جامعة كربلاء

كلية التربية للعلوم الصرفة

قسم علوم الحياة

دراسة تصنيفية مظهرية وجزيئية لبعض أنواع صنف ذوات المصراعين (Mollusca: Bivalvia) من المنطقة الوسطى في العراق

رسالة مقدَّمة إلى مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة كربلاء وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة -علم الحيوان.

كتبت بواسطة:

علي عبدالرزاق نوح علي الخرساني

بإشراف

أ.م.د. حنان زوير مخلف الدعمي

كانون الثاني 2022م

جمادى الآخر 1443هـ

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

﴿ فَتَعَالَى اللَّهُ الْمَلِكُ الْحَقُّ وَلَا تَعْجَلْ بِالْقُرْآنِ مِنْ قَبْلِ أَنْ

يُقْضَى إِلَيْكَ وَحْيُهُ وَقُلْ رَبِّ زِدْنِي عِلْمًا ﴾

صدق الله العلي العظيم

سورة طه (114)

إقرار المشرف على الرسالة

أشهد أن إعداد هذه الرسالة الموسومة (**دراسة تصنيفية مظهرية وجزيئية لبعض أنواع صنف ذوات المصراعين (Mollusca: Bivalvia) من المنطقة الوسطى في العراق**) قد جرى تحت إشرافي في قسم علوم الحياة /كلية التربية للعلوم الصرفة/ جامعة كربلاء وهي جزءٌ من متطلبات نيل درجة الماجستير في اللافقريات /علم الحيوان .

التوقيع:

الاسم : د. حنان زوير مخلف حسين

المرتبة العلمية: استاذ مساعد

العنوان: كلية التربية للعلوم الصرفة/ جامعة كربلاء

التاريخ : ٢٥/ ١ / 2022

توصية رئيس قسم علوم الحياة

إشارة إلى التوصية المقدمة أعلاه من قبل الاستاذ المشرف ، أُحيل هذه الرسالة إلى لجنة المناقشة لدراستها وبيان الرأي فيها .

التوقيع:

الاسم : د. نصير مرزا حمزة

المرتبة العلمية : أستاذ مساعد

العنوان : كلية التربية للعلوم الصرفة - جامعة كربلاء

التاريخ : / / 2022

إقرارالمقوم اللغوى

أشهد أن هذه الرسالة الموسومة (**دراسة تصنيفية مظهرية وجزيئية لبعض أنواع صنف ذوات المصراعين (Mollusca: Bivalvia) من المنطقة الوسطى في العراق**) تمت مراجعتها من الناحية اللغوية وتصحيح ماورد فيها من أخطاء لغوية وتعبيرية وبذلك أصبحت الرسالة مؤهلة للمناقشة بقدر ماتعلق الأمر بسلامة الإسلوب وصحة التعبير.

التوقيع :

الاسم : د. مجيب سعد أبو كطيفة

المرتبة العلمية: أستاذ مساعد

مكان العمل : كلية العلوم الإسلامية / جامعة كربلاء

التاريخ :25/ 1/ 2022م

إقرار لجنة المناقشة

نحن أعضاء لجنة المناقشة الموقعين ادناه نشهد بأننا قد اطلعنا على الرسالة الموسومة (**دراسة تصنيفية مظهرية وجزيئية لبعض أنواع صنف ذوات المصراعين (Mollusca: Bivalvia) من المنطقة الوسطى في العراق**) وقد ناقشنا الطالب (علي عبد الرزاق نوح علي الخرساني) في محتوياتها وكل مايتعلق بها ووجدنا أنها جديرة بالقبول بتقدير (امتياز) لنيل درجة الماجستير /فرع الحيوان (اللافقريات).

رئيس اللجنة

التوقيع :

الاسم : د. جاسم حميد رحمة

المرتبة العلمية : أستاذ

العنوان : جامعة الكوفة / كلية التربية للبنات

التاريخ : ٢٧/ ١ /٢٠٢٢

عضو اللجنة

التوقيع :

الاسم : د. نوال صادق مهدي

المرتبة العلمية : أستاذ مساعد

العنوان : جامعة بغداد / كلية التربية للعلوم الصرفة ـ ابن الهيثم

التاريخ : ٣٠/ ١ /٢٠٢٢

عضو اللجنة

التوقيع :

الاسم : د. يعرب مضر جواد

المرتبة العلمية :أستاذ مساعد

العنوان : جامعة كربلاء / كلية التربية للعلوم الصرفة

التاريخ : ٢٦ / ١ /٢٠٢٢

عضو اللجنة (المشرف)

التوقيع :

الاسم : د. حنان زوير مخلف

المرتبة العلمية : أستاذ مساعد

العنوان : جامعة كربلاء / كلية التربية للعلوم الصرفة

التاريخ : ٢٦/ ١ /٢٠٢٢

مصادقة عمادة كلية التربية للعلوم الصرفة

أُصادق على ما جاء في قرار اللجنة أعلاه

التوقيع :

الاسم : د. حميدة عيدان سلمان

المرتبة العلمية : أستاذ

العنوان : جامعة كربلاء – كلية التربية للعلوم الصرفة

التاريخ : / /٢٠٢٢

الإهـــــــــداء

إلى من قرب من خطرات الظنون وبعد عن لحظات العيون وعلم بما كان قبل أن يكون .....

.....الله سبحانه وتعالى

إلى أهل بيت النبوة وموضع الرسالة ومختلف الملائكة ومعدن العلم وأهل بيت الوحي .....

..... محمد(ﷺ) واله الأطهار(عليهم السلام)

إلى كل قطرة دمٍ سالت وروح طاهرة فاضت تاركةً العيال والأحبة لإجل الوطن والعقيدة .....

..... الشهداء السعداء رحمهم الله تعالى

إلى تلك الشيبة المباركة وذلك الوجة الذي مسه الكبر القمُر الذي أنار دربي في الصعاب .....

..... أبي الحبيب أطال الله في عمره

إلى من مسها الضر وذلك الجسد الذي ضعف لكي نقوى ونعيش بكرامة وشموخ .....

..... أمي الحنونة شافاها الله وحفظها

إلى من وهبني الله نعمة وجودهم في حياتي جذوة الإخلاص سندي وعقدي المتين .....

..... إخوتي وأختي وفقهم الله عز وجل

إلى سكن الحياة ورفيقة الدرب الطويل التي أرخت جوارحها وعواطفها لي.....

..... زوجتي العزيزة أدامها الله تعالى

إلى من كرس نفسه وعمل ليل نهار وجعل مدينة كربلاء تليق بكربلاء الحسين (عليه السلام) .....

..... الأستاذ عبير شهيد الواجب

إلى كل من ساعدني وارشدني ونصحني وكان له دور لإكمال مسيرتي العلمية .....

..... أصدقائي وأحبتي حفظهم الله تعالى

أهدي ثمرة جهدي المتواضع هذا

الباحث

الشــكر والتقديــر

الحمد لله الواحد الأحد الفرد الصمد هو الأول والآخر والظاهر والباطن الذي أغرقنا بنعمه التي لا تحصى وأغدق علينا برزقه الذي لا يفنى وأنار دروبنا فله جزيل الحمد والثناء العظيم هو الذي أنعم علينا إذ أرسل فينا عبده ورسوله السراج المنير والبشير النذير نبي الرحمة وهادي الأمة محمد (صلى الله عليه وعلى أهل بيته الطيبين الطاهرين) أرسله بقرآنه المبين فعلمنا ما لم نعلم وحثنا على طلب العلم أينما وجد.

أحمد الله حمداً كثيراً طيباً مباركاً ملء السموات والأرض أن وفقنا وألهمنا الصبر على المشاق التي واجهتنا لإنجاز هذا العمل المتواضع .

نرفع كلمة الشكر إلى مشرفتي الدكتورة الفاضلة **أ.م. د حنان زوير مخلف الدعمي** لإشرافها ومتابعتها العلمية الدؤوبة ومساهمتها في وضع خطة البحث رغم الظروف الصعبة والقاهرة التي مرت بها .

وكل الشكر والتقدير إلى رئاسة جامعة كربلاء وإلى عمادة كلية التربية للعلوم الصرفة ونخص بالذكر قسم علوم الحياة من رئيس قسم وملاكه الأساتذة التدريسيين لإتاحتهم الفرصة لي لإكمال دراستي .

وأتقدم بالشكر الجزيل للدكتورة المحترمة **أ. د .إبتسام مهدي عبد الصاحب** / جامعة البصرة / قسم الأحياء البحرية / مركز علوم البحار والدكتور الفاضل **أ. د. مرتضى يوسف مهدي** / جامعة البصرة / كلية التربية للعلوم الصرفة / قسم علوم الحياة والدكتورة الفاضلة **أ.م.د. علياء حسين مزهر** /جامعة الكوفة / كلية العلوم / قسم البيئة والتلوث لماقدموه من مساعدة لي في تأكيد تشخيص عينات المحار مظهرياً .

وأقدم شكري وامتناني إلى جامعة بغداد/ مركز بحوث ومتحف التاريخ الطبيعي /قسم الحشرات واللافقريات ونخص بذلك الدكتورة **أ.م.د هناء هاني الصفار** والمدرس **م. محمد عناد غزوان** لمساعدتهم في تأكيد تشخيص النماذج مظهرياً فلهم أطيب التحايا .

ونقدم الشكر للدكتور من المملكة المتحدة /Dr.Graham Oliver /National Museum Wales united kingdom لتأكيد تشخيص الأنواع المظهرية .

وجب عليَّ أن لا أنسى وافر الشكر للدكتور الفاضل **أ. د علي بستان محسن الوائلي** / جامعة القادسية / كلية العلوم لما قدمه لي من نصح وإرشاد ومعلومات قيمة في دراستي الجزيئية .

ويسعدني أن أشكر كل من وقف بجانبي ونصحني وأرشدني وقدم لي يد العون ودعا لي لإكمال رسالتي العلمية من أخوة وأصدقاء وزملاء وأساتذة وعائلتي الذين صبروا وتحملوني طيلة مدة الدراسة فشكراً جزيلا لهم جميعاً .

وأخيراً لايفوتني في هذا المقام إلّا أن أتقدم بخالص شكري وتقديري إلى الدكتور المحترم **أ.م.د حيدر علي محمد** /جامعة كربلاء / كلية الطب البيطري لما قدمه لي من مساعدة ، إذ أعانني في إنجاز رسالتي ولا سيما الدراسة الجزيئية فله كل الشكر والتقدير.

الخلاصة

أجريت هذه الدراسة لوصف وتشخيص بعض أنواع ذوات المصراعين (Bivalvia) ، التي تم جمعها من بعض محافظات وسط العراق (بغداد ، بابل ، كربلاء ، النجف) لكون هذه المحافظات غنية بالأنهار والجداول والبزول ، وتم جمع النماذج بصورة عشوائية من كل محافظة من المحافظات المذكورة أعلاه ما يقارب 130 فرداً خلال المدة 12/1 /2020 - 10 /2/ 2021.

اشتملت الدراسة المظهرية على دراسة رتبتين هما Unionida و Venerida وتم وضع مفتاح تصنيفي لعزل تلك الرتبتين وتم وصف الصفات التشخيصية للعوائل التي أظهرتها الدراسة الحالية التابعة لتلك الرتبتين ، وكانت العائلة Unionidae هي الأكثر انتشاراً ضمن المناطق المدروسة من خلال الأجناس والأنواع التي تم تسجيلها ، وتم وضع مفتاح تصنيفي للجنس ***Unio*** /لتابع لهذه العائلة والذي انحدرت منه أغلب الأنواع التي أظهرتها الدراسة الحالية ، وتم وصف جميع الأنواع التي شخصت مظهرياً وجزيئياً بالاعتماد على الصفات التصنيفية للصدفة (حجم الصدفة الطول والعرض والإرتفاع ، شكل الصدفة ، القمة (Umbo) ، الحواف الجانبية للصدفة الظهرية والبطنية والأمامية والخلفية ، لون الصدفة من الداخل والخارج ، خطوط النمو (Growth line)، الخطوط المركزية للقمة ، موقع ندب العضلات المقربة للصدفة من الداخل) .

وقد شخصت الأنواع الآتية مظهرياً :

_ ***Pseudodontopsis euphraticus*** (Bourguigant, 1852)

_ ***Unio tigridis*** Bourguignat ,1852

_ ***Corbicula fluminea*** (Müller, 1774)

_ ***Corbicula fluminalis*** (Müller, 1774)

تم أخذ 50 نموذج عشوائياً لغرض الدراسة الجزيئية لعزل الـ DNA من أغشية وأقدام العينات ، باستعمال عدة الإستخلاص :FavorPrep™ Tissue Genomic DNA Extraction Mini Kit وحسب خطوات بروتوكول مجهزة من شركة (Favorgen/korea) ، واستخدام البادئات النوعية المصممة التي تم تجهيزها من شركة (Macrogen/korea) للكشف عن جين (Cytochrome oxidase subunit I) بواسطة تفاعل البلمرة المتسلسل (Polymerase Chin Reaction) للدراسة الحالية .

وبعد معرفة عدد الحزم المتضاعفة وأوزانها الجزيئية ، تم إرسال ما يقارب 20 مايكروليتر من ناتج التفاعل من عينة أغشية المحار وأقدامها للجين (Cytochrome oxidase subunit I) ، إذ تم إرسال سبع عزلات إلى كوريا الجنوبية من اجل التاكد على تسلسل القواعد النايتروجينية باستخدام جهاز الـ (Sanger) ومقارنتها مع تسلسلات الجينات المنشورة في موقع جين بنك العالمي للجينات (National Center for Biotechnology Information) وكذلك من أجل الحصول على الرقم القياسي (Accession Number) للعزلات المحلية.

وقد تم الحصول على النتائج لست عزلات بعد التعرف عليها وتم تسجيل أربعة أنواع لأول مرة في العراق وكانت كمايأتي :

1) ***Sinanodonta woodiana*** وتم تسجيلها في موقع جين بنك العالمي للجينات (NCBI) ، تم تسجيلها بالرقم القياسي (LC656037) ، ويعد هذا النوع تسجيل جديد أول في العراق.
2) ***S. woodiana*** وتم تسجيلها في موقع جين بنك العالمي للجينات (NCBI) ، تم تسجيلها بالرقم القياسي (LC658986).
3) ***Unio elongatulus*** وتم تسجيلها في موقع جين بنك العالمي للجينات (NCBI) ، تم تسجيلها بالرقم القياسي(LC651631) ، ويعد هذا النوع تسجيل جديد أول في العراق.
4) ***U. elongatulus*** وتم تسجيلها في موقع جين بنك العالمي للجينات (NCBI) ، تم تسجيلها بالرقم القياسي (LC651632) .
5) ***U. mancus mancus*** وتم تسجيلها في موقع جين بنك العالمي للجينات (NCBI) ، تم تسجيلها بالرقم القياسي (LC651633) ، ويعد هذا النوع تسجيل جديد أول في العراق.
6) ***U. delphinus*** وتم تسجيلها في موقع جين بنك العالمي للجينات (NCBI) ، تم تسجيلها بالرقم القياسي (OK534157) ، ويعد هذا النوع تسجيل جديد أول في العراق.

قائمة المحتويات

التسلسل	الموضوع	رقم الصفحة
	الخلاصة	**III**
	قائمة المحتويات	**V**
	قائمة الجداول	**VII**
	قائمة الاشكال والصور	**VIII**
	قائمة الملاحق	**XI**
	قائمة المختصرات	**XII**
	الفصل الأول: المقدمة Introduction	**3-1**
1-1	المقدمة	**1**
2-1	تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR) للرخويات	**3**
3-1	الهدف من الدراسة	**3**
	الفصل الثاني: استعراض المراجع Literature Review	**27-4**
1-2	صنف ذوات المصراعين Bivalvia	**4**
2-2	المظهر الخارجي لذوات المصراعين External Morphology of Bivalvia	**6**
3-2	تصنيف ذوات المصراعين Classification of Bivalvia	**8**
4-2	التشريح الداخلي لذوات المصراعين Internal anatomy of Bivalvia	**9**
5-2	التغذية لذوات المصراعين Nutrition(Feeding) of Bivalvia	**13**
6-2	حركة ذوات المصراعين Locomotion of Bivalvia	**14**
7-2	التكاثر ودورة الحياة Reproduction and life cycle of Bivalvia	**15**
8-2	بيئة ذوات المصراعين Environment of Bivalvia	**19**

9-2	الأهمية البيئية والطبية Ecological and Medical Importance	**20**
10-2	التوزيع الجغرافي Geographical Distribution of Bivalvia	**22**
11-2	الدراسات المظهرية والجزيئية السابقة	**24**
	الفصل الثالث :المواد وطرائق العمل Materials and Methods	**45-28**
1-3	مواقع الجمع Sites of Collection	**28**
2-3	وصف المناطق المدروسة	**29**
3-3	المواد والأجهزة المستعملة Material and Device	**35**
4-3	طرائق العمل Methods	**37**
1-4-3	الدراسة المظهرية Morphological Study	**37**
2-4-3	الدراسة الجزيئية Molecular Study	**39**
	الفصل الرابع :النتائــج والمناقشة	**75-46**
1-4	الموقع التصنيفي للأنواع قيد الدراسة	**46**
2-4	الدراسة المظهرية Morphological study	**47**
3-4	الدراسة الجزيئية Molecular Study	**64**
	الفصل الخامس :الاستنتاجات والتوصيات Conclusions and Recommendations	**77-76**
1-5	الاستنتاجات Conclusion	**76**
2-5	التوصيات Recommendation	**77**
	المصـــــادرReferences	**99-78**
1-6	المصادر العربية Arabic References	**78**
2-6	المصادر الاجنبية Foreign References	**79**
	الخلاصة باللغة الإنكليزية Summary	**I-II**

قائمة الجداول

رقم الجدول	عنوان الجدول	رقم الصفحة
1-3	المسطحات المائية للعينات قيد الدراسة في محافظة كربلاء	29
2-3	المسطحات المائية للعينات قيد الدراسة في محافظة بغداد	30
3-3	المسطحات المائية للعينات قيد الدراسة في محافظة بابل	32
4-3	المسطحات المائية للعينات قيد الدراسة في محافظة النجف	33
5-3	الأجهزة المستعملة مع اسم الشركة المصنعة والمنشأ	35
6-3	المواد الكيميائية مع الشركات المصنعة لها والمنشأ	36
7-3	اسم عدة الفحص(kit) والمكونات والحجم	36
8-3	الدليل الحجمي للـ DNA	41
9-3	البادئات النوعية المصممة للكشف عن جين COI بواسطة الـ PCR	43
10-3	مكونات تفاعل الـ PCR الاعتيادي للبادئان LCO1490 , HCO2198	44
11-3	برنامج تفاعل الـ PCR لجين COI للبادئان LCO1490 , HCO2198	45
1-4	تركيز ونقاوة لمستخلصات الحامض النووي للمحار العشوائية بواسطة طريقة FavorPrep™ Tissue Genomic DNA Extraction method.	65
2-4	الأرقام القياسية للقواعد النايتروجينية والبروتين للعزلات المحلية والمعزولة من المياه العذبة والمناطق التي وجدت فيها العينة	67

قائمة الاشكال والصور

رقم الشكل	عنوان الشكل	رقم الصفحة
1	الشكل الخارجي والداخلي للصدفة	**8**
2	التشريح الداخلي لذوات المصراعين	**13**
3	التركيب النسيجي للغدد التناسلية والدورات التناسلية: (F) عضلة القدم ،(OD) الأجزاء الخارجية،(P) الباليوم (pallium)، شكل a : يمثل المقطع العرضي ، شكل b: يمثل المقطع الطولي	**16**
4	أشكال الحاضنة لأنواع مختلفة من المحار في المياه العذبة(Unionidae) (A) *Ptychobranchus fasciolaris* و (B) *Ligumia subrostrata* و(C) *Obliquaria reflexa* و (D) *Fusconaia ebena* و (E)*Ligumia recta* و(F)*Lasmigona Complanata*	**18**
5	دورة الحياة للمحار في المياه العذبة	**18**
6	خريطة العراق التي تقع على خط طول(43.02285) وعرض(32.08493) توضح فيها محافظات الدراسة	**28**
7	خريطة محافظة كربلاء توضح فيها مناطق الجمع	**30**
8	خريطة بغداد توضح فيها مناطق الجمع	**31**
9	خريطة بابل توضح فيها مناطق الجمع	**32**
10	خريطة النجف توضح فيها مناطق الجمع	**34**
11	A شبكة لجمع العينات ، B المحراث الحديدي اليدوي	**38**
12	منظر جانبي للصدفة اليمنى للنوع *S. woodiana*	**48**

13	منظر سطحي للنوع *S. woodiana* الخطوط المتحدة المركز للقمة	**49**
14	الجهة الداخلية للصدفة اليمنى للنوع *S. woodiana*	**49**
15	منظر جانبي للصدفة اليمنى للنوع *U. delphinus*	**50**
16	منظر سطحي للنوع *U. delphinus* الخطوط المتحدة المركز للقمة	**51**
17	الجهة الداخلية للصدفة اليمنى للنوع *U. delphinus*	**51**
18	منظر جانبي للصدفة اليمنى للنوع *U. mancus mancus*	**52**
19	منظر سطحي للنوع *U. mancus mancus* الخطوط المتحدة المركز للقمة	**53**
20	الجهة الداخلية للصدفة اليمنى للنوع *U. mancus mancus*	**53**
21	منظر جانبي للصدفة اليمنى *U. elongatulus*	**54**
22	منظر سطحي للنوع *U. elongatulus* الخطوط المتحدة المركز للقمة	**55**
23	الجهة الداخلية للصدفة اليمنى للنوع *U. elongatulus*	**55**
24	منظر جانبي للصدفة اليمنى *U. tigridis*	**56**
25	منظر سطحي للنوع *U. tigridis* الخطوط المتحدة المركز للقمة	**57**
26	الجهة الداخلية للصدفة اليمنى للنوع *U. tigridis*	**57**
27	منظر جانبي للصدفة اليمنى *P. euphraticus*	**58**
28	منظر سطحي للنوع *P. euphraticus* الخطوط المتحدة المركز للقمة	**59**
29	الجهة الداخلية للصدفة اليمنى للنوع *P. euphraticus*	**59**
30	منظر جانبي للصدفة اليسرى *C. fluminalis*	**60**
31	منظر سطحي للنوع *C. fluminalis* الخطوط المتحدة المركز للقمة	**61**

32	الجهة الداخلية للصدفة اليسرى للنوع *C. fluminalis*	**61**
33	منظر جانبي للصدفة اليسرى *C. fluminea*	**62**
34	منظر سطحي للنوع *C. fluminea* الخطوط المتحدة المركز للقمة	**63**
35	الجهة الداخلية للصدفة اليسرى للنوع *C. fluminea*	**63**
36	عينات استخلاص الحامض النووي منقوص الاوكسجين من المحار	**64**
37	الترحيل الكهربائي لناتج التفاعل التضاعفي لسلسة الدنا لمحار المياه العذبة بأستعمال البادئات النوعية لجين للـCytochrome oxidase في هلام الاكاروز بتركيز 1% وفرق جهد 75 وزمن ساعة	**66**
38	الشجرة الوراثية للعزلتين المحليتين نوع *S. woodiana* وتقاربهما مع العزلات العالمية	**68**
39	تطابق قواعد النايتروجينية للعزلة المحلية نوع *S. woodiana* ومقارنتها مع العزلة العالمية	**69**
40	الشجرة الوراثية للعزلة المحلية نوع *U. delphinus* وتقاربها مع العزلات العالمية	**70**
41	تطابق القواعدالنايتروجينية للعزلة المحلية *U. delphinus* ومقارنتها مع العزلة العالمية ذات الرقم القياسي(EF571413.1)	**71**
42	الشجرة الوراثية للعزلة المحلية نوع *U. mancus mancus* وتقاربها مع العزلات العالمية	**72**
43	تطابق القواعد النايتروجينية للعزلة المحلية نوع *U. mancus mancus* ومقارنتها مع العزلة العالمية ذي الرقم القياسي (JX046705.1)	**73**
44	الشجرة الوراثية للعزلتين المحليتين نوع *U. elongatulus* وتقاربهما مع العزلات العالمية	**74**
45	تطابق القواعد النايتروجينية للعزلة المحلية نوع *U. elongatulus* ومقارنتها مع العزلة العالمية ذات الرقم القياسي (MF414377.1)	**75**

قائمة الملاحق

رقم الملحق	عنوان الملحق	رقم الصفحة
1	كتاب تشخيص النماذج لمركز بحوث ومتحف التاريخ الطبيعي / جامعة بغداد	100
2	كتاب تشخيص النماذج لمركز بحوث ومتحف التاريخ الطبيعي / جامعة بغداد	101
3	القواعد النايتروجينة والرقم القياسي LC656037 للنوع *S. woodiana*	102
4	القواعد النايتروجينة والرقم القياسي LC658986 للنوع *S. woodiana*	103
5	القواعد النايتروجينة والرقم القياسي LC651631 للنوع *U. elongatulus*	104
6	القواعد النايتروجينة والرقم القياسي LC651632 للنوع *U. elongatulus*	105
7	القواعد النايتروجينة والرقم القياسي LC651633 للنوع *U. mancus mancus*	106
8	القواعد النايتروجينة والرقم القياسي OK534157 للنوع *U. delphinus*	107

قائمة المختصرات

المختصر	المصطلح باللغة الانكليزية	المصطلح باللغة العربية
Su	Sulcus	أخدود
An	Anterior	أمامي
Ve	Ventral	بطني
UmC	Umbo Cavity	تجويف القمة
PCR	Polymerase Chin Reaction	تفاعل البلمرة المتسلسل
PoR	Posterior Ridge	حافة خلفية
eDNA	Environmental Deoxy ribonucleic acid	الحامض النووي الرايبي منقوص الأوكسجين البيئي
mtDNA	Mitochondrial Deoxy ribonucleic acid	حامض نووي منقوص اوكسجين في المايتوكوندريا
DNA	Deoxy ribonucleic acid	حمض النووي الريبي منقوص الأكسجين
PL	Pallial Line	خط الإلتصاق
GL	Groth Line	خط النمو
DLCR	Double-Looped Concentric Ridges	خطوط متحدة المركز - مزدوجة
SLCR	Single-Looped Concentric Ridges	خطوط متحدة المركز - مفردة
Po	Posterior	خلفي

Do	Dorsal	ظهري
ShD	Shell Disk	قرص الصدفة
Um	Umbo	القمة
NCBI	National Center for Biotechnology Information	المركز الوطني لمعلومات التقانة الحيوية
PoS	Posterior Slop	منحدر خلفي
AnAMS	Anterior Adductor Muscle Scar	ندبة العضلة المقربة الأمامية
PoAMS	Posterior Adductor Muscle Scar	ندبة العضلة المقربة الخلفية
COI	Cytochrome oxidase I	الوحدة الفرعية السيتوكروم أوكسيديزI

الفصل الأول

المقـــدمة

Introduction

1.1 المقدمة Introduction

شعبة الرخويات (النواعم) **Phylum:** Mollusca

تعد شعبة الرخويات من أهم شعب الحيوانات اللافقرية وتعد واحدة من أكثر فئات المملكة الحيوانية انتشاراً وتنوعاً، وهي ثاني أهم شعب اللافقريات بعد المفصليات (Mader, 1998) . وتمتاز بكون أجسامها غير مقسمة وعادة ما تمتلك قشرة(shell) أو صدفة كلسية (Lime shell)(Leftwich, 2004).

تتميز الرخويات بحجمها الكبير ومحدودية حركتها بالإضافة إلى كون من السهل نسبياً جمعها وتحديدها في كثير من بيئات المياه العذبة (Jamil, 2001). تعد الرخويات إحدى شعب الكائنات الحية المهمة المؤلفة للنظام البيئي البحري إذ تتغذى عليها بعض الكائنات البحرية إذ إنها متنوعة للغاية، ليس فقط في الحجم والبنية التشريحية، ولكن في السلوك والعادات . وهي حيوانات مختلفة الأشكال والأحجام معظمها يعيش في البحار (وتضم حوالي 23 ٪ من جميع الكائنات البحرية المسماة) والمحيطات والمياه العذبة ، بعض منها يعيش على اليابسة في الصحاري والمزارع والغابات (Vinther, 2015 ; Kocot *et al.*, 2020) .

تتواجد رخويات المياه العذبة في البرك والبحيرات وحقول الأرز والمياه المتدفقة مثل القسم السفلي من الأنهار الدائمة ، وقنوات الري . وتعيش ذوات المصراعين Bivalvia مدفونة جزئيًا في الرمال أو الطين إذ تكون مماثلة في ذلك إلى بطنيات الأقدام Gastropoda (Subba Rao, 1989).

للرخويات أهمية اقتصادية مباشرة كونها تمثل مصدر غذائي للإنسان والحيوانات و قد تمثل آفات خطيرة على المزروعات ، وقد تلعب رخويات المياه العذبة دوراً مهماً في صحة الانسان والحيوان ومن ثُم تحتاج إلى استكشاف علمي كثير وعلى نطاق واسع (Supian and Ikhwanuddin, 2002)، وأيضاً تعد الرخويات مجموعة مهمة اذ ان وفرتها تلعب دوراً محورياً في أداء النظام البيئي للمياه العذبة(Vaughn *et al.*, 2004). تشكل الرخويات مكونًا مهمًا للرصد البيولوجي من خلال تصنيف نوعية المياه وحالة النظم المائية (Strong *et al.*, 2007).

تعد الرخويات أحد أهم الأطعمة للإنسان في بلدان عديدة كالمحار، وتستخدم الرخويات أيضاً في تصنيع بعض أنواع الأدوية والعقاقير، وقد يستخدم مسحوق بعض أنواع الأصداف لمعالجة نقص الكالسيوم وهشاشة العظام كما قد يكون لسموم بعض أنواعها فوائد طبية مثل سم الحلازين المخروطية الذي يستخدم في معالجة بعض الأمراض ، ويعد اللؤلؤ الحجر الأغلى حول العالم ومصدره من المحار

وتستخدم بعض أصداف الرخويات لصناعة الحلي. وتستخدم الأصداف بخلطها بالإسمنت لصناعة بعض أنواع البلاط وفي تطعيم الأثاث الفاخر وقد تحرق الأصداف لإنتاج الجير لاستخدامه كسماد للتربة (Haszprunar and Wanninger,2012 ; Wanninger and Wollesen, 2019 ; Kocot et al., 2020).

تتضمن رخويات المياه العذبة نوعين رئيسين ، أنواع مياه عذبة أولية (Primary freshwater species) وأنواع مياه عذبة ثانوية (Secondary freshwater species)، الانواع الأولية تتواجد حصرياً في موائل (Habitat)المياه العذبة والانواع الثانوية موزعة في موائل مصبات الأنهار والمياه العذبة . يقدر عدد رخويات المياه العذبة في العالم حوالي 5000 نوع موصوف أما الأنواع غير الموصوفة فتقدر حوالي 10000 نوع(Balian *et al*., 2007) . يمكن أن تهيمن الرخويات بسهولة على مجتمعات التيار القاعي (Johnson and Brown,1997) ، وغالباً ما تتجاوز 50% من الكتلة الحية للافقاريات ولأن تغذيتها تتم بالترشيح فهي تسهم بشكل كبير في جودة المياه عن طريق إزالة الجزيئات العالقة من الرواسب والمخلفات (Brown *et al*., 2008 ; Brown and Lydeard, 2010) . ووفقاً لـ Allen (1914a) يمكن للرخويات متوسطة الحجم ترشيح أكثر من ثمانية جالونات من الماء خلال مدة اربع ساعات . ويشار أحيانًا إلى رخويات المياه العذبة التي تتغذى على الترشيح بمهندسي النظام البيئي لإنَ أفرادها لها قدرة التأثير في البيئة التي حولها (Gutiérrez *et al*., 2003).

إن مكونات جسم الرخويات وصفاتها هي:-

القدم (foot) يقع في القسم السفلي من الجسم لتأدية عملية الحركة إذ يُعد عضو الحركة الرخويات والزحف والعوم. وتكون الاقدام بالعادة قصيرة ويحيط بها من الطرف الظهري خط الإلتصاق (Pallial line) الذي بدوره يفرز صدفة تكون إما جيرية أو كلسية متكونة من كربونات الكالسيوم. وتمتلك الرخويات قناة هضمية كاملة والفم مدعم بفكوك أو له جزء يعرف باللسان الذي يحمل أسنان مصفوفة ومرتبة تستعمل كالمبرد.في حين يتصف جهاز الدوران بقلب عضلي يتكون من البطين والأذين أو اذينان وبطين والدم عديم اللون أو مائل للاخضرار والاصفرار. وتملك اغلب الأنواع المائية الخياشيم لتقوم بعملية التنفس. أما الأنواع البرية فتتنفس عن طريق الرئة وأحياناً عن طريق (Pallial line) أو الطبقة الخارجية.ويكون الإخراج بواسطة الكلى ، أما جهازها العصبي يتألف عادةً من ثلاثة أزواج من العقد العصبية إذ تتصل بالحبال العصبية التي تكون طولية وعرضية متصلة بعضها ببعض وقد تمتلك بعضها أعضاء للمس وأخرى أعضاء للإبصار. تكون الأجناس منفصلة عادة وقد يكون بعضها الأخر خنثى مثل

القواقع الأرضية ،الإخصاب خارجي أو داخلي (Zala *et* ; Haszprunar and Wanninger, 2012 *al*., 2018)

2.1 تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR) للرخويات

يستعمل تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR) في تحديد وتصنيف الرخويات كون الطرق التقليدية صعب للغاية في المسح النوعي والكمي كما تتطلب خبرات تصنيفية، وفي سياق انخفاض الأنواع على نطاق واسع وخطر الانقراض ، تطلبت الحاجة إلى طرق مسح جديدة لتقييم تجمعاتها بشكل فعال عبر نطاقات مكانية واسعة ، خاصة عندما تكون القيود التمويلية واللوجستية مانعة لأساليب المسح التقليدية (Goldberg *et al*.,2016). يعد (PCR) اختبار إنزيمي يتيح تضخيم جزء معين من الحمض النووي من مجموعة معقدة من الحمض النووي ويستعمل لمجموعة متنوعة من المهام في الاستنساخ الجزيئي ، بما في ذلك تسلسل الحمض النووي ، وكشف الطفرات ، والحمض النووي البيئي (eDNA)، كما أوضح كاري موليس الذي وضع تصورًا لمقايسة تفاعل البلمرة المتسلسل " أنه يتيح لك اختيار قطعة الحمض النووي التي تهتم بها والحصول على القدر الذي تريده منه" (Mullis, 1990) ، تمت دراسة التصنيفية والتعرف الوراثي على المستوى الجزيئي لبعض انواع الرخويات في المناطق العراقية من قبل أشاروا إلى أن تصنيف وتشخيص الرخويات يكون أكثر دقة باتباع الطريقة الجزيئية ، نظرًا للاختلافات المورفولوجية الكبيرة بين الرخويات ، إذ إن تحديد التسلسل للحمض النووي هو واحد من أفضل طرق التشخيص للكائنات الحية. (Smolen,2009 ; Hussein *et al*.,2018 ; Aldoori *et al*.,2019).

3.1 الهدف من الدراسة Aim of study

1) تسجيل ووصف بعض أنواع ذوات المصراعين في المياه العذبة في بعض المناطق الوسطى في العراق ومعرفة فيما إذا كان هناك أنواع جديدة أو تسجيل جديد خلال الدراسة.

2) الكشف الجزيئي و اختبار استخدام البيانات الجزيئية لتحديد بعض أنواع ذوات المصراعين في العراق.

3) وضع مفاتيح تصنيفية للأنواع التي تم الحصول عليها .

4) تسجيل الأنواع الجديدة في العراق في بنك الجينات العالمي (NCBI) .

الفصل الثاني

استعـراض المراجـع

Literature Review

2 - استعـراض المراجـع Literatures Review

2-1 صنف ذوات المصراعين Bivalvia

إن ذوات المصراعين من أنواع الرخويات المائية الواسعة الانتشار التي تعيش في البحار والمياه العذبة وبمختلف الأعماق واسمها يشير إلى الحيوان نفسه إذ يصف ببساطة صدفتها أي طبقة الصدفة الخارجية إذ إنها عبارة عن نصفين متطابقين ومن الأمثلة عليها البطلينوس (Limpet) والمحار (Oysters) وبلح البحر(Mussels) ، شكل الأصداف لذوات المصراعين يكون متفاوت بصورة كبيرة ولكن تتميز جميعها بجسم مطوق بصدفة مؤلفة من قطعتين (مصراعين) وإنه مضغوط جانبياً. لا تملك ثنائيات المصراع رأس، ولها عضلات تتولى إغلاق المصراعين بإحكام عند الحاجة ، تتسع غلاصمها لأداء وظيفتين الأولى وظيفتها الأساسية وهي التنفس إذ تستخلص الأوكسجين أما الوظيفة الأخرى فهي التغذية وذلك من خلال تصفية المياه (Haszprunar and Wanninger, 2012).

تقضي بعض الأنواع حياتها ملتصقة بالسطوح الصلبة وهي تحفر في الصخر أو الخشب ويحفر بعضها الآخر جحوراً في رواسب القيعان الرخوة، في حين يعيش بعضها الآخر في القاع ، ويمكن أن تصل بعض ذوات المصراعين إلى أبعاد كبيرة وخاصة التي تتواجد في المحيطين الهادئ والهندي والبحر الأحمر (Gosling, 2008) . بالرغم من أن كل الرخويات من هذا النوع لديها التركيب الجسدي نفسه فإنه يوجد فيها كثير من الأشكال والأحجام، فبعضها نادراً ما يتعدى ملمترين مثل الصدفة البذرية الصغيرة الجسم ، في حين يبلغ طول الصدفة في بعض المحاريات العملاقة من نوع *Tridacna gigas* التي تقطن الشعاب المرجانية في المحيطين الهندي و الهادي متر ونصف و تزن أكثر من 225 كيلو جراماً (Richard,2002). في العراق لوحظ تواجد بعض أنواع ذوات المصراعين في عدة مدن منها بعض مناطق مدينة السليمانية والبصرة فضلاً عن تواجدها في الخليج العربي. وقد اكتشف في عام 2009 محار المياه العذبة في الأهوار من نهر العز ضمن أهوار محافظة ميسان للمرة الأولى في العراق إذ يعد هذا المحار من محارات المياه العذبة القاعية (Abdul-Sahib and Abdul-Sahib, 2009).

تمثل الدراسة الوراثية للـ Bivalvia فحص الميراث المزدوج للوالدين إذ يقدم حمض DNA للمايتوكوندريا رؤى جديدة حول تطور ذوات المصراعين من خلال اختلاف ترتيب الجينات للمايتوكوندريا بين الأجناس ولكن لايزال يتعين استكشافها ، إن توسيع فهمنا للعلاقات التطورية وتاريخ ذوات المصراعين سيوفران أساساً متيناً لدراسة علم الجغرافيا الحيوانية لهذه الكائنات الحية التي تعيش في المياه العذبة ، إذ توفر ذوات المصراعين منطقة خصبة لاختبار وتطوير النظريات التطورية (Bogan and Roe, 2008).

تعد ذوات المصراعي Bivalvia واحدة من أكثر المجموعات تواجداً ، إذ وجد أكثر من 8000 نوع تعيش في جميع أنحاء العالم وعلى الرغم من أن معظمها من الأنواع البحرية إلا أن حوالي 1300 نوع تعيش في المياه العذبة في جميع القارات باستثناء القارة القطبية الجنوبية (Ruppert *et al.*, 2005 ; Bogan ,2008). ، إن لصنفBivalvia الكثير من العوائل التي تعيش بالمياه العذبة وسوف نتكلم بإيجاز عن خمس عائلات رئيسة هي(Unionidae ، Margaritiferidae ، Hyriidae ، Sphaeriidae، Etheriidae)حسب ما ذكرها المصدر(2007) Graf and Cummings .

2-1-1عائلة Unionidae

تشتمل عائلة Unionidae أكثر من 753 نوع تنتمي لـ 153 جنسًا وهو أكثر تنوعًا من أي عائلة أخرى من ذوات المصراعين في المياه العذبة ، موزعة على نطاق واسع عبر النظم البيئية للمياه العذبة في أوروبا وآسيا وأمريكا الشمالية وأفريقيا(Graf and Cummings, 2007 ; Bogan and Roe, 2008; Graf and Cummings ,2021). تمت محاولة التصنيف الأول للـ (Unionidae) العالمية بوساطة (1836 و 1838 و 1852 و 1870) LEA ، الذي تم تحديثه لاحقًا بوساطة Simpson(1914) . تم دراسة الجرابيات (أي هيكل الخياشيم إذ يتم تحضين البيض واليرقات) والتشريح ونوع اليرقات وشكل Umbo كصفات تصنيفية رئيسة (Lopes-Lima *et al.*,2017a).

2-1-2 عائلة Margaritiferidae

تنتشرأنواع عائلة(Margaritiferidae)على نطاق واسع في نصف الكرة الشمالي وأوروبا وشمال إفريقيا وآسيا ، يوجد حوالي 30 نوعًا تعود لـ 12 جنسًا (Takeuchi *et al.*,2015 ; Simone, 2006 ; Bolotov *et al.*,2015).

إن علماء الرخويات لم يتعرفوا في البداية على(Margaritiferidae) كعائلة منفصلة (Simpson, 1914) ، ولكن سرعان ما تم قبولها من قبل معظم الباحثين منهم (Henderson,1929) وبما في ذلك في التصنيف الشامل الذي نشره Haas (1969a,b)، اذ اوضح أن عائلة (Margaritiferidae) متكونه من تسعة أنواع أي (خمسة أنواع وأربع نويعات) تحت جنس واحد *Margaritifera* مقسمة إلى أربعة أجناس ثانوية:(*Margaritifera* و*Cumberlandia* و*Margaritanopsis* و*Pseduni*).تعد سماتها التشريحية مميزة أكثر من أنواع عائلة (Unionidae) الأخرى بما في ذلك عدم وجود فتحات منفصلة عند اندماج الجبة ، وبنية خاصة للخيشومية والجرابية ، والشكل الكروي لليرقات (Lopes-Lima *et al.*,2018a).

3-1-2 عائلة Hyriidae

تتضمن عائلة (Hyriidae) حوالي 90 نوع تنتمي لـ 16 جنسًا ، العائلة لها توزيع منفصل إذ توجد في أمريكا الجنوبيةالعويلة (Hyriinae) وفي أستراليا العويلة (Hyridellinae).ويعود التصنيف الحالي لـ(Hyriidae) إلى (Parodiz and Bonetto(1963 واعتمد التصنيف على شكل الصدفة (الشكل الخارجي ، مخطط الغلاف) (Walker *et al*.,2014 ; Pereira *et al*.,2014).

4-1-2 عائلة Etheriidae

تعد أنواع عائلة (Etheriidae) أقل الأنواع تواجداً من بين جميع عائلات ذوات المصراعين في المياه العذبة الخمسة ، والتي تحتوي على أربعة أنواع فقط حديثة، ولها توزيع منفصل على نطاق واسع في أمريكا الجنوبية وأفريقيا وجنوب شرق آسيا (Graf, 2013).وتم تصنيف المجموعة بناءً على صفات الصدفة وموطنها (Ampofo-Yeboah *et al*.,2009).

5-1-2 عائلة Sphaeriidae

تتمثل عائلة (Sphaeriidae) بـ أربعة أو خمسة أجناس تضم 40 نوعًا ، ويتم توزيعها في جميع أنحاء العالم (Thorp and Rogers,2011)، تم وصف أول (Sphaeriid) من أستراليا من قبل Gould (1846) ، وتم إدراجها في القائمة المرجعية للقارة بأكملها من قبل Smith (1883). تتكون عائلة (Sphaeriidae) من ثلاثة أجناس هي:(*Musculium* و *Pisidium* و *Sphaerium*) (Colburn,2004).

2-2 المظهر الخارجي لذوات المصراعين External Morphology of Bivalvia

يتكون المظهر الخارجي لحيوانات ذوات المصراعين من الصدفة (Shell) وظيفتها تعمل كهيكل عظمي يتحكم فيه الحيوان بفتحه أو غلقه من خلال اتصاله بعضلات الحيوان من الداخل ومن ثمَ تحمي الحيوان ، كونه يختبىء بداخلها من الحيوانات المفترسة الأخرى وكذلك من التأثيرات البيئية الخارجية ، مكونها الرئيس كربونات الكالسيوم وتتكون من ثلاث طبقات هي :-

1. سمحاق خارجي رقيقيق يتكون من كونكولين مقرن (Horny conchiolin) .
2. طبقة موشورية متوسطة من الأرجوانيت أو الكالست (Aragonite or Calcite).
3. طبقة كلسية داخلية (لؤلؤية) تكون ذات ملمس ناعم ولون متقزح(Gosling, 2008 ; Bhattacharyya *et al*., 2010).

