



وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة ديالى

كلية التربية للعلوم الصرفة

قسم علوم الحياة

دراسة وراثية وتقييم بعض المواد النانوية على بعض الجوانب الحياتية

لنوعين من جنس *Dacus* Fabricius, 1805 (Diptera: Tephritidae)

أطروحة مقدمة إلى

مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة ديالى وهي جزء من متطلبات نيل درجة دكتوراه

فلسفة في علوم الحياة

من قبل الطالب

حسين محمد بريسم التميمي

بكالوريوس علوم حياة / كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة ديالى

2009

ماجستير علوم حياة / كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة ديالى

2016

بإشراف

أ. د. عمار أحمد سلطان أ. د. زياد طارق خضير

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

اقْرَأْ بِاسْمِ رَبِّكَ الَّذِي خَلَقَ ﴿١﴾ خَلَقَ الْإِنْسَانَ مِنْ عَلَقٍ ﴿٢﴾ اقْرَأْ وَرَبُّكَ
الْأَكْرَمُ ﴿٣﴾ الَّذِي عَلَّمَ بِالْقَلَمِ ﴿٤﴾ عَلَّمَ الْإِنْسَانَ مَا لَمْ يَعْلَمْ ﴿٥﴾

صدق الله العلي العظيم

سورة العلق : الآية [١ ، ٢ ، ٣ ، ٤ ، ٥]

إقرار المشرفين

نشهد أنَّ إعداد هذه الأطروحة الموسومة بـ (دراسة وراثية وتقييم بعض المواد النانوية على بعض الجواب الحياتية
لنوعين من جنس *Dacus Fabricius, 1805 (Diptera: Tephritidae)* والتي قدمها طالب الدكتوراه
(حسين محمد بريسم) قد تمَّ بأشرافنا في قسم علوم الحياة / كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة ديالى ، وهي جزء من
متطلبات نيل درجة دكتوراه فلسفة في علوم الحياة .

التوقيع

المشرف : د. عمار أحمد سلطان

المرتبة العلمية : أستاذ

التاريخ / / 2020

التوقيع

المشرف : د. زياد طارق خضير

المرتبة العلمية : أستاذ

التاريخ / / 2020

توصية رئيس قسم علوم الحياة

بناءً على التوصيات المتوافرة أرشح هذه الأطروحة إلى المناقشة لدراستها وبيان الرأي فيها .

التوقع:

الاسم : د. عمار أحمد سلطان

المرتبة العلمية : أستاذ

التاريخ / / 2020

إقرار المقوم اللغوي

أشهد أن إعداد هذه الأطروحة الموسوم بـ (دراسة وراثية وتقييم بعض المواد النانوية على بعض الجوانب الحياتية لنوعين من جنس *Dacus Fabricius, 1805 (Diptera: Tephritidae)* والتي قدمها طالب الدكتوراه (حسين محمد بريسم التميمي) قد تمت مراجعتها من الناحية اللغوية ، وَصُحِّحَ ما وردَ فيها من أخطاء لغوية وتعبيرية ، وبذلك أصبحت الرسالة مؤهلة للمناقشة بقدر تعلق الأمر بسلامة الأسلوب وصحة التعبير .

التوقيع :

الاسم : د. لؤي صيهود التميمي

المرتبة العلمية : أستاذ مساعد

التاريخ / / ٢٠٢٠

إقرار المقوم العلمي

أشهد أن إعداد هذه الأطروحة الموسومة بـ (دراسة وراثية وتقييم بعض المواد النانوية على بعض الجوانب الحياتية لنوعين من جنس *Dacus Fabricius, 1805 (Diptera: Tephritidae)* والتي قدمها طالب الدكتوراه (حسين محمد بريسيم التميمي) تمت مراجعتها من الناحية العلمية بأشرافي بحيث أصبحت بأسلوب علمي سليم خالي من الأخطاء والتعبيرات غير الصحيحة ، ولأجله وقعت .

التوقيع

الاسم : د. محمد مهدي جواد

المرتبة العلمية : أستاذ مساعد

التاريخ / / 2020

إقرار لجنة المناقشة

نحنُ رئيس وأعضاء لجنة المناقشة الموقعين أدناه نشهد أننا أطلعنا على الأطروحة الموسومة (دراسة وراثية وتقييم بعض المواد النانوية على بعض الجوانب الحياتية لنوعين من جنس *Dacus Fabricius, 1805 (Diptera: Tephritidae)* والتي قدمها طالب الدكتوراه (حسين محمد بريسم التميمي) وهي جزء من متطلبات نيل درجة دكتوراه فلسفة في علوم الحياة ، وقد ناقشنا الطالب في محتوياتها وفيما له علاقة بها ووجدناها مستوفية لمتطلبات درجة دكتوراه فلسفة في علوم الحياة وعليه نوصي بقبول الأطروحة بتقدير (جيد جداً) .

عضو اللجنة (رئيساً)	عضو اللجنة	عضو اللجنة
الاسم : د. رزاق شعلان عكل	الاسم : د. إبراهيم هادي محمد	الاسم : د. رياض علي عكيلي
المرتبة : أستاذ	المرتبة : أستاذ	المرتبة : أستاذ مساعد
العنوان : جامعة بغداد/مركز بحوث ومتحف	العنوان : جامعة ديالى/كلية العلوم	العنوان : جامعة القاسم الخضراء/
التاريخ / / 2020	التاريخ / / 2020	التاريخ / / 2020
عضو اللجنة	عضو اللجنة	عضو اللجنة
الاسم : د. فراس حبيب عبد الرزاق	الاسم : د. فريال بهجت هرمز	
المرتبة : أستاذ مساعد	المرتبة : أستاذ مساعد	
العنوان : جامعة ديالى/كلية التربية للعلوم الصرفة	العنوان : جامعة بغداد/كلية الزراعة	
التاريخ / / 2020	التاريخ / / 2020	
عضو اللجنة (مشرفاً)	عضو اللجنة (مشرفاً)	عضو اللجنة (مشرفاً)
الاسم : د. عمار أحمد سلطان	الاسم : د. زياد طارق خضير	الاسم : د. غالب أدریس عطية
المرتبة : أستاذ	المرتبة : أستاذ	المرتبة : أستاذ مساعد
العنوان : جامعة ديالى	العنوان : جامعة ديالى	العنوان : جامعة ديالى
كلية التربية للعلوم الصرفة	كلية العلوم	كلية التربية للعلوم الصرفة
التاريخ / / 2020	التاريخ / / 2020	التاريخ / / 2020
عضو اللجنة (مشرفاً)	عضو اللجنة (مشرفاً)	عضو اللجنة (مشرفاً)
الاسم : د. عمار أحمد سلطان	الاسم : د. زياد طارق خضير	الاسم : د. غالب أدریس عطية
المرتبة : أستاذ	المرتبة : أستاذ	المرتبة : أستاذ مساعد
العنوان : جامعة ديالى	العنوان : جامعة ديالى	العنوان : جامعة ديالى
كلية التربية للعلوم الصرفة	كلية العلوم	كلية التربية للعلوم الصرفة
التاريخ / / 2020	التاريخ / / 2020	التاريخ / / 2020

الإهداء

إلى ...

..... من أخرجَ الناسَ من الظلماتِ إلى النورِ نبينا الأكرم محمد (صلى الله عليه وآله وسلم)

..... من بذلَ الغالي والنفيس في تربيّتي وتعليمي ... والدي العزيز (رحمهُ الله)

.... رمز المحبة والحنان والتي من تحت قدمها أنالُ الجنان ... والدتي العزيزة (رحمها الله)

.... رفيقة دربي وشريكة حياتي وسندي في كل شيء زوجتي الحبيبة

.... المستقبل القادم بكُل معانيه ثمرة حياتي أولادي الأعزاء

.... جميع من علموني حروفاً من صغري إلى كبري أساتذتي الأجلاء

.... أحبتي وأعزائي وسندي أخوتي وأخواتي

أهدي ثمرة جهدي المتواضع مع كُل التقدير والأحترام

الباحث

الشكر والتقدير

بسم الله الرحمن الرحيم

الحمدُ لله رب العالمين والصلاة والسلامُ على أشرف الأنبياء والمرسلين حبيبِ إله العالمين

أبي القاسم محمد وعلى آله الطيبين الطاهرين وصَحبه العُر الميامين

أَنْ من دواعي سروري واعتزازي الكبير وأنا أكمل دراستي هذه أَنْ أتقدم بالشكر والتقدير العالي إلى عمادة كلية التربية للعلوم الصرفة والتمثلة بالسيد عميد الكلية المحترم الأستاذ المساعد الدكتور غالب ادريس عطية ، وكذلك أتقدم بالشكر والتقدير إلى رئاسة قسم علوم الحياة وأخصُ بذلك السيد رئيس القسم الأستاذ الدكتور عمار أحمد سلطان المحترم على جميع الجهود التي بذلها في مساعدتي وفي جميع الجوانب لإكمال دراستي من خلال اقتراح موضوع البحث والأشراف المباشر عليه في جميع الجوانب ، شكري وتقديري إلى الأستاذ الدكتور زياد طارق خضير/جامعة ديالى / كلية العلوم / قسم علوم الفيزياء لأشرفه على البحث وخاصة فيما يتعلق بالجانب النانوي من خلال توجيهاته المباشرة والمستمرة ، كما أتقدم بالشكر والتقدير إلى مدير مركز بحوث ومتحف التاريخ الطبيعي في جامعة بغداد الأستاذ الدكتور رزاق شعلان عُكّل لمساعدته المباشرة وغير المباشرة لي في إكمال بحثي ، شكري وتقديري إلى الأستاذ المساعد الدكتور هناء هاني الصفار رئيس قسم الحشرات واللافقرات / مركز بحوث ومتحف التاريخ الطبيعي لمساعدتها لي في مجال تشخيص الحشرات ، كما أتقدم بالشكر والتقدير إلى الأستاذ الدكتور أحمد جاسم الشمري / دائرة البحوث الزراعية / وزارة العلوم والتكنولوجيا لمساعدته لي في الحصول على عينات الدراسة وتوجيهاته المستمرة في مجال تربية الحشرات ، أتقدم بالشكر والتقدير للأستاذ المساعد الدكتور رياض علي عكيلي / جامعة القاسم الخضراء / كلية علوم البيئة لمساعدته لي في إكمال بحثي ، وأيضاً أشكر المقوم اللغوي والعلمي ، بالغ الشكر والتقدير إلى منتسبي مختبرات دائرة البحوث الزراعية في وزارة العلوم والتكنولوجيا ومنتسبي قسم الحشرات واللافقرات في مركز بحوث ومتحف التاريخ الطبيعي / جامعة بغداد لمساعدتهم لي وتسهيل مهمتي في الحصول على العينات وإنجاز موضوع التشخيص ، كما أشكر الأخ الاستاذ عدنان علي محمد / جامعة ديالى / كلية العلوم / قسم علوم الفيزياء على مساعدته لي في اكمال جزء من جانب الدراسة النانوي ، و كذلك اشكر الدكتور مهند وهيب / جامعة ديالى / كلية التربية للعلوم الصرفة / قسم علوم الحياة لمساعدته لي في جانب الدراسة النانوي ، وأخيراً أتقدم بالشكر والامتنان لزملائي وزميلاتي طلبة الدراسات العليا وأدعو من الله العلي العظيم أَنْ يوفق الجميع

الباحث

الخلاصة

دُرست المقارنة الوراثية الجزيئية والكمية والحياتية بين نوعين من ذبابة ثمار القرعيات في وسط العراق وهما *Dacus ciliatus* (Loew,1862) و *Dacus frontalis* (Becker,1922) ، والتي تم الحصول على عيناتهما من مختبر الإدارة المتكاملة للآفات / دائرة البحوث الزراعية / وزارة العلوم والتكنولوجيا بتاريخ 2/23/2019، إذ بلغت مدة الجيل الواحد لكل نوع 25 يوماً من البيضة إلى الحشرة الكاملة ، وبعد الانتهاء من تربية حشرات كلا النوعين أجريت المقارنة الوراثية الجزيئية بين النوعين أعلاه اعتماداً على عذارى الجيل الثالث المعاملة بالتركيز نصف القاتل (LC_{50} 0.250 ml/L) لأوكسيد المغنيسيوم النانوي وغير المعاملة من خلال استخلاص الـ DNA بواسطة عدة الاستخلاص Gnomix DNA Mini Kit-tissue وبواقع 20 عينة قبل المعاملة و20 عينة بعد المعاملة لكلا النوعين . تراوحت نقاوة الـ DNA المستخلص لجميع العينات ما بين 1.8 إلى 2 نانوميتر، وبعد ذلك تم تضخيم قطعة من الجين لكل من الجينات COI ، CAD و EF-1 alpha بواسطة استعمال تقانة تفاعل أنزيم البلمرة المتسلسل PCR ، إذ أظهرت نتائج التضخيم بأن الوزن الجزيئي للجينات الثلاثة هو 350bp ، 310bp و 450bp على التوالي لكل من عينات النوعين المعاملة وغيرالمعاملة ، بعد ذلك تم عمل التسلسل النيوكليوتيدي لكل جين من الجينات الثلاثة وبواقع 16 عينة لكل جين مقسمة إلى 8 عينات لكل نوع أي 4 قبل المعاملة و4 بعد المعاملة . بينت نتائج تحليل التسلسل النيوكليوتيدي لكل جين من الجينات الثلاثة ولكلا النوعين وجود طفرات نقطية من نوع الحذف والاستبدال موزعة على مواقع مختلفة من التسلسل النيوكليوتيدي عند مقارنة عينات النوع الواحد المعاملة بالتركيز نصف القاتل LC_{50} لأوكسيد المغنيسيوم النانوي وغير المعاملة من جهة ومع عينات بنك الجينات المختارة في هذه الدراسة من جهة أخرى ، كما أظهرت نتائج تحليل التسلسل النيوكليوتيدي لكل جين من الجينات الثلاثة وجود طفرات نقطية من نوع الاستبدال في مواقع مختلفة من التسلسل النيوكليوتيدي عند مقارنة عينات النوع *D.ciliatus* مع عينات النوع *D.frontalis* الطبيعية غير المعاملة ، ومن خلال شجرة التقارب الوراثي Phylogenetic tree لوحظ بأن قيمة البعد الوراثي بين عينات النوع الواحد المعاملة بالتركيز النصف القاتل LC_{50} لأوكسيد المغنيسيوم النانوي وغير المعاملة تساوي 0.00 ولكن بين عينات كلا النوعين تساوي 0.03 ، 0.0023 و 0.0013 للجينات COI ، CAD و EF-1 alpha على التوالي من جهة ومع عينات بنك الجينات المختارة في هذه الدراسة 0.0085 ، 0.0093 و 0.0024 للجينات الثلاثة على التوالي من جهة أخرى ، أما من الناحية الوراثية الكمية فقد أجريت المقارنة بين النوعين باستعمال نظام المقياس الهندسي لشكل الجناح وتركيبه وهذا النظام يعتمد على وضع إحداثيات للمعالم ما بين تقاطعات العروق الطولية مع العروق المستعرضة ونهايات العروق الطولية للجناح ، حيث استعمل في هذه الدراسة 30 جناح أيمن لكل نوع وبواقع 15 جناح أيمن للذكور و15 جناح أيمن للإناث في كل تحليل . أن

جميع المقارنات الوراثية الكمية ولكلا النوعين كانت على أجنحة حشرات الجيل الثالث والمعرضة في مرحلة العذراء إلى التركيز نصف القاتل LC_{50} لأوكسيد المغنيسيوم النانوي والحشرات الطبيعية غير المعرضة ، وقد أظهرت النتائج عند مقارنة ذكور النوع *D.ciliatus* المعاملة بالتركيز نصف القاتل مع الذكور غير المعاملة بأن الحجم المركزي للجناح الأيمن يساوي 850.8 و 868.6 مايكرون على التوالي ، وأن قيمة $F = 1.5$, $P = 0.48$ وقيمة $T = 1.4$, $P = 0.19$ وقيمة الاختلاف المطلقة $AD = 17.9$ ، إذ توجد فروق معنوية إحصائية ، وعند المقارنة بين إناث نفس النوع المعاملة وغير المعاملة بلغت قيمة الحجم المركزي للجناح 859.8 و 839.4 مايكرون على التوالي ، وأن قيمة $F = 0.13$, $P = 2.3$ وقيمة $T = 1.3$, $P = 0.20$ وقيمة الاختلاف المطلقة $AD = 20.4$ ، إذ توجد فروق معنوية إحصائية . بلغت قيمة مسافة مهالانوبز عند المقارنة بين كل من الذكور المعاملة وغير المعاملة والإناث المعاملة وغير المعاملة 9.49 و 9.38 على التوالي ، وكذلك توجد فروق معنوية إحصائية في تماثل شكل الجناح وحجمه عند المقارنة بين الذكور المعاملة وغير المعاملة من جهة وبين الإناث المعاملة وغير المعاملة من جهة أخرى ففي الذكور عند تماثل شكل الجناح بلغت قيمة $F = 2.23$, $Signi = 0.14$ ، أما في حالة تماثل حجم الجناح بلغت قيمة $F = 1.07$, $Signi = 0.36$ ، وفي الإناث في حالة تماثل شكل الجناح أن قيمة $F = 1.30$, $Signi = 0.26$ ، وفي تماثل حجم الجناح قيمة $F = 2.22$, $Signi = 0.00$ ، أما عند مقارنة ذكور النوع *D.frontalis* المعاملة بالتركيز نصف القاتل مع الذكور غير المعاملة فأن الحجم المركزي للجناح الأيمن هو 859.9 و 837.9 مايكرون على التوالي ، وأن قيمة $F = 1.7$, $P = 0.32$ وقيمة $T = 1.5$, $P = 0.15$ وقيمة الاختلاف المطلقة $AD = 22.1$ ، إذ توجد فروق معنوية إحصائية ، وعند المقارنة بين إناث نفس النوع المعاملة وغير المعاملة بلغت قيمة الحجم المركزي للجناح الأيمن 846.03 و 873.04 مايكرون على التوالي ، وإن قيمة $F = 1.8$, $P = 0.30$ وقيمة $T = 2.02$, $P = 0.01$ وقيمة الاختلاف المطلقة $AD = 27.0$ ، إذ توجد فروق معنوية إحصائية وبلغت قيمة مسافة مهالانوبز عند المقارنة بين كل من الذكور المعاملة وغير المعاملة والإناث المعاملة وغير المعاملة 12.93 و 13.05 على التوالي ، وكذلك توجد فروق معنوية إحصائية في تماثل شكل الجناح وحجمه عند المقارنة بين الذكور المعاملة وغير المعاملة من جهة وبين الإناث المعاملة وغير المعاملة من جهة أخرى ، ففي الذكور في حالة تماثل شكل الجناح بلغت قيمة $F = 0.15$, $Signi = 0.19$ ، أما في حالة تماثل حجم الجناح بلغت قيمة $F = 0.91$, $Signi = 0.59$ ، وفي الإناث في حالة تماثل شكل الجناح أن قيمة $F = 9.09$, $Signi = 0.00$ ، وفي تماثل حجم الجناح قيمة $F = 1.84$, $Signi = 0.00$. عند المقارنة بين ذكور وإناث *D.ciliatus* و *D.frontalis* قبل المعاملة وبعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنيسيوم النانوي أظهرت النتائج وجود فروق معنوية في معدل الحجم المركزي للجناح الأيمن وكذلك في قيمة مسافة مهالانوبز وتماثل شكل وحجم الجناح لكل من ذكور وإناث

كلا النوعين ، إذا بلغَ معدل الحجم المركزي للجناح عندَ المقارنة بين ذكور النوعين غير المعاملة 850.73 و859.95 مايكرون على التوالي وقيمة $F = 1.17$, $P = 0.76$ وقيمة $T = 0.37$, $P = 0.46$ وقيمة الاختلاف المطلقة $AD = 9.2$ ، أما عندَ المقارنة بينَ إناث النوعين غير المعاملة بلغَ معدل الحجم المركزي للجناح 859.82 و846.03 مايكرون على التوالي وقيمة $F = 0.44$, $P = 1.41$ وقيمة $T = 0.81$, $P = 42$ وقيمة الاختلاف المطلقة $AD = 13.8$ ، أما قيمة مسافة مهالانوبز بينَ ذكور كلا النوعين من جهة وبينَ إناث كلا النوعين من جهة أخرى هي 10.33 و 22.01 على التوالي ، وقيمة F المعنوية لتماثل شكل الجناح بينَ ذكور النوعين غير المعاملة هي $Signi = 0.22$, $F = 1.53$ ، أما بالنسبة للإناث النوعين غير المعاملة هي $Signi = 0.06$, $F = 3.79$ ، وقيمة F المعنوية لتماثل حجم الجناح هي $Signi = 0.82$, $F = 0.74$ ، أما بالنسبة للإناث كلا النوعين الطبيعية هي $Signi = 0.81$, $F = 0.73$ ، أما عندَ المقارنة بينَ ذكور وإناث *D.ciliatus* و *D.frontalis* بعدَ بالمعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنيسيوم النانوي ، إذ بلغَ معدل الحجم المركزي للجناح عندَ المقارنة بينَ ذكور النوعين المعاملة 868.67 و837.88 مايكرون على التوالي وقيمة $F = 1.4$, $P = 0.56$ وقيمة $T = 1.95$, $P = 0.06$ وقيمة الاختلاف المطلقة $AD = 30.8$ ، أما عندَ المقارنة بينَ إناث النوعين المعاملة بلغَ معدل الحجم المركزي للجناح 839.40 و873.04 مايكرون على التوالي وقيمة $F = 1.2$, $P = 0.79$ وقيمة $T = 2.09$, $P = 0.01$ وقيمة الاختلاف المطلقة $AD = 33.64$ ، أما قيمة مسافة مهالانوبز بينَ ذكور كلا النوعين المعاملة من جهة وبينَ إناث كلا النوعين المعاملة من جهة أخرى هي 11.92 و9.84 على التوالي ، وقيمة F المعنوية لتماثل شكل الجناح بينَ ذكور النوعين المعاملة هي $F = 0.00$, $Signi = 0.99$ ، أما بالنسبة للإناث المعاملة هي $Signi = 0.57$, $F = 0.33$ وقيمة F المعنوية لتماثل حجم الجناح بينَ ذكور النوعين المعاملة هي $Signi = 0.46$, $F = 1.00$ ، أما بالنسبة للإناث المعاملة هي $Signi = 0.76$, $F = 0.79$ ، أما من الناحية الحياتية تمَ اختبار تأثير تراكيز مختلفة من أوكسيد المغنيسيوم وأوكسيد التيتانيوم النانوي وهي 0.125 ، 0.250 و0.500 مل/لتر على معدل الهلاك التراكمي لليرقات ، العذارى والكاملات لكل من النوعين *D.ciliatus* و *D.frontalis* ، إذ تمَ استعمال ثلاثة مكررات لكل تركيز وفي كل مكرر خمسة يرقات وكذلك الحال بالنسبة للعذارى ، أما بالنسبة للكاملات أخذت ثلاثة مكررات لكل تركيز وفي كل مكرر ذكرين وأنثى واحدة ولكلا النوعين ، إذ بينت النتائج أن أعلى معدل هلاك تراكمي ليرقات كلا النوعين كانَ عندَ التركيز 0.500 لأوكسيد المغنيسيوم النانوي وهو 18.89 ، 17.82 على التوالي ، وأقل معدل هلاك تراكمي كانَ عندَ التركيز 0.125 وهو 15.63 ، 10.42 على التوالي ، وأن معدل الهلاك التراكمي لعذارى وكاملات النوعين كانَ أيضاً عندَ التركيز 0.500 وهو 19.87 ، 15.72 على التوالي بالنسبة لعذارى النوعين ، أما بالنسبة للكاملات كانَ 17.93 و14.94 على التوالي ، وأقل معدل هلاك تراكمي لعذارى وكاملات النوعين كانَ عندَ

التركيز 0.125 وهو 12.52 ، 8.33 على التوالي بالنسبة للعذارى ، أما بالنسبة لكاملات النوعين هو 13.73 و 11.55 على التوالي ، إذ لوحظ وجود فروق معنوية إحصائية بين تراكيز النوعين عند استعمال اختبار دنكن متعدد الحدود وعند مستوى معنوية ($P < 0.05$) ، وأيضاً أظهرت النتائج عند استعمال أوكسيد التيتانيوم والمغنيسيوم النانوي أنّ أعلى معدل هلاك تراكمي ليرقات كلا النوعين كان عند التركيز 0.500 وهو 17.72 و 17.73 على التوالي ، وأقل معدل هلاك تراكمي كان عند التركيز 0.125 وهو 11.41 و 6.37 على التوالي ، وأن معدل الهلاك التراكمي لعذارى وكاملات النوعين *D.ciliatus* و *D.frontalis* كان أيضاً عند التركيز 0.500 ، إذ بلغ 16.84 ، 17.82 على التوالي بالنسبة لعذارى النوعين ، أما بالنسبة لكاملات النوعين بلغ المعدل 18.79 و 18.90 على التوالي ، وأقل معدل هلاك تراكمي لعذارى وكاملات النوعين كان التركيز 0.125 وهو 7.17 و 10.25 على التوالي بالنسبة للعذارى ، أما بالنسبة لكاملات النوعين هو 12.72 و 12.50 على التوالي ، إذ لوحظ وجود فروق معنوية إحصائية ، وعند المقارنة بين أوكسيد المغنيسيوم وأوكسيد التيتانيوم النانوي من ناحية التأثير على نسبة الهلاك التراكمي لكل من يرقات وعذارى وكاملات النوعين لوحظ أنّ أوكسيد المغنيسيوم أفضل من أوكسيد التيتانيوم لأنه أعطى أعلى نسب هلاك تراكمي عند التركيز 0.500 بلغت 0.98 ، 0.98 و 0.92 للنوع *D.ciliatus* ، أما بالنسبة للنوع *D.frontalis* فكانت تساوي 0.84 ، 0.84 و 0.77 لليرقات ، العذارى والكاملات على التوالي ، بينما أعطى أوكسيد التيتانيوم أعلى نسب هلاك تراكمي أيضاً عند التركيز 0.500 وهي 0.90 ، 0.85 و 0.86 للنوع *D.ciliatus* ، أما بالنسبة للنوع *D.frontalis* فكانت تساوي 0.85 ، 0.86 و 0.99 لليرقات ، العذارى والكاملات على التوالي ، وكذلك أظهرت النتائج أنّ معاملة كاملات وعذارى كلا النوعين بالتركيز 0.500 لأوكسيد المغنيسيوم والتيتانيوم النانوي يؤدي إلى انخفاض عدد البيض للأنتى الواحدة وكذلك إلى فشل التعذر والتحول إلى كاملات لكلا النوعين .

