وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة ديالى

كلَّية التربية للعلوم الصرفة

قسم علوم الحياة

مقارنة جزيئية بين نوعين مَنْ ذبابة ثمار القرعيات *Dacus ciliatus* و *Dacus frontalis* بأستعمال تقنية RAPD-PCR

بحث مُقدَّم

إلى مجلس كلَّية التربية للعلوم الصرفة – جامعة ديالى كجزء مَنْ متطلبات نيل

درجة الدبلوم العالي في علوم الحياة

مَنْ قبل الطالبة

ديانا مجيد حميد نصيف

بكالوريوس علوم الحياة / كلَّية التربية الأساسية / جامعة ديإلى

2020_2019

بأشراف

أ. د عمار أحمد سلطأن

1444هـ **2022م**

1. المقدمة Introduction

تعد محاصيل القرع بأنواعه المختلفة (الكوسا و العسلي والعناقي) والخيار وخيار القثاء والرقي والبطيخ من الخضروات الشائعة في العراق وتنتمي إلى عائلة القرعيات إذ تعد محاصيل هذه العائلة من المنتجات الزراعية المهمة في جميع انحاء العالم, وتولد قيمة تجارية عالية للصناعة الزراعية وللمزارعين, إذ تعد محاصيل نقدية(2018,Baloglu), إذ تتم زراعتها على مدار العام في أوقات مختلفة ,في البيوت الزجاجية والحقول المفتوحة والبساتين نظراً لدرجات الحرارة المعتدلة والشتاء المعتدل الذي اصبح من المكونات الأساسية للنظام الغذائي (2018, FAO state), إذ تنشط عند ارتفاع درجات الحرارة العالية والرطوبة العالية ويتمثل العائق الرئيس امام زيادة الإنتاجية المستدامة للقرع في ارتفاع معدل انتشار الآفات الحشرية إذ تصاب ثمار العائلة القرعية بالعديد من الآفات الزراعية الرئيسة التي تسبب خسائر اقتصادية في العديد من بلدان العالم (Harbi واخرون ,2022), والتي تشمل حشرات ذبابة ثمار القرعيات من الجنس *Dacus* (Fabricius,1805) وخصوصاً ذبابة ثمار القرع والخيار من النوع *Dacus. ciliatus* (Loew,1862) وذبابة ثمار البطيخ الكبرى النوع *Dacus frontalis* (Beker,1922) التي تعود إلى عائلة ذباب الفاكهة Tephritidae رتبة ثنائية الاجنحة Diptera , إذ تكمن خطورة هذه الآفات الحشرية في كونها تضع بيوضها داخل الثمرة مسببة التوائها وتخصُرها فضلاً عن أنَ يرقاتها تتغذى على الُلب وتترك ثقوبا كثيرة في الثمار بعدَ خروجها للتعذر مما يؤدي إلى تصلب وتعفن وتَلف هذه الثمار(2013, Flaih), قد تمَ تشخيص هذه الأنواع من الذبابة لأول مرة في العراق عام 1989م وبالتحديد في محافظتي واسط وميسان من قبل مركز بحوث ومتحف التاريخ الطبيعي/ جامعة بغداد على أنَها حشرة ثمار القرعيات (Moans وAbdul-Rassoul , 1989).

التحليل الجيني للكائنات على المستوى الجزيئي هو أداة علمية مهمة للغاية وممارسة على نطاق واسع لتقدير التباين، وبالنسبة لمعظم الأغراض، تعد تقنية تصميم المادة الوراثية متعددة الاشكال عشوائيا (random amplified polymorphic DNA) هو الأبسط والأكثر فعالية من حيث التكلفة. علاوة على ذلك، يمكن ان تلمس أجهزة RAPD جزءاً كبيراً من الجينوم ولها ميزة عدم طلب معلومات مسبقة عن الجينوم قيد الدراسة (2021,Sahar).

الحمض النووي المتضخم عشوائيا (RAPD) هو نوع من تفاعل البوليمراز المتسلسل (PCR) لكن أجزاء الحمض النووي التي يتم تضخيمها تكون عشوائية، ويتم استخدام هذه البادئات العشوائية والقصيرة (10 نيوكليوتيدات) في تفاعل البوليمير المتسلسل الذي يستخدم قالباً كبيراً من الحمض النووي الجيني (2021,Sahar).

وتهدف الدراسة الحالية إلى ما يأتي:-

نظراً للأهمية الاقتصادية لذبابة ثمار القرعيات ولتشابه النوعين Dacus *ciliatus* و *Dacus frontalis*. من الناحية المظهرية وصعوبة التمييز بينهما اقترح موضوع الدراسة ليهدف إلى التشخيص الجزيئي للنوعين باستخدام معلمات جزيئية عشوائية RAPD – PCR لكونها دقيقة لإنها تعتمد على بيانات الحامض النووي DNA.

الخلاصة

تعد أنواع ذباب ثمار القرعيات التابعة للجنس *Dacus* من الآفات الحشرية التي تسبب خسائر اقتصادية كبيرة لمحاصيل العائلة القرعية في العراق . نظراً لدرجة التشابه الكبيرة من الناحية المظهرية ولصعوبة التمييز بين النوعين *Dacus ciliatus* و *Dacus firontalis* إستعملت تقنية تفاعل أنزيم البلمرة المتسلسل العشوائي RAPD-PCR وهي تقنية دقيقة جداً وقادرة على التمييز والفصل بين الأنواع التابعة لجنس واحد والمتماثلة من الناحية المظهرية لإنها تعتمد على بيانات الحامض النووي الدنا . في هذه الدراسة تم اخذ 20 عينة للحشرات الكاملة أي بواقع 10 عينات لكل نوع من مستعمرة تم تربيتها في مختبر تربية الحشرات / قسم علوم الحياة / كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة ديالى في شهر شباط لعام 2022 والمشخصة مسبقاً من قبل متحف التاريخ الطبيعي / جامعة بغداد. تضمنت الدراسة استخلاص الحامض النووي الدنا لكل نوع بأستخدام عدة الأستخلاص Genomic DNA mini kits :- أظهرت نتائج الدراسة للبوادئ العشوائية البالغ عددها 10 بوادئ 50 حزمة, منها 21 حزمة ذات تعددية شكلية عند المقارنة بين النوعين ، اذ أعطى البادئ OP-A08 أعلى عدد حزم ذات تعددية شكلية والبالغ عددها 7 حزمة بينما اعطى البادئين OP-B18, PO-C18 أقل عدد حزم ذات تعددية شكلية والبالغ عددها 1 حزمة أما البادئين OP-B09 و OP-C15 لم تعطي أي حزمة ذات تعددية شكلية إذ كان عدد الحزم 0.0 عند المقارنة بين النوعين ، وأظهرت النتائج أيضا أن البادئ OP-A08 أعطى أعلى نسبة مئوية للتعددية الشكلية 77.77 % وأعلى نسبة مئوية لكفاءة البادئ 18 % وأعلى نسبة مئوية للمقدرة التمييزية بين النوعين 33.33 % ، بينما أعطى البادئ OP-B18 اقل نسبة مئوية للتعددية الشكلية 20 % وأقل نسبة مئوية لكفاءة البادئ 10 % وأقل نسبة مئوية للمقدرة التمييزية بين النوعين 4.76 % ، في حين لم يستطيع البادئ OP-B09 من التمييز بين النوعين لانه لم يعطي أي حزمة إذ كان عدد الحزم الناتجة من عملية التضخيم 0.0.أستطاع