جمهورية العراق

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة ديالى

كلية التربية للعلوم الصرفة

قسم علوم الحياة

عزل وتشخيص البكتيريا *Bacillus thuringiensis* ودراسة تاثيرها في بعض المقاييس الحياتية لذبابة ثمار القرعيات *Dacus ciliatus* (Diptera : Tephritidae)

رسالة مقدمة إلى

مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة ديالى

كجزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة

الاحياء المجهرية

تقدم بها الطالب

إدريـــس صـــالح جلـــيـــل

بكالوريوس علوم الحياة

كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة ديالى 2012- 2013

بإشراف

أ.د عدنان نعمة عبد الرضا

محرم 1436هـ كانون الثاني 2015م

بسم الله الرحمن الرحيم

(تنزيلا ممّن خلق الأرض والسّماوات العلى
الرّحمن على العرش استوى له ما في
السّماوات وما في الأرض وما بينهما
وما تحت الثّرى}

صدق الله العظيم
(سورة طه : الآية 4-5)

الإهداء

إلى مالك الأزل والسرمد وبه الخطى تتسدد
الله سبحانه وتعالى

إلى سيد المرسلين إمام المتقين وصفوة العالمين نبي الرحمة
النبي الأعظم محمد الأمين رسول رب العالمين (صلى الله عليه وآله وصحبه وسلم)

إلى شهداء العراق على طول الزمن ...

وإلى الروح الطاهرة التي ما انفكت تضيء لي الطريق
وتوقد روح الأمل.. أبـــــــــــــي

إلى خيمة الحنان وغيمة المكان
تتحملني دائماً بين يديها دعاء متصل.. إلى السماء
أمـــــــــي الحبيبه

إلى من رووني من ينابيع الفضيلة، وأخذوا بيدي إلى منهل المعرفة....
وأظلوني بشجرة الإيمان
أخوتي

إلى من تسعدُ عيني برؤياه ويطربُ قلبي بنجواه
إلى من جمعني بهم القدر وربطتني بهم مودة الصداقة
سرمـــــد و عبد الله

إلى من مهدُ الطريق امامي للوصول إلى ذروة العلم

أساتذتي الأفاضل

إليكم جميعا أرفع ثمرة جهدي المتواضع عرفانا مني بفضلكم علي

إدريـــــس

شكر وتقدير

الحمد لله رب العالمين والصلاة والسلام على أشرف المرسلين سيدنا محمد وعلى آله وصحبه أجمعين.
أشكر الله مولاي وخالقي الذي منَّ عليَّ بإتمام هذا العمل المتواضع و على توفيقه .... انطلاقا من قول رسول (صلى الله عليه وآله وصحبه وسلم): ﴿**لا يشكر الله من لا يشكر الناس**﴾ وإيمانا بفضل الاعتراف بالجميل وتقديم الشكر والامتنان لأصحاب المعروف فإني أتقدم بالشكر الجزيل والثناء العظيم لكل من ساعد في إنجاح هذا الرسالة وأخص بالذكر : أستاذي ومشرفي الفاضل الدكتور عدنان نعمة عبد الرضا حفظه الله على قبوله الإشراف على هذا البحث ومتابعته له منذ خطواته الأولى وعلى ما منحنى من صدر الواسع ونصح وإرشاد ساعد على إخراج هذا العمل بهذه الصورة . أسأل الله أن يجزيه عني خير الجزاء. أتوجه بشكري وتقديري الى مسؤول مختبر تحليلات الوراثية والجزيئية وأخص بالذكر الأستاذ مساعد عمار أحمد سلطان لما قدم لي من العون والمساعدة وتعاونه معي.
وكما أتقدم بالعرفان وتقدير إلى عمادة كلية التربية للعلوم الصرفة المتمثلة بالدكتور غالب إدريس عطية ورئاسة قسم علوم الحياة ومنتسبيه ، و لما قدموه لي من العون والمساعدة طيلة فترة الدراسة.
وان فرقتنا الأيام وتباعدت الاجساد .. فإن في الصدر قلب ينبض بكِ ويحيى بذكركِ ويسترجع لحظات عُذاب .. ولقاءات الأحباب .. وبسمات صادقة ..ونفوس محلقة في سماء الخُلق ، لن نقول وداعاً .. بل ستبقى الذكرى .. وصور المحبة شامخة في الذاكرة مع امل بلقاء.. ووعد بدعاء لا ينقطع.. وحب متجدد لن ينضب، لكم نتقدم بخالص الشكر ووافر الامتنان إلى رفاق دربي سرمد وعبدالله ومحمد سائلين المولى عز وجل أن يجعلنا وإياكم من أهل القران .. وأن يرزقنا وإياكم الفردوس الاعلى من الجنان.
ولايفوتني ان أشكر جميع زميلاتي وزملائي من طلبة الدراسات العليا وجميع المنتسبين في مختبر الاحياء المجهرية داعيا لله لهم بدوام النجاح والموفقية والتمس العذر ممن فاتني أن أشكرهم ,جازهم الله عني خير الجزاء.و كما اقدم شكري العميق الى عائلتي على تشجيعهم ومساعدتهم لي داعياً من الباري أن يمنّ عليهم بالصحة والعافية.
وخاتما آمل من الله أن أكون قد وفقت في إعداد هذا البحث بالطريقة التي تنفع وتخدم الدارسين وأن أنال رضى الله.

إدريـــــس

أقرار المشرف

أشهد أن أعداد هذه الرسالة الموسومة بـــ **{(عزل وتشخيص البكتيريا *Bacillus thuringiensis* ودراسة تاثيرها في بعض المقاييس الحياتية لذبابة ثمار القرعيات *Dacus ciliatus* (Diptera : Tephritidae)}** .التي قدمها طالب الماجستير (**إدريس صالح جليل**) قد جرى تحت أشرافنا في قسم علوم الحياة / كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة ديالى وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة / علم الاحياء المجهرية .

التوقيع :

المشرف : د.عدنان نعمة عبدالرضا

اللقب العلمي :أستاذ

التاريخ / / 2015

توصية رئيس لجنة الدراسات العليا

بناء على التوصيات المتوافرة نرشح هذه الرسالة للمناقشة

التوقيع :

الاسم: مثنى محمد أبراهيم

اللقب العلمي :مدرس

رئيس لجنة الدراسات العليا رئيس قسم علوم الحياة

التأريخ / / 2015

إقرار لجنة المناقشة على رسالة

نحن رئيس و أعضاء لجنة المناقشة , نشهد أننا قد اطلعنا على هذه الرسالة وقد ناقشنا الطالب في محتوياتها وفيما له علاقة بها ونعتقد أنها جديرة بالقبول لنيل درجة الماجستير في علوم الحياة / علم الأحياء المجهرية بتقدير (**أمتيـــــاز**).