قائمة المحتويات

الترسل	الموضوع	رقم الصفحة
الفصل الأول		
1	المقدمة Introduction	3-1
الفصل الثاني		
2	استعراض المراجع Literature Review	23-4
1-2	التصنيف العلمي للأنواع المدروسة ضمن الجنس <i>Dacus</i> Fabricius, 1805	4
2-2	انتشار ذبابة ثمار القرعيات <i>Dacus ciliatus</i> و <i>Dacus frontalis</i>	6-5
3-2	الأهمية الاقتصادية لنوعي ذبابة ثمار القرعيات <i>D. frontalis</i> و <i>D. ciliatus</i>	7-6
4-2	دورة الحياة الحياة Life cycle	9-7
5-2	تربية ذبابة ثمار القرعيات مختبرياً	10-9
6-2	طرائق مكافحة ذبابة ثمار القرعيات	16-11
1-6-2	المكافحة الكيميائية Chemical control	12 -11
1-2-6-2	تقنية النانو Nanotechnology	14-12
2-2-6-2	الدقائق النانوية طريقة حديثة لمكافحة الآفات الحشرية Nanoparticles a recent approach to insect pests control	16-15
7-2	التشخيص الجزيئي لذبابة ثمار القرعيات <i>D . frontalis</i> و <i>D . ciliatus</i>	20-16
1-7-2	مؤشرات دنا المايكوندريا Mitochondrial DNA markers	19 -17
2-7-2	مؤشرات دنا النواة Nucleus DNA markers	19
3-7-2	طريقة التسلسل التتابعي Sequencing method	20-19

التسلسل	الموضوع	رقم الصفحة
8-2	التشخيص بالاعتماد على المقياس الهندسي لشكل الجناح وتركيبه في الحشرات	23-21
1-8-2	أنواع المقياس الهندسي لشكل الجناح وتركيبه	22
2-8-2	المقياس الهندسي المعتمد على المعالم Landmark-based geometric morphometric	23- 22
الفصل الثالث		
3	المواد وطرائق العمل Materials and Methods	31-24
1-3	المواد Materials	28-24
1-1-3	الأجهزة والمواد المستخدمة في هذه الدراسة	26-24
2-1-3	المحاليل والمواد الكيميائية المستخدمة في هذه الدراسة	27
3-1-3	أنواع المواد النانوية المستخدمة في الدراسة	28
4-1-3	محتويات عدة استخلاص الدنا DNA	28
2-3	طرائق العمل Methods	31- 28
1-2-3	تربية الذبابة مختبرياً	30 – 28
2-2-3	تحضير دقائق MgO وTiO ₂ النانوية بطريقة المحلول الغروي Solution gel	32
3-2-3	معاملة الأنواع المدروسة بالمواد النانوية	31-30
3-3	الدراسة الوراثية الجزيئية Molecular Genetic Study	38-33
1-3-3	استخلاص الدنا DNA Extraction	33

التسلسل	الموضوع	رقم الصفحة
2-3-3	محاليل استخلاص الدنا Buffers DNA Extraction	33
3-3-3	طريقة الاستخلاص	34-33
4-3-3	تقدير نوعية الـ DNA المستخلص Extracted DNA quality estimation	34
A-5-3-3	تحضير المحاليل المستعملة	35-34
B-5-3-3	خطوات الترحيل على هلام الاكاروز	36-35
6-3-3	تفاعلات أنزيم البلمرة الـ PCR	38-36
1-6-3-3	استخدام ثلاثة بوادئ متخصصة	36
2-6-3-3	المحاليل والمواد اللازمة لأجراء التفاعلات	36
3-6-3-3	طريقة العمل	37-36
4-6-3-3	خطوات الترحيل الكهربائي لخليط تفاعل الـ PCR	38
4-3	الدراسة الوراثية الكمية Quantitative Genetic Study	41-38
1-4-3	تحضير العينات Specimens Processing	39-38
2-4-3	جمع البيانات Data collecting	40-39
3-4-3	البرامج Software	41-41
5-3	التحليل الإحصائي Statistical analysis	41
الفصل الرابع		
4	النتائج والمناقشة Results and Discussion	181-42
1-4	القياسات التركيبية Structural measurements	49-42
1-1-4	تقنية حيود الأشعة السينية X-Ray differaction نتائج الفحص باستخدام	42

التسلسل	الموضوع	رقم الصفحة
2-1-4	Average crystallites معدل الحجم البلوري size (Dav)	44 – 42
3-1-4	Atomic force فحوصات مجهر القوة الذرية microscope (AFM)	46 – 45
4-1-4	FESEM فحص المجهر الإلكتروني الماسح	49 – 47
1-5-1-4	تأثير تراكيز مختلفة من المواد النانوية على بعض الأدوار الحياتية لذبابة النوع <i>D. ciliatus</i>	54–50
2-5-1-4	تأثير تراكيز مختلفة من المواد النانوية على بعض الأدوار الحياتية لذبابة ثمار القرعيات النوع <i>D. frontalis</i>	59–54
3-5-1-4	المقارنة بين تأثير المبيد والمواد النانوية Comparison between the effect of pesticide and nanomaterials	62–60
4-5-1-4	المقارنة بين النوعين <i>D. ciliatus</i> و <i>D. frontalis</i> من ناحية تأثر أدوار الحياة المختلفة لهما عند المعاملة بمادتي TiO_2 و MgO النانوية	66–62
5-5-1-4	المقارنة بين النوعين <i>D. ciliatus</i> و <i>D. frontalis</i> من ناحية إنتاج البيوض المعاملة بتراكيز مختلفة من اوكسيد المغنسيوم والتيتانيوم النانوي .	69-66
2-4	الدراسة الوراثية الجزيئية Molecular genetics Study	122-70
1-2-4	DNA Isolation Results نتائج عزل الدنا	70
2-2-4	تضخيم الجين COI باستعمال تفاعل البلمرة المتسلسل PCR للأنواع المدروسة	72-71

التسلسل	الموضوع	رقم الصفحة
3-2-4	تضخيم الجين CAD باستعمال تفاعل البلمرة المتسلسل PCR للأنواع المدروسة	74-73
4-2-4	تضخيم الجين EF-1alpha باستعمال تفاعل البلمرة المتسلسل PCR للأنواع المدروسة	76-74
5-2-4	دراسة التسلسل ألتتابعي للقواعد النيتروجينية Studying of nitrogen bases	122-76
1-5-2-4	المقارنة بين النوعين <i>D. ciliatus</i> و <i>D. frontalis</i> المعاملة وغير المعاملة ناحية الجين (CAD)	91-77
2-5-2-4	المقارنة بين النوعين <i>D. ciliatus</i> و <i>Dacus</i> من ناحية الجين EF1-alpha	108-92
3-5-2-4	المقارنة بين النوعين <i>D. ciliatus</i> و <i>Dacus</i> من ناحية الجين (COI)	122-109
3-4	الدراسة الوراثية الكمية Quantitative genetic study	181-123
1-3-4	دراسة التباير الوراثي الكمي في شكل الجناح وحجمه للنوعين <i>D. ciliatu</i> و <i>D. frontalis</i> قبل وبعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل LC50 لأوكسيد المغنسيوم النانوي	125-123
1-1-3-4	المقارنة الوراثية الكمية في شكل الجناح وحجمه بين ذكور النوع <i>D. ciliatus</i> المعاملة وغير المعاملة بالتركيز نصف القاتل LC50 لأوكسيد المغنسيوم النانوي	132-125

التسلسل	الموضوع	رقم الصفحة
2-1-3-4	المقارنة الوراثية الكمية في شكل الجناح وحجمه بين إناث النوع <i>D. ciliatus</i> المعاملة وغير المعاملة بالتركيز نصف القاتل LC50 لأوكسيد المغنسيوم النانوي	139-133
3-1-3-4	المقارنة الوراثية الكمية في شكل الجناح وحجمه بين ذكور النوع <i>D. frontalis</i> المعاملة وغير المعاملة بالتركيز نصف القاتل LC50 لأوكسيد المغنسيوم النانوي	146-140
4-1-3-4	المقارنة الوراثية الكمية في شكل الجناح وحجمه بين إناث النوع <i>D. frontalis</i> المعاملة وغير المعاملة بالتركيز نصف القاتل LC50 لأوكسيد المغنسيوم النانوي	153-147
5-1-3-4	المقارنة الوراثية الكمية في شكل الجناح وحجمه بين ذكور النوعين <i>D. ciliatus</i> و <i>D. frontalis</i> غير المعاملة بالتركيز نصف القاتل LC50 لأوكسيد المغنسيوم النانوي	160-154
6-1-3-4	المقارنة الوراثية الكمية في شكل الجناح وحجمه بين إناث النوعين <i>D. ciliatus</i> و <i>D. frontalis</i> غير المعاملة بالتركيز نصف القاتل LC50 لأوكسيد المغنسيوم النانوي	167-161
7-1-3-4	المقارنة الوراثية الكمية في شكل الجناح وحجمه بين ذكور النوعين <i>D. ciliatus</i> و <i>D. frontalis</i> بعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل LC50 لأوكسيد المغنسيوم النانوي	174-167
8-1-3-4	المقارنة الوراثية الكمية في شكل الجناح وحجمه بين إناث النوعين <i>D. ciliatus</i> و <i>D. frontalis</i> بعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل LC50 لأوكسيد المغنسيوم النانوي	181-174

التسلسل	الموضوع	رقم الصفحة
الفصل الخامس		
5	الاستنتاجات والتوصيات Conclusions and Recommendations	182 – 183
1-5	الاستنتاجات Conclusions	182
2-5	التوصيات Recommendations	183
المصادر References		
	أولاً : المصادر العربية	184 – 186
	ثانياً : المصادر الأجنبية	187 – 204
	الملاحق	205 – 212
	ملخص الرسالة باللغة الانكليزية	

قائمة الجداول

رقم الصفحة	عنوان الجدول	التسلسل
26-24	الأجهزة والأدوات والمواد المستعملة والشركات المصنعة والمنشأ	1
27	المحاليل والمواد الكيميائية الأصل والمنشأ	2
28	المواد النانوية Nanomaterials الأصل أو المنشأ	3
28	محتويات Genomic DNA mini kit (Tiusse) الأصل أو المنشأ	4
36	البودائ المستخدمة وتسلسلاتها	5
37	مكونات خليط التفاعل الرئيسي	6
37	ظروف التفاعل COI, CAD gene specific-PCR	7
37	ظروف التفاعل EF1-alpha gene specific-PCR	8
42	نتائج فحص المواد النانوية المستخدمة في الدراسة	9
129	مقارنة الحجم المركزي للجناح الأيمن بين ذكور النوع <i>Dacus ciliatus</i> قبل وبعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي	10
131	مقارنة مسافة مهالانوز لذكور النوع <i>Dacus ciliatus</i> قبل وبعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي	11
131	تحليل التباين ANOVA لتماثل شكل الجناح الأيمن في ذكور <i>Dacus ciliatus</i> قبل وبعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي	12
131	تحليل التباين ANOVA لتماثل حجم الجناح الأيمن في ذكور <i>Dacus ciliatus</i> قبل وبعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي	13

رقم الصفحة	عنوان الجدول	التسلسل
136	مقارنة الحجم المركزي للجناح الأيمن بين إناث النوع <i>Dacus ciliatus</i> قبل وبعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي	14
138	مقارنة مسافة مهالانوز لإناث النوع <i>Dacus ciliatus</i> قبل وبعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي	15
138	تحليل التباين ANOVA لتماثل شكل الجناح الأيمن في إناث النوع <i>Dacus ciliatus</i> قبل وبعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي	16
138	تحليل التباين ANOVA لتماثل حجم الجناح الأيمن في إناث <i>Dacus ciliatus</i> قبل وبعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي	17
143	مقارنة الحجم المركزي للجناح الأيمن بين ذكور النوع <i>Dacus frontalis</i> قبل وبعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي	18
145	مقارنة مسافة مهالانوز لذكور النوع <i>Dacus frontalis</i> قبل وبعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي	19
145	تحليل التباين ANOVA لتماثل شكل الجناح الأيمن في ذكور النوع <i>Dacus frontalis</i> قبل وبعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي	20
145	تحليل التباين ANOVA لتماثل حجم الجناح الأيمن في ذكور النوع <i>Dacus frontalis</i> قبل وبعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي	21
150	مقارنة الحجم المركزي للجناح الأيمن بين إناث النوع <i>Dacus frontalis</i> قبل وبعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي	22

رقم الصفحة	عنوان الجدول	التسلسل
152	مقارنة مسافة مهالانبوز لإناث النوع <i>Dacus frontalis</i> قبل وبعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي	23
152	تحليل التباين ANOVA لتماثل شكل الجناح الأيمن في إناث النوع <i>Dacus frontalis</i> قبل وبعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي	24
152	تحليل التباين ANOVA لتماثل حجم الجناح الأيمن في إناث النوع <i>Dacus frontalis</i> قبل وبعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي	25
157	مقارنة الحجم المركزي للجناح الأيمن بين ذكور النوعين <i>D. ciliatus</i> و <i>D. frontalis</i> قبل المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي	26
158	مقارنة مسافة مهالانبوز لذكور النوعين <i>D. ciliatus</i> و <i>D. frontalis</i> قبل المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي	27
159	تحليل التباين ANOVA لتماثل شكل الجناح الأيمن في ذكور النوعين <i>D. ciliatus</i> و <i>D. frontalis</i> قبل المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي	28
159	تحليل التباين ANOVA لتماثل حجم الجناح الأيمن في ذكور النوعين <i>D. ciliatus</i> و <i>D. frontalis</i> قبل المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي	29
163	مقارنة الحجم المركزي للجناح الأيمن بين إناث النوعين <i>D. ciliatus</i> و <i>D. frontalis</i> قبل المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي	30

رقم الصفحة	عنوان الجدول	التسلسل
165	مقارنة مسافة مهالانبورز لإناث النوعين <i>D. ciliatus</i> و <i>D. frontalis</i> قبل المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي	31
165	تحليل التباين ANOVA لتماثل شكل الجناح الأيمن في إناث النوعين <i>D. ciliatus</i> و <i>D. frontalis</i> قبل المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي	32
166	تحليل التباين ANOVA لتماثل حجم الجناح الأيمن في إناث النوعين <i>D. ciliatus</i> و <i>D. frontalis</i> قبل المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي	33
170	مقارنة الحجم المركزي للجناح الأيمن بين ذكور النوعين <i>D. ciliatus</i> و <i>D. frontalis</i> بعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي	34
172	مقارنة مسافة مهالانبورز لذكور النوعين <i>D. ciliatus</i> و <i>D. frontalis</i> بعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي	35
172	تحليل التباين ANOVA لتماثل شكل الجناح الأيمن في ذكور النوعين <i>D. ciliatus</i> و <i>D. frontalis</i> بعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي	36
173	تحليل التباين ANOVA لتماثل حجم الجناح الأيمن في ذكور النوعين <i>D. ciliatus</i> و <i>D. frontalis</i> بعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي	37
177	مقارنة الحجم المركزي للجناح الأيمن بين إناث النوعين <i>D. ciliatus</i> و <i>D. frontalis</i> بعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي	38

رقم الصفحة	عنوان الجدول	التسلسل
179	مقارنة مسافة مهالانيز لإناث النوعين <i>D. ciliatus</i> و <i>D. frontalis</i> بعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي	39
179	تحليل التباين ANOVA لتماثل شكل الجناح الأيمن في إناث <i>D. ciliatus</i> و <i>D. frontalis</i> بعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي	40
179	تحليل التباين ANOVA لتماثل حجم الجناح الأيمن في إناث <i>D. ciliatus</i> و <i>D. frontalis</i> بعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي	41

قائمة المختصرات Abbreviation

الاختصار	المصطلح الكامل
CAD	Carbamoylphosphate Synthase Domain
HB	Haemoglobine
EF1-alpha	Elongation Factor 1-alpha
COI	Cytochrome Oxidase I
mtDNA	Mitochondrial DNA
MW	Molecular Weight
bp	base pairs
PCR	Polymerase Chain Reaction
RAPD	Random Amplification polymorphic DNA
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism
AFLP	Amplified Fragment Length Polymorphism
SIT	Sterile Insect Technique
CBI, II	Cytochrome b I, II
MgO	Magnesium Oxide
TiO ₂	Titanium Oxide
Ag ₂ O	Silver II Oxide
COII	Cytochrome Oxidase II
Cds	Cadium sulfate
ZnO	Zinc Oxide
AW-IPM	Area-Wide Integrated Pest Management
UV	Ultraviolet

الاختصار	المصطلح الكامل
MCS	Mean Central Size
St.D	Standard Deviation
Va	Variance
A.D	Absolute Differences
NCBI	NationalCenter for Biotechnology Information
FAO	Food And griculture Organization
IAEA	International Atomic Energy Agency
MOG	Morphometria Geometrica
COO	Collection of Co Ordinates
TET	Tabla Espacios Tabulacions
PAD	Permutaiones Analysis Discriminante
COV	Mancova
ASI	Asymmetry of Shape and Size
EMPPO	European and Mediterranean Plant Protection Organization
TEP	Tirs Borat
EPPO	European Plant Protection Organization
dNTPs	Deoxynucleotides
2D, 3D	2,3Digital
PH	Potential Hydrogen
IMP	Implementation Mountain Project
MP	Maximum-parsimony
AFM	Atomic Force Microscope
FESM	Force Electron Scanning Microscope
X-RD	X-Ray Diffraction

قائمة الأشكال

رقم الصفحة	عنوان الشكل	التسلسل
31	الخطوات المتبعة في تحضير دقائق (TiO ₂ و MgO) النانوية	1
43	حيود الأشعة السينية لدقائق MgO النانوية	2
44	حيود الأشعة السينية لدقائق TiO ₂ النانوية	3
44	البطاقة الدولية القياسية ICDD المرقمة 00.-045- 0946 لأوكسيد المغنسيوم MgO	4
44	البطاقة الدولية القياسية ICDD المرقمة 00.-021- 1227 لأوكسيد التيتانيوم TiO ₂	5
52	نسبة هلاك يرقات النوع <i>D. ciliatus</i> المعاملة بتركيزات مختلفة من أوكسيد المغنسيوم النانوي	6
52	نسبة هلاك عذارى النوع <i>D. ciliatus</i> المعاملة بتركيزات مختلفة من أوكسيد المغنسيوم النانوي	7
53	نسبة هلاك الكاملات للنوع <i>D. ciliatus</i> المعاملة بتركيزات مختلفة من أوكسيد المغنسيوم النانوي	8
53	نسبة هلاك يرقات النوع <i>D. ciliatus</i> المعاملة بتركيزات مختلفة من أوكسيد التيتانيوم النانوي	9
54	نسبة هلاك عذارى النوع <i>D. ciliatus</i> المعاملة بتركيزات مختلفة من أوكسيد التيتانيوم النانوي	10
54	نسبة هلاك كاملات النوع <i>D. ciliatus</i> المعاملة بتركيزات مختلفة من أوكسيد التيتانيوم النانوي	11
57	نسبة هلاك يرقات النوع <i>D. frontalis</i> المعاملة بتركيزات مختلفة من أوكسيد المغنسيوم النانوي	12

التسلسل	عنوان الشكل	رقم الصفحة
13	نسبة هلاك عذارى النوع <i>D. frontalis</i> المعاملة بتركيز مختلفة من أوكسيد المغنسيوم النانوي	57
14	نسبة هلاك كاملات النوع <i>D. frontalis</i> المعاملة بتركيز مختلفة من أوكسيد المغنسيوم النانوي	58
15	نسبة هلاك يرقات النوع <i>D. frontalis</i> المعاملة بتركيز مختلفة من أوكسيد التيتانيوم النانوي	58
16	نسبة هلاك عذارى النوع <i>D. frontalis</i> المعاملة بتركيز مختلفة من أوكسيد التيتانيوم النانوي	59
17	نسبة هلاك كاملات النوع <i>D. frontalis</i> المعاملة بتركيز مختلفة من أوكسيد التيتانيوم النانوي	59
18	المقارنة بين تأثير مادتي MgO و TiO_2 على يرقات النوعين <i>D. frontalis</i> و <i>D. ciliatus</i>	61
19	المقارنة بين تأثير مادتي MgO و TiO_2 على عذارى النوعين <i>D. frontalis</i> و <i>D. ciliatus</i>	61
20	المقارنة بين تأثير مادتي MgO و TiO_2 على كاملات النوعين <i>D. frontalis</i> و <i>D. ciliatus</i>	62
21	المقارنة بين يرقات النوعين <i>D. ciliatus</i> و <i>D. frontalis</i> بعد المعاملة بتركيز مختلفة من أوكسيد المغنسيوم النانوي MgO	64
22	المقارنة بين عذارى النوعين <i>D. ciliatus</i> و <i>D. frontalis</i> بعد المعاملة بتركيز مختلفة من أوكسيد المغنسيوم النانوي MgO	64

رقم الصفحة	عنوان الشكل	التسلسل
65	المقارنة بينَ كاملات النوعين <i>D. ciliatus</i> و <i>D. frontalis</i> بعدَ المعاملة بتركيز مختلفة من أوكسيد المغنسيوم النانوي MgO	23
65	المقارنة بينَ يرقات النوعين <i>D. ciliatus</i> و <i>D. frontalis</i> بعدَ المعاملة بتركيز مختلفة من أوكسيد التيتانيوم النانوي TiO ₂	24
66	المقارنة بينَ عذارى النوعين <i>D. ciliatus</i> و <i>D. frontalis</i> بعدَ المعاملة بتركيز مختلفة من أوكسيد التيتانيوم النانوي TiO ₂	25
66	المقارنة بينَ كاملات النوعين <i>D. ciliatus</i> و <i>D. frontalis</i> بعدَ المعاملة بتركيز مختلفة من أوكسيد التيتانيوم النانوي TiO ₂	26
69	معدل إنتاجية البالغات من البيوض لإناث النوعين <i>D. ciliatus</i> و <i>D. frontalis</i> بعدَ المعاملة بتركيز مختلفة من أوكسيد المغنسيوم والتيتانيوم النانوي	27
69	نسبة التعذر وفشل التعذر ليرقات النوعين <i>D. ciliatus</i> و <i>D. frontalis</i> بعدَ المعاملة بتركيز مختلفة من أوكسيد المغنسيوم والتيتانيوم النانوي	28
83	مقارنة رصف القواعد النتروجينية لجزء من الجين CAD بينَ عينات النوع <i>D. ciliatus</i> المعاملة وغير المعاملة بمادة MgO النانوية معَ عينة بنك الجينات	29
84	مقارنة رصف القواعد النتروجينية لجزء من الجين CAD بينَ عينات النوع <i>D. frontalis</i> المعاملة وغير المعاملة بمادة MgO النانوية معَ عينة بنك الجينات	30

رقم الصفحة	عنوان الشكل	التسلسل
85	مقارنة رصف القواعد النتروجينية لجزء من الجين CAD بين عينات النوعين <i>D. ciliatus</i> و <i>D. frontalis</i> غير المعاملة بمادة MgO النانوية مع عينة بنك الجينات	31
86	مقارنة رصف القواعد النتروجينية لجزء من الجين CAD بين عينات النوعين <i>D. ciliatus</i> و <i>D. frontalis</i> المعاملة بمادة MgO النانوية مع عينة بنك الجينات	32
87	مقارنة رصف القواعد النتروجينية لجزء من الجين CAD بين عينات النوع <i>D. ciliatus</i> المعاملة وغير المعاملة بمادة MgO النانوية	33
88	مقارنة رصف القواعد النتروجينية لجزء من الجين CAD بين عينات النوع <i>D. frontalis</i> المعاملة وغير المعاملة بمادة MgO النانوية	34
89	مقارنة رصف القواعد النتروجينية لجزء من الجين CAD بين عينات النوعين <i>D. ciliatus</i> و <i>D. frontalis</i> غير المعاملة بمادة MgO النانوية مع عينة بنك الجينات	35
90	مقارنة رصف القواعد النتروجينية لجزء من الجين CAD بين عينات النوعين <i>D. ciliatus</i> و <i>D. frontalis</i> المعاملة بمادة MgO النانوية مع عينة بنك الجينات	36
91	مخطط البعد الوراثي للجين CAD بين عينات النوعين التابعة للجنس <i>Dacus</i>	37
98	مقارنة رصف القواعد النتروجينية لجزء من الجين EF1- alpha بين عينات النوع <i>D. ciliatus</i> المعاملة وغير المعاملة بمادة MgO النانوية مع عينة بنك الجينات	38

رقم الصفحة	عنوان الشكل	التسلسل
100-99	مقارنة رصف القواعد النتروجينية لجزء من الجين EF1- alpha بين عينات النوع <i>D. frontalis</i> المعاملة وغير المعاملة بمادة MgO النانوية مع عينة بنك الجينات	39
102-101	مقارنة رصف القواعد النتروجينية لجزء من الجين EF1- alpha بين عينات النوعين <i>D. ciliatus</i> و <i>D. frontalis</i> غير المعاملة بمادة MgO النانوية مع عينة بنك الجينات	40
103	مقارنة رصف القواعد النتروجينية لجزء من الجين EF1- alpha بين عينات النوعين <i>D. ciliatus</i> و <i>D. frontalis</i> المعاملة بمادة MgO النانوية مع عينة بنك الجينات	41
104	مقارنة رصف القواعد النتروجينية لجزء من الجين EF1- alpha بين عينات النوع <i>D. ciliatus</i> المعاملة وغير المعاملة بمادة MgO النانوية	42
105	مقارنة رصف القواعد النتروجينية لجزء من الجين EF1- alpha بين عينات النوع <i>D. frontalis</i> المعاملة وغير المعاملة بمادة MgO النانوية	43
106	مقارنة رصف القواعد النتروجينية لجزء من الجين EF1- alpha بين عينات النوعين <i>D. ciliatus</i> و <i>D. frontalis</i> غير المعاملة بمادة MgO النانوية	44
107	مقارنة رصف القواعد النتروجينية لجزء من الجين EF1- alpha بين عينات النوعين <i>D. ciliatus</i> و <i>D. frontalis</i> المعاملة بمادة MgO النانوية	45

رقم الصفحة	عنوان الشكل	التسلسل
108	مخطط البُعد الوراثي للجين EF1-alpha بين عينات النوعين التابعة للجنس <i>Dacus</i>	46
113	مقارنة رصف القواعد النتروجينية لجزء من الجين COI بين عينات النوع <i>D. ciliatus</i> المعاملة وغير المعاملة بمادة MgO النانوية مع عينة بنك الجينات	47
115-114	مقارنة رصف القواعد النتروجينية لجزء من الجين COI بين عينات النوع <i>D. frontalis</i> المعاملة وغير المعاملة بمادة MgO النانوية مع عينة بنك الجينات	48
117-116	مقارنة رصف القواعد النتروجينية لجزء من الجين COI بين عينات النوعين <i>D. ciliatus</i> و <i>D. frontalis</i> الطبيعية غير المعاملة بمادة MgO النانوية مع عينات بنك الجينات	49
119-118	مقارنة رصف القواعد النتروجينية لجزء من الجين COI بين عينات النوعين <i>D. ciliatus</i> و <i>D. frontalis</i> المعاملة بمادة MgO النانوية مع عينة بنك الجينات	50
120	مقارنة رصف القواعد النتروجينية لجزء من الجين COI بين عينات النوع <i>D. ciliatus</i> المعاملة وغير المعاملة بمادة MgO النانوية	51
121	مقارنة رصف القواعد النتروجينية لجزء من الجين COI بين عينات النوع <i>D. frontalis</i> المعاملة وغير المعاملة بمادة MgO النانوية	52
122	مخطط البُعد الوراثي للجين COI بين عينات النوعين التابعة للجنس <i>Dacus</i>	53

الترسل	عنوان الشكل	رقم الصفحة
54	معدل إحدائات المعالم في الجناح الأيمن لذكور النوع <i>D. ciliatus</i> قبل وبعد المعاملة بمادة MgO النانوية	126
55	الشكل الأنتشاري لتوزيع ذكور النوع <i>D. ciliatus</i> قبل وبعد المعاملة بمادة MgO النانوية	127
56	الحجم المركزي لإحدائات المعالم في ذكور النوع <i>D. ciliatus</i> قبل وبعد المعاملة بمادة MgO النانوية بين الربع 10% والربع 90%	128
57	الحجم المركزي لإحدائات المعالم في ذكور النوع <i>D. ciliatus</i> قبل وبعد المعاملة بمادة MgO النانوية بين الربع 25% والربع 75%	129
58	التحليل التمييزي لإحدائات معالم الأجنحة اليمنى في ذكور النوع <i>D. ciliatus</i> قبل وبعد المعاملة بمادة MgO النانوية	130
59	معدل إحدائات المعالم في الجناح الأيمن لإناث النوع <i>D. ciliatus</i> قبل وبعد المعاملة بمادة MgO النانوية	133
60	الشكل الأنتشاري لتوزيع إناث النوع <i>D. ciliatus</i> قبل وبعد المعاملة بمادة MgO النانوية	134
61	الحجم المركزي لإحدائات المعالم في إناث النوع <i>D. ciliatus</i> قبل وبعد المعاملة بمادة MgO النانوية بين الربع 10% والربع 90%	135
62	الحجم المركزي لإحدائات المعالم في إناث النوع <i>D. ciliatus</i> قبل وبعد المعاملة بمادة MgO النانوية بين الربع 25% والربع 75%	135