تتكون الصدفة من نصفين مستديرين غير متماثلين يسميان مصراعين (Valves) أيمن وأيسر، يرتبطان مع بعضهما من الجهة الظهرية بواسطة رباط مرن (Ligament) .

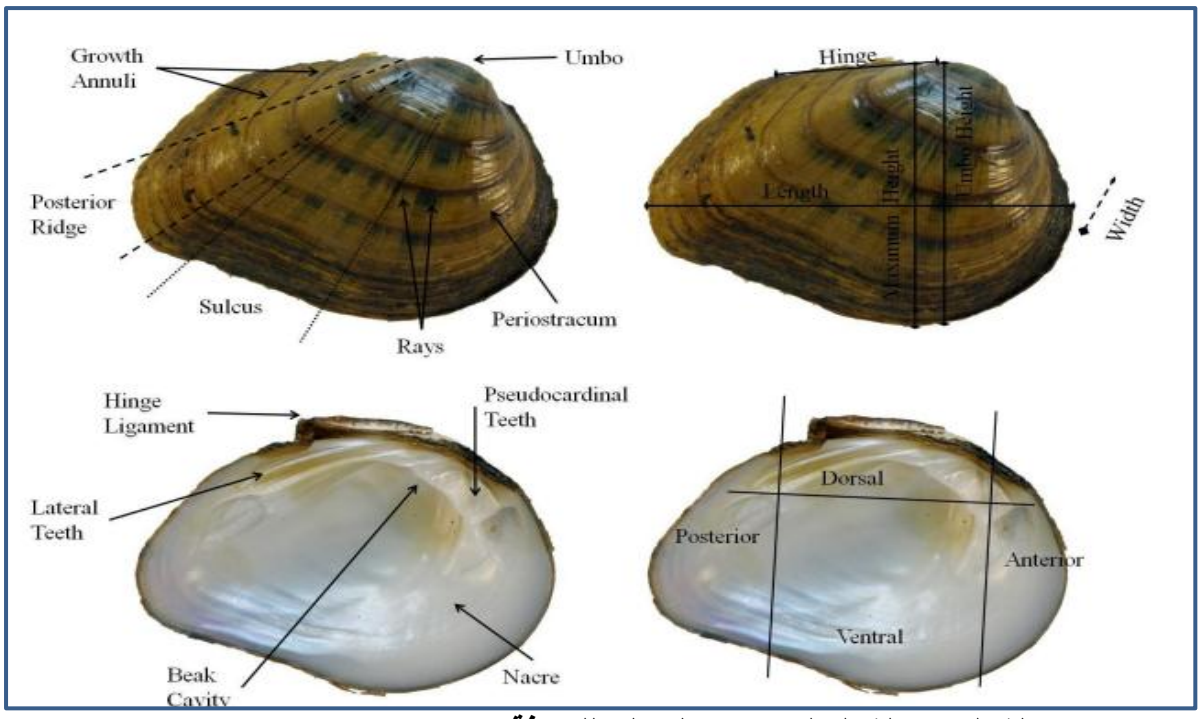
يتكون السطح الظهري للصدفة (Dorsal) من عدة أجزاء :-

- القمة (Umbo) أو ما تسمى المنقار (Beak) :- وتمثل المنطقة المرتفعة الظهرية المنتفخة من الصدفتين.
- منحدر خلفي(Posterior slope): - تمثل المنطقة الواقعة عبر الجزء الظهري للصمام الممتدة من القمة إلى الهامش الخلفي ، غالبًا فوق الحافة الخلفية.
- النتوء الخلفي(Posterior ridge) :- سلسلة من التلال على السطح الخارجي للصدفة ، تمتد من القمة إلى الجزء الظهري الخلفي .
- البثرة (Pustule) :- هيكل صغير مرتفع على السطح الخارجي للصدفة .
- الأخدود (Sulcus) :- ويكون على شكل ثلم طولي أو إنخفاض.
- الدرنة (Tuberculate): - أجسام صغيرة محدبة دائرية على السطح الخارجي للصدفة .
- خطوط النمو (Growth lines):- خطوط مدمجة متحدة المركز، تكون بارزة وواضحة عند الحواف الأمامية والخلفية وتتآكل عند باقي سطح الصدفة أو الصدفة كما في الشكل (1) (Stem, 1990 ; Bogan and Alderman, 2008).

أما السطح الداخلي للصدفة (Ventral) فتتكون من :

- أسنان جانبية (Lateral teeth):- وتمثل الهياكل الممدودة والمرتفعة والمتشابكة على طول الخط المفصلي للصمام .
- بين الأسنان (Interdentum):- وتمثل المنطقة المسطحة من الصفيحة المفصلية تقع بين الأسنان الكاذبة والأسنان الجانبية.
- الأسنان الأساسية الكاذبة (Pseudocardinal teeth) :- أسنان مفصلية مثلثة الشكل بالقرب من الحافة الأمامية الظهرية للصدفة.
- خط الإلتصاق (Pallial line) :- أخدود أو خط موازٍ تقريبًا للهامش البطني للصدفة تنظم أو تحدد خط العضلات التي تربط الجبة (Mantle)بالصدفة.
- التجويف القمي (Umbo cavity):- يمكن تمثيله بأنه منخفض ضحل يتكون من الإمتداد الظهري للقمة (Umbo) أو المنقار (Beak) كما في الشكل (1).

- ندبة العضلات (Muscle scar) :-تمثل منطقة تعلق العضلات داخل الصدفة(Stem, 1990 ; Bogan and Alderman, 2008).



الشكل (1) الشكل الخارجي والداخلي للصدفة (Schilling, 2015)

3-2 تصنيف ذوات المصراعين Classification of Bivalvia

ينتمي صنف ذوات المصراعين الى المملكة الحيوانية Animalia وينحدر هذا الصنف من شعبة النواعم (الرخويات) Mollusca التي تعد أكبر شعب اللافقريات بعد المفصليات ، إذ إن هذا الصنف يحتوي العديد من الرتب والعوائل والأجناس والأنواع المتواجدة في جميع البيئات البحرية والنهرية وفي المزروعات والحقول وحتى في بيئات الصحاري (Thorp and Rogers,2015).

منذ تصنيفBivalvia الى الآن لا يزال تصنيفها يفتقر الى العمل الجاد ويرجع سبب ذلك إلى الاستخدام غير الكافي للطرق المورفولوجية والبيانات الحيوانية المحدودة ، إن الطلب المقدم بوساطة العالم Starobogatov (1992) الذي يقوم على أساس الشكل الخارجي للصدفة والرباط والجسم اللين، يجب أن يحدد في العمل الحالي كونه مقبولاً من قبل العلماء الغربيين ويستند إلى دراسات علم الوراثة الحالية باستخدام الجزيئات المعقدة والمناهج المورفولوجية (Walker *et al.*,2006 ; Graf and Cummings,2007 ; Graf, 2013).

نتائج هذه الدراسات في جزء كبير منها لم تدعم الأنظمة السابقة لتجميع الأجناس في العائلات ، بما في ذلك تلك التي طورها Modell (1964) و Starobogatov (1970) على أساس الصفات التشريحية المنطقية والمختارة من الكونغو. كان هذا هو الحال على وجه الخصوص لحجم عائلة Margaritiferidae. توجد ذوات المصراعين في المياه العذبة في ثلاثة أصناف فرعية مختلفة ، مقسمة إلى خمس رتب منفصلة ومقسمة فيما بينها إلى 19 عائلة داخل صنف (Deaton and Bivalvia Greenberg, 1991).

تقليدياً ، صنّف علماء التصنيف بلح البحر في المياه العذبة في كل منها الأنواع والأجناس والفئات التصنيفية بناءً على الشكل الخارجي Morphology للصدفة (Kat,1983). حدثت المراجعات لتصنيف بلح البحر عبر الزمن عندما أدرج علماء الطبيعة الصفات المظهرية الإضافية مثل التشريح الناعم ومورفولوجيا اليرقات وخصائص تاريخ الحياة ، أوصاف أنواعهم و تطلب التعرف على أنواع بلح البحرفي المياه العذبة استخدام الخصائص الشكلية مثل شكل الصدفة ، والملمس ولون السمحاق ، وأنماط الأشعة ، ولون القدم ، ولون الصدفة ، ومحاذاة وهيكل الأسنان الكاذبة والجانبية(Williams *et al*. 2008 ; Jones and Neves 2010).

سمحت كذلك علامات الحامض النووي الجزيئي للعلماء في تحليل السلالات متعددة الطبقات ، ولا سيما للأنواع المتشابهة (Campbell *et al*.,2005) . يعد بلح البحر في المياه العذبة المجموعة التصنيفية الأكثر تعرضًا للخطر في شمال أمريكا (Williams *et al*., 1993 ; Neves *et al*., 1997). من بين 297 نوعًا معترفًا بها في العائلات Unionidae و Margaritiferidae في أمريكا الشمالية ، 213 – أي ما يقرب من 70 ٪ تعد المهددة بالانقراض أو المهددة أو التي تثير قلقًا خاصًا (Williams *et al*., 1993) . معدلات الانقراض لأصناف المياه العذبة أكبر بخمس مرات من تلك الخاصة بالموائل(Habitat) الأرضية ومماثلة للمعدلات في مجتمعات الغابات الاستوائية المطيرة (Ricciardi and Rasmussen, 1999).

4-2 التشريح الداخلي لذوات المصراعين Internal anatomy of Bivalvia

تعد الدراسات التشريحية أكثر أهمية في الرخويات ، لأنها حيوانات رخوة الجسم. خضعت هذه الحيوانات لعملية إعادة تنظيم غريبة لتشريحها الأساس، إذ يشكل التنظيم التشريحي النمط الأساس للحياة لمعرفة الحيوان ، علم التشريح ضروري في دراسة العلاقة المتبادلة مع الأنواع المتحالفة والبيئة إذ يحتاج تشريح الرخويات ذات الصدفتين إلى فهم كبير و معرفة دقيقة ومن ثم ، فهم نمط حياة المياه العذبة

لجسمها الناعم، تمت دراسة التشريح الداخلي لذوات المصراعين في أواخر القرن التاسع عشر وأوائل القرن العشرين ، ولكن يتم تجاهلها إلى حد كبير اليوم(Kraemer, 1984 ; Smith, 2000).

2-4-1 الجبة Mantle

عضو يتألف من النسيج الضام والأنسجة العصبية والعضلات بالإضافة إلى المكونات الغدية والظهارية التي تشارك في إفراز الصدفة (Clark *et al*., 2010). في ذوات المصراعين ، تتكون الجبة من طبقتين من الأنسجة يغطيان الحيوان بالكامل داخل الصدفة ،إذ يكون رقيقاً وشفافاً ولكن حوافه عادة ما تكون قاتمة اللون ، التي ربما توفر الحماية من الآثار الضارة من الإشعاع الشمسي . تتكون الجبة من نسيج ضام مع الأوعية الدموية والأعصاب والعضلات الجيدة بالقرب من حافة الجبة ، إن الأهداب الموجودة على السطح الداخلي للجبة تلعب دورًا مهمًا في توجيه وانحراف الجزيئات والمغذيات إلى الخياشيم بإتجاه المدخل (Seed, 1971).

تحتوي حافة الجبة على ثلاث طيات لكل منها وظيفة محددة، الطية الخارجية (Outer fold) تفرز الطبقة الجيرية الخارجية من الصدفة و السمحاق ، أما الطية الوسطى (Middle fold) فهي تحمل المجسات والأعضاء الحسية ، في حين الطية الداخلية (Inner fold) تحتوي على عضلات نصف قطرية تلتصق بالجزء الداخلي من الصدفة على طول خط الإلتصاق (Pallial line) موازية للهامش البطني ، تتحكم في تدفق المياه داخل تجويف الجبة وخارجه . في ذوات المصراعين في المياه العذبة ، اندمجت حافة شحمة الجبة في مكان واحد عند النهاية الخلفية لتجويف الجبة لتشكيل فتحة صغيرة من خلال القدم المبثوقة إذ يمر التيار المستنشق (Sullivan,1961 ; Füllenbach, 2016) ، وغالبًا ما تحتوي حافة الجبة على مخالب كما في البطلينوس، لا تحتوي حافة الجبة على مجسات فحسب ، بل تحتوي أيضًا على العديد من الأعضاء الحساسة للضوء (العيون) (Helm and Bourne, 2004).

2-4-2 الخياشيم Gills

هي عبارة عن أعضاء كبيرة تشبه الأوراق تُستخدم جزء للتنفس والجزء الآخر لتصفية الطعام من الماء ، يوجد زوجان من الخياشيم على كل جانب من الجسم في النهاية الأمامية للحيوان (Helm and Bourne, 2004). يمكن القول إن الخياشيم في ذوات المصراعين ، هما هيكلان شبيهان بالستائر، إذ يتدلى من محورها ، الذي يندمج على طول الهامش الظهري للجبة ، يوجد داخل محور الخياشيم عصب خيشومي وارد وأوعية دموية لمفية خيشومية صادرة ، كل خيشوم يتكون من العديد من الخيوط على شكل حرف W أو حرف V مزدوج ، يُعرف كل حرف V باسم (Demibranch) ، أي

يتكـون كـل خيشـوم مـن طيـة مزدوجـة مـن الأنسـجة ، وتسـمى كـل طيـة الصـفيحة (Lamella) . (Gosling, 2008)

2-4-3 القدم Foot

تعد قاعدة الكتلة الحشوية هي القدم في الأنواع مثل المحار ، وتعد عضوًا متطورًا جيدًا يستخدم للحفر وترسيخ الحيوان في موضعه ، أما في الأسقلوب وبلح البحر يكون أقل تطوراً ، وقد يكون له وظيفة ضعيفة في البالغين ولكن في مراحل اليرقات والصغار يكون مهمًا ويستخدم للتنقل (Helm and Bourne, 2004). وتستخدم ذوات المصراعين في المياه العذبة القدم التي تكون ذات عضلات قوية ومرنة للحركة أو الحفر أو التثبيت في الركيزة أو بين شقوق الصخور(Jennings, 1998) ، شكل (2).

2-4-4 الجهاز الهضمي Digestive system

يتكون الجهاز الهضمي لذوات المصراعين النموذجية من المريء والمعدة والأمعاء (Narchi and Galvão-Bueno, 1997) ، كما في شكل (2) . تقوم الخياشيم الكبيرة بتصفية الطعام من الماء وتوجيهه إلى الملامس الشفوية (Labial palps) التي تحيط بالفم ، إذ يمرر الطعام إلى الفم . تتمتع ذوات المصراعين بالقدرة على اختيار الطعام المصفى من الماء ، ينقل المريء القصير الطعام الرغوب من الفم إلى المعدة ، وهو كيس مجوف ذو حجرة يحوي عدة فتحات. المعدة محاطة تمامًا بالرتج الهضمي (Digestive diverticulum) (الغدة) ، وهي كتلة داكنة من الأنسجة تسمى غالبًا "الكبد". تؤدي الفتحة من المعدة إلى الأمعاء شديدة الالتواء التي تمتد إلى القدم في المحار وإلى الغدد التناسلية في الأسقلوب ، وتنتهي في المستقيم وفي النهاية فتحة الشرج. وهناك فتحة أخرى من المعدة تؤدي إلى أنبوب مغلق يشبه الكيس يمكن أن يصل طوله إلى ثمانية سم في بعض الأنواع ، إذ يُعتقد أنه يساعد في خلط الطعام في المعدة ويطلق الإنزيمات التي تساعد على الهضم (Helm and Bourne, 2004).

2-4-5 جهاز الدوران Circulatory System

تتمتع ذوات المصراعين بنظام دوري بسيط يصعب تتبعه، ويقع القلب في جوف التامور(Pericardial cavity) كما في شكل (2) ، إذ يتكون من أذينين غير منتظمين وبطين، إذ يتدفق الدم المؤكسج داخل الخياشيم إلى الأذين ومن هناك إلى البطين ، إذ يتم ضخه في الشريان الأبهر الأمامي والخلفي. ثم يدخل الدم المساحات الدموية في الجبة والكتلة الحشوية ويعود إلى القلب عن طريق الخياشيم أو الكلى. يعمل الدم على نقل الأكسجين ومنتجات التمثيل الغذائي إلى الأنسجة العميقة داخل الجسم

وكهيكل هيدروستاتيكي متصلب (على سبيل المثال ، في امتداد القدم أثناء الحركة والسيفونات أثناء التغذية) ويحمل الدم إلى جميع أجزاء الجسم ، أما الجهاز الوريدي عبارة عن سلسلة معقدة من الجيوب الأنفية رقيقة الجدران التي من خلالها يعود الدم إلى القلب(Helm and Bourne, 2004 ; Morton,2020).

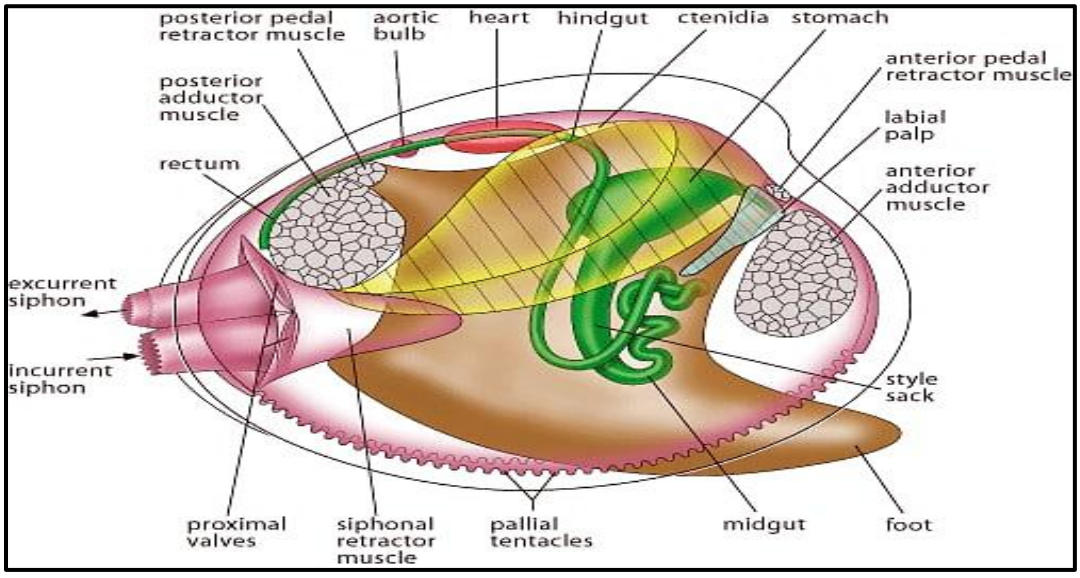
6-4-2 الجهاز العصبي Nervous system

يتكون الجهاز العصبي بشكل أساس من ثلاثة أزواج من العقد ذات الروابط هي العقدة الدماغية (Cerebral ganglia) التي تمر فوق المريء والعقدة الدواسة (Pedal ganglia) القريبة من القدم والعقدة الحشوية (Visceral ganglia) التي تقع تحت المستقيم (Helm and Bourne, 2004). ترتبط عقدة الدواسة والعقدة الدماغية عن طريق وصلات الدواسة الدماغية ، ترتبط العقد الحشوية أيضًا بالعقدة الدماغية الجنبية عن طريق الوصلات ، ويتكون الجهاز العصبي لرتبة Unionidea من العقد المزدوجة فقط ، تمثل المفاصل (الأعصاب التي تربط بين عقدتين متشابهين) ، أما الوصلات (فهي الأعصاب التي تربط اثنين من العقد غير المتشابهة) . في الواقع يتقلص الجهاز العصبي في رتبة Unionidea إلى حد كبير بسبب نمط الحياة الخامل والركود(Dhanalakshmi, 2016).

7-4-2 الجهاز التنفسي Respiratory system

تحتوي الصدفة على الخيوط الخيشومية ، وهي نتوءات شبيهة بالريش وغنية بالدم والأوعية الدموية ، التي لها دور في التنفس ، والترشيح وفرز الطعام ، والتكاثر(Hornbach 1996). تتكون الخياشيم اليمنى واليسرى من محور أمامي يمتد على طول الأمعاء إذ تمتد العديد من الخيوط الطويلة والرفيعة الداخلية والخارجية بشكل جانبي من المحور، (Gardiner *et al*., 1991) .

إن ذوات المصراعين البدائية ، تكون خياشيمها المزدوجة صغيرة ويكون موقعها في الخلف. تتضخم الخياشيم في جميع ذوات المصراعين (باستثناء Septibranchs ، التي تكون فاقدة لخياشيمها) إلى حد كبير إذ تمتلك مساحة سطح ضخمة، ويُعتقد أيضاً أن الخياشيم تؤدي وظيفة الجهاز التنفسي ، إذ تعد متطلبات الجهاز التنفسي منخفضة لهذه الحيوانات غير النشطة غالباً ، وبما أن الجسم والجبة يغمران كلاهما بالماء ، فمن المحتمل أن يكون التنفس خلال هذه الأسطح أيضًا. وقد تم إثبات مثل هذه الآلية لعدد قليل من ذوات المصراعين ، وأبرزها أنواع المياه العذبة المعرضة للجفاف في بعض الأحيان(Gosling, 2008).



الشكل (2) التشريح الداخلي لذوات المصراعين (Mikkelsen and Henne, 2011).

5-2 التغذية لذوات المصراعين Nutrition(Feeding) of Bivalvia

تتمثل التغذية لذوات المصراعين في المياه العذبة من تصفية الطحالب والعوالق النباتية والمخلفات العضوية الدقيقة والبكتيريا (Frischer *et al*.,2000). إن ذوات المصراعين تحتوي على الأهداب الموجودة على بشرة الجبة Mantle، إذ تساعد تلك الأهداب في حبس الطعام في المخاط وتمريره إلى الملامس الشفوية (Miller and Nelson, 1983). (Labial palps) ، تعتمد التغذية في ذوات المصراعين على النموذج العام للتغذية المعلقة التي شوهدت في مجموعات اللافقاريات الأخرى. إذ يتم توليد تيار مائي من خلال تجويف الجبة ويتم سحب المياه عبر الفتحة ويمر التيار عبر المسام في الفراغات بين الخياشم ومن ثم إلى المساحات فوق الخياشم ويخرج من الفتحة الزائدة. يتم التقاط جزيئات الطعام وغيرها المعلقة في التيار العابر الوارد بواسطة الخياشيم ، ويتم فرزها جزئيًا وتمريرها إلى الأمام لمزيد من الفرز والابتلاع. يتشابه كثيرٌ من هذه العملية بين ذوات المصراعين التي تتغذى على التعليق ، ولكن في العديد من سلالاتها في المياه العذبة ، تتعطل الميكانيكا إلى حد ما خلال فترة الحضانة في الإناث (Cummings and Graf.,2010).

يتغذى بلح البحر عن طريق تصفية المواد من الماء بخياشيمها الواسعة ، التي تكون كثيرة ويكون استخدامها أكبر مما هو مطلوب للتنفس ، وتحتوي الخياشيم على حجم شبكي جيد يدل على تفضيلها عناصر غذائية دقيقة . لم يتم تحديد المكونات الطبيعية لغذاء بلح البحر بشكل كامل (Van Hassel and Farris, 2006)، بينما وجد Allen (1914b , 1921) و Churchill and Lewis (1924) و Fikes (1972) أن الجهاز الهضمي(القناة الهضمية) لبلح البحر في الغالب تحتوي على الطحالب

والدياتومات .في حين (1972) Imlay and Paige كانا يعتقدان أن تغذية بلح البحرتكون على البكتريا وبدائيات النوى (Protozoans). لكن (1984) Bisbee وجد نسب متفاوته من أنواع الطحالب في القناة الهضمية لاثنين من أنواع بلح البحر، مما يشير إلى التفضيلات بين الأنواع . وكانت الدراسة الشاملة لـ Nichols and Garling (1998) أن بلح البحر كان من الحيوانات آكلة اللحوم ، ويتغذى على المخلفات والعوالق الحيوانية ، وكذلك على الطحالب والبكتيريا . إن البالغين من ذوات المصراعين وحديثي الولادة لا يتغذون على المادة نفسها ، إذ اليافعة المتحولة حديثًا لا تتغذى بخياشيمها (وهي مجرد براعم في هذه المرحلة) بل تتغذى على المغذيات الخلالية باستخدام الأهداب الموجودة على القدم والرداء الخاص بهم وفي نهاية المطاف ، يتم تشكيل الخياشيم الوظيفية ، وهناك يتغير وضع التغذية بالترشيح(Tankersley *et al.*, 1997) ، ربما عن طريق التغذية على البكتيريا والعوالق الحيوانية والمغذيات الدقيقة ، ينمو حديثو الولادة بشكل أفضل ويتمتعون ببقاء أعلى عند إطعامهم نظامًا غذائيًا عاليًا من الدهون(Gatenby *et al.*, 1997). تشمل المواد الغذائية لبلح البحر العوالق النباتية والبكتيريا والمخلفات ومواد عضوية مذابة ، يتكون طعام بلح البحر من المياه العذبة من النباتات الدقيقة وبدائيات النوى والمواد العضوية الذائبة إذ يساعد الجهاز التنفسي بجلب جزيئات الطعام عبر التيار إلى تجويف الجبة وعند دخوله التجويف يصبح تيار الماء بطيئًا وتغرق الجسيمات الثقيلة وتنتقل إلى المنطقة الخلفية تمر الجسيمات الأصغر مع التيار فوق خيوط الخياشيم (Ctendia) ، تؤدي الأهداب المختلفة للخيوط الخيشومية وظائف مختلفة ، تتسبب الأهداب الجانبية في دخول التيار المحمّل بالغذاء إلى تجويف الجبة ، أما الأهداب الأمامية الجانبية فتعمل على انحراف جزيئات الطعام الدقيقة عن الشعيرات وتمنع الجسيمات الكبيرة من انسداد الخياشيم ، ثم تجمع الأهداب الأمامية الجسيمات وتمررها أعلى أو أسفل سطح الخياشيم في أخاديد الطعام ، الخياشيم تنتج مخاطًا تتشابك فيه جزيئات الطعام لتشكل كتل خيطية ، التي تمر على طول أخاديد الطعام الظهرية والبطنية باتجاه الفم ، توجه أهداب الملامس الشفوية المخاط المحمّل بالطعام على طول الأخاديد الفموية المهدبة إلى الفم ، إذ الملامس الشفوية لها وظيفة فرز الطعام ونقله إلى الفم ، ويمكن لبلح البحر أيضًا رفض بعض جزيئات الطعام غير المرغوبة وتحويلها نحو الخارج عبر التيار(Dhanalakshmi, 2016).

6-2 حركة ذوات المصراعين Locomotion of Bivalvia

يشكل القدم (Foot) الجزء الأمامي من الجسم التي يمكن أن تمتد خارج الصدفة ، ويؤدي تقلص هذا العضو العضلي وتوسيعه إلى تمكين الحيوان للتنقل أو الحفر أو التثبيت في الموائل (Habitat) أو بين شقوق الصخور في قاع النهر أو البحيرة ، إذ تزحف العديد من ذوات المصراعين الصغيرة مسافة كبيرة قبل أن تحدد موطنًا مناسبًا وتستقر، في حين تقل القدرة على الحركة عند البالغين ، تتحرك بعض

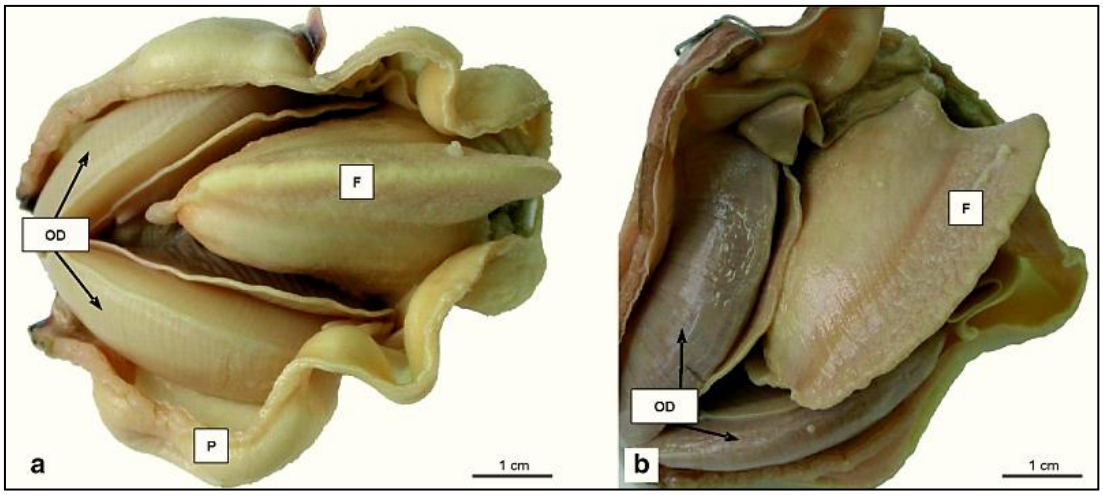
الأنواع عدة أقدام في الساعة ، إذ تسير بشكل مسار ممدود يشبه الحوض الصغير أو الأخدود ، وهو ما يمكن ملاحظته في القيعان الرملية من خلال الموج ، يتم الزحف بواسطة شد القدم ، وتثبيت طرفها بالمخاط أو برابط عضلي ، ثم انقباض عضلات القدم التي تسحب الجسم للأمام ، إن فتح الصمامات وإغلاقها مع تقلص وتمدد العضلات في القدم وماحولها تمكن الحيوان من الحفر. (Jennings, 1998) . ذوات المصراعين يمكن أن تتحرك لمسافات قصيرة ، أفقيًا وعموديًا في الركيزة ، هي تفتقر إلى الهيكل العظمي الداخلي المفصلي ، لكنها تستطيع الحفر باستخدام كل من الصدفة والهيكل الهيدروستاتيكي كمرساة ، ويمكن للأشكال الصغيرة استخدام المخاط للتحرك على طول الأسطح الصلبة(Thorp and Rogers,2015)، تُظهر ذوات المصراعين عدد محدود من التحركات الحركية ، بما في ذلك سلوك القفز على السطح ، والحركة فوق سطح الركيزة ، والسباحة ، والهجرة ، وسلوك الحفر ، وهي الأكثر انتشارا في كل مكان ، التي تمت دراستها في مجموعة كبيرة من الأنواع (Maurer *et al.*,1981 ; Alexander *et al.*,1993 ; Tallqvist,2001).

يلعب الحفر دورًا مهمًا في تاريخ حياة اللافقاريات ذات الرواسب اللينة ، لأنه يمكّن الأفراد من الهروب من الظروف غير المناسبة مثل الإزاحة والافتراس (Tallqvist,2001). المحار في المياه العذبة من اللافقاريات الكبيرة التي تستخدم قدمها العضلية للتحرك والحفر في الرواسب (Allen and Vaughn, 2009)، معظم ذوات المصراعين في المياه العذبة تعيش مدفونة في الطبقة السفلية إذ يمكنها التحرك بفضل قدمها العضلية ويمكنها إزالة كميات كبيرة من الماء، وكذلك يمكن أن تتسلل بين الحشائش والصخور (Araujo and De Jong,2015). وإن آلية الحركة تتضمن فتح الصمامات التي تضغط على الركيزة كمرساة إختراق (Penetration anchor) ، وإطالة القدم وتوسيع طرفها البعيد الذي يعمل كمرساة نهائية (Terminal anchor) ، وإغلاق السيفون وتقريب الصمامات وانحسار القدم التي تسحب الصدفة إلى الرواسب (Trueman,1983).

7-2 التكاثر ودورة الحياة Reproduction and life cycle of Bivalvia

التكاثر هو أحد السمات البيولوجية الرئيسة للكائنات الحية. إن توقيت ومدة التكاثر قد تتأثر بالعوامل الخارجية المتنوعة مثل درجة الحرارة والملوحة والغذاء والضوء ، إلى جانب عوامل داخلية مثل دورات الغدد الصماء العصبية والنمط الجيني (Van Woesik *et al.*,2006) ، وأن نمط التكاثر لدى ذوات المصراعين غير عادي ومعقد ، والذي يتضمن منها مرحلة طفيلية في دورة حياتها إذ تلتصق اليرقات بمضيف فقاري (عادة سمكة) لتتحول إلى محار صغير(Modesto *et al.*,2018).

تختلف دورات حياة ذوات المصراعين في المياه العذبة كما هو متوقع من سلالات مختلفة . إذ لدى رتبة Unionida دورات حياة معقدة تتضمن مضيفًا (أو مضيفين) وسيطًا ، أما الرتبتين Sphaeriid و Corbiculid التي تقطن في المياه العذبة فهي تحضن صغارها ، ورتبة Dreissenid لها طور اليرقات (Veliger) الذي تعيش بشكل حر(Cummings and Graf.,2010). تم وصف التركيب النسيجي للغدد التناسلية والدورات التناسلية ، على الأقل جزئيًا من قبل (Labecka and Domagala 2018) كما موضح في الشكل (3).



الشكل(3) التركيب النسيجي للغدد التناسلية والدورات التناسلية: (F) عضلة القدم ،(OD) الأجزاء الخارجية،(P) الباليوم (pallium)، شكل a : يمثل المقطع العرضي ، شكل b: يمثل المقطع الطولي .(Labecka and Domagala,2018)

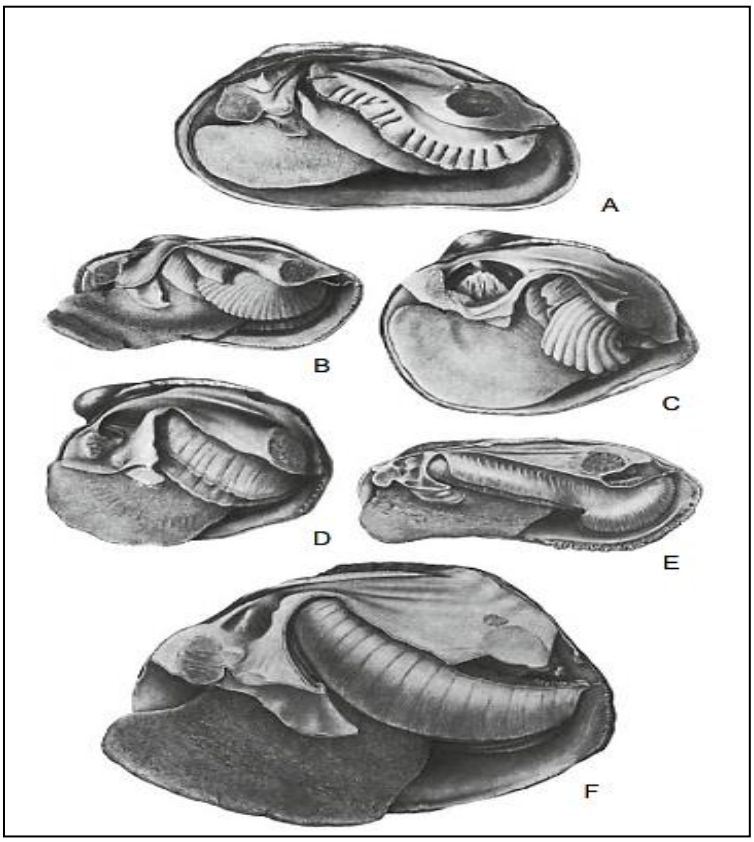
السمات الرئيسة لتكوين الحيوانات المنوية هي نفسها على نطاق واسع بالنسبة للافقاريات والفقاريات ، ولكن هناك العديد من التعديلات في هذا المسار ، حتى داخل Mollusca. وهذا يجعلها مثيرة للاهتمام بشكل خاص في سياق الدراسات النسيجية والجزيئية والتطور . (Heard,1975 ; Haggerty *et al*.,1995 ; Haggerty and Garner,2000).

في أحد الأنواع ، تشكل الخلايا الموجودة في الظهارة المنوية (أي الحيوانات المنوية ، والخلايا المنوية الأولية ، والخلايا المنوية الثانوية) مجموعات وتتطور من القاعدة نحو التجويف الجريبي ، تم تصنيف النوع الثاني من تكوين الحيوانات المنوية ، الذي يتم فيه إطلاق الحيوانات المنوية من الهياكل الكروية متعددة النوى ، على أنها عملية غير نمطية (يشار إليها أيضًا باسم شاذة وغير طبيعية. (Heard,1975 ; Kotrla,1989 ; Matos *et al*.,1998)

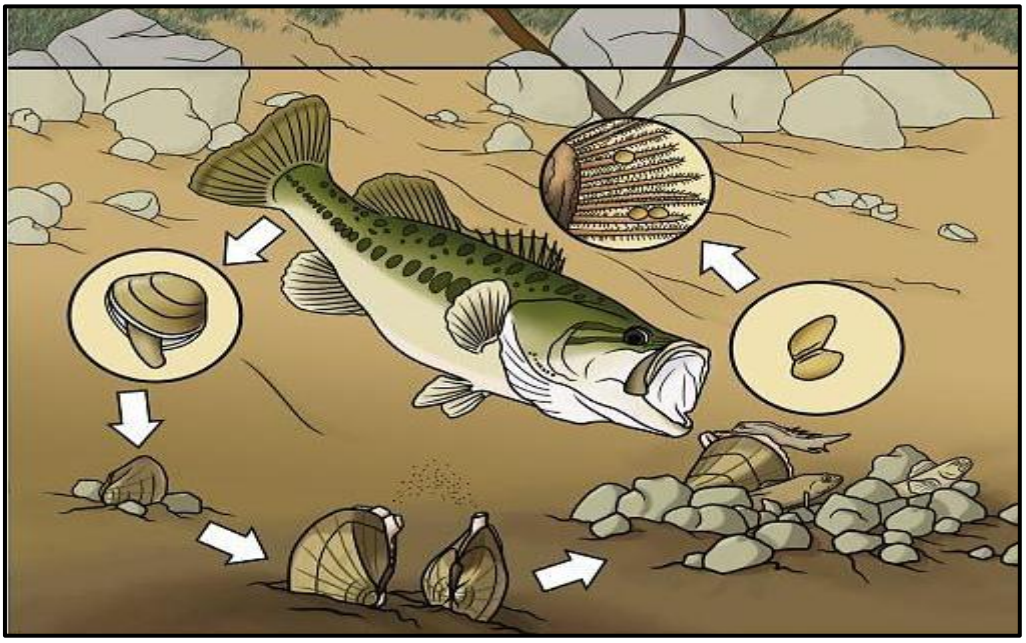
إن جميع ذوات المصراعين في المياه العذبة تكون تحت رعاية الوالدين في شكل حاضنة لليرقات في الجرابيات المشتقة من (Ctenidia) ، ويمكن اعتبار (Ctenidia) كأعضاء جنسية ملحقة (Mackie,1984) ويبث المحار ذو المصراعين النموذجي الأمشاج (الحيوانات المنوية أو البويضات) إلى الوسط المحيط ويكون الإخصاب خارجيًا (Brusca and Brusca ,2003). تتطور البيضة الملقحة إلى مرحلة يرقات (Veliger) التي يمكن أن تبقى في العوالق لفترة طويلة وتعمل التيارات السائدة على نقلها إلى بيئة مماثلة في مجرى المياه العذبة وتكون بعيدًا عن الموطن الأبوي إلى أسفل تدرج (بيئي أحادي الاتجاه) ، وينتهي باليرقات العوالق في نهاية المطاف في مصبات الأنهار. وإن المياه العذبة أقل طفوًا من المياه المالحة (Yokley,1972).

ومن خلال النمو الجنيني يمكن لذوات المصراعين في المياه العذبة أن تقرر المصير المبكر لصغارها بالاعتماد الذاتي على أمهاتهم ، ويمكن للأمهات استكمال العناصر الغذائية والمعادن المتاحة لأبنائهن. (Nichols,1996 ; Morton,1996) ، من بين ذوات المصراعين التي يتم تعديل (Ctenidia) لتكون بمثابة غرف حاضنة ،إذ أن الاختلافات التشريحية والسلوكية بين Unionoidea و Sphaeriidae كبيرة ، إذ تحضن المحار في المياه العذبة وتطور اليرقات إما في مراحل الحياة الأربعة (Free glochidia , Encysted glochidia , Juveniles , Adults) أو الأجزاء الخارجية (الجانبية) فقط (أو جزء محدود من الأجزاء الخارجية). لطالما اعتبرت الخصائص المرتبطة بمورفولوجيا الحاضنة ومدتها ذات أهمية تصنيفية (Ortmann,1911 ; Lydeard *et al*.,1996). ويوضح الشكل (4) مجموعة متنوعة من الحاضنة لعائلة Unionidae .

بعض أنواع المحار يطلقون البيض في الماء ، في حين تتجمع البيوض على شكل كريات في حزم حرة لتطفو على شكل كتل تلتصق بخياشيم الأسماك المضيفة التي تحاول أكلها وتستقر بالخياشيم وتتطور إلى اليرقات وتنتشر كطفيليات خارجية ملزمة على الأسماك المضيفة لاستكمال النمو، وبعد بضعة أسابيع ، يسقط المحار الصغير المتشكل بشكل مثالي من الخياشيم وإذا هبط في موطن مناسب ، سينمو محار جديد ليصبح الجيل التالي ويمكن أن يعيشوا لمدة 48 إلى 50 عامًا على الأقل(Graf and Foighil,2000 ; Barnhart *et al*., 2008 ; Haag,2012 ; Moss *et al*.,2021) ، ويوضح الشكل (5) دورة حياة المحار .



الشكل (4) أشكال الحاضنة لأنواع مختلفة من المحار في المياه العذبة(Unionidae) (A) *Ptychobranchus fasciolaris* و *Ligumia subrostrata* (B) و *Obliquaria reflexa* (C) و *Fusconaia ebena* (D) و *Ligumia recta*(E) و *Lasmigona Complanata* (F) و (Cummings and Graf,2010).



الشكل (5) دورة الحياة للمحار في المياه العذبة(Thorp and Rogers,2015)

8-2 بيئة ذوات المصراعين Environment of Bivalvia

تعيش ذوات المصراعين في القاع السفلي من البحار والأنهار ، وتعد أعضاء مهمة في مجتمعات المياه العذبة التي تؤدي أدواراً بيئية مهمة (Vaughn, 2018). باستثناء بعض الاختلافات البيئية بين الكائنات البحرية وكائنات المياه العذبة ، فإن أنواع المياه العذبة تشبه بشكل عام الأنواع البحرية ، على الرغم من أنها أقل ألوانًا ، وتختبىء بين حبيبات الرمل والحجارة (Mansur, 2007). يمكن العثور على ذوات المصراعين في المياه العذبة في جميع البيئات الدقيقة والناعمة تقريبًا ، وتحتل أماكن مختلفة والغالبية منها تحفر بين الرواسب (Pereira *et al*., 2014) . وإن المحار في المياه العذبة من بين أكبر اللافقاريات وأطولها عمرًا في الأنهار والبحيرات (Burlakova *et al*.,2014).

تعد ذوات المصراعين من رتبة Unionida ، والمعروفة أيضًا باسم بلح البحر في المياه العذبة ، من العناصر الأساسية في النظم البيئية المائية ، ومع ذلك، هذه المجموعة من الحيوانات ، مثل معظم الأنواع الأخرى في النظم البيئية للمياه العذبة ، تتناقص بشكل كبيرفي العقود الماضية ، مع العديد من حالات الانقراض التي تم الإبلاغ عنها (Lopes-Lima *et al*., 2014 , 2018b) . نظرا لدور ذوات المصراعين البيئي المهم ، إذ تكون ذات حساسية عالية تجاه جودة البيئة والمياه والرواسب ، في حين بعض أنواع بلح البحر في المياه العذبة تفي بمعايير المؤشرات الرئيسة ، مما يجعلها أهدافاً مهمة لرصد البيئة والمحافظة عليها (Geist, 2010) ،ويرجع سبب الحساسية العالية لبلح البحر في المياه العذبة إلى العوامل البيئية التي يمكن أن تنشأ على مستويات مكانية مختلفة ، ليس فقط محليًا ولكن إقليميًا أيضًا مثل استخدام الأراضي والتأثير الجيولوجي على منطقة تجمعات المياه بأكملها، كما يحظى بلح البحر في المياه العذبة بتقدير كبير لندرتها وجمالها وسلوكها المثير للاهتمام (Strayer, 2017) ،يعد بلح البحر ذا أدوار فريدة وحاسمة في أداء النظام البيئي ، من خلال امتلاكهم الكتلة الحيوية العالية في العديد من الموائل(Habitat) ، ويمكن أيضًا اعتبارهم مهندسي النظام البيئي بسبب آثارهم الفيزيائية الكبيرة في ذلك النظام (Gutierrez *et al*., 2003) .

يعد بلح البحر نوع *Unio delphinus* الذي يقطن في المياه العذبة ، والذي كان يعد أ كثر سلالة منتشرة لصور *Unio* الأوروبية الشائعة حتى تم التعرف عليها مؤخرًا كنوع موصوف (Araujo *et al*., 2009). إذ يعانى *Unio delphinus* بشكل أساسي من انخفاض في النطاق خلال العقود السابقة بسبب التأثير على الموائل(Habitat) وتدهورها من خلال التلوث والتغيرات في النظام الهيدرولوجي بسبب نقص المياه ووجود السدود وسوء إدارة الأنهار (Araujo, 2011) .