رئيس اللجنة

التوقيع :

الأسم : د .عباس عبود فرحان

اللقب العلمي : أستاذ دكتور

التاريخ : / / 2015

عضو اللجنة

التوقيع :

الأسم :.د .عمار أحمد سلطان

اللقب العلمي: أستاذ مساعد

التاريخ : / / 2015

عضو اللجنة

التوقيع :

الأسم : د .حميد مجيد جاسم

اللقب العلمي: أستاذ دكتور

التاريخ : / / 2015

عضو اللجنة المشرف

التوقيع :

الأسم : أ. د.عدنان نعمة عبدالرضا

اللقب العلمي: أستاذ دكتور

التاريخ : / / 2015

مصادقة عمادة كلية التربية للعلوم الصرفة

التوقيع :

الأسم : د. غالب أدريس عطية

اللقب العلمي:أستاذ مساعد

التاريخ : / / 2015

بسم الله الرحمن الرحيم

إقرار المقوم العلمي

أشهد أن هذه الرسالة الموسومة بـ **{(عزل وتشخيص البكتيريا *Bacillus thuringiensis* ودراسة تاثيرها في بعض المقاييس الحياتية لذبابة ثمار القرعيات *Dacus ciliatus* (Diptera : Tephritidae)}** التي قدمتها طالب الماجستير **(إدريس صالح جليل)** قد تمت مراجعتها من الناحية العلمية وبذلك أصبحت الرسالة مؤهلة للمناقشة.

التوقيع:

الاسم: أ.م.د هادي رحمن رشيد

التأريخ: \ \ 2015

بسم الله الرحمن الرحيم

إقرار المقوم العلمي

أشهد أن هذه الرسالة الموسومة بـ **{(عزل وتشخيص البكتيريا *Bacillus thuringiensis* ودراسة تاثيرها في بعض المقاييس الحياتية لذبابة ثمار القرعيات *Dacus ciliatus* (Diptera : Tephritidae)}** التي قدمتها طالب الماجستير **(إدريس صالح جليل)** قد تمت مراجعتها من الناحية العلمية وبذلك أصبحت الرسالة مؤهلة للمناقشة.

التوقيع:

الاسم: أ.م.د هادي رحمن رشيد

التأريخ: \ \ 2015

Summary الخلاصة

تضمنت هذه الدراسة عزل البكتيريا *Bacillus thuringiensis* من مصادر بيئية مختلفة في محافظة ديالى وتشخيصها بالطرق الكيموحيويه والوراثية والجزئية ،أذ جمعت 51 عينة من ترب مختلفة وهي(زراعية و حديقة و غير زراعية) وكذلك من الماء ،من خمسة أقضية في محافظة ديالى(بعقوبة ،و الخالص، والمقدادية ،وخانقين، وبلدروز) للمدة من 1 \ 9 \ 2014 لغاية 20\ 11 \ 2014. أظهرت نتائج التشخيص الكيموحيويه وجود اربع عينات وبنسبة 7.8% كانت ذات نمو سالب للزرع البكتيري و 46 عينة وبنسبة 90.1% كانت ذات نمو موجب للزرع البكتيري وتبين أن 41 عينة منها وبنسبة 80.3% تعود للجنس *Bacillus* وللنوع *Bacillus thuringiensis* ووصلت نسبة البكتيريا المعزولة من الترب الزراعية 94% ومن الترب الحدائق 93% و من الماء 75%، ومن الترب غير زراعية 44%. تعد البكتيريا الممرضة*Bacillus thuringiensis* من البكتيريا الموجبة لصبغة كرام ومكونة للأبواغ وأكثر المواطن الطبيعية لهذه البكتيريا هي التربة.تم أختبار جميع العزلات لهذه البكتيريا التي استطاعت النمو على الوسط الأنتقائي Acetate Sodium Selective والمكونة للبروتينات البلورية المبيدة للحشرات (ICP) insecticidal crystalline proteins عند تصبيغها بصبغة براقة Coomassie brilliant blue (CBB) لأجراء التشخيص الوراثي بأستخدام عدة الأستخلاص(Mini DNA Bacteria Kit) المجهزة من قبل شركة Bioneer وكانت نقاوة الدنا المستخلص تتراوح ما بين(1.22-2.01) لجميع العزلات المختارة، تم تشخيص البكتيريا على مستوى الجنس والنوع بأستخدام الجين 16S rDNAذو الوزن الجزيئي 380 زوج قاعدي حيث أظهرت نتائج تفاعل البلمرة التسلسلي (PCR) أن جميع العزلات تحتوي على هذا جين وبنفس الوزن الجزيئي وهو380 زوج قاعدي ،كذلك تم تشخيص العزلات الحاوية على الجين المكون للبروتينات البلورية وهو

cry ذو الوزن الجزيئي 200 زوج قاعدي وبأستخدام بادئ متخصص لهذا الجين في تفاعل البلمرة التسلسلي وأظهرت نتائج تضاعف الجين أن جميع العزلات كانت تحتوي على هذا الجين وبنفس الوزن الجزيئي وهو 200 زوج قاعدي. بعد التأكد من البكتيريا الممرضة بأنها تعود للجنس *Bacillus* والنوع *Bacillus thuringiensis* حسب التشخيص الكيميائي الحيوي والتشخيص الوراثي الجزيئي، حضرت تراكيز مختلفة من المستحضر الحيوي وهي (5،4،3،2،1)غم /لتر من المستحضر الحيوي لهذه البكتيريا لدراسة تأثيرها على الأدوار المختلفة لذبابة ثمار القرعيات *Dacus ciliatus*. تم أختبار تأثير تراكيز مختلفة من المستحضر الحيوي لهذه البكتيريا المعزولة من التربة والماء على أدوار هذه الحشرة وهي البيوض واليرقات والعذارى والكاملات .

أظهرت نتائج أختبار تأثير المستحضر الحيوي لهذه البكتيريا على البيوض بعمر (2-1)يوم إذ بلغ أعلى معدل فقس البيض (3.2) وبنسبة(89%) عند التركيز 1غم/لتر من المستحضر الحيوي لبكتيريا *B. thuringiensis* وأقل معدل فقس البيض (0.6)وبنسبة(19 %) عند التركيز 5غم/لتر من المستحضر الحيوي مقارنة بمعاملة السيطرة(3.2) وبنسبة (96%)بالنسبة للبكتيريا المعزولة من التربة .و إذ بلغ أعلى معدل فقس البيض(3.1) وبنسبة (92%)عند التركيز 1غم/لتر من المستحضر الحيوي وأقل معدل فقس (2.1) وبنسبة 62% عند التركيز 5غم/لتر من المستحضر الحيوي مقارنة بمعاملة السيطرة (3.2) وبنسبة (96%)بالنسبة لبكتيريا المعزولة من الماء. وعلى يرقات الطور الأخير ،أذ بلغ أعلى معدل هلاك (2.0) وبنسبة(99%) عند التركيز 5غم /لتر من المستحضر الحيوي وأقل معدل هلاك (0.5) وبنسبة(26%) عند التركيز 1غم /لتر من المستحضر الحيوي مقارنة مع معاملة السيطرة (0.07) وبنسبة(3%) بالنسبة للبكتيريا المعزولة من التربة .و بلغ أعلى معدل الهلاك (1.2) وبنسبة (57%)عند تركيز 5غم/لتر من المستحضر الحيوي وأقل معدل هلاك(1.0) وبنسبة (6%) عند التركيز 1غم/لتر من المستحضر الحيوي مقارنة بمعاملة السيطرة(0.07) وبنسبة (3%) بالنسبة للبكتيريا المعزولة من الماء. وعلى العذارى بعمر (7-6) يوم