رقم الصفحة	عنوان الشكل	التسلسل
137	التحليل التمييزي لإحداثيات معالم الأجنحة اليمنى في إناث النوع <i>D. ciliatus</i> قبل وبعد المعاملة بمادة MgO النانوية	63
140	معدل إحداثيات المعالم في الجناح الأيمن لذكور النوع <i>D. frontalis</i> قبل وبعد المعاملة بمادة MgO النانوية	64
141	الشكل الانتشاري لتوزيع لذكور النوع <i>D. frontalis</i> قبل وبعد المعاملة بمادة MgO النانوية	65
142	الحجم المركزي لإحداثيات المعالم في ذكور النوع <i>D. frontalis</i> قبل وبعد المعاملة بمادة MgO النانوية بين الربع 10% والربع 90%	66
142	الحجم المركزي لإحداثيات المعالم في ذكور النوع <i>D. frontalis</i> قبل وبعد المعاملة بمادة MgO النانوية بين الربع 25% والربع 75%	67
144	التحليل التمييزي لإحداثيات معالم الأجنحة اليمنى في ذكور النوع <i>D. frontalis</i> قبل وبعد المعاملة بمادة MgO النانوية	68
147	معدل إحداثيات المعالم في الجناح الأيمن لإناث النوع <i>D. frontalis</i> قبل وبعد المعاملة بمادة MgO النانوية	69
148	الشكل الانتشاري لتوزيع لإناث النوع <i>D. frontalis</i> قبل وبعد المعاملة بمادة MgO النانوية	70
149	الحجم المركزي لإحداثيات المعالم في إناث النوع <i>D. frontalis</i> قبل وبعد المعاملة بمادة MgO النانوية بين الربع 10% والربع 90%	71

التسلسل	عنوان الشكل	رقم الصفحة
72	الحجم المركزي لإحداثيات المعالم في إناث النوع <i>D. frontalis</i> قبل وبعد المعاملة بمادة MgO النانوية بين الربيع 25% والربيع 75%	149
73	التحليل التمييزي لإحداثيات معالم الأجنحة اليمنى في إناث النوع <i>D. frontalis</i> قبل وبعد المعاملة بمادة MgO النانوية	151
74	معدل إحداثيات المعالم في الجناح الأيمن لذكور النوعين <i>D. ciliatus</i> و <i>D. frontalis</i> قبل المعاملة بمادة MgO النانوية	154
75	الشكل الانتشاري لتوزيع ذكور النوعين <i>D. ciliatus</i> و <i>D. frontalis</i> قبل المعاملة بمادة MgO النانوية	155
76	الحجم المركزي لإحداثيات المعالم في ذكور النوعين <i>D. ciliatus</i> و <i>D. frontalis</i> قبل المعاملة بمادة MgO النانوية بين الربيع 10% والربيع 90%	156
77	الحجم المركزي لإحداثيات المعالم في ذكور النوعين <i>D. ciliatus</i> و <i>D. frontalis</i> قبل المعاملة بمادة MgO النانوية بين الربيع 25% والربيع 75%	156
78	التحليل التمييزي لإحداثيات معالم الأجنحة اليمنى في ذكور النوعين <i>D. ciliatus</i> و <i>D. frontali</i> قبل المعاملة بمادة MgO النانوية	159
79	معدل إحداثيات المعالم في الجناح الأيمن لإناث النوعين <i>D. ciliatus</i> و <i>D. frontalis</i> قبل المعاملة بمادة MgO النانوية	161
80	الشكل الانتشاري لتوزيع إناث النوعين <i>D. ciliatus</i> و <i>D. frontalis</i> قبل المعاملة بمادة MgO النانوية	162

الترسل	عنوان الشكل	رقم الصفحة
81	الحجم المركزي لإحداثيات المعالم في إناث النوعين <i>D. ciliatus</i> و <i>D. frontalis</i> قبل المعاملة بمادة MgO النانوية بين الربع 10% والربع 90%	163
82	الحجم المركزي لإحداثيات المعالم في إناث النوعين <i>D. ciliatus</i> و <i>D. frontalis</i> قبل المعاملة بمادة MgO النانوية بين الربع 25% والربع 75%	163
83	التحليل التمييزي لإحداثيات معالم الأجنحة اليمنى في إناث النوعين <i>D. ciliatus</i> و <i>D. frontalis</i> قبل المعاملة بمادة MgO النانوية	165
84	معدل إحداثيات المعالم في الجناح الأيمن لذكور النوعين <i>D. ciliatus</i> و <i>D. frontalis</i> بعد المعاملة بمادة MgO النانوية	167
85	الشكل الانتشاري لتوزيع ذكور النوعين <i>D. ciliatus</i> و <i>D. frontalis</i> بعد المعاملة بمادة MgO النانوية	168
86	الحجم المركزي لإحداثيات المعالم في ذكور النوعين <i>D. ciliatus</i> و <i>D. frontalis</i> بعد المعاملة بمادة MgO النانوية بين الربع 10% والربع 90%	169
87	الحجم المركزي لإحداثيات المعالم في ذكور النوعين <i>D. ciliatus</i> و <i>D. frontalis</i> بعد المعاملة بمادة MgO النانوية بين الربع 25% والربع 75%	170
88	التحليل التمييزي لإحداثيات معالم الأجنحة اليمنى في ذكور النوعين <i>D. ciliatus</i> و <i>D. frontali</i> بعد المعاملة بمادة MgO النانوية	172

رقم الصفحة	عنوان الشكل	التسلسل
174	معدل إحداثيات المعالم في الجناح الأيمن لإناث النوعين <i>D. ciliatus</i> و <i>D. frontalis</i> بعدَ المعاملة بمادة MgO النانوية	89
175	الشكل الانتشاري لتوزيع إناث النوعين <i>D. ciliatus</i> و <i>D. frontalis</i> بعدَ المعاملة بمادة MgO النانوية	90
176	الحجم المركزي لإحداثيات المعالم في إناث النوعين <i>D. ciliatus</i> و <i>D. frontalis</i> بعدَ المعاملة بمادة MgO النانوية بينَ الربع 10% والربع 90%	91
177	الحجم المركزي لإحداثيات المعالم في إناث النوعين <i>D. ciliatus</i> و <i>D. frontalis</i> بعدَ المعاملة بمادة MgO النانوية بينَ الربع 25% والربع 75%	92
179	التحليل التمييزي لإحداثيات معالم الأجنحة اليمنى في إناث النوعين <i>D. ciliatus</i> و <i>D. frontali</i> بعدَ المعاملة بمادة MgO النانوية	93

قائمة الصور

رقم الصفحة	عنوان الصورة	التسلسل
6	ذبابة ثمار القرعيات النوعين <i>D. ciliatus</i> و <i>D. frontalis</i>	1
9	دورة حياة ذبابة ثمار القرعيات النوعين <i>D. ciliatus</i> و <i>D. frontalis</i>	2
14	Nanomaterials (A,B,C,D,E) المواد النانوية	3
14	(A,B) المواد النانوية المستخدمة في الدراسة	4
40	الجناح الأيمن لذبابة ثمار القرعيات النوع <i>D. ciliatus</i> موضحاً عليها إحداثيات المعالم (قوة التكبير X45)	5
40	الجناح الأيمن لذبابة ثمار القرعيات النوع <i>D. frontalis</i> موضحاً عليها إحداثيات المعالم قوة (التكبير X45)	6
45	(A,B) نتائج فحص المجهر AFM لعينات MgO بُعدين (2D) وثلاثة أبعاد (3D)	7
46	(A,B) نتائج فحص المجهر AFM لعينات TiO ₂ بُعدين (2D) وثلاثة أبعاد (3D)	8
48	نتائج الفحص FESEM لجميع عينات مادة TiO ₂ النانوية	9
49	نتائج الفحص FESEM لجميع عينات مادة MgO النانوية	10
70	الـ DNA المستخلص من ذكور ذبابة ثمار القرعيات النوعين <i>D. ciliatus</i> و <i>D. frontalis</i>	11
72	تضخيم الجين COI بواسطة تفاعل أنزيم البلمرة المتسلسل PCR لنوعين من ذبابة ثمار القرعيات التابعة لجنس <i>Dacus</i>	12

رقم الصفحة	عنوان الصورة	التسلسل
74	تضخيم الجين CAD بواسطة تفاعل أنزيم البلمرة المتسلسل PCR لنوعين من ذبابة ثمار القرعيات التابعة لجنس <i>Dacus</i>	13
76	تضخيم الجين EF1-alpha بواسطة تفاعل أنزيم البلمرة المتسلسل PCR لنوعين من ذبابة ثمار القرعيات التابعة لجنس <i>Dacus</i>	14
124	الجناح الأيمن لذكر ذبابة ثمار القرعيات النوع <i>D. ciliatus</i> موضحاً عليه إحداثيات المعالم (قوة التكبير X45)	15
124	الجناح الأيمن لأنثى ذبابة ثمار القرعيات النوع <i>D. ciliatus</i> (قوة التكبير X45)	16
125	الجناح لذكر ذبابة ثمار القرعيات النوع <i>D. frontalis</i> (قوة التكبير X45)	17
125	الجناح الأيمن لأنثى ذبابة ثمار القرعيات النوع <i>D. frontalis</i> (قوة التكبير X45)	18

قائمة الملاحق

رقم الصفحة	عنوان الملحق	التسلسل
206-25	كتاب تشخيص ذبابة ثمار القرعيات النوعين <i>Dacus ciliatus</i> و <i>Dacus frontalis</i>	1
212-207	تأثير اوكسيد المغنسيوم و التيتانيوم النانوي على بعض الأدوار الحياتية المختلفة للنوعين <i>Dacus ciliatus</i> و <i>Dacus frontalis</i>	2

الفصل الأول

المقدمة

Introduction

1- المقدمة Introduction :

تُعد محاصيل العائلة القرعية كالخيار و(خيار القثاء) والقرع بأنواعه المختلفة كالكوسة ، العسلي والعناكي والبطيخ والرقمي من المحاصيل الإقتصادية التي لها أهمية كبيرة في العراق (الشالجي والجوراني ، 2017) ، أذ تصاب ثمار هذه العائلة بأنواع مختلفة من الآفات الحشرية التي تسبب خسائر إقتصادية كبيرة ، والتي تشمل حشرات ذبابة ثمار القرعيات من الجنس *Dacus* (Fabricius,1805) وخصوصاً ذبابة ثمار القرع والخيار من النوع *D. ciliatus* (Loew,1862) وذبابة ثمار البطيخ الكبرى النوع *D. frontalis* (Beker,1922) التي تعود إلى عائلة ذباب الفاكهة Tephritidae رتبة ثنائية الاجنحة Diptera ، إذ تكمن خطورة هذه الآفات الحشرية في كونها تضع بيوضها داخل الثمرة مسببة التوائها وتخصرها فضلاً عن أنّ يرقاتها تتغذى على اللب وتترك ثقوباً كثيرة في الثمار بعد خروجها للتعذر مما يؤدي إلى تصلب وتعفن وتلف هذه الثمار (Flaih، 2013)، وقد تمّ تشخيص هذه الأنواع من الحشرات لأول مرة في العراق عام 1989م وبالتحديد في محافظتي واسط وميسان من قبل مركز بحوث ومتحف التاريخ الطبيعي/ جامعة بغداد على أنّها ذبابة ثمار القرعيات (Moans و Abdul-Rassoul ، 1989) ، وتمتاز هذه الأنواع بسرعة التكاثر والقدرة العالية لأدورها غير الكاملة على الاختباء في لب الثمار والتربة هرباً من أعدائها الطبيعية الأمر الذي يجعل استخدام المبيدات الكيميائية السائدة حالياً في مكافحتها ليس له فائدة كبيرة في تقليل نسبة الإصابة بها الى حد كبير (Aboragheef ، 2013) ، كذلك أجريت العديد من الدراسات والبحوث لإيجاد الطرائق الأكثر ملائمة لغرض مكافحتها والحصول على نتائج جيدة في تقليل أضرارها الإقتصادية والبيئية بنسبة كبيرة جداً ، ومن هذه الطرق استخدام المكافحة المتكاملة لهذه الحشرة من خلال دراسة العوامل المؤثرة على عملية السكون لها ومنها الفترة الضوئية ودرجة الحرارة والغذاء (Al-Jorani وآخرون ، 2014) ؛ أوضح (Hanawi وآخرون ، 2016) أنّ انتهاء مدة السبات لهذه الحشرة يعتمد بصورة اساسية على ارتفاع درجات الحرارة ، وفي السنوات الاخيرة أتجه العديد من الباحثين إلى إعداد دراسات وبحوث علمية الهدف الأهم منها هو التوصل إلى طرائق حديثة لمكافحة ذبابة ثمار القرعيات ومن هذه الطرق استخدام مواد كيميائية ذات تأثير كبير على أدوار حياتها المختلفة لكي تكون الأكثر استخداماً في السنوات القادمة لبرامج المكافحة المتكاملة للآفات الحشرية وتعتمد بالدرجة الأساس على استخدام المواد النانوية Nano- materials مع المبيدات الحشرية الاعتيادية وهذه المواد هي عبارة عن جسيمات صغيرة يتراوح حجمها بين 1-100 نانومتر تُستخدم بكثرة في مكافحة الآفات الحشرية لمعرفة النسبة المئوية لقتل الحشرة في حالة المكافحة بها (علي ، 2017) ؛ أجريت العديد من التجارب الحقلية والمختبرية لتقييم الآثار السلبية والإيجابية للمواد النانوية على النباتات والحيوانات والإنسان قبل الشروع باستخدامها لمكافحة

الحشرات (Samih وآخرون ، 2011) ؛ أن تقنية النانو هي مجال واعد للبحوث الميدانية متعددة التخصصات كونها تفتح مجالاً واسعاً من الفرص في العديد من التخصصات العلمية والتطبيقية مثل المبيدات الحشرية والطب والأدوية والبستنة والزراعة بالإضافة إلى الفوائد الكبيرة لاستخدامها التي تشمل السيطرة على الآفات الحشرية من خلال التحكم بتراكيب وقواعد المبيدات الحشرية في حالة استخدامها مع تلك المبيدات بصورة مشتركة ، والسبب الأساسي لذلك هو أن استخدام المبيدات الحشرية له آثار ضارة على الإنسان والحيوان فضلاً عن أنه يسبب أحياناً انخفاض في خصوبة التربة (Spaek وآخرون ، 2012) ، كما أظهرت المواد النانوية المستخدمة في مكافحة الآفات الحشرية خصائص جديدة مثل القوة الاستثنائية والتفاعل الكيميائي العالي وامتلاكها القدرة على إحداث تغييرات عديدة في التركيب الجيني لجسم الحشرة ، لذا أصبحت تقنية النانو في السنوات الأخيرة واحدة من أكثر الطرق استخداماً لمكافحة الآفات (Bhattacharyya وآخرون ، 2010) ، ومن أهم المواد النانوية المستخدمة حالياً لمكافحة مختلف الآفات الحشرية بعد خلطها بالمبيدات الاعتيادية وبتراكيز معينة TiO_2, MgO, Ag, ZnO والجسيمات النانوية لكبريتات الكاديوم CdS و Nanoimidacloprid وغيرها والتي تمتلك نشاطاً مضاداً للميكروبات ومسببات الأمراض النباتية والحيوانية بالإضافة إلى كونها غير سامة أو ضارة للإنسان والحيوان (Jayarambabu وآخرون ، 2016) . إن إجراء مكافحة باستخدام المواد النانوية يتطلب دراسة تأثيرها على الجينات المسؤولة عن عملية الطيران والخصوبة أو التكاثر للحشرات المدروسة من خلال دراسة التغيرات الوراثية الجزيئية بين جينات الحشرة قبل وبعد إجراء عملية مكافحة لها باستعمال تلك المواد (Cleveland وآخرون ، 2012) ؛ تُعد دراسة التغيرات الوراثية الجزيئية بين الأنواع المختلفة من الحشرات في مناطق معينة يتم تحديدها مسبقاً الأساس في نجاح طريقة مكافحة الوراثة لأن المادة الوراثية هي الأساس في تطور الكائنات الحية المختلفة (القرةغولي ، 2013) ، وقد استخدمت في الدراسات الوراثة الجزيئية ما يطلق عليها بمؤشرات الدنا DNA Markers وهي عبارة عن تسلسلات من الحامض النووي DNA يمكن من خلالها تحديد أي موقع على الكروموسوم أو الجينوم وبالتالي تستعمل في دراسة جميع العلاقات الوراثة بين الأنواع المدروسة من خلال إيجاد البصمة الوراثة بين تلك الأنواع (Baco و Cairns ، 2012) ، توضح مؤشرات الـ DNA التغيرات في البيانات الوراثة الموجودة عند الأنواع المدروسة والنتيجة عن حدوث طفرات نقطية من نوع الحذف والاستبدال أو الإضافة أو إعادة الترتيب للنكلوتيدات في جينات الكائنات الحية المختلفة (Moura وآخرون ، 2011) ، لذا استعملها العديد من الباحثين في دراسة التصنيف الجزيئي للأنواع Molecular taxonomy وتصميم الخرائط الوراثة Genetic maps ودراسة التنوع الوراثي Genetic diversity (Jalali وآخرون ، 2015) وفي هذه الدراسة اعتمدت ثلاثة جينات أساسية في دراسة التغيرات الوراثية

الجزئي بين النوعين *D. ciliatus* و *D. frontalis* وهما الجنين CAD و EF1-alpha التي تنتمي إلى دنا النواة والجين COI لدينا المايكروندريا ، ومن الدراسات والبحوث العلمية التي يجب إجرائها أيضاً لنجاح مكافحة الآفات الحشرية العائدة لنفس الجنس باستعمال المواد النانوية هي استعمال نظام المقياس الهندسي للشكل الظاهري للجناح Geometric Morphometric of wing لدراسة التغيرات الوراثية الكمية في شكل الجناح وحجمه لأي حشرة لأنه يبين مدى الاختلافات التي سوف تحدث بين أفراد النوع الواحد نتيجة لاستخدام المواد النانوية وهذا النظام هو طريقة حديثة بالنسبة للدراسات المتخصصة في مجال الوراثة الكمية Quantitative genetics ، أن الميزة الأساسية لهذا النظام هي الاستخدام الشامل لبيانات شكل الجناح وحجمه من خلال نقاط أو معالم يتم تثبيتها على أماكن معينة في جناح الحشرة ومن خلال تلك البيانات يتم تحليل التباين في شكل وحجم الجناح للأنواع المختلفة (Brereton ، 2015) ، أن تقنية المقياس الهندسي لشكل الجناح وحجمه توفر بيانات مهمة جداً في دراسة الأنواع المعقدة من الحشرات كما في الأنواع العائدة لرتبة ثنائية الأجنحة Diptera (Klingenberg ، 2011) ، ويعد Comstock (1893) أول من استخدم عروق أجنحة الحشرات في التصنيف التقليدي للأنواع (Karsten وآخرون ، 2016) ، ويستند عمل المقياس الهندسي لشكل الجناح وحجمه على وضع نقاط معالم Landmarks معينة على تقاطعات عروق أجنحة الحشرة بحيث تُسجل على كل جناح وتؤخذ لها صور رقمية متتالية تبدأ من قاعدة الجناح وتمتد على طول تقاطعات العروق مع بعضها البعض وتقاطعات العروق مع حافة الجناح (Rohlf ، 2013a) ، ومن خلال هذه المعالم تجري المقارنة بين جميع الأنواع العائدة لنفس العائلة لإيجاد الحجم المركزي للجناح وبالتالي معرفة التباين الذي يحدث بينها (Rohlf ، 2013b) . نظراً لما تقدم من إيجاز حول الأهمية الاقتصادية لنوعي ذبابة ثمار القرعيات *D. ciliatus* و *D. frontalis* ولقلة الدراسات الخاصة باستخدام المواد النانوية في مكافحة هذه الأنواع من الحشرات أقترح موضوع الدراسة ليتضمن الجوانب التالية :

أولاً : الجانب الجزئي الذي يركز على المقارنة الجزئية بين ذبابتين *D. ciliatus* و *D. frontalis* باستعمال معلومات جزيئية متخصصة من دنا النواة والمايكروندريا .

ثانياً : الجانب الكمي الذي يركز على المقارنة الوراثية الكمية بين النوعين باستعمال نظام المقياس الهندسي لشكل الجناح وحجمه .

ثالثاً : الجانب الحياتي الذي يركز على اختبار تأثير أوكسيد المغنسيوم والتيتانيوم النانوي على الهلاك التراكمي

لبعض الأدوار الحياتية لكلا النوعين والمقارنة بين نوعي المادة النانوية من حيث التأثير على ذلك .

الفصل الثاني

استعراض المراجع

Literature Review

1-2 التصنيف العلمي للأنواع المدروسة ضمن الجنس *Dacus* Fabricius, 1805

تتنمي أنواع ذبابة ثمار القرعيات ضمن الجنس *Dacus* (Fabricius, 1805) إلى رتبة ثنائية الأجنحة Diptera عائلة الذباب الحقيقي Tephritidae صنف الحشرات Insecta ، وهي من الحشرات الأكثر أهمية من الناحية الإقتصادية ، وتضم عائلة ذباب الفاكهة في جميع أنحاء العالم ما يقرب من 4800 نوع على مستوى العالم تقع ضمن 500 جنس (Norrbom ، 2010 ; Pape وآخرون ، 2011) ، وقد أشار (Virgilio وآخرون ، 2013) إلى وجود أكثر من 190 نوعاً من ذبابة الفاكهة ومنها ذبابة ثمار القرعيات والتي لها آثار إقتصادية كبيرة في جميع أنحاء العالم ، أن معظم الأنواع العائدة لهذه العائلة على نطاق واسع كآفات لكونها تسبب أضراراً كبيرة للنباتات ذات الأهمية الإقتصادية (Billah وآخرون ، 2015) ، أن أحدث تصنيف علمي للأنواع المدروسة هو التصنيف الذي اعتمد من قبل (Doorenweerd وآخرون ، 2018) وعلى النحو التالي :

Kingdom: Animalia

Phylum: Arthropoda

Class: Insecta

Order: Diptera

Family: Tephritidae

Subfamily: Dancinae

Tribe: Dacini

Genus: *Dacus* (Fabricius,1805)

Species: *ciliatus* (Loew,1862)

Species: *frontalis* (Becker,1922)

2-2 انتشار ذبابة ثمار القرعيات *Dacus ciliatus* و *Dacus frontalis*:

تتواجد ذبابة ثمار القرعيات النوعين *D. frontalis* و *D. Ciliatus* الصور (1) من عائلة Tephritidae التي هي أكثر عوائل رتبة ثنائية الأجنحة تواجداً في المناطق المعتدلة والاستوائية ، وهي تضم أنواعاً ينتشر معظمها في مناطق أفريقيا الاستوائية وبدرجة متوسطة أو أقل في قارات استراليا وأمريكا الشمالية والجنوبية (El-Harym و Belqat، 2017) ، وتُعد الدول الأفريقية الاستوائية القديمة ومنها إثيوبيا الأصل لهذه الحشرات ومنها انتشرت إلى مناطق العالم القديم (Filiz وآخرون ، 2019) . أوضحت نتائج الكثير من البحوث انتشار أنواع ذبابة ثمار القرعيات وخاصة النوعين أعلاه على محاصيل العائلة القرعية بصفة عامة ومحاصيل الخيار بصفة خاصة في محافظات جمهورية مصر العربية وخصوصاً الوجه البحري والقبلي منها بنسبة عالية جداً ، وبدرجة أقل في الوادي الجديد وجنوب الدلتا ومحافظات الإسماعيلية والسويس والشرقية (سكر والبسومي ، 2012) ؛ تُعد ذبابة ثمار البطيخ *D. frontalis* آفة زراعية من أصل آسيوي تختلف أعداد المجاميع السكانية لها التي تُصيب النباتات من منطقة إلى أخرى ، وهذا يتطلب تسجيل جميع الأنواع العائدة لهذه العائلة عند إجراء أي مشروع بحثي وبالتالي التغلب على المعوقات عند استخدام أي طريقة من طرائق مكافحة لتقليل نسبة إصابة ثمار القرعيات بها كما هو الحال في برامج مكافحة المشتركة بين منظمة الأغذية العالمية FAO والوكالة الدولية للطاقة الذرية IAEA عام 2010 (Krosch وآخرون ، 2012؛ Virgilio وآخرون ، 2015) ؛ وعلى الرغم من أنه تم تسجيل تواجد عدة أنواع من ذبابة ثمار القرعيات وخصوصاً النوعين أعلاه لأول مرة في جزر هاواي عام 1961 ، إلا أنه في عام 1971 تبين أن أول تسجيل لها كان في الهند عام 1909 (Marc وآخرون ، 2015) ، وقد تم تسجيل تواجد وانتشار أنواع مختلفة من ذبابة ثمار القرعيات وبنسب متفاوتة لكل نوع في العديد من بلدان وسط وشرق آسيا بما في ذلك (باكستان ، الهند ، بنغلادش ، النيبال ، الصين ، اندونيسيا ، الفلبين ، استراليا والأقيانوس مثل غينيا الجديدة وجزر مارينا (Drew و Romig، 2013) ، كما لوحظ انتشار هذه الحشرات أيضاً في أجزاء من المحيط الهادئ كجزر مارينا الشمالية وناورو (Shawkit وآخرون ، 2011) ، وأظهرت الدراسات السابقة في جزر هاواي أن ذبابة ثمار القرعيات *D. ciliatus* من الأنواع التي توجد أساساً في المناطق الأكثر دفئاً ، وأن وفرتها تتناقص مع زيادة هطول الأمطار وانخفاض درجة الحرارة (فليح ، 2014) ؛ كما أشارت الدراسة التي أجراها Redha (2013) إلى تواجد ذبابة ثمار البطيخ *D. frontalis* في تنزانيا ولكن بوفرة أقل نسبياً في المناطق ذات الارتفاعات العالية منها نتيجة لإنخفاض درجة الحرارة فيها ومن المناطق التي تم تشخيص انتشار ذبابة ثمار القرعيات بأنواعها المختلفة فيها وبالتحديد في عقد التسعينات هي مناطق جنوب اليابان (Ansari وآخرون

، (2012) ؛ كما سُجِّلَ تَواجدهما لأول مرة في الولايات المتحدة الأمريكية عام 1956 وبالتحديد في معظم مناطق ولاية كاليفورنيا (Papadopoulos وآخرون ، 2013) . أنَّ معظم الدراسات الحديثة في مجال الانتشار والتوزيع الجغرافي لذبابة ثمار القرعيات وخصوصاً النوعين أعلاه تشير إلى تواجدها بنسب كبيرة جداً في معظم الدول الأفريقية وجزر المحيط الهندي وشرق وغرب قارة آسيا بما في ذلك إيران ، لبنان ، الأردن ، فلسطين ، عُمان ، المملكة العربية السعودية ، العراق ، الكويت ، اليمن وسوريا (Gameel ، 2013) .