إن ذوات المصراعين وخصوصاً بلح البحر كائنات ثابتة نسبيًا والتي تسكن كمجاميع متنوعة في الأنهار والبحيرات المستقرة ، مثل الرمال والحصى والصخور، أو مزيج من هذه المواد إذ تتطلب أنواع مختلفة من بلح البحر أنواعًا مختلفة من أماكن البيئة (Cummings and Mayer, 1992). يختبئ بلح البحر في البيئة الرملية والطينية للجداول والبحيرات وعادة ما تترك بعض أو كل أصدافها مكشوفة فوق سطح تلك الترب ، إذ يحتاج بلح البحر إلى بيئة مستقرة للإختباء ونوعية مياه متدفقة جيدة للتغذية والتنفس والتكاثر ، وعادة تسكن تلك المجاميع في مياه غير ملوثة غنية بالأوكسجين والكالسيوم وجزيئات الطعام المعلقة ، وقد تحتاج أيضًا إلى عائل وسيط ، عادة ما يكون سمكة ، لإكمال دورة حياتها (Jennings, 1998) . تظهر معظم ذوات المصراعين تفضيلًا لبيئة معينة ، إذ يفضل المحار بشدة الصخور أو القيعان الرملية ولن تستقر على القيعان الوحلة ، بينما توجد غالبية الاسكالوب على ركائز صلبة من الحصى والرمال الخشنة. تعد هذه الركائز نموذجية للمناطق ذات التدفق العالي القوي ، في حين يفضل المحار استخدام ركائز أكثر ليونة من الرمل أو الطين أو مخلوط من الرمل والطين ليساعده على الإختباء . أما في البطلينوس الصلب فالعدد الأكبر يفضل الرمال ، وأعداد متباينة منها ترغب في خليط الرمال / الطين ، وأقل أعدادها تفضل الوحل ، مما يشير إلى أن نوع الركيزة هو عامل مهم في توزيع ذوات المصراعين (Wells, 1957) .

9-2 الأهمية البيئية والطبية Ecological and Medical Importance

تعمل ذوات المصراعين على تكوين القاع وتزويده بالأوكسجين عن طريق إعادة صياغة الرواسب وتلعب دورًا أساسيًا في تكسير المواد العضوية قبل إعادة التمعدن البكتيري وبالتالي توفر مواطن للكائنات الحية الأخرى (Lopes-Lima *et al*.,2014 ; Chowdhury *et al*.,2016). وتم اعتبار ذوات المصراعين كمراقب بيولوجي محتمل للتلوث المعدني في النظم البيئية (Ponnusamy *et al*.,2014). واشارت عدد من الدراسات(Gupta and Singh,2011 ; Hamza- Chaffai,2014 ; Chiarelli and Roccheri,2014 ; Ganzei *et al*.,2020)، إلى استخدام أنواع ذات الصدفتين لأغراض المراقبة الحيوية ومؤشرات بيولوجية بيئية جيدة. ونظرًا لقدرتها على الترشيح ، فإنها تلعب دورًا مهمًا في عمل النظم البيئية المائية ، مما يؤثر على الظروف الفيزيائية والكيميائية فضلاً عن بنية الكائنات الحية الأخرى (Ziertitz *et al*.,2019). ولاحظ Aldridge *et al*.,(2007) وجود ارتباط إيجابي بين الكثافة العالية لبلح البحر في المياه العذبة وتنوع الأنواع اللافقارية الأخرى. من ناحية أخرى أظهرت دراسة أجراها Vaughn and Hakenkamp (2001) أنه في حالة الكثافة العالية ، يكون بلح البحر قادرًا على تقليل الكتلة الحيوية للعوالق النباتية بشكل كبير وتقليل محتوى الفوسفور، مما يؤدي إلى تصفيه أفضل للمياه.

إن ذوات المصراعين تسهم في الاقتران السطحي والقاع وديناميكيات المغذيات القريبة من الشاطئ في البحيرات عن طريق تصفية طعامها من الماء أو تغذية الرواسب ، وإفراز العناصر الغذائية الذائبة في الماء ، وترسيب البراز والفضلات من الرواسب(Higgins and Zanden,2010) .ويختبئ المحار في المياه العذبة ويغير عمليات القاع عن طريق إحداث اضطراب حيوي في الرواسب بالمواد العضوية (Strayer,2014). في الكثافات العالية ثبت أن المحار يستنفد العوالق النباتية ويغير دورة المغذيات في المياه الضحلة (Atkinson *et al*.,2013 ; Ozersky *et al*.,2015).

يوفر بلح البحر في المياه العذبة فوائد اقتصادية للمجتمع ، إذ اعترف الأمريكيون بقيمة بلح البحر الطازج كمصدر غذائي وللبناء والأدوات والأواني والفخار والمجوهرات والعملة والتجارة ، وقد بدأ المستوطنون الأوروبيون في حصاد بلح البحر في المياه العذبة لاستخراج حبات اللؤلؤ، وبحلول عام 1912 قامت المصانع باستثمار حبات اللؤلؤ وتطورت إلى تجارة بملايين الدولارات (Mueller,1993) . إن ذوات المصراعين تلعب بيئيًا أدواراً مهمة مثل التعكير البيولوجي أو خلط الرواسب ، وتدوير المغذيات ، ونقل الطاقة من سطح الماء إلى القاع خلال عمليات أخرى متعددة.(Vaughn, 2018)

تم استخدام مسحوق بلح البحر في المياه العذبة للجذب في تغذية أسماك الزينة وفي الأعلاف الاصطناعية ، ولكن بالنظر إلى انخفاض سعر مسحوق السمك ، وهو المكون الرئيس لتغذية الأسماك في تربية الأحياء المائية ، فإن أفضل وجهات النظر لاستخدام وجبة المياه العذبة في تغذية الأسماك أي أسماك الزينة ، وأحواض تربية الأسماك ، وتغذية يرقات الأسماك هو مسحوق بلح البحر، إذ تمثل هذه الحقيقة فرصة مناسبة اقتصاديًا لاستخدام مسحوق بلح البحر في المياه العذبة (Sicuro *et al*., 2010) . يعد المحار نوع *Lamellidens marginalis* العائد للعائلة Unionidae مهم طبيًا ويستخدمه سكان شبه القارة الهندية للتحكم في ضغط الدم ، كما أنها تستخدم في الأسمنت ، صناعات الجير والأزرار والألعاب ومستحضرات التجميل. في الآونة الأخيرة ، تم الإبلاغ عن نجاح إنتاج اللؤلؤ باستخدام هذا النوع في ولاية أوريسا (Dhanalakshmi, 2016).

يوفر استهلاك الرخويات البحرية مصدرًا غير مكلف للبروتين ذات قيمة بيولوجية عالية ، والمعادن والفيتامينات الأساسية. بالإضافة إلى ذلك ، فإن عضلة ذوات المصراعين تحتوي على القليل من الدهون المشبعة وكمية كبيرة من فيتامين C ، كما تعد ذوات المصراعين مصدراً جيداً للمعادن مثل الكالسيوم ، والحديد والفوسفورو البوتاسيوم والزنك والنحاس (Gökoğlu,2021).ويحتوي بلح البحر على كميات كبيرة من الدهون "الجيدة" التي تسمى الأحماض الدهنية أوميكا 3 (Mahaffey,2009). و يحتوي المحار مثل بلح البحر على ما يقرب من(20 ـ 28 %) من السعرات الحرارية من الدهون ، ويوفر

المحار أيضًا بروتينًا عالي الجودة مع جميع الأحماض الأمينية الأساسية الغذائية لصيانة ونمو جسم الإنسان (Ersoy and Sereflisan, 2010) . وفي آسيا على وجه الخصوص يستخدم المحار كمصدر للغذاء إذ تعد ذوات المصراعين من المصادر الجيدة لتوفير البروتين والكربوهيدرات والدهون والأحماض الأمينية والأحماض الدهنية والفيتامينات والمعادن (Srilatha *et al*.,2016)

أشار(2002) Karadkhele إلى أن بلح البحر في المياه العذبة غني من الناحية التغذوية ويمكن تناولها كغذاء. ومع ذلك ، لا بد من الإشارة إلى أن تناوله له علاقة ببعض الأمراض في دول كثيرة مثل التهاب الكبد والتهاب المعدة .

ويعد بلح البحر مهماً للغاية لمجتمعات المياه العذبة ، فهو غذاء للعديد من الثدييات والطيور ، ويساعد في الحفاظ على جودة المياه الجيدة عن طريق تصفية العناصر الغذائية والملوثات والرواسب من الماء ، إن تناقص وفرة بلح البحر أو اختفاء بلح البحرمن النهرأو البحيرة يعد مؤشرا إلى حد كبيرفي تدهور المياه والصفات البيئية (Jennings, 1998).من الناحية التجارية تم استخدامها في إنتاج الأسماك وكموارد للكالسيوم والمواد الخام الصناعية وكمواد زينة (الحرف اليدوية والديكور الداخلي) ومن مكونات المستحضرات الطبية (Venkatesan,2010 ; Flores-Garza *et al*.,2014) . وكمواد خام لمجموعة متنوعة من المنتجات النهائية التي تتراوح من مستحضرات التجميل إلى المجوهرات والأدوية (Jian-Ping *et al*.,2010 ; Pawar and Al-Tawaha,2017) .

ومن الناحية الطبية تعد ذوات المصراعين من الأدوية المضادة للفيروسات ، كما تستخدم صدفة المحار المطحونة والمعالجة كمكملات للكالسيوم لكل من البشر والحيوانات (Santhiya *et al* ., 2013). كما اشار Asta Lakshmi (2011) أن لعصارة المحار خصائص مضادة للفيروسات.

10-2 التوزيع الجغرافي Geographical Distribution of Bivalvia

تعد ذوات المصراعين في المياه العذبة القريبة من القطب الشمالي هي الأكثر تنوعًا بخمس عائلات و 59 جنسًا و 302 نوع ، تليها المنطقة الشرقية ، ولاسيما في نهر ميكونغ الذي يعد من أطول أنهار آسيا (Brandt and RAM, 1974) . يتم تمثيل ذوات المصراعين في المياه العذبة في المنطقة الشرقية بثمان عائلات و 47 جنسًا و 150 نوعًا .يمكن أن تكون هذه الحيوانات مقسمة إلى مكونين منفصلين ، المكون الحيواني الأول يتواجد على المحيط الهندي ويمتد من أقصى شرق إيران و باكستان وأفغانستان والهند وبنغلاديش و غرب ميانمار، أما المكون الحيواني الثاني فيمتد من ميانمار شرقًا أسفل شبه جزيرة

الملايو إلى جافا وبورنيو والفلبين وتايلاند ولاوس وكمبوديا وفيتنام وجنوب الصين (Subba Rao, 1989) .

تم التعرف على Bivalvia للمياه العذبة ولاسيما من عائلة Unionidae المعروفة باسم بلح البحر اللؤلؤي أو ذوات المصراعين في جميع أنحاء العالم إذ هنالك حوالي 1000 نوع لها ، أما في الولايات المتحدة الأمريكية فيتواجد مايقارب 297 نوع و نويع لبلح البحر في المياه العذبة(Biggins, *et al*., 1995).

تحتوي رتبة Unionoida أكثر من 840 نوع تنتمي لست عائلات ، إذ تمثل العائلة Unionidae وحدها حوالي 674 نوعًا (80 ٪) وهي موزعة على نطاق واسع عبر أمريكا الشمالية المعتدلة وأوراسيا وكذلك أمريكا الوسطى الاستوائية و إفريقيا وجنوب شرق آسيا (Graf and Cummings, 2007) ، وتعد عائلة Unionidae أكبر عوائل ذوات المصراعين التي تعيش في المياه العذبة في العالم ، إذ تكون ذات تنوع كبير جدًا في الأنواع في أمريكا الشمالية والصين وجنوب شرق آسيا (Karatayev *et al*., 2007 ; Bogan, 2008).

في أوروبا تم التعرف على 20 نوعًا من بلح البحر في المياه العذبة (Araujo *et al*., 2018) ، في حين ثراء الأنواع أعلى عند التقدم لأوروبا الوسطى ولكن جنوب أوروبا ذات مستوى أعلى من التوطن والأنواع المحدودة .(Lopes-Lima *et al*., 2017b) . يبدو أن المتغيرات الهيدرولوجية والتضاريس ، مثل التأقلم وأماكن التدفق ،هي أكثر عوامل مهمة في توزيع بلح البحر على نطاق جيد(Strayer 1999).

التنوع الجغرافي على مستوى مجموعة الأنواع في Unionidea غير موزعة بشكل موحد في شمال القارة الأمريكية بدلاً من ذلك ، هناك أنواع وأجناس ذات نطاقات مقيدة بمقاطعات جغرافية حيوية واحدة وأنواع ذات نطاقات واسعة ، تحدث في عدة مقاطعات. إن أنماط التوزيع الملحوظة لبلح البحر في المياه العذبة هي إلى حد كبير نتاج تاريخها ، بسبب دورات حياتها المعقدة والاعتماد على أسماك المياه العذبة للتشتت أو الانتشار (Johnson, 1970 ; Graf, 1997 ; Graf, 2002) .

تعيش معظم ذوات المصراعين في مناطق الغرب الأوسط والجنوب الشرقي للولايات المتحدة في الأنهار والبحيرات والجداول والجبال الصخرية ، بشكل عام بمثابة الحدود الغربية لمداها. هنالك عدة عوامل تؤدي إلى تراجع بلح البحر في المياه العذبة مثل بناء السدود التي تمنع حركة الأسماك المضيفة ، قذف النفايات السامة في الأنهار والبحيرات ، حجز المياه للزراعة مما تسبب قلة منسوب المياه ، دخول الأنواع الغازية غير الأصلية (Harrold *et al*., 2010). وقد يوجد المحار الصلب بشكل طبيعي على

شكل بقع صغيرة في منطقة المد والجزر وأعماق تحت المدية في الرواسب الخشنة والعارية نسبيًا (Harte, 2001).

يعد بلح البحر من جنس *Mytilus* عنصراً مهيمنًا في مجتمعات الشاطئ الصخري في المياه الأكثر برودة في نصف الكرة الشمالي والجنوبي ، ويبدو أن جميع الأنواع في جنس بلح البحر الأزرق ، *Mytilus* ستظهر للحصول على أوسع توزيع ، إذ توجد من المناطق شبه الاستوائية المعتدلة إلى المناطق القطبية الشمالية. أنواع *Mytilus* الأخرى لديها نطاق أكثر تقييدًا. على سبيل المثال ، فإن بلح البحر الكاليفورني ، *Mytilus calfornianus* ، يقتصر على ساحل المحيط الهادي لأمريكا الشمالية (Seed and Suchanek, 1992).

11-2 الدراسات المظهرية والجزيئية السابقة

درس(2019) Keogh and Simons في أمريكا الشمالية الصفات الجزيئية والمظهرية للعائلة ((Bivalvia): Unionidae) في المياه العذبة ، إذ إن الوصف الجيني والمورفولوجي لنوعين ظاهريين من *Lampsilis teres* للعينات التي تم جمعها و توزيعها باستخدام مقاييس الشكل الهندسية والتقليدية وعلم الوراثة الجزيئي متعدد التركيز لاختبار الفرضية القائلة بأن الأنماط الظاهرية تمثل أنواعًا منفصلة ، وكانت النتائج مورفومترية وأشارت تحليلات علم الوراثة الجزيئي بالإجماع إلى أن *Lampsilis teres* مكونة من قسمين متباعدين . إن تصنيف التعلم الآلي والقياسات الشكلية لاختبار ما إذا كانت الصدفة تمثل التصنيف باستخدام علم التشكل وحده للتمييز بين هذه الأنواع. نسب التصنيف 97.02٪ و 93.86٪ أوضحوا أن مورفولوجيا الصدفة مفيدة للغاية لتحديد الأنواع. تسلط هذه الدراسة الضوء على عدم فهمنا لتنوع أنواع بلح البحر في المياه العذبة وأهمية الخصائص المتعددة والنهج الكمية لتوثيق حدود الأنواع .

تناولت دراسة Sousa *et al.*,(2007) التباين الكبير في شكل ولون الصدفة بين الأفراد ، وكان النوع *Corbicula fluminea* الموجود في مصب نهر مينهو (شمال غرب البرتغال) ، وأفراد من نفس الجنس استعمروا مصب مجاور (مصب نهر ليما). على الرغم من ظهورها أيضًا على أنها *C. fluminea* ، إلا أن أفراد مصب نهر ليما يختلف عن أفراد مصب مينهو في لون وشكل الصدفة.وتمت المقارنة بين المجموعتين على أساس القياسات الشكلية التقليدية (طول الصدفة ، العرض والارتفاع) ، والطرق الشكلية الهندسية (تحليل المعالم باستخدام الجزء الداخلي من الغلاف) والتحليل الجيني (بناءً على تسلسل الجينات الوراثية السيتوكروم أوكسيديز للوحدة الفرعية للميتوكوندريا). وأظهر التحليل الجيني تسلسل mtCOI متطابقًا يشير إلى أن كلا المجموعتين تنتميان إلى النوع *Corbicula fluminea*. بالمقابل أظهرت نتائج التحليل المورفومتري التقليدي والهندسي اختلافات معنوية في شكل

الصدفة بين الأفراد من المجموعتين. قد تكون هذه الاختلافات ناتجة عن البيئية المختلفة الموجودة في مصبات الأنهار أو المسارات المميزة حتى الوصول إلى مصبات الأنهار والاختلافات الجينية السكانية الناتجة عن العمليات التي تحدث بعد إدخال الأنواع في مصبَي النهرين.

درس الباحثون Klishko *et al.*,(2018) في روسيا وتحديداً في بحيرة بايكال ومنطقة ترانسبايكاليا (Transbaikalia) ، باستخدام مجموعة من البيانات الجزيئية والمورفولوجية والتشريحية لأنواع *Anodontine* (Bivalvia), Unionidae)). واعتمد طريقة (Comparatory Method) أي طريقة المقارنة إذ تم وصف ستة أنواع للجنس *Anodontine* مقارنة لمنطقة الدراسة على أنها تنتمي إلى جنس *Colletopterum* ، وتم فصل هذا الجنس عن جنس *Anodontine* بناءً على خصائص الصدفة والتشريح الداخلي .

وكذلك دراسة Klishko *et al.*,(2017) في روسيا وأوكرانيا تضمنت إعادة التقييم التصنيفي لجنس *Unio* ((Bivalvia): Unionidae) في المياه العذبة كانت مثيرة للجدل بسبب عدم وجود تطابق بين ثلاثة تصنيفات متزامنة ولكنها متباينة بناءً على البيانات المورفولوجية والجزيئية ، وتم إجراء تحليلات على 720 عينة أوكرانية وروسية ، مكملة بالبيانات الجزيئية (COI) من عدد مختار من تلك العينات. إذ أظهرت الدراسة مجموعة لبيانات الخصائص المورفولوجية وجود ثلاثة أنواع فقط منتشرة مع اختلافات بيئية طفيفة. التحليلات الإحصائية للخصائص الشكلية للصدفة والتحليلات الجزيئية على أساس mtDNA ، وتؤكد تسلسل أجزاء الجين COI وجود نفس الأنواع الثلاثة داخل جنس واحد *Unio* ، في روسيا وأوكرانيا ، وهذه الأنواع هي *U. pictorum* و *U. tumidus* و *U. crassus* واظهرت نتائج التحليلات الجزيئية إلى وجود مجموعة فرعية إضافية ضمن سلالة *U. Courtilieri* يؤكد النهج المتكامل للدراسة صحة التصنيف بواسطة Zhadin (1952) ، ويرفض التصنيفات المعقدة الأخرى.

أجرى الباحثون Wang *et al.*,(2014) دراسة التمايز المورفولوجي والجزيئي لجنس *Corbicula* وتمت مقارنة شكلين لونيين اللون الأبيض والبنفسجي للنوع *Corbicula sympatric* في بحيرة داتونغ من خلال كل من الطرق الشكلية (طول الصدفة وارتفاع الصدفة وعرض الصدفة) والتحليل الجيني استنادًا إلى وحدة المايتوكوندريا COI gene وmtCOI لإربع عزلات ، لاستكشاف علاقتهما التصنيفية ، إذ أشارت النتائج إلى عدم وجود اختلافات واضحة في المقاييس المورفولوجية بين الأشكال اللونية . وأوضح التحليل الوراثي أن العزلات الأربعة قد تم تقسيمها إلى جزأين متباينين بين طبقات المياه العذبة .

درس الباحثون Bolotov *et al*., (2020) التصنيف والجغرافيا الحيوية لأنواع Unionidae الروسية بناءً على الأكثر شمولاً ، إذ تضم هذه العائلة 16 نوعًا محليًا من 11 جنسًا و أربع قبائل

*Anodonta, Pseudanodonta (*Anodontini*) ; Amuranodonta, Beringiana, Buldowskia, Cristaria, Sinanodonta* (Cristariini) ; *Middendorfnaia, Nodularia, Unio* (Unionini) ; and *Lanceolaria* (Lanceolariini*).*

أما في جنوب آسيا فقد درس Pfeiffer *et al*.,(2018) السلالة الجزيئية والمراجعة التصنيفية لجنسين غامضين من المحار في المياه العذبة *(Harmandia , Unionetta)* ((Bivalvia): Unionidae: التي يتم توزيعهما في منطقة جنوب شرق آسيا دون الإقليمية إذ سيؤدي حل الموقف المنهجي المبهم لكل منهما إلى إنشاء تصنيف كامل على مستوى الأسرة الفرعية لأجناس بلح البحر في المياه العذبة في جنوب شرق آسيا وتسهيل إجراء تقييم أكثر شمولاً لتنوع وتوزيع بلح البحر في المياه العذبة الإقليمية ، من خلال عمليات إعادة البناء الجزيئية للتطور باستخدام الحمض النووي الريبوزومي الكبير المشفر نوويًا (28S rRNA) والوحدة الفرعية c Cytochrome (COI) أوكسيديز المشفر لبروتين الميتوكوندريا لـ *Harmandia* و *Unionetta* . تبين أن *Harmandia* متعدد الأنواع مع الأنواع السابقة التي تنتمي إلى ثلاث مجموعات مترابطة بعيدة الصلة من Unionoida (أي Parreysiinae و Rectidentinae و Hyriidae). وبالمثل ، لم يتم استعادة *Unionetta* على أنه أحادي النمط (Monophyletic) ، على الرغم من أوجه التشابه المورفولوجية القوية والقرب الجغرافي القريب للأفراد المتسلسلين. استنادًا إلى توليف البيانات الجزيئية والمورفولوجية والجغرافية الحيوية ، تمت مراجعة التصنيف والتوزيعات الجغرافية لكل من *Harmandia* و *Unionetta*. إذ تمت مناقشة هذه النتائج في سياق تشتت Parreyssiinae في جنوب شرق آسيا والتنوع على مستوى الأنواع من قبيلة Indochinellini في نهر ميكونغ..

أوضحت دراسة Jeratthitikul *et al*.,(2019) في الهند السلالة الجزيئية لبلح البحر في المياه العذبة لجنس*Scabies* Haas, 1911 ((Bivalvia): Unionidae) وكشف الحد الأقصى من الاحتمالية Maximum likelihood (ML) والاستدلال Bayesian Inference (BI) الى أساس التسلسل لجينين من الميتوكوندريا (الوحدة الفرعية COI و 16S Ribosomal RNA) وجين نووي واحد (28S ribosomal RNA) العلاقة في كل الأجناس مقارنة بالمجموعات الخارجية من الأجناس الأخرى من قبيلة Indochinellini.

أوضحت دراسة Masaeli *et al*.,(2021) السلالة الجزيئية للعائلات ذوات المصراعين (Arcidae، Chamidae، Margaritidae، Ostreidae، Veneridae) إذ تم فحص 40 فرداً في الخليج الفارسي الايراني وتم استخراج الحمض النووي و تضخيم الحمض النووي الريبوزومي للميتوكوندريا 28S rDNA والوحدة الفرعية (Cytochrome Oxidase I) بواسطة تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR). استنادًا إلى تسلسل الجينات 28S rDNA و COI في ثمانية أنواع تعود الى ستة أجناس وخمس عائلات لذوات المصراعين.

أشارت دراسة Bößneck (2011) في وسط وشمال لبنان على 17 نوعا من المياه العذبة و 33 نوعًا من بطنيات الأقدام البرية بالإضافة إلى ستة أنواع محار صغير من بيئات مختلفة وتم تصنيفها وفقًا للخصائص المورفولوجيا للصدفة .

أثبتت دراسة Abdul-Sahib I. and Abdul-Sahib E.,(2009) وجود محار ثنائي المصراع *Anodonta vescoiana* Bourguignat, 1856 ' الذي جمع من نهر العز ضمن أهوار محافظة ميسان للمرة الأولى في العراق وتم تحديد المحار من خلال قياس الطول الكلي للصدفة والوزن الكلي (الصدفة والحشوة الداخلية) ووزن الصدفة (الغلاف الفارغ).

وفي دراسة أجرتها Mizhir *et al*.(,2014) على شط الكوفة إذ تناولت دراسة تشخيصية وبيئية وتم الإعتماد على الصفات المظهرية واستخدام معامل الارتباط الخطي البسيط لإيجاد العلاقة بين العوامل البيئية وكثافة نماذج النواعم وأشارت نتائج الدراسة إلى إن الظروف البيئية من درجة حرارة ، وملوحة المياه ، والاوكسجين الذائب تؤثر في تواجد وتنوع لافقريات القاع.

أوضحت دراسة Ali *et al*.,(2017) التي شملت خمسة أنواع وهي *Chlamys livida* و *Pinna bicolor* و *Malvifundus normalis* و *Barbatia decussate* و *Lithophaga robusta* من ذوات المصراعين في المياه الساحلية للعراق وتم تصنيفها وفقًا للخصائص المورفولوجية منها قياس الطول الكلي للصدفة ، وإجمالي عرض الصدفة.

الفصل الثالث

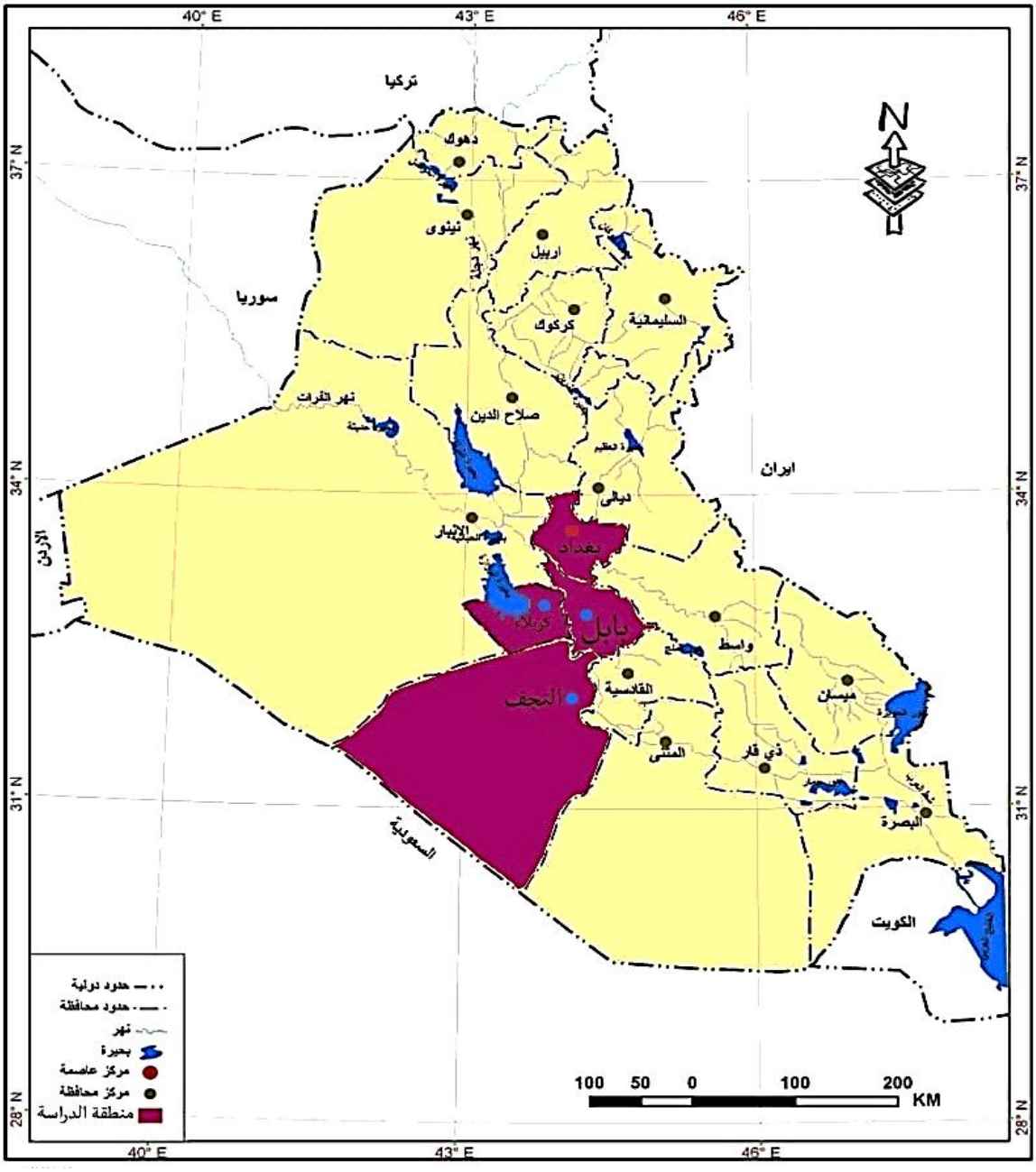
المواد وطرائق العمل

Materials and Methods

3 - المواد وطرائق العمل Materials and Methods

3-1 مواقع الجمع Sites of Collection

في هذه الدراسة تم تحديد بعض محافظات وسط العراق (كربلاء المقدسة ، النجف الأشرف ، بغداد ، بابل) كمناطق لجمع عينات المحار التابعة لصنف Bivalvia من المسطحات المائية لبعض أقضيتها ونواحيها شكل(6) إذ تميزت هذه المحافظات بأنها غنية بالأنهار ذات المياه العذبة وبعض والجداول والبزول.



شكل (6) خريطة العراق التي تقع على خط طول(43.02285)وعرض(32.08493) توضح فيها محافظات الدراسة (الياسري ،2011)

2-3 وصف المناطق المدروسة

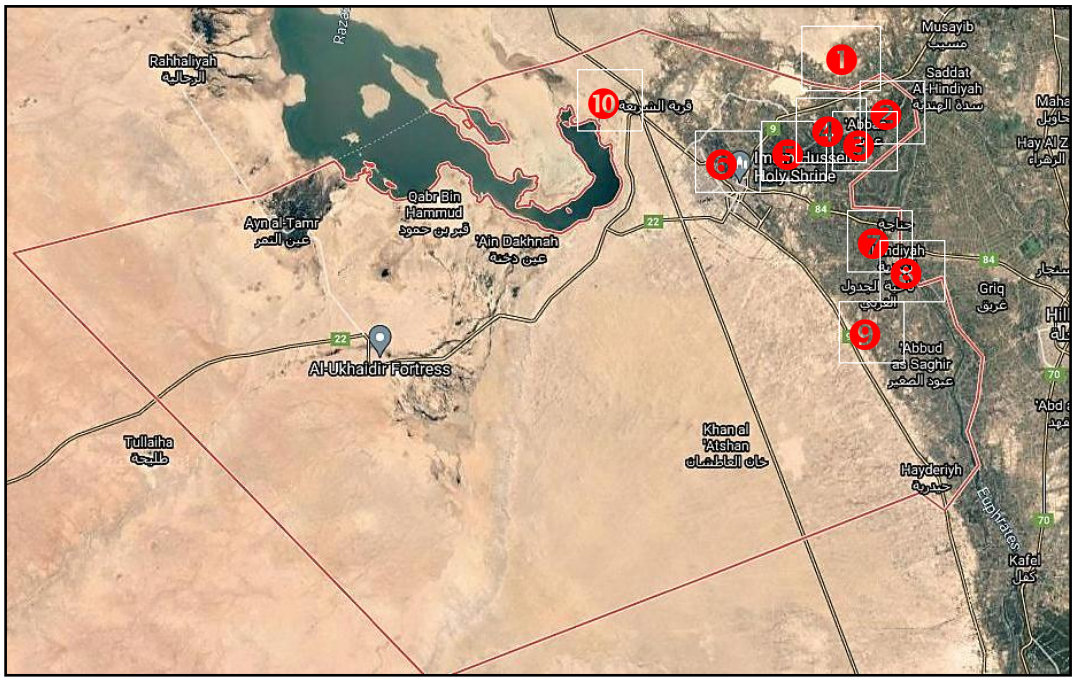
1) كربلاء المقدسة :

تقع مدينة كربلاء إلى الجنوب الغربي من العاصمة بغداد بنحو 105 كيلومترات، على مساحة 52856 كيلومترا مربعاً ، وتقع على خط طول **43.864418** درجة وعلى خط عرض **32.432399**درجة وتقع على حافة البادية في وسط المنطقة الرسوبية من العراق، ويسقيها نهر الحسينية المتفرع من نهر الفرات، وتقع على شمالها الغربي مدينة الرمادي، وعن شرقها مدينة الحلة وآثار بابل، وفي غربها الصحراء الغربية التي تضم بحيرة الرزازة، ومدينة عين التمر ، وعن جنوبها مدينة النجف الأشرف. وتتألف محافظة كربلاء من ست أقضية رئيسة، قضاء كربلاء ، الهندية(طويريج) ،الحسينية ،الحر،قضاء الجدول الغربي، وقضاء عين التمر. بينما يضم مركز قضاء الهندية ناحية الخيرات . (Ministry of Planning,2017)

جمعت العينات قيد الدراسة من بعض مناطق محافظة كربلاء وكما موضح في الجدول ادناه

جدول (3-1) المسطحات المائية للعينات قيد الدراسة في محافظة كربلاء

الرمز	نوع المسطح المائي	المنطقة	خطوط الطول	خطوط العرض
❶	نهر الوند	الوند	44.207416	32.730916
❷	نهر الحسينية	الحسينية	44.219532	32.689033
❸	نهر الحسينية (فرعيل)	الصلامية	44.188547	32.676391
❹	نهر الإبراهيمية	الإبراهيمية	44.139005	32.660809
❺	نهر الحسينية	الجرية	44.107165	32.649357
❻	نهر الحسينية	البوبيات	44.020695	32.628123
❼	نهر الفرات	طويريج /الجمعية (جناجة)	44.219917	32.5588795
❽	نهر الفرات	طويريج ال سيد جاسم	44.238479	32.520430
❾	نهر الفرات	جدول بني حسن /شط مله	44.225144	32.475680
❿	بزل المذب	يصب في الرزازة	43.894423	32.696291



شكل (7) خريطة محافظة كربلاء توضح فيها مناطق الجمع (earth.google)

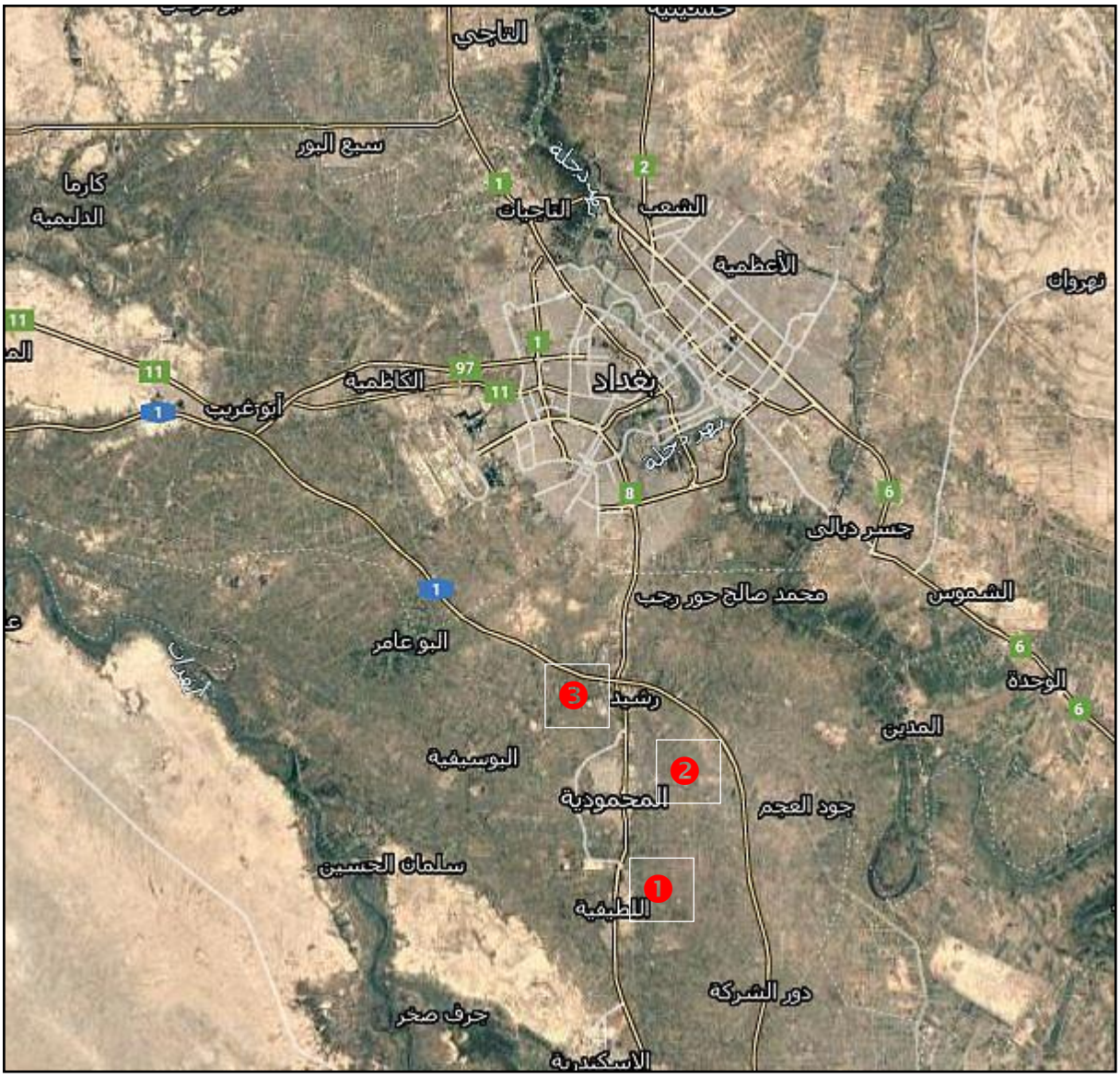
2) العاصمة بغداد:

تقع مدينة بغداد في المنطقة الوُسطى من دولة العراق، وتحدُّها المُدن العراقيّة من الاتِّجاهات جميعها، أمّا فَلَكياً، فإنّ بغداد تقع عند خطّ العرض **33.31448** درجة، وخط الطول **44.36210** درجة، ويعد هذا الموقع ذا أهمّية كبيرة للمدينة إذ إنّها قريبة من مصادر المياه، والثروات الطبيعيّة (ال طعمة،2013).

جمعت العينات قيد الدراسة من بعض المناطق الجنوبية لمحافظة بغداد وكما موضح في الجدول ادناه

جدول (3-2) المسطحات المائية للعينات قيد الدراسة في محافظة بغداد

الرمز	نوع المسطح المائي	المنطقة	خطوط الطول	خطوط العرض
1	نهر اللطيفية	اللطيفية	44.369169	32.999210
2	نهر المحمودية	المحمودية	44.373808	33.075230
3	نهر القائد	اليوسفية	44.325425	33.114785



شكل (8) خريطة محافظة بغداد توضح بها مناطق الجمع (earth.google)

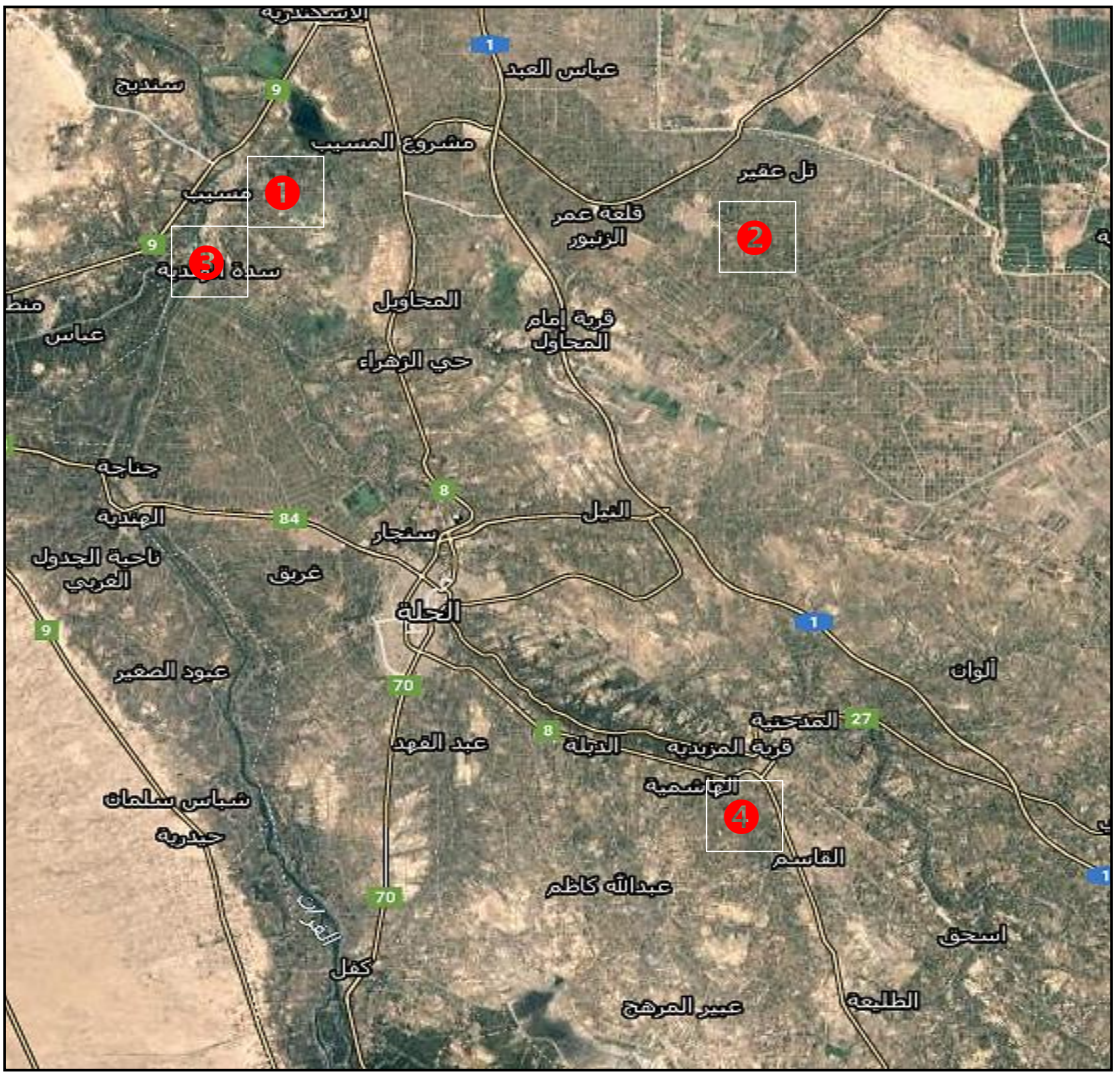
3) محافظة بابل

تقع محافظة بابل في وسط العراق، وتشترك في حدودها الداخلية مع كلّ من محافظة بغداد، والأنبار، وكربلاء، والنجف، والقادسية، وواسط، وتقع على خط طول **44.425745** وخط عرض **32.473391** وتتقاطع بابل مع نهر الفرات لتنقسم إلى سدة الهندية والحلّة الواقعتين في جنوب مدينة المسيب، كما تمرّ عبرها شبكة من قنوات الريّ التي تزوّد مزارع وبساتين المنطقة بالمياه، وينشطر النهر إلى الجنوب من مدينة المسيب إلى فرعين هما ، (شط الحلة وشط الهندية) (معروف ،2008).