،إذ بلغ أعلى معدل بزوغ للعذارى(3.1) وبنسبة(92%) عند التركيز 1غم/لتر من المستحضر الحيوي وأقل معدل بزوغ للعذارى (0.4) وبنسبة(13 %) عند التركيز 5غم/لتر من المستحضر الحيوي مقارنة بمعاملة السيطرة(3.2) وبنسبة (96%) بالنسبة للبكتيريا المعزولة من التربة.و إذ بلغ أعلى معدل بزوغ للعذارى(3.1) وبنسبة(92%) عند التركيز 1غم/لتر من المستحضر الحيوي وأقل معدل بزوغ للعذارى (2.1) وبنسبة (62 %) عند التركيز 5غم/لتر من المستحضر الحيوي مقارنة بمعاملة السيطرة(3.2) وبنسبة (96%) بالنسبة للبكتيريا المعزولة من الماء .وعلى قتل بالغات، إذ بلغ أعلى معدل قتل للذكور(1.6)وبنسبة (32%) و الإناث (1.5) وبنسبة (30%) عند التركيز 5غم/لتر من المستحضر الحيوي وأقل معدل قتل للذكور (0.5) وبنسبة (10%) والإناث (0.4) وبنسبة (13%)، مقارنة بمعاملة السيطرة للذكور(0.1) وبنسبة(2%) والإناث (0.1) وبنسبة(2%) بالنسبة للبكتيريا المعزولة من التربة. و بلغ أعلى معدل قتل للذكور(0.8)وبنسبة (32%) و والإناث (0.7) وبنسبة (30%) عند تركيز 5غم/لتر من المستحضر الحيوي وأقل معدل قتل للذكور (0.2) وبنسبة (4%) والإناث (0.4) وبنسبة (13%) عند التركيز 1غم/لتر من المستحضر الحيوي مقارنة بمعاملة السيطرة للذكور(0.1) وبنسبة(2%) والإناث (0.1) وبنسبة(2%)بالنسبة للبكتيريا المعزولة من الماء ، وعلى إنتاجية الأنثى الواحدة من البيض أذ بلغ أعلى معدل إنتاج البيض 84.5 بيضة للأنثى الواحدة عند التركيز 1غم/لتر من المستحضر الحيوي ،وأقل معدل إنتاجية البيض 54.5 بيضة للأنثى الواحدة عند التركيز 5غم/لتر من المستحضر الحيوي مقارنة بمعاملة السيطرة إذ بلغ معدل إنتاجية البيض 87.5 بيضة للأنثى الواحدة بالنسبة للبكتيريا المعزولة من التربة .وبلغ أعلى معدل إنتاج البيض (85%) بيضة للأنثى الواحدة عند لتركيز 1غم/لتر من المستحضر الحيوي ،وأقل معدل إنتاجية البيض (79.5%) بيضة للأنثى الواحدة عند التركيز 5غم/لتر من المستحضر الحيوي مقارنة بمعاملة السيطرة إذ بلغ معدل إنتاجية البيض (85.5%) بيضة للأنثى الواحدة بالنسبة للبكتيريا معزولة من الماء.

المحتويات

التسلسل	الموضوع	الصفحة
	قائمة المحتويات	I
	قائمة الأشكال	VI
	قائمة الجداول	VIII
	قائمة الصور	X
	قائمة المختصرات	XII
	الفصل الأول : المقدمة	
1	المقدمة	1
	الفصل الثاني : استعراض المراجع	
1-2	التصنيف العلمي لذبابة ثمار القرعيات (المقات): *Dacus ciliatus*	5
2-1-2	انتشار ذبابة ثمار القرعيات *Dacus ciliatus* (Loew)	5
3-1-2	التأثير الاقتصادي لذبابة ثمار القرعيات *Dacus ciliatus* The economic impact of *Bt*	6
4-1-2	دورة حياة ذبابة القرعيات Life cycle of *Dacus ciliatus*	9
5-1-2	تربية ذبابة ثمار القرعيات مختبريا *Dacus ciliatus* (Loew)	12
6-1-2	المكافحة الأحيائية لذبابة القرعيات Bio control of *Dacus ciliatus*	13
2-2	المبيدات الحشرية الميكروبية Microbial Insecticides	14
3-2	جنس البكتيريا The Genus *Bacillus*	16
1-3-2	مجموعة بكتيريا The *Bacillus cereus* Group	16
4-2	نبذة تاريخية عن البكتيريا History of *B.thuringiensis*	17
1-4-2	تصنيف البكتيريا *Bacillus* Classification of Bacteria *thuringiensis*	19
2-4-2	الخصائص المورفولوجية لبكتيريا Morphological Features of *B.thuringiensis*	21

3-4-2	المواطن الطبيعية لبكتيريا Natural Habitats of *B. thuringiensis*	21
4-4-2	السموم الداخلية دالتا للبكتيريا *Bt* of delta (δ) endotoxins	22
1-4-4-2	بروتينات البلورية The Crystal Proteins(Cry)	23
1-4-4-2	بروتينات التحليل الخلوي The Cytolytic Proteins	24
5-4-2	تصنيف البروتينات البلورية المبيدة للحشرات Classification of Insecticidal Crystal Proteins	25
6-4-2	تركيب السموم Toxin Structure	26
7-4-2	أليه عمل السموم الداخلية دلتا Action Mechanism of δ- Endotoxins	27
8-4-2	سلامة المبيدات الحيوية Safety of *Bt* Bio pesticides	30
9-4-2	الخصائص الأمراضية الأخرى لبكتيريا Other Pathogenic Features of *Bt*	31
10-4-2	المحتوى الوراثي لبكتريا *Bacillus thuringiensis*	32
11-4-2	تحري عن جين *cry* الـ بكتيريا *Bacillus thuringiensis* بتقنية PCR	33
	الفصل الثالث : المواد وطرائق العمل	
8-1-3	الأنزيماتEnzymes	39
2-3	طرائق العمل	39
1-2-3	تحضير المحاليل وكواشف	39
1-1-2-3	تحضير المحاليل الخاصة بالصبغات	40
2-1-2-3	تحضير المحاليل الخزينة الخاصة بالإختبارات الوراثية	41
3-1-2-3	المحاليل المستعملة في عزل الدنا الكلي DNA- Extraction Solutions	41
4-1-2-3	الإنزيمات المستعملة	42
5-1-2-3	المحاليل المستعملة في الترحيل الكهربائي Electrophoresis solutions	42
6-1-2-3	المحاليل المستعملة في التفاعل التضاعفي لسلسلة الدنا PCR	43
7-1-2-3	محلول ثابت العكرة القياسي Macfarland Standard	44
8-1-2-3	المحلول الملحي الفسلجي Physiological Saline Solution	45