Dacus ciliatus



Dacus frontalis

صورة (1): ذبابة ثمار القرعيات النوعين *D. frontalis* و *D. ciliatus*

نقلًا عن : www.irshadvetsu.com/blog/2015/06/crys

3-2 الأهمية الاقتصادية لنوعي ذباب ثمار القرعيات *D. frontalis* و *D. ciliatus*:

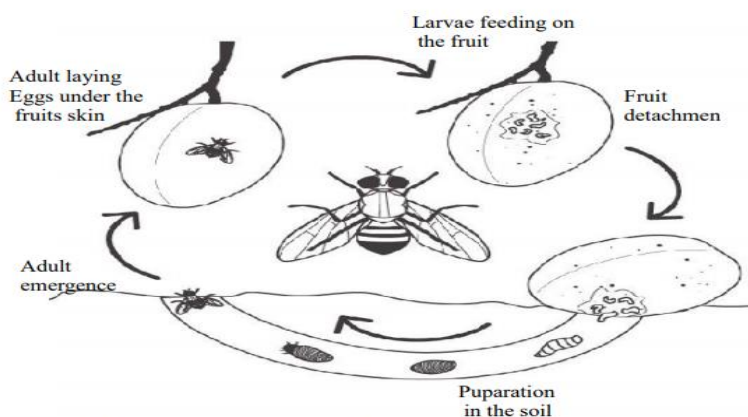
أنَّ لهذا النوعين أهمية اقتصادية كبيرة كونهما من الآفات الحشرية الخطرة التي تُصيب نباتات العائلة القرعية مما دفع منظمة حماية النباتات الأوروبية والمتوسطية EMPPO إلى إدراجهما في سجل الآفات التي تسبب خسائر في إنتاجية النباتات (Filiz وآخرون ، 2019) ، وأن هذه الآفة أصبحت عائقاً لتقدم محاصيل عائلة القرعيات في معظم البلدان الآسيوية والأفريقية (الشمري وآخرون ، 2017) ؛ أما في العراق فقد ازدادت أضرارها الاقتصادية بشكل متسارع بعدَ ظهورها لأول مرة خلال الموسم الخريفي من العام 1988 في محافظتي واسط وميسان (Moans و Abdul-Rassoul ، 1989) كما أشارت فليح (2014) إلى أنَّ خطورة هذه الحشرة تُكمن في اليرقات التي تتواجد داخل نسيج الثمار مما يؤدي إلى زيادة رداءة نوعية تلك الثمار وصعوبة تسويقها ، وقد تمَّ تسجيل تواجد ذبابة ثمار القرعيات *D. frontalis* لأول مرة في تونس وفي عدة مناطق على ثمار نبات اليقطين العسلي ، إذ تمَّ التأكيد من أنها آفات ثمار القرعيات التي تسببت في خسائر اقتصادية كبيرة لزراعة البطيخ واليقطين والخيار في مختلف مناطق تونس لاسيما في المناطق التي جُمعت منها العينات مثل منطقة أجبيل (Hafsi وآخرون ، 2015) . أنَّ ذبابة ثمار القرعيات يمكن أن تكون لها آثار بيئية واقتصادية بعيدة المدى في

جميع أنحاء العالم (Al-Jorani، 2013) ؛ ومن المعترف به حالياً وجود 1500 نوع من ذبابة الفاكهة ، 250 نوع ذات أهمية إقتصادية كبيرة ومنها ذبابة ثمار القرعيات (Lizh وآخرون ، 2013) ، إنَّ هذه الأنواع قادرة على أن تصيب من 250 إلى 400 عائل نباتي فعلى سبيل المثال ، إن الأنواع أعلاه تسبب خسائر إقتصادية في البرازيل وحدها تصل إلى 242 مليون دولار سنوياً (Oliveira وآخرون ، 2013) ، وبالتالي يمكن أن تصبح آفات في المناطق البعيدة عن مداها الأصلي بعد دخولها إلى تلك المناطق نتيجة الأنشطة البشرية كالتجارة ونقل السلع ، وهذا سبب آخر لأهميتها الإقتصادية (Al-Saffar ، 2011) ، وأكد الباحثون في مجال الآفات الحشرية على وجود آفات ذبابة الفاكهة من عائلة (Tephritidae) في معظم مناطق زراعة الفاكهة والخضار في العالم (Yujia وآخرون ، 2015) ؛ إذ يمكن أن تسبب أضرار إقتصادية جسيمة لمحاصيل الفواكه والخضار مما يؤدي تقريباً إلى فشل الناتج الكلي لها إذ أنَّ ذبابة البحر الأبيض المتوسط *Ceratitis capitata* هي واحدة من الأنواع التي تُعد أهم التهديدات للفاكهة الطازجة تقابلها ذبابة ثمار القرعيات *D. ciliates* و *D. frontalis* كأخطر التهديدات التي تواجه محاصيل العائلة القرعية بأنواعها المختلفة (Liang، 2011) ، كما أشار Al-Shalaji (2017) إلى أنَّ أنواع ذبابة ثمار القرعيات *Dacus sp.* تسبب خسائر كبيرة سنوياً في إقتصاديات عدد من الدول الآسيوية مثل الهند ، سيريلانكا ، مانمار ، تايلاند ، فيتنام ، الصين ، ماليزيا ، بروناي واندونيسيا ، كما تم مؤخراً إدراج حوالي 22 نوعاً من أنواع ذبابة الفاكهة ومنها ذبابة القرع والخيار والبطيخ ضمن الأنواع التي لها أهمية إقتصادية كبيرة في آسيا من قبل مشروع مكافحة ذبابة الفاكهة الآسيوية (Asian Fruit Fly IMP Project ، 2012) .

4-2 دورة الحياة Life cycle

تتزوج ذكور وإناث النوعين *D. frontalis* و *D. ciliatus* على النباتات التي تنمو في أو على جوانب حقول القرعيات ، إذ لوحظ أنَّ البالغات منها وخصوصاً النوع الثاني لا تُظهر على الثمار في الصباح ، إذ تتواجد في الغالب على النباتات الأخرى القريبة من الحقل مثل الحمضيات ، الذرة ، عباد الشمس والعُسل لأن تلك النباتات توفر البروتين الضروري للبالغات من حبوب اللقاح التي تحتويها ، وفي الآونة الأخيرة شوهدت البالغات على نبات الذرة الذي ينمو بجانب حقل القرع في ليبيا للموسم الزراعي 2013 (Elghadi ، 2016) ؛ ويمكن مشاهدة أكثر من أنثى بالغة على الثمرة الواحدة خلال عملية وضع البيض والتي تبدأ من الظهر إلى وقت مبكر قبل حلول الظلام (Fay وآخرون ، 2012) ، إذ تقوم الإناث المُخصبة بمهاجمة نباتات القرعيات وتضع من 7-21 بيضة يومياً عن طريق إدخال البيوض من خلال آلة وضع البيض تحت قشرة الثمرة الخارجية وبعُمق 3 ملم

(Royer وآخرون ، 2014) ؛ أن أعراض الأضرار ودورة حياة النوعين مماثلة لأنواع أخرى تنتمي إلى تحت عائلة Dacine ، ويبدأ الضرر عندما تضع الإناث البالغة البيوض على مراحل مختلفة وحسب حجم الثمار بما في ذلك مرحلة حضانة البيض داخل الثمرة الناضجة ، وقد لوحظ وجود مادة جيرية لزجة على الثمار المصابة تُنتج من ثقب البيض والتي يمكن أن تظهر بوضوح عند الضغط بأصابع اليد على تلك الثمار (Jha وآخرون ، 2016) ، كما يمكن أن تحدث إصابة إضافية عن طريق الكائنات الحية الدقيقة مثل مسببات الأمراض مما يؤدي إلى تعفن الفاكهة والخضار ، ويظهر اللون الأصفر الشاحب حول ثقب الثمار المصابة والتي تصبح بعد ذلك صفراء بنية (Elghadi، 2016) ، وتبعاً للظروف البيئية يفسس البيض خلال 2-4 أيام بشكل يرقات تنمو إلى ثلاثة أطوار يرقية تتغذى على لب الثمرة وتسبب تحلل الثمرة وتَعَفُنْها وسقوطها قبل نضوجها من النبات (Arthurs وآخرون ، 2013) ؛ وبعد اكتمال نمو يرقات الطور الثالث ذات اللون الأبيض الحليبي تخرج من خلال الثقوب الموجودة على سطح الثمرة وتسقط على الأرض ، إذ تقوم بعد فترة بعمل حفر على أعماق مختلفة في التربة لتتخذ فيها اعتماداً على نوع التربة ودرجة الحرارة والرطوبة ، عذراء هذه الأنواع اسطوانية الشكل يتراوح طولها من 4-5 ملم وقطرها من 1.5-2 ملم ذات لون بني مصفر فاتح (Murphy وآخرون ، 2015) ؛ تتطور العذارى وتخرج إلى كاملات يتراوح طول الأنثى من 8-9 ملم والذكر 7.5 ملم ذات لون برتقالي إلى بني مع وجود 4 بقع صفراء اللون على المنطقة الصدر و4 براعم عند منطقة اتصال الجناح وجسم الأنثى أكبر من الذكر بالنسبة لـ *D. frontalis* ، أما بالنسبة للنوع *D. ciliatus* فإن طول الأنثى 9 ملم والذكر 7 ملم مع وجود بقع سوداء دائرية على الصدر والبطن (Prabhakar وآخرون ، 2010) . ويعتمد تطور دورة الحياة للحشرة بشكل أساسي منذ بدء عملية وضع البيض حتى خروج الكاملات على المناخ ، وحتى الآن أجريت العديد من الأبحاث لدراسة عدة أجيال منها في ظل ظروف نموذجية في ليبيا حيث تبين أنه يمكن العثور عليها في الحقل على النباتات أثناء مدة السكون وخلال جميع فصول السنة (Ekesi وآخرون ، 2010) ؛ وفي تجربة لجمع العينات أجريت في العراق تم تسجيل مستويات مختلفة من الإصابة تسببها ذبابة ثمار القرعيات من شهر مايس إلى شهر تشرين أول ، إذ اكتُشِفَ خلال الدراسة الاستقصائية أن أعلى نسبة إصابة تم تسجيلها في المدة من آب إلى تشرين أول والتي بلغت حوالي 55% على ثمار خيار العنق (القثاء) (Shawkit وآخرون ، 2011) ، وقد لوحظ تواجد ذبابة ثمار القرعيات النوعين *D. frontalis* و *D. ciliatus* في الفترة ما بين كانون أول وكانون ثاني على بعض الخضراوات وبساتين الحمضيات والزيتون في تونس (Hafsi وآخرون ، 2015) ، وتوضح الصورة (2) دورة حياة ذبابة ثمار القرعيات بدءاً من دور البيضة ، الدور اليرقي ، دور العذراء وإنهاءً بدور الكاملات .



Life cycle of Tephritid fruit flies. (Source: Ekesi and Billah, 2007)

صورة (2) دورة حياة ذبابة ثمار القرعيات (Hafsi وآخرون ، 2015)

5-2 تربية ذبابة ثمار القرعيات مختبرياً :

تُعد تربية الأنواع المختلفة من الحشرات وزيادة أعدادها بالشكل المطلوب أساس الأبحاث العلمية والتطبيقية التي يتم إجرائها على الحشرات ، والغرض الأساسي منها هو بيان المتغيرات الفسيولوجية والسلوكية والبيئية ، وحتى تكون هذه الأبحاث مقبولة علمياً كان لابد من توفير أعداد كبيرة من الحشرات عن طريق توفير كل المستلزمات الضرورية واتباع الطرق الحديثة في التربية فضلاً عن السيطرة بشكل تام على جميع الظروف البيئية كدرجة الحرارة والرطوبة النسبية وهما من أهم العوامل المناخية التي لها دور كبير جداً في التأثير على تربية أي نوع من أنواع الحشرات مختبرياً ومنها ذبابة ثمار القرعيات *D. ciliatus* و *D. frontalis* (Lavy وآخرون ، 2016) ، بدأت تربية الحشرات مختبرياً منذ خمسينيات القرن الماضي من خلال مختبرات صغيرة وتطورت لتصل حالياً إلى مراحل متقدمة ، إذ تم مؤخراً إنتاج سلالة متطورة وحديثة جداً من ذبابة الفاكهة سميت

(VIENNA 8 st1) وهي حشرة مميزة تم إنتاجها خصيصاً للتزاوج والتحكم في معدل التكاثر (Heindertchis ، 2010) ، وقد أجريت الكثير من الدراسات والأبحاث العلمية التي تم فيها تربية الحشرات في مستعمرات خاصة ومتعددة مختبرياً وعلى وسط غذائي طبيعي ، ومنها الدراسة قام بإجرائها الشمري وآخرون (2015) لمعرفة نمط بزوغ النوع *D. ciliatus* في الربيع وعلاقتها بالوحدات الحرارية ؛ كما أشار Ahmad وآخرون (2014) في دراسة التزاوج التوافقي بين المجاميع السكانية المختلفة لذبابة ثمار الزيتون *Bactrocera oleae* (Rossi,1790) إلى بذل جهود بحثية كبيرة في السنوات الماضية لتطوير تقنيات مختلفة من أجل استئصال هذه الآفة في إطار منهج متكامل لإدارة الآفات وهذا يتطلب تربية أعداد كبيرة منها في مختبرات خاصة لنجاح تطبيق التقنيات المستخدمة في مكافحة ؛ وفي بعض برامج الإدارة المتكاملة للآفات Area-Wide Integrated Pest Management (AW-IPM) والمكونة من عدة تقنيات لمكافحة أنواع مختلفة من الحشرات ومنها تقنية الحشرات العقيمة Sterile Insect Technique يتم تربية الذكور والإناث بأعداد كبيرة جداً في مختبرات التربية الموجودة في كل بلد لغرض استخدامها في الدراسات والأبحاث قبل الشروع بالمكافحة (Bjelis وآخرون ، 2013؛ Mancini وآخرون ، 2016) ، ومن الأمثلة على تربية الأنواع المختلفة من الحشرات مختبرياً هي إنشاء معامل حديثة وخاصة بالتربية ومجهزة بالمواد والأجهزة والمستلزمات المتطورة كحاضنات التربية في كل من إيطاليا وإسبانيا وكرواتيا وفرنسا والتي استخدمت خصيصاً لتربية ذبابة البحر المتوسط *Ceratitis capitata* وذبابة ثمار القرعيات *D. ciliatus* لأن هذه الأنواع من الآفات التي تتواجد بكثرة في هذه البلدان لتوفر الظروف البيئية الملائمة لها (Masaki وآخرون ، 2019) ، وقد تمكن مهدي (2000) من تربية ذبابة ثمار القرعيات *D. ciliatus* مختبرياً على ثلاثة أنواع من نباتات القرعيات وهي قرع الكوسة وخيار الماء والقثاء لغرض دراسة بعض المقاييس الحياتية لهذه الآفة وطرق مكافحتها ، كما نجح العزاوي وآخرون (2006) في تربية كل من ذبابة الدودة الحلزونية وذبابة ثمار القرعيات في المختبر للمقارنة بينهما من حيث تأثير أشعة كاما على قابلية الطيران في النوعين وبالتالي تطبيق تقنية الحشرات العقيمة (SIT) لمكافحتها ، وقد أستطاع Elghadi (2016) من تربية ذبابة النوع *D. frontalis* مختبرياً لدراسة استخدام الفطريات المسببة للأمراض في مكافحتها من خلال توفير الوسط الغذائي المتكامل والسيطرة والتحكم بالظروف البيئية المؤثرة على أدوار حياتها المختلفة وبالتالي الحصول على أعداد كافية منها لإتمام الدراسة .

2-6 طرائق مكافحة ذباب ثمار القرعيات :

أزادت نسبة الإصابة لمعظم محاصيل القرعيات في العراق بشكل كبير جداً بعدَ الكشف عن وجود ذبابة ثمار القرعيات بأنواعها المختلفة ، لذا أصبحَ من الضروري اتخاذ جميع الخطوات المُلائمة لمكافحتها وتقليل نسبة الأضرار الاقتصادية التي تسببها (مهدي ، 2000) ، ومن الطرائق الشائعة حالياً لمكافحة هذه الآفة الحشرية هي:

2-6-1 مكافحة الكيماوية Chemical control :

تُعد المكافحة باستخدام مواد أو مبيدات كيماوية ذات تراكيب مختلفة من الطرائق المهمة والتي تؤثر على أجهزة الجسم لأي حشرة وخصوصاً الجهازين العصبي والتنفسي في كل مرحلة من مراحل دورة الحياة ولفترات زمنية معينة (Cini وآخرون ، 2012) ؛ وقد استخدمت المبيدات الكيماوية مختلفة الأنواع بشكل كبير جداً لوقاية المحاصيل الزراعية ومخازن الحبوب من هجمات الآفات الحشرية على مدى العقود الستة الماضية (Vargas وآخرون ، 2015) ، وعلى الرغم من المساوئ والأضرار الناتجة عن استخدام مبيدات الآفات على البيئة ، لا تزال هذه الطريقة في المكافحة تستخدم بمفردها أو مع طرائق المكافحة الأخرى ضد العديد من أنواع ذبابة الفاكهة ، إذ تمّ التأكيد على أنّ هذه المواد الكيماوية تستعمل كمركبات فعالة ضد العديد من هذه الأنواع (Shafiq Ansari وآخرون ، 2012; Wang وآخرون ، 2013; Mahat و Drew ، 2015) ، فعلى سبيل المثال أدى استخدام المبيد الكيماوي Diazinon إلى الحد من الإصابات الناتجة عن ظهور كاملات ذبابة البحر المتوسط C. capitata وذبابة القرع *Bactrocera curcubitae* و *Bactrocera dorsalis* إلى درجة كبيرة جداً عندما تمّ تنقيع التربة به (Stark وآخرون ، 2013) ؛ ومن الدراسات التي أجريت للحد من الآثار السلبية لبعض المبيدات الحشرية على البيئة الدراسة التي قام بها Mahat و Drew (2015) لتقييم الآثار الناتجة عن خلط المبيد الحشري الـ Malathion مع البروتين وتطبيقها عملياً ضد ذبابة *Bactrocera tryoni* التي تصيب الحمضيات ومتابعة ارتفاع معدل الهلاكات بين افراد هذا النوع من الآفات ، ولقد ساهمت بعض المبيدات الحشرية بنجاح في القضاء على المجاميع السكانية لأنواع مختلفة من عائلة ذباب الفاكهة عند استخدامها مع طرائق المكافحة الأخرى مثل المصائد الجاذبة للحشرات (Shelly ، 2010) . حالياً بدأ الكثير من الباحثين في دراسة استخدام طرائق حديثة لمكافحة الآفات الحشرية في مجال المكافحة الكيماوية من خلال استخدام مواد كيماوية ذات احجام واقطار مختلفة ومتناهية الصغر تتراوح بين 1-100 نانوميتر تسمى حالياً بالدقائق أو بالمواد النانوية Nanomaterials (Bhattacharyya وآخرون ، 2010) ، وقد أشار Mohamad وآخرون (2012) إلى أنّ استخدام كل من دقائق الفضة والخاصين النانوية والمصنعة بطريقة الإذابة مقارنة مع تأثير المبيد الكيماوي Imidacloprid

أدى إلى انخفاض نسبة إصابة في أشجار الدفلة بحشرة من الدفلة *Aphis nerii* . هناك دراسات أخرى استخدمت فيها المواد النانوية كطريقة حديثة لمكافحة الآفات الحشرية وخاصة الأنواع التابعة لعائلة الذباب Tephritidae على سبيل المثال الدراسة الموسعة التي أجريت من قبل Sabbour و Shaurub (2018) لبيان التأثير السمي لجزيئات Imidacloprid و Nano-imidacloprid في مكافحة ذبابة ثمار الزيتون *Bactrocera oleae* تحت ظروف العمل المختبري والحقل ، إذ تبين أن المواد النانوية تؤدي إلى انخفاض كبير جدا في نسب الإصابة مقارنة مع المبيد الاعتيادي وزيادة الانتاج بنسبة 84% كونها تؤثر على عمل الجهاز التنفسي والعصبي للحشرة . إن إطلاق المواد الكيميائية النانوية المغلفة على أي نوع من النباتات المصابة يؤدي إلى التحلل الأحيائي للآفات التي تصيب هذه النباتات نتيجة لتحلل المواد الذائبة والمنتشرة في أجسامها بسبب الزيادة في الضغط الأزموزي للآفات لمكافحة تلك المواد (Eleka وآخرون ، 2010) ، كما أن الزيادة في استخدام أي نوع من المواد النانوية في مكافحة يؤدي إلى خفض أعداد الحشرات بشكل كبير (Nuruzzaman وآخرون ، 2016)

1-2-6-2 تقنية النانو Nanotechnology :

يقصد بعلم النانو Nanoscience ذلك العلم الذي يعتني بدراسة وتوصيف مواد النانو وتعيين خواصها وخصائصها الكيميائية ، الفيزيائية والميكانيكية مع دراسة الظواهر المرتبطة الناشئة عن تصغير أحجامها ، وتُعرف المواد النانوية Nanomaterials بأنها تلك الفئة من المواد المتميزة من المواد المتقدمة والتي يمكن إنتاجها بحيث تتراوح مقاييس أبعاد دقائقها الداخلية بين 1 نانومتر و100 نانومتر ، وقد أدى صغر أحجام ومقاييس تلك المواد إلى أن تسلك سلوكاً مغايراً للمواد التقليدية كبيرة الحجم التي تزيد أبعادها عن 100 نانومتر (الاسكندراني ، 2010) ، ويمكن تصنيف المواد النانوية إلى عدة أصناف (الساعدي ، 2020) الصورة (3) ومنها :-

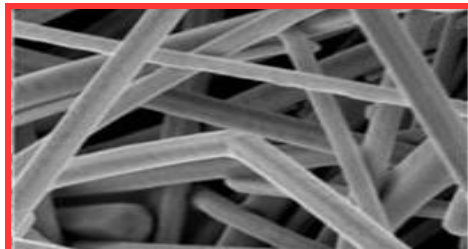
1- الدقائق النانوية Nanoparticles : وهي عبارة عن تجمع ذري أو جزيئي ميكروسكوبي يتراوح عددها من بضع ذرات إلى مليون ذرة مرتبطة مع بعضها البعض بنصف قطر أقل من 100 نانومتر ، وتصنف ضمن المواد النانوية صفرية الأبعاد (0 D) .

2- القضبان النانوية Nanorods : وهي من المواد النانوية التي تمتلك خواص فريدة مثل القدرة على التوصيل الحراري والكهربائي ، وتصنف ضمن المواد النانوية أحادية الأبعاد (1D) .

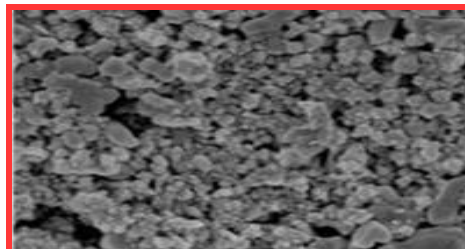
3- الأسلاك النانوية Nanowires : وهي أسلاك بقطر قد يقل عن واحد نانومتر وبأطوال مختلفة أي طول إلى عرض تزيد عن 1000 مرة ، وتصنف ضمن المواد النانوية أحادية الأبعاد (1D) .

- 4- الألياف النانوية Nano fibers : أكتشف العديد من أشكالها كالداسية والحلزونية والألياف الشبيهة بحبة القمح Coen-shaped .
- 5- الأنابيب النانوية Nanotubes : وهي أنابيب تصنع من مواد غير عضوية مثل أكاسيد الفلزات كأوكسيد الفاناديوم وأكاسيد المنغنيز ، ولها عدة أشكال فقد تكون مستقيمة ، لولبية ، متعرجة ، خيزرانية أو مخروطية ، وتمتلك خصائص غير اعتيادية من حيث القوة والصلابة والتوصيل الكهربائي (الساعدي ، 2020) .
- 6- المتراكبات النانوية Composite Materials : وهي تلك المواد المجموعة من المواد الهندسية التي يتم إنتاجها عن طريق إضافة نسبة وزنية أو حجمية من مادة أو أكثر كالمواد الداعمة لمادة القالب Matrix من خلال دمجها أو خلطها مع مادة القالب للحصول على طبقات نانوية متجانسة ، وتتنوع بداخلها المواد النانوية توزيعاً مثالياً كما في المواد الداخلة في صناعة المستشعرات Sensors ، وتصنف ضمن المواد ثنائية الأبعاد (2D) ، أما بالنسبة للمواد ثلاثية الأبعاد هي المواد التي تكون جميع أبعادها أكبر من 100 نانومتر ، وهذه المواد تمتلك إما تركيب بلوري نانوي (بلورات نانوية الحجم) أو بعض خصائص نطاق النانو الناتجة عن احتوائها على مواد أخرى صغرية أو أحادية أو ثنائية الأبعاد (أشرف ، 2016) . تعد اليوم الدقائق النانوية الأكثر استعمالاً في التطبيقات الصناعية وذلك لتوفرها على شكل مساحيق فائقة النعومة وبمساحة سطحية كبيرة مما يجعلها ذات أهمية كبيرة في التطبيقات الواعدة (Prophu وآخرون ، 2014) ؛ وقد استخدم في هذه الدراسة وكما هو موضح في الصورة (4) دقائق ثاني أوكسيد التيتانيوم TiO_2 النانوية كونها مادة صديقة للإنسان والبيئة فضلاً عن ثباتها الكيميائي العالي وزيادة نشاطها الكيميائي بشكل كبير جداً عند تعرضها لمصدر من مصادر الضوء مثل حزم الأشعة فوق البنفسجية ، كما أنها تمتلك القدرة على الامتصاص والتشبع بأشعة الشمس فوق البنفسجية وهذا يؤدي إلى تولد ذرات من الأوكسجين على سطح تلك الدقائق فضلاً عن قدرتها العالية جداً على اختراق الطبقات الصلبة لجسم الكائنات الحية ومنها الحشرات عند المعاملة بها وإحداث أضرار بالغة في أجهزة الجسم للحشرة (Nowotny و Janusz ، 2011) ؛ كما استخدمت أيضاً دقائق أوكسيد المغنسيوم النانوي MgO وهو معدن مؤكسد متعدد الاستعمالات لما له من خواص كيميائية وفيزيائية فريدة ، إذ يمتلك درجة انصهار عالية تصل إلى 2800 م° وله فعالية عالية جداً ضد الجراثيم والبكتيريا والفايروسات (حبيب ، 2016) ، وقد استخدم حالياً بشكل مسحوق (باودر) في العديد من برامج الإدارة المتكاملة للآفات لأنه أعطى نتائج كبيرة في تقليل نسبة الأضرار التي تسببها الآفات الحشرية كونه يمتلك القدرة على التأثير على أدوار الحياة لأنواع مختلفة من الحشرات عن

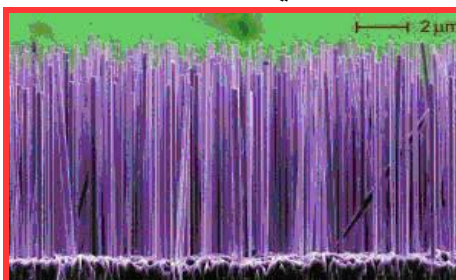
طريق زيادة معدل الهلاكات لتلك الحشرات من خلال إحداث أنواع مختلفة من الطفرات الجينية في التركيب الوراثي لها (درباله وحمزة ، 2016) .



