



وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة ديالى

كلية التربية للعلوم الصرفة

قسم علوم الحياة

دراسة وراثية جزيئية وكيميائية مقارنة بين نوعين من جنس *Chrysomya* sp. (Diptera: Calliphoridae) في العراق

رسالة مقدمة الى مجلس

كلية التربية للعلوم الصرفة – جامعة ديالى كجزء من متطلبات نيل درجة

الماجستير في علوم الحياة

من قبل الطالبة

شفاء وليد خالد

بكالوريوس علوم حياة 2012

بإشراف

أ.م.د. غالب ادريس عطية

أ.م.د. عمار احمد سلطان القرعة غولي

٢٠١٨ م

١٤٣٩ هـ

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

يَا أَيُّهَا النَّاسُ ضُرِبَ مَثَلٌ فَاسْتَمِعُوا لَهُ إِنَّ الَّذِينَ تَدْعُونَ مِنْ دُونِ
اللَّهِ لَنْ يَخْلُقُوا ذُبَابًا وَلَوْ اجْتَمَعُوا لَهُ وَإِنْ يَسْلُبْهُمُ الذُّبَابُ شَيْئًا لَا
يَسْتَنْقِذُوهُ مِنْهُ ضَعُفَ الطَّالِبُ وَالْمَطْلُوبُ

صدق الله العلي العظيم

(سورة الحج : الایة 73)

الاهداء

إلى الألماس الذي لن ينكسر . . نبع العطاء الذي زرع الأخلاق بداخلي

وعلمني طُرُق الرُّقي

والدي العزيز (رحمه الله) .

إلى مَنْ ... إِنَّ وَصَفَتْهَا الْكَلِمَاتُ عَجَزْتُ وَإِنْ سَمِعْتُ اسْمَهَا أَمْوَاجُ الْبَحْرِ قَدْ سَكَنْتُ

والدتي الحبيبة (اطال الله عمرها) .

إلى من كان لي سنداً وعوناً في كل شيء ...

إلى شريك حياتي ورفيق عمري.....

زوجي الحبيب .

إلى ... ملائكة الأرض . . . وشقائق النعمان اخوتي واخواتي. . . الذين إحتضنوني

وزرعوا الورد في طريقي

إلى كل من قال لا إله إلا الله محمد رسول الله من أبناء وطني الجريح

أهدي ثمرة هذا الجهد المتواضع

بسم الله الرحمن الرحيم

شكر وتقدير

الحمد لله حق حمده ... والشكر له الذي أنار لي الدرب وألهمني الصبر والإرادة ، والصلاة والسلام على حبيبته المصطفى محمد (ﷺ) وعلى آله وصحبه أجمعين ... يسعدني أن أتقدم بالشكر الجزيل إلى عمادة كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة ديالى لإتاحة الفرصة لإكمال دراستي وإلى أستاذي الأستاذ المساعد الدكتور **عمار احمد سلطان القرة غولي** (رئيس قسم علوم الحياة) لاقتراحه موضوع الرسالة ولجهوده القيمة في تقديم التوجيهات والإرشادات العلمية المتميزة طويلة مدة البحث، وإلى عميد كلية التربية للعلوم الصرفة الأستاذ المساعد الدكتور **غالب إدريس عطية** لما أبداه من العون والتوجيه العلمي الرصين . وأوجه شكري وتقديري إلى الأستاذ المساعد الدكتور **مثنى محمد إبراهيم** / كلية التربية للعلوم الصرفة / قسم علوم الحياة ، وأوجه فائق شكري وتقديري واحترامي لكل من الأستاذ الدكتور **رزاق شعلان عكل** والاستاذ المساعد الدكتور **هناء هاني صفار** في مركز بحوث ومتحف التاريخ الطبيعي/ قسم الحشرات واللافقرات في جامعة بغداد لمساعدتهم لي في مجال تشخيص الحشرة، كما أتقدم بالشكر والتقدير إلى وزارة العلوم التكنولوجية / دائرة بحوث وتكنولوجيا البيئة والماء لمساعدتي في إجراء التحليل الخاص بالجزء الكيميائي، كما أوجه شكري وتقديري إلى الأستاذ المساعد الدكتورة **ليلى جبار محمد البهادلي** / كلية العلوم / قسم علوم الحياة / الجامعة المستنصرية كذلك أتقدم بخالص شكري وامتناني إلى جميع أفراد عائلتي الكريمة لتشجيعهم المتواصل لي ولتعاونهم معي من أجل إكمال دراستي وتوفيرهم ما يلزم لإتمام الدراسة والبحث ، شكري وتقديري إلى كل من ساندني أو قدم لي نصيحة أو مشورة وفاتني ذكره ... والله ولي التوفيق.

شفاء وليد خالد

إقرار لجنة المناقشة

نشهد نحن أعضاء لجنة المناقشة، أننا اطلعنا على هذه الرسالة الموسومة بـ (دراسة وراثية جزيئية وكيميائية مقارنة بين نوعين من جنس *Chrysomya sp.* (Diptera:Calliphoridae) في العراق) التي قدمتها طالبة الماجستير (شفاء وليد خالد عبد الله) وقد ناقشنا الطالبة في محتوياتها وفيما له علاقة بها وذلك بتاريخ (/ / ٢٠١٨) ونعتقد إنها جديرة بالقبول لنيل شهادة الماجستير في علوم الحياة وبتقدير () .

رئيس اللجنة

التوقيع :

الأسم : د. منذر حمزة راضي

المرتبة العلمية : أستاذ مساعد

التاريخ : / ١ / ٢٠١٩

عضو اللجنة

التوقيع:

الأسم : د. هبة شاكر احمد الأسم

المرتبة العلمية: أستاذ مساعد

التاريخ : / ١ / ٢٠١٩

عضو اللجنة

التوقيع :

: د. مصطفى كطان شنيشل

المرتبة العلمية : مدرس

التاريخ : / ١ / ٢٠١٩

عضو اللجنة المشرف

التوقيع :

الأسم : د. غالب ادريس عطية

المرتبة العلمية : أستاذ مساعد

التاريخ : / ١ / ٢٠١٩

عضو اللجنة المشرف

التوقيع :

الأسم : د. عمار أحمد سلطان

المرتبة العلمية : أستاذ مساعد

التاريخ : / ١ / ٢٠١٩

مصادقة عمادة كلية التربية للعلوم الصرفة

أصادق على ما جاء في قرار اللجنة أعلاه

التوقيع :

الأسم : د. غالب ادريس عطية

المرتبة العلمية : أستاذ مساعد

التاريخ : / ١ / ٢٠١٩

إقرار المقوم العلمي

أشهد أن هذه الرسالة الموسومة بـ (دراسة وراثية جزيئية وكيميائية مقارنة بين نوعين من جنس *Chrysomya sp.* (Diptera:calliphoridae) في العراق) التي قدمتها طالبة الماجستير (شفاء وليد خالد عبدالله) قد تمت مراجعتها من الناحية العلمية، وبذلك أصبحت الرسالة مؤهلة للمناقشة.

التوقيع :

الأسم :

اللقب العلمي :

التاريخ / / 201

إقرار لجنة المشرفين وترشيح لجنة الدراسات العليا

نشهد بأن إعداد هذه الرسالة الموسومة بـ (دراسة وراثية جزيئية وكيميائية مقارنة بين نوعين من جنس *Chrysomya sp.* (Diptera:Calliphoridae) في العراق) التي قدمتها طالبة الماجستير (شفاء وليد خالد عبدالله) قد جرت تحت إشرافنا في قسم علوم الحياة / كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة ديالى وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة .

التوقيع:

التوقيع:

المشرف: أ.م.د. عمار احمد سلطان القره غولي

المشرف: أ.م.د. غالب ادريس عطيه

كلية التربية للعلوم الصرفة/جامعة ديالى
ديالى

كلية التربية للعلوم الصرفة /جامعة

التاريخ / / 201

التاريخ / / 201

توصية رئيس قسم علوم الحياة

بناءً على التوصيات المتوافرة نرشح هذه الرسالة للمناقشة

التوقيع:

الاسم:

اللقب العلمي:

رئيس لجنة الدراسات العليا – رئيس قسم علوم الحياة

التاريخ:

إقرار المقوم اللغوي

أشهد أن هذه الرسالة الموسومة بـ (دراسة وراثية جزيئية وكيميائية مقارنة بين نوعين من جنس *Chrysomya sp.* (Diptera:calliphoridae) في العراق) التي قدمتها طالبة الماجستير (شفاء وليد خالد عبدالله) قد تمت مراجعتها من الناحية اللغوية، وُضِحَ ما ورد فيها من أخطاء لغوية وتعبيرية، وبذلك أصبحت الرسالة مؤهلة للمناقشة بقدر تعلق الأمر بسلامة الاسلوب وصحة التعبير.

التوقيع :

الأسم :

اللقب العلمي :

التاريخ / / 201

قائمة المحتويات

رقم الصفحة	الموضوع	التسلسل
أ	الخلاصة باللغة العربية	
	الفصل الأول	
1	المقدمة Introduction	1
	الفصل الثاني	
5	استعراض المراجع Literature Review	2
5	الموقع التصنيفي لذبابة الدودة الحلزونية نوع <i>Chrysomya megacephala</i> و <i>Chrysomya albiceps</i>	1-2
7	دورة حياة ذبابة الدودة الحلزونية نوع <i>Chrysomya megacephala</i> و <i>Chrysomya albiceps</i>	2-2
8	الأهمية العلمية لذبابة الدودة الحلزونية نوع <i>Ch.megacephala</i> و <i>Ch.albiceps</i>	3-2
12	الانتشار المحلي والعالمي لذبابة الدودة الحلزونية	4-2
14	دنا الماييتوكوندرية في الحشرات وأهميته في دراسة التباير الوراثي بين الأنواع	5-2
17	جينات الماييتوكوندرية COI و COII	6-2
19	الدراسة الوراثية الكمية باستخدام المقياس الهندسي لشكل الجناح وتركيبه	7-2
21	أنواع المقياس الهندسي لشكل الجناح وتركيبه	1-7-2
22	الدراسات السابقة المتعلقة بإستعمال المقياس الهندسي لشكل الجناح أو تركيبه للمقارنة بين المجتمعات السكانية للحشرات	2-7-2
23	دراسة المحتوى الكيميائي للحشرة الكاملة تشمل جدار الجسم والأحشاء الداخلية	8-2

الفصل الثالث

26	المواد وطرائق العمل Materials and methods	3
26	المواد Materials	1-3
26	الأجهزة والمواد المستخدمة في هذه الدراسة	1-1-3
28	المحاليل والمواد الكيميائية المستخدمة في هذه الدراسة	2-1-3
29	محتويات عدة استخلاص ألدنا DNA	3-1-3
29	طرائق العمل Methods	2-3
29	الدراسة الوراثية الجزيئية Molecular Genetic Study	1-2-3
29	استخلاص ألدنا DNA DNA Extraction	2-2-3
29	محاليل الأستخلاص	3-2-3
30	طريقة استخلاص ألدنا DNA	4-2-3
32	تقدير نوعية ألدنا DNA المستخلص DNA Quality Extraction	5-2-3
32	المحاليل المستخدمة	A 5-2-3
33	الترحيل على هلام اللاكاروز Gel Electrophoresis	B 5-2-3
34	تفاعلات Specific –PCR	3-3
34	استخدام اثنان من البودائ المتخصصة	1-3-3
35	المحاليل والمواد اللازمة لأجراء التفاعلات	2-3-3
35	طريقة العمل	3-3-3
37	الترحيل الكهربائي Gel Electrophoresis لخليط تفاعل ألدنا PCR	4-3-3
38	الدراسة الوراثية الكمية Quantitative Genetic Study	4-3
38	تحضير العينات Specimens Processing	1-4-3

39	Data Collecting جمع البيانات	2-4-3
42	Software البرمجيات	3-4-3
42	Chemical Study الدراسة الكيميائية	5-3
42	Specimens Collection جمع العينات	1-5-3
43	طريقة العمل	2-5-3
الفصل الرابع		
44	Results and Discussion النتائج والمناقشة	4
44	الدراسة الوراثية الجزيئية Molecular genetics Study	1-4
44	DNA Isolation Results نتائج عزل ألدنا	1-1-4
46	نتائج تضخيم الجين COI من DNA الماييتوكوندريا لنوعين مختلفين من الذبابة الحلزونية وهما <i>Ch.megacephala</i> و <i>Ch.albecips</i>	2-1-4
47	نتائج تضخيم الجين COII من DNA الماييتوكوندريا لنوعين مختلفين من الذبابة الحلزونية وهما <i>Ch.megacephala</i> و <i>Ch.albecips</i>	3-1-4
4٩	دراسة التسلسل ألتتابعي للقواعد النتروجينية Studying of Nitrogen Bases	4-1-4
50	المقارنة بين نوعين مختلفين من الذبابة الحلزونية وهما <i>Ch.albecips</i> و <i>Ch.megacephala</i> من ناحية التسلسل التتابعي للجين CO1	1-4-1-4
54	المقارنة بين نوعين مختلفين من الذبابة الحلزونية وهما <i>Ch.albecips</i> و <i>Ch.megacephala</i> مع عينتين من	2-4-1-4

	بنك الجينات من ناحية التسلسل التتابعي للجين CO1	
62	المقارنة بين نوعين مختلفين من الذبابة الحلزونية وهما <i>Ch.albecips</i> و <i>Ch.megacephala</i> من ناحية التسلسل التتابعي للجين COII	3-4-1-4
64	المقارنة بين نوعين مختلفين من الذبابة الحلزونية وهما <i>Ch.albecips</i> و <i>Ch.megacephala</i> مع عينتين من بنك الجينات من ناحية التسلسل التتابعي للجين COII	4-4-1-4
70	الدراسة الوراثية الكمية Quantitative genetic study	2-4
70	دراسة التباير الوراثي الكمي في شكل الجناح وحجمه بين ذكور نوعين من الذبابة الحلزونية <i>Chrysomya megacephala</i> و <i>Chrysomya albiceps</i> باستعمال المقياس الهندسي للشكل المظهر للجناح Geometric Morphometric of Wing	1-2-4
83	دراسة التباير الوراثي الكمي في شكل الجناح وحجمه بين اناث نوعين من الذبابة الحلزونية <i>Chrysomya megacephala</i> و <i>Chrysomya albiceps</i> باستعمال المقياس الهندسي للشكل المظهر للجناح Geometric Morphometric of Wing	2-2-4
94	الدراسة الكيميائية Chemical Study	3-4
	الفصل الخامس	5
102	الاستنتاجات والتوصيات Conclusions and Recommendations	1-5
102	الاستنتاجات Conclusions	
103	التوصيات Recommendations	2-5
	المصادر References	
104	أولا : المصادر العربية	
106	ثانيا: المصادر الأجنبية	
119	الملاحق	

A	ملخص الرسالة باللغة الانكليزية	
---	--------------------------------	--

قائمة الجداول

رقم الصفحة	عنوان الجدول	التسلسل
26	الأجهزة والمواد المستخدمة والأصل والمنشأ	1
28	المحاليل والمواد الكيميائية والأصل والمنشأ	2
29	محتويات عدة استخلاص ألد DNA	3
34	البوادي المستخدمة وتسلسلاتها	4
35	مكونات خليط التفاعل الرئيس	5
36	ظروف تفاعل Specific – PCR COI DND Gene	6
36	ظروف تفاعل Specific – PCRCOI DND Gene	7
53	مقارنة النسبة المئوية لحدوث كل من طفرة الحذف والاستبدال التابعة لإناث نوعين من الذبابة الحلزونية وهما <i>Ch.albecips</i> و <i>Ch.megacephala</i>	8
53	مقارنة النسبة المئوية لحدوث كل من طفرة الحذف والاستبدال التابعة لذكور نوعين من الذبابة الحلزونية وهما <i>Ch.albecips</i> و <i>Ch.megacephala</i>	9
56	مقارنة النسب المئوية لحدوث كل من طفرة الحذف والاستبدال لإناث نوعين مختلفين من الذبابة الحلزونية وهما <i>Ch.albecips</i> و <i>Ch.megacephala</i> مع النسب المئوية لحدوث طفرات الحذف والاستبدال مع عينتين من بنك الجينات	10
57	مقارنة النسب المئوية لحدوث كل من طفرة الحذف والاستبدال لذكور نوعين مختلفين من الذبابة الحلزونية وهما <i>Ch.albecips</i> و <i>Ch.megacephala</i> مع النسب المئوية لحدوث طفرات الحذف والاستبدال مع عينتين من بنك الجينات	11

64	مقارنة النسبة المئوية لحدوث كل من طفرة الحذف والاستبدال التابعة لإنات نوعين من الذبابة الحلزونية وهما <i>Ch.albecips</i> و <i>Ch.megacephala</i>	12
64	مقارنة النسبة المئوية لحدوث كل من طفرة الحذف والاستبدال التابعة لذكور نوعين من الذبابة الحلزونية وهما <i>Ch.albecips</i> و <i>Ch.megacephala</i>	13
66	مقارنة النسب المئوية لحدوث كل من طفرة الحذف والاستبدال لإنات نوعين مختلفين من الذبابة الحلزونية وهما ا <i>Ch.albecips</i> و <i>Ch.megacephala</i> مع النسب المئوية لحدوث طفرات الحذف والاستبدال مع عينتين من بنك الجينات	14
76	مقارنة النسب المئوية لحدوث كل من طفرة الحذف والاستبدال لذكور نوعين مختلفين من الذبابة الحلزونية وهما <i>Ch.albecips</i> و <i>Ch.megacephala</i> مع النسب المئوية لحدوث طفرات الحذف والاستبدال لعينتين من بنك الجينات	15
78	مقارنة الحجم المركزي للجناح الايمن بين ذكور الذبابة الحلزونية للنوع <i>Ch.mehacephala</i> و للنوع <i>Ch.albiceps</i>	16
80	مقارنة مسافة مهالانوبس Mahalanobis distance بين ذكور الذبابة الحلزونية لكلا النوعين <i>Ch.mehacephala</i> و <i>Ch.albiceps</i>	17
82	تحليل التباين ANOVA لتماثل حجم الجناح الايمن بين ذكور الذبابة الحلزونية للنوع <i>Ch.megacephala</i> والنوع <i>Ch.albiceps</i>	18
82	تحليل التباين ANOVA لتماثل شكل الجناح الايمن بين ذكور الذبابة الحلزونية للنوع <i>Ch.megacephala</i> والنوع <i>Ch.albiceps</i>	19

89	مقارنة الحجم المركزي للجنح الايمن بين اناث الذبابة الحلزونية لنوع <i>Ch.mehacephala</i> و للنوع <i>Ch.albiceps</i>	20
91	مقارنة مسافة مهالانوبز Mahalanobis distance بين اناث الذبابة الحلزونية لكلا النوعين <i>Ch.mehacephala</i> و <i>Ch.albiceps</i>	21
93	تحليل التباين ANOVA لتماثل حجم الجناح الايمن بين اناث الذبابة الحلزونية للنوع <i>Ch.megacephala</i> والنوع <i>Ch.albiceps</i>	22
93	تحليل التباين ANOVA لتماثل شكل الجناح الايمن بين اناث الذبابة الحلزونية للنوع <i>Ch.megacephala</i> والنوع <i>Ch.albiceps</i>	23
95	المركبات الكيميائية للحشرة الكاملة تشمل جدار الجسم والاحشاء الداخلية للنوع <i>Chrysomya megacephala</i>	24
96	المركبات الكيميائية للحشرة الكاملة تشمل جدار الجسم والاحشاء الداخلية للنوع <i>Chrysomya albiceps</i>	25

قائمة الاشكال

رقم الصفحة	عنوان الشكل	التسلسل
58	مقارنة رصف القواعد النتروجينية Alignment لقطعة من دنا الميتوكوندريا تشمل جزءا من الجين COI بين اناث نوعين مختلفين من الذبابة الحلزونية وهما <i>Ch.megacephala</i> و <i>Ch.albecips</i>	1
60	مقارنة رصف القواعد النتروجينية Alignment لقطعة من دنا الميتوكوندريا تشمل جزءا من الجين COI بين ذكور نوعين مختلفين من الذبابة الحلزونية وهما <i>Ch.megacephala</i> و <i>Ch.albecips</i>	2
68	مقارنة رصف القواعد النتروجينية Alignment لقطعة من دنا الميتوكوندريا تشمل جزءا من الجين COII بين اناث نوعين مختلفين من الذبابة الحلزونية وهما <i>Ch.megacephala</i> و <i>Ch.albecips</i>	3

69	مقارنة رصف القواعد النتروجينية Alignment لقطعة من دنا المايكوكوندريا تشمل جزءا من الجين COII بين ذكور نوعين مختلفين من الذبابة الحلزونية وهما <i>Ch.albecips</i> و <i>Ch.megacephala</i>	4
73	معدل إحداثيات المعالم للجناح الأيمن لذكور نوعين مختلفين من الذبابة الحلزونية والتي عددها 15 معلم لكل جناح ، يمثل اللون الجوزي واللون الاخضر في الشكل عينات الذبابة الحلزونية ولكلا النوعين <i>Ch.albiceps</i> و <i>Ch.mehacephala</i> على التوالي .	5
75	الشكل الانتشاري لتوزيع ذكور نوعين مختلفين من الذبابة الحلزونية على طول التحليلين العاملين الاول والثاني PCs لإحداثيات فضاء الظل المشتقة من احداثيات المعالم الاصلية لكل جناح والتي عددها 15 معلما ، اللون الجوزي واللون الاخضر في الشكل يمثلان ذكور كلا النوعين <i>Ch.albiceps</i> و <i>Ch.mehacephala</i> على التوالي .	6
77	الحجم المركزي Centroid size للأجنحة اليمنى لذكور نوعين مختلفين من الذبابة الحلزونية ، اذ يمثل كل صندوق في الشكل المجموعة الوسطية موزعة بين الربع 10% والربع 90% ، الخطوط الزرقاء تحت كل صندوق تمثل الاجنحة والارقام في ١ ، ٢ في الشكل تمثل كلا النوعين <i>Ch.albiceps</i> و <i>Ch.mehacephala</i> على التوالي .	7
78	الحجم المركزي Centroid size للأجنحة اليمنى لذكور نوعين مختلفين من الذبابة الحلزونية ، اذ يمثل كل صندوق في الشكل المجموعة الوسطية موزعة بين الربع 25% والربع 75% ، الخطوط الزرقاء تحت كل صندوق تمثل الاجنحة والارقام في ١ ، ٢ في الشكل تمثل كلا النوعين <i>Ch.albiceps</i> و <i>Ch.mehacephala</i> على التوالي .	8
80	التحليل التمييزي Discriminant analysis لإحداثيات معالم الاجنحة اليمنى لذكور نوعين مختلفين من الذبابة الحلزونية ، اذ يمثل اللون الاسود في الشكل عينات النوع <i>Ch.megacephala</i> ويمثل اللون الابيض في الشكل عينات النوع <i>Ch.albiceps</i> .	9

82	التحليل العائلي Principle component analysis لإحداثيات معالم الأجنحة اليمنى لذكور نوعين مختلفين من الذبابة الحزونية اللون الجوزي واللون الأخضر في الشكل عينات كلا النوعين <i>Ch.albiceps</i> و <i>Ch.mehacephala</i> على التوالي ، ويمثل المربع الجوزي والمربع الأخضر في الشكل معدل الحجم المركزي للجناح الأيمن ولكلا النوعين والذي هو 1404.89 ، 1103.75 على التوالي .	10
85	معدل أحداثيات المعالم للجناح الأيمن لإناث نوعين مختلفين من الذبابة الحزونية والتي عددها ١٥ معلم لكل جناح ، يمثل اللون الأخضر واللون الجوزي في الشكل عينات الذبابة الحزونية ولكلا النوعين <i>Ch.albiceps</i> و <i>Ch.mehacephala</i> على التوالي .	11
86	الشكل الانتشاري لتوزيع إناث نوعين مختلفين من الذبابة الحزونية على طول التحليلين العاملين الأول والثاني PCs لإحداثيات فضاء الظل المشتقة من أحداثيات المعالم الأصلية لكل جناح والتي عددها ١٥ معلما ، اللون الأخضر واللون الجوزي في الشكل يمثلان إناث كلا النوعين <i>Ch.albiceps</i> و <i>Ch.mehacephala</i> على التوالي .	12
88	الحجم المركزي Centroid size للأجنحة اليمنى لإناث نوعين مختلفين من الذبابة الحزونية ، إذ يمثل كل صندوق في الشكل المجموعة الوسطية موزعة بين الربع 10% والربع 90% ، الخطوط الزرقاء تحت كل صندوق تمثل الأجنحة والأرقام في ١ ، ٢ في الشكل تمثل كلا النوعين <i>Ch.albiceps</i> و <i>Ch.mehacephala</i> على التوالي .	13
89	الحجم المركزي Centroid size للأجنحة اليمنى لإناث نوعين مختلفين من الذبابة الحزونية ، إذ يمثل كل صندوق في الشكل المجموعة الوسطية موزعة بين الربع 25% والربع 75% ، الخطوط الزرقاء تحت كل صندوق تمثل الأجنحة والأرقام في ١ ، ٢ في الشكل تمثل كلا النوعين <i>Ch.albiceps</i> و <i>Ch.mehacephala</i> على التوالي .	14

91	التحليل التمييزي Discriminant analysis لإحداثيات معالم الاجنحة اليمنى لإناث نوعين مختلفين من الذبابة الحلزونية ، اذ يمثل اللون الاسود في الشكل عينات النوع <i>Ch.megacephala</i> ويمثل اللون الابيض في الشكل عينات النوع <i>Ch.albiceps</i> .	15
92	التحليل العاملي Principle component analysis لإحداثيات معالم الاجنحة اليمنى لإناث نوعين مختلفين من الذبابة الحلزونية اللون الزيتوني واللون الاخضر في الشكل عينات كلا النوعين <i>Ch.mehacephala</i> و <i>Ch.albiceps</i> على التوالي ، ويمثل المربع الزيتوني والمربع الاخضر في الشكل معدل الحجم المركزي للجناح الايمن ولكلا النوعين والذي هو 1354.13 ، 1244.28 مايكون على التوالي .	16
96	مرتسم كروماتوغرافيا الغاز للمحتوى الكيميائي للحشرة الكاملة تشمل جدار الجسم والاحشاء الداخلية للنوع <i>Ch. megacephala</i>	17
98	مرتسم كروماتوغرافيا الغاز للمحتوى الكيميائي للحشرة الكاملة تشمل جدار الجسم والاحشاء الداخلية للنوع <i>Chrysomya albiceps</i>	18

قائمة الصور

رقم الصفحة	عنوان الصورة	التسلسل
6	ذبابة الدودة الحلزونية نوع <i>Ch.megacephala</i>	1
7	ذبابة الدودة الحلزونية نوع <i>Ch.albiceps</i>	2
7	دورة حياة ذبابة الدودة الحلزونية <i>Ch.megacephala</i> و <i>Ch.albiceps</i>	3
40	الجناح الأيمن لذكر الذبابة الحلزونية <i>Ch.megacephala</i> قوة التكبير ٥X	4
40	الجناح الأيمن لأنثى الذبابة الحلزونية <i>Ch.megacephala</i> قوة التكبير 45X	5

41	الجناح الأيمن لذكر الذبابة الحلزونية <i>Ch.albecips</i> قوة التكبير 45X	6
41	الجناح الأيمن لأنثى الذبابة الحلزونية <i>Ch.albecips</i> قوة التكبير 45X	7
44	نتائج الدنا المعزول من ذكور ذبابة الدودة الحلزونية نوع <i>Ch.megacephala</i> و إناثها	8
45	نتائج الدنا المعزول من ذكور ذبابة الدودة الحلزونية نوع <i>Ch.albecips</i> وإناثها	9
47	ناتج تضخيم الجين COI من DNA المايتوكوندريا لنوعين مختلفين من الذبابة الحلزونية وهما <i>Ch.megacephala</i> و <i>Ch.albecips</i>	10
48	ناتج تضخيم الجين COII من DNA المايتوكوندريا لنوعين مختلفين من الذبابة الحلزونية وهما <i>Ch.megacephala</i> و <i>Ch.albecips</i>	11
71	الجناح الايمن لذكر الذبابة الحلزونية <i>Chrysomya megacephala</i> موضحا عليه احداثيات المعالم والتي عددها 15 معلم ، قوة التكبير 45X	12
71	الجناح الايمن لذكر الذبابة الحلزونية <i>Chrysomya albiceps</i> موضحا عليه احداثيات المعالم والتي عددها 15 معلم ، قوة التكبير 45X	13
83	الجناح الايمن لأنثى الذبابة الحلزونية <i>Chrysomya megacephala</i> موضحا عليه احداثيات المعالم والتي عددها 15 معلم ، قوة التكبير 45X	14
83	الجناح الايمن لأنثى الذبابة الحلزونية <i>Chrysomya albiceps</i> موضحا عليه احداثيات المعالم والتي عددها 15 معلم ، قوة التكبير 45X	15
101	التركيب الكيميائي للسليكون	١٦

قائمة المختصرات

الاختصار	المصطلح الكامل
CO1	Cytochrome Oxidase I
CO11	Cytochrome Oxidase II
mtDNA	Mitochondrial DNA
MW	Molecular Weight
Bp	base pairs
PCR	Polymerase Chain Reaction
Ch.	Chrysomya
dATP	Deoxy Adenosine Triphosphate
Dgtp	Deoxy Guanosine Triphosphate
TBE	Tirs Borat
PCs	Pincepal component analysis
UV	Ultraviolet
MCS	Mean Centroid Size
St.D	Standard Deviation
Va	Variance
A.D	Absolute Differences
NCBI	National Center for Biotechnology Information
MOG	Morphometria Geometrica
COO	Collection of Co Ordinates

TET	Tabla Espacios Tabulacions
PAD	Permutaiones Analysis Discriminante
COV	Coveriance
ASI	Asymmetry of Shape and Size
GC-MS	Gas Chromatography- Mass Spectrophotometer

قائمة الملاحق

رقم الصفحة	عنوان الملحق	التسلسل
119	دليل عدة استخلاص ألدنا Genomic DNA Mini Kit (Tissue)	1
123	دليل مكونات خليط التفاعل الرئيس للـ PCR	2
125	أنواع البوادئ المستخدمة في الدراسة	3
127	دليل المؤشر الجزيئي (٢٠٠٠) DNA ladder (bp-100bp)	4
128	كتاب تشخيص عينات الذبابة الحلزونية <i>Ch.megacephala</i> و <i>Ch.albecips</i>	5
130	كتاب تحليل نماذج ذبابة الدودة الحلزونية بواسطة الـ GC - MASS	6
131	المركبات الكيميائية للحشرة الكاملة تشمل جدار الجسم والأحشاء الداخلية للنوع <i>Ch.megacephala</i>	7
136	المركبات الكيميائية للحشرة الكاملة تشمل جدار الجسم والأحشاء الداخلية للنوع <i>Ch.albecips</i>	8

140	الاختلاف بين النوعين في المركبات الكيميائية التي شخّصت باستخدام تقنية GC-MASS	9
143	المركبات الكيميائية الخاصة بالنوع <i>Ch.megacephala</i> والمشخصة بواسطة الـ GC-MASS	10
171	المركبات الكيميائية الخاصة بالنوع <i>Ch.albecips</i> والمشخصة بواسطة الـ GC-MASS	11

الخلاصة

درست العلاقة الوراثية الجزيئية الكمية والكيميائية بين نوعين مختلفين من الذبابة الحلزونية التي تعود للجنس *Chrysomya* وهما *Ch.megacephala* و *Ch.albecips* والتي جمعت عيناتها من بعض مناطق وسط العراق متمثلة بمحافظة ديالى، وقد تم دراسة الحشرة من ثلاثة جوانب مختلفة، الأول هو الدراسة الوراثية الجزيئية والجانب الثاني هو الدراسة الوراثية الكمية ، أما الجانب الثالث فهو الدراسة الكيميائية للحشرة الكاملة مشتملة على جدار الجسم والأحشاء الداخلية، إذ استخدم في هذه الدراسة الطرق الحياتية الجزيئية من أجل الكشف عن التنوع الوراثي الجزيئي والكمي لهذين النوعين من الحشرة، وقد تم استخلاص الحامض النووي الـ DNA من جسم الحشرة الكاملة وذلك باستخدام عدة الاستخلاص Genomic DNA Mini Kit-Tissue، ومن ثم تم ترحيل الـ DNA المعزول على هلام الاكاروز ترحيلاً كهربائياً، وتراوحت نقاوة الـ DNA المعزول من 1.8-2 نانومتر ، وبعدها تم تضخيم قطعة من الـ mtDNA والذي يتألف من الجين Cytochrome Oxidase I و Cytochrome Oxidase II باستخدام تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل وبوجود زوجين من البوادي المتخصصة وبواقع زوج لكل جين وباتجاهين أمامي Forward، وعكسي Reverse، ثم جرت دراسة التسلسل التتابعي لجزء من جيني الماييتوكوندرية COI و COII والمضخم بوساطة الـ (PCR) إذ درس التسلسل التتابعي لـ 24 عينة وبواقع 12 عينة لكل نوع، حيث أظهرت نتائج التسلسل التتابعي تنوع وراثي واضح بين عينات النوعين المختلفين من الذبابة الحلزونية وإن هذا التنوع كان عبارة عن طفرات نقطية من نوع الحذف والاستبدال وذلك عندما تم مقارنة تسلسل القواعد النتروجينية بين النوعين، وايضاً عند المقارنة مع عينتي بنك الجينات لكل جين، وقد تم حساب عدد الطفرات وتحديد مواقعها ونوعها لكل عينة من عينات النوعين قيد الدراسة.

أما بالنسبة للدراسة الوراثية الكمية فقد استخدم نظام المقياس الهندسي لشكل الجناح وحجمه لذكور وإناث النوعين المختلفين من جنس الـ *Chrysomya* وذلك لغرض الكشف عن التغيرات الوراثية الكمية للنوعين، إذ بلغ معدل الحجم المركزي للجناح الأيمن لإناث النوع *Ch.megacephala* (1354.13) مايكرون وإناث النوع *Ch.albecips* (1244.28) مايكرون، أما معدل الحجم المركزي للجناح الأيمن لذكور النوع *Ch.megacephala* فهو (1404.89) مايكرون وذكور النوع *Ch.albecips* هو (1103.75) مايكرون، أما قيمة التباين في الحجم المركزي للجناح الأيمن لإناث وذكور النوعين على التوالي هي (7645.78، 12196.18، 9609.13، 6747.45)، وقد استخدم في هذه الدراسة اختباري F و T لغرض إجراء المقارنة بين النوعين وقد أظهرت النتائج وجود فروق معنوية قليلة جداً في معدل الحجم المركزي للجناح الأيمن لإناث النوعين، وكذلك وجود فروق معنوية واضحة في معدل الحجم المركزي للجناح الأيمن لذكور النوعين، كما لوحظ وجود فروق معنوية في تماثل شكل وحجم الجناح الأيمن لإناث النوعين، بينما لوحظ وجود فروق معنوية كبيرة في تماثل شكل وحجم الجناح الأيمن لذكور النوعين من الذبابة الحلزونية.

أما فيما يخص المجال الكيميائي فقد تم استخدام جهاز الاستخلاص المتقطع كما استخدمت تقنية كروماتوغرافيا الغاز المزود بمطياف الكتلة GC-MS لغرض استخلاص وتشخيص المركبات الكيميائية للحشرة الكاملة المشتملة على جدار الجسم والاحشاء الداخلية، وقد أظهرت النتائج وجود عدد من المركبات الكيميائية المشتركة بين النوعين من الذبابة الحلزونية مع الاختلاف بنسبة ظهورها وزمن جريانها فضلاً عن تفرد أحد النوعين بعدد من المركبات الكيميائية التي ظهرت في هذا النوع مع عدم ظهورها في النوع الآخر، وقد بينت نتائج التحليل إن المركب الكيميائي Dienoic acid قد سجل أعلى نسبة ظهور في كلا النوعين من الذبابة الحلزونية، بينما سجل المركب الكيميائي Nonanoic acid أقل نسبة ظهور في النوع *Ch.megacephala*، والمركب الكيميائي Heptanoic acid أقل نسبة

ظهور في النوع *Ch.albecips*، كما لوحظ ظهور بعض المركبات الكيميائية في أحد النوعين دون ظهورها في النوع الآخر، فمثلاً لوحظ ظهور كل من 10-methylnonadecane و بزمّن جريان 18.792، 8-methyl-6- Z,Z,Z-1,4,6,9-nonadecatetraene و بزمّن جريان 19,268، aspidofractinine-3-methanol و بزمّن جريان 20,801، hexacontane و بزمّن جريان 21,910 في النوع *Ch.albiceps*، بينما ظهرت المركبات 1-hentetracontanol و بزمّن جريان 15,540، 1-(+)-ascorbic acid 2,6-dihexadecanoate و بزمّن جريان 18,146، tetratricontyl pentafluoropropionate و بزمّن جريان 20,335، heptadecyl trifluoroacetate و بزمّن جريان 21,806 في النوع *Ch.megacephala* .

الفصل الأول

المقدمة

Introduction

المقدمة Introduction

تعد الحشرات كائنات مهمة جداً للإنسان؛ إذ تسبب أنواعاً مختلفة منها أضراراً للإنسان والحيوان والنبات، ولا ترجع أهميتها لأعدادها الكبيرة فقط ولكن لأدوارها الخطيرة في حياة الإنسان وبيئته والكائنات المتعايشة معه، فالكثير منها يكون ضررها مباشراً بتغذيتها على المنتجات أو المواد التي يستعملها الإنسان (نوشي، 2010)، ويتعدى ضرر الآفات الحشرية التأثير المباشر في صحة الإنسان والحيوان إلى نقله العديد من مسببات الأمراض وتؤلف أنواع الآفات الحشرية التابعة لأغلب عوائل رتبة ثنائية الأجنحة الجزء المهم من الآفات الحشرية الناقلة لمسببات الأمراض التي تضم عائلة الذباب الأسود Simuliidae الناقل لمسببات مرض عمى الأنهار Onchocerciasis وعائلة ذباب الرمل Psychodidae الناقل لمسببات مرض الملاريا Malaria والحمى الصفراء Yellow fever وحمى الضنك Dengue fever والتهاب السحايا Encephalitis وعائلة ذباب الخيل Tabanidae الناقل لمسببات مرض Loiasis وعائلة الذباب المعدني Calliphoridae وذباب اللحم Sarcophagidae التي تقوم العديد من أنواعها بنقل مسببات أمراض الكوليرا والذنتري وشلل الأطفال والتيفوئيد والسحايا كما ويسبب بعضها أنواعاً عديدة من حالات التدويد Myiasis في الإنسان والحيوان (Ihemanma واخرون ، 2013)، ومن هذه الأنواع ذبابة الدودة الحلزونية *Chrysomya sp.* التي تنتمي إلى عائلة الذباب الأزرق Calliphoridae رتبة ثنائية الأجنحة التي تعد من الآفات الخطيرة جداً على الحيوانات ذوات الدم الحار ومنها حيوانات الحقل الداجنة مثل الأغنام والابقار والماعز، والحيوانات البرية مثل الغزال والأرنب الحقلي والكلاب السائبة والثعالب (Al-Taweel وآخرون، 2000)، إذ تكمن خطورتها في إكمال دورة حياتها ولا سيما يرقاتها التي تعد إجبارية التطفل Obligatory parasite على النسيج الحي مسببة الحالة المرضية المعروفة بالنبر (التدويد) وهذا يؤدي إلى خسائر فادحة في الثروة الحيوانية في حال إهمال الجروح المصابة وقد تؤدي إلى هلاك الحيوانات لاسيما حديثة الولادة فضلاً عن تسببها

في خسائر غير مرئية للحيوانات البرية وذلك لعدم القدرة على متابعتها ومعالجتها، وبالتزامن مع ظهور أنواع أخرى من الذباب المعدني الذي له أهمية طبية وبيطرية تشترك يرقاتها مع يرقات التدويد الأولى Primary myiasis في إحداث الإصابة ومن هذه الأنواع ذباب يعود للعائلة Calliphoridae وهي *Chrysomya megacephalia*، وإن إصابتها تلي الإصابة الأولى Primary infection محدثة إصابة ثانوية Secondary infection تؤدي إلى حالة التدويد الثانوي Secondary mayiasis تعيش هذه الذبابة وتتكاثر بصورة طبيعية على المواد المتفسخة (عكيلي وآخرون، 2016)، وتعد *Ch. megacephalia* مهمة من الناحية الطبية والبيطرية والأقتصادية وبسبب طبيعة حياتها وتغذيتها فإنها تساهم في نقل العديد من مسببات الأمراض للإنسان والحيوان ولاسيما البكتيرية منها، وقد وجد إن ما تنقله بالغات هذا النوع من الممرضات أكبر بكثير مما تقوم بنقله الذبابة المنزلية (Chaiwong وآخرون، 2014)، وإن لهذا النوع قدرة فائقة على إكتشاف أماكن الجثث إذ تتمكن هذه الحشرات من شم الروائح المنبعثة من الجثة وتبدأ بوضع البيوض حول الفتحات الطبيعية كالأنف والفم أو الجروح إن وجدت (موسى، 2012)، وقد وجد إن بالغات هذا النوع ذات شبه كبير بذبابة الدودة الحلزونية *Chrysomya bezziana* ولكنها أكبر حجماً وإن وجود هذا النوع من الحشرات له علاقة بوجود ذبابة الدودة الحلزونية *Ch. bezziana* المسببة للتدويد الأولي وإن بالغات ذبابة *Ch. megacephala* تتناوب في التغذية على مثل هذه الجروح محدثة الإصابة الثانوية وغالباً ما توجد في الأماكن القريبة من تواجد الإنسان إذ توجد النفايات والمواد العضوية حيث وجدت منتشرة في غينيا في الجزر القريبة من المحيط الهادي وانتشرت بعد ذلك بصورة واسعة في الهند واليابان وجنوب امريكا (عكيلي، 2010)، يضاف إلى ذلك فإن النوع *Chrysomya albiceps* الذي يعد مهماً في الكشف عن الجرائم وملايسات وظروف الجريمة ووقت إرتكابها ومرتكبها ومعرفة أسباب الوفاة ومكان حدوثها وما إذا تم نقل الجثة من مكانها (Sathe وآخرون، 2013)، والذي ينتشر في كل مكان تكثر فيه القمامة،

فضلات الطعام والمجازر، جثث الحيوانات والإنسان، فضلات وروث الحيوانات، يعد من الحشرات ذات الأهمية الطبية والبيطرية ويشكل وجودها بإعداد كبيرة مصدر إزعاج للإنسان وحيوانته الداجنة، فهو يقوم بنقل العديد من مسببات الأمراض للإنسان والحيوان وتساهم في حدوث التدويد الثانوي الاختياري في الحيوان والإنسان مما يؤدي إلى حصول أضرار صحية معقدة قد تترك أثراً دائماً (Fernandes وآخرون، 2009)، وبسبب الضرر الذي تسببه هذه الحشرات فقد تطلب مكافحتها عن طريق الوسائل المعروفة كإستعمال المبيدات الكيميائية المصنعة، كما يمكن لتقنية الحشرات العقيمة ان تكون وسيلة فعالة في مكافحة بعض الآفات من خلال كبح أو خفض سكان الآفة ضمن موقع محدد أو إبادة كاملة أو التخلص من جميع أفراد الآفة في المناطق المعزولة (الربيعي وآخرون، 2016)، إنَّ نجاح هذه التقنية يتطلب بدوره العديد من الدراسات ومنها دراسة التغيرات الوراثية الجزيئية بين المجتمعات السكانية للحشرة في مناطق محدودة يتم اختيارها مسبقاً لان المادة الوراثية هي الأساس في تطور الكائنات الحية (القرهغولي، 2013)، ومما ساعد على ذلك علم البيولوجيا الجزيئي Molecular Biology وتقنيات البصمة الوراثية Genetic finger Printing التي تعد من اهم الطرائق التصنيفية للحشرات فضلاً عن اهميتها في دراسة التباين الوراثي بين افراد المجموعات السكانية (Shah وآخرون، 2013)، وقد أستخدم في هذه الدراسة إثتان من جينات دنا المايوتوكوندريا mtDNA وهما Cytochrome Gene و Cytochrome Oxidaes II Gene و Oxidaes I لدراسة التباين الوراثي لكلا النوعين من الذبابة الحلزونية التابعين لجنس *Chrysomya Sp.*، كما عُدَّت تقنية المقياس الهندسي للجناح من قبل الكثيرين احدى الطرق التصنيفية الحديثة والدقيقة لأنواع الحشرات (Bloch ; 2008, Tofilski وآخرون، 2010)، وتعمل تقنية المقياس الهندسي لشكل وحجم الجناح على تثبيت أحداثيات أو نقاط معينة أو معالم Landmarks بحيث تسجل على كل جناح وتؤخذ لها صور رقمية بشكل متناسق وتبدأ هذه النقاط من قاعدة الجناح وتمتد على تقاطعات عروق الجناح مع بعضها البعض وكذلك

تقاطعات العروق مع حافة الجناح (Lyra وآخرون، 2009)، ومن خلال هذه المعالم تجري المقارنة بين أنواع الحشرات في المناطق المراد دراستها وكذلك المقارنة بين أفراد المجموعة السكانية الواحدة وتوضيح مدى التقارب بينها، وللحصول على الحجم المركزي للجناح يتم الاعتماد على الأشكال المضلعة التي تنتج عن الارتباطات بين نقاط المعالم التي توضع على الجناح (القرةغولي، 2013)، كما إنَّ آلية تحليل مكونات الكيوتكل تعد فعالة جداً في تشخيص الأنواع المعقدة والمستترة في الجماعة الواحدة التي يصعب تمييزها مظهرياً، فضلاً عن أنَّ تحليل مكونات الكيوتكل ممكن أن تستخدم كوسيلة تصنيفية لتمييز الاختلافات في النواقل المرضية في رتبة ثنائية الأجنحة، وتتم باستخدام تقنية كروموتوغرافيا الغاز GC لتحليل مكونات الكيوتكل للتمييز بين الأنواع، ومن خلال هذه التقنية يتم استخلاص وتشخيص المركبات الهيدروكربونية التي يتألف منها جليد الحشرة (ثامر وكريم، 2013)، ونظراً لما تقدم من إيجاز حول الأهمية الطبية لكلا النوعين من الذبابة الحلزونية التابعة لجنس *Chrysomya* *sp.* ولقلة وجود دراسات وراثية جزيئية وكمية وكيميائية حول هذه الحشرة وللتمكن من مكافحة هذه الحشرة والقضاء عليها هدفت الدراسة:

أولاً: مقارنة وراثية جزيئية بين النوعين *Ch.megacephala* و *Ch.albiceps* التابعة لجنس *Chrysomya* باستخدام تقنية PCR وباستخدام بواقي متخصصة لجيني دنا المايكروندريا وهما COI و COII للتوصل إلى درجة التقارب الوراثي بين هذين النوعين.

ثانياً: مقارنة وراثية كمية بين النوعين *Ch.megacephala* و *Ch.albiceps* باستخدام نظام المقياس الهندسي لشكل الجناح وحجمه.

ثالثاً: المقارنة بين النوعين *Ch.megacephala* و *Ch.albiceps* من ناحية تركيب جدار الجسم والأحشاء الداخلية من المركبات الكيميائية العضوية باستخدام جهاز GC-MS.

الفصل الثاني

استعراض المراجع

Literature Review

1-2 الموقع التصنيفي لذبابة الدودة الحلزونية نوع *Ch. megacephala* و

Ch.albiceps

ينتمي الذباب نوع *Ch.megacephala* و *Ch.albiceps* إلى عائلة الذباب الأزرق Calliphoridae رتبة ثنائية الأجنحة Diptera ضمن صنف الحشرات Insecta وهي من الحشرات ذات الأهمية الطبية (Akliliv، 2011) ، وتعد رتبة ثنائية الأجنحة من أكبر الرتب التابعة لصنف الحشرات إذ تضم نحو (٣٠,٠٠٠-١٠,٠٠٠) نوع موزع ضمن (140) عائلة تقريباً، ويحدث هذا الأمر بازدياد مستمر نتيجة لاكتشاف أنواع جديدة باستمرار ولكن نتيجة لمراجعة التصنيف لعدد واسع من الأنواع وظهور أسماء مرادفة Synonyms مما أدى إلى تناقض تلك الأعداد (عكيلي، 2010) ويمكن توضيح الموقع التصنيفي للذباب المعدني اعتماداً على ما جاء في Akliliv (2011) .

Class : Hexapoda

Subclass : Pterygota

Division : Endo pterygota

Order: Diptera

Suborder : Brachycer

Infraorder: Muscomorpha (Cyclorrapha)

Section : Schizophora

Sup Section : Calyptatra

Family : Calliphoridae

Genus : *Chrysomya*

Species: *Ch .megacephala*

(Francescion and Lupi, 2012)

Class : Hexapoda

Subclass : Pterygota

Division : Endo pterygota

Order: Diptera

Suborder : Brachycer

Infraorder: Muscomorpha (Cyclorrapha)

Section : Schizophora

Sup Section : Calyptatra

Family : Calliphoridae

Genus : *Chrysomya*

Species : *Ch .alpiceps*

(Francescion and Lupi, 2012)



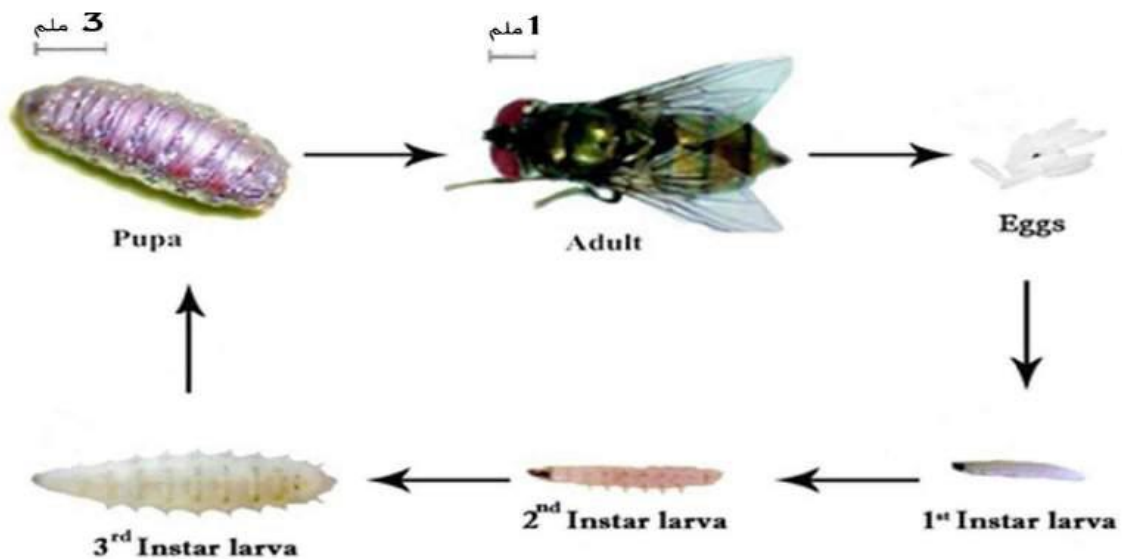
صورة (١) ذبابة الدودة الحلزونية نوع *Ch.megacephala*



صورة (٢) ذبابة الدودة الحلزونية نوع *Ch.albiceps*

٢-٢ دورة حياة ذبابة الدودة الحلزونية

تعد ذبابة الدودة الحلزونية نوع *Ch.megacephala* و *Ch.albiceps* من الحشرات ذات التحول الكامل Holometabola حيث أنها تمر بأربعة أدوار خلال دورة حياتها هي البيضة Egg، اليرقة Larva، العذراء Pupa، البالغة Adult (Augul and Jassim, 2009).



صورة (٣) دورة حياة ذبابة الدودة الحلزونية *Ch.megacephala* و *Ch.albiceps*

٢-٣ الأهمية الطبية لذبابة الدودة الحلزونية

يُعدُّ الذباب من جنس *Chrysomya* من الأنواع المهمة في الطب الشرعي لتحديد الفترة الفاصلة، وتشكل الأنواع التابعة لهذا الجنس حوالي 44% من أنواع الذباب التي تُظهرُ قضايا الموت المثيرة للشك وخاصة في جنوب ويلز وأستراليا (Levot، 2003)، إذ يعد الذباب نوع *Ch.megacephala* من أنواع الذباب المعدني (Blowfly) المهمة والذي يتميز بأهميته البيئية والجنائية والاقتصادية والطبية، يعيش ويتغذى أنواع الذباب المعدني على الفضلات وبقايا الحيوانات والجثث المتعفنة؛ إذ تضع بيوضها عليها وعندما تنفقس إلى يرقات تبدأ بالتغذية على المواد العضوية المتحللة من هذه الفضلات والجثث وبعد أسبوع من التغذية تتحول إلى دور العذراء ثم إلى الحشرة الكاملة لترجع من جديد للتغذية عليها أو على جثة أخرى ولذلك فإن لأنواع الذباب دوراً مهماً وكبيراً في البيئة كما أنّ لها فوائد عدة للبشر تفوق في أهميتها الكثير من الكائنات الحية (السامرائي، 2017)؛ إذ إن لهذا النوع قدرة فائقة على اكتشاف الجثث من خلال قدرة هذه الحشرات على شم الروائح المنبعثة من الجثة وتبدأ بوضع البيوض حول الفتحات الطبيعية كالأنف والفم أو الجروح إن وجدت (موسى، 2012)، ولذلك فإن هذا النوع من الحشرات يعد مفيداً جداً للعلم الجنائي كونها من أوائل الحشرات التي تصل إلى الجثة وتضع البيوض عليها بعد مدة قصيرة جداً، مما يساعد في تحديد وقت الوفاة عند حساب مدة أعمار يرقاتها (Sathe وآخرون، 2013)، ويعرف هذا النوع من الذباب بدودة المراحيض الشرقية *Oritel latrine fly* إذ تظهر أحياناً وبأعداد كبيرة حول المراحيض وتكون مصدر إزعاج في الهواء لاسيما حول اللحم المكشوف في أسواق اللحم والمجازر، وإن هذا النوع يعد أحد أنواع الذباب المرتبط بالإنسان وحياته (Synanthropic fly) الذي عرف بصلته الوثيقة بنقل العديد من مسببات الأمراض، وذلك بسبب عادات هذا النوع في المعيشة والتكاثر على البراز واللحم المتعفن وجثث الحيوانات الميتة (Marchiori، 2014)، وقد ذكر Chawing وآخرون (2013) إن كاملات *Ch.megacephala* تحمل أنواعاً من

البكتريا المرضية تعود إلى 15 جنساً تتضمن أنواعاً تابعة للأجناس *Shigella*، *Salmonella*، *Enterococcus*، *Echerichia* ولأول مرة تم عزل بكتريا *Salmonella typhi*، وبكتريا *Staphelococcus aures* و *Psedomonas aeruginosa* وقد وجدوا ان ما تحمله من مسببات مرضية يكون أكثر من 11-12 مرة مما تحمله الذبابة المنزلية *Musca domestica*، وأشار Boonsriwong وآخرون (2011) أيضاً الى ان هذا النوع من الذباب بدوره اليرقي والكامل يمكن أن يكون ناقلاً ميكانيكياً للعديد من المسببات المرضية كالبكتريا والفيروسات والطفيليات التي تسبب العديد من الأمراض للإنسان، تنقل كاملات *Ch. Megacephala* أحياء ممرضة أخرى مثل بيوض الديدان المعوية وبعض أنواع الإبتدائيات، وقد أجرت Hadi (2013) دراسة جمعت خلالها عينة من ذباب *Ch. Megacephala* و *Ch. albiceps* من مدينة بغداد عزلت خلالها 15 نوعاً من طفيليات معدية تتضمن بيوض وديدان الـ *Ancylostoma duodenal* و *Ascaris lumbricoides* واكياس نوعين من الابتدائيات منها *Entamoeba sp.* و *Iodomoeba butscchii* كما عزلت من القناة الهضمية لهذه الحشرات أكياس Cycts تعود لبعض الحيوانات الابتدائية منها *Cyclospora parvum* و *C.* *muris* وبيوض نوع يعود للدودة الشريطية *Taenia sp.*، وان هذا التنوع في وجود الطفيليات يشير الى سعة انتشار هذا النوع من الذباب في بغداد، كما تُعدُّ ذبابة *Ch.albiceps* من الحشرات ذات الأهمية البيئية ، الجنائية ، الطبية والبيطرية، إذ إنّها من حشرات القمامة Scavengers التي تصل إلى الجثث بعد يومين - ثلاثة أيام من الوفاة وانبعاث رائحتها حيث تضع بيوضها في حالة توفر الظروف البيئية من درجة حرارة ورطوبة نسبية، وبعد فقس البيوض تتغذى على السوائل المترشحة والمواد العضوية المتحللة مما يؤدي إلى تحلل الجثث بالكامل، وأن الذباب يعد ركن أساسي في الحفاظ على بيئتنا حيث يقوم بتخليص البيئة من الجيف الميتة التي إذا تركت على حالها فإنها تؤدي إلى انتشار أوبئة وأمراض يصعب علاجها (متولي وآخرون، 2008)، وبهذا الصدد ذكر Singh and Sharma (٢٠٠٨) أنه

يمكن تحديد وقت الوفاة من خلال أكبر يرقة عمراً موجودة على الجثة والعد بصورة عكسية للحصول على بيانات أصغر يرقة عمراً وهذا يعطي تقديراً تقريبياً للموت، ومن خلال ذلك يمكن تحديد الوقت الذي فقد فيه الشخص المتوفي وما إذا كان متطابقاً مع تحديد وقت الوفاة، وكذلك أشارت Galal وآخرون (2009) إلى إمكانية استخدام يرقات النوع *Ch.albiceps* في عملية التحري الجنائي من خلال ملاحظة وجود أعداد كبيرة من يرقات هذه الذبابة حول الأجزاء الادمية المكشوفة بمدينة أسيوط في مصر، وبالإمكان استخدام التغيرات المظهرية والاحيائية التي تحدث في يرقات ذباب *Ch.albiceps* كدليل على الوفاة بسبب الجرعات المميتة لبعض المواد مثل فوسفات الكوادرينين (Fathy و Shaheen، 2008)، وأن تواجد ذبابة *Ch.albiceps* بإعداد كبيرة يشكل مصدر إزعاج للإنسان وحيواناته الداجنة، حيث تعد هذه الذبابة من الحشرات غير كاملة الصلة أو الارتباط بالإنسان وبذلك يقوم هذا النوع من الذباب بنقل العديد من مسببات الأمراض للإنسان والحيوان (هادي، 2013)، وتسبب يرقات كلا من *Ch. megacephala* و *Ch.albiceps* حالة التدويد الاختياري الثانوي Facultative Secondry Myiasis والذي يقصد به إصابة الجروح في الإنسان أو الحيوانات باليرقات التي تكون مصابة أساساً بيرقات أنواع أخرى إجبارية التواجد في تلك الجروح (Patra وآخرون، 2012) ويقصد بالتدويد Myiasis هو إصابة تحصل للإنسان الحي أو الحيوانات الفقرية عن طريق يرقات الذباب من رتبة ثنائية الاجنحة التي تتغذى على الانسجة الحية أو الميتة والدم والمواد السائلة للجسم أو الغذاء المهضوم ويعد التدويد من المشاكل الخطيرة التي تهدد تربية الأغنام والمواشي والحيوانات الأخرى حيث تسبب خسائر اقتصادية كبيرة جداً (أبو الحب، 2004)، ويُعد Hope أول من استخدم مصطلح Myiasis عام 1840 وأطلقه على الإصابة بيرقات الذباب التابع لرتبة ثنائية الاجنحة Diptera (عكيلي، 2010)، تقسم الحشرات المسببة لحالة التدويد إلى حشرات إجبارية (متخصصة) التطفل Obligatory parasitism تتطفل بصورة أولية وإجبارية على عوائلها منها النوع

Ch. bezziana، وحشرات اخرى تسمى ثانوية اختيارية التطفل Facultative Secondry Parasitism وهذه تعيش وتتغذى على المواد العضوية المتحللة والجيف والبراز ولكن يمكن أن تضع البيوض على المضائف الحية التي قد تكون مصابة بيرقات إجبارية التطفل منها *Ch. bezziana* فضلاً عن ذلك توجد حالة ثالثة من التدويد تعرف بالتدويد العرضي Accidental Myiasis وهذه الحالة تحدث عندما تدخل بيوض أو يرقات بعض أنواع الذباب مع الغذاء الملوث بها أو تدخل عن طريق الفتحات البولية أو التناسلية أو فتحة المخرج للإنسان أو الحيوانات وإن الإصابة بهذه الأنواع غالباً ما يرافقها الآم في البطن وتقيؤ وإسهال يمكن ملاحظة اليرقات فيه وحسب شدة الإصابة مثالها الإصابة بأنواع من *Musca* و *Fannia*، ويبدو إن هذا الذباب قد يجذب نحو الإفرازات غير الصحية ويضع بيضه قرب الفتحات التناسلية وعندما يفقس البيض تدخل اليرقات الصغيرة خلال الفتحات التناسلية أو البولية وتشق طريقاً إلى أعلى الجهاز البولي التناسلي وبذلك يحدث ألم شديد ناشئ عن اليرقات التي تسد الممرات وقد يطرح مع البول دماً ومخاطاً وأخيراً يرقات (*Derriak*) وآخرون، (2010)، يتم علاج الحيوانات في المراحل الأولى من الإصابة خاصة في الطور اليرقي الأول والثاني باستخدام العديد من العقاقير الطبية ومنها مسحوق Negasunt مع محلول 18% Lodine وعدد من المضادات الحيوية المعروفة يضاف إليه استخدام حقن الهيدروكورتيزون كمسكن آلام، أما إذا كان عدد اليرقات غير قليل تستخدم في العلاج مواد ومركبات متنوعة اتضح أنها مواد فعالة في المعالجة تؤدي إلى انسداد الجرح وبالتالي تسبب الأختناق لليرقات تدفعها للخروج إلى سطح الجرح ليتم إزالتها والتخلص منها نهائياً مثل الفازلين والبروفين السائل وشمع العسل وطلاء الأظافر والزيت الثقيل الذي يلقي في وسط الجرح الموجود في جسم الحيوان (Bologia وآخرون، 2008)، وإن حالات التدويد في الإنسان هو إصابة نادرة يمكن أن تحدث في أي منطقة من العالم ولكن حدوثه يكون أكثر شيوعاً في المناطق ذات المناخ الحار والرطب، إذ أنه يمكن أن يصيب الأنسجة الحية للأعضاء البشرية التي تكون عرضة

لوضع البيوض ونمو وتطور اليرقات التي تعيش على بقايا الأنسجة الميتة والسوائل الجسمية ويتوافر لها المكان المناسب والظروف الملائمة والمثالية للعيش والتطور والنمو خلال الدور اليرقي (Rossi-Schneider وآخرون، 2007 ; Shinohara وآخرون، 2004)، إذ ان اليرقات يمكنها ان تهاجم وتدمر الأجزاء الرئيسة للعين في الانسان مثل الملتحمة والعدسة مسببة التهاب الملتحمة وقرحة القرنية وتدمير العدسة والجفون ومدور العين وإتلافها لأنها تتغذى على جميع الأنسجة والسوائل الجسمية المحيطة بها (Tsuda وآخرون، 2007)، وبالرغم من عدم وجود طرق فعالة للوقاية المطلقة من الإصابة بمرض التدويد في الانسان والحيوان ولكن يمكن الوقاية منه عن طريق الاهتمام بالنظافة الشخصية الكافية والرعاية التامة للمصابين وعلاج الجروح مهما كانت بسيطة والمتابعة والالتزام بإرشادات وتوجيهات المستشفيات البيطرية في كل منطقة لعلاج الحيوانات المصابة كافة (Khataminia وآخرون، 2011) .

٢-٤ الانتشار المحلي والعالمي لذبابة الدودة الحلزونية

Chrysomya الذباب المسبب للتدويد، والتي كانت في الأصل متواجدة في المناطق المدارية للعالم القديم في أفريقيا وأستراليا، والتي أصبحت في الأونة الاخيرة متواجدة في العالم الحديث (وسط وجنوب امريكا)؛ إذ يوجد حوالي 28 نوع مميز منها في الشمال الشرقي وأستراليا ومناطق المحيط إلى افريقيا، و9 انواع منها مميزة في استراليا مع *Ch.saffraneae* و *Ch.latifrons* (Nelson وآخرون، 2008)، ويعد الذباب من نوع *Ch.megacephala* من الأنواع واسعة الانتشار جداً، وسجل انتشارها لأول مرة في العراق من قبل Kessal و Abul-hab (1998) في ضواحي بغداد شتاءً (السامرائي، 2017)، كما تم تسجيل حالة تدويد في منطقة الحبل السري لطفل حديث الولادة عمره سبعة أيام كان يعاني من إلتهاب بكتيري سببه بكتريا *Staphylococcus aureus* وقد تم عزل أكثر من 100 يرقة من منطقة

السرة الملتهبة وعند تشخيص اليرقات تبين أنها تعود للنوع *Ch. megacephala* (Khataminia وآخرون، 2011)، إذ إنها تنتشر في استراليا ونيوزلندا والصين واليابان، وكذلك سجلت في غانا والسنغال ومالي، كما إنها واسعة الانتشار في الهند وجنوب شرق اسيا وحديثاً في اليابان، وقد تم تسجيل أول حالة تدويد مهيلي تسببها يرقات *Ch. megacephala* لأمرأة عمرها ٢٢ سنة في الهند (Mondal وآخرون، 2015)، كما تنتشر بشكل واسع في الشرق وفي مناطق المحيط إلى أفريقيا ووسط وجنوب امريكا (Boonsriwong وآخرون، 2011)، وقد اشار Gabre وآخرون (2005) إلى إن *Ch. megacephala* شائعة الانتشار في جزر المحيط الهادي ومن ضمنها هاواي؛ إذ إنها تكون في الغالب متواجدة عند اكشاك اللحوم والأسماك، أما الذباب من نوع *Ch. albiceps* فإنه يكثر تواجدها في بغداد خلال شهر تشرين الثاني، وإن ذروة انتشار هذه الذبابة في الرياض يكون خلال شهري نيسان وتشرين الثاني (عبد الرسول وآخرون، 2009)، إذ يتواجد هذا النوع في انحاء مختلفة من العالم، حيث يكون انتشارها في المناطق الاستوائية وشبه الاستوائية كالهند ووسط وجنوب امريكا وأفريقيا وجنوب أوربا (ايطاليا) ومصر والعراق كونها من الأنواع التي تفضل العيش في المناطق الحارة الرطبة (Bharit، 2009 ; Vanin وآخرون، 2009 ; هادي، 2013)، وقد ذكر متولي وآخرون (2008) إن أعداد هذه الذبابة تكثر في مكة المكرمة لاسيما في موسم الحج قرب المجازر وأماكن تجمع القمامة والقاذورات ومخلفات الذبح بعد موسم الحج، كما يتواجد هذا النوع في الشمال الشرقي والمناطق الاستوائية وهي متواجدة اساساً في وسط وجنوب أمريكا (Vanin وآخرون، 2009) .

٢-٥ دنا المايكوندريا في الحشرات وأهميته في دراسة التباين الوراثي بين الأنواع

أن الـ DNA يتموضع بشكل رئيس في أنوية الخلايا لكن كميات محدودة من المادة الوراثية تتواجد في عضيات خلوية مستقلة هي المايكوندريا متمثلة بدنا المايكوندريا المعروف بالمختصر mt DNA

والمكون في خلايا الحيوان من 16.569 من الازواج القاعدية، ويتألف من 37 جين تشفر لـ 13 مورثة تدخل في تفاعلات الفسفرة التأكسدية (Pont-Kingdom وآخرون، 2000)، وتشير معظم الدراسات الدقيقة إلى أن DNA المايكوندريا في الحيوانات تكون وراثتها عن طريق الأم فقط Maternally inherited وتكون صغيرة الحجم (20 kb إلى 15) في الطول، دائرية الشكل وتحتوي على 37 جين متمثلة بـ 2rRNA (مكونة من وحدة صغيرة ووحدة كبيرة)، و 22tRNA، وجينات تشفر لـ 13 بروتين، وهذه الجينات تكون مرتبة عموماً بشكل مجموعات متعددة، وإن الأوامر الصادرة عنها غالباً ما تستخدم في تحقيق التطور للأعضاء ومادتها الوراثية، بالإضافة إلى ذلك فإن المادة الوراثية لمايكوندريا الحيوانات تمتلك مناطق كبيرة غير مشفرة تكون محتوية على المعادن التي تسيطر على عمليات التضاعف والترجمة للمادة الوراثية (Dowton وآخرون، 2009)، أن تسلسل نيوكليوتيدات الجزئية الحيوية وترتيب الجينات لدنا المايكوندريا ربما تستخدم كأداة لتعريف نمط الاختلافات التطورية في نظام المفصلي، وأن نظام ترتيب جينات المايكوندريا خاصة موقع جينات tRNA استخدمت كوسيلة لدعم العلاقات الخاصة والتطور النوعي لمجموعة المفصليات الأساسية، جينات tRNA المايكونديري تتطور بشكل بطيء مقارنة مع جينات البروتين المايكونديري المشفر (Hewitt و Zhang، 2003) كما يستخدم DNA المايكوندريا وبصمته الوراثية في الدراسات التصنيفية والبحوث المستخدمة في مجال التشخيص الوراثي للكائنات الحية والأدلة الجنائية Forensic (Chandra وآخرون، 2006)، وإن DNA المايكوندريا مفيد للدراسات التي تستخدم التقنيات ذات العلاقة بالتطور النوعي كتلك التي تشير إلى ملاحظة التناقضات السلوكية والمورفولوجية وثبتت عدد كبير من المفاهيم المعقدة وهذا ربما يفيد في الكشف عن تعقيدات الأنواع، أو هي ببساطة تأكيد على العلاقة ذات التطور النوعي للفروقات الجينية بين اثنين من الأنواع المتشابهة إلى الحد الذي يضع النوع في حالة حرجة تثير التساؤل (Harvey وآخرون، 2003)، ومن المجالات الأخرى المهمة التي

اعتمدت فيها مؤشرات دنا المايٲوكونډريا بكثرة هو مجال الوراثة السكانية Population genetics والتصانيف او التقسيمات الجزيئية Molecular Systematics؛ إذ إن كل دراسة جزيئية للأنواع الحيوانية خاصة بدنا المايٲوكونډريا تكون معتمدة بشكل كبير على النمط الفردي Haplotyping للنوع في كل مرحلة لذلك فان جين الميٲوكونډريا COI أستخدم في الوقت الحاضر كأداة موحدة للتشخيص والتصنيف الجزيئي Taxonomy Molecular في معظم الدراسات الجزيئية (Ratnasingham و Hebert، 2007)، والمعلومات المتوفرة عن جينات المايٲوكونډريا في الحشرات مستمدة من الخارطة الجينية للـ *Dorsophila yakuba* التي تعد من اللاقريات الأوائل ذات جزيئات DNA مايٲوكونډريا مكتملة التسلسل، وفي اثناء التحليل لاثنا عشر نوع من *Dorsophila yakuba* وجد بأنها عموماً كانت ذات حماية عالية للمادة الوراثية لـ DNA المايٲوكونډريا مع عدم توافر ترتيب للجينات (Montooth وآخرون، 2009)، ومن الاسباب التي جعلت جينات المايٲوكونډريا ومنذ سنوات عديدة مصدر البيانات للدراسات الوراثية الجزيئية في الحشرات وذات أهمية في تحليل النشوء التطوري وبحسب ما أكد عليه (Caterino وآخرون، 2000) فهي

١- تكون جينات المايٲوكونډريا أسهل في تضخيمها من جينات النواة كما يمكن المحافظة بشكل كبير على بواڤء المايٲوكونډريا (Simon وآخرون، 1994).

٢- يكون انتقال الجينات الوراثية فيه عن طريق الأم عدا بعض الاستثناءات القليلة أو النادرة (Zhang و Hewitt، 2003).

٣- إن جينات المايٲوكونډريا في الحشرات تتطور أسرع من جينات النواة المشفرة للبروتين بحدود 2 - 9 مرات.

ومن الدراسات الحديثة التي استخدمت مؤشرات دنا المايٲوكونډريا mtDNA بوصفها أدوات في التحليل الوراثي هي الدراسة التي أجراها البراقي وجماعته (2009) على نحلة العسل السورية *Apis mellifera*

syriaca إذ استخدموا المؤشرين Cytochrome Oxidase و Cytochrome Oxidase I (COI) و Cytochrome Oxidase II (COII) وأحد إنزيمات القطع لإيجاد الاختلافات في تسلسل القواعد النيتروجينية بين عينات مناطق جغرافية مختلفة للحشرة التي درست من قبلهم، كما تم دراسة التنوع الوراثي لحشرة الذباب *Trichobius major* (Coquillett, 189) باستخدام مؤشرات دنا الماييتوكونديريا CO I و NADH Dehydrogenase 4 ND4 Gene من قبل Wilson وآخرون (2007)، وفي دراسة قام بها جواد (2012) فقد استخدم جينات الماييتوكونديريا وهي ND4 و ND4r و ND5 لدراسة التنوع الوراثي لحشرة ذبابة فاكهة البحر المتوسط *Ceratitis capitata*، بينما قارن القره غولي (2013) بين ثلاثة مجتمعات سكانية لحشرة ذبابة ثمار القرعيات *Dacus ciliatus* (Loew) في العراق باستخدام جينات الماييتوكونديريا COI و COII، أما Dogac (2016) فقد اعتمد على المؤشر COI لدراسة التنوع الوراثي لمجتمعات الذبابة المنزلية *M. domestica* في غرب وجنوب تركيا. كما استخدم Liu وآخرون (2011) دنا الماييتوكونديريا COII لمعرفة أصول الحشرة التطورية Phylogeny والعلاقات السكانية داخل المجموعات السكانية لذبابة *Bactrocera invadens* اما بالنسبة لعائلة الذباب المعدني Calliphoridae فقد أجريت دراسات جزيئية عديدة على دنا النواة الماييتوكونديريا في بعض البلدان لمعرفة نشوء وتطور واصل الأنواع التي تنتمي إليها ومعرفة مدى التقارب والتباين الوراثي بين أفراد النوع الواحد الذي يعود للجنس نفسه ومنها الدراسة التي قام بها Ready وآخرون (2009) لدراسة التباين الوراثي الجزيئي بين المجتمعات السكانية المختلفة لذبابة الدودة الحلزونية للعالم القديم *Ch. bezziana* في عدد كبير من دول الشرق الأوسط باستخدام مؤشرات دنا النواة ودنا الماييتوكونديريا (CBI, CB3, EF1)؛ إذ ثبت إنَّ استخدام هذه المؤشرات أعطى بيانات توضح بدقة التباين والعلاقة الوراثية بين أنواع الجنس الواحد في الحشرات، ان استخدام مؤشرات دنا الماييتوكونديريا وخاصة المؤشر (CBI) أدى الى معرفة التباين الوراثي الجزيئي بين أنواع الذبابة الحلزونية داخل

وخارج مكان الدراسة التي اجريت في اندونيسيا وجزيرة Island القريبة منها والتي قام بأجرائها Esseghir وآخرون (2000) .

٦-٢ جينات المايكوكوندريا COI و COII

يعد استخدام الحشرات مهم في تحديد الحد الأدنى للفترة الفاصلة لحدوث الوفاة في تحقيقات الطب الشرعي وقد اجريت دراسات عديدة لتقييم جينات المايكوكوندريا COI و COII معاً كعلامة للتعريف، بالرغم من أن جينات COII مفيدة في الدراسات التطورية في مجال التعداد السكاني لعلم الوراثة وعلم التصنيف ويعزى ذلك إلى الدرجة النسبية العالية من التباين في المنطقة قيد الدراسة، إذ تعد سايتركومات المايكوكوندريا من نوع COI و COII جينات مناسبة كعلامات جزيئية بسبب امتلاكها درجة عالية نسبياً للتنوع الوراثي في المنطقة التي تجري فيها الدراسة، لكن هناك معلومات قليلة عن الجزيئات التعريفية فيما يخص أنواع الذباب ذات العلاقة بالطب الشرعي على COII لوحده، إذ يمتلك الـ DNA قطع طويلة ربما تعطي الحد الأدنى للتنوع، فضلاً عن امتلاكه لقطع قصيرة تتميز بالسرعة والسهولة والاقتصادية، وإن مثل هذه المزايا تضع القطع القصيرة كمرشح عالٍ لأجل استخدامها كعلامات للتعريف في مجال الطب الشرعي (Gou وآخرون، 2010)، يُعد جين المايكوكوندريا COI من الجينات المستخدمة في الوقت الحاضر كأداة موحدة للتشخيص والتصنيف الجزيئي Molecular Taxonomy في معظم الدراسات الجزيئية، بحيث كل دراسة جزيئية للأنواع الحيوانية خاصة بدنا المايكوكوندريا تكون معتمدة بشكل كبير على النمط الفردي Haplotyping للنوع في كل مرحلة (Ratnasingham و Heber، 2007)، وقد كان الهدف من الدراسة التي اجراها Ying وآخرون (2007) هو للبحث عن التطابق في 189-pb من قطع COII كعلامات للتحقق من الذباب التابع لرتبة ثنائية الأجنحة المهمة في مجال الطب الشرعي القادمة من مصر والصين كخطوة باتجاه إيجاد قطع الـ DNA المثلى لتشخيص الأنواع، وقد جرى التركيز في هذه الدراسة على تقدير القيمة المحتملة

لقطع COII الصغيرة لأجل الدراسات البايولوجية الأساسية لتلك الحشرات في مصر والصين ، وفيها تم التوصل إلى إن تتابع الأزواج القاعدية الـ 198 لسايتركوروم المايتركونديريا نوع COII كانت تستخدم كعلامات لأمكانية معرفة أنواع الذباب المهمة في الطب الشرعي من المنطقتين اللتين تعود لهما الحشرات قيد الدراسة، إذ إن التحليل لتلك الأزواج القاعدية كانت متفقة مع القواعد الأساسية في مجال التشريح المتوقع للحشرات المستخدمة في الدراسة، وقد ذكرجواد (2012) أنَّ الباحثين استطاعوا في عام 2000 الانتهاء من أيجاد التسلسل التتابعي لجينوم ذبابة الفاكهة وبحلول عام 2002 اكتمل تحليل جينوم البعوض الناقل الأكبر للملاريا وهذا دليل على ان ايجاد التسلسل التتابعي للجينوم زاد من قابلية العلماء والباحثين على تشخيص الجينات المفيدة للاستخدام في التحوير الوراثي للحشرات ذات الأهمية الاقتصادية أيضا، وقد درس Barr وآخرون (2012) التسلسل التتابعي للجين COII من دنا الميتوكونديريا mtDNA الذي بلغ طوله 650bp في ثلاثة أنواع معينة من جنس ذبابة الفاكهة (*Ceratitis* (Macle, 1829) التي جمعت عيناتها من افريقيا وخصوصا من غينيا حيث وجدوا تشابهاً كبيراً وتاما في حالة استخدام هذا الجين بين (*C. capitata* (Wiedemann و *C. caetrata* (Munro) ولكن عندما تمت مقارنة احد هذين النوعين وهو *C. capitata* مع النوع *C. cosyra* (Walker) بالاستناد الى طريقة PCR-RFLP توصلوا الى ان النتائج الآتية من إيجاد التسلسلات التتابعية ملائمة كثيرا للتحليل الوراثي الكمي في النوع الواحد وكذلك بين الانواع التابعة لجنس *C. capitata* وقد ذكر Singh وآخرون (2011) في دراسة التسلسل التتابعي للدنا في عائلة الذباب الأزرق Calliphoridae ومنها جنس الذبابة الحلزونية (*Ch. megacephala* (Fab.) و *Ch. rufifacies*(Macquart) انه من مجموع 64 تسلسلا نيوكلوتيديا لخمس وعشرين جنسا تنتمي الى تلك العائلة التي شملتها الدراسة تم تضخيم اربع جينات احدها لدنا المايتركونديريا mtDNA وهو الجين COI الذي كان عدد القواعد له 1435bp والجينات الثلاثة الباقية لدنا النواة، اذ تم التضخيم بأستخدام

بوادئ متخصصة Primers Specific ونظام تفاعل البلمرة المتسلسل PCR Protocol، اذ وجد ان تسلسل الجينات لها مطابق لما موجود في بنك الجينات بالنسبة لعينة الذبابة الحلزونية للعالم القديم التي تحمل التسلسل العالمي في بنك الجينات وهو (AF295548.a).

٧-٢ الدراسة الوراثية الكمية باستخدام المقياس الهندسي لشكل الجناح وتركيبه

يعرف المقياس الهندسي لشكل الجناح وتركيبه Geometric Morphometric على أنه دراسة كل التغيرات التي تطرأ على الكائنات الحية من حيث الحجم أو الشكل أو التباين أو التنوع (Rohlf، 2007)، كما يمكن تعريفه بأنه العلم الذي يهتم بدراسة التحليل الكمي لشكل وحجم جميع الكائنات الحية وخاصة تحليل سجلها الاحفوري وتأثير التغيرات المتطورة والحديثة على هيئة الشكل وكذلك الاختلافات التي توجد بين كل العوامل البيئية من جهة وشكل الكائن الحي من جهة أخرى، بالإضافة الى ذلك فإن هذا العلم يستخدم أيضا في الدراسات الوراثية الكمية ومنها دراسة التغير الوراثي الكمي بين المجتمعات السكانية المنفصلة جغرافيا والتي تعود لأنواع من الحشرات تنتمي لنفس الجنس وكذلك دراسة العلاقات التطورية بين الكائنات الحية، اذن فان الهدف الأساسي من استخدام المقياس الهندسي للشكل والتركيب هو الاختبار الإحصائي لعدد من الفرضيات الخاصة بالعوامل المؤثرة على شكل الكائن الحي (Marcus، 1990)، وإن دراسة الوراثة الكمية عند اعتمادها في الوصف والمقارنة بين الأشكال وبوجود تأثير بيئي مثل العامل الجغرافي تعطي نتائج دقيقة ومطلوبة في المجال البحثي، لذلك فإن تطبيق تقنية المقياس الهندسي أصبحت ذات أهمية بالغة في الابحاث التي تقارن بين أشكال الافراد التي تنتمي الى نوع واحد ولكنها مختلفة في المناطق الجغرافية، او في دراسة انماط النمو للأحياء المتغيرة باستمرار (الصالح، 2018)، وقد ذكر Silveira وآخرون (2006) ان واحدة من اكبر المشاكل التي تواجه الباحثين هي عدم وجود المتخصصين في مجال التصنيف لتشخيص العينات، وهذا الوضع بدا ينحسر تدريجيا عن طريق تطوير مفاتيح الصور الفوتوغرافية والتي يحتمل استخدامها من قبل غير المتخصصين في مجال التصنيف (Nemesio،

(2010)، وبالتزامن مع استخدام مثل هكذا اساليب في التشخيص وأيجاد التغيرات استخدمت في الوقت الحاضر ادوات اخرى قريبة ومعروفة وتعطي نتائج دقيقة و تقلل الى حد كبير من اعباء العمل للقائمين في مجال التصنيف وهي استخدام الصفات الكمية الطويلة Quantitative traits long في تشخيص أنواع الحشرات ومن هذه الصفات شكل وتركيب الجناح وهذا يتطلب استخدام تقنية المقياس الهندسي (Ruttner وآخرون، 1978، Ruttner؛ 1988، Francoy وآخرون، 2006، 2008، 2009، Tofilski؛ 2008، Bloch وآخرون، 2010)، لذا فإن تقنية المقياس الهندسي تساعد في تصنيف أنواع الحشرات وذلك باستخدام الصفات الكمية كشكل وتركيب الجناح، وهي تشير بشكل واضح الى التحليل الكمي لأنواع الكائنات الحية وهو مفهوم يشمل الحجم المتري والشكل معاً، اذ يتم من خلال استخدامه إجراء التحليلات الكمية المظهرية على هذه الكائنات وهو مهم ايضاً في تحليل السجل الأحفوري لها وتحليل تأثير الطفرات الوراثية على شكل الأنواع وكذلك له اهمية كبيرة في دراسة تغيرات الشكل الناتجة عن تأثير عوامل البيئة فضلاً عن استخدامه في تقدير المؤشرات الكمية وقياس الصفات التطورية مثل المقياس الهندسي الوراثي الذي يقيس تطور الجنين (Aytekin، 2007؛ Tofilsk، 2008؛ Bloch، 2010).

٢-٧-١ أنواع المقياس الهندسي لشكل الجناح وتركيبه

١- المقياس الهندسي التقليدي Traditional Geometric Morphometric.

٢- المقياس الهندسي المعتمد على المعالم Landmarks-Based Geometric Morphometric.

٣- المقياس الهندسي المعتمد على التراكيب Procruste-Based Geometric Morphometric.

٤- المقياس الهندسي المعتمد على المخطط Outline-Based Geometric Morphometric.

وما يهمنا في دراستنا هو النوع الثاني المعتمد على المعالم، إذ يعتمد هذا النوع من المقاييس على جمع المعلومات المكانية من الإحداثيات أو النقاط إذ إن المعالم Landmarks هي النقاط أو الإحداثيات التي تعطي معلومات عن التراكيب الحيوية للعينات المدروسة، وهذه النقاط تعطي وصفاً هندسياً دقيقاً للاختلافات في الشكل (Sendaydiego وآخرون، 2013)، كما إن المعالم تكون بمثابة أماكن تشريحية مستقلة ومتشابهة في كل الأفراد التي يجري عليها التحليل (أي الأفراد التي تكون خاضعة للتحليل الكمي) كما هو الحال في تقاطعات العروق الطولية مع العروق المستعرضة في جناح أي حشرة وهذه التقاطعات تمثل جميع المعالم أو النقاط التي وضعت عليها وتعد هذه النقاط متشابهة في جميع النقاط المدروسة فضلاً عن ذلك فإن الأبحاث والدراسات في مجال الوراثة الكمية التي تستخدم هذا النوع من المقياس تحتوي على بيانات تقليدية ثنائية الأبعاد 2D ولكن نتيجة للتطور التكنولوجي والتقني في مجال التصوير أصبحت تلك الدراسات تمتلك بيانات ثلاثية الأبعاد 3D ذات درجة عالية من الوضوح والتي أصبح استخدامها بشكل واسع جداً حتى مع أصغر التراكيب كالأسنان وغيرها من التراكيب المختلفة (Singleton وآخرون، 2011)، مع العلم أن دراسة أجنحة الحشرات تُعدُّ فرع من فروع علم الشكل والتركيب وله ارتباط بعلم الرياضيات وعلم الإحصاء (Mondal وآخرون، 2015)، كما أستخدم المقياس الهندسي للجناح وبنجاح كبير في تصنيف الحشرات Insects taxonomy وللتمييز بين الأصناف ذات الصلة الوثيقة بينها حيث وجد أن هناك إختلافات كبيرة في شكل وحجم الجناح وخواص ميكانيكية أخرى (Aytekin وآخرون، 2007) فمن خلال حساب الحجم المركزي للجناح يمكن المقارنة بين مجتمعات مختلفة لنوع معين، والحجم المركزي للجناح Centriod Size هو مقدار متساوي القياس من الجناح يتم حسابه من الجذر التربيعي لمجموع مربعات المسافات بين مركز المضلع وكل معلم من المعالم التي ثبتت على الجناح بشكل واضح ودقيق جداً (Macleod، 2009).

٢-٧-٢ الدراسات السابقة المتعلقة باستخدام المقياس الهندسي لشكل الجناح وتركيبه في المقارنة بين الأنواع

لقد تبين من خلال الدراسات والأبحاث العلمية العالمية التي استخدمت المقياس الهندسي لشكل الجناح وتركيبه ومنها الدراسة التي قام بها Hall وآخرون (2014) بتحديد التغيرات الوراثية في شكل وتركيب الجناح بين ثلاثة مجتمعات سكانية لحشرة ذبابة الدودة الحلزونية للعالم القديم *Ch. bezziana*، ولاحظوا خلال هذه الدراسة الى عدم التطابق التام لبعض المعالم المثبتة على الجناح الأيمن لحشرات المجتمعات المشمولة بالدراسة، بالإضافة إلى ذلك فإنهم استنتجوا انه يمكن الاعتماد على بعض التغيرات الطفيفة في التمييز بين المجتمعات السكانية ضمن النوع الواحد؛ إذ إنّ هذه التغيرات تكون ذات فائدة كبيرة في المقارنة عن طريق قياس أجنحة الذباب، أمّا إذا كانت الاختلافات بين الأنواع المدروسة غير موجودة لان التغيرات غير واضحة للعيان عندها يتم الاعتماد على قياس زاوية انحناء جناح الحشرة، وقد تبين من خلال دراسة أجراها التميمي (2016) على ذبابة الدودة الحلزونية للعالم القديم *Ch. bezziana* والمجموعة عيناتها من شمال وجنوب ووسط العراق وباستخدام نظام المقياس الهندسي لشكل الجناح وحجمه وعلى ثلاثة أجيال ان اجنحة الذكور اليمنى ولثلاثة أجيال ولمناطق العراق الثلاثة متطابقة بدرجة كبيرة في معظم المعالم باستثناء البعض منها فلم يتم بينها تطابق تام لجميع أجنحة الذكور للمجتمعات السكانية الثلاثة، وبذلك يمكن القول ان الاستنتاج الرئيس من أي دراسة حول استخدام المقياس الهندسي لشكل وتركيب الجناح هو ان شكل الجناح يشمل التغيرات الكمية الكافية لأستخدامها كمؤشر للتمييز بين الوحدات التصنيفية العاملة في مجال دراسة الوراثة الكمية للكائنات الحية، فضلاً عن ذلك فأن شكل الجناح هو مؤشر كمي فعال للتمييز بين الأنواع المختلفة لجنس اي حشرة كما هو الحال بالنسبة لجنس ذبابة الخل *Drosophila* (Moraes وآخرون، 2004 ; Bublly وآخرون، 2008).