3-3	الكواشف المستخدمة في تشخيص البكتريا	45
1-3-3	تحضير كاشف الكاتاليز (Catalase reagent)	45
2-3-3	تحضير كاشف الأوكسيديز (Oxidase reagent)	45
3-3-3	تحضير كاشف فوكس بروسكاورVP (Voges – Proskauer reagent)	45
4-3-3	تحضير كاشف الفينول الأحمر(0.2%) (Phenol red reagent)	46
5-3-3	تحضير كاشف البروم الأزرق (Bromothymol blue)	46
6-3-3	تحضير كاشف اليود (Iodine Solution)	46
7-3-3	تحضير كاشف المثيل الأحمر(Methyl red reagent)	46
4-3	الاوساط الزرعية التركيبية Culture Media	46
1-4-3	الوسط الانتقائي لعزل وتشخيص البكتيريا	47
2-4-3	وسط اختبار الحركة	47
3-4-3	وسط فوكس بروسكاور (VP) (Voges- Proskauer media)	47
4-4-3	وسط تحلل اليوريا (urease hydrolysis media)	47
5-4-3	وسط الأكسدة/ التخمر (O\F) (Oxidation\Fermentation media)	47
6-4-3	وسط تحلل النشأ (Starch hydrolysis media)	48
7-4-3	وسط الدم الصلب (Blood Agar basie)	48
8-4-3	وسط احمر المثيل (Methyl red media)	48
9-4-3	وسط ماء الببتون (Pepton water medium)	49
10-4-3	وسط اختزال النترات(Nitrate reduction)	49
11-4-3	الحفظ على مائل الأكار Slant agar	49
5-3	جمع العينات Collection of Samples	49
6-3	زرع العينات Samples culture	50
7-3	تشخيص البكتريا Diagnosis of Bacteria	51
1-7-3	الخصائص المظهرية والمجهرية Morphological Characteristics	51
2-7-3	الفحوصات الكيموحيوية Biochemical Tests	51
1-2-7-3	اختبار الحركة(motility test)	51

2-2-7-3	اختبار الكاتاليز (Catalase test)	52
3-2-7-3	اختبار الاوكسيديز (Oxidase test)	52
4-2-7-3	اختبار الاندول (Indole test)	52
5-2-7-3	اختبار الاحمر المثيل (Methyl red test)	53
6-2-7-3	اختبار فوكس بروسكاور (Voges Proskauer)	53
7-2-7-3	اختبار تحلل اليوريا (Urease hydrolysis test)	53
8-2-7-3	اختبار استهلاك السترات (Citrate utilization test)	54
9-2-7-3	اختبار التأكسد \ التخمر(OF) (Oxidation\ Fermentation)	54
10-2-7-3	اختبار تحلل النشأ (Starch hydrolysis test)	54
11-2-7-3	اختبار اختزال النترات(Nitrate reduction)	55
12-2-7-3	اختبار الكشف عن النمو في تراكيز ملحية مختلفة	55
13-2-7-3	اختبار الكشف عن النمو على وسط الدم	55
14-2-7-3	اختبار الكشف عن النمو على وسط الماكونكي	55
8-3	أستخلاص الدنا البكتيري Bacterial DNA extraction	56
9-3	الترحيل الكهربائي على الهلام الأكاروز Gel Electrophoresis	57
10-3	قياس تركيز الدنا ونقاوته	58
11-3	تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR)	59
12-3	تحضير لقاح البكتريا *B. thuringiensis*	60
1-12-3	مراحل إنتاج المستحضر الحيوي	61
13-3	تربية ذبابة ثمار القرعيات *Dacus ciliatus* (Loew)	63
14-3	اختبار فاعلية المستحضر الحيوي *Bt* على الادوار المختلفة لذبابة القرعيات	64
1-14-3	تأثير تراكيز مختلفة من المستحضر الحيوي لبكتيريا *Bt* في نسبة فقس البيض بعمر(2-1)يوم لذبابة ثمار القرعيات *D.Ciliatus*	65
2-14-3	تأثير تراكيز مختلفة من المستحضر الحيوي لبكتيريا *Bt* في تطوريرقات الطور الأخير لذبابة ثمار القرعيات *D.Ciliatus*	65
3-14-3	تأثير تراكيز مختلفة من المستحضر الحيوي لبكتيريا *Bt* في معدل تطور العذارى بعمر(6-7)يوم الى بالغات لذبابة ثمار القرعيات *D.Ciliatus*	66

4-13-3	تأثير تراكيز مختلفة من المستحضر الحيوي لبكتيريا *Bt* في معدل عمر البالغات المتغذيةعلى المستحضر لذبابة ثمار القرعيات *D.Ciliatus*	67
5-13-3	تأثير تراكيز مختلفة من المستحضر الحيوي لبكتيريا *Bt* في أنتاجية أناث ذبابة ثمار القرعيات *D.Ciliatus* للبيض	67
15-3	التحليل الأحصائيSSPS	68
	الفصل الرابع : النتائج والمناقشة	
1-4	عزل و تشخيص بكتيريا *Bacillus thuringiensis*	69
1-1-4	العزل Isolation	69
2-1-4	توزيع البكتيريا في نظم بيئية مختلفة	73
3-4	الكشف عن البكتيريا *B.thuringiensis* على مستوى النوع وعن جين المكون للبروتينات البلوريةcry بأستخدام تقنية P.C.R	74
1-3-4	تشخيص البكتيريا *B.thuringiensis* على مستوى النوع	75
2-3-4	الكشف عن الجين المكون للبروتينات البلورية *cry*	77
4-4	إنتاج المستحضر الحيوي *B.thuringiensis*	78
5-4	اختبار فاعلية المستحضر الحيوي *B.thuringiensis* على أدوار ذبابة ثمار القرعيات *Dacus ciliatus*	79
1-5-4	معاملة البيض بعمر (2-1) يوم	79
1-1-5-4	تأثيرتراكيز مختلفة من المستحضر الحيوي لبكتيريا *B. thuringiensis* المعزولة من التربة في معدل فقس بيوض ذبابة ثمار القرعيات *Dacus* ciliatus وبعمر(2-1)يوم	79
2-1-5-4	تأثيرتراكيز مختلفة من المستحضر الحيوي لبكتيريا *B. thuringiensis* المعزولة من الماء في معدل فقس بيوض ذبابة ثمار القرعيات *Dacus* ciliatus وبعمر(2-1)يوم	81
2-5-4	معاملة الطور اليرقي الأخير	86
1-2-5-4	تأثيرتراكيز مختلفة من المستحضر الحيوي لبكتيريا *B. thuringiensis* المعزولة من التربة *B. thuringiensis* في معدل هلاك الطور اليرقي الأخير لذبابة ثمار القرعيات *Dacus ciliatus*.	86

