التغييرات الوراثية والمظهرية لإناث ذبابة القرعيات *Dacus ciliatus* باستعمال تقنية المقياس الهندسي للشكل الظاهري للجناح

ميسون علي شوكت رياض علي عكيلي
باسم شهاب حمد احمد جاسم الشمري

الملخص

استعملت دراسة نظام المقياس الهندسي لشكل او تركيب الجناح لغرض دراسة تغييرات شكل وحجم الجناح لإناث الجيل السادس بين المجتمعات السكانية لذبابة ثمار القرعيات ولثلاثة محافظات مختلفة: بغداد، بابل وواسط. وبلغ معدل الحجم المركزي للجناح الأيمن لإناث الجيل السادس: **461.55**، **459.15** و **457.98** مايكروناً على التوالي. أظهرت الدراسة عدم وجود فروق معنوية في معدل الحجم المركزي للجناح الأيمن لإناث المجاميع الثلاثة مما يشير الى ان الإناث التابعة للمجاميع الثلاثة تعود الى النوع نفسه.

المقدمة

تُعدُّ ذبابة القرعيات ***Dacus ciliatus*** من أهم الآفات الاقتصادية على محاصيل العائلة القرعية التي باتت عائقاً لتقدم زراعتها في العراق لملائمة الظروف المناخية لمعيشة الحشرة ملحقة أضراراً كبيرة عن طريق تغذية اليرقات على الثمار مسببة تعفنها وسهولة إصابتها بالفطريات والبكتريا مما يزيد من تلف الثمار وانخفاض جودتها كما اوضح مهدي (**4**) تزايدت إصابات محاصيل القرعيات في العراق بعد ظهور وتسجيل هذه الذبابة عام **1989** من قبل كل من **Moanas and Abdul – Rassol** (**17**) وأصبحت مستوطنة ،ومن الضروري اتخاذ الإجراءات المناسبة لمكافحتها والسيطرة عليها، استعملت في البداية المبيدات الكيميائية بشكل رئيس كما بين **Maklkove** (**15**) التي تمثل اليوم أحد عناصر التلوث المهمة في البيئة وإخفاقها في السيطرة التامة على الآفات لاسيما تلك التي تقضي بعض أدوار حياتها داخل أجزاء النبات مثل ذبابة القرعيات، الأمر الذي شجع على استعمال طرق أكثر أمناً وغير ملوثاً للبيئة مثل تقنية الحشرات العقيمة **Sterile Insect Technique** (**SIT**) كما بين الشمري (**2**) وان نجاح هذه التقنية يتطلب بدوره العديد من الدراسات، منها دراسة التغييرات الوراثية الخلوية وان الهدف من هذه الدراسة هو إيجاد التباين الوراثي الخلوي بين المجتمعات السكانية وبالتالي تحديد أية صفة أو خاصية بتمييز هذه المجتمعات، وكذلك استعمال تقنية المقياس الهندسي للشكل الظاهري للجناح **Geometric Morphometric** ويعرف بإنه دراسة تغييرات الحجم والشكل وتبايناتها وتنوعها للكائنات الحية كما اوضح **Roulf** (**20**) وتستعمل هذه التقنية للشكل الظاهري للأجنحة لإيجاد التغيير في شكل جناح الحشرات للمجتمعات السكانية العائدة لنوعٍ واحد، وان الفائدة الرئيسة لهذه التقنية هو إنها تستعمل كل المعلومات المتوفرة بصدد الشكل من احداثيات المعالم وبالتالي تحديد تغييرات الشكل**Bookstein** (**5**) و**Dryden and Mardia**(**12**) وان تقاطع العروق الطويلة مع العروق المستعرضة في جناح الحشرة يمثل نقاط المعالم للعينات المدروسة جميعها بين المجتمعات السكانية لذبابة القرعيات والمجموعة من مناطق مختلفة لمعرفة مدى تقاربها أو تباعدها كما بينوا كل من **Conn and Mirabello** (**8**)، **David** وجماعته **Murat** (**9**) وجماعته (**18**).

وزارة العلوم والتكنلوجيا، بغداد، العراق.

