Chromatog. 356: 220-226.

20. مهدي، نوال صادق؛ الربيعي، حسين فاضل وعبد المنعم، محمد علي (2012). عزل وتشخيص مركب الازدراختين من ثمار نبات السبحبح *Melia azedarach* (Meliaceae). مجلة ابن الهيثم للعلوم الصرفة والتطبيقية . 25(2): 308-315.

21. WHO. (1981). Instructions for determining the susceptibility or resistance of adult mosquitoes organochlorine, organophosphate and carbamate insecticides-diagnostic test. WHO/VBC/81-806. 7 pp.

22. Abottm W. S. (1925). A method for computing the effectiveness of insecticides. J. Econ. Entomol. 18: 265-267.

23. SAS. (1996). SJAT Guide for personal computers releases 6-12 SAS Institute Inc. Cary. N. C. USA.

24. Schmutterer, H. (1988). Potential of azadirachtin-containing pesticides for integrated pest control in developing and industrialized countries. J. Insect Physiol. 34: 713-719.

25. Schmutterer, H. (1990). Properties and potential of natural pesticides from the neem tree, *Azadirachta indica*. Ann. Rev. Entomol. 35: 271-279.

26. Vatandoos, H. and Vaziri, V. M. (2004). Larvicidal activity of a neem tree extract (Neemavin)against mosquito larvae in the Islamic repuplic of Iran Eastern Mediterranean Health Journal. 10, 415: 573-581.

27. Al-Sharook, Z. M., Balan, K., Jiang, Y. and Rembold, H. (1991). Insect growth inhibitors from two tropical Meliaceae effect of crude seed extracts on mosquito larvae. J. Appl. Entomol. 111: 425-430.

28. Quadri, S. H. and Narsaiah, J. (1978). Effect of azadirachtin on the molting process of last instar nymphys of *Periplaneta americana* L. Indian J. Exp. Biol. 16: 141-145.

29. ياسين، الفت تحسين؛ محمود، صفاء محمد وكوكيس، نجم شليمون (2004). تأثير المستخلص المائي لاوراق السبحبح في نمو المبيض وتطوره والتركيب النسجي للقناة الهضمية الوسطى في الذباب المنزلي. المجلة العراقية للعلوم البيطرية . 22(2): 141-149.

30. Tine, S., Aribi, N. and Soltan, N. (2011). Laboratory evaluation of azadirachtin against the oriental cockroach, *Blatta orentalis* L. (Dictyoptera: Blattellidae): Insecticidal activity and reproductive effects. Afr. J. Biotechnol. 10(85): 19816-19824.

31. Athanassiou, C. G., Kontodimas, D. C., Kavallieratos, N. G. and Veroniki, M. A. (2005). Insecticidle effect of Neem Azal against three stored product beetle species on rye and oats. J. Econ. Entomol. 98: 1733-1738.

32. Hamadh, K. S. (2009). Some developmental haematological and enzymatic effects of certain plant extracts on the desert locust *Schistocerca gregaria* (Orthoptera: Acrididae). Ph.D. Thesis Fac. Sci. Al-Azhar. Unv. Cairo, Egypt.

33. El-Shafie, H. A. F. and Abdelraheem, B. A. (2012). Field evaluation of three biopesticides for integrated management of major pests of tomato, *Solanum lucopersicum* in Sudan. Agric. Biol. J. N. Am. 3(9): 340-344.

34. Hamadah, KH. SH. And Tanani, M. A. (2013). Laboratory studies to compare the toxicity for three insecticides in the red palm weevil *Rhynchophorus ferrugines.* IJBPAS. 2(3): 506-619.