2-2-5-4	تأثيرتراكيز مختلفة من المستحضر الحيوي لبكتيريا *B. thuringiensis* المعزولة من الماء *B. thuringiensis* في معدل هلاك الطور اليرقي الأخير لذبابة ثمار القرعيات *Dacus ciliatus*.	89
3-5-4	معاملة عذارى بعمر (2-6) يوم	96
1-3-5-4	تأثير تراكيز مختلفة من المستحضر الحيوي لبكتيريا *B. thuringiensis* المعزولة من التربة في معدل بزوغ العذارى بعمر(6-7) يوم لذبابة ثمار القرعيات *Dacus ciliatus*.	96
2-3-5-4	تأثير تراكيز مختلفة من المستحضر الحيوي لبكتيريا *B. thuringiensis* المعزولة من الماء في معدل بزوغ العذارى بعمر(6-7) يوم لذبابة ثمار القرعيات *Dacus ciliatus*.	99
4-5-4	تأثير معاملة غذاء البالغات	104
1-4-5-4	تأثير تراكيز مختلفة من المستحضر الحيوي لبكتيريا *B. thuringiensis* المعزولة من التربة في بالغات ذبابة ثمار القرعيات *Dacus ciliatus*.	104
2-4-5-4	تأثير تراكيز مختلفة من المستحضر الحيوي لبكتيريا *B. thuringiensis* المعزولة من الماء في بالغات ذبابة ثمار القرعيات *Dacus ciliatus*.	108
5-5-4	تأثير بكتيريا *B. thuringiensis* المعزولة من تربة والماء في معدل عدد البيض الذي تضعه البالغات المعاملة	114
الأستنتاجات والتوصيات		
الأستنتاجات		118
التوصيات		119
المصادر		
المصادر العربية		120
المصادر الإنكليزية		125
الملاحق		

ملحق1	أنواع البوادئ المستعملة في الدراسة	143
ملحق2	الدليل الحجمي المستخدم في الدراسة bp DNA Ladder100	144
ملحق3	دليل مكونات خليط التفاعل الرئيسي لـ PCR	145

قائمة الأشكال

التسلسل	العنوان	الصفحة
شكل(4-1)	النسبة المئوية لانتشار البكتيريا *B.thuringiensis* في النظم البيئية المختلفة.	74
شكل(4-2)	النسبة المئوية لمعدل فقس البيوض المعاملة بعمر (2-1) يوم لذبابة ثمار القرعيات *Dacus ciliatus* بالمستحضر الحيوي لبكتيريا *B.thurigiensis* المعزولة من التربة وبدرجة حرارة (25±2) ° م و رطوبة نسبية65±5%.	80
شكل(4-3)	تأثير المستحضر الحيوي لبكتيريا *B.thuringiensis* المعزولة من التربة في النسبة المئوية لمعدل فقس البيض لذبابة ثمار القرعيات *Dacus ciliatus* بعمر (2-1) وبالأيام وبدرجة حرارة (25±2) ° م و رطوبة نسبية 65±5%	81
شكل(4-4)	النسبة المئوية لمعدل فقس البيوض المعاملة بعمر(2-1) لذبابة القرعيات *Dacus ciliatus* يوم بالستحضر الحيوي لبكتيري *B.thuringiensis* المعزولة من الماء وبدرجة حرارة (25±2) ° م و رطوبة نسبية65±5%.	83

شكل(4-5)	تأثير المستحضر الحيوي لبكتيريا *B.thuringiensis* المعزولة من الماء في النسبة المئوية لمعدل فقس البيض بعمر(2-1) يوم لذبابة ثمار القرعيات *Dacus ciliatus* وبالأيام وبدرجة حرارة (25±2) ° م و رطوبة نسبية 65±5% .نسبية%5±65.	83
شكل(4-6)	النسبة المئوية للمعدل الكلي لفقس بيض ذبابة ثمار القرعيات *Dacus ciliatus* المعامل بعمر(2-1) يوم	84
شكل(4-7)	النسبة المئوية لمعدل هلاك يرقات الطورالأخير لذبابة ثمار القرعيات *Dacus ciliatus* والمعرضة الى تراكيز مختلفة من المستحضر الحيوي لبكتيريا *B.thuringiensis* غم/لترالمعزولة من التربة وبدرجة حرارة (25±2) ° م و رطوبة نسبية65±5%	88
شكل(4-8)	تأثير المستحضر الحيوي لبكتيريا *B.thuringiensis*غم/لتر المعزولة من التربة في معدل هلاك يرقات الطور الأخير لذبابة ثمارالقرعيات *Dacus ciliatus* بالأيام و بدرجة حرارة (25±2) ° م و رطوبة نسبية 65±5% ..	88
شكل(4-9)	النسبة المئوية لمعدل هلاك يرقات الطورالأخير لذبابة ثمار القرعيات *Dacus ciliatus* والمعرضة الى تراكيز مختلفة من المستحضر الحيوي لبكتيريا *B.thuringiensis* غم/لترالمعزولة من التربة وبدرجة حرارة (25±2) ° م و رطوبة نسبية65±5%	91
شكل(4-10)	تأثير المستحضر الحيوي لبكتيريا *B.thuringiensis*غم/لتر المعزولة من الماء في معدل هلاك يرقات الطور الأخير لذبابة ثمارالقرعيات *Dacus ciliatus* وبالأيام وبدرجة حرارة (25±2) ° م و رطوبة نسبية 65±5%	91
شكل(4-11)	النسبة المئوية لمعدل هلاك الكلي ليرفات الطور الأخير لذبابة القرعيات *Dacus ciliatus*المعرضة لللمستحضر الحيوي لبكتيري *B. thuringiensis* والمعزولة من الماء والتربة.	92

شكل(4-12)	النسبة المئوية لمعدل بزوغالعذارى المعاملة بعمر (6-7) يوم لذبابة ثمار القرعيات *Dacus ciliatus* المعاملة بتراكيز مختلفة من المستحضر الحيوي لبكتيري *B.thuringiensis* المعزولة من التربة بدرجة حرارة (25±2) ° م و رطوبة نسبية65±5%	98
شكل(4-13)	تأثير تراكيز مختلفة من المستحضر الحيوي لبكتيريا *B. thuringiensis* المعزولة من التربة في النسبة المئوية لبزوغ العذارى بعمر(6-7) يوم لذبابة القرعيات *Dacus ciliatus* وبالأيام في درجة حرارة (25±2) ° م و رطوبة نسبية 65±5%	99
شكل (4-14)	النسبة المئوية لمعدل بزوغ العذارى المعاملة بعمر (6-7) يوم لذبابة ثمار القرعيات *Dacus ciliatus* المعاملة بتراكيز مختلفة من المستحضر الحيوي لبكتيري *B.thuringiensis* والمعزولة من الماء بدرجة حرارة (25±2) ° م و رطوبة نسبية65±5%.	101
شكل(4-15)	تأثير تراكيز مختلفة من المستحضر الحيوي لبكتيريا *B. thuringiensis* المعزولة من الماء في النسبة المئوية لبزوغ العذارى بعمر(6-7) يوم لذبابة القرعيات *Dacus ciliatus* وبالأيام في درجة حرارة (25±2) ° م و رطوبة نسبية65±5%.	102
شكل (4-16)	النسبة المئوية للمعدل الكلي لبزوغ العذارى المعاملة بالمستحضر الحيوي لبكتيرdh *B.thuringiensis* المعزولة من الماء والتربة لذبابة القرعيات *Dacus ciliatus*.	103
شكل (4-17)	تأثير تراكيز مختلفة من المستحضر الحيوي لبكتريا *Bacillus thuringiensis* المعزولة من التربة في معدل قتل البالغات(ذكور) لذبابة ثمار القرعيات *Dacus ciliatus* بالأيام و بدرجة حرارة(25±2)°م و رطوبة نسبية%5±65..	107