٢-٨ دراسة المحتوى الكيميائي للحشرة الكاملة تشمل جدار الجسم والأحشاء الداخلية

إنَّ الطبقة الخارجية من كيوكل جميع الحشرات تتألف من طبقة رقيقة من الدهن والذي له الدور الأساس في بقاء الحشرات، إذ إنه يوفر لها الحماية من الجفاف علاوة على أنه يعمل كعائق ضد الإحتكاك وهجمات الكائنات الحية والمواد الكيميائية، إذ يتكون هذا الدهن من خليط من المواد لعل من أبرزها وأكثرها وفرة هي الهيدروكربونات والتي هي عبارة عن مركبات نقية غير ذائبة في الماء وتظهر تغيرات مثيرة في الأنواع المختلفة مما يجعلها صفات تصنيفية دقيقة، وإن العديد من الدراسات أكدت أنَّ الجماعات السكانية التي تعود لنفس النوع والتي تعيش في أماكن جغرافية منفصلة تختلف في مكونات الهيدروكربونات التي تحتويها، وإن هذا الاختلاف يعود إلى عدة أسباب منها قلة التغذية والعمر، وقد تم التوصل إلى أغلب أنواع الحشرات تمتلك ما بين 10-40 مكوناً رئيسياً من خليط الهيدروكربونات لكل نوع وقد يفوق الرقم 100 مكون في بعض الأنواع (Spradbery، 2002)، وإن هيدروكربونات الكيوكل تنتج من خلايا متخصصة تسمى Oenocytes وهي تكون مصاحبة لخلايا البشرة البطنية Abdomnal epidermal cells أو الأجسام الدهنية وتنتقل إلى خلايا البشرة بواسطة حامل بروتيني دهني متعدد الوظائف يسمى Lipophorin على هيئة مركبات مكونة من الكاربون والهيدروجين فقط وهي تمثل أبسط أنواع الدهون (Roux و Legal ، 2008)، وأن طول سلسلة المركب الهيدروكربوني في جسم الحشرة يعد مهماً في التقليل من فقدان الماء عبر الكيوكل بالإضافة إلى إنه يعمل على تأمين وسائل الاتصال بين الأفراد في حال انعدام الاتصال الكيميائي، كما إنها قد تعمل كفيرمونات جنسية Sex pheromones أو Kairomones أو ربما تفيد في التعرف على نوع وجنس الطبقة بالإضافة إلى التعرف على أعشاش التزاوج (Blomquist و Bagneres) nest mate، 2006)، وقد تبين من خلال دراسة اجراها ثامر وكريم، (2013) على ستة أنواع من عائلة الذباب الأزرق هي *Ch.megacephala* و *Ch.albiceps* و *Calliphoravicina* و *C.livida* و *C.terraenovae*

و *Lucilia sericata* تمت فيها عملية تحليل المركبات الهيدروكاربونية، أن الالكانات الخطية هي المركبات الأكثر تواجداً في كيوكل هذه الأنواع والتي هي مركبات غير قطبية لا تذوب إلا في المركبات غير القطبية لذا فهي لا تذوب في الماء كونه مركب قطبي لعدم قدرتها على تكوين أوامر هيدروجينية مع الماء، وإن سيادة الالكانات وهي جزيئات مشبعة يجعل طبقة الدهون التي تغطي طبقة الكيوكل أقل سيولة مما يزيد من قلة نفاذية الماء فيزيد مقاومة الحشرة ويجعلها أكثر صموداً ضد الظروف الصعبة الجافة، بالإضافة إلى ذلك فإن التغيرات الرئيسية في المكونات الكيميائية لا يستند إلى وجود أو عدم وجود مكون دون آخر وإنما على النسب الكمية لتلك المكونات وإن اختلافها يعد من الخصائص التركيبية للأنواع المختلفة، ومن الطبيعي أن يكون هناك أكثر من عامل رئيس يحدد تلك المركبات متمثلة بالعوامل الوراثية التطورية والظروف البيئية الفيزيائية، فضلاً عن تدخل عوامل أخرى منها مراحل النمو المختلفة، كما إن ارتفاع معدلات المركبات الكيميائية ذات الوزن الجزيئي العالي ربما تساهم في زيادة مقاومة النوع للظروف غير الملائمة كارتفاع درجات الحرارة وكذلك يزيد من احتمالية بقاء الأنواع وصمودها أمام الظروف الصعبة (Beuia و Bounechada، 2011)، وإن عملية تحليل المكونات الكيميائية للحشرة تعد وسيلة فعالة جداً في تشخيص الأنواع المستترة والمعقدة في الجماعة الواحدة والتي يصعب تمييزها مظهرياً، وإن آلية تحليل المكونات الكيميائية ممكن أن تستخدم كوسيلة تصنيفية لتمييز الاختلافات في النواقل المرضية في رتبة ثنائية الأجنحة (Kaor وآخرون، ٢٠٠٠)، وقد تبين من خلال دراسة أجراها ، (Francesca 2009) إن تواجد المركبات الكيميائية ذات الوزن الجزيئي العالي يتناسب عكسياً مع فقدان الماء وهذا ربما يفسر تواجد هذه الحشرات بكميات جيدة في أغلب أشهر السنة، إذ إن لمعظم الحشرات القابلية على التحكم في كمية ونوعية دهون الكيوكل Wax تبعاً لتغيرات الظروف البيئية فذلك يزداد ازدهار وإفراز الدهن (الشمع) في الفصول الجافة ذات الحرارة المرتفعة ويقل أو يتوقف الإفراز في الفصول ذات الحرارة المنخفضة، وإن هناك تغيرات في طول سلاسل

المركبات الكيميائية يختلف باختلاف أنواع الحشرات ففي نحل العسل *Apis melliphera* يتراوح طول السلسلة 21-43 ذرة كاربون أما في النوع *Phormia regina* يتراوح طول السلسلة 23-32 ذرة كاربون، وفي بعض حشرات الحبوب المخزونة سجل طول السلسلة 16-35 ذرة كاربون، بينما يصل طولها في نوعين من الجراد 21-47 ذرة كاربون، و 24-36 ذرة كاربون في النوع *Pamphagus elephas* من مستقيمة الأجنحة، وإن التغيرات في أطوال السلاسل المركبات يشمل الأدوار المختلفة في حياة نفس النوع، وإن مراحل النمو اليرقي المتأخر والعذراء تمثلان مرحلة انتقال من اليرقة إلى البالغة مع حصول زيادة وبصورة تدريجية في جزيئات المركبات ذات الوزن الجزيئي وصولاً إلى الكاملات وإن هذه الزيادة في تلك الجزيئات الثقيلة تعمل على توفير كمية ونوعية من المكونات الكيميائية تكون مناسبة للبيضة (Nunes وآخرون، 2009).

الفصل الثالث

المواد وطرائق العمل

Materials and Methods

3 – المواد وطرائق العمل Materials and Methods

3 – 1 المواد Materials

3 – 1 – 1 الأجهزة والمواد المستخدمة في هذه الدراسة

جدول (1) الأجهزة والمواد المستخدمة والشركات المصنعة والمنشأ

الشركات و المنشأ Company and origin	اسم الجهاز Apparatus Name	ت
Arcelik – Turkey	ثلاجة Deep freeze	1
Labnet – The U. S. A	جهاز ترحيل كهربائي Electrophoresis Gel	2
TUV-Germany	جهاز طرد مركزي دقيق Microcentrifuge	3
ECM-Germany	مجهز للطاقة Power Supply	4
Denver instrument – Germany	ميزان كهربائي حساس Sensitive Electronic Balance	5
Boeco –Eufor	جهاز Vortex VI plus	6
ECM-Germany	مقياس الكثافة الضوئية Spectrophotometer	7
Mummer-Germany	حمام مائي Water bath	8
Vision – Korea	Hot plate and magnetic Stirrer	9
Diocom – The U. K	كابينة الأشعة فوق البنفسجية Cabinet UV	10
Geneaid – Taiwan	أنابيب أبند روف Tubes Eppendorf	11
Bio Basic – Canada	Tips	12
Dragonmed – Germany	Micropipettes	13
Passed electrical – The U . K	جهاز تصوير الجل Gel Documentation	14
Novex Germany	مجهر تشريح Dissection Microscope	15
Novel – Germany	مجهر مركب Compound Microscope	16
Taiwan	مجهر رقمي Digital Microscope	17

LG- Korea	حاسبة Desktop	18
Labnet Edison NJ – U.S.A	جهاز البلمرة الحراري (PCR) Thermal Black	19
Sail brand - China	شرائح زجاجية Slides	20
Pakistan	طقم تشريح Dissecting Set	21
U.A.E	شريط ورق لاصق (G2100) Adhesive bandage paper	22
Germany	دورق زجاجي مدرج 500 ml Approx.	23
Germany	أنابيب زجاجية مدرجة مختلفة الأحجام Cytoglas.500ml,100ml , 50ml	24
Ideen Welt –China	جهاز لقياس الحرارة والرطوبة Outdoor Thermometer	25
Plastilap – China	إطباق بتري Petri Dishes	26
Plastilap – China	أقداح بلاستيكية ذات أغطية ١٠٠ ml	27
Safe Pack – U.S.A	قفازات طبية Medical Gloves	28
Turkey	قنينة بلاستيكية شفافة لجمع العينات ١٠٠٠ g.	29
Syria	ورق (سيليفون)	30
Bio Basic INC – Canada	Micro tip short 10.01	31
Bio Basic INC – Canada	Tip rack sterile BT 222- RS100-1000ul	32
Bio Basic INC – Canada	PCR rack tube	33
Bio Basic INC Canada	Rack Eppendrof 100 sample	34
Germany	المبخر Rotary evaporator	35
Germany	جهاز الاستخلاص المتقطع Soxhelet	36
Japan	GC-MS	37
Spain	ورق ترشيح نوع NO1 Whatman	38

3 – 1 – 2 المحاليل والمواد الكيميائية المستخدمة في هذه الدراسة

جدول (2) المحاليل والمواد الكيميائية والأصل والمنشأ

الأصل أو المنشأ	المحاليل والمواد الكيميائية	ت
Geneaid – Taiwan	Genomic DNA Mini Kit (Tissue) Gs100 Prep	1
Bio Basic INC – Canada	Agarose AB 0013 50 mg	2
Bio Basic – Canada	TBE A0026 10 x1L	3
Bioneer – Korea	100 bp DNA Ladder D- 1030 250 ul	4
Bioneer – Korea	PCR Premix K-2012 0.2 ml / 20 ul rxns / 96 tube	5
Bioneer – Korea	D.D water	6
Bio Basic – Canada	Ethidium bromide solution Do 177 . 5 ml	7
Bio Basic INC – Canada	Loading dye صبغة تحميل	8
Kuwait	water Distilled ماء مقطر ١٠٠ %	9
Bioneer – Korea	Specific primers بوائى متخصصة	10
Iraq	(% Sugar solution (محلول سكري 10)	11
Iraq	Ethyl Alcohol (٩٦ %) كحول ايثيلي	12
Belgium	n-Hexane ن - هكسان	13

3-1-3 محتويات عدة استخلاص ألد DNA

جدول (3) محتويات Genomic DNA Mini kit (Tissue) والأصل والمنشأ

ت	المحتويات	الأصل أو المنشأ
1	GST Buffer 30 ml	Geneaid – Taiwan
2	GSB Buffer 40 ml	Geneaid – Taiwan
3	Wash Buffer 25ml Add 100 ml Ethanol	Geneaid – Taiwan
4	W1 Buffer 45 ml	Geneaid – Taiwan
5	Elution Buffer 30 ml	Geneaid – Taiwan
6	Proteinase K	Geneaid – Taiwan
7	Micro pestle	Bio Basic INC-Canada
8	أنابيب جيديكولومن GD Column	Geneaid – Taiwan
9	10.200 ml filter tip natural sterile FT 266-RNS	Bio Basic INC-Canada

2-3 طرائق العمل Methods

1-2-3 الدراسة الوراثية الجزيئية Molecular Genetic Study

2-2-3 استخلاص ألد DNA DNA Extraction

تمت عملية الاستخلاص وفقاً لطريقة Genomic DNA Mini Kit Tissue Protocol .

3-2-3 محاليل الاستخلاص Extraction solutions

ت	محاليل الاستخلاص
1	GST Buffer 200 µ L
2	Proteinase K 20 µ L
3	GSB Buffer 200 µ L
4	Absolute Ethanol 200 µ L

W1 Buffer 400 µ L	5
Wash Buffer 600 µ L	6
Elution Buffer 50 µ L	7

3-2-4 طريقة استخلاص الدنا

- 1: أخذت الحشرة بالدور الكامل ووضعت في أنبوبة ابندورف حجمها 1.5 mL.
- 2: أضيف 200 mL من GST Buffer الى الأنبوبة التي تحتوي على الحشرة، وسحقت الحشرة جيدا باستخدام آل Micropipette .
- 3: بعد سحق الحشرة جيدا أضيف إليها 20 mL من Proteinase K داخل الأنبوبة ثم وضعت هذه الأنبوبة في جهاز الرج Vortex لمزج وملابسة المكونات فيها ولمدة 30 ثانية ،بعد ذلك تحضن الأنبوبة في حمام مائي بدرجة حرارة 60 C° ولمدة ساعة ونصف مع الرج المستمر للأنبوبة كل 5 دقائق طيلة فترة التحضين .
- 4: بعد الانتهاء من عملية التحضين وضعت الأنبوبة في جهاز الطرد المركزي بسرعة 14000 دورة في الدقيقة ولمدة دقيقتين .
- 5: بعد ذلك أستخرجت الأنبوبة من الجهاز وسحب السائل منها فقط ، ثم وضع في أنبوبة ابندورف جديدة بواسطة آل Micropipette وتركت الأنبوبة القديمة .
- 6: أضيف 200 mL من GSB Buffer الى الأنبوبة الجديدة وترج لمدة 10 ثواني لترسيب آل DNA.
- 7: بعدها نقلت المكونات الى أنبوبة GD Column حجمها 2 mL تحتوي على فلتر ترشيح وأعيدت عملية الطرد المركزي بسرعة 14000 دورة / دقيقة ولمدة دقيقة واحدة فقط .

8: بعد الانتهاء من عملية الطرد المركزي تم أخراج الأنبوبة واخذ منها الفلتر فقط ووضع في أنبوبة GD Column جديدة .

9: أضيف 400 mL من W1 Buffer الى الأنبوبة ومن ثم وضعت مع محتوياتها في جهاز الطرد المركزي بسرعة 14000 دورة / دقيقة ولمدة دقيقة واحدة فقط .

10: بعد الانتهاء من عملية الطرد المركزي تم التخلص من السائل الذي يتجمع أسفل فلتر الترشيح داخل الأنبوبة بعد ذلك أضيف 600 mL من Wash Buffer إليها ووضعت في جهاز الطرد المركزي مرة أخرى بسرعة 14000 دورة / دقيقة ولمدة دقيقتين لغرض التجفيف .

11: بعد انتهاء عملية التجفيف يتم التخلص من أنبوبة GD Column واخذ فلتر الترشيح فقط ووضع في أنبوبة إبندورف جديدة .

12: أضيف 50 mL من Elution Buffer الى أنبوبة الإبندورف الحاوية على فلتر الترشيح وبعد ذلك وضعت في جهاز الطرد المركزي بسرعة 14000 دورة / الدقيقة ولمدة دقيقة واحدة فقط .

13: إخراج الأنبوبة من الجهاز بعد الانتهاء من عملية الطرد المركزي ،اذ لوحظ ترسب الـ DNA فيها بشكل مادة جيلاتينية عديمة اللون، بعد ذلك تم إجراء الترحيل الكهربائي لـ DNA المستخلص على هلام الاكاروز للتأكد من وجوده فيها، بعد ذلك يحفظ في الثلاجة لحين استخدامه في تضخيم الجينات المستخدمة في هذه الدراسة.

5-2-3 تقدير نوعية أَل DNA المستخلص Quality Determination of DNA Extracted

قدرة نوعية أَل DNA من خلال ترحيل 6 عينات لكل نوع ، وبواقع 3 ذكور و 3 اناث من كل نوع على هلام الأكاروز وبحسب ما جاء في (القرةغولي ، 2013) ، وقد كانت نقاوة أَل DNA في العينات جميعها تتراوح بين 1.8-2 نانومتر .

A-5-2-3 المحاليل المستخدمة:

1: محلول TBE Buffer حضر هذا المحلول من :

(0.89 M Tris-borate, 0.88 M Boric acid, 20 Mm EDTA, pH 0.8)

كما حضر محلول TBE بقوة X10 وفقا للتركيز التالية :

(108gm Tris-base, 55gm Boric acid, 0.8m EDTA) و أكمل الحجم الى 1 L بأضافة

الماء المقطر والمعقم ثم حفظ المحلول بدرجة حرارة الغرفة .

2: محلول التحميل Loading Buffer بقوة X10 والذي حضر من مزج المواد التالية:

(0.25gm promphenol Blue in 50ml D.W, 30ml Glycerol) وأكمل الحجم لغاية

100mL بأضافة الماء المقطر والمعقم .

3: صبغة بروميد الاثيديوم Ethidium Bromide .

حضرت هذه الصبغة من اضافة 1gm من بروميد الاثيديوم الى 100 مل ماء مقطر في قنينة زجاجية

معقمة وبدرجة حرارة 5 م° ، يجب الحذر عند استخدام هذه المادة لأنها مسرطنة لذا يجب ارتداء القفازات

الطبية عند استخدامها عند إجراء عملية الترحيل الكهربائي للكشف عن أَل DNA (القرةغولي

، 2013) .

B-5-2-3 الترحيل الكهربائي على هلام الاكاروز Gel Electrophoresis

- 1- حضر الهلام بوزن 1 gm من الأكاروز بواسطة ميزان كهربائي حساس ودقيق ثم وضعت الكمية الموزونة في دورق زجاجي مدرج حجمه 500 mL يحتوي على كبسولة صلبة Stirrer magnetic bar لغرض مزج وملابسة المكونات أثناء التسخين .
- 2 - أضيف 450 مل من الماء المقطر الى أنبوبة زجاجية مدرجة 500 mL ثم أكمل الحجم بإضافة 50 مل من محلول X 10 TBE Buffer بواسطة أنبوبة زجاجية حجمها 50mL.
- 3 - اخذ من الخليط 100 مل بواسطة أنبوبة زجاجية مدرجة ، واطيف الى الدورق الزجاجي الذي يحتوي على الأكاروز ثم وضع الدورق بالمحتويات بعد رجه باليد لمدة 10 ثواني على جهاز الأذبابة ألـ Hot Plate Stirrer بدرجة حرارة 100 م° ، اذ غطت فوهة الدورق بورق السيليفون لمنع التبخر أثناء التسخين واستمرت عملية اذابة الجل الى أن أصبح السائل صافي جدا وبدون فقاعات .
- 4 - ترك الهلام المذاب ليبرد الى درجة حرارة من 40-50 م° بعد ذلك أضيف الى الدورق 5 mL من صبغة Ethidium bromide ، ثم حضر الحوض المعد لصب الهلام تلاه سكب الهلام المذاب برفق وعناية تامة وبشكل مستمر لمنع حدوث أي فقاعات وترك لكي يتصلب بعد وضع مشط بلاستيكي في الحوض لعمل حفر في الهلام لكي توضع فيها العينات .
- 5 - بعد ان تصلب الهلام تم رفع المشط منه ثم رفع الهلام من حوض الصب برفق وعناية تامة ووضع في حوض جهاز الترحيل الكهربائي الذي تم غمره بمحلول TBE بقوة X 1 .
- 6 - وضع 2 mL من صبغة التحميل على ورق السيليفون لكل عينة ثم مزج مع 5 mL من DNA كل عينة .

7 - وضعت العينات بشكلها النهائي في الحفر الموجودة في الهلام ويراعى في ذلك عدم خروج العينة خارج سطح الحفرة .

8- وصلت أقطاب جهاز الترحيل الكهربائي وجهاز بقدر 100 فولت .

9 - تم توقيت جهاز الترحيل الكهربائي لمدة 50 دقيقة .

10 - أوقف الترحيل عند انتهاء الوقت المحدد له ووصول الصبغة الزرقاء الى نهاية الهلام .

11- رفع الهلام بعناية من حوض جهاز الترحيل الكهربائي ووضع على جهاز الأشعة فوق البنفسجية

U.V لمشاهدة حزم ال DNA وتقدير حجمها بعد اطفاء الاضاءة لمشاهدة توهج الحزم بشكل أفضل (الصالح، 2007) .

3 - 3 تفاعلات أنزيم البلمرة المتسلسل – Specific

طبقت هذه التقنية باتباع الخطوات الآتية :

1-3-3 استخدام بادئين من دنا الماييتوكوندريا وهما : (COI و COII) تقوم بترتيب القواعد النتروجينية

بتسلسل محدد و التي صنعتها شركة Bioneer – Korea

جدول (4) البوادي المستخدمة وتسلسلاتها

NO	Primer Name	Primer Sequences	Band size
1	COI gene	F : 5 (GGAGGATTTGGAAATTGATTAGTTCC) R : 5 (TCCAATGCACTAATCTGCCATATTA)	210bp
2	COII gene	F : 5 (ATTAGATGTTGATAATCG) R : 5 (ACAAATTTCTGAACATTG)	210bp

3 – 3 – 2 المحاليل والمواد اللازمة لأجراء التفاعلات :

والتي تتألف من Master Mix والذي يتكون من :

ت	مكونات الـ Master Mix
1	Taq DNA Polymerase 2.5 U/ μ L
2	dNTps 250 μ L
3	Tris – HCL 10 μ L
4	KCL 30 μ L
5	MGcL2 1.5 μ L

3 – 3 – 3 طريقة العمل :

١- حضر خليط التفاعل الرئيس Master Mixture باضافة المكونات الاتية في أنبوبة معقمة

وكما في الجدول أدناه :

جدول (5) يبين مكونات خليط التفاعل الرئيس

Final Concentration	Volume for 1 Tube	Materials Concentration Manufacturer
-----	6 μ L	D. Water
1X	5 μ L	Acc power PCR PrmiX
10 Pmol	2 μ L	Primer – F (10 PMpol)
10 Pmol	2 μ L	Primer – R (10 Pmol)
	15 μ L	Total reaction Volume

ومزجت هذه المكونات بواسطة أنبوبة ماصة زجاجية دقيقة وذلك بسحبها عدة مرات ثم وضعت في

جهاز الرج ألـ Vortex لمزج المكونات مع بعضها جيداً .

2 - وزع الخليط على 6 أنابيب معقمة حجمها 0.5 mL ومعلمة بحسب عينات النوعين وبواقع L

15 μ من الخليط لكل أنبوبة .

3 - أضيف 5 µL من ألد DNA لكل عينة في الأنبوبة المخصصة لها ووزع خليط التفاعل على الأنابيب قبل إضافة ألد DNA لتجنب التلوث .

4- وضعت الأنابيب في جهاز البلمرة الحراري Thermo cycler وأجريت الخطوات كما في الجدولين 6 و 7 .

جدول (6) ظروف تفاعل PCR - Cytochrome Oxidase I Gene استنادا الى Testa وآخرون (2002) .

NO	Step	Temperature	Time
1	Initial Denaturation	94C°	3min
2	Denaturation	94C°	30s
3	Primer Annealing	50C°	30s
4	Primer Extension	72 C°	30s
5	No, of cycles (2- 4)	35	
	Final Extension	72C°	5min

جدول (7) ظروف تفاعل PCR - Cytochrome Oxidase II Gene استنادا الى Testa وآخرون (2002) .

NO	Step	Temperature	Time
1	Initial Denaturation	94C°	3s
2	Denaturation	94C°	22min
3	Primer annealing	48C°	30s
4	Primer Extension	72C°	80s
5	No . of cycles (2-4)	36	
	Final Extension	72C°	60s

3-3-4 الترحيل الكهربائي Gel Electrophoresis لخليط تفاعل الـ PCR

1 - حضر الهلام باضافة 1gm من مسحوق الاكاروز بعد قياسه بميزان كهربائي حساس الى 100 مل من TBE Buffer بقوة 1X في دورق زجاجي مدرج حجمه 500.ml، ثم وضع على جهاز التسخين Hotplate and stirrer ووضع غطاء من ورق السليكون على فوهة الدورق لمنع التبخر وبدرجة حرارة 100 م ° الى حين اكتمال الاذابة وشفاء الخليط الى درجة عالية جداً بحيث لا توجد أي مواد غير ذائبة و أي فقاعات فيه ثم يترك ليبرد الى درجة حرارة من 40 م ° - 50 م °.

2- أضيف 5 µL من صبغة Ethidium bromide الى الهلام الموجودة في الدورق الزجاجي مع الرج المباشر للمكونات ولمدة عشرة ثواني.

3 - تهيئة حوض صب الهلام وذلك بوضع المشط فيه قبل سكب الهلام لعمل حفر توضع فيها العينات.

4 - سكب الهلام في الحوض برفق وبصورة مستمرة لمنع حدوث أي فقاعات وتركه حتى يتصلب لفترة غير معينة من الوقت.

5 - غمر حوض جهاز الترحيل الكهربائي بكمية من محلول TBE Buffer بقوة 1X المحضر من اضافة 50mL من محلول TBE Buffer 10X الى 450mL من الماء المقطر.

6 - رفع المشط من الهلام بعد تصلبه في قالب الصب برفق ثم نقل الهلام بعناية تامة ورفق الى حوض جهاز الترحيل الكهربائي.

7 - وضع DNA Ladder في الحفرة الأولى والأخيرة من الجل بحجم 7 µL لغرض المقارنة ثم حملت العينات في بقية الحفر أي كل عينة في حفرة وبحسب التسلسل والترقيم المعطى لكل واحدة منها.

8 - وصلت أقطاب التيار الكهربائي بجهاز الترحيل وجهاز بقدره 100 فولت ولمدة 90 دقيقة، وبعد اكتمال الوقت المحدد لعملية الترحيل تم رفع الهلام برفق من جهاز الترحيل ووضع على سطح جهاز تصوير الهلام Gel documentation لغرض التصوير والتأكد من وجود حزم الجينات المضخمة.

4-3 الدراسة الوراثية الكمية Quantitative Genetic Study

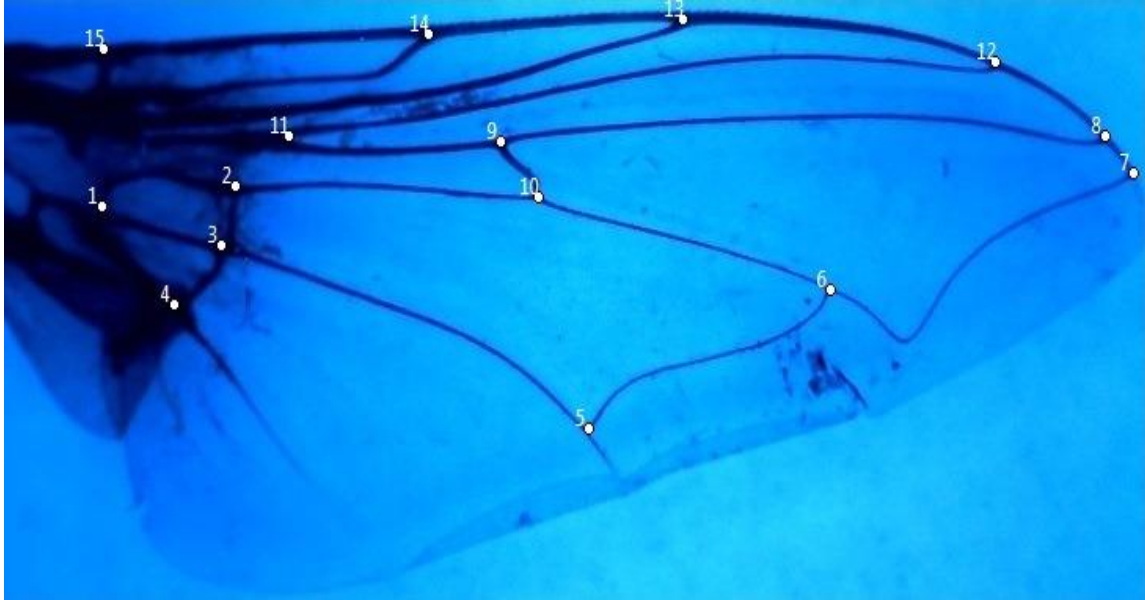
4-3 - 1 تحضير العينات Specimens Processing

استخدم في هذه الدراسة 15 جناحاً أيمناً للذكور و15 جناحاً أيمناً للإناث لكلا نوعي الذبابة والتي جمعت من منطقة الدراسة (دياالى) لغرض دراسة التغيرات الوراثية الكمية في شكل وحجم جناح الحشرة لكلا النوعين في هذه المنطقة والتمييز بينهما بشكل واضح باستعمال نظام المقياس الهندسي للشكل المظهري للجناح Geometric Morphometric، حيث اتبعت طريقة القرهغولي (2013) في تحضير الشرائح الزجاجية للأجنحة؛ إذ تم عزل 15 ذكر و15 أنثى لكل نوع، بعد ذلك تم نزع الجناح الأيسر لكل حشرة بواسطة ملقط تشريح دقيق وبغاية تامة جداً حفاظاً على الجناح من التكسر، بعد ذلك وضع الجناح بين شريحتين زجاجيتين وربطت حافتا الشريحتين بقوة بواسطة شريط ورقي لاصق نوع G2100، كتبت المعلومات الخاصة لكل نموذج والتي شملت: نوع الحشرة، جنس الحشرة، على طرفي الشريحة، بعد الانتهاء من تحضير الشرائح الزجاجية كافة صورت بشكل واضح بواسطة مجهر رقمي Digital Microscope والذي ربط مع حاسبة منضدية Desktop مزودة بكاميرا رقمية قوة تكبيرها 1.3 ميكابكسل ومزودة بأشعة فوق البنفسجية UV، إذ صورت أجنحة الذكور و الإناث المدروسة.

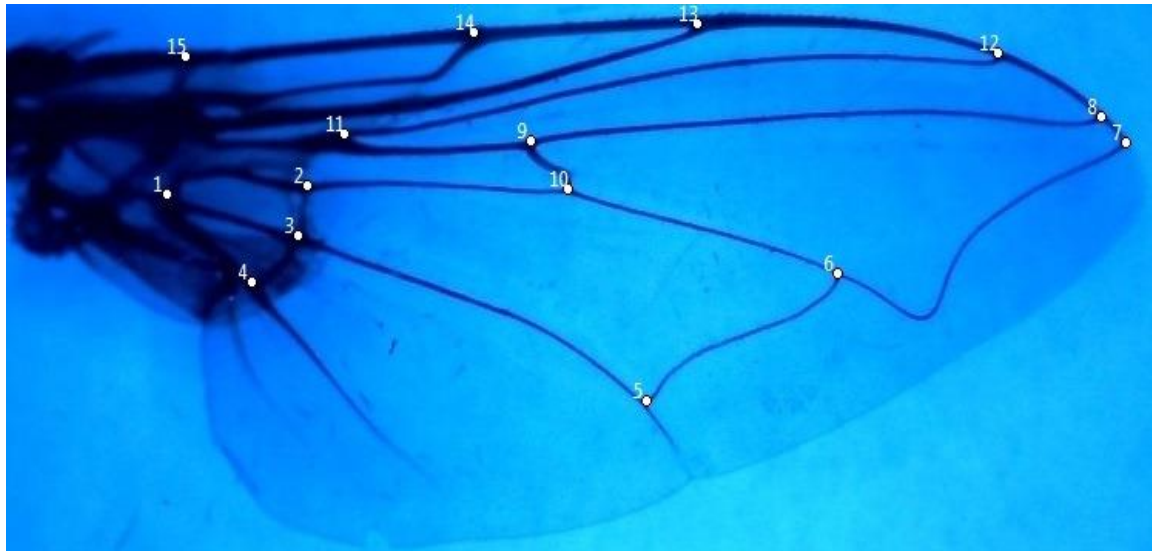
2-4-3 جمع البيانات Data Collecting

بعد الانتهاء من تصوير الأجنحة ، جمعت بيانات كل صورة على جهةٍ باستعمال البرنامج الجاهز Collecting Landmarks for Identification and Characterization والخاص بالتحليلات الهندسية للأجنحة والبيانات التي جمعت عن صور الأجنحة بشكل معالم Landmarks وهي نقاط تشريحية وضعت على تقاطعات العروق الطولية مع العروق المستعرضة ونهايات العروق الطولية كما هو موضح في الصورتان 9 و 10 ، اذ تستخدم هذه النقاط للتمييز بين المجتمعات السكانية العائدة لنفس الجنس والنوع (Bookstein، 1991)، استعمل في هذه الدراسة 18 معلم من النوع الأول وهي تقاطعات العروق الطولية مع العروق المستعرضة وقد وضعت نقاط مرقمة بين هذه التقاطعات عن طريق وحدة COO الموجودة ضمن البرنامج وهي وحدة خاصة بوضع معالم الاحداثيات، أن الاتصالات بين المعالم المحددة والتي تم وضعها على كل جناح أعطت لنا أشكالا مضلعة تستخدم في كثير من التحليلات، شملت المقارنة بين شكل الجناح وحجمه لكل عينة في الدراسة لغرض الكشف عن التباين ما بين المجتمعات السكانية المختلفة لعينات الذباب المدروس، كذلك لتوضيح التباين أيضا ضمن المجموعة السكانية الواحدة وبعد الانتهاء من وضع أرقام الاحداثيات لكل عينة من عينات الأجنحة نقلت الى وحدة TET الموجودة ضمن البرنامج أيضا وهي وحدة خاصة بدمج بيانات النماذج مع بعضها البعض لكي تتم المقارنة بين المجتمعات السكانية الثلاثة للذبابة ومعرفة مدى التماثل والتباين بينها، بعد ذلك نقلت البيانات الى وحدة MOG وهذه الوحدة توجد ضمن البرنامج وعن طريقها تجري عدة عمليات هي الترجمة Translation والقياس Scaling والدوران Rotation، وبعد هذه العمليات الثلاثة التي يجب تطبيقها على احداثيات المعالم لكي نحصل على الحجم المركزي Centriod Size لكل جناح والاعوجاج الجزئي Partial Warp والاعوجاج النسبي Relative Warp وكذلك تباينات الشكل لكل جناح، وفي هذه الدراسة تم الاعتماد على الحجم المركزي للجناح

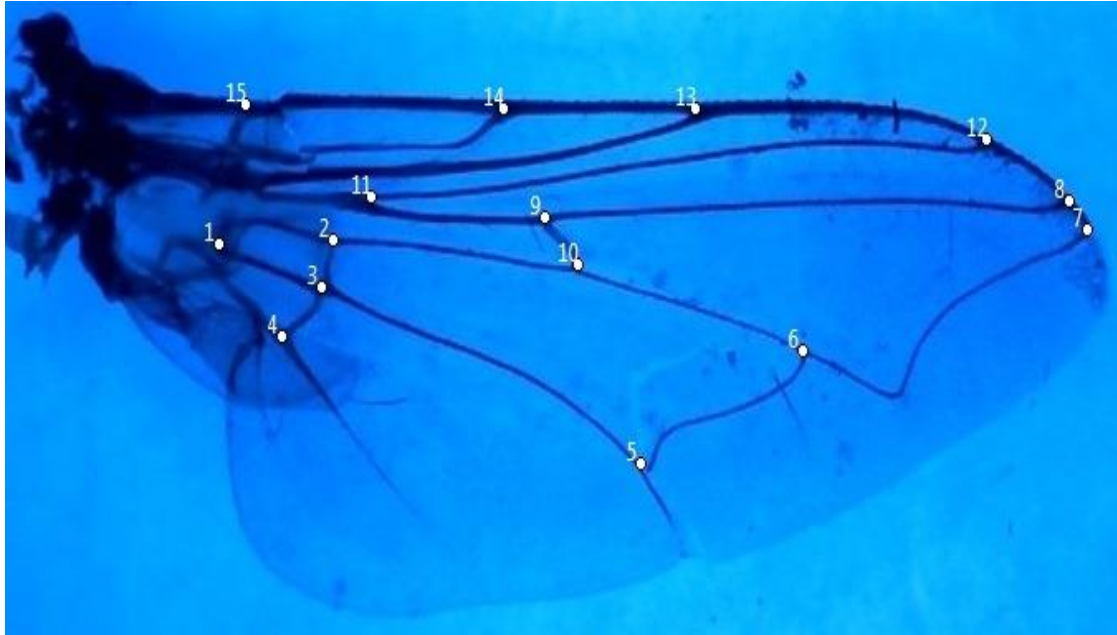
الأيمن للمقارنة بين نوعين مختلفين من الذبابة الحلزونية، والحجم المركزي للجناح Centriod Size هو مقدار متساوي القياس من الجناح يتم حسابه من الجذر التربيعي لمجموع مربعات المسافات بين مركز المضلع وكل معلم من المعالم التي تثبت على الجناح بشكل واضح ودقيق جدا (Macleod، 2009).



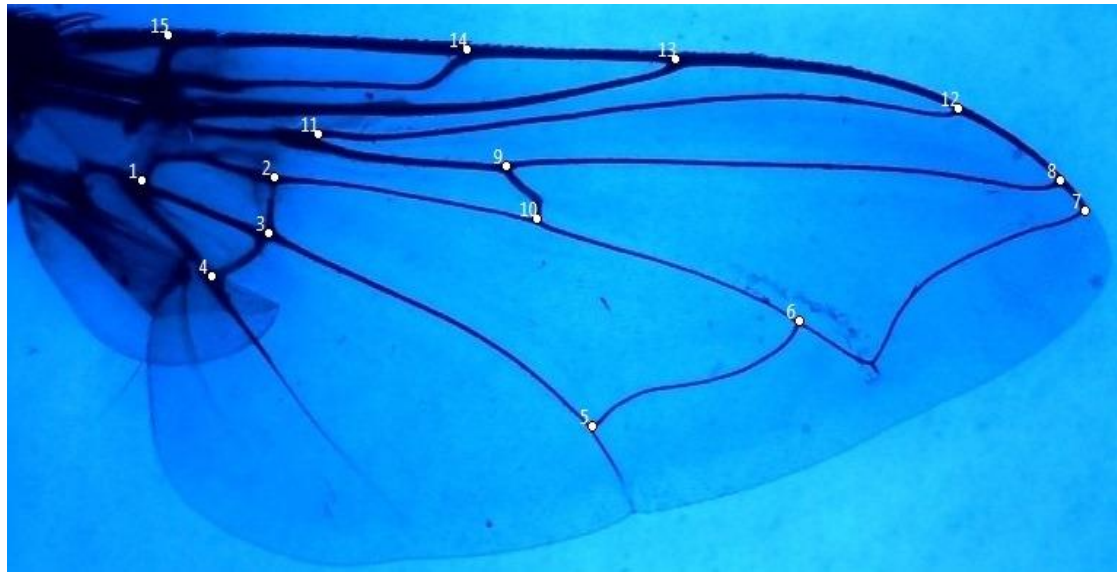
صورة (٤) الجناح الايمن لذكر الذبابة الحلزونية *Ch. megacephala* قوة التكبير 45X



صورة (٥) الجناح الايمن لأنثى الذبابة الحلزونية *Ch. megacephala* قوة التكبير 45X



صورة (٦) الجناح الايمن لذكر الذبابة الحلزونية *Ch. albiceps* قوة التكبير 45X



صورة (٧) الجناح الايمن لذكر الذبابة الحلزونية *Ch. albiceps* قوة التكبير 45X

ثبتت المعالم على الجناح وجميعها تم الحصول عليها من وحدة COO، تشمل هذه البيانات الحجم المركزي Centriod Size، الاعوجاج الجزئي Partial Warp فضلا عن الاعوجاج النسبي Relative Warp، أما البيانات الأخرى فهي بيانات التحليل للمركبات الأساسية Principle Component Analysis التي حصل عليها من وحدة MOG، أما بيانات التحليل التمييزي Discriminate Analysis فقد تم الحصول عليها من وحدة PAD، كذلك بيانات تحليل التباين للحجم المركزي حصل عليها من وحدة COV وبيانات التماثل لشكل الجناح تم الحصول عليها من وحدة ASI، أن كل الوحدات المذكورة توجد ضمن البرنامج الجاهز والخاص بالجانب الوراثي الكمي وهو Collecting Landmarks for Identification and Characterization وهذا البرنامج متاح على الموقع الإلكتروني العالمي <http://www.mpl.ird.morphometrics>، وقد استخدم في تحليل بيانات هذه الدراسة التحليل العاملي للمركبات الأساسية Principle Analysis في الكشف عن التباين Variation بين نوعي الذبابة، فضلا عن استخدام التحليل التمييزي Discriminate Analysis في الكشف عن التباين بين هذين النوعين وهذان التحليلان موجودان في البرنامج الجاهز الذي استخدم في هذه الدراسة.

5-3 الدراسة الكيميائية Chemical Study

1-5-3 جمع العينات Specimens Collection

جمعت عينات الدراسة الحالية من مناطق مختلفة من محافظة ديالى للفترة من شهر تموز لغاية نهاية كانون الأول . فحصت العينات (الحشرات الكاملة) بواسطة مجهر تشريح نوع Waidl M83 على القوتين X16 و X40، وقد أكد تشخيص الأنواع في متحف التاريخ الطبيعي - جامعة بغداد من قبل أ.د. رزاق شعلان عكل.

3-5-2 طريقة العمل

١- جففت 150 حشرة كاملة (ذكور+إناث) من كل نوع في فرن كهربائي وبدرجة حرارة 45 م° ولمدة 12 ساعة.

٢- وزنت العينات بعد التأكد من فقدانها التام للماء بواسطة ميزان حساس.

٣- وضعت العينات المجففة بعد أن تم سحقها بشكل تام بداخل قمع صنع من ورق الترشيح من نوع Whatman NO1 واحكم إغلاق القمع.

٤- استخدم جهاز الاستخلاص المتقطع Soxhlet مع 400 mL من الهكسان الإعتيادي ولمدة 24 ساعة.

٥- برد المستخلص الناتج ونقل إلى جهاز المبخر Rotary Evaporator، يتم تركيز العينة لغاية 2mL ثم جففت في حاويات Eppendorff لحين الاستعمال.

٦- شخّصت المركبات الهيدروكربونية بتقنية كروماتوغرافيا الغاز - طيف الكتلة - GCMS، من نوع

GC-MS 7890 Agilent Technologies A GC System التابع لوزارة العلوم التكنولوجية

- دائرة بحوث وتكنولوجيا البيئة والماء، تصلح طريقة الفصل الكروماتوغرافي بواسطة هذا الجهاز

لفصل مركبات تصل كمياتها الى عدة مايكروغرامات وذلك بتمرير العينة بالحالة البخارية عبر

عمود فصل يحتوي على وسط ساكن أو مادة صلبة فتتحرك مكوناتها بسرعات متفاوتة تبعاً لدرجة

غليانها أو ذوبانيتها أو إدمصاصها فتفصل عن بعضها البعض ويحدد التقدير الكمي لها.

الفصل الرابع

النتائج والمناقشة

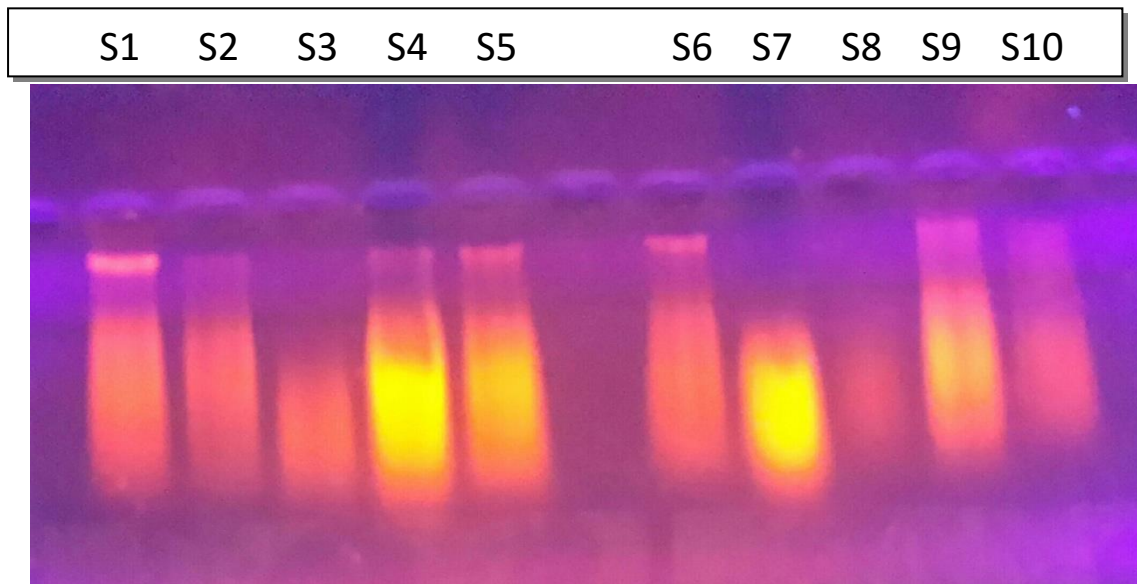
Results and Discussion

4 – النتائج والمناقشة Results and Discussion

4 – 1 الدراسة الوراثية الجزيئية Molecular genetic study

4 – 1 – 1 نتائج عزل الدنا DNA Isolation Results

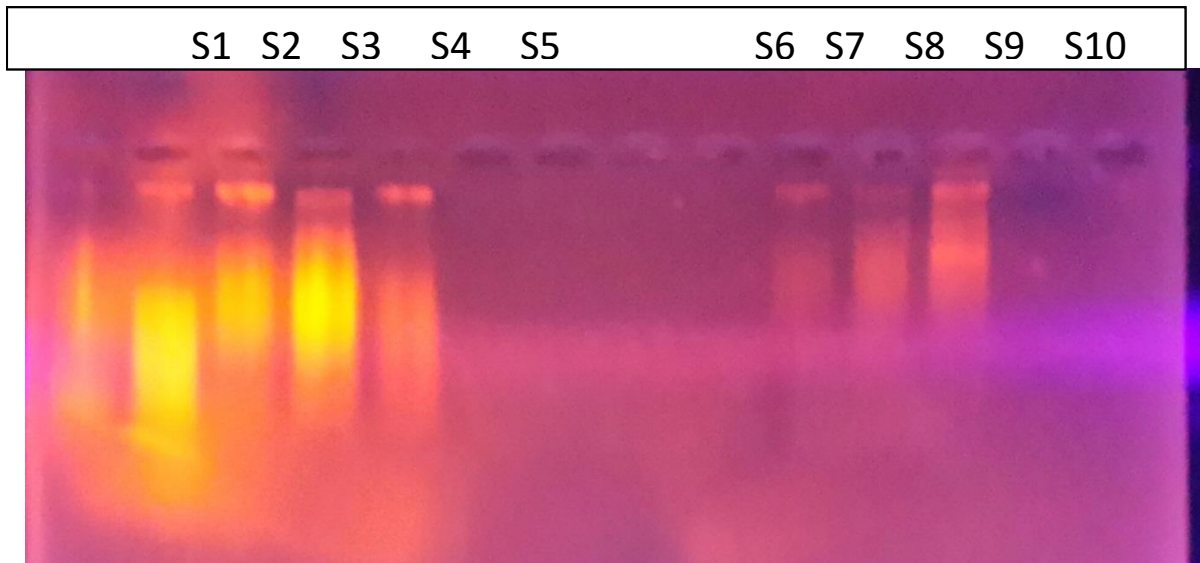
تبين الصورتان (٨ و ٩) نتائج عزل الدنا DNA من نوعين مختلفين من الذبابة الحلزونية وهما *Ch.albiceps* و *Ch.megacephala* والتي جمعت من مناطق مختلفة من وسط العراق / ديالى، بنقاوة عالية نسبياً ، إذ تراوحت نقاوة الدنا المعزول من العينات من ١,٨ إلى ٢ نانومتر، وهذه النقاوة هي المطلوبة في تفاعل أنزيم البلمرة المتسلسل PCR، إذ تم إعتقاد عدة الاستخلاص Genomic DNA Mini Kit Tissue المجهزة من شركة Bioneer في استخلاص الدنا.



صورة (٨) تبين نتائج الدنا المعزول من ذكور ذبابة الدودة الحلزونية نوع *Ch.megacephala* و إناثها والتي جمعت من وسط العراق والمرحل على هلام الاكاروز بتركيز 1% و فرق جهد 100 فولت والمصور تحت الأشعة فوق البنفسجية UV بعد التصبغ بصبغة برومايد الآثيديوم

S1 , S2 , S3 , S4 , S5 : Specimens of female *Ch.megacephala*

S6 , S7 , S8 , S9 , S10 : Specimens of male *Ch.megacephala*



صورة (٩) تبين نتائج الدنا المعزول من ذكور ذبابة الدودة الحلزونية نوع *Ch.albiceps* و إناثها والتي جمعت من وسط العراق والمرحل على هلام الاكاروز بتركيز ١% و فرق جهد ١٠٠ فولت والمصور تحت الأشعة فوق البنفسجية UV بعد التصبغ بصبغة برومايد الآثيديوم

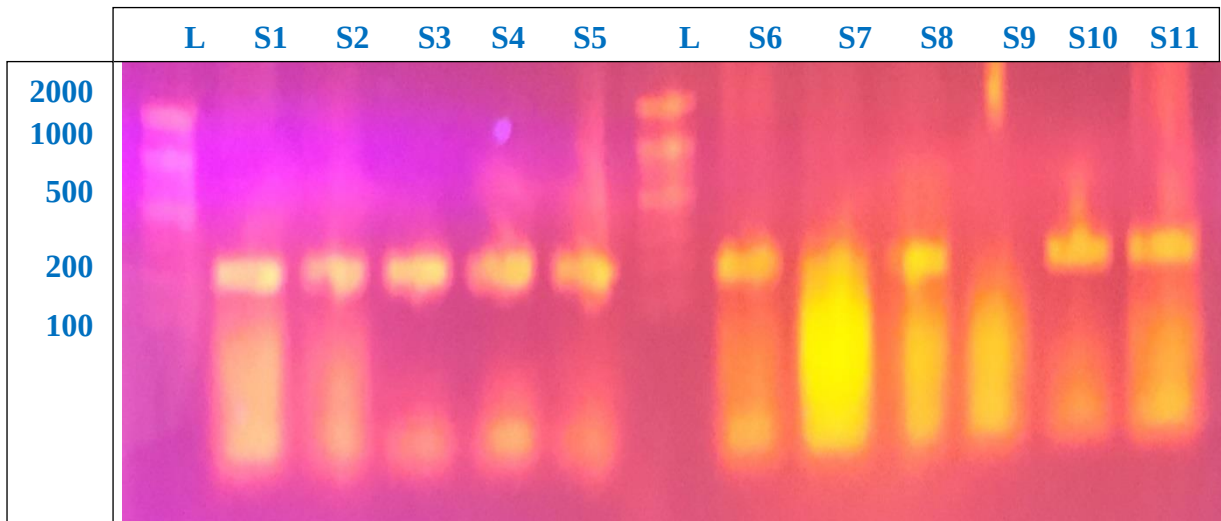
S1 , S2 , S3 , S4 , S5 : Specimens of female *Ch.albiceps*

S6 , S7 , S8 , S9 , S10 : Specimens of male *Ch.albiceps*

٤ - 1 - 2 نتائج تضخيم الجين COI من DNA الماييتوكونديا لنوعين مختلفين من الذبابة الحلزونية وهما *Ch.albecips* و *Ch.megacephala*

تبين الصورة (١٠) نتائج تضخيم الجين COI من DNA الماييتوكونديا لنوعين مختلفين من الذبابة الحلزونية *Ch.albiceps* و *Ch.megacephala* والتي جمعت من بعض مناطق وسط العراق / ديالى ، وقد أظهرت نتائج التحليل الجزيئي للحزم الناتجة من عملية الترحيل الكهربائي لنتائج تضخيم جين الماييتوكونديا COI للنوعين المختلفين للذبابة الحلزونية هو 200bp زوجاً قاعدياً ، ويتفق نتائج الترحيل مع عدد من الدراسات العالمية التي أجريت في نفس المجال ، منها الدراسة التي أجريت من

قبل Wells و Singh (2011) والتي أشار فيها الباحثان إلى علاقة النشوء والتطور بين أنواع الأجناس التابعة لعائلة الذباب الأزرق Calliphoridae من ضمنها الأنواع التابعة لجنس *Chrysomya* من خلال القيام بتضخيم ثلاثة من جينات النواة وأحد جينات الماييتوكوندرية وهو الجين CO1 وتوصل الباحثان الى ان هناك تقاربا وراثيا بين هذه الانواع وخاصة التقارب الوراثي الكبير بين النوعين *Ch.bezziana* و *Ch.megacephala* وإن هذه الأنواع منحدره من أصل واحد في شجرة التقارب والتي تمكنوا من رسمها لجميع الأنواع التابعة لعائلة الذباب الأزرق وذلك بعد دراسة التسلسل المتتابعي لجينات النواة وجين الماييتوكوندرية CO1 باستخدام تقنية الـ PCR ، من خلال مطابقة نتائج الدراسة مع التسلسلات المسجلة في بنك الجينات والتي تعود لتلك العائلة ، كما توصلوا من خلال دراستهم هذه إلى إن أنواع جنس الذبابة الحلزونية تعود إلى عائلة *Chrysomyinae* والتي تعود أنواعها إلى أصل واحد .



صورة (١٠) ناتج تضخيم الجين COI من DNA الماييتوكوندرية لنوعين مختلفين من الذبابة الحلزونية وهما *Ch.megacephala* و *Ch.albecips* والمرحل على هلام الاكاروز تركيز 1% وفرق جهد كهربائي ١٠٠ فولت ولمدة ساعة ونصف والمصور تحت الاشعة فوق البنفسجية بعد التصبغ بصبغة برومايد الاثيديوم

L : Ladder DNA (100-2000 bp)

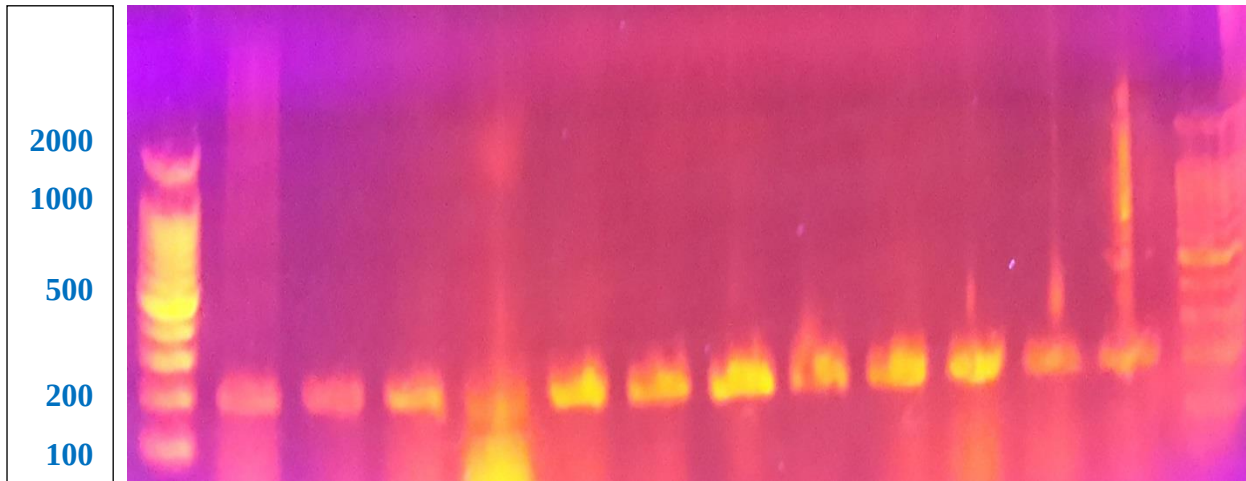
S1 , S2 , S3 , S4 , S5 : Specimens of *Ch.megacephala*

S6 , S7 , S8 , S9 , S10 , S11 Specimens of *Ch.albecips*

4 - 1 - 3 نتائج تضخيم الجين COII من DNA الماييتوكوندريا لنوعين مختلفين من الذبابة الكلزونية وهما *Ch.megacephala* و *Ch.albecips*

تبين الصورة (١١) نتائج تضخيم الجين COII من DNA الماييتوكوندريا لنوعين مختلفين من الذبابة
الكلزونية *Ch.megacephala* و *Ch.albiceps* والتي جمعت من بعض مناطق وسط العراق /
ديالى ، وقد أظهرت نتائج التحليل الجزيئي للحزم الناتجة من عملية الترحيل الكهربائي لنتائج تضخيم
جين الماييتوكوندريا COII للنوعين المختلفين للذبابة الكلزونية هو 200bp زوجاً قاعدياً ، ومن
الدراسات التي أجريت في المجال نفسه ولجين دنا الماييتوكوندريا هي الدراسة التي قامت بها Aly
وآخرون (2012) على عدة أنواع تابعة لثلاثة عوائل من ضمنها النوعين *Ch.megacephala* و
Ch.albiceps التابعين لعائلة الـ Calliphoridae باستخدام جزء من جين الماييتوكوندريا COII والذي
بلغ طوله 189bp والقيام بتضخيم هذا الجين باستخدام بواقي متخصصة وقد تبين لهم من خلال
دراستهم هذه والتي تعد الأولى من نوعها والتي تقدم بيانات جزيئية عن الأنواع ذات الأهمية الجنائية في
مصر والصين إن جين الماييتوكوندريا COII يعد أحد الجينات الرئيسية في التمييز بين أنواع الذباب
المهمة من الناحية الطبية .

L	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	L
---	----	----	----	----	----	----	----	----	----	-----	-----	-----	---



صورة (١١) ناتج تضخيم الجين COII من DNA الماييتوكوندريا لنوعين مختلفين من الذبابة الحلزونية وهما *Ch.megacephala* و *Ch.albecips* والمرحل على هلام الاكاروز تركيز 1% وفرق جهد كهربائي ١٠٠ فولت ولمدة ساعة ونصف والمصور تحت الاشعة فوق البنفسجية بعد التصبغ بصبغة برومايد الاثيديوم

L : Ladder DNA (100-2000 bp)

S1 , S2 , S3 , S4 , S5 : Specimens of *Ch.megacephala*

S6 , S7 , S8 , S9 , S10 , S11 Specimens of *Ch.albecips*

4-1-4 دراسة التسلسل التتابعي للقواعد النتروجينية

Studying of Nitrogen Bases Sequencing

تم إجراء دراسة التسلسل التتابعي للقواعد النتروجينية لـ 24 عينة من نوعين مختلفين لذبابة الدودة الحلزونية والتي جمعت من مناطق مختلفة من وسط العراق / ديالى، وقد استخدمت الطريقة المطولة في دراسة تسلسل القواعد لعينات من الجين COI و COII الموجودة في DNA المايكوندريا ، على الرغم من أنها تعد طريقة ذات تكلفة مادية عالية جداً ولكنها تعطي نتائج دقيقة جداً بالإضافة إلى ذلك فأنها تمتاز بالقدرة على الكشف عن أي تسلسل تتابعي حدث فيه تغيير (طفرة Mutation) حتى وإن كان التغيير قد حدث في قاعدة نتروجينية واحدة فقط دون الاعتماد في الحصول على نتائج جاهزة، وبعد الاطلاع على ما نشر من تسلسلات القواعد النتروجينية في البحوث والدراسات العالمية وكذلك ما نشر منها في موقع بنك الجينات العالمي الموجود في المركز الوطني لمعلومات التقانة الإحيائية الأمريكي NCBI على الانترنت كي تتم عملية المقارنة، أو المطابقة بين نتائج دراسة التسلسل النيوكليوتيدي للعينات المدروسة وما يماثلها من عينات لنفس النوع المدروس، بحيث لا توجد أي اختلافات بينها على مستوى النوع وإن عينات المطابقة هذه موجودة في بنك الجينات، وقد تم استخراج تسلسل القواعد النتروجينية باستخدام البرنامج الجاهز لتحليل نتائج التسلسل التتابعي لقواعد الجينات والمسمى Bioedit

ولأن دراسة تسلسل القواعد النتروجينية بواسطة الجهاز قد تكون في بعض الأحيان غير واضحة لدرجة كافية لذلك يتم أحيانا ترك جزء من التسلسل النيوكليوتيدي لطرفي المنطقة الجينية المدروسة، إذ يتم قراءة ونشر جميع التسلسلات الواضحة جدا والمميزة منها فقط لتقادي حدوث أي خطأ مهما كان بسيطاً وكذلك للحصول على نتائج دقيقة جداً قدر الامكان.

4-1-4-1- المقارنة بين نوعين مختلفين من الذبابة الحلزونية وهما *Ch.megacephala* و *Ch.albecips* من ناحية التسلسل التتابعى للجين CO1

تم مقارنة التسلسل التتابعى للمنطقة الجينية CO1 والموجودة في دنا المايكروندريا لنوعين مختلفين من الذبابة الحلزونية وهما *Ch.megacephala* و *Ch.albecips*، والمجموعة عيناتها من مناطق مختلفة من وسط العراق / ديالى، ولغرض إجراء المقارنة بين تسلسلات عينات النوعين لـ 4 عينات وبواقع عینتين لكل نوع في كل منطقة أولاً وكذلك إجراء عملية مطابقة مع العينات العالمية الموجودة في بنك الجينات ثانياً، لذلك أعطيت عينة *Ch.megacephala* الرمز (F1) *Ch.megacephala* و (F2) *Ch.megacephala* بالنسبة للإناث وعينة *Ch.albecips* الرمز (F1) *Ch.albecips* و (F2) *Ch.albecips*، ويمثل الشكل (1) والجدول (8) مقارنة نتائج التسلسل التتابعى بين عينات النوعين في تسلسل القواعد النتروجينية لجزء من الجين COI، إذ ترك بعضاً من تسلسلاته النيوكليوتيدية في طرفه الأيمن لأنها كانت مشوشة وغير واضحة المعالم بدرجة كافية وأخذت التسلسلات الواضحة والمميزة بدءاً من الموقع 1 إلى الموقع 684 من أجل الحصول على نتائج دقيقة قدر الإمكان وكذلك لتجنب الوقوع في الخطأ حتى ولو كان في قاعدة نتروجينية واحدة فقط، وقد تم توضيح نتائج التسلسل التتابعى لإناث نوعين مختلفين لذبابة الدودة الحلزونية إذ تبين أن عدد الطفرات لعينات النوع *Ch.megacephala* من الموقع 1 إلى الموقع 684 هي 22 طفرة استبدال و 29 طفرة حذف ، أما

لعينات النوع *Ch.albecips* فإن عدد الطفرات بلغ 148 طفرة استبدال و 328 طفرة حذف ، ونتيجة لمقارنة عينة النوع *Ch.megacephala* مع عينة النوع *Ch.albecips* عن طريق هذا العدد من الطفرات في المواقع النيوكليوتيدية وجد أن هناك تباعداً كبيراً في هذا الجين وذلك لزيادة عدد المواقع النيوكليوتيدية المستخدمة للمقارنة بين العينتين إذ وجد أنّ عدد الطفرات في عينة النوع *Ch.albecips* عددها اكبر من ناحية العدد والتي بلغ عددها 476 طفرة منها 148 طفرة استبدال و 328 طفرة حذف، بالمقارنة مع عدد الطفرات في عينة النوع *Ch.megacephala* والتي بلغ عددها 51 طفرة منها 22 طفرة استبدال و 29 طفرة حذف، وقد يعود سبب الاختلاف إلى الطفرات لأنهما نوعين مختلفين ولا يمكن حدوث تزاوج بينهما وانتاج جيل خصب قادر على التزاوج ، وإن الغرض من إجراء المقارنة بين النوعين هو لأجل توضيح ومعرفة التغيرات الوراثي بينها وبالتالي امكانية معرفة درجة التقارب الوراثي وعلاقة النشوء والتطور لهذين النوعين.

أما بالنسبة للذكور ولغرض إجراء المقارنة بين تسلسلات عينات النوعين وكذلك اجراء عملية مطابقة مع العينات العالمية الموجودة في بنك الجينات، لذلك أعطيت عينة *Ch.megacephala* الرمز (M1) *Ch.megacephala* و (M2) *Ch.megacephala* وعينة *Ch.albecips* الرمز (M1) *Ch.albecips* و (M2) *Ch.albecips*، إذ يمثل الشكل (2) والجدول (9) مقارنة نتائج التسلسل المتتابعي بين عينات النوعين في تسلسل القواعد النتروجينية لجزء من الجين COI، اذ ترك بعضا من تسلسلاته النيوكليوتيدية في طرفه الأيمن لأنها كانت مشوشة وغير واضحة المعالم بدرجة كافية وأخذت التسلسلات الواضحة والمميزة بدءاً من الموقع 1 إلى الموقع 470 وقد تم توضيح نتائج التسلسل المتتابعي لذكور النوعين من ذبابة الدودة الحلزونية فقد تبين إن عدد الطفرات للنوع *Ch.megacephala* بدءاً من الموقع 1 ولنهاية المنطقة الجينية هي 112 منها 81 طفرة استبدال و 31 طفرة حذف، أما عدد الطفرات لعينات النوع *Ch.albecips* هي 558 طفرة منها 168 طفرة

استبدال و 390 طفرة حذف، وعند مقارنة عينة النوع *Ch.megacephala* مع عينة النوع *Ch.albecips* عن طريق هذا العدد من الطفرات في المواقع النيوكليوتيدية نجد أن هناك تباعد كبير في هذا الجين وذلك لزيادة عدد المواقع النيوكليوتيدية المستخدمة للمقارنة بين العينتين إذ وجد إن عدد الطفرات للنوع *Ch.albecips* أكبر من ناحية العدد إذ بلغ عددها 558 طفرة منها 168 طفرة استبدال و 390 طفرة حذف، بالمقارنة مع عدد الطفرات التي تعود للنوع *Ch.megacephala* 112 منها 81 طفرة استبدال و 31 طفرة حذف، ومن ملاحظة النتائج نجد إن هناك تباعداً كبيراً بين ذكور النوعين *Ch.albecips* و *Ch.megacephala* في هذا الجين يفوق التباعد الذي لوحظ في إناث النوعين، وقد يعود سبب الاختلاف إلى الطفرات لأنهما نوعين مختلفين ولا يمكن حدوث تزاوج فيما بينهما وإنتاج جيل خصب، وهذا يتفق مع نتائج الدراسة العالمية التي قام بها Lessinger وآخرون (2000) خلال دراستهم على جينات دنا الماييتوكونديريا mtDNA حول دراسة الجينوم الأساسي للماييتوكونديريا في ذبابة الدودة الحلزونية للعالم الحديث *Cochliomyia hominivorax* بعد تصميم التسلسل الكامل لجينوم الماييتوكونديريا فيها وقد بلغ طول الجينوم 16022bp والذي يتوافق مع الدنا الماييتوكونديري لجميع الحشرات التي تنتمي إلى رتبة ذات القرون القصيرة Brachycera وقد توصلوا في دراستهم هذه إلى إن الحامض الأميني الثانوي السيرين يمثل شفرة البدء لتكوين البروتين بالنسبة للمنطقة الجينية COI ولكنه غير تام في شفرات الأنهاء بالنسبة للجين COII، وإن ما توصلوا إليه خلال دراستهم للتسلسل المتتابعي لهذه الحشرة استند بالدرجة الأساس إلى وجود عدد كبير من الطفرات النقطية في التسلسل النيوكليوتيدي لجيني الماييتوكونديريا COI و COII لهذه الحشرة والتي كانت من نوع الأستبدال والحذف، كما إنهم تمكنوا في دراستهم هذه إلى تحديد الطريقة التي يتم خلالها تشخيص أو تحديد مواقع على جينوم الماييتوكونديريا من خلال استخدام تقنية تباين أطوال قطع الدنا RFLP والتي تعتمد في عملها على وجود انزيمات القطع بوجود المؤشر Probe، إذ يعد تسلسل وحدات الجين COI هو التسلسل

التتابعي الأكثر شيوعاً في الوقت الحالي ونتيجة لذلك فقد أصبح هذا الجين واحد من المؤشرات الجزيئية الأكثر استخداماً في الدراسات التطورية لعلم الحشرات التطبيقي (Zhang و Hewitt ، 1996).

جدول (8) يبين مقارنة النسبة المئوية لحدوث كل من طفرة الحذف والاستبدال التابعة لإناث نوعين من الذبابة الحلزونية وهما *Ch.megacephala* و *Ch.albecips* .

اسم النوع	نوع الطفرة	عدد الطفرات	المجموع الكلي لكل تسلسل	النسبة المئوية لحدوث كل نوع من الطفرات %
<i>Ch.megacephala</i>	حذف	29	684	4.239
	استبدال	22		3.216
<i>Ch.albecips</i>	حذف	328	684	47.953
	استبدال	148		21.637

جدول (9) يبين مقارنة النسبة المئوية لحدوث كل من طفرة الحذف والاستبدال التابعة لذكور نوعين من الذبابة الحلزونية وهما *Ch.megacephala* و *Ch.albecips* .

اسم النوع	نوع الطفرة	عدد الطفرات	المجموع الكلي لكل تسلسل	النسبة المئوية لحدوث كل نوع من الطفرات %
<i>Ch.megacephala</i>	حذف	31	470	6.595
	استبدال	81		17.234
<i>Ch.albecips</i>	حذف	390	470	82.978
	استبدال	168		35.744

وقد تم حساب النسبة المئوية لحدوث الطفرات على النحو التالي :

$$\text{النسبة المئوية لحدوث الطفرات} = \frac{\text{عدد الطفرات}}{\text{المجموع الكلي لكل تسلسل}} \times 100^*$$

4-1-2 المقارنة بين نوعين مختلفين من الذبابة الحلزونية وهما *Ch.megacephala* و *Ch.albecips* مع عينتين من بنك الجينات من ناحية التسلسل التتابعي للجين CO1

تم إجراء مقارنة للتسلسل التتابعي للمنطقة الجينية CO1 الموجودة في دنا المايكوندريا mtDNA لإنات نوعين مختلفين من ذبابة الدودة الحلزونية مع عينتين من بنك الجينات، حيث يمثل الشكل (1) والجدول (10) مقارنة نتائج التسلسل التتابعي بين عينات النوعين المختلفين من الذبابة الحلزونية وعينات بنك الجينات في تسلسل القواعد النتروجينية لجزء من الجين COI، وقد تم استخدام عینتان من بنك الجينات أحدهما تعود للنوع *Ch.megacephala* والاخرى تعود للنوع *Ch.albecips*، وعند متابعة العينة الأولى والتي تعود للنوع *Ch.megacephala* من الموقع 1 الى الموقع 684 نلاحظ ان عدد الطفرات الكلي هو 12 طفرة تتكون من 4 طفرة استبدال و 8 طفرة حذف، أما عينة بنك الجينات التي تخص النوع *Ch.albecips* فإن عدد الطفرات الكلي الحاصل فيها هو 40 طفرة تتكون من 33 طفرة استبدال و 7 طفرات حذف، وبإجراء المقارنة بين عينة بنك الجينات التي تعود للنوع *Ch.megacephala* مع عينات الدراسة التي تخص إنات النوع *Ch.megacephala* من الموقع 1 إلى الموقع 684 نلاحظ حدوث عدد من طفرات الحذف والاستبدال، ففيما يخص عينة بنك الجينات التي تعود للنوع *Ch.megacephala* فيلاحظ ان عدد الطفرات الكلي هو ٥ منها ٣ طفرات حذف و ٢ طفرة استبدال، أما العينة قيد الدراسة والتي تعود للنوع *Ch.megacephala* فيلاحظ وجود ١٥ طفرة حذف و ١٧ طفرة استبدال، أما عند مقارنة عينة بنك الجينات الثانية التي تخص النوع *Ch.albecips*

مع العينات قيد الدراسة والتي تخص إناث النوع *Ch.albecips* من الموقع 1 إلى نهاية المنطقة الجينية نلاحظ حدوث عدد من الطفرات في عينة بنك الجينات وهي ١٢ طفرة مكونة من ٤ طفرة حذف و 8 طفرات استبدال، أما العينات التي تخص النوع *Ch.albecips* فحدث فيها ٢٣ طفرة حذف و ١١٠ طفرة استبدال.

أما فيما يخص الذكور فقد تم إجراء مقارنة للتسلسل التتابعي للمنطقة الجينية CO1 الموجودة في دنا الماييتوكوندريا mtDNA لذكور النوعين من ذبابة الدودة الحلزونية مع عينتين من بنك الجينات، حيث يمثل الشكل (2) والجدول (11) مقارنة نتائج التسلسل التتابعي بين عينات النوعين المختلفين من الذبابة الحلزونية وعينات بنك الجينات في تسلسل القواعد النتروجينية لجزء من الجين COI، فعند إجراء المقارنة بين عينة بنك الجينات التي تعود للنوع *Ch.megacephala* مع عينات الدراسة التي تخص ذكور النوع *Ch.megacephala* من البداية إلى الموقع ٤٧٠ حيث نلاحظ حدوث عدد من طفرات الحذف والاستبدال في عينة بنك الجينات وعددها ١٠٧ طفرة هي 4 طفرات حذف و ١٠٣ طفرة استبدال، أما العينات قيد الدراسة والتي تخص النوع *Ch.megacephala* فحدث فيها ٣٤ طفرة منها ١٠ طفرات حذف و 24 طفرة استبدال، أما عند إجراء المقارنة بين عينة بنك الجينات الثانية وعينتي النوع *Ch.albecips* من الموقع 1 ولغاية الموقع ٤٧٠ حيث نلاحظ حدوث عدد من طفرات الحذف والاستبدال في عينة بنك الجينات وعددها ٧١ طفرة منها 11 طفرة حذف و ٦٠ طفرة استبدال، أما العينات قيد الدراسة والتي تخص النوع *Ch.albecips* فحدث فيها ٣٧٤ طفرة حذف و ١٤٩ طفرة استبدال ، ومن الدراسات العلمية السابقة في هذا المجال هي الدراسة التي أجريت للتمييز بين المجتمعات السكانية لأنواع مختلفة من الحشرات التي تنتمي لرتبة غشائية الاجنحة Hymenopte من خلال دراسة التسلسل التتابعي لجين الماييتوكوندريا COI فيها ومن الدراسات الاخرى التي تتفق مع هذه الدراسة هي التي قام بها Alattal وآخرون (2014) حول دراسة الطفرات التي تحدث في المنطقة

الجينية CO1 لسلالة النحل السوري حيث اظهر تحليل التسلسل ان جميع النسخ المتنوعة تنتمي إلى الخط التطوري (O) ، وذلك بعدما قارن تسلسلات عيناته مع عينات بنك الجينات.

جدول (10) مقارنة النسب المئوية لحدوث كل من طفرة الحذف والاستبدال لإنات نوعين مختلفين من الذبابة الحلزونية وهما *Ch.megacephala* و *Ch.albecips* مع النسب المئوية لحدوث طفرات الحذف والاستبدال لعينتين من بنك الجينات وهما *Ch.megacephala* (Bank gene) و *Ch.megacephala* (Bank gene)

اسم النوع	نوع الطفرة	عدد الطفرات	المجموع الكلي لكل تسلسل	النسبة المئوية لحدوث كل طفرة %
<i>Ch.megacephala</i> (Bank gene)	حذف	3	684	0.438
	استبدال	2		0.292
<i>Ch.albecips</i> (Bank gene)	حذف	4	684	0.584
	استبدال	8		1.169
<i>Ch.megacephala</i>	حذف	15	684	2.192
	استبدال	17		2.485
<i>Ch.albecips</i>	حذف	23	684	3.362
	استبدال	110		16.081

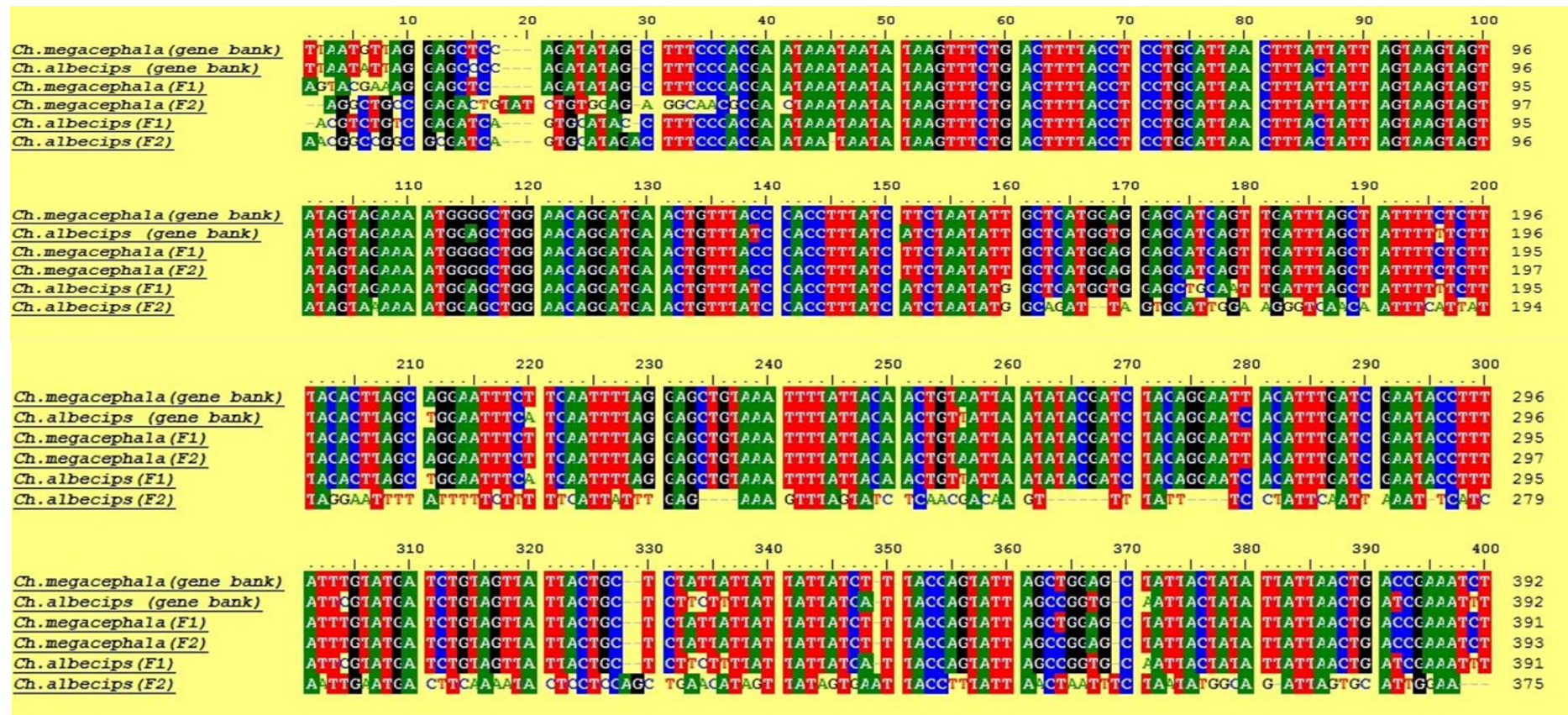
جدول (11) مقارنة النسب المئوية لحدوث كل من طفرة الحذف والاستبدال لذكور نوعين مختلفين من الذبابة الحلزونية وهما *Ch.megacephala* و *Ch.albecips* مع النسب المئوية لحدوث طفرات الحذف والاستبدال لعينتين من بنك الجينات وهما *Ch.megacephala* (Bank gene) و *Ch.megacephala* (Bank gene)

اسم النوع	نوع الطفرة	عدد الطفرات	المجموع الكلي لكل تسلسل	النسبة المئوية لحدوث كل طفرة %
<i>Ch.megacephala</i> (Bank of gene)	حذف	4	470	0.851
	استبدال	103		21.914

2.340	470	11	حذف	<i>Ch.albecips</i> (Bank of gene)
12.765		60	استبدال	
2.127	470	10	حذف	<i>Ch.megacephala</i>
5.106		24	استبدال	
79.574	470	374	حذف	<i>Ch.albecips</i>
31.702		149	استبدال	

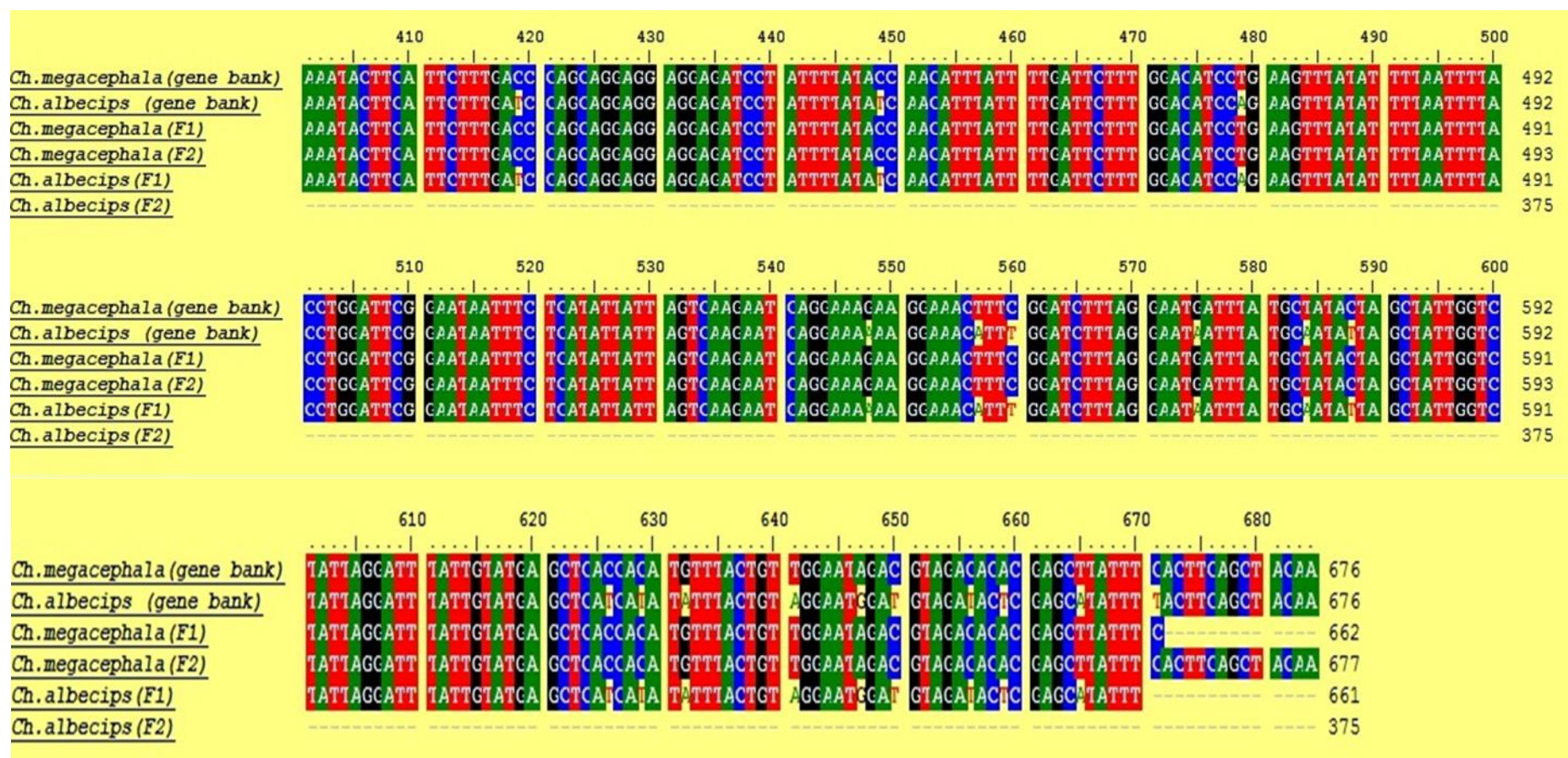
وقد تم حساب النسبة المئوية لحدوث الطفرات على النحو التالي :

$$\text{النسبة المئوية لحدوث الطفرات} = \frac{\text{عدد الطفرات}}{\text{المجموع الكلي لكل تسلسل}} \times 100^*$$



شكل (١) مقارنة رصف القواعد النروجينية Alignment لقطة من دنا المايوتوكونديريا تشمل جزءا من الجين COI بين اناث نوعين مختلفين من الذبابة

الحرزونية وهما *Ch. albecips* و *Ch. megacephala*



شكل (١) مقارنة رصف القواعد النروجينية Alignment لقطعة من دنا المايوتوكونديريا تشمل جزءا من الجين COI بين اناث نوعين مختلفين من الذبابة

الحرزونية وهما *Ch. albecips* و *Ch. megacephala*

	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100						
<i>Ch. megacephala</i> (gene bank)	GTTCTTTTAA	TGTAGGAGC	TCCACAATA	GCTTTCCAC	CAATAAATA	TATAAG	TT	TCTCACTTTT	ACCT	CCTG	CATTAACTTT	ATTIATTAGTA	96			
<i>Ch. albiceps</i> (gene bank)	GTTCTTTTAA	TATAGGAGC	CCACAATA	GCTTTCCAC	CAATAAATA	TATAAG	TT	TCTCACTTTT	ACCT	CCTG	CATTAACTTT	ACTIATTAGTA	96			
<i>Ch. megacephala</i> (M1)		AG	TCTAGGAGC	TCCACAATA	GCTTTCCAC	CAATAAATA	TATAAG	TT	TCTCACTTTT	ACCT	ACCTG	CATTAACTTT	ATTIATTAGTA	88		
<i>Ch. megacephala</i> (M2)		AGTCTGG	TAGCG	AGC	TCTATCAATA	GCTTTCCAC	CAATAAATA	TATGAGTTT	ACTCACTTTT	ACCTACCTG	CATTAACTTT	ATTIATTAGTA	95			
<i>Ch. albiceps</i> (M1)		TTTCTCA	CGATA	C	GCAAGTTAA	ATCGTCCAC	CAATAAATA	TATAAG	GCTT	TCTCACTTTT	ACCTACCTG	CATTAACTTT	ACTIATTGTA	93		
<i>Ch. albiceps</i> (M2)	TTATCATG	CGATTACTGC	ATTGCATTCA	GCTTTTACAC	T	CCATACA	CTTAAG		ATCAATTCT	TCCA	CTG	AATTIA	TTT	ACTIAT	AATC	87
	110	120	130	140	150	160	170	180	190	200						
<i>Ch. megacephala</i> (gene bank)	AGTAGIATAG	TACAAAATGG	GGCTGCAACA	GCATCAACTG	TTIATCCACC	TTIATCTTCT	AAIATGGC	ATGCAGCAGC	ATCAGTTCAT	TTAGCTATTT	196					
<i>Ch. albiceps</i> (gene bank)	AGTAGIATAG	TACAAAATGG	AGCTGCAACA	GCATCAACTG	TTIATCCACC	TTIATCATCT	AAIATGGC	ATGGTGCAGC	ATCAGTTCAT	TTAGCTATTT	196					
<i>Ch. megacephala</i> (M1)	AGTAGIATAG	TACAAAATGG	GGCTGCAACA	GCATCAACTG	TTIATCCACC	TTIATCTTCT	AAIATGGCAC	ATCAAGCAAC	TGCAATTCAT	TTAGCTATTT	188					
<i>Ch. megacephala</i> (M2)	AGTAGIATAG	TACAAAATGG	GGCTGCAACA	GCATCAACTG	TTIATCCACC	TTIATCTTCT	AAIATGGCAC	ATCAAGCAAC	TGCAATTCAT	TTAGCTATTT	195					
<i>Ch. albiceps</i> (M1)	AGTAGIATAG	TACAAAATGG	AGCTGCAACA	GCATCAACTG	TTIATCCACC	TTIATCATCT	AAIATGGCAC	AT	TAGGC	ATTGGA						178
<i>Ch. albiceps</i> (M2)	TTTAAATAA	GCTCTCATGT	GGTTGCGTTA	ATAAGSCATA	TAAATSCATT	GTATCATCT	AAIATGGCAT	GT	TATTGC	ATTGGAAGGG	TCAATCATTT					185
	210	220	230	240	250	260	270	280	290	300						
<i>Ch. megacephala</i> (gene bank)	TCTCTTIACA	CTIAGCA	GCAATTTCTT	CAATTTIAGG	AGCTGIAAAT	TTT	ATTIAC	AACTGIAATT	AAIATACCAT	CTACAGGAT	TA	CATTTG	289			
<i>Ch. albiceps</i> (gene bank)	TCTCTTIACA	CTIAGCT	GCAATTTCTT	CAATTTIAGG	AGCTGIAAAT	TTT	ATTIAC	AACTGTIATT	AAIATACCAT	CTACAGGAT	CA	CATTTG	289			
<i>Ch. megacephala</i> (M1)	TCTCTTIACA	CTIAGCA	GCAATTTCTT	CAATTTIAGG	AGCTGIAAAT	TTT	ATTIAC	AACTGIAATT	AAIATGCCAG	ATTTCGAT	TT	TAAATG	280			
<i>Ch. megacephala</i> (M2)	TCTCTTIACA	CTIAGCA	GCAATTTCTT	CAATTTIAGG	AGCTGIAAAT	TTT	ATTIAC	AACTGIAATT	AAIATGCCAG	ATTATTGCAT	TG	CAAATG	288			
<i>Ch. albiceps</i> (M1)													178			
<i>Ch. albiceps</i> (M2)	CATTATTAGG	AATTTIATTT	TTCTTTTCA	TTATTTTACA	AAGTTTAA	TCTCAACGAC	AACTTTIATT	TCCTATTCAA	TIAATTCAT	CAATTCAATG			285			
	310	320	330	340	350	360	370	380	390	400						
<i>Ch. megacephala</i> (gene bank)	ATCGATAACC	TTTATTGTGA	TGATCTGTAG	TTATTACTGC	TCTATTATTA	TTATTATCTT	TACCAGTATT	AGCTGCACCT	ATTACTATAT	TATTAACTGA	389					
<i>Ch. albiceps</i> (gene bank)	ATCGATAACC	TTTATCTSTA	TGATCTGTAG	TTATTACTGC	TCTTCTTTTA	TTATTATCTT	TACCAGTATT	AGCCGGTGCA	ATTACTATAT	TATTAACTGA	389					
<i>Ch. megacephala</i> (M1)	ATTACA:AAAT	ACTCCATCAG	CTCAACGAG	CTATAATCAA	TTACCTTTIAT	TAACTAACTT	CTAATATGGC	ACATTAAATGC	ATTGGAAGCA	AATTAACTGA	380					
<i>Ch. megacephala</i> (M2)	ATTGCATAAT	ACTCCATCAA	CTCAACACAG	CTATACTCAA	TTACCTTTIAT	TAACTAACTT	CTAATATGGC	ACATTAAATGC	ATTGGAAGCA	AAATTAAGTGT	388					
<i>Ch. albiceps</i> (M1)											178					
<i>Ch. albiceps</i> (M2)	AATTCATAAT	ACTCCTCCAG	CTCAACCTAG	TTATACTCAA	TTACCTTTIAT	TAACTAACTT	CTAATATGGC	ACATTAACTGC	ATTGGA			372				

شكل (٢) مقارنة رصف القواعد النروجينية Alignment لقطعة من دنا المايكوكوندريا تشمل جزءا من الجين COI بين ذكور نوعين مختلفين من الذبابة

الحرزونية وهما *Ch.albiceps* و *Ch.megacephala*

	410	420	430	440	450	460	470	
<i>Ch. megacephala</i> (gene bank)	CCGAAATCTA	AATACTTCAT	TCTTTCATCC	AGCAGCAGCA	GGAGATCCTA	TTTTATATCA	ACATTIATTT	459
<i>Ch. albiceps</i> (gene bank)	TCCAAATTTA	AATACTTCAT	TCTTTCATCC	AGCAGCAGCA	GGAGATCCTA	TTTTATATCA	ACATTIATTT	459
<i>Ch. megacephala</i> (M1)	CCGAAATCTA	AATACTTCAT	TCTTTCACCC	AGCAGCAGCA	GGAGATCCTA	TTTTATATCA	ACATTIATTT	450
<i>Ch. megacephala</i> (M2)	TTTATTCTCA	AATTTTTCAT	TCTTACACAA	AGCCAGCAGCA	GGTCATCCTA	TTTTATATCT	ACATTIATTT	457
<i>Ch. albiceps</i> (M1)								178
<i>Ch. albiceps</i> (M2)								372

شكل (2) مقارنة رصف القواعد النتروجينية Alignment لقطعة من دنا المايكوكوندريا تشمل جزءا من الجين COI بين ذكور نوعين مختلفين من الذبابة الحلزونية وهما *Ch.albiceps* و *Ch.megacephala*

4-1-4-3- المقارنة بين نوعين مختلفين من الذبابة الحلزونية وهما *Ch.megacephala* و *Ch.albecips* من ناحية التسلسل التتابعي للجين COII

تمّت مقارنة التسلسل التتابعي للجين COII الموجود في دنا الماييتوكونديريا mtDNA بين نوعين مختلفين من الذبابة الحلزونية وهما *Ch.megacephala* و *Ch.albecips*، إذ تحتاج عملية المقارنة بين تسلسلات عينات النوعين خلال الدراسة الى إعطاء عينة النوع *Ch.megacephala* الرمز (F1) و *Ch.megacephala* (F2) بالنسبة للإناث وعينة النوع *Ch.albecips* الرمز (F1) و *Ch.albecips* (F2)، فمن ملاحظة الشكل (3) مقارنة نتائج التسلسل التتابعي بين عينات النوعين في تسلسل القواعد النتروجينية لجزء من الجين COII، إذ أخذت التسلسلات الواضحة والمميزة له بدأ من الموقع 1 الى الموقع 173 للمحافظة على دقة النتائج علاوة على تجنب الوقوع في أي خطأ، وقد تبين أنّ عدد الطفرات لعينات النوع *Ch.megacephala* من الموقع 1 الى الموقع 173 هي 21 طفرة منها 11 طفرة حذف و 10 طفرات استبدال، أما عينات النوع *Ch.albecips* فعدد الطفرات فيها بلغ 27 طفرة منها 8 طفرة حذف و 19 طفرة استبدال، ونلاحظ حدوث تطابق لعينات النوع *Ch.megacephala* و النوع *Ch.albecips* من الموقع 10 إلى الموقع 170 ما عدا بعض المواقع، من هذا يمكن القول إن هناك تقارباً وراثياً بين إناث النوعين *Ch.megacephala* و *Ch.albecips*.

