

# تحسين وراثي لسلاسل معزولة محلية من الباسيليوس ثورينجنسس للسيطرة على البعوض

عثمان بن يحيى أحمد اليحيوى

قد يحمل البعوض ملايين الكائنات الحية الدقيقة التي قد تسبب أمراضاً إن تواجدت بكميات كبيرة . يمكن معالجة القمامة والسماد العضوي والنفايات المماثلة التي لا يمكن منع وصول الذباب إليها بواسطة مغذيات اليرقات أو الغبار، ويُعد رش المبيدات الحشرية المتبقية فعالاً في مواجهة البعوض لعدة أسابيع، بيد أن بعض العوض المنزلي طَوَّر مقاومةً لبعض المبيدات الحشرية، مثل ثنائي كلورو ثنائي فينيل ثلاثي كلورو الإيثان. قد تسبب أكثر من مائة من مسببات الأمراض المرتبطة بالبعوض المرض لدى البشر والحيوانات، حيث يتم التقاط الكائنات الحية المسببة للأمراض عن طريق الذباب من مصادر مختلفة، ثم يتم نقلها على أجزاء فمها وأجزاء الجسم الأخرى، من خلال القيء والبراز وأجزاء الجسم الخارجية الملوثة إلى طعام الإنسان والحيوان. تلعب مكافحة البيولوجية دوراً رئيسياً في السنوات الأخيرة في مكافحة الحشرات، حيث نحاول تطوير سلالات البكتيريا (*B. Thuringiensis*) المعدلة وراثياً للسيطرة على أنواع مختلفة من البعوض. في هذه الدراسة تم عزل ١٩ بكتيريا الباسيليوس ثورينجنسس من عينات التربة في جدة والطائف بالمملكة العربية السعودية. وتم استخدام الخصائص المميزة لجين (s1٦) rRNA كمؤشر سلالة موحد لإجراء دراسة التنوع الشامل للعزلات البكتيرية من أجل الكشف عن العلاقات التطورية والجينية بين هذه العزلات. تضاعف عشوائي متعدد الأشكال. تم استخدام الحمض النووي متعدد الأشكال وطريقة تكرار التسلسل البسيط المتداخل بـ (RAPD) و (ISSR) لتحديد بصمات الـ ١٩ سلالةً من بكتيريا (*B. Thuringiensis*) المعزولة باستخدام ٦ برايمر مختلفة لكل طريقة. وقد كشفت نتائج الحمض النووي متعدد الأشكال عن مستوى عالٍ من التنوع في تسلسل الحمض النووي. كما تم إجراء طفرة عشوائية باستخدام الطفرات الكيميائية (الأشعة فوق البنفسجية) والطفرات الفيزيائية (الصوديوم أزيد) على بعض سلالات البكتيريا (*B. Thuringiensis*) المختارة. دراسة المسوخات المتحصل عليها ضد يرقات البعوض بالمقارنة مع سلالات النوع البري. أوضحت النتائج أن بعض الطفرات التي تم الحصول عليها واعدة في وفاتها ضد اليرقات ، وبعض الطفرات تعطينا معدل وفيات يصل إلى ٨٠٪ وهو ممتاز ضد اليرقات. دراسة الطفرات المتحصل عليها ضد يرقات البعوض بالمقارنة مع سلالات النوع البري. أوضحت النتائج أن بعض الطفرات التي تم الحصول عليها واعدة في تدمير اليرقات، وبعض الطفرات تعطينا معدل وفيات يصل إلى ٨٠٪ وهو معدل ممتاز ضد اليرقات.

**Title**

**Genetic Improvement of local isolated *Bacillus thuringiensis*  
strains for controlling mosquitoes**

Submitted by

**Othman Yahya Ahmed Al-Yahyawy**

**A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements of the  
Degree of Doctorate of Science in Microbiology**

**Under Supervision of**

Prof. Salah El-Deen Abo-Aba  
Prof. Khalid Mohammed Saeed Alghamdi

**FACULTY OF SCIENCE  
KING ABDULAZIZ UNIVERSITY  
JEDDAH – SAUDI ARABIA  
1440H – 2020 G**

## Abstract

Mosquitoes may carry millions of microorganisms that, in large enough doses, can cause disease. Garbage, manure, and similar wastes that cannot be made inaccessible to flies can be treated with larvicidal drenches or dusts. Residual insecticidal sprays are effective against flies for several weeks; however, some houseflies have developed resistance to certain insecticides, such as DDT. More than 100 pathogens associated with the mosquitoes may cause disease in humans and animals. Pathogenic organisms are picked up by flies from different sources, and then transferred on their mouthparts and other body parts, through their vomitus, feces and contaminated external body parts to human and animal food. Biological control play a main role in the recent years for controlling insects so that we will try to develop new genetically modified BT strains for controlling different types of mosquitoes. In the present study a total of 19 *Bacillus thuringiensis* were isolated from soil samples Jeddah, Saudi Arabia. The distinctive properties of 16s rRNA gene as universal phylogenetic marker was employed to carry out comprehensive diversity study of the bacterial isolates in order to reveal the evolutionary and phylogenetic relationships among these isolates. A random amplified polymorphic DNA (RAPD) and ISSR fingerprinting method has been used to fingerprint isolated 19 *Bacillus thuringiensis* bacterial strains using 6 different primers. The RAPD profiles revealed a high level of DNA sequence diversity. Random mutation with chemical (UV) and physical mutagenesis (Sodium Azide) were also done on some chosen *Bacillus thuringiensis* strains. Study of mutants obtained against larva of mosquitoes in comparison with wild type strains. Results showed that some of the obtained mutants are promising in its mortality against larva some mutants give us mortality up to 80% which is excellent against larva.