شكل(4-18)	تأثير تراكيز مختلفة من المستحضر الحيوي لبكتيريا *Bacillus thuringiensis* المعزولة من التربة في قتل البالغات(اناث) لذبابة ثمار القرعيات *Dacus ciliatus* بالأيام و بدرجة حرارة(25±2)°م و رطوبة نسبية5%±65.	107
شكل (4-19)	تأثير بكتريا *Bacillus thuringiensis* المعزولة من التربة في معدل قتل بالغات(ذكور وإناث) لذبابة ثمار القرعيات *Dacus ciliatus* بدرجة حرارة(25±2)°م ورطوبة نسبية 5%±65	108
شكل (4-20)	تأثير تراكيز مختلفة من المستحضر الحيوي لبكتريا *Bacillus thuringiensis* المعزولة من الماء في قتل بالغات(ذكور) لذبابة ثمار القرعيات *Dacus ciliatus* بالأيام وبدرجة حرارة(25±2)°م و رطوبة نسبية5%±65.	111
شكل(4-21)	تأثير تراكيز مختلفة من المستحضر الحيوي لبكتريا *Bacillus thuringiensis* المعزولة من الماء في معدل قتل البالغات(أناث) لذبابة ثمار القرعيات *Dacus ciliatus* بالأيام و بدرجة حرارة(25±2)°م و رطوبة نسبية5%±65.	111
شكل(4-22)	تأثير تراكيز مختلفة من المستحضر الحيوي لبكتريا *Bacillus thuringiensis* المعزولة من الماء في معدل قتل البالغات(ذكور وإناث) لذبابة ثمار القرعيات *Dacus ciliatus* بدرجة حرارة(25±2)°م ورطوبة نسبية 5%±65 .	113
شكل (4-23)	النسبة المئوية لمعدل الكلي لقتل البالغات (ذكور وإناث) لذبابة ثمارالقرعيات *Dacus ciliatus* المعاملة بالمستحضرالحيوي لبكتيريا *B.thuringiensis* المعزولة من الماء والتربة.	113
شكل (4-24)	تأثير تراكيز مختلفة من المستحضر الحيوي لبكتريا *Bacillus thuringiensis* المعزولة من التربة في معدل عدد البيض الملقى للأنثى الواحدة لذبابة ثمار القرعيات *Dacus ciliatus* بدرجة حرارة	115

	(25±2)°م و رطوبة نسبية 65±5%.	
شكل(25-4)	تأثير تراكيز مختلفة من المستحضر الحيوي لبكتريا *Bacillus thuringiensis* المعزولة من الماء في معدل عدد البيض الملقى للأنثى الواحدة لذبابة ثمار القرعيات *Dacus ciliatus* بدرجة حرارة (25±2)°م و رطوبة نسبية 65±5%.	116

قائمة الجداول

التسلسل	العنوان	الصفحة
جدول (3-1)	الاجهزة و الادوات Apparatus & Equipments	35
جدول (3-2)	المواد الكيميائية Chemical Materials.	36
جدول (3-3)	الكواشف المستخدمة Reagents Used	37
جدول (3-4)	الصبغات المستخدمة Stains used	38
جدول (3-5)	العدة المختبرية Laboratory Kit	38
جدول (3-6)	الأوساط الزرعية الجاهزة Ready prepared media	39
جدول (3-7)	مــواد متفرقـة	39
جدول (3-8)	مكونات عدة استخلاص الدنا البكتيري	39
جدول (3-9)	تتابعات وتراكيز البوادئ وحجم الناتج المتوقع لكل بادئ	44
جدول (3-10)	مكونات خليط التفاعل الرئيسي Master Mix	59
جدول(3-11)	برمجـة جهـاز P.C.R	60
جدول (4-1)	النسبة المئوية للعزلات الموجبة لصبغة غرام المعزولة من مواقع بيئية مختلفة	69
جدول (4 -2)	الاخــتبـارات الكيمــوحــيــوية لـ *Bacillus thuringiensis*.	71

جدول (3-4)	نفاوة وتركيز الدنا البكتيري المستخلص	75
جدول(4-4)	تأثير تراكيز مختلفة من المستحضر الحيوي لبكتيريا *B. thuringiensis* المعزولة من التربة في معدل فقس بيوض ذبابة ثمار القرعيات *Dacus ciliatus* وبعمر (2-1)يوم	80
جدول(4-5)	تأثير تراكيز مختلفة من المستحضر الحيوي لبكتيريا *B. thuringiensis* المعزولة من الماء في معدل فقس بيوض ذبابة ثمار القرعيات *Dacus ciliatus* وبعمر (2-1)يوم	82
جدول(4-6)	تأثير المستحضر الحيوي لبكتيريا *B.thuringiensis* النسبة المئوية للمعدل الكلي لفقس البيض لذبابة ثمار القرعيات *Dacus Ciliatus*	84
جدول(4-7)	تأثير تراكيز مختلفة من البكتيريا *B.thuringiensis* المعزولة من التربة في معدل هلاك الطور اليرقي الأخير لذبابة ثمار القرعيات *Dacus ciliatus*.	87
جدول(4-8)	تأثير تراكيز مختلفة من المستحضر الحيوي البكتيريا *B.thuringiensis* المعزولة من الماء في معدل هلاك الطور اليرقي الأخير لذبابة ثمار القرعيات *Dacus ciliatus*.	90
جدول(4-9)	تأثير المستحضر الحيوي لبكتيريا *B. thuringiensis* في النسبة المئوية للمعدل هلاك الكلي لطور اليرقي الأخير لذبابة ثمار القرعيات *Dacus Ciliatus*.	92
جدول(4-10)	تأثير تراكيز مختلفة من المستحضر الحيوي لبكتيريا *B.thuringiensis* المعزولة من التربة في معدل بزوغ العذارى بعمر(7-6) يوم لذبابة ثمار القرعيات *Dacus ciliatus*.	98
جدول(4-11)	تأثير تراكيز مختلفة من المستحضر الحيوي لبكتيريا *B.thuringiensis* المعزولة من الماء في معدل بزوغ العذارى بعمر(7-6) يوم لذبابة ثمار القرعيات *Dacus ciliatus*.	101
جدول(4-12)	تأثيرتراكيز مختلفة من المستحضر الحيوي *B.thuringiensis* في المعدل الكلي لبزوغ العذارى بعمر(7-6) يوم لذبابة ثمار القرعيات *Dacus ciliatus*	102
جدول(4-13)	تأثير تراكيز مختلفة من المستحضر الحيوي لبكتريا *Bt* المعزولة من التربة في	106