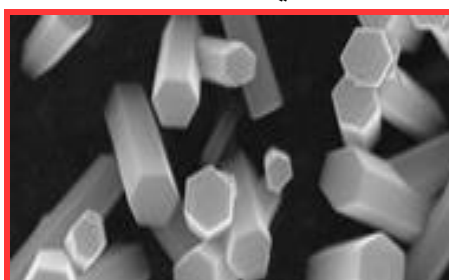
Nano fibers الألياف النانوية



Nanoparticles الدقائق النانوية



Nano wires الأسلاك النانوية



Nano rods القضبان النانوية



Nano tubes الأنابيب النانوية

صورة (3 : A, B, C, D, E) المواد النانوية Nanoaterails



اوكسيد التيتانيوم TiO_2



اوكسيد المغنسيوم MgO

صورة (4 : A, B) المواد النانوية المستخدمة في الدراسة

2-2-6-2 الدقائق النانوية طريقة حديثة لمكافحة الآفات الحشرية Nanoparticles a recent approach : to insect pest control

غالبا ما تُظهر الدقائق النانوية خصائص جديدة مثل القوة الاستثنائية والمزيد من التفاعلات الكيميائية فضلاً عن امتلاكها القدرة العالية على التوصيل الكهربائي والخصائص الفريدة الجديدة والتي لم تكن معروفة سابقاً ، لذا أصبحت تكنولوجيا النانو واحدة من أحدث التقنيات الواعدة في السنوات الأخيرة ، بالإضافة إلى كل ذلك فإن الدقائق النانوية تمتلك أيضاً خواص فيزيائية وكيميائية مميزة ترتبط فيها الذرات بروابط قوية (الصخابرة ، 2014) ، وتتراكم الدقائق النانوية التي يبلغ قطرها 1-100 نانو متر ضمن المقياس النانوي Nanoscale داخل الذرة ، ويمكن الحفاظ على حجمها وشكلها وبشكل دائم في الكثير من الأحيان عن طريق إجراء تجارب عديدة عليها (Perez-de-Luque و Hermosin ، 2013) ، ويمكن ترتيب الدقائق النانوية أو تجميعها في طبقات مرتبة ومرتبطة مع بعضها بواسطة أنواع من قوى الترابط المختلفة مثل الروابط الهيدروجينية Hydrogen bonding ، القوى ثنائية القطب Dipolar ، التفاعلات المحبة والكارهة للماء ، التوتر السطحي والجاذبية وغيرها ، كما يتم تكوين العديد من التراكيب الحيوية بشكل طبيعي عن طريق التجميع الذاتي لتلك الدقائق مثل الأغشية ، الحويصلات والحامض النووي DNA (Zielinska وآخرون ، 2012) . أظهرت الدراسات الحديثة أن حجم الدقائق النانوية يجب أن لا يتجاوز 200 إلى 1000 نانومتر ، وأن التراكيب النانوية تميل إلى أن يكون لها شكل مستدير من المستوى السطحي وتساعد هذه الدقائق في زيادة الكفاءة الهوائية لجناح الحشرة أثناء الطيران ، وفي الوقت الحاضر وكما هو معلوم أن الحشرات تمتلك رنيناً مغناطيسياً يعتمد على درجة الحرارة وأن المواد المغناطيسية النانوية الموجودة في رأس وصدر وبطن الحشرات كالنمل من النوع *Solenopsis substitute* (Santschi,1925) تعمل كأجهزة استشعار مغناطيسية أرضية (Wetterer ، 2013) ، وقام Ragaei و Sabery (2014) بتحليل عاملات وملكات وجنود النمل النوع *Solenopsis invicta* (Buren,1972) بواسطة الرنين المغناطيسي للكشف عن جميع المواد المغناطيسية الطبيعية والتي هي مواد نانوية مغناطيسية موجودة في أجزاء الجسم المسؤولة عن تحديد اتجاه الحشرة نحو الغذاء ، وفي الآونة الأخيرة تم التأكد من وجود التراكيب النانوية الطبيعية في أجنحة حشرة الـ *Cicada sp.* من خلال الفحص بواسطة مجهر القوى الذرية لتراكيب الجناح (El-bendary و El-Helaly ، 2013) ، وتساعد التراكيب النانوية في إنتاج مبيدات حشرية وطارادات للحشرات (Perlatti وآخرون ، 2013) ؛ تُعرف مكافحة الحشرات باستخدام الكبسولة النانوية Nanocapsule بأنها العملية التي يتم من خلالها إطلاق مادة كيميائية مثل مبيد الحشرات الممزوج مع المادة

النانوية ببطء ولكن بكفاءة عالية إلى مضيف معين ليرقات الحشرات ، ويسمح التغليف لدقائق المادة النانوية بشكل كبسولة واستخدامها بشكل مبيدات حشرية Insecticides لأمتصاص المادة الكيميائية في النبات (Abd-El-Raheem، 2012) ، ويمكن لهذه العملية إيصال الحامض النووي DNA وغيره من المواد الكيميائية إلى أنسجة النباتات لحماية النبات المضيف من الآفات الحشرية (Nalwa، 2011) ، وقد لوحظ أن الدقائق النانوية المحملة بالزيت الأساسي للثوم والمعدة بشكل كبسولة نانوية فعالة جداً ضد حفار ساق التفاح *Zeuzera pyrina* (Sabbour ، 2017) ، ومن المعروف أيضاً أن الأنابيب النانوية Nanotubes المملوءة بالسيليكا يمكن استخدامها في مكافحة الحشرات كونها تلتصق بسطح النبات فضلاً عن أن مكوناتها تمتاز بالقدرة على التمسك بالشعيرات السطحية لأجسام الآفات الحشرية وتدخل إلى نهاية الجسم وتؤثر على وظائف فسيولوجية معينة (Rouhani وآخرون ، 2011) ، وقد رأى Brian (2010) أن الاستخدام الأكثر رغبة للدقائق النانوية يكون في المعالجة البيئية للبيئات الملوثة ، كما أظهرت الأبحاث التي أجريت على دودة القز *Bombyx mori* بوضوح أن جزيئات النانو يمكن أن تحفز إنتاج المزيد من بروتين الفيبروين Fibroin الذي يمكن أن يساعد وبشكل كبير في إنتاج أنبوب الكربون النانوي في المستقبل القريب (Bhattacharyya وآخرون ، 2010) ، وأشار Panthee وآخرون (2017) إلى أن المركب النانوي لحريز دودة القز يساعد في إنتاج أنابيب الكربون النانوية مفردة الجدار والتي تستخدم في نظام إيصال العلاج أثناء مكافحة ، وفي الآونة الأخيرة تم إعداد مبيد حشري جديد قابل للتحلل الضوئي يحتوي على دقائق نانوية متناهية الصغر (Sabbour ، 2013a) ، وبالتالي فإن تكنولوجيا النانو ستحدث في المستقبل القريب ثورة في الزراعة بما فيها برامج إدارة الآفات بحيث سيتم في العقود القادمة تسريع ما يعرف بالثورة الزراعية الخضراء The Green Revolution عن طريق استخدام تكنولوجيا النانو .

2-7 التشخيص الجزيئي لأنواع من ذباب ثمار القرعيات :

يُعد علم الوراثة الجزيئية للحشرات Molecular genetic insect على درجة كبيرة من الأهمية كونه يوفر معلومات مهمة جداً لتطوير مفاتيح التشخيص الجزيئي حتى يمكن استعمالها لتحديد أنواع مختلفة من الحشرات ، لأن التصنيف المظهري لا يمكن من خلاله الاحتفاظ بالعينات لفترة طويلة من الوقت (Trout وآخرون ، 2010) . أن التشخيص الجزيئي يمكن الرجوع إليه في حالة وجود اختلاف بين الباحثين حول تشخيص أي نوع من الناحية المظهرية ، لذا يُعد الأكثر استعمالاً في مختبرات الوراثة الجزيئية للحشرات (Behura وآخرون ، 2011) ، ويشير رمز أو مؤشر شريط الحامض النووي DNA إلى تشخيص نوع معين عن طريق حساب المسافات الوراثية بين تسلسل الجين COI لعينة غير مشخصة ومجموعة من التسلسلات لنفس الجين مشخصة جيداً ومثبتة في

المكتبة الجينومية والتي تحتوي على أسم ونوع التسلسل حتى مع أقل المسافات الجينومية (Asokan وآخرون ، 2011) ؛ وعلى الرغم من الإهمية الاقتصادية الكبيرة لأنواع ذبابة ثمار القرعيات *Dacus* ، إلا أن المراحل التطورية لها تمّ دراستها حديثاً (San Jose وآخرون ، 2013) ، وتجدر الإشارة إلى أنه في العام 2015 تمّ تسجيل النوع *D. frontalis* في تونس وهذه الآفة الحشرية وثيقة الصلة بالنوع *D. ciliatus* والمهم في ذلك الاكتشاف هو القدرة على تشخيص هذين النوعين والتمييز بينهما بالاعتماد على التشخيص الجزيئي Molecular identification لكلاهما (Hafsi وآخرون ، 2015) . أن التشخيص الجزيئي عادةً يعتمد بالأساس على فحص العينات البالغة من خلال وصف بروتوكول تشفير الـ DNA استناداً إلى جين COI في الـ PM 7/129 حيث يتم تشفير الحامض النووي DNA كأداة تنظيمية لتشخيص عدد من الآفات وفي جميع مراحل حياتها (EPPO ، 2018) ؛ ومن المعوقات التي تواجه التصنيف الجزيئي لأنواع جنس الـ *Dacus* هي عدم وجود بيانات جزيئية لها إلا لعدد محدود جداً من هذه الأنواع وعادةً ما تكون كجزء من دراسات أكبر حول التصنيف العائلي Familial classification أو شبه العائلي Sub-familial لتلك الأنواع (Kandakoor وآخرون ، 2013) ؛ وقدم Lim وآخرون (2012) تسلسلات الماييتوكوندرية (COII + tRNA_{Lys} + tRNA_{Asp} و 12S rRNA ، 16S rRNA) وتصنيفاً لثلاثة أنواع تعود للجنس *Dacus* بينما قدم Bilewitch و Degnan (2011) بيانات جزيئية لنوعين من هذا الجنس حيث اعتمد عند التشخيص على قطع من جينات الماييتوكوندرية وهي (Cytb و tRNA و ND1) ، وقدم Jeong وآخرون (2017) تسلسلاً للحامض النووي لجين *Dacus demmerezi* في الفترة التي استخدموا فيها هذا النوع كمجموعة خارجية في التحليل التطوري لجنس *Ceratitidis sp.* ، والدراسات السابقة التي تمّ أياضاًها إلى الآن تنص على أن اختيار النبات المضيف من قبل أنواع من عائلة Tephritidae غالباً ما يعكس العلاقات التطورية عند إجراء التشخيص الجزيئي لتلك الأنواع (Schutze وآخرون ، 2015) ، وأظهرت دراسة التشخيص المظهري والجزيئي لجنس *Ceratitidis* (Macleay, 1829) التي أجراها De Meyer وآخرون (2016) أن امتدادات النباتات تتزامن مع الصفات الخاصة للنوع المدروس وبالتالي تعكس الأنماط التطورية ، لذا فإن هناك حاجة ملحة لتقييم وتحسين التصنيف العام والحالي على مستوى الأنواع لجنس *Dacus*.

1-7-2 مؤشرات دنا الماييتوكوندرية Mitochondrial DNA markers :

يُعد الحامض النووي الماييتوكونديري (Mitochondrial DNA (mtDNA المؤشر المفضل لإعادة بناء النماذج التاريخية للديموغرافيا السكانية Population demography ، الجغرافية الحيوية Biogeography والأنواع Species ، ومع ذلك كله فقد تمت الإشارة مؤخراً إلى أن طبيعة الاختبار المباشر وغير المباشر على

هذا الجُزء تجعل أي نتيجة مأخوذة من التباس في البحوث الخاص به لذا توصلت بعض الدراسات إلى نتيجة مفادها أنَّ الحامض النووي المايكوكونديري mtDNA هو مؤشر مناسب جداً لدراسة الأحداث التاريخية الخاصة بتطور وتصنيف الكائنات الحية عندما يُستخدم بمفرده لأي دراسة تصنيفية في هذا المجال (Madhumati ، 2014) ؛ ويعتمد التأكد من عينات لأنواع من الكائنات الحية على المؤشرات الوراثية وخصوصاً مؤشرات دنا المايكوكونديريا والتي تُعد الأكثر استخداماً في دراسة وتشخيص الأنواع نتيجة لمجموعة من الاسباب ومنها الاختلاف الواضح في تسلسل الحامض النووي المايكوكونديري mtDNA ، وإمكانية تضخيم دنا المايكوكونديريا بسهولة جداً من خلال مجموعة متنوعة من الاصناف الحيوانية بحيث يمكن الحصول على التسلسل بدون استنساخ ولأنه يحتوي على معدل تطوري عالي وحجم سكاني فعال جداً فإنه يبلغ ربع عدد المؤشرات النووية والسبب الآخر هو أنَّ هذا الجُزء يكون بمثابة منطقة وراثية يُمكن فيها إعادة التركيب وأنَّ له نفس تاريخ الأنساب الوراثية (McDonagh وآخرون ، 2016) ؛ وقد عُدَّ الحامض النووي المايكوكونديري كمؤشر الاختيار الأفضل في العديد من الدراسات السكانية والجغرافية الحياتية والتطور ، كما تمت التوصية باستخدامه في الدراسات التصنيفية لجميع المجموع الأنواع المشخصة حديثاً من خلال الرمز الشريطي Barcode الخاص به (Kalia وآخرون ، 2011) ، وقد أشار الكثير من الباحثين ومنهم Heather و Chain (2016) إلى أنَّ جينوم المايكوكونديريا هو أكثر المؤشرات الوراثية التي تحتوي على المعلومات الوراثية الخاصة بجميع أنواع الكائنات الحية ، أما أول ظهور للحامض النووي المايكوكونديري كمؤشر جزيئي فكان عام 1970 إلى أن ظهرت أخيراً تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل الـ (PCR) كنتيجة للتكنولوجيا الحديثة في مجال الوراثة الجزيئية (Brown و Hixon ، 2013) . أنَّ المميزات التي توجد في mtDNA فضلاً عن استعمال تقنية تفاعل أنزيم البلمرة المتسلسل أعطت الباحثين في مجال الأحياء القدرة على دراسة المجتمعات السكانية لجميع أنواع الكائنات الحية البدائية ذات الخلايا حقيقية النواة Metazoa بشكل فعال جداً (Ingvarsson و street ، 2011) ؛ وقد أشار Newell و Jannink (2014) إلى أنَّ الدنا المايكوكونديري يمتلك خصائص عديدة جعلت الكثير من علماء الوراثة الجزيئية يركزون على استعماله كمؤشر جزيئي مهم جداً في الدراسات التطورية للأنواع المختلفة من الكائنات الحية كما هو الحال في دراسة أنواع من المفصليات Arthropods ، وهذه الخصائص هي :

- 1- أنَّ حجم الـ Genome فيه صغير وتركيب الدنا غير معقد .
- 2- يتواجد في جميع أجزاء جسم الكائن الحي وفي جميع الكائنات الحية .
- 3- جميع نسخه تكون كبيرة لذا من السهولة عزله واستخلاصه بنقاوة عالية جداً .

4- يحتوي في تسلسله على النموذج المفرد والفعال .

5- عملية إنتقال جيناته تتم من خلال الأم عدا بعض الاستثناءات الفردية والقليلة جداً .

2-7-2 مؤشرات دنا النواة Nucleus DNA markers :

تُعد مؤشرات DNA من الأدوات المهمة التي ساهمت بشكل كبير في تطور الدراسات والبحوث وخصوصاً الجزيئية والغرض الأساسي منها هو التعرف على طبيعة وعمل الحامض النووي للنواة من خلال أنواع الجينات العائدة له ، وتمتاز هذه المؤشرات بالثبوتية ، إذ يمكن الحصول على نفس الطرز من الحزم عند تكرار نفس التجربة (حسين ، 2012) ، وقد ذكر Ipek وآخرون (2015) أن مؤشرات دنا النواة استخدمت في دراسة البصمة الوراثية ، التنوع الوراثي وإنشاء الخرائط الوراثية للعديد من الأنواع النباتية والحيوانية وكذلك الأحياء الدقيقة ، وقد أشار Nadeem وآخرون (2018) إلى أنه في وقت لاحق من بداية استخدام مؤشرات DNA النواة تم تطوير العديد مجسات المؤشرات الجزيئية مثل Satellite و Mini-satellite لتكون جزء من تسلسل الحامض النووي للنواة ، كما ذكر Yukiko وآخرون (2010) أن مؤشرات دنا النواة تمتاز بقدرتها على استهداف مواقع عديدة على جينوم الخلية الحيوانية والنباتية من خلال استخدام أنواع مختلفة من البادئات العشوائية والمتخصصة Random and Specific primers ومنها الجينين CAD و EF1-alpha ، وقد قام حمدان (2016) بإجراء دراسة تصنيفية مورفولوجية ووراثية جزيئية لذبابة ثمار القرعيات النوع *D. frontalis* في محافظتي البصرة وميسان باستخدام مؤشرات تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR) لدنا النواة ؛ ومن الدراسات الأخرى في هذا المجال الدراسة التي قام بإجرائها Kurt وآخرون (2012) بخصوص التعرف على عدة أنواع من الحشرات غير مكتملة الشفرة الوراثية الترميزية والعائدة لعائلة الـ Tephritidae ومنها النوعين *D. ciliatus* و *D. frontalis* باستخدام نوعين من مؤشرات الدنا وهما EF1-alpha و EF2-alpha ومقارنتها مع ماهو مثبت في المكتبات الجينومية عن ذبابة الفاكهة الأفريقية كحالة اختبار للتأكد من تلك المعلومات والتي لها أهمية في مجال التشخيص والتصنيف والمكافحة لأنواع هذه العائلة وبالتالي يمكن التعرف على طرق تشفير الـ DNA من خلال استعمال مؤشرات دنا النواة لجميع أنواع العائلة من ناحية طول المسافة الوراثية غير المكتملة في شريط الترميز للحامض النووي DNA barcoding .

2-7-3 طريقة التسلسل التتابعي Sequencing method :

أن طريقة الحصول على التسلسل التتابعي للحامض النووي DNA تعد واحدة من أهم مواد التحليل الوراثي المستعملة في معظم البحوث الوراثية المتقدمة ، إذ وجد أن لها دور كبير جداً في نجاح تلك البحوث فضلاً عن

كونها تهيئ جميع البيانات المهمة للتعرف على المراحل التطورية للجينات في جسم الكائن الحي بشكل واضح (Faham وآخرون، 2012)، وأشار Coletta-Filho وآخرون (2010) إلى أن التسلسل التتابعي للدنا هو تعيين الترتيب الواضح والدقيق للنيوكليوتيدات فيه وبالتالي فإن هذا التسلسل يُمكن استعماله في معظم الأبحاث الطبية والتشخيص الوراثي الجزيئي، وقد أصبح التسلسل التتابعي للأحماض النووية من السهولة والسرعة بالنسبة للحجم بحيث يُمكن استعماله لتعيين التسلسل الوراثي الجزيئي للجينات المفردة في المناطق الكبيرة (Logan وآخرون، 2013)، وقد شهد عام 2000 نهاية البحوث التي قام بها العديد من العلماء في مجال الوراثة الجزيئية والخاصة بإيجاد التسلسل التتابعي للحامض النووي DNA، وفي بداية عام 2002 تم الانتهاء من تحليل الجينوم الخاص بحشرة البعوض الناقل لمرض الملاريا (*Anopheles* (Meigen, 1818)، لذا توسعت قدرة العلماء على تحديد الجينات المهمة في عملية التحوير الوراثي لأنواع من الحشرات المهمة إقتصادياً (جواد، 2012)، وقد درس Jennie وآخرون (2012) علاقة التعايش الداخلي بين الميكروبات الممرضة للنبات والحشرات الناقلة لها عن طريق دراسة التسلسل التتابعي للحامض النووي DNA واستخدامه في المقارنة بينهما كما في العلاقة بين ممرض الحمضيات *Liberibacter asiaticus* وذبابة الحمضيات النوع *Diaphorina citri*، إذ تم تضخيم الدنا المأخوذ من 21 شجرة حمضيات باستعمال البادئ العمومي Universal 16S rRNA مع خليط من صفات تفاعل الـ PCR وبرنامج التسلسل المسمى Illumina وعينة منه مؤلفة من 7 قواعد نيروجينية وقد وجدوا أن التسلسل التتابعي يحدد الآثار السلبية والإيجابية لعلاقات التكافلية بين الحشرات الناقلة والميكروبات التي تعيش داخل أجسامها، وذكر التميمي (2016) في المقارنة بين مجتمعات الذبابة الحلزونية للعالم القديم *Chrysomya bezziana* المجموعة من شمال العراق ووسطه وجنوبه من ناحية التسلسل التتابعي للجين White gene الذي بلغ طوله 617bp زوجاً قاعدياً والجين Cytochrome b (CB) الذي بلغ طوله 556bp زوجاً قاعدياً أن هناك تنوع وراثي بسيط بين العينات المجموعة من الشمال والوسط والجنوب بشكل طفرات نقطية من نوع الحذف والاستبدال والإضافة، كما درس القرعغولي (2013) التسلسل التتابعي للجين (CoII) في دنا الميتوكوندريا mtDNA لذبابة ثمار القرعيات *D.ciliatus* المجموعة من ثلاثة مناطق في وسط العراق ووجد أن هناك تنوع وراثي بسيط بين عينات المناطق الثلاثة نتيجة لحدوث طفرات نقطية في أزواج القواعد النيروجينية عند إجراء عملية المقارنة مع عينة بنك الجينات.

8-2 التشخيص بالاعتماد على المقياس الهندسي لشكل الجناح وتركيبه في الحشرات

: The identification depending on the geometric morphometric of wing

في الماضي كانت أجنحة الحشرات موضوعاً للقياس والتحليل الهندسي كونها ملفتة للانتباه بشكل خاص ومميز ، إذ يمكن التعامل معها بالحقائق البيولوجية في بُعدين هندسيين فقط (Kandemir وآخرون ، 2011) . ويمكن أن تساعد المقاييس الهندسية لشكل الجناح وحجمه في توصيف المجموعات ضمن الأنواع كما يتضح من تحليل التباين الجغرافي في المجموعات السكانية (Vasques و Liria ، 2012) ، فضلاً عن ذلك وحتى لو كانت بهذه الأهمية يجب تعزيزها في أي دراسة لهذا الجانب بمؤشرات إضافية حتى تعطي نتائج واضحة ودقيقة جداً تظهر فيها الصفات المظهرية لأي نوع من الحشرات بشكل بيانات رقمية لا لبس فيها ومقارنة تلك النتائج مع التصنيف التقليدي (Traditional taxonomy) (Vijayakumar و Jayaraj ، 2013) ، أن المقياس الهندسي لشكل الجناح الظاهري وحجمه هي تقنية حديثة نسبياً أدت إلى نتائج قيمة في العديد من مجالات القياس المظهري الكلاسيكي ، إذ تتضمن الميزة الرئيسية للأطوار الهندسي لها في الاستخدام الشامل للمعلومات التي توفرها مجموعة من المعالم Landmarks حول الشكل الظاهري لجناح الحشرة (De Vries وآخرون ، 2010) ، وقد أشار Catalano وآخرون (2010) إلى أن الاختلافات في أجزاء جسم الحشرة بما فيها الجناح لها نتائج مهمة جداً من ناحية التطابق وصحة بيانات القياس لأنها يمكن أن تؤثر في نجاح قدرتها على الاستيطان في المناطق مختلفة البيئات وقلت انتشار فعاليات أفتراسها من حيوانات أخرى ونجاح عملية التكاثر لأنواعها المختلفة ، لذا فإن الهدف الأول والأهم من استعمال المقياس الهندسي التحليل الإحصائي للعديد من الفرضيات التي تعود إلى العوامل المؤثرة على الشكل المظهري في أي نوع من أنواع الحشرات المدروسة (Wells وآخرون ، 2018) . أن الدراسة في الجانب الوراثي الكمي باستخدام المقياس الهندسي توفر نسبة عالية جداً في الدقة من ناحية المقارنة بين الأشكال المظهرية للأنواع استناداً إلى العامل الجغرافي عند دراسة الأحياء المتغيرة بشكل مستمر (Combey وآخرون ، 2013) ؛ ويتضح من كل ما تقدم أن استعمال المقياس الهندسي يشير بوضوح إلى التحليل الوراثي الكمي للشكل الظاهري والحجم المتري معاً لأنواع من الكائنات الحية ، وبالتالي فإن له أهمية كبيرة في تحليل تأثير الطفرات الوراثية Genetic mutations والعوامل البيئية على الشكل الظاهري للأنواع (Francoy وآخرون ، 2012) .

2-8-1 أنواع المقياس الهندسي لشكل الجناح وتركيبه :

صُنف المقياس الهندسي لشكل الجناح وحجمه إلى أربعة أنواع رئيسية وهي :-

أولاً : المقياس الهندسي التقليدي Traditional geometric morphometric.

ثانياً : المقياس الهندسي المعتمد على المعالم Landmarks-based geometric morphometric.

ثالثاً : المقياس الهندسي المعتمد على التراكب Procruste-based geometric morphometric.

رابعاً : المقياس الهندسي المعتمد على المخطط Rein).utline-based geometric morphometric.

(Harvati ، 2014) .

2-8-2 المقياس الهندسي المعتمد على المعالم Landmarks-based geometric morphometric :

نظراً إلى أن الصفات المورفولوجية لجميع الحشرات تخضع بشكل تام إلى التأثيرات الهندسية والبيئية المختلفة ، لذا فإن التباين في السمات المورفومترية يوفر معلومات مهمة جداً عن العديد من الجوانب الحياتية للحشرات (Kanojia وآخرون ، 2010) ، وقد تتناول الدراسات المتعلقة بهذا النوع من المقاييس الهندسية للجناح البيانات ذات الصلة بخصوص التشخيص الصحيح والدقيق للأنواع وفي وصف التنوع السكاني لها ، أن الأجنحة هي التراكيب الممتازة لدراسة الاختلافات المظهرية لأن تقاطعات العروق توفر العديد من المعالم أو الإحداثيات Landmarks المحددة جيداً والمناسبة للقياسات الشكلية فضلاً عن أن الخواص المترية توفر معلومات كمية دقيقة للتعرف على الحشرات (Boontop وآخرون ، 2017) ، ويستند هذا النوع من المقاييس على المعالم والتي هي عبارة عن نقاط يتم فيها أخذ عينات من التراكيب البيولوجية ، إذ تنتج هذه النقاط وصفاً هندسياً دقيقاً لتراكيب الشكل في النوع المدروس (Sendaydieg وآخرون ، 2013) ؛ أجرى العديد من علماء الحشرات أعمال تستحق التقدير على أجهزة المقاييس الهندسية الخاصة بهذا النوع لدراسة أجنحة أنواع مختلفة من الحشرات (Vidal وآخرون ، 2011؛ Vidal ، 2012؛ Dhivya و Manimegalai؛ Chhilar ، 2014) . أن الأهمية الكبيرة لدراسة التباين الهندسي في أجنحة الحشرات دفعت بالعلماء والباحثين في هذا المجال إلى استخدام هذا النوع في معظم الدراسات الوراثية الكمية للحصول على أدق المعلومات كونه يمتلك بيانات تقليدية ثنائية الأبعاد 2D ، إلا أن التطور التقني والتكنولوجي الكبير في مجال التصوير جعل من هذا النوع من المقاييس الهندسية يمتلك بيانات ثلاثية الأبعاد 3D وبدرجة عالية جداً من الدقة والوضوح ، لذا استخدمت مع أصغر التراكيب في جسم الحشرات (Singleton وآخرون ، 2011) ، أن المعالم التي يستند إليها هذا النوع تصنف إلى ثلاثة أنواع رئيسية حسب ما جاء في (Park وآخرون ، 2013) وهي :

- 1- المعالم ذات الهياكل المغلقة أو النقاط القريبة ، كما في تقاطع العروق الطولية مع العروق المستعرضة في الجناح المحاط من كل جوانبه بطبقة كثيفة من الأنسجة .
- 2- النقاط البعيدة جداً عن الإحداثيات بحيث توجد مسافة معينة بين كل نقطة وأخرى كما في النهايات الخاصة بالعروق الطولية لجناح الحشرة .
- 3- يتضمن هذا النوع عدة نقاط وهي قمة الهيكل أو الموضع الذي يكون قريباً جداً إلى حدود النقيس وتسمى المعالم في هذا النوع أحياناً بالنقاط القريبة ، لكنها لا تكون محاطة بالأنسجة من كل الجوانب وهذه خاصية تتميز بها ، وهناك نوع رابع يمكن أن يضاف إلى الأنواع أعلاه يعرف بشبه الإحداثيات أو المعالم Semilandmarks الذي يتمثل بنقاط تتواجد بشكل عشوائي على طول منحنى الجناح مما يوفر معلومات دقيقة وواضحة جداً عن الانحناء ثنائي الأبعاد (Wang وآخرون، 2011) ؛ وفي أحياناً كثيرة معلومات مهمة عن الشكل ثلاثي الأبعاد (Dujardin وآخرون ، 2010) ، ومن الدراسات التي أجريت باستخدام هذا النوع من المقاييس الهندسية الدراسة التي أجراها Webster و Sheets (2010) بشكل مقدمة بينوا فيها أهمية وعمل المقياس الهندسي المعتمد على المعالم ، إذ عرّفوا من خلالها هذا النوع من المقاييس على أنه أداة قوية وفعالة جداً في قياس الشكل المظهري وتغير شكل الكائن الحي مع المتغيرات والعوامل الأحيائية Biotic وغير الأحيائية Abiotic ، وتُعد تلك الدراسة مقدمة لتوضيح تأثير التقنيات الهندسية الاستكشافية على أهمية المقاييس الهندسية القائمة على المعالم كونها تتناول القضايا التي يهتم بها علماء المُتَحَجَرَات خلال دراستهم الشكل المقارن بأخذ المعالم وشبه المعالم لإزالة الفرق بين التركيب في الموقع والحجم عند القياس ، ودرس Mondal وآخرون (2015) استخدام المقياس الهندسي لشكل الجناح المعتمد على المعالم في التمييز بين أنواع معينة من جنس بعوض *Aedes* (Meigen, 1818) في مقاطعة Dehradun الهندية وتوصل الباحثون في تلك الدراسة إلى وجود فروق معنوية بين شكل الجناح للعينات المأخوذة من مناطق مختلفة من المقاطعة ، ومن خلال هذا التباين في شكل الجناح وحجمه تمّ تشخيص أكثر من نوع للحشرة المدروسة في مجمل مناطق المقاطعة .