أما بالنسبة للذكور ولكي تتم المقارنة بين تسلسلات عينات النوعين وكذلك أجراء عملية مطابقة مع العينات العالمية الموجودة في بنك الجينات، لذلك أعطيت عينة *Ch.megacephala* الرمز (M1) و *Ch.megacephala* (M2) وعينة *Ch.albecips* الرمز (M1) و *Ch.albecips* (M2)، حيث يمثل الشكل (4) مقارنة نتائج التسلسل التتابعي بين عينات النوعين في تسلسل القواعد النتروجينية لجزء من الجين CO1، إذ ترك بعضاً من تسلسلاته النيوكليوتيدية في طرفه الأيمن لأنها كانت مشوشة وغير واضحة المعالم بدرجة كافية وأخذت

التسلسلات الواضحة والمميزة بدءاً من الموقع 1 إلى الموقع 170 إذ تم توضيح نتائج التسلسل
التتابعي لذكور النوعين من ذبابة الدودة الحلزونية فقد تبين إن عدد الطفرات للنوع
Ch.megacephala بدءاً من الموقع 1 إلى الموقع 170 هي 26 طفرة منها 20 طفرة استبدال و 6
طفرة حذف ، أما عدد الطفرات لعينات النوع *Ch.albecips* هي 14 طفرة منها 12 طفرة استبدال و
2 طفرة حذف، إذ نلاحظ إن هناك تباعداً وراثياً بين ذكور النوعين من الذبابة الحلزونية
Ch.megacephala و *Ch.albecips*، وإن نتائج هذه الدراسة تتفق مع الدراسة التي أجراها
Chong وآخرون (2014) لتحليل نتائج تضخيم منطقتين جينيتين في دنا الماييتوكوندرية وهما CO1
و CO11 للذبابة الحلزونية نوع *Ch.megacephala* التي تم جمع عيناتها من خمسة مناطق
جغرافية مختلفة في ماليزيا، إذ كان طول التسلسل التتابعي والنتائج عن ترانصف نيوكليوتيدات عينات
الحشرة من المناطق الخمسة في تلك الدراسة هو 1240bp زوجاً قاعدياً للجين COI و 1140bp
زوجاً قاعدياً للجين COII، وتم إيداع التسلسلات الناتجة من تلك الدراسة في بنك الجينات، وقد
توصلوا خلال هذه الدراسة إلى إن انتظام التسلسلات المتعددة للتتابعات النيوكليوتيدية في الجينين
CO1 و CO11 للذبابة الحلزونية نوع *Ch.megacephala* في تلك الدراسة أظهر التسلسل
النيوكليوتيدي في اثنين من المواقع وهما 952 و 1120، كما توصلوا خلال دراستهم هذه إلى حدوث
استبدال للقواعد النروجينية في كلا الموقعين، حيث حدث استبدال للساييتوسين مع الثايمين وللکوانين
مع الادنين على التوالي.

جدول (12) يبين مقارنة النسبة المئوية لحدوث كل من طفرة الحذف والاستبدال التابعة لإناث نوعين من الذبابة الحلزونية وهما *Ch.megacephala* و *Ch.albecips* .

اسم النوع	نوع الطفرة	عدد الطفرات	المجموع الكلي لكل تسلسل	النسبة المئوية لحدوث كل نوع من الطفرات %
<i>Ch.megacephala</i>	حذف	11	173	6.358
	استبدال	10		5.780
<i>Ch.albecips</i>	حذف	8	173	4.624
	استبدال	19		10.982

جدول (13) يبين مقارنة النسبة المئوية لحدوث كل من طفرة الحذف والاستبدال التابعة لذكور نوعين من الذبابة الحلزونية وهما *Ch.megacephala* و *Ch.albecips* .

اسم النوع	نوع الطفرة	عدد الطفرات	المجموع الكلي لكل تسلسل	النسبة المئوية لحدوث كل نوع من الطفرات %
<i>Ch.megacephala</i>	حذف	6	170	3.529
	استبدال	20		11.764
<i>Ch.albecips</i>	حذف	2	170	1.176
	استبدال	12		7.058

4-4-1-4 المقارنة بين نوعين مختلفين من الذبابة الحلزونية وهما *Ch.megacephala* و

Ch.albecips مع عينتين من بنك الجينات من ناحية التسلسل التتابعي للجين COII

اجريت مقارنة التسلسل التتابعي للمنطقة الجينية COII الموجودة في دنا الماييتوكوندريا mtDNA

لنوعين مختلفين من إناث الذبابة الحلزونية مع عينتين من بنك الجينات، ولكي نقوم بإجراء المقارنة

بين تسلسلات عينات النوعين مع عينات بنك الجينات، ويمثل شكل (3) وجدول (14) مقارنة نتائج

التسلسل التتابعي بين عينات النوعين في تسلسل القواعد النيتروجينية لجزء من الجين COII مع

عينتين من بنك الجينات، وقد تمَّ استخدام عينتين من بنك الجينات أحدهما تعود للنوع

Ch.megacephala والآخرى تعود للنوع *Ch.albecips*، وعند متابعة العينة الأولى والتي تعود للنوع *Ch.megacephala* من الموقع 1 الى الموقع 173 نلاحظ إن عدد الطفرات الكلي هو 6 طفرات تتكون من طفرة حذف واحدة و 5 طفرات استبدال، أما عينة بنك الجينات التي تخص النوع *Ch.albecips* فإن عدد الطفرات الكلي الحاصل فيها هو 6 طفرات تتكون من 5 طفرات استبدال و طفرة حذف واحدة ، وعند إجراء المقارنة بين عينة بنك الجينات التي تعود للنوع *Ch.megacephala* مع عينات الدراسة التي تخص إناث النوع *Ch.megacephala* من الموقع 1 إلى الموقع 173 نلاحظ حدوث تطابق بين العينتين، ما عدا بعض المواقع التي تضمنت حدوث عدد من طفرات الحذف والاستبدال في عينة بنك الجينات وعددها الكلي هو 8 طفرات استبدال فقط (لا توجد طفرات حذف)، أما عيني الدراسة التي تخص النوع *Ch.megacephala* فنلاحظ حدوث عدد من الطفرات عددها الكلي 19 طفرة مكونة من 8 طفرات استبدال و 11 طفرة حذف، أما عند مقارنة عينة بنك الجينات الثانية التي تخص النوع *Ch.albecips* مع العينات قيد الدراسة والتي تخص إناث النوع *Ch.albecips* من الموقع 1 إلى الموقع 173 نلاحظ حدوث تطابق بين العينتين ما عدا بعض المواقع والتي تتمثل بحدوث عدد من الطفرات في عينة بنك الجينات وهي 6 طفرات مكونة من طفرة حذف واحدة و 5 طفرات استبدال، أما العينات التي تخص النوع *Ch.albecips* فحدث فيها 22 طفرة تتكون من 7 طفرات حذف و 15 طفرة استبدال.

أما بالنسبة للذكور فقد تم إجراء مقارنة للتسلسل التتابعي للمنطقة الجينية COII الموجودة في دنا الماييتوكوندرية mtDNA للذكور النوعين من الذبابة الحلزونية مع عينتين من بنك الجينات، حيث يمثل الشكل (4) جدول (15) مقارنة نتائج التسلسل التتابعي بين عينات النوعين المختلفين من الذبابة الحلزونية وعينات بنك الجينات في تسلسل القواعد النروجينية لجزء من الجين COII، فعند إجراء المقارنة بين عينة بنك الجينات التي تعود للنوع *Ch.megacephala* مع عينات الدراسة التي تخص

ذكور النوع *Ch.megacephala* من الموقع 1 إلى الموقع 170 إذ نلاحظ حدوث تطابق بين العينتين، فيما عدا بعض المواقع نلاحظ حدوث عدد من طفرات الحذف والاستبدال في عينة بنك الجينات وعددها 18 طفرة استبدال فقط (لا توجد طفرات حذف)، أما العينات قيد الدراسة والتي تخص النوع *Ch.megacephala* فحدث فيها 18 طفرة منها 6 طفرات حذف و 12 طفرة استبدال، أما عند إجراء المقارنة بين عينة بنك الجينات الثانية وعينتي النوع *Ch.albecips* من الموقع 1 إلى الموقع 170 إذ نلاحظ حدوث تطابق بين العينتين، فيما عدا بعض المواقع نلاحظ حدوث عدد من طفرات الحذف والاستبدال في عينة بنك الجينات وعددها 12 طفرة استبدال فقط (لا توجد طفرات حذف)، أما العينات قيد الدراسة والتي تخص النوع *Ch.albecips* فحدث فيها 12 طفرة منها 2 طفرة حذف و 10 طفرات استبدال، وإن نتائج دراستنا الحالية تتفق مع الدراسة التي أجراها Ready وآخرون (2009) عند دراستهم جينات دنا النواة وجينات دنا المايكوندريا لذبابة الدودة الحلزونية ومن ضمنها جين دنا النواة *White gene* وذلك باستخدام تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل ، وكانت نتائج دراستهم حول هذا الجين الموجود في دنا نواة هذه الحشرة تشير إلى وجود 9 من مواقع النيوكليوتيدات الـ 577 في هذا الجين كانت مطابقة لجميع الجينات المرادفة لها في بنك الجينات.

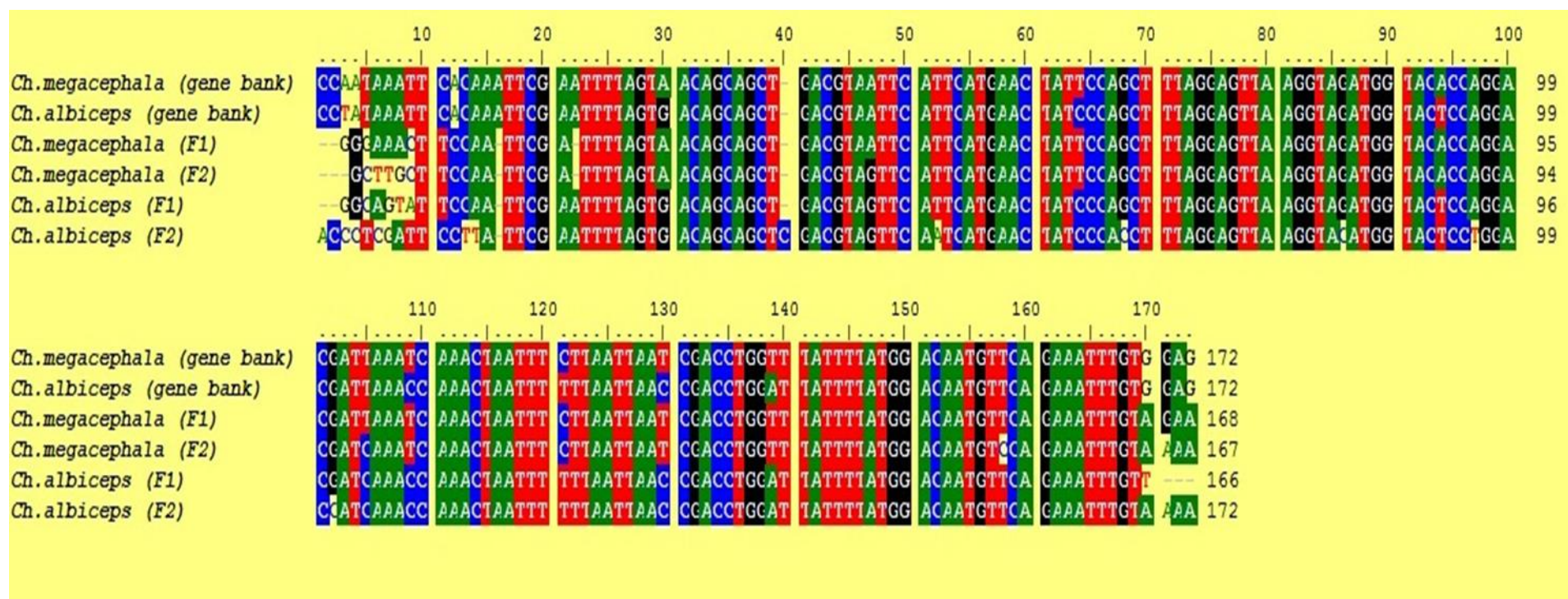
جدول (14) مقارنة النسب المئوية لحدوث كل من طفرة الحذف والاستبدال لإناث نوعين مختلفين من الذبابة الحلزونية وهما *Ch.megacephala* و *Ch.albecips* مع النسب المئوية لحدوث طفرات الحذف والاستبدال لعينتين من بنك الجينات وهما *Ch.megacephala* (Bank gene) و *Ch.megacephala* (Bank gene)

اسم النوع	نوع الطفرة	عدد الطفرات	المجموع الكلي لكل تسلسل	النسبة المئوية لحدوث كل طفرة %
<i>Ch.megacephala</i> (Bank of gene)	حذف	0	173	0
	استبدال	8		4.624

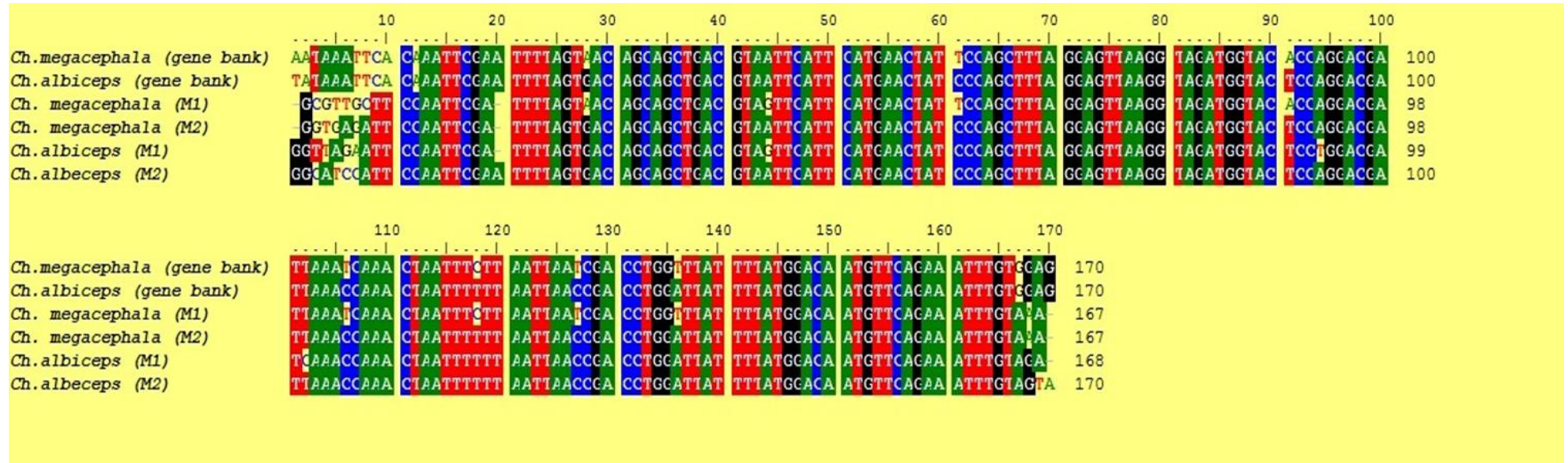
0.578	173	1	حذف	<i>Ch.albecips</i> (Bank of gene)
2.890		5	استبدال	
6.358	173	11	حذف	<i>Ch.megacephala</i>
4.624		8	استبدال	
4.046	173	7	حذف	<i>Ch.albecips</i>
8.670		15	استبدال	

جدول (15) مقارنة النسب المئوية لحدوث كل من طفرة الحذف والاستبدال لذكور نوعين مختلفين من الذبابة الحلزونية وهما *Ch.albecips* و *Ch.megacephala* مع النسب المئوية لحدوث طفرات الحذف والاستبدال لعينتين من بنك الجينات وهما *Ch.megacephala* (Bank gene) و *Ch.albecips* (Bank gene)

النسبة المئوية لحدوث كل طفرة %	المجموع الكلي لكل تسلسل	عدد الطفرات	نوع الطفرة	اسم النوع
0	170	0	حذف	<i>Ch.megacephala</i> (Bank of gene)
10.588		18	استبدال	
0	170	0	حذف	<i>Ch.albecips</i> (Bank of gene)
7.058		12	استبدال	
3.529	170	6	حذف	<i>Ch.megacephala</i>
7.058		12	استبدال	
1.176	170	2	حذف	<i>Ch.albecips</i>
5.882		10	استبدال	



شكل (٣) مقارنة رصف القواعد النروجينية Alignment لقطعة من دنا الماييتوكونديريا تشمل جزءا من الجين COII بين اناث نوعين مختلفين من الذبابة الحلزونية وهما *Ch. albiceps* و *Ch. megacephala*



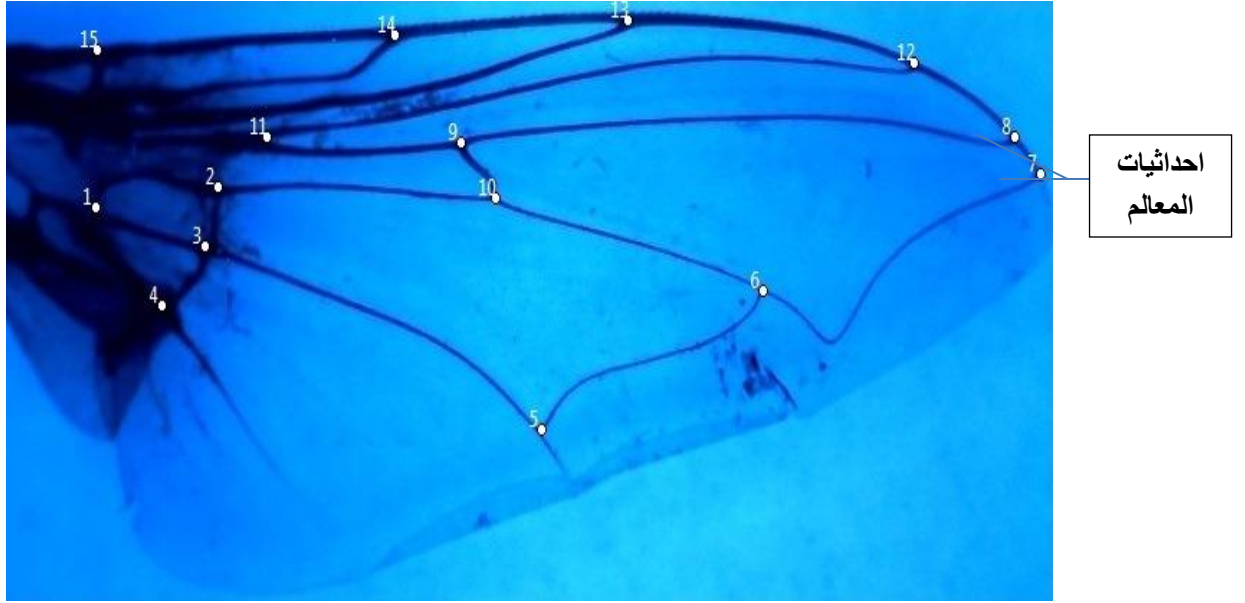
شكل (٤) مقارنة رصف القواعد النروجينية Alignment لقطعة من دنا الماييتوكونديريا تشمل جزءا من الجين COII بين ذكور نوعين مختلفين من الذبابة الحلزونية وهما *Ch. albiceps* و *Ch. megacephala*

4 – 2 الدراسة الوراثية الكمية Quantitative genetic study

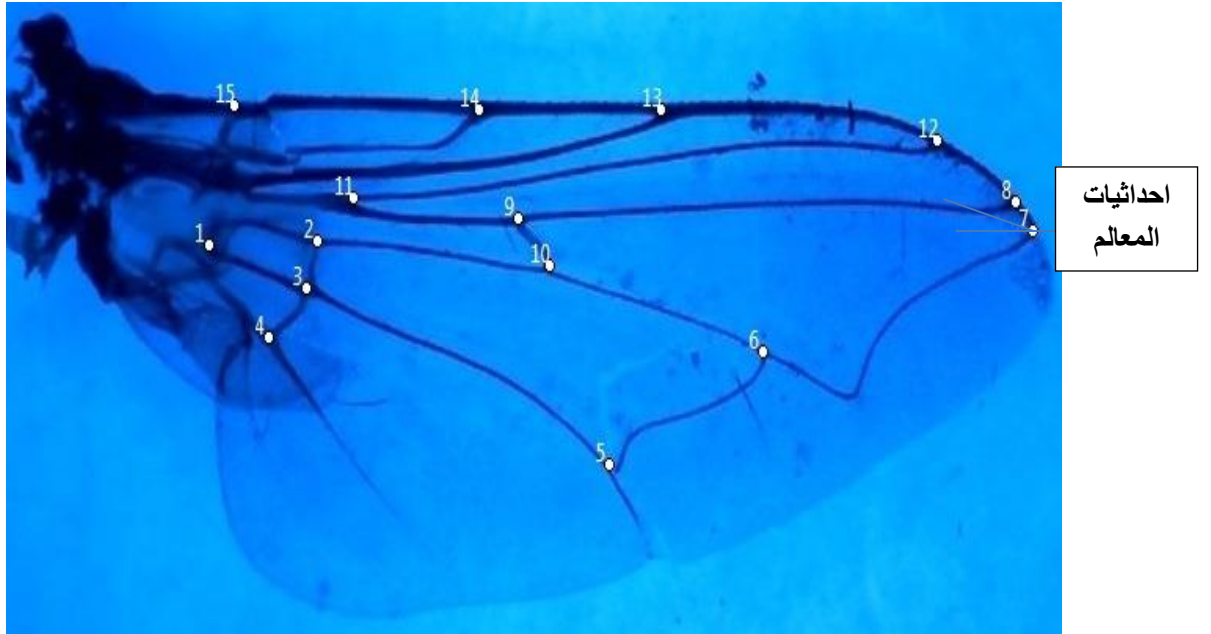
٤ – ٢ – ١ دراسة التغيرات الوراثي الكمي في شكل الجناح وحجمه بين ذكور نوعين من الذبابة
الحلزونية *Chrysomya albiceps* و *Chrysomya megacephala* باستعمال المقياس الهندسي
للشكل المظهر للجناح Geometric Morphometric of Wing

لقد تناولت هذه الدراسة الجانب الوراثي الكمي فضلاً عن دراسة الجانب الوراثي الجزيئي المبينة مسبقاً
حيث تم دراسة التغيرات الوراثي لشكل وحجم الجناح في ذكور وإناث نوعين من الذبابة الحلزونية التي
جمعت عيناتها من أجزاء مختلفة من محافظة ديالى ، وذلك باستخدام المقياس الهندسي لشكل الجناح
وحجمه ؛ إذ إنّ هذا النظام يعتمد بالدرجة الأساس على تثبيت إحداثيات للمعالم Landmark
coordinate بين تقاطعات العروق الطولية مع العروق المستعرضة لجناح الحشرة وبواسطة تلك
المعالم يتم حساب الحجم المركزي لكل جناح.

ومما تجدر الإشارة إليه أنّ هذه الدراسة تُعدّ الأولى من نوعها في العراق التي استخدم فيها المقياس
الهندسي لشكل الجناح وحجمه للكشف عن التغيرات الوراثي Genetic Variation بين نوعين من
الذبابة الحلزونية، وإن هذه الدراسة تُعدّ مكملة للدراسة الوراثية الجزيئية للنوعين، توضح الصورتان
(٢١و) الجناح الأيمن لذكور نوعين من الذبابة الحلزونية والتي جمعت من وسط العراق / ديالى مثبت
عليها إحداثيات المعالم بين تقاطعات العروق الطولية مع العروق المستعرضة ونهايات العروق الطولية،
إذ تمت المقارنة خلال هذه الدراسة بين الذكور التابعة للنوعين بواسطة تحليل المركبات الأساسية
Principal Component Analysis، كما أُجريت المقارنة أيضاً بين النوعين بواسطة التحليل
التمييزي وبالاتماد على الحجم المركزي للجناح.



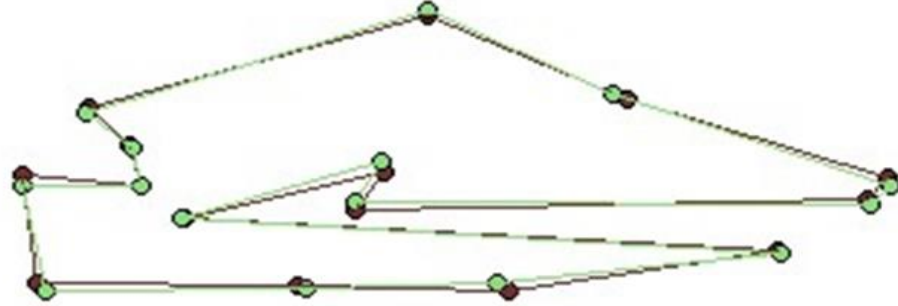
صورة (١٢) الجناح الايمن لذكر الذبابة الحلزونية *Ch. megacephala* موضحا عليه احداثيات المعالم والتي عددها 15 معلم ، قوة التكبير 45X



صورة (١٣) الجناح الايمن لذكر الذبابة الحلزونية *Ch. albiceps* موضحا عليه احداثيات المعالم والتي عددها 15 معلم ، قوة التكبير 45X

يوضح الشكل (5) معدل إحداثيات المعالم لـ 15 جناحاً أيمن لذكور كلا النوعين من الذبابة الحلزونية، إذ يمثل اللون البني معدل إحداثيات المعالم لـ 15 جناحاً أيمن لذكور الذبابة الحلزونية التابعة للجنس *Ch. megacephala*، أما اللون الأخضر فيمثل معدل إحداثيات المعالم لـ 15 جناحاً أيمن لذكور الذبابة الحلزونية التابعة للجنس *Ch. albiceps*، وعند إجراء المقارنة بين الأجنحة باستخدام نظام المقياس الهندسي لشكل الجناح وحجمه عن طريق وحدة MOG التي توجد ضمن محتويات البرنامج الجاهز المتاح على الموقع الإلكتروني <http://www.mpl.ird.morphometric>: وكما موضح في الشكل أعلاه نلاحظ أن أجنحة الذكور التابعة للنوعين من الذبابة الحلزونية غير متطابقة في غالبية المعالم ما عدا المعالم (1,2,3,8,9) كانت متطابقة بين أجنحة كلا النوعين ويرجع السبب في عدم التطابق في غالبية المعالم يرجع إلى كونهما نوعين مختلفين.

وتتفق نتائج دراستنا الحالية مع الدراسة التي أجراها Sonting وآخرون (2017) عند استخدامهم للمقياس الهندسي لشكل الجناح وحجمه وذلك لفصل الأنواع التي تنتمي إلى جنس *Chrysomya* و *Lucilia* و *Hemipyrella* والتي تم جمعها من عدة مواقع من تايلاند للفترة من 2013-2014 حيث قارنوا خلال دراستهم هذه بين الأجنحة اليمنى والمثبتة بواسطة اضافة قطرة من وسط تثبيت Permonut على شريحة مجهر وقد توصل الباحثون خلال دراستهم هذه إلى عدم تطابق المعالم المثبتة على الأجنحة بين الأنواع التي تعود كل جنس من الأجناس الثلاثة قيد الدراسة وبهذا فقد توصلوا خلال هذه الدراسة إلى إن استخدام المقياس الهندسي لشكل الجناح يعد طريقة مناسبة للفصل بين الأنواع بالإضافة إلى التمييز الجنسي، كما إنهم اثبتوا إن التطابق المورفولوجي لشكل وحجم الجناح في دراستهم هذه وشجرة التطور الجزيئي في الدراسات السابقة يعد أداة قيمة في علم التصنيف والنظام.



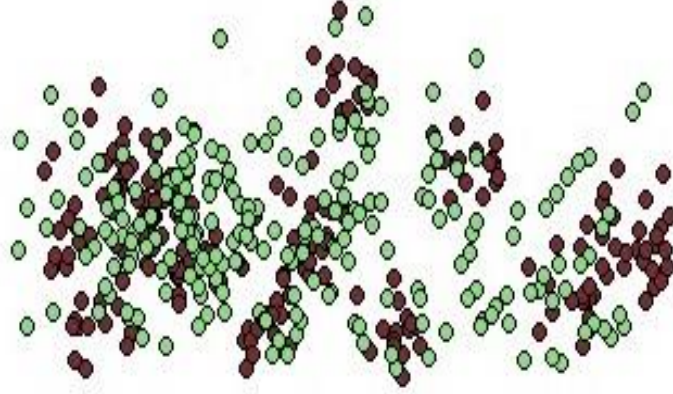
من $-0,096$ الى $0,166$ =Y من $-0,313$ الى $0,442$ =X

شكل (٥) معدل إحداثيات المعالم للجنح الأيمن لذكور نوعين مختلفين من الذبابة الحلزونية والتي عددها ١٥ معلم لكل جناح ، يمثل اللون البني واللون الأخضر في الشكل عينات الذبابة الحلزونية ولكلا النوعين *Ch.albiceps* و *Ch.mehacephala* على التوالي.

أما عند ملاحظة الشكل الانتشاري لتوزيع ذكور نوعين مختلفين من الذبابة الحلزونية على طول التحليلين العاملين الأول والثاني PCs لإحداثيات فضاء الظل المشتقة من إحداثيات المعالم الأصلية لكل جناح المبين بالشكل (٦) والذي يوضح طريقة توزيع ذكور حشرة الذبابة الحلزونية المجموعة عيناتها من مناطق مختلفة من محافظة ديالى من خلال تحليل المركبات الأساسية لإحداثيات المعالم المثبتة على الأجنحة اليمنى بين تقاطعات العروق الطولية مع العروق المستعرضة ونهايات العروق الطولية وعدد هذه المعالم هي ١٥ معلم لكل جناح، إذ تمثل النقاط باللون البني عينات الذبابة الحلزونية التابعة للنوع *Ch.megacephala* والنقاط ذات اللون الأخضر فتمثل عينات الذبابة الحلزونية التابعة للنوع *Ch.albiceps* ومن ملاحظة الطريقة التي توزعت بها العينات في الشكل أعلاه نجد إن هناك نقاط متطابقة تقريباً أو متطابقة أحياناً مع بعضها، وهناك نقاط متباعدة فالتطابق بين هذه النقاط يشير

إلى عدم وجود تباير أو وجود تباير بسيط في شكل وحجم الأجنحة للنوعين من الذبابة الحلزونية التي تمثلها النقاط، والنقاط المتباعدة في الشكل تعني وجود تباير في شكل وحجم الجناح لعينات النوعين المختلفين التي تمثلها النقاط، وسبب التباير هذا يعود إلى كون النوعين مختلفين، ومن الدراسات المماثلة للدراسة الحالية هي الدراسة التي قام بها Mondal وآخرون (٢٠١٥)، باستخدام نظام المقياس الهندسي المعتمد على المعالم لشكل الجناح للمقارنة بين أنواع معينة لحشرة البعوض من جنس *Ades* ومن خلال تحليل المركبات الأساسية Principal Component Analysis واستخدام الحجم المركزي للجناح Centroid Size كمقياس لمعرفة الاختلافات ، فقد توصل إلى وجود اختلافات كبيرة بين المجتمعات المدروسة من حيث شكل الجناح، ومن الدراسات العالمية العديدة أيضاً في هذا المجال هي الدراسة التي أجراها Casper وآخرون (٢٠١٠) باستخدام نظام المقياس الهندسي لدراسة التباير في شكل جناح الفراشة وحجمه *Parage.aegeria* (Linn.) وتأثير اختلاف العوامل البيئية في تطورها؛ إذ توصل الباحثون من خلال الدراسة التي أجروها بالاعتماد على البرامج الجاهزة التي تحلل المعالم وتحولها إلى أرقام مقارنة للنتائج المطلوبة بنسبة كبيرة جداً إلى إن هناك تبايراً في ٤ عينات من مجموع ٨ عينات لعدد من المجتمعات السكانية المدروسة ، كما وجدوا إن هناك تقارباً في بعض العينات وتباعداً في عينات أخرى بعد تحليل المركبات الأساسية لإحداثيات المعالم المثبتة على أجنحة الفراشة بين تقاطع العروق الطولية مع العروق المستعرضة ونهايات العروق الطولية .

15 ●
15 ●

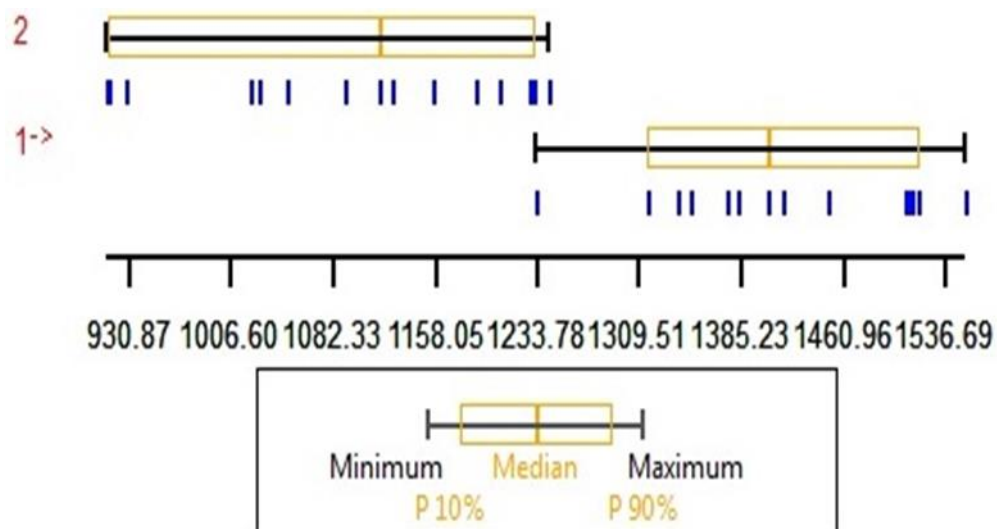


X = -544.351 الى 686.649 ، Y من -382.351 الى 154.649

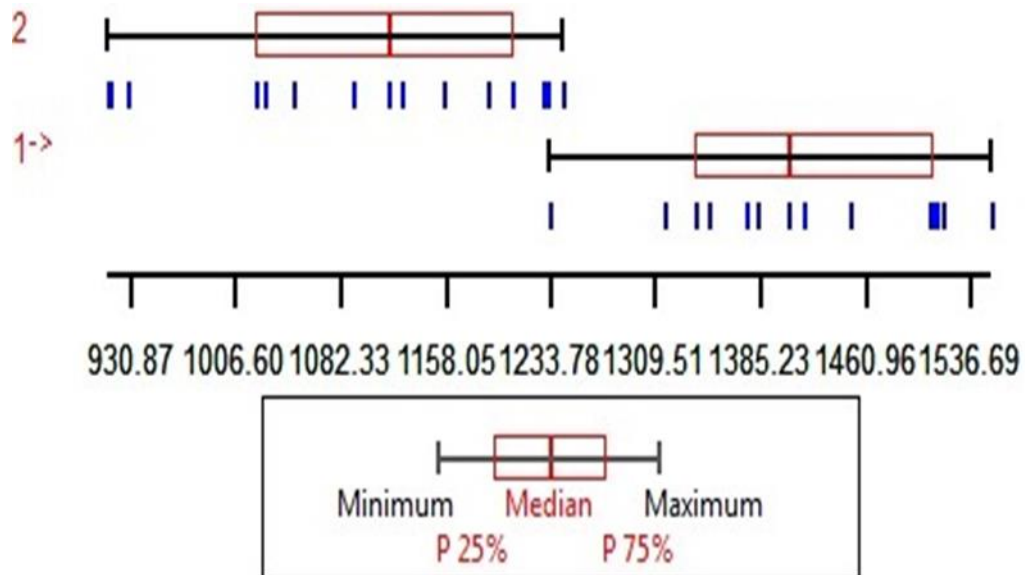
شكل (6) الشكل الانتشاري لتوزيع ذكور نوعين مختلفين من الذبابة الحلزونية على طول التحليلين العاملين الاول والثاني PCs لإحداثيات فضاء الظل المشتقة من احداثيات المعالم الاصلية لكل جناح والتي عددها 15 معلما ، اللون البني واللون الاخضر في الشكل يمثلان ذكور كلا النوعين *Ch.albiceps* و *Ch.mehacephala* على التوالي.

يوضح الشكل (7) نتائج تحليل التباين في الحجم المركزي للجناح الأيمن لذكور نوعين مختلفين من الذبابة الحلزونية التي جمعت عيناتها من مناطق مختلفة من محافظة ديالى، إذ يوضح كل صندوق في الشكل أعلاه المجموعة الوسطية موزعة بين الربيع % 10 والربيع % 90، أما الخطوط الزرقاء اللون التي توجد أسفل كل صندوق فأنها تمثل الأجنحة اليمنى للعينات الداخلة في الدراسة، إذ نلاحظ من الشكل المذكور في أعلاه وجود تباين بسيط جداً في الحجم المركزي للجناح الأيمن لذكور نوعين مختلفين من الذبابة الحلزونية باختلاف المناطق التي جمعت منها العينات، كما يوضح الشكل (8) نتائج تحليل التباين في الحجم المركزي للجناح الأيمن لذكور نوعين مختلفين من الذبابة الحلزونية التي جمعت عيناتها من مناطق مختلفة من محافظة ديالى، إذ يمثل كل صندوق في الشكل أعلاه

المجموعة الوسطية موزعة بين الربيع 25% والربيع 75% في حين تمثل الخطوط الزرقاء اللون تحت كل صندوق الأجنحة اليمنى للعينات المشمولة بالدراسة، ومن ملاحظة الشكل نجد أن هناك تغييراً كبيراً في الحجم المركزي للجناح الأيمن لذكور نوعين مختلفين من الذبابة الحلزونية؛ إذ وصل معدل الحجم المركزي للجناح الأيمن لذكور النوعين من الذبابة الحلزونية وكما موضح في الجدول (16) 1404.89 و 1103.75 مايكرون، أما قيمة التباين في الحجم المركزي للجناح الأيمن فقد بلغت 7645.78 و 12196.18 للنوعين المختلفين من الذبابة الحلزونية، وفي هذه الدراسة تم استخدام اختباري F و T لغرض المقارنة بين حشرات النوعين من الذبابة الحلزونية بالنسبة لمعدل الحجم المركزي للجناح الأيمن في تلك العينات، وعند المقارنة بين ذكور الحشرات قيد الدراسة وجد أن قيمة $F=1.59$ وقيمة $P=0.39$ في حين أن قيمة $T=8.28$ وقيمة $P=5.21$ ، أما قيمة الاختلاف المطلقة AD فقد وجد أنها تساوي 301.14، وهذا يدل على وجود فروق معنوية بين حشرات النوعين المختلفين من الذبابة الحلزونية، وهذا يتفق مع ما جاء في نتائج الدراسة الوراثية الجزيئية، وهناك دراسات كثيرة حول استخدام نظام المقياس الهندسي لشكل الجناح وحجمه في التمييز بين الأنواع ومن بينها الدراسة التي قام بها Macleod وآخرون (2018) لتحديد الأصول الجغرافية لذبابة الدودة الحلزونية نوع *Ch.bezziana* باستخدام المقياس الهندسي لشكل وحجم الجناح لدراسة التباين الوراثي الكمي لهذه الذبابة، إذ أظهرت الدراسة المورفولوجية وجود سلالتين متميزتين من هذا النوع، أحدهما أفريقي والآخر آسيوي، وذلك من خلال وجود الاختلافات في الحجم المركزي لجناح العينات الداخلة في الدراسة باختلاف الأصول الجغرافية لها وهذا يرجع إلى اختلاف الظروف البيئية المتمثلة بدرجات الحرارة وكمية الأمطار السنوية في تلك المناطق، وبذلك فقد اثبتوا أن القياسات الخاصة في جناح العينات المشمولة بالدراسة يساعد بشكل كبير في تحديد المصدر الجغرافي للأفراد لأنه يوفر علامات تشخيصية تكمل التشخيص الجزيئي.



شكل (٧) الحجم المركزي Centroid size للأجنحة اليمنى لذكور نوعين مختلفين من الذبابة الحلزونية ، اذ يمثل كل صندوق في الشكل المجموعة الوسطية موزعة بين الربع ١٠% والربع ٩٠% ، الخطوط الزرقاء تحت كل صندوق تمثل الاجنحة والارقام في ١ ، ٢ في الشكل تمثل كلا النوعين *Ch.albiceps* و *Ch.mehacephala* على التوالي.



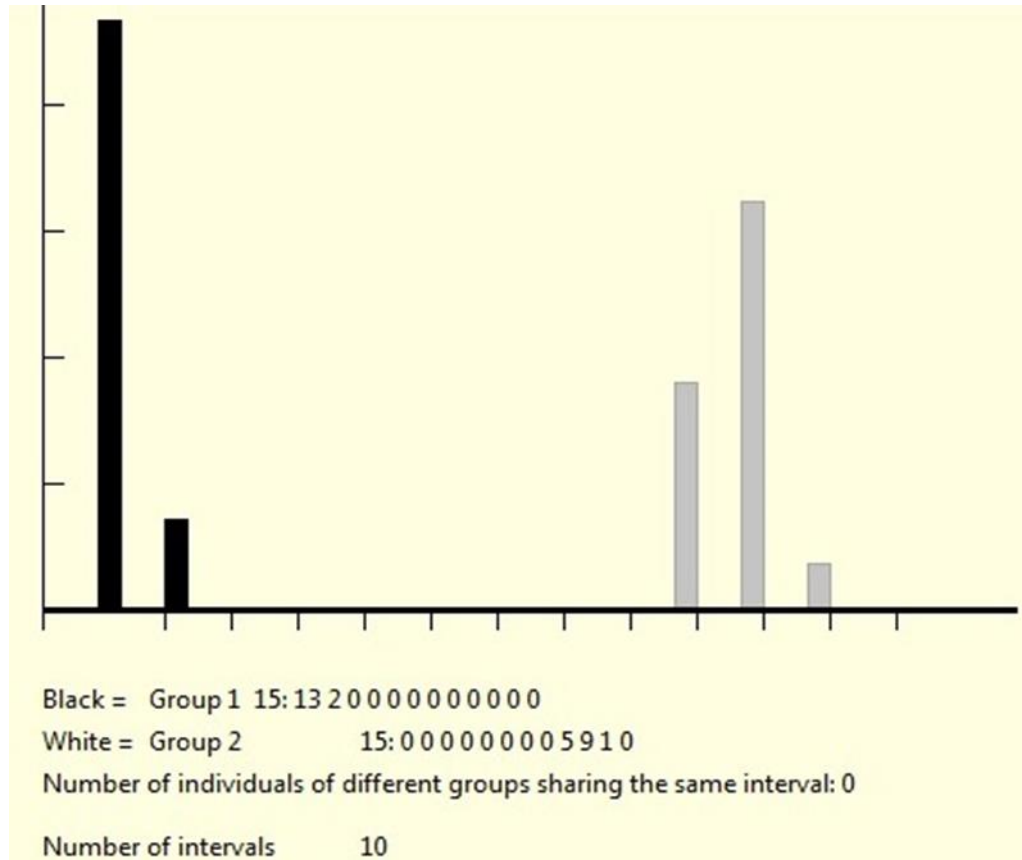
شكل (٨) الحجم المركزي Centroid size للأجنحة اليمنى لذكور نوعين مختلفين من الذبابة الحلزونية ، اذ يمثل كل صندوق في الشكل المجموعة الوسطية موزعة بين الربع ٢٥% والربع ٧٥%، الخطوط الزرقاء تحت كل صندوق تمثل الاجنحة والارقام في ١ ، ٢ في الشكل تمثل كلا النوعين *Ch.albiceps* و *Ch.mehacephala* على التوالي.

جدول (16) مقارنة الحجم المركزي للجناح الايمن بين ذكور الذبابة الحلزونية للنوع *Ch.albiceps* و *Ch.mehacephala*

Type	M.CS	St.D	Va.	f	P	t	P	A.D
<i>Ch.megacephala</i>	1404.89	87.44	7645.78	1.59	0.39	8.28	5.21	301.14
<i>Ch.albiceps</i>	1103.75	110.44	12196.18					

يوضح الشكل (9) التحليل التمييزي للمجتمعات السكانية لذكور نوعين من الذبابة الحلزونية *Ch. megacephala* و *Ch. albiceps*، إذ يستخدم هذا النوع من التحاليل للمقارنة بين الأفراد داخل المجموعة السكانية الواحدة ، وقد كان المجموع الكلي لعدد الأجنحة اليمنى المستخدمة في هذا التحليل هو 30 جناحا أيمناً، 15 منها لذكور النوع *Ch. megacephala* والمؤشرة باللون الأسود و 15 جناحا أخرى لذكور حشرات *Ch. albiceps* والمؤشرة باللون الأبيض، وقد أظهرت نتائج الجدول (17) أنَّ

مسافة مهالانوبز Mahalanobis distance بين الحجم المركزي للأجنحة الأمامية اليمنى للنوع *Ch.megacephala*، ومسافة مهالانوبز بين الحجم المركزي للأجنحة الأمامية اليمنى للنوع *Ch.albiceps* هي 20.74، ويرجع سبب التباين هذا إلى كونهما نوعين مختلفين. ويعد هذا النوع من الدراسات الوراثية الكمية التي تستخدم نظام المقياس الهندسي لشكل وحجم الجناح قليلة جداً في العراق وإن هذه الدراسة واحدة منها، ومن بين الدراسات التي تخص هذا المجال الدراسة التي قام بها Sultan (2016) على عينات من شغالات نحل العسل جمعت من محافظة بغداد و وديالى، باستخدام المقياس الهندسي لشكل الجناح وحجمه، إذ أظهر إن معدل الحجم المركزي لإحداثيات المعالم المثبتة على الأجنحة الأمامية اليمنى لـ 30 شغالة من نحل العسل هو 764.34 و 768.9 لمحافظة بغداد و وديالى على التوالي وبالاستناد على معدل الحجم المركزي بين العينات أظهرت نتائج تلك الدراسة عدم وجود أي فروق معنوية للمناطق المذكورة؛ وإن سبب عدم وجود فروق معنوية بين المنطقتين المدروسة هو تشابه الظروف البيئية لكلا المنطقتين، إذ تعتبر هذه المناطق هي من مناطق الوسط في العراق، إذ بلغ متوسط درجة الحرارة في بغداد 32.99 م°، إمّا معدل الأمطار 160.5 ملم؛ أمّا بالنسبة لـ وديالى فمتوسط درجة الحرارة هو 33.63 م°، وإن معدل الأمطار بلغ 190.8 ملم.



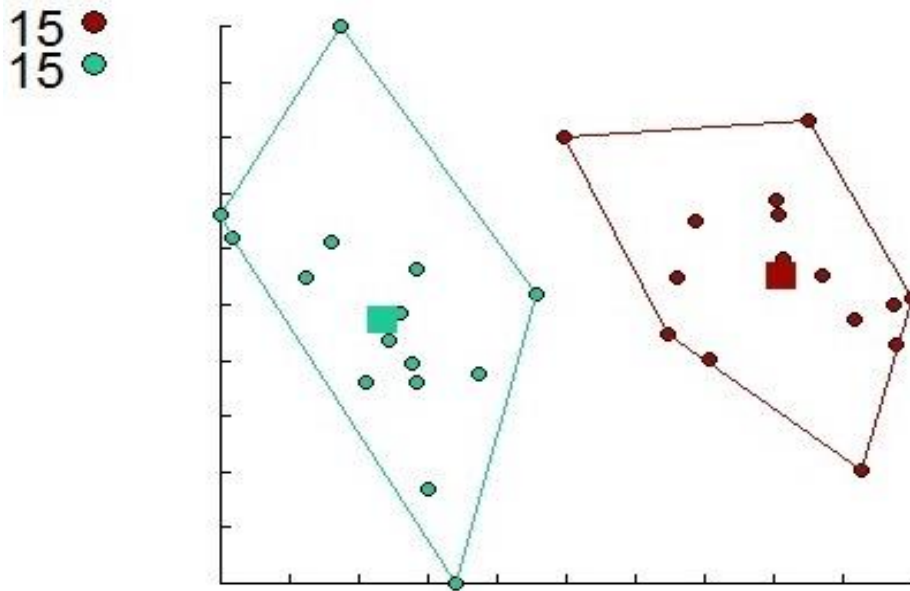
شكل (٩) التحليل التمييزي Discriminant analysis لإحداثيات معالم الأجنحة اليمنى لذكور نوعين مختلفين من الذبابة الحلزونية، إذ يمثل اللون الاسود في الشكل عينات النوع *Ch.albiceps* ويمثل اللون الابيض في الشكل عينات النوع *Ch.megacephala*.

جدول (17) مقارنة مسافة مهالانوبز Mahalanobis distance بين ذكور الذبابة الحلزونية لكلا النوعين *Ch.albiceps* و *Ch.megacephala*

	<i>Ch.megacephala</i>	<i>Ch.albiceps</i>
<i>Ch.megacephala</i>	0.00	
<i>Ch.albiceps</i>	20.74	0.00

ويوضح الشكل (١٠) التحليل العاملي Principle component analysis لإحداثيات معالم الأجنحة اليمنى لذكور نوعين مختلفين من الذبابة الحلزونية، إذ يمثل اللون البني عينات النوع *Ch. megacephala* ، في حين يمثل اللون الأخضر عينات النوع *Ch. albiceps* ، حيث يمثل المربع الجوزي والمربع الأخضر في الشكل معدل الحجم المركزي للجناح الايمن ولكلا النوعين والذي هو

١٤٠٤,٨٩ ، ١١٠٣,٧٥ على التوالي، ومن ملاحظة النتائج يتبين وجود فروق معنوية في معدل الحجم المركزي للنوعين ويرجع السبب الرئيس لهذا الاختلاف هو لكونهما نوعين مختلفين.



$$X = \text{من } -0.028 \text{ الى } 0.026, Y = \text{من } -0.025 \text{ الى } 0.023$$

شكل (10) التحليل العائلي **Principal component analysis** لإحداثيات معالم الاجنحة اليمنى لذكور نوعين مختلفين من الذبابة الحلزونية اللون البني واللون الاخضر في الشكل عينات كلا النوعين *Ch.albiceps* و *Ch.mehacephala* على التوالي، ويمثل المربع الجوزي والمربع الاخضر في الشكل معدل الحجم المركزي للجناح الايمن ولكلا النوعين والذي هو 1404.89، 1103.75 على التوالي.

ويوضح الجدولين (١٨ و ١٩) تحليل التباين لحجم الجناح الأيمن لذكور نوعين من الذبابة الحلزونية، إذ تم مقارنة حجم الجناح الأيمن للذكور بواسطة الوحدة التي توجد ضمن مكونات البرنامج الجاهز وبواسطة هذه الوحدة نتمكن من معرفة إذا كان هناك تغاير في شكل وحجم الجناح الأيمن للنوعين المختلفين أم لا، وقد أظهرت نتائج تحليل التباين لتماثل حجم الجناح الأيمن لذكور النوعين وكما هو موضح في الجدولين إلى وجود فروق معنوية في تماثل حجم وشكل الجناح لذكور النوعين من الذبابة

الحلزونية، ومن الدراسات التي أجريت في هذا المجال هي الدراسة التي أجراها Ricardo وآخرون (٢٠٠٩) لدراسة التغيرات الوراثي الكمي لعدد من المجتمعات السكانية لحشرة البق *Triatoma infestans* المنتمي إلى رتبة ثنائية الأجنحة *Diptera* إذ تم جمع العينات من قرى شمال غرب الأرجنتين باستخدام المقياس الهندسي لشكل وحجم الجناح، إذ توصلوا خلال هذه الدراسة إلى وجود تغير قليل في حجم الجناح في بين أفراد المجتمع السكاني الواحد، كما أظهرت نتائج تحليل التباين عدم وجود تطابق تام بين اثنين من المجتمعات السكانية المشمولة بالدراسة ويعزى سبب ذلك إلى اختلاف المضائف التي تقضي الحشرة جزءاً من حياتها فيها إذ تم جمع العينات من حظائر الماعز والخنازير.

جدول (18) تحليل التباين ANOVA لتمثيل حجم الجناح الايمن بين ذكور الذبابة الحلزونية للنوع *Ch.albiceps* والنوع *Ch.megacephala*

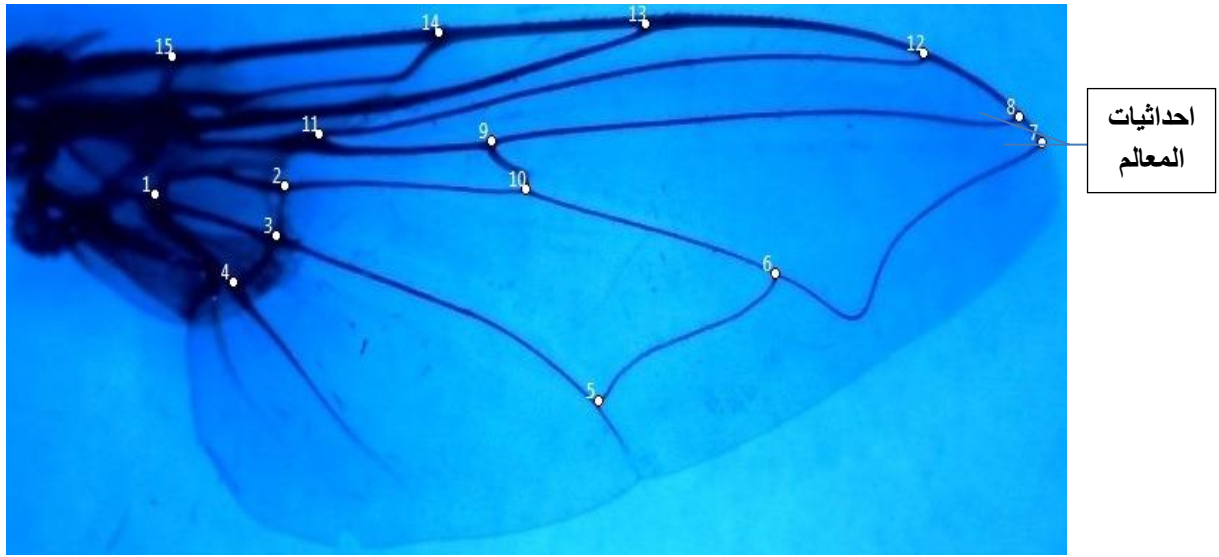
Source	SS	df	MS	f	Signification
Model	0.0001	3	0.000022	0.30	0.83
Individual	0.0000	1	0.000042	0.56	0.46
Side	0.0000	1	0.000008	0.11	0.75
Side* i	0.0000	1	0.000071	0.22	0.64
Residue	0.0018	24	0.000075		

جدول (19) تحليل التباين ANOVA لتمثيل شكل الجناح الايمن بين ذكور الذبابة الحلزونية للنوع *Ch.albiceps* والنوع *Ch.megacephala*

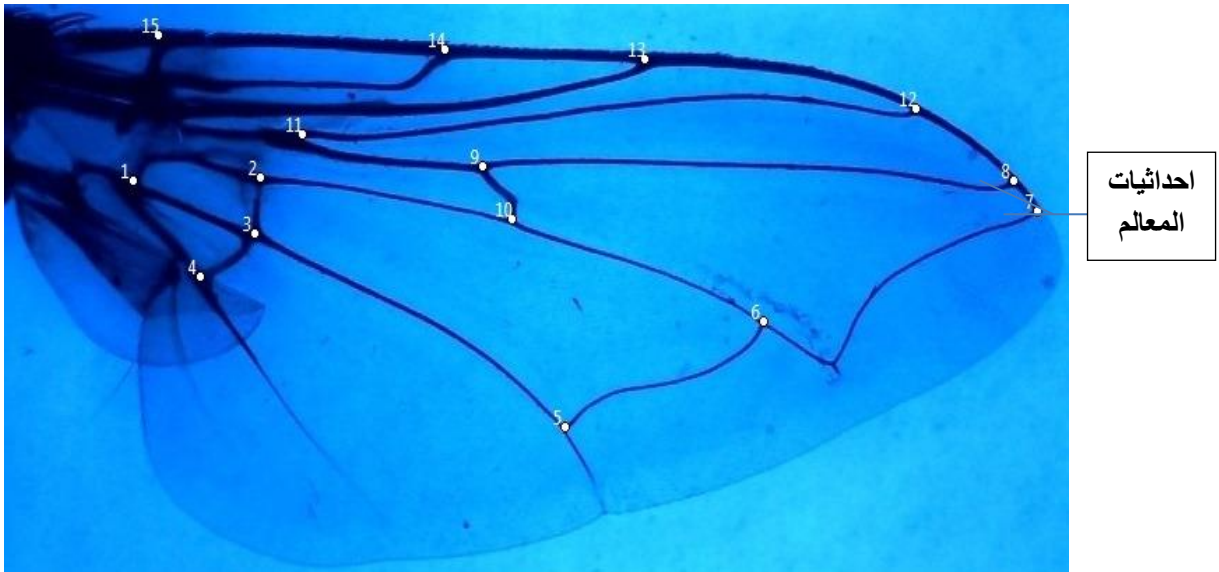
Source	SS	df	MS	f	Signification
Model	0.0012	78	0.000015	0.54	0.99
Individual	0.0004	26	0.000016	0.58	0.95
Side	0.0002	26	0.000008	0.30	0.99
Side* i	0.0005	26	0.000020	0.75	0.81
Residue	0.0171	624	0.000027		

4 - 2 - 2 دراسة التباير الوراثي الكمي في شكل الجناح وحجمه بين اناث نوعين من الذبابة
الحلزونية *Chrysomya albiceps* و *Chrysomya megacephala* باستعمال المقياس الهندسي
للشكل المظهر للجناح Geometric Morphometric of Wing

توضح الصورتان (٣ و ٤) الأجنحة اليمنى لإناث نوعين مختلفين من الذبابة الحلزونية المجموعة
عيناتها من مناطق مختلفة من وسط العراق / ديالى والمثبت عليها إحداثيات المعالم بين تقاطعات
العروق الطولية مع العروق المستعرضة ونهايات العروق الطولية.

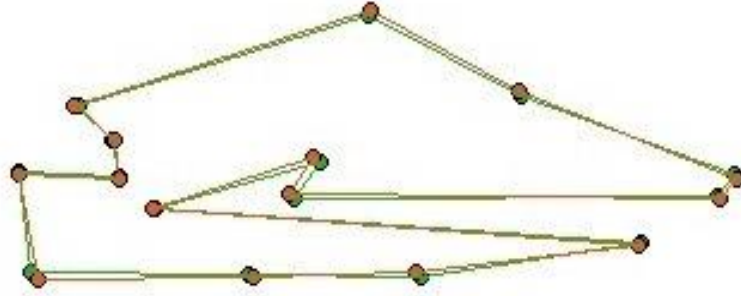


صورة (١٤) الجناح الايمن لأنثى الذبابة الحلزونية *Ch. megacephala* موضحا عليه احداثيات
المعالم والتي عددها 15 معلم، قوة التكبير 45X



صورة (١٥) الجناح الايمن لأنثى الذبابة الحلزونية *Ch. albiceps* موضحا عليه احداثيات المعالم
والتي عددها 15 معلم، قوة التكبير 45X

يوضح الشكل (١١) معدل إحداثيات المعالم لـ ٣٠ جناحا أيمن لإناث ذبابة الدودة الحلزونية وعددها ١٨ معلما لكل جناح، إذ يمثل اللون الأخضر إحداثيات المعالم لـ ١٥ جناحا أيمن لإناث حشرات الذبابة الحلزونية نوع *Ch.megacephala* ويمثل اللون البني إحداثيات المعالم لـ ١٥ جناحا أيمن لإناث حشرات الذبابة الحلزونية نوع *Ch.albiceps*، وعند إجراء عملية تطابق الأجنحة باستخدام نظام المقياس الهندسي لشكل الجناح وحجمه عن طريق وحدة MOG المتوفرة ضمن مكونات البرنامج الإحصائي الجاهز وكما هو موضح في الشكل أعلاه، إذ نلاحظ أن الأجنحة اليمنى لإناث كلا النوعين من الذبابة الحلزونية غير متطابقة في معظم إحداثيات المعالم المثبتة على الأجنحة في هذه الدراسة ما عدا المعالم (١،٢،٣،٤،٨،٩،١٢) والتي كانت متطابقة، ويعود السبب في عدم التطابق في هذه المعالم هو لكونهما نوعين مختلفين، ومن الدراسات التي أجريت في هذا المجال هي دراسة Moraes وآخرون، (٢٠١٠) حول دراسة التباين الوراثي المظهري في بعوضة *Culex quinquefasciatus* (Say) والتي جمعت عيناتها من ثلاثة بلدان في قارة أمريكا الجنوبية وهي البرازيل والأرجنتين والبيرو باستخدام نظام المقياس الهندسي لشكل الجناح وحجمه، إذ توصل الباحثون في تلك الدراسة إلى عدم التطابق في بعض إحداثيات المعالم بين المجتمعات السكانية للبعوضة التي أجريت عليها الدراسة كما وجدوا اختلافا بسيطا في معدل الحجم المركزي للجناح الأيمن للعينات المدروسة في المناطق التي جمعت منها، والسبب في ذلك التباين أو الاختلاف البسيط هو تأثير الحشرة بالظروف البيئية المختلفة في مناطق الدراسة.

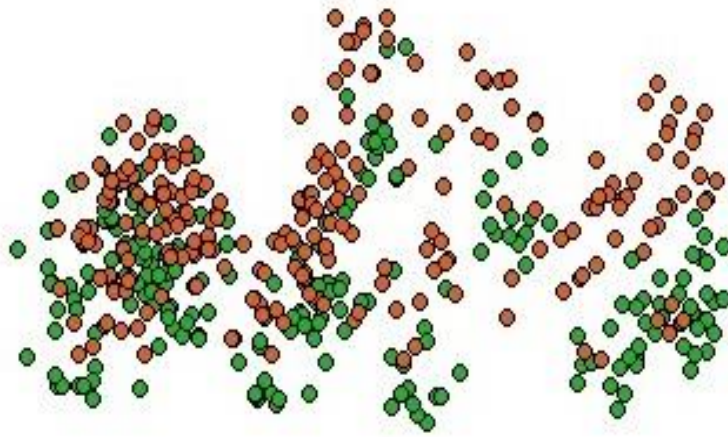


$$X = \text{من } -0.315 \text{ الى } 0.440, Y = \text{من } -0.101 \text{ الى } 0.174$$

شكل (11) معدل احداثيات المعالم للجناح الايمن لإناث نوعين مختلفين من الذبابة الحلزونية والتي عددها 15 معلم لكل جناح، يمثل اللون الاخضر واللون البني في الشكل عينات الذبابة الحلزونية ولكلا النوعين *Ch.albiceps* و *Ch.mehacephala* على التوالي.

يمثل الشكل (١٢) طريقة توزيع الإناث لحشرة ذبابة الدودة الحلزونية المجموعة عيناتها من مناطق مختلفة من وسط العراق / ديالى من خلال تحليل المركبات الأساسية لإحداثيات المعالم المثبتة على الأجنحة اليمنى بين تقاطعات العروق الطولية مع العروق المستعرضة ونهايات العروق الطولية وعدد هذه المعالم هي ١٥ معلم لكل جناح، ومن ملاحظة الطريقة التي توزعت بها العينات في الشكل المذكور نجد إن هناك نقاط متطابقة جداً أو متطابقة أحياناً مع بعضها وهناك نقاط متباعدة، فالتطابق بين هذه النقاط يشير إلى عدم وجود تباير في شكل وحجم الأجنحة للنوعين المختلفين من الذبابة الحلزونية، أما النقاط المتباعدة في الشكل تعني وجود تباير في شكل وحجم الجناح لعينات النوعين المختلفين والتي تعود إلى جنس الـ *Chrysomya*، وسبب التباير هذا يعود إلى كونهما نوعين مختلفين.

15 ●
15 ●



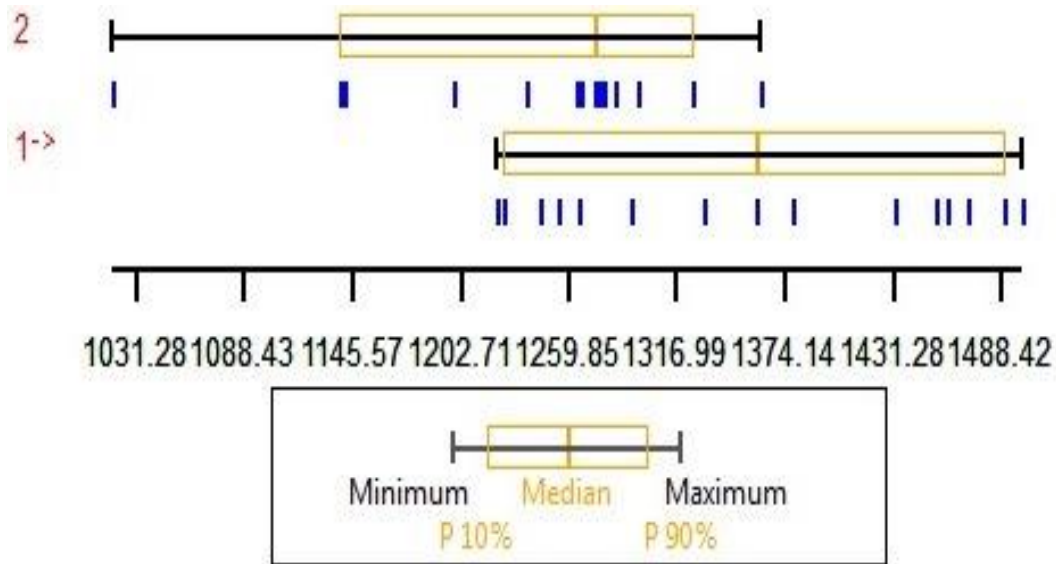
$$X = -517.867 \text{ الى } 640.133, Y = -434.867 \text{ الى } 161.133$$

شكل (12) الشكل الانتشاري لتوزيع اناث نوعين مختلفين من الذبابة الحلزونية على طول التحليلين العاملين الاول والثاني PCs لإحداثيات فضاء الظل المشتقة من احداثيات المعالم الاصلية لكل جناح والتي عددها ١٥ معلما، اللون الاخضر واللون البني في الشكل يمثلان اناث كلا النوعين *Ch.albiceps* و *Ch.mehacephala* على التوالي.

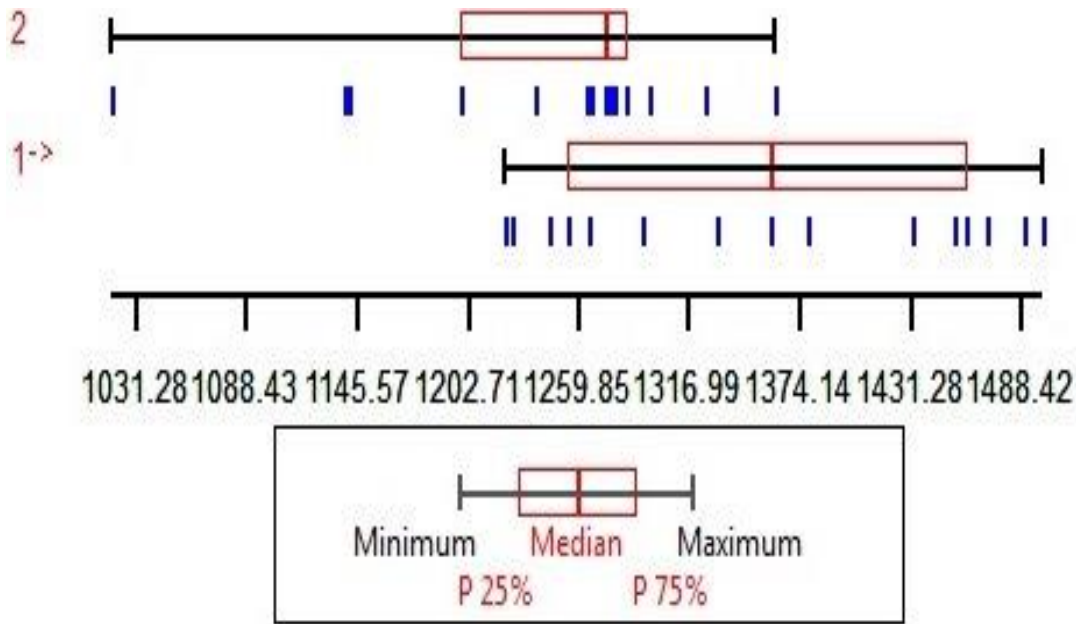
فعند ملاحظة الشكل (١٣) نتائج تحليل التباين في الحجم المركزي للأجنحة اليمنى لإناث نوعين مختلفين من الذبابة الحلزونية المجموعة عيناتها من مناطق مختلفة من وسط العراق / ديالى، إذ يمثل كل صندوق في الشكل المجموعة الوسطية موزعة بين الربيع ١٠% والربيع ٩٠%، وتمثل الخطوط الزرقاء تحت كل صندوق الأجنحة، أما الأرقام في ١، ٢ في الشكل فأنها تمثل كلا النوعين *Ch.albiceps* و *Ch.mehacephala* على التوالي، كما يبين الشكل (١٤) نتائج تحليل التباين في الحجم المركزي للأجنحة اليمنى لإناث نوعين مختلفين من الذبابة الحلزونية المجموعة عيناتها من مناطق مختلفة من وسط العراق / ديالى، إذ يمثل كل صندوق في الشكل المجموعة الوسطية موزعة بين الربيع ٢٥% والربيع ٧٥%، وتمثل الخطوط الزرقاء تحت كل صندوق الأجنحة، أما الأرقام في ١، ٢ في الشكل فأنها تمثل كلا النوعين *Ch.albiceps* و *Ch.mehacephala* على التوالي. ومن ومن

ملاحظة الشكل (١٣) فأنا نجد إن الخطوط الزرقاء الخارجة عن حدود كل صندوق قليلة مما يشير إلى وجود تغاير بسيط في الحجم المركزي للأجنحة اليمنى لعينات النوع الواحد بينما يوجد تغاير بين عينات كلا النوعين، أما عند ملاحظة الشكل (١٤) نجد أن هناك تغاير واضح في الحجم المركزي للجناح الأيمن لإناث نوعين مختلفين من ذبابة الدودة الحلزونية من ملاحظة الخطوط الزرقاء الداخلة والخارجة عن حدود الصناديق المذكورة آنفاً ، كما لاحظنا وجود تغاير قليل في الحجم المركزي للجناح الأيمن لإناث النوعين المختلفين لذبابة الدودة الحلزونية في الجدول (٢٠) ، إذ بلغ معدل الحجم المركزي للجناح الأيمن لإناث النوع *Ch.megacephala* 1354.13 والحجم المركزي للجناح الأيمن لإناث النوع *Ch.albiceps* 1244.28 ، أما مقدار التباين في الحجم المركزي للجناح الأيمن فكان ٩٦٠٩,١٣,٦٧٤٧,٤٥ للنوعين المختلفين من ذبابة الدودة الحلزونية المذكورة في أعلاه وعلى التوالي ، وقد تم استخدام اختباري F و T لغرض المقارنة بين عينات النوعين المختلفين بالنسبة لمعدل حجم الأجنحة اليمنى لإناث تلك الحشرات ، فقد وجد إن قيمة $F = 1.42$ وقيمة $P = 0.52$ بينما نجد إن قيمة $T = 3.34$ وقيمة $P = 0.002$ في حين نجد إن قيمة الاختلاف المطلقة $A.D = 110.17$ وهذا يعني وجود فروق طفيفة بين عينات النوعين من الذبابة الحلزونية، ومن هذا يمكننا القول إن الإناث تعود إلى نوعين مختلفين بالرغم من إنها تنتمي إلى الجنس نفسه وهذا يتفق مع نتائج دراستنا فيما يخص الجانب الوراثي الجزيئي ، ومن الدراسات التي أجريت في هذا المجال هي الدراسة التي قام بها Ren وآخرون (٢٠١٧) على ٨١ من الأجناس التابعة إلى (مغمات الأجنحة) حيث تضمن كل جنس واحد إلى ثلاثة أنواع ومن مواقع مختلفة من الصين وذلك لغرض معرفة الاختلافات بين الأنواع التابعة للجنس وذلك باستخدام المقياس الهندسي لشكل الجناح وحجمه، وقد قاموا بتحليل المركبات الأساسية لأحداثيات المعالم المثبتة على الأجنحة الخلفية للعروق المستعرضة للأجناس المختلفة والتي لها أهمية وظيفية في المحافظة على وظيفة الطيران للجناح إلى وجود تغايراً كبيراً في شكل وحجم الأجنحة للأنواع التابعة لكل

جنس، ويعزى سبب التغيرات هذا تأثر الأنواع بالظروف البيئية للمناطق التي جمعت منها العينات والمتمثلة بدرجات الحرارة ومعدل الرطوبة النسبية، كما أن دراستهم هذه توفر اكتشافاً للأساس التطوري ومنظوراً جديداً لدراسات التطور المورفولوجي للأجنحة.



شكل (13) الحجم المركزي Centroid size للأجنحة اليمنى لإناث نوعين مختلفين من الذبابة الحلزونية، إذ يمثل كل صندوق في الشكل المجموعة الوسطية موزعة بين الربع 10% والربع 90%، الخطوط الزرقاء تحت كل صندوق تمثل الأجنحة والأرقام في 1، 2 في الشكل تمثل كلا النوعين *Ch.albiceps* و *Ch.mehacephala* على التوالي .



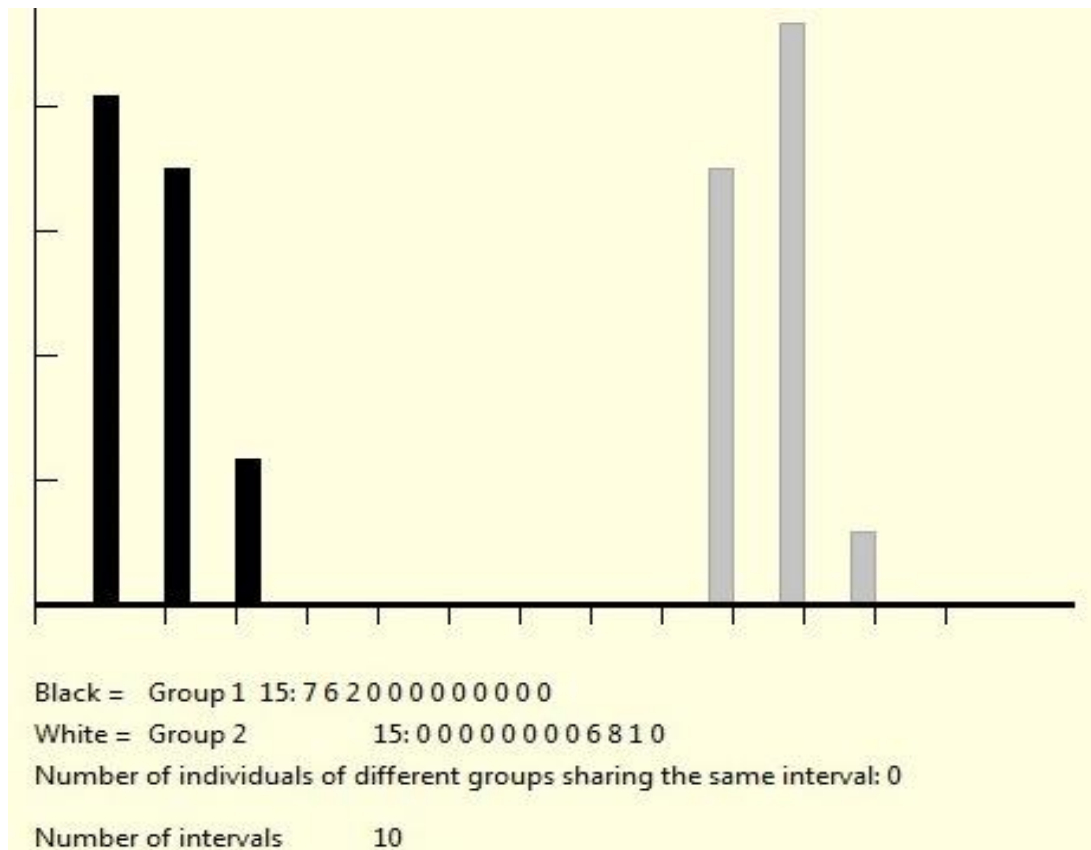
شكل (14) الحجم المركزي Centroid size للأجنحة اليمنى لإناث نوعين مختلفين من الذبابة الحلزونية، إذ يمثل كل صندوق في الشكل المجموعة الوسطية موزعة بين الربع 25% والربع 75%، الخطوط الزرقاء تحت كل صندوق تمثل الأجنحة والأرقام في 1، 2 في الشكل تمثل كلا النوعين *Ch.albiceps* و *Ch.mehacephala* على التوالي.

جدول (20) مقارنة الحجم المركزي للجناح الأيمن بين إناث الذبابة الحلزونية للنوع *Ch.albiceps* و *Ch.mehacephala*

Type	M.CS	St.D	Va.	f	P	t	P	A.D
<i>Ch.megacephala</i>	1354.13	98.03	9609.13	1.42	0.52	3.34	0.002	110.17
<i>Ch.albiceps</i>	1244.28	82.14	6747.45					

يوضح الشكل (١٥) التحليل التمييزي لإحداثيات معالم الأجنحة اليمنى لإناث نوعين مختلفين من الذبابة الحلزونية التي جمعت عيناتها من مناطق وسط العراق / ديالى، ويستخدم هذا التحليل كما ذكرنا سابقاً لغرض المقارنة بين أفراد النوع الواحد التابعة إلى الجنس نفسه وبين أنواع مختلفة تابعة لجنس واحد، إذ يمثل اللون الأسود في الشكل عينات النوع *Ch.megacephala* بينما يمثل اللون الأبيض في الشكل عينات النوع *Ch.albiceps*، إذ نلاحظ عدم تداخل الأنواع مع بعضها البعض ووجود

مسافات فيما بينها. كما أظهرت النتائج وكما هو موضح في الجدول (٢١) أنّ مسافة مهالانوبز بين الحجم المركزي لأجنحة إناث حشرات النوع *Ch.megacephala* والحجم المركزي لأجنحة إناث حشرات النوع *Ch.albiceps* هي ١٤,٤١، وهناك العديد من الدراسات العالمية المماثلة لهذا النوع وخاصة على الحشرات التي تعود إلى رتبة ثنائية الأجنحة Diptera، عائلة الذباب المعدني Calliphoridae التي تنتمي لهما هذين النوعين من ذبابة الدودة الحلزونية ومنها الدراسة التي قام بها كل من Vasquez وLiria (2012) والتي تمت فيها مقارنة لشكل وحجم الجناح للنوعين *Ch. albiceps and Ch. megacephala* لعينات جمعت من مناطق جغرافية مختلفة في فنزويلا وذلك باستخدام نظام المقياس الهندسي لشكل وحجم الجناح اذ توصل الباحثان عن طريق دراستهم هذه بعد تحليل المركبات الأساسية إلى وجود اختلافا كبيرا في حجم الجناح لكلا النوعين، إذ إن حجم الجناح للذبابة *Ch.megacephala* أكبر من حجم الجناح للذبابة النوع *Ch.albiceps* وكذلك وجدوا فروقا معنوية بين النوعين وذكروا إن السبب في ذلك الاختلاف هو تأثير الحشرات بالظروف البيئية وخصوصاً درجة الحرارة الشهرية التي تؤثر بصورة مباشرة على وفرة وتواجد النوعين المشمولين بالدراسة.



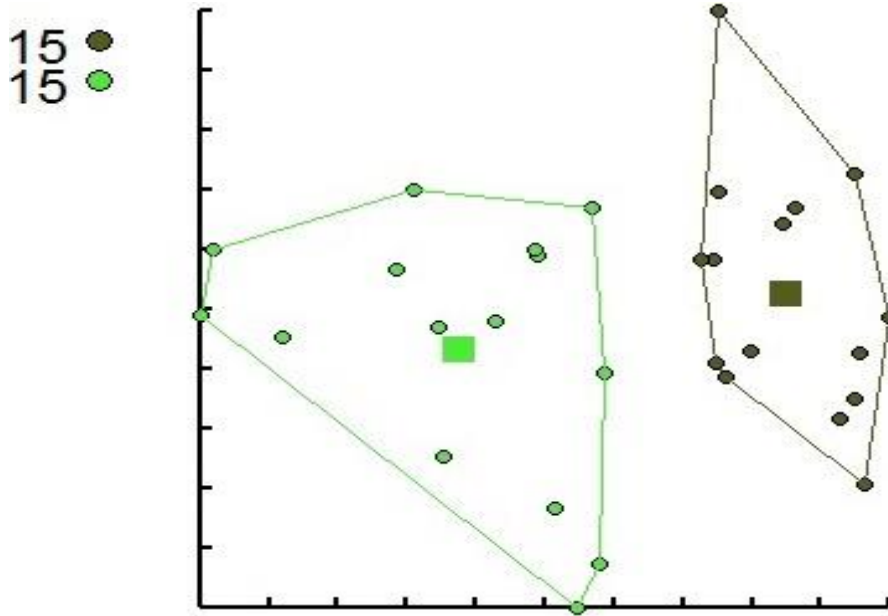
شكل (15) التحليل التمييزي Discriminant analysis لإحداثيات معالم الأجنحة اليمنى لإناث نوعين مختلفين من الذبابة الحلزونية، إذ يمثل اللون الاسود في الشكل عينات النوع *Ch.albiceps* ويمثل اللون الابيض في الشكل عينات النوع *Ch.megacephala*.

جدول (21) مقارنة مسافة مهالانوبز Mahalanobis distance بين اناث الذبابة الحلزونية لكلا النوعين *Ch.albiceps* و *Ch.mehacephala*

	<i>Ch.megacephala</i>	<i>Ch.albiceps</i>
<i>Ch.megacephala</i>	0.00	
<i>Ch.albiceps</i>	14.41	0.00

يبين الشكل (١٦) التحليل العاملي لإحداثيات معالم الأجنحة اليمنى لإناث نوعين مختلفين من الذبابة الحلزونية، إذ يمثل اللون الزيتوني في الشكل عينات النوع *Ch.mehacephala*، أما اللون الأخضر فإنه يمثل عينات النوع *Ch.albiceps*، بينما يمثل المربع الزيتوني معدل الحجم المركزي للجناح الأيمن الخاص بالنوع *Ch.mehacephala* والذي هو ١٣٥٤,١٣، في حين يمثل المربع الأخضر

معدل الحجم المركزي للجناح الأيمن الخاص بالنوع *Ch.albiceps* والذي هو ١٢٤٤,٢٨ ما يكون، ويتبين لنا من ملاحظة نتائج الشكل (١٦) أن هناك فروقاً معنوية في معدل الحجم المركزي للنوعين وإن السبب وراء وجود فروق معنوية بينهما يعود إلى كونهما نوعين مختلفين.



X = من -0.026 الى 0.016 ، Y = من -0.022 الى 0.024

شكل (16) التحليل العائلي Principle component analysis لإحداثيات معالم الاجنحة اليمنى لإناث نوعين مختلفين من الذبابة الحلزونية اللون الزيتوني واللون الاخضر في الشكل عينات كلا النوعين *Ch.mehacephala* و *Ch.albiceps* على التوالي، ويمثل المربع الزيتوني والمربع الاخضر في الشكل معدل الحجم المركزي للجناح الايمن ولكلا النوعين والذي هو 1354.13، 1244.28 ما يكون على التوالي.