	معدل قتل البالغات (ذكور واناث) لذبابة ثمار القرعيات *Dacus ciliatus* بدرجة حرارة (25±2)°م و ورطوبة النسبية 5%±65.	
جدول(14-4)	تأثير تراكيز مختلفة من المستحضرالحيوي لبكتريا *B.thuringiensis* المعزول من الماء في معدل قتل البالغات(ذكور واناث) لذبابة ثمار القرعيات *Dacus ciliatus* بدرجة حرارة(25±2)°م و ورطوبة النسبية 5%±65	110
جدول(15-4)	تأثير تراكيز مختلفة من المستحضر الحيوي لبكتريا *Bacillus thuringiensis* في معدل الكلي لقتل البالغات(ذكور وإناث) لذبابة ثمار القرعيات *D. ciliatus*	112
جدول(16-4)	تأثير تراكيز مختلفة من المستحضر الحيوي لبكتريا *B.thuringiensis* المعزولة من التربة في معدل إنتاجية البيض للأنثى الواحدة لذبابة ثمار القرعيات *Dacus ciliatus*.	115
جدول(17-4)	تأثير تراكيز مختلفة من المستحضر الحيوي لبكتريا *B.thuringiensis* المعزولة من التربة في معدل إنتاجية البيض للأنثى الواحدة لذبابة ثمار القرعيات *Dacus ciliatus*.	116

قائمة ا لصور

التسلسل	العنوان	الصفحة
صورة 1	مظهر الإصابة لذبابة ثمار القرعيات *D. ciliatus* (Loew) لمحصول القرع قوة التكبير X10	8
صورة 2	دور البيضة لذبابة ثمار القرعيات *D. ciliatus* (Loew) داخل نسيج ثمرة القرع قوة التكبير X10	10
صورة 3	دور اليرقة لذبابة ثمار القرعيات *D . c iliatus* (Loew) داخل نسيج ثمرة القرع قوة التكبير X10	11
صورة 4	دور العذراء لذبابة ثمار القرعيات *D. ciliatus* (Loew) قوة التكبير X10	11
صورة 5	دور الحشرة الكاملة لذبابة ثمار القرعيات *D. ciliatus* (Loew) قوة	12

	التكبيرX10	
صورة 6	(A) تركيب بروتين البلوري Cry 3A (B) تركيب بروتين التحليل الخلويCyt 2A	27
صورة 7	إلية العمل لجين cry δ-endotoxin	29
صورة 8	يوضح إلية السمية لبكتيريا *Bt*	30
صورة 9	مستحضر الحيوي لبكتريا *Bt* المعزولة من التربة والماء	63
صورة 10	صناديق تربية الحشرات.	64
صورة 11	تحضير تخافيف من المستحضر البكتريا*BT*	65
صورة 12	معاملة يرقات الطور الرابع	66
صورة 13	صناديق لمعاملة البالغات	68
صورة 14	صبغة غرام Gram stain	72
صورة 15	السبورات(صبغة الملكايت)	72
صورة 16	السبورات والبروتينات البلورية(صبغة كاربول فوكسين).	72
صورة 17	اشكال الكرستالات البروتينية المختلفة(صبغة CBB).	72
صورة 18	الترحيل الكهربائي للكشف عن 16S rDNA المتضاعفة باستخدام تقنية (PCR) الترحيل على هلام الأكاروز بتركيز (1%) وفرق جهد 100 فولت مدة قدرها 45 دقيقة.	76
صورة 19	الترحيل الكهربائي للكشف عن الجينين cry المتضاعفة باستخدام تقنية (PCR) الترحيل على هلام الأكاروز بتركيز (1%) وفرق جهد 100 فولت مدة قدرها 45 دقيقة .	77
صورة 20	تأثير المستحضر الحيوي لبكتريا *Bacillus thringiensis* على يرقات الطور الأخير لذبابة القرعيات مصورة بوساطة مجهر ضوئي وبقوة تكبير45X.	93
صورة 21	عذارى ذبابة ثمار القرعيات *D.ciliatus* بعمر(6-7) يوم المعرضة الى المستحضر الحيوي لبكتيريا *B.thuringiensis* بوساطة مجهر ضوئي وبقوة تكبير45X.	103

قائمة المختصرات

قائمة المختصرات	
Bt	***Bacillus thuringiensis***
bp	**Base pair**
CBB	**Coomasie Brilliant Blue**
cry	**Crystal**
cyt	**Cytolytic**
dH2O	**Deionized water**
dNTP	**Deoxynucleotide triphosphate**
DNA	**Deoxynuclic acid**
EDTA	**Ethylene di-amine tetra acetic acid**
g	**Grams**
L	**Liter**
MD	**Mega Dalton**
µl	**Microliter**
PCR	**Polymerase Chain Reaction**
TBE	**Tris Borate EDTA**
TE	**Tris EDTA**
Tris-OH	**Tris-(hydroxymethyl) methylamine**
WHO	**World health organization**

المقدمة

Introduction

استعراض المراجع

Literature Review

المواد وطرائق العمل

Materials and Methods

النتائج و المناقشة

Results and Discussion

الاستنتاجات والتوصيات

Conclusions

and

Recommendations

المصادر

References

الملاحق

Appendix

1. المقدمـــــة Introduction

عرفت العائلة القرعية باسم Cucurbitaceae ويطلق على محاصيل الخضر التابعة لها اسم القرعيات Cucurbits ومعظمها من المحاصيل الحولية ، إذ يعد البطيخ والخيار وقرع الكوسة من أهم محاصيل الخضر التابعة لهذه العائلة في المنطقة العربية بشكل عام وفي العراق بشكل خاص، وبموجب الإحصائيات لعام 2007 المساحات المزروعة في العراق من البطيخ والخيار بلغت44.05 و 49.95 ألف هكتار على الترتيب ، وتميز العراق بأنه أكثر البلدان العربية زراعة للخيار وثاني بلد عربي في زراعة البطيخ بعد مصر ، وتشير الإحصائيات نفسها إن الإنتاجية من البطيخ والخيار بلغت 11882 و6954 كغم/هكتار على الترتيب ، أما مجمل الإنتاج من البطيخ والخيار فبلغا 523.40 و 347.35 ألف طن على الترتيب **(الكتاب السنوي للإحصائيات الزراعية ، 2008)**.

تعدّ عائلة ذبابة ثمار القرعيات (Family:Tephritidae) من أهم العوائل التي تضم أنواعاً ذات اهمية اقتصادية خاصة على ثمار الفاكهة والخضر في المناطق الأستوائية وشبة الأستوائية وتسبب خسارة تتراوح بين 30–70%من الحاصل (**Royer وHancock 2002؛ Gillani وآخرون ،2012)**. يوجد حوالي اكثر من 4000 نوع يعود الى هذه العائلة يعود الى SubFamily:Dacine ومن بين اهم اجناسها*Dacus* و*Bactrocera* الذي يعود لهما اكثرمن 50 نوعاً من انواع الذباب الاشد ضرر بثمار الخضر العائلة القرعية فضلا عن انواعها البرية الأخرى مثل الحنظل البري *Citrullus colocynthus schard* والليف *Luff*a eaegyptiaca Miller **(مهدي،2002)**، من انواع ذبابة الفاكهة المهمة في العراق ذبابة ثمار القرعيات او ذبابة الفاكهة الاثيوبية *Cucurbit Ethiopian fruit fly* or *Dacus ciliatus* التي سجلت من قبل **Moanas وAbdul-Rassoul(1988)** باتت هذه الذبابة عائقا لتقدم زراعة محاصيل عائلة القرعية في معظم بلدان أسيا وأفريقيا ومنها العراق خاصة بعد ظهورها لأول مرة

فيه عام 1988 في منطقتي الكوت والعمارة وتشخيصها على ثمار القرعيات (Abdul-Rassoul و Moanas 1989) .