الفصل الثالث

المواد وطرائق العمل

Materials and Methods

3- المواد وطرائق العمل : Materials and Methods

1-3 المواد : Materials

1-1-3 الأجهزة والأدوات المستخدمة في هذه الدراسة :

جدول (1) الأجهزة والأدوات والمواد المستخدمة والشركات المصنعة والمنشأ

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

الشركات المصنعة والمنشأ Company and origin	اسم الجهاز والأداة Apparatus and Tool Name	ت
hp- China	حاسوب Laptop	18
Labnet Edison NJ – U.S.A	جهاز البلمرة الحراري (Thermal Black) PCR	19
Sailbrand - China	شرائح زجاجية Slides	20
Pakistan	طقم تشريح Dissecting Set	21
U.A.E	شريط ورقي لاصق (G2100) Adhesive bandage paper	22
Germany	دورق زجاجي مدرج Approx .500 ml	23
Germany	أنابيب زجاجية مدرجة مختلفة الأحجام Cytoglas.500ml,100Ml , 50ml	24
Ideen Welt –China	جهاز لقياس الحرارة والرطوبة Outdoor Thermometer	25
Plastilap – China	إطباق بتري Petri Dishes + علب بلاستيكية شفافة مختلفة الأحجام	26
Plastilap – China	أقداح بلاستيكية ذات أغطية 100 ml + حاويات بلاستيكية شفافة حجم 5 لتر	27
Safe Pack – U.S.A	قفازات طبية Medical Gloves	28
Turkey	قنينة بلاستيكية شفافة لجمع العينات 1000.g	28
محلية الصنع	صناديق زجاجية ذات هيكل مصنوع من الألمنيوم (40 x 40 x 40) سم ³	29
محلية الصنع	كالح ذرة Corn atom	30
Kardelen – Turkey	قطن طبي Medical Cotton	31
Turkey	منضدة خشبية ذات هيكل حديدي (100 × 180) سم ²	32

الشركات المصنعة والمنشأ Company and origin	اسم الجهاز والأداة Apparatus and Tool Name	ت
Spartan – Jordan	مرشة ماء بلاستيكية شفافة (760 . ml)	33
Spartan – Jordan	قنينة ماء بلاستيكية شفافة (200 . ml)	34
QG – Qater	حُقن طبية 10 . ml Medical Injection	35
Syria	ورق برفين (سيليفون)	36
Bio Basic INC – Canada	Micro tubes 10.01	37
Bio Basic INC – Canada	Tip rackc sterile BT 222- RS100-1000ul	38
Bio Basic INC – Canada	Eppendrof tube steriale 1.5 ml (100)	39
Bio Basic INC – Canada	PCR rack tube	40
Bio Basic INC Canada	Rack Eppendrof 100 sample	41
Germany	جهاز التريذ Bottle spraying	42
UTV-Bolanda	المزدوج الحراري Thermocouple	43
USA-Dwyer	ضاغطة هواء Air compressor	44
USA	مقياس التدفق Flowmeter	45
Japanes-Origing	جهاز حيود الأشعة السينية Shimadzu XRD	46
Angestrom, Advance inc- USA	مجهر القوة الذرية AFM	47
Angestrom, Advance inc-USA	المجهر الإلكتروني الماسح SEM	48

3-1-2 المحاليل والمواد الكيميائية المستخدمة في هذه الدراسة :

جدول (2) المحاليل والمواد الكيميائية والأصل أو المنشأ

الأصل أو المنشأ	المحاليل والمواد الكيميائية	ت
Geneaid – Taiwan	(Tissue) Genomic DNA Mini Kit Gs100 Prep	1
Bio Basic INC – Canada	Agarose AB 0013 50 mg	2
Bio Basic – Canada	TBE A0026 10 x1L	3
Bioneer – Korea	100 bp DNA Ladder D- 1030 250 ul	4
Bioneer – Korea	PCR Premix K-2012 0.2 ml / 20 ul rxns / 96 tube	5
Bioneer – Korea	D.D water	6
Bio Basic – Canada	Ethidium bromide Solution Do 177 . 5 ml	7
Bio Basic INC – Canada	Loading Dye صبغة تحميل	8
Kuwait	(100%) Distilled Water ماء مقطر	9
Bioneer – Korea	Specific primers بواقي متخصصة	10
Iraq	Sugary solution (10 %) محلول سكري	11
Iraq	(96 %) Ethyl Alcohol محلول ايثيلي Absolut Ethanol	12
USA	Nanomaterials مواد نانوية	13
USA	Malathion (الملاثيون) مبيد حشري	14
China	NH ₄ أمونيا	15
China-Shanghi	Mg(NO ₃) ₂ نترات المغنسيوم	16
USA-Dopnit	Ti(NO ₃) ₄ نترات التيتانيوم	17

3-1-3 أنواع المواد النانوية المستخدمة في الدراسة :

جدول (3) المواد النانوية Nanomaterials الأصل أو المنشأ

ت	المادة	الأصل أو المنشأ
1	أكسيد المغنسيوم 99% , 20 nm MgO	USA Research-Nanomaterials, Inc
2	أكسيد التيتانيوم 99.5% , 10-30 nm Tio ₂	Skyspring-Nanomaterials, Inc

3-1-4 محتويات غدة استخلاص الـ DNA :

جدول (4) محتويات Genomic DNA Minikit (Tissue) الأصل أو المنشأ

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

2-3 طرائق العمل Methods :

3-2-1 تربية الذبابة مختبرياً :

تم الحصول على 40 عينة من كاملات كلا النوعين بواقع 20 عينة لكل نوع (10 ذكور + 10 إناث) بالإضافة إلى ثمار مصابة تحتوي على الدور اليرقي لكلا النوعين من مختبرات دائرة البحوث الزراعية وزارة العلوم والتكنولوجيا لغرض تربيتها تحت ظروف بيئية مسيطر عليها تناسب نمو كل دور من أدوار حياتها المختلفة في مختبر تربية الحشرات التابع لقسم علوم الحياة / كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة ديالى لغرض الحصول على أجيال مختلفة منها ؛ وهذه الأدوات والمستلزمات تشمل مفرغة هواء وأجهزة تكييف نوع LG للتحكم بدرجة الحرارة والرطوبة ، كذلك يحتوي المختبر على نوافذ 1.5 × 1.5م² ومصابيح إضاءة عدد 10 ومناضد من الألمنيوم

(180×100) سم² عدد 3 توضع عليها أقفاص التربية فضلاً عن جهاز Outdoor Thermometer لقياس درجة الحرارة والرطوبة النسبية داخل وخارج أقفاص تربية الحشرات ولكي نتمكن من إتمام جميع متطلبات تربية كلا النوعين ، جُهِز المختبر بما يلي :-

أعدت أقفاص من الزجاج العضوي الشفاف (بيريلكس) 1.5 ملم ذات أبعاد 40×40×40 سم³ مفتوحة من الأعلى ومغطاة بقماش أبيض شفاف لغرض دخول الهواء ، بالإضافة إلى ذلك تم تحويل إحدى الأوجه في كل قفص لعمل (كُم) من قماش الململ الأبيض بطول 45 سم وقطر 20 سم من أجل التحكم بمحتويات القفص وإدامة المستعمرة ، وقد تم تثبيت كل قفص داخل هيكل من الألمنيوم بأبعاد 41×41×41 سم³ حسب ما جاء في (Sabbour و Shaurub ، 2018) بعد إجراء بعض التحويلات عليها واختلاف نوع الحشرة التي تعود لنفس الرتبة والعائلة ، وضعت داخل كل قفص كمية من كالح الذرة لكي تتعذر فيها اليرقات كاملة النمو وبارتفاع 1.5 سم (Dominiak و Nicol ، 2010) ، وضعت الأقفاص تحت درجة حرارة 25±2 م° ورطوبة نسبية تتراوح بين 65-70% وفترة إضاءة تتراوح بين 8-16 ساعة إضاءة وظلام ، إذ وزعت الكمالات من الذكور والإناث مع الثمار المصابة بكل في أقفاص التربية وحسب القفص المخصص لكل نوع ، إذ تم تثبيت وتسجيل البيانات على كل قفص ؛ واستعملت أطباق بتري ذات قطر 12 سم وعمق 2 حيث وضع في داخلها 3 غرام من سكر المائدة الممزوج مع 1 غرام من خميرة الخبز الجافة ووضعت الأطباق داخل كل قفص من أقفاص التربية لكلا النوعين ، كما وضع أيضاً في كل قفص أطباق تحتوي على القطن الطبي المشبع بالمحلول السكري 10% والذي خُصِرَ بإضافة 10 غرام من مسحوق السكر إلى 100 مل ماء مقطر ، كما زودت الأقفاص بثمار القرع والخيار الطازجة وبواقع 10 ثمرات في كل قفص لكي تضع الإناث البيوض فيها وتكون وسطاً لنمو الأُدوار اليرقية الثلاثة للحشرة ، تم تبديل الثمار التالفة بأخرى طازجة غير مصابة وكذلك المحلول السكري والسكر مع الخميرة كل 3 أيام لغرض إدامة المستعمرات السكانية للنوعين ، كما يتم يومياً رش كالح الذرة بالماء بواسطة مرشة ماء يومياً بلاستيكية لغرض المحافظة على نسبة الرطوبة والتحكم بدرجة الحرارة المناسبة لنمو أُدوار الحشرة ولتقليل مدة التعذر لليرقات الناضجة والتي تتراوح بين 5-7 أيام (حمدان ، 2016) ، وبعد يومين من خروجها نُقلت 40 عينة من كمالات الجيل الأول لكل نوع (20 ذكر و 20 أنثى) إلى أقفاص تربية جديدة أعدت لهذا الغرض وقُدِّم لها المحلول السكري مع الخميرة والسكر الجاف فضلاً عن ثمار القرع والخيار الطازجة لغرض الحصول على جيل آخر وبنفس الخطوات حتى خروج كمالات الجيل الثاني ، إذ نُقلت منها 40 عينة لكل نوع إلى أقفاص جديدة وإعادة خطوات

عملية التربية مرة أخرى لإكثار أعداد الحشرات والحصول على يرقات وعذارى وبالغات الجيل الثالث الذي أجريت عليه جوانب الدراسة الثلاثة المتعلقة بالمكافحة والدراسة الجزيئية والكمية .

2-2-3 تحضير دقائق MgO وTiO₂ النانوي بطريقة المحلول الغروي Solution gel :

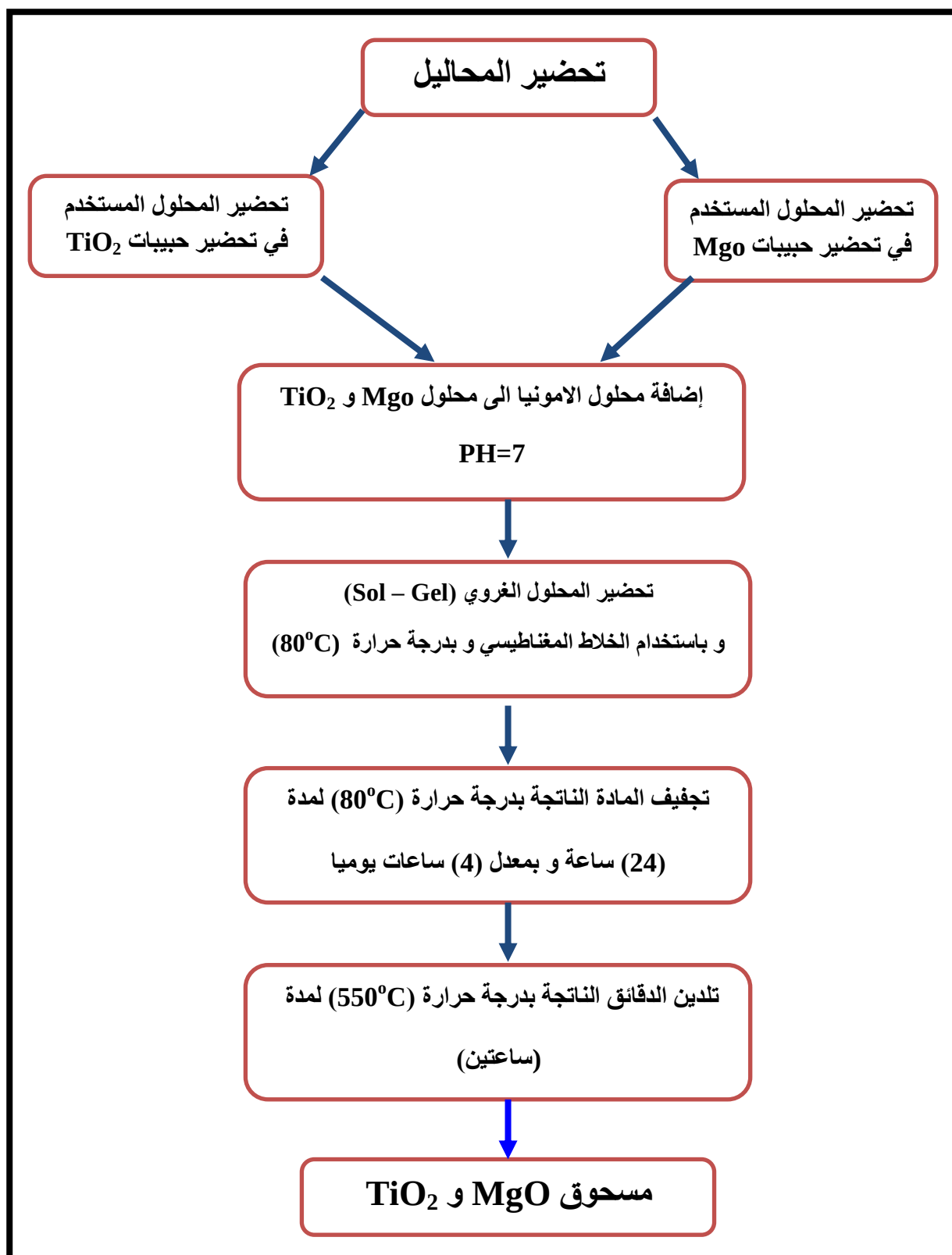
تم تحضير دقائق MgO وTiO₂ النانوية التركيب وفق ما جاء في محمد (2015) وبإتباع الخطوات التالية:-

1- تهيئة المحلول المستعمل في تحضير الدقائق النانوية للمادتين من خلال تحضيره بطريقة Sol-Jel ، إذ استخدمت مادتي كلوريد المغنسيوم المائية MgCl₂5H₂O وكلوريد التيتانيوم المائية TiCl₂5H₂O ، وكما موضح في المخطط (الشكل: 1) .

2- إضافة محلول الأمونيا ، بعد الانتهاء من عملية الإذابة يتم قياس الـ PH للمحلول المحضر والذي كان مقداره يساوي 1.4 ولغرض الوصول إلى محلول متعادل يتم إضافة مادة الأمونيا NH₄OH بتركيز 25% وبشكل قطرات متواصلة على المحلول المحضر مع استمرار تسخين وخلط المحلول وقياسه بواسطة شريط ورقي خاصة حتى الوصول إلى المحلول المتعادل PH=7 وتحوله إلى اللون الأبيض .

3- تحضير المحلول الغروي Solution gel بعد أن يصبح هذا المحلول متعادل يتم تشغيل درجة الحرارة للخلط المغناطيسي حتى تصل درجة حرارته إلى 80 م° بعدها تم تثبيت درجة الحرارة وترك المحلول على الخلط المغناطيسي لفترة زمنية تمتد من 40-50 دقيقة لحين تبخر السائل تدريجياً ويتحول إلى هلام ، بعدها تم تجفيفه بشكل بطيء باستعمال مجفف كهربائي Dryer لمدة أربعة أيام وبمعدل 6 ساعات يومياً وبدرجة حرارة 80 م° إذ تبقى النواتج داخل المجفف حتى بعد قطع التيار الكهربائي لغرض التخلص من كل الجزيئات المائية والسوائل الأخرى العالقة ليصبح الهلام Gel بشكل مسحوق .

4- تليدين المساحيق الناتجة ، وتجرى هذه العملية بعد وضع تلك الدقائق في الفرن الكهربائي بدرجة حرارة تصل إلى 550 م° لمدة ساعتين لغرض التخلص من كل الجزيئات المائية والسوائل الأخرى العالقة ، تترك بعد ذلك الدقائق داخل الفرن بعد انتهاء الوقت المحدد لعملية التليدين ولمدة 24 ساعة حتى تصل درجة حرارته إلى درجة حرارة الغرفة بعدها نحصل على حبيبات المغنسيوم MgO والتيتانيوم TiO₂ النانوية بتطبيق طريقة التحضير لكلتا المادتين على حدة كما في دراستنا الحالية .

شكل (1) الخطوات المتبعة في تحضير دقائق (TiO_2 و MgO) النانوية

3-2-3 معاملة الأنواع المدروسة بالمواد النانوية :

أُتبعَت طريقة Sabbour و Shaurub (2018) في المعاملة المختبرية للنوعين *D. ciliatus* و *D. frontalis* باستخدام مادتي أكسيد التيتانيوم النانوية TiO_2 وأكسيد المغنسيوم النانوية MgO بعد خلطها مع المبيد الحشري الملاثيون وإضافة لتر واحد من الماء المقطر بتركيز 0.125 ، 0.250 و 0.500 nm على التوالي لكلتا المادتين وكلاً على حدة ، ثم وضع الخليط في قناني بلاستيكية شفافة بحجم 1.5 لتر ، إذ بدأت المعاملة بأخذ اليرقات الأكثر تطوراً والتي تسقط من الثمار المصابة بعد مرور 7 أيام على الإصابة بواسطة ملقط ووضعها في 5 علب بلاستيكية شفافة ذات أغشية مثقبة لتسمح بمرور الهواء تحتوي بداخلها قطن طبي لغرض التعذر لكل تركيز ولكلا النوعين ، إذ أصبح لدينا 15 علبة لكل نوع وثلاثة تراكيز تحتوي كل علبة على 5 عينات ، وتمت المعاملة بالتراكيز الثلاثة أعلاه لمعرفة أي منها هو التركيز النصف قاتل والتركيز القاتل ، وبعد ذلك جرى مراقبة العينات لمعرفة أعداد اليرقات المتعذرة والهالكة بعد المعاملة ، أما بالنسبة لعذارى النوعين فقد تمت معاملتها بالتراكيز الثلاثة بعد وضع 5 عينات في كل علبة من العلب الخمسة المخصصة لكل تركيز وبعدها تم مراقبتها أيضاً لمعرفة نسبة الهلاكات ونسبة البزوغ لها ، في حين أن المعاملة للكاملات تمت من خلال أخذ 3 عينات ذكرين وأنثى واحدة ووضعها داخل حاويات بلاستيكية شفافة حجم 5 لتر وبواقع 5 حاويات لكل تركيز تحتوي بداخلها على طبق بتري وهذا بدوره يحتوي على السكر الممزوج بالخميرة الجافة وطبق بتري آخر يحتوي على قطن طبي مشبع بالمحلول السكري 10% ، إذ رش الوسط الغذائي للعينات في كل حاوية بمواد المكافحة بعد ذلك جرى مراقبة جميع العينات لمعرفة الهلاكات بعد المعاملة لكل تركيز من التراكيز الثلاثة المستخدمة ، كما وضعت حاويتين بلاستيكية شفافة لكل نوع ولكل مادة من المواد النانوية المستخدمة في المعاملة تحتوي على الوسط الغذائي والمحلول السكري وثمار القرع وثلاثة عينات لكلا النوعين كمعاملات سيطرة Control تمت المعاملة في الأولى بالمبيد الحشري الملاثيون فقط والثانية بالماء فقط وبعد ذلك تمت المقارنة بين العينات المعاملة في الحاويتين لكل نوع على حدة لمعرفة مدى تأثير وفعالية المبيد الحشري في حالة المكافحة به فقط والمعاملة بعد مزجه بالمادة النانوية ، وبعد انتهاء المعاملة لليرقات والعذارى والكاملات لكلا النوعين سجلت النتائج في عدة جداول خاصة أعدت لغرض التحليل الإحصائي .

3-3 الدراسة الوراثية الجزيئية Molecular Genetic Study :

1-3-3 استخلاص الدنا DNA Extraction :

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

2-3-3 محاليل استخلاص الدنا Buffers in DNA Extraction :

GST Buffer 200 μ L

Proteinase K 20 μ L

GSB Buffer 200 μ L

Absolute Ethanol 200 μ L

W1 Buffer 400 μ L

Wash Buffer 600 μ L

Elution Buffer 50 μ L

3-3-3 طريقة الاستخلاص :

1- أخذت الحشرة الكاملة وتم وضعها في أنبوبة أبندروف حجمها 1.5 مل .

2- أضيف 200 مايكروليتر من GST Buffer إلى الأنبوبة التي تحتوي على الحشرة ، وسحقت الحشرة جيدا باستعمال الـ Micropipette .

3- بعد سحق الحشرة ، أضيف إليها 20 مايكروليتر من Proteinase K داخل الأنبوبة ثم وضعت الأنبوبة في جهاز الرج Vortex لمزج المكونات فيها ولمدة 30 ثانية ، بعد ذلك حُضنت الأنبوبة في حمام مائي بدرجة حرارة 60 م° ولمدة 30 دقيقة مع الرج المستمر للأنبوبة كل 5 دقائق طيلة فترة التحضين .

4- بعد الانتهاء من عملية التحضين ، وضعت الأنبوبة في جهاز الطرد المركزي بسرعة 14000 دورة في الدقيقة ولمدة دقيقتين فقط .

5- بعد انتهاء عملية الطرد المركزي استخرجت الأنبوبة من الجهاز وسحب السائل منها فقط ، ثم وضع في أنبوبة أبندروف جديدة بواسطة Micropipette وأضيف إليها 200 ml كحول أيثانول 70% بارد لغرض ترسيب الدنا .

6 - أضيف 200 مايكروليتر من GSB Buffer إلى الأنبوبة الجديدة مع الرج لمدة 10 ثواني .

7- بعد ذلك نقلت المكونات الى أنبوبة GD Column حجمها 2 مل تحتوي على فلتر ترشيح ، وتم إعادة عملية الطرد المركزي بسرعة 14000 دورة في دقيقة ولمدة دقيقة واحدة فقط .

8- بعد الانتهاء من الطرد المركزي ، أخرجت الأنبوبة وسحب منها الفلتر فقط ووضع في أنبوبة GD Column جديدة .

9- أضيف 400 مايكروليتر من W1 Buffer الى الأنبوبة ، ثم وضعت في جهاز الطرد المركزي بسرعة 14000 دورة في دقيقة ولمدة دقيقة واحدة فقط .

10- بعد الانتهاء من عملية الطرد المركزي تم التخلص من السائل المتجمع أسفل فلتر الترشيح داخل الأنبوبة بعدها أضيف 600 مايكروليتر من Wash Buffer اليها ووضعت في جهاز الطرد المركزي مرة أخرى بسرعة 14000 دورة في دقيقة ولمدة دقيقتين فقط لغرض التجفيف .

11- بعد انتهاء عملية التجفيف تم التخلص من أنبوبة GD Column وأخذ منها فلتر الترشيح فقط ووضع في أنبوبة أبندروف جديدة .

12- أضيف 50 مايكروليتر من Elution Buffer إلى أنبوبة أبندروف التي تحتوي على فلتر الترشيح ، وبعد ذلك وضعت الأنبوبة في جهاز الطرد المركزي بسرعة 14000 دورة في الدقيقة ولمدة دقيقة واحدة فقط .

13- أخرجت الأنبوبة بعد الانتهاء من عملية الطرد المركزي ، إذ شوهد ترسب الـ DNA فيها بشكل مادة جيلاتينية عديمة اللون ، بعد ذلك تم إجراء عملية الترحيل الكهربائي للـ DNA المستخلص على هلام الاكاروز للتأكد من وجوده ، بعد ذلك حُفظت عينات الدنا في درجة حرارة 4-م° لحين إجراء الدراسات المطلوبة عليه .

3-3-4 تقدير نوعية الـ DNA المستخلص : Extracted DNA quality estimation

تم تقدير نوعية الـ DNA المستخلص عن طريق ترحيل 4 عينات لكل نوع على هلام الأكاروز وبحسب ما جاء في (Rouhani وآخرون ، 2012) ، وقد كانت نقاوة الـ DNA في جميع العينات تتراوح بين 1.8-2 نانومتر .

3-3-5A تحضير المحاليل المستخدمة :

1- محلول TBE Buffer ، تم تحضير هذا المحلول من المواد التالية :

(0.89M Tris-borate, 0.88MBoric acid, 20Mm EDTA, PH 0.8)

2- صبغة التحميل Loading Buffer حُضرت من المواد التالية:

(0.25gm Promphenol Blue in 50ml D.W, 30ml Glycerol) ، وأكمل الحجم لغاية 100مل بإضافة

الماء المقطر .

3- صبغة بروميد الاثيديوم Ethidium Bromide .

حُضرت هذه الصبغة من إضافة واحد غرام من بروميد الاثيديوم الى 100مل ماء مقطر في قنينة زجاجية معقمة وبدرجة حرارة 5م°، ويجب الحذر عند استخدام هذه المادة لأنها مادة مطفرة ومسرطنة وعالية السمية وأحياناً قاتلة إذا تم استنشاقها أو إمتصاصها عبر الجلد ، لذلك يجب إرتداء القفازات الطبية عند استخدامها أثناء القيام بعملية الترحيل الكهربائي للكشف عن الـ DNA (Al-Hussaini ، 2016) .

B-5-3-3 خطوات الترحيل الكهربائي على هلام الاكاروز Gel Electrophoresis :

- 1- حُضر هلام الترحيل بوزن 1غم من الأكاروز بواسطة ميزان كهربائي حساس ثم وضعت الكمية الموزونة في دورق زجاجي مدرج بحجم 500 مل ، يحتوي على كبسولة صلبة Stirrer لغرض مزج المكونات أثناء التسخين .
- 2- أضيف 450 مل من الماء المقطر الى أنبوبة زجاجية مدرجة بحجم 500 مل ثم أكمل الحجم بإضافة 50 مل من محلول TBE Buffer 10X بواسطة أنبوبة زجاجية حجمها 50 مل .
- 3- أخذ من الخليط 100مل بواسطة أنبوبة زجاجية مدرجة حجمها 100مل ، وأضيف الى الدورق الزجاجي ثم وضع الدورق بمحتوياته على جهاز الإذابة Hot Plate Stirrer بدرجة حرارة 100م° ، وغطيت فوهة الدورق بورق السيليفون لمنع التبخر أثناء التسخين واستمرت عملية إذابة الهلام الى أن أصبح السائل رائقاً جداً وبدون أي فقاعات .
- 4- ترك الهلام المذاب ليبرد الى درجة حرارة من 40-50م° بعد ذلك أضيف الى الدورق 5 مايكروليتر من صبغة Ethidium bromide ، بعدها سُكب الهلام المذاب في حوض بلاستيكي لصب الهلام برفق وبشكل مستمر لمنع حدوث أي فقاعات وتُرك لكي يتصلب بعد وضع مشط بلاستيكي في مقدمة الحوض لعمل خُفر في الهلام لغرض وضع عينات الدنا فيها .
- 5 - بعد تصلب الهلام تم رفع المشط منه ثم رُفع الهلام من حوض الصب برفق ووضع في حوض جهاز الترحيل الكهربائي الذي تم غمره بمحلول TBE بقوة 1X .
- 6- وضع 2 مايكروليتر من صبغة التحميل على ورق السيليفون لكل عينة ومُزج مع 5 مايكروليتر من DNA كل عينة .
- 7- وضعت العينات في الخُفر الموجودة في الهلام ، مع مراعاة عدم خروج أي عينة خارج سطح الخُفرة .
- 8- وَصَلت أقطاب جهاز الترحيل الكهربائي وجهاز بقدر 100 فولت .
- 9- تم توقيت جهاز الترحيل الكهربائي لمدة 30 دقيقة .

10- أوقفت عملية الترحيل بعدَ انتهاء الوقت المحدد لها .

11- رُفَعَ الهُلام بعناية من حوض جهاز الترحيل الكهربائي ووضع على جهاز الأشعة فوق البنفسجية U.V لمشاهدة حُزم الـ DNA وتقدير حُجمها بعدَ إطفاء الإضاءة لمشاهدة تَوَهِج الحُزم بشكل أفضل (Moreau, 2014).

3- 3- 6 تفاعلات أنزيم البلمرة المتسلسل الـ PCR :

طُبقت هذه التقنية بإتباع الخطوات الآتية :-

3-3-6-1 استخدام ثلاث بوادئ متخصصة Specific primers وهي : EF1-alpha, CAD, و COI التي تقوم

بترتيب القواعد النروجينية بتسلسل محدد والتي صنعتها شركة Bioneer – Korea

جدول (5) البوادئ المستخدمة وتسلسلاتها (تصميم الباحث)

NO	Primer Name	Primer Sequences	Band size
1	COI	F-Primer TGCTGAATTAGGACACCCCG R-Primer GTCCTCCGTGAGCA ATGAT	350bp
2	CAD	F-Primer TGAGTCACCCTCACATTGGC R-Primer CCGCAATCGATCGCACAAAT	310bp
3	EFA 1	F-Primer AGGAAGGTAACGCTGAAGGC R-Primer GCGGTGTGACAATCCAACAC	450bp

3- 3- 6- 2 المحاليل والمواد اللازمة لإجراء التفاعلات التي تتألف من Master Mix والذي يتكون من :-

Taq DNA Polymerase 2.5 U/μL

dNTps 250 μL

Tris – HCL 10 μL

KCL 30 μL

MGcL2 1.5 μL

3- 3- 6- 3 طريقة العمل :

1- حُضِرَ خليط التفاعل الرئيس Master Mix بإضافة المكونات الآتية في أنبوبة أبندروف وكما في الجدول أدناه.

