وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة ديالى

كلية التربية للعلوم الصرفة

قسم علوم الحياة

القدرة الامراضية والتغاير الوراثي الجزيئي لبعض العزلات المحلية لفطر (Met.) *Metarhizium anisopliae* في مكافحة ذبابة البحر الأبيض المتوسط (Wie.) *Ceratitis capitata* (Diptera : Tephritidae)

رسالة مقدمة الى مجلس

كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة ديالى وهي جزء من متطلبات نيل

درجة الماجستير في علوم الحياة / علم الحيوان

من قبل الطالب

حيدر شمّر عباس

بكلوريوس علوم الحياة 2009

بإشراف

د. عمار احمد سلطان

استاذ مساعد

كانون الثاني 2018 م

د. باسم شهاب حمد

باحث علمي اقدم

ربيع الثاني 1439 هـ

1. المقدمة :

تعد ذبابة فاكهة البحر الأبيض المتوسط *Ceratitis capitata* (Wiedemann, 1824) (Diptera: Tephritidae) واحدة من أكثر الآفات تدميراً للمحاصيل البستانية (Malacrida وآخرون ، 2007) ، إذ تتغذى على أكثر من 300 نوع من الفواكه والخضروات (Aluja و Mangan ، 2008) . تعد الحمضيات العائلة الأكثر تضرراً من هذه الآفة على مستوى العالم وكذلك بعض الفواكه النفضية كالخوخ والكمثرى والتفاح وغيرها ، إذ تتغذى اليرقات على لب الثمار المضيفة وفي النهاية قد تتحول الى كتلة غضة غير صالحة للأكل (Thomas وآخرون ، 2010) . تقل القيمة التسويقية للثمار بسبب وجود ثقوب على قشرتها الخارجية بعد ان سببتها اليرقات (الجبوري ، 2007 a) . وبسبب اضرار المحاصيل الزراعية ، والسيطرة والوقاية من تفشي الذبابة فان التكاليف الاقتصادية في جميع انحاء العالم تصل الى مليارات الدولارات في كل عام (Enkerlin، 2005) .

تستوطن ذبابة فاكهة البحر الابيض المتوسط في جميع انحاء افريقيا والشرق الاوسط والدول الاوربية المجاورة والقريبة من البحر الابيض المتوسط وجزر هاواي وجزر الكاريبي وامريكا الجنوبية والشمالية (Szyniszewska و Tatem ، 2014) . دخلت الذبابة الى العراق في محافظة ديالى عام 1947م وكان هذا اول تسجيل لها في العراق ، وقد سببت خسائر فادحة في الانتاج وحينها اتُخِذت إجراءات وقائية شديدة ضدها مما ادت الى إختفائها كلياً (العزاوي وآخرون ، 1990) . عاودت الانتشار في عام 2006 في مزارع الحمضيات (الجبوري ،2007 b) ، والحشرة لازالت منتشرة في مناطق العراق (الصفار ، 2011) .

ومن أجل التخلص من هذه الآفة فقد استخدمت طرائق عديدة للسيطرة عليها منها المكافحة الكيميائية التي لا تزال تستخدم ضد الكثير من الآفات ، الا إنها غير صديقة للبيئة، وقد تسبب قتل

الكائنات غير المســـتهدفة وكذلك تؤدي الى تطور آفات مقاومة للمبيدات الكيميائية (Hajek ، 2004) ، ووفقا لما جاءت به منظمة الصـــحة العالمية World Health Organization ان حوالي 25 مليون حالة تسـمم وموت مايقارب 20,000 انسـاناً سـنوياً بسـبب المبيدات الكيميائية فضلاً عن الامراض المزمنة الناجمة عنها (WHO ، 1992) .

أما طريقة اسـتخدام الفطريات الممرضـة للحشـرات بوصـفها عوامل مكافحة احيائية فهي تمتاز بانها أمينة ومحدودة المدى العائلي وذات تكلفة اقتصـــادية قليلة (Mohammadbeigi و Port ، 2013) ، ولا حاجة للفطريات الممرضة للحشرات ان تؤكل لتصيب مضيفاتها، بل تغزوها بشكل مباشر من خلال جدار الجسم (الكيوتكل) (Vega وآخرون ، 2008) . كما انها منتشرة في ترب جميع انحاء العالم ، لذلك تعد من البدائل عن المبيدات الكيميائية التي يجرى تطويرها في المركز الدولي لعلم فسلجة وبيئة الحشرات International Centre of Insect Physiology and Ecology (Ekesi وآخرون ،2007).