المواد وطرائق البحث

أقفاص تربية ذبابة ثمار القرعيات

تم التزاوج بين المجتمعات السكانية لذبابة ثمار القرعيات للمناطق المختلفة من المحافظة (بغداد، بابل، واسط لعام **2015** في مختبرات دائرة البحوث الزراعية، استعملت أقفاص مكعبة الشكل من الزجاج العضوي. زودت الأقفاص بمستلزمات خاصة للتربية وهي أطباق بلاستيكية تحتوي على قطعة من القطن المبلل بمحلول سكري **10 %** لتغذية البالغات مع طبق أخر مملوء بنسب متساوية من مطحون السكر مع الخميرة فضلاً عن إضافة ثمار قرع الكوسة لغرض وضع البيض عليها من قبل البالغات لحين فقس البيوض الى يرقات التي تبدأ بالتغذية داخل الثمرة.(**3**).

الدراسة الوراثية الخلوية

شرحت أناث الجيل السادس لذبابة ثمار القرعيات بعمر يوم واحد داخل المحلول الملحي، قطعت الحلقات البطنية القريبة من نهاية الجسم وعزلت الأحشاء البطنية وبعد ذلك نقل النسيج الى محلول كارنوي المحضر آنياً أثناء وقت التشريح، يعمل هذا المحلول على حفظ الأنسجة بهيئتها الأصلية ويتكون من: مزج **1** حجم من **45%** حامض الخليك الثلجي **Glacial acetic Acid** مع **3**حجم من **95%** كحول الأثيلي وبعد ذلك تحفظ الأنسجة لحين وقت التصبيغ، صبغت الأنسجة بصبغة **Lacto Acetoorcein 2%**، تركت الأنسجة في الصبغة لمدة **30** دقيقة بعدها نقلت الى شريحة زجاجية حاوية على قطرة من الصبغة، تمت تغطيتها بغطاء الشريحة، هرس النسيج برفق بين ورقتي الترشيح بالضغط قليلاً للتخلص من الصبغة الزائدة.

تم فحص الشرائح الزجاجية بعد إكمال عملية التصبيغ بواسطة المجهر المركب وتحت العدسة الزيتية بعد ان تم التركيز والفحص على مرحلة الطور الاستوائي من الانقسام الاعتيادي، أُخذت الصور جميعها للكروموسومات الطور الاستوائي بالعدسة الزيتية (**7**، **10**، **11**، **16**، **25**).

وتم قياس أطوال الكروموسومات باستعمال الأوراق البيانية وبوحدة قياس المليمتر، وبعد تقدير قيمة التكبير واحتساب أطوال الكروموسومات حولت الوحدات الى المايكرومتر وتم حساب قيم الطول النسبي لكل كروموسوم بموجب المعادلة التالية:

$$\text{Relative Length} = \frac{\text{طول كل كروموسوم}}{\text{المجموع الكلي لاطوال الكروموسومات}} \times 100 \quad (1).$$

تحضير العينات

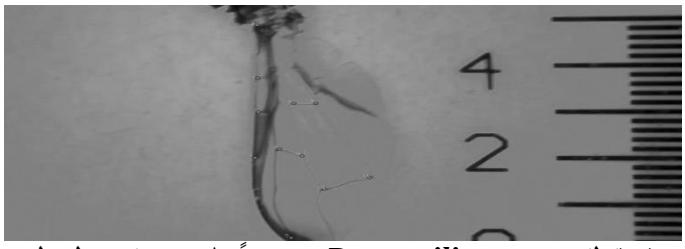
استعمل **15** جناحاً أيمناً لإناث الجيل السادس للمجاميع الثلاثة المعزولة من المحافظات الثلاثة (بغداد، بابل وواسط) لدراسة تغييرات شكل وحجم الجناح وذلك باستعمال نظام المقياس الهندسي للشكل المظهري للجناح وقد أتبعت طريقة كل من **Sangvorn and Nopphanun** (**22**) في تحضير الشرائح الزجاجية للأجنحة، إذ عزل **15** أناثاً وتركت بدون تغذية وبعد موتها وجفافها جفافاً جيداً نزع الجناح الأيمن من كل عينة بواسطة ملقط دقيق مع المحافظة على الجناح من التكسر وبعد ذلك وضع الجناح بين شريحتين زجاجيتين وربطت حافتي الشريحة بواسطة شريط لاصق ورقي مع كتابة المعلومات الخاصة بالأنموذج على أحد طرفي الشريحة ، بعد الإنتهاء من تحضير الشرائح الزجاجية صورت بواسطة مجهر رقمي **Digital Microscope** الذي ربط مع حاسبة مزودة بكاميرا رقمية قوة تكبيرها **1.3**ميكا بكسل والكاميرا مزودة بأشعة فوق البنفسجية **UV** وبعد الانتهاء من عملية التصوير حفظت صورة أجنحة الإناث ولكل شكل في الملفات الخاصة المأخوذة لـ **15** مكرراً.