ومن ملاحظة الجدول (٢٢) الذي يبين نتائج تحليل التباين لتماثل حجم الجناح الأيمن لإناث نوعين مختلفين للذبابة الحلزونية إذ تم استخدام وحدة ASI الموجودة ضمن مكونات البرنامج الجاهز وعن طريق هذه الوحدة يمكن معرفة ما إذا كان هناك تغاير في شكل وحجم الجناح الأيمن للحشرات، إذ نلاحظ وجود فروق معنوية في حجم الجناح الأيمن للإناث بين هذين النوعين، أما عند ملاحظة الجدول

(٢٣) الذي يبين نتائج تحليل التباين لتماثل شكل الجناح الأيمن لإناث نوعين مختلفين من الذبابة الحلزونية، حيث تبين أيضاً وجود فروق معنوية كبيرة في تماثل شكل الجناح أي وجود تغير كبير بين النوعين المشمولين بالدراسة وبسبب كونهما نوعين مختلفين، ومن الدراسات التي أجريت في هذا المجال هي الدراسة التي قام بها التميمي (٢٠١٦) اثناء دراسته للتغيرات في شكل وحجم الجناح بين ثلاثة أجيال لذبابة الدودة الحلزونية للعالم القديم *Ch.bezziana* والتي تعود إلى جنس *Chrysomya* والمجموعة عيناتها من شمال وجنوب ووسط العراق وقد توصل في دراسته هذه إلى عدم التطابق التام بين العينات المجموعة من مناطق العراق الثلاثة وخاصة في الجيلين الأول والثاني وقد أعزى هذا الاختلاف إلى تأثير الظروف البيئية المتمثلة بدرجات الحرارة وكمية الأمطار المتساقطة ومعدل الرطوبة النسبية.

جدول (22) تحليل التباين ANOVA لتماثل حجم الجناح الأيمن بين اناث الذبابة الحلزونية للنوع *Ch.albiceps* والنوع *Ch.megacephala*

Source	SS	df	MS	f	Signification
Model	0.0001	3	0.000027	0.41	0.75
Individual	0.0000	1	0.000002	0.02	0.88
Side	0.0001	1	0.000078	1.17	0.29
Side* i	0.0000	1	0.000002	0.02	0.88
Residue	0.0016	24	0.000066		

جدول (23) تحليل التباين ANOVA لتماثل شكل الجناح الأيمن بين اناث الذبابة الحلزونية للنوع *Ch.albiceps* والنوع *Ch.megacephala*

Source	SS	df	MS	f	Signification
Model	0.0011	78	0.000014	0.79	0.89
Individual	0.0004	26	0.000016	0.90	0.61
Side	0.0005	26	0.000018	0.99	0.48
Side* i	0.0002	26	0.000009	0.49	0.99
Residue	0.0113	624	0.000018		

3-4- الدراسة الكيميائية Chemical Study

تم تشخيص المركبات الكيميائية للنوعين *Ch.albiceps* و *Ch.megacephala*، والمستخلصة من 300 حشرة بمعدل 150 حشرة (ذكور+إناث) لكل نوع وقد تمت عملية التحليل للمركبات الكيميائية بتقنية كروماتوغرافيا الغاز المجهز بمطياف الكتلة، وقد أظهرت النتائج وجود (76) مركب كيميائي للنوع *Ch.megacephala* و (85) مركب كيميائي للنوع *Ch.albiceps* وكما موضحة في الملاحق، ومن المفترض أن يكون هناك أكثر من عامل رئيسي يحدد طبيعة المكونات الكيميائية منها العوامل الوراثية التطورية والظروف البيئية الفيزيائية إضافة إلى تدخل عوامل أخرى مثل مراحل النمو (Whitworth، 2012)، وكانت غالبية المركبات الكيميائية المستخلصة من الحشرة الكاملة والمشتمة على جدار الجسم والأحشاء الداخلية لكلا النوعين موجوده فيهما عدا بعض الاختلافات البسيطة في المركبات الكيميائية لهما، متمثلة بالمركبات الهيدروكربونية منها المركبات الهيدروكسيلية والكحولات والاسترات والاديهيدات والكينونات، كما مبينة في الجدولان (23 - 24).

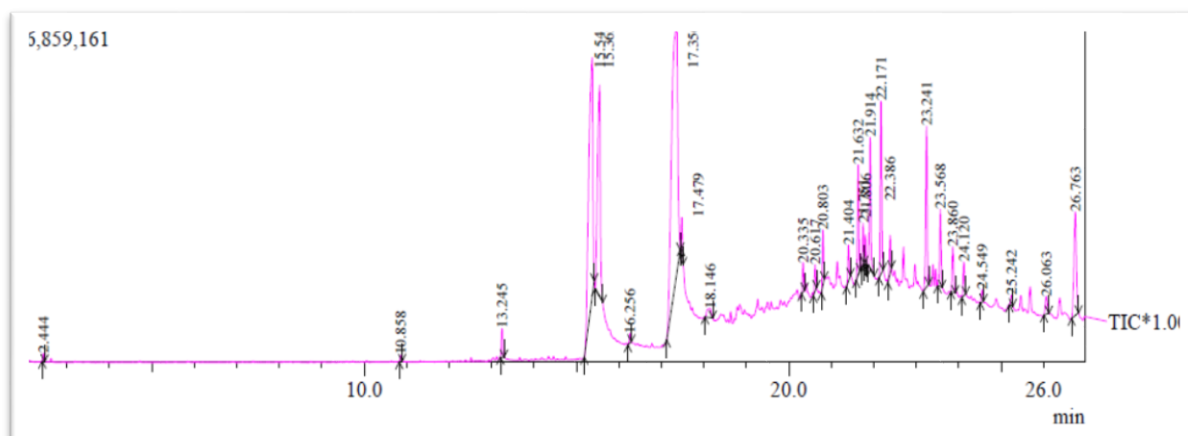
إذ سجلت المركبات الكيميائية من نوع Dienoic acid أعلى نسبة وهي 31.67% في النوع *Ch.megacephala* وبوقت جريان (Retention time) 17.356 وإن أدنى تواجد كان للمركب الكيميائي من نوع nonanoic acid بنسبة 0.14 % وبوقت جريان (Retention time) بلغ 10.858، وقد أظهر النوع الحالي أعلى معدلات لظهور بعض المركبات الكيميائية التي تمثلت بالمركب Cis-9-hexadecenoic acid بنسبة 20.26% وبوقت جريان 15.365، والمركب 1-Ascorbic acid بنسبة 11.71 وبوقت جريان 15.540، ومما تجدر الإشارة إليه إن هذا النوع سجل نسبة أعلى في عدد المركبات الكيميائية مقارنة بالنوع *Ch.albiceps* كما مبينة في جدول (23) شكل (17).

جدول (24) المركبات الكيميائية للحشرة الكاملة تشمل جدار الجسم والاحشاء الداخلية للنوع

Chrysomya megacephala

التسلسل	اسم المركب	الصيغة الكيميائية	الوزن الجزيئي	زمن الجريان بالدقيقة	المساحة %
1	Tetradecanoic acid	C14H28O2	228	13.245	0.73
2	Cis-9-Hexadecenoic acid	C16H30O2	254	15.365	20.26
3	1-(+)-Ascorbic acid 2,6-dihexadecanoate	C38H68O8	652	15.540	11.71
4	22-Tricosenoic acid	C23H44O2	352	16.256	0.25
5	cis-9-Hexadecenal	C16H30O	238	17.356	31.67
6	Z,Z,-8,10-Hexadecadien-1-ol	C16H30O	238	17.356	31.67
7	cis-13,16-Docosadienoic acid	C22H40O2	336	17.356	31.67
8	17-Octadecynoic acid	C18H32O2	280	17.356	31.67
9	9,9-Dimethoxybicyclo(3.3.1)nona-2,4-dione	C11H16O4	212	17.479	0.70
10	Octadecanoic acid	C18H36O2	284	17.479	0.70
11	Pentadecanoic acid	C15H29O2	320	17.479	0.70
12	Heptadecanoic acid	C17H34O2	508	17.479	0.70
13	1-Hentetracontanol	C41H84O	592	18.146	0.76
14	Tetrapentacontane,1,54-dibromo-	C54H108Br2	914	18.146	0.76
15	Tetratricontyl pentafluoropropionate	C37H68F5O2	640	18.146	0.76
16	Octatriacontyl trifluoroacetate	C40H77F3O2	646	18.146	0.76
17	Hexatriacontyl pentafluoropropionate	C39H73F5O2	668	18.146	0.76
18	Tetratetracontane	C44H90	618	20.335	0.68
19	Tritetracontane	C43H88	604	20.335	0.68
20	Hentriacontane	C31H64	436	20.335	0.68
21	Pentadecane,8-hexyl	C21H44	296	20.617	0.64
22	1,2-Benzenedicarboxylic acid,bis((2-ethylhexyl)ester	C24H38O4	390	20.803	1.33
23	Phthalic acid	C26H42O4	418	20.803	1.33
24	1-Octacosanol	C28H58O	410	21.632	0.85
25	n-Tetracosanol	C24H50O	354	21.632	0.85
26	1-Henecosanol	C21H44O	312	21.632	0.85
27	13-Tetradecen-1-ol acetate	C16H30O2	254	21.751	0.60
28	Heptadecyl trifluoroacetate	C34H68O2	508	21.751	0.60
29	Cyclopenta,1-pentyl-2-propyl-,1-Pentyl-2-propylcyclopenta	C13H26	182	21.751	0.60
30	Heptadecyl trifluoroacetate	C19H35F3O2	352	21.751	0.60
31	Docosyl trifluoroacetate	C24H45F3O2	422	21.751	0.60
32	Nonane,3-methyl-5-propyl	C13H28	184	21.751	3.60
33	Hexadecane	C17H36	240	21.751	3.60

34	Nonane,5-propyl-	C ₁₂ H ₂₆	170	21.751	3.60
35	Triaconatane	C ₃₀ H ₆₂	422	22.171	4.95
36	Tetracontane	C ₄₀ H ₈₂	652	22.171	4.95
37	Pentadecane,2-6-10-14-tetramethyl	C ₁₉ H ₄₀	268	23.568	2.21
38	(Z)-14-Tricosenyl formate	C ₂₄ H ₄₆ O ₂	366	25.242	0.32
39	Dichloroacetic acid,undec-2-enyl ester	C ₁₃ H ₂₂ CL ₂ O 2	280	25.242	0.32
40	Oxirane,heptadecyl	C ₁₉ H ₃₈ O	282	25.242	0.32
41	1,5-Methyltrtriacontane	C ₃₄ H ₇₀	478	26.063	0.75
42	Octatriacontyl pentafluoropropionate	C ₄₁ H ₇₇ F ₅ O ₂	696	26.063	0.75



شكل (17) مرتسم كروماتوغرافيا الغاز للمحتوى الكيميائي للحشرة الكاملة تشمل جدار الجسم والاحشاء

الداخلية للنوع *Chrysomya megacephala*

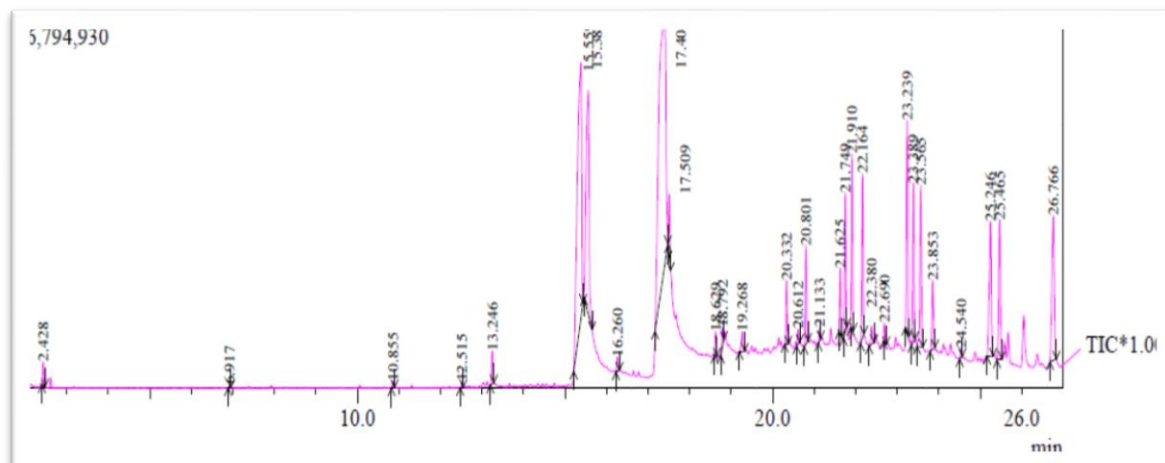
أما بالنسبة للنوع *Ch.albiceps* فقد سجلت المركبات الكيميائية من نوع Dienoic acid أعلى نسبة وهي 28.12 وبوقت جريان 17.404 ، في حين ظهرت المركبات Heptanoic acid بأقل نسبة وهي 0.05 وبوقت جريان 6.917 ، وقد سجل هذا النوع نسبة ظهور اقل للمركبات الكيميائية مقارنة بالنوع *Ch. megacephala* كما مبينة في جدول (24) شكل (18).

جدول (25) المركبات الكيميائية للحشرة الكاملة تشمل جدار الجسم والاحشاء الداخلية للنوع

Chrysomya albiceps

التسلسل	اسم المركب	الصيغة الكيميائية	الوزن الجزيئي	زمن الجريان بالدقيقة	المساحة %
1	cis-cis-Linoleic acid	C18H32O2	280	17.404	28.12
2	Oxacyclohepadec-8-en-2-one	C16H28O2	252	17.404	28.12
3	9,12-Octadecadien-1-ol,(Z,Z)-	C18H34O	266	17.404	28.12
4	6-Octadecenoic acid,(Z)-	C18H34O2	282	17.509	0.88
5	10-Methylnonadecane	C20H42	282	18.629	0.40
6	Z,Z,Z-1,4,6,9-Nonadecatetraene	C19H32	260	18.792	0.41
7	Archidonic acid	C20H32O2	304	18.792	0.41
8	Gamolenic acid	C18H30O2	278	18.792	0.41
9	.omega.-3Marian Triglycerides	C20H30O2	302	18.792	0.41
10	5,8,11-Heptadecatrien-1-ol	C17H30O	250	18.792	0.41
11	13-Docosenamide,(Z)-	C22H43NO	337	19.268	0.52
12	8-Methyl-6-nonenamide	C10H19NO	169	19.268	0.52
13	Oleic acid amide	C18H3NO	281	19.268	0.52
14	Non-7-ynamide	C9H15NO	153	19.268	0.52
15	Alpha-Methyl-alpha-(4-methyl-pentenyl)oxiranemethanol	C10H18O2	170	19.268	0.52
16	Nonadecane,9-methyl	C20H42	282	20.612	0.28
17	Aspidofractinine-3-methanol	C20H26N2O	310	20.801	1.75
18	5,5-Dibutylnonane	C17H36	240	21.133	0.22
19	Nonadecane,2,6,10,14,18-pentamethyl-	C24H50	338	21.625	1.01
20	Eicosane,2,6,10,14,18-pentamethyl-	C25H52	352	21.910	2.94
21	Tetrapentacontane	C54H110	758	21.910	2.94
22	Hexacontane	C60H122	842	21.910	2.94
23	Hexadecane,2,6,10,14-tetramethyl-	C20H42	282	22.380	0.44
24	Eicosyl trifluoroacetate	C22H41F3O2	394	23.239	4.51
25	Docosyl heptafluorobutyrate	C26H45F7O2	522	23.239	4.51
26	Benzoic acid,2,3-bis((trimethylsilyl)oxy)-, trimethylsilyl ester	C16H30O4Si3	370	23.565	3.59
27	Silane,((4-(1,2-bis((trimethylsilyl)oxy)ethyl)1,2-phenylene)bis(oxy)bis(trimethyl-	C20H42O4Si4	458	23.565	3.59

28	DL-Norepinephrine,N,O,O,O-Tetrakis(trimethylsilyl)-	C ₂₀ H ₄₂ NO ₃ SI 4	457	23.565	3.59
29	1,37-Octatriacontadiene	C ₃₈ H ₇₄	530	24.540	0.19
30	1,30-Tricontanediol	C ₃₀ H ₆₂ O ₂	454	24.540	0.19
31	Heneicosyl trifluoroacetate	C ₂₃ H ₄₃ F ₃ O ₂	408	25.246	4.41



شكل (18) مرتسم كروماتوغرافيا الغاز للمحتوى الكيميائي للحشرة الكاملة تشمل جدار الجسم والاحشاء الداخلية للنوع *Chrysomya albiceps*

وتؤكد نتائج الجدولان (24 و 25) اختلاف نسب بعض المركبات الكيميائية في النوعين قيد الدراسة وقد امتاز أحد النوعين دون الآخر بظهور مركبات معينة وبنسب مرتفعة نوعاً ما، مثلاً تواجد المركبين Triaconatane و Tetracontane وبنسبة 4.95 % في النوع *Ch.megacephala*، والمركبين Eicosyl trifluoroacetate و Docosyl heptafluorobutyrate وبنسبة 4.51 % والمركب Heneicosyl trifluoroacetate وبنسبة 4.41 %، بينما ظهرت بعض المركبات الكيميائية في كلا النوعين ولكن بنسب متفاوتة.

ومن بين المركبات الكيميائية التي ظهرت في كلا النوعين هي المركبات ذات المحتوى الهيدروكربوني المتمثلة بالالكانات الخطية وهي تعد مركبات غير قطبية لا تذوب إلا في المركبات الغير قطبية ولكون الماء مركباً قطبياً لذلك فهي لا تذوب فيه لعدم قدرتها على تكوين اواصر هيدروجينية مع الماء، وهي

تعد بطبيعة الحال مركبات كارهه للماء Hydrophobic (Roux و Legal، 2008)، إذ تتفق نتائج هذه الدراسة مع دراسة (Nawrot، 1995) للنوع *Ch.megacephala* والذي كانت فيه الالكانات سائدة على بقية المركبات. وان المركبات الهيدروكاربونية لجدار جسم الحشرة تنتج من خلايا متخصصة تسمى Oenocytes وهي تكون مصاحبة لخلايا البشرة البطنية Abdomnal epidermal cells أو الأجسام الدهنية وتنتقل إلى خلايا البشرة بواسطة حامل بروتيني دهني متعدد الوظائف يسمى Lipophorin على هيئة مركبات مكونة من الكربون والهيدروجين فقط وهي تمثل أبسط أنواع الدهون، إذ يلعب الجسم الدهني أدواراً رئيسة في حياة الحشرات والذي هو عبارة عن نسيج ديناميكي يشارك في وظائف متعددة للتمثيل الغذائي ومن هذه الوظائف تخزين وإطلاق الطاقة استجابة لمتطلبات الحشرة فضلاً عن إنه يعتبر نوع من الغدد الصماء وينتج العديد من الببتيدات المضادة للميكروبات ويشارك في إزالة السموم، إذ إن لمعظم الحشرات القابلية على التحكم بكمية ونوعية الدهون تبعاً لتغيرات الظروف البيئية فيزداد إفرازها في الفصول ذات الحرارة المرتفعة ويقل أو يتوقف في الفصول الرطبة وهذا ربما يفسر تواجد هذه الحشرات في أغلب فصول السنة (Blomquist و Dilwith، 1985).

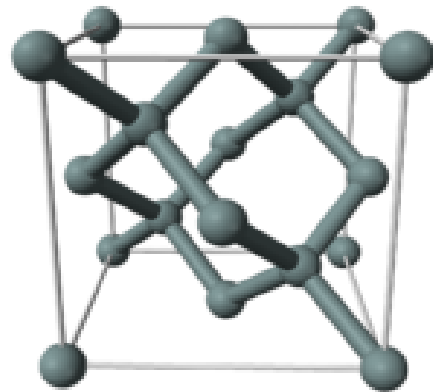
وقد أظهرت نتائج دراسة أجراها Nunes وآخرون (2009) على مستعمرات من النحل شملت مختلف الطوائف والأعمار والتي تم خلالها استخلاص النواة الجسمية للنحل عن طريق استخدام الهكسين المذيب غير القطبي وبواسطة جهاز كروموتوغراف غاز مقترن بمطياف الكتلة، إن المركبات التي تم تحديدها هي عبارة عن الكانات، والكانات متفرعة، والكينات، كما بينت التحليلات التمييزية اختلافات واضحة بين المجموعات التي تم تحليلها، فضلاً عن وجود فروق ذات دلالة إحصائية بين النحل من مستعمرات مختلفة.

لم تظهر نتائج الدراسة الحالية سيادة مركبات بنسب مرتفعة جداً مقارنة مع بقية المركبات مقارنة مع دراسات أخرى إذ سجل فيها إنفراد مركبات دون أخرى بنسب مرتفعة جداً من المجموع الكلي للمركبات الكيميائية في بعض أنواع الحشرات، ففي دراسة أجراها Mitko و Russell (2000) على أحد أنواع العث، حيث تم خلالها استخراج الهيدروكربونات من سطح البشرة ومن الغدة اللمفية باستخدام تقنية الـ GC-MS وخلالها تم التوصل إلى أن هذه الهيدروكربونات الجليدية هي نفسها التي كانت موجودة في الغدة اللمفية، وهذه الهيدروكربونات كانت مكونة من سلسلة مستقيمة مشبعة في الغالب، فضلاً عن تواجد سلاسل الألكين التي كانت كمياتها كبيرة نسبياً في الغدة اللمفية وفيها ظهرت سيادة المركب Heptacosane بنسبة 40% في إناث هذا النوع من حشرات *Lymontria dispar* (أحد أنواع العث). وقد تبين من خلال النتائج إن النوعين *Ch.albiceps* و *Ch.megacephala* متقاربان من ناحية طبيعة المكونات الكيميائية لجدار الجسم والأحشاء الداخلية، إذ أظهرت نفس المركبات في كلا النوعين اختلافات بسيطة في قيم بعضها وثبات البعض الآخر.

ومما تجدر الإشارة إليه أنَّ المركب Dienoic acid هو الذي أظهر أعلى نسبة في كلا النوعين وكما موضح في الجداول أعلاه. وبما إن هذا المركب يعد من المركبات الكيميائية عالية الوزن الجزيئي فهو ربما يساهم في زيادة مقاومة النوع للظروف الغير الملائمة كارتفاع درجات الحرارة وغيرها وهذا ربما يزيد من احتمالية بقاء الأنواع وصمودها أمام الظروف الصعبة (Phillips وآخرون، 1988)، وهذا يتفق مع دراسة Anyanwu وآخرون (2000) على سلالات من *Anophiles* تم خلالها التعرف على التباين في الهيدروكربونات الجزيئية باستخدام كروماتوغرافيا الغاز السائل لليرقات والذي أشارت نتائج تحليل التمايز الطبقي الحيوي الذي اشتمل على إحصائيات متعددة المتغيرات فيه إلى وجود اختلاف واضح للهيدروكربونات بين السلالات، ويمكن أن يعزى السبب وراء هذه الاختلافات إلى التنوع الجغرافي لهذه السلالات وإن هذه الاختلافات تلعب دوراً رئيسياً في اختيار الشريك عن طريق الكشف

عن مركبات محددة ومكونات أخرى لطبقة الدهون الشحمية كالأحماض الدهنية والكحول والستيرول والالديهيدات وغيرها، بالإضافة إلى إنها تساعد في تمييز الأنواع المحتملين في المواقع التي تتعايش فيها.

ومن بين الاختلافات في المركبات الكيميائية في كلا النوعين يلاحظ ظهور مركبات السليكون في النوع *albiceps* Ch. كما هو مبين في Line:26 ، Hit:1,2,3,4,5 في الملحق (١) الخاص بهذا النوع، إذ تعد مركبات السليكون من المركبات الكارهة للماء وبذلك فهي توفر حماية للحشرة كونها تذوب فقط في المركبات غير القطبية لأنها من المركبات القطبية وبسبب كون الماء مركباً قطبياً فهي لا تذوب في الماء لعدم قدرتها على تكوين أواصر هيدروجينية وتعد بطبيعة الحال مركبات كارهة للماء Hydrophobic. وإن لمركبات السليكون أهمية في جعل طبقة الدهون المغطية المحيطة بجدار الجسم أقل سيولة مما يزيد من قلة نفاذيتها للماء وهذا ما يجعل الحشرة أكثر مقاومة وصموداً ضد الظروف الصعبة الجافة (Francesca، 2009).



صورة (١٣) التركيب الكيميائي لعنصر السليكون.

الفصل الخامس

الاستنتاجات والتوصيات

Conclusions and Recommendation

5 - الاستنتاجات والتوصيات Conclusions and Recommendations

1-5 الاستنتاجات Conclusions

١- وجود تنوع وراثي جزئي بسيط بشكل طفرات نقطية Point Mutations من نوع الحذف والاستبدال في بعض القواعد النتروجينية للعينات العائدة للنوع *Ch.megacephala* والنوع *Ch.albiceps* والتي جمعت من بعض مناطق محافظة ديالى عند دراسة التسلسل ألتتابعي لجزء من جيني دنا المايتركوندريا وهما COI و COII .

٢- وجود تنوع وراثي كمي بسيط في شكل الجناح وحجمه لبعض ذكور واثاث النوعين *Ch.albiceps* و *Ch. megacephala* عند استعمال المقياس الهندسي لشكل الجناح وحجمه .

٣- وجود تنوع كيميائي في محتوى جدار الجسم والاحشاء الداخلية لكاملات النوعين *Ch.albiceps* و *Ch.megacephala* والتي استخلصت مركباتها الكيميائية باستخدام تقنية كروموتوغرافيا الغاز المزود بمطياف الكتلة .

2-5 التوصيات Recommendations .

١ - القيام بدراسة وراثية جزيئية موسعة وشاملة للنوعين *Ch.albiceps* و *Ch.megacephala* من خلال دراسة التسلسل التتابعي للجينات الأخرى الموجودة في DNA النواة و DNA الماييتوكوندريا على أن يتم جمع عيناتها من محافظات أخرى تعود لمناطق العراق المختلفة وذلك باستخدام تقنية تفاعل أنزيم البلمرة المتسلسل الـ PCR لأن تلك التقنية تعطي نتائج دقيقة 100%.

٢ - القيام بإجراء دراسات وراثية جزيئية على مناطق أخرى في ألدنا الماييتوكوندري mtDNA أما بالطريقة نفسها أو باستخدام تقنيات مختلفة مثل ISSR, AFLP, RFLP, RAPD .

٣ - اجراء مقارنة وراثية جزيئية وكمية واسعة وشاملة بين هذين النوعين ولعينات مجموعة من شمال العراق ووسطه وجنوبه باستخدام نفس الجينات وكذلك استخدام تقنية المقياس الهندسي لمعرفة مدى تقاربها وراثيا .

٤ - أجراء دراسة وراثية خلوية على هذين النوعين وعلى المستوى الكروموسومي والمقارنة بينهما من ناحية طول وتصنيف الكروموسومات وموقع السنترومير لها .

٥ - القيام بدراسة تباير شكل الجناح الأيسر وحجمه وباستخدام تقنية المقياس الهندسي لشكل الجناح وحجمه على أنواع أخرى من الذباب التابعة لنفس الجنس الذي ينتمي له هذين النوعين في العراق .

٦ - القيام باجراء دراسة كيميائية على هذين النوعين وباستخدام تقنية كروماتوغرافيا الغاز المزود بمطياف الكتلة وباستخدام مذيبات أخرى غير التي استخدمت في هذه الدراسة لمعرفة مدى تقاربها من الناحية الكيميائية .

المصادر

Reference

أولاً:المصادر العربية:

- البراقى ، محمد علي وكرنوي ، ليونيل والبراقى خالد.(2009).التحليل الوراثي لنحلة العسل السورية *Apis mellifera Syriaca* ودراسة تنوعها الحيوي باستخدام معلومات جزيئية متخصصة ، المؤتمر السادس للنحالين العرب ، السعودية ، ٩-١ .
- التميمي ، حسين محمد بريسّم.(2016). دراسة العلاقة الوراثية الجزيئية والكمية بين ثلاثة مجتمعات سكانية لذبابة الدودة الحلزونية للعالم القديم، رسالة ماجستير، كلية التربية للعلوم الصرفة /جامعة ديالى ،العراق .
- الربيعي ، حسين فاضل ، الطويل ، اياد وخلف ، محمد زيدان .(2016).النظم المتكاملة لادارة الآفات الحشرية . المفاهيم والوسائل والاستراتيجيات ، دار الجوهرى للنشر والتوزيع . بغداد شارع المتنبي : 229 صفحة .
- السامرائي ، ازهار عبد المجيد حسين .(2017).التكامل في مكافحة ذبابة التدويد الثانوي كبيرة الراس *Chrysomya megacephala*(Fabricius,1794) باستعمال عزلتين مختلفتين الفطر *Metarhizium anisopliae*(Metschnikoff) Sorokin والمبيد النباتي الأصل Supernemaic في مدينة بغداد ، اطروحة دكتوراه ،كلية التربية للعلوم الصرفة /ابن الهيثم / جامعة بغداد ،العراق .
- الصالح ، عبد العزيز عبد الرحمن .(2007) .البصمة الوراثية، سلسلة الكتب العلمية الثقافية ، كلية العلوم، جامعة بغداد ، العراق. ص: 147-150 .
- الصالحى ، أروى علاء حسين علوان.(2018). دراسة التغيرات الوراثي الجزيئي والكمي بين ثلاثة مجتمعات سكانية للذبابة المنزلية *Musca domestica* (Diptera:Muscidae) Linnaeus,1758 في العراق . رسالة ماجستير ، كلية التربية للعلوم الصرفة /جامعة ديالى ، العراق .

القرة غولي ، عمار احمد سلطان .(2013).دراسة وراثية ووراثية خلوية لثلاث مجتمعات سكانية

لذبابة ثمار القرعيات (*Dacus ciliatus* (Loew) (Diptera:Tephritidae) ، أطروحة

دكتوراه ، كلية التربية - جامعة تكريت ، العراق .

أبو الحب ، جليل كريم .(2004).الحشرات المسببة للأمراض . الطبعة الأولى

.مطابع دار الشؤون الثقافية العامة : 215 صفحة .

شامر ، نادية كاظم وكريم ، ضياء خليف .(2013).أستخلاص وتشخيص

المركبات الهيدروكاربونية لكيوتكل بعض أنواع عائلة الذباب الازرق المعدني باستخدام تقنية كروماتوغرافيا الغاز المزود بمطياف الكتلة ،مجلة ابحاث البصرة .العدد -٣٩، الجزء ٢.

جواد ، مهدي محمد .(2012).دراسة تصنيفية مظهرية ووراثية على حشرة ذبابة البحر المتوسط

Ceratitis capitata (Wiedemann 1824) (Diptera : Tephritidae) في بعض

من محافظات وسط العراق . أطروحة دكتوراه، كلية التربية للعلوم الصرفة/ ابن الهيثم ، جامعة بغداد ، العراق .

عبد الرسول ، محمد صالح ، عكل ، رزاق شعلان وعبد الحسين ،هناء هاني .(2009).التواجد

الموسمي ليرقات الطور الثالث للذبابة المتواجد على الجثث المكشوفة . مركز بحوث ومتحف التاريخ الطبيعي .10(4) : 1-9 .

عكيلي ، رياض علي ، محمد ، احمد جاسم ، عباس ، عبد الكريم صادق ، حمد ، باسم شهاب

.(2016). الاصابة الموسمية بيرقات أنواع الذباب المسبب للتدويد الجرحي Traumatic

myiasis في محافظة بابل، مجلة الكوفة للعلوم الطبية والبيطرية . المجلد -7 ، العدد 1 .

عكيلي ، رياض علي.(2010).دراسة بيئية وحياتية لذبابة التدويد الثانوي كبيرة الراس *Chrysomta*

megacephala تحت الظروف الحقلية ومدى إمكانية استخدام نظام المعلومات الجغرافية

بوصفه مؤشراً لظهور الآفة وانتشارها في محافظة بابل،اطروحة دكتوراه ، كلية العلوم للبنات /جامعة بغداد ،العراق .

متولي ، حامد بن محمد ، سرحان ، اسامة محمد ، ابو زيد ، ايهاب معاذ والحواجري ، مجدي شعبان

(2008).دراسة عن بعض اهم الحشرات الطبية بمكة المكرمة اثناء موسم الحج .

موسى ، حوراء .(2012).علم الحشرات الجنائي ودوره في الكشف عن الجريمة . مجلة المعهد :العدد

. 32-12: 31

نوشي ، زهراء سعد.(2010).المكافحة الاحيائية لبعض ادوار الذبابة المعدنية *Chrysomya albiceps*

(Wiedemann,1819) باستخدام الفطر *Metarhizium* (Metschnikoff) Sorokin

anisopliae والبكتريا *Basillus thuringiensis Berliner*،رسالة ماجستير، كلية

التربية للعلوم الصرفة/جامعة بغداد ،العراق .

هادي ، أفكار .(2013).عزل وتشخيص بيوض، أكياس وأكياس بيض بعض الطفيليات المعوية من

نوعين من عائلة Calliphoridae في بغداد . مجلة ابن الهيثم للعلوم الصرفة والتطبيقية

. 74-64: (1)26.

ثانياً:المصادر الإنكليزية :

Adams, D.C.; Rohlf, F.J. and Slice, D.E. (2004) Geometric morphometrics :

ten years of progress following the ‘revolution’ Italian J. of Zoo.71: 5-1

Ahmed,S. ;Ashraf,M.R. ;Hussian,A. and Rias,M.A.(2009).Pathogenicity of

Isolate of *Metarhizium anisopliae* from Gujiranwala (Pakistan) against

Coptotermes heimi (Wasmann) (Isoptera:Rhinotermitidae) ,J.Agr.Bio1.,

11: 707-711 .

Aklilv, E.(2011). Ectoparasites of Veterinary importance ,Veterinary

University Malaysia – Kelantan faculty of veterinary medicine , Malaysia,

:1-59 .

Alattal , Y.; Alsharhl, M.; Alghamdl, A.; AlfaIfy ,S.; Migdadi, H. and Ansari

M., (2014). Characterization of the native honey bee subspecies in Saudi

Arabia using the mtDNA COI-COII intergenic region and morphometric characteristics.- Bull of Insec, 67 (1): 31-37.

Al-Taweel ,A.A.; Al-Izzi, M.M.J. and Jassim, F. A.(2000).Incidence of Old World Screwworm fly ,*Chrysomya bezziana* in Iraq .Area wide control of fruit flies and Other Insert pests. Edited by Tan K. H.; Penerbit University Sains ,Malaysia, Penang,101-105 .

Aly, S.M. ; Wen, J. ;Wang, X. and Cai, J.(2012).Cytochrome oxidase II gene "short fragment" applicability in identification of forensically important insects. Romanian Society of Legal Medicine .(20) :231-236 .

Augul, R. S. and Jassim, S. Y. (2009). Study of some biological and ecological aspects of the fly *Chrysomya albiceps* (Wiedemann, 1819) (Diptera: Calliphoridae). J. Al-anbar University Pure Sci., 3 (1): 1-4.

Aytekin, A. M.; Terzo, M.; Rasmont P. and Çağatay, N. (2007) Landmark Based Geometric morphometric analysis of wing shape in *Sibiricobombus Vogt* (Hymenoptera: Apidae: *Bombus* Latreille). Annales de la Société Entomologique de France,43:95-102.

Barr, N. B.; Islam, M. S.; De Meyer, M. and Mccpherson, B. A . (2012). Mitochondrial identification of *Ceratitidis capitata* (Diptera: Tephritidae) using DNA sequences of the COI barcode region. Ann. Entomol . Soc. Am.,105(2):339-350.

Bharti ,M.(2009).Some Notes On Medically Important Flies (Diptera : Calliphoridae) from India .Halters,1(1):66-71 .

Biswas,B. and Kaplay,R.D.(2011).*Azadirachea indica* (Neem):its Economic Utili and Chances for Commercial Planned Plantation In Naded District ,Int.J. Pharm., 1(2): 100-104 .

Bloch, G.; Francoy, T. M.; Wachtel, I.; Panitz-Cohen, N.; Fuchs, S. and Mazar, A.(2010).Industrial apiculture in the Jordan valley during Biblical times with Anatolian honeybees proc. Natl. Acad. Science. USA. 107 : 11240-11244.

Blomquist, G.J. and Ann-Genevieve, B.(2006).Introduction :history and overview of insect hydrocarbons . Cambridge University press .

Blomquist, G.J. and Dillwith, j.w. (1985). Cuticular lipids in Kerkut , G.A.; Gilbert , L.I.; eds. Comprehensive insect Physiology , biochemistry and

pharmacology . Vol.3 integument respiration and Circulation. Oxford : Pergamon, Pp.: 117-154 .

Bologia, J.L; Jorizzo, J.L. and Rapini, R.P.(2008). Dermatology. 2and Ed. Vol2.st. Louis : Mosby Elsevier.1301PP.

Bookstein, F. L.(1991). Morphometric Tools for Landmark Data: Geometric and Biology. Cambridge University press, Cambridge, 435PP .

Boonsriwong, W. ;Sukontason, K. ;Vogtsberger, R. C. and Sukontason, K. L. (2011). Alimentary canal of the blow fly *Chrysomya megacephala* (F) (Diptera: Calliphoridae) :An emphasis on dissection and morphometry. Journal of Vector Ecology .Vol .36 ,no. 1 .

Bounechada, M. ;Beuia, F. and Aiouaz, M.(2011).Use cuticular hydrocarbons as chemotaxnomic of the pamphagus elephas (Insecta , Orthoptera) of Algeria. World Academy of science . Engineering and Technology 77 .

Breuker, C. ; Gibbs , M.; Merckx , T. And Van, H.(2010).The Use of Geometric morphometric in studying Buttrfly Wings in an Evolutionary Ecological context. Part of the [Lecture Notes in Earth Sciences](#) book series (LNEARTH, volume 124)Pages:275-287.

Bubliy, O. A.; Tcheslavaskaia, K. S.; Kulikov, A. M.; Lazebny, O. E. and Mitrofanov, V. G.(2008).Variation of wing shape in the *Drosophila virilis* species group (Diptera:Drosophilidae). J. Zool. Syst. Evol. Res.,46 :38-47 .

Casper. J. B.; Gibbs, M.; Dongen, S. V.; Merckx, and Dysky, H. V. (2010).The use of Geometric Morphometrics in studying Butterfly wings in an Evolutionary Ecological context. Morphometrics for Non morphometricians, Lecture Notes in Earth sciences 124.Springer-Verlag Berlin Heidelberg. Chapter,12 : 272-287 .

- Caterino**, M.S.; Cho, S. and Sperling, F.A.H. (2000). The current state of molecular systematics: a thriving Tower of Babel. *Annu. Rev. Entomol.*, 45: 1–54.
- Chaiwong**, T. ; Srivoramas, T ; Sueabsamran, P. ; Sukontason, K ; Sanford, M.R. and Sukontason, K.L. (2014). the Blowfly, *Chrysomya megacephala* , and the House Fly , *Musca domestica* , as Mechanical Vectors of Pathogenic Bact-Eria in Northeast Thailand . *Trop. Biomed.*, 31(2):336-346 .
- Chandra**, S. B. C.; VIK, J. L. and kapatral, V.(2006). Comparative insect mitochondrial genomes: Differences despite conserved genomes synteny. *African J. Biotech.*, 5(14): 1308-1318 .
- Chong**, Y. V.; Chua, T. H. and Song, B. K.(2014). Genetic variation *Chrysomya megacephala* populations in Malaysia (Diptera:Calliphoridae) . *Advances in Entomology*. 2(1): 49-56.
- Depto**, H. K.; Collins, E. and Woods, R.(2006). Study the genetic variability of quantitative between different populations of *Apis mellifera* (Hymenoptera:Apidae). *Apidologie*, SpringerVerlag, 24(3): 304-312 .
- Derriak, J.G.B. ; Heath, A.C.G. and Rademaker, M.**(2010). Human Myiasis in New Zealand: Imported and indigenously-acquired cases ,the specie of coucern and clinical aspects *NZMJ.*, 123(1322):21-38 .
- Doğaç**, Ersin.(2016). Mitochondrial genetic variations in natural house fly (*Musca domestica* L.) populations from the western and southern parts of Turkey. *Mitochondrial DNA A DNA Mapp Seq Anal.* ;27(5):3802-3807.
- Dowton** ,M. ;Cameron ,S.L. Dowavic ,J.I. ; Austin ,A.D. and Whiting ,M.F. (2009). Characterization of 67 Mitochondrial tRNA Gene rearrangements in the Hymenoptera Suggest that Mitochondrial tRNA Gene Position is Selectively Neutral . *Molecular Biology of Evolution* .26(7): 1607-1617 .

- Dujardin, J. P. ; Ya-umphan , P. ; Phumala-Morales, N. and Vargas, R. E. M.** (2010) . Climate associated size and shape in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) Populations from Thailand. *Infection, Gen. and Evo.* 10: 580-585.
- Esseghir, S.; Ready, P. D. and Ben-Ismaïl, R.**(2000). Speciation of *Phlebotomus* Sand flies of the subgenus *Larroussius* coincided with the late Miocene - Pliocene aridification of the Mediterranean sub region. *Biological. Journal of the Linnean Society*,70: 189-219.
- Fernandes,E.K. ;Rangel,D.E. ;Moraes,A.M. ;Bittencourt,V.R. and Roberts, D.W.** (2008).Cold activity of *Beauveria* and *Metarhizium* , and thermotolerance of *Beauveria*. *J.Inverteb . Pathol.*, 98 :69-78 .
- Fernandes,L.F. ;Pimenta,F.C. and Fernandes F.F.**(2009).First report of human myiasis in Goiás state,Brazil:frequency of different types of myiasis , their various etiological agent, and associated factors .*J. Parasitol.*, 95: 32-38 .
- Francoy, T. M.; Prado, P. P. R.; Goncalves, L. S.; Costa, L. D. and De Jong, D.**(2006).Morphometric differences in a single wing cell can discriminate *Apis mellifera* racial types. *Apidologie*.37:9197.
- Francoy, T. M.; Wittmann, D.; Drauschke, M.; Muller, S.; Steinhage, V.; Bezerra-Laure, M. A. F.; De Jong, D. and Goncalves, I. S.** (2008).Identification of Africanized honey bees through wing morphometrics: two fast and efficient procedures. *Apidologie*. 39: 207- 214.
- Francoy, T. M.; Silva, R. A. O.; Nunes-Silva, P.; Menezes, C. and Imperatriz-Fonseca, V. L.**(2009). Gender identification in five genera of stingless bees (Apidae, Meliponini) based on wing morphology. *Gen. Mol. Res.*, 8 :207-214.
- Francesconi, R.D.**(2009). Cuticular lipids as semiochemicals in paper wasps and other social insects. *Ann. Zool. Fennici*. 43: 500-514 .

Francesconi,F. and Lupi,O.(2012). Myiasis. Clin. Microbial. Rev., 25(1): 79-104 .

Gabre,R.M. ;Adham,F.K. and Chi,H.(2005).Life Lable of *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Diptera:Calliphoridae) Acta Oecologica., 27:179-183.

Galal , L.A.; Abd-El-hameed , S.Y.; Atta , R.A. and Uonis , D.A.(2009). Aninitial study on arthropoda. Succession exposed human tissues in Assiut ,Egypt . Mansoura J. Forensic Med .Clin .Toxicol .,17(1): 55-74 .

Guo, Y.D; Cai, J.F; Li. X; Xiong, F; Su, R.N; Chen, F.L; Liu, Q.L; Wang, X.H; Chang, Y.F; Zhong, M; Wang, X and Wen, J.F.(2010). Identification of the forensicallyimportant sarcophagid flies *Boerttcherisca peregrina*, (*Parasarcophaga albiceps* and *Parasarcophaga dux* (Diptera: Sarcophagidae COII gene in China. Trop Bio. 27(3):451-60. based on

Hadi , A.M.(2013).Isolation and Identification of Some Intestinal Parasites Eggs, Cysts and Oocysts from tow Species of Diptera : Calliphoridae in Baghdad. Ibn-Al-Tlaithan Jour . For Puret Appl.Sci.,26(1): 64-74 .

Hall, M. J. R.; Macleod. N. and Wardhana, A. H.(2014).Use of wing morphometric to identify populations of the Old World Screwworm fly, *Chrysomya bezziana* (Diptera: Calliphoridae):A preliminary study of the utility of museum specimens. Acta Tropica , G Model Actrop-3330, 7PP.

Harvey ,M.L. ;Dadour , I.R. and Gaudieri ,S.(2003).Mitochondrial DNA cytochrome oxidase I gene :potential for distinctin between immature stages of some forensically important fly species (Diptera) in western Australia . *Forensic Science International* 131: 134-139 .

- Ihemanna**, C . A.; Etussim. P. E.; Kalu, M . K.; Adindu, R. U. and Iruoha, G (2013).Diptera : the order of great public health nuisance. Glo. Adv. Res. J .Environ. Sci. Toxicol., 2(5): 135-143 .
- Johnson**, L.; Mantle, B. L.; Gardner, J. L. and Backwell, P. R. Y. (2013). Morphometric measurements of dragonfly wing: The accuracy of pinned ,scanned and detached measurement methods. Zookeys. 276 :77-84.
- Jorian**, P.; Fihz, G.; Nil, R.; Fouad, Q.; Souad, A . B.; Ann-Laure, B. ; Denis, S. and Bulent, A.(2012).Wing size and shape variation of *Phlebotomus Papatasi* (Diptera: Psychodidae) Populations from South and North Slopes of the Atlas Mountains in Morocco. Journal of Vector Ecology, 37(1): 137-147.
- Kaor**, I. ;Yoshiyuki, H. ;Chihiro, K. and Masahito, T.(2000).Sexual isolation and cuticular hydrocarbons in *Drosophila elegans* .Heredity . 87: 392-399 .
- Khataminia**, G.; Aghajanzadeh, R.; Vazirianzadeh, B. and Rahdar, M .(2011). Orbital myiasis. J Ophthalmic Vis Rese., 6(3): 199-203.
- Lessinger**, A. C.; Junqueira, A. C. M.; Lemos, T.A.; Kemper, E. L.; da Silva, F. R.; Vettore, P. A. and Azeredo-Espin, A. M. L. (2000) . The mitochondrial genome of the primary Screwworm fly, *Cochliomyia hominivorax* (Diptera:Calliphoridae). Insect molecular Biology., 9(5) :521-529.
- Levot** , G.W.(2003).Insect Fauna used to estimate the post – mortem interval of deceased persons . General and Applied Entomology 32(31-39) of Entomological Research 88: 577-600 .
- Liu**, L.; Liu,J. and Wang, Q. - NADH Dehydrogenase 4 (ND4) Genes Ndayiragije, P.; Ntahimpera, A.; Nkubaye, E.; Yang, Q. and Li, Z. (2011). Identification of *Bactrocera invadens* (Diptera: Tephritidae) from Burundi based on morphological characteristics and DNA barcode. African J. Biotech., 10(62):13623-13630.
- Lyra**, M. L.; Hatadani, L. M.; de Azeredo-Espin, A. M. L. and Klaczko, L. B. (2009).Wing morphometry as a tool for correct identification of primary and secondary Screwworm fly. Bull. Entomology.Res.,100 : 19-26.

- Macleod**, N; Hall.M.J.R. and Wardhana,A.H.(2018).Towards the automated identification of *Chrysomya* blow flies from wing images. Medical and Veterinary Entomology .
- Macleod**, N.(2009).Who is Procrustes and what has he done with my data ? Palaeontol. Assoc. News, 70 :21-36.
- Marchiori** ,C.H.(2014).Species of Diptera Medical,Canitary and Veterinary Importance Collected from Buffalo and Cattle Dung in South Goies , Brazil. Int .J. Appl Sci and Tech .,4(2): 54-57 .
- Marcus**, L. F.(1990).Chapter 4. Traditional Morphometrics. In Proceeding of the Michigan Morphometric Workshop. Special publication No.2. F. J. Rohlf and F. L. Bookstin. Ann. Arbor MI, The University of Michigan Museum of Zoology, 77-122.
- Mondal** ,Ritwik; Devis , N. P. and Jauhari, R.K. (2015), Landmark-based geometric morphometric analysis of wing shape among certain species of *Aedes* mosquitoes in District Dehradun (Uttarakhand India. J. Vector Borne Dis 52: 122–128 pp..
- Montooth**,K.L.; Dawn,N.A.; Hofman,J.W. and Rand,D.M.(2009).Comparative genomics of *Drosophila* mtDNA : Novel features of conservation and change across functional domains and Lineages . Journal of Molecular Evolution 69: 94-114 .
- Moraes**, E. M.; Spressola, V. L.; Prado, P. R. R.; Costa, L. F. and Sene, F. M . (2004).Divergence in wing morphology among sibling species of the *Drosophila buzzatii* cluster. J. Zoology. Syst. Evolution. Res., 42 :154-158.
- Moraes**, A.; Morator, C.; Suesdek, L. and Marrelli, M. T. (2010).Genetic-Morphometric variation in *Culex quinquefasciatus* from Brazil and Laplata, Argentina. Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 150(5): 672-676.

- Nabity, P.D.** ; Higley, L.G. and Heng – Moss, T.M.(2006). Effect of Temperature on the Development of *Phormia Regina* (Diptera : Calliphoridae) and Use of Development Data in Determining Time Interval in Forensic Entomology, J. Med. Entomol., 43(6):1276-1286.
- Nawrot, J.** ; Malinski, E. and Szafrenek, J.(1995). Function and composition of cuticular hydrocarbons of stored product insects. Proceeding of the 6 international working Conference on stored-product protection. 1: 553-561 .
- Nelson, L.A.** ; Wallman, J.F. and Dowton, M.(2008). Identification of Forensically Important *Chrysomya* (Diptera : Calliphoridae) species using the second ribosomal internal transcribed spacer (ITS2) . Forensic science International 177(2-3) : 238-247.
- Nemesio, A.**(2010). The orchid-bee fauna (Hymenoptera: Apidae) of a forest remnant in northeastern Brazil, with new geographic records and an identification key to the known species of the Atlantic Forest of northeastern Brazil. Zootaxa, 2656 :5-66.
- Nunes, T.M.** ; Turatti, I. ; Mateus, S. ; Naseimento, F. ; Lopes, N. and Zucchi, R.(2009). Cuticular hydrocarbons in the stingless bee *Schiwarizana quadripunctate* (Hymenoptera, Apidae, Meliponini) : differences between colonies, castes and age . Genetic and Molecular Research 8(2): 589-595 .
- Patra, S.** ; Purkaiat, R. ; Basu, R. ; Konar, M.S. and Sarkar, D.(2012). Umbilical Myiasis Associated with *Staphylococcus Aureus* Sepsis in Neonate . J. Clin Neonate, 1(1):42-43 .
- Phillips, A.**; Milligan, P.J.; Broomfield, G. and Molyneux, D.(1988). Identification of medically important Diptera by analysis of cuticular hydrocarbons . in Biosystematics of Haematophagous insect, ed. Service M.W. Oxford : Clarendon Press .

- Pont-Kingdom, G.; Vassort ,C. G.; Warrior, R. and Okimoto, R.** (2000).Mitochondrial DNA of *Hydra attenuata* (Cnidaria): A sequence that includes an end of one linear molecule and the genes for I-rRNA ,tRNA (f-met), tRNA (trp), COII and ATPase 8. J. Mol. Evol. 51(4):404-415.
- Prudhomme, J.; Guny, F., Rahola, N.; Ouanaimi, F.; Guernaoui, S.; Boumezzough, A.; Banuls, A.; Sereno, D. and Alten, B.**(2012).Wing size and shape variation of *Phlebotomus papatasi* (Diptera: Psychodidae) Populations from the South and North slopes of the Atlas Mountains in Morocco. J. Vector Ecology, 37(1): 137-147.
- Ratnasingham , S. and Hebert , P.D.N.**(2007).BOLD. the barcode of life data system *Molecular Ecology Notes* 7: 355-364 .
- Ready, P. D.; Testa, J. M.; Wardhana, A.; Al-Izzi, M. A. J.; Khalag, M. and Hall, M. J. R.**(2009).Phylogeography and recent emergency of the Old World screwworm fly, *Chrysomya bezziana*, based on mitochondrial and nuclear gene sequences. Medical and Veterinary Entomology, 23(1-1) : 43-50.
- Ren,J. ;Bai,M.; Yang,X.; Zhang,R. and Ge,S.**(2017). Geometric morphometrics analysis of the hind wing of leaf beetles : proximal and distal parts are separate modules. ZooKeys , 685: 131-149 .
- Ricardo, E.; Uriel, K.; Jena, D.; Pierre, Schacter-Broide. and Judith, G.A.**(2009). Temporal Variation of wing size and shape of *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae). Populations from Northwestern Argentina using geometric morphometric.Pubmed. Topics by science . gov., 62:156-163.
- Rohlf, F. J.** (2007) . TPs UTIL . Department of Ecology and Evolution , State University of New York at Stony Book.
- Rossi-Schneider, T.; Cherubini, K.; Yurgel, L.S.; Salum, F.and Figureueiredo, M. A.**(2007). Oral myiasis: a case report. J Oral Science, 49(1): 85-88.

- Roux, O.** and Legal, L.(2008).Ontogenetic study of three Calliphoridae of forensic importance through cuticular hydrocarbons analysis . Medical and Veterinary Entomology . 22: 309-317 .
- Russell, A.J.** and Mitko, S.(2000). Identification of cuticular hydrocarbons and the alkene precursor to the pheromone in Hemolymph of the female Gypsy Moth , *Lymantria dispar* . Archives of insect Biochemistry and Physiology . 43: 108-115 .
- Ruttner, F.**(1988).Biogeography and Taxonomy of Honeybees. Springer Verlag, Berlin, 14:182-193.
- Ruttner, F.;** Tassencourt, L.and Louveaux, J.(1978).Biometrical-statistical analysis of the geographic variability of *Apis mellifera* L. Apidologie, 9:363-381.
- Sathe, T.V. ;**Sathe, A. and Sathe, N.A.(2013).Diversity of Dipterous Forensic Insects from Western Maharashtra , India . Int .J. Pharm . Bio. Sci.Apr.,4(2): 173-179 .
- Sendaydiego, JP. ;** Torres, M.A.Jand Demayo CG(2013). Describing wing geometry of *Aedes aegypti* using landmark-based geometric morphometrics. Int J. Biosci .Biochem. Bioinformatics; 3(4): 83-3379.
- Shah, A. H.J.;** Malik ; Aamir, H. and AJavaaria Q.(2013).Genetic Variant of *Bemisia tabaci* from Pakistan .
- Shaheen , M.S.** and Fathy ,H.M.(2008) Surface Ultrastructural changes on third instar larvae of *Chrysomya albiceps* (Diptera:Calliphoridae) induced by codeine phosphate . Mansoura J. Forensic Med .Clin .Toxicol.,16(1): 61-72 .
- Shinohara, E. H.;** Martini, M. Z. ; Oliveira Neto, H. G. and Takahashi, A.(2004). Oral myiasis treated with ivermectin: case report. Braz J; 15: 79-81. Dent.

- Silveira**, F. A.; Pinheiro-Machado, C.; Alves- dos-Santos, I.; Kleinert , A. M. P. and Imperatriz-Fonseca, V. L.(2006).Taxonomic constraints for the conservation and sustainable use of wild pollinators-the Brazilian wild bees. In: Kevan, P. Imperatriz-Fonseca, V. L.(eds.) Pollinating Bees. The conservation link between agriculture and nature. 2nd Edition, PP: 47-56.
- Simon**, C.; Frati, F.; Beckenbach, A.; Crespi, B.; Liu, H. and Flook, P.
(1994) . Evolution weighting and phylogenetic utility of mitochondrial genesequences and a compilation of conserved polymerase chain reaction primers. Ann. Entomol.soc.Amer., 87: 651-701.
- Singh** ,J. and Sharma ,B.R.(2008).Forensic entomology :A supplement to forensic death investigation . J. Pafmat .,8(1): 26-33 .
- Singh**, B.; Kurahashi, H. and Wells, J. D.(2011). Chrysomyinae (Diptera: Calliphoridae) is monophyletic: a molecular systematic analysis. Syst. Entomology, 36: 415-420 .
- Singleton**, M.; Rosenberger, A . L.; Robinso, C. and Neill, O. R. (2011). Allometric and metameric shape variation in pan mandibular analysis. Anatomical Record, 294(2): 322-334.
- Sonting**, N.; Sukontason, K.L.; Zajac, B.K.; Zehner, R.; Sukontason, K; Wannassan,A. and Amendt,J. (2017).Wing morphometrics as a tool in species identification of forensically important blow flies of Thailand .Parasites & Vectors , 10 :229 .
- Spradbery**, J.P.(2002).Amatural for the diagnosis of screw-worm fly. Canberra, Australia: Commonwealth Scientific and industrial Research organization Department of Agriculture Fisheries and Forestry, Division of Entomology. 62pp.
- Szalanski**, A. L. and Carrie B.O.(2003). Sequence change and phylogenetic signal in muscoid COII DNA Sequences. DNA Sequence,14 (4), 331–334.
- Testa**, J. M.; Montoya-Lerma, J.; Cadena, H.; Oviedo, M. and Ready, P. D. (2002).Molecular identification of vectors of *Leishmania* in Colombia: Mitochondrial introgression in the *Lutzomyia townsendi* series Acta Tropica ,84: 205- 218.
- Tofilski**, A.(2008).Using geometric morphometrics and standard morphometry to discriminate three honey bee subspecies. Apidologie , 39 :558-563.

- Tsuda**, S.; Nagaji, J.; Kurose, K.; Miyasato, M.; Sasai, Y. and Yoneda, Y.(2007). Furuncular cutaneous Myiasis caused by dermatobia Hominis Larvae following travel to Brazil. Int. J. Dermatology, 35(2):121-123.
- Turchetto**,M. (2009). Records of *Chrysomya albiceps* in Northern Italy: anecological and forensic perspective. Mem .Inst .Oswaldo Cruz ., de Janeiro., 104(4) :555-557 . Rio
- Vargas** ;Morales,R.E;Ya-Umphang, P.; Phumala- Morales N.; Komalamisra, N. and Dujardin, J.P.(2010). Climate associated size and shape changes in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) populations from Thailand.Infect Genet Evol., 10(4):5-580.
- Vasquez**, M. and Liria, J.(2012). Geometric Morphometric alar para la identification de *Chrysomya albiceps* and *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae) de Venezuela. Rev. Bio. Trop., 60: 1249-1258.
- Vanin**,S. ;Caenazzo,L. ;Arsine,A. ;Cecchetto,G. ;Cattaneo,C. and Turchetto , M.(2009).Records of *Chrysomya albiceps* in Northern Italy : an ecological and forensic perspective. Mem Inst Oswaldo Cruz , Rio de Janeiro ,Vol 104(4) : 555-557 .
- Whitworth**, T. (2012).Identification of Neotropical blow flies of the genus *Calliphora* robineau-Desvoidy (Diptera : Calliphoridae) with the . description of anew species. Zootaxa 3209: 1-27
- Wilson**, G. M., Kendra S. B., and William C.(2007). Lack of Population Genetic Structure in the Bat Fly (*Trichobius major*) in Kansas, Oklahoma, and Texas based on)DNA Sequence Data for the Cytochrome Oxidase I (COI) and NADH Dehydrogenase 4 (ND4) genes .
- Ying**, B.W; Liu, T.T; Fan, H; Wei, D; Wen, F.Q; Bai P; Huang, J and Hou, Y.P.(2007). The application of mitochondrial DNA cytochrome oxidase II for the identification of forensically important blowflies in Western China. Am J Forensic Med Pathol. 28(4):308-13.

- Zhang, D. X. and Hewitt, G. M.**(2003).Nuclear DNA analyses in genetic studies fo population : practice . problems and prospects .Molecular Ecology 12 , 563-584 .
- Zhang, D. X. and Hewitt, G. M.**(1996).Nuclear integrations: challenges for mitochondrial DNA markers. TREE, 11 (6) 247-251 .

الملاحق

Appendix

(١) ملحق

دليل عدة استخلاص الدنا Genomic DNA Mini Kit (Tissue)

gSYNC™ DNA Extraction Kit Quick Protocol

For research use only

Catalogue Number

GS004, GS100, GS300

Instruction Manual Download

When using this product for the first time, or if you are unfamiliar with the procedure, please scan the QR code and download the complete instruction manual.

Geneaid



Instruction Manual Download

IMPORTANT BEFORE USE!

1. Add absolute ethanol (see the bottle label for volume) to Wash Buffer then mix by shaking for a few seconds. Check the box on the bottle. Be sure and close the bottle tightly after each use to avoid ethanol evaporation.
2. Add ddH₂O pH7.0-8.5 (see the bottle label for volume) to Proteinase K then vortex to ensure it is completely dissolved. Check the box on the bottle. Once it is dissolved completely, centrifuge for a few seconds to spin down the mixture. For extended periods, the ddH₂O and Proteinase K mixture should be stored at 4°C. Use only fresh ddH₂O as ambient CO₂ can quickly cause acidification.
3. Prepare Phosphate Buffered Saline (PBS, pH7.2) for blood, serum, plasma, cultured cells and FFPE tissue samples.
4. Prepare Xylene for FFPE tissue samples.
5. Yield and quality of DNA will be higher when fresh samples or samples which have been flash frozen and stored at -20°C or -70°C are used. DNA in FFPE or tissue which has been repeatedly frozen and thawed may be degraded.
6. Optionally prepare RNase A (50 mg/ml) for RNA-free DNA when performing sensitive downstream reactions. However, residual RNA will not affect PCR.

Tissue, FFPE, Insect and Sperm Protocol Procedure

1A. Tissue Sample Dissociation

Transfer **up to 25 mg of fresh animal tissue (0.5 cm mouse tail x 2 or 0.5 cm rat tail x 1)** to a 1.5 ml microcentrifuge tube. If the tissue has a higher number of cells (e.g. spleen or liver), reduce the starting material to 10 mg. Add **200 µl of GST Buffer and 20 µl of Proteinase K** then vortex thoroughly. Incubate at 60°C overnight or until the sample lysate becomes clear. During incubation, transfer the required volume of Elution Buffer (200 µl/sample) to a 1.5 ml microcentrifuge tube and heat to 60°C (for Step 5 DNA Elution).

1B. FFPE Sample Preparation

Cut up to **25 mg sections of FFPE** and transfer to a 1.5 ml microcentrifuge tube. Using a sterile blade is recommended. Add **1 ml of xylene** then mix by shaking vigorously. Incubate at room temperature for approximately 10 minutes (shake occasionally during incubation). Centrifuge at 14-16,000 x g for 3 minutes then remove the supernatant. Add **1 ml of absolute ethanol** to wash the sample pellet and mix by inverting. Centrifuge at 14-16,000 x g for 3 minutes then remove the supernatant. Open the tube and incubate at 37°C for 15 minutes to evaporate ethanol residue. Add **200 µl of GST Buffer and 20 µl of Proteinase K** then vortex thoroughly. Incubate at 60°C overnight or until the sample lysate becomes clear. During incubation, transfer the required volume of Elution Buffer (200 µl/sample) to a 1.5 ml microcentrifuge tube and heat to 60°C (for Step 5 DNA Elution).

1C. Insect Sample Preparation

Transfer up to 50 mg of insect tissue to a mortar. Add liquid nitrogen to the mortar and grind the tissue thoroughly using a pestle. Refill the mortar occasionally with liquid nitrogen to keep the sample frozen. Transfer the tissue powder to a 1.5 ml microcentrifuge tube. Add **200 µl of GST Buffer and 20 µl of Proteinase K** then vortex thoroughly. Incubate at 60°C for 1-3 hours or until the sample lysate becomes clear. During incubation, invert the tube occasionally and transfer the required volume of Elution Buffer (200 µl/sample) to a 1.5 ml microcentrifuge tube and heat to 60°C (for Step 5 DNA Elution).

1D. Sperm Sample Preparation

Add RNase-free water to DTT powder (see the bottle label for volume) then vortex to dissolve. Spin down the solution. The solution should be stored at -20°C. Transfer **900 µl of Sperm Lysis Buffer** into a 1.5 ml microcentrifuge tube. Add 80 µl of DTT solution and 20 µl of Proteinase K immediately before use. Mix well by vortex.

NOTE: Sperm Lysis Buffer and DTT can be purchased directly from Geneaid.

Add 100 µl of sperm and 100 µl of fresh prepared Sperm Lysis Buffer (containing DTT and proteinase K) into a new 1.5 ml microcentrifuge tube, mix by vortex then incubate at 60°C for 1 hour to dissolve the sample. During incubation, invert the tube occasionally and transfer the required volume of Elution Buffer (200 µl/sample) to a 1.5 ml microcentrifuge tube and heat to 60°C (for Step 5 DNA Elution).

2. Cell Lysis

If insoluble material remains following incubation, centrifuge for 2 minutes at 14-16,000 x g then carefully transfer the supernatant to a new 1.5 ml microcentrifuge tube. Add **200 µl of GSB Buffer** and shake vigorously for 10 seconds.

NOTE: It is essential that the sample and GSB Buffer are mixed thoroughly to yield a homogeneous solution.

Optional RNA Removal Step

For RNA-free gDNA, following GSB Buffer addition, add 5 µl of RNase A (50 mg/ml) and mix by shaking vigorously. Incubate at room temperature for 5 minutes to ensure efficient RNA degradation.

3. DNA Binding

Add **200 µl of absolute ethanol** to the sample lysate and mix **IMMEDIATELY** by shaking vigorously for 10 seconds. If precipitate appears, break it up as much as possible with a pipette. Place a **GS Column in a 2 ml Collection Tube**. Transfer all of the mixture (including any insoluble precipitate) to the GS Column. Centrifuge at 14-16,000 x g for 1 minute. Following centrifugation, if the mixture did not flow through the GS Column membrane, increase the centrifuge time until it passes completely. Discard the 2 ml Collection Tube containing the flow-through then transfer the GS Column to a new 2 ml Collection Tube.

NOTE: It is important that the lysate and ethanol are mixed thoroughly to yield a homogeneous solution.

4. Wash

Add **400 µl of W1 Buffer** to the **GS Column**. Centrifuge at 14-16,000 x g for 30 seconds then discard the flow-through. Place the GS Column back in the 2 ml Collection Tube. Add **600 µl of Wash Buffer (make sure absolute ethanol was added)** to the GS Column. Centrifuge at 14-16,000 x g for 30 seconds then discard the flow-through. Place the GS Column back in the 2 ml Collection Tube. Centrifuge again for 3 minutes at 14-16,000 x g to dry the column matrix.

5. DNA Elution

Transfer the dried GS Column to a clean 1.5 ml microcentrifuge tube. Add **100 µl of pre-heated Elution Buffer**, TE Buffer or water into the **CENTER** of the column matrix. Let stand for at least 3 minutes to allow Elution Buffer, TE Buffer or water to be completely absorbed. Centrifuge at 14-16,000 x g for 30 seconds to elute purified DNA.

Hair Protocol Procedure

1. Cell Lysis

Cut off a **0.5-1 cm piece** from at least **10 hair bulbs**, including **follicle cells** and transfer to a 1.5 ml microcentrifuge tube. Add **200 µl of GST Buffer** and **20 µl of Proteinase K (making sure the hair is completely submerged)** and mix by shaking. Incubate at 60°C for 30 minutes to lyse the sample. During incubation, shake the tube every 5 minutes and transfer the required volume of Elution Buffer (200 µl/sample) to a 1.5 ml microcentrifuge tube and heat to 60°C (for Step 4 DNA Elution). Add **200 µl of GSB Buffer** and mix vigorously. Incubate at 60°C for 20 minutes. During incubation, shake the tube every 5 minutes.

Optional RNA Removal Step

For RNA-free gDNA, following GSB Buffer addition and 60°C incubation, add 5 µl of RNase A (50 mg/ml) and mix by shaking vigorously. Incubate at room temperature for 5 minutes to ensure efficient RNA degradation.

Following incubation, centrifuge for 5 minutes at 3,000 x g then transfer the supernatant to a new 1.5 ml microcentrifuge tube.

2. DNA Binding

Add **200 µl of absolute ethanol** to the sample lysate and mix **IMMEDIATELY** by shaking vigorously for 10 seconds. If precipitate appears, break it up as much as possible with a pipette. Place a **GS Column in a 2 ml Collection Tube**. Transfer all of the mixture (including any insoluble precipitate) to the GS Column. Centrifuge at 14-16,000 x g for 1 minute. Following centrifugation, if the mixture did not flow through the GS Column membrane, increase the centrifuge time until it passes completely. Discard the 2 ml Collection Tube containing the flow-through then transfer the GS Column to a new 2 ml Collection Tube.

NOTE: It is important that the lysate and ethanol are mixed thoroughly to yield a homogeneous solution.

3. Wash

Add **400 µl of W1 Buffer to the GS Column**. Centrifuge at 14-16,000 x g for 30 seconds then discard the flow-through. Place the GS Column back in the 2 ml Collection Tube. Add **600 µl of Wash Buffer (make sure absolute ethanol was added)** to the GS Column. Centrifuge at 14-16,000 x g for 30 seconds then discard the flow-through. Place the GS Column back in the 2 ml Collection Tube. Centrifuge again for 3 minutes at 14-16,000 x g to dry the column matrix.

4. Elution

Transfer the dried GS Column to a clean 1.5 ml microcentrifuge tube. Add **100 µl of pre-heated Elution Buffer**, TE Buffer or water into the **CENTER** of the column matrix. Let stand for at least 3 minutes to allow Elution Buffer, TE Buffer or water to be completely absorbed. Centrifuge at 14-16,000 x g for 30 seconds to elute purified DNA.

Blood, Cultured Cell, Amniotic Fluid Protocol Procedure**1A. Blood Sample Preparation**

Transfer up to **200 µl of whole blood, serum, plasma, buffy coat or body fluids to a 1.5 ml microcentrifuge tube**. Adjust the volume to 200 µl with PBS. Add **20 µl of Proteinase K** then mix by pipetting. Incubate at 60°C for 5 minutes.

1B. Cultured Cell Sample Preparation

Trypsinize adherent cells prior to harvesting. Transfer **cells (up to 1×10^7)** to a 1.5 ml microcentrifuge tube then centrifuge for 5 minutes at 300 x g. Discard the supernatant then resuspend cells in **200 µl of PBS** by pipette. Add **20 µl of Proteinase K** then mix by pipetting. Incubate at 60°C for 5 minutes.

1C. Amniotic Fluid Sample Preparation

Transfer up to **15 ml of amniotic fluid** to a 15 ml centrifuge tube. Centrifuge for 3 minutes at 14-16,000 x g then discard the supernatant. Add **200 µl of GST Buffer** to resuspend the pellet and transfer the mixture to a 1.5 ml microcentrifuge tube. Add **10 µl of Proteinase K** and shake vigorously. Incubate at 60°C for 30 minutes. During incubation, invert the tube every 5 minutes.

2. Cell Lysis

Add **200 µl of GSB Buffer** then mix by shaking vigorously. For blood and cell samples, incubate at 60°C for 5 minutes, inverting the tube every 2 minutes. For amniotic fluid samples, incubate at 60°C for at least 20 minutes, inverting the tube every 5 minutes. During incubation, transfer required volume of Elution Buffer (200µl/sample) to a 1.5 ml microcentrifuge tube and heat to 60°C (for Step 5 DNA Elution).

Optional RNA Removal Step

For RNA-free gDNA, following GSB Buffer addition and 60°C incubation, add 5 µl of RNase A (50 mg/ml) and mix by shaking vigorously. Incubate at room temperature for 5 minutes to ensure efficient RNA degradation.

3. DNA Binding

Add **200 µl of absolute ethanol** to the sample lysate and mix **IMMEDIATELY** by shaking vigorously for 10 seconds. If precipitate appears, break it up as much as possible with a pipette. Place a **GS Column in a 2 ml Collection Tube**. Transfer all of the mixture (including any insoluble precipitate) to the GS Column. Centrifuge at 14-16,000 x g for 1 minute. Following centrifugation, if the mixture did not flow through the GS Column membrane, increase the centrifuge time until it passes completely. Discard the 2 ml Collection Tube containing the flow-through then transfer the GS Column to a new 2 ml Collection Tube.

NOTE: It is important that the lysate and ethanol are mixed thoroughly to yield a homogeneous solution.

4. Wash

Add **400 µl of W1 Buffer to the GS Column**. Centrifuge at 14-16,000 x g for 30 seconds then discard the flow-through. Place the GS Column back in the 2 ml Collection Tube. Add **600 µl of Wash Buffer (make sure absolute ethanol was added)** to the GS Column. Centrifuge at 14-16,000 x g for 30 seconds then discard the flow-through. Place the GS Column back in the 2 ml Collection Tube. Centrifuge again for 3 minutes at 14-16,000 x g to dry the column matrix.

5. Elution

Transfer the dried GS Column to a clean 1.5 ml microcentrifuge tube. Add **100 µl of pre-heated Elution Buffer**, TE Buffer or water into the **CENTER** of the column matrix. Let stand for at least 3 minutes to allow Elution Buffer, TE Buffer or water to be completely absorbed. Centrifuge at 14-16,000 x g for 30 seconds to elute purified DNA.

Kit Components

Component	GS004	GS100	GS300
GST Buffer	3 ml	30 ml	75 ml
GSB Buffer	4 ml	40 ml	75 ml
W1 Buffer	2 ml	45 ml	130 ml
Wash Buffer ¹ (Add Ethanol)	1 ml (4 ml)	25 ml (100 ml)	50 ml (200 ml)
Proteinase K ² (Add ddH ₂ O)	1 mg (0.10 ml)	11 mg x 2 (1.10 ml)	65 mg (6.50 ml)
Elution Buffer	1 ml	30 ml	75 ml
GS Columns	4	100	300
2 ml Collection Tubes	8	200	600

1. Add absolute ethanol (see the bottle label for volume) to Wash Buffer then mix by shaking for a few seconds. Check the box on the bottle. Be sure and close the bottle tightly after each use to avoid ethanol evaporation.

2. Add ddH₂O pH7.0-8.5 (see the bottle label for volume) to Proteinase K then vortex to ensure Proteinase K is completely dissolved. Check the box on the bottle. Once it is dissolved completely, centrifuge for a few seconds to spin down the mixture. For extended periods, the ddH₂O and Proteinase K mixture should be stored at 4°C. Use only fresh ddH₂O as ambient CO₂ can quickly cause acidification.

The gSYNC™ DNA Extraction Kit Functional Test Data

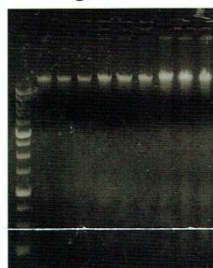


Figure 1. Genomic DNA from 50, 100 and 200 µl whole blood samples was extracted using the gSYNC™ DNA Extraction Kit. 10 µl from 100 µl eluates of purified genomic DNA was analyzed by electrophoresis on a 0.8% agarose gel.

1-3 = 50 µl whole blood sample

4-6 = 100 µl whole blood sample

7-9 = 200 µl whole blood sample

M = Geneaid 1 Kb DNA Ladder

Volume	Yield	260/280
50 µl	1.54 µg	1.85
100 µl	2.70 µg	1.87
200 µl	5.56 µg	1.90

M 1 2 3 4 5 6 7 8 9

Troubleshooting

Improper sample homogenization.

Yield and quality of DNA will be higher when fresh samples or samples which have been flash frozen and stored at -20°C or -70°C are used. DNA in FFPE or tissue which has been repeatedly frozen and thawed may be degraded. Fresh blood is recommended. However, frozen or blood treated with anticoagulants can also be used. Increased storage length decreases DNA yield. If using nucleated blood (e.g. bird or fish) use up to 10 µl then adjust volume to 200 µl with PBS. Hair samples should be completely submerged in GST Buffer and Proteinase K.

Incomplete buffer preparation.

Add absolute ethanol (see the bottle label for volume) to Wash Buffer then mix by shaking for a few seconds. Check the box on the bottle. Be sure and close the bottle tightly after each use to avoid ethanol evaporation. Add ddH₂O pH7.0-8.5 (see the bottle label for volume) to Proteinase K then vortex to ensure Proteinase K is completely dissolved. Check the box on the bottle. Once it is dissolved completely, centrifuge for a few seconds to spin down the mixture. For extended periods, the ddH₂O and Proteinase K mixture should be stored at 4°C. Use only fresh ddH₂O as ambient CO₂ can quickly cause acidification.

Incorrect DNA elution step.

Ensure that Elution Buffer, TE or water is added into the **CENTER** of the GS Column matrix and is completely absorbed. Use pre-heated Elution Buffer, TE, or water (60~70°C). If using water for elution, ensure the water pH is between 7.0 and 8.5. ddH₂O should be fresh as ambient CO₂ can quickly cause acidification. Elute twice to increase the DNA recovery.

Residual ethanol contamination.

Following the Wash step, dry the GS Column with additional centrifugation at 14-16,000 x g for 5 minutes to ensure the GS Column membrane is completely dry.

Clogged column.

Use the recommended amount of starting material or separate into multiple tubes. Add additional Proteinase K and extend the incubation time in the Lysis step. Following the Lysis step, centrifuge for 2 minutes at 14-16,000 x g to remove sample debris. Transfer the supernatant to a new microcentrifuge tube and proceed with the DNA Binding step. If precipitate formed at the DNA Binding step reduce the sample material. Following ethanol addition, break up any precipitate as much as possible prior to loading GS Column.

(2) ملحق

دليل مكونات خليط التفاعل الرئيسي للـ PCR

BIONEER
Innovation • Value • Discovery

AccuPower® PCR PreMix

(V1/2016-02-15)

Bioneer Corporation
8-11 Munpyeongseo-ro, Daedeok-gu, Daejeon, 34302
Republic of Korea
Tel: +82-42-930-8777 (Korea: 1588-9788)
Fax: +82-42-930-8688 E-mail: sales@bioneer.com

Bioneer Inc.
1301 Marina Village PKWY, Suite 110
Alameda, CA 94501, USA
Toll Free: +1-877-264-4300 Fax: +1-510-865-0350
E-mail: order.usa@bioneer.com

Bioneer R&D Center
Korea Bio Park BLDG #3-702, 700 Daewangpangyo-ro
Bundang-gu, Seongnam-si Gyeonggi-do, 13488
Republic of Korea
Tel: +82-31-628-0500 Fax: +82-31-628-0555

AccuPower® PCR PreMix is a new, powerful, and ready-to-use PCR reagent optimized for more accurate PCR amplifications

I. Description

The AccuPower® PCR PreMix contains DNA polymerase, dNTPs and reaction buffer in a premixed format that is freeze-dried into an individual packet. Patented chemical stabilizer maintains the activity of the premixture for over 2 years in the freezer.

II. Storage

store at -20°C

III. Application

- Routine PCR
- Primer extension
- TA cloning
- Gene sequencing

IV. Advantages

- Speed : Substantial reduction in PCR setup time.
- Stability : AccuPower® PCR PreMix is the powerful technology for convenient and easy to perform DNA amplification. It contains DNA polymerase, dNTPs, a tracking dye and reaction buffer in a premixed format, freeze-dried into a pellet. The patented chemical stabilizer of this product enables to maintain the activity of pre mixture for over 2 years in the freezer. It ensures superior amplification efficiency with experiment stability and uniform activity of polymerase in the process of PCR.
- Reproducibility and Yield : Batch manufacturing under strict ISO 9001 quality control conditions guarantees reproducibility. Minimal handling during reaction set up provides improved accuracy.
- Simplicity : Each product line contains an application specific enzyme in an easy to re-suspended, lyophilized premix of dNTPs, reaction buffer, a tracking dye, and a stabilizer. The premix is ready to use, thus offering virtually no reaction set up time.

V. Notice to Purchaser

This enzyme is specifically optimized for increasing base incorporation rate by inactivating 5'→3' exonuclease activity. Therefore, this is not recommended to use for Real Time PCR using Taqman® probe.

VI. Trademark

AccuPower is registered trademark of Bioneer Corporation in Korea.

VII. Contents

Reaction size	20 µl reaction	50 µl reaction
Top DNA polymerase	1 U	2.5 U
dNTP(dATP, dCTP, dGTP, dTTP)	Each 250 µM	Each 250 µM
Reaction Buffer, with 1.5mM MgCl ₂	1X	1X
Stabilizer and tracking dye		

VIII. Experimental Protocol

The following protocol is suggested as a general guideline when using AccuPower® PCR PreMix in any PCR amplification.

- 1) Add template DNA and primers into AccuPower® PCR PreMix tubes.
- 2) Add distilled water into AccuPower® PCR PreMix tubes to a total volume of 20 µl or 50 µl. Do not calculate the dried pellet.

Ex) Reaction Mix

components	20 µl reaction volume	50 µl reaction volume
Template DNA	Variable(1~10ul)	variable(1~25ul)
Forward Primer (10pmole/ul)	0.5ul~2ul	1ul~5ul
Reverse Primer (10pmole/ul)	0.5ul~2ul	1ul~5ul
D.W.	Variable(6ul~18ul)	Variable(15ul~47ul)
Total volume	20ul	50ul

► Note 1 : Amount of template

Template DNA	Amount of template	
	20ul reaction	50ul reaction
Bacteriophage λ, Plasmid DNA	100fg~200ng	100fg~500ng
Total Genomic DNA	1ng~500ng	1ng~1ug

- 3) Dissolve the lyophilized blue pellet by flick with your finger or pipetting, and briefly spin down.
- 4) (Option) If necessary, overlay mineral oil. This step is unnecessary when using a thermal cycler with top heating.
- 5) Perform the reaction under the following conditions.

• In case of routine PCR

Step	Temperature	Time	Cycles
Pre-Denaturation	95°C	5min	1cycle
Denaturation	95°C	20sec	
Annealing	45~65°C	20sec	25~35cycles
Extension	72°C	30sec ~ 1min/kb	
Final Extension	72°C	Optional. Normally 3~5min	1cycle

- In case Primer's T_m value is more than 65°C or PCR Product size is more than 5kb.

Step	Temperature	Time	Cycles
Pre-Denaturation	95°C	5min	1cycle
Denaturation	95°C	20sec	
Anneal/Extension	68°C	1min/kb	30~35cycles
Final Extension	72°C	Optional. Normally 3~5min	1cycle

- 6) Maintain the reaction at 4°C ~8°C after cycling. The samples can be stored at -20°C until use.
- 7) Load samples on agarose gel without adding a loading-dye mixture, and perform electrophoresis.

Bioneer Corporation

8-11 Munpyeongseok-ro, Daedeok-gu, Daejeon, 34302
 Republic of Korea
 Tel: +82-42-930-8777 (Korea: 1588-9788)
 Fax: +82-42-930-8688 E-mail: sales@bioneer.com

Bioneer Inc.

1301 Marina Village PKWY, Suite 110
 Alameda, CA 94501, USA
 Toll Free: +1-877-264-4300 Fax: +1-510-865-0350
 E-mail: order.usa@bioneer.com

Bioneer R&D Center

Korea Bio Park BLDG #B-702, 700 Daewangpangyo-ro
 Bundang-gu, Seongnam-si Gyeonggi-do, 13488
 Republic of Korea
 Tel: +82-31-628-0500 Fax: +82-31-628-0555

IX. Experimental Data
1) Sensitivity.
• PCR Condition
▶ Bioneers' AccuPower® PCR PreMix

Temperature	Time	Cycles
95°C	5min	1 cycle
95°C	20sec	35 cycles
55°C	20sec	
72°C	30sec	
72°C	3min	1 cycle

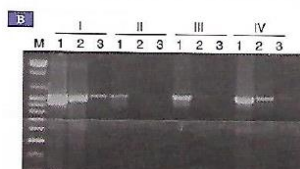
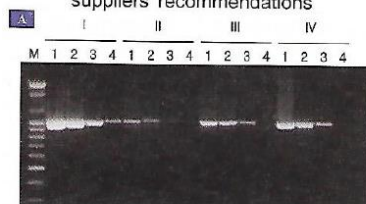
▶ Others company : Reactions were performed following suppliers' recommendations


Figure 1. Comparison of sensitivity test for PCR PreMix and other companies' products using serial diluted human genomic DNA. Amplification of A the human Insulin receptor gene and B the DNA cross-link repair 1A gene.

M : 100bp DNA Ladder(Bioneer Cat. No : D-1030)

Lane 1 : Human DNA 10ng Lane 2 : Human DNA 1ng

Lane 3 : Human DNA 100pg Lane 4 : Human DNA 10p

I : AccuPower® PCR PreMix(Bioneer)

II : A company Taq DNA polymerase

III : B company Taq DNA polymerase

IV : C company PCR PreMix

2) Long kb.
• PCR Condition
▶ Bioneers' AccuPower® PCR PreMix
- In case of Lane 1, 2.(3step)

Temperature	Time	Cycles
95°C	5min	1 cycle
95°C	20sec	30 cycles
55°C	20sec	
72°C	30sec	
72°C	3min	1 cycle

- In case of Lane 3, 4.(2step)

Temperature	Time	Cycles
95°C	5min	1 cycle
95°C	20sec	30 cycles
68°C	4min	
72°C	3min	
72°C	3min	1 cycle

▶ Others company : Reactions were performed following suppliers' recommendations


Figure 5. Comparison of long kb test for AccuPower® PCR PreMix and other companies' products using human genomic DNA.