جمعت العينات قيد الدراسة من بعض مناطق محافظة بابل وكما موضح في الجدول ادناه

جدول (3-3) المسطحات المائية للعينات قيد الدراسة في محافظة بابل

الرمز	نوع المسطح المائي	المنطقة	خطوط الطول	خطوط العرض
1	شط المسيب	المسيب	44.323498	32.787471
2	شط الحلة	جبلة	44.613167	32.748302
3	سدة الهندية	سدة الهندية	44.266649	32.728591
4	شط الحلة	حي الحسين	44.653147	32.361938



شكل (9) خريطة محافظة بابل توضح فيها مناطق الجمع (earth.google)

4) محافظة النجف الأشرف :

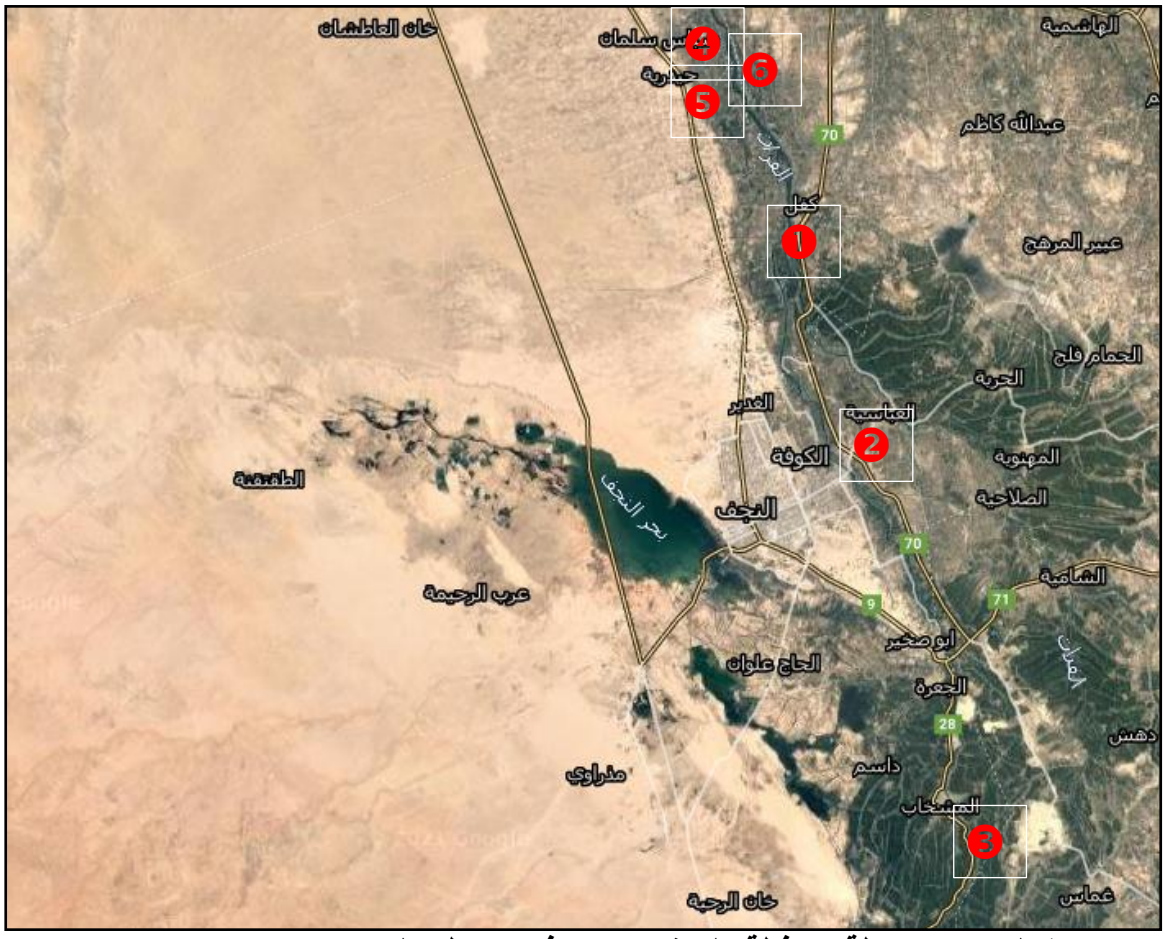
تقع النجف جنوب غرب العاصمة بغداد وتبعد عنها بحوالي 161 كم. وترتفع المدينة 70 م فوق مستوى سطح البحر يحدها من الشمال والشمال الشرقي مدينة كربلاء التي تبعد عنها نحو 80 كم تقريباً ومن الجنوب والغرب منخفض بحر النجف.

وتقع مدينة النجف على حافة الهضبة، أي عند الحافة الشرقية للصحراء الغربية، التي تفصل العراق عن حدود المملكة العربية السعودية، إذ يحدها من الغرب بحر النجف والهضبة الغربية، ومن الجنوب قصبة الحيرة وأبو صخير، ومن الشمال هضبة النجف، ويحدها من الشرق مدينة الكوفة، و تقع على خط طول **44.334163** وخط عرض **32.010972** (الابراهيمي ،2009).

جمعت العينات قيد الدراسة في بعض مناطق محافظة النجف وكما موضح في الجدول ادناه

جدول (3-4) المسطحات المائية للعينات قيد الدراسة في محافظة النجف

الرمز	نوع المسطح المائي	المنطقة	خطوط الطول	خطوط العرض
❶	نهر الفرات	الكفل	44.361061	32.218407
❷	شط الكوفة	الكوفة /الزركَة	44.392518	32.055908
❸	نهر الفرات	المشخاب	44.497392	31.802386
❹	جدول الوسمية	خان النص / الحيدرية	44.281692	32.382076
❺	بزل	شط الهور/ خان النص	44.293053	32.319294
❻	نهر الفرات	خان النص / الحيدرية	44.315367	32.326829



شكل (10) خريطة محافظة النجف توضح فيها مناطق الجمع (earth.google)

3-3 المواد والأجهزة المستعملة Materials and Device

3-3-1 الأجهزة المستعملة:

جدول (3-5) الأجهزة المستعملة مع اسم الشركة المصنعة والمنشأ

ت	الأجهزة و المعدات	الشركة المصنعة	المنشأ
1	أطراف الماصة الدقيقة (كل الأحجام) Micropipette tips(all size)	Hettich	Germany
2	أنابيب أبندروف Eppendrof tubes	BioBasic Inc	Belgium
3	جهاز البلمرة الحراري Conventional PCR	Biobse	China
4	جهاز الترحيل الكهربائي Electrophoresis	Biobse	China
5	جهاز الطرد المركزي الصغير Mini Centrifuge	Biobase	China
6	جهاز الطرد المركزي المبرد Cooling centerfuge	Biobse	China
7	جهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer	Thermo	USA
8	جهاز قياس درجة الحرارة Thermometer	Aiqura	China
9	حمام مائي Water bath	Biobase	China
10	شبكة لجمع العينات		محلي
11	علب بلاستيكية مختلفة الأحجام		محلي
12	فرن موجي Micro Wave	Samsung	Korea
13	القدمة ذات الورنية Vernier Caliper	Ingco	China
14	كاميرة رقمية Digital Gamara	Sony	Japan
15	مازج دوار Vortex mixer	Biobase	China
16	الماصة الدقيقة (كل الأحجام) Micropipettes (all size)	Slamed	Germany
17	مجمدة Freezer	Concord	Lebanon
18	محراث حديدي يدوي		محلي
19	مولد الأشعة فوق البنفسجية UV transmillitor	Biobse	China
20	ميزان حساس Sensitive balance	Sartorius	Germany

3-3-2 المواد الكيميائية Chemical materials

جدول (3-6) المواد الكيميائية مع الشركات المصنعة لها والمنشأ

ت	المواد الكيميائية	الشركة المصنعة	المنشأ
1	أكاروز Agarose	Genome	Iraq
2	انزيم تحلل البروتين Proteinase-K	Favorgen	Korea
3	الكحول الأثيلي ذي تركيز 70% Ethanol 70%	Miladpegah	Iran
4	الكحول الأثيلي ذي تركيز 96% Ethanol 96%	Teeba	Iraq
5	صبغة بروميد الأثيديوم Ethidium bromide	Bioneer	Korea
6	ماء مقطر Sterile dd H_2O	Biobse	China
7	محلول دارئ TBE (10X)	Maxime	Korea

3-3-3 العدة المستخدمة في هذه الدراسة

جدول (3-7) اسم عدة الفحص(kit) والمكونات والحجم

Name kit	Contents	Volume
FavorPrep™ Tissue Genomic DNA Extraction Mini Kit	FATG1 Buffer	15 ml
	FATG2 Buffer	15 ml
	Proteinase K (lyophilized)	11 mg
	W 1 Buffer * (contentrate)	22 ml
	Wash Buffer ** (concentrate)	10 ml
	Elution Buffer	15 ml
	FATG Mini Column	50 pcs
	Collection Tube	100 pcs
	Elution Tube	50 pcs
	Micropestle	50 pcs
	User Manual	1

4-3 طرائق العمل Methods

1-4-3الدراسة المظهرية Morphological Study

1-1-4-3 جمع النماذج Collection of Specimens

تم جمع النماذج بصورة عشوائية من كل محافظة من المحافظات قيد الدراسة ما يقارب 130 فرداً من خلال المدة 12/1 /2020م - 10 /2/ 2021م . وتم الجمع من المناطق القريبة من الجرف ووسط النهر بعمق متر واحد بواسطة الإلتقاط باليد أو بواسطة شبكة لجمع الأصداف والمحار كما في الشكل (11) الذي يوجد على الجرف أو بواسطة المحراث الحديدي اليدوي كما في الشكل (11) لإستخراج المحار المطمور في التربة الرملية والطينية (Grant *et al*., 1996).

2-1-4-3 حفظ النماذج Preservation of Specimens

تم حفظ العينات من المحار بعد تنظيفها وغسلها جيداً من الطين والعوالق النباتية في كحول الإيثانول ذي تركيز 70% لمنع تصلب أجزاء الحيوان الداخلية وكذلك للحفاظ على الصدفة من التكسر في علب بلاستيكية شفافة محكمة الغلق ذات أحجام مختلفة حسب سعة العينات مدون عليها اسم المحافظة واسم المنطقة التي جمعت منها العينات ودرجة حرارة الماء وتاريخ الجمع (Ladle and Baron, 1969) ، وقد تم تصوير العينات باستخدام الكامرة الرقمية (Digital Gamara) اليابانية المنشأ شركة (Sony) ، التي تتراوح دقتها (12-20) ميكا بكسل .

3-1-4-3 تصنيف وتشخيص النماذج Classification and Identification of Specimens

أولاً: تم الإعتماد في تشخيص الأنواع مظهرياً بلإعتماد على الشكل المظهري للصدفة اليمنى واليسرى لكل نوع ، مثل الطول والعرض والإرتفاع ، شكل وموقع القمة ، الحواف الخارجية للصدفة ، الجهة الداخلية وندب إتصال العضلات.

وقد تم تأكيد تشخيص العينات مظهرياً بالتعاون مع مركز بحوث ومتحف التاريخ الطبيعي / جامعة بغداد من قبل أساتذة مختصين وتم الحصول على كتاب رسمي بذلك من قبل الجهة المعنية كما موضح في الملحق رقم (2,1) ، بالإضافة إلى ذلك تم الإتصال مع بعض الباحثين المعنيين من داخل القطر وتحديداً من محافظة البصرة ومحافظة النجف / الكوفة وخارج القطر من المملكة المتحدة لتأكيد تشخيص الأنواع مظهرياً .

ثانياً : تم الإعتماد على المفاتيح التصنيفية الآتية في تصنيف الأنواع :

1 - Ahmed (1975)

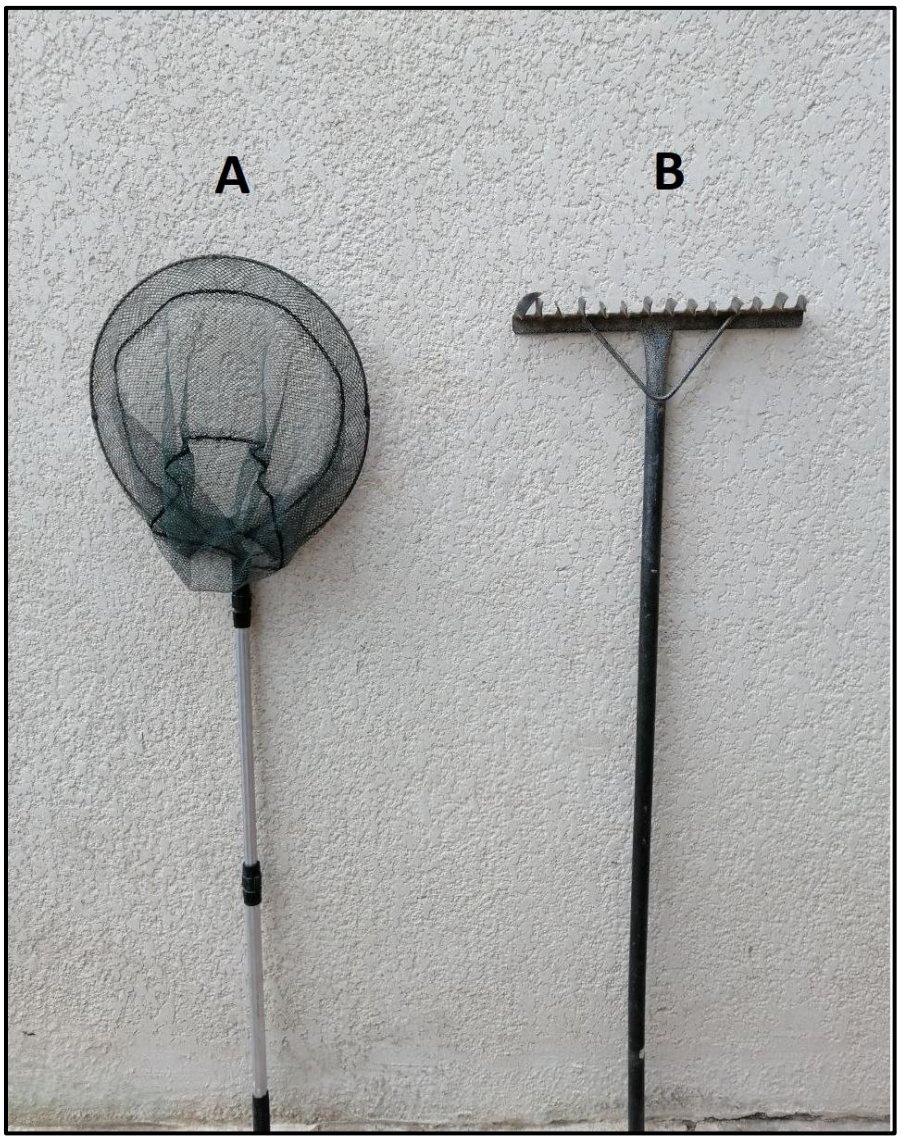
2 - Stem (1990)

3- Bogan (2002)

4 - Bogan and Alderman (2008)

5 - Harrold *et al*.,(2010)

6 - Bogatov and Prozorova (2017)



الشكل (11) A شبكة لجمع العينات ، B المحراث الحديدي اليدوي

3-4-2 الدراسة الجزيئية Molecular Study

لغرض إجراء الدراسة الجزيئية تم اختيار 50 عينة بصورة عشوائية لعزل الـ DNA من أغشية المحار وأقدامه لتلك العينات :

3-4-2-1 طريقة استخلاص الحمض النووي DNA من الأنسجة الحيوانية Isolation of DNA from Animal Tissue

تم عزل الـ DNA من أغشية المحار وأقدامه للعينات قيد الدراسة باستعمال عدة الاستخلاص FavorPrep™ Tissue Genomic DNA Extraction Mini Kit وحسب خطوات بروتوكول مجهزة من شركة (Favorgen/korea)

1) تم قطع 25ملغم من نسيج العينة ووضعها في أنبوب أبندروف الدقيق باستخدام ميزان حساس (Sensitive balance) وتم طحن النسيج بواسطة (Micropestle)داخل الأنبوب.
2) تم إضافة 200 مايكروليتر من محلول (FATG1 Buffer) إلى الأنبوب ومن ثم خلطه جيداً بواسطة (Micropestle)أو طرف الماصة .
3) تم إضافة 20 مايكروليتر من مادة (Proteinase K) ذي تركيز 10 ملغم لكل 1 مل إلى خليط العينة ومن ثم خلطه بواسطة المازج الدوار (Vortex mixer) .
4) تم وضع خليط العينة في حمام مائي (Water bath) بدرجة حرارة 60 سيليزي لمدة (1 – 3) ساعة لكي يتحلل النسيج جيداً .
5) تم إضافة 200 ميكرولتر من محلول (FATG2 Buffer) إلى خليط العينة ، ومن ثم خلطه جيدًا عن طريق المازج الدوار (Vortex mixer) ومن ثم وضعه في حمام مائي (Water bath) بدرجة حرارة 70 سيليزي ولمدة 10 دقائق.
6) تم إضافة 200 ميكرولتر من الإيثانول ذي تركيز(96-100٪) لخليط العينة وتم خلطه جيداً بواسطة المازج الدوار (Vortex mixer) ومن ثم تم نبذ الأنبوب لمدة وجيزة عن طريق وضعه في جهاز الطرد المركزي الصغير (Mini Centrifuge) لإزالة القطرات المتعلقة في داخل الغطاء .
7) تم وضع خليط العينة بما تحتوي من رواسب في عامود أنبوب تجميع صغير (FATG Mini Column) يحتوي بداخله على فلتر ومن ثم تم نبذه بجهاز الطرد المركزي (Centrifuge) لمدة دقيقة واحدة وبسرعة (18000 دورة / دقيقة) ومن ثم تم التخلص من الخليط الراشح .

8) تم إضافة 400 مايكروليتر من محلول (W 1 Buffer) إلى عمود التجميع الصغير (FATG Mini Column) ومن ثم تم نبذه بجهاز الطرد المركزي (Centrifuge) لمدة دقيقة واحدة وبسرعة (18000 دورة / دقيقة) ومن ثم تم التخلص من الخليط الراشح .
9) تم إضافة 750 مايكروليترمن محلول (Wash Buffer) إلى عامود التجميع الصغير (FATG Mini Column) ومن ثم تم نبذه بجهاز الطرد المركزي (Centrifuge) لمدة دقيقة واحدة وبسرعة (18000 دورة / دقيقة) ومن ثم تم التخلص من الخليط النازل.
10) وضع الفلتر في أنبوب عامود تجميع جديد ومن ثم تم نبذه بجهاز الطرد المركزي (Centrifuge) لمدة ثلاث دقائق وبسرعة (18000 دورة / دقيقة) لتجفيف الحمض النووي الملتصق بالفلتر ومن ثم تم اخذ الفلتر ووضعه في أنبوب أبندروف جديد.
11) تم إضافة 100 مايكروليتر من محلول (Elution Buffer) إلى الحمض النووي الملتصق بالفلتر مع مراعاة وضع المحلول في منتصف الفلتر لكي يغطي المحلول جميع الحمض النووي الموجود بالفلترومن ثم تم الإنتظار لمدة ثلاث دقائق .
12) تم نبذ الفلتر الذي يحتوي على الحمض النووي في جهاز الطرد المركزي (Centrifuge) لمدة دقيقتين وبسرعة (18000 دورة / دقيقة) لاستخلاص (DNA) ومن ثم ازيل الفلتروحفظ الحمض النووي المستخلص في التبريد من أجل عمل تفاعل سلسلة البوليمريز .

3-4-2-2 قياس تركيز ونقاوة الـDNA

Concentration measurement and purity DNA

كُشِفَ عن الحامض النووي DNA المستخلص من العينات باستخدام جهاز خاص وهو الـ(spectrophotometer) (شركة Thermo الأمريكية) وذلك من خلال : قياس نقاوة الحامض النووي(DNA) من خلال قراءة الإمتصاصية بدرجة (260 / 280) نانومتر.

و تحديد تركيز الحامض النووي (DNA µg/ml). ويتم القياس على النحو التالي:

1- بعد تشغيل جهاز (spectrophotometer) أُختيرَ برنامج قياس الحامض النووي نوع (DNA).

2- تم تصفير ركيزة المقياس وذلك بوضع 1000 مايكرولتر من (ddH_2O) بإستخدام ميكروبايبيت معقمة على سطح ركيزة المقياس وإجراء التصفير وبعدها تُنظَّف الركيزة لقياس العينات.

3- تُحدَّد نقاوة عينات الـ (DNA) المستخلص بقراءة الإمتصاصية بجهاز (spectrophotometer) على طولين موجيين (260 و 280) نانومتر، إذ أن الحامض النووي (DNA) المستخلص يعد نقي عندما تكون نسبة الإمتصاصية (1.7– 2.0) (Viljoen *et al*., 2006).

3-2-4-3 الترحيل الكهربائي لمستخلص الـ DNA

Agarose Gel Electrophoresis for DNA Extraction

المحاليل المستخدمة في الترحيل الكهربائي وفقاً لما ذكر في (Sambrook *et al.*,1989)

1- دارىء Tris- borate –EDTA buffer(TBE- 1X)

حضر هذا المحلول م خلال مزج 10 مل من المحلول الأصلي TBE(10X) Stock وأكمل الحجم إلى 100مل من الماء المقطر المعقم ليصبح التركيز (1X)

2- محلول صبغة بروميد الأثيديوم Ethidium bromide

تم استعمال محلول الصبغة بروميد الاثيديوم لاظهارحزم عينات الحمض النووي على المواد الهلامية وتم إضافة هذا المحلول المحمل بالصبغة إلى عينات استخلاص الحمض النووي ومنتج تفاعل البوليميراز المتسلسل الذي سيتم ترحيله كهربائياً.

3.الدليل الحجمي للـ DNA Molecular Size of Markers

جهز الدليل الحجمي المستعمل في هذه الدراسة من قبل شـركة (i-Maxime^{TM}PCR PreMix Taq) - Korera ذي تركيز 100 نانوغرام/ مايكروليتر، وبحجم 500 مايكروليتر ومدى يتراوح من 100- 1500 زوج قاعدي وكما موضح في الجدول(3-8).

جدول(3-8) الدليل الحجمي للـ DNA

دليلDNA	الوصف
100 bp Plus DNA Ladder	100-1500 زوج قاعدي 11 حزمة 100 – 200 – 300 – 400 – 500 – 600 – 700 – 800 – 900 – 1000 – 1500 زوج قاعدي تظهر الحزم كافة بكثافة متساوية ما عدا الحزم 500 ، 1000 ، 1500 تكون أكثر شدة وتألق . حجم التحميل الموصى به 5/ µl حفرة.

3-4-2-4 الترحيل الكهربائي على هلام الاكاروز: Agarose Gel Electrophoresis

أجري الترحيل الكهربائي وفقا لـ(Sambrook and Russel,(2001 كما يأتي:

1) تبدأ عملية الهجرة الكهربائية بتحضير الهلام وذلك بإذابة 0.6 غم من الاكاروز في 50 مل من الدارىء (lX) TBE إذ تتم الإذابة بتسخينه في الفرن الموجي (Micro Wave) ولمدة دقيقة ونصف لحين إذابة كل الأكاروز بعد ذلك يترك ليبرد بدرجة حرارة الغرفة .
2) أضيف محلول صبغة بروميد الأثيديوم بتركيز نهائي ثلاثة مايكروليتر.
3) صب الهلام في صفيحة اسناد الاكاروز (Tray) الخاصة بجهاز الهجرة الكهربائي وثبت مشط تكوين الحفر (Comb) على بعد سنتمتر واحد من إحدى حافتي الصفيحة ، وإزالة الفقاعات الهوائية إن وجدت باستخدام رأس ماصة معقمة.
4) ترك الهلام ليتصلب لمدة 15 دقيقة بعد ذلك رفع المشط من الأكاروز المتصلب .
5) تمت عملية إضافة الدليل الحجمي (DNAMarker) بمقدار 5 مايكروليتر وكذلك الحمض النووي (DNA) المستخلص من العينات بمقدار أربعة مايكروليتر المراد ترحيله في حفرة الهلام.
6) حمل الحمض النووي الـ(DNA) وكذلك الدليل الحجمي (DNAMarker) وثبتت الصفيحة على ساندها في وحدة الترحيل (Cell unit) الحاوية على دارىء(TBE(IX وتم بعد ذلك تغطية الهلام بارتفاع (2-1) مل من الدارىء نفسه.
7) تم وضع غطاء جهاز الترحيل الكهربائي ووصلت الأقطاب ورحلت النماذج كهربائياً بفولتية مقدارها (60) فولت لمدة 40 دقيقة أي بمدة كافية تتناسب مع الوزن الجزيئي للـ (DNA) المرحل.
8) تم ضغط زر إيقاف الطاقة الكهربائية ورفع غطاء جهاز الترحيل الكهربائي بعد استكمال الوقت رفعت الصفيحة من وحدة الترحيل الخاصة بالجهاز وجففت من المحلول دارىء TBE (IX) ومن ثم تم الكشف عن حزم الدنا وتصويرها وذلك بتعريض هلام الأكاروز إلى جهاز مولد الأشعة فوق البنفسجية (UV transmillitor).

3-4-2-5 ظروف تفاعل سلسلة تفاعل البوليميريز وتحليلات حزم التضخيم

Conventional PCR Condition and Amplification Analysis

البادئات Primers

البادئات النوعية تم تجهيزها من شركة (Macrogen/korea)، البادىء عبارة عن سلاسل قصيرة محددة من (DNA) أحادي السلسلة (ssDNA) ،والمعروف باسم (Oligodeoxy ribonucleotides) أو (Oligomers). هذه البادئات تحاذي خيوط متقابلة على طرفي الحمض النووي المستهدف.

جدول(3-9) البادئات النوعية المصممة للكشف عن جين COI بواسطة الـ PCR للدراسة الحالية.

اسم البادئ	اصل البادىء	تسلسل النيوكليوتيدات (5'→ 3')	ناتج التفاعل	
LCO1490	COI	5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3'	710 bp	Forward
HCO2198		5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA-3'		Reverse

تحضير البادئات الاصلية

اتبعت الخطوات التالية لتحضير بادئات عمل الـ (PCR) بحسب تعليمات الشركة المصنعة (Macrogen/korea):

- قبل فتح البادىء المجفف بالتجميد ، تم نبذه بجهاز الطرد المركزي لضمان أن حبيبات البادىء تكون في قاع الأنبوب.
- حضرت زوج البادئين (LCO1490 ، HCO2198) بإذابتهما في 300 و290 مايكروليتر من الماء المقطر الخالي من الايونات وعلى التوالي ، ومن ثم وضعت في الحمام المائي بدرجة حرارة37 سيليزي ولمدة 10 دقائق ومن ثم نبذه بجهاز الطرد المركزي الصغير لمدة وجيزة وحسب تعليمات الشركة المجهزة ، للحصول على محلول خزين (Stock solution) بتركيز 100 بيكومولر/مايكرولتر لكل بادىء.
- تم أخذ 10 مايكروليتر لكل عنصر واذابته مع 90 مايكروليتر من الماء المعقم خالي من الايونات للحصول على المحلول النهائي (Work solution) ذي تركيز 10 بيكومولر/مايكرولتر
- حفظت البادئات بالتبريد لحين إجراء تفاعل سلسلة البوليمريز.

3-4-2-6 تفاعل سلسلة البوليميريز الاعتيادي Polymerase Chain Reaction Conventional:

أجري العمل تحت ظروف معقمة مع حفظ المحاليل في الثلج،إذ تم تطبيق المؤشر الجزيئي المعتمد في هذه الدراسة في تقنية الـ PCR الاعتيادي على وفق الخطوات الاتية:

1- تحضير محاليل العمل اليومي لاجراء تفاعلات PCR الاعتيادي:

وذلك من خلال استعمال مكونات عدة الـ (PCR) ومحاليل البادئات مع مراعاة التبريد بوضع العدة في صندوق ثلجي وحسب تعليمات الشركة المصنع Maxime^{TM}PCR PreMix(i-Taq) – Korera :

- ❖ اضيف خمسة مايكروليترمن الدنا المستخلص سلفاً الى أنبوبة (Premix) المجهزة من الشركة بمعدل خمسة مايكروليتر معلمة باسم عزلة أغشية المحار المراد فحصها.
- ❖ أضيفت البوادىء من المحلول الخزين بمعدل 1.5 مايكرولتر لكل بادئة إلى أنبوب الأبندروف الذي يحتوي على الخليط.
- ❖ مزجت مكونات التفاعل باستخدام الماصة الدقيقة من خلال تحريكها بشكل دائري .
- ❖ نبذت الأنابيب بوساطة جهاز الطرد المركزي لجمع القطرات المتلصقة في الجدران لضمان ضبط تراكيز مواد التفاعل.
- ❖ أكمل الحجم بالماء المقطر الخالي من الايونات ليصبح الحجم النهائي لمحلول التفاعل 20 µl. وكما موضح في جدول(3-10) .

جدول (3-10) مكونات تفاعل الـ PCR الاعتيادي للبادئان LCO1490 ، HCO2198

PCR REACTION MIXTURE	VOLUME IN ONEREACTION(ML)
Sterile dd H2O	12 µl
Forward Primer (10 Pmol)	1.5 µl
Reverse Primer (10 Pmol)	1.5 µl
DNA	5 µl
Final Volume for reaction	20µl

2- برنامج المدور الحراري لسلسلة تفاعل البوليميريز الاعتيادي (PCR)

نفذت التجربة في جهاز المبلمر الحراري الخاص بعزلات أغشية المحار إذ نقلت الأنابيب إلى جهاز الدوران الحراري ; (Thermocycler) لبدء التفاعل التضاعفي على وفق البرنامج الخاص لكل مجموعة من البادئات وكما موضح في الجدول(3-10).

جدول (3-11) برنامج تفاعل الـ PCR لجين COI للبادئان LCO1490 ، HCO2198

(Folmer *et al.*,1994)

البادئ PRIMER		عدد الدورات NO. OF CYCLES	الخطوات STEPS	درجة الحرارة TEMPRETURE	الوقت TIME
LCO1490	HCO2198	1	Initial Denaturation	95C°	3 دقيقة
		35 Cycles	Denaturation	95C°	35 ثانية
			Annealing	55C°	1 دقيقة
			Elongation	72C°	1دقيقة
		1	Extension	72C°	5 دقيقة

3-4-2-7 تحليل نتائج تسلسل الدنا Data sequencing Analysis

بعد معرفة عدد الحزم المتضاعفة وأوزانها الجزيئية، أرسلتُ ما يقارب 20 مايكروليتر من ناتج التفاعل من عينة أغشية المحار وأقدامه (COI) عن طريق مكتب الغدير إلى كوريا الجنوبية من أجل التاكد من تسلسل القواعد النايتروجينية باستخدام جهاز الـ (Sanger) ومقارنتها مع تسلسلات الجينات المنشورة في موقع جين بنك العالمي للجينات (NCBI).

الفصل الرابع

النتائــج والمناقشة

Results & Discussion

4 -1 الموقع التصنيفي للأنواع قيد الدراسة

Kingdom: Animalia Linnaeus, 1758

Phylum: Mollusca Linnaeus, 1758

Class: Bivalvia Linnaeus, 1758

Order: Unionida Stoliczka, 1871

Family: Unionidae Rafinesque, 1820

1) Genus*: Sinanodonta* Modell, 1945

Species *S. woodiana* (Lea, 1834)

2) Genus: *Unio* Philipsson in Retzius, 1788

Species:*U. delphinus* Spengler, 1793

Species *:U. mancus mancus* Lamarck, 1819

Species :*U. elongatulus* Pfeiffer, 1825

(Carter *et al*., 2011)

2-4 الدراسة المظهرية Morphological study

مفتاح لعزل رتب صنف Bivalvia

1- احجامها كبيرة تتراوح أطوالها بين (6 - 15) سم أو أكثر ، أشكالها متطاولة أو بيضوية أو معينية الشكل، تتراوح ألوانها بين الأصفر أو الزيتوني الغامق..... Stoliczk,1871 **Unionida**

2- أحجامها صغيرة تتراوح أطوالها بين (1 - 2) سم أشكالها دائرية أو شبه مثلثة الشكل ذات قمة تقع في المنتصف بارزة للأعلى تتراوح ألوانها بين الزيتوني الغامق أو الأسود واللون البيجي..... Gray, 1854 **Venerida**

****

الصفات التشخيصية لعائلة Family: Unionidae Rafinesques, 1820

موقع الإرتباط بين الصدفتين خارجي . الصدفة ذات أسنان تجويفية كاذبة ، أما ان تكون أثرية أو غير موجودة ، الصدفة شبه دائرية أو بيضوية أو شبه مثلثة أو متطاولة . الغلاصم ذات حواجز طبقية داخلية موازية للخيوط الغلصمية . تعيش في المياه الجارية كالأنهار والجداول والبطيئة أو الراكدة كالبحيرات أو البرك والأهوار. (Pennak, 1953 ; Bogan and Aldevman, 2008)

مفتاح لعزل انواع جنس Genus: *Unio* Philipsson in Retzius, 1788

1) طول الجسم أقل من ثمانية سم، بيضوي متطاول، موقع القمة في الربع الأول من الجسم ، الحافة الظهرية مسطحة..... **1**

1) طول الجسم 6.6 سم تقريبا ، الخطوط المتحدة المركز للقمة مزدوجة وكثيفة ،السطح الداخلي للصدفة أبيض لماع ،توجد العضلة المحدبة الأمامية على الحافة الأمامية للصدفة..... ***U. delphinus***.....

2) طول الجسم 7.1سم تقريبا ، الخطوط المتحدة المركز للقمة مزدوجة ذات سطح بني لماع..... ***U. tigridis*** .....

2) طول الجسم مايقارب 6.2 سم ، الخطوط المتحدة المركز للقمة مفردة ، السطح الداخلي للصدفة أبيض..... ***U. elongatulus*** .....

3) طول الجسم أكثر من ثمانية سم ، القمة في أعلى منتصف الجسم **3**

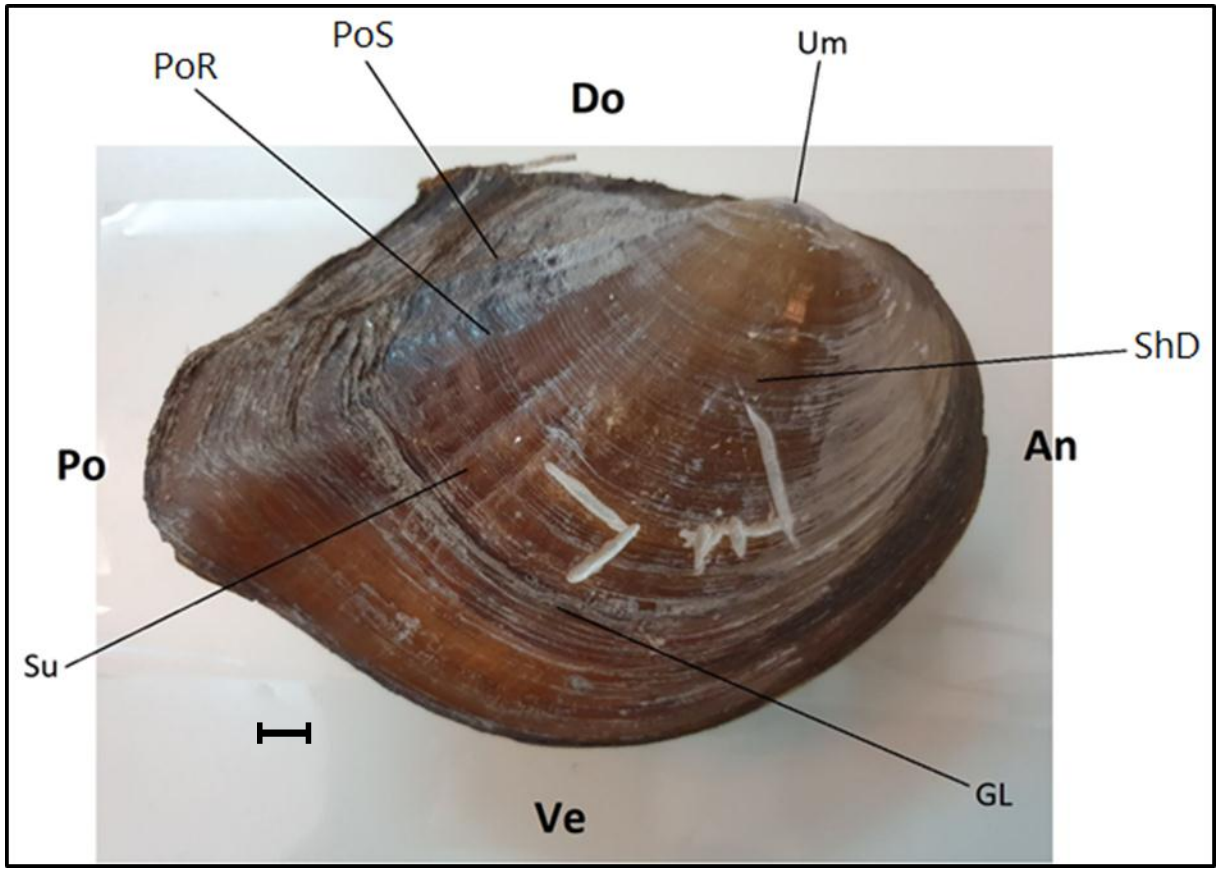
3) طول الجسم 9.3 سم تقريبا ، معيني الشكل ، الحافة الظهرية مسطحة مقطوعة..... ***U. mancus mancus***.....

Species :*S. woodiana* (Lea, 1834)

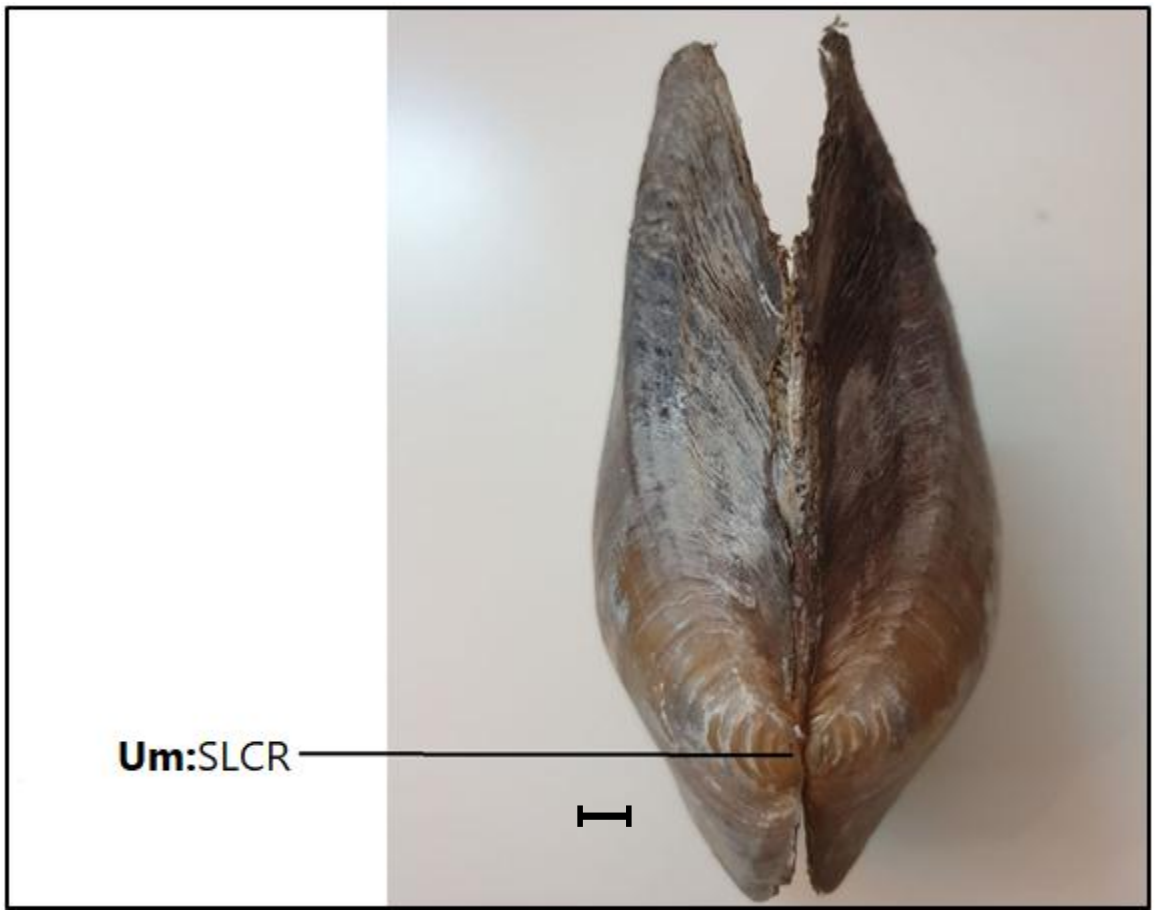
❖ سجل هذا النوع لأول مرة في العراق

الوصف Description

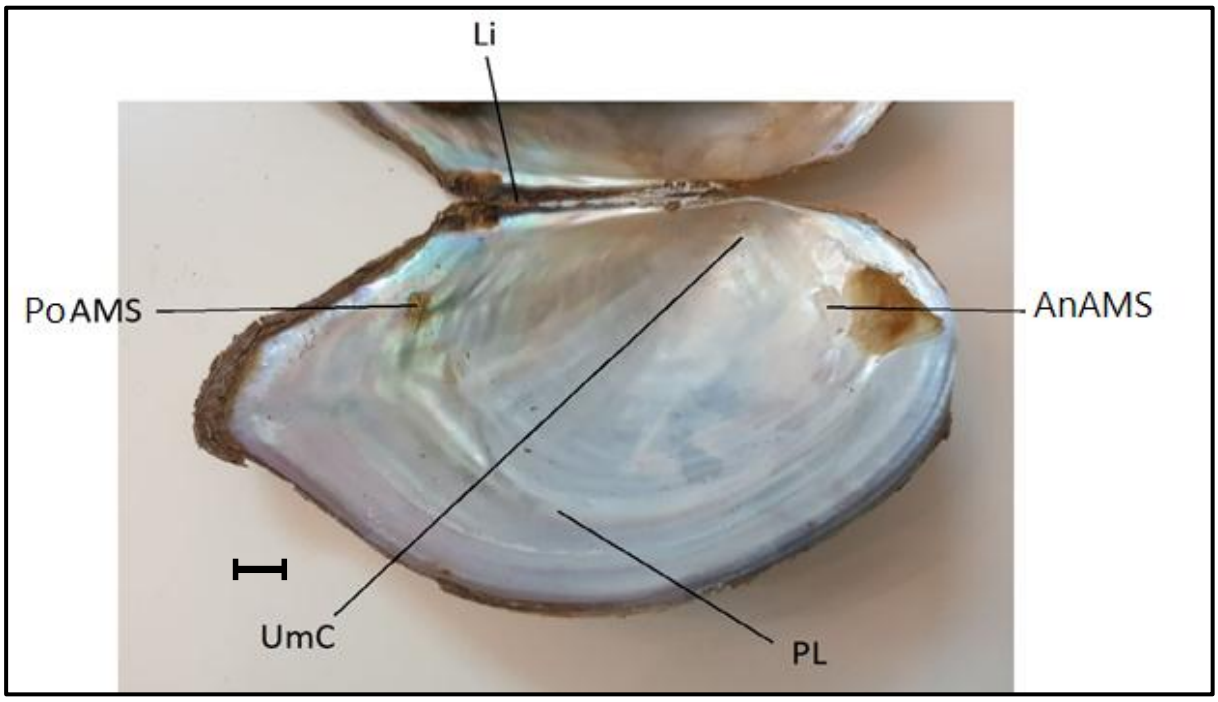
الحجم كبير نسبيا ، معيني الشكل . الطول **L** : 16.2 سم ، العرض **W** : 5.2 سم ، الارتفاع **H** :10.4 سم .الصدفتان اليمنى واليسرى متساويتان بالحجم ومتشابهتان بالشكل . القمة غير مرتفعة ذات خطوط متحدة المركز مفردة. اللون بني مصفر في المقدمة يتدرج إلى الغامق في المؤخرة . تكون ذات خطوط نمو واضحة . يوجد على الصدفة حافة خلفية محدبة .الجهة الداخلية بيضاء لؤلؤية لماعة . يمكن ملاحظة ندبة اتصال العضلة الأمامية المقربة. الحافة الظهرية مسطحة ، الحافة البطنية ذات استدارة واضحة ، الحافة الأمامية دائرية متوسعة ، الحافة الخلفية ذات بروز واضح.