بعد ان صورت نماذج أجنحة الإناث جمعت بيانات كل صورة على حدة وذلك باستعمال البرنامج الجاهز المعروف باسم :

Collecting Landmarks For Identification And Characterization

وهذا البرنامج خاص بالتحليلات الهندسية للأجنحة والبيانات التي جمعت من صور الأجنحة في المعالم **Landmark** والمعالم عبارة عن نقاط تشريحية توضع على الأجنحة عند تقاطعات العروق الطويلة مع العروق المستعرضة او عند نهايات العروق الطويلة (**6**).

استعملت في هذه الدراسة **11** معلماً من معالم النوع الأول وهي تقاطعات العروق الطويلة مع العروق المستعرضة، إذ وضعت نقاط مرقمة بين هذه التقاطعات عن طريق وحدة **Coo** الموجودة ضمن البرنامج وهذه الوحدة خاصة بوضع معالم للإحداثيات ، ان الاتصالات ما بين المعالم الـ **11** التي وضعت على كل جناح (كما مبينة في شكل **1**) تمت في هذه الدراسة الإعتماد على الحجم المركزي للجناح للمقارنة بينهما والحجم المركزي للجناح هو مقدار متساوي القياس من الجناح ويحسب من الجذر التربيعي لمجموع مربعات المسافات بين مركز المضلع وكل معلم من المعالم التي تم وضعها على الجناح (**3**، **21**).



شكل **1**: جناح إنثى ذبابة القرعيات ***Dacus ciliatus*** موضحاً عليه إحداثيات المعالم (قوة التكبير).

تحليل البيانات والبرمجيات

استعمل التحليل العاملي للمركبات الاساس للكشف عن التغيير بين المجتمعات السكانية الثلاثة لذبابة ثمار القرعيات وللجيل السادس وكذلك استعمال للتحليل التميزي **Discriminate Analysis** للكشف عن التغيير ضمن المجموعة السكانية الواحدة وهذان التحليلان موجودان ضمن البرنامج **Collecting Landmark for Identification and Characterization** (**14**،**23**، **24**). استعمل نظام تحليل التباين **ANOVA** متبوعاً باختبار **student –Newman Keule Test (SNK)** وذلك بالاعتماد على البرنامج الإحصائي الجاهز **SPSS 17** للمقارنة بين متوسطات معدل الطول النسبي لكل من الكروموسومات الجسمية والكروموسومات الجنسية بين المجتمعات السكانية الثلاثة المأخوذة من محافظات مختلفة وهي (بغداد، بابل وواسط).

النتائج والمناقشة

تمت في هذه الدراسة المقارنة بين إناث هذه الحشرة للمجتمعات السكانية الثلاثة عن طريق التحليل التمييزي **Discriminate analysis** اعتمادا على الحجم المركزي لكل جناح ويتم تطبيقها اكمالاً للدراسات الوراثية الخلوية، وبلغ معدل الحجم المركزي للجناح ألأيمن لإناث الجيل السادس: **461.55**، **459.15** و**457.98** مايكروناً للمجتمعات السكانية من المحافظات(بغداد، بابل وواسط)على التوالي، كما مبين في جدول**1**. لقد استخدم اختبار **F** واختبار **T** للمقارنة بين المجتمعات السكانية الثلاثة في معدل الحجم المركزي للجناح الأيمن، وعند مقارنة الجيل السادس لإناث ذبابة القرعيات المجموعة من محافظة بغداد مع إناث الجيل السادس المجموعة من محافظة