جدول (6) يبين مكونات خليط التفاعل الرئيس

Final concentration	Volume for 1 tube	Materialsconcentration manufacturer
-----	7 μ L	D.Water
1X	5 μ L	Accpower PCR PrmiX
10 Pmol	1.5 μ L	Primer – F (10 Pmol)
10 Pmol	1.5 μ L	Primer – R (10 Pmol)
	15 μ L	Total reaction Volume

ومُزجت هذه المكونات بواسطة أنبوبة ماصة زجاجية دقيقة وذلك بسحبها عدة مرات ثم وُضعت في جهاز الرج ال Vortex لمزج المكونات مع بعضها جيداً .

2- وزع الخليط على 8 أنابيب حجمها 0.5 مل ومعلمة بحسب عينات النوعين المدروسين وبواقع 15 μ L من الخليط لكل أنبوبة .

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

4- وضعت الأنابيب في جهاز البلمرة الحراري Thermo cycler وأجريت الخطوات كما في الجدولين 7 و8.

جدول (7) ظروف تفاعل COI, CAD gene Specific – PCR استناداً إلى (Aslam وآخرون ، 2019) .

NO	Step	Temperature	Time
1	Initial Denaturation	94C ^o	5min
2	Denaturation	94C ^o	1min
3	Primer Annealing	59C ^o	1min
4	Primer Extension	72 C ^o	1min
5	No, of cycles (2- 1)	30	
6	Final Extension	72C ^o	10min

جدول (8) ظروف تفاعل الـ EF1-alpha gene specific -PCR استناداً إلى (Sun وآخرون ، 2014) .

NO	Step	Temperature	Time
1	Initial Denaturation	94C ^o	5min
2	Denaturation	94C ^o	1min
3	Primer annealing	58C ^o	1min
4	Primer Extension	72C ^o	1min
5	No . of cycles (2-1)	30	
6	Final Extension	72C ^o	10min

3-3-6-4 خطوات الترحيل الكهربائي لخليط تفاعل الـ PCR :

1- حُضِر الهُلام بإضافة 1غم من جل الاكاروز الى 100 مل من TBE Buffer بقوة 1X في دورق زجاجي مدرج حجمه 500.ml ، ثم وضع على جهاز التسخين Hotplate stirrer ووضع غطاء من ورق السليكون على فوهة الدورق لمنع التبخر وبدرجة حرارة 100 م° الى حين اكتمال الإذابة وركود الخليط الى درجة عالية جداً بحيث لا توجد أي مواد غير ذائبة أو أي فقاعات فيه ، ثم يُترك ليبرد الى درجة حرارة من 40 - 50م° .

2- أُضيفَ 5 µL من صبغة Ethidium bromide إلى الهُلام الموجودة في الدورق الزجاجي مع الرج المباشر للمكونات ولمدة عشرة ثواني .

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

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

5 - غُمِرَ حوض جهاز الترحيل الكهربائي بكمية من محلول TBE Buffer بقوة 1X المحضر من اضافة 50 مل من محلول TBE Buffer 10X إلى 450 مل من الماء المقطر .

6- رفع المشط من الهُلام بعدَ تصلبه في قالب الصب برفق ، ثم نُقِلَ الهُلام بعناية تامة ورفق الى حوض جهاز الترحيل الكهربائي .

7- وُضِعَ DNA Ladder في الحفرة الأولى والأخيرة من الهُلام بحجم 7µL لغرض المقارنة ، ثم حُمِلَت العينات في بقية الحُفر أي كل عينة في حُفرة وبحسب التسلسل والترقيم المعطى لكل واحدة منها .

8 - وُصِلَت أقطاب التيار الكهربائي بجهاز الترحيل وجهاز قدرة 100 فولت لمدة 90 دقيقة ، وبعدَ اكتمال الوقت المحدد لعملية الترحيل رُفِعَ الهُلام برفق من جهاز الترحيل الكهربائي ووضع على سطح جهاز تصوير الجل Gel documentation لغرض التصوير والتأكد من وجود حُزم الجينات المضخمة .

4-3 الدراسة الوراثية الكمية Quantitative Genetic Study :

1-4-3 تحضير العينات Specimens Processing :

استخدم في هذه الدراسة 15 جناحاً أيمن للذكور و15 جناحاً أيمن للإناث النوعين المدروسين لغرض المقارنة الوراثية الكمية في شكل وحجم الجناح بينَ النوعين *D. ciliatus* و *D. frontalis* باستخدام نظام المقياس الهندسي لشكل الجناح وحجمه Geometric Morphometric ؛ إذ أُتُبِعَت طريقة القرعغولي (2013) في تحضير الشرائح الزجاجية المخصصة لفحص الأجنحة ، إذ تمَّ عزل 15 ذكر و15 أنثى من كل نوع في أقداح

بلاستيكية شفافة ذات أغشية محكمة وثُرُكت بدون تغذية حتى تهلك وتجف بشكل تام ، بعدها نُزِعَ الجناح الأيمن من حشرات النوعين كلاً على حدة بواسطة ملقط تشريح دقيق وبغاية تامة جداً للحفاظ على الجناح من التكرس ، بعد ذلك وضعَ الجناح بينَ شريحتين زجاجيتين ورُبِطَت حافتا الشريحتين بقوة بواسطة شريط ورقي لاصق نوع G210 ، ثم دونت المعلومات الخاصة بكل نموذج والتي شملت : جنس الحشرة ، نوعها ووقت المكافحة لها (قبل وبعد) لكل نوع على طرفي الشريحة ، بعد الإنتهاء من تحضير الشرائح الزجاجية كافة صُورت بواسطة مجهر رقمي Digital Microscope بعد ربطها بحاسوب Laptop مزود بكاميرا رقمية قوة تكبيرها 1.3 ميكابكسل ومزودة بأشعة فوق البنفسجية UV ، إذ تم تصوير أجنحة الذكور والإناث لكلا النوعين .

2-4-3 جمع البيانات Data Collecting :

بعد إكمال عملية تصوير الأجنحة ، جُمعت بيانات كل صورة على حدة باستعمال البرنامج الجاهز والمسمى Collecting Landmarks for Identification and Characterization ، والبيانات التي جمعت من صور الأجنحة بشكل معالم Landmarks هي نقاط تشريحية وضعت على تقاطعات العروق الطولية مع العروق المستعرضة ونهايات العروق الطولية كما هو موضح في الصور (5 و 6) ، إذ استخدمت هذه النقاط للتمييز بين المجتمعات السكانية للأنواع العائدة لنفس الجنس (Tatsuta وآخرون ، 2018) ، واستعمل في هذه الدراسة 15 معلّم من النوع الأول وهي تقاطعات العروق الطولية مع العروق المستعرضة حيث وضعت نقاط مرقمة بينَ هذه التقاطعات عن طريق وحدة COO الموجودة ضمن البرنامج وهي عبارة عن وحدة خاصة لوضع معالم الإحداثيات ، إنَ الإتصالات بين المعالم المعينة والمثبتة على كل جناح أعطت نماذج مضلعة تُستخدم في الكثير من التحليلات ، شملت المقارنة بينَ شكل الجناح الظاهري وحجمه لكل عينة في الدراسة لغرض الكشف عن التباين الوراثي الكمي بينَ نوعي ذبابة ثمار القرعيات *D. ciliatus* و *D. frontalis* ؛ وبعد الإنتهاء من وضع أرقام المعالم لكل نموذج من نماذج الأجنحة للنوعين نُقِلَت إلى وحدة TET الموجودة في البرنامج أيضاً ، وهي وحدة خاصة بدمج بيانات النماذج مع بعضها لكي تتجزأ المقارنة بينَ المجتمعات السكانية للنوعين ومعرفة مدى التشابه والتغاير بينها ، بعد ذلك نُقِلَت البيانات إلى الوحدة MOG ، وهذه الوحدة توجد في البرنامج وعن طريقها تجري عدة عمليات هي الترجمة Translation والقياس Scaling والدوران Rotation ، وبعدَ هذه العمليات الثلاثة التي يجب تطبيقها على أرقام المعالم لكي نحصل على الحجم المركزي Central size لكل جناح والاعوجاج الجزئي warp Partial والأعوجاج النسبي Relative warp وكذلك اختلافات الشكل المظهري لكل جناح ، وفي هذه الدراسة تم الاعتماد على الحجم المركزي للجناح الأيمن للمقارنة بينَ النوعين ، والحجم المركزي

الجناح Central size هو مقدار متساوي القياس من الجناح يتم حسابه من الجذر التربيعي لمجموع مربعات المسافات بين مركز المضلع وكل معلم من المعالم أو الإحداثيات التي تُثبت على الجناح بشكل دقيق جداً (Dujardin وآخرون ، 2010) .



صورة (5) الجناح الأيمن لذبابة ثمار القرعيات النوع *D. ciliatus* موضح عليه إحداثيات المعالم (قوة التكبير X45) .



صورة (6) الجناح الأيمن لذبابة ثمار القرعيات النوع *D. frontalis* موضح عليه إحداثيات المعالم (قوة التكبير X45) .

3-4-3 البرامج Softwares :

تُثبت المعالم على الجناح التي تم الحصول عليها من وحدة COO ، التي تشمل الحجم المركزي Central size ، الاغوجاج الجزئي Partial warp فضلاً عن الاغوجاج النسبي Relative warp ، أما البيانات الأخرى فهي بيانات التحليل للمركبات الأساسية Principle component analysis التي حصل عليها من وحدة MOG ، أما بيانات التحليل التمييزي Discriminate analysis فقد تم الحصول عليها من وحدة PAD ، وكذلك بيانات تحليل التباين للحجم المركزي التي حصل عليها من وحدة COV ، أما بيانات التماثل لشكل الجناح فقد تم الحصول عليها من وحدة ASI . أن كل الوحدات المذكورة توجد ضمن البرنامج

الجاهز والخاص بالجانب الوراثي الكمي وهو Collecting Landmarks for Identification and Characterization والمتوفر على الموقع الإلكتروني [http:// www.mpl.ird.morphometrics](http://www.mpl.ird.morphometrics) ، وقد استخدم في تحليل بيانات هذه الدراسة التحليل العاملي للمركبات الأساسية Principle analysis في الكشف عن التغيرات الوراثية الكمية للنوعين ، فضلاً عن استخدام التحليل التمييزي Discriminate analysis في الكشف عن التباين بين عينات النوع الواحد وهذا التحليلان متوفران في البرنامج الجاهز والذي استخدم في هذه الدراسة .

5-3 التحليل الإحصائي Statistical analysis :

بين التحليل الإحصائي لنتائج هذه الدراسة باستخدام اختبار ANOVA واختبار Duncan معدلات الهلاك التراكمي بالنسبة لأدوار حياة ذبابة ثمار القرعيات النوعين *D. ciliatus* و *D. frontalis* للأدوار: اليرقات ، العذارى والكاملات ، باستخدام برنامج التحليل الإحصائي SPSS والتصميم العشوائي CRD بعد معاملتها بالمبيد الحشري الملاثيون مع المواد النانوية Nanomaterials ، إذ سُجّلت نسبة الهلاك لكل دور ولكل مادة من المواد النانوية المستخدمة في هذه الدراسة كلاً على حدة ، ثم أجريت مقارنة بين تأثير المبيدات لمعرفة ما إذا كان هناك فرق معنوي في تأثيرها على أدوار حياة نوعي الحشرة من خلال أخذ نوعين من معاملات السيطرة Control ، إحداهما تتكون من مبيد الملاثيون فقط والأخرى من تراكيز مختلفة لكل واحدة من المواد النانوية مع المبيد عند مستوى احتمالية ($P < 0.05$) ، ثم تمت المقارنة بين النوعين لمعرفة ما إذا كان هناك فرق معنوي في تأثير المبيد بدون إضافات أخرى أوالمبيد مع المواد النانوية المستخدمة على أدوار حياة كل نوع وبين عينات النوع الواحد وهذان التحليلان متوفران في البرنامج الجاهز الذي استخدم في هذه الدراسة .

الفصل الرابع

النتائج والمناقشة

Results and Discussion

4 – النتائج والمناقشة Results and Discussion :

1-4 القياسات التركيبية للمواد النانوية Structural properties measurements

1-1-4 نتائج الفحص باستخدام تقنية حيود الأشعة السينية X-Ray diffraction

أظهرت نتائج الفحص باستخدام تقنية حيود الأشعة السينية (XRD) للمادتين المحضرتين أوكسيد المغنسيوم MgO وأوكسيد التيتانيوم TiO₂ التجاري أنها ذات تراكيب متعددة التبلور polycrystalline كما في الأشكال (2 و 3) وباستخدام تحليل مواقع القمم الظاهرة للمادتين ضمن المدى 10° إلى 80° تبين أن القمم 110 ، 200 ، 220 و 222 لمادة أوكسيد المغنسيوم وأن القمم 101 ، 200 ، 110 ، 211 و 210 هي عائدة لأوكسيد التيتانيوم وأن الاتجاه السائد للنمو هو 200 و 110 لأوكسيد المغنسيوم والتيتانيو على التوالي ، وقد تبين أيضاً أن هذه النتائج تتفق تماماً مع نتائج البطاقة الدولية القياسية (ICDD) لكل من أوكسيد المغنسيوم (ICDD-Card no-00-034-0180) والتيتانيوم (ICDD-Card no-00-45-0946) وكما موضح في الأشكال (4 و 5) .

2-1-4 معدل الحجم البلوري (Dav) Average crystallites size

جدول (9) نتائج فحص المواد النانوية المستخدمة في الدراسة

Sample	2θ (deg)	hkl.	Dav(nm)
MgO ICDD – Card no 045 – 0946	42.916	(200)	
	62.302	(220)	
	74.689	(311)	
	78.628	(222)	
TiO ₂ ICDD – Card no 034 – 0180	27.437	(110)	
	36.085	(101)	
	36.187	(200)	
	54.322	(211)	
	56.633	(320)	
	64.050	(310)	
MgO	42.9300	(200)	23
	62.2956	(220)	25
	78.5943	(222)	25
TiO ₂	27.5155	(110)	19
	36.163	(101)	20
	54.3921	(211)	22

تم حساب معدل الحجم البلوري Dav لأوكسيد المغنسيوم و التيتانيوم والاتجاه السائد باستخدام معادلة شيرر (Scherrer equation) (Khodair وآخرون ، 2019) .

$$D_{av} = \frac{k \lambda}{\beta \cos \theta}$$

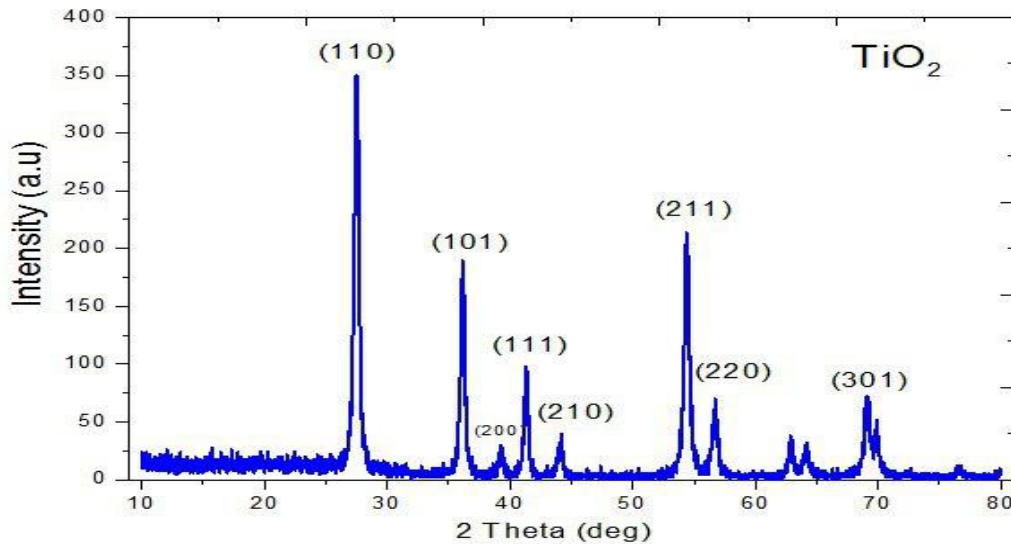
إذا تمثل λ : الطول الموجي للأشعة السينية الساقطة = $1.5406 \text{ \AA}$

K : عامل الشكل ويعتمد على الشكل كمادة وقيمته ضمن المدى (0.9-1)

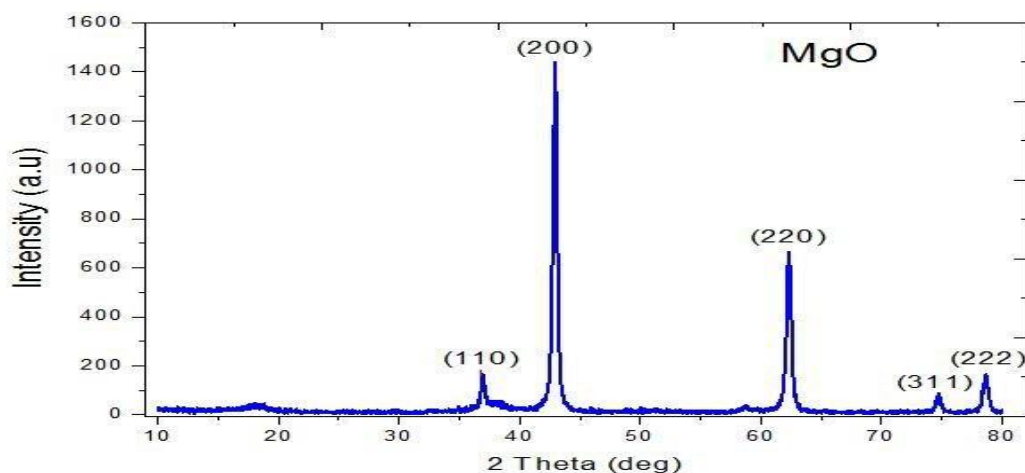
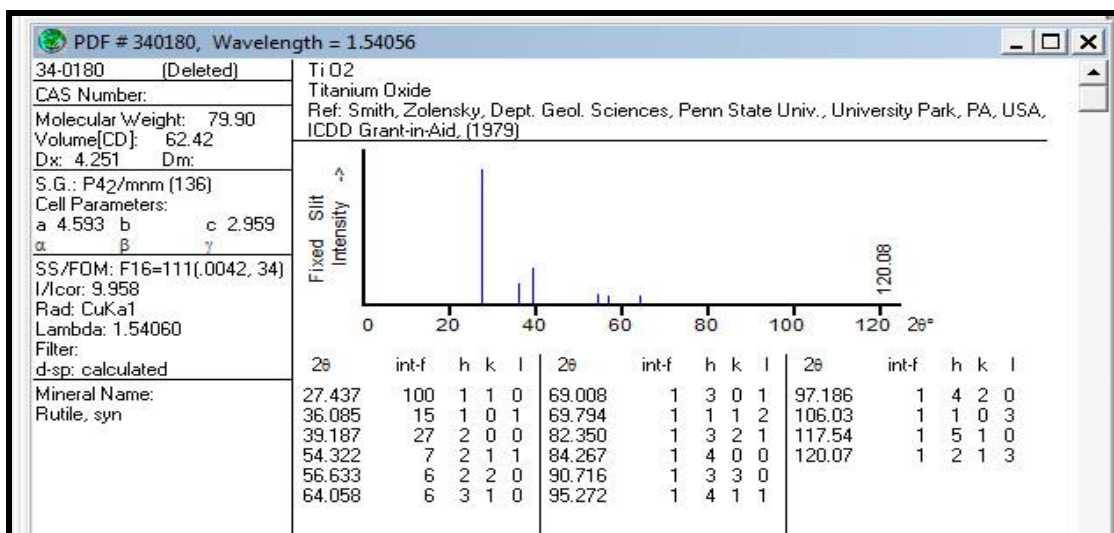
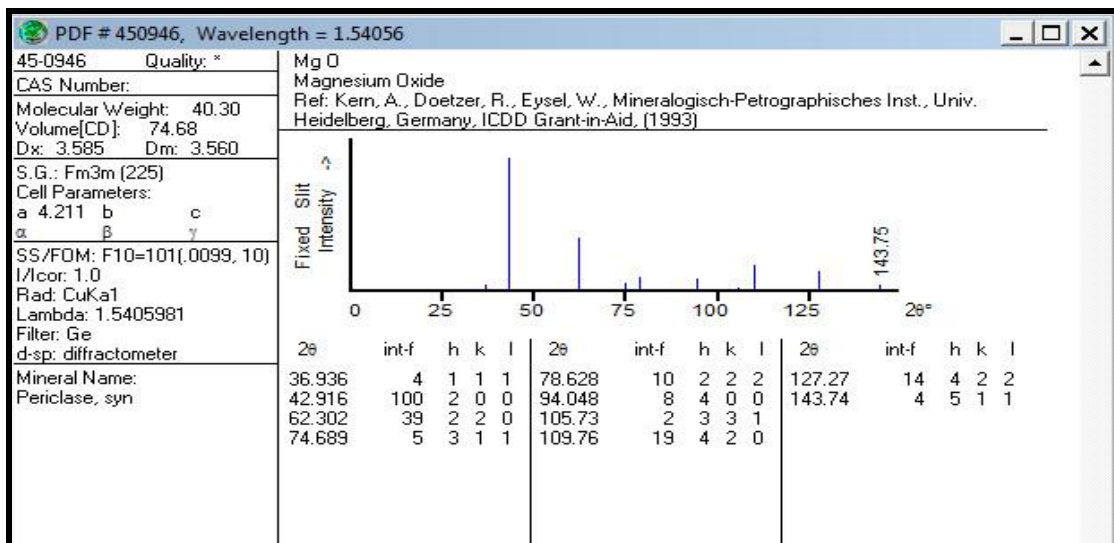
β : عرض المنحني لمنتصف القمة (Full width at half maximum) (FWHM) وتقاس بالوحدات نصف قطرية .

θ : زاوية حيود براك

وقد بينت النتائج المستحصلة وكما هو موضح في الجدول (9) أن جميع الحبيبات التجارية هي ضمن المقياس النانوي Nanoscale والتي كانت لأوكسيد المغنسيوم بحدود (23-25 nm) ولأوكسيد التيتانيوم بحدود (19-22 nm) ، وبذلك فإن الحجم البلوري لهذه المواد ضمن هذا القياس له دور مهم في تحديد خصائص المادة وزيادة مساحة التفاعل على سطح هذه المواد على عكس المواد بخاصيتها الاعتيادية (Khodair وآخرون ، 2019) .

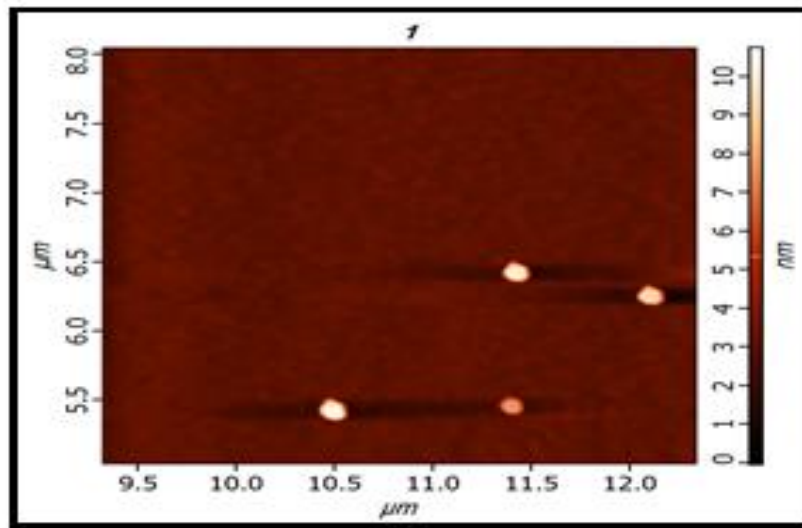


شكل (2) حيود الأشعة السينية لدقائق MgO النانوية

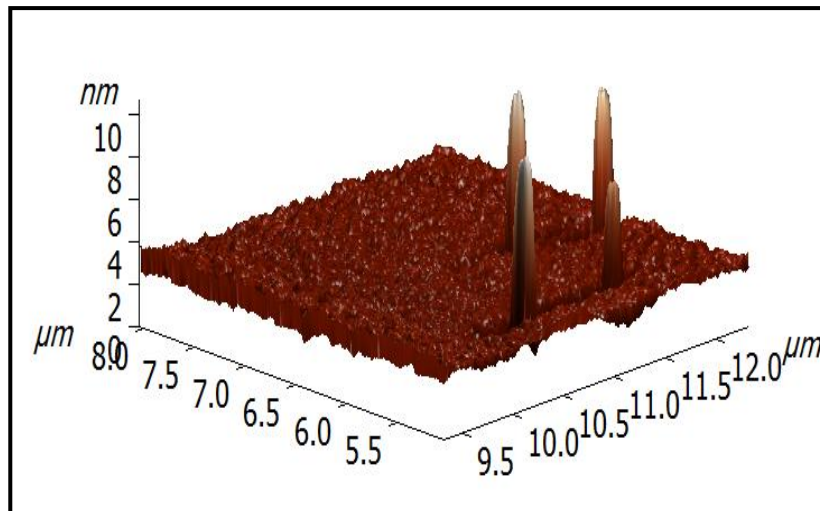
شكل (3) حيود الأشعة السينية لدقائق TiO_2 النانويةشكل (4) البطاقة الدولية القياسية ICDD المرقمة 00-045-0946 لأوكسيد المغنسيوم MgO شكل (5) البطاقة الدولية القياسية ICDD المرقمة 00-021-1227 لأوكسيد التيتانيوم TiO_2

3-1-4 فحوصات مجهر القوة الذرية (AFM)

تم دراسة تضاريس (طبوغرافية) باستخدام مجهر القوة الذرية (AFM) ذي القدرة على تصوير وتحليل السطوح وأعطى قيم في غاية الدقة عن معدل حجم الدقائق وتوزيعها وكذلك قيم خشونة السطح Roughness ، إذا تم مسح العينات بالأبعاد (Mm12 × 8) ، (Mm11.5 × 3) و (Mm12 × 5) لأوكسيد المغنسيوم النانوي و (Mm 8 × 6) و (Mm10.5 × 6) لأوكسيد التيتانيوم ، وكما موضح في الصورتين (7 و 8) ، ويتضح من هذه الأشكال ذات البعدين (2D) وثلاثة أبعاد (3D) وجود الدقائق النانوية Nanoparticles و بأحجام صغيرة جداً .