الشكل (12) منظر جانبي للصدفة اليمنى للنوع *S. woodiana*



الشكل (13) منظر سطحي للنوع *S. woodiana* الخطوط المتحدة المركز للقمة



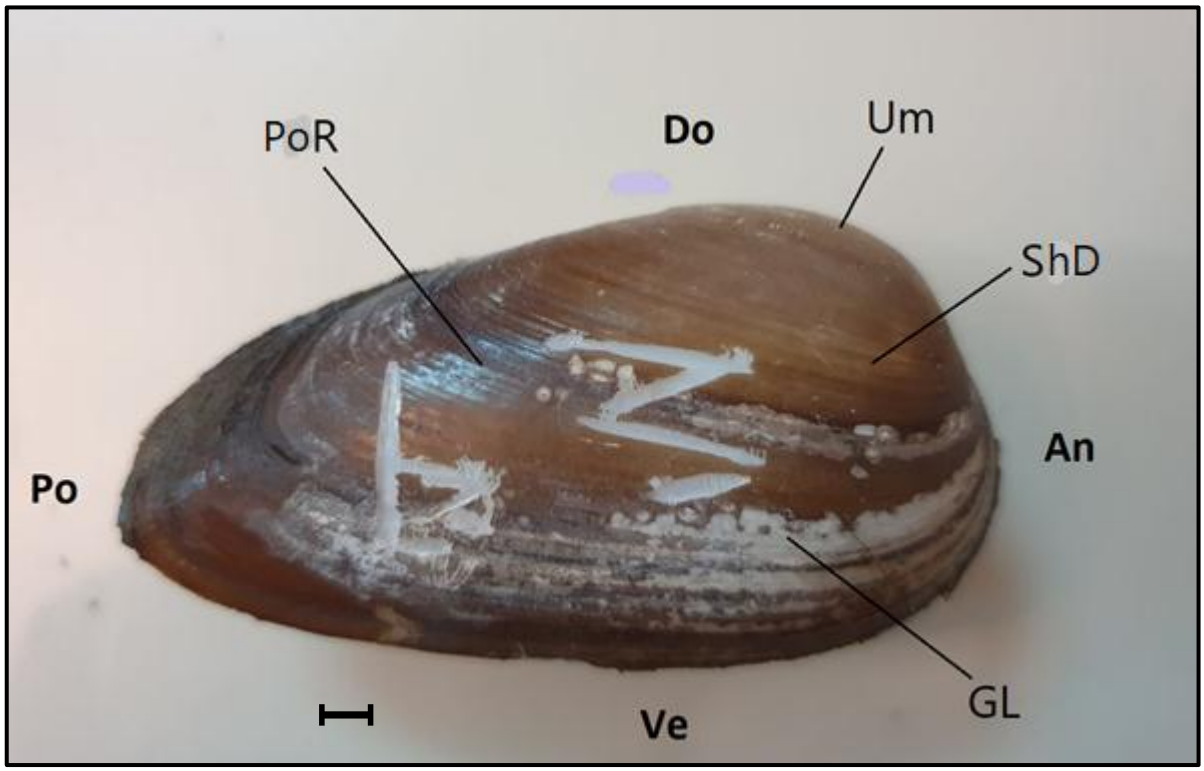
الشكل (14) الجهة الداخلية للصدفة اليمنى للنوع *S. woodiana*

Species: *U. delphinus* Sperglev, 1793

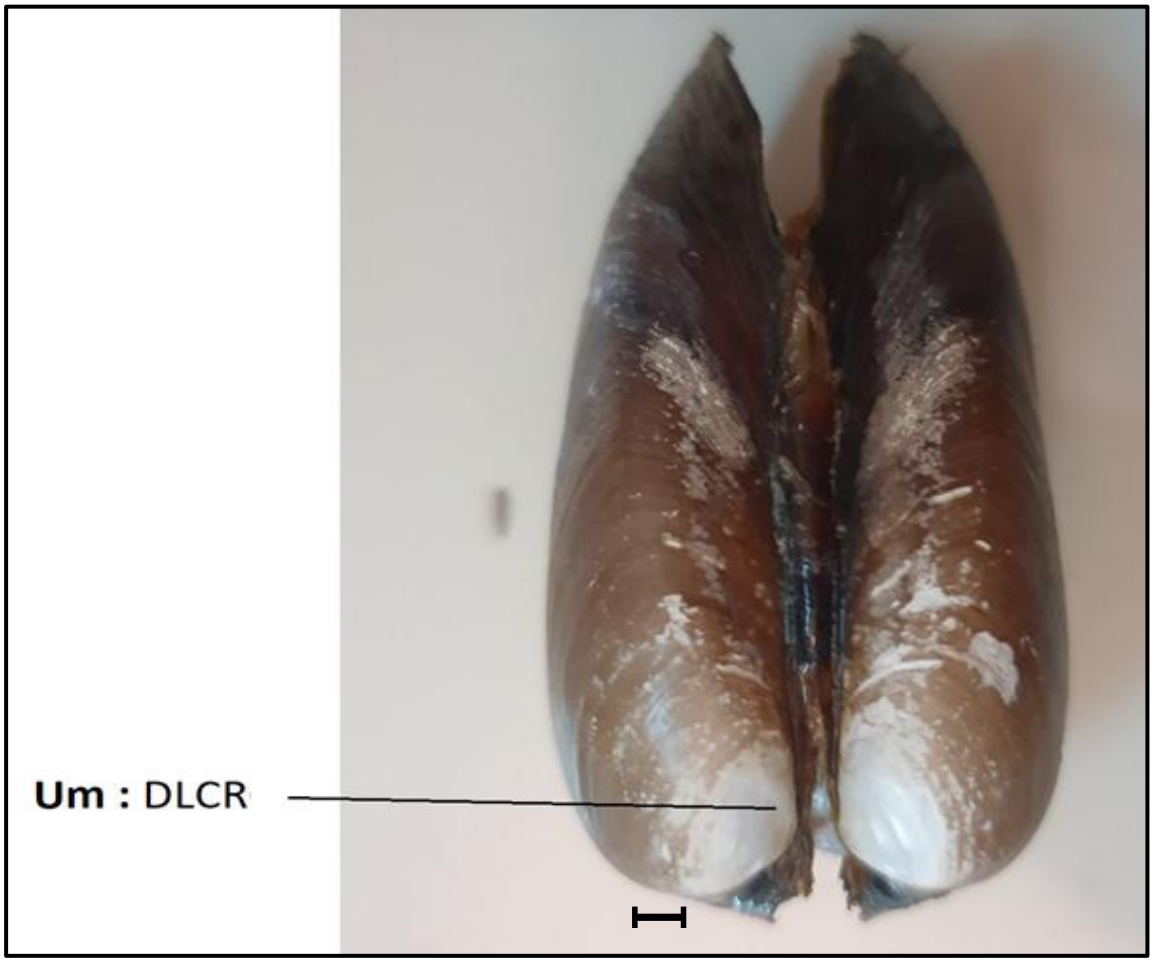
❖ سجل هذا النوع لأول مرة في العراق

الوصف Description

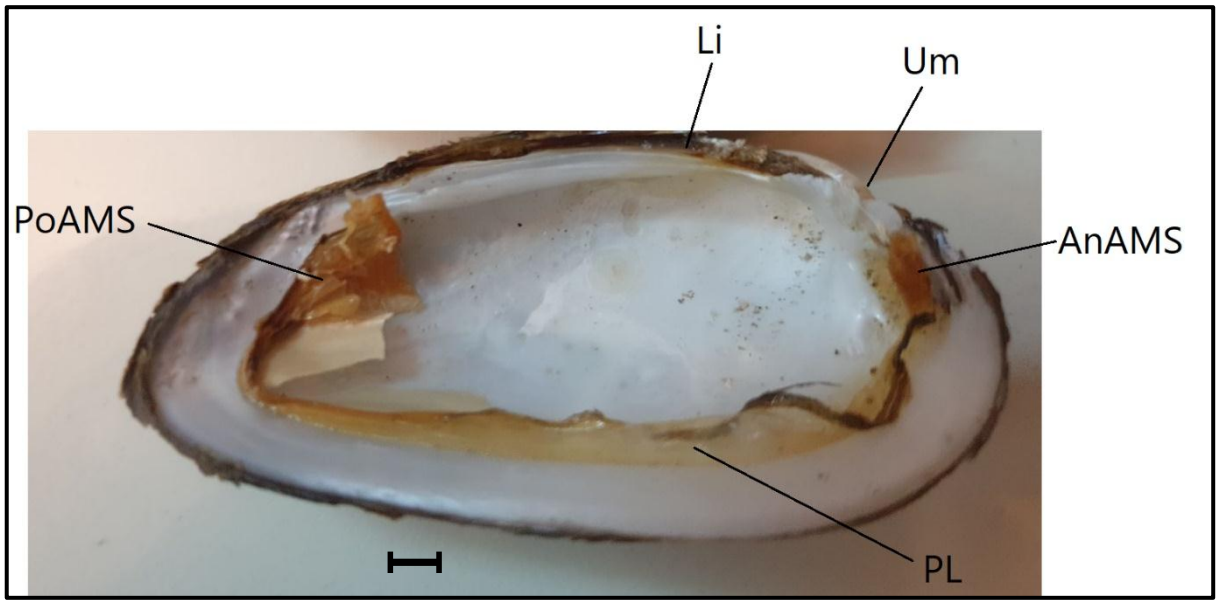
الجسم متوسط الحجم ، بيضوي الشكل. الطول **L** : 6.6 سم ، العرض **W** : 2.3 سم ، الارتفاع **H** : 3.2 سم . الصدفتان اليمنى واليسرى متساويتان بالحجم ومتشابهتان بالشكل. ذو لون بني يتدرج إلى الغامق ، يوجد خط غامق في النصف الأول من الصدفة والحافة السفلى للصدفة مغطاة بلون أبيض . يمكن ملاحظة خطوط النمو على الصدفتين . توجد القمة في الربع الأول من الجسم. الخطوط المتحدة المركز للقمة مزدوجة وخشنة .الحافة الظهرية مسطحة تنحدر باتجاه الخلف ، الحافة البطنية ذات استدارة قليلة ترتفع باتجاه الخلف ، الحافة الأمامية مدورة ومتوسعة ، الحافة الخلفية رفيعة ومدببة قليلا . الجهة الداخلية للصدفة بيضاء اللون . ندبة العضلة المقربة الأمامية تقع على الحافة الأمامية للصدفة.



الشكل (15) منظر جانبي للصدفة اليمنى للنوع *U. delphinus*



الشكل (16) منظر سطحي للنوع *U. delphinus* الخطوط المتحدة المركز للقمة



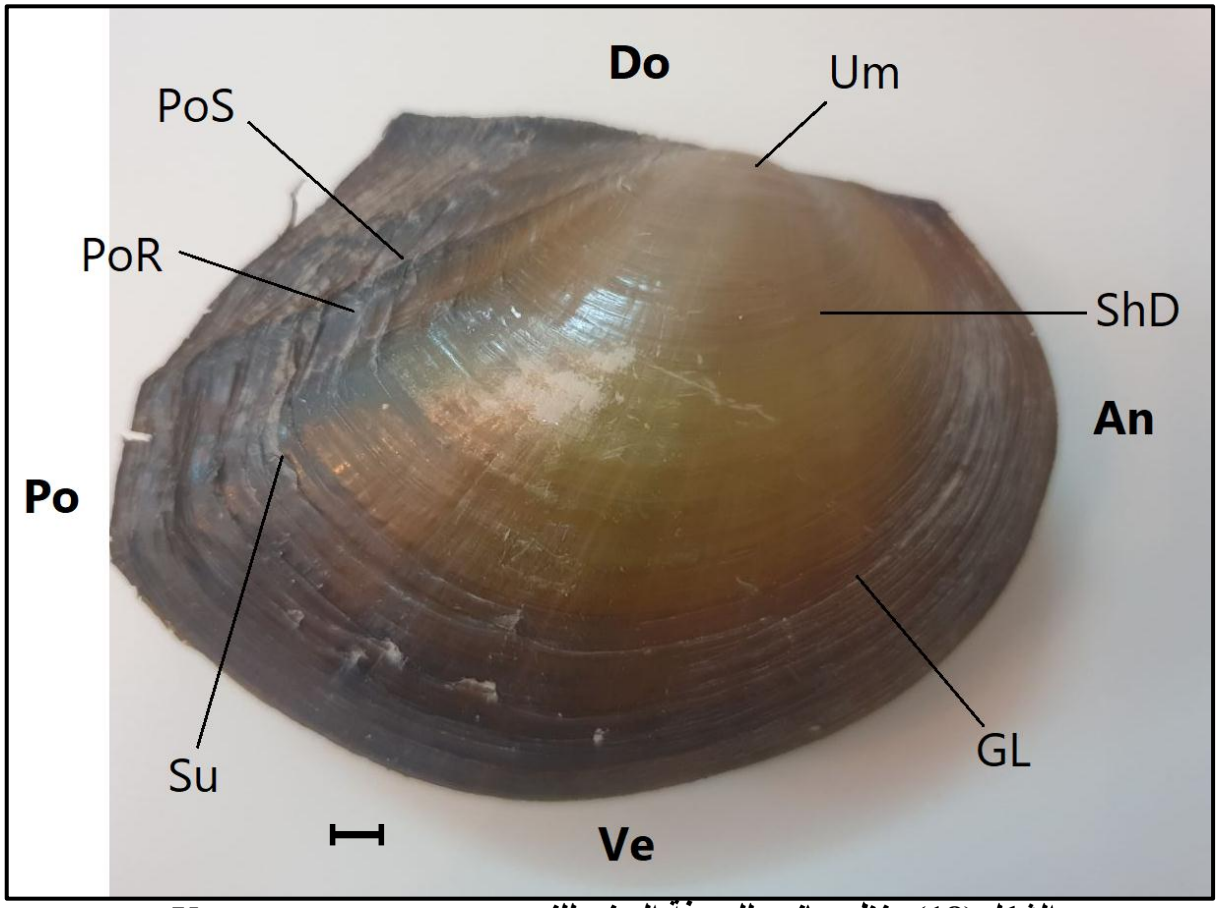
الشكل (17) الجهة الداخلية للصدفة اليمنى للنوع *U. delphinus*

Species: *U. mancus mancus* Lamark,1819

❖ سجل هذا النوع لأول مرة في العراق

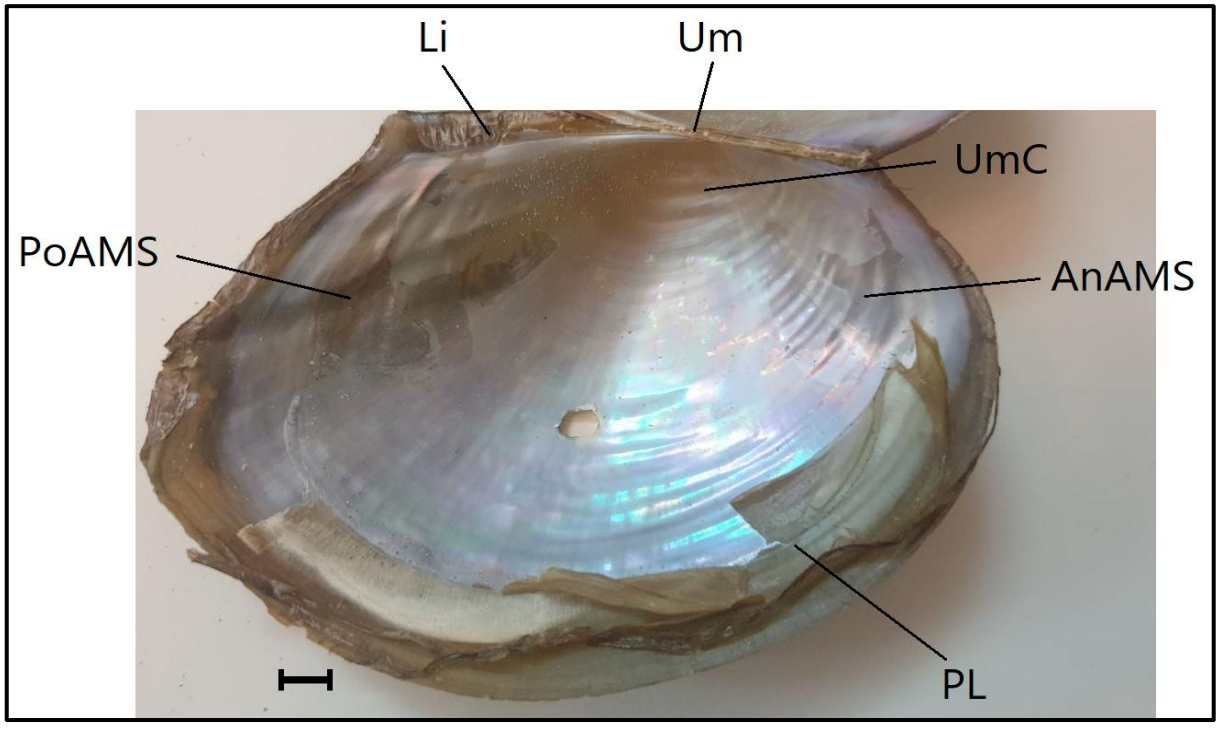
الوصف Description

الحجم متوسط الحجم ،معيني الشكل . الطول **L** : 9.3 سم ، العرض **W** : :3.2 سم ، الارتفاع **H** : 6.6 سم . الصدفتان اليمنى واليسرى متساويتان بالحجم ومتشابهتان بالشكل. القمة غيرمرتفعة ، الخطوط المتحدة المركز للقمة مفردة وناعمة . اللون يتدرج بين اللون الزيتوني المصفر إلى الغامق . الجهة الداخلية للصدفة ذات لون لؤلؤي غامق .الحافة الظهرية ذات حافة مسطحة مقطوعة ، الحافة البطنية مقوسة ، الحافة الأمامية مدورة ،الحافة الخلفية أضيق من الأمامية ذات حافة مقطوعة.



الشكل (18) منظر جانبي للصدفة اليمنى للنوع *U. mancus mancus*

الشكل (19) منظر سطحي للنوع *U. mancus mancus* الخطوط المتحدة المركز للقمة



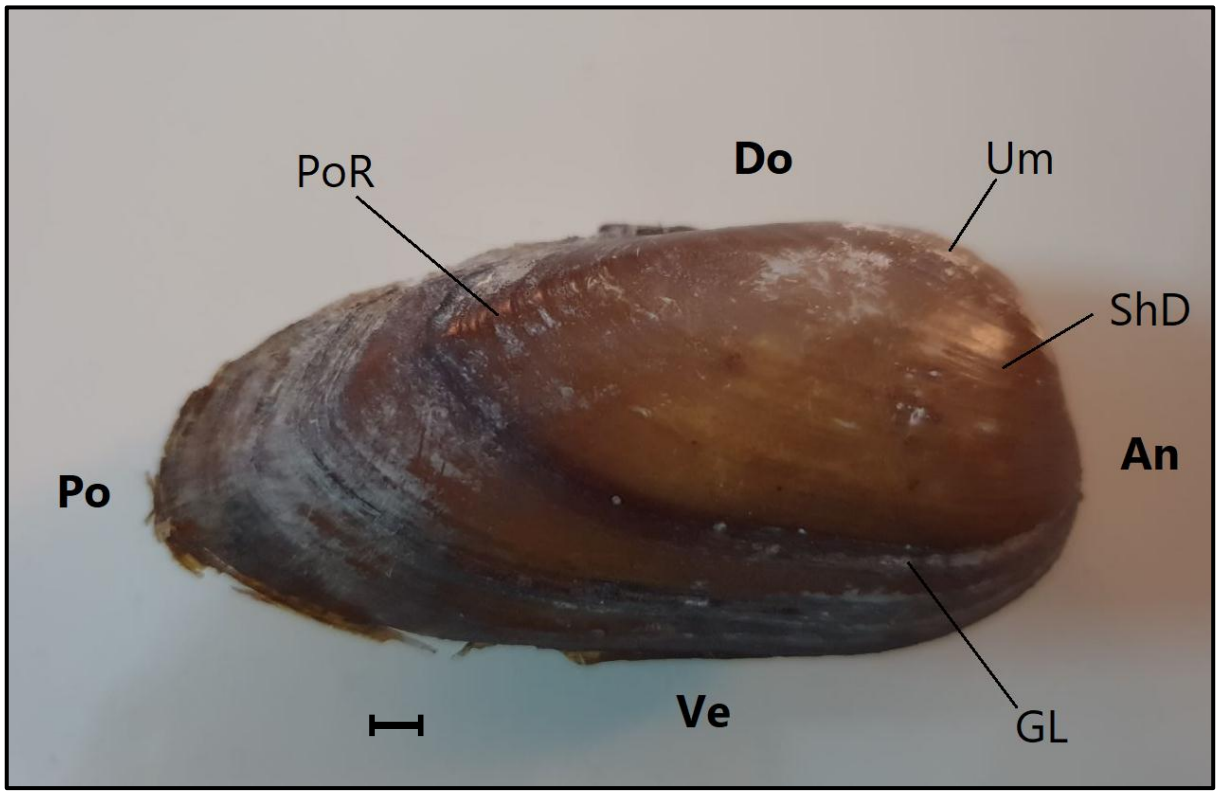
الشكل (20) الجهة الداخلية للصدفة اليمنى للنوع *U. mancus mancus*

Species: *U. elongatulus* Pfeiffer, 1825

❖ سجل هذا النوع لأول مرة في العراق

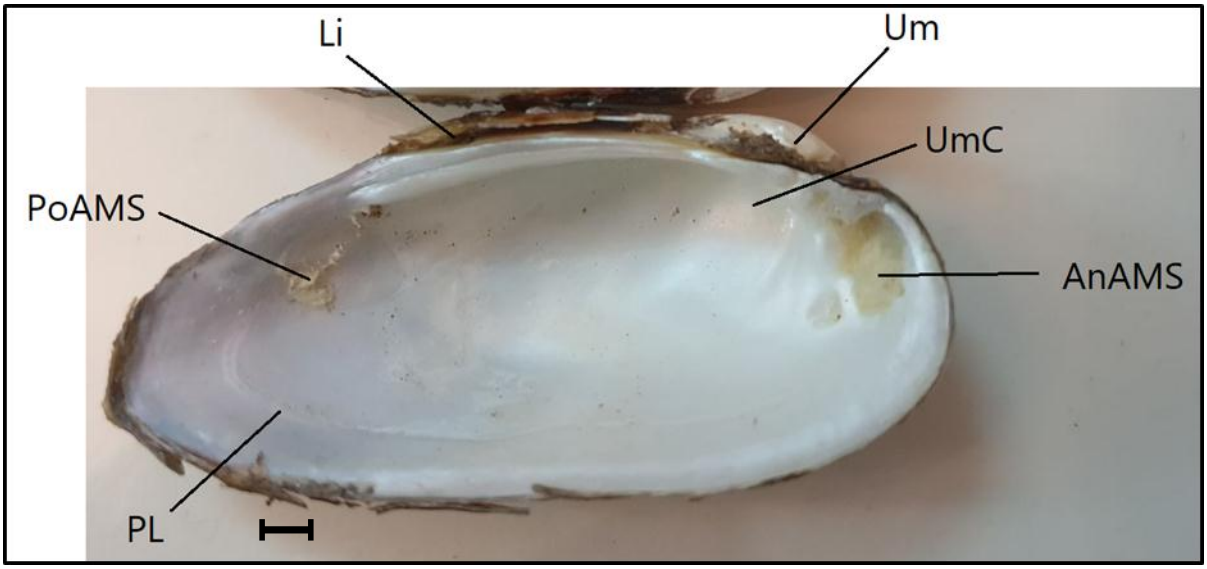
الوصف Description

الحجم بيضوي الشكل ، متوسط الحجم . الطول **L** : 6.2 سم ، العرض **W** : 2.7 سم الارتفاع **H** : 2.3سم . الصدفتان اليمنى واليسرى متساويتان بالحجم ومتشابهتان بالشكل. توجد القمة في الربع الأول من الجسم .يمكن ملاحظة خطوط النمو على الصدفة .الخطوط المتحدة المركز للقمة مفردة. يتدرج اللون بين الزيتوني المصفر والزيتوني الغامق مع وجود خط وسطي غامق في منتصف الصدفتين اليمنى واليسرى .الجهة الداخلية للصدفة بيضاء اللون ويمكن ملاحظة ندبة العضلة المقربة الأمامية .الحافة الظهرية مسطحة ذات انحدار قليل باتجاه النهاية الخلفية ، الحافة البطنية مسطحة ، الحافة الأمامية مدورة ومتوسعة ، الحافة الخلفية مدببة قليلاً.



الشكل (21) منظر جانبي للصدفة اليمنى *U. elongatulus*

الشكل (22) منظر سطحي للنوع *U. elongatulus* الخطوط المتحدة المركز للقمة

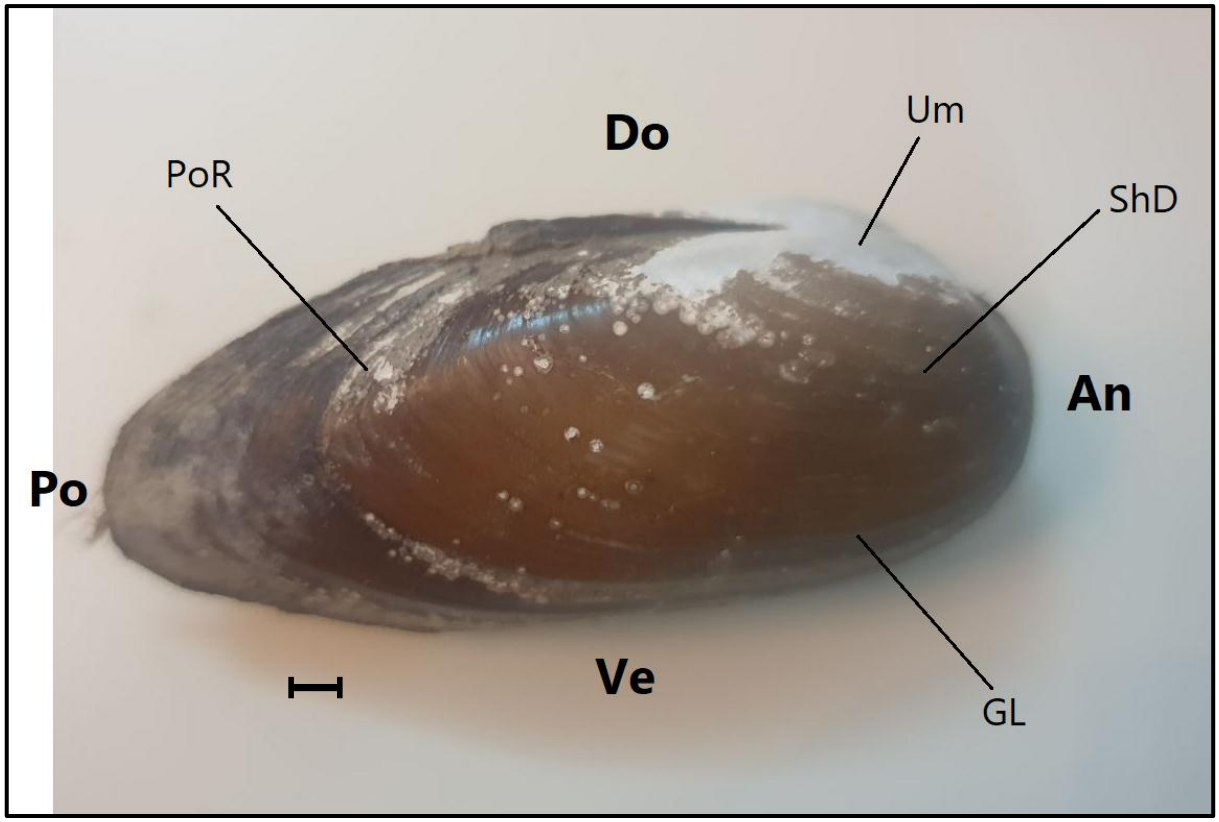


الشكل (23) الجهة الداخلية للصدفة اليمنى للنوع *U. elongatulus*

Species :*U. tigridis* Bourguignat ,1852

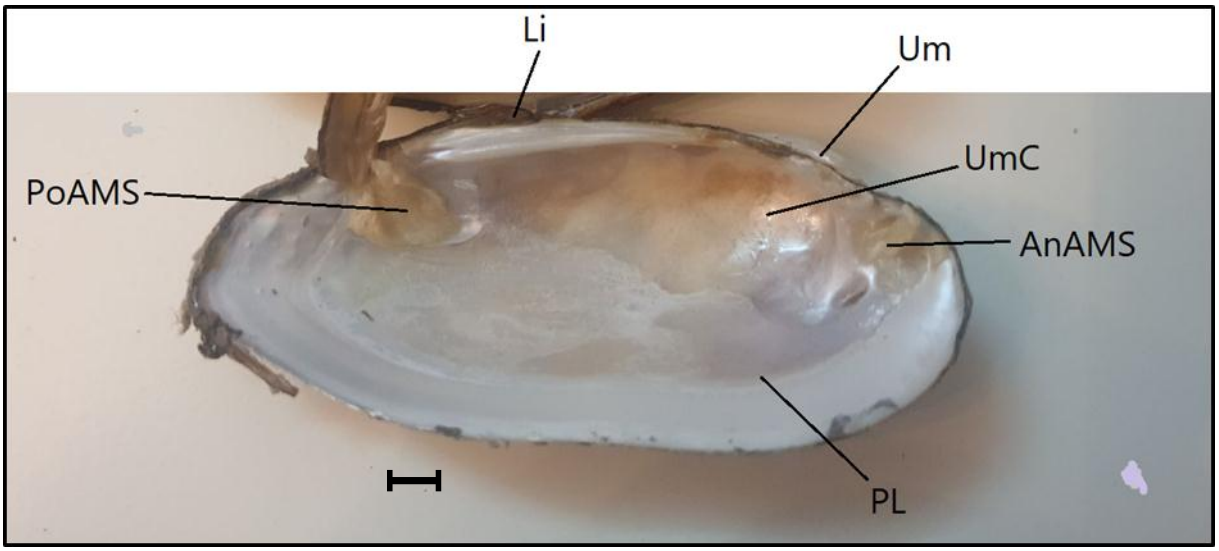
الوصف Description

الجسم بيضوي متطاول قليلا ، متوسط الحجم إلى صغير . الطول **L** : 7.1 سم ، العرض : 2.5 **W** سم ، الارتفاع **H** :3 سم . الصدفتان اليمنى واليسرى متساويتان بالحجم ومتشابهتان بالشكل. القمة مرتفعة قليلا إلى الأعلى ذات لون أبيض لماع. الخطوط المتحدة المركز للقمة مزدوجة .اللون زيتوني فاتح يتدرج إلى الغامق مع وجود خطوط بيضاء على الحافة البطنية من الجسم. الجهة الداخلية للصدفة ذات لون بني فاتح .الحافة الظهرية محدبة قليلا ،الحافة البطنية مسطحة ذات استدارة قليلة ، الحافة الأمامية مدورة ، الحافة الخلفية أرفع من الأمامية.



الشكل (24) منظر جانبي للصدفة اليمنى *U. tigridis*

الشكل (25) منظر سطحي للنوع *U. tigridis* الخطوط المتحدة المركز للقمة

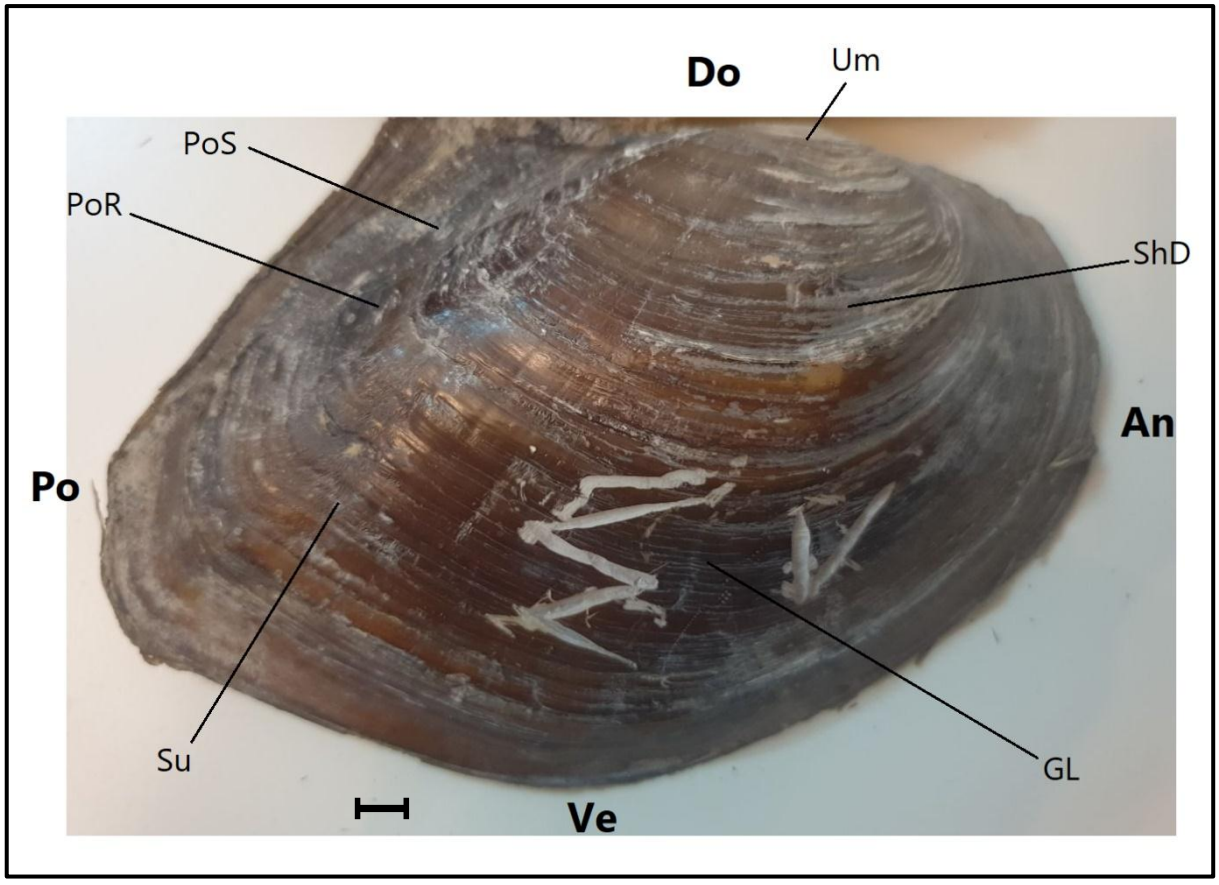


الشكل (26) الجهة الداخلية للصدفة اليمنى للنوع *U. tigridis*

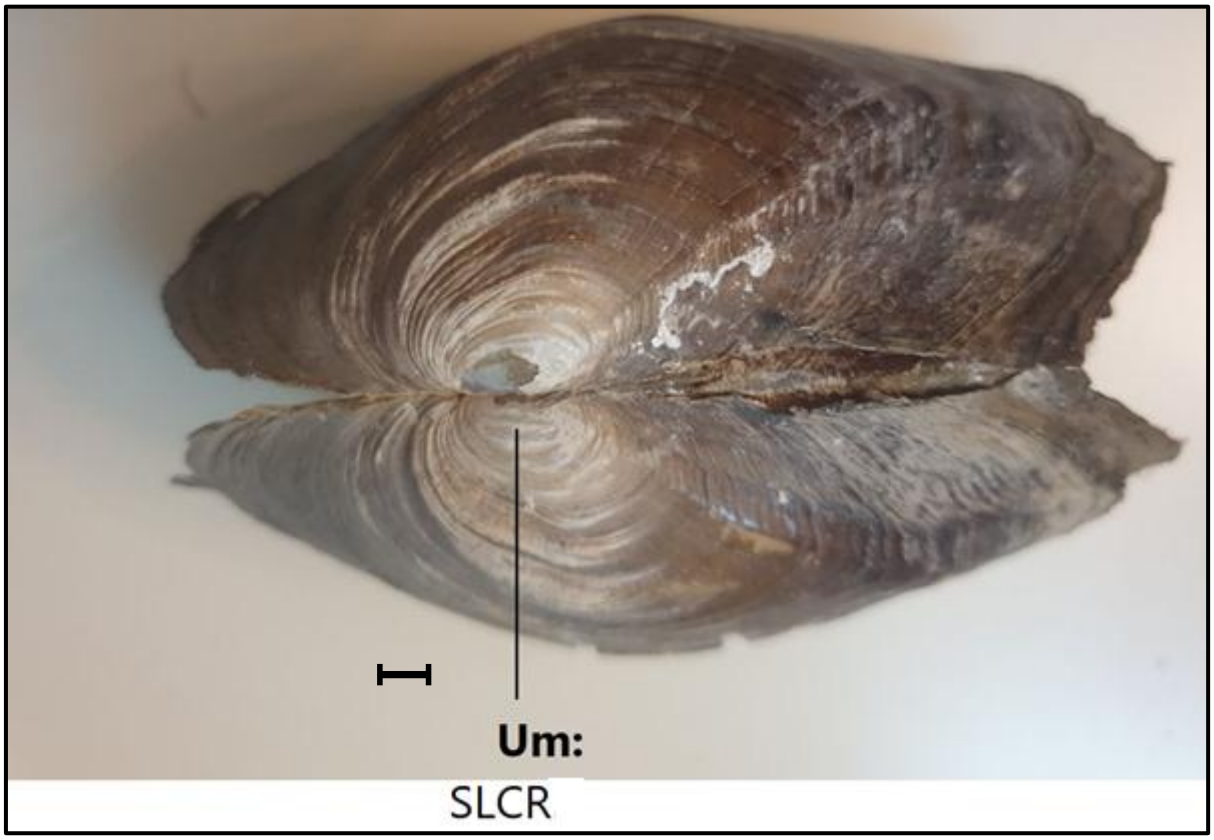
Species : *P. euphraticus* (Bourguigrat, 1852)

الوصف Description

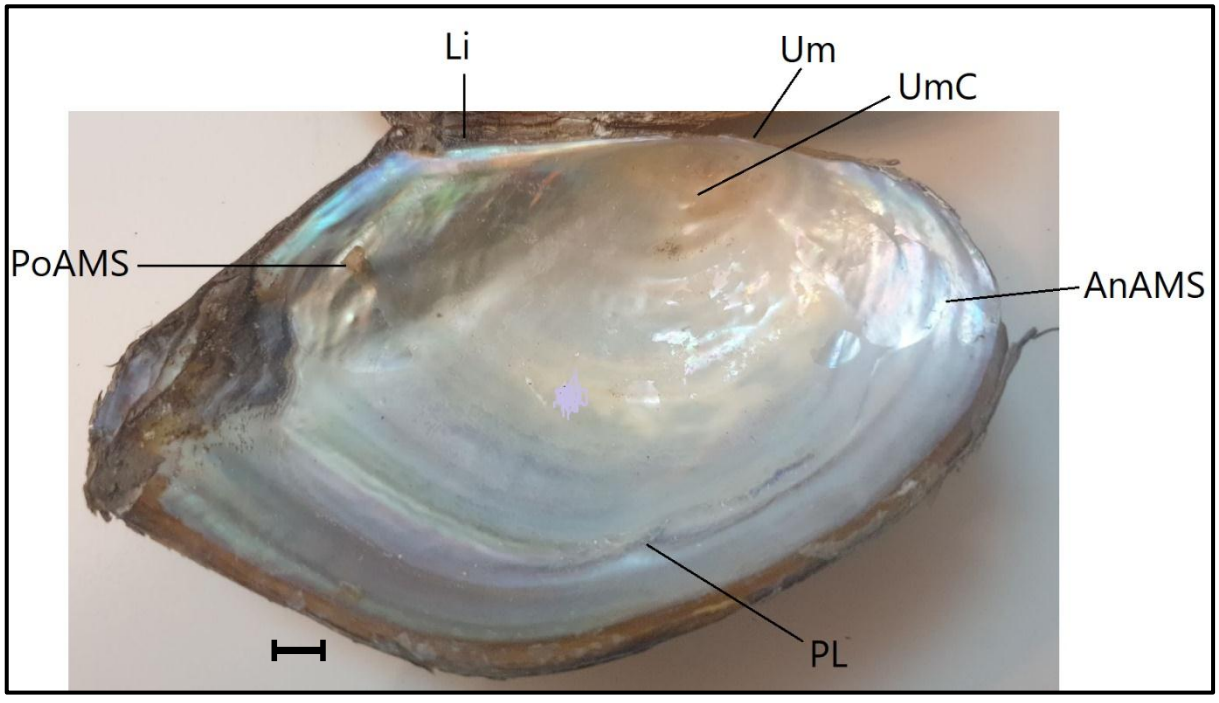
الحجم كبير نسبيا، معيني الشكل . الطول **L** : 13.7 سم ، العرض **W** : 4.9 سم ، الارتفاع **H** : 8.8 سم . الصدفتان اليمنى واليسرى متساويتان بالحجم ومتشابهتان بالشكل.القمة مسطحة .الخطوط المتحدة المركز للقمة مفردة وكثيفة .اللون بني .تتميز الصدفة بخطوط نمو واضحة وخشنة .الجهة الداخلية للصدفة ذي لون اخضر فاتح لماع .الحافة الظهرية مسطحة ذات حافة محدبة بالقرب من الحافة الخلفية ، الحافة البطنية مدورة ذات تحدب وسطي واضح ، الحافة الأمامية مدورة ، الحافة الخلفية رفيعة ذات حافة مقطوعة .