بابل في معدل الحجم المركزي للجناح الأيمن، إذ بلغت قيمة F = 1.5 وقيمة P = 0.55. وقيمة T = 0.65 وقيمة P = 0.35.وقيمة الاختلاف المطلق A.D فكانت تساوي 4.25، إذ لا توجد فروق معنوية بين حشرات محافظة بغداد وحشرات محافظة بابل. أما عند مقارنة إناث الجيل السادس لذبابة قرعيات المجموعة من محافظة بغداد مع تلك المجموعة من محافظة واسط فكانت قيمة F = 1.12 وقيمة P = 0.75. أما قيمة T = 0.59 وقيمة P = 0.45 .وقيمة الاختلاف المطلقة فكانت تساوي 3.55 ولا توجد فروق معنوية بين حشرات هاتين المنطقتين في معدل الحجم المركزي للجناح الأيمن. وعند مقارنة إناث الجيل السادس للمجموعة من محافظة بابل مع تلك المجموعة من محافظة واسط فكانت قيمة F = 1.4 وقيمة P= 0.51،وقيمة T = 0.71 وقيمة P = 0.59. وقيمة الاختلاف المطلقة فكانت تساوي 4.41، إذ لا توجد فروق معنوية في معدل الحجم المركزي للجناح الأيمن، وهذا يعني أن إناث ذبابة القرعيات التي جمعت من المحافظة(بغداد، بابل وواسط) تعود لنوع واحد ، وهذا يتفق مع النتائج التي حصل عليها القره غولي (3). بينما كانت نتائج دراسة كل من Kittawee and Rupgsri (13 اللذين قاما بدراسة تغييرات شكل الجناح في حشرة Bactrocera tau باستعمال نظام المقياس الهندسي لشكل او تركيب الجناح فلاحظ عدم تطابق بعض المعالم الموضوعة على أجنحة هذه الحشرة المجموعة من محافظات مختلفة من تايلند ويرجع سبب عدم التطابق الى اختلاف الظروف البيئية في المحافظات التي جمعت منها الحشرة كما بيَّن Prudhomm (19) في دراسة تضمنت دراسة تغيرات شكل وحجم الجناح للمجتمعات السكانية لذبابة الرمل والمجموعة من شمال وجنوب الاطلسي في المغرب وهذا يرجع الى اختلاف الظروف البيئية في المنطقتين التي جمعت منهما الحشرة من درجات الحرارة ورطوبة وكمية الأمطار المتساقطة سنوياً، يوضح جدول 2 معدل الطول النسبي لكروموسومات الجيل السادس لإناث ذبابة القرعيات المأخوذة من المجتمعات السكانية في المحافظات (بغداد وبابل وواسط) والتي أظهرت عدم وجود اختلافات معنوية فيما بينها لتبِّين انها تعود الى نوع واحد من ذبابة القرعيات وان أعلى معدلاً لطول الكروموسوم من الكروموسومات الجسمية هو الكروموسوم رقم1 ويساوي 11.12، 11.18، 11.29مايكرومتراً لعينات المحافظات (بغداد، بابل وواسط) على التوالي، وان أقل معدلاً لطول للكروموسوم من الكروموسومات الجسمية هو الكروموسوم رقم (10) ويساوي 7.70، 7.70 و 7.75 مايكرومتراً لعينات المحافظات (بغداد، بابل وواسط) عل التوالي، اما الكروموسومات الجنسية X وY فان معدل طول الكروموسوم X كان: 3.35، 3.33 و 2.48 مايكرومتراً على التوالي، بينما كان أعلى معدل لطول الكروموسوم Y في عينة محافظة واسط 3.80 مايكرومتراً واقل معدلاً لطول الكروموسوم Y في عينة محافظة بابل3.69 مايكرومتراً. وأشار القره غولي (3) عند مقارنته طبعة النواة karyotype لثلاث عينات من ذبابة القرعيات المجموعة من المحافظات (بغداد، ديالى وصلاح الدين) بوجود تشابه كبير من الناحية الوراثية بين عينات المحافظات الثلاثة وهذا يدل على إنها تعود الى نوع واحد.