Lane 1: 2kb fragment of human TP53 gene

Lane 2: 3kb fragment of human TP53 gene

Lane 3: 4.5kb fragment of human DCLRE1A gene

Lane 4: 8kb fragment of human HBB region

M: 1kb DNA ladder (Bioneer Cat. No : D-1040)

I : AccuPower® PCR PreMix(Bioneer)

II : A company Taq DNA polymerase

III : B company Taq DNA polymerase

IV : C company PCR PreMix

X. Ordering Information

Tube type	Reaction	Cat.No.	Description
0.2ml Tube	20 ul	K-2012	0.2 ml thin-wall 8-strip tubes with attached cap / 96 tubes
	20 ul	K-2016	0.2 ml thin-wall 8-strip tubes with attached cap / 480 tubes
	50 ul	K-2036	0.2 ml thin-wall 8-strip tubes with attached cap / 96 tubes / Negative Dye
	50 ul	K-2037	0.2 ml thin-wall 8-strip tubes with attached cap / 480 tubes / Negative Dye
0.5ml Tube	50 ul	K-2013	0.2 ml thin-wall 8-strip tubes with attached cap / 96 tubes
	50 ul	K-2017	0.2 ml thin-wall 8-strip tubes with attached cap / 480 tubes
	50 ul	K-2011	0.5 ml thin-wall tubes with attached cap / 100 tubes
	50 ul	K-2260-1	thin-wall 96-well flat plate
96-well	10 ul	K-2260-2	thin-wall 96-well full-skirted plate
	10 ul	K-2260-3	thin-wall 96-well semi-skirted plate
	10 ul	K-2260-4	thin-wall 96-well flat plate
	20 ul	K-2260-5	thin-wall 96-well full-skirted plate
	20 ul	K-2260-6	thin-wall 96-well semi-skirted plate
	20 ul	K-2080-1	thin-wall 384-well full-skirted plate
384-well	10 ul	K-2080-2	thin-wall 384-well full-skirted plate
	20 ul	K-2080-3	thin-wall 384-well full-skirted plate
	20 ul	K-2018	1 ml of 2 X Master mix solution
Master Mix	-	K-2018-1	10 ml of 2 X Master mix solution

(3) ملحق

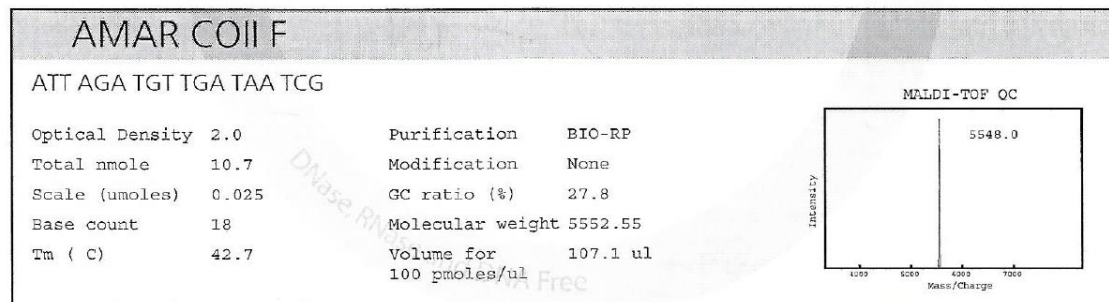
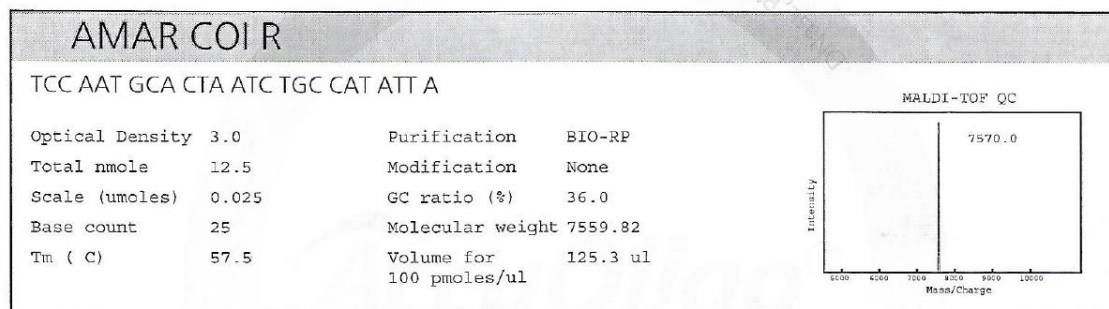
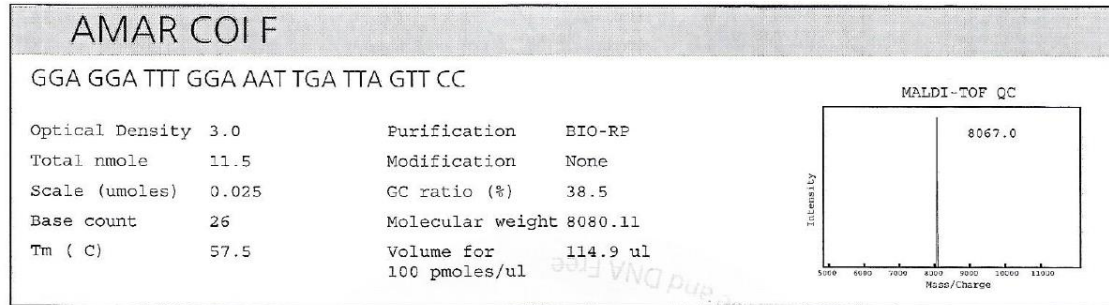
أنواع البوادي المستخدمة في الدراسة

BIONEER Innovation • Value • Discovery For Research Use Only	Bioneer Corporation 8-11 Munpyeongseo-ro, Daedeok-gu Daejeon, 34302, Republic of Korea Tel: +82-42-930-6777 (Korea: 1588-9788) Fax: +82-42-930-8688 E-mail: sales@bioneer.com	Bioneer Inc. 1301 Marina Village Parkway, Suite 110 Alameda, CA 94501, USA Toll Free: +1-877-264-4300 Fax: +1-510-865-0350 E-mail: orderusa@bioneer.com	Bioneer R&D Center Korea Bio Park BLDG 8B-702 700 Daewangpangyo-ro, Bundang-gu, Seongnam-si Gyeonggi-do, 13488, Republic of Korea Tel: +82-31-628-0500 Fax: +82-31-628-0555
	Bioneer Oligo Synthesis Report		

Dr. 0000

Order no: 10018520

The mass of each oligonucleotide, indicated by the MALDI-TOF mass spectrum, may differ from the theoretical value by 0.2~0.6%

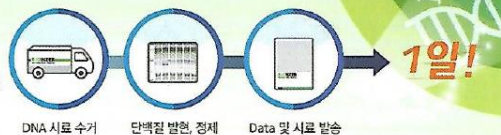


Saving Time with Bioneer's Protein Synthesis Service

One-day Protein Synthesis Service

- DNA 시료 접수 후 1일 내에 단백질 합성 결과 발송 (working day 기준)
- 무세포 단백질 발현 시스템을 통해 세포배양 방법으로 발현이 불가능한 독성 단백질 발현
- 당사 단백질 합성 키트로 서비스 진행되어, 필요에 따라 직접 단백질 합성 가능

* 문의: Tel.: 042)930-8647, E-mail: proteinorder@bioneer.co.kr



AccuOligo® is manufactured in clean-room under strict ISO 9001 to confirm DNase/RNase and DNA free environment

Dr. 0000

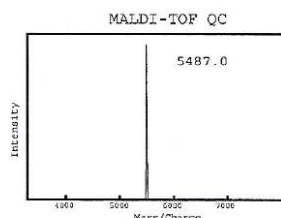
Order no: 10018520

The mass of each oligonucleotide, indicated by the MALDI-TOF mass spectrum, may differ from the theoretical value by 0.2~0.6%

AMAR COII R

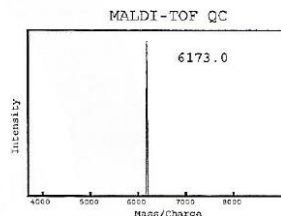
ACA AAT TTC TGA ACA TTG

Optical Density	2.0	Purification	BIO-RP
Total nmole	11.2	Modification	None
Scale (umoles)	0.025	GC ratio (%)	27.8
Base count	18	Molecular weight	5481.52
Tm (°C)	45.0	Volume for	111.5 ul
		100 pmoles/ul	

**AMAR COIII F**

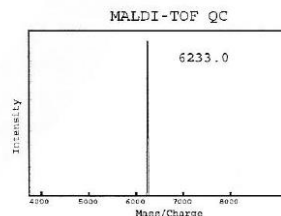
TAA CAA GGT TTC CGT AGG TG

Optical Density	2.0	Purification	BIO-RP
Total nmole	10.1	Modification	None
Scale (umoles)	0.025	GC ratio (%)	45.0
Base count	20	Molecular weight	6171.92
Tm (°C)	54.1	Volume for	100.8 ul
		100 pmoles/ul	

**AMAR COIII R**

GTT ACT TTC TTT TCC TCC CCT

Optical Density	3.0	Purification	BIO-RP
Total nmole	17.5	Modification	None
Scale (umoles)	0.025	GC ratio (%)	42.9
Base count	21	Molecular weight	6239.97
Tm (°C)	54.1	Volume for	174.8 ul
		100 pmoles/ul	



Saving Time with Bioneer's Protein Synthesis Service

One-day Protein Synthesis Service

- DNA 시료 접수 후 1일 내에 단백질 합성 결과 발송 (working day 기준)
- 두세포 단백질 발현 시스템을 통해 세포배양 방법으로 발현이 불가능한 독성 단백질 발현
- 당사 단백질 합성 키트로 서비스 진행되며, 필요에 따라 직접 단백질 합성 가능

* 문의: Tel.: 042)930-8647, E-mail: proteinorder@bioneer.co.kr



AccuOligo® is manufactured in clean-room under strict ISO 9001 to confirm DNase/RNase and DNA free environment

(4) ملحق

دليل المؤشر الجزيئي DNA ladder (2000 bp - 100 bp)

BIONEER
Innovation • Value • Discovery**100 bp DNA Ladder** DNA Molecular Weight Markers

Bioneer Corporation
8-11, Munpyeongseo-ro
Daedeok-gu, Daejeon 306-220
Republic of Korea
Tel: (Korea) 1588-9788
(International) +82-42-930-8777
Fax: +82-42-930-8600
E-mail: sales@bioneer.com

Bioneer, Inc.
1301 Marina Village Parkway, Suite 110
Alameda, CA 94501
Toll free: +1-877-264-4300
Fax: +1-510-865-0350
E-mail: order.usa@bioneer.us.com

Bioneer R&D Center
B-702, Korea Bio Park Bldg., 700,
Daewangangyo-ro, Bundang-gu,
Seongnam-si, Gyeonggi-do, 463-400,
Republic of Korea
Tel: +82-31-628-0500
Fax: +82-31-628-0555

Order
E-mail: order@bioneer.co.kr
URL: www.bioneer.com

[Cat. No.]
D-1030

[Lot No.]
1501F

[Volume]
250 µl

[Concentration]
135 ng/µl



Consult
Instruction For
Use



RUO Research Use
Only



REF Catalog
Number



LOT Batch code



USE BY



Temperature
Limitation



Contains sufficient
for (n) tests



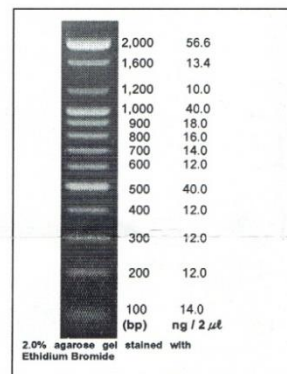
Caution, consult
accompanying
documents

Note

For research use only. Not for use in
diagnostic or therapeutic procedures.

Bioneer shall not in any event be liable
for incidental or special damage of any
kind resulting from any use except on
application(s).

- **Description** : 100 bp DNA Ladder is specially designed for determining the size of double strand DNA from 100 to 2,000 base pairs. The DNA Ladder consists of 13 double strand DNA fragments ranging in sizes from 100 to 1,000 bp in 100 bp increments, and additional fragments of 1,200, 1,600, 2,000 bp. The 500, 1,000 and 2,000 bp bands are two to three times brighter for easy identification
- **Application** : Size confirmation of DNA fragments.

• **Features**

- ready-to-use
- Recommended Loading :
1.5 - 2.0 µl/5 mm lane width
- Typical Loading Number of Lanes :
125 - 166 (5 mm lane width)
- Range (bp) : 100 - 2,000
- Number of Bands: 13

• **Storage Buffer**

- 10 mM Tris-HCl (pH 8.0)
- 1 mM EDTA
- 2.5% Ficoll
- 0.005% Bromophenol Blue
- 0.005% Xylene Cyanol

• **Storage Condition**

This product is shipped on dry ice and
should be stored at -20°C until use.

- **Quality control assay** : Agarose gel analysis shows that 13 bands are clearly distinguishable. The 500 bp, 1,000 bp and 2,000 bp band must be more intense than any other band.

• **Note**

- The DNA ladder can be applied directly onto an agarose gel.
- Do not heat before loading.
- Repeated freezing and thawing should be avoided.

• **Ordering Information**

[Related BIONEER DNA Molecular Weight Marker Products]

Cat.No.	Products
D-1010	10bp DNA Ladder, 100 µl
D-1020	25/100 bp Mixed DNA Ladder, 250 µl
D-1030	100 bp DNA Ladder, 250 µl
D-1035	100 bp Plus DNA Ladder, 500 µl
D-1040	1 Kb DNA Ladder, 500 µl
D-1050	Lambda DNA / Hind III Markers, 100 µg
D-1060	Lambda DNA / EcoR I Markers, 100 µg
D-1070	Lambda DNA / EcoR I + Hind III Markers, 100 µg
D-2510	Lambda DNA, 250 µg
D-1030-1	AccuLadder 100bp 320 µl x 2
D-1040-1	AccuLadder 1Kb 500 µl x 2

ملحق (5)

كتاب تشخيص عينات ذبابة الدودة الحلزونية *Ch.albiceps* و *Ch.megacephala*

Ministry of Higher Education
and Scientific Research
University of Baghdad
Iraq Natural History Research
Center and Museum



U. O. B. 601
According to Q. S.

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة بغداد
مركز بحوث ومتحف التاريخ الطبيعي

NO:
Date:

العدد : ١٠٠٠
التاريخ : ٢٠١٧ / ١١ / ٢

إلى / جامعة ديالى / كلية التربية للعلوم الصرفة
الدراسات العليا

م / تشخيص حشرات

تحية طيبة :

الحاقاً بكتابنا ذي العدد 906 والمؤرخ في 5 / 10 / 2017 والخاص بتسهيل مهمة
طالبة الدراسات العليا / الماجستير / شفاء وليد خالد / قسم علوم الحياة / تخصص علم الحيوان
فقد تم إجراء اللازم من قبلنا وحسب التقرير المرفق طياً .

مع التقدير

المرفقات :
تقرير التشخيص

مركز بحوث ومتحف التاريخ الطبيعي
جامعة بغداد
باب المستطير
أ.م.د. عامر متعب حسين
مدير المركز
٢٠١٧ / ١١ / ٢

نسخة منه إلى :
قسم الحشرات واللافقرات - تقريركم المرقم 460 في 2 / 11 / 2017
الملف الخاصة

601 التصنيف العالمي لجامعة بغداد وبحسب معايير (Q. S)

جامعة بغداد _ متحف التاريخ الطبيعي العراقي

UNIVERSITY OF BAGHDAD
Iraq Natural History Museum



Tel: 4168361
4165790

Bab Al – Muadham
Baghdad
Iraq

Our Ref التاريخ : 2017 / 11 / 2 Date الرقم : 460

قسم الحشرات واللافقریات
م / تشخيص حشرات

ان العينات المرسلة الينا من قبل طالبة الدراسات العليا / الماجستير / شفاء وليد خالد / قسم علوم الحياة / تخصص علم الحيوان / جامعة ديالى . قد شخصت من قبلنا وكالاتي :

Chrysomya megacephala (Fabricius) (Diptera; Calliphoridae)
Chrysomya albiceps (Widemann) (Diptera; Calliphoridae)

تم التشخيص من قبل الأستاذ الدكتور رزاق شعلان عكل

الأستاذ المساعد الدكتورة هيام هاني الصفار
رئيس قسم الحشرات واللافقریات



ملحق (٦)
كتاب تحليل عينات الذبابة الحلزونية بواسطة الـ GC-MS

بسم الله الرحمن الرحيم



وزارة العلوم والتكنولوجيا

دائرة البيئة والمياه

العدد:

التاريخ: 2018/ /



الى / جامعة ديالى / كلية التربية للعلوم الصرفة

تحية طيبة ..

م / تحليل نماذج

أشارة الى كتابكم بالعدد 800 بتاريخ 2018/2/13 بخصوص تسهيل مهمة طالبة الدراسات العليا / شفاء وليد / قسم علوم الحياة ، نرفق لكم طياً نسخة من النتائج على قرص مدمج CD .

مع التقدير...

المرفقات

- قرص مدمج بالنتائج

الدكتور
سعد كاظم عبد الحسين
ع/ المدير العام
2018 / ٤ / ١٩

ملحق (7)

المركبات الكيميائية للحشرة الكاملة تشمل جدار الجسم والأحشاء الداخلية للنوع

Ch. albiceps

التسلسل	اسم المركب	الصيغة الكيميائية	الوزن الجزيئي	المساحة %
1	Xylene ,,Benzene,1,4-dimethyl-p-dimethylbenzene,p-Xylol,1,4-dimethylbnzene,1,4-Xylene,,p-methyltoluene,,	C ₈ H ₁₀	106	0.43
2	Cyclopentene,1-ethenyl-3-methylene,,3-Methylene-1-vinyl-1-cyclopentene	C ₈ H ₁₀	106	0.43
3	-,3-phenyl-2-butanol,,phenethyl alcohol,alpha, beta –dimethyl-,	C ₁₀ H ₁₄ O	150	0.43
4	Nonanoic acid,,n-Nonanoic acid,,n-Nonoic acid,,n-Nonylic acid,,Nonoic acid,, Nonylic acid,, Pelargic acid,,Pelargonic acid	C ₉ H ₁₈ O ₂	158	0.05
5	n-Decanoic acid,, Decanoic acid,,n-Carpic acid,,n-Decoic acid ,,n-Dcyclic acid,, Capric acid,,Caprinic acid,,Caprynic acid	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	172	0.05
6	Undecanoic acid,,n- Undecanoic acid,,n-Undecoic acid,,n-Undecyclic acid,,Hendecanoic acid,, Undecyclic acid,,1-Decanecart	C ₁₁ H ₂₂ O ₂	186	0.05
7	Octanoic acid,,n-Caprylic acid,,n-Octanoic acid,,n-Octoicacid,,n-Octylic acid,,Neo-Fat,, Caprylic acid,,Enantic acid	C ₈ H ₁₆ O ₂	144	0.05
8	Hepatonic acid,, Enanthic acid,,n-Hepatonic acid,,n-Heptoic acid,,n-Heptylic acid,,Enanthylic acid,, Heptoic acid,,Heptyl	C ₇ H ₁₄ O ₂	130	0.05
9	n-Hexadecanoic acid,, Hexadecanoic acid,,n-Hexadecoic acid,,Palmitic acid,,Pentadcanecaroxylic acid,,1-Pentadcanecaroxylic acid	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256	0.11
10	Sulfurous acid,2-ethylhexyl isohexyl ester	C ₁₄ H ₃₀ O ₃ S	278	0.09
11	Tetradecane ,,n- Tetradecane	C ₁₄ H ₃₀	198	0.09
12	Undecan,3,8-dimethyl-, Dimethylundecan	C ₁₃ H ₂₈	184	0.09
13	Tridecanoic acid,,n- Tridecanoic	C ₁₃ H ₂₆ O ₂	214	0.64

	acid,,n-Tridecoic acid,,Tridecylic acid,,			
14	Pentadecanoic acid,,Pentadecylic acid,,n-Pentadecanoic acid,,n-Pentadecylic acid,,	$C_{15}H_{30}O_2$	242	0.64
15	Cis-10-Heptadecenoic acid	$C_{17}H_{32}O_2$	268	17.61
16	Cyclopentadecanone,2-hydroxy-,2-Hydroxycycloentadecanone,,	$C_{15}H_{28}O_2$	240	17.61
17	Cis-10-Nonadecenoic acid	$C_{19}H_{36}O_2$	296	17.61
18	Cis-Vaccenic acid	$C_{18}H_{34}O_2$	282	17.61
19	Dodecanoic acid,,n-Dodecanoic acid,,Neo-fat 12,,Aliphat no.4,,Abl ,,Dodecylic acid,,Lauric acid,,Laurostearic acid,,	$C_{12}H_{24}O_2$	200	10.31
20	Cis-11-Eicosenoic acid	$C_{20}H_{38}O_2$	310	0.29
21	Cis-13,16-Docosadienoic acid	$C_{22}H_{40}O_2$	306	28.12
22	9,12-Octadecadienoic acid(z,z)-,cis-12- Octadecadienoic acid,,cis-cis-Linoleic acid,,Grape seed oil,,Linoleic,,Linoleic	$C_{18}H_{32}O_2$	280	28.12
23	Oxacyclohepadec-8-en-2-one,,Ambrettolid,,Ambrettolide,,Musk ambrette,, Musk ambrette,natural,, Musk natural	$C_{16}H_{28}O_2$	252	28.12
24	9,12-Octadecadien-1-ol,(Z,Z)-,(9Z,12Z)-9,12- Octadecadien-1-ol	$C_{18}H_{34}O$	266	28.12
25	9,9-Dimethoxybicyclo(3,3,1)nonene-2-4-dione,, 9,9-Dimethoxybicyclo(3,3,1)nonene-2-4-dione	$C_{11}H_{16}O_4$	212	0.88
26	6-Octadecenoic acid,(Z)-,(6Z)-6-Octadecenoic acid	$C_{18}H_{34}O_2$	282	0.88
27	Z-11-Pentadecenol	$C_{15}H_{30}O$	226	0.88
28	Tritetracontane	$C_{43}H_{88}$	604	0.40
29	Heptadecane ,2,6,10,15-tetramethyl-, 2,6,10,15-Tetramethylheptadecane	$C_{21}H_{44}$	296	0.40
30	Tratetracontane,,n- Tratetracontane	$C_{44}H_{90}$	618	0.40
31	Eicosane,,n- Eicosane,,Icosane	$C_{20}H_{42}$	282	0.40
32	10-Methylnonadecane	$C_{20}H_{42}$	282	0.40
33	Z,Z,Z-1,4,6,9-Nonadecatetraene	$C_{19}H_{32}$	260	0.41
34	Archidonic acid,,5,8,11,14-Eicosatetraenoic acid,(all-Z)-,Archidonate,, (all-Z)- 5,8,11,14-Eicosatetraenoic acid	$C_{20}H_{32}O_2$	304	0.41
35	Gamolenic acid,,(Z,Z,Z)-6,9,12-Octadecatrienoic acid,, .gamma.-Linolenic acid	$C_{18}H_{30}O_2$	278	0.41
36	Icosapent,, .omega.-3Marian Triglycerides,, (all-Z)- 5,8,11,14-Eicosatetraenoic acid	$C_{20}H_{30}O_2$	302	0.41

37	5,8,11-Heptadecatrien-1-ol,, (5E,8E,11E)- 5,8,11-Heptadecatrien-1- ol	C ₁₇ H ₃₀ O	250	0.41
38	13-Docosenamide,(Z)-,,Erucylamide,, Erucylamide (Z)-13- Docosenamide,, 13-Docosenamide,,Armid E,,cis-13- Docosenamide	C ₂₂ H ₄₃ NO	337	0.52
39	8-Methyl-6-nonenamide	C ₁₀ H ₁₉ NO	169	0.52
40	9-Octadecenamide,(Z)-,,Adogen 73,,Oleamide,,Oleic acid amide,,Oleyl amide,,Slip-eze-,,Armoslip CP,,Crodamide O	C ₁₈ H ₃₃ NO	281	0.52
41	Non-7-ynamide	C ₉ H ₁₅ NO	153	0.52
42	Alpha-Methyl-alpha-(4-methyl- pentenyl)oxiranemethanol	C ₁₀ H ₁₈ O ₂	170	0.52
43	Hexatriacontane,,n- Hexatriacontane	C ₃₆ H ₇₄	506	1.11
44	Tetratriacontane,,n- Tetratriacontane	C ₃₄ H ₇₀	478	1.11
45	Nonadecane,9-methyl-,9- Methylnonadecane	C ₂₀ H ₄₂	282	0.82
46	1,2-Benzendicarboxylic acid,diisooctyl ester,,Diisooctyl phthalate,,Hexaplas M/O,,Isooctyl phthalate,,Corflex 880,,DIOP	C ₂₄ H ₃₈ O ₄	390	1.75
47	1,2-Benzendicarboxylic acid,mono (2- ethylhexyl) phthalate,,Phthalic acid,mono,, (2-ethylhexyl) ester	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	278	1.75
48	Aspidofractinine-3- methanol,(2.alpha,3.beta,5.alpha)- ,,Kopsinyl alcohol,, Aspidofractinine-3- ylmethanol	C ₂₀ H ₂₆ N ₂ O	310	1.75
49	Phthalic acid,2-ethylhexyl isohexyl ester	C ₂₂ H ₃₄ O ₄	362	1.75
50	Hexadecane, 1-iodo-,,Cetyl iodide,,Hexadecyl iodide,,1- Iodoheptadecane,,n-Hexadecyl iodide	C ₁₆ H ₃₃ I	352	0.22
51	5,5-Dibutylnonane	C ₁₇ H ₃₆	240	0.22
52	Eicosane,,n-Eicosane,,Icosane,,	C ₂₀ H ₄₂	282	0.22
53	Squalane,,Tetracosane,26,10,15,19,23- hexamethyl- ,,Cosbiol,,Dodecahydrosqualene,,Perh ydrosqualene,,Robane,,Spinaca	C ₃₂ H ₆₄	422	1.01
54	Nonadecane,2,6,10,14,18- pentamethyl-,2,6,10,14,18- Pentamethylnonadecane,,	C ₂₄ H ₅₀	338	1.01
55	1-Heptacosanol,, Heptacosanol-1-ol,, Heptacosanol	C ₂₇ H ₅₆ O	396	2.36
56	1-Octacosanol	C ₂₈ H ₅₈ O	410	2.36
57	9-Tricosene,(Z)-,,(Z)-9-Tricosene,,cis- 9-Tricosene,,Muscalure,,(9Z)- Tricosene,,(9Z)-9-Tricosene	C ₂₃ H ₄₆	322	2.36

58	Nonadecyl pentafluoropropionate	$C_{22}H_{39}F_5O_2$	430	2.36
59	Eicosane,2,6,10,14,18-pentamethyl-,2,6,10,14,18-pentamethyleicosane	$C_{25}H_{52}$	352	2.94
60	Tetrapentacontane	$C_{54}H_{110}$	758	2.94
61	Hexacontane	$C_{60}H_{122}$	842	2.94
62	Tetracontane,,n-Tetracontane	$C_{40}H_{82}$	562	2.94
63	Nonacosane,,n-Nonacosane	$C_{29}H_{60}$	408	2.94
64	2-Bromotetradecane	$C_{14}H_{29}Br$	276	0.44
65	Hexadecane,2,6,10,14-tetramethyl-,Phytan,,Phytane,,2,6,10,14-Tetramethylhexadecane	$C_{20}H_{42}$	282	0.44
66	Heptadecane,,n-Heptadecane,,Normal-heptadecane	$C_{17}H_{36}$	240	0.31
67	Tritetracontane	$C_{43}H_{88}$	604	0.31
68	Eicosyl trifluoroacetate	$C_{22}H_{41}F_3O_2$	394	4.51
69	Docosyl heptafluorobutyrate	$C_{26}H_{45}F_7O_2$	522	4.51
70	Benzoic acid,2,3-bis((trimethylsilyl)oxy)-, trimethylsilyl ester,, Trimethylsilyl 2,3-bis((trimethylsilyl)oxy) benzoate,, Trimethylsilyl	$C_{16}H_{30}O_4Si_3$	370	3.59
71	Silane,((4-(1,2-bis((trimethylsilyl)oxy)ethyl)1,2-phenylene)bis(oxy)bis(trimethyl-, Silane,((4-(1,2-bis((trimethylsilyl)oxy)ethyl)1,2-	$C_{20}H_{42}O_4Si_4$	458	3.59
72	DL-Norepinephrine,N,O,O,O-Tetrakis(trimethylsilyl)-	$C_{20}H_{42}NO_3Si_4$	457	3.59
73	Heptacosane, 1-chloro-,1-Chloroheptacosane	$C_{27}H_{55}Cl$	414	1.65
74	2-Bromododecane,,Dodecane-2-bromo-	$C_{12}H_{25}Br$	248	1.65
75	Oxirane,hexadecyl-,1,2-Expoyoctadecane,,2-Hexadecyloxirane	$C_{18}H_{36}O$	268	0.19
76	1,37-Octatriacontadiene	$C_{38}H_{74}$	530	0.19
77	Tetracontane-1,40-diol,, 1,40-Tetracontane diol	$C_{40}H_{82}O_2$	594	0.19
78	Oxirane,heptadecyl-,1,2-Expoyoctadecane,, 2-Heptadecyloxirane	$C_{19}H_{38}O$	282	0.19
79	1,30-Tricontanediol	$C_{30}H_{62}O_2$	454	0.19
80	Heneicosyl trifluoroacetate	$C_{23}H_{43}F_3O_2$	408	4.41
81	Cholestane-3,5-diol,5-acetate,(3.beta,5.alpha),, 5-Hydroxycholestan-5-yl acetate	$C_{29}H_{50}O_3$	446	3.62
82	Cholestrol,,Cholest-5-en-3-ol(3.beta),, (-)- Cholestrol,, Cholest-5-en-3.beta-ol,,Cholesterin,, Cholestrol base H	$C_{27}H_{46}$	386	3.62
83	Isocholesteryl methyl ether,, 3.alpha-	$C_{28}H_{48}O$	400	3.62

	Cholestrol methyl ether,,3-Methoxycholest-5-ene			
84	Cholesterol 3.beta.-O-(2-chloroethyl)-ether,,3-(Chloreothoxy)cholest-5-ene	C ₂₉ H ₄₉ ClO	448	3.62
85	17-(1,5-Dimethylhexy)-10,13-dimethyl-2,3,4,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-tetradeccahydro-1H-Cyclopenta(a)phenanthren-3-ol	C ₂₇ H ₄₆ O	386	3.62

ملحق (8)

المركبات الكيميائية للحشرة الكاملة تشمل جدار الجسم والأحشاء الداخلية للنوع

Ch. megacephala

التسلسل	اسم المركب	الصيغة الكيميائية	الوزن الجزيئي	المساحة %
1	Xylene ,,Benzene,1,4-dimethyl-p-dimethylbenzene,p-Xylol,1,4-dimethylbnzene,1,4-Xylene,,p-methyltoluene	C ₈ H ₁₀	106	0.18
2	Benzeneethanol,alpha,beta,-dimethyl-,3-phenyl-2-butanol,,phenethyl alcohol,alpha, beta -dimethyl-	C ₁₀ H ₄₀	150	0.18
3	Cyclopentene,1-ethenyl-3-methylene,,3-Methylene-1-vinyl-1-cyclopentene	C ₈ H ₁₀	106	0.18
4	Undecanoic acid,,n- Undecanoic acid,,n- Undecoic acid,,n-Undecyclic acid,,Hendecanoic acid,, Undecyclic acid,,1-Decanecart	C ₁₁ H ₂₂ O ₂	186	0.14
5	Dodecanoic acid,,n-Dodecanoic acid,,Neo-fat 12,,Aliphat no.4,,Abl ,,Dodecylic acid,,Lauric acid,,Laurostearic acid,,	C ₁₂ H ₂₄ O ₂	200	0.14
6	n-Decanoic acid,, Decanoic acid,,n-Carpic acid,,n-Decoic acid ,,n-Dcyclic acid,, Capric acid,,Caprinic acid,,Caprynic acid	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	172	0.14
7	Nonanoic acid,,n-Nonanoic acid,,n-Nonoic acid,,n-Nonylic acid,,Nonoic acid,, Nonylic acid,, Pelargic acid,,Pelargonic acid	C ₉ H ₁₈ O ₂	158	0.14
8	N-Hexadecanoic acid,, Hexadecanoic acid,,n-Hexadecoic acid,,Palmitic acid,,Pentadcanecaroxylic acid,,1-Pentadcanecaroxylic acid	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256	0.14
9	Tetradecanoic acid,,Myristic acid,,n-Tetradecaneic acid,,n-Tetradecoic acid,,Neo-Fat 14,,Univol U 316S	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	228	0.73
10	Tridecanoic acid,,n- Tridecanoic acid,,n-Tridecoic acid,,Tridecylic acid	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	214	0.73
11	Pentadecanoic acid,,Pentadecylic acid,,n-Pentadecanoic acid,,n-Pentadecylic acid	C ₁₅ H ₃₀ O ₂	242	0.73
12	Cis-10-Heptadecenoic acid	C ₁₇ H ₃₂ O ₂	268	20.26
13	Cis-9-Hexadecenoic acid	C ₁₆ H ₃₀ O ₂	254	20.26
14	Cyclopentadecanone,2-hydroxy-, 2-Hydroxycyclopentadecanone	C ₁₅ H ₂₈ O ₂	240	20.26
15	Cis-Vaccenic acid	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	282	20.26

16	Z-11-Pentadecenol	$C_{15}H_{30}O$	226	20.26
17	1-(+)-Ascorbic acid 2,6-dihexadecanoate	$C_{38}H_{68}O_8$	652	11.71
18	22-Tricosenoic acid	$C_{23}H_{44}O_2$	352	0.52
19	Cis-11-Eicosenoic acid	$C_{20}H_{38}O_2$	310	0.52
20	cis-10-Nonadecenoic acid	$C_{19}H_{36}O_2$	296	0.52
21	cis-9-Hexadecenol,, 9-Hexadecenol,(Z)- ,,(Z)- 9-Hexadecenol ,, Z- 9- Hexadecenol,,(9Z)- Hexadecenol	$C_{16}H_{30}O$	238	31.67
22	Z,Z,-8,10-Hexadecadien-1-ol	$C_{16}H_{30}O$	238	31.67
23	cis-13,16-Docosadienoic acid	$C_{22}H_{40}O_2$	336	31.67
24	17-Octadecynoic acid	$C_{18}H_{32}O_2$	280	31.67
25	9,9-Dimethoxybicyclo(3.3.1)nona-2,4- dione,, 9,9- Dimethoxybicyclo(3.3.1)nonane-2,4- dione	$C_{11}H_{16}O_4$	212	0.70
26	Octadecanoic acid,,Stearic acid,,n- Octadecanoic acid,,Humko Industren R,,Hydrofol acid 150,,Hystrene S-97,, Hystrene	$C_{18}H_{36}O_2$	284	0.70
27	Pentadecanoic acid,14-bromo,,14- Bromopentadecanoic acid	$C_{15}H_{29}BrO_2$	320	0.70
28	Heptadecanoic acid,heptadecyl ester,,Heptadecyl heptadecanoate	$C_{34}H_{68}O_2$	508	0.70
29	1-Hentetracontanol	$C_{41}H_{84}O$	592	0.76
30	Tetrapentacontane,1,54-dibromo-	$C_{54}H_{108}Br_2$	914	0.76
31	Tetratricontyl pentafluoropropionate	$C_{37}H_{68}F_5O_2$	640	0.76
32	Octatriacontyl trifluoroacetate	$C_{40}H_{77}F_3O_2$	646	0.76
33	Hexatriacontyl pentafluoropropionate	$C_{39}H_{73}F_5O_2$	668	0.76
34	Tetratetraacontane,,n- Tetratetraacontane	$C_{44}H_{90}$	618	0.68
35	Tritetracontane	$C_{43}H_{88}$	604	0.68
36	Eicosane,,n-Eicosane,,Icosane	$C_{20}H_{42}$	282	0.68
37	Hentriacontane,,n- Hentriacontane,,Untriacontane	$C_{31}H_{64}$	436	0.68
38	Hexatriacontane,,n- Hexatriacontane	$C_{36}H_{74}$	506	0.68
39	Pentadecane,8-hexyl-,8-n-Hexyl pentadecane,,8 -Hexyl pentadecane	$C_{21}H_{44}$	296	0.64
40	Tetratriacontane,,n- Tetratriacontane	$C_{34}H_{70}$	478	0.64
41	1,2-Benzendicarboxylic acid,diisooctyl ester,,Diisooctyl phthalate,,Hexaplas M/O,,Isooctyl phthalate,,Corflex 880,,DIOP	$C_{24}H_{38}O_4$	390	1.33
42	1,2-Benzendicarboxylic acid,mono (2- ethylhexyl) phthalate,,Phthalic acid,mono,, (2-ethylhexyl) ester	$C_{16}H_{22}O_4$	278	1.33
43	Bis(2-ethylhexyl)phthalate,,1,2- Benzenedicarboxylic acid,bis((2- ethylhexyl)ester,,Phthalic acid, (2- ethylhexyl)ester	$C_{24}H_{38}O_4$	390	1.33
44	Phthalic acid, 2-ethylhexyl isohexyl ester	$C_{22}H_{34}O_4$	362	1.33

45	Phthalic acid, 6-ethyloct-3-yl 2-ethylhexyl ester	$C_{26}H_{42}O_4$	418	1.33
46	Heptadecane 2,6,10,15-tetramethyl-, 2,6,10,15-Tetramethylheptadecane	$C_{21}H_{44}$	296	2.74
47	1-Heptacosanol,, Heptacosanol-1-ol,, Heptacosanol	$C_{27}H_{56}O$	396	0.85
48	1-Octacosanol	$C_{28}H_{58}O$	410	0.85
49	n-Tetracosanol,,Lignoceric alcohol,, Lignocery alcohol,, 1- Tetracosanol,, Tetracosan-1-ol,, Tetracosanol alcohol,, Lignocerol	$C_{24}H_{50}O$	354	0.85
50	1-Henecosanol,, Henecosan-1-ol	$C_{21}H_{44}O$	312	0.85
51	9-Tricosene,(Z)-,,(Z)-9-Tricosene,,cis-9-Tricosene,,Muscalure,,(9Z)-Tricosene,,(9Z)-9-Tricosene	$C_{23}H_{46}$	322	0.85
52	13-Tetradecen-1-ol acetate,, 13-Tetradecen acetate	$C_{16}H_{30}O_2$	254	0.60
53	Cyclopenta,1-pentyl-2-propyl-,1-Pentyl-2-propylcyclopenta	$C_{13}H_{26}$	182	0.60
54	Heptadecyl trifluoroacetate	$C_{19}H_{35}F_3O_2$	352	0.60
55	Docosyl trifluoroacetate	$C_{24}H_{45}F_3O_2$	422	0.60
56	Nonane,3-methyl-5-propyl,, 3-Methyl-5-propylnonane	$C_{13}H_{28}$	184	3.60
57	Hexadecane,1-iodo,,Cetyl iodide,,Hexadecyl iodide,,1-Iodoheptadecane,,n- Hexadecyl iodide	$C_{16}H_{33}I$	352	3.60
58	Hexadecane,7-methyl-,7-methyl hexadecane	$C_{17}H_{36}$	240	3.60
59	Nonane,5-propyl-,5-Propylnonane	$C_{12}H_{26}$	170	3.60
60	Squalane,,Tetracosane,26,10,15,19,23-hexamethyl-,Cosbiol,,Dodecahydrosqualene,,Perhydosqualene,,Robane,,Spinaca	$C_{30}H_{62}$	422	1.05
61	Triacontanane,,n- Triacontanane	$C_{30}H_{62}$	422	4.95
62	Tetracontane,,n- Tetracontane	$C_{40}H_{82}$	652	4.95
63	Heptadecane,,n- Heptadecane,,Normal-heptadecane,,n-	$C_{17}H_{36}$	240	2.21
64	Pentadecane,2-6-10-14-tetramethyl,,Bute hydrocarbon,,Norphytan,, Norphytane,,Pristan,, Pristane,, 2-6-10-14-Tetramethyl pentadecane	$C_{19}H_{40}$	268	2.21
65	Tetracontane-1,40-diol,,1,40-Tetracontanediol	$C_{40}H_{82}O_2$	594	0.32
66	Oxirane,hexadecyl-,1,2-Expoyoctadecane,,2-Hexadecyloxirane	$C_{18}H_{36}O$	268	0.32
67	(Z)-14-Tricosenyl formate,,(14Z)-14-Tricosenyl formate	$C_{24}H_{46}O_2$	366	0.32
68	Dichloroacetic acid,undec-2-enyl ester	$C_{13}H_{22}Cl_2O$	280	0.32
69	Oxirane,heptadecyl-,1,2-	$C_{19}H_{38}O$	282	0.32

	Expoyoctadecane,,2-Heptadecyloxirane			
70	1,5-Methyltritriacontane	C ₃₄ H ₇₀	478	0.75
71	Octatriacontyl pentafluoropropionate	C ₄₁ H ₇₇ F ₅ O ₂	696	0.75
72	Cholestane-3,5-diol,5-acetate,(3.beta,5.alpha),, 5-Hydroxycholestan-5-yl acetate	C ₂₉ H ₅₀ O ₃	446	5.29
73	Cholestrol,,Cholest-5-en-3-ol(3.beta),, (-)- Cholestrol,, Cholest-5-en-3.beta.-ol,,Cholesterin,, Cholestrol base H	C ₂₇ H ₄₆ O	386	5.29
74	17-(1,5-Dimethylhexy)-10,13-dimethyl-2,3,4,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-tetradecahydro-1H-Cyclopenta(a)phenanthren-3-ol	C ₂₇ H ₄₆ O	386	5.29
75	Isocholesteryl methyl ether,, 3.alpha-Cholestrol methyl ether,,3-Methoxycholest-5-ene	C ₂₈ H ₄₈ O	400	5.29
76	Cholesterol 3.beta.-O-(2-chloroethyl)-ether,,3-(Chloreothoxy)cholest-5-ene	C ₂₉ H ₄₉ ClO	448	5.29

ملحق (9)

يبين الاختلاف بين النوعين في المركبات الكيميائية التي شخّصت باستخدام تقنية GC-MS

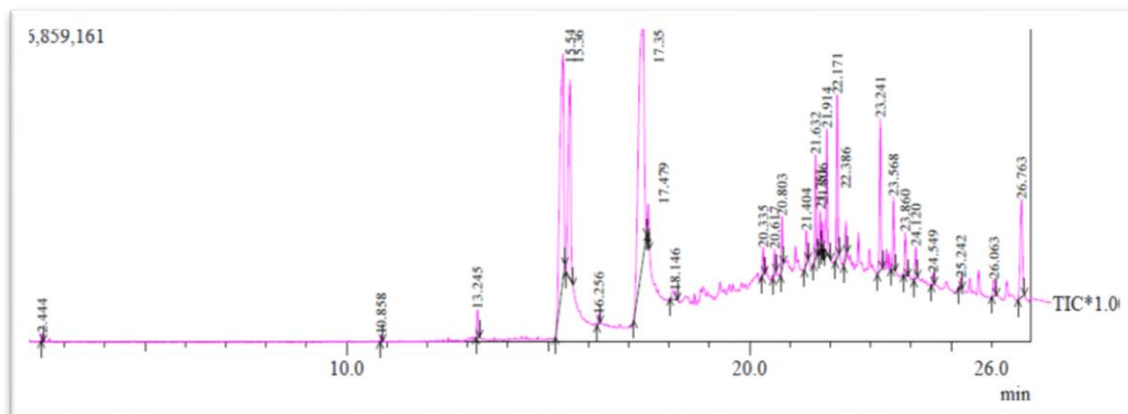
ت	<i>Ch.albiceps</i>	ت	<i>Ch.megacephla</i>
1	9,12-Octadecadienoic acid(z,z)-,cis-12- Octadecadienoic acid,,cis-cis-Linoleic acid,,Grape seed oil,,Linoleic,,Linoleic	1	Tetradecanoic acid,,Myristic acid,,n-Tetradecanoic acid,,n-Tetradecoic acid,,Neo-Fat 14,,Univol U 316S
2	Oxacyclohepadec-8-en-2-one,,Ambrettolid,,Ambrettolide,,Musk ambrette,, Musk ambrette,natural,, Musk natural	2	Cis-9-Hexadecenoic acid
3	9,12-Octadecadien-1-ol,(Z,Z)-,,(9Z,12Z)-9,12- Octadecadien-1-ol	3	1-(+)-Ascorbic acid 2,6-dihexadecanoate
4	6-Octadecenoic acid,(Z)-,,(6Z)-6-Octadecenoic acid	4	22-Tricosenoic acid
5	10-Methylnonadecane	5	cis-9-Hexadecenal,, 9-Hexadecenal,(Z)-,,(Z)- 9-Hexadecenal ,, Z- 9-Hexadecenal,,(9Z)- Hexadecenal
6	Z,Z,Z-1,4,6,9-Nonadecatetraene	6	Z,Z,-8,10-Hexadecadien-1-ol
7	Archidonic acid,,5,8,11,14-Eicosatetraenoic acid,(all-Z)-,,Archidonate,, (all-Z)- 5,8,11,14-Eicosatetraenoic acid	7	cis-13,16-Docosadienoic acid
8	Gamolenic acid,,(Z,Z,Z)-6,9,12-Octadecatrienoic acid,, .gamma.-Linolenic acid	8	17-Octadecynoic acid
9	Icosapent,, .omega.-3Marian Triglycerides,, (all-Z)- 5,8,11,14-Eicosatetraenoic acid	9	9,9-Dimethoxybicyclo(3.3.1)nona-2,4-dione,, 9,9-Dimethoxybicyclo(3.3.1)nonane-2,4-dione
10	5,8,11-Heptadecatrien-1-ol,,(5E,8E,11E)- 5,8,11-Heptadecatrien-1-ol	10	Octadecanoic acid,,Stearic acid,,n-Octadecanoic acid,,Humko Industren R,,Hydrofol acid 150,,Hystrene S-97,, Hystrene
11	13-Docosenamide,(Z)-,,Erucylamide,, Erucy lamide (Z)-13-Docosenamide,, 13-Docosenamide,,Armid E,,cis-13-Docosenamide	11	Pentadecanoic acid,14-bromo,,14-Bromopentadecanoic acid
12	8-Methyl-6-nonenamide	12	Heptadecanoic acid,heptadecyl

			ester,,Heptadecyl heptadecanoate
13	9-Octadecenamide,(Z)-,,Adogen 73,,Oleamide,,Oleic acid amide,,Oleyl amide,,Slip-eze-,,Armoslip CP,,Crodamide O	13	1-Hentetracontanol
14	Non-7-ynamide	14	Tetrapentacontane,1,54-dibromo-
15	Alpha-Methyl-alpha-(4-methyl-pentenyl)oxiranemethanol	15	Tetratricontyl pentafluoropropionate
16	Nonadecane,9-methyl-,9-Methylnonadecane	16	Octatriacontyl trifluoroacetate
17	Aspidofractinine-3-methanol,(2.alpha,3.beta,5.alpha)-,,Kopsinyl alcohol,, Aspidofractinine-3- ylmethanol	17	Hexatriacontyl pentafluoropropionate
18	5,5-Dibutylnonane	18	Tetratetraacontane,,n-Tetratetraacontane
19	Nonadecane,2,6,10,14,18-pentamethyl-,2,6,10,14,18-Pentamethylnonadecane,	19	Tritetracontane
20	Eicosane,2,6,10,14,18-pentamethyl-,2,6,10,14,18-pentamethyleicosane	20	Hentriacontane,,n-Hentriacontane,,Untriacontane
21	Tetrapentacontane	21	Pentadecane,8-hexyl-,8-n-Hexyl pentadecane,,8 -Hexyl pentadecane
22	Hexacontane	22	Bis(2-ethylhexyl)phthalate,,1,2-Benzenedicarboxylic acid,bis((2-ethylhexyl)ester,,Phthalic acid, (2-ethylhexyl)ester
23	Hexadecane,2,6,10,14-tetramethyl-,Phytan,,Phytane,,2,6,10,14-Tetramethylhexadecane	23	Phthalic acid, 6-ethyloct-3-yl 2-ethylhexyl ester
24	Eicosyl trifluoroacetate	24	1-Octacosanol
25	Docosyl heptafluorobutyrate	25	n-Tetracosanol,,Lignoceric alcohol,, Lignocery alcohol,, 1-Tetracosanol,, Tetracosan-1-ol,, Tetracosanol alcohol,, Lignocerol
26	Benzoic acid,2,3-bis((trimethylsilyl)oxy)-, trimethylsilyl ester,, Trimethylsilyl 2,3-bis((trimethylsilyl)oxy) benzoate,, Trimethylsilyl	26	1-Henecosanol,, Henecosan-1-ol
27	Silane,((4-(1,2-bis((trimethylsilyl)oxy)ethyl)1,2-phenylene)bis(oxy)bis(trimethyl-,	27	13-Tetradecen-1-ol acetate,, 13-Tetradecen acetate

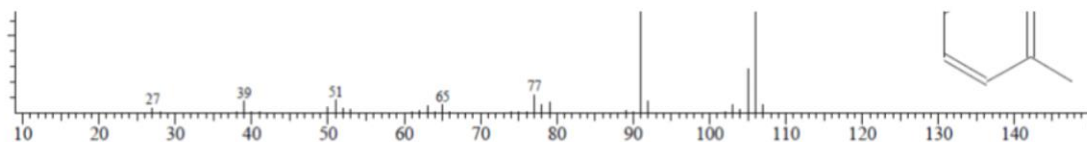
	Silane,((4-(1,2-bis((trimethylsilyl)oxy)ethyl)1,2-		
28	DL-Norepinephrine,N,O,O,O-Tetrakis(trimethylsilyl)-	28	Heptadecyl trifluoroacetate
29	1,37-Octatriacontadiene	29	Cyclopenta,1-pentyl-2-propyl-,1-Pentyl-2-propylcyclopenta
30	1,30-Tricontanediol	30	Heptadecyl trifluoroacetate
31	Heneicosyl trifluoroacetate	31	Docosyl trifluoroacetate
		32	Nonane,3-methyl-5-propyl,, 3-Methyl-5-propylnonane
		33	Hexadecane,7-methyl-,7-methyl hexadecane
		34	Nonane,5-propyl-,5-Propylnonane
		35	Triaconatane,,n- Triaconatane
		36	Tetracontane,,n- Tetracontane
		37	Pentadecane,2-6-10-14-tetramethyl,,Bute hydrocarbon,,Norphytan,, Norphytane,,Pristan,, Pristane,, 2-6-10-14-Tetramethyl pentadecane
		38	(Z)-14-Tricosenyl formate,,(14Z)-14- Tricosenyl formate
		39	Dichloroacetic acid,undec-2-enyl ester
		40	Oxirane,heptadecyl-,1,2-Expoyoctadecane,,2-Heptadecyloxirane
		41	1,5-Methyltritiacontane
		42	Octatriacontyl pentafluoropropionate

ملحق (10)

المركبات الكيميائية الخاصة بالنوع *Ch. megacephala* والمشفرة بواسطة الـ GC-MS



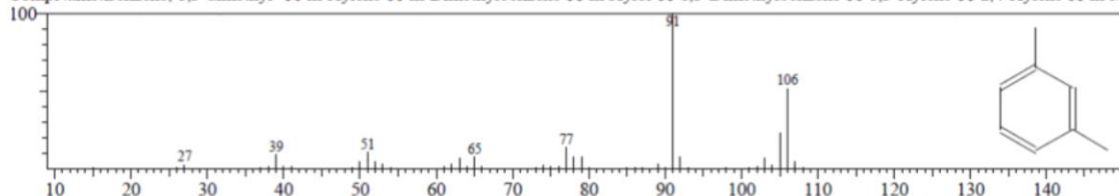
شكل (17) مرتسم كروماتوغرافيا الغاز للمحتوى الكيميائي للحشرة الكاملة تشمل جدار الجسم والاحشاء الداخلية للنوع *Ch. megacephala*



Hit#2 Entry:2687 Library:NIST08.LIB

SI:93 Formula:C8H10 CAS:108-38-3 MolWeight:106 RetIndex:907

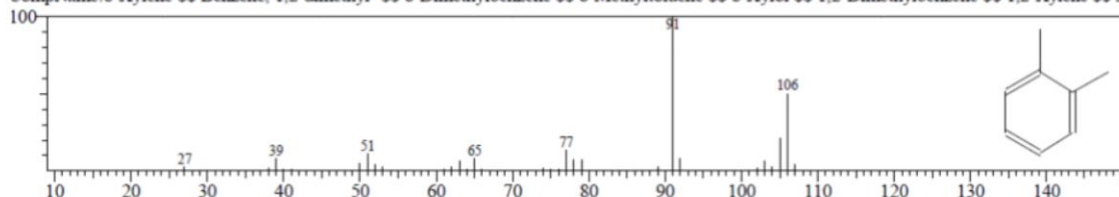
CompName:Benzene, 1,3-dimethyl- \$\$ m-Xylene \$\$ m-Dimethylbenzene \$\$ m-Xylol \$\$ 1,3-Dimethylbenzene \$\$ 1,3-Xylene \$\$ 2,4-Xylene \$\$ m-Me



Hit#3 Entry:2689 Library:NIST08.LIB

SI:92 Formula:C8H10 CAS:95-47-6 MolWeight:106 RetIndex:907

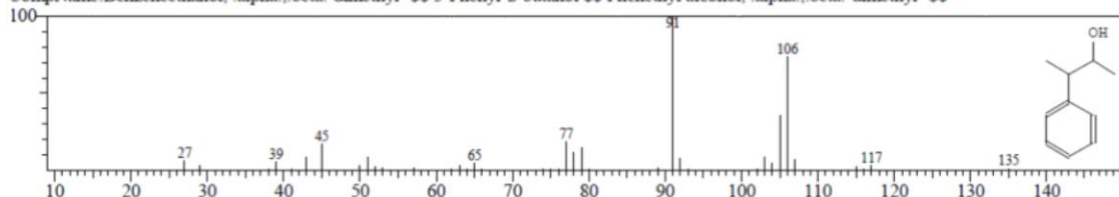
CompName:o-Xylene \$\$ Benzene, 1,2-dimethyl- \$\$ o-Dimethylbenzene \$\$ o-Methyltoluene \$\$ o-Xylol \$\$ 1,2-Dimethylbenzene \$\$ 1,2-Xylene \$\$ 3,



Hit#4 Entry:15249 Library:NIST08.LIB

SI:92 Formula:C10H14O CAS:52089-32-4 MolWeight:150 RetIndex:1190

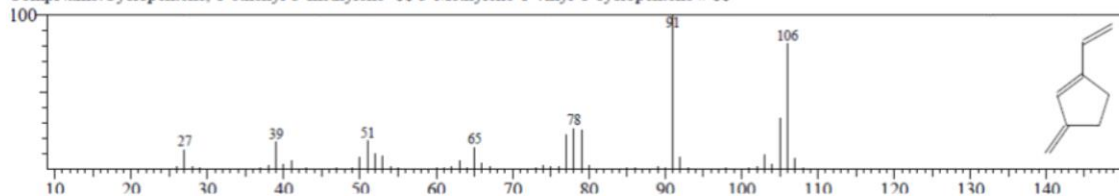
CompName:Benzenethanol, alpha.,beta.-dimethyl- \$\$ 3-Phenyl-2-butanol \$\$ Phenethyl alcohol, alpha.,beta.-dimethyl- \$\$



Hit#5 Entry:2686 Library:NIST08.LIB

SI:91 Formula:C8H10 CAS:61142-07-2 MolWeight:106 RetIndex:827

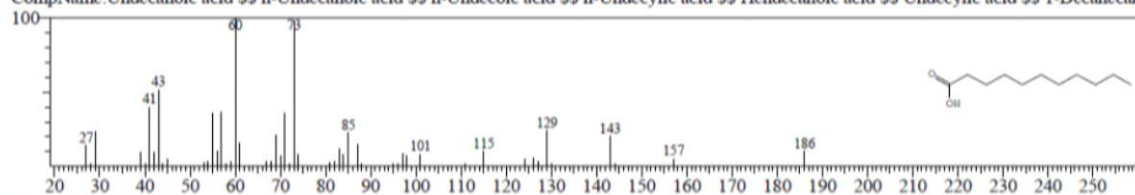
CompName:Cyclopentene, 1-ethenyl-3-methylene- \$\$ 3-Methylene-1-vinyl-1-cyclopentene # \$\$



Hit#1 Entry: 2757 Library: NIST08.LIB

SI:91 Formula: C₁₁H₂₂O₂ CAS: 112-37-8 MolWeight: 186 RetIndex: 1471

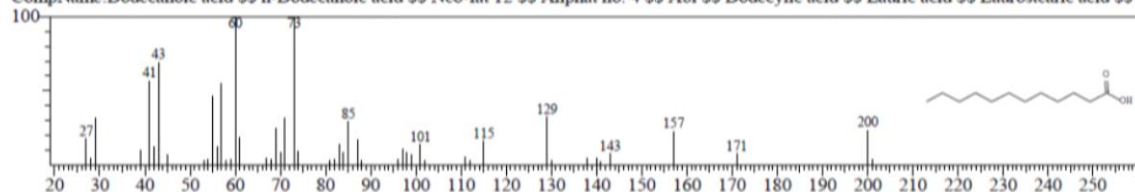
CompName: Undecanoic acid \$ n\$-Undecanoic acid \$ n\$-Undecylic acid \$ Hendecanoic acid \$ Undecylic acid \$ 1-Decanecar



Hit#2 Entry: 42930 Library: NIST08.LIB

SI:89 Formula: C₁₂H₂₄O₂ CAS: 143-07-7 MolWeight: 200 RetIndex: 1570

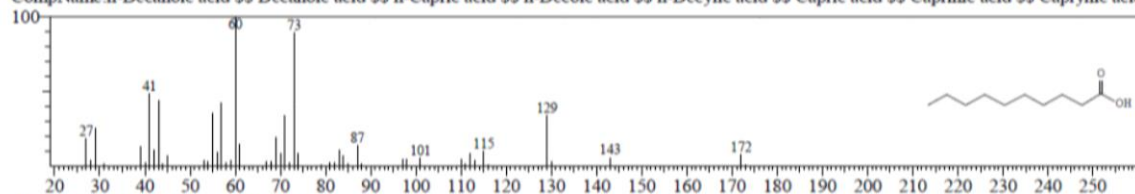
CompName: Dodecanoic acid \$ n\$-Dodecanoic acid \$ Neo-fat 12 \$ Aliphatic no. 4 \$ Abl \$ Dodecyl acid \$ Lauric acid \$ Laurostearic acid \$?



Hit#3 Entry: 26672 Library: NIST08.LIB

SI:89 Formula: C₁₀H₂₀O₂ CAS: 334-48-5 MolWeight: 172 RetIndex: 1372

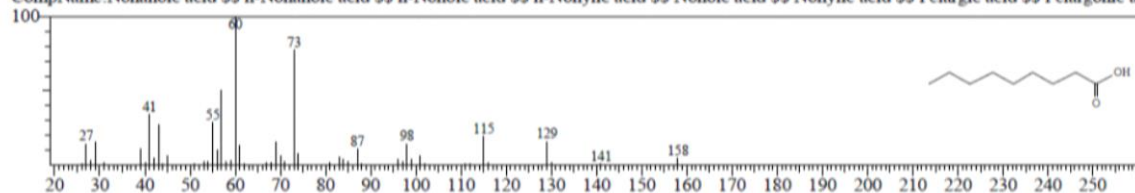
CompName: n-Decanoic acid \$ Decanoic acid \$ n-Capric acid \$ n-Decoic acid \$ n-Decylic acid \$ Capric acid \$ Caprinic acid \$ Caprynic acid



Hit#4 Entry: 19208 Library: NIST08.LIB

SI:87 Formula: C₉H₁₈O₂ CAS: 112-05-0 MolWeight: 158 RetIndex: 1272

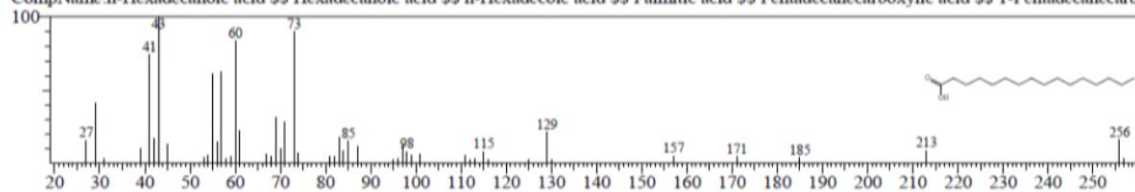
CompName: Nonanoic acid \$ n-Nonanoic acid \$ n-Nonoic acid \$ n-Nonylic acid \$ Nononic acid \$ Nonylic acid \$ Pelargic acid \$ Pelargonic ac



Hit#5 Entry: 80732 Library: NIST08.LIB

SI:87 Formula: C₁₆H₃₂O₂ CAS: 57-10-3 MolWeight: 256 RetIndex: 1968

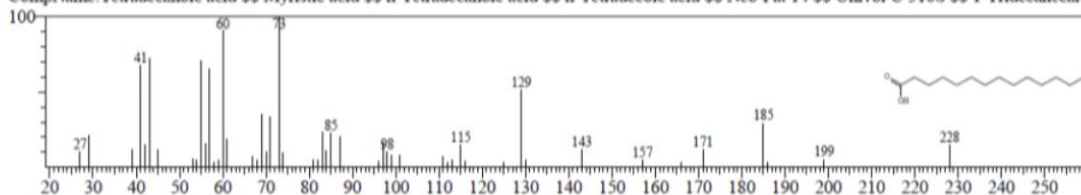
CompName: n-Hexadecanoic acid \$ Hexadecanoic acid \$ n-Hexadecoic acid \$ Palmitic acid \$ Pentadecanecarboxylic acid \$ 1-Pentadecanecarbo



Hit# 1 Entry: 61604 Library: NIST08.LIB

SI:92 Formula: C₁₄H₂₈O₂ CAS: 544-63-8 MolWeight: 228 RetIndex: 1769

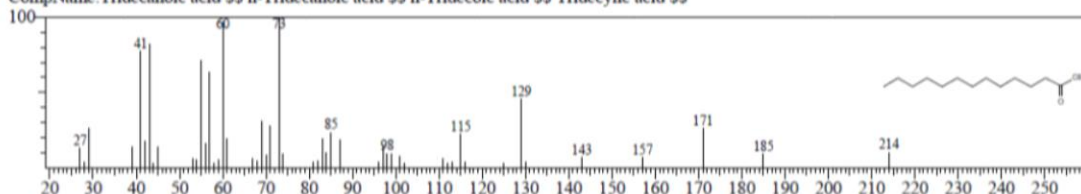
CompName: Tetradecanoic acid \$\$ Myristic acid \$\$ n-Tetradecanoic acid \$\$ n-Tetradecoic acid \$\$ Neo-Fat 14 \$\$ Univol U 316S \$\$ 1-Tridecanecarboxylic acid



Hit# 2 Entry: 52033 Library: NIST08.LIB

SI:91 Formula: C₁₃H₂₆O₂ CAS: 638-53-9 MolWeight: 214 RetIndex: 1670

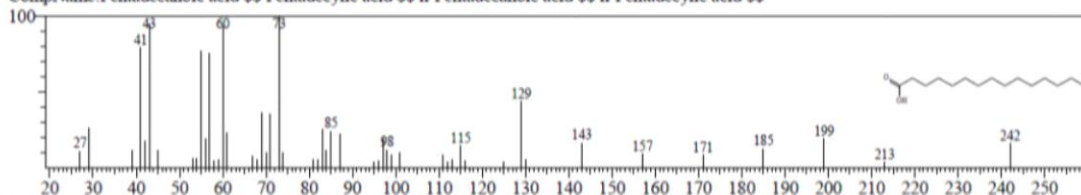
CompName: Tridecanoic acid \$\$ n-Tridecanoic acid \$\$ Tridecyl acid \$\$



Hit# 3 Entry: 70950 Library: NIST08.LIB

SI:89 Formula: C₁₅H₃₀O₂ CAS: 1002-84-2 MolWeight: 242 RetIndex: 1869

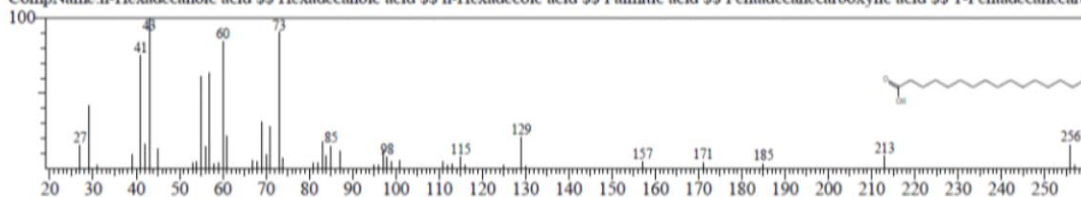
CompName: Pentadecanoic acid \$\$ Pentadecylic acid \$\$ n-Pentadecanoic acid \$\$ n-Pentadecylic acid \$\$



Hit# 4 Entry: 80732 Library: NIST08.LIB

SI:89 Formula: C₁₆H₃₂O₂ CAS: 57-10-3 MolWeight: 256 RetIndex: 1968

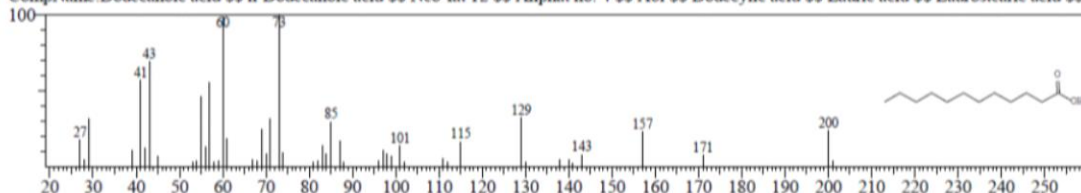
CompName: n-Hexadecanoic acid \$\$ Hexadecanoic acid \$\$ n-Hexadecoic acid \$\$ Palmitic acid \$\$ Pentadecanecarboxylic acid \$\$ 1-Pentadecanecarboxylic acid



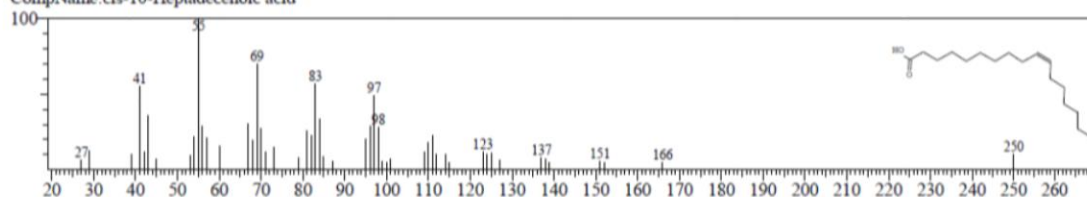
Hit# 5 Entry: 42930 Library: NIST08.LIB

SI:88 Formula: C₁₂H₂₄O₂ CAS: 143-07-7 MolWeight: 200 RetIndex: 1570

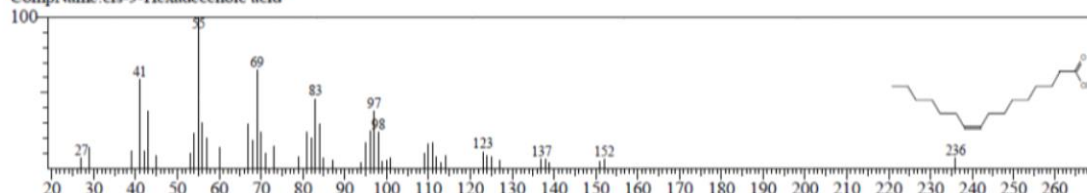
CompName: Dodecanoic acid \$\$ n-Dodecanoic acid \$\$ Neo-fat 12 \$\$ Aliphatic no. 4 \$\$ Abl \$\$ Dodecyl acid \$\$ Lauric acid \$\$ Laurostearic acid \$\$?



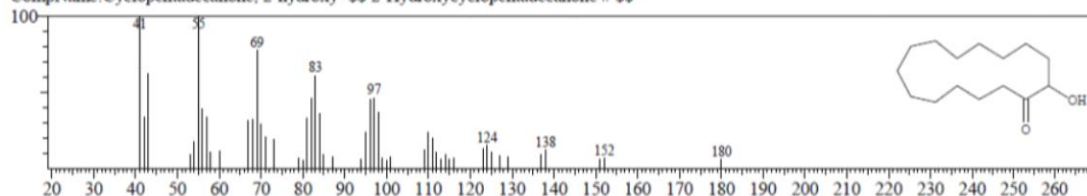
Hit#1 Entry:89130 Library:NIST08.LIB
SI:93 Formula:C17H32O2 CAS:29743-97-3 MolWeight:268 RetIndex:2075
CompName:cis-10-Heptadecenoic acid



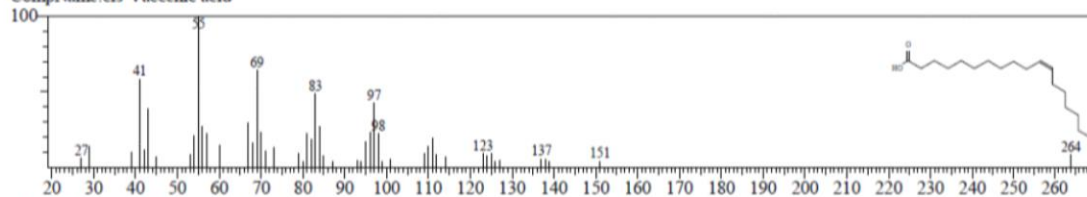
Hit#2 Entry:79170 Library:NIST08.LIB
SI:92 Formula:C16H30O2 CAS:0-00-0 MolWeight:254 RetIndex:1976
CompName:cis-9-Hexadecenoic acid



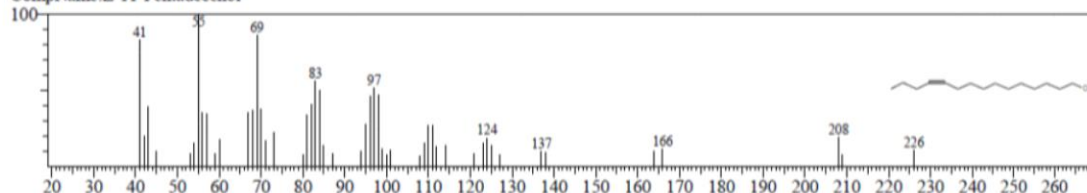
Hit#3 Entry:69506 Library:NIST08.LIB
SI:91 Formula:C15H28O2 CAS:4727-18-8 MolWeight:240 RetIndex:2158
CompName:Cyclopentadecanone, 2-hydroxy- β -2-Hydroxycyclopentadecanone # β



Hit#4 Entry:99164 Library:NIST08.LIB
SI:91 Formula:C18H34O2 CAS:506-17-2 MolWeight:282 RetIndex:2175
CompName:cis-Vaccenic acid



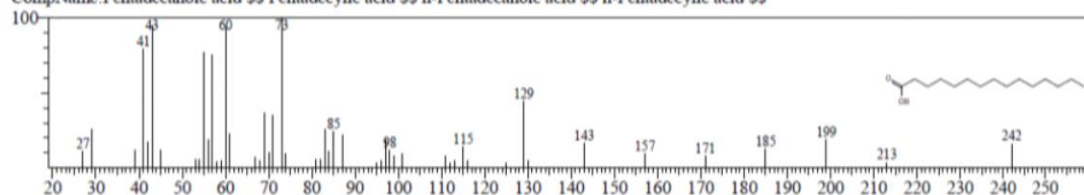
Hit#5 Entry:60312 Library:NIST08.LIB
SI:91 Formula:C15H30O CAS:0-00-0 MolWeight:226 RetIndex:1763
CompName:Z-11-Pentadecenol



Hit#1 Entry:70950 Library:NIST08.LIB

SI:88 Formula:C15H30O2 CAS:1002-84-2 MolWeight:242 RetIndex:1869

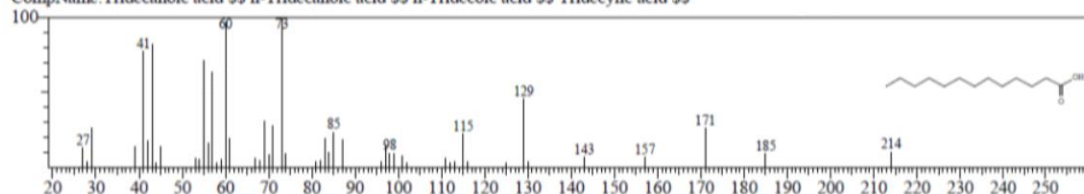
CompName: Pentadecanoic acid \$\$ n-Pentadecylic acid \$\$ n-Pentadecanoic acid \$\$ n-Pentadecylic acid \$\$



Hit#2 Entry:52033 Library:NIST08.LIB

SI:88 Formula:C13H26O2 CAS:638-53-9 MolWeight:214 RetIndex:1670

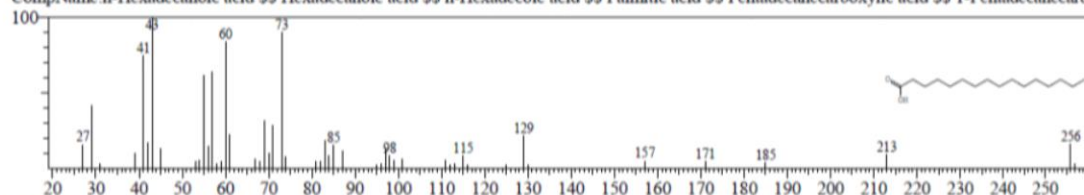
CompName: Tridecanoic acid \$\$ n-Tridecoic acid \$\$ Tridecylic acid \$\$



Hit#3 Entry:80732 Library:NIST08.LIB

SI:88 Formula:C16H32O2 CAS:57-10-3 MolWeight:256 RetIndex:1968

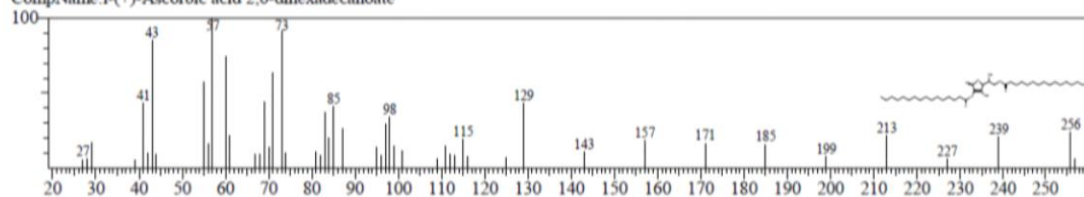
CompName: n-Hexadecanoic acid \$\$ Hexadecanoic acid \$\$ n-Hexadecic acid \$\$ Palmitic acid \$\$ Pentadecanecarboxylic acid \$\$ 1-Pentadecanecarboxylic acid



Hit#4 Entry:189990 Library:NIST08.LIB

SI:88 Formula:C38H68O8 CAS:28474-90-0 MolWeight:652 RetIndex:4765

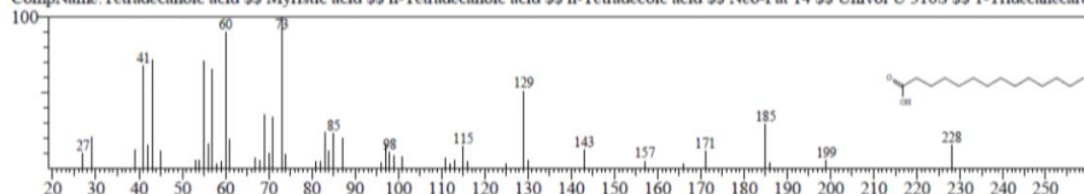
CompName: 1-(+)-Ascorbic acid 2,6-dihexadecanoate



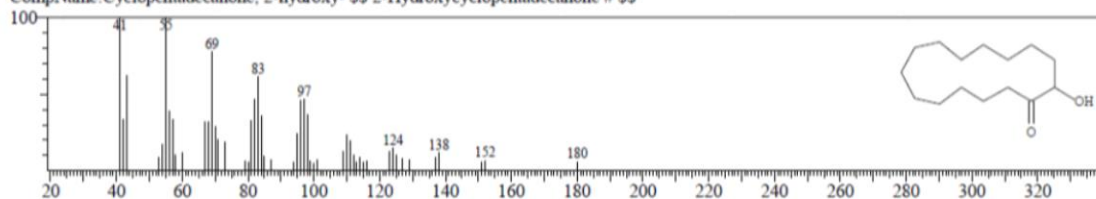
Hit#5 Entry:61604 Library:NIST08.LIB

SI:88 Formula:C14H28O2 CAS:544-63-8 MolWeight:228 RetIndex:1769

CompName: Tetradecanoic acid \$\$ Myristic acid \$\$ n-Tetradecanoic acid \$\$ n-Tetradecoic acid \$\$ Neo-Fat 14 \$\$ Univol U 316S \$\$ 1-Tridecanecarboxylic acid



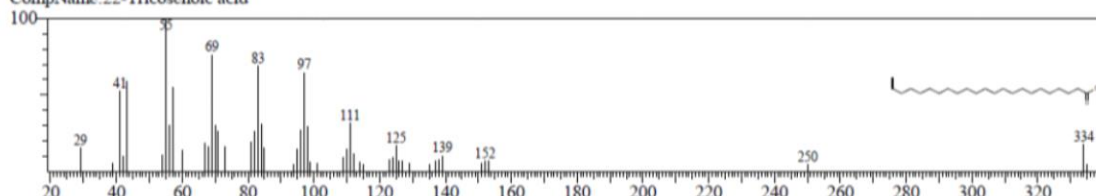
Hit# 1 Entry: 09200 Library: NIST08.LIB

SI: 88 Formula: C₁₅H₂₈O₂ CAS: 4727-18-8 MolWeight: 240 RetIndex: 2158CompName: Cyclopentadecanone, 2-hydroxy- β -2-Hydroxycyclopentadecanone # β 

Hit# 2 Entry: 146276 Library: NIST08.LIB

SI: 87 Formula: C₂₃H₄₄O₂ CAS: 65119-95-1 MolWeight: 352 RetIndex: 2654

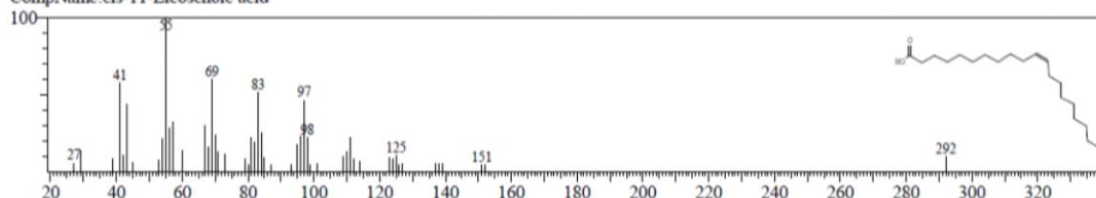
CompName: 22-Tricosenoic acid



Hit# 3 Entry: 119260 Library: NIST08.LIB

SI: 86 Formula: C₂₀H₃₈O₂ CAS: 5561-99-9 MolWeight: 310 RetIndex: 2374

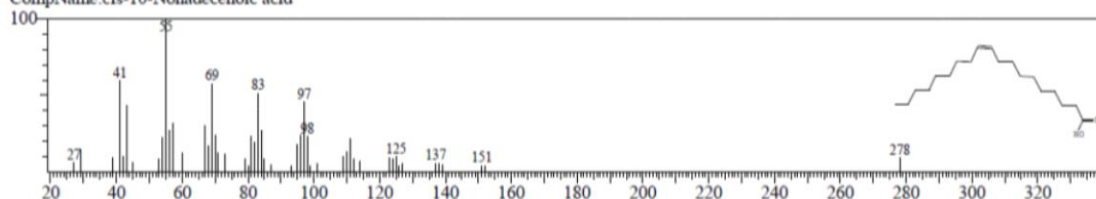
CompName: cis-11-Eicosenoic acid



Hit# 4 Entry: 109246 Library: NIST08.LIB

SI: 86 Formula: C₁₉H₃₆O₂ CAS: 73033-09-7 MolWeight: 296 RetIndex: 2274

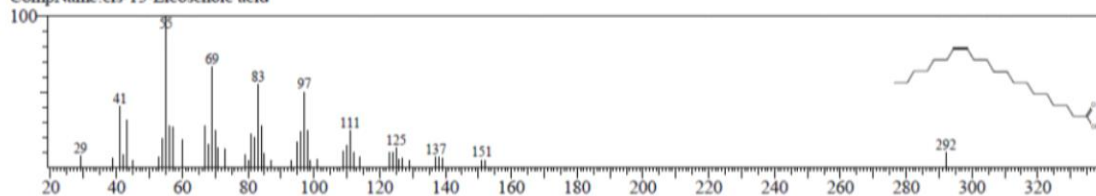
CompName: cis-10-Nonadecenoic acid



Hit# 5 Entry: 119265 Library: NIST08.LIB

SI: 86 Formula: C₂₀H₃₈O₂ CAS: 17735-94-3 MolWeight: 310 RetIndex: 2374

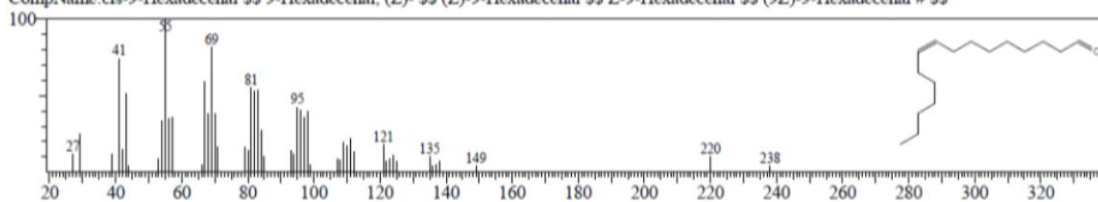
CompName: cis-13-Eicosenoic acid



***** Actual vs. Library Spectrum *****

SI:89 Formula:C16H30O CAS:56219-04-6 MolWeight:238 RetIndex:1808

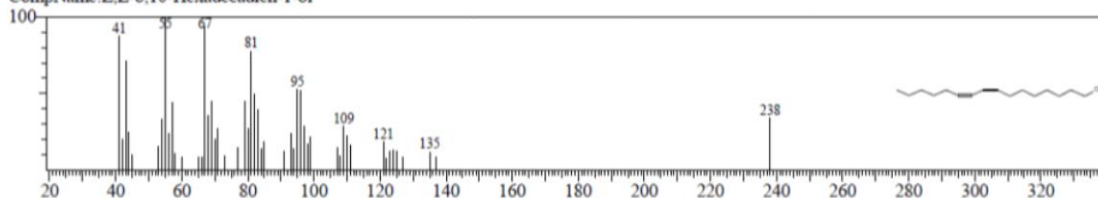
CompName:cis-9-Hexadecenal \$\$ 9-Hexadecenal, (Z)- \$\$ (Z)-9-Hexadecenal \$\$ 9-Hexadecenal # \$\$



Hit#2 Entry:68189 Library:NIST08.LIB

SI:89 Formula:C16H30O CAS:0-00-0 MolWeight:238 RetIndex:1870

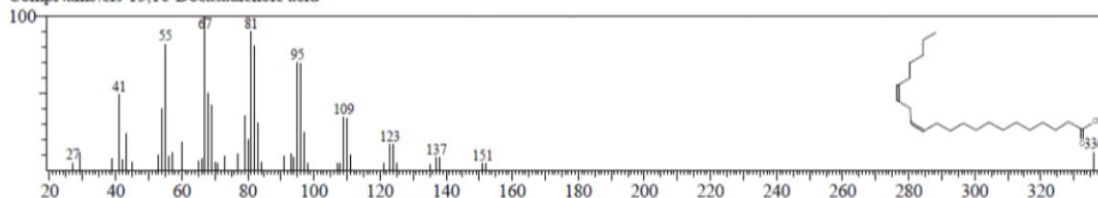
CompName:Z,Z-8,10-Hexadecadien-1-ol



Hit#3 Entry:136822 Library:NIST08.LIB

SI:88 Formula:C22H40O2 CAS:7370-49-2 MolWeight:336 RetIndex:2580

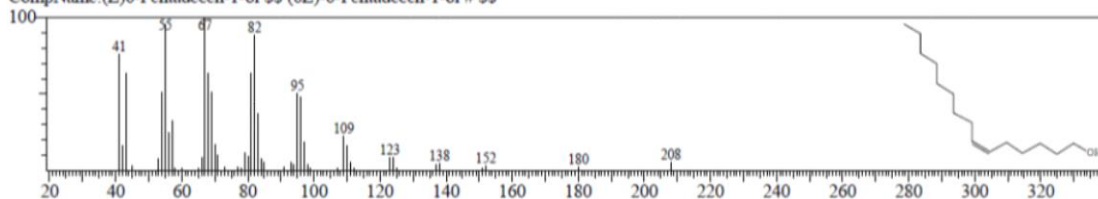
CompName:cis-13,16-Docosadienoic acid



Hit#4 Entry:60322 Library:NIST08.LIB

SI:88 Formula:C15H30O CAS:68797-95-5 MolWeight:226 RetIndex:1763

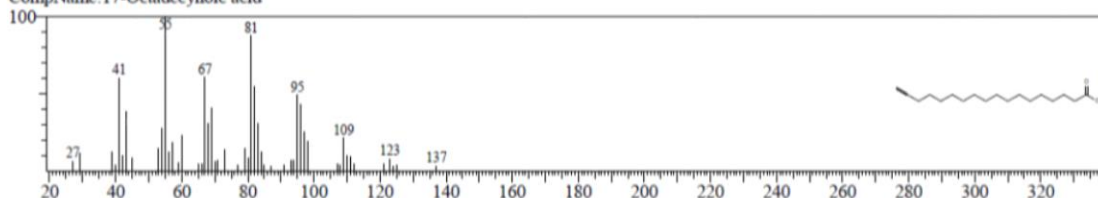
CompName:(Z)6-Pentadecen-1-ol \$\$ (6Z)-6-Pentadecen-1-ol # \$\$



Hit#5 Entry:97683 Library:NIST08.LIB

SI:88 Formula:C18H32O2 CAS:34450-18-5 MolWeight:280 RetIndex:2165

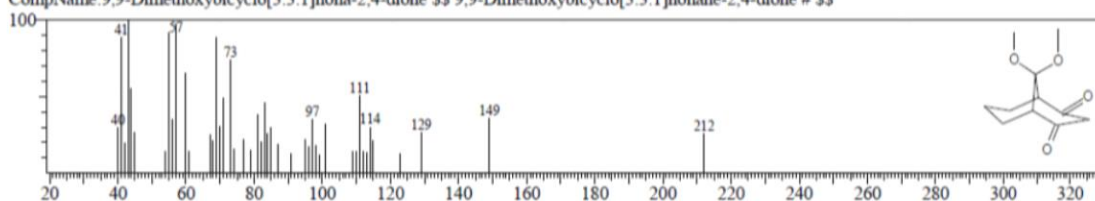
CompName:17-Octadecynoic acid



Hit#1 Entry:30466 Library:NIST08.LIB

SI:85 Formula:C11H16O4 CAS:117132-08-8 MolWeight:212 RetIndex:1610

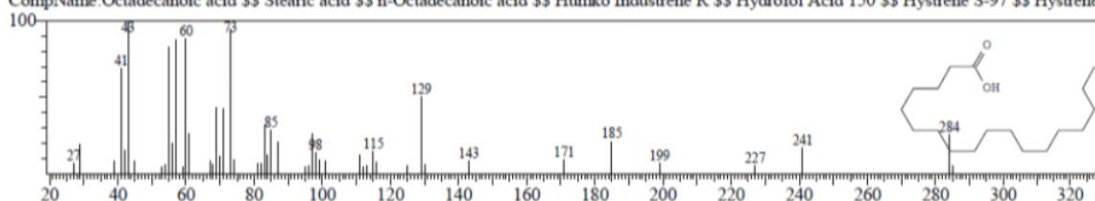
CompName:9,9-Dimethoxybicyclo[3.3.1]nonane-2,4-dione # \$



Hit#2 Entry:100791 Library:NIST08.LIB

SI:84 Formula:C18H36O2 CAS:57-11-4 MolWeight:284 RetIndex:2167

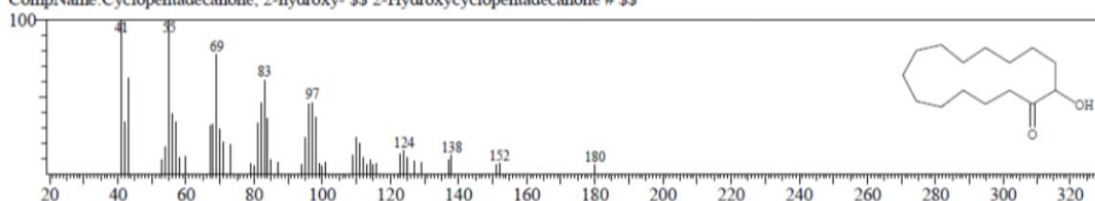
CompName:Octadecanoic acid \$ \$ Stearic acid \$ \$ n-Octadecanoic acid \$ \$ Humko Industriene R \$ \$ Hydrofol Acid 150 \$ \$ Hystrene S-97 \$ \$ Hystrene



Hit#3 Entry:69506 Library:NIST08.LIB

SI:83 Formula:C15H28O2 CAS:4727-18-8 MolWeight:240 RetIndex:2158

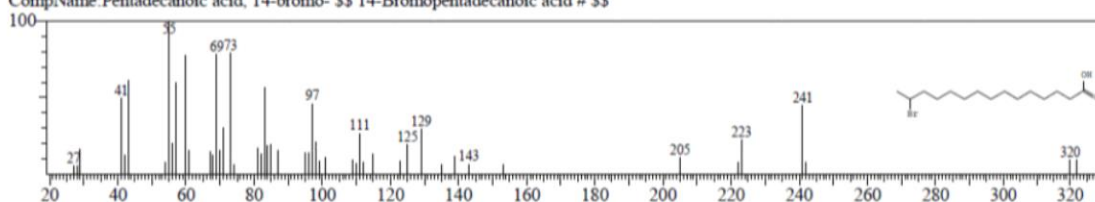
CompName:Cyclopentadecanone, 2-hydroxy- \$ \$ 2-Hydroxycyclopentadecanone # \$



Hit#4 Entry:125771 Library:NIST08.LIB

SI:83 Formula:C15H29BrO2 CAS:74685-41-9 MolWeight:320 RetIndex:2101

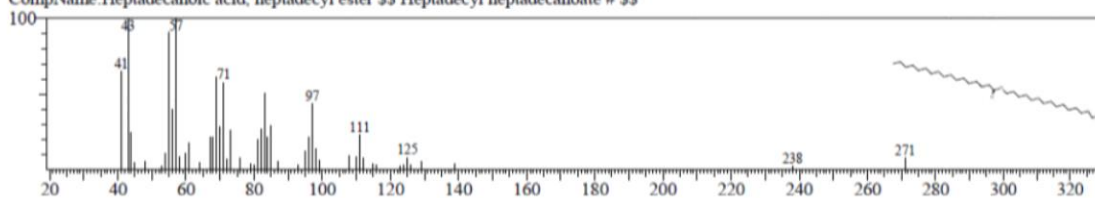
CompName:Pentadecanoic acid, 14-bromo- \$ \$ 14-Bromopentadecanoic acid # \$



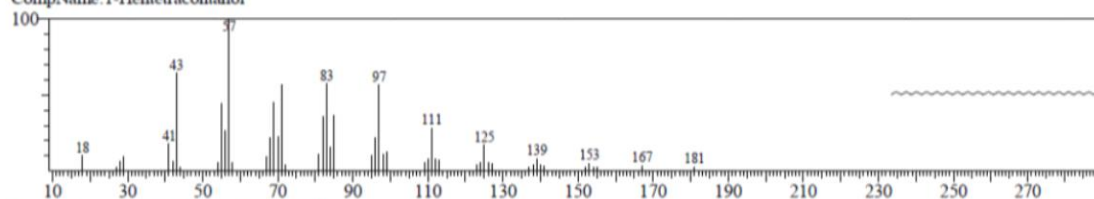
Hit#5 Entry:185255 Library:NIST08.LIB

SI:82 Formula:C34H68O2 CAS:36617-50-2 MolWeight:508 RetIndex:3568

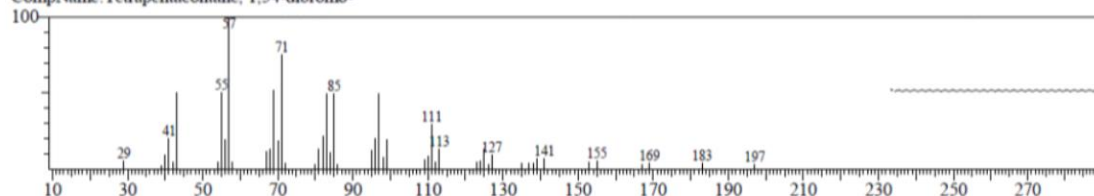
CompName:Heptadecanoic acid, heptadecyl ester \$ \$ Heptadecyl heptadecanoate # \$



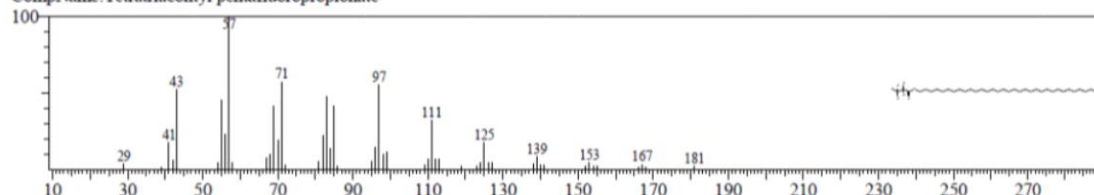
Hit# 1 Entry: 188819 Library: NIST08.LIB
SI: 89 Formula: C₄₁H₈₄O CAS: 40710-42-7 MolWeight: 592 RetIndex: 4339
CompName: 1-Hentetracontanol