الشكل (27) منظر جانبي للصدفة اليمنى *P. euphraticus*



الشكل (28) منظر سطحي للنوع *P. euphraticus* الخطوط المتحدة المركز للقمة



الشكل (29) الجهة الداخلية للصدفة اليمنى للنوع *P. euphraticus*

❖ **الصفات التشخيصية لعائلة** **Family: Corbiculidae Gray, 1847**

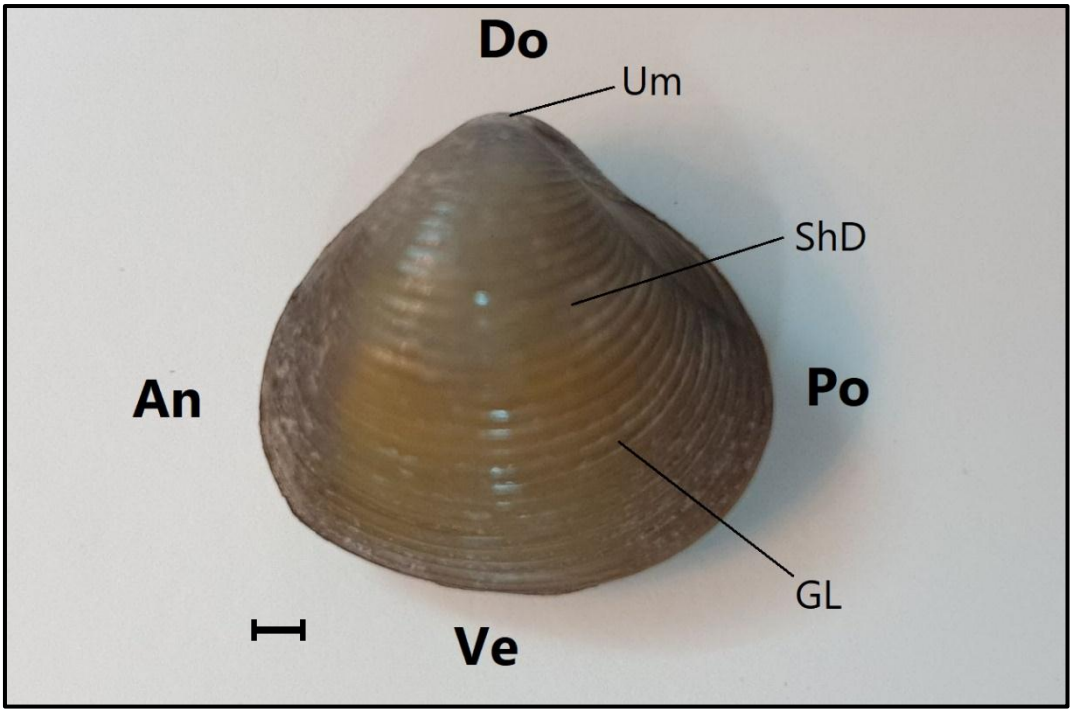
موقع الارتباط بين الصدفتين خارجي . الصدفة ذات أسنان تجويفية حقيقية . منطقة التمفصل ذات أسنان جانبية أمامية وخلفية . الصدفة سميكة تتراوح أطوالها أكثر من 10 ملم ذات حلقات نمو مركزية غير بارزة . (Pennak, 1953 ; Bogan and Alderman, 2008)

****

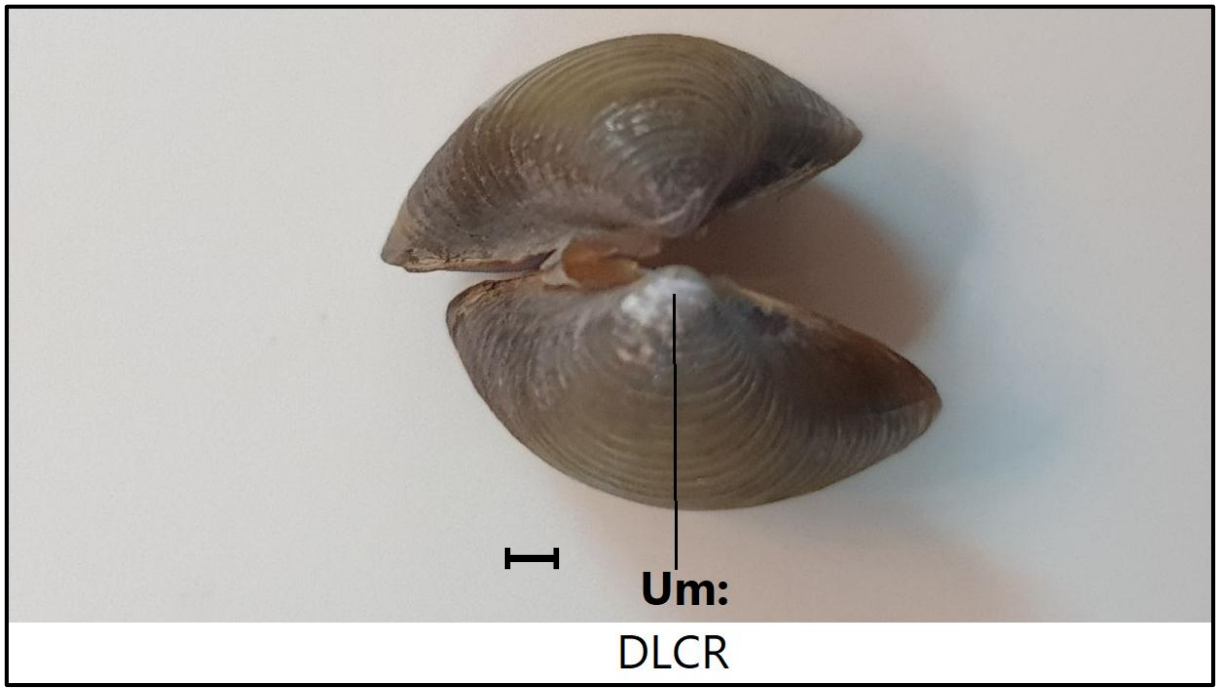
Species : *C. fluminalis* Müller, 1774

الوصف Description

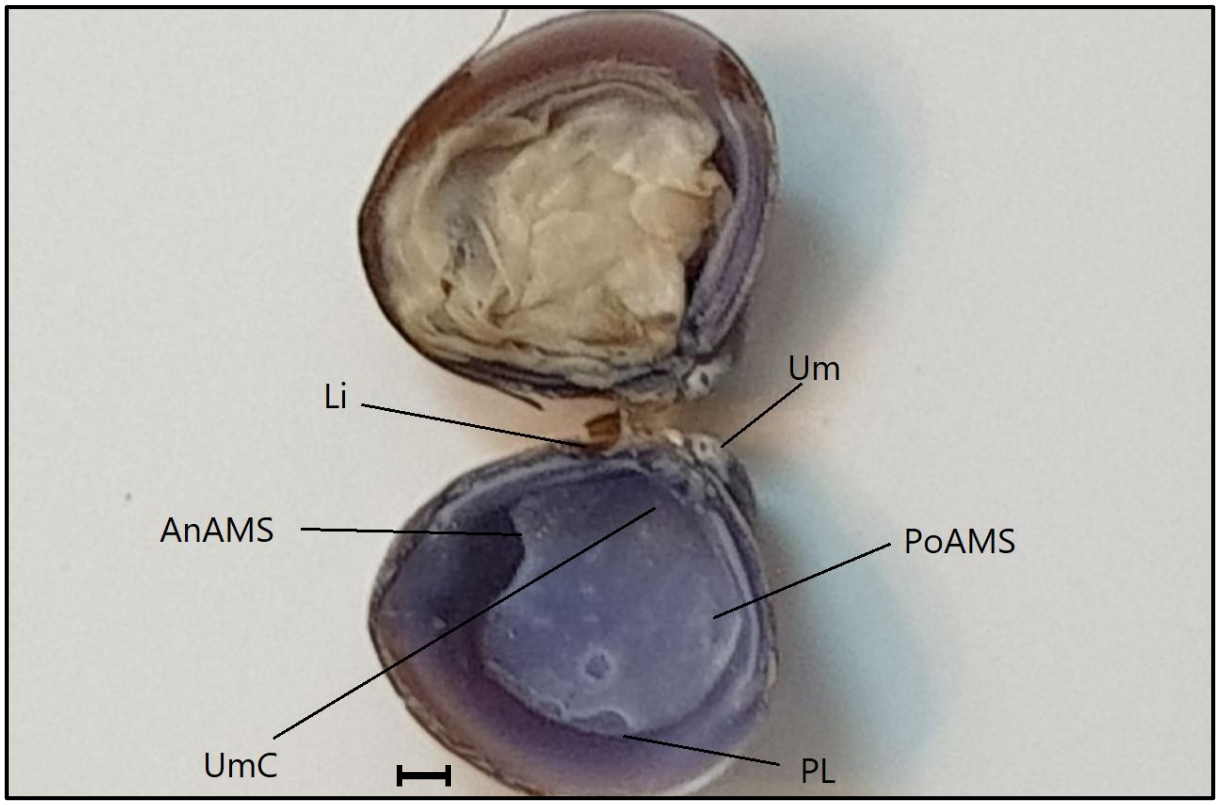
الحجم صغير ، شبه مثلث إلى دائري الشكل. الطول **L** : 2.1 سم ، العرض **W** : 1.2 سم ، الارتفاع **H** : 1.8 سم . القمة بارزة إلى الأعلى وسطية الموقع .الخطوط المتحدة المركز مزدوجة. الصدفتان اليمنى واليسرى متساويتان بالحجم ومتشابهتان بالشكل. اللون يتراوح بين الأسود إلى الزيتوني الفاتح .الحافة الظهرية محدبة إلى الأعلى ، الحافة البطنية ذات استدارة واضحة، الحافة الأمامية والخلفية مدورة. الجهة الداخلية بيضاء اللون . يمكن ملاحظة تجويف القمة وندب اتصال العضلات الأمامية والخلفية.



الشكل (30) منظر جانبي للصدفة اليسرى ***C. fluminalis***



الشكل (31) منظر سطحي للنوع *C. fluminalis* الخطوط المتحدة المركز للقمة

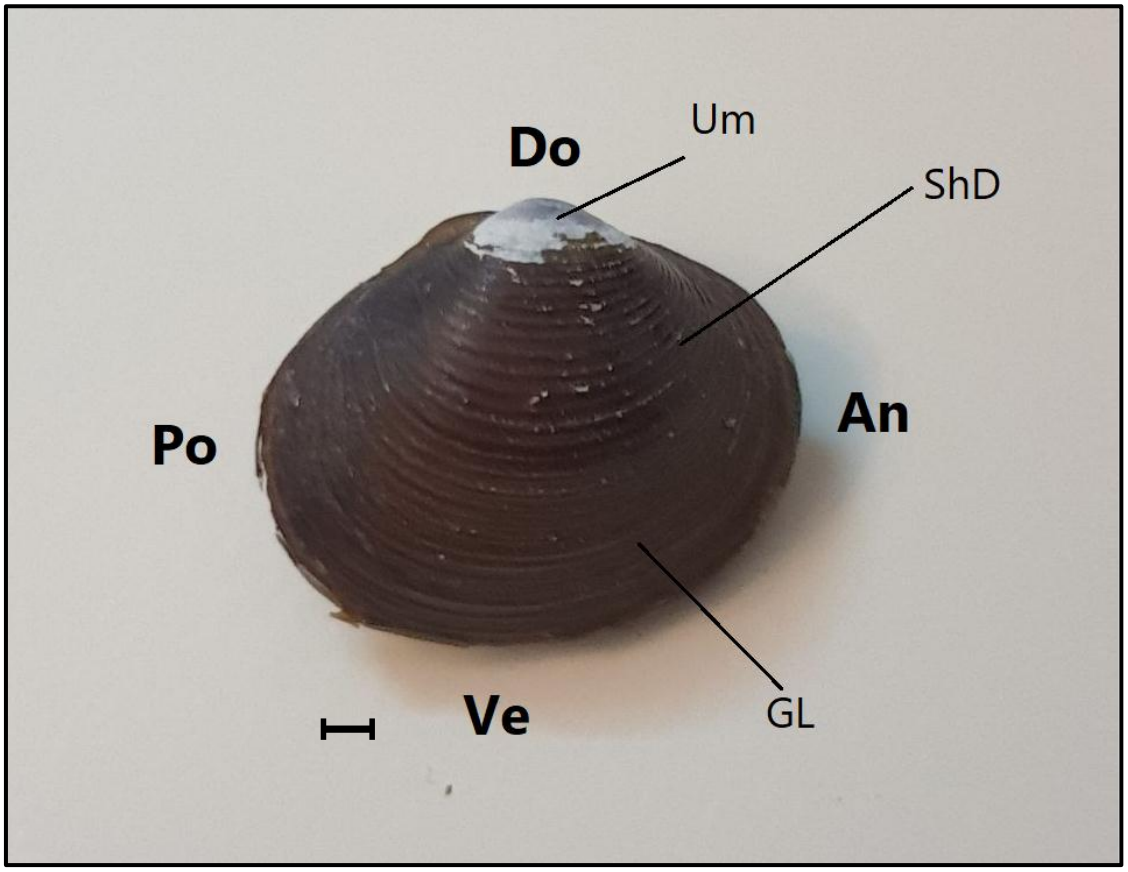


الشكل (32) الجهة الداخلية للصدفة اليسرى للنوع *C. fluminalis*

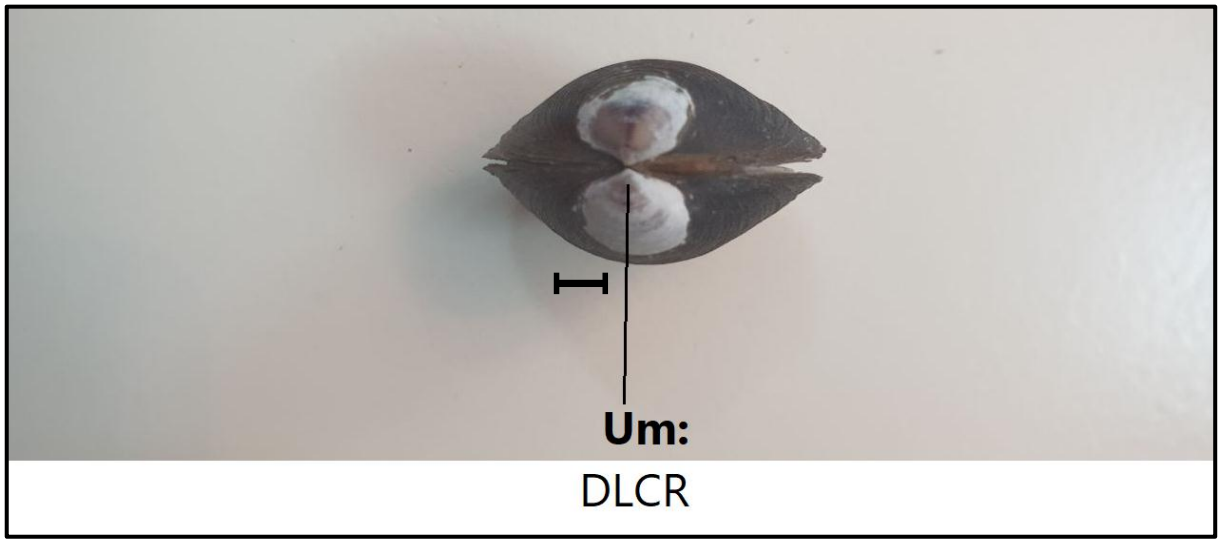
Species: *C. fluminea* Müller, 1774

الوصف Description

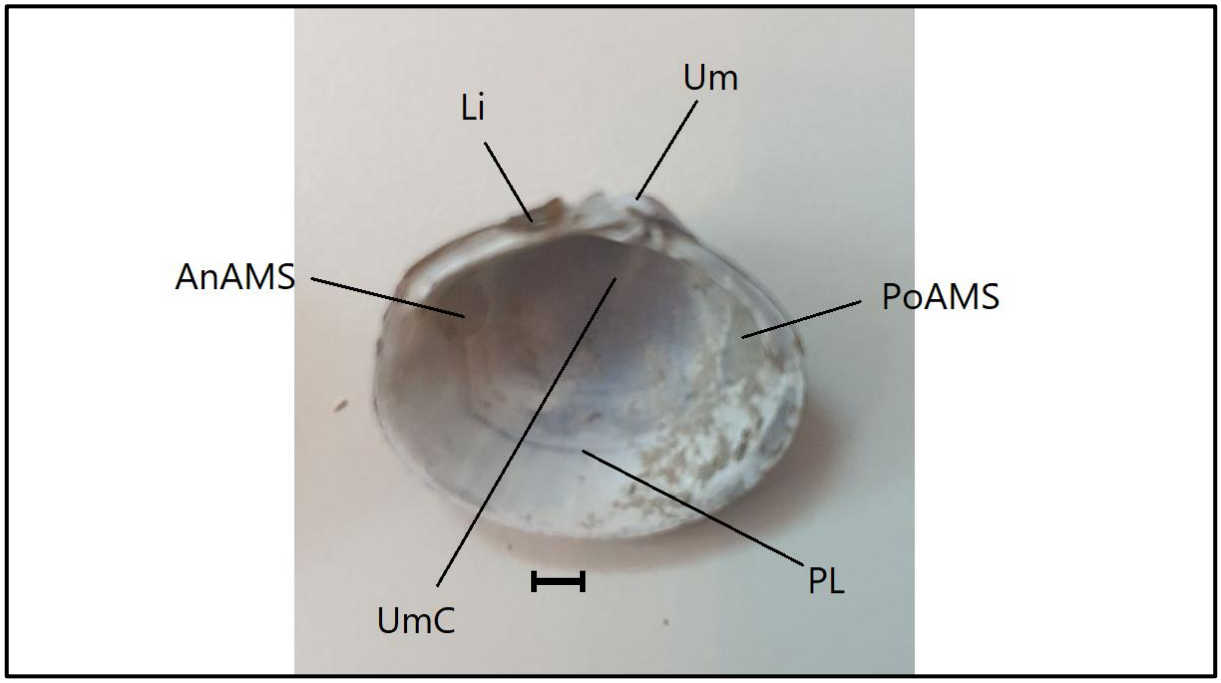
الحجم أكبر من النوع *C. fluminalis*، الشكل مثلث إلى بيضوي . الطول **L** : 2.6 سم ، العرض **W** : 1.5 سم ، الارتفاع **H** :2. 2 سم. القمة بارزة إلى الأعلى وسطية الموقع . الخطوط المتحدة المركز مزدوجة. الصدفتان اليمنى واليسرى متساويتان بالحجم ومتشابهتان بالشكل. اللون يتراوح بين الأسود إلى الزيتوني الغامق. الحافة الظهرية محدبة إلى الأعلى ، الحافة البطنية ذات استدارة واضحة، الحافة الأمامية والخلفية مدورة. الجهة الداخلية بيضاء اللون . يمكن ملاحظة تجويف القمة وندب اتصال العضلات الأمامية والخلفية.



الشكل (33) منظر جانبي للصدفة اليسرى *C. fluminea*



الشكل (34) منظر سطحي للنوع *C. fluminea* الخطوط المتحدة المركز للقمة

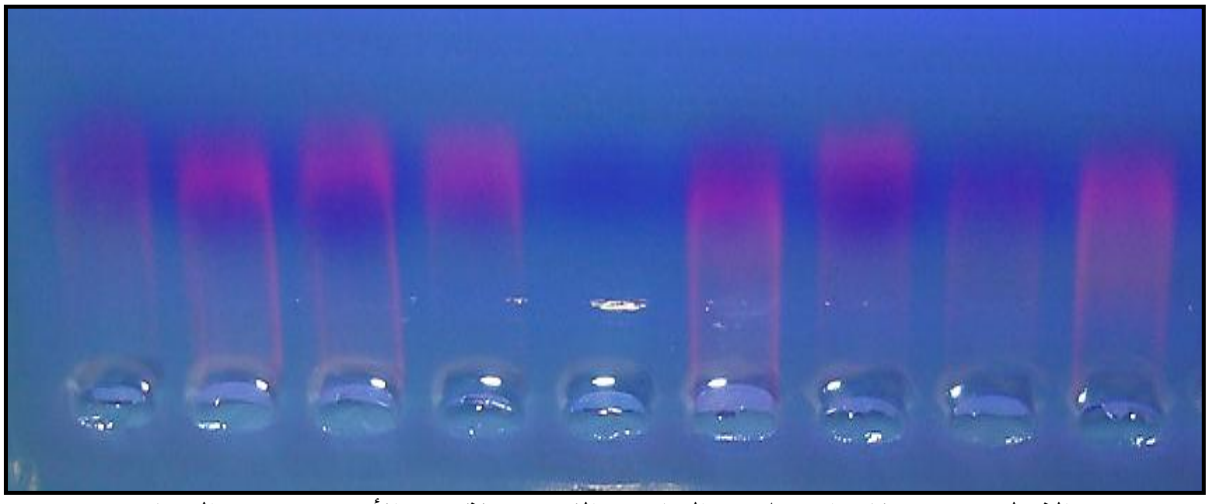


الشكل (35) الجهة الداخلية للصدفة اليسرى للنوع *C. fluminea*

3-4 الدراسة الجزيئية Molecular Study

1-3-4 استخلاص الـDNA من عزلات المحارالتابعة لصنف الـ Bivalvia

أظهرت نتائج استخلاص الدنا(DNA) للعزلات المختبرية من أغشية المحار وأقدامه باستخدام عدة استخلاص(Kit) الجاهزة والخاصة بالنسيج وبعد ترحيلها كهربائيا على هلام الأكاروز احتوائها على حزمة واحدة ونقية للـ(DNA) بعد تعريضها إلى الأشعة فوق البنفسجية (UV. Transillumenator) وتم تصويرها، كما موضحة في شكل (36).



الشكل (36) عينات استخلاص الحامض النووي منقوص الأوكسجين من المحار

2-3-4 قياس وتنقية الحامض النووي منقوص الأوكسجين

في هذه الدراسة تم استخلاص وتنقية الحامض النووي منقوص الأوكسجين DNA من محلول الحمض النووي من أقدام الحيوان باستخدام مجموعة استخراج الحمض النووي (FavorPrep™ Tissue Genomic DNA Extraction Mini Kit) والمجهز من شركة(Favorgen /Korea). كان نطاق نسبة الامتصاص إلى مراقبة الجودة وتركيز الحمض النووي المستخرج للعينات تراوح على الأغلب بين 1.8 إلى 1.9 (Popa *et al*., 2007a) الموضح في جدول (4-1) .

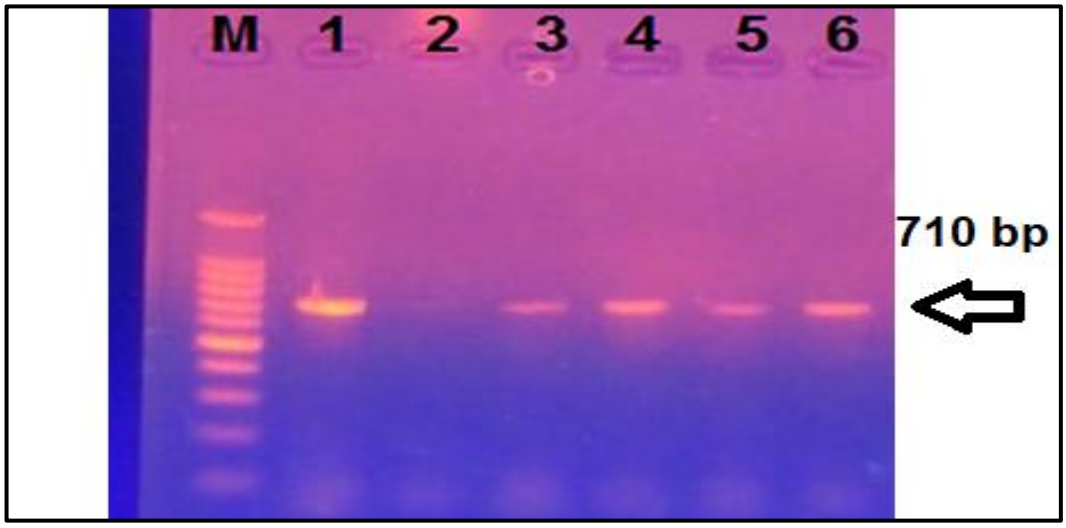
جدول (4-1) تركيز ونقاوة لمستخلصات الحامض النووي للمحار العشوائية بواسطة طريقة FavorPrep™ Tissue Genomic DNA Extraction method .

ت	العينة	المدينة	التركيز µg/ml	الامتصاصية A260\280
1	نهر الحسينية / الجرية	كربلاء	112.5	1.91
2	نهر الفرات / الجمعية	كربلاء/ طويريج	98	1.75
3	نهر اللطيفية	بغداد	298.5	1.86
4	شط المسيب	بابل	135	1.94
5	جدول الوسمية/ الحيدرية	النجف/ خان النص	172.5	1.81
6	شط الكوفة / الزركَة	النجف	355	1.91
7	نهر المحمودية	بغداد	472.5	1.87
8	سدة الهندية	بابل	292.5	1.83
9	نهر الإبراهيمية	كربلاء	129.2	1.82
10	نهر الفرات / المشخاب	النجف	648.5	1.76
11	نهر الوند	كربلاء	245	1.79
12	نهر القائد / اليوسفية	بغداد	187.5	1.91
13	شط الحلة / جبل	بابل	134.5	1.84
14	نهر الفرات / الكفل	النجف	167	1.82
15	شط الحلة / حي الحسين	بابل	287	1.83
16	نهر الفرات/ الحيدرية	النجف/ خان النص	280	1.91

4-3-3 الكشف عن الجين المشفر للـ (Cytochrome oxidase) في الطرز الوراثية لمحار المياه العذبة باستخدام تفاعل سلسلة البوليميريز.

أجريت التفاعلات التضاعفية لسلسلة الدنا لجميع عزلات محار المياه العذبة ، لوحظ عند فحص هلام الأكاروز تحت الأشعة فوق البنفسجية وجود حزمة ناتجة عن عملية التضخم في كل من المسار الأول والثالث و الرابع و الخامس و السادس في إشارة إلى ارتباط البادئات النوعية (Primeres) مع التسلسل المكمل له في الدنا القالب (Template DNA) بينما لوحظ ان المسار الثاني والسابع والثامن الذي يمثل

العينة السالبة دنا إلى خلوهما من أي قطعة متضاعفة وكذلك تم تقدير الأوزان الجزيئية للحزمة المتضاعفة على مواقع الحزم ذات الأوزان الجزئية المعروفة للدليل الحجمي (DNA-Marker) والموضحة في شكل (37) إذ تبين أن الحزمة المتضاعفة تنحصر بين الحجمين 700-800 زوج قاعدي وتم تأكيد ذلك من خلال العلاقة بين الوزن الجزيئي لحزم الدليل الحجمي وبين المسافة التي تحركها تلك الحزم المتضاعفة على هلام الأكاروز .



الشكل (37) الترحيل الكهربائي لناتج التفاعل التضاعفي لسلسة الدنا لمحار المياه العذبة بأستعمال البادئات النوعية لجين للـ(Cytochrome oxidase) في هلام الأكاروز بتركيز 1% وفرق جهد 75 وزمن ساعة

المسارM : الدليل الحجمي (DNA Marker)

المسار الأول: عينة أخذت من شط المسيب / محافظة بابل

المسار الثاني :عينة سالبة ماء مقطر خالي من الايونات

المسار الثالث: عينة أخذت من نهر الفرات شط مله /محافظة كربلاء

المسار الرابع :عينة أخذت من نهر القائد / اليوسفية / محافظة بغداد

المسار الخامس: عينة أخذت من نهر فرعيل / الصلامية / محافظة كربلاء

المسار السادس: عينة أخذت من نهر الوند / محافظة كربلاء

4-3-4 الأرقام القياسية (Accession Number) للعزلات المحلية

تم الحصول على الأرقام القياسية لكل من القواعد النايتروجينة والبروتين للعزلات المحلية من موقع جين بنك العالمي وكما موضحة في جدول (4-2).

جدول (4-2) الأرقام القياسية للقواعد النايتروجينية والبروتين للعزلات المحلية والمعزولة من المياه العذبة والمناطق التي وجدت فيها العينة

ت	رقم الملحق	إسم العزلة	الرقم القياسي للقواعد النايتروجينية	الرقم القياسي للبروتين	المنطقة التي أخذت منها العينة
1	3	*Sinanodonta woodiana*	LC656037	**********	النجف /الكوفة الزركة
2	4	*Sinanodonta woodiana*	LC658986	**********	النجف/المشخاب
3	5	*Unio elongatulus*	LC651631	BDB33862.1	بابل/شط المسيب
4	6	*Unio elongatulus*	LC651632	BDB33863.1	كربلاء/طويريج الجمعية
5	7	*Unio mancus mancus*	LC651633	BDB33864.1	بابل/شط الحلة جبلة
6	8	*Unio delphinus*	OK534157	UCY55571.1	النجف/خان النص/الحيدرية

***** يدل على أن هذا النوع ذات تسلسل جزئي (Partial sequence) فإن الجين بنك قد يحدد له بروتين أو لايحدد ، إذ إن الجين بنك نظام خاص لانستطيع أن نتحكم بالمعلومات التي يعطيها عن ذلك التسلسل .**

5-3-4 التحليل الجزيئي للعزلات المحلية ومقارنتها مع العزلات العالمية

- ***S. woodiana***

أُجريَّ الكشـــــــــف عن تتابع تسلسل القـــــــواعد النتروجينية لمورث العزلة المحلية قيد الدراسة *S. woodiana* من أنهار وسط العراق لبيان أوجه التشابه والإختلاف مع الموروثات *S. woodiana* ذي الأرقام القياسية العالمية من خلال تحليل تتابع تسلسل المـــــــــــورث بوساطة (Multiple sequence alignment) في موقع المركز الوطني لمعلومات التقانة الحيوية (NCBI) ، إنَّ الغرض من ألـ(DNA sequencer)هو تأكيد لعينات *S. woodiana* و *U . delphinus* المحلية فضلاً عن معرفة مع من تتشابه من بين *U. mancus mancus* و *U. elongatulus* العالمـــــــية. وهذه النتائج تؤكـــد صحـــــــة تشخـــيصها بعد مقارنتها مع عينات قياسية

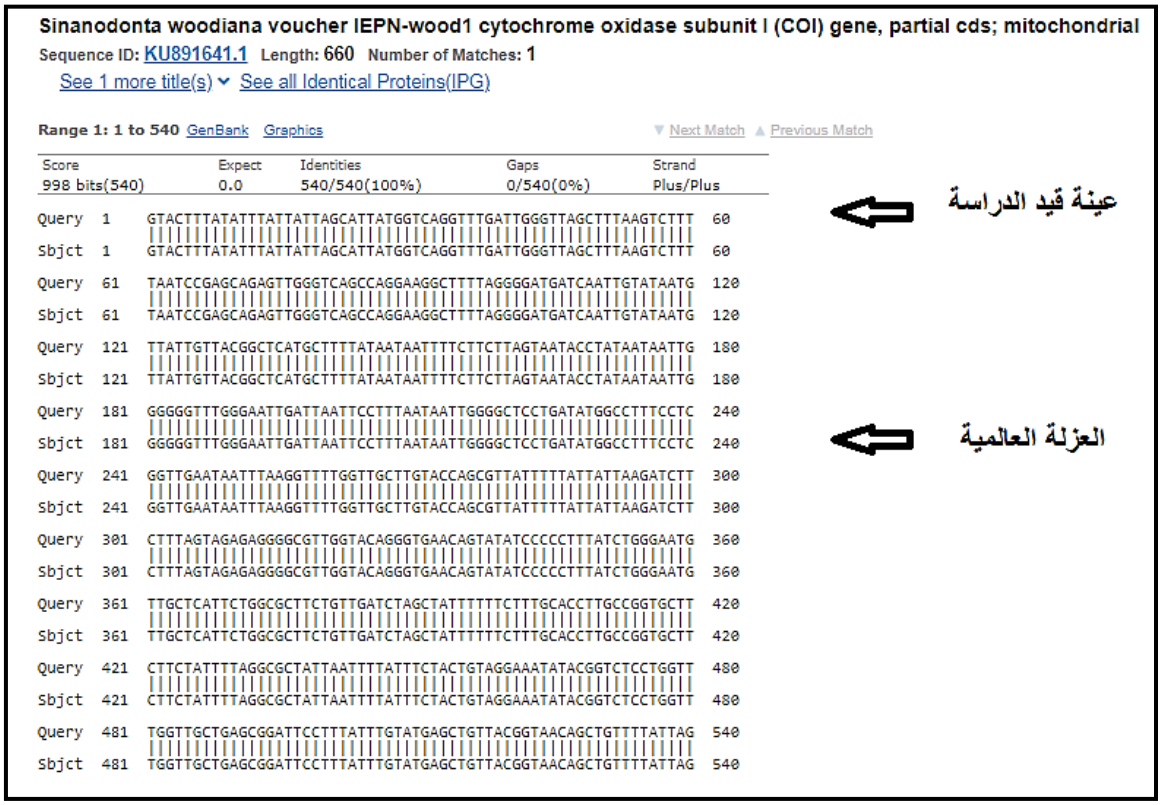
عالمـــــــــية لمعرفـة تسلســـــــــل القواعـد النتروجينيـة لهـذه الموروثـات التـي تُمثِّـل المـــــــورثة المـــــرجعية (Refrence gene).

أثبتت الشجرة الوراثية بأن هناك تقارباً وراثياً بين العزلتين المحليتين وتقاربهما مع العزلات العالمية كما موضـح فـي الشـكل (38) وكـذلك ابتعـدت العينتـان عـن العـزلات القياسـية والتـي تحمـل الـرقم القياسـي (KY978736.1) و(MF414352.1) و(MT013197.1) و(OU070149.1).

الشكل (38) الشجرة الوراثية للعزلتين المحليتين نوع *S. woodiana* وتقاربهما مع العزلات العالمية

إذ أظهرت نتائج تحليل القواعد النايتروجينية في محـار نـوع *S. woodiana* وجـود تقـارب بنسبة 100% مـع العـزلات العالميـة (KU891642.1) و (KX424977.1) و (MG742232.1) والعائـدة إلى كل من الدول ماليزيا، والفلبين والصين على التوالي. فضلاً عن وجود تباعد للباحث Konečný *et al.*, (2018) للمحار نـوع *S. woodiana* الذي يحمل الرقم قياسي (OUO70149.1) العائد إلـى دولة المانيا.

أحـد أسـباب التقـارب الجزيئـي للعزلـة المحليـة مـع العزلـة العالميـة التـي تحمـل الـرقم القياسـي (KU891641.1) هـو تسلسـل القواعـد النايتروجينـة للحـامض النـووي المشـفر للـ Cytochrome oxidase الموجود في المايتوكندريا كما موضح في الشكل (39).



الشكل (39) تطابق القواعد النايتروجينية للعزلة المحلية نوع *S. woodiana* ومقارنتها مع العزلة العالمية

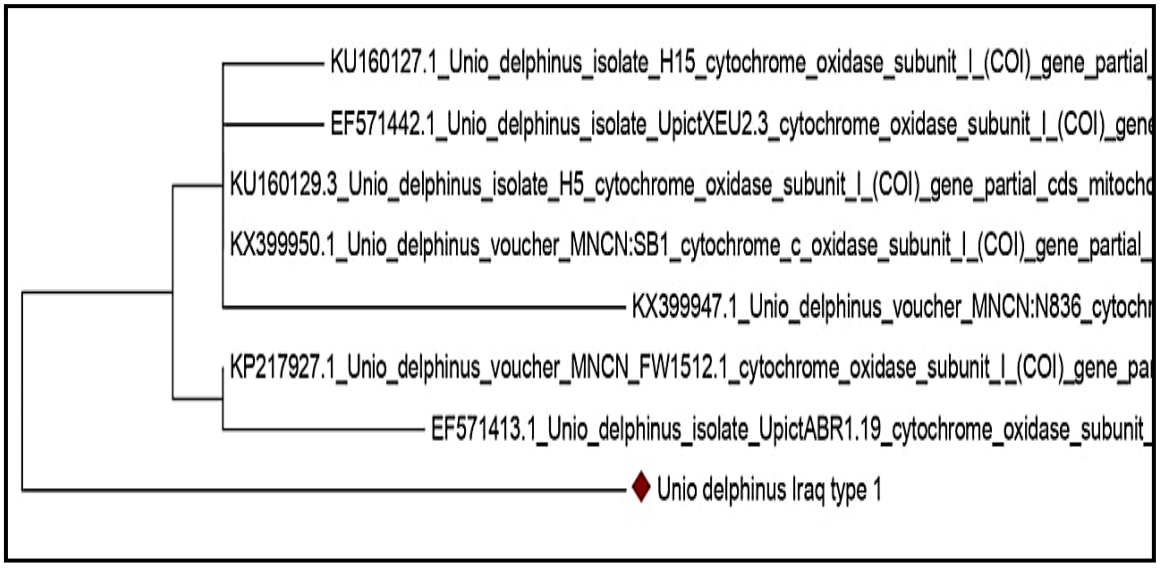
يسمى *S. woodiana* بلح البحر الصيني ، فهو من محار المياه العذبة في شرق آسيا أو بلح البحرالاسيوي ، وهو رخوي مائي ثنائي الصدفة من ضمن عائلة Unionidae (Carella *et al.*, 2016). يمكن أن يصل حجم بلح البحر الصيني إلى 30 سم ويصل عمره إلى 12-14 سنة. ومع ذلك ، يمكنهم التكاثر في عامهم الأول بينما يبلغ حجمهم (3-4) سم فقط ، بلح البحر الضخم الذي يعيش في المياه العذبة يكون ذا قدرة تحمل عالية للطمي (Popa *et al.*, 2007b). فهو موجود في جميع أنحاء العالم ، و يمتلك بلح البحر صفة تدعى (Glochidium) تكون فيها اليرقات ذات خطافات تمكنه من الالتصاق بالأسماك ، التي من خلالها تتغذى على الأسماك المضيفة. يعد هذا النوع مضيفًا عامًا واسع النطاق ، هناك بعض الدراسات استطاعت إكمال تطوره على جميع أنواع الأسماك المختبرية ، سواء أكانت مضافة أم محلية (Douda *et al.*, 2012).

- ***U. delphinus***

أُجريَّ الكشـــــــــف عن تتابع تسلسل القـــــــواعد النتروجينية لمورث العزلة المحلية قيد الدراسة *U. delphinus* من أنهار وسط العراق لبيان أوجه التشابه والإختلاف مع الموروثات *U.*

delphinus ذات القياسـية العالميـة مـن خـلال تحليـل تتـابع تسلسـل المـــــــــــــورث بوسـاطة (Multiple sequence alignment) في موقع المركز الوطني لمعلومات التقانة الحيوية (NCBI)

أثبتت الشـجرة الوراثيـة بـأن هنـاك تباعداً وراثيـاً بـين العزلـة المحليـة بفرع جديد (new branch) وصنف غريب (New taxon) وعدم تقاربها مع العزلات العالمية، كما موضح في الشكل (40) وكذلك ابتعدت العينة من الصنفين (2 clade) مع العزلات القياسية التي تحمل الرقم القياسي (KP217927.1) و(EF571413.1)و(KX399950.1)و(KU160129.3) و (EF571442.1) و(KU160127.1).

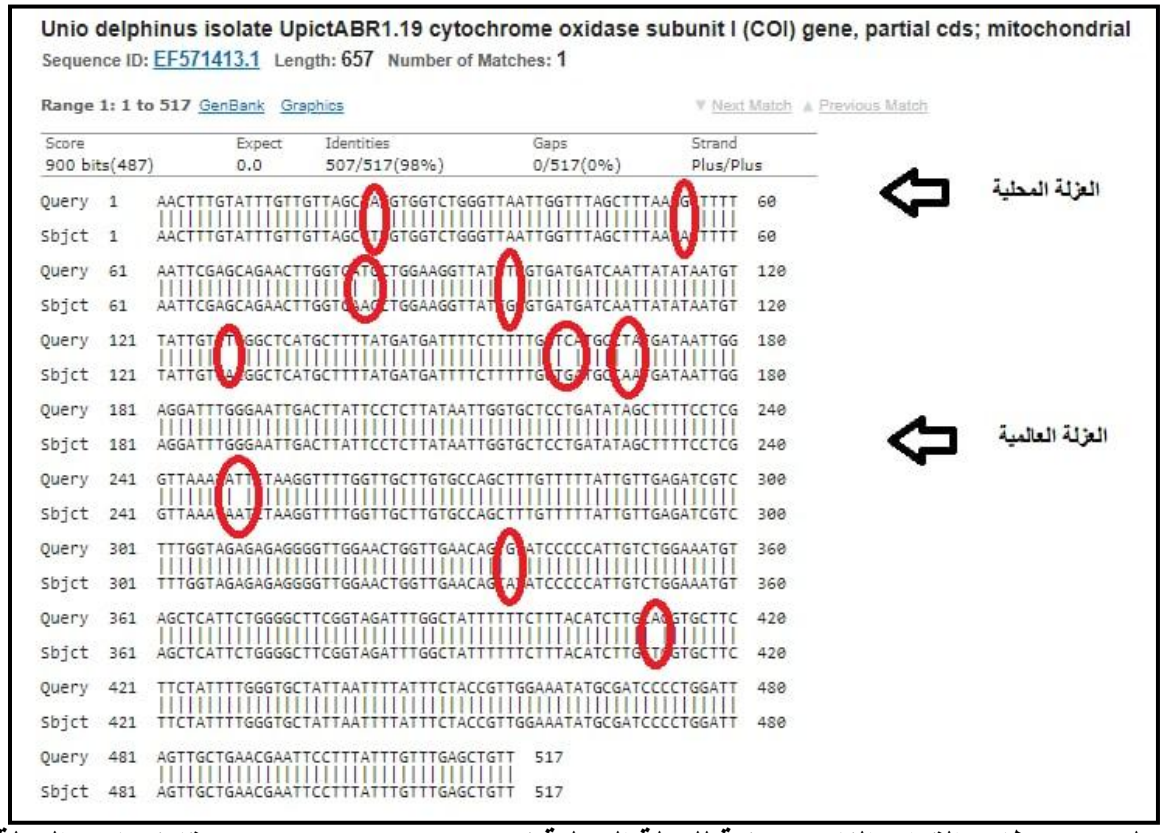


الشكل (40) الشجرة الوراثية للعزلة المحلية نوع *U. delphinus* وتقاربها مع العزلات العالمية

أظهرت نتائج تحليل القواعد النايتروجينية في محار نوع *U. delphinus* وجود تقارب بنسبة 100% مع العزلتين العالمية (KU160129.3) و (KX399950.1) والعائدة إلى دولة البرتغال على التوالي .

فضلاً عن وجود تقارب وراثي بين العزلتين القياسيتين (KU160129.3) و (EF571442.1) للمحار نوع *U. delphinus* والعائدة إلى دولة البرتغال والعائدة للباحث (Froufe *et al*., 2017) .

أحد أسباب التباعد الوراثي الجزيئي للعزلة المحلية مع العزلة العالمية التي تحمل الرقم القياسي (EF571413.1) هو اختلاف تسلسل القواعد النايتروجينة للحامض النووي المشفر للـ (Cytochrome oxidase) الموجود في المايتوكوندريا للعزلة المحلية بنسبة 2% والتطابق كان 98% إذ أوضحت نتائج الدراسة بأن هناك عشر قواعد نايتروجينية مختلفة بين العترتين أي بحدود 507 تشابه قواعد نايتروجينية من اصل 517 قاعدة نايتروجينية عند عمل (Two sequence alignment) كما موضح في الشكل (41).



الشكل (41) تطابق القواعدالنايتروجينية للعزلة المحلية نوع *U. delphinus* ومقارنتها مع العزلة العالمية ذات الرقم القياسي(EF571413.1) ، الحلقة الحمراء تمثل القواعد المختلفة ،إذ يلاحظ وجود عشرِ قواعد نايتروجينية مختلفة من اصل 517 قاعدة نايتروجينية.

يبلغ عدد أنواع بلح البحر في المياه العذبة حوالي 870 نوعٍ ، توضيح الأنواع التي تشكل الأنواع الصالحة يرجع أساسًا إلى التقدم في علم الوراثة.(Graf and Cummings, 2007) ، ومع ذلك لا يمكن أنْ يعتمد تحديد الأنواع على التصنيف المظهري فقط.

يسكن *U. delphinus* في مجموعة متنوعة من الموائل والظروف البيئية ، بما في ذلك البحيرات و الأنهار ، التي تتراوح من المياه قليلة التغذية إلى مجاري المياه شبه القاحلة (Reis, 2006; Araujo *et al.*, 2009).

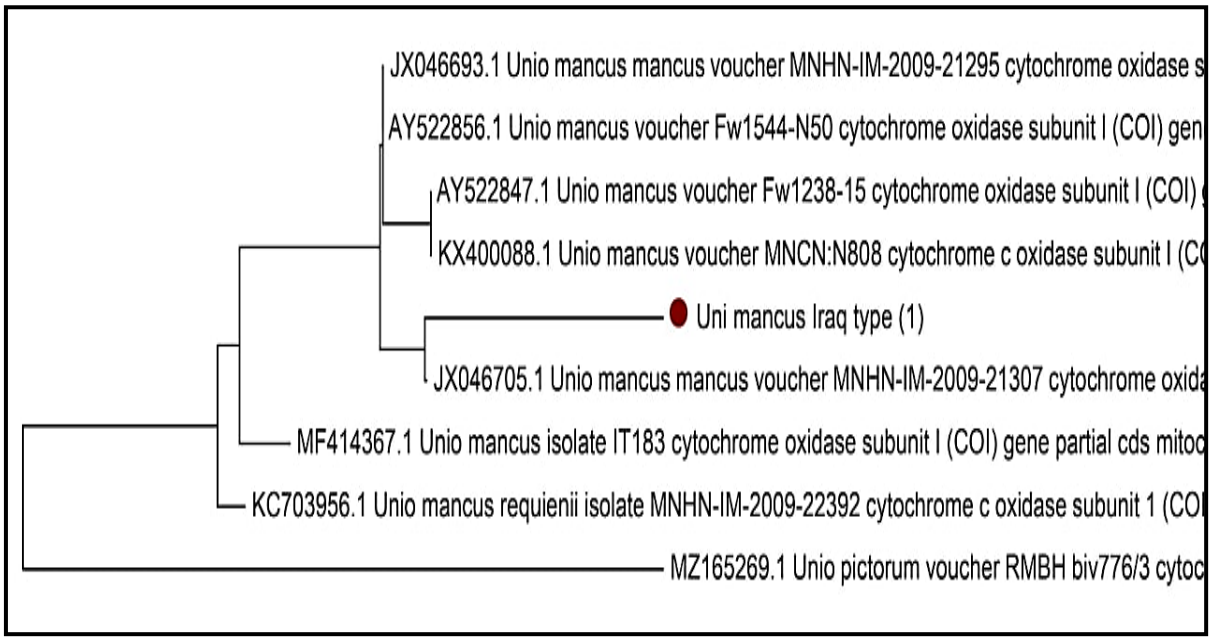
- ***U. mancus mancus***

أُجريَّ الكشـــــــــف عن تتابع تسلسل القـــــــواعد النتروجينية لمورث العزلة المحلية قيد الدراسة *U. mancus mancus* من أنهار وسط العراق لبيان أوجه التشابه والإختلاف مع الموروثات *U. mancus mancus* ذات العزلة القياسية العالمية من خلال تحليل تتابع تسلسل المـــــــــــورث بوساطة (Multiple sequence alignment) في موقع المركز الوطني لمعلومات التقانة الحيوية (NCBI) .

أثبتت الشجرة الوراثية بأن هناك تقارباً وراثياً بين العزلة المحلية للمحار من نوع *U. mancus mancus* في الفرع نفسه branch 1 clade) مع العزلات العالمية التي تحمل الرقم القياسي (JX046705.1) ، (KX400088.1) ، (AY522856.1) كما موضح في الشكل (42) والتي تعود إلى دول فرنسا واسبانيا على التوالي.

وابتعدت العزلة المحلية للمحار من نوع *U. mancus mancus* عن العزلات العالمية التي تقع في الفرع الثاني 2 branch (2 clade) والتي تحمل الرقم القياسي (MF414367.1)، (KC703956.1) التي تعود إلى دول البرتغال وفرنسا على التوالي.