جدول 1:مقارنة الحجم المركزي **Centroid Size** (مايكرون) للجناح الأيمن لإناث الجيل السادس لذبابة القرعيات ***Dacus ciliatus*** المجموعة من المحافظات (بغداد ، بابل ، وواسط)

Group	M. CS	St. D	Va.	F	P	T	P	A.D.
Baghdad (B)	461.55	18.15	355.05	B-A= 1.5	B-A= 0.55	B-A= 0.65	B-A= 0.35	B-A= 4.25
Babylon (A)	459.15	17.45	340.41	B-W= 1.12	B-W= 0.75	B-W= 0.59	B-W= 0.45	B-W= 3.55
Wasit (W)	457.98	19.12	351.25	A-W= 1.4	A-W= 0.51	A-W= 0.71	A-W= 0.59	A-W= 4.41

M.CS: **Mean Centroid Size** معدل الحجم المركزي للجناح ؛ **St. D**: **Standard Deviation** الإنحراف القياسي ؛ **Va.**: **Variance** التباين ؛ **F**: قيمة **F** المحسوبة ؛ **P**: **Probability** الإحتمالية **T**: قيمة **T** المحسوبة ؛ **A.D**: **Absolute differences** الإختلاف المطلق

جدول 2 :معدل الطول النسبي Relative Length بـ ***µm*** لكروموسومات الجيل السادس لإناث ذبابة القرعيات للمجتمعات السكانية الثلاثة

Chrom. No. / Groups	Ch.1 M.±S.D.	Ch.2 M.±S.D.	Ch.3 M.±S.D.	Ch.4 M.±S.D.	Ch.5 M.±S.D.	Ch.6 M.±S.D.	Ch.7 M.±S.D.	Ch.8 M.±S.D.	Ch.9 M.±S.D.	Ch.10 M.±S.D.	Ch.x M.±S.D.	Ch.y M.±S.D.
Baghdad	11.12 ±0.17 a	11.13 ±0.12 a	11.25 ±0.23 a	11.15 ±0.25 a	10.44 ±0.21 a	10.29 ±0.19 a	9.59 ±0.14 a	9.25 ±0.11 a	8.65 ±0.25 a	7.70 ±0.28 a	3.35 ±0.15 a	3.75 ± 0.02 a
Babylon	11.18 ±0.2 a	11.22 ±0.19 a	11.35 ±0.21 a	11.28 ±0.19 a	10.12 ±0.23 a	10.25 ±0.21 a	9.55 ±0.13 a	9.33 ±0.23 a	8.59 ±0.13 a	7.70 ±0.19 a	3.33 ±0.10 a	3.69 ± 0.09 a
wast	11.29 ±0.25 a	11.22 ±0.28 a	11.26 ±0.18 a	11.27 ±0.23 a	10.18 ±0.15 a	10.27 ±0.14 a	9.59 ±0.19 a	9.33 ±0.18 a	8.63 ±0.15 a	7.75 ±0.13 a	3.41 ±0.19 a	3.80 ± 0.12 a

المعدلات المتبوعة بالحروف نفسها وبالعمود نفسه لا تختلف معنويا حسب إختبار **SNK** عند مستوى إحتمال **5%** ؛ **M.** تعني المعدل ± الإنحراف القياسي، **Ch** كروموسوم.

المصادر

1- الحسناوي، حلا تايه عمران (2007). دراسات وراثية وتصنيفية لذبابة القرعيات. رسالة ماجستير- كلية التربية ابن الهيثم- جامعة بغداد.

2- الشمري، احمد جاسم محمد (2003). تأثير الاشعاع وبعض منظمات النمو الحشرية في السيطرة على ذبابة ثمار القرعيات ***Dacus ciliatus***، رسالة ماجستير كلية الزراعة جامعة بغداد.

3- القره غولي، عمار احمد (2013).دراسة وراثية وخلوية لمجتمعات ذبابة القرعيات المجموعة من مناطق مختلفة من العراق، اطروحة دكتوراه – علوم الحياة / جامعة تكريت.

4- مهدي، حسن سليمان احمد (2000). دراسة بيئة وحياتية لحشرة ذبابة ثمار القرعيات وبعض طرق مكافحتها اطروحة دكتوراه –كلية الزراعة – جامعة بغداد.