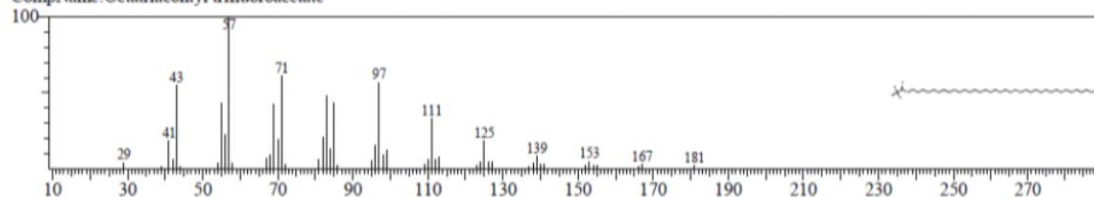
Hit# 2 Entry: 191317 Library: NIST08.LIB
SI: 89 Formula: C₅₄H₁₀₈Br₂ CAS: 0-00-0 MolWeight: 914 RetIndex: 5981
CompName: Tetrapentacontane, 1,54-dibromo-



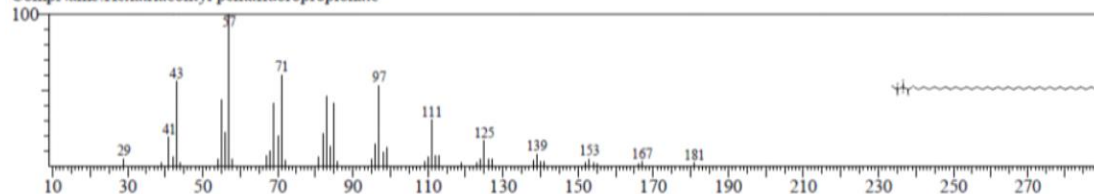
Hit# 3 Entry: 189817 Library: NIST08.LIB
SI: 89 Formula: C₃₇H₆₉F₅O₂ CAS: 0-00-0 MolWeight: 640 RetIndex: 3562
CompName: Tetratriacontyl pentafluoropropionate



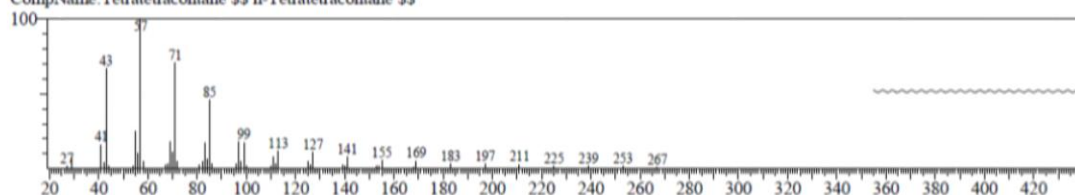
Hit# 4 Entry: 189901 Library: NIST08.LIB
SI: 89 Formula: C₄₀H₇₇F₃O₂ CAS: 0-00-0 MolWeight: 646 RetIndex: 3999
CompName: Octatriacontyl trifluoroacetate



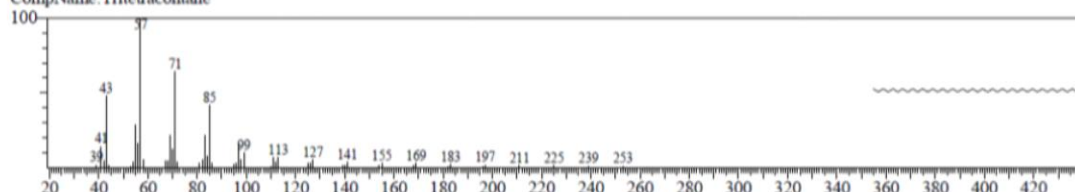
Hit# 5 Entry: 190182 Library: NIST08.LIB
SI: 89 Formula: C₃₉H₇₃F₅O₂ CAS: 0-00-0 MolWeight: 668 RetIndex: 3761
CompName: Hexatriacontyl pentafluoropropionate



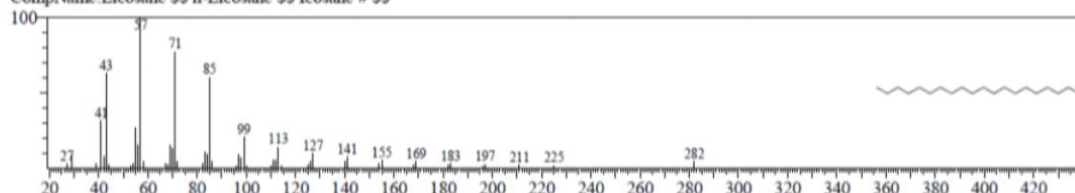
Hit#1 Entry:189407 Library:NIST08.LIB
SI:90 Formula:C44H90 CAS:7098-22-8 MolWeight:618 RetIndex:4395
CompName:Tetratetracontane \$\$ n-Tetratetracontane \$\$



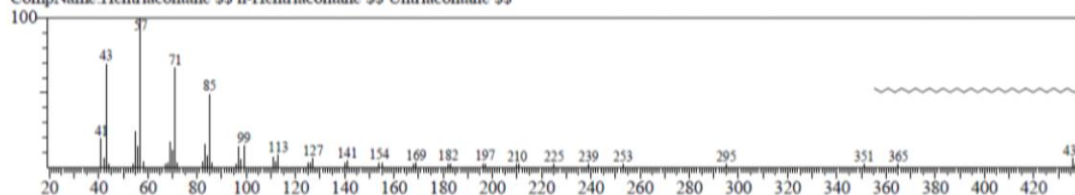
Hit#2 Entry:189112 Library:NIST08.LIB
SI:90 Formula:C43H88 CAS:7098-21-7 MolWeight:604 RetIndex:4295
CompName:Trtetracontane



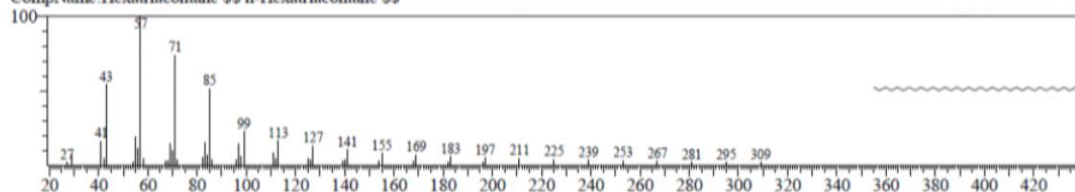
Hit#3 Entry:99287 Library:NIST08.LIB
SI:89 Formula:C20H42 CAS:112-95-8 MolWeight:282 RetIndex:2009
CompName:Eicosane \$\$ n-Eicosane \$\$ Icosane # \$\$



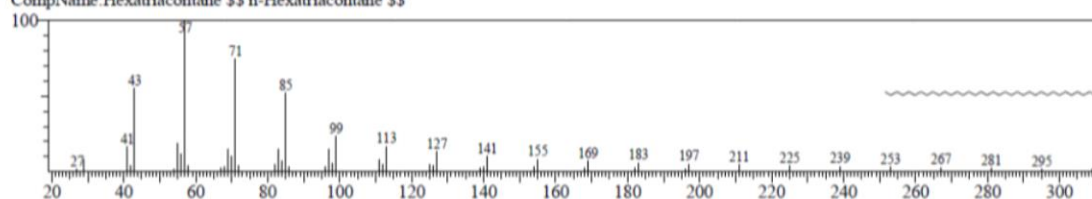
Hit#4 Entry:176627 Library:NIST08.LIB
SI:89 Formula:C31H64 CAS:630-04-6 MolWeight:436 RetIndex:3103
CompName:Hentriacontane \$\$ n-Hentriacontane \$\$ Untriacontane \$\$



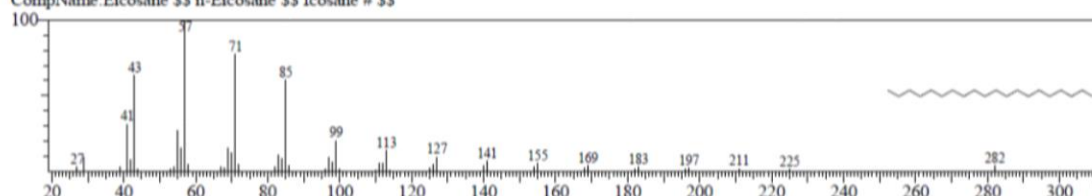
Hit#5 Entry:185135 Library:NIST08.LIB
SI:89 Formula:C36H74 CAS:630-06-8 MolWeight:506 RetIndex:3600
CompName:Hexatriacontane \$\$ n-Hexatriacontane \$\$



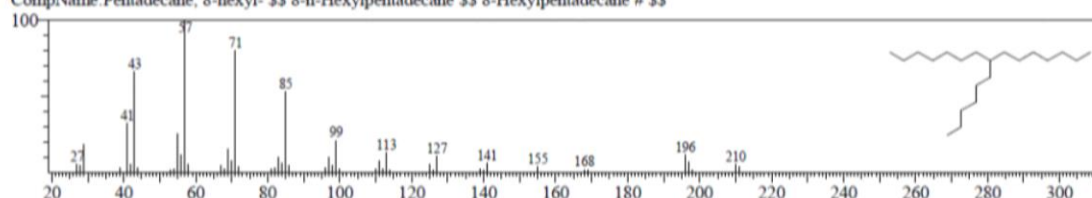
Hit#1 Entry:185135 Library:NIST08.LIB
SI:92 Formula:C36H74 CAS:630-06-8 MolWeight:506 RetIndex:3600
CompName:Hexatriacontane \$\$ n-Hexatriacontane \$\$



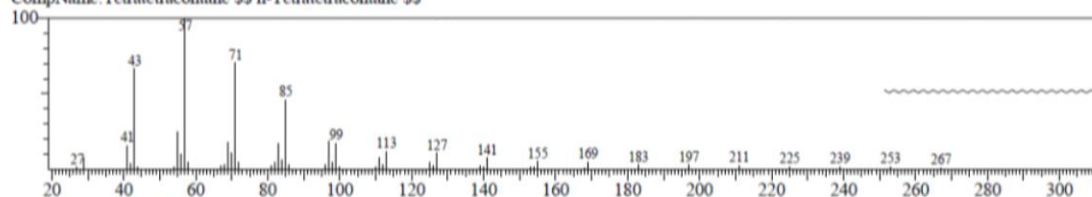
Hit#2 Entry:99287 Library:NIST08.LIB
SI:91 Formula:C20H42 CAS:112-95-8 MolWeight:282 RetIndex:2009
CompName:Eicosane \$\$ n-Eicosane \$\$ Icosane # \$\$



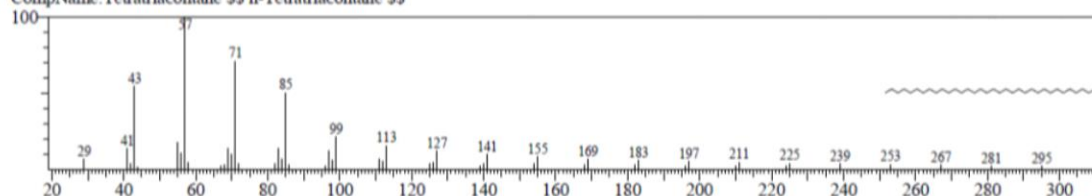
Hit#3 Entry:109378 Library:NIST08.LIB
SI:91 Formula:C21H44 CAS:13475-75-7 MolWeight:296 RetIndex:2045
CompName:Pentadecane, 8-hexyl- \$\$ 8-n-Hexylpentadecane \$\$ 8-Hexylpentadecane # \$\$



Hit#4 Entry:189407 Library:NIST08.LIB
SI:91 Formula:C44H90 CAS:7098-22-8 MolWeight:618 RetIndex:4395
CompName:Tetratetracontane \$\$ n-Tetratetracontane \$\$



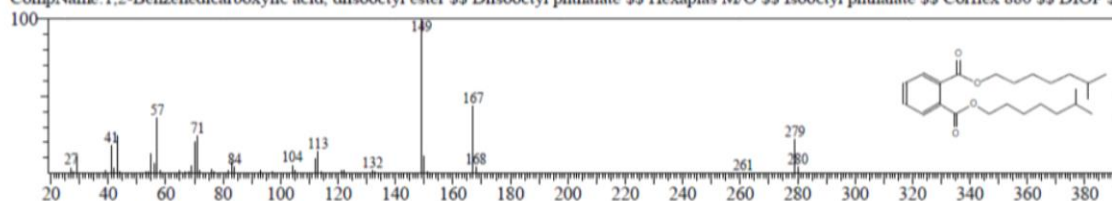
Hit#5 Entry:182633 Library:NIST08.LIB
SI:91 Formula:C34H70 CAS:14167-59-0 MolWeight:478 RetIndex:3401
CompName:Tetratriacontane \$\$ n-Tetratriacontane \$\$



Hit#1 Entry:164412 Library:NIST08.LIB

SI:92 Formula:C₂₄H₃₈O₄ CAS:27554-26-3 MolWeight:390 RetIndex:2704

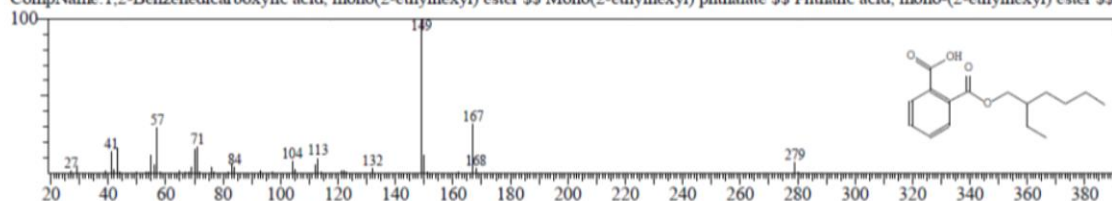
CompName:1,2-Benzenedicarboxylic acid, diisooctyl ester \$\$ Diisooctyl phthalate \$\$ Hexaplas M/O \$\$ Isooctyl phthalate \$\$ Corflex 880 \$\$ DIOP \$



Hit#2 Entry:96163 Library:NIST08.LIB

SI:92 Formula:C₁₆H₂₂O₄ CAS:4376-20-9 MolWeight:278 RetIndex:2162

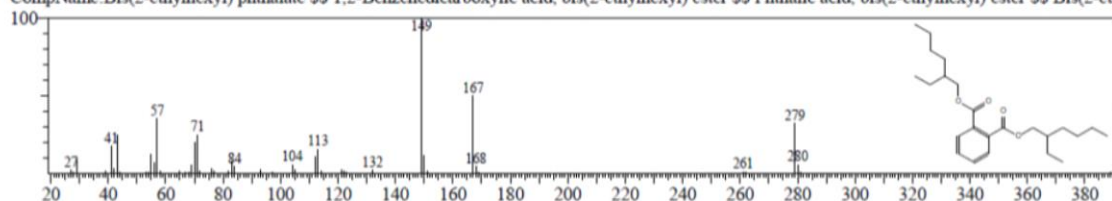
CompName:1,2-Benzenedicarboxylic acid, mono(2-ethylhexyl) ester \$\$ Mono(2-ethylhexyl) phthalate \$\$ Phthalic acid, mono-(2-ethylhexyl) ester \$\$



Hit#3 Entry:164411 Library:NIST08.LIB

SI:90 Formula:C₂₄H₃₈O₄ CAS:117-81-7 MolWeight:390 RetIndex:2704

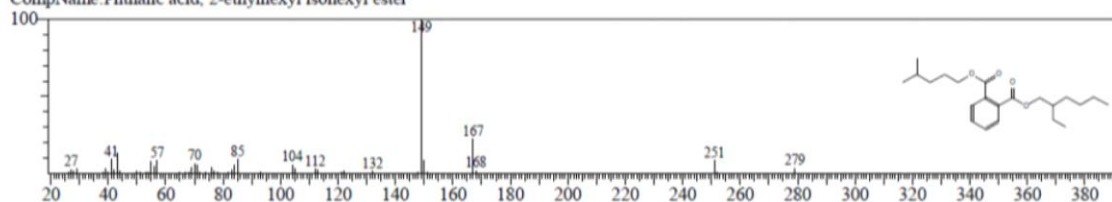
CompName:Bis(2-ethylhexyl) phthalate \$\$ 1,2-Benzenedicarboxylic acid, bis(2-ethylhexyl) ester \$\$ Phthalic acid, bis(2-ethylhexyl) ester \$\$ Bis(2-ethylhexyl) phthalate



Hit#4 Entry:151633 Library:NIST08.LIB

SI:82 Formula:C₂₂H₃₄O₄ CAS:0-00-0 MolWeight:362 RetIndex:2505

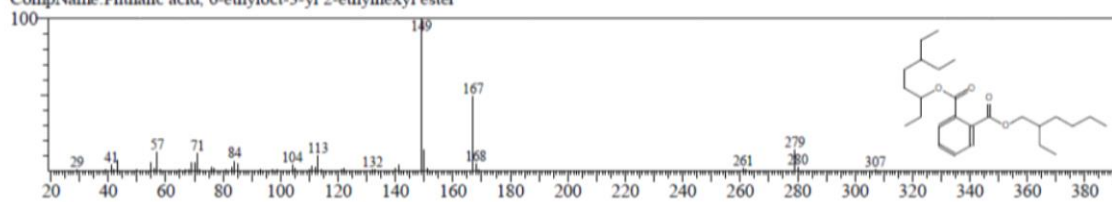
CompName:Phthalic acid, 2-ethylhexyl isohexyl ester



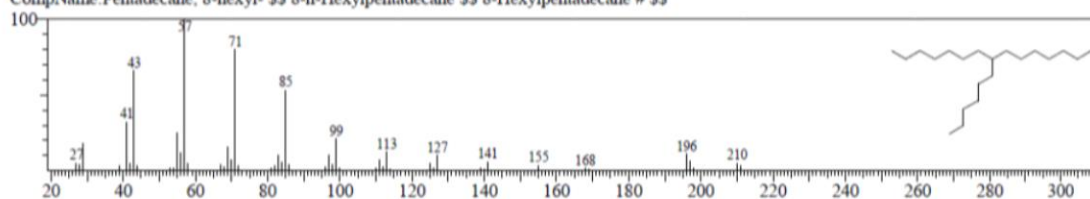
Hit#5 Entry:172832 Library:NIST08.LIB

SI:82 Formula:C₂₆H₄₂O₄ CAS:0-00-0 MolWeight:418 RetIndex:2838

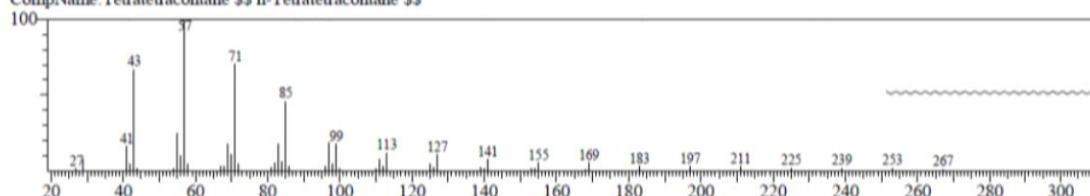
CompName:Phthalic acid, 6-ethyloct-3-yl 2-ethylhexyl ester



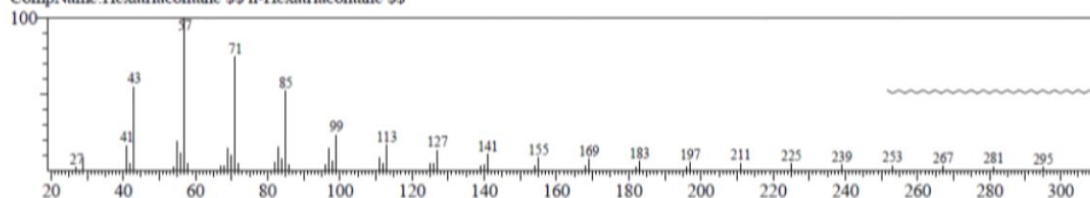
Hit#1 Entry:109578 Library:NIST08.LIB
SI:91 Formula:C21H44 CAS:13475-75-7 MolWeight:296 RetIndex:2045
CompName: Pentadecane, 8-hexyl- \$\$ 8-n-Hexylpentadecane \$\$ 8-Hexylpentadecane # \$\$



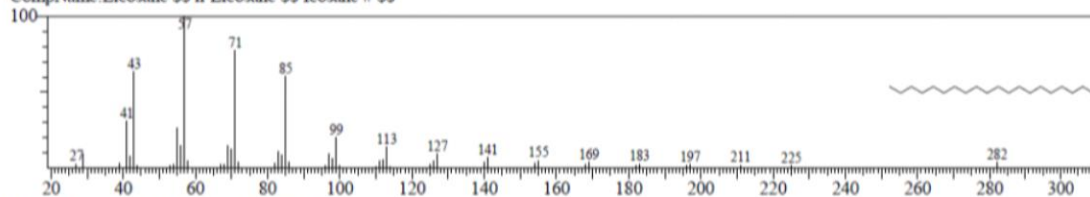
Hit#2 Entry:189407 Library:NIST08.LIB
SI:91 Formula:C44H90 CAS:7098-22-8 MolWeight:618 RetIndex:4395
CompName: Tetratetracontane \$\$ n-Tetratetracontane \$\$



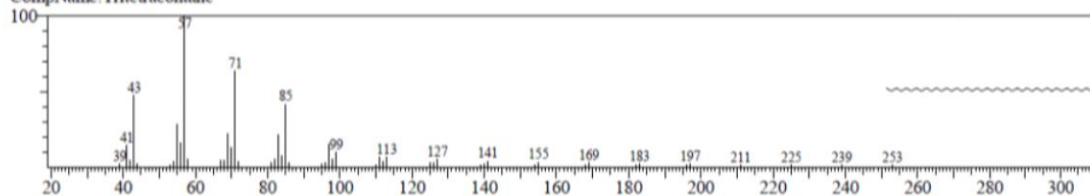
Hit#3 Entry:185135 Library:NIST08.LIB
SI:91 Formula:C36H74 CAS:630-06-8 MolWeight:506 RetIndex:3600
CompName: Hexatriacontane \$\$ n-Hexatriacontane \$\$



Hit#4 Entry:99287 Library:NIST08.LIB
SI:90 Formula:C20H42 CAS:112-95-8 MolWeight:282 RetIndex:2009
CompName: Eicosane \$\$ n-Eicosane \$\$ Icosane # \$\$



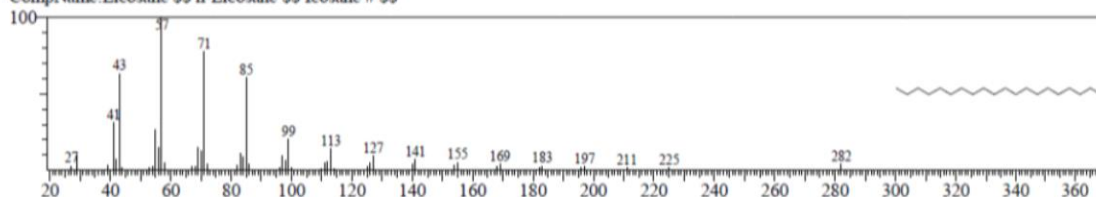
Hit#5 Entry:189112 Library:NIST08.LIB
SI:90 Formula:C43H88 CAS:7098-21-7 MolWeight:604 RetIndex:4295
CompName: Tritetracontane



Hit# 1 Entry: 39281 Library: NIST08.LIB

SI:91 Formula: C₂₀H₄₂ CAS: 112-95-8 MolWeight: 282 RetIndex: 2009

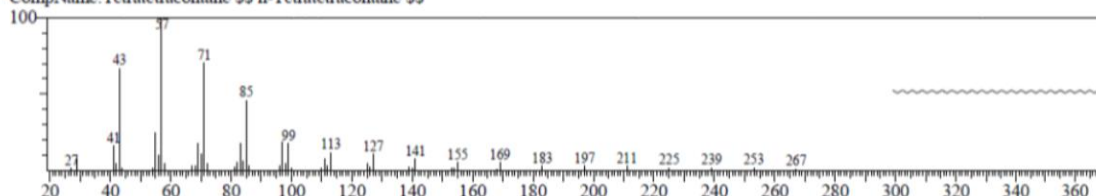
CompName: Eicosane \$\$ n-Eicosane \$\$ Icosane # \$\$



Hit# 2 Entry: 189407 Library: NIST08.LIB

SI:91 Formula: C₄₄H₉₀ CAS: 7098-22-8 MolWeight: 618 RetIndex: 4395

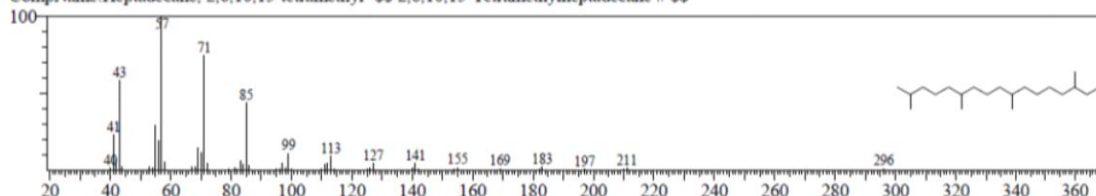
CompName: Tetratetracontane \$\$ n-Tetratetracontane \$\$



Hit# 3 Entry: 109377 Library: NIST08.LIB

SI:91 Formula: C₂₁H₄₄ CAS: 54833-48-6 MolWeight: 296 RetIndex: 1852

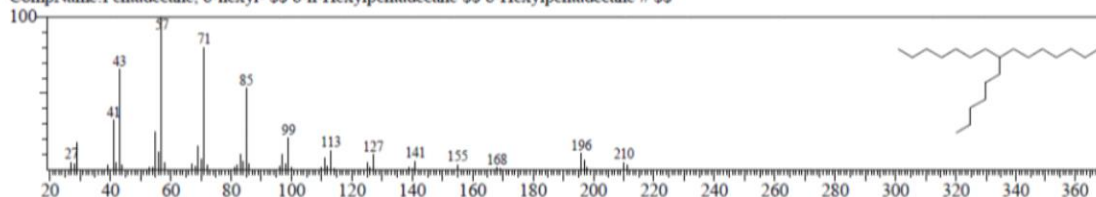
CompName: Heptadecane, 2,6,10,15-tetramethyl- \$\$ 2,6,10,15-Tetramethylheptadecane # \$\$



Hit# 4 Entry: 109378 Library: NIST08.LIB

SI:91 Formula: C₂₁H₄₄ CAS: 13475-75-7 MolWeight: 296 RetIndex: 2045

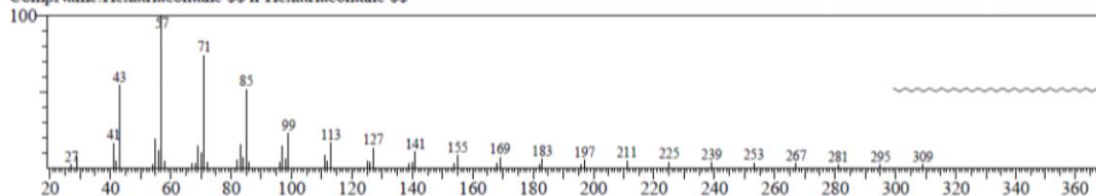
CompName: Pentadecane, 8-hexyl- \$\$ 8-n-Hexylpentadecane \$\$ 8-Hexylpentadecane # \$\$



Hit# 5 Entry: 185135 Library: NIST08.LIB

SI:90 Formula: C₃₆H₇₄ CAS: 630-06-8 MolWeight: 506 RetIndex: 3600

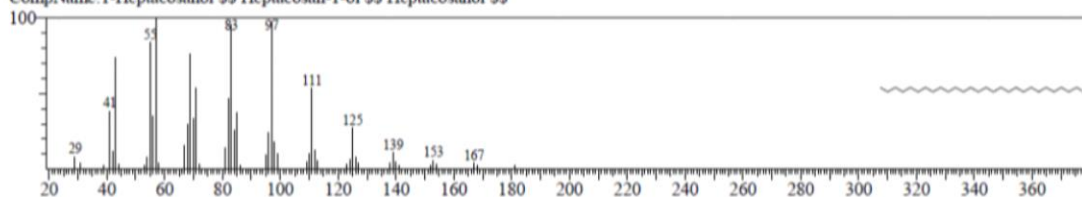
CompName: Hexatriacontane \$\$ n-Hexatriacontane \$\$



Hit#1 Entry:100392 Library:NIST08.LIB

SI:91 Formula:C27H56O CAS:2004-39-9 MolWeight:396 RetIndex:2948

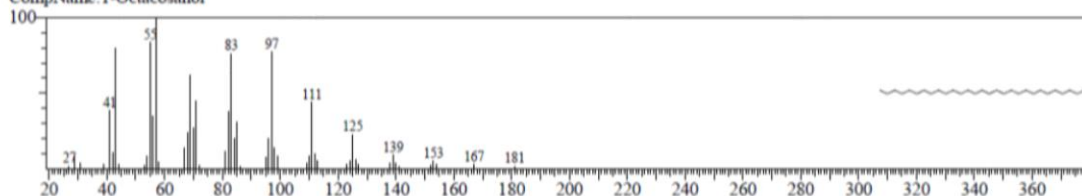
CompName:1-Heptacosanol \$\$ Heptacosan-1-ol \$\$ Heptacosanol \$\$



Hit#2 Entry:170725 Library:NIST08.LIB

SI:91 Formula:C28H58O CAS:0-00-0 MolWeight:410 RetIndex:3047

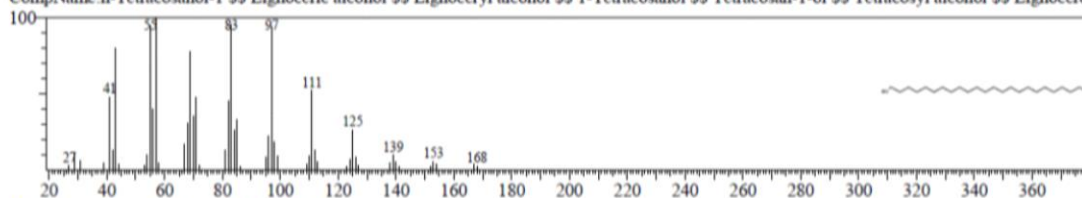
CompName:1-Octacosanol



Hit#3 Entry:147498 Library:NIST08.LIB

SI:91 Formula:C24H50O CAS:506-51-4 MolWeight:354 RetIndex:2650

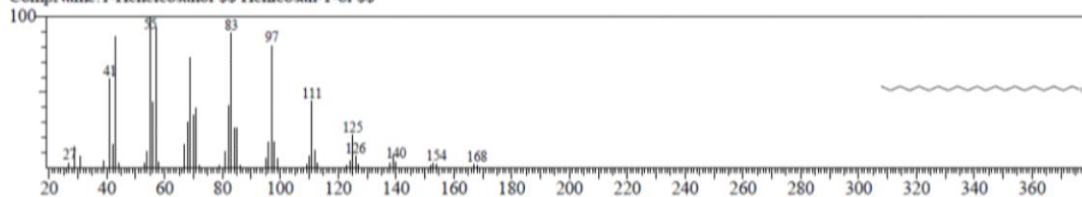
CompName:n-Tetracosanol-1 \$\$ Lignoceric alcohol \$\$ Lignoceryl alcohol \$\$ 1-Tetracosanol \$\$ Tetracosan-1-ol \$\$ Tetracosyl alcohol \$\$ Lignoceryl



Hit#4 Entry:120820 Library:NIST08.LIB

SI:91 Formula:C21H44O CAS:15594-90-8 MolWeight:312 RetIndex:2351

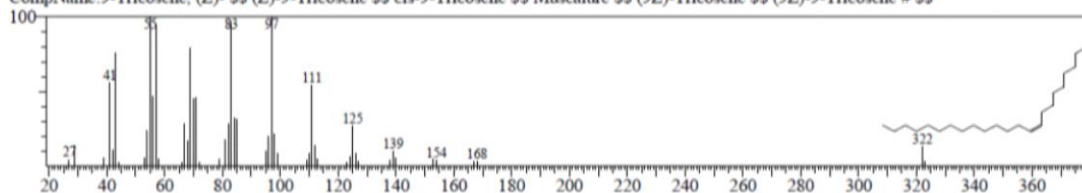
CompName:1-Heneicosanol \$\$ Heneicosan-1-ol \$\$



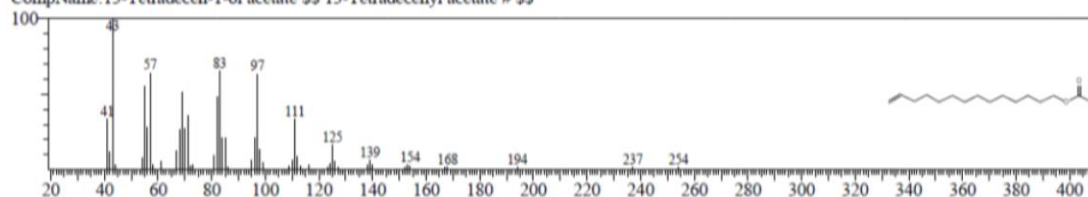
Hit#5 Entry:127533 Library:NIST08.LIB

SI:91 Formula:C23H46 CAS:27519-02-4 MolWeight:322 RetIndex:2315

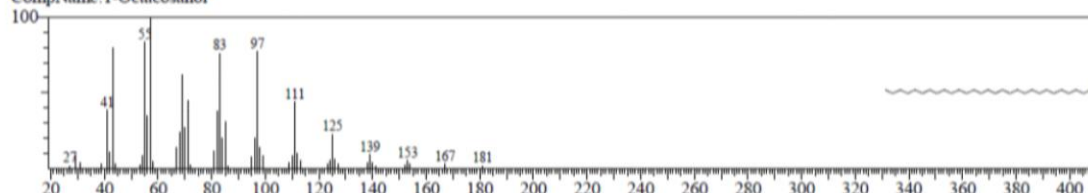
CompName:9-Tricosene, (Z)- \$\$ (Z)-9-Tricosene \$\$ cis-9-Tricosene \$\$ Muscalure \$\$ (9Z)-Tricosene \$\$ (9Z)-9-Tricosene # \$\$



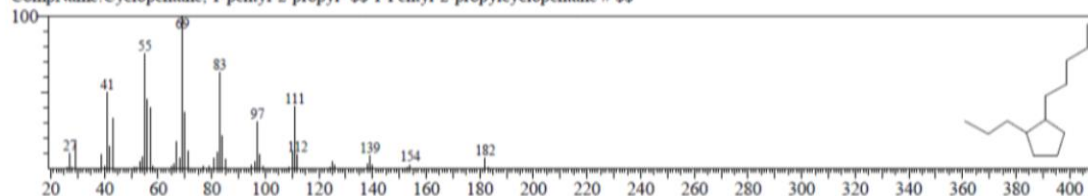
Hit#1 Entry:79156 Library:NIST08.LIB
 SE:84 Formula:C16H30O2 CAS:56221-91-1 MolWeight:254 RetIndex:1769
 CompName:13-Tetradecen-1-ol acetate \$ 13-Tetradecenyl acetate # \$



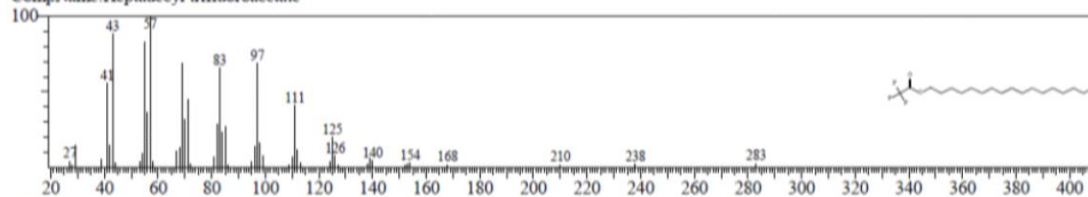
Hit#2 Entry:170725 Library:NIST08.LIB
 SE:84 Formula:C28H58O CAS:0-00-0 MolWeight:410 RetIndex:3047
 CompName:1-Octacosanol



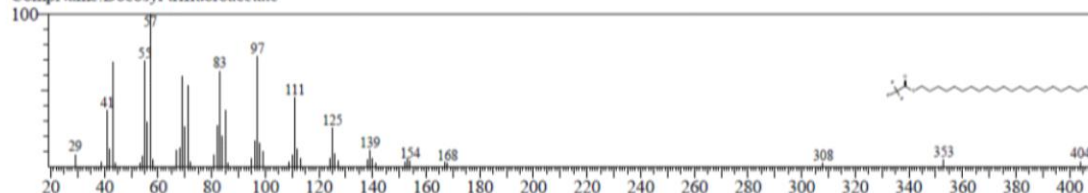
Hit#3 Entry:32452 Library:NIST08.LIB
 SE:84 Formula:C13H26 CAS:62199-51-3 MolWeight:182 RetIndex:1318
 CompName:Cyclopentane, 1-pentyl-2-propyl- \$ 1-Pentyl-2-propylcyclopentane # \$



Hit#4 Entry:146003 Library:NIST08.LIB
 SE:83 Formula:C19H35F3O2 CAS:0-00-0 MolWeight:352 RetIndex:1911
 CompName:Heptadecyl trifluoroacetate



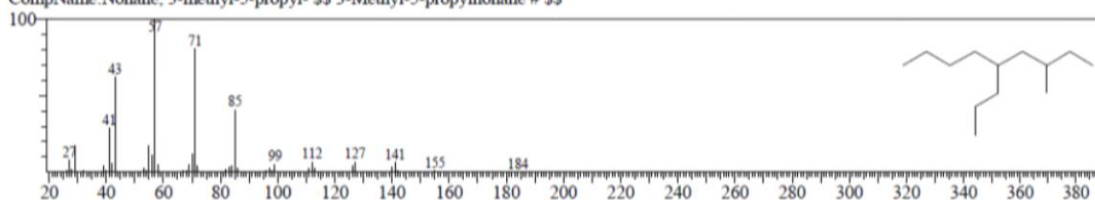
Hit#5 Entry:173586 Library:NIST08.LIB
 SE:83 Formula:C24H45F3O2 CAS:0-00-0 MolWeight:422 RetIndex:2408
 CompName:Docosyl trifluoroacetate



Hit# 1 Entry: 33302 Library: NIST08.LIB

SI: 80 Formula: C₁₃H₂₈ CAS: 31081-18-2 MolWeight: 184 RetIndex: 1185

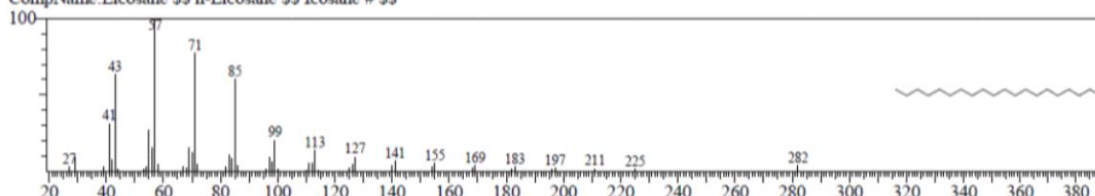
CompName: Nonane, 3-methyl-5-propyl- \$\$\$\$ 3-Methyl-5-propylnonane # \$\$\$\$



Hit# 2 Entry: 99287 Library: NIST08.LIB

SI: 80 Formula: C₂₀H₄₂ CAS: 112-95-8 MolWeight: 282 RetIndex: 2009

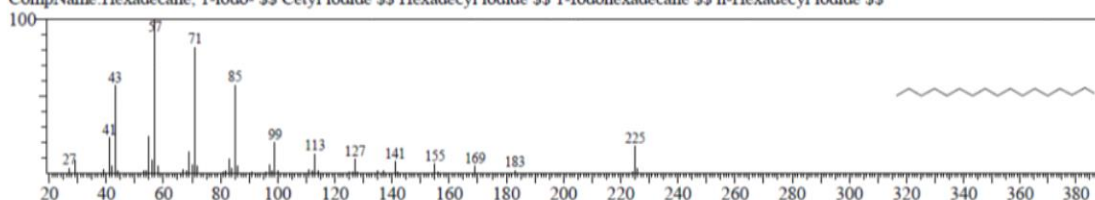
CompName: Eicosane \$\$\$\$ n-Eicosane \$\$\$\$ Icosane # \$\$\$\$



Hit# 3 Entry: 145826 Library: NIST08.LIB

SI: 80 Formula: C₁₆H₃₃I CAS: 544-77-4 MolWeight: 352 RetIndex: 2026

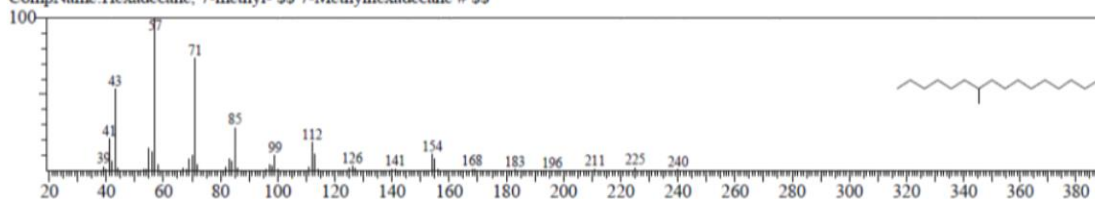
CompName: Hexadecane, 1-iodo- \$\$\$\$ Cetyl iodide \$\$\$\$ Hexadecyl iodide \$\$\$\$ 1-Iodohexadecane \$\$\$\$ n-Hexadecyl iodide \$\$\$\$



Hit# 4 Entry: 69677 Library: NIST08.LIB

SI: 80 Formula: C₁₇H₃₆ CAS: 26730-20-1 MolWeight: 240 RetIndex: 1647

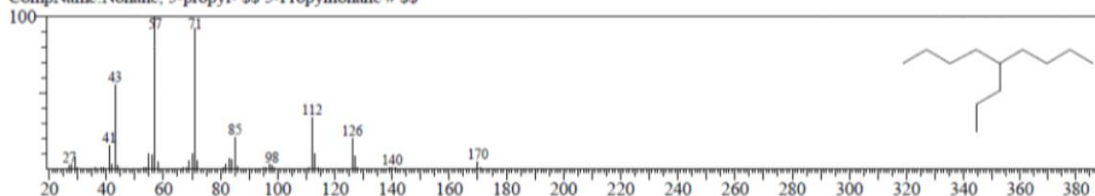
CompName: Hexadecane, 7-methyl- \$\$\$\$ 7-Methylhexadecane # \$\$\$\$



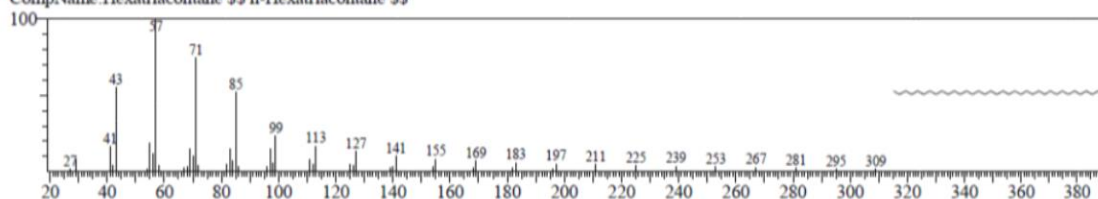
Hit# 5 Entry: 25751 Library: NIST08.LIB

SI: 80 Formula: C₁₂H₂₆ CAS: 998-35-6 MolWeight: 170 RetIndex: 1150

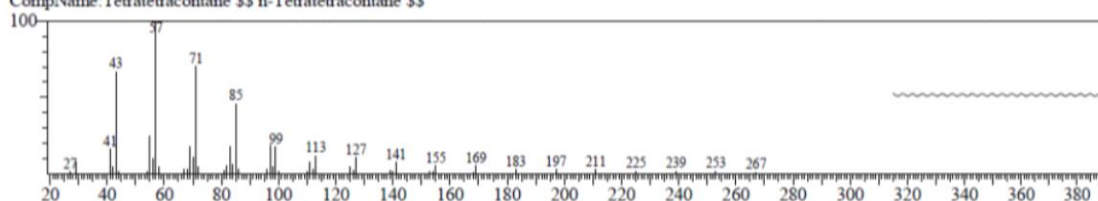
CompName: Nonane, 5-propyl- \$\$\$\$ 5-Propylnonane # \$\$\$\$



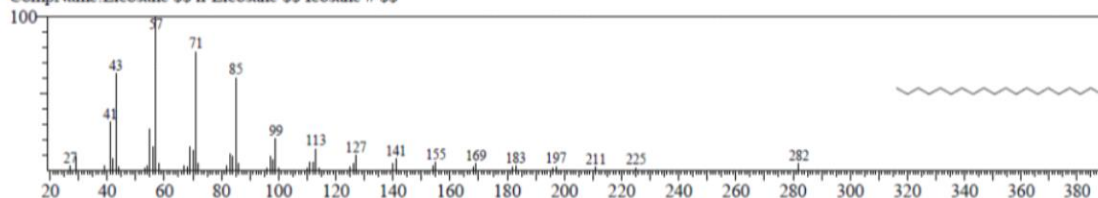
Hit#: 1 Entry: 182135 Library: NIST08.LIB
SI: 92 Formula: C₃₆H₇₄ CAS: 630-06-8 MolWeight: 506 RetIndex: 3600
CompName: Hexatriacontane \$\$ n-Hexatriacontane \$\$



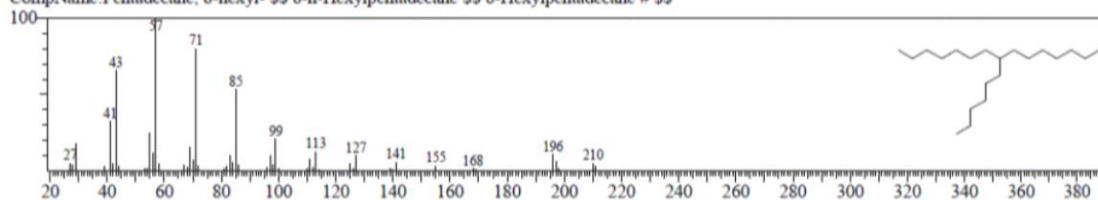
Hit#: 2 Entry: 189407 Library: NIST08.LIB
SI: 92 Formula: C₄₄H₉₀ CAS: 7098-22-8 MolWeight: 618 RetIndex: 4395
CompName: Tetratetracontane \$\$ n-Tetratetracontane \$\$



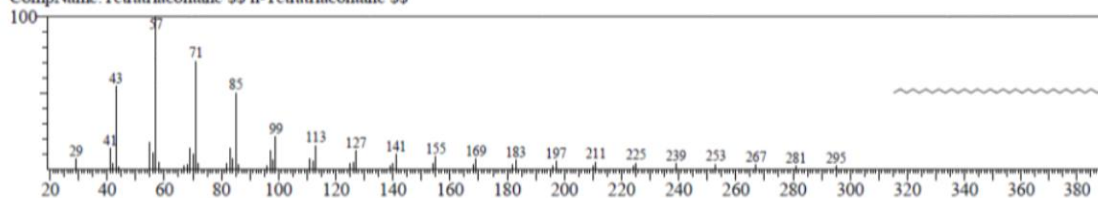
Hit#: 3 Entry: 99287 Library: NIST08.LIB
SI: 92 Formula: C₂₀H₄₂ CAS: 112-95-8 MolWeight: 282 RetIndex: 2009
CompName: Eicosane \$\$ n-Eicosane \$\$ Icosane # \$\$



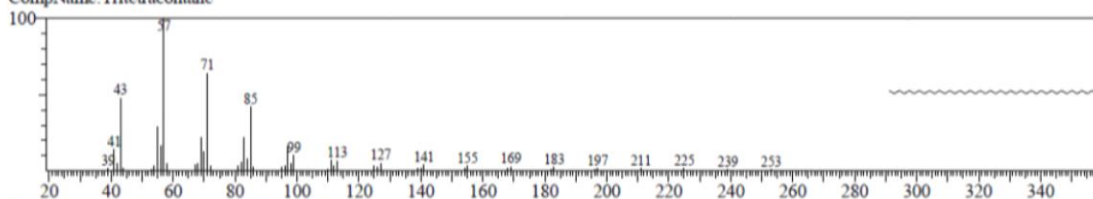
Hit#: 4 Entry: 109378 Library: NIST08.LIB
SI: 92 Formula: C₂₁H₄₄ CAS: 13475-75-7 MolWeight: 296 RetIndex: 2045
CompName: Pentadecane, 8-hexyl- \$\$ 8-n-Hexylpentadecane \$\$ 8-Hexylpentadecane # \$\$



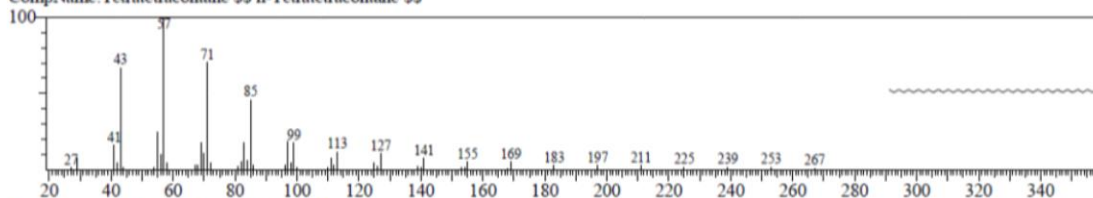
Hit#: 5 Entry: 182633 Library: NIST08.LIB
SI: 91 Formula: C₃₄H₇₀ CAS: 14167-59-0 MolWeight: 478 RetIndex: 3401
CompName: Tetratriacontane \$\$ n-Tetratriacontane \$\$



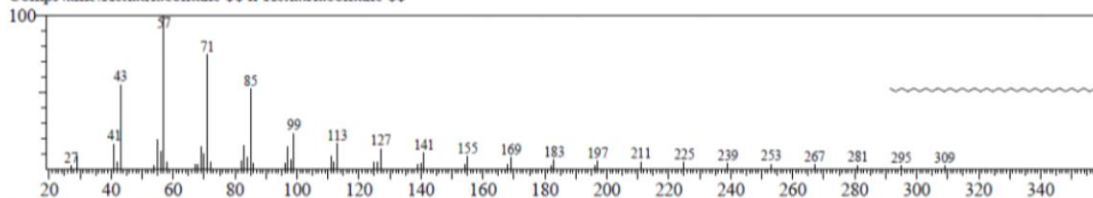
Hit#1 Entry:189112 Library:NIST08.LIB
SI-93 Formula:C43H88 CAS:7098-21-7 MolWeight:604 RetIndex:4295
CompName:Tritetracontane



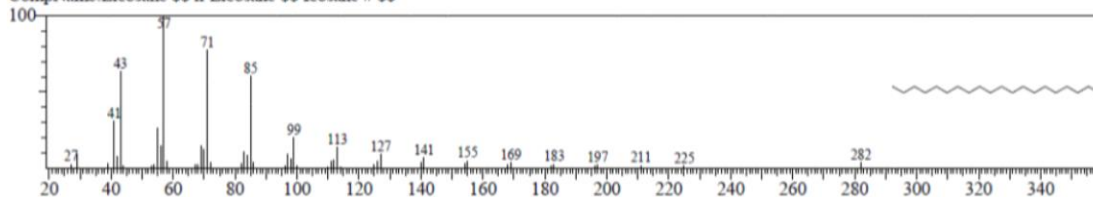
Hit#2 Entry:189407 Library:NIST08.LIB
SI-93 Formula:C44H90 CAS:7098-22-8 MolWeight:618 RetIndex:4395
CompName:Tetratetracontane \$\$ n-Tetratetracontane \$\$



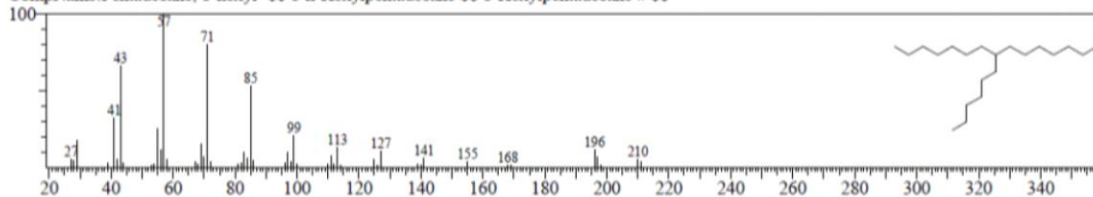
Hit#3 Entry:185135 Library:NIST08.LIB
SI-92 Formula:C36H74 CAS:630-06-8 MolWeight:506 RetIndex:3600
CompName:Hexatriacontane \$\$ n-Hexatriacontane \$\$



Hit#4 Entry:99287 Library:NIST08.LIB
SI-92 Formula:C20H42 CAS:112-95-8 MolWeight:282 RetIndex:2009
CompName:Eicosane \$\$ n-Eicosane \$\$ Icosane # \$\$



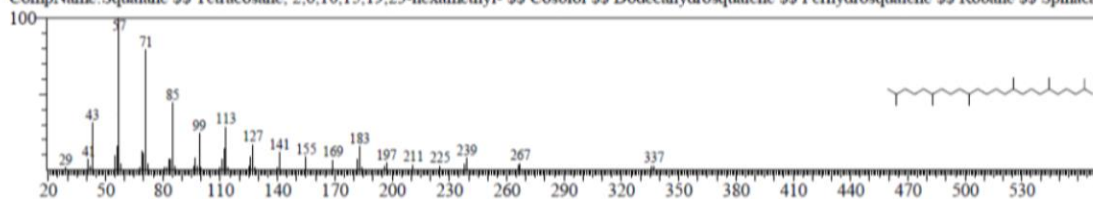
Hit#5 Entry:109378 Library:NIST08.LIB
SI-91 Formula:C21H44 CAS:13475-75-7 MolWeight:296 RetIndex:2045
CompName:Pentadecane, 8-hexyl- \$\$ 8-n-Hexylpentadecane \$\$ 8-Hexylpentadecane # \$\$



Hit# 1 Entry: 1/30/1 Library: NIST08.LIB

SI:83 Formula: C₃₀H₆₂ CAS: 111-01-3 MolWeight: 422 RetIndex: 2619

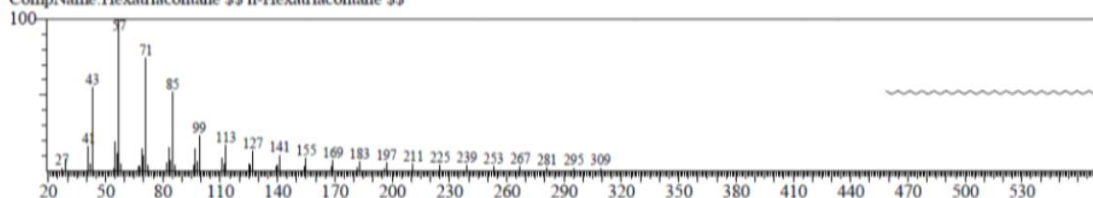
CompName: Squalane \$\$ Tetracosane, 2,6,10,15,19,23-hexamethyl- \$\$ Cosbiol \$\$ Dodecahydrosqualene \$\$ Perhydrosqualene \$\$ Robane \$\$ Spinaca



Hit# 2 Entry: 185135 Library: NIST08.LIB

SI:82 Formula: C₃₆H₇₄ CAS: 630-06-8 MolWeight: 506 RetIndex: 3600

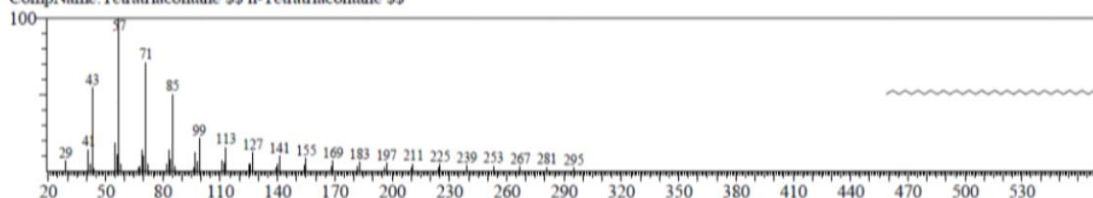
CompName: Hexatriacontane \$\$ n-Hexatriacontane \$\$



Hit# 3 Entry: 182633 Library: NIST08.LIB

SI:82 Formula: C₃₄H₇₀ CAS: 14167-59-0 MolWeight: 478 RetIndex: 3401

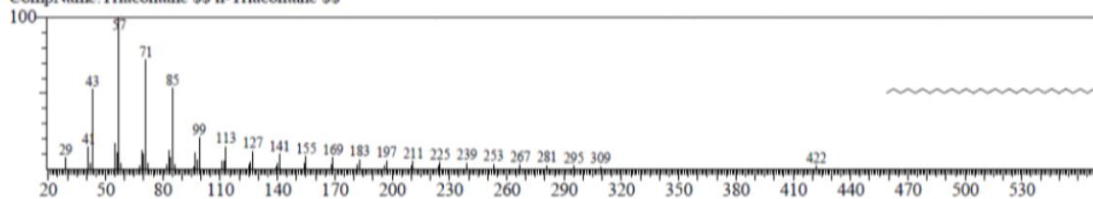
CompName: Tetratriacontane \$\$ n-Tetratriacontane \$\$



Hit# 4 Entry: 173672 Library: NIST08.LIB

SI:82 Formula: C₃₀H₆₂ CAS: 638-68-6 MolWeight: 422 RetIndex: 3003

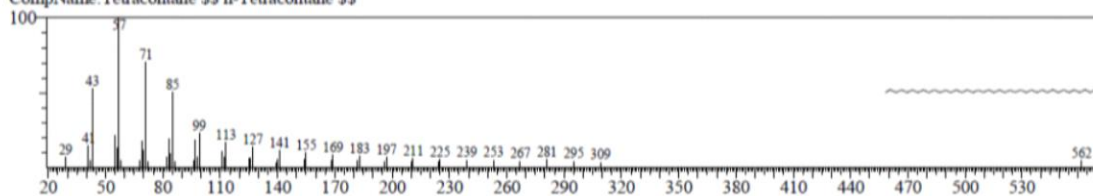
CompName: Triacontane \$\$ n-Triacontane \$\$



Hit# 5 Entry: 187923 Library: NIST08.LIB

SI:82 Formula: C₄₀H₈₂ CAS: 4181-95-7 MolWeight: 562 RetIndex: 3997

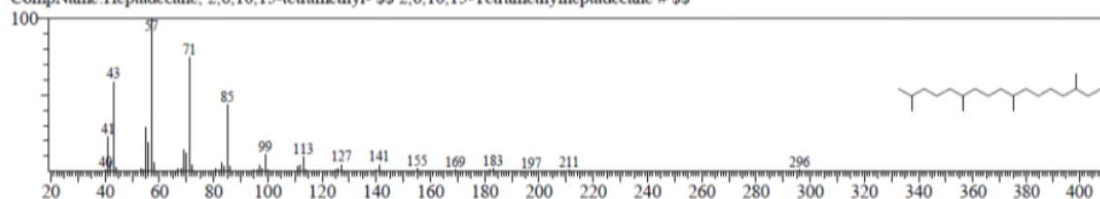
CompName: Tetracontane \$\$ n-Tetracontane \$\$



Hit#1 Entry:109377 Library:NIST08.LIB

SI:90 Formula:C₂₁H₄₄ CAS:54833-48-6 MolWeight:296 RetIndex:1852

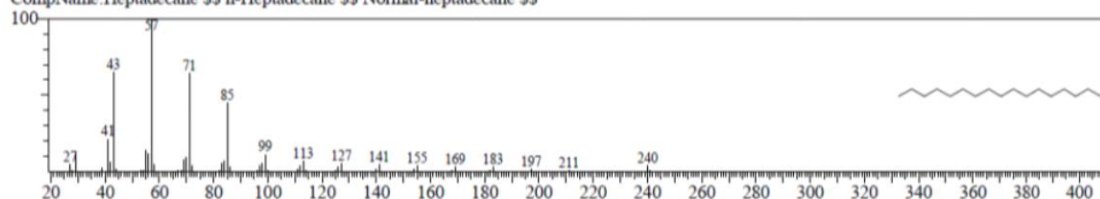
CompName:Heptadecane, 2,6,10,15-tetramethyl- \$\$ 2,6,10,15-Tetramethylheptadecane # \$\$



Hit#2 Entry:69673 Library:NIST08.LIB

SI:90 Formula:C₁₇H₃₆ CAS:629-78-7 MolWeight:240 RetIndex:1711

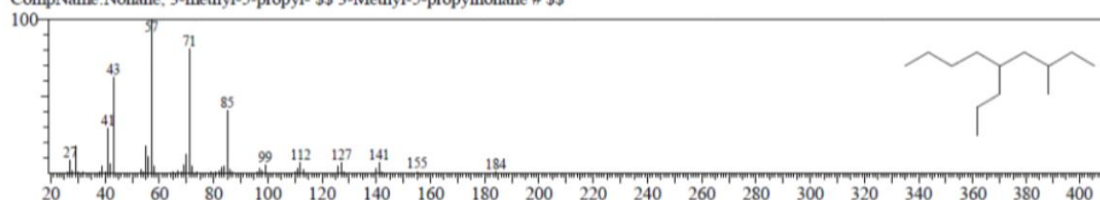
CompName:Heptadecane \$\$ n-Heptadecane \$\$ Normal-heptadecane \$\$



Hit#3 Entry:33582 Library:NIST08.LIB

SI:90 Formula:C₁₃H₂₈ CAS:31081-18-2 MolWeight:184 RetIndex:1185

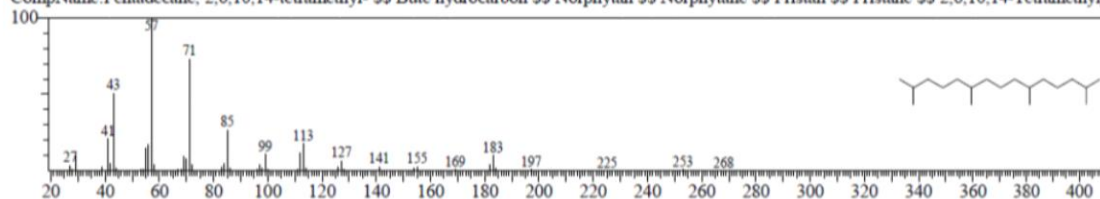
CompName:Nonane, 3-methyl-5-propyl- \$\$ 3-Methyl-5-propylnonane # \$\$



Hit#4 Entry:89257 Library:NIST08.LIB

SI:89 Formula:C₁₉H₄₀ CAS:1921-70-6 MolWeight:268 RetIndex:1653

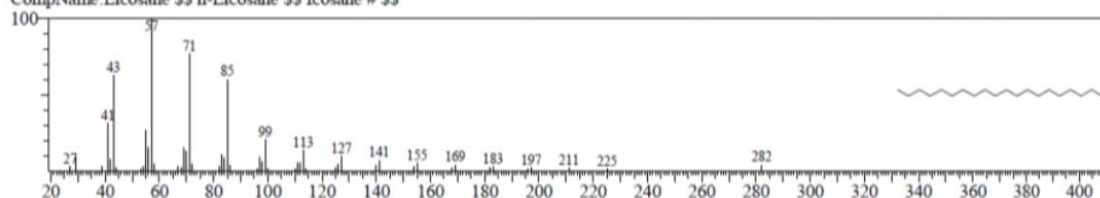
CompName: Pentadecane, 2,6,10,14-tetramethyl- \$\$ Bute hydrocarbon \$\$ Norphytan \$\$ Norphytane \$\$ Pristan \$\$ Pristane \$\$ 2,6,10,14-Tetramethylp



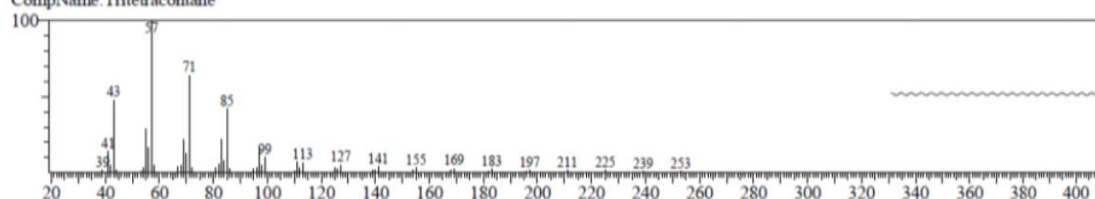
Hit#5 Entry:99287 Library:NIST08.LIB

SI:89 Formula:C₂₀H₄₂ CAS:112-95-8 MolWeight:282 RetIndex:2009

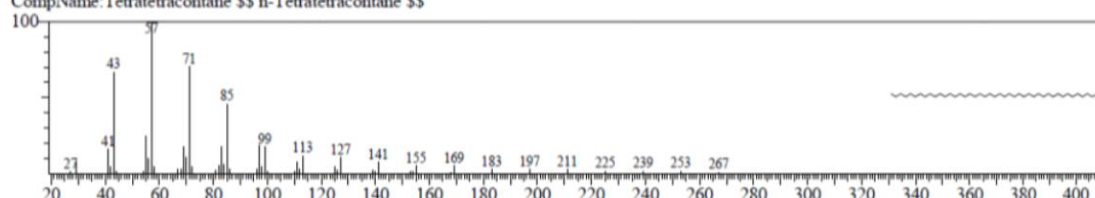
CompName:Eicosane \$\$ n-Eicosane \$\$ Icosane # \$\$



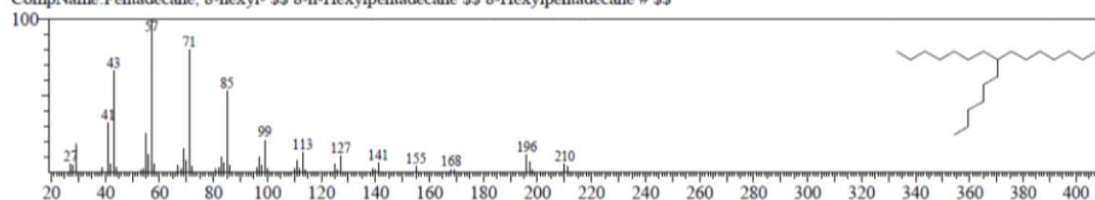
Hit#1 Entry:189112 Library:NIST08.LIB
 SI:92 Formula:C43H88 CAS:7098-21-7 MolWeight:604 RetIndex:4295
 CompName:Tritetracontane



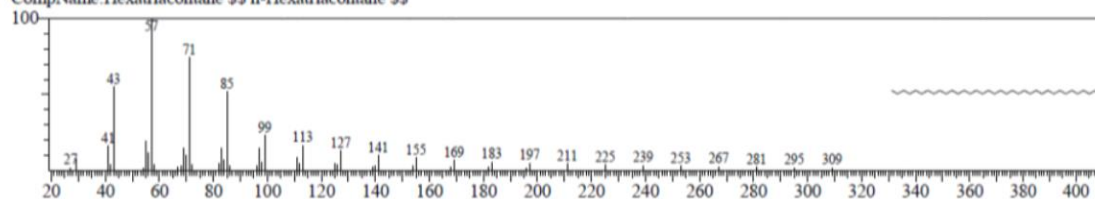
Hit#2 Entry:189407 Library:NIST08.LIB
 SI:92 Formula:C44H90 CAS:7098-22-8 MolWeight:618 RetIndex:4395
 CompName:Tetratetracontane \$\$ n-Tetratetracontane \$\$



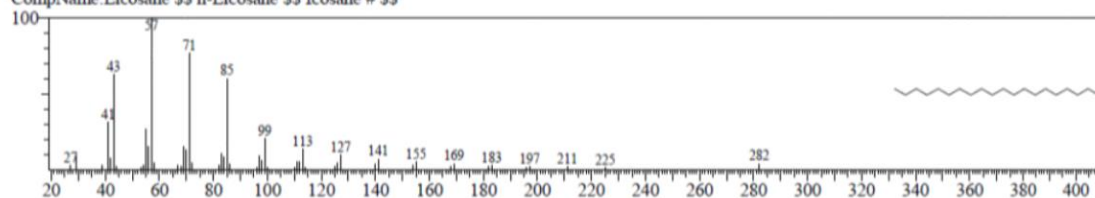
Hit#3 Entry:109378 Library:NIST08.LIB
 SI:91 Formula:C21H44 CAS:13475-75-7 MolWeight:296 RetIndex:2045
 CompName: Pentadecane, 8-hexyl- \$\$ 8-n-Hexylpentadecane \$\$ 8-Hexylpentadecane # \$\$



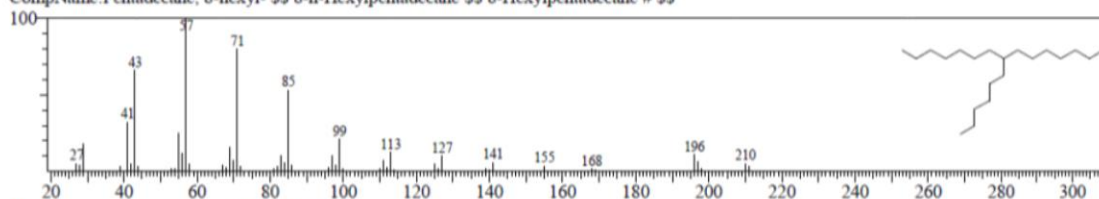
Hit#4 Entry:185135 Library:NIST08.LIB
 SI:90 Formula:C36H74 CAS:630-06-8 MolWeight:506 RetIndex:3600
 CompName:Hexatriacontane \$\$ n-Hexatriacontane \$\$



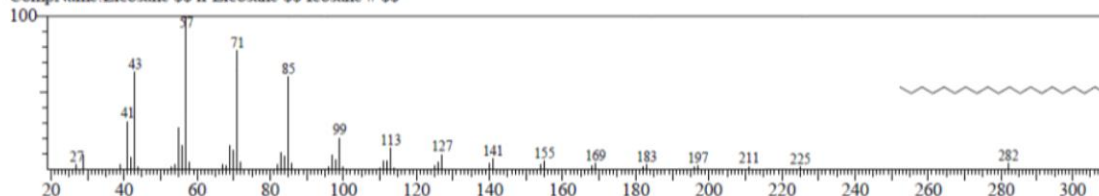
Hit#5 Entry:99287 Library:NIST08.LIB
 SI:90 Formula:C20H42 CAS:112-95-8 MolWeight:282 RetIndex:2009
 CompName:Eicosane \$\$ n-Eicosane \$\$ Icosane # \$\$



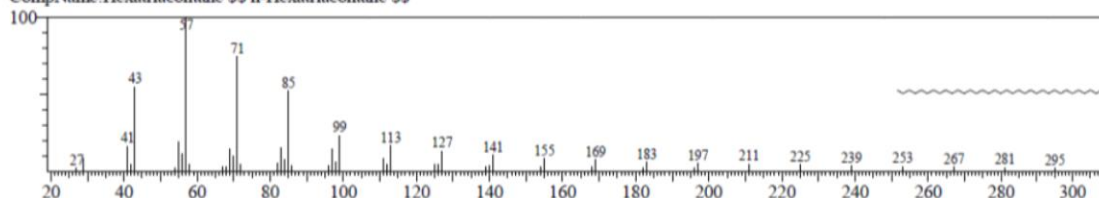
Hit#1 Entry:109378 Library:NIST08.LIB
SI:89 Formula:C21H44 CAS:13475-75-7 MolWeight:296 RetIndex:2045
CompName:Pentadecane, 8-hexyl- \$\$ 8-n-Hexylpentadecane \$\$ 8-Hexylpentadecane # \$\$



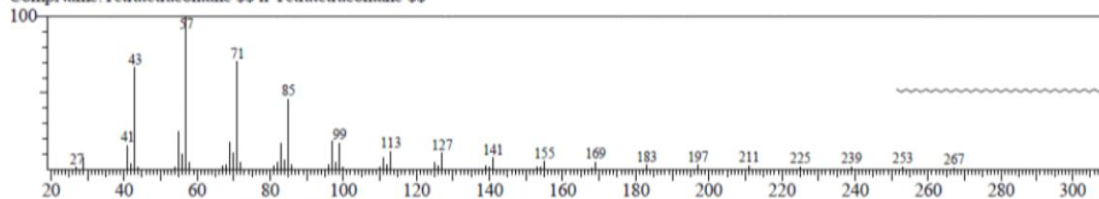
Hit#2 Entry:99287 Library:NIST08.LIB
SI:89 Formula:C20H42 CAS:112-95-8 MolWeight:282 RetIndex:2009
CompName:Eicosane \$\$ n-Eicosane \$\$ Icosane # \$\$



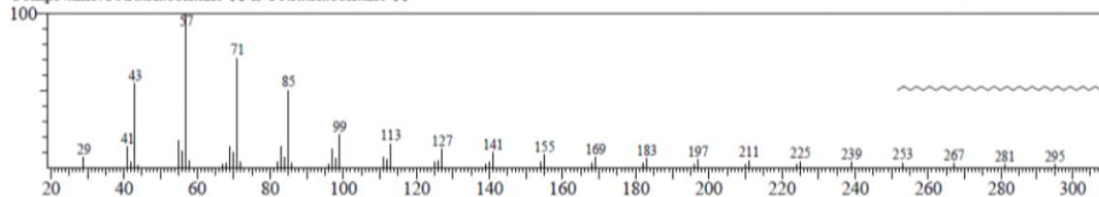
Hit#3 Entry:185135 Library:NIST08.LIB
SI:89 Formula:C36H74 CAS:630-06-8 MolWeight:506 RetIndex:3600
CompName:Hexatriacontane \$\$ n-Hexatriacontane \$\$



Hit#4 Entry:189407 Library:NIST08.LIB
SI:89 Formula:C44H90 CAS:7098-22-8 MolWeight:618 RetIndex:4395
CompName:Tetratetracontane \$\$ n-Tetratetracontane \$\$



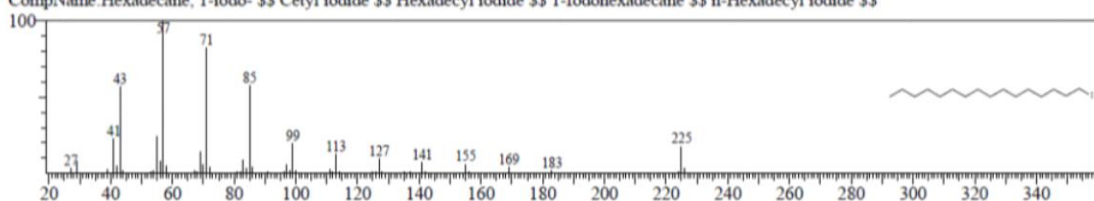
Hit#5 Entry:182633 Library:NIST08.LIB
SI:88 Formula:C34H70 CAS:14167-59-0 MolWeight:478 RetIndex:3401
CompName:Tetratriacontane \$\$ n-Tetratriacontane \$\$



Hit#:1 Entry:145826 Library:NIST08.LIB

SI:89 Formula:C16H33I CAS:544-77-4 MolWeight:352 RetIndex:2026

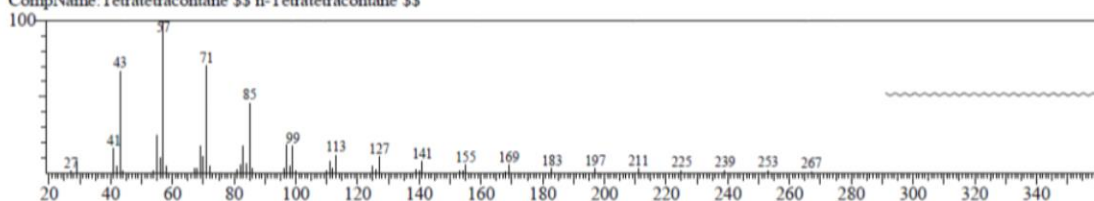
CompName:Hexadecane, 1-iodo- \$\$ Cetyl iodide \$\$ Hexadecyl iodide \$\$ 1-Iodoheptadecane \$\$ n-Hexadecyl iodide \$\$



Hit#:2 Entry:189407 Library:NIST08.LIB

SI:89 Formula:C44H90 CAS:7098-22-8 MolWeight:618 RetIndex:4395

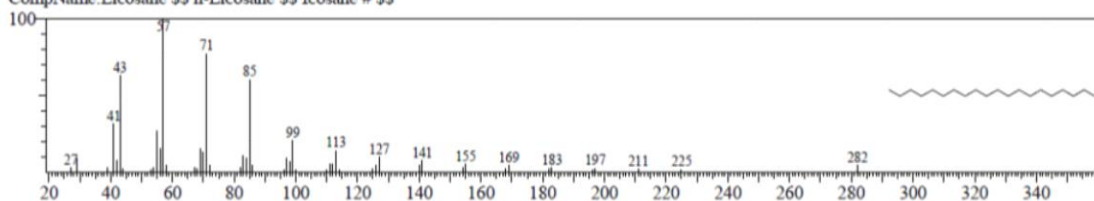
CompName:Tetratetracontane \$\$ n-Tetratetracontane \$\$



Hit#:3 Entry:99287 Library:NIST08.LIB

SI:89 Formula:C20H42 CAS:112-95-8 MolWeight:282 RetIndex:2009

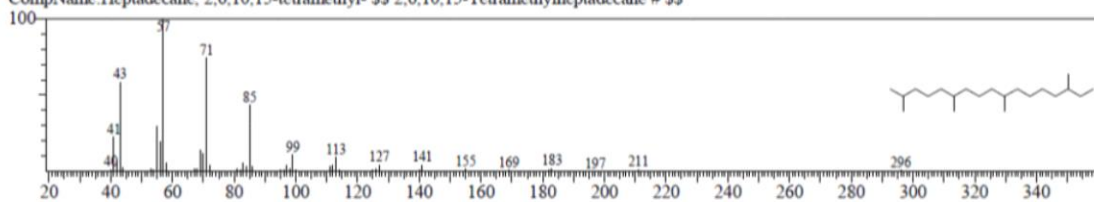
CompName:Eicosane \$\$ n-Eicosane \$\$ Icosane # \$\$



Hit#:4 Entry:109377 Library:NIST08.LIB

SI:89 Formula:C21H44 CAS:54833-48-6 MolWeight:296 RetIndex:1852

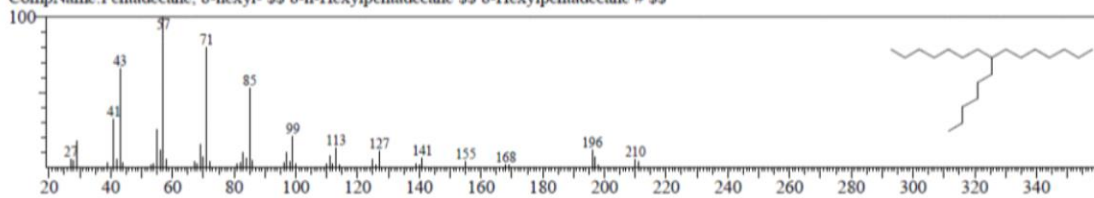
CompName:Heptadecane, 2,6,10,15-tetramethyl- \$\$ 2,6,10,15-Tetramethylheptadecane # \$\$



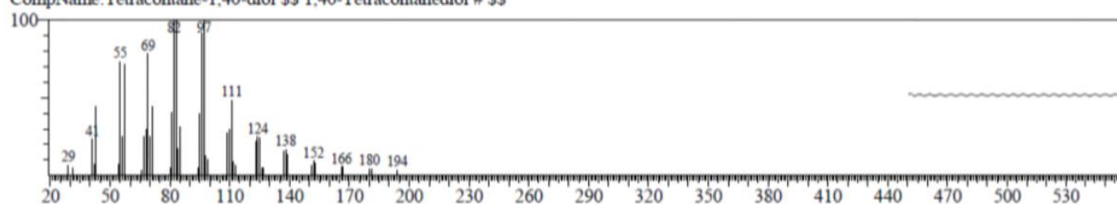
Hit#:5 Entry:109378 Library:NIST08.LIB

SI:88 Formula:C21H44 CAS:13475-75-7 MolWeight:296 RetIndex:2045

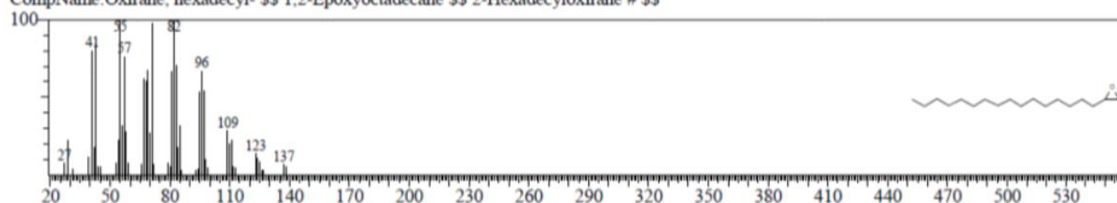
CompName:Pentadecane, 8-hexyl- \$\$ 8-n-Hexylpentadecane \$\$ 8-Hexylpentadecane # \$\$



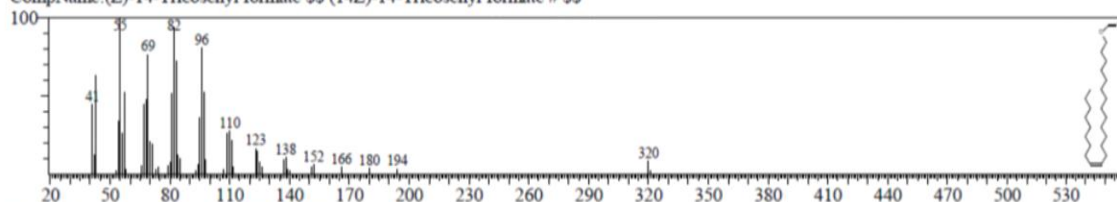
SL:78 Formula:C40H82O2 CAS:181719-30-2 MolWeight:594 RetIndex:4483
CompName:Tetracontane-1,40-diol \$\$ 1,40-Tetracontanediol # \$\$



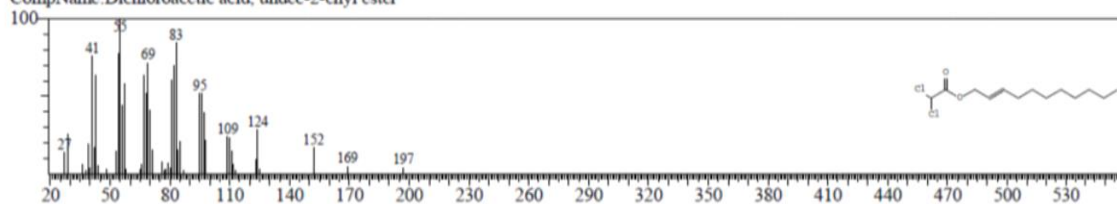
Hit#2 Entry:89240 Library:NIST08.LIB
SL:78 Formula:C18H36O CAS:7390-81-0 MolWeight:268 RetIndex:1901
CompName:Oxirane, hexadecyl- \$\$ 1,2-Epoxyoctadecane \$\$ 2-Hexadecyloxirane # \$\$



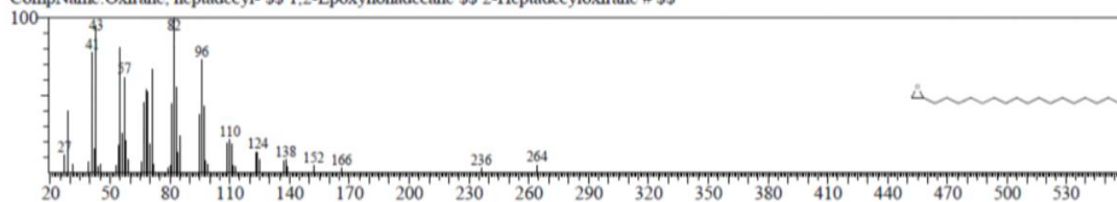
Hit#3 Entry:153643 Library:NIST08.LIB
SL:78 Formula:C24H46O2 CAS:77899-10-6 MolWeight:366 RetIndex:2679
CompName:(Z)-14-Tricosenyl formate \$\$ (14Z)-14-Tricosenyl formate # \$\$



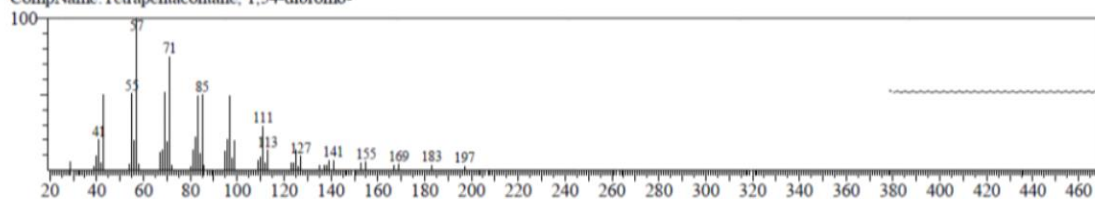
Hit#4 Entry:97179 Library:NIST08.LIB
SL:77 Formula:C13H22Cl2O2 CAS:0-00-0 MolWeight:280 RetIndex:1834
CompName:Dichloroacetic acid, undec-2-enyl ester



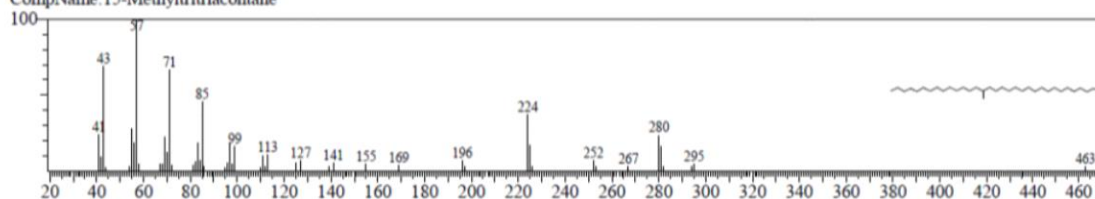
Hit#5 Entry:99261 Library:NIST08.LIB
SL:77 Formula:C19H38O CAS:67860-04-2 MolWeight:282 RetIndex:2000
CompName:Oxirane, heptadecyl- \$\$ 1,2-Epoxyundecane \$\$ 2-Heptadecyloxirane # \$\$



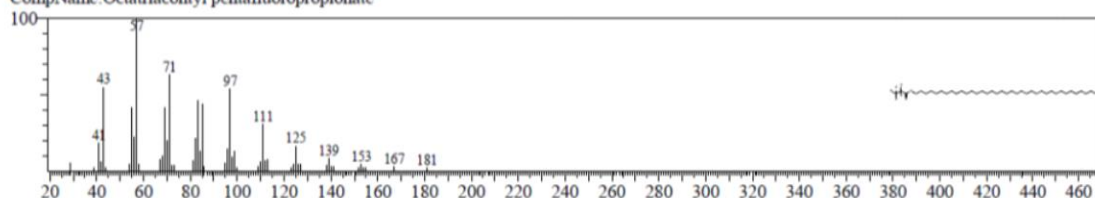
Hit#:1 Entry:191317 Library:NIST08.LIB
SI:81 Formula:C54H108Br2 CAS:0-00-0 MolWeight:914 RetIndex:5981
CompName:Tetrapentacontane, 1,54-dibromo-



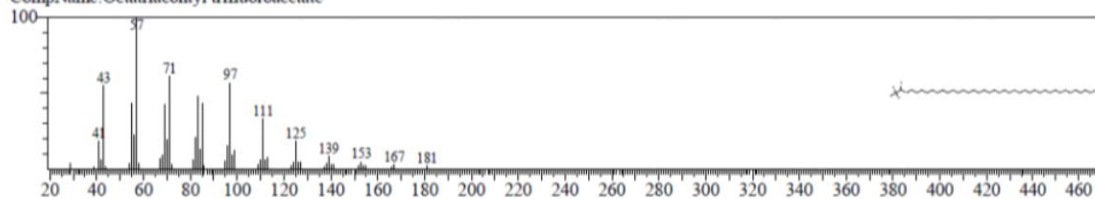
Hit#:2 Entry:182627 Library:NIST08.LIB
SI:80 Formula:C34H70 CAS:0-00-0 MolWeight:478 RetIndex:3337
CompName:15-Methyltrtriacontane



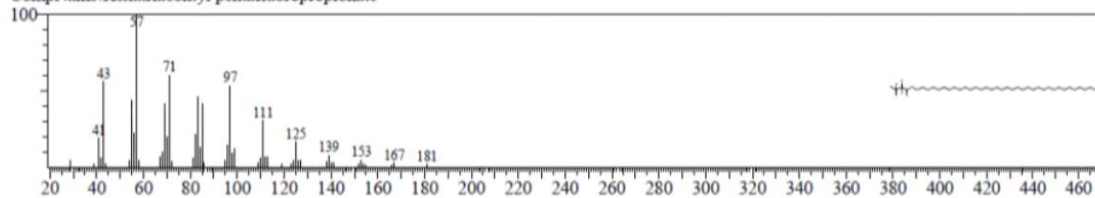
Hit#:3 Entry:190514 Library:NIST08.LIB
SI:80 Formula:C41H77F5O2 CAS:0-00-0 MolWeight:696 RetIndex:3959
CompName:Octatriacontyl pentafluoropropionate