تعدّ ذبابة ثمار القرعيات *D.ciliatus* التي تنتمي إلى عائلة الذباب الحقيقي من الآفات الرئيسة على محاصيل العائلة القرعية (Alda ood 201). إذ تسبب ذبابة ثمار القرعيات أضراراً اقتصادية هامة لمحاصيل العائلة القرعية إذ قدرت هذه الخسائر في العراق بأكثر من 50% من حاصل القرعيات للموسمين 1998 و 1999 (**الجبوري ،1999**) . وتختلف نسبة الإصابة من سنة إلى أخرى تصل احياناً إلى 90% في بعض السنين خاصة في المناطق الوسطى والجنوبية من العراق(**الوائلي، 2014**). أن الأضرار الناجمة عن تغذية اليرقات على الفاكهة يمكن أن تصل إلى90٪ من المحصول (el ou و uine e 201) .

إنَّ الزراعة الواسعة لثمار القرعيات في العراق خاصة إذ إنها تزرع مرتان في السنة ، والظروف المناخية الملائمة لمعيشة الحشرة ، و عدم وجود الأعداء الحيوية لها أو قلتها كل هذه العوامل أدت إلى انتشار هذه الحشرة وازدياد أضرارها على ثمار العائلة القرعية وبالتالي زيادة معاناة المزارعين بسبب شدة إصابتها لثمار القرعيات في معظم محافظات القطر مسببه أضراراً اقتصادية كبيرة بسبب تغذية اليرقات على الثمار إذ تفضل هذه الحشرة قرع الكوسة وخيار القثاء وبدرجة اقل خيار الماء والقرع العنكابي من خلال درجة إصابتها لهذه الثمار (**مهدي ، 2000**). مما يؤدي إلى تعفنها ورداءة نوعيتها وبالتالي صعوبة تسويقها ، وإزاء هذا الواقع ولوضع حلول ناجحة وشاملة لمشكلة ذبابة ثمار القرعيات التي يعاني منها المزارعون في مختلف مناطق العراق إذ استعملت في البداية المبيدات الكيميائية بشكل رئيس ، وبسبب ما لهذه الطريقة من تأثيرات سلبية على النظام البيئي إذ تشكل اليوم احد عناصر التلوث المهمة في البيئة (**شعبان والملاح ،**

□199) وإخفاقها في السيطرة التامة على الآفات وبالأخص الحشرية منها ولاسيما تلك التي تقضي بعض ادوار حياتها داخل أجزاء النبات (19□9،Hu□ue وA□□ed) .

نظراً للانتشار السريع لهذه الآفة في العراق فقد اصبحت خطراً يهدد ثمار القرعيات التي تسهم اسهاماً فعالاً في سد جزء كبير من الاحتياجات الغذائية للشعب العراقي ، لعدم جدوى استعمال المبيدات الكيميائية في الحد من اضررها ، إضافة لقدرة هذه المبيدات على تلويث النظام البيئي ،فقد ينتج عن ذلك تأثيرات سلبية على الأنسان والحيوان وظهور سلالات حشرية مقاومة لفعل هذه المبيدات، مما يؤدي للبحث عن وسائل بديلة اكثر أماناً من الناحية الصحية واقل ضرراً على النظام البيئي (**الطويل وآخرون، 2005**).

لذا اتجهت الانظار نحو استخدام الوسائل الحيوية في مجال مكافحة الآفات الحشرية باستخدام الممرضات الحشرية ومن بينها البكتيريا ومن أهمها البكتيريا المنتجة للبروتينات البلورية *Bacillus thuringiensis* (**توفيق،1997**). ونتيجة لامتلاك البكتيريا *Bacillus thuringiensis* القدرة على إنتاج البلورات البروتينية Crystal Proteins (Cry) التي تكون مسؤولة عن صفة السمية للحشرات إذ تنتج هذه البكتيريا الكثير من عوامل الضراوة مثل بروتينات المبيدات الحشرية الخضرية vegetative insecticidal proteins والسموم الداخلية دالتا delta-endotoxins وانزيم chitinase ، والتنوع في أنتاج هذه العوامل المختلفة جدا بين الأنماط المصلية العائدة لبكتيريا *Bacillus thuringiensis* ، وأحياناً تختلف بين العزلات العائدة للنمط المصلي نفسه(**ra□is□وMaureen،2000**). لذا ركزت البحوث حول استخدام هذا النوع من البكتيريا في مجال السيطرة البيولوجية بوصفها مبيداً للآفات الزراعية (**بلاسم**

وآخرون،2014). أهم ميزة لهذه البروتينات هي إمراضية للحشرات وكل بروتين بلوري لديه مضيف مميز.

امتازت مستحضرات*B.thuringiensis* بالتخصص الدقيق وتدني كلفة الانتاج وعدم احداثها تلوث بالبيئة ولا تترك متبقيات في التربة ولا تضر بالأعداء الحيوية لكونها مبيدات متخصصة في تأثيرها وغير سامة للزواحف وللبائن والبرمائيات**(جميل وحمد،2014).**

2-1 الهـدف من الدراســة: Ai□ o□study

نظراً لما تقدم من أهمية ذبابة ثمار القرعيات *D.ciliatus* ولقلة وجود الدراسات حول أستخدام البكتيريا الممرضة *B.thuringiensis* في السيطرة على الحشرة ولكون المبيدات الكيميائية غير كفوءة في القضاء على الحشرة وكذالك لكونها ملوثات بيئية لذا تم اقتراح موضوع الدراسة ليشمل الجوانب الآتية:

أولا: امكانية عزل البكتيريا الممرضة *B. thuringiensis* من نظم بيئية مختلفة وتشخيصها وتوصيفها بوساطة بعض الأختبارات الكيمو حيوية.

ثانيا: تصنيف البكتيريا الممرضة *B.thuringiensis* وراثياً بأستخدام معلمات جزيئية متخصصة من دنا النواة وهي 16S rDNA وبأستخدام تقنيةPCR .

ثالثا: الكشف عن وجود الجين *cry* الذي يشفر للبروتينات البلورية Crystal Proteins في هذا النوع من البكتيريا بأستخدام معلمات جزيئية متخصصة.

رابعا: دراسة تأثير البكتيريا الممرضة *B. thuringiensis* المعزولة من التربة والماء في بعض المقايس الحياتية لذبابة ثمار القرعيات *D.ciliatus* .