ويعد الفطر *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) Sorokin من أشهر الفطريات التي تم تطبيقها على نطاق واسع لمكافحة الحشرات (Wraight و Ramos ، 2002)، إذ تتميز هذه الفطريات بقدرتها على انتاج بعض المركبات الايضية السامة مما يعزز كفاءتها على القضاء على الحشرة (Mohanty وآخرون ، 2008) . اذ تسبب لمضيفاتها مرض المسكردين الاخضر Muscardine disease ، وقد سمي بهذا الاسم لأن كونيدات الفطر التي تغطي اجسام الحشرات المصابة تكون ذات لون اخضر (Genthner و Middaugh ، 1995) .

من أجل تقييم كفاءة وفاعلية بعض العزلات المحلية لفطر *M. anisopliae* ، وبهدف معرفة التباين الموجود بين العزلات الفطرية التابعة للنوع نفسه لا بد من دراستها من الناحية الوراثية الجزيئية بوساطة تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل Polymerase Chain Reaction (PCR) (Sun وآخرون،

الخلاصة :

نُفذت الدراسة في مختبرات دائرة البحوث الزراعية للفترة 2016/7/1–2017/7/1 لتقييم كفاءة وفعالية بعض العزلات المحلية لفطر *Metarhizium anisopliae* (Ma88 و Ma19 و Ma29) والعزلة المستوردة (Ma-h) ضد حشرة ذبابة الفاكهة البحر الابيض المتوسط *Ceratitis capitata* والتحري عن التغاير الوراثي بين العزلات من خلال تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR) . بينت نتائج معاملة الاناث تزايد في نسبة الموت مع زيادة التراكيز فبعد 5 ايام من المعاملة تراوحت نسب الموت بين 0 و20 % للتركيز 10^5 و 10^9 كونيدة/مل للعزلة Ma-h وتزايدت هذه النسبة بعد 10 ايام لتبلغ 15 و 40 % ، أما تاثير التركيزين السابقين للعزلة Ma88 بعد خمسة ايام فقد سجل 30–50% موت وبعد 15 يوم كانت 83–100% وتراوحت اعلى نسبة موت بتاثير العزلتين Ma19 وMa29 عند التركيز 10^5 إذ كانت 40 و 56 % في اليوم 15 بعد المعاملة وعند التركيز 10^9 كونيدة/مل 70 و90 % على التوالي . أعطت العزلة Ma88 اعلى نسب موت للذكور إذ تراوحت بين 27 و 56 % للتركيز 10^5 و 10^9 على التوالي بعد 5 ايام من المعاملة وأصبحت 60 و100 في اليوم 15 من المعاملة الذي أعطت فيه العزلة Ma-h نسب موت للتركيزين اعلاه 30 و 100 % ، أما العزلة Ma19 فقد حققت نسب موت تراوحت بين 50 و 63 % للتركيزين على التوالي وكانت نسب الموت جراء التعرض للعزلة Ma29 بالتركيزين اعلاه هو 56 و 73 %. عند المقارنة بين العزلات الفطرية المستخدمة على اساس التركيز القاتل للنصف LC_{50} اظهرت العزلة Ma88 القدرة الاعلى كعامل موت للذكور إذ بلغت قيمة LC_{50} لها 8×10^6 تلتها العزلة Ma29 بقيمة تركيز قاتل للنصف 1.3×10^7. أما في معاملة الاناث فقد كانت العزلتين المذكورتين متقاربتين جداً في قيمة LC_{50} إذ بلغت قيمة التركيز القاتل للنصف للعزلة Ma88 2.0×10^6 وللعزلة Ma29 2.2×10^6 . أما عن الزمن اللازم لقتل 50% من سكان الحشرات المعاملة LT_{50} الذي يعبر عن الضراوة فقد بلغ اقصر زمن لتحقيق هذه النتيجة في

2016) ، وكذلك تحليل تسلسل الدنا DNA sequence (Destéfano وآخرون ، 2004)، لذلك أجريت هذه الدراسة التي تهدف الى :

1. دراسة تأثير العالق الكونيدي لفطر ***M. anisopliae*** على كل من بالغات ويرقات ذبابة فاكهة البحر الابيض المتوسط
2. قياس النشاط الانزيمي للعزلات الفطرية المختبرة .
3. تقدير التغاير الوراثي الجزيئي للعزلات الفطرية المختبرة ***M. anisopliae*** بأستخدام تقنية PCR و DNA sequence .