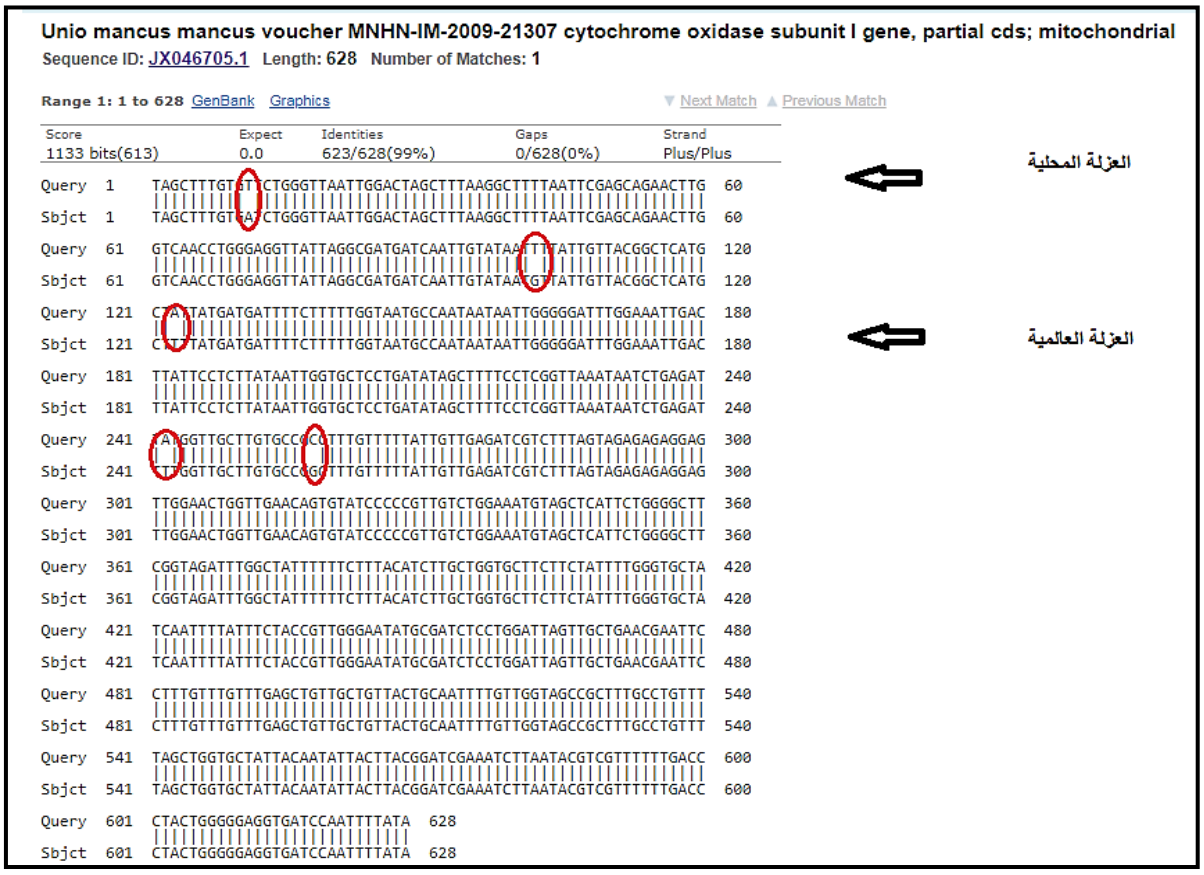
إذ أظهرت نتائج تحليل القواعد النايتروجينية في محار نوع *U. mancus mancus* وجود تقارب بنسبة 100% في القواعد النايتروجينية بين العزلتين العالمية (AY522847.1) و (KX400088.1) وكذلك هناك تقارب 100% في قواعد النايتروجينية للعزلتين العالميتين ذات الرقمين القياسيين (JX046693.1) و (AY522856.1).



الشكل (42) الشجرة الوراثية للعزلة المحلية نوع *U. mancus mancus* وتقاربها مع العزلات العالمية

أحد أسباب التقارب الوراثي الجزيئي للعزلة المحلية مع العزلة العالمية التي تحمل الرقم القياسي (JX046705.1) هو وجود تشابه في تسلسل القواعد النايتروجينة للحامض النووي المشفر للـ (Cytochrome oxidase) الموجود في المايتوكندريا للعزلة المحلية بنسبة 1% والتطابق كان 99% إذ أوضحت نتائج الدراسة بأن هناك خمس قواعد نايتروجينية مختلفة بين العزلتين أي بحدود 623

تشابه قواعد نايتروجينية من أصل 628 قاعدة نايتروجينية عند عمل (Two sequence alignment) كما موضح في الشكل (43).



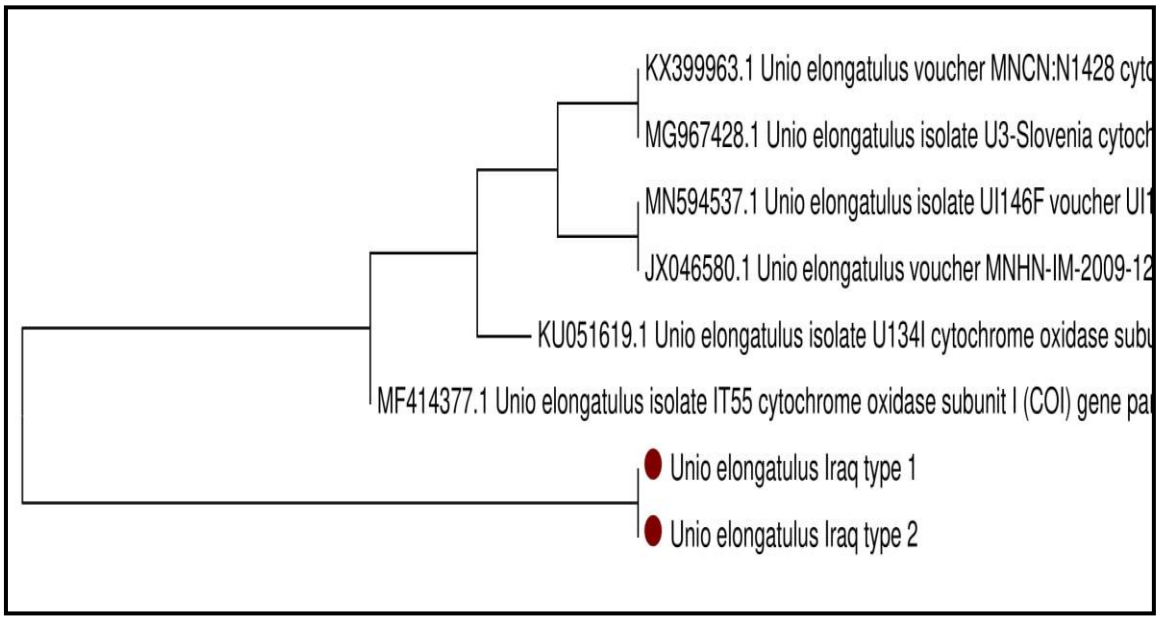
الشكل (43) تطابق القواعد النايتروجينية للعزلة المحلية نوع *U. mancus mancus* ومقارنتها مع العزلة العالمية ذي الرقم القياسي (JX046705.1) ، الحلقة الحمراء تمثل القواعد المختلفة ،إذ يلاحظ وجود خمس قواعد نايتروجينية مختلفة

يصل حجم محار نوع *U. mancus mancus* عادة إلى حجم 55-65 ملم 2.2- 2.6 بوصة) ، بحد أقصى 10 سم (3.9 بوصة). ان بلح البحر هذا له سمحاق بني غامق أو أخضر مصفر. الأصداف متكافئة وغير متساوية الشكل وبيضاوية الشكل ، مع حافة أمامية مستديرة وهامش خلفي مبتور. ويكون من الداخل أبيض قزحي الألوان (Araujo *et al.*, 2005) ، ويمكن العثور على هذا النوع *U. mancus mancus* من شمال شرق إسبانيا في جميع أنحاء منطقة البحر الأبيض المتوسط وشمال شرق إفريقيا والشرق الأوسط. وهي موجودة في النمسا والبوسنة والهرسك وكرواتيا وقبرص وفرنسا واليونان وإيطاليا ولبنان والجبل الأسود وسلوفينيا وإسبانيا وسويسرا وسوريا وتركيا (Yologlu *et al.*, 2018).

- ***U. elongatulus***

أُجريَّ الكشـــــــــف عن تتابع تسلسل القـــــــواعد النتروجينية لمورث العزلة المحلية قيد الدراسة *U. elongatulus* من أنهار وسط العراق لبيان أوجه التشابه والإختلاف مع الموروثات *U. elongatulus* ذي العزلة القياسية العالمية من خلال تحليل تتابع تسلسل المـــــــــــورث بوساطة (Multiple sequence alignment)في موقع المركز الوطني لمعلومات التقانة الحيوية (NCBI).

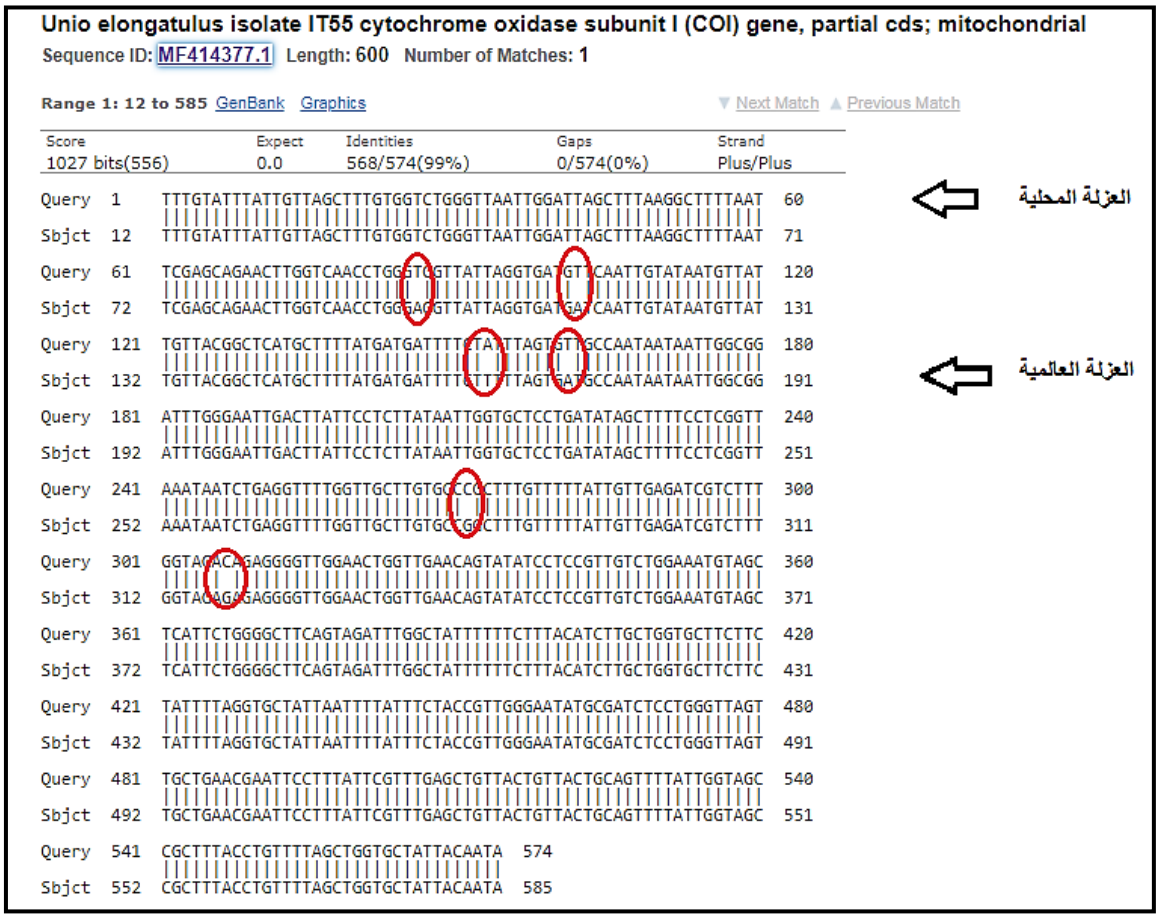
أثبتت الشجرة الوراثية بأن هناك تقارباً وراثياً بين العزلتين المحليتين للمحار من نوع *U. elongatulus* في نفس الفرع branch ونفس (1 clade) وتقاربت مع العزلة العالمية التي تحمل الرقم القياسي (MF414377.1) كما موضح في الشكل (44) التي تعود إلى دولة البرتغال. وابتعدت العزلة المحلية للمحار من نوع *U. elongatulus* عن العزلات العالمية التي تقع في الفرع الثاني 2 branch (2clade) التـــــــي تحمـــــــل الـــــــرقم القياســـــــي (KX399963.1) ، (MG967428.1)، (MN594537.1) و(JX046580.1) التـي تعـود إلـى دول اسـبانيا وايطاليـا والبرتغال وفرنسا على التوالي.



الشكل (44) الشجرة الوراثية للعزلتين المحليتين نوع *U. elongatulus* وتقاربهما مع العزلات العالمية

أحد أسباب التقارب الوراثي الجزيئي للعزلة المحلية لمحار نوع *U. elongatulus* مع العزلة العالمية التي تحمل الرقم القياسي (MF414377.1) هو وجود تشابه في تسلسل القواعد النايتروجينة للحامض النووي المشفر للـ (Cytochrome oxidase) الموجود في المايتوكندريا للعزلة المحلية بنسبة 1% والتطابق كان 99% إذ أوضحت نتائج الدراسة بأن هناك ست قواعد نايتروجينية مختلفة بين

العترتين أي بحدود 563 تشابه قواعد نايتروجينية من أصل 574 قاعدة نايتروجينية عند عمل(Two sequence alignment)كما موضح في الشكل (45).



الشكل (45) تطابق القواعد النايتروجينية للعزلة المحلية نوع *U. elongatulus* ومقارنتها مع العزلة العالمية ذات الرقم القياسي (MF414377.1) ، الحلقة الحمراء تمثل القواعد المختلفة ،إذ يلاحظ وجود ست قواعد نايتروجينية مختلفة

إنَّ بلح البحر نوع *U. elongatulus* هو نوع من رخويات المياه العذبة ذات الصدفتين الموجودة في حوض البحر الأبيض المتوسط الأوسط (إيطاليا والمناطق الساحلية في سلوفينيا وكرواتيا)(Froufe *et al.*, 2017). يعد بالفعل نوعًا موصوفاً (تم تحديده في عام 1825 بواسطة Carl Pfeiffer) ، ثم أصبح مرادفًا لـ *U. mancus* ومع ذلك ، فقد تمت إعادة التصديق عليه مؤخرًا (2013)(Puillandre, Prié and 2014).

هذا النوع مشابه من وجهة نظر مورفولوجية وبيئية لأنواع *U. mancus*. كما هو الحال في جميع Unionids ، إن شكل الصدفة في تحديد الهوية يكون أمرًا صعبًا وغير مؤكد إلا على أساس شكلي. يمكن التمييز بين النوعين باستخدام التقنيات الجزيئية (Bauer and Wächtler, 2012).

الفصل الخامس

الاستنتاجات والتوصيات

Conclusions and Recommendations

5-1الاستنتاجات Conclusion

1- خلال الدراسة وجد أن أنواع عائلة Unionidae هي الأكثر انتشاراً مقارنة مع الأنواع الأخرى ضمن مناطق الجمع التي حددت خلال الدراسة .

2- تم تسجيل أربعة أنواع جديدة للمحار هي ***U. mancus , U. delphinus , S. woodiana*** لأول مرة في العراق . ***U. elongatulus , mancus***

3- أظهرت نتائج تحليل القواعد النايتروجينية في محار نوع ***S. woodiana*** وجود تقارب بنسبة 100% مع العزلات العالمية العائدة الى كل من الدول ماليزيا، والفلبين والصين على التوالي. وأظهرت نتائج تحليل القواعد النيتروجينية بأن هناك تقارباً وراثياً بين العزلة المحلية للمحار من نوع ***U. mancus mancus*** مع العزلات العالمية التي تعود الى دول فرنسا ، واسبانيا على التوالي. وأثبتت الشجرة الوراثية بأن هناك تقارباً وراثياً بين العزلتين المحليتين للمحار من نوع ***U. elongatulus*** إذ تقاربت مع العزلة العالمية التي تعود الى دولة البرتغال. في حين أثبتت الشجرة الوراثية بأن هناك تباعداً وراثياً بين العزلة المحلية لمحار نوع ***U. delphinus*** بعدم تقاربها مع أي من العزلات العالمية .

2-5 التوصيات Recommendation

1) يمكن استخدام جين COI لتحديد الأنواع الذين ينتمون إلى الجنس نفسه ، وكذلك للتمييز بين الأنواع من الأجناس المختلفة.

2) إجراء بحوث يمكن استخدام تقنية الجزيئي PCR فيها للتعرف على أنواع المحار في المياه المالحة في داخل القطر وعدم الاقتصار على المياه العذبة فقط .

3) إجراء دراسة بيئية ومظهرية لجمع العينات تشمل جميع أو أغلب محافظات العراق ومن جميع الموارد المائية للمياه العذبة والمالحة والمويلحة (أنهار وبحيرات وبرك وجداول) ومدة زمنية أوسع للحصول على أنواع جديدة وإغناء المجموعة الحيوانية للقطر من هذه المجموعة .

4) إجراء دراسة تصنيفية من خلال استخدام الصفات التصنيفية للتشريح الداخلي للمحار.

5) إجراء دراسة طبية بحتة للمحار(الصدفة والجسم الرخوي) للكشف ومعرفة عما يخبئه من طرق علاجية خارجية كانت أو كعقاقير أو مسببات للأمراض .

6) إجراء دراسة تصنيفية مظهرية وجزيئية لنهري (دجلة ، الفرات) من المصب الى النهاية.

المصـــــادر

References

6- المصـــــادر References

6-1 المصادر العربية Arabic References

ال طعمة، حسام صاحب.2013. تغير خارطة الوحدات الإدارية في محافظة بغداد للمدة (1913 – 2013)، المؤتمر العلمي السنوي لكلية الآداب،مج1، 201-228.

الابراهيمي ، سناء حامد عباس.2009. الصناعات النسيجية والجلدية في محافظة النجف ، رسالة ماجستير ، كلية التربية للبنات ، جامعة الكوفة ، صفحة180.

الياسري ،إيلاف عامر مجيد .(2011). التمثيل الخرائطي لأستعمالات الأرض الحضرية في مركز قضاء الهندية بأستخدام نظم المعلومات الجغرافيةGIS، رسالة ماجستير، جامعة بابل،صفحة190.

معروف ، بشار فؤاد عباس.2008. اثر النشاط البشري في التباين الزماني والمكاني لتلوث شط الحلة ، رسالة ماجستير، كية التربية ، جامعة بابل.

2-6 المصادر الاجنبية Foreign References

Abdul-Sahib, I. M., and Abdul-Sahib, E. M. (2009). A new record of the freshwater clam, *Anodonta vescoiana* Bourguignat, 1857 (Mollusca: Bivalvia) from Al-Ezz River, Iraqi Marshes. Mesopotamian Journal of Marine Science, 24(1).

Ahmed, M. M. (1975). Systematic study on mollusca from Arabian gulf and Shatt Al-Arab, Iraq .78PP.

Aldoori, N. L.; Hussein, I. A.; and Aldoori, M. L.(2019). Morphological Description and Genetic Sequencing of Mitochondrial COI Gene in Iraqi New Record Limax flavus (L., 1758)(Mollusca: Gastropoda).17 th MILAN International Conference on Agricultural, Biological and Environmental Sciences.

Aldridge, D. C.; Fayle, T. M. and Jackson, N. (2007). Freshwater mussel abundance predicts biodiversity in UK lowland rivers. Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems, 17(6), 554-564.

Alexander, R. R.; Stanton Jr, R. J. and Dodd, J. R. (1993). Influence of sediment grain size on the burrowing of bivalves: correlation with distribution and stratigraphic persistence of selected neogene clams. Palaios, 289-303.

Ali, M. H. ; Ahmed, H. K. ; Mohammed, H. H. and Al-Zwar, J. M. (2017). Five bivalve species from the recently discovered coral reef in the marine coastal waters of Iraq. Journal of Biology, Agriculture and Healthcare, 7(8), 17-21.

Allen, E. J. (1914a). On the culture of the plankton diatom *Thalassiosira gravida* Cleve, in artificial sea-water. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, 10(3), 417–439.

Allen, W. R. (1914b). The food and feeding habits of freshwater mussels. The Biological Bulletin, *27*(3), 127-146.

Allen, W. R. (1921). Studies of the biology of freshwater mussels: experimental studies of the food relations of certain Unionidae. The Biological Bulletin, 40(4), 210-241.

Allen, D. C. and Vaughn, C. C. (2009). Burrowing behavior of freshwater mussels in experimentally manipulated communities. Journal of the North American Benthological Society, 28(1), 93-100.

Ampofo-Yeboah, A. ; Owusu-Frimpong, M. and Yankson, K. (2009). Gonad development in the freshwater oyster *Etheria elliptica* (Bivalvia: Etheriidae) in northern Ghana. African Journal of Aquatic Science, 34(2), 195–200.

Araujo, R.(2011). *Unio delphinus*. The IUCN Red List of Threatened Species 2011: e.T195510A8975648.

Araujo, R. and de Jong, Y. (2015). Fauna Europaea: Mollusca–Bivalvia. Biodiversity Data Journal, (3). 5211.

Araujo, R.; Gómez, I. and Machordom, A. (2005). The identity and biology of *Unio mancus* Lamarck, 1819 (*U. elongatulus*)(Bivalvia: Unionidae) in the Iberian Peninsula. Journal of Molluscan Studies, 71(1), 25-31.

Araujo, R.; Reis, J.; Machordom, A.; Toledo, C.; Madeira, M.J.; Gómez, I.; Velasco, J.C.; Barea, J.M. and Ondina, P.(2009). Las náyades de la península Ibérica. Iberus 27, 7-72.

Araujo R.; Buckley D.; Nagel K-O.; García-Jiménez, R. and Machordom, A. (2018). Species boundaries, geographic distribution and evolutionary history of the Western Palaearctic freshwater mussels *Unio* (Bivalvia: Unionidae). Zoological Journal of the Linnean Society 182, 275-299.

Asta Lakshmi, S. (2011). Wonder molluscs and their utilities. International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research, 6(2), 30-33.

Atkinson, C. L.; Vaughn, C. C. ; Forshay, K. J. and Cooper, J. T. (2013). Aggregated filter-feeding consumers alter nutrient limitation: consequences for ecosystem and community dynamics. Ecology, 94(6), 1359-1369.

Balian, E.V. ; Segers, H. ; Laveeque, C. and Martens, K . (2007). The freshwater Animal Diversity Assessment an overview of the results. Hydrobiologia, 595: 627- 637.

Barnhart, M. C. ; Haag, W. R. and Roston, W. N. (2008). Adaptations to host infection and larval parasitism in Unionoida. Journal of the North American Benthological Society, 27(2), 370-394.

Bauer, G. (1992). Variation in the life span and size of the freshwater pearl mussel. Journal of Animal Ecology. 61: 425– 436.

Bauer, G. and Wächtler, K. (Eds.). (2012). Ecology and evolution of the freshwater mussels Unionoida (Vol. 145). Springer Science and Business Media.

Bhattacharyya, S. ; Panigrahi, A. ; Mitra, A. and Mukherjee, J. (2010). Effect of physico-chemical variables on the growth and condition index of the rock oyster, *Saccostrea cucullata*(Born) in the Sundarbans, India. Indian Journal of Fisheries, 57(3), 13-17.

Biggins, R.G.; Neves, R.J. and Dohner, C.K. (1995). Draft national strategy for the conservation of native freshwater mussels. U.S. Fish and Wildlife Service, Asheville, NC.

Bisbee, G. D. (1984). Ingestion of phytoplankton by two species of freshwater mussels, the black sandshell, *Ligumia recta*, and the three ridger, *Amblema plicata*, from the Wisconsin River in Oneida County, Wisconsin. Bios, 219-225.

Bogan, A. E. (2002). A Workbook and Key to the Freshwater Mussels of North Carolina. NC Museum of Natural Sciences, Raleigh, NC.

Bogan, A. E. (2008). Global diversity of freshwater mussels (Mollusca, Bivalvia) in freshwater. In Freshwater animal diversity assessment (pp. 139-147). Springer, Dordrecht.

Bogan, A. E. and Alderman, J. M. (2008). Workbook and key to the freshwater bivalves of South Carolina. South Carolina State Documents Depository.

Bogan, A. E. and Roe, K. J. (2008). Freshwater bivalve (Unioniformes) diversity, systematics, and evolution: Status and future directions. Journal of the North American Benthological Society, 27(2), 349–369.

Bogatov, V. V. and Prozorova, L. A. (2017). Taxonomy and diversity of freshwater bivalve mollusks (Bivalvia) of China (based on analysis of the catalog by He and Zhuang, 2013). Biology Bulletin, 44(8), 922-940.

Bolotov, I. N.; Bespalaya, Y. V.; Vikhrev, I. V.; Aksenova, O. V.; Aspholm, P. E.; Gofarov, M. Y. and Voroshilova, I. S. (2015). Taxonomy and distribution of freshwater pearl mussels (Unionoida: Margaritiferidae) of the Russian Far East. PLoS One, 10(5), e0122408.

Bolotov, I. N.; Kondakov, A. V.; Konopleva, E. S.; Vikhrev, I. V.; Aksenova, O. V.; Aksenov, A. S.; ... and Vinarski, M. V. (2020). Integrative taxonomy, biogeography and conservation of freshwater mussels (Unionidae) in Russia. Scientific Reports, 10(1), 1-20.

Bößneck, U. (2011). New records of freshwater and land molluscs from Lebanon: (Mollusca: Gastropoda and Bivalvia). Zoology in the Middle East, 54(1), 35-52.

Brandt, R. A. and RAM, B. (1974). The non-marine aquatic Mollusca of Thailand. Archiv für Molluskenkunde, 105 1- 405.

Brown, K. M. and Lydeard, C. (2010). Mollusca: gastropoda. In Ecology and classification of North American freshwater invertebrates (pp. 277-307). Academic Press.

Brown, K. M.; Lang, B. and Perez, K. E. (2008). The conservation ecology of North American pleurocerid and hydrobiid gastropods. Journal of the North American Benthological Society, 27(2), 484-495.

Brusca, R.C. and Brusca, G.J. (2003). Invertebrates. 2nd ed. Sunderland, MA USA, :Sinauer Associates, Inc.

Burlakova, L. E.; Karatayev, A. Y.; Pennuto, C. and Mayer, C. (2014). Changes in Lake Erie benthos over the last 50 years: historical perspectives, current status, and main drivers. Journal of Great Lakes Research, 40(3), 560-573.

Campbell D.C.; Serb J.M.; Buhay J.E.; Roe K.J.; Minton R.L. and Lydeard C. (2005). Phylogeny of North American amblemines (Bivalvia, Unionoida): *Prodigious polyphyly* proves pervasive across genera. Invertebrate Biology, 124 (2):131-164.

Carella, F.; Villari, G.; Maio, N. and De Vico, G. (2016). Disease and disorders of freshwater unionid mussels: a brief overview of recent studies. Frontiers in physiology, 7, 489.

Carter, J. G.; Altaba, C. R.;Anderson, L. C.; Araujo, R.; Biakov, A. S.; Bogan, A. E.;... & Yancey, T. (2011). A synoptical classification of the Bivalvia (Mollusca). Paleontological Contributions, 2011(4), 1-47.

Chiarelli, R. and Roccheri, M. C. (2014). Marine invertebrates as bioindicators of heavy metal pollution. Open Journal of Metal, 4: 93-106.

Chowdhury, G. W.; Zieritz, A. and Aldridge, D. C. (2016). Ecosystem engineering by mussels supports biodiversity and water clarity in a heavily polluted lake in Dhaka, Bangladesh. Freshwater Science, 35(1), 188-199.

Churchill, E. P. and Lewis, S. I. (1924). Food and feeding in fresh-water mussels (No. 963). US Government Printing Office.39, 439–471.

Clark, M. S.; Thorne, M. A.; Vieira, F. A.; Cardoso, J. C.; Power, D. M. and Peck, L. S. (2010). Insights into shell deposition in the Antarctic bivalve *Laternula elliptica*: gene discovery in the mantle transcriptome using 454 pyrosequencing. Bmc Genomics, 11(1), 1-14.

Colburn, E. A. (2004). Vernal pools. Natural History and Conservation. McNaughton and Gunn, Inc., Saline, MI, 426.

Cummings, K. S. and Mayer, C. A. (1992). Field Guide to Freshwater Mussels of the Midwest, Illinois Natural History Survey Manual 5. Champaign, IL, 194.

Cummings, K. S. and Graf, D. L. (2010). Mollusca. Ecology and Classification of North American Freshwater Invertebrates, 309–384.

Deaton, L. E. and Greenberg, M. J. (1991). The adaptation of bivalve molluscs to oligohaline and fresh waters: phylogenetic and physiological aspects. Malacological Review, 24(1–2), 1–18.

Dhanalakshmi, M., (2016). Studies on Freshwater mussel *Lamellidens marginalis* Lamarck 1819 Mollusca Bivalvia Unionidae from Lower Anicut Reservoir Southeast India.Ph.D.Thesis, Bharathidasan University, Tamil Nadu, India.

Douda, K.; Vrtílek, M.; Slavík, O. and Reichard, M. (2012). The role of host specificity in explaining the invasion success of the freshwater mussel Anodonta woodiana in Europe. Biological Invasions, 14(1), 127-137.

Ersoy, B. and Şereflişan, H. (2010). The proximate composition and fatty acid profiles of edible parts of two freshwater mussels. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 10(1).

Fikes, M. H. (1972). Maintenance of the naiad *Amblema plicata* (Say, 1817) in an artificial system. Bulletin of the American Malacological Union for, 35.

Flores-Garza, R.; López-Rojas, V.; Flores-Rodríguez, P.; and Ramírez, C. T. (2014). Diversity, distribution and composition of the Bivalvia class on the rocky intertidal zone of Marine Priority Region 32, Mexico. Open Journal of Ecology, 4(15), 961.

Folmer,O.;Black,M.;Hoeh, W.;Lutz, R. and Vrijenhoek, R .(1994). DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. Molecular Marine Biology and Biotechnology, 3(5), 294-299.

Frischer, M.E.; Nierzwicki-Bauer, S.A.; Parsons, R.H.; Vathanodorn, K. and Waitkus, K.R. (2000). Interactions between zebra mussels (*Dreissena polymorpha*) and microbial communities. Can J Fish Aquat Sci 57(3):591–599.

Froufe, E.; Lopes-Lima, M.; Riccardi, N.; Zaccara, S.; Vanetti, I.; Lajtner, J. and Bogan, A. E. (2017). Lifting the curtain on the freshwater mussel diversity of the Italian Peninsula and Croatian Adriatic coast. Biodiversity and Conservation, 26(14), 3255-3274.

Füllenbach, C. S. (2016). Towards quantifiable temperatures from mollusk shells (Doctoral dissertation, Universitätsbibliothek Mainz).

Ganzei, K.; Zharikov, V.; Pshenichnikova, N.; Lebedev, A.; Kiselyova, A. and Lebedev, I. (2020). Spatial landscape differentiation of the coastal geostructure of the Shkota Island, Sea of Japan. Journal of Water and Land Development. (46) 60-70.

Gardiner, D. B.; Silverman, H. and Dietz, T. H. (1991). Musculature associated with the water canals in freshwater mussels and response to monoamines in vitro. The Biological Bulletin, 180(3), 453-465.

Gatenby, C. M.; Parker, B. C. and Neves, R. J. (1997). Growth and survival of juvenile rainbow mussels, *Villosa iris* (Lea, 1829)(Bivalvia: Unionidae), reared on algal diets and sediment. American Malacological Bulletin, 14(1), 57-66.

Geist, J. (2010). Strategies for the conservation of endangered freshwater pearl mussels (*Margaritifera margaritifera* L.): a synthesis of conservation genetics and ecology. Hydrobiologia, 644(1), 69-88.

Gökoğlu, N. (2021). Introduction to Shellfish. In *Shellfish Processing and Preservation* (pp. 1-6). Springer, Cham.

Goldberg, C. S.; Turner, C. R.; Deiner, K.; Klymus, K. E.; Thomsen, P. F.; Murphy, M. A. and Taberlet, P. (2016). Critical considerations for the application of environmental DNA methods to detect aquatic species. Methods in ecology and evolution, *7*(11), 1299-1307.

Gosling, E. (2008). Bivalve molluscs: biology, ecology and culture. John Wiley & Sons.

Gould, A.A. (1846). *Otia Conchologica*, descriptions of shells and moluscs from 1839 to 1862. Proceedings of the Boston Society of Natural History 1846: 1–256.

Graf, D. L. (1997). Northern Redistribution of Freshwater Pearly Mussels (Bivalvia: Unionoidea) During Wisconsin Deglaciation in the Southern Glacial Lake Agassiz Region: A Review. The American Midland Naturalist, 138(1), 37–47.

Graf, D.L., (2002). Historical biogeography and late glacial origin of the freshwater pearly mussel (Bivalvia: Unionidae) faunas of Lake Erie, North America. Occas. Pap. Mollusks 6, 175–211.

Graf, D. L. (2013). Patterns of Freshwater Bivalve Global Diversity and the State of Phylogenetic Studies on the Unionoida, Sphaeriidae, and Cyrenidae. American Malacological Bulletin, 31(1), 135–153.

Graf, D. L. and Foighil, D. Ó. (2000). The evolution of brooding characters among the freshwater pearly mussels (Bivalvia: Unionoidea) of North America. Journal of Molluscan Studies, 66(2), 157-170.

Graf, D. L. and Cummings, K. S. (2006). Palaeoheterodont diversity (Mollusca: Trigonioida+ Unionoida): what we know and what we wish we knew about freshwater mussel evolution. Zoological Journal of the Linnean Society, 148(3), 343-394.

Graf, D. L. and Cummings, K. S. (2007). Review of the systematics and global diversity of freshwater mussel species (Bivalvia: Unionoida). Journal of Molluscan Studies, 73(4), 291-314.

Graf, D. L and Cummings, K. S. (2021). A 'big data' approach to global freshwater mussel diversity (Bivalvia: Unionoida), with an updated checklist of genera and species. Journal of Molluscan Studies 87: 1–34.

Grant, J. (1996). The relationship of bioenergetics and the environment to the field growth of cultured bivalves. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 200(1-2), 239-256.

Gupta, S. K. and Singh, J. (2011). Evaluation of mollusc as sensitive indicator of heavy metal pollution in aquatic system: a review. IIOAB J, 2(1), 49-57.

Gutierrez, J.L.; Jones, C.G.; Strayer, D.L. and Iribarne, O.O. (2003). Mollusks as ecosystem engineers: the role of shell production in aquatic habitats. Oikos 101, 79-90.

Haag, W. R. (2012). North American freshwater mussels: natural history, ecology, and conservation. Cambridge University Press.

Haas, F.(1969a). Superfamilia Unionacea. Das Tierrich, 88. Walter de Gruyter, Berlin.

Haas, F.(1969b). Superfamily Unionacea. In: Moore, R.C. (Ed.), Treatise on Invertebrate Paleontology Part N, Volume 1, Mollusca 6. Bivalvia. Geological Society of America. The University of Kansas, pp. N411–N470.

Haggerty, T.M. and Garner, J. T. (2000). Seasonal timing of gametogenesis, spawning, brooding and glochidia discharge in Potamilus alatus (Bivalvia:

Unionidae) in the Wheeler Reservoir, Tennessee River, Alabama, USA. Invertebrate Reproduction and Development, 38(1), 35-41.

Haggerty, T.M.; Garner, J.; Patterson G.H. and Jones, L.C. (1995). A quantitative assessment of the reproductive biology of *Cyclonaias tuberculata* (Bivalvia: Unionidae). Canadian Journal of Zoology, 73: 83–88.

Hamza-Chaffai, A. (2014). Usefulness of bioindicators and biomarkers in pollution biomonitoring. International Journal of Biotechnology for Wellness Industries, 3(1), 19-26.

Harrold, M. N.; Guralnick, R. P. and McConnaughey, L. A. (2010). field guide to the freshwater mollusks of Colorado. Colorado Division of Wildlife, (pp. 129-131).

Harte, M. E. (2001). Systematics and Taxonomy, Pages 1-51 in J. N. Kraeuter, and M. Castagna, eds. Biology of the Hard Clam. Amsterdam, Elsevier Science B.V.

Haszprunar, G. and Wanninger, A. (2012). Molluscs. Current Biology *: CB, 22*, R510-4.

Heard, W.H. (1975). Sexuality and other aspects of reproduction in *Anodonta* (Pelecypoda: Unionidae). Malacologia, 15: 81–103.

Helm, M. M. and Bourne, N. (2004). Basic Bivalve Biology: Taxonomy, anatomy, and Life History. Fao Fisheries Technical Paper, 471.

Henderson, J. (1929). Non-marine Mollusca of Oregon and Washington. Univ. Color. Stud. 17, 47–190.

Higgins, S. N. and Zanden, M. V. (2010). What a difference a species makes: a meta–analysis of dreissenid mussel impacts on freshwater ecosystems. Ecological monographs, 80(2), 179-196.

Hoeh, W. R.; Bogan, A. E. and Heard, W. H. (2001). A phylogenetic perspective on the evolution of morphological and reproductive characteristics in the Unionoida. In Ecology and evolution of the freshwater mussels Unionoida (pp. 257-280). Springer, Berlin, Heidelberg.

Hornbach, D. J. (1996). Bivalves in the St. Croix River: a report for the water resources management plan, St. Croix National Scenic Riverway, National Park Service. Macalester College, St. Paul, Minnesota. 50pp.

Hussein, I. A.; Aldoori, N. L. and Aldoori, M. L. (2018). Sequencing of Mitochondrial COI gene in new Iraqi record Paropeas achatinaceum LP Feiffer, 1846, Gastropoda: Subulinidea. Research Journal of Pharmacy and Technology, 11(10), 4267-4271.

Imlay, M. J. and Paige, M. L. (1972). Laboratory growth of freshwater sponges, unionid mussels, and sphaeriid clams. The Progressive Fish-Culturist, 34(4), 210-216.

Jamil, K. (2001). "Bioindicator and Biomarker of Environmental pollution and Risk Assessment". Science Publisher, Inc. Enfied (NH), USA Printed in India.

Jennings, S. (1998). Needs in the management of native freshwater mussels in the national park system. (38).

Jeratthitikul, E.; Sucharit, C. and Prasankok, P. (2019). Molecular phylogeny of the Indochinese freshwater mussel genus Scabies Haas, 1911 (Bivalvia: Unionidae). Tropical Natural History, 19(1), 21-36.

Jian-Ping, D.; Jun, C.; Yu-Fei, B.; Bang-Xing, H.; Shang-Bin, G. and Li-Li, J. (2010). Effects of pearl powder extract and its fractions on fibroblast function relevant to wound repair. *Pharmaceutical biology*, *48*(2), 122-127.

Johnson, P. D. and Brown, K. M. (1997). The role of current and light in explaining the habitat distribution of the lotic snail Elimia semicarinata (Say). Journal of the North American Benthological Society, 16(3), 545-561.

Johnson, R. I. (1970). The systematics and zoogeography of the Unionidae (Mollusca: Bivalvia) of the southern Atlantic Slope Region. Harvard University.

Jones, J.W. and Neves. R.J.(2010). Descriptions of a new species and a new subspecies of freshwater mussels, *Epioblasma ahlstedti* and *Epioblasma*

florentina aureola (Bivalvia: Unionidae), in the Tennessee River drainage, USA. The Nautilus, 124 (2):77.

Karadkhele, S. V. (2002), Studies on Nitrogenous constituents and Nitrogen metabolism in freshwater bivalves. Ph. D. thesis (Zoology), Swami Ramanananda Teertha Marathwada University, Nanded.

Karatayev AY; Padilla DK; Minchin D; Boltovskoy D and Burlakova LE (2007). Changes in global economies and trade: the potential spread of exotic freshwater bivalves. Biol Invasions 9:161–180.

Kat P.W. (1983). Genetic and morphological divergence among nominal species of North American anodonta (Bivalvia: Unionidae). Malacologia, 23 (2):361-374.

Keogh, S. M. and Simons, A. M. (2019). Molecules and morphology reveal 'new'widespread North American freshwater mussel species (Bivalvia: Unionidae). Molecular phylogenetics and evolution, 138, 182-192.

Klishko, O.; Lopes-Lima, M.; Froufe, E.; Bogan, A.; Vasiliev, L. and Yanovich, L. (2017). Taxonomic reassessment of the freshwater mussel genus *Unio* (Bivalvia: Unionidae) in Russia and Ukraine based on morphological and molecular data. Zootaxa, 4286(1), 93-112.

Klishko, O. K.; Lopes-Lima, M.; Bogan, A. E.; Matafonov, D. V. and Froufe, E. (2018). Morphological and molecular analyses of Anodontinae species (Bivalvia, Unionidae) of Lake Baikal and Transbaikalia. PloS one, 13(4), e0194944.

Kocot, K. M.; Poustka, A. J.; Stöger, I.; Halanych, K. M. and Schrödl, M. (2020). New data from Monoplacophora and a carefully-curated dataset resolve molluscan relationships. Scientific reports, 10(1), 1-8.

Konečný, A.; Popa, O. P.; Bartáková, V.; Douda, K.; Bryja, J.; Smith, C.; … and Reichard, M. (2018). Modelling the invasion history of *Sinanodonta woodiana* in Europe: Tracking the routes of a sedentary aquatic invader with mobile parasitic larvae. Evolutionary applications, 11(10), 1975-1989.

Kotrla, M.B. (1989). Evidence suggestive of ameiotic spermatogenesis in unionid bivalves. American Zoologist, 29: 148 A.

Kraemer, L. R. (1984). Aspects of the functional morphology of some fresh-water bivalve nervous systems: effects on reproductive processes and adaptation of sensory mechanisms in the Sphaeriacea and Unionacea. Malacologia, 25:221–239.

Labecka, A. M. and Domagala, J. (2018). Continuous reproduction of *Sinanodonta woodiana* (Lea, 1824) females: an invasive mussel species in a female-biased population. Hydrobiologia, 810(1), 57-76.

Ladle, M. and Baron, F. (1969). Studies on three species of Pisidium (Mollusca: Bivalvia) from a chalk stream. The Journal of Animal Ecology, 407-413.

LEA, I. (1836). A synopsis of the family of Naiades. Cary, Lea, and Blanchard, Philadelphia, Pennsylvania, and John Miller, London, UK.

LEA, I. (1838). A synopsis of the family of Naiades. 2nd edition. Philadelphia, Pennsylvania.

LEA, I. (1852). A synopsis of the family of Naiades. 3rd edition. Blanchard and Lea, Philadelphia, Pennsylvania.

LEA, I. (1870). A synopsis of the family Unionidae. 4th edition. Henry C. Lea, Philadelphia, Pennsylvania.

Leftwich, A. W.(2004). Adictionary of Zoology. Asia Print Ograph, Shahdara, Delhi.478pp.

Lopes-Lima, M.; Teixeira, A.; Froufe, E.; Lopes, A.; Varandas, S. and Sousa, R. (2014). Biology and conservation of freshwater bivalves: past, present and future perspectives. Hydrobiologia, 735(1), 1-13.

Lopes-Lima, M.; Froufe, E.; Do, V. T.; Ghamizi, M.; Mock, K. E.; Kebapçı, Ü. and Bogan, A. E. (2017a). Phylogeny of the most species-rich freshwater bivalve family (Bivalvia: Unionida: Unionidae): Defining modern subfamilies and tribes. Molecular Phylogenetics and Evolution, 106, 174–191.

Lopes-Lima, M.; Sousa, R.; Geist, J.; Aldridge, D. C.; Araujo, R.; Bergengren, J. and Zogaris, S.(2017b). In review. Conservation Status of Freshwater Mussels in Europe: State of the Art and Future Challenges. Submitted to. The Quarterly Journal of Biology.92, 572-607.

Lopes-Lima, M.; Bolotov, I. N.; Aldridge, D. C.; Fonseca, M. M.; Gan, H. M.; Gofarov, M. Y. and Bogan, A. E. (2018a). Expansion and systematics redefinition of the most threatened freshwater mussel family, the Margaritiferidae. Molecular Phylogenetics and Evolution, 127, 98-118.

Lopes-Lima, M.; Burlakova, L. E.; Karatayev, A. Y.; Mehler, K.; Seddon, M. and Sousa, R. (2018b). Conservation of freshwater bivalves at the global scale: diversity, threats and research needs. Hydrobiologia, 810(1), 1-14.

Lydeard, C.; Mulvey, M. and Davis, G. M. (1996). Molecular systematics and evolution of reproductive traits of North American freshwater unionacean mussels (Mollusca: Bivalvia) as inferred from 16S rRNA gene sequences. Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences, 351(1347), 1593-1603.

Mackie GL. (1984). Bivalves .In: Tompa AS, Verdonk NH, van den Dreissena polymorpha (Bivalvia, Dreissenidae) . Int Rev Hydrobiol.New York, NY: Academic Press ;: 351–418.

Mader, S.S. (1998). "Biology". McGraw- Hill Company, Inc. USA.

Mahaffey, K. R. (2009). Omega-3 fatty acids and methylmercury in diet: sources, effects, and public health considerations. In NIMD Forum 2009 (p. 39).

Mansur, M. (2007). Moluscos da classe Bivalvia que tiveram sucesso ao se irradiarem no ambiente de água doce. 27-29p. Livro de Resumos do XX Encontro Brasileiro de Malacologia, Rio de Janeiro. 406pp.