5- **Bookstein, F. (1996). Combining the tools of Geometric Morphometric. Advance in morphometric: 131-152 Nato ASI Series Vol. 284. Plemum Press, New york.**

6- **Bookstein, F. L. (1991). Morphometric Tools for Landmark Data: Geometry and Biology. Cambridge university press, Cambridge, 435PP.**

7- **Charleen, M. and G. Robert (2001). Chromosome preparation and banding encyclopedia of life sciences/ 2001 Nature publishing group www.eis.net:1-7**

8- **Conn, J. and L. Mirabello (2007). The biogeography and population genetics of Neotropical vector species. Heredity, 99:245- 256.**

9- **David, J. ; A. Huber and J. Meyran (2003). The role of environment in shaping the genetic diversity of the subalpine mosquito, Aedes rusticus (Diptera: Culicidae). Mol. Ecol.,12:1951-1961.**

10- **Drosopoulou, E.; D. Nestel; I. Nakou and K. Bourtzis (2011). Cytogenetic analysis of the Ethiopian fruit fly *Dacus ciliatus*. Genetica, 139:723-732.**

11- **Drosopoulou, E.; K. Koeppler and K. Bourtzis (2010).Genetic and Cytogenetic analysis of the walnut- Husk fly (Diptera: Tephritidae). Ann. Entomol. Soc. Am.,103:1003-1011.**

12- **Dryden, I. L. and K.V. Mardia (1998).Statistical Shape analysis John Wiley and Sons , London, PP:425**

13- **Kitthawee, S. and N. Rungsri (2011). Differentiation in wing Shape in the Bactrocera tau Complex on a single fruit fly species of Thailand Science Asia, 37:308-313.**

14- **Lyra, M. L. (2009). Wing morphometry as a tool for correct identification of primary and secondary new world screwworm fly, Bulletin of Entomology Research, 3:1-8.**

15- **Maklkove, A. (2001). Toxicological studies of the organophosphate and pyrethriod insecticide for controlling the fruit fly *Dacus ciliatus*, J. Econ . Entomol.,94(5):1059-1066.**

16- **Mavragani-Tsipidou, P. (2002).Genetic and cytogentic analysis of Bactrocera oleae (Diptera: Tephritidae). Genetica, 116:45-57.**

17- **Moanas, A. M. and M. S. Abdul-Rassol (1989).First record of *Dacus ciliatus*. As aspect of Cucumber in Iraq. Bull. Iraq Nat. His. Mus., 8(2):173-174.**

18– Murat, A.; M. Trezon; P. Rasmont, and N. Cagatay (2007). Landmark based Geometric Morphometric analysis of wing shape Sibiricobmbus vogot (Hymenoptera: Apidae). Ann. Soc. Entomol. Fr. 43(1):95-102.

19– Prudhomme, J.; F. Guny; D. Sereno and B. Alten (2012). Wing size and shape variation of Phlebotomus papatasi populations from South and North slopes of Atlas Mountains in Morocco. J. of Vector Ecology., 37(1):137-147.

20– Rohlf, F. J. (2007). TPS UTIL. Department of Evolution, state university of New york at stony Book.

21– Rohlf, F. J. (1993).Morphometric tools for Landmark data. J. Classification, 10:133-136.

22– Sangvorn, K. and T. Nopphaun (2011). Differentiation in wing shape in Bactrocera tau, Complex on a Single fruit species of Thailand, Science Asia, 37: 308-313.

23– Sirlei, A.M. (2010). Genetic -morphormetric Variation in Culex quinque from Brazil and La Plata, Argentina, Mem. Instoswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 105(5):672-676.

24– Soto, I. M. (2008).Wing morphology and fluctuating asymmetry depend on the host plant in cactophilic Drosophila. J.Evol. Biol.(21):598-609.

25– Tuzun, A. and S. Yuksel (2009). Insect chromosomes preparing methods for genetic researches. African J. of Biotechnology, 8(1):001-003.

GENETIC AND MORPHOMETRIC VARIATION OF CUCUMBER FRUIT FLIES FEMALE *Dacus ciliatus* USING GEOMETRIC MORPHOLOGY OF WING VEINS

M. A. Shawkit **R. A. Akeli**
B. Sh. Hamed **A. J. Al-Shammary**

ABSTRACT

The geometric morphometric of wing size studied among three distinct populations of Cucumber fruit flies, the right wings of the sixth generations of adult female from three different regions populations: Baghdad, Babylon and Waist, the rate wing centroid sizes reached: 461.55, 459.15 and 457.98μ respectively. The result showed no significant difference in wing centroid sizes to identify and know the variation in the size and the shape of the wing morphological variation appeared from the three different collected regions. This indicate that females from the three different populations belong to the same species.

Ministry of Sci. and Tech., Bagdad, Iraq.