Hit#:4 Entry:189901 Library:NIST08.LIB
SI:80 Formula:C40H77F3O2 CAS:0-00-0 MolWeight:646 RetIndex:3999
CompName:Octatriacontyl trifluoroacetate



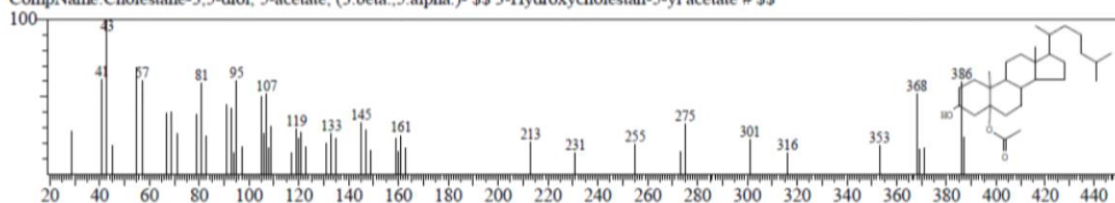
Hit#:5 Entry:190182 Library:NIST08.LIB
SI:80 Formula:C39H73F5O2 CAS:0-00-0 MolWeight:668 RetIndex:3761
CompName:Hexatriacontyl pentafluoropropionate



Hit#1 Entry:18483 Library:NIST08.LIB

SI:88 Formula:C₂₉H₅₀O₃ CAS:41721-93-1 MolWeight:446 RetIndex:2926

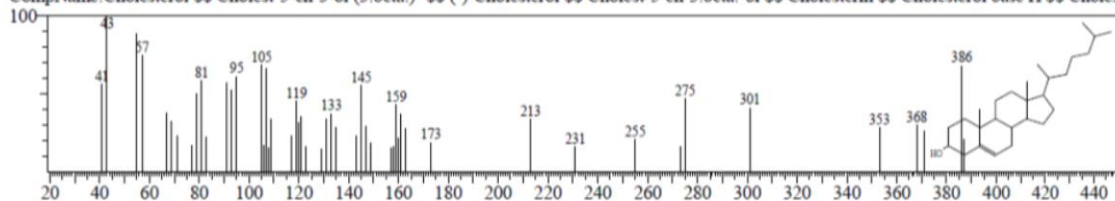
CompName:Cholestane-3,5-diol, 5-acetate, (3.beta.,5.alpha.)- \$\$ 3-Hydroxycholestan-5-yl acetate # \$\$



Hit#2 Entry:162891 Library:NIST08.LIB

SI:87 Formula:C₂₇H₄₆O CAS:57-88-5 MolWeight:386 RetIndex:2596

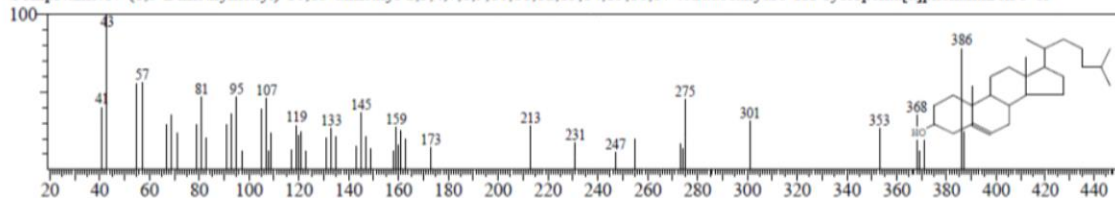
CompName:Cholesterol \$\$ Cholest-5-en-3-ol (3.beta.)- \$\$ (-)-Cholesterol \$\$ Cholest-5-en-3.beta.-ol \$\$ Cholesterin \$\$ Cholesterol base H \$\$ Cholest



Hit#3 Entry:162895 Library:NIST08.LIB

SI:84 Formula:C₂₇H₄₆O CAS:0-00-0 MolWeight:386 RetIndex:2596

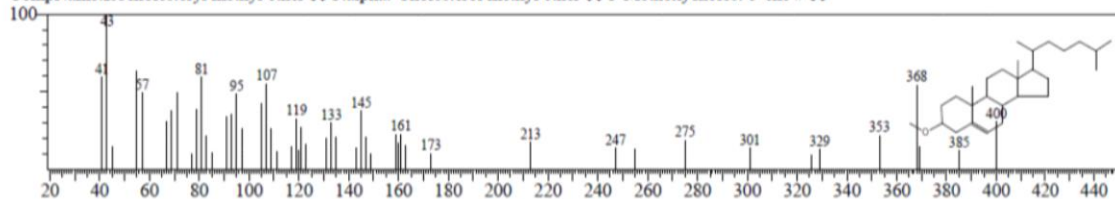
CompName:17-(1,5-Dimethylhexyl)-10,13-dimethyl-2,3,4,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-tetradecahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-3-ol



Hit#4 Entry:168087 Library:NIST08.LIB

SI:83 Formula:C₂₈H₄₈O CAS:29944-53-4 MolWeight:400 RetIndex:2545

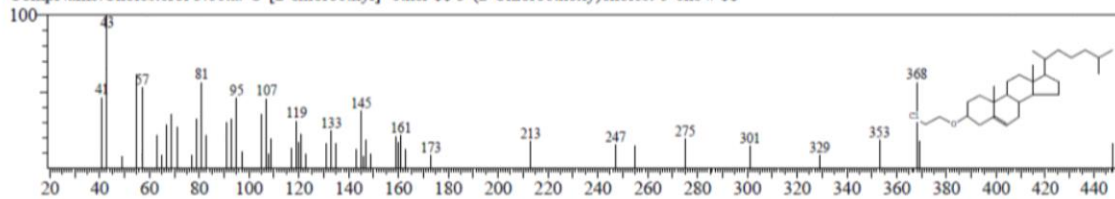
CompName:Isocholesteryl methyl ether \$\$ 3.alpha.-Cholesterol methyl ether \$\$ 3-Methoxycholest-5-ene # \$\$



Hit#5 Entry:178756 Library:NIST08.LIB

SI:82 Formula:C₂₉H₄₉ClO CAS:1972-30-1 MolWeight:448 RetIndex:2870

CompName:Cholesterol 3.beta.-O-[2-chloroethyl]- ether \$\$ 3-(2-Chloroethoxy)cholest-5-ene # \$\$

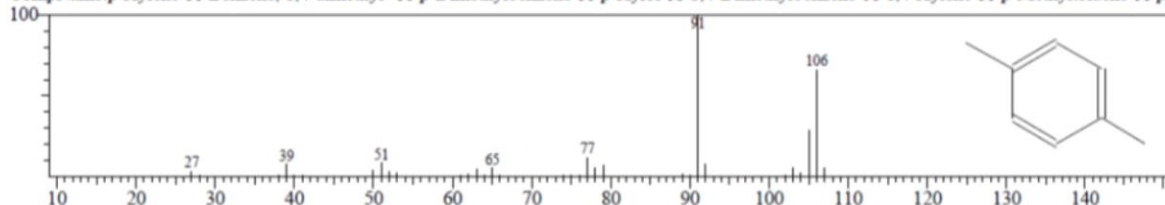


ملحق (11)

Hit#1 Entry: 2688 Library: NIST08.LIB

SI:95 Formula: C₈H₁₀ CAS: 106-42-3 MolWeight: 106 RetIndex: 907

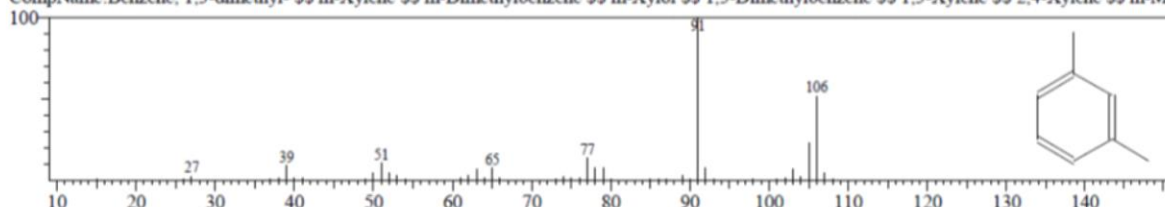
CompName: p-Xylene \$\$ Benzene, 1,4-dimethyl- \$\$ p-Dimethylbenzene \$\$ p-Xylol \$\$ 1,4-Dimethylbenzene \$\$ 1,4-Xylene \$\$ p-Methyltoluene \$\$ p-



Hit#2 Entry: 2687 Library: NIST08.LIB

SI:94 Formula: C₈H₁₀ CAS: 108-38-3 MolWeight: 106 RetIndex: 907

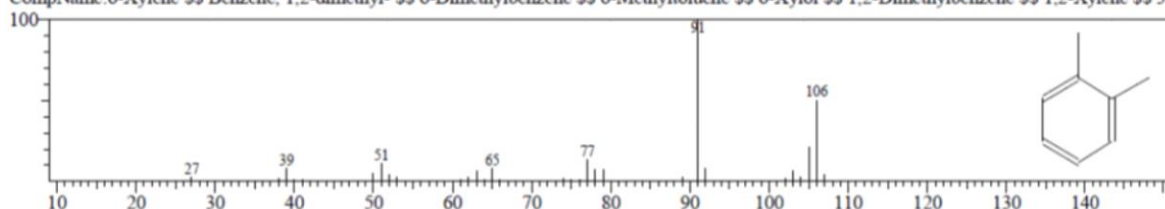
CompName: Benzene, 1,3-dimethyl- \$\$ m-Xylene \$\$ m-Dimethylbenzene \$\$ m-Xylol \$\$ 1,3-Dimethylbenzene \$\$ 1,3-Xylene \$\$ 2,4-Xylene \$\$ m-Me



Hit#3 Entry: 2689 Library: NIST08.LIB

SI:93 Formula: C₈H₁₀ CAS: 95-47-6 MolWeight: 106 RetIndex: 907

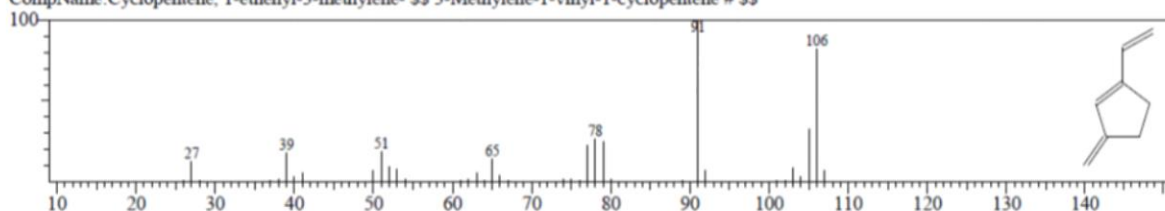
CompName: o-Xylene \$\$ Benzene, 1,2-dimethyl- \$\$ o-Dimethylbenzene \$\$ o-Methyltoluene \$\$ o-Xylol \$\$ 1,2-Dimethylbenzene \$\$ 1,2-Xylene \$\$ 3,



Hit#4 Entry: 2686 Library: NIST08.LIB

SI:91 Formula: C₈H₁₀ CAS: 61142-07-2 MolWeight: 106 RetIndex: 827

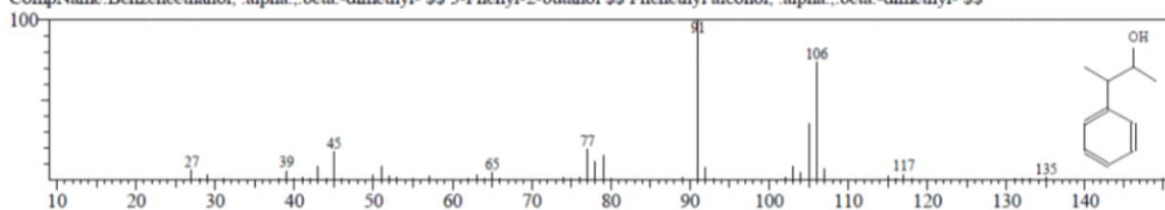
CompName: Cyclopentene, 1-ethenyl-3-methylene- \$\$ 3-Methylene-1-vinyl-1-cyclopentene # \$\$



Hit#5 Entry: 15249 Library: NIST08.LIB

SI:91 Formula: C₁₀H₁₄O CAS: 52089-32-4 MolWeight: 150 RetIndex: 1190

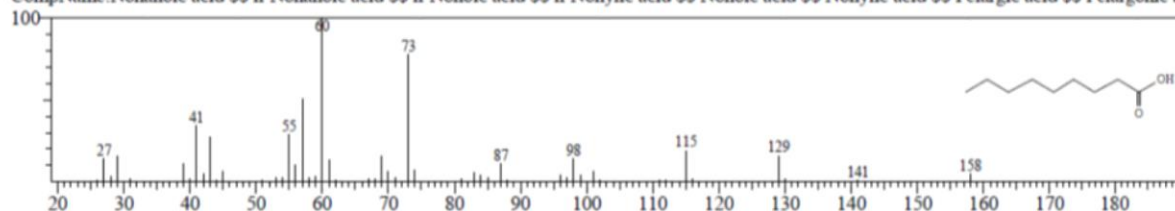
CompName: Benzeneethanol, alpha.,beta.-dimethyl- \$\$ 3-Phenyl-2-butanol \$\$ Phenethyl alcohol, alpha.,beta.-dimethyl- \$\$



Hit#1 Entry:19208 Library:NIST08.LIB

SI:89 Formula:C₉H₁₈O₂ CAS:112-05-0 MolWeight:158 RetIndex:1272

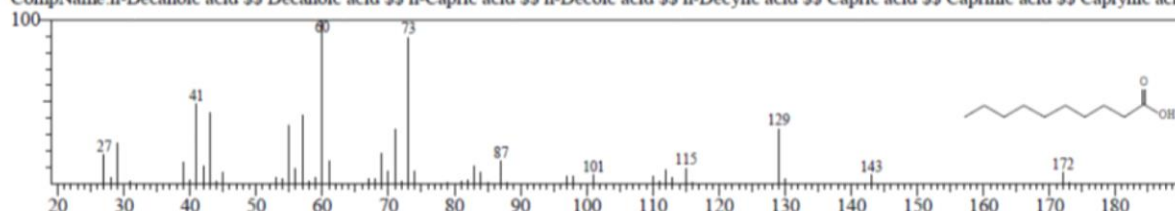
CompName:Nonanoic acid \$ n-Nonanoic acid \$ n-Nonoic acid \$ n-Nonylic acid \$ Nonoic acid \$ Nonylic acid \$ Pelargic acid \$ Pelargonic ac



Hit#2 Entry:26672 Library:NIST08.LIB

SI:85 Formula:C₁₀H₂₀O₂ CAS:334-48-5 MolWeight:172 RetIndex:1372

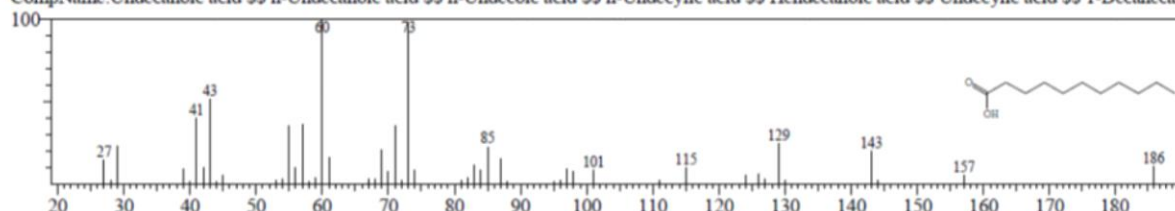
CompName:n-Decanoic acid \$ n-Decanoic acid \$ n-Capric acid \$ n-Decoic acid \$ n-Decylic acid \$ Capric acid \$ Caprinic acid \$ Caprynic acid



Hit#3 Entry:34537 Library:NIST08.LIB

SI:82 Formula:C₁₁H₂₂O₂ CAS:112-37-8 MolWeight:186 RetIndex:1471

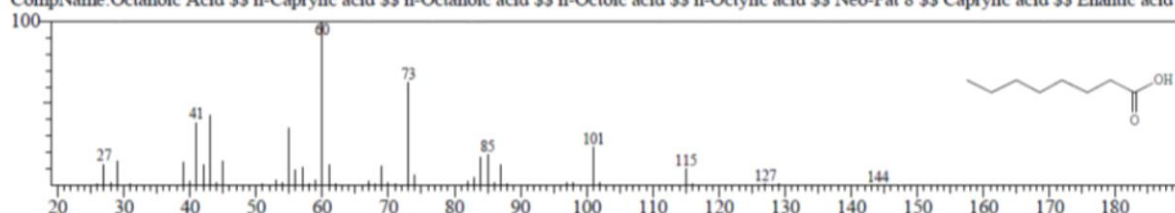
CompName:Undecanoic acid \$ n-Undecanoic acid \$ n-Undecoic acid \$ n-Undecylic acid \$ Hendecanoic acid \$ Undecylic acid \$ 1-Decanecar



Hit#4 Entry:12892 Library:NIST08.LIB

SI:82 Formula:C₈H₁₆O₂ CAS:124-07-2 MolWeight:144 RetIndex:1173

CompName:Octanoic Acid \$ n-Caprylic acid \$ n-Octanoic acid \$ n-Octoic acid \$ n-Octylic acid \$ Neo-Fat 8 \$ Caprylic acid \$ Enanthic acid \$



Hit#5 Entry:7909 Library:NIST08.LIB

SI:81 Formula:C₇H₁₄O₂ CAS:111-14-8 MolWeight:130 RetIndex:1073

CompName:Heptanoic acid \$ Enanthic acid \$ n-Heptanoic acid \$ n-Heptoic acid \$ n-Heptylic acid \$ Enanthylic acid \$ Heptoic acid \$ Heptyl

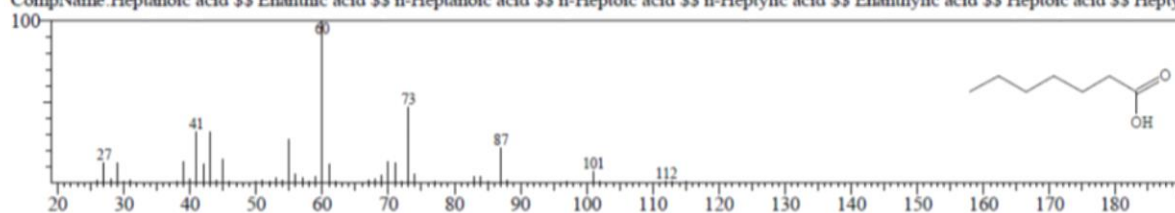
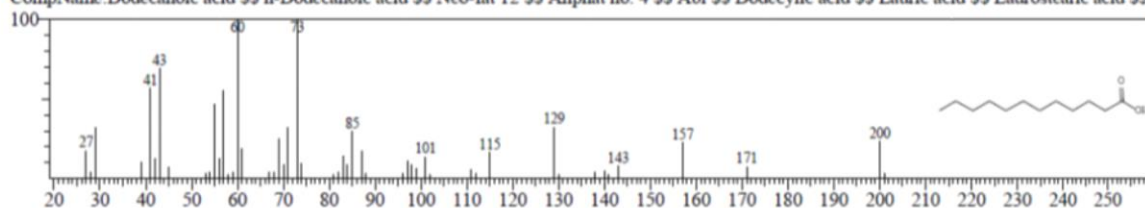


FIG. 1 Entry: 42720 Library: NIST08.LIB

SI: 89 Formula: C₁₂H₂₄O₂ CAS: 143-07-7 MolWeight: 200 RetIndex: 1570

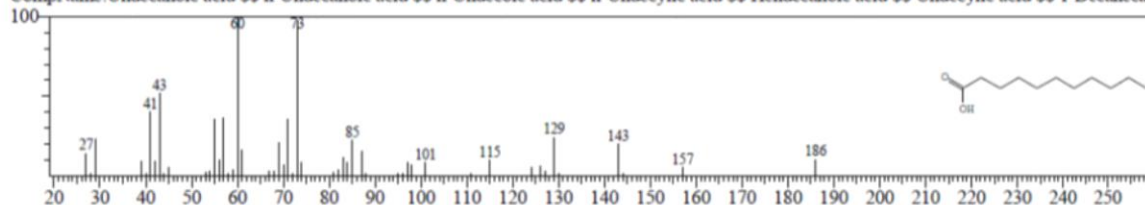
CompName: Dodecanoic acid \$\$ n-Dodecanoic acid \$\$ Neo-fat 12 \$\$ Aliphatic no. 4 \$\$ Abl \$\$ Dodecyl acid \$\$ Lauric acid \$\$ Laurostearic acid \$\$?



Hit# 2 Entry: 34537 Library: NIST08.LIB

SI: 89 Formula: C₁₁H₂₂O₂ CAS: 112-37-8 MolWeight: 186 RetIndex: 1471

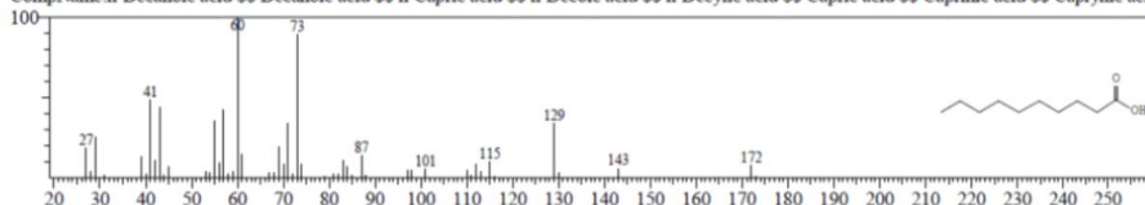
CompName: Undecanoic acid \$\$ n-Undecanoic acid \$\$ n-Undecic acid \$\$ n-Undecylic acid \$\$ Hendecanoic acid \$\$ Undecylic acid \$\$ 1-Decanecar



Hit# 3 Entry: 26672 Library: NIST08.LIB

SI: 88 Formula: C₁₀H₂₀O₂ CAS: 334-48-5 MolWeight: 172 RetIndex: 1372

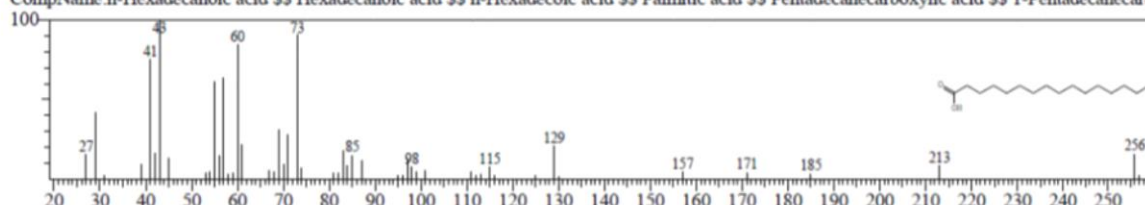
CompName: n-Decanoic acid \$\$ Decanoic acid \$\$ n-Capric acid \$\$ n-Decoic acid \$\$ n-Decylic acid \$\$ Capric acid \$\$ Caprinic acid \$\$ Caprylic acid



Hit# 4 Entry: 80732 Library: NIST08.LIB

SI: 88 Formula: C₁₆H₃₂O₂ CAS: 57-10-3 MolWeight: 256 RetIndex: 1968

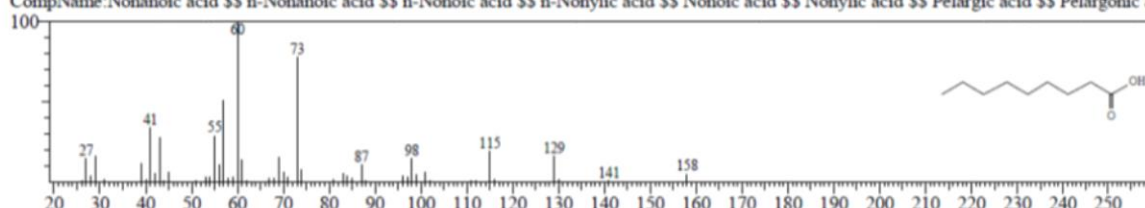
CompName: n-Hexadecanoic acid \$\$ Hexadecanoic acid \$\$ n-Hexadecoic acid \$\$ Palmitic acid \$\$ Pentadecanecarboxylic acid \$\$ 1-Pentadecanecarbo



Hit# 5 Entry: 19208 Library: NIST08.LIB

SI: 87 Formula: C₉H₁₈O₂ CAS: 112-05-0 MolWeight: 158 RetIndex: 1272

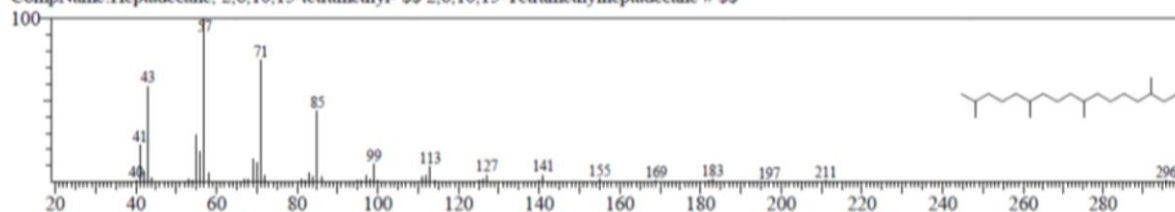
CompName: Nonanoic acid \$\$ n-Nonanoic acid \$\$ n-Nonoic acid \$\$ n-Nonylic acid \$\$ Nonoic acid \$\$ Nonylic acid \$\$ Pelargic acid \$\$ Pelargonic ac



Hit# 1 Entry: 109311 Library: NIST08.LIB

SI:91 Formula: C₂₁H₄₄ CAS: 54833-48-6 MolWeight: 296 RetIndex: 1852

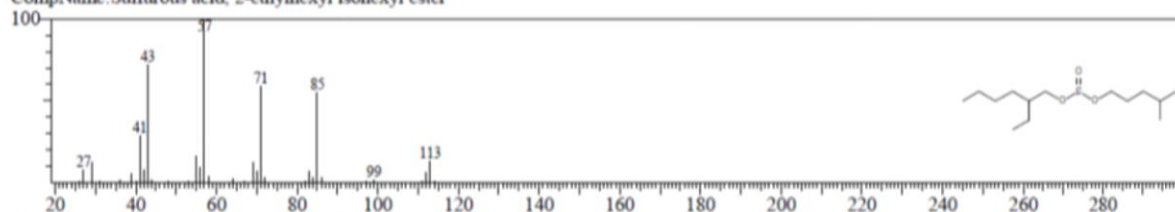
CompName: Heptadecane, 2,6,10,15-tetramethyl- \$\$ 2,6,10,15-Tetramethylheptadecane # \$\$



Hit# 2 Entry: 96013 Library: NIST08.LIB

SI:91 Formula: C₁₄H₃₀O₃S CAS: 0-00-0 MolWeight: 278 RetIndex: 1908

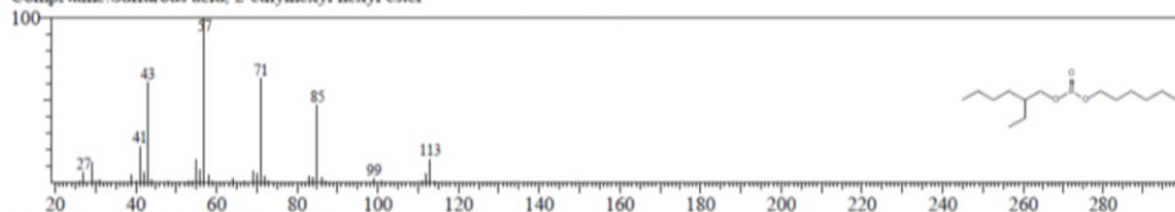
CompName: Sulfurous acid, 2-ethylhexyl isohexyl ester



Hit# 3 Entry: 96014 Library: NIST08.LIB

SI:90 Formula: C₁₄H₃₀O₃S CAS: 0-00-0 MolWeight: 278 RetIndex: 1972

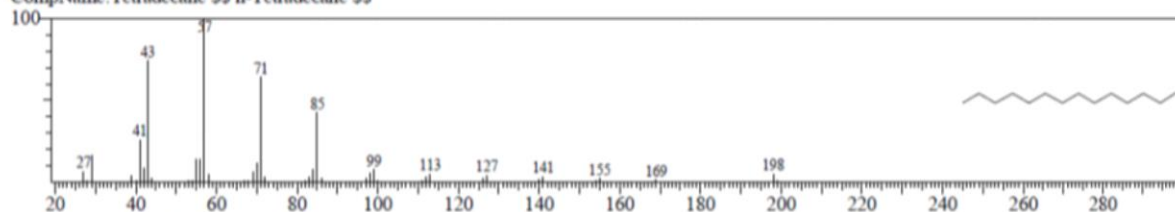
CompName: Sulfurous acid, 2-ethylhexyl hexyl ester



Hit# 4 Entry: 41941 Library: NIST08.LIB

SI:90 Formula: C₁₄H₃₀ CAS: 629-59-4 MolWeight: 198 RetIndex: 1413

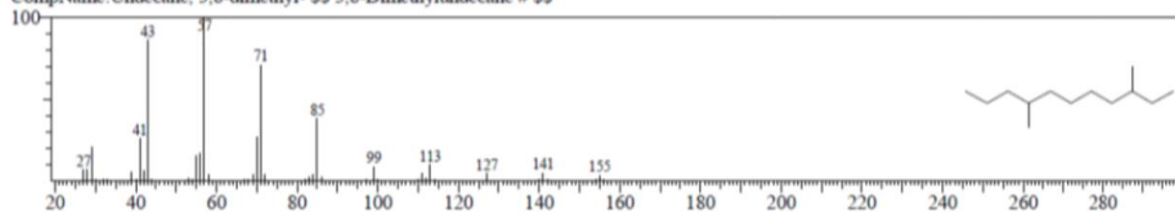
CompName: Tetradecane \$\$ n-Tetradecane \$\$



Hit# 5 Entry: 33552 Library: NIST08.LIB

SI:90 Formula: C₁₃H₂₈ CAS: 17301-30-3 MolWeight: 184 RetIndex: 1185

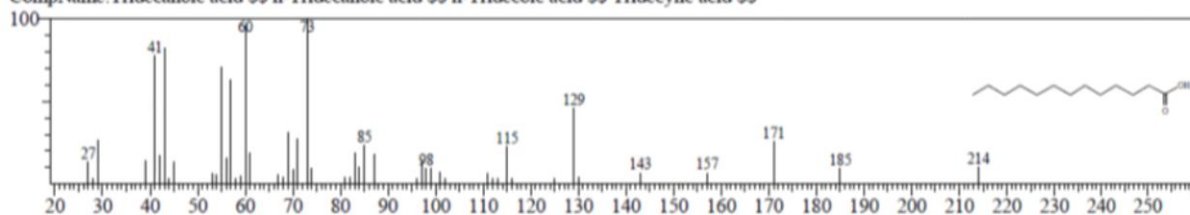
CompName: Undecane, 3,8-dimethyl- \$\$ 3,8-Dimethylundecane # \$\$



Hit#1 Entry: 26033 Library: NIST08.LIB

SI:92 Formula: C₁₃H₂₆O₂ CAS: 638-53-9 MolWeight: 214 RetIndex: 1670

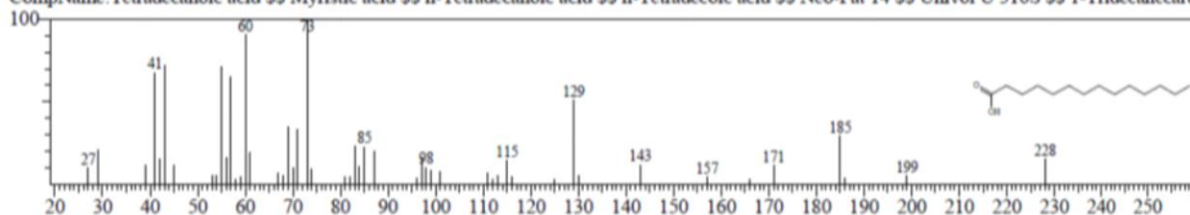
CompName: Tridecanoic acid \$\$ n-Tridecanoic acid \$\$ n-Tridecoic acid \$\$ Tridecyl acid \$\$



Hit#2 Entry: 61604 Library: NIST08.LIB

SI:92 Formula: C₁₄H₂₈O₂ CAS: 544-63-8 MolWeight: 228 RetIndex: 1769

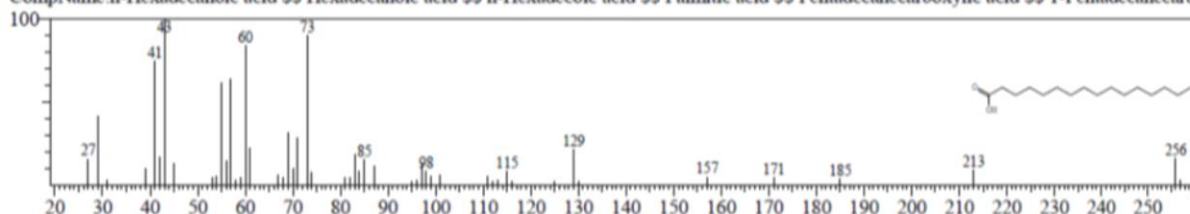
CompName: Tetradecanoic acid \$\$ Myristic acid \$\$ n-Tetradecanoic acid \$\$ n-Tetradecoic acid \$\$ Neo-Fat 14 \$\$ Univol U 316S \$\$ 1-Tridecanecarb



Hit#3 Entry: 80732 Library: NIST08.LIB

SI:91 Formula: C₁₆H₃₂O₂ CAS: 57-10-3 MolWeight: 256 RetIndex: 1968

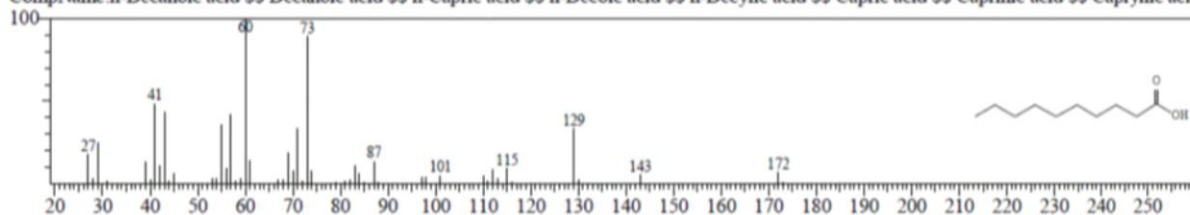
CompName: n-Hexadecanoic acid \$\$ Hexadecanoic acid \$\$ n-Hexadecoic acid \$\$ Palmitic acid \$\$ Pentadecanecarboxylic acid \$\$ 1-Pentadecanecarb



Hit#4 Entry: 26672 Library: NIST08.LIB

SI:90 Formula: C₁₀H₂₀O₂ CAS: 334-48-5 MolWeight: 172 RetIndex: 1372

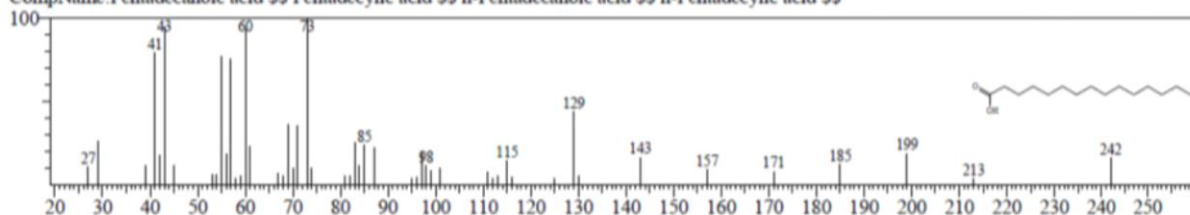
CompName: n-Decanoic acid \$\$ Decanoic acid \$\$ n-Capric acid \$\$ n-Decoic acid \$\$ n-Decylic acid \$\$ Capric acid \$\$ Caprinic acid \$\$ Caprynic acid



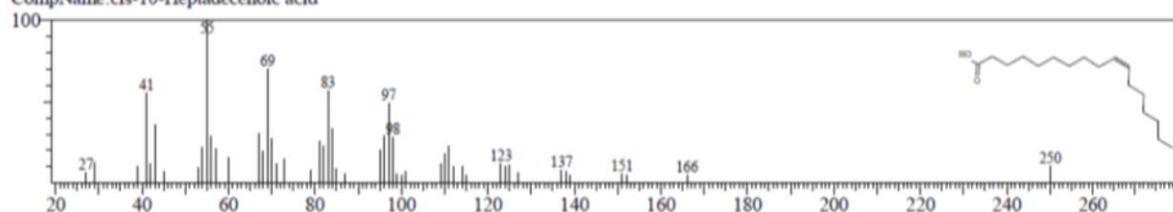
Hit#5 Entry: 70950 Library: NIST08.LIB

SI:90 Formula: C₁₅H₃₀O₂ CAS: 1002-84-2 MolWeight: 242 RetIndex: 1869

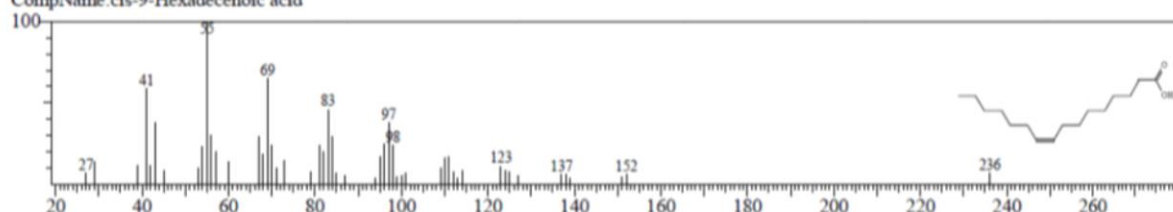
CompName: Pentadecanoic acid \$\$ Pentadecylic acid \$\$ n-Pentadecanoic acid \$\$ n-Pentadecylic acid \$\$



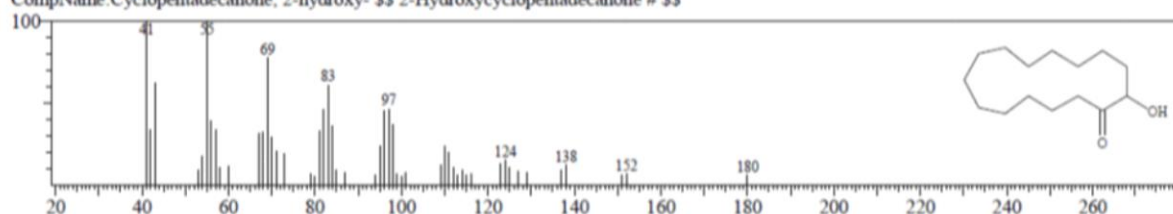
Hit#1 Entry:89190 Library:NIST08.LIB
SI:92 Formula:C17H32O2 CAS:29743-97-3 MolWeight:268 RetIndex:2075
CompName:cis-10-Heptadecenoic acid



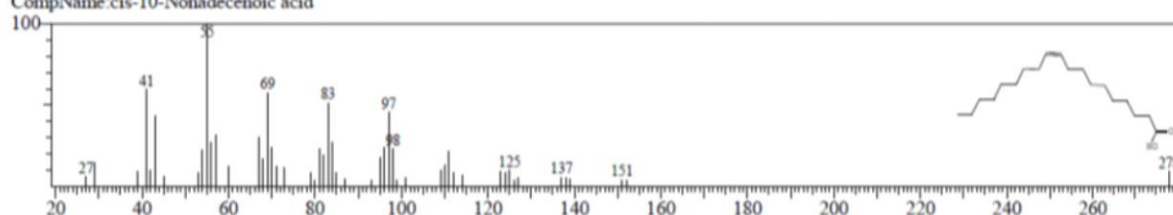
Hit#2 Entry:79170 Library:NIST08.LIB
SI:91 Formula:C16H30O2 CAS:0-00-0 MolWeight:254 RetIndex:1976
CompName:cis-9-Hexadecenoic acid



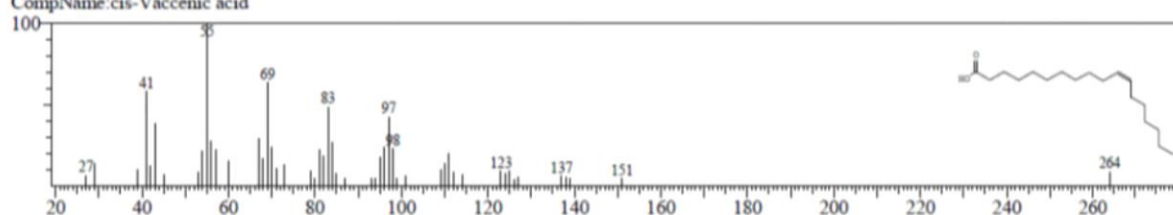
Hit#3 Entry:69506 Library:NIST08.LIB
SI:90 Formula:C15H28O2 CAS:4727-18-8 MolWeight:240 RetIndex:2158
CompName:Cyclopentadecanone, 2-hydroxy- \$2-Hydroxycyclopentadecanone \$



Hit#4 Entry:109246 Library:NIST08.LIB
SI:90 Formula:C19H36O2 CAS:73033-09-7 MolWeight:296 RetIndex:2274
CompName:cis-10-Nonadecenoic acid



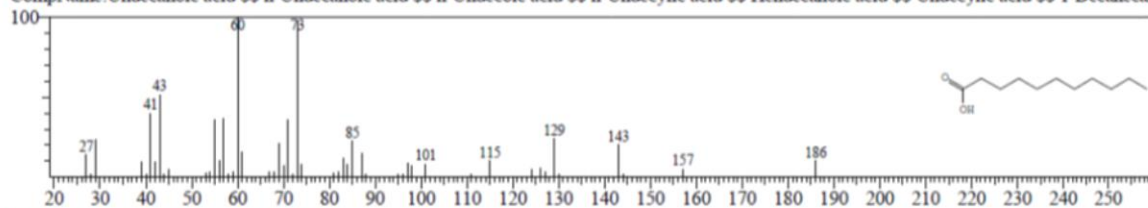
Hit#5 Entry:99164 Library:NIST08.LIB
SI:90 Formula:C18H34O2 CAS:506-17-2 MolWeight:282 RetIndex:2175
CompName:cis-Vaccenic acid



Hit#1 Entry:34537 Library:NIST08.LIB

SI:85 Formula:C₁₁H₂₂O₂ CAS:112-37-8 MolWeight:186 RetIndex:1471

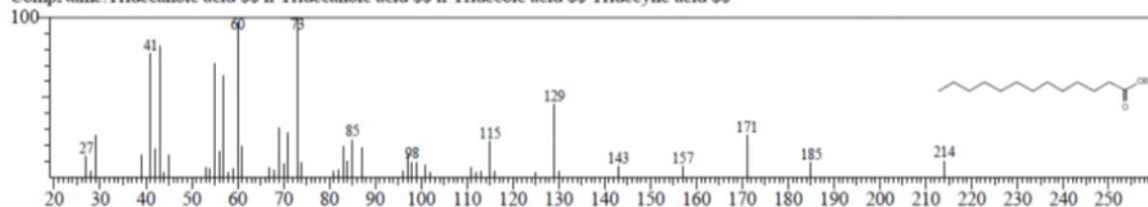
CompName:Undecanoic acid \$\$ n-Undecanoic acid \$\$ n-Undecic acid \$\$ n-Undecylic acid \$\$ Hendecanoic acid \$\$ Undecylic acid \$\$ 1-Decanearl



Hit#2 Entry:52033 Library:NIST08.LIB

SI:85 Formula:C₁₃H₂₆O₂ CAS:638-53-9 MolWeight:214 RetIndex:1670

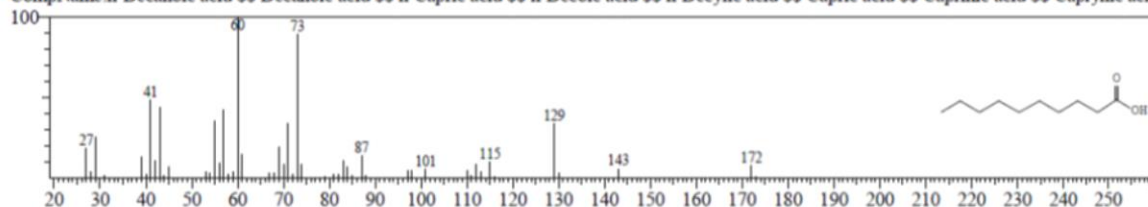
CompName:Tridecanoic acid \$\$ n-Tridecanoic acid \$\$ n-Tridecoic acid \$\$ Tridecylic acid \$\$



Hit#3 Entry:26672 Library:NIST08.LIB

SI:85 Formula:C₁₀H₂₀O₂ CAS:334-48-5 MolWeight:172 RetIndex:1372

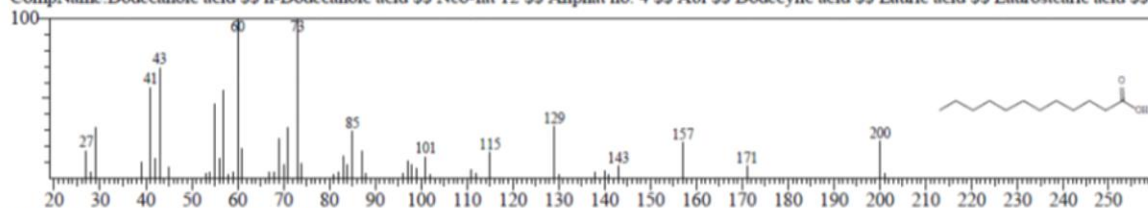
CompName:n-Decanoic acid \$\$ Decanoic acid \$\$ n-Capric acid \$\$ n-Decoic acid \$\$ n-Decylic acid \$\$ Capric acid \$\$ Caprinic acid \$\$ Caprynic acid



Hit#4 Entry:42930 Library:NIST08.LIB

SI:85 Formula:C₁₂H₂₄O₂ CAS:143-07-7 MolWeight:200 RetIndex:1570

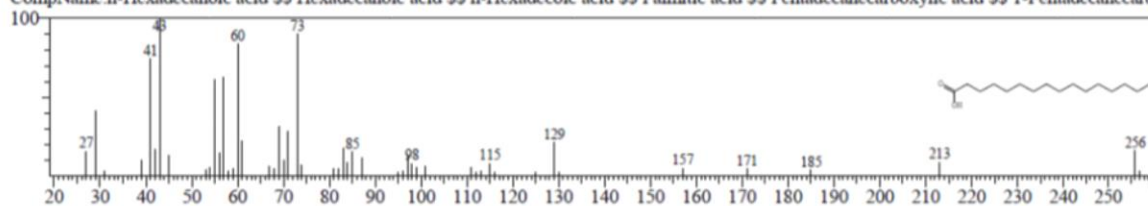
CompName:Dodecanoic acid \$\$ n-Dodecanoic acid \$\$ Neo-fat 12 \$\$ Aliphat no. 4 \$\$ Abl \$\$ Dodecylic acid \$\$ Lauric acid \$\$ Laurostearic acid \$\$?



Hit#5 Entry:80732 Library:NIST08.LIB

SI:85 Formula:C₁₆H₃₂O₂ CAS:57-10-3 MolWeight:256 RetIndex:1968

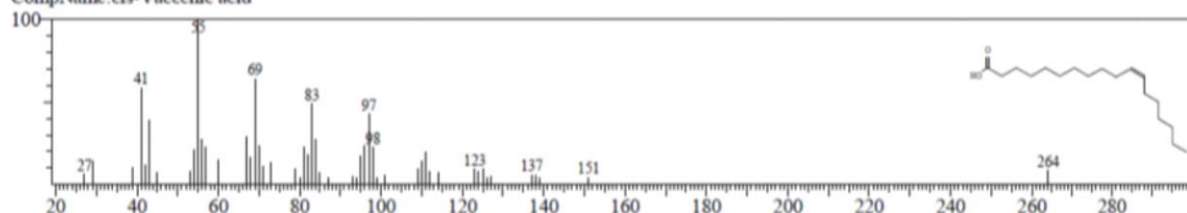
CompName:n-Hexadecanoic acid \$\$ Hexadecanoic acid \$\$ n-Hexadecoic acid \$\$ Palmitic acid \$\$ Pentadecanecarboxylic acid \$\$ 1-Pentadecanecarb



Hit#1 Entry: 99104 Library: NIST08.LIB

SI:92 Formula: C₁₈H₃₄O₂ CAS: 506-17-2 MolWeight: 282 RetIndex: 2175

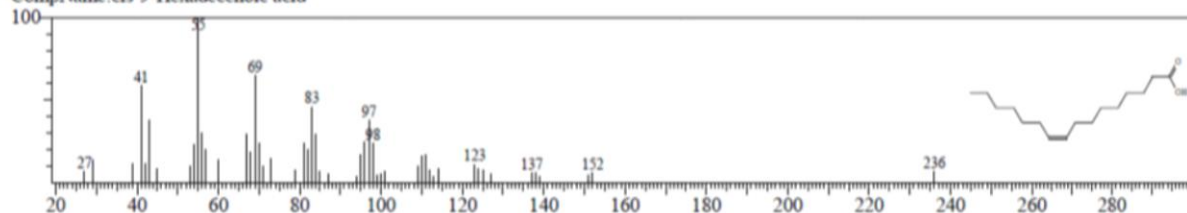
CompName: cis-Vaccenic acid



Hit#2 Entry: 79170 Library: NIST08.LIB

SI:91 Formula: C₁₆H₃₀O₂ CAS: 0-00-0 MolWeight: 254 RetIndex: 1976

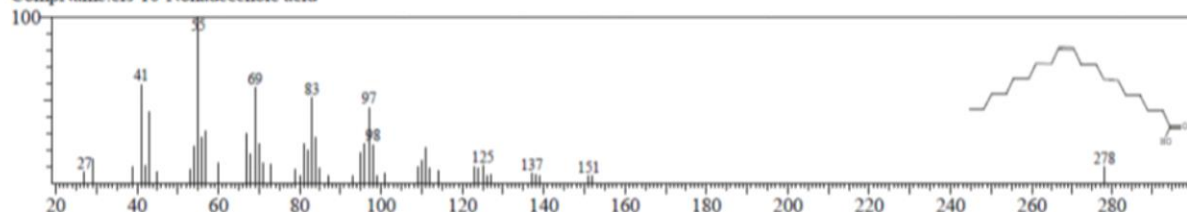
CompName: cis-9-Hexadecenoic acid



Hit#3 Entry: 109246 Library: NIST08.LIB

SI:91 Formula: C₁₉H₃₆O₂ CAS: 73033-09-7 MolWeight: 296 RetIndex: 2274

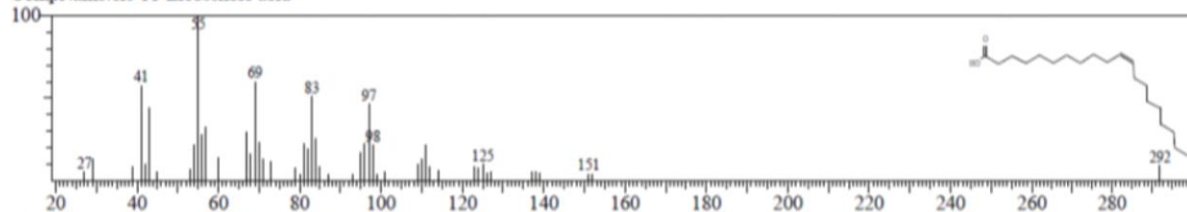
CompName: cis-10-Nonadecenoic acid



Hit#4 Entry: 119260 Library: NIST08.LIB

SI:91 Formula: C₂₀H₃₈O₂ CAS: 5561-99-9 MolWeight: 310 RetIndex: 2374

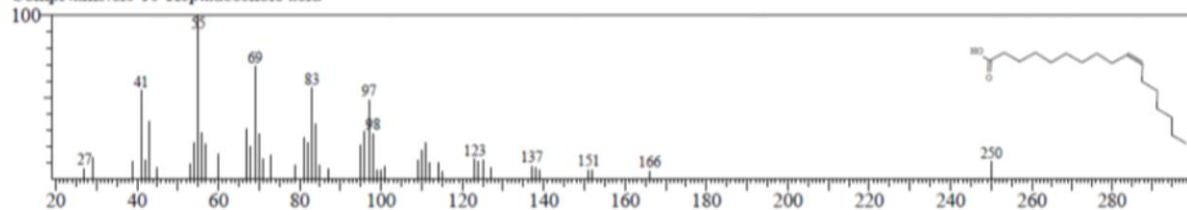
CompName: cis-11-Eicosenoic acid



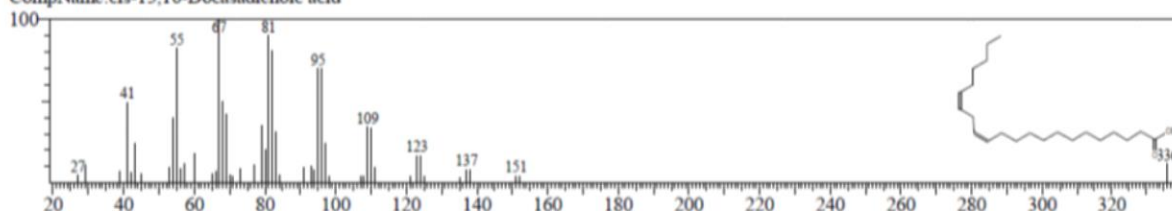
Hit#5 Entry: 89130 Library: NIST08.LIB

SI:91 Formula: C₁₇H₃₂O₂ CAS: 29743-97-3 MolWeight: 268 RetIndex: 2075

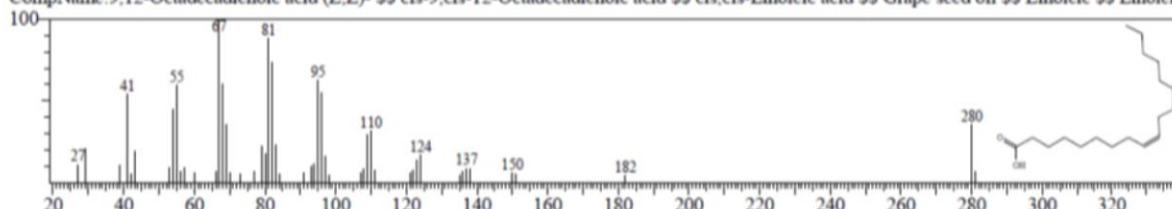
CompName: cis-10-Heptadecenoic acid



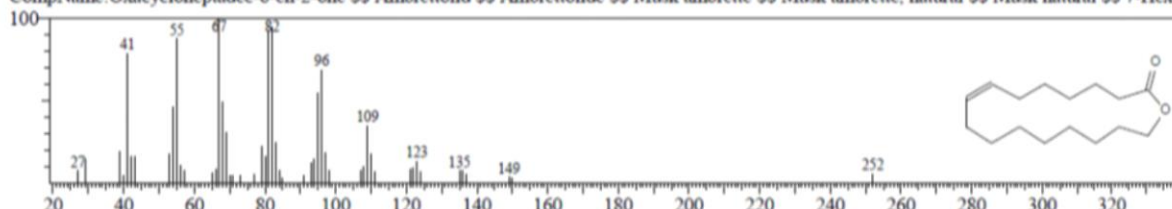
Hit#:1 Entry:136822 Library:NIST08.LIB
 SI:88 Formula:C22H40O2 CAS:7370-49-2 MolWeight:336 RetIndex:2580
 CompName:cis-13,16-Docosadienoic acid



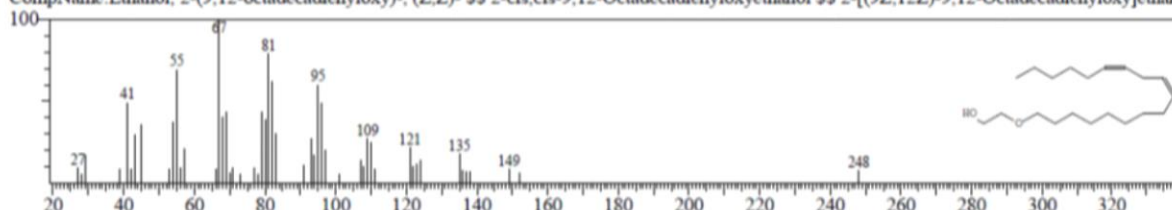
Hit#:2 Entry:97690 Library:NIST08.LIB
 SI:88 Formula:C18H32O2 CAS:60-33-3 MolWeight:280 RetIndex:2183
 CompName:9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)- \$\$ cis-9,cis-12-Octadecadienoic acid \$\$ cis,cis-Linoleic acid \$\$ Grape seed oil \$\$ Linoleic \$\$ Linoleic



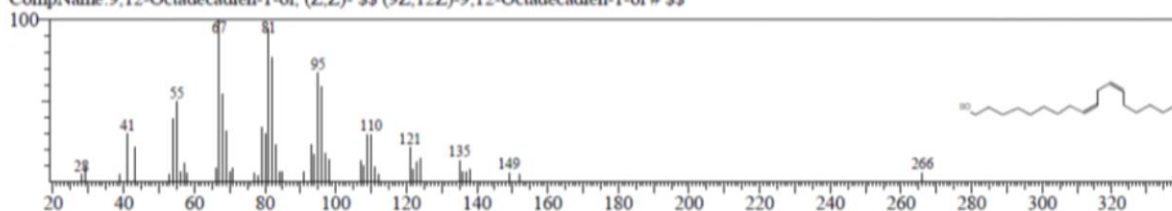
Hit#:3 Entry:77785 Library:NIST08.LIB
 SI:87 Formula:C16H28O2 CAS:123-69-3 MolWeight:252 RetIndex:2246
 CompName:Octacycloheptadec-8-en-2-one \$\$ Ambrettolid \$\$ Ambrettolide \$\$ Musk ambrette \$\$ Musk ambrette, natural \$\$ Musk natural \$\$ 7-Hexa



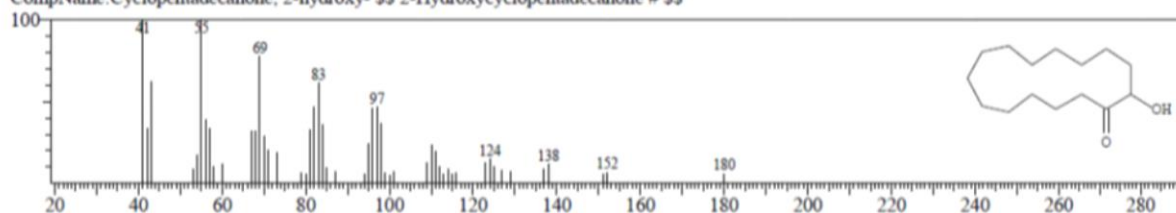
Hit#:4 Entry:119271 Library:NIST08.LIB
 SI:86 Formula:C20H38O2 CAS:17367-08-7 MolWeight:310 RetIndex:2344
 CompName:Ethanol, 2-(9,12-octadecadienyloxy)-, (Z,Z)- \$\$ 2-cis,cis-9,12-Octadecadienyloxyethanol \$\$ 2-[(9Z,12Z)-9,12-Octadecadienyloxy]ethane



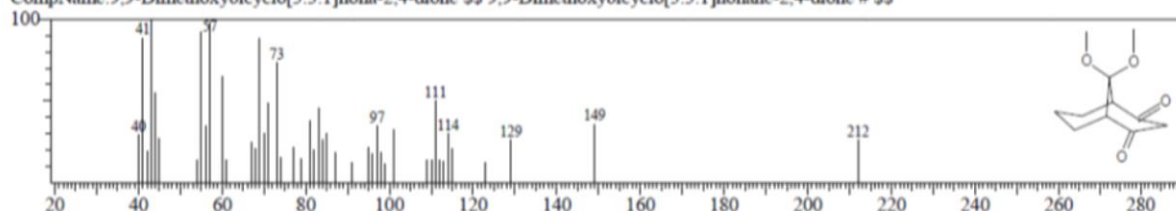
Hit#:5 Entry:87709 Library:NIST08.LIB
 SI:86 Formula:C18H34O CAS:506-43-4 MolWeight:266 RetIndex:2069
 CompName:9,12-Octadecadien-1-ol, (Z,Z)- \$\$ (9Z,12Z)-9,12-Octadecadien-1-ol # \$\$



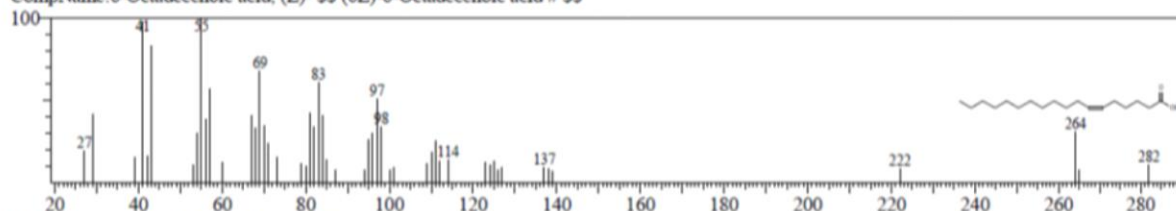
Hit#1 Entry:69206 Library:NIST08.LIB
SI:86 Formula:C₁₅H₂₈O₂ CAS:4727-18-8 MolWeight:240 RetIndex:2158
CompName:Cyclopentadecanone, 2-hydroxy- \$\$ 2-Hydroxycyclopentadecanone # \$\$



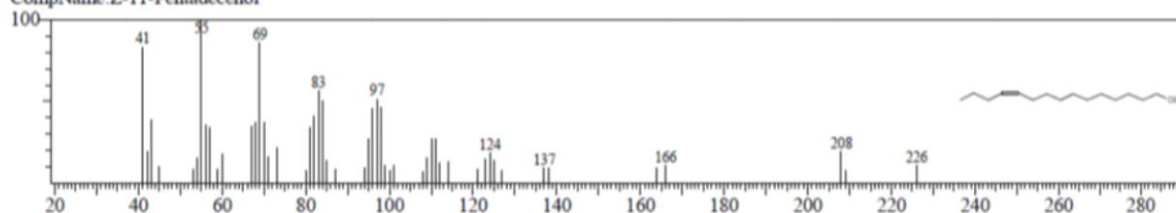
Hit#2 Entry:50466 Library:NIST08.LIB
SI:85 Formula:C₁₁H₁₆O₄ CAS:117132-08-8 MolWeight:212 RetIndex:1610
CompName:9,9-Dimethoxybicyclo[3.3.1]nona-2,4-dione \$\$ 9,9-Dimethoxybicyclo[3.3.1]nonane-2,4-dione # \$\$



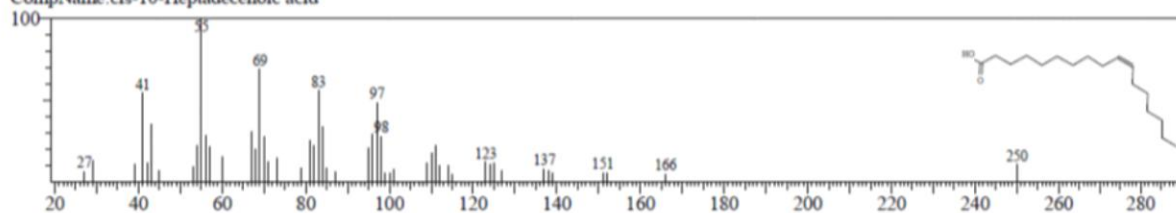
Hit#3 Entry:99154 Library:NIST08.LIB
SI:84 Formula:C₁₈H₃₄O₂ CAS:593-39-5 MolWeight:282 RetIndex:2175
CompName:6-Octadecenoic acid, (Z)- \$\$ (6Z)-6-Octadecenoic acid # \$\$



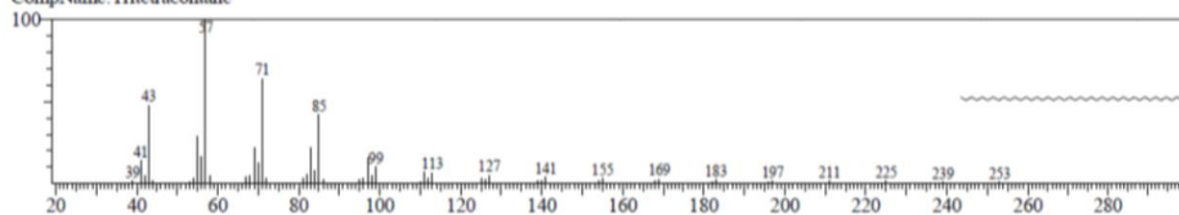
Hit#4 Entry:60312 Library:NIST08.LIB
SI:84 Formula:C₁₅H₃₀O CAS:0-00-0 MolWeight:226 RetIndex:1763
CompName:Z-11-Pentadecenol



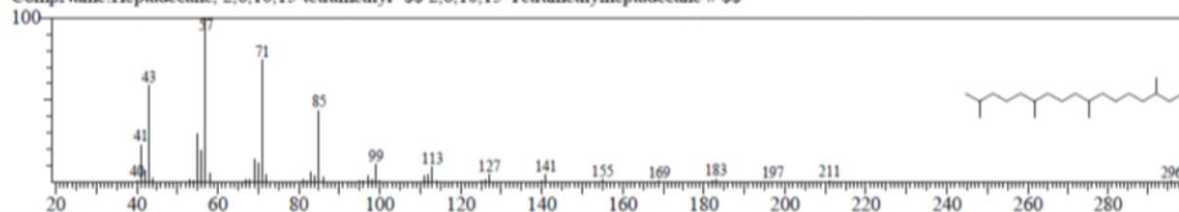
Hit#5 Entry:89130 Library:NIST08.LIB
SI:82 Formula:C₁₇H₃₂O₂ CAS:29743-97-3 MolWeight:268 RetIndex:2075
CompName:cis-10-Heptadecenoic acid



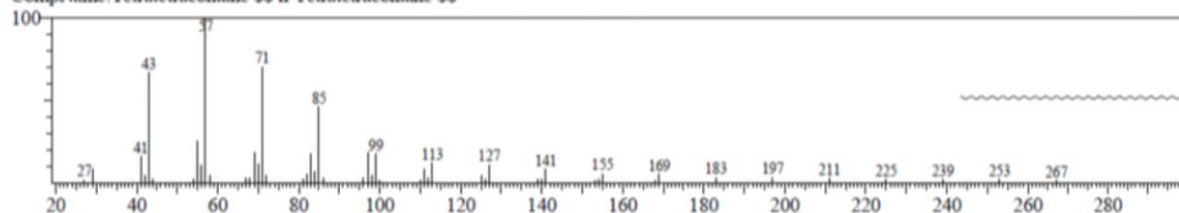
Hit#1 Entry:189112 Library:NIST08.LIB
SI:93 Formula:C43H88 CAS:7098-21-7 MolWeight:604 RetIndex:4295
CompName:Tritetracontane



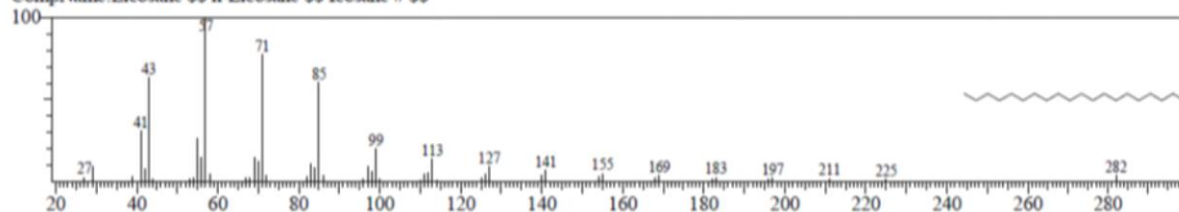
Hit#2 Entry:109377 Library:NIST08.LIB
SI:93 Formula:C21H44 CAS:54833-48-6 MolWeight:296 RetIndex:1852
CompName:Heptadecane, 2,6,10,15-tetramethyl- \$\$ 2,6,10,15-Tetramethylheptadecane # \$\$



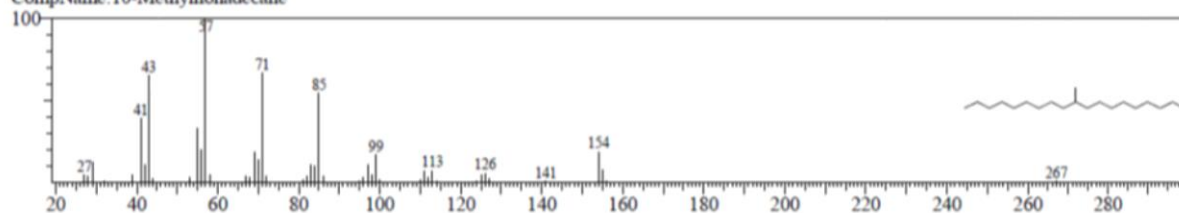
Hit#3 Entry:189407 Library:NIST08.LIB
SI:92 Formula:C44H90 CAS:7098-22-8 MolWeight:618 RetIndex:4395
CompName:Tetratetracontane \$\$ n-Tetratetracontane \$\$



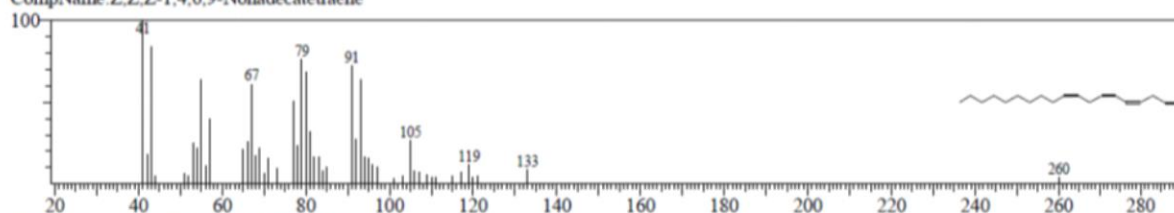
Hit#4 Entry:99287 Library:NIST08.LIB
SI:92 Formula:C20H42 CAS:112-95-8 MolWeight:282 RetIndex:2009
CompName:Eicosane \$\$ n-Eicosane \$\$ Icosane # \$\$



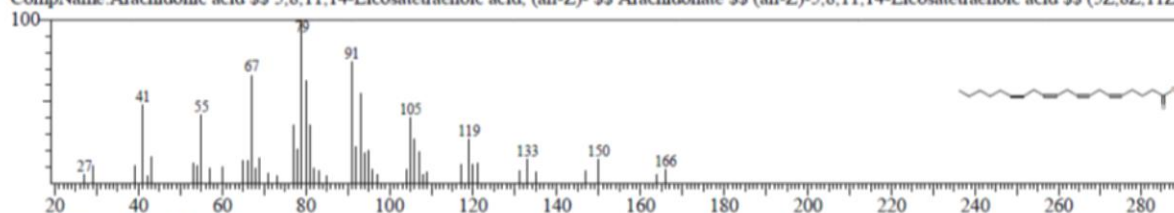
Hit#5 Entry:99290 Library:NIST08.LIB
SI:91 Formula:C20H42 CAS:56862-62-5 MolWeight:282 RetIndex:1945
CompName:10-Methylnonadecane



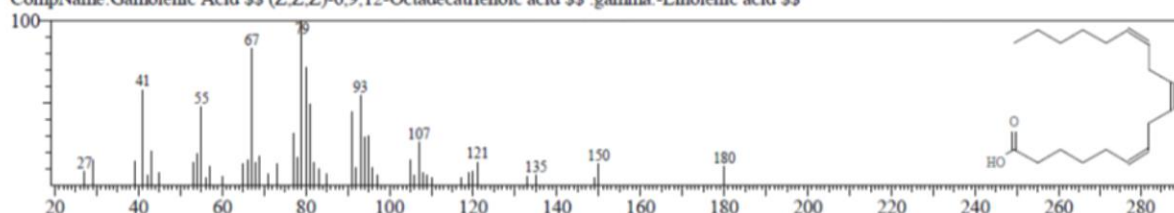
Hit#1 Entry:83611 Library:NIST08.LIB
SI:89 Formula:C19H32 CAS:0-00-0 MolWeight:260 RetIndex:1924
CompName:Z,Z,Z-1,4,6,9-Nonadecatetraene



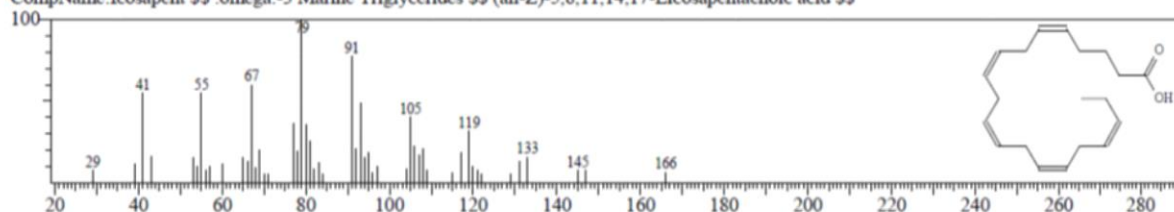
Hit#2 Entry:115093 Library:NIST08.LIB
SI:88 Formula:C20H32O2 CAS:506-32-1 MolWeight:304 RetIndex:2398
CompName:Arachidonic acid \$\$ 5,8,11,14-Eicosatetraenoic acid, (all-Z)- \$\$ Arachidonate \$\$ (all-Z)-5,8,11,14-Eicosatetraenoic acid \$\$ (5Z,8Z,11Z,14Z)-5,8,11,14-Eicosatetraenoic acid



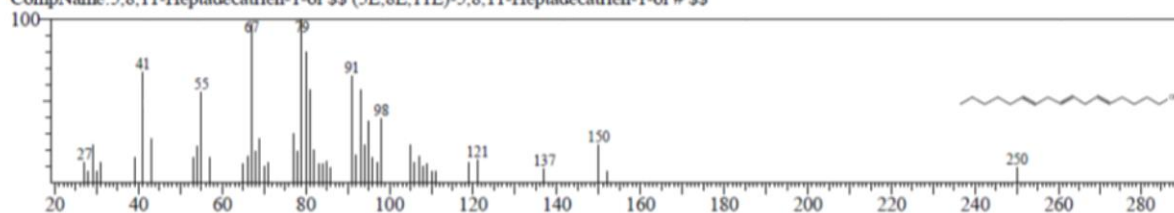
Hit#3 Entry:96363 Library:NIST08.LIB
SI:87 Formula:C18H30O2 CAS:506-26-3 MolWeight:278 RetIndex:2191
CompName:Gamma-Linolenic Acid \$\$ (Z,Z,Z)-6,9,12-Octadecatrienoic acid \$\$ gamma-Linolenic acid \$\$



Hit#4 Entry:113678 Library:NIST08.LIB
SI:86 Formula:C20H30O2 CAS:10417-94-4 MolWeight:302 RetIndex:2406
CompName:Icosapentenoic acid \$\$ omega-3 Marine Triglycerides \$\$ (all-Z)-5,8,11,14,17-Eicosapentaenoic acid \$\$



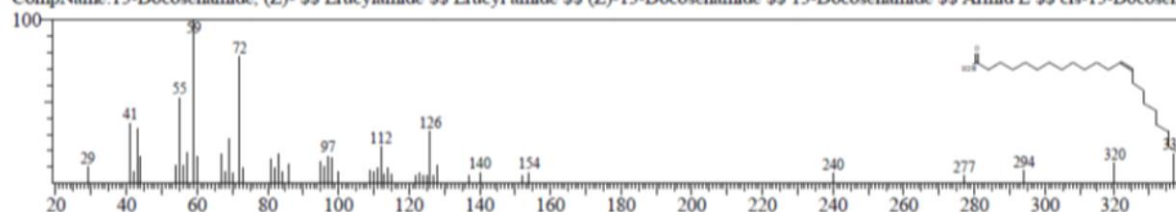
Hit#5 Entry:76490 Library:NIST08.LIB
SI:85 Formula:C17H30O CAS:22117-09-5 MolWeight:250 RetIndex:1978
CompName:5,8,11-Heptadecatrien-1-ol \$\$ (5E,8E,11E)-5,8,11-Heptadecatrien-1-ol # \$\$



Hit#1 Entry:137278 Library:NIST08.LIB

SI:78 Formula:C22H43NO CAS:112-84-5 MolWeight:337 RetIndex:2625

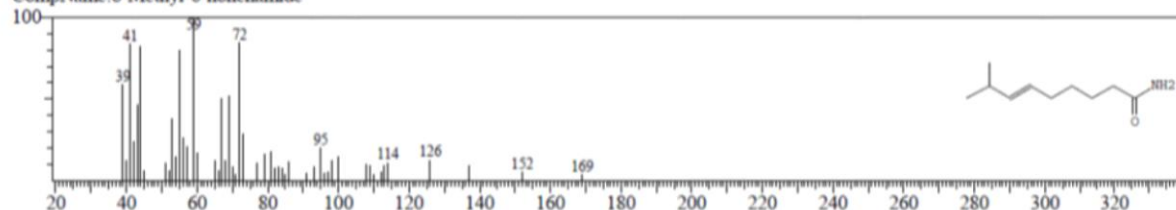
CompName:13-Docosenamide, (Z)- \$\$ Erucylamide \$\$ Erucyl amide \$\$ (Z)-13-Docosenamide \$\$ 13-Docosenamide \$\$ Aramid E \$\$ cis-13-Docosena



Hit#2 Entry:24885 Library:NIST08.LIB

SI:77 Formula:C10H19NO CAS:0-00-0 MolWeight:169 RetIndex:1369

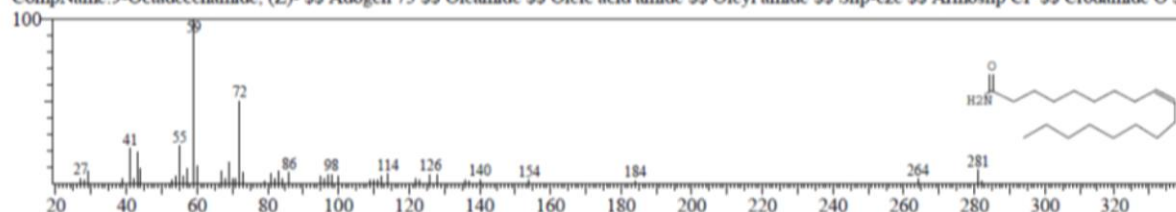
CompName:8-Methyl-6-nonenamide



Hit#3 Entry:98349 Library:NIST08.LIB

SI:77 Formula:C18H35NO CAS:301-02-0 MolWeight:281 RetIndex:2228

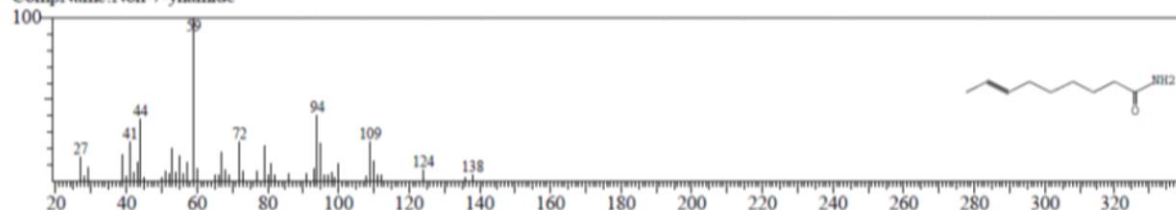
CompName:9-Octadecenamide, (Z)- \$\$ Adogen 73 \$\$ Oleamide \$\$ Oleic acid amide \$\$ Oleyl amide \$\$ Slip-eze \$\$ Armoslip CP \$\$ Crodamide O \$\$



Hit#4 Entry:16662 Library:NIST08.LIB

SI:76 Formula:C9H15NO CAS:0-00-0 MolWeight:153 RetIndex:1343

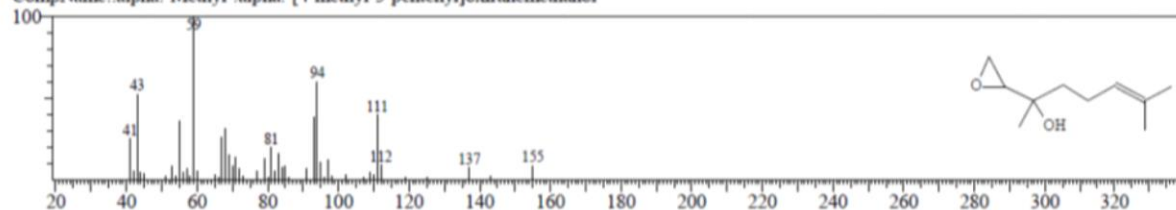
CompName:Non-7-ynamide



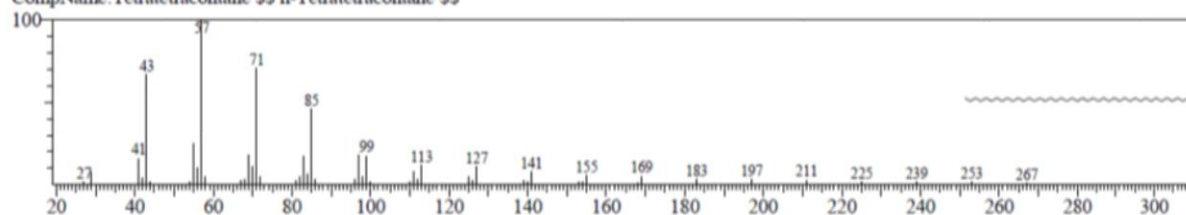
Hit#5 Entry:25491 Library:NIST08.LIB

SI:75 Formula:C10H18O2 CAS:0-00-0 MolWeight:170 RetIndex:1182

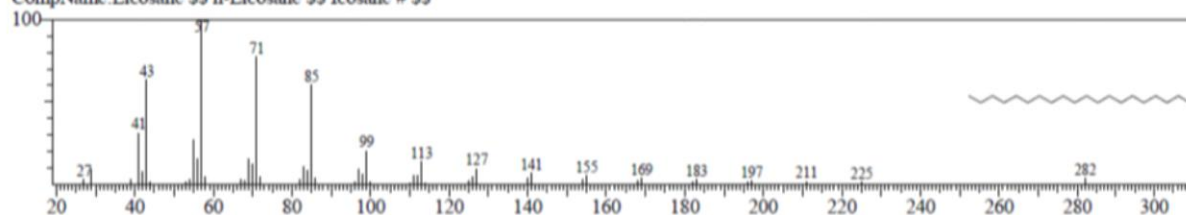
CompName:alpha-Methyl- alpha-[4-methyl-3-pentenyl]oxiranemethanol



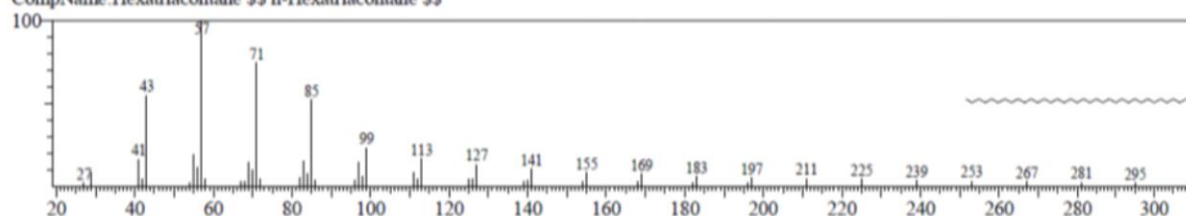
Hit#1 Entry:189407 Library:NIST08.LIB
SI:85 Formula:C44H90 CAS:7098-22-8 MolWeight:618 RetIndex:4395
CompName:Tetratetracontane \$\$ n-Tetratetracontane \$\$



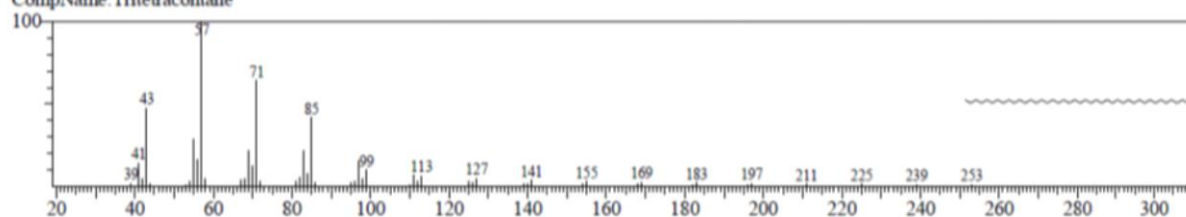
Hit#2 Entry:99287 Library:NIST08.LIB
SI:85 Formula:C20H42 CAS:112-95-8 MolWeight:282 RetIndex:2009
CompName:Eicosane \$\$ n-Eicosane \$\$ Icosane # \$\$



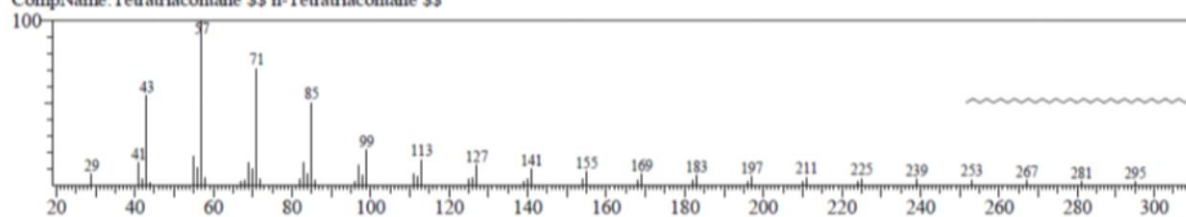
Hit#3 Entry:185135 Library:NIST08.LIB
SI:85 Formula:C36H74 CAS:630-06-8 MolWeight:506 RetIndex:3600
CompName:Hexatriacontane \$\$ n-Hexatriacontane \$\$



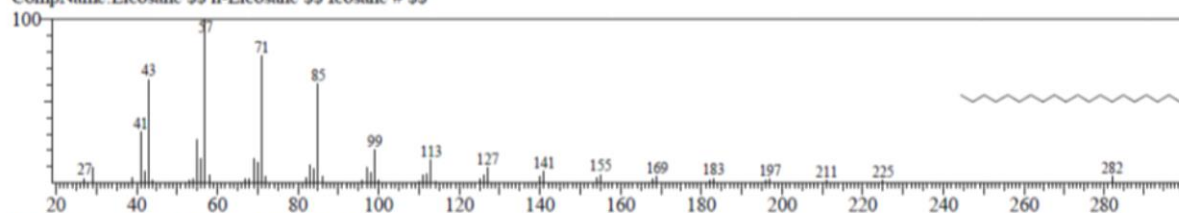
Hit#4 Entry:189112 Library:NIST08.LIB
SI:85 Formula:C43H88 CAS:7098-21-7 MolWeight:604 RetIndex:4295
CompName:Tritetracontane



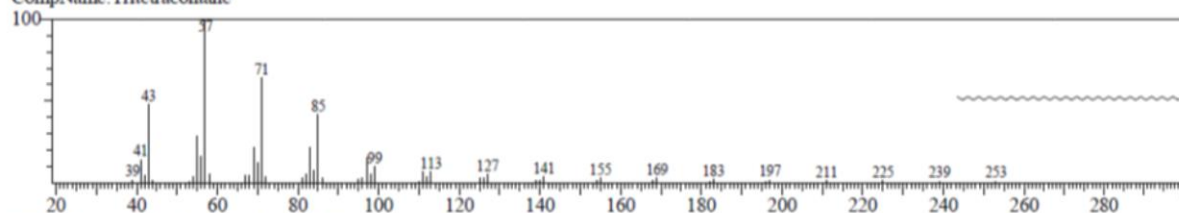
Hit#5 Entry:182633 Library:NIST08.LIB
SI:85 Formula:C34H70 CAS:14167-59-0 MolWeight:478 RetIndex:3401
CompName:Tetratriacontane \$\$ n-Tetratriacontane \$\$



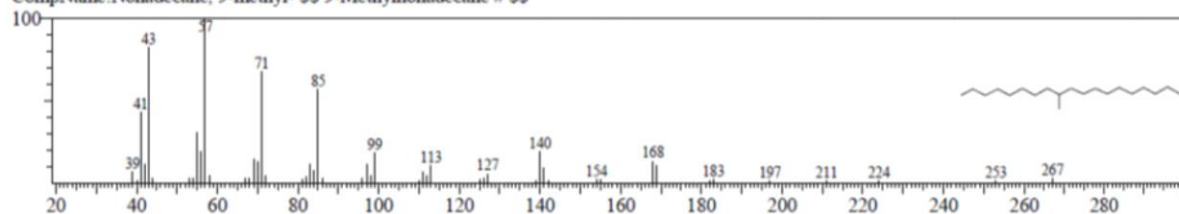
Hit#:1 Entry:9928 / Library:NIST08.LIB
SI:85 Formula:C20H42 CAS:112-95-8 MolWeight:282 RetIndex:2009
CompName:Eicosane \$\$ n-Eicosane \$\$ Icosane # \$\$