Masaeli, S.; Ghavam Mostafavi, P.; Hosseinzadeh Sahafi, H.; Tamadoni Jahromi, S.; Nabinejad, A. and Noaman, V. (2021). Molecular phylogeny of bivalve families (Arcidae, Chamidae, Margaritidae, Ostreidae, Veneridae) in the Persian Gulf. Iranian Journal of Fisheries Sciences, 20(1), 96-108.

Matos, E.; Corral, L. and Azevedo, C. (1998). Fine structure of spermiogenesis with special reference to the spermatid morulae of the freshwater mussel Prisodon alatus (Bivalvia: Unionoidea). Journal of Morphology, 238: 63–70.

Maurer, D.; Keck, R. T.; Tinsman, J. C. and Leathem, W. A. (1981). Vertical migration and mortality of benthos in dredged material—Part I: Mollusca. Marine environmental research, 4(4), 299-319.

Mikkelsen, P.M. and Henne, R.(2011) The Teacher-Friendly Guide to Evolution .Using Bivalves as a Model Organism .the Paleontological Research Institution .New York 14850 U.S.A.pp11-87.

Miller, A. C. and Nelson. D.A. (1983). An in- struction report on freshwater mussels. U.S. Army Corps of Engineers Instruction Report EL-83-2, Environmental Laboratory, U.S. Army Engineer Waterways Experiment Station, Vicksburg, Mississippi. 1.

Ministry of Planning (2017). Central Bureau of Statistics, Annual Statistical Group. Iraq.

Mizhir, A. H.; Al-Muhana, W. H. and Mohammed, Z. A. (2014). Diagnostic and Environmental study of mollusks in the Shatt al-Kufa/Euphrates River. Al-Kufa University Journal for Biology, 6(3).

Modell, H. (1964). Das natüurliche system der najaden. 3, Archiv fur Molluskenkunde, vol. 93, pp. 71–129.

Modesto, V.; Ilarri, M.; Souza, A. T.; Lopes-Lima, M.; Douda, K.; Clavero, M. and Sousa, R. (2018). Fish and mussels: importance of fish for freshwater mussel conservation. Fish and Fisheries, 19(2), 244-259.

Morton, B. (1996). The evolutionary history of the Bivalvia. Origin and evolutionary radiation of the Mollusca, 337-359.

Morton, B. (2020)."Bivalve". Encyclopedia Britannica, https://www. britannica.com /animal/bivalve. (Accessed 22 May 2021).

Moss, D. K.; Surge, D.; Zettler, M. L.; Orland, I. J.; Burnette, A. and Fancher, A. (2021). Age and growth of Astarte borealis (Bivalvia) from the southwestern Baltic Sea using secondary ion mass spectrometry. Marine Biology, 168(8).

Mueller,L. (1993). Winged mapleleaf mussel and Higgins eye Pearly mussel: freshwater mussels threatened with extinction. Minnesota Department of Agriculture, St. Paul, Minnesota. 19 pp.

Mullis, K. B. (1990). The unusual origin of the polymerase chain reaction. Scientific American, 262(4), 56-65.

Narchi, W.; and Galvão-Bueno, M. S. (1997). Anatomia funcional de Perna perna (Linné)(bivalvia, Mytilidae). Revista Brasileira de Zoologia, 14, 135-168.

Neves R.J.; Bogan A.E.; Williams J.D.; Ahlstedt S.A. and Hartfield P.W. (1997). Status of aquatic mollusks in the southeastern United States: A downward spiral of diversity. Pages 43-86 in G. W. Benz and D. E. Collins, editors. Aquatic fauna in peril: The southeastern perspective. Lenz Design and Communications, Decatur, GA, Special Publication 1, Southeast Aquatic Research Institute.

Nichols, S. J. (1996). Variations in the reproductive cycle of Dreissena polymorpha in Europe, Russia, and North America . Am Zool. 36: 311–325.

Nichols, S. J. and Garling, D. (1998). Food web dynamics of Unionidae in a canopied river and a non-canopied lake. In Program and Abstracts, Freshwater Mussel Symposium, Columbus, OH, 6–8 March (pp. 28-29).

Ortmann, A.E. (1911). Monograph of the Najades of Pennsylvania. Anatomical investigations. Part II. The system of the North American Najades . Mem Carnegie Museum.; 4: 279–347.

Ozersky, T.; Evans, D. O. and Ginn, B. K. (2015). Invasive mussels modify the cycling, storage and distribution of nutrients and carbon in a large lake. Freshwater Biology, 60(4), 827-843.

Parodiz, J. J. and Bonetto, A. A. (1963). Taxonomy and zoogeographic relationships of the South American naiades (Pelecypoda: Unionacea and Mutelacea). Malacologia, *1*(2), 179-213.

Pawar, P. R. and Al-Tawaha, A. R. M. S. (2017). Species diversity and distribution of marine bivalves from coastal transitional ecosystem of Uran, Navi Mumbai, India. Advances in Environmental Biology, 11(4), 1-12.

Pennak, R. W. (1953). Fresh Water invertebrates of the United States. 2nd. ed. John Wiley and Sons, Inc. 2nd.ed.,803pp.

Pereira, D.; Mansur, M.C.; Duarte, L.D.; Oliveira, A.S.; Pimpão, D.M.; Callil, C.T.; Ituarte, C.; Parada, E.; Peredo, S.; Darrigan, G.; Scarabino, F.; Clavijo, C.; Lara, G.; Miyahira, I.C.; Rodriguez, M.T. and Lasso, C. (2014). Bivalve distribution in hydrographic regions in South America: historical overview and conservation. Hydrobiologia 735, 15–44.

Pfeiffer, J. M.; Graf, D. L.; Cummings, K. S. and Page, L. M. (2018). Molecular phylogeny and taxonomic revision of two enigmatic freshwater mussel genera (Bivalvia: Unionidae incertae sedis: Harmandia and Unionetta) reveals a diverse clade of Southeast Asian Parreysiinae. Journal of Molluscan Studies, 84(4), 404-416.

Ponnusamy, K.; Sivaperumal, P.; Suresh, M.; Arularasan, S.; Munilkumar, S. and Pal, A. K. (2014). Heavy metal concentration from biologically important edible species of bivalves (*Perna viridis* and *Modiolus metcalfei*) from vellar estuary, south east coast of India. Journal of Aquaculture Research and Development, 5(5), 1.

Popa, O. P.; Murariu, D. U. M. I. T. R. U. and Popa, L. O. (2007a). Comparison of four DNA extraction methods from invasive freshwater bivalve species (Mollusca: Bivalvia) in Romanian fauna. Travaux du Muséum National d'Histoire Naturelle Grigore Antipa, 6, 527-536 .

Popa, O. P.; Kelemen, B. S.; Murariu, D. and Popa, L. O. (2007b). New records of *Sinanodonta woodiana* (Lea, 1834)(Mollusca: Bivalvia: Unionidae) from Eastern Romania. Aquatic Invasions, 2(3), 265-267.

Prié, V. and Puillandre, N. (2014). Molecular phylogeny, taxonomy, and distribution of French, PeerJ, 6, e5573.

Prozorova, L.A.; Saenko, E.M.; Bogatov, V.V.; Vu, M. and Liu, Yu.I. (2005). Bivalves (Mollusca: Bivalvia) of the Yangtze River basin, Byul. Dal'nevost. Malakol. Obshch., no. 9, pp. 46–58.

Reis, J. (2006). Atlas dos bivalves de água doce em Portugal continental. Instituto da Conservação da Natureza, Lisboa.

Ricciardi, A. and Rasmussen, J.B. (1999). Extinction rates of North American freshwater fauna. Conservation Biology, 13 (5):1220-1222.

Richard C. M.(2002). Coral Reefs: Cities Under the Sea (Casebound hardback) . ISBN 13: 9780878501380 **.**

Ruppert, E. E.; Fox, R. S. and Barnes, R. D. (2005). Zoologia dos invertebrados: uma abordagem funcional-evolutiva. In Zoologia dos invertebrados: uma abordagem funcional-evolutiva (pp. 1045-1045).

Sambrook, J. and Russell, D. W. (2001). Working with bacteriophage M13 vectors. Molecular cloning A laboratory manual. 3rd ed: Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, 3-1.

Sambrook, J.; Fritsch, E. F. and Maniatis, T. (1989). Molecular cloning: a laboratory manual (2^{nd} edth). Cold spring harbor laboratory press.

Santhiya, N.; Sanjeevi, S. B.; Gayathri, M. and Dhanalakshmi, M. (2013). Economic importance of marine molluscs. Research in Environment and Life Sciences, 6(4), 129-132.

Schilling, D. E. (2015). Assessment of morphological and molecular genetic variation of freshwater mussel species belonging to the genera Fusconaia, Pleurobema, and Pleuronaia in the upper Tennessee River basin (Doctoral dissertation, Virginia Tech).

Seed, R. (1971) A physiological and biochemical approach to the taxonomy of Mytilus edulis L. and M. galloprovincialis Lmk. from S.W. England. Cah. Biol. Mar., 12, 291–322.

Seed, R. and Suchanek, T.H. (1992). Population and community ecology of Mytilus. In: The Mussel Mytilus: Ecology, Physiology, Genetics and Culture (ed. E.M. Gosling), pp. 87–169. Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam.

Sicuro, B.; Mioletti, S.; Abete, C.; Amedeo, S.; Panini, E. and Forneris, G. (2010) Potential utilisation of farmed freshwater mussels (Anodonta anatina and Unio mancus) in Italy. Cuban J Agr Sci 44(4):409–416.

Simone, L. R. L. D. (2006). Land and freshwater molluscs of Brazil. Museu de Zoologia, Universidade de São Paulo.

Simpson, C.T. (1914). A Descriptive catalogue of the naiades, or pearly fresh-water mussels. Parts I-III. Bryant Walker, Detroit, Michigan.

Smith, E.A., (1883). On the freshwater shells of Australia. Journal of the Linnean Society 16: 255–317.

Smith, D. G. (2000). Investigations of the byssal gland in juvenile unionids. In Freshwater Mollusk Symposia Proceedings, Part 1. Proceedings of the Conservation, Captive Care and Propagation of Freshwater Mussels Symposium. Ohio Biological Survey, Columbus, Ohio (pp. 103-107).

Smolen, M. (2009). Molecular phylogeny and estimated time of divergence in the central European Melanopsidae: Melanopsis, Fagotia and Holandriana (Mollusca: Gastropoda: Cerithioidea). Folia Malacologica, 17(1).

Sousa, R.; Freire, R.; Rufino, M.; Méndez, J.; Gaspar, M.; Antunes, C.; and Guilhermino, L. (2007). Genetic and shell morphological variability of the invasive bivalve *Corbicula fluminea* (Müller, 1774) in two Portuguese estuaries. Estuarine, Coastal and Shelf Science, *74*(1-2), 166-174.

Srilatha, G.; Chamundeeswari, K.; Ramamoorthy, K.; Sankar, G. and Varadharajan, D. (2016). Proximate, amino acid, fatty acid and mineral analysis of clam, *Meretrix casta* (Chemnitz, 1782) from Cuddalore and Parangipettai coast, south east coast of India. Journal of Marine Biology and Oceanography, 2013.

Starobogatov, Y.I.(1970). Fauna mollyuskov i zoogeograficheskoe raionirovanie kontinental'nykh vodoemov zemnogo shara (The Fauna of Mollusks and Zoogeographical Zoning of the Continental Waters of the Globe), Leningrad: Nauka.

Starobogatov, Y.I.(1992). Morphological basis for phylogeny and classification of bivalvia, Ruthenica, 2(2): 1–25.

Stem, E. M. (1990). An Illustrated Key to the Freshwater Mussels (Bivalvia : Unionacea) of Wisconsin. NO20.

Strayer, D. L. (1999). Use of flow refuges by unionid mussels in rivers. Journal of the North American Benthological Society, 18(4), 468-476.

Strayer, D. L. (2014). Understanding how nutrient cycles and freshwater mussels (Unionoida) affect one another. Hydrobiologia, 735(1), 277-292.

Strayer D.L. (2017). What are freshwater mussels worth? Freshwater Mollusk Biology and Conservation 20, 103-114.

Strong E.E, Gargominy O, Ponder WF, Bouchet P.(2007). Global diversity of gastropods (Gastropoda : Mollusca) in freshwater. Hydrobiologia, 595: 149- 166.

Subba Rao, N. V. (1989). Handbook, freshwater molluscs of India. (Vol. 9). Zoological Survey of India. Kolkata, 289pp.

Sullivan, G.F. (1961). Functional morphology microanatomy and histology of *Sydney cockle Anadara tranezia* Deshayes (Lamellibranchia: Arcidae). Aust. Journ. Zool, 9: 219-257.

Supian, Z. and Ikhwanuddin, A. M. (2002). Population dynamics of freshwater molluscs (Gastropod: *Melanoides tuberculata*) in Crocker Range Park, Sabah. ASEAN Review of Biodiversity and Environmental Conservation (ARBEC): 9.

Takeuchi, M.; Okada, A.; and Kakino, W. (2015). Phylogenetic relationships of two freshwater pearl mussels, *Margaritifera laevis* (Haas, 1910) and *Margaritifera togakushiensis* Kondo and Kobayashi, 2005 (Bivalvia: Margaritiferidae), in the Japanese archipelago. Molluscan Research, 35(4), 218-226.

Tallqvist, M. (2001). Burrowing behavior of the Baltic clam *Macoma balthica*: effects of sediment type, hypoxia and predator presence. Marine Ecology Progress Series, 212: 183–191.

Tankersley, R. A.; Hart, J. J. and Weiber, M. G. (1997). Developmental shifts in feeding biodynamics of juvenile *Utterbackia imbecillis* (Mollusca: Bivalvia). In Conservation and management of freshwater mussels ii: initiatives for the future. Pro-ceedings of a UMrCC symposium, St. Louis, MO. Upper Mississippi River Conservation Committee, Rock Island, IL (pp. 282-283).

Thorp, J. H. and Rogers, D. C. (2011). Mussels and Clams. Field Guide to Freshwater Invertebrates of North America, 83–95.

Thorp, J. H.; and Rogers, D. C. (Eds.). (2015). Thorp and Covich's Freshwater Invertebrates. London: Elsevier.pp461.to Evolution.Using Bivalves as a Model Organism.the Paleontological Research Institution .New York 14850 U.S.A.pp11-87.

Trueman., E.R. (1983). Locomotion in mollusks. In : SALEUDDIN ASM and WILBUR KM (eds), Physiology, Part 1 (The Mollusca 4). Academic Press, New York : 155-199.

Van Hassel, J. H. and Farris, J.L. (2006). Freshwater Bivalve Ecotoxicology. In Freshwater Bivalve Ecotoxicology (pp. 1–17).

Van Woesik, R.; Lacharmoise, F. and Köksal, S. (2006). Annual cycles of solar insolation predict spawning times of Caribbean corals. Ecol. Lett. 9, 390–398.

Vaughn, C. C. (2018). Ecosystem services provided by freshwater mussels. Hydrobiologia, 810(1), 15-27.

Vaughn, C. C. and Hakenkamp, C. C. (2001). The functional role of burrowing bivalves in freshwater ecosystems. *Freshwater Biology* 46: 1431–1446.

Vaughn, C.C.; Gido, K.B. and Spooner, D.E. (2004) Ecosystem processes performed by unionid mussels in stream mesocosms: species roles and effects of abundance. Hydrobiologia, 527: 35-47.

Venkatesan, V., (2010). Marine Ornamental Molluscs. Chapter 4. Procd. of National Training Programme on Marine Ornamental Fish Culture, Mandapam, CMFRI, pp: 27-32.

Viljoen, C. D.; Dajee, B. K. and Botha, G. M. (2006). Detection of GMO in food products in South Africa: Implications of GMO labelling. African Journal. Biotechnology, 5:73–82.

Vinther, J. (2015). The origins of molluscs. Palaeontology, 58(1), 19–34.

Walker, J. M.; Curole, J. P.; Wade, D. E.; Chapman, E. G.; Bogan, A. E.; Watters, G. T. and Hoeh, W. R. (2006). Taxonomic distribution and phylogenetic utility of gender-associated mitochondrial genomes in the Unionoida (Bivalvia). MALACOLOGIA-PHILADELPHIA, 48(1/2), 265.

Walker, K. F.; Jones, H. A. and Klunzinger, M. W. (2014). Bivalves in a bottleneck: taxonomy, phylogeography and conservation of freshwater mussels (Bivalvia: Unionoida) in Australasia. Hydrobiologia, 735(1), 61-79.

Wang, G. P.; Zhang, T.; Zhang, J.; Li, D. L.; and Xiao, T. Y. (2014). Morphological and molecular differentiation of genus *Corbicula* suggests that two species are sympatrically distributed in Datong Lake in the Central Yangtze River Basin. Zoological Studies, 53(1), 1-8.

Wanninger, A. and Wollesen, T. (2019). The evolution of molluscs. Biological Reviews, 94(1), 102-115.

Wells, H.W. (1957) Abundance of the hard clam *Mercenaria mercenaria* in relation to environmental factors. Ecology, 38, 123–30.

Williams J.D.; Bogan A.E. and Garner J.T. (2008). Freshwater Mussels of Alabama and the Mobile Basin in Georgia, Mississippi and Tennessee. The University of Alabama Press, Tuscaloosa, Alabama.

Williams, J.D.; Warren, M.L.; Cummings, K.S.; Harris, J.L. and Neves, R.J.(1993). Conservation status of freshwater mussels of the United States and Canada. Fisheries, 18 (9):6-22.

Yokley Jr, P. (1972). Life history of *Pleurobema cordatum* (Rafinesque 1820)(Bivalvia: Unionacea). Malacologia, 11(2), 351-364.

Yoloğlu, E.; Uçkun, M. and Uçkun, A. A. (2018). Metal accumulation and biochemical variations in the freshwater mussels (*Unio mancus*) collected from Atatürk Dam Lake, Turkey. Biochemical Systematics and Ecology, 79, 60-68

Zala, M. B.; Sipai, S. A.; Bharpoda, T. M. and Patel, B. N. (2018). Molluscan pests and their management: A review. AGRES-An International EJ, 7(2), 126-132.

Zhadin, V. I. (1952). Mollusks of fresh and brackish waters of the USSR. Identification guides on the USSR fauna. Zoological Institute of the USSR Academy of Sciences, 46, 1-376.

Ziertitz, A.; Mahadzir N. F.; Chan W. N. and McGowan S. (2019). Effects of mussels on nutrient cycling and bioseston in two contrasting tropical freshwater habitats. Hydrobiologia 835: 179–191.

الملاحق

APPENDIXES

الملحق رقم (1) كتاب تشخيص النماذج لمركز بحوث ومتحف التاريخ الطبيعي / جامعة بغداد

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministry of Higher Education and Scientific Research
جـــامعـة بغـــداد
University of Baghdad
مركز بحوث ومتحف التاريخ الطبيعي
Iraq Natural History Research Center and Museum

IRAQ NATURAL HISTORY MUSEUM

No :
Date :

العـــدد : ٣٤٣
التاريخ : ٢٠٢١/٤/١٨

إلى / جامعة كربلاء / كلية التربية للعلوم الصرفة

م / تشخيص نماذج

تحية طيبة ...
اشارة الى كتابكم ذي العدد ع / ٦/ ٢٧٧ والمؤورخ في ٢٠٢١/١/٣١ . والخاص بتسهيل مهمة طالب الدراسات العليا / الماجستير في قسم علوم الحياة (**علي عبد الرزاق نوح**) . تم اجراء اللازم من قبلنا وحسب التقرير المرفق طيا .
... مع التقدير ...

أ. د. رزاق شعلان عكل
مدير المركز

نسخة منه إلى :
قسم الحشرات واللافقريات – تقريركم المرقم ٦٤ في ١٢ / ٤ / ٢٠٢١ .
الصادرة

العراق - بغداد - باب المعظم - مجمع الكليات ص. ب. 59037
هواتف : المدير : 4168361 بدالة : 165790

الملحق رقم (2) كتاب تشخيص النماذج لمركز بحوث ومتحف التاريخ الطبيعي / جامعة بغداد

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministry of Higher Education and Scientific Research
جـامعـــة بغـداد
University of Baghdad
مركز بحوث و متحف التاريخ الطبيعي
Iraq Natural History Research Center and Museum
قسم الحشرات واللا فقريات
Department of Entomology and Invertebrates

No. العـدد ٦٤
Date : التاريخ : ٢٠٢١/٤/١٤

قسم الحشرات واللافقريات

م / تشخيص نماذج

إن العينات المرسلة لنا من قبل السيد (علي عبد الرزاق نوح) في قسم علوم الحياة / كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة كربلاء، قد تم تشخيصها وكالآتي

1-*Pseduodontopsis euphraticus* (Bourguigant ,1852)(Unionida, Unionidae)

2-*Corbicula fluminalis* (Muller,1774)(Venerida,Cyrenidae)

3-*Corbicula fluminea* (Muller,1774)(Venerida,Cyrenidae)

4-Unio tigridi Bourguignat, 1852 (Unionida, Unionidae)

تم التشخيص من قبل :

المدرس محمد عناد غزوان (مركز بحوث ومتحف التاريخ الطبيعي)

الاستاذ ازهار احمد الموسوي

رئيس قسم الحشرات واللافقريات

الملحق رقم (3) القواعد النايتروجينة والرقم القياسي LC656037 للنوع *S. woodiana*

```
Sinanodonta woodiana HNH11 mitochondrial COI gene for
cytochrome c oxidase subunit I, partial sequence
LOCUS       LC656037                582 bp    RNA     linear   INV 06-NOV-
2021
DEFINITION  Sinanodonta woodiana HNH11 mitochondrial COI gene for
cytochrome c
            oxidase subunit I, partial sequence.
ACCESSION   LC656037
VERSION     LC656037.1
KEYWORDS    .
SOURCE      mitochondrion Sinanodonta woodiana
  ORGANISM  Sinanodonta woodiana
            Eukaryota; Metazoa; Spiralia; Lophotrochozoa; Mollusca;
Bivalvia;
            Autobranchia; Heteroconchia; Palaeoheterodonta; Unionida;
            Unionoidea; Unionidae; Unioninae; Sinanodonta.
REFERENCE   1
  AUTHORS   Noah,A.A. and Mukhlif,H.Z.
  TITLE     Sinanodonta woodiana HNH11 mitochondrial COI gene for
cytochrome c
            oxidase subunit I, partial sequence
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 582)
  AUTHORS   Noah,A.A. and Mukhlif,H.Z.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (22-OCT-2021) Contact:Ali Abdulrazzaq Noah
Directorate of
            Education/ Karbala, Biology; 55, karbala, karbala 00964, Iraq
URL
            :https://karbala.gov.iq/
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..582
                     /organism="Sinanodonta woodiana"
                     /organelle="mitochondrion"
                     /mol_type="genomic RNA"
                     /isolate="HNH11"
                     /isolation_source="fresh river water"
                     /db_xref="taxon:1069815"
                     /country="Iraq"
                     /collection_date="2021-05-07"
                     /collected_by="Ali Abdul Razzaq Noah"
     gene            <1..>582
                     /gene="CO1"
     misc_feature    <1..>582
                     /gene="CO1"
                     /note="cytochrome c oxidase subunit I"
ORIGIN
        1 tgggttagct ttaagtcttt taatccgagc agagtagggt cagccaggaa ggcttttagg
       61 ggatgatcaa ttgtataatg ttattgtttc ggctcatgct ttaataataa ttttcttctt
      121 agttatacct ataataattg gggggtttgg gaattgatta aatcgtttaa taattggggc
      181 tcctgatatg gcctttcctc ggttgaataa tttaaggttt tggttgcttg tagcagcgtt
      241 atttttattt ttaagatctt ctttagtaga gaggggcgtt ggtacagggt gaacagtata
      301 tcccccttta tctgggaatg ttgctcattc tggcgcttct gttgatctag ctatttttc
      361 tttgcacctt gccggtgctt cttctatttt aggcgctatt aattttattt ctactgtagg
      421 aaatatacgg tctcctggtt tggttgctga gcggattcct ttatttgtat gagctgttac
      481 ggtaacagct gttttattag ttgctgcttt gcctgttttg gcaggggcta ttacgatgct
      541 tcttacagat cgtaatctga atacctcatt ttttgaccca at
```

الملحق رقم (4) القواعد النايتروجينة والرقم القياسي LC658986 للنوع *S. woodiana*

Sinanodonta woodiana HNH55 mitochondrial CO1 gene for cytochrome c oxidase subunit I, partial sequence
GenBank: **LC658986.1**
Go to:

```
LOCUS       LC658986                582 bp    DNA     linear   INV 11-NOV-
2021
DEFINITION  Sinanodonta woodiana HNH55 mitochondrial CO1 gene for
cytochrome c
            oxidase subunit I, partial sequence.
ACCESSION   LC658986
VERSION     LC658986.1
KEYWORDS    .
SOURCE      mitochondrion Sinanodonta woodiana
  ORGANISM  Sinanodonta woodiana
            Eukaryota; Metazoa; Spiralia; Lophotrochozoa; Mollusca;
Bivalvia;
            Autobranchia; Heteroconchia; Palaeoheterodonta; Unionida;
            Unionoidea; Unionidae; Unioninae; Sinanodonta.
REFERENCE   1
  AUTHORS   Noah,A.A. and Mukhlif,H.Z.
  TITLE     Sinanodonta woodiana HNH55 mitochondrial CO1 gene for
cytochrome c
            oxidase subunit I, partial sequence
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 582)
  AUTHORS   Noah,A.A. and Mukhlif,H.Z.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (05-NOV-2021) Contact:Ali Abdulrazzaq Noah
Directorate of
            Education/ Karbala, Biology; 55, Karbala, Karbala 00964, Iraq
URL
            :https://karbala.gov.iq/
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..582
                     /organism="Sinanodonta woodiana"
                     /organelle="mitochondrion"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /isolate="HNH55"
                     /isolation_source="fresh river water"
                     /db_xref="taxon:1069815"
                     /country="Iraq"
                     /collection_date="2021-05-07"
                     /collected_by="Ali Abdul Razzaq Noah"
     gene            <1..>582
                     /gene="CO1"
     misc_feature    <1..>582
                     /gene="CO1"
                     /note="cytochrome c oxidase subunit I"
ORIGIN
        1 tgggttagct ttaagtcttt taatccgagc agagtagggt cagccaggaa ggcttttagg
       61 ggatgatcaa ttgtataatg ttattgtttc ggctcatgct ttaataataa ttttcttctt
      121 agttatacct ataataattg gggggtttgg gaattgatta aatcgtttaa taattggggc
      181 tcctgatatg gcctttcctc ggttgaataa tttaaggttt tggttgcttg tagcagcgtt
      241 atttttattt ttaagatctt ctttagtaga gaggggcgtt ggtacagggt gaacagtata
      301 tcccccttta tctgggaatg ttgctcattc tggcgcttct gttgatctag ctatttttc
      361 tttgcacctt gccggtgctt cttctatttt aggcgctatt aattttattt ctactgtagg
      421 aaatatacgg tctcctggtt tggttgctga gcggattcct ttatttgtat gagctgttac
      481 ggtaacagct gttttattag ttgctgcttt gcctgttttg gcaggggcta ttacgatgct
      541 tcttacagat cgtaatctga atacctcatt ttttgaccca at
```

الملحق رقم (5) القواعد النايتروجينة والرقم القياسي LC651631 للنوع *U. elongatulus*

```
Unio elongatulus NHN2 mitochondrial COI gene for cytochrome c oxidase subunit I,
partial cds
GenBank: LC651631.1

LOCUS       LC651631                600 bp    DNA     linear   INV 07-OCT-2021
DEFINITION  Unio elongatulus NHN2 mitochondrial COI gene for cytochrome c
            oxidase subunit I, partial cds.
ACCESSION   LC651631
VERSION     LC651631.1
KEYWORDS    .
SOURCE      mitochondrion Unio elongatulus
  ORGANISM  Unio elongatulus
            Eukaryota; Metazoa; Spiralia; Lophotrochozoa; Mollusca; Bivalvia;
            Autobranchia; Heteroconchia; Palaeoheterodonta; Unionida;
            Unionoidea; Unionidae; Unioninae; Unio.
REFERENCE   1
  AUTHORS   Noah,A.A. and Mukhlif,H.Z.
  TITLE     Unio elongatulus cytochrome oxidase subunit I (COI) gene, partial
            cds; mitochondrial
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 600)
  AUTHORS   Noah,A.A. and Mukhlif,H.Z.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (30-SEP-2021) Contact:Ali Abdulrazzaq Noah Directorate of
            Education/ Karbala, Biology; 55, Karbala, Karbala 00964, Iraq URL
            :https://karbala.gov.iq/
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..600
                     /organism="Unio elongatulus"
                     /organelle="mitochondrion"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /isolate="NHN2"
                     /isolation_source="fresh river water"
                     /db_xref="taxon:1223348"
                     /country="Iraq"
                     /collection_date="2021-05-07"
                     /collected_by="Ali Abdul Razzaq Noah"
     gene            <1..>600
                     /gene="COI"
     CDS             <1..>600
                     /gene="COI"
                     /codon_start=1
                     /transl_table=5
                     /product="cytochrome c oxidase subunit I"
                     /protein_id="BDB33862.1"
                     /translation="DIGTLYLLLALWSGLIGLALSLLIRAELGQPGWLLGDVQLYNVI
                     VTAHAFMMIFYLVLPMMIGGFGNWLIPLMIGAPDMAFPRLNNLSFWLLVPALFLLLSS
                     SLVDSGVGTGWTVYPPLSGNVAHSGASVDLAIFSLHLAGASSILGAINFISTVGNMRS
                     PGLVAERIPLFVWAVTVTAVLLVAALPVLAGAITMLLTDR"
ORIGIN
        1 gatattggaa ctttgtattt attgttagct ttgtggtctg ggttaattgg attagcttta
       61 aggcttttaa ttcgagcaga acttggtcaa cctgggtggt tattaggtga tgttcaattg
      121 tataatgtta ttgttacggc tcatgctttt atgatgattt tctatttagt gttgccaata
      181 ataattggcg gatttgggaa ttgacttatt cctcttataa ttggtgctcc tgatatagct
      241 tttcctcggt taaataatct gaggttttgg ttgcttgtgc ccgctttgtt tttattgttg
      301 agatcgtctt tggtagacag aggggttgga actggttgaa cagtatatcc tccgttgtct
      361 ggaaatgtag ctcattctgg ggcttcagta gatttggcta ttttttcttt acatcttgct
      421 ggtgcttctt ctattttagg tgctattaat tttatttcta ccgttgggaa tatgcgatct
      481 cctgggttag ttgctgaacg aattccttta ttcgtttgag ctgttactgt tactgcagtt
      541 ttattggtag ccgctttacc tgttttagct ggtgctatta caatattact tacggatcga
//
```

الملحق رقم (6) القواعد النايتروجينة والرقم القياسي LC651632 للنوع *U. elongatulus*

```
Unio elongatulus NHN2 mitochondrial COI gene for cytochrome c oxidase subunit I,
partial cds
GenBank: LC651632.1
LOCUS       LC651632                574 bp    DNA     linear   INV 07-OCT-2021
DEFINITION  Unio elongatulus NHN2 mitochondrial COI gene for cytochrome c
            oxidase subunit I, partial cds.
ACCESSION   LC651632
VERSION     LC651632.1
KEYWORDS    .
SOURCE      mitochondrion Unio elongatulus
  ORGANISM  Unio elongatulus
            Eukaryota; Metazoa; Spiralia; Lophotrochozoa; Mollusca; Bivalvia;
            Autobranchia; Heteroconchia; Palaeoheterodonta; Unionida;
            Unionoidea; Unionidae; Unioninae; Unio.
REFERENCE   1
  AUTHORS   Noah,A.A. and Mukhlif,H.Z.
  TITLE     Unio elongatulus cytochrome oxidase subunit I (COI) gene, partial
            cds; mitochondrial
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 574)
  AUTHORS   Noah,A.A. and Mukhlif,H.Z.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (30-SEP-2021) Contact:Ali Abdulrazzaq Noah Directorate of
            Education/ Karbala, Biology; 55, Karbala, Karbala 00964, Iraq URL
            :https://karbala.gov.iq/
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..574
                     /organism="Unio elongatulus"
                     /organelle="mitochondrion"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /isolate="NHN2"
                     /isolation_source="fresh river water"
                     /db_xref="taxon:1223348"
                     /country="Iraq"
                     /collection_date="2021-05-07"
                     /collected_by="Ali Abdul Razzaq Noah"
     gene            <1..>574
                     /gene="COI"
     CDS             <1..>574
                     /gene="COI"
                     /codon_start=2
                     /transl_table=5
                     /product="cytochrome c oxidase subunit I"
                     /protein_id="BDB33863.1"
                     /translation="LYLLLALWSGLIGLALSLLIRAELGQPGWLLGDVQLYNVIVTAH
                     AFMMIFYLVLPMMIGGFGNWLIPLMIGAPDMAFPRLNNLSFWLLVPALFLLLSSSLVD
                     SGVGTGWTVYPPLSGNVAHSGASVDLAIFSLHLAGASSILGAINFISTVGNMRSPGLV
                     AERIPLFVWAVTVTAVLLVAALPVLAGAITM"
ORIGIN
        1 tttgtattta ttgttagctt tgtggtctgg gttaattgga ttagctttaa ggcttttaat
       61 tcgagcagaa cttggtcaac ctgggtggtt attaggtgat gttcaattgt ataatgttat
      121 tgttacggct catgctttta tgatgatttt ctatttagtg ttgccaataa taattggcgg
      181 atttgggaat tgacttattc ctcttataat tggtgctcct gatatagctt ttcctcggtt
      241 aaataatctg aggttttggt tgcttgtgcc cgctttgttt ttattgttga gatcgtcttt
      301 ggtagacaga ggggttggaa ctggttgaac agtatatcct ccgttgtctg gaaatgtagc
      361 tcattctggg gcttcagtag atttggctat tttttcttta catcttgctg gtgcttcttc
      421 tattttaggt gctattaatt ttatttctac cgttgggaat atgcgatctc ctgggttagt
      481 tgctgaacga attcctttat tcgtttgagc tgttactgtt actgcagttt tattggtagc
      541 cgctttacct gttttagctg gtgctattac aata
//
```

الملحق رقم (7) القواعد النايتروجينة والرقم القياسي LC651633 للنوع *U. mancus mancus*

```
Unio mancus mancus NHN mitochondrial COI gene for cytochrome c oxidase subunit I,
partial cds
GenBank: LC651633.1
LOCUS       LC651633                628 bp    DNA     linear   INV 07-OCT-2021
DEFINITION  Unio mancus mancus NHN mitochondrial COI gene for cytochrome c
            oxidase subunit I, partial cds.
ACCESSION   LC651633
VERSION     LC651633.1
KEYWORDS    .
SOURCE      mitochondrion Unio mancus mancus
  ORGANISM  Unio mancus mancus
            Eukaryota; Metazoa; Spiralia; Lophotrochozoa; Mollusca; Bivalvia;
            Autobranchia; Heteroconchia; Palaeoheterodonta; Unionida;
            Unionoidea; Unionidae; Unioninae; Unio.
REFERENCE   1
  AUTHORS   Noah,A.A. and Mukhlif,H.Z.
  TITLE     Unio mancus mancus voucher, cytochrome oxidase subunit I gene,
            partial cds; mitochondrial
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 628)
  AUTHORS   Noah,A.A. and Mukhlif,H.Z.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (30-SEP-2021) Contact:Ali Abdulrazzaq Noah Directorate of
            Education/ Karbala, Biology; 55, Karbala, Karbala 00964, Iraq URL
            :https://karbala.gov.iq/
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..628
                     /organism="Unio mancus mancus"
                     /organelle="mitochondrion"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /isolate="NHN"
                     /isolation_source="fresh river water"
                     /sub_species="mancus"
                     /db_xref="taxon:1223349"
                     /country="Iraq"
                     /collection_date="2021-05-07"
                     /collected_by="Ali Abdul Razzaq Noah"
     gene            <1..>628
                     /gene="COI"
     CDS             <1..>628
                     /gene="COI"
                     /codon_start=3
                     /transl_table=5
                     /product="cytochrome c oxidase subunit I"
                     /protein_id="BDB33864.1"
                     /translation="ALCSGLIGLALSLLIRAELGQPGSLLGDDQLYNFIVTAHAIMMI
                     FFLVMPMMIGGFGNWLIPLMIGAPDMAFPRLNNLSLWLLVPPLFLLLSSSLVESGVGT
                     GWTVYPPLSGNVAHSGASVDLAIFSLHLAGASSILGAINFISTVGNMRSPGLVAERIP
                     LFVWAVAVTAILLVAALPVLAGAITMLLTDRNLNTSFFDPTGGGDPIL"
ORIGIN
        1 tagctttgtg ttctgggtta attggactag ctttaaggct tttaattcga gcagaacttg
       61 gtcaacctgg gaggttatta ggcgatgatc aattgtataa ttttattgtt acggctcatg
      121 ctattatgat gattttcttt ttggtaatgc caataataat tgggggattt ggaaattgac
      181 ttattcctct tataattggt gctcctgata tagcttttcc tcggttaaat aatctgagat
      241 tatggttgct tgtgccgcct ttgtttttat tgttgagatc gtctttagta gagagaggag
      301 ttggaactgg ttgaacagtg tatcccccgt tgtctggaaa tgtagctcat tctggggctt
      361 cggtagattt ggctattttt tctttacatc ttgctggtgc ttcttctatt ttgggtgcta
      421 tcaattttat ttctaccgtt gggaatatgc gatctcctgg attagttgct gaacgaattc
      481 ctttgtttgt ttgagctgtt gctgttactg caattttgtt ggtagccgct ttgcctgttt
      541 tagctggtgc tattacaata ttacttacgg atcgaaatct taatacgtcg ttttttgacc
      601 ctactggggg aggtgatcca attttata
//
```

الملحق رقم (8) القواعد النايتروجينة والرقم القياسي OK534157 للنوع *U. delphinus*

```
Unio delphinus isolate NHN3 cytochrome c oxidase subunit I (COX1) gene, partial
cds; mitochondrial
GenBank: OK534157.1

LOCUS       OK534157                517 bp    DNA     linear   INV 25-OCT-2021
DEFINITION  Unio delphinus isolate NHN3 cytochrome c oxidase subunit I (COX1)
            gene, partial cds; mitochondrial.
ACCESSION   OK534157
VERSION     OK534157.1
KEYWORDS    .
SOURCE      mitochondrion Unio delphinus
  ORGANISM  Unio delphinus
            Eukaryota; Metazoa; Spiralia; Lophotrochozoa; Mollusca; Bivalvia;
            Autobranchia; Heteroconchia; Palaeoheterodonta; Unionida;
            Unionoidea; Unionidae; Unioninae; Unio.
REFERENCE   1  (bases 1 to 517)
  AUTHORS   Noah,A.A. and Mukhlif,H.Z.
  TITLE     Unio delphinus, cytochrome oxidase subunit I gene, partial cds;
            mitochondrial
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 517)
  AUTHORS   Noah,A.A. and Mukhlif,H.Z.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (16-OCT-2021) biology, Karbala university, Education
            college, Fraiha street, Iraq, karbala 00964, Iraq
COMMENT     ##Assembly-Data-START##
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..517
                     /organism="Unio delphinus"
                     /organelle="mitochondrion"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /isolate="NHN3"
                     /isolation_source="fresh river water"
                     /host="Bivalvia"
                     /db_xref="taxon:461120"
                     /country="Iraq"
                     /collection_date="08-Aug-2021"
                     /collected_by="Ali Abdul Razzaq Noah"
     gene            <1..>517
                     /gene="COX1"
     CDS             <1..>517
                     /gene="COX1"
                     /codon_start=2
                     /transl_table=5
                     /product="cytochrome c oxidase subunit I"
                     /protein_id="UCY55571.1"
                     /translation="TLYLLLAMWSGLIGLALSLLIRAELGHPGSLFGDDQLYNVIVSA
                     HAFMMIFFLVMPMMIGGFGNWLIPLMIGAPDMAFPRLNILSFWLLVPALFLLLSSSLV
                     ESGVGTGWTVYPPLSGNVAHSGASVDLAIFSLHLAGASSILGAINFISTVGNMRSPGL
                     VAERIPLFVWAV"
ORIGIN
        1 aactttgtat ttgttgttag ctatgtggtc tgggttaatt ggtttagctt taaggctttt
       61 aattcgagca gaacttggtc atcctggaag gttatttggt gatgatcaat tatataatgt
      121 tattgtttcg gctcatgctt ttatgatgat tttctttttg gtcatgccta tgataattgg
      181 aggatttggg aattgactta ttcctcttat aattggtgct cctgatatag cttttcctcg
      241 gttaaatatt ctaaggtttt ggttgcttgt gccagctttg tttttattgt tgagatcgtc
      301 tttggtagag agaggggttg gaactggttg aacagtgtat cccccattgt ctggaaatgt
      361 agctcattct ggggcttcgg tagatttggc tatttttct ttacatcttg caggtgcttc
      421 ttctattttg ggtgctatta attttatttc taccgttgga aatatgcgat cccctggatt
      481 agttgctgaa cgaattcctt tatttgtttg agctgtt
//
```

Summary

This study was conducted to describe and diagnose some types of bivalve, which were collected from some governorates in central Iraq (Baghdad, Babylon, Karbala, Najaf) because these governorates are rich in rivers, streams and sewers, and samples were collected randomly from each of the above-mentioned governorates. Approximately 130 individuals during the period 1/12/2020 - 10/2/2021.

Morphological study included a study of two orders, Unionida and Venerida, and a taxonomic key was developed to isolate those two orders. The diagnostic characteristics of the families shown by the current study of those two orders were described, and The family Unionidae was the most prevalent within the studied areas through the genera and species that were recorded, A taxonomic key has been set for the genus *Unio* of this family, from which most of the species shown in the current study descended, and all the species that were characterized morphologically and molecularly based on the taxonomic characteristics of the shell (shell size" length, width, height" shell shape, apex (Umbo), Lateral edges of the dorsal, ventral, anterior and posterior shells, color of the shell inside and out, Growth line, center lines of the apex, the location of the adductor muscle scar from the inside).

The following types have been identified phenotypically:

-***Pseudodontopsis euphraticus*** (Bourguigant, 1852)

-***Unio tigridis*** Bourguignat ,1852

-***Corbicula fluminea*** (Müller, 1774)

-***Corbicula fluminalis*** (Müller, 1774)

For the molecular study, it was revealed that 50 samples were randomly selected to isolate DNA from the membranes and feet of those samples using an extraction kit: FavorPrep™ Tissue Genomic DNA Extraction Mini Kit, according to the protocol steps provided by (Favorgen/Korea), and using qualitative primers designed and prepared from (Macrogen/Korea) Company for the detection of (Cytochrome oxidase subunit I) gene by (Polymerase Chin Reaction) for the current study.

After knowing the number of multiplexed bundles and their molecular weights, approximately 20 microliters of the reaction product were sent from a

sample of (Cytochrome oxidase subunit I) membranes and feet, as Seven isolates has been sent to South Korea in order to verify the sequence of nitrogenous bases using the Sanger device and compare them with the sequences of Genes published in the (National Center for Biotechnology Information) Global Gene Bank website, as well as in order to obtain the accession number for local isolates.

The results were obtained for six isolates after their identification, and four species were recorded as new records in Iraq, and they were as follows:

1) ***Sinanodonta woodiana*** and it was registered in the (NCBI) Gene Bank website, it was registered with the index number (LC656037), and this species is the first new record in Iraq.

2***) Sinanodonta woodiana*** and has been registered with the (NCBI) Global Gene Bank Gene Bank, registered with the index number(LC658986).

3) ***Unio elongatulus*** and it was registered in the (NCBI) Gene Bank website, with the index number LC651631)), and this species is the first new record in Iraq.

4) ***Unio elongatulus*** and registered in the (NCBI) Gene Bank Global Gene Bank website, registered with the index number (LC651632).

5) ***Unio mancus mancus*** It was registered in the (NCBI) Gene Bank website, it was registered with the index number (LC651633), and this species is the first new record in Iraq.

6) ***Unio delphinus*** and it was registered in the (NCBI) Gene Bank website, it was registered with the index number (OK534157), and this species is the first new record in Iraq.

University of Karbala

College of Education for Pure Sciences

Department of Biology

Morphological Taxonomic and Moleculer study of some species of class Bivalvia (Mollusca: Bivalvia) from Middle Region of Iraq

A Thesis Submitted to the Council of College of Education for Pure Science / University of Karbala in partial fulfillment of the requirements for the degree of master in Biology-Zoology

Written By

Ali Abdulrazzaq Noah Ali Alkharasani

Supervised By

Assistant Professor

Hanan Zwair Mukhlif Hussain Aldammy

January, 2022.A.D. **Jumada al-Thani,1443 A.H.**