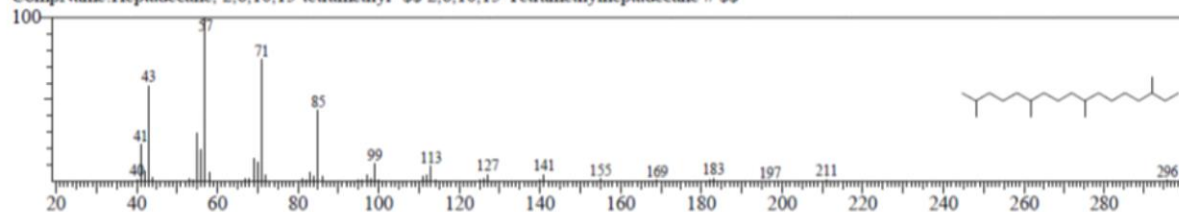
Hit#:2 Entry:189112 Library:NIST08.LIB
SI:85 Formula:C43H88 CAS:7098-21-7 MolWeight:604 RetIndex:4295
CompName:Tritetracontane



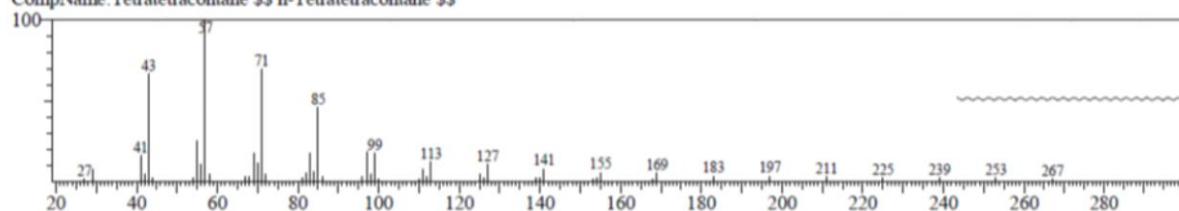
Hit#:3 Entry:99286 Library:NIST08.LIB
SI:84 Formula:C20H42 CAS:13287-24-6 MolWeight:282 RetIndex:1945
CompName:Nonadecane, 9-methyl- \$\$ 9-Methylnonadecane # \$\$



Hit#:4 Entry:109377 Library:NIST08.LIB
SI:84 Formula:C21H44 CAS:54833-48-6 MolWeight:296 RetIndex:1852
CompName:Heptadecane, 2,6,10,15-tetramethyl- \$\$ 2,6,10,15-Tetramethylheptadecane # \$\$



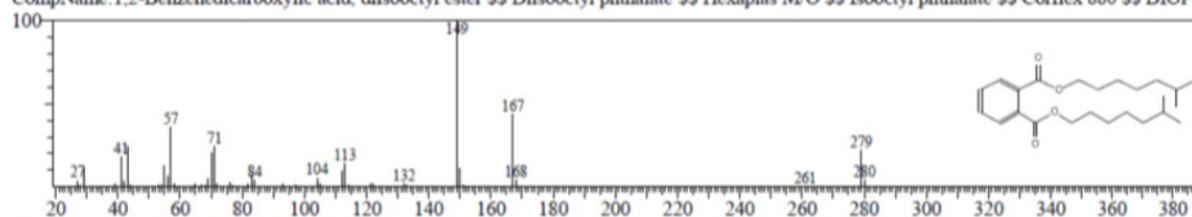
Hit#:5 Entry:189407 Library:NIST08.LIB
SI:84 Formula:C44H90 CAS:7098-22-8 MolWeight:618 RetIndex:4395
CompName:Tetratetracontane \$\$ n-Tetratetracontane \$\$



Hit#1 Entry:109412 Library:NIST08.LIB

SI:90 Formula:C₂₄H₃₈O₄ CAS:27554-26-3 MolWeight:390 RetIndex:2704

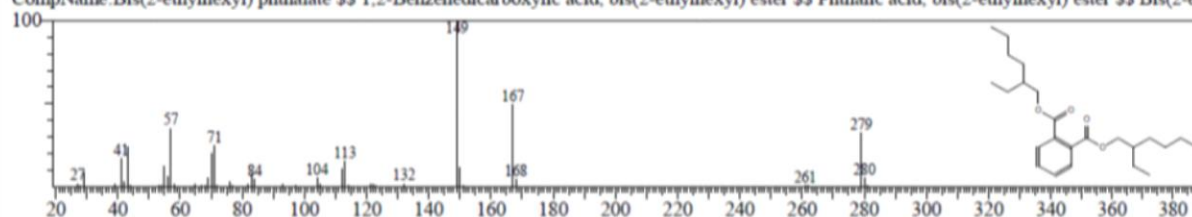
CompName:1,2-Benzenedicarboxylic acid, diisooctyl ester \$\$ Diisooctyl phthalate \$\$ Hexaplas M/O \$\$ Isooctyl phthalate \$\$ Corflex 880 \$\$ DIOP \$



Hit#2 Entry:164411 Library:NIST08.LIB

SI:89 Formula:C₂₄H₃₈O₄ CAS:117-81-7 MolWeight:390 RetIndex:2704

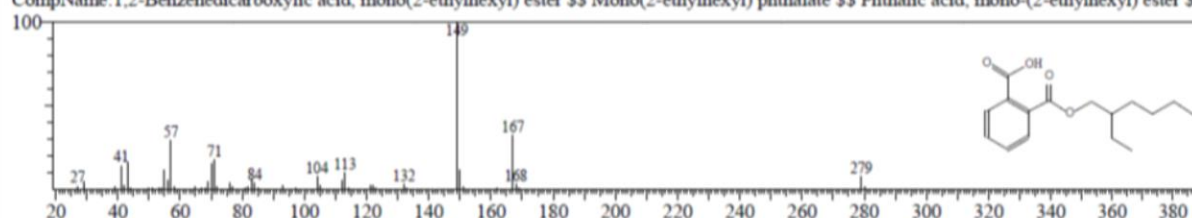
CompName:Bis(2-ethylhexyl) phthalate \$\$ 1,2-Benzenedicarboxylic acid, bis(2-ethylhexyl) ester \$\$ Phthalic acid, bis(2-ethylhexyl) ester \$\$ Bis(2-ethylhexyl) phthalate



Hit#3 Entry:96163 Library:NIST08.LIB

SI:88 Formula:C₁₆H₂₂O₄ CAS:4376-20-9 MolWeight:278 RetIndex:2162

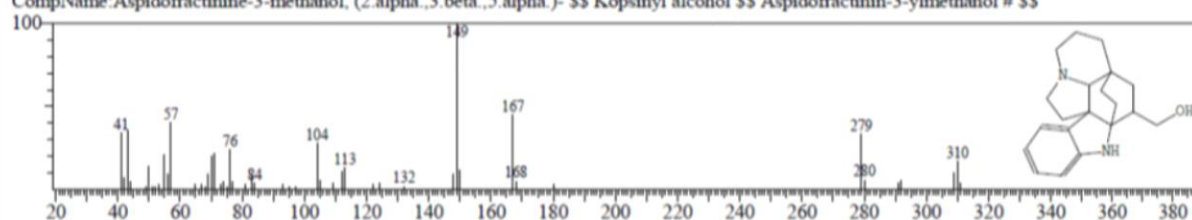
CompName:1,2-Benzenedicarboxylic acid, mono(2-ethylhexyl) ester \$\$ Mono(2-ethylhexyl) phthalate \$\$ Phthalic acid, mono(2-ethylhexyl) ester \$\$



Hit#4 Entry:119220 Library:NIST08.LIB

SI:82 Formula:C₂₀H₂₆N₂O CAS:2656-44-2 MolWeight:310 RetIndex:2510

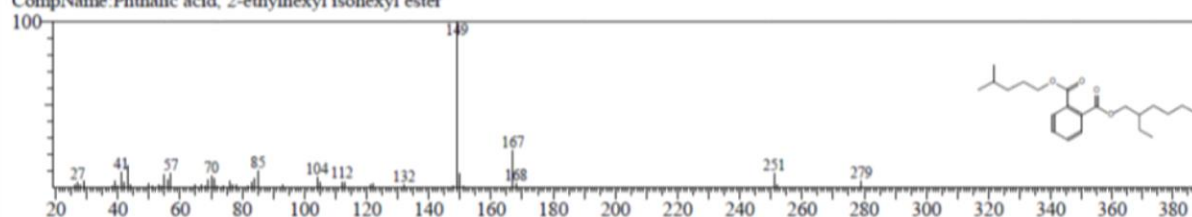
CompName:Aspidofractinine-3-methanol, (2.alpha.,3.beta.,5.alpha.)- \$\$ Kopsinyl alcohol \$\$ Aspidofractinin-3-ylmethanol # \$\$



Hit#5 Entry:151633 Library:NIST08.LIB

SI:79 Formula:C₂₂H₃₄O₄ CAS:0-00-0 MolWeight:362 RetIndex:2505

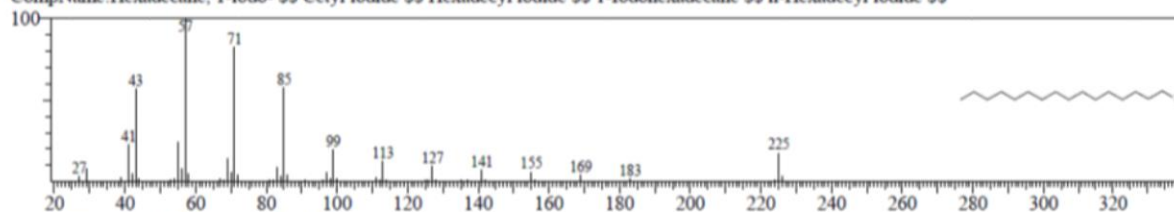
CompName:Phthalic acid, 2-ethylhexyl isohexyl ester



Hit#1 Entry:145826 Library:NIST08.LIB

SI:77 Formula:C16H33I CAS:544-77-4 MolWeight:352 RetIndex:2026

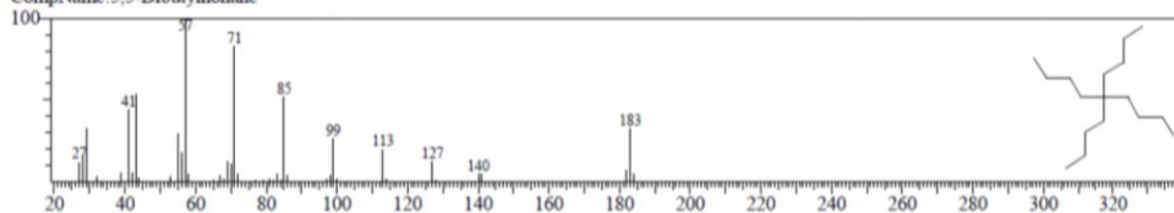
CompName:Hexadecane, 1-iodo- \$\$ Cetyl iodide \$\$ Hexadecyl iodide \$\$ 1-Iodohexadecane \$\$ n-Hexadecyl iodide \$\$



Hit#2 Entry:69676 Library:NIST08.LIB

SI:76 Formula:C17H36 CAS:6008-17-9 MolWeight:240 RetIndex:1627

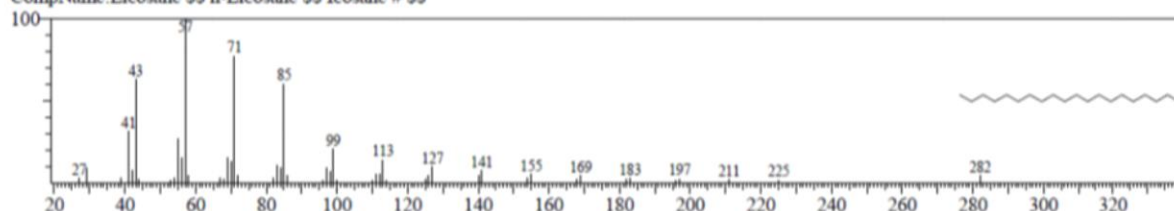
CompName:5,5-Dibutylnonane



Hit#3 Entry:99287 Library:NIST08.LIB

SI:76 Formula:C20H42 CAS:112-95-8 MolWeight:282 RetIndex:2009

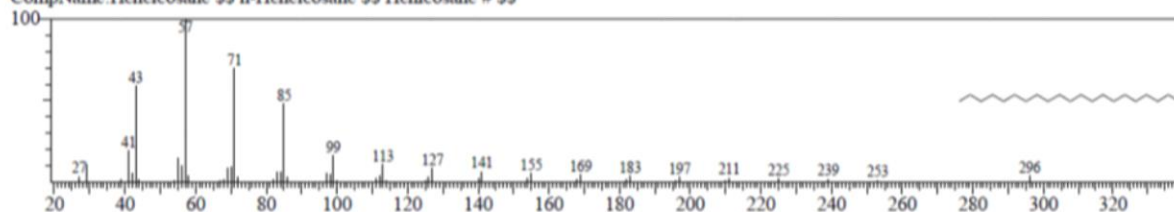
CompName:Eicosane \$\$ n-Eicosane \$\$ Icosane # \$\$



Hit#4 Entry:109379 Library:NIST08.LIB

SI:76 Formula:C21H44 CAS:629-94-7 MolWeight:296 RetIndex:2109

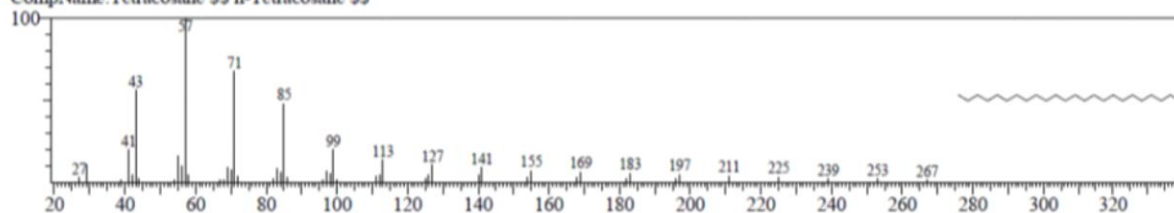
CompName:Heneicosane \$\$ n-Heneicosane \$\$ Henicosane # \$\$



Hit#5 Entry:138015 Library:NIST08.LIB

SI:76 Formula:C24H50 CAS:646-31-1 MolWeight:338 RetIndex:2407

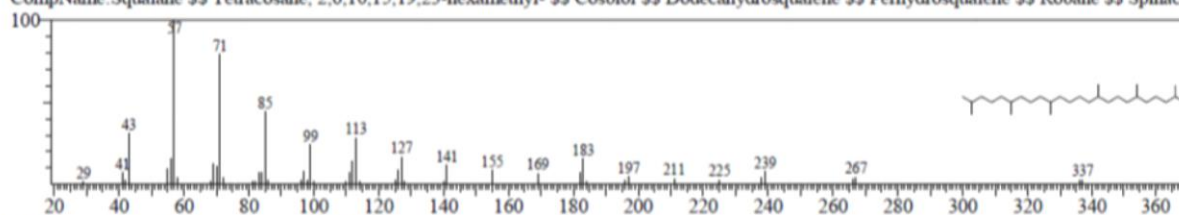
CompName:Tetracosane \$\$ n-Tetracosane \$\$



Hit#1 Entry:115011 Library:NIST08.LIB

SI:79 Formula:C₃₀H₆₂ CAS:111-01-3 MolWeight:422 RetIndex:2619

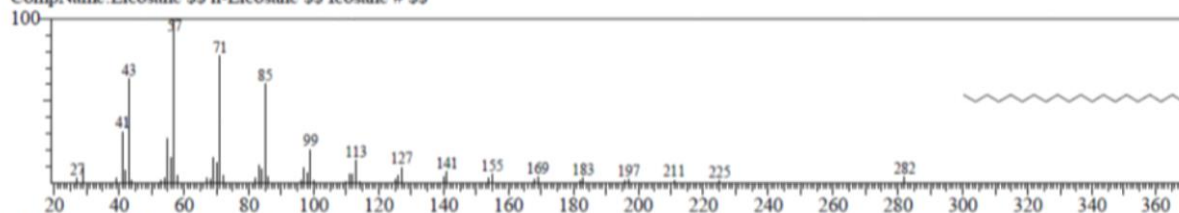
CompName:Squalane \$\$ Tetracosane, 2,6,10,15,19,23-hexamethyl- \$\$ Cosbiol \$\$ Dodecahydrosqualene \$\$ Perhydrosqualene \$\$ Robane \$\$ Spinaca



Hit#2 Entry:99287 Library:NIST08.LIB

SI:78 Formula:C₂₀H₄₂ CAS:112-95-8 MolWeight:282 RetIndex:2009

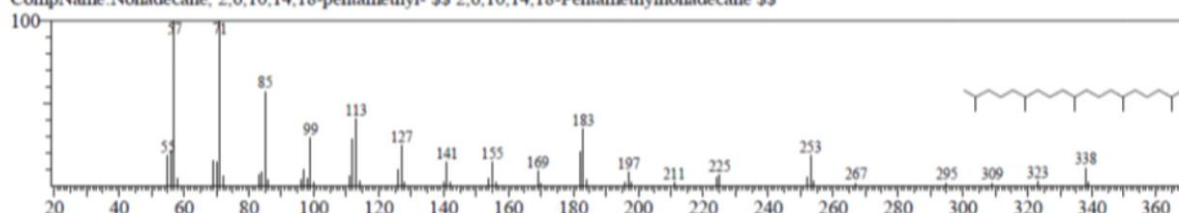
CompName:Eicosane \$\$ n-Eicosane \$\$ Icosane # \$\$



Hit#3 Entry:138016 Library:NIST08.LIB

SI:77 Formula:C₂₄H₅₀ CAS:55191-61-2 MolWeight:338 RetIndex:2086

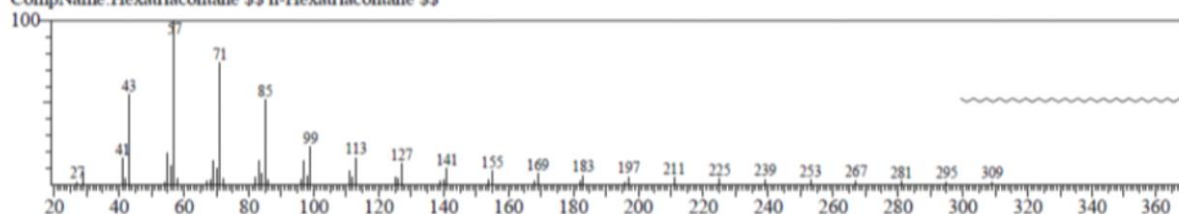
CompName:Nonadecane, 2,6,10,14,18-pentamethyl- \$\$ 2,6,10,14,18-Pentamethylnonadecane \$\$



Hit#4 Entry:185135 Library:NIST08.LIB

SI:77 Formula:C₃₆H₇₄ CAS:630-06-8 MolWeight:506 RetIndex:3600

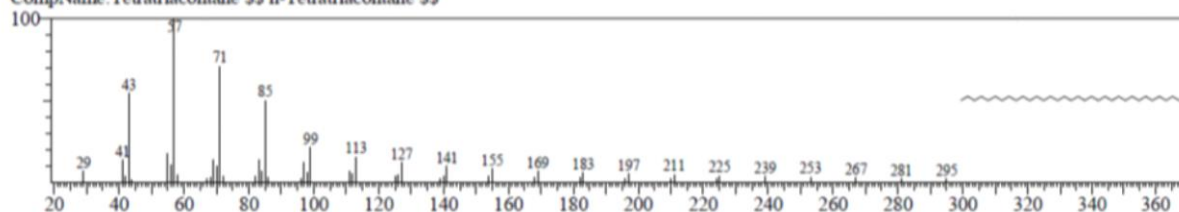
CompName:Hexatriacontane \$\$ n-Hexatriacontane \$\$



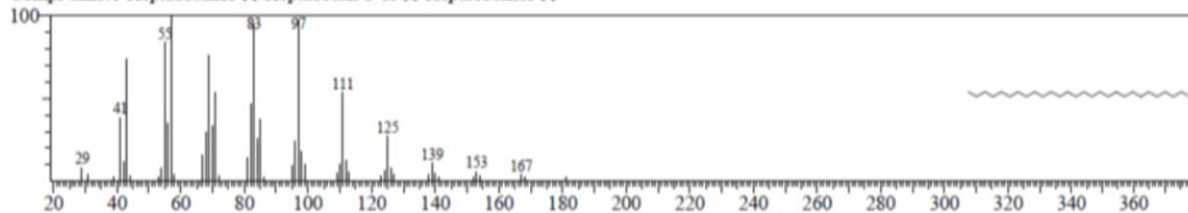
Hit#5 Entry:182633 Library:NIST08.LIB

SI:77 Formula:C₃₄H₇₀ CAS:14167-59-0 MolWeight:478 RetIndex:3401

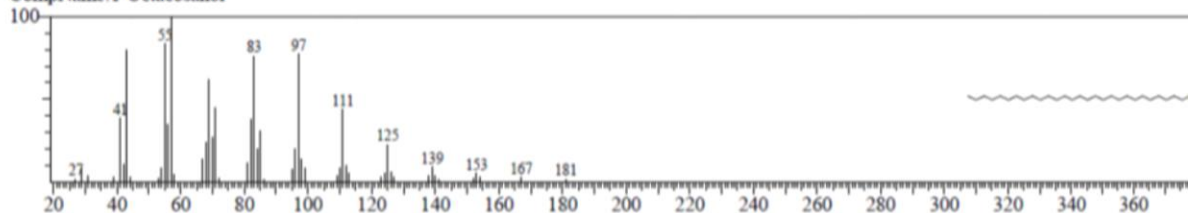
CompName:Tetratriacontane \$\$ n-Tetratriacontane \$\$



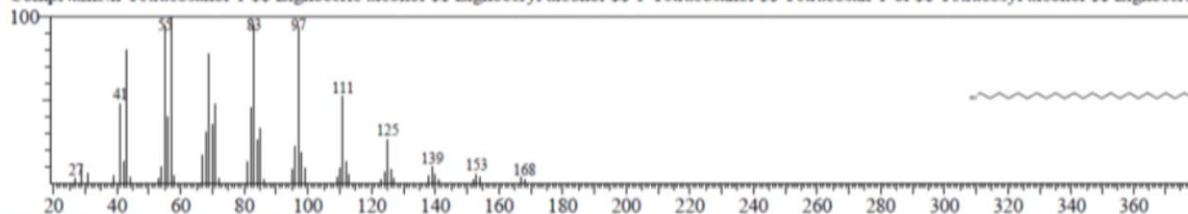
Hit#:1 Entry:166592 Library:NIST08.LIB
SI:95 Formula:C₂₇H₅₆O CAS:2004-39-9 MolWeight:396 RetIndex:2948
CompName:1-Heptacosanol \$\$ Heptacosan-1-ol \$\$ Heptacosanol \$\$



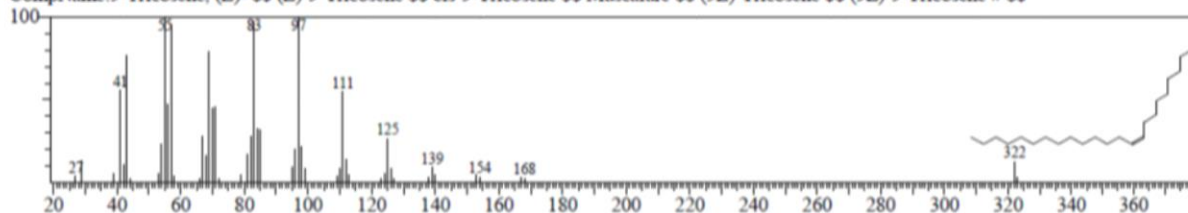
Hit#:2 Entry:170725 Library:NIST08.LIB
SI:94 Formula:C₂₈H₅₈O CAS:0-00-0 MolWeight:410 RetIndex:3047
CompName:1-Octacosanol



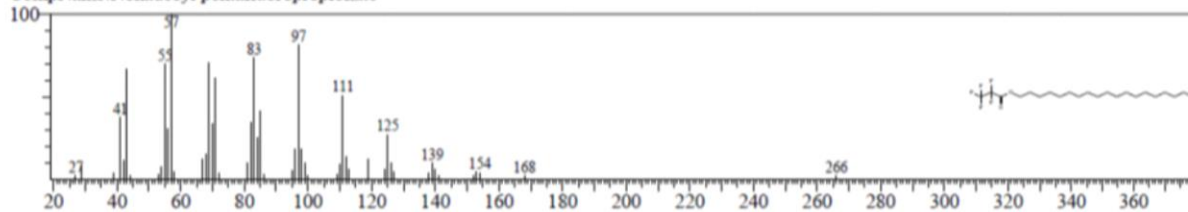
Hit#:3 Entry:147498 Library:NIST08.LIB
SI:94 Formula:C₂₄H₅₀O CAS:506-51-4 MolWeight:354 RetIndex:2650
CompName:n-Tetracosanol-1 \$\$ Lignoceric alcohol \$\$ Lignoceryl alcohol \$\$ 1-Tetracosanol \$\$ Tetracosan-1-ol \$\$ Tetracosyl alcohol \$\$ Lignoceryl



Hit#:4 Entry:127533 Library:NIST08.LIB
SI:94 Formula:C₂₃H₄₆ CAS:27519-02-4 MolWeight:322 RetIndex:2315
CompName:9-Tricosene, (Z)- \$\$ (Z)-9-Tricosene \$\$ cis-9-Tricosene \$\$ Muscalure \$\$ (9Z)-Tricosene \$\$ (9Z)-Tricosene # \$\$



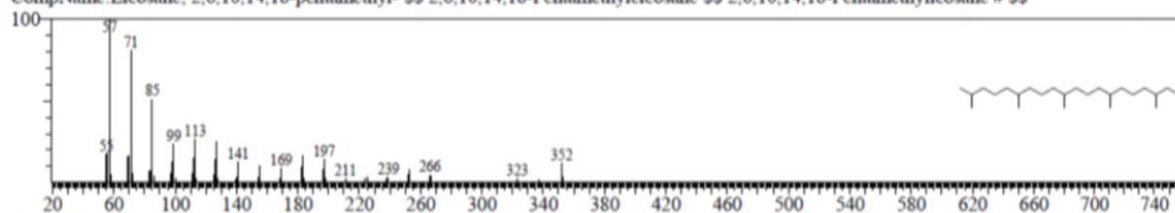
Hit#:5 Entry:175358 Library:NIST08.LIB
SI:94 Formula:C₂₂H₃₉F₅O₂ CAS:0-00-0 MolWeight:430 RetIndex:2071
CompName:Nonadecyl pentafluoropropionate



Hit#1 Entry:146312 Library:NIST08.LIB

SI:71 Formula:C₂₅H₅₂ CAS:51794-16-2 MolWeight:352 RetIndex:2186

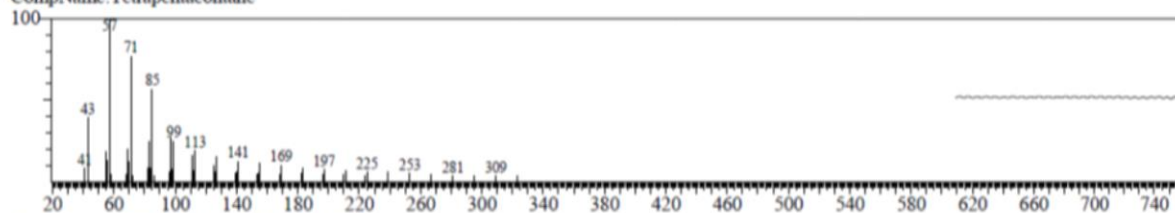
CompName:Eicosane, 2,6,10,14,18-pentamethyl- \$\$\$ 2,6,10,14,18-Pentamethyleicosane \$\$\$ 2,6,10,14,18-Pentamethylcosane # \$\$\$



Hit#2 Entry:190926 Library:NIST08.LIB

SI:69 Formula:C₅₄H₁₁₀ CAS:5856-66-6 MolWeight:758 RetIndex:5389

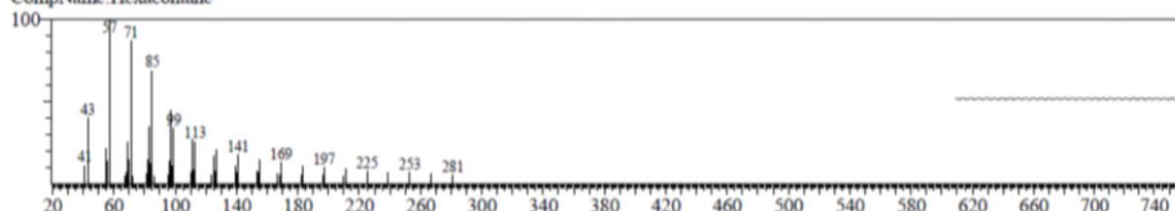
CompName:Tetrapentacontane



Hit#3 Entry:191212 Library:NIST08.LIB

SI:69 Formula:C₆₀H₁₂₂ CAS:7667-80-3 MolWeight:842 RetIndex:5985

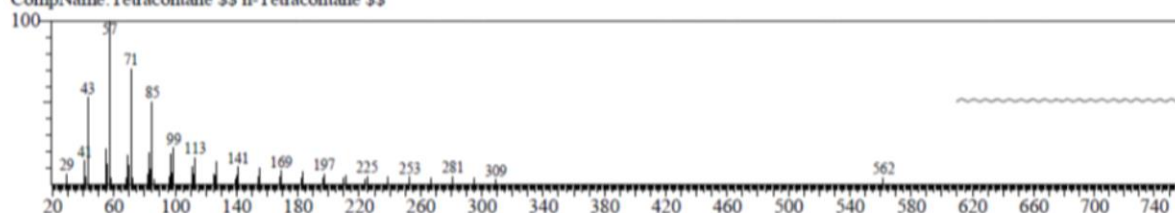
CompName:Hexacontane



Hit#4 Entry:187923 Library:NIST08.LIB

SI:68 Formula:C₄₀H₈₂ CAS:4181-95-7 MolWeight:562 RetIndex:3997

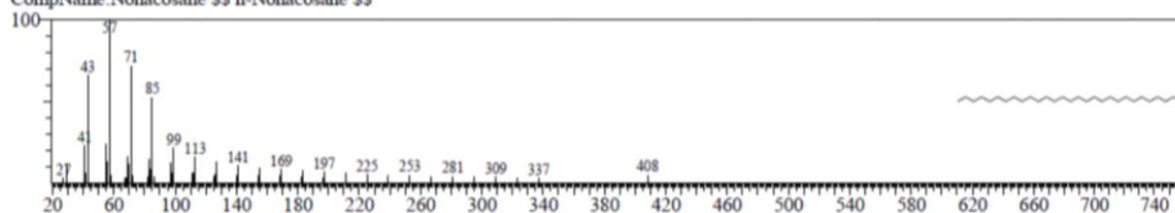
CompName:Tetracontane \$\$\$ n-Tetracontane \$\$\$



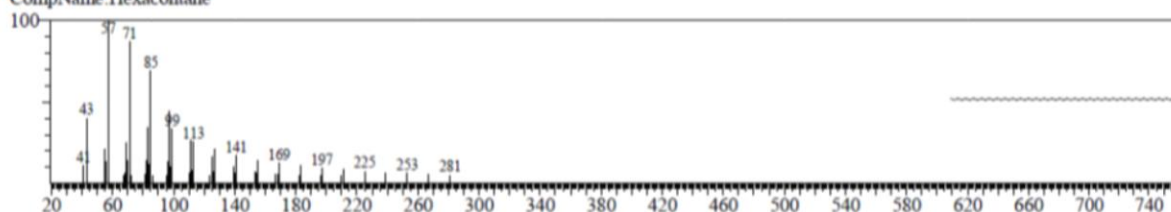
Hit#5 Entry:170194 Library:NIST08.LIB

SI:68 Formula:C₂₉H₆₀ CAS:630-03-5 MolWeight:408 RetIndex:2904

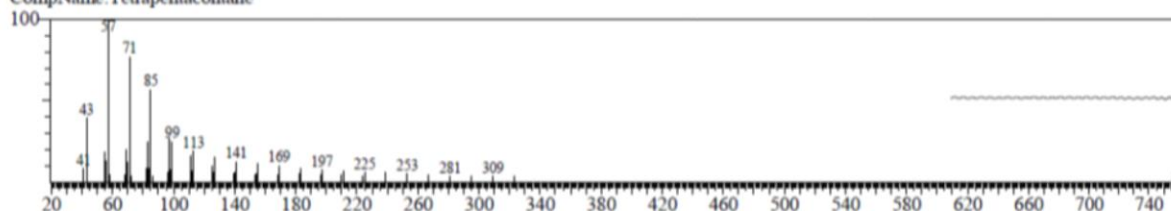
CompName:Nonacosane \$\$\$ n-Nonacosane \$\$\$



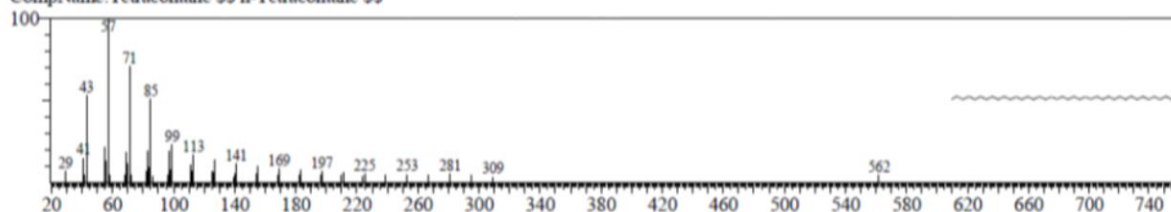
Hit#1 Entry:191212 Library:NIST08.LIB
SI:84 Formula:C60H122 CAS:7667-80-3 MolWeight:842 RetIndex:5985
CompName:Hexacontane



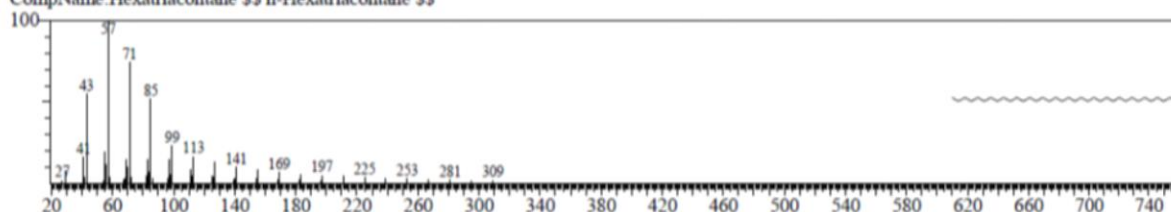
Hit#2 Entry:190926 Library:NIST08.LIB
SI:84 Formula:C54H110 CAS:5856-66-6 MolWeight:758 RetIndex:5389
CompName:Tetrapentacontane



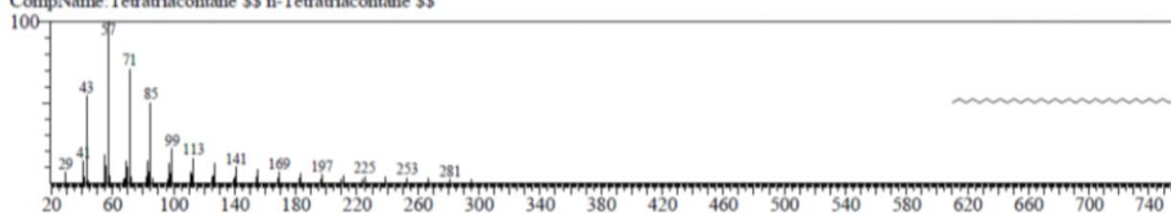
Hit#3 Entry:187923 Library:NIST08.LIB
SI:82 Formula:C40H82 CAS:4181-95-7 MolWeight:562 RetIndex:3997
CompName:Tetracontane \$\$ n-Tetracontane \$\$



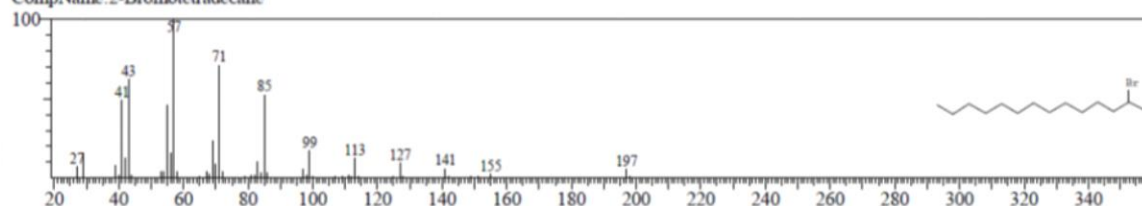
Hit#4 Entry:185135 Library:NIST08.LIB
SI:82 Formula:C36H74 CAS:630-06-8 MolWeight:506 RetIndex:3600
CompName:Hexatriacontane \$\$ n-Hexatriacontane \$\$



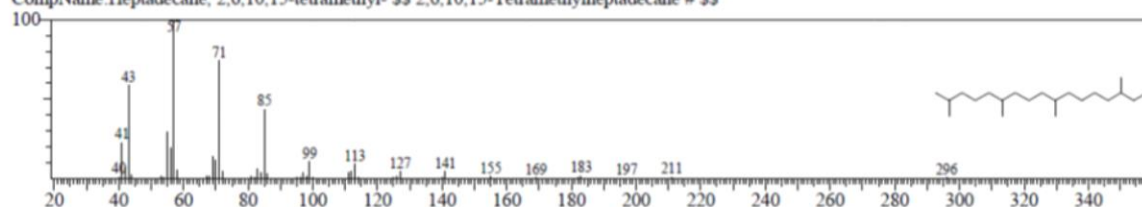
Hit#5 Entry:182633 Library:NIST08.LIB
SI:82 Formula:C34H70 CAS:14167-59-0 MolWeight:478 RetIndex:3401
CompName:Tetratriacontane \$\$ n-Tetratriacontane \$\$



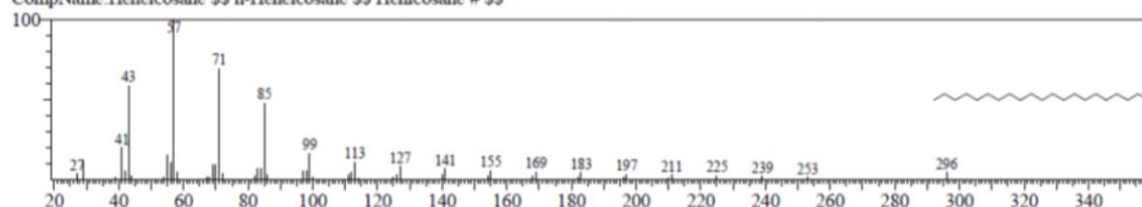
Hit#1 Entry:94739 Library:NIST08.LIB
SI:83 Formula:C₁₄H₂₉Br CAS:74036-95-6 MolWeight:276 RetIndex:1645
CompName:2-Bromotetradecane



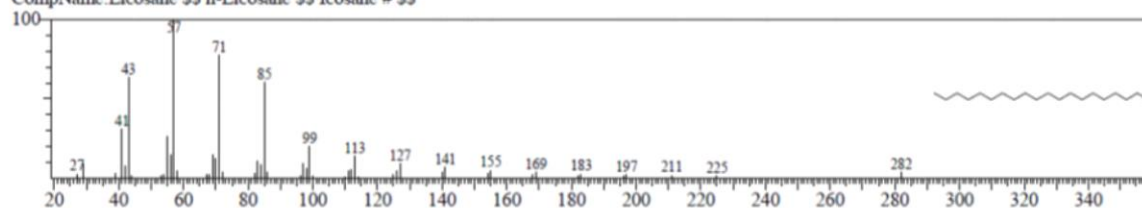
Hit#2 Entry:109377 Library:NIST08.LIB
SI:83 Formula:C₂₁H₄₄ CAS:54833-48-6 MolWeight:296 RetIndex:1852
CompName:Heptadecane, 2,6,10,15-tetramethyl- \$\$ 2,6,10,15-Tetramethylheptadecane # \$\$



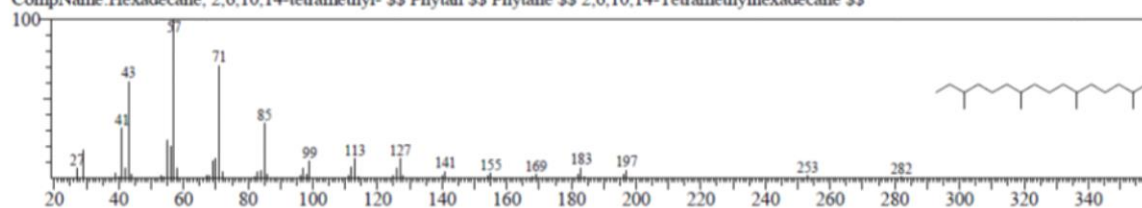
Hit#3 Entry:109379 Library:NIST08.LIB
SI:83 Formula:C₂₁H₄₄ CAS:629-94-7 MolWeight:296 RetIndex:2109
CompName:Heneicosane \$\$ n-Heneicosane \$\$ Henicosane # \$\$



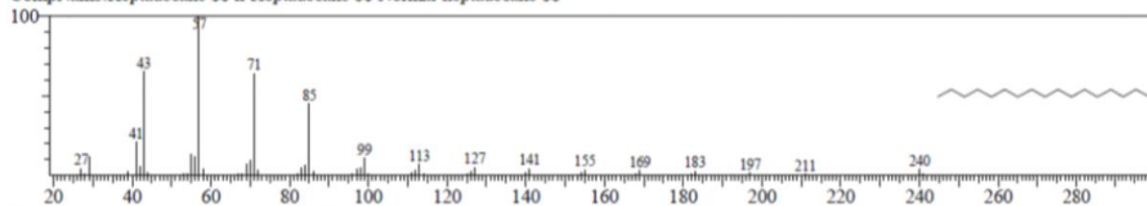
Hit#4 Entry:99287 Library:NIST08.LIB
SI:83 Formula:C₂₀H₄₂ CAS:112-95-8 MolWeight:282 RetIndex:2009
CompName:Eicosane \$\$ n-Eicosane \$\$ Icosane # \$\$



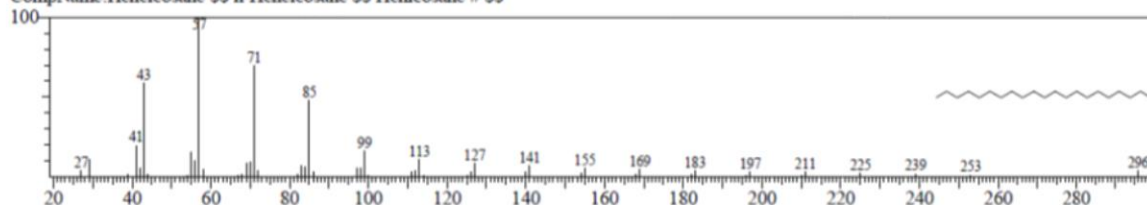
Hit#5 Entry:99289 Library:NIST08.LIB
SI:82 Formula:C₂₀H₄₂ CAS:638-36-8 MolWeight:282 RetIndex:1753
CompName:Hexadecane, 2,6,10,14-tetramethyl- \$\$ Phytan \$\$ Phytane \$\$ 2,6,10,14-Tetramethylhexadecane \$\$



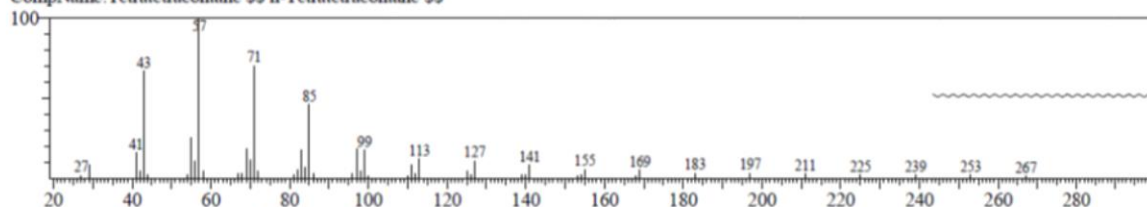
Hit#1 Entry:69673 Library:NIST08.LIB
SI:92 Formula:C17H36 CAS:629-78-7 MolWeight:240 RetIndex:1711
CompName:Heptadecane \$\$ n-Heptadecane \$\$ Normal-heptadecane \$\$



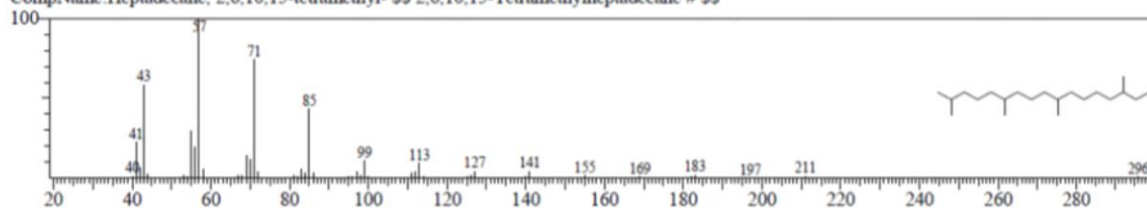
Hit#2 Entry:109379 Library:NIST08.LIB
SI:92 Formula:C21H44 CAS:629-94-7 MolWeight:296 RetIndex:2109
CompName:Heneicosane \$\$ n-Heneicosane \$\$ Henicosane # \$\$



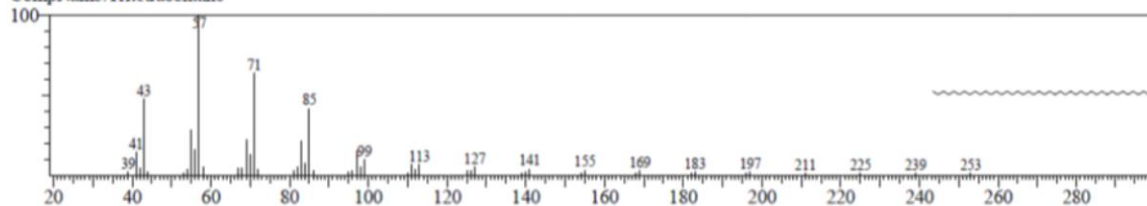
Hit#3 Entry:189407 Library:NIST08.LIB
SI:92 Formula:C44H90 CAS:7098-22-8 MolWeight:618 RetIndex:4395
CompName:Tetratetracontane \$\$ n-Tetratetracontane \$\$



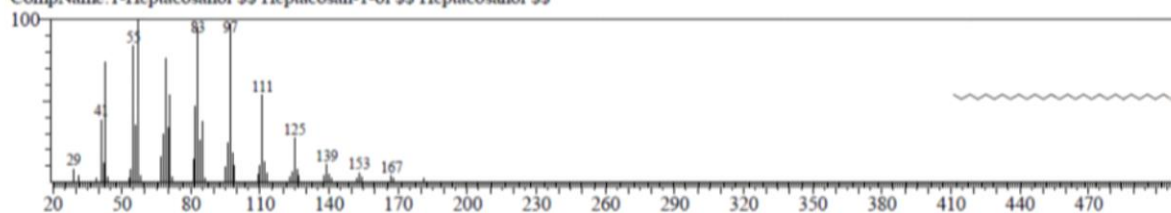
Hit#4 Entry:109377 Library:NIST08.LIB
SI:92 Formula:C21H44 CAS:54833-48-6 MolWeight:296 RetIndex:1852
CompName:Heptadecane, 2,6,10,15-tetramethyl- \$\$ 2,6,10,15-Tetramethylheptadecane # \$\$



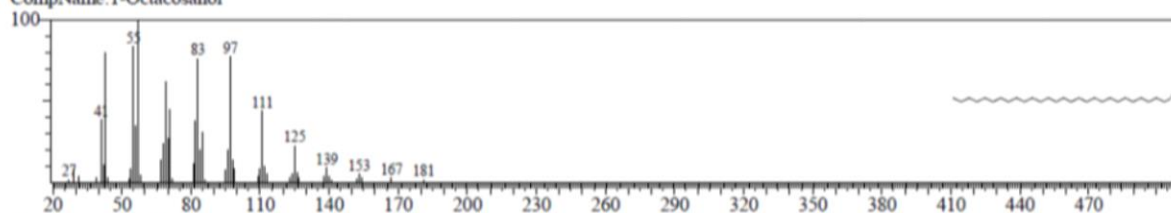
Hit#5 Entry:189112 Library:NIST08.LIB
SI:92 Formula:C43H88 CAS:7098-21-7 MolWeight:604 RetIndex:4295
CompName:Tritetracontane



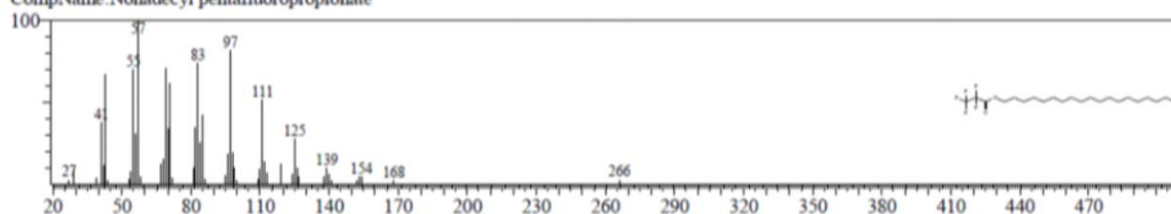
Hit#:1 Entry:166292 Library:NIST08.LIB
SI-95 Formula:C₂₇H₅₆O CAS:2004-39-9 MolWeight:396 RetIndex:2948
CompName:1-Heptacosanol



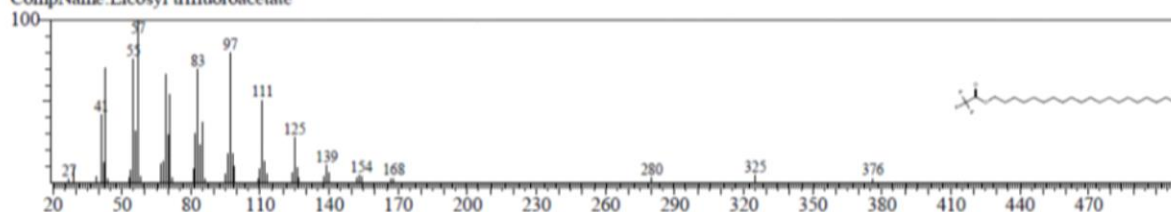
Hit#:2 Entry:170725 Library:NIST08.LIB
SI-94 Formula:C₂₈H₅₈O CAS:0-00-0 MolWeight:410 RetIndex:3047
CompName:1-Octacosanol



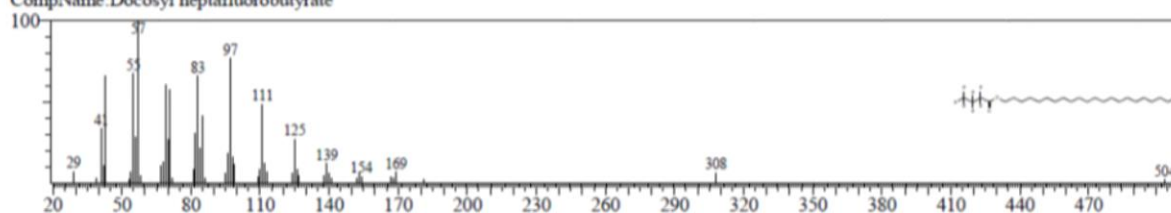
Hit#:3 Entry:175358 Library:NIST08.LIB
SI-94 Formula:C₂₂H₃₉F₅O₂ CAS:0-00-0 MolWeight:430 RetIndex:2071
CompName:Nonadecyl pentafluoropropionate



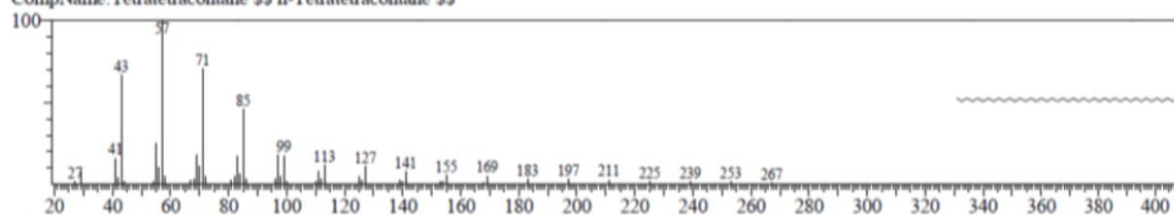
Hit#:4 Entry:165692 Library:NIST08.LIB
SI-94 Formula:C₂₂H₄₁F₃O₂ CAS:0-00-0 MolWeight:394 RetIndex:2210
CompName:Eicosyl trifluoroacetate



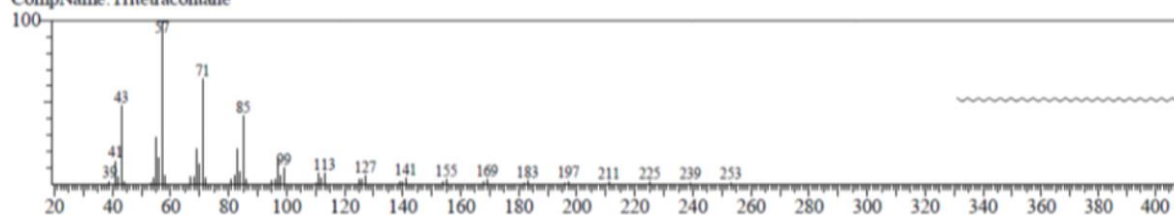
Hit#:5 Entry:186092 Library:NIST08.LIB
SI-94 Formula:C₂₆H₄₅F₇O₂ CAS:0-00-0 MolWeight:522 RetIndex:2330
CompName:Docosyl heptafluorobutyrate



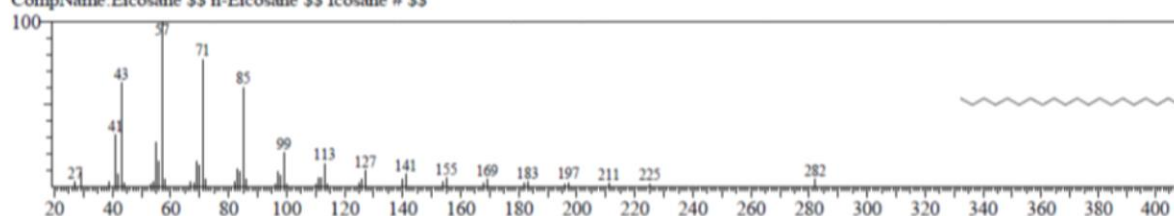
Hit#1 Entry:189407 Library:NIST08.LIB
SI:94 Formula:C44H90 CAS:7098-22-8 MolWeight:618 RetIndex:4395
CompName:Tetratetracontane \$\$ n-Tetratetracontane \$\$



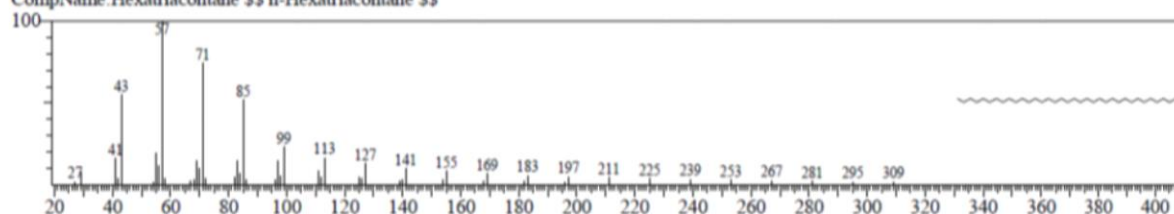
Hit#2 Entry:189112 Library:NIST08.LIB
SI:94 Formula:C43H88 CAS:7098-21-7 MolWeight:604 RetIndex:4295
CompName:Tritetracontane



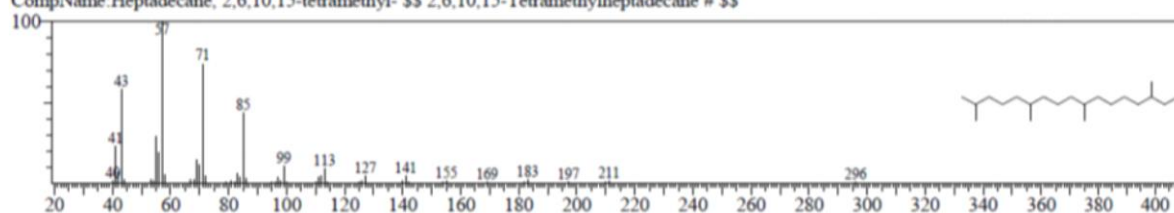
Hit#3 Entry:99287 Library:NIST08.LIB
SI:93 Formula:C20H42 CAS:112-95-8 MolWeight:282 RetIndex:2009
CompName:Eicosane \$\$ n-Eicosane \$\$ Icosane # \$\$



Hit#4 Entry:185135 Library:NIST08.LIB
SI:93 Formula:C36H74 CAS:630-06-8 MolWeight:506 RetIndex:3600
CompName:Hexatriacontane \$\$ n-Hexatriacontane \$\$



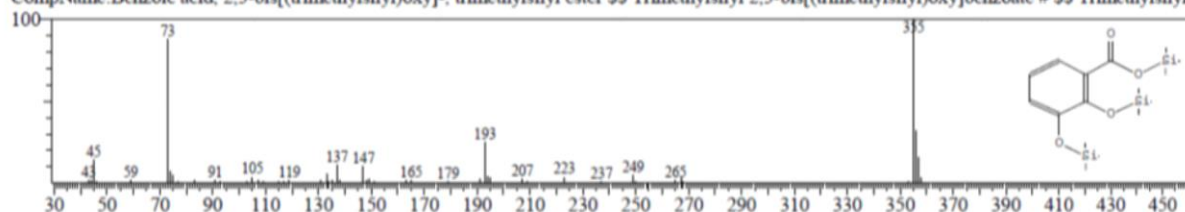
Hit#5 Entry:109377 Library:NIST08.LIB
SI:93 Formula:C21H44 CAS:54833-48-6 MolWeight:296 RetIndex:1852
CompName:Heptadecane, 2,6,10,15-tetramethyl- \$\$ 2,6,10,15-Tetramethylheptadecane # \$\$



Hit#1 Entry:155317 Library:NIST08.LIB

SI:55 Formula:C₁₆H₃₀O₄Si₃ CAS:3618-19-7 MolWeight:370 RetIndex:1765

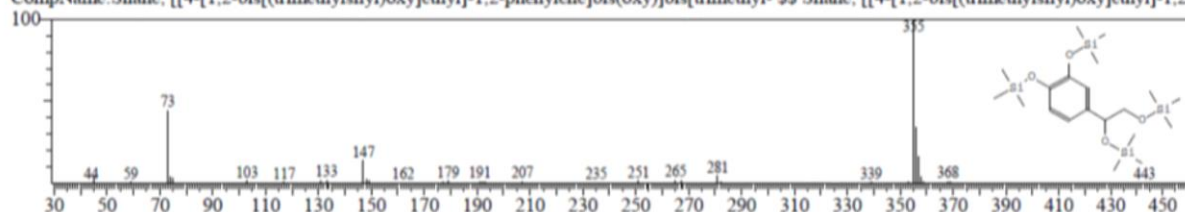
CompName:Benzoic acid, 2,3-bis[(trimethylsilyl)oxy]-, trimethylsilyl ester \$\$ Trimethylsilyl 2,3-bis[(trimethylsilyl)oxy]benzoate #



Hit#2 Entry:180121 Library:NIST08.LIB

SI:55 Formula:C₂₀H₄₂O₄Si₄ CAS:56114-62-6 MolWeight:458 RetIndex:1993

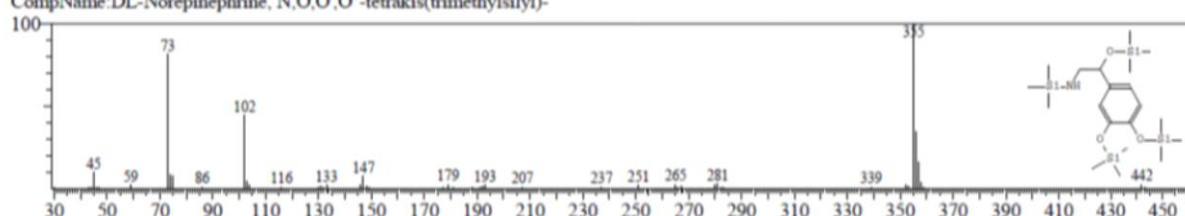
CompName:Silane, [[4-[1,2-bis[(trimethylsilyl)oxy]ethyl]-1,2-phenylene]bis(oxy)]bis(trimethyl-



Hit#3 Entry:180001 Library:NIST08.LIB

SI:53 Formula:C₂₀H₄₃NO₃Si₄ CAS:0-0-0 MolWeight:457 RetIndex:2116

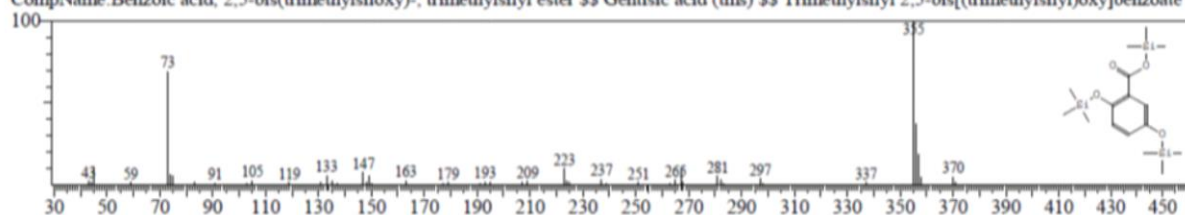
CompName:DL-Norepinephrine, N,O,O',O'-tetrakis(trimethylsilyl)-



Hit#4 Entry:155318 Library:NIST08.LIB

SI:50 Formula:C₁₆H₃₀O₄Si₃ CAS:3618-20-0 MolWeight:370 RetIndex:1765

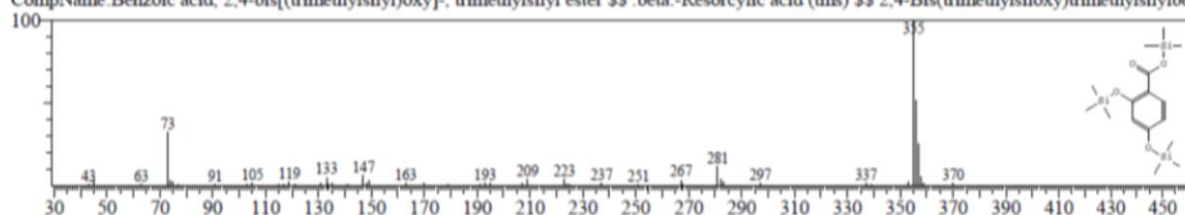
CompName:Benzoic acid, 2,5-bis(trimethylsiloxy)-, trimethylsilyl ester \$\$ Gentisic acid (tms) \$\$ Trimethylsilyl 2,5-bis[(trimethylsilyl)oxy]benzoate #



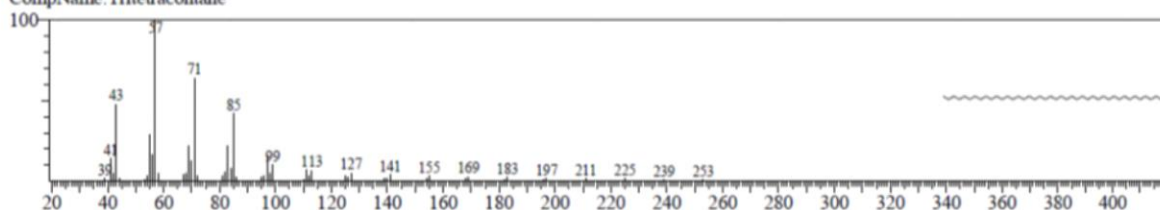
Hit#5 Entry:155319 Library:NIST08.LIB

SI:50 Formula:C₁₆H₃₀O₄Si₃ CAS:10586-16-0 MolWeight:370 RetIndex:1765

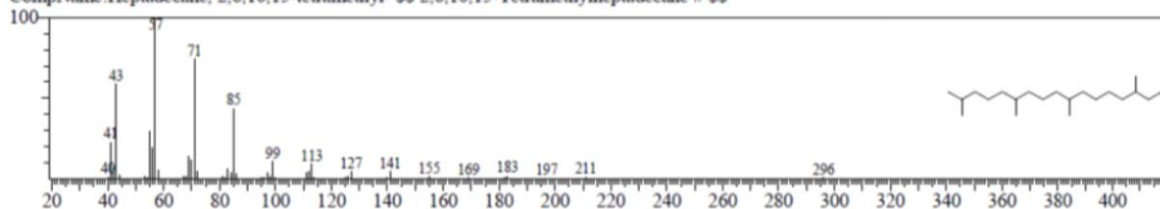
CompName:Benzoic acid, 2,4-bis[(trimethylsilyl)oxy]-, trimethylsilyl ester \$\$ beta.-Resorcylic acid (tms) \$\$ 2,4-Bis(trimethylsiloxy)trimethylsilylbe



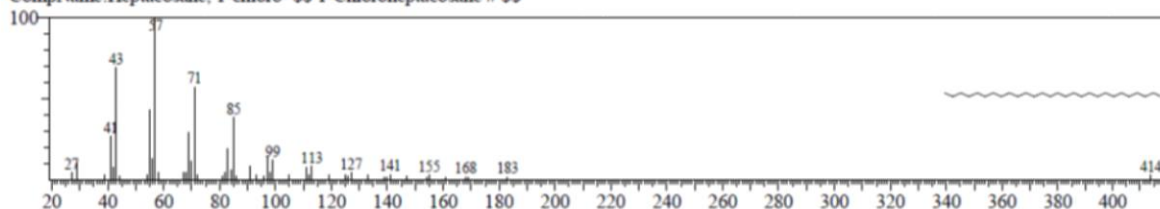
Hit#:1 Entry:189112 Library:NIST08.LIB
 SI:85 Formula:C43H88 CAS:7098-21-7 MolWeight:604 RetIndex:4295
 CompName:Tritetracontane



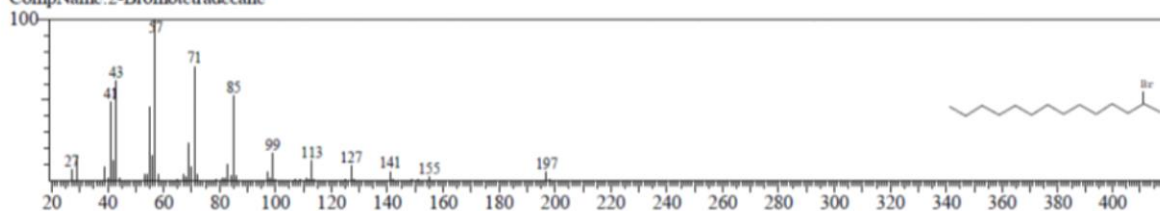
Hit#:2 Entry:109377 Library:NIST08.LIB
 SI:85 Formula:C21H44 CAS:54833-48-6 MolWeight:296 RetIndex:1852
 CompName:Heptadecane, 2,6,10,15-tetramethyl- \$\$ 2,6,10,15-Tetramethylheptadecane # \$\$



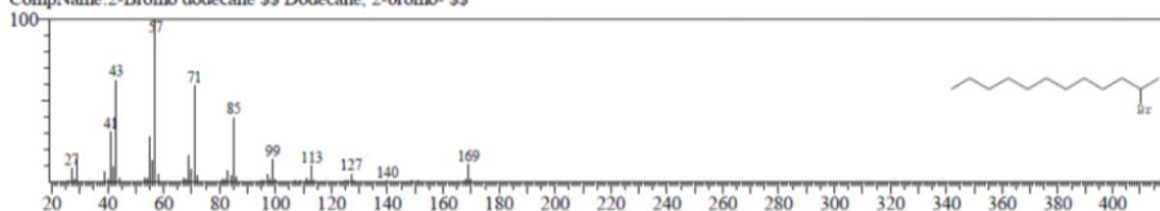
Hit#:3 Entry:171834 Library:NIST08.LIB
 SI:84 Formula:C27H55Cl CAS:62016-79-9 MolWeight:414 RetIndex:2930
 CompName:Heptacosane, 1-chloro- \$\$ 1-Chloroheptacosane # \$\$



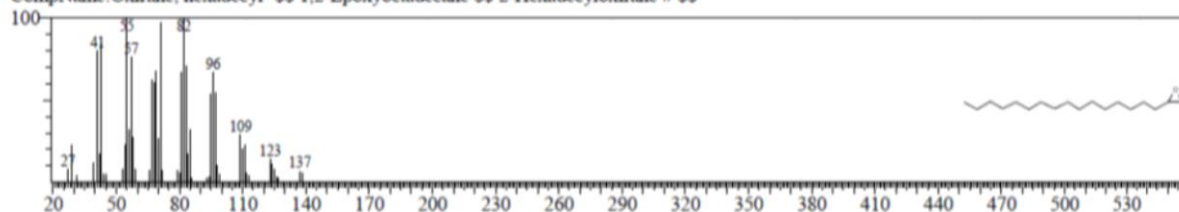
Hit#:4 Entry:94739 Library:NIST08.LIB
 SI:84 Formula:C14H29Br CAS:74036-95-6 MolWeight:276 RetIndex:1645
 CompName:2-Bromotetradecane



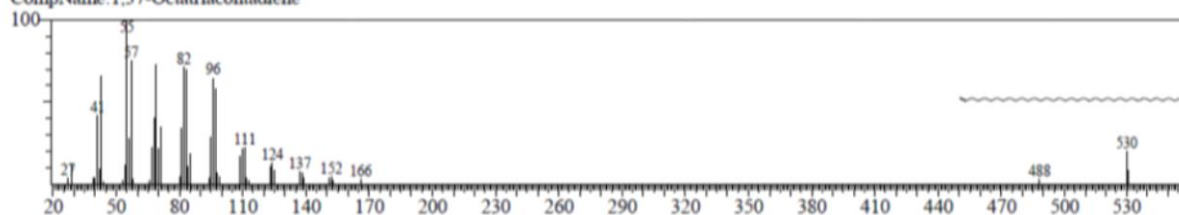
Hit#:5 Entry:74656 Library:NIST08.LIB
 SI:84 Formula:C12H25Br CAS:13187-99-0 MolWeight:248 RetIndex:1446
 CompName:2-Bromo dodecane \$\$ Dodecane, 2-bromo- \$\$



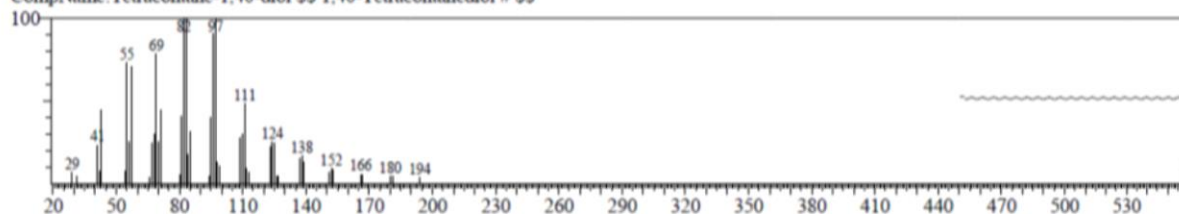
Hit#1 Entry:89240 Library:NIST08.LIB
 SI:88 Formula:C18H36O CAS:7390-81-0 MolWeight:268 RetIndex:1901
 CompName:Oxirane, hexadecyl- \$\$ 1,2-Epoxyoctadecane \$\$ 2-Hexadecyloxirane # \$\$



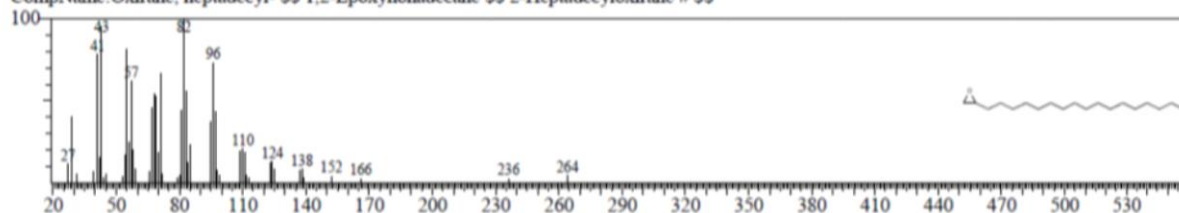
Hit#2 Entry:186507 Library:NIST08.LIB
 SI:88 Formula:C38H74 CAS:0-00-0 MolWeight:530 RetIndex:3779
 CompName:1,37-Octatriacontadiene



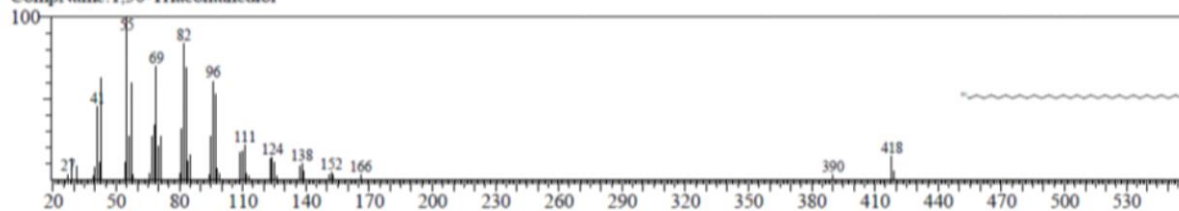
Hit#3 Entry:188871 Library:NIST08.LIB
 SI:88 Formula:C40H82O2 CAS:181719-30-2 MolWeight:594 RetIndex:4483
 CompName:Tetracontane-1,40-diol \$\$ 1,40-Tetracontanediol # \$\$



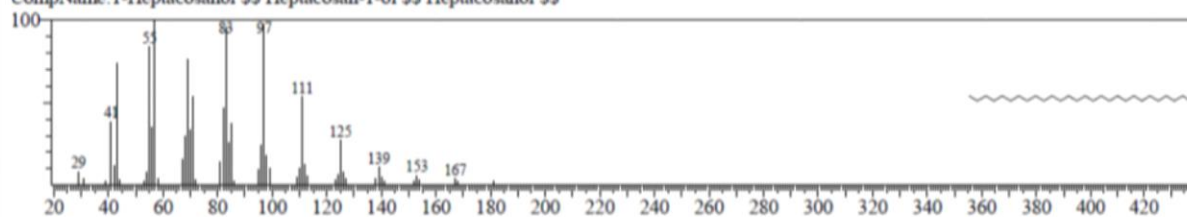
Hit#4 Entry:99261 Library:NIST08.LIB
 SI:88 Formula:C19H38O CAS:67860-04-2 MolWeight:282 RetIndex:2000
 CompName:Oxirane, heptadecyl- \$\$ 1,2-Epoxy-nonadecane \$\$ 2-Heptadecyloxirane # \$\$



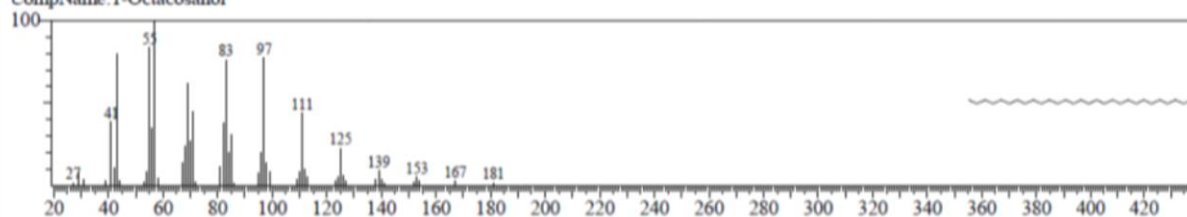
Hit#5 Entry:179650 Library:NIST08.LIB
 SI:87 Formula:C30H62O2 CAS:36645-68-8 MolWeight:454 RetIndex:3489
 CompName:1,30-Triacontanediol



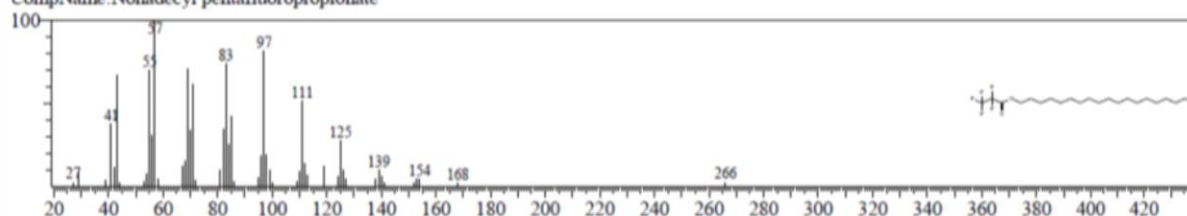
Hit#1 Entry:166292 Library:NIST08.LIB
SI:94 Formula:C₂₇H₅₆O CAS:2004-39-9 MolWeight:396 RetIndex:2948
CompName:1-Heptacosanol \$\$ Heptacosanol-1-ol \$\$ Heptacosanol \$\$



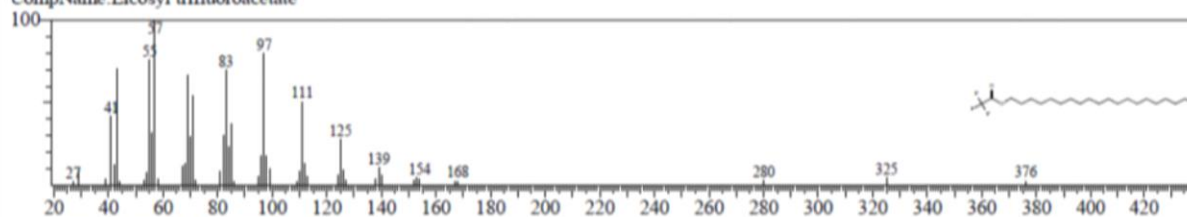
Hit#2 Entry:170725 Library:NIST08.LIB
SI:94 Formula:C₂₈H₅₈O CAS:0-00-0 MolWeight:410 RetIndex:3047
CompName:1-Octacosanol



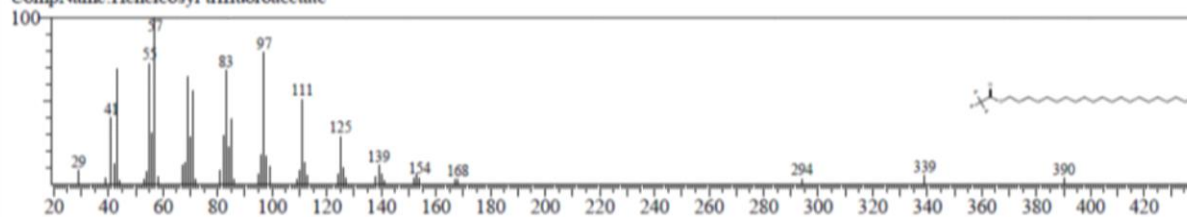
Hit#3 Entry:175358 Library:NIST08.LIB
SI:94 Formula:C₂₂H₃₉F₅O₂ CAS:0-00-0 MolWeight:430 RetIndex:2071
CompName:Nonadecyl pentafluoropropionate



Hit#4 Entry:165692 Library:NIST08.LIB
SI:94 Formula:C₂₂H₄₁F₃O₂ CAS:0-00-0 MolWeight:394 RetIndex:2210
CompName:Eicosyl trifluoroacetate



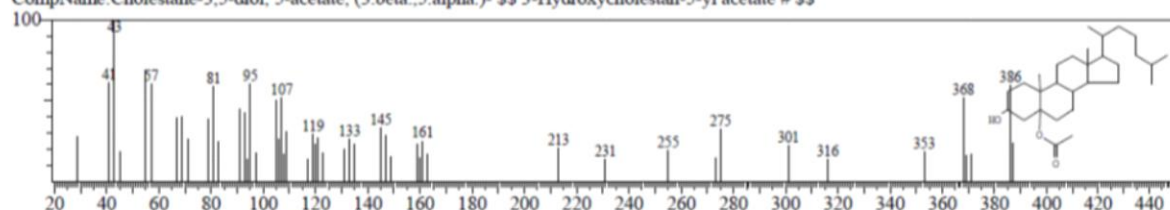
Hit#5 Entry:170083 Library:NIST08.LIB
SI:94 Formula:C₂₃H₄₃F₃O₂ CAS:0-00-0 MolWeight:408 RetIndex:2309
CompName:Heneicosyl trifluoroacetate



Hit#1 Entry:178485 Library:NIST08.LIB

SI:88 Formula:C₂₉H₅₀O₃ CAS:41721-93-1 MolWeight:446 RetIndex:2926

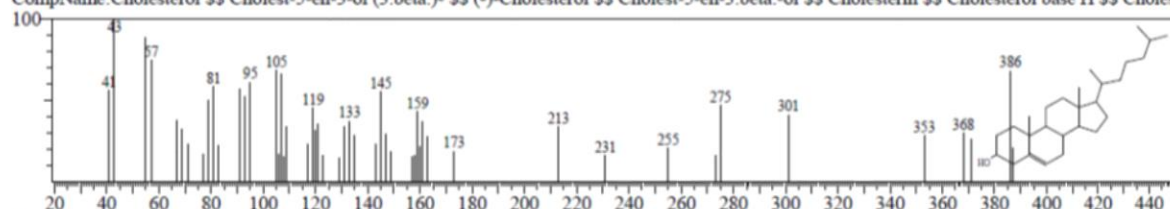
CompName:Cholestane-3,5-diol, 5-acetate, (3.beta.,5.alpha.)- \$\$ 3-Hydroxycholestan-5-yl acetate # \$\$



Hit#2 Entry:162891 Library:NIST08.LIB

SI:86 Formula:C₂₇H₄₆O CAS:57-88-5 MolWeight:386 RetIndex:2596

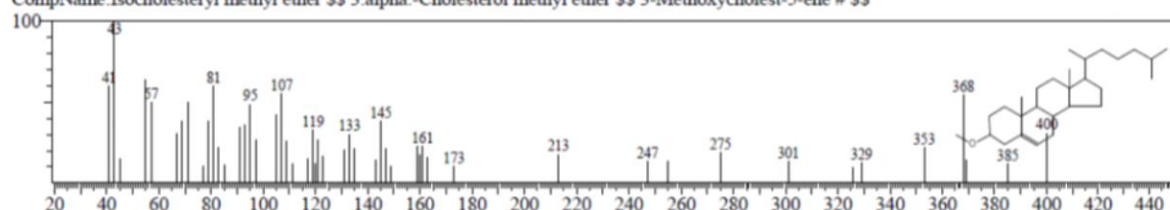
CompName:Cholesterol \$\$ Cholest-5-en-3-ol (3.beta.)- \$\$ (-)-Cholesterol \$\$ Cholest-5-en-3.beta.-ol \$\$ Cholesterin \$\$ Cholesterol base H \$\$ Cholest



Hit#3 Entry:168087 Library:NIST08.LIB

SI:85 Formula:C₂₈H₄₈O CAS:29944-53-4 MolWeight:400 RetIndex:2545

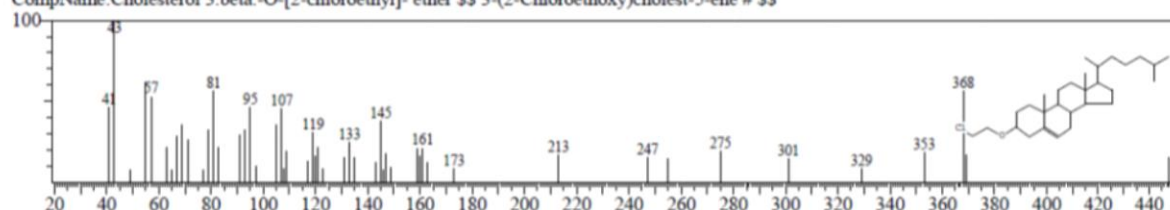
CompName:Ischolesteryl methyl ether \$\$ 3.alpha.-Cholesterol methyl ether \$\$ 3-Methoxycholest-5-ene # \$\$



Hit#4 Entry:178756 Library:NIST08.LIB

SI:83 Formula:C₂₉H₄₉ClO CAS:1972-30-1 MolWeight:448 RetIndex:2870

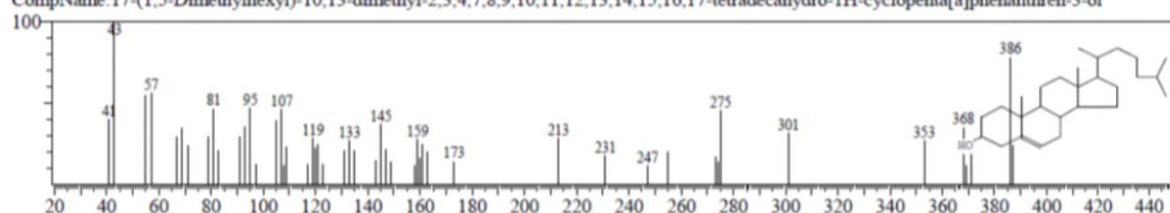
CompName:Cholesterol 3.beta.-O-[2-chloroethyl]- ether \$\$ 3-(2-Chloroethoxy)cholest-5-ene # \$\$



Hit#5 Entry:162895 Library:NIST08.LIB

SI:83 Formula:C₂₇H₄₆O CAS:0-00-0 MolWeight:386 RetIndex:2596

CompName:17-(1,5-Dimethylhexyl)-10,13-dimethyl-2,3,4,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-tetradecahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-3-ol



Abstract

The quantitative and chemical molecular genetic relationship was studied between two different types of the spiral fly that belonging to the genus *Chrysomya* (*Ch.megacephala* and *Ch.albecips*). The sample were collected samples from some areas of central Iraq represented Diyala governorate, where the insects have been studied from three different aspects, the first is the molecular genetic study, the second is the quantitative genetic study, the third is the chemical study of the complete insect including the wall of the body and internal organs. In this study, molecular life methods were used to detect the molecular and quantitative genetic diversity of these two types of insects, the DNA has been extracted from the entire insect body using the extraction kit (Genomic DNA Mini Kit-Tissue), the DNA isolated on the Acarose gel was then transported electrically, DNA purity was almost from 1.8-2 nm, Then a piece of mtdna consisting of the gene was amplified of Cytochrome Oxidase I and Cytochrome Oxidase II using the polymerase chain reaction technique and the presence of a pair of specialized primers with a pair for each gene and two directions of forward and reverse, Sequential sequencing of part of the COI and COII gene and PCR amplifier was studied. The sequential sequence of 24 samples was studied and 12 samples for each type. The results of the sequential sequence showed a clear genetic diversity between the samples of the two different species of the helical fly. This diversity was a

bitmap mutations of the type of deletion and substitution that was when the sequence of the nitrogen bases was compared between the two types. Also, when compared with the two gene samples for each gene, then calculated number of mutations and their location and type for each sample of the two species under study.

For the quantitative genetic study, the geometry calculated system of the wing shape and size of males and females of the two different genotypes of the *Chrysomya* species was used to detect the quantitative genetic variability of the two species. The mean size of the right wing of *Chmegacephala* females was (1354.13) microns and *Ch.albecips* (1244.28) microns, while the central size of the right wing of *Ch.megacephala* males was (1404.89) microns and the *Ch.albecips* male was (1103.75)microns. The value of variance in the central size of the right wing of females and males of the two species was (7645.78, 12196.18, 9609.13, 6747.45) respectively. In this study, F and T tests were used for the purpose of comparing the two species. The results showed that there were very few differences in the mean size of the right wing of the females of the two species, as well as significant differences in the mean size of the right wing of males of both sexes. There were also significant differences in the shape and size of the right wing of females of the

two species that is similar in size and shape to the right wing of the males of the two types of helical fly.

As for the chemical field, the Intermittent extraction device (Soxhelet) was used, and the GC-MS gas chromatography technology was used to extract and diagnose the chemical compounds of the complete insect containing the body wall and internal organs. The results showed a number of common chemical compounds between the two types of fly with the difference in appearance and time of flow, as well as the uniqueness of one of the two types of chemical compounds that appeared in this type and not appear in the other type, and the results of the analysis that the chemical compound dienoic acid has recorded the highest percentage of appearance in both types of helical fly, while the chemical compound nonanic acid the lowest incidence in the type of *Ch.megacephala*, and the chemical compound hepatanoic acid the lowest incidence in the type of *Ch.albecips*, and the emergence of some chemical compounds in one of the two types without appearing in the other, For example, 10-methylnonadecane(Retention time 18.629), Z, Z, Z-1,4,6,9-nonadecatetraene(Retentiontime18.792),8-methyl-6-nonenamide(Retentiontime19.268),aspidofractine-3-methanol(Retentiontime20.801),hexacontane(Retentiontime21.910)were,observedin*Ch.albiceps*ascorbicacid2,6--(+)-1dihexadecanoate (Retentiontime15.540),1hentetracontanol(Retentiontime18.146),tetrat

ricontylpentafluoropropionate(Retentiontime18.146),tritetracontane(Retentiontime20.335),heptadecyltrifluoroacetate(Retentiontime21.806) in *Ch.megacephala* type.

Ministry of Higher Education and scientific Research

Diyala University

College of Education for pure science

Department of Biology



**Molecular Genetic and Chemical Comparative Study
between tow species of Chrysomya sp.(Diptera :
Calliphoridae) in Iraq**

A thesis

**submitted to the Collage of Education for Pure Science / Diyala
University in partial fulfillment for the requirements of the degree
of master of Science in biology**

By

Shifaa Waleed Khaled

Bachelor of Biology 2012

Supervised by

Assist . prof . Dr. Ammar Ahmed Sultan AL-Qeraqouly

Assist . prof . Dr. Ghalib Adres Atiya

A.D 2018

A.H 1439