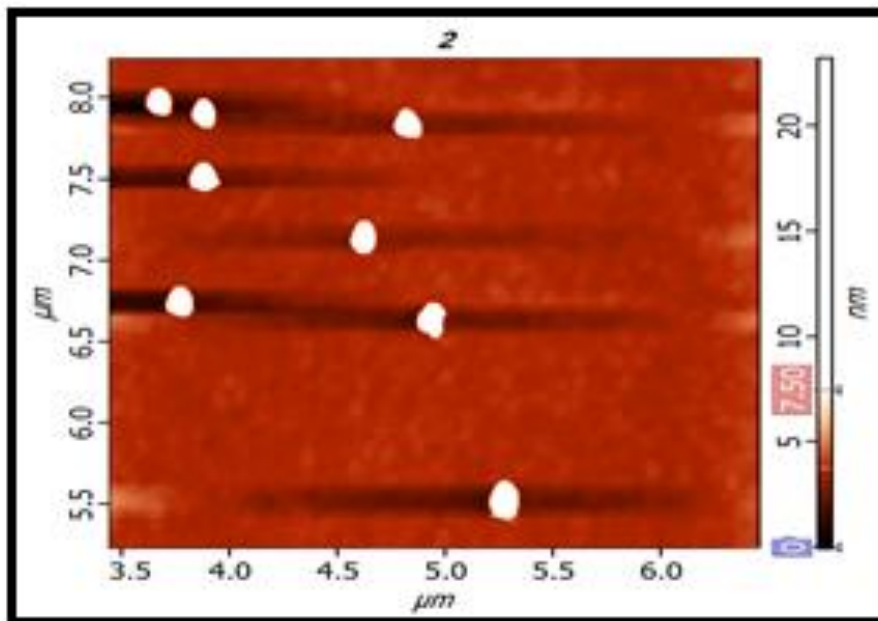
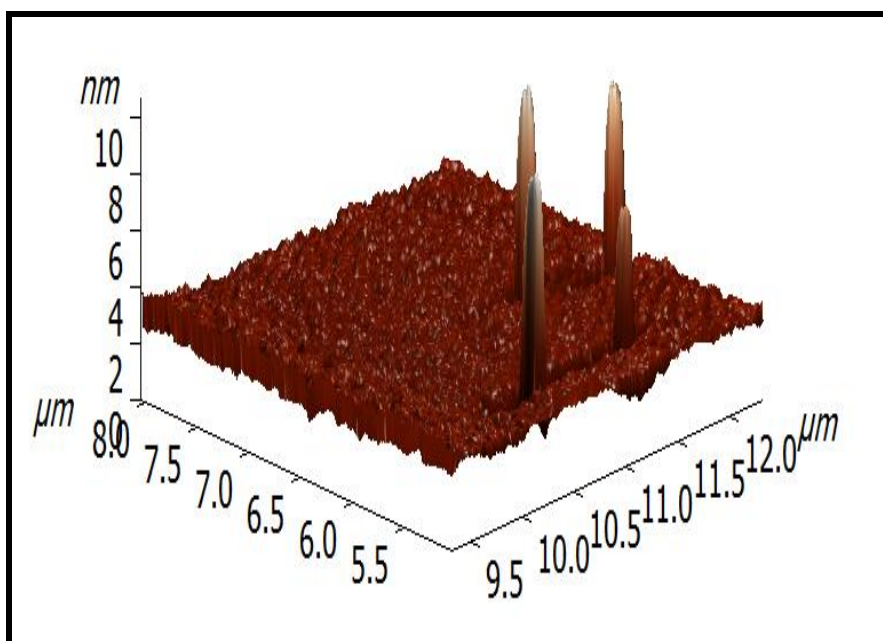


A-MgO (2D)



B-MgO (3D)

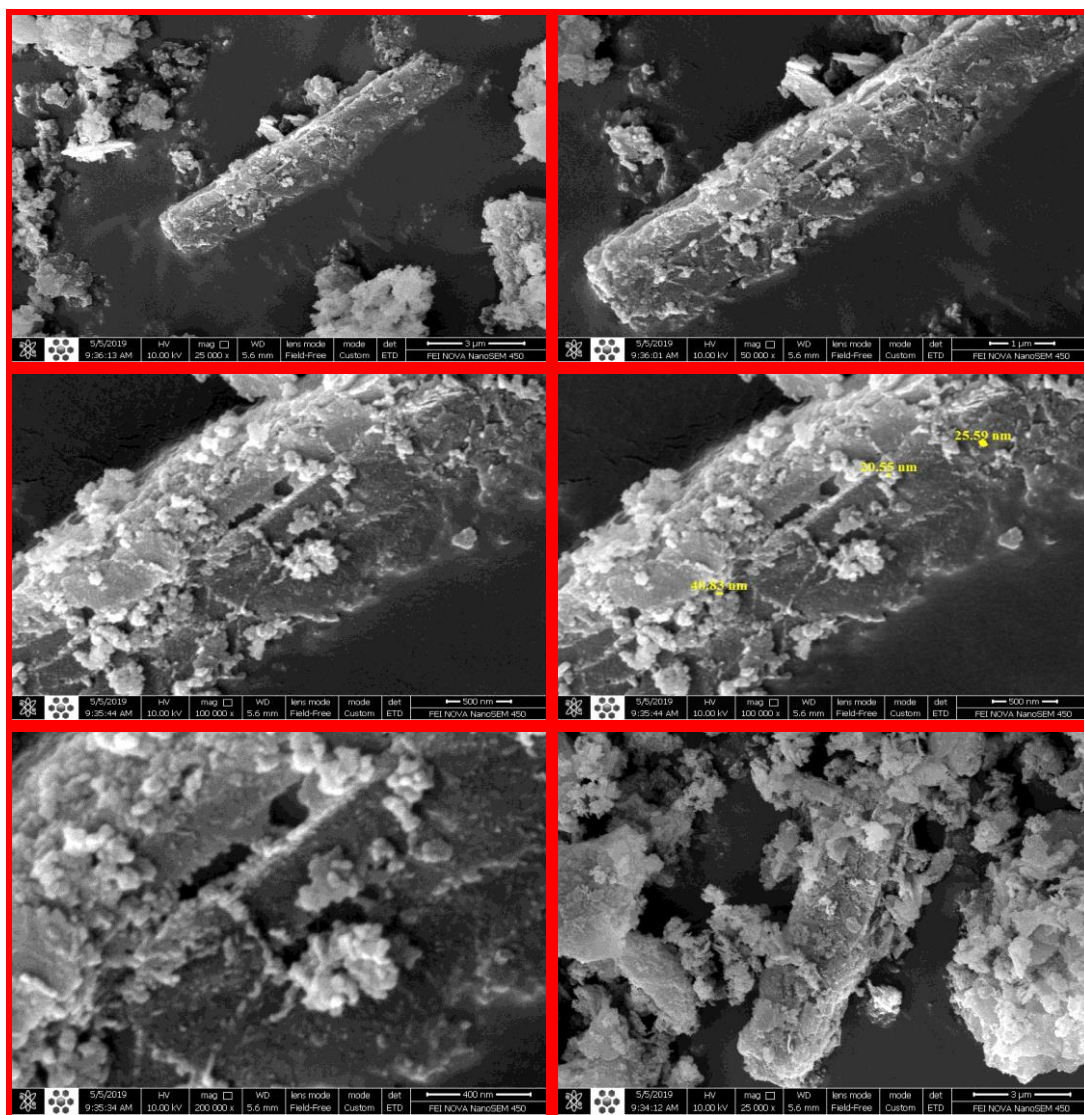
صور (7: A, B) تبين نتائج فحص المجهر AFM لعينات MgO بُعدين (2D) و ثلاثة أبعاد (3D)

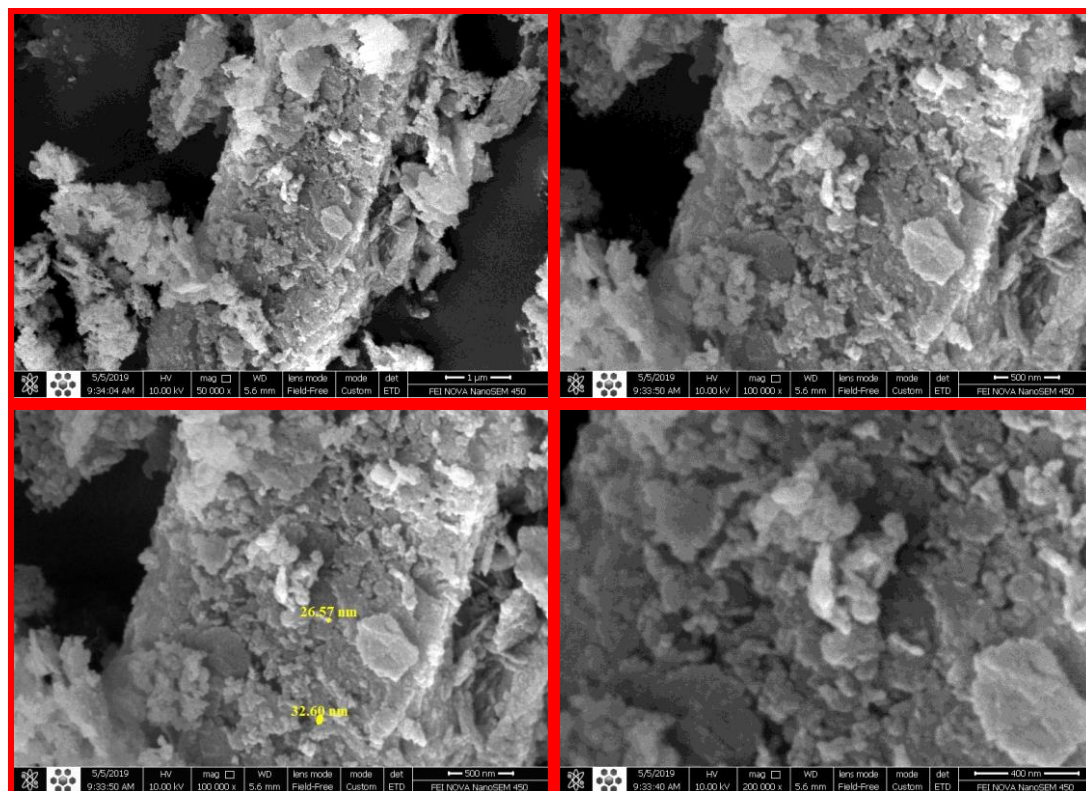
A-TiO₂ (2D)B- TiO₂ (3D)

صور (8: A, B) تبين نتائج فحص المجهر AFM لعينات TiO₂ بُعدين (2D) و ثلاثة أبعاد (3D)

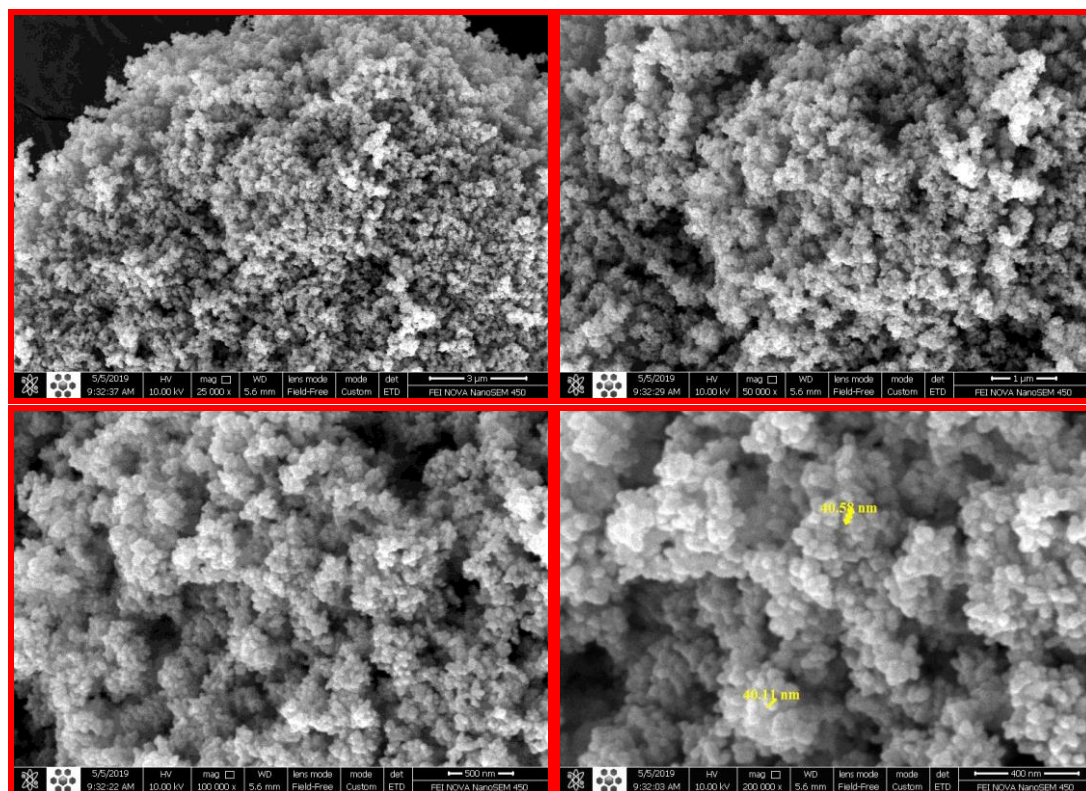
4-1-4 فحص المجهر الإلكتروني الماسح FESEM :

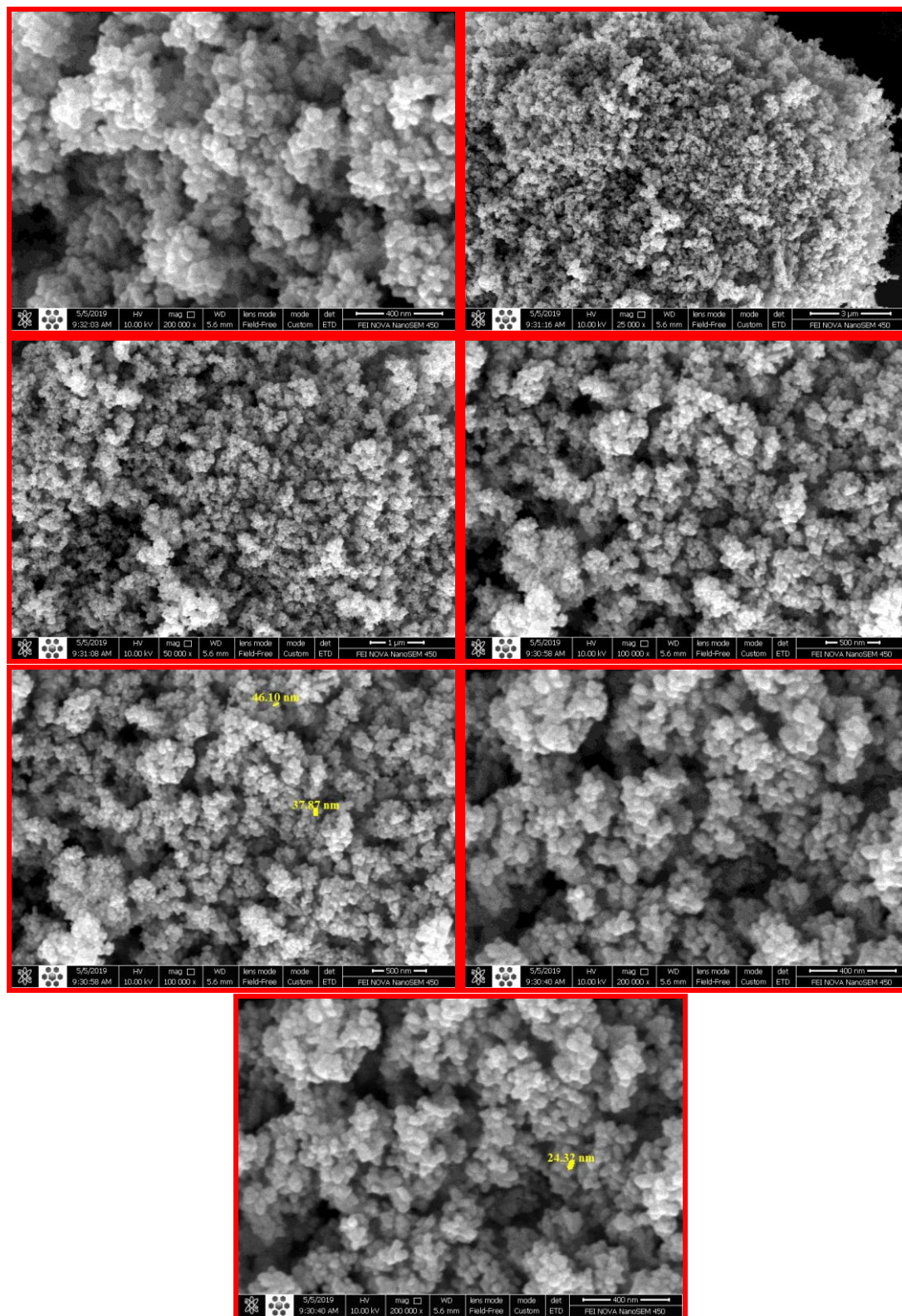
جرى فحص عينات المادتين النانويتين أكسيد المغنسيوم MgO وأوكسيد التيتانيوم TiO₂ باستخدام تقنية المجهر الإلكتروني الماسح FESEM ، إذ تشير الصورة (9) إلى نتائج الفحص الخاصة بدقائق أكسيد المغنسيوم ، في حين تشير الصور (10) إلى النتائج الخاصة بدقائق أكسيد التيتانيوم ، إذ نلاحظ أنَّ الدقائق متجانسة بشكل كبير جداً ففي حالة المادة MgO تكون بشكل تكتلات حبيبية أو عنقايد كروية متراسة في حين أنها في المادة TiO₂ ذات سطوح عريضة وأشكال هندسية متعددة تظهر بينها الحبيبات النانوية ، وقد ظهر أيضاً أنَّ الحجم الحبيبي للمادة الأولى يتراوح بين 24-40 nm ، بينما في المادة الثانية يتراوح بين 20-40 nm ، وهذا دليل واضح على أنَّ المادتين نانويتين كما أنه يتفق إلى حد ما مع نتائج فحص حيود الأشعة السينية . XRD





صورة (9) نتائج الفحص FESEM لجميع عينات مادة TiO₂ النانوية .





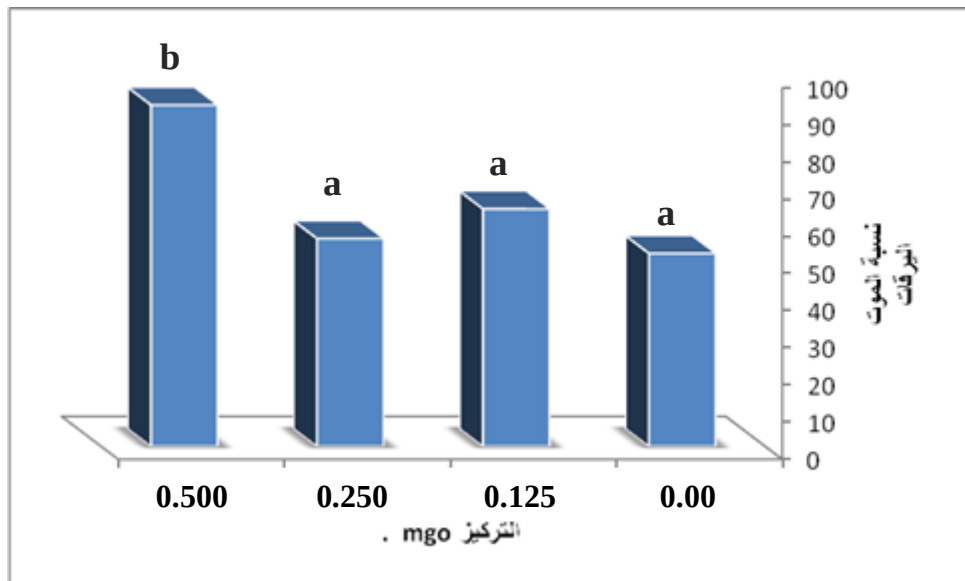
صورة (10)

صور الفحص FESEM لجميع عينات مادة MgO النانوية .

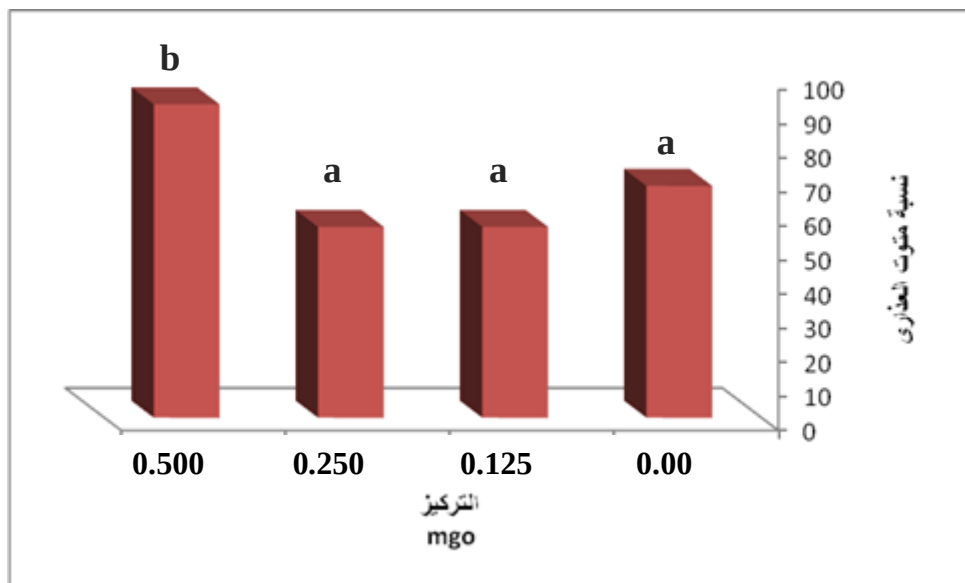
4-2-1 تأثير تراكيز مختلفة من المواد النانوية على بعض الأدوار الحياتية لذبابة النوع *D. ciliatus*

ويوضح الشكل (6) نسبة هلاكات يرقات ذبابة ثمار القرعيات *D. ciliatus* بعد المعاملة بتراكيز مختلفة من أوكسيد المغنسيوم النانوي ، إذ تدل الأحرف المتشابهة في أعلى الأعمدة البيانية الخاصة بكل تركيز عدم وجود فروق معنوية عالية بين تأثير التركيز الأول والثاني والتركيز الخاص بمعامل بالسيطرة (0.00) حسب اختبار Duncan عند مستوى احتمالية ($P < 0.05$) في حين كان هناك فرق كبير بينها وبين التركيز الثالث 0.500 ملغم/لتر إذ أن نسبة القتل لهذا التركيز وصلت إلى 92% بينما كانت النسب المئوية للتراكيز الأول والثاني ومعامل السيطرة هي 55 ، 60 و 69% على التوالي ، كما وجد أن قيمة التركيز نصف القاتل LC50 في هذا التحليل تساوي 0.091 وهذا دليل على أن الزيادة في تركيز المادة النانوية مع المبيد يؤدي إلى ارتفاع معدل الهلاكات بنسبة أعلى بكثير من استخدام المبيد فقط في المعاملة ، كما يوضح الشكل (7) نسبة هلاك العذارى لنوع *D. ciliatus* بعد المعاملة بتراكيز مختلفة من MgO النانوي وتركيز رابع يمثل معامل السيطرة مكون من مبيد الملاثيون والماء فقط ، وقد وجد من خلال هذا التحليل وكما في التحليل الذي سبقه وجود فروق معنوية بسيطة في تأثير التراكيز الثلاثة الأولى ومنها تركيز المبيد فقط وزيادة في معدل الموت بالنسبة للتركيز الأخير للمادة النانوية مع المبيد بالمقارنة مع نفس التركيز في حالة اليرقات لنفس النوع *D. ciliatus* إذ كانت نسبة القتل للتركيزين مع معامل السيطرة هي 60 ، 60 و 72% في حين بلغت نسبة القتل للتركيز الرابع 95% وهذا يوضح أن مزج مادة أوكسيد المغنسيوم مع مبيد الحشرات بتركيز عالي يعطي نتائج كبيرة في مكافحة هذا النوع من الحشرات من خلال قتل العذارى وانخفاض معدل بزوغها إلى كاملات ؛ أما بالنسبة لقيمة التركيز نصف القاتل LC50 فقد تبين أنها ازدادت في هذه المرحلة لتصل إلى 0.127 وهذا يؤكد تأثير الدور العذري للحشرة بكل التراكيز المستخدمة في المعاملة بما فيها معامل السيطرة . يوضح الشكل (8) نسبة هلاك كاملات النوع *D. ciliatus* بعد المعاملة بتراكيز مختلفة من أوكسيد المغنسيوم النانوي، وتشير الأحرف الموجودة أعلى الأعمدة البيانية إلى وجود فروق معنوية كبيرة بين تأثير التراكيز الثلاثة للمبيد مع المادة النانوية وتركيز المبيد فقط ، إذ وجد أن التركيز 0.500 ملغم/لتر قد حقق نسبة قتل عالية جداً وصلت إلى 98% في حين أن التركيز 0.125 و 0.250 قد حققا نسب قتل أعلى مما هو عليه في حالة اليرقات والعذارى ، إذ وصلت إلى 77 و 67% على التوالي ، بينما كانت نسبة قتل الكاملات في حالة المعاملة بالمبيد فقط 71% من العدد الكلي للعينات المعاملة والسبب في زيادة معدل القتل بالنسبة للكاملات ولكل التراكيز وهو وضع المبيد مع النانو لجميع التراكيز وكذلك المبيد فقط عند المعاملة في الوسط الغذائي لها وليس عن طريق الرش

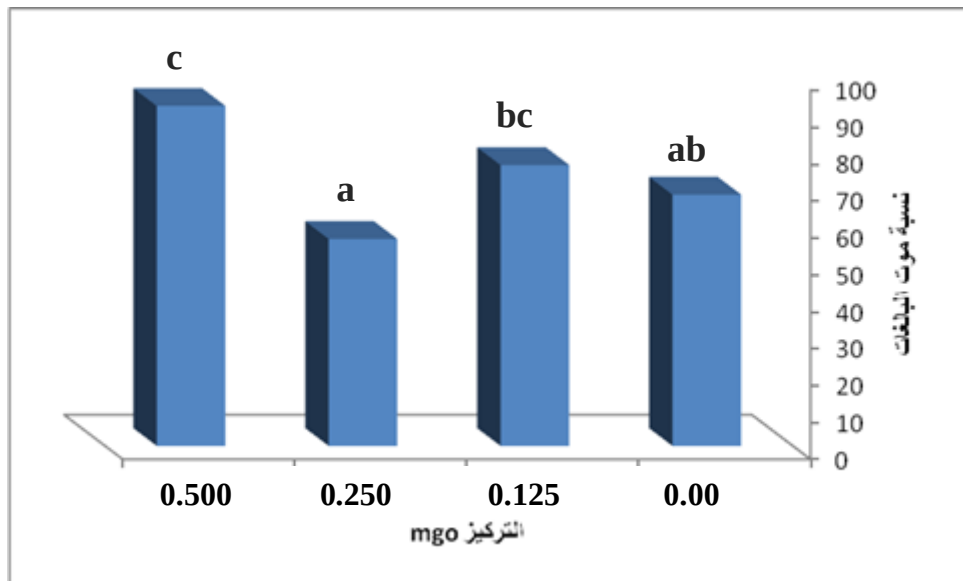
، كما في حالة اليرقات والعذارى وبالتالي حصل التأثير القاتل للمبيدات على كافة أجهزة جسم الحشرة ، كما وجدَ أنَّ قيمة LC50 لهذه المرحلة من المعاملة تساوي 0.043 . أما نتائج التحليل الإحصائي في حالة المعاملة باستخدام مادة أوكسيد التيتانيوم النانوية مع مبيد الميلاثيون ومقارنتها بنتائج المكافحة باستخدام الميلاثيون فقط كمعامل للسيطرة ولمعرفة مدى تأثير ذلك على اليرقات والعذارى والكاملات فقد كانت بالشكل التالي ، إذ يُبين لنا الشكل (9) نسبة هلاك اليرقات بعد المعاملة بتركيز مختلفة من TiO_2 النانوي ، إذ لم تكن هناك فروق معنوية بينَ التركيز الأول 0.125 عند مقارنته مع معامل السيطرة 0.00 ، في حين كانت هناك فروق معنوية عالية عندَ المقارنة مع التركيز الثاني 0.250 التي وصلت فيه نسبة القتل إلى 65% من عدد العينات المستخدمة لجميع المكررات ، وقد ازدادت هذه النسبة عندَ المعاملة بالتركيز 0.500 حيث بلغت 90% من أعداد اليرقات المعاملة ، أما قيمة LC50 لهذا الدور قد بلغت 0.16 وهذا دليل على أنَّ الاستجابة جيدة للمعاملة بهذه المادة النانوية ، ويوضح الشكل (10) نتائج معاملة عذارى ذبابة ثمار القرع *D. ciliatus* بتركيز مختلفة من TiO_2 النانوي مع مبيد الميلاثيون ومقارنتها مع نتيجة المعاملة بالمبيد فقط ، حيث تشير النتائج إلى وجود فروق معنوية بينَ التراكيز الثلاثة للمادة النانوية والمبيد ، وانخفضت نسبة القتل عندَ المعاملة بالتركيز 0.125 إلى 25% وارتفعت تدريجياً إلى أن وصلت 67% للتركيز 0.250 ثم ازدادت بشكل كبير للتركيز 0.500 لتصل إلى 85% من مجموع العينات المعاملة مقارنةً مع نسبة القتل التي حققها استخدام المبيد فقط كمعامل سيطرة والتي كانت تساوي 31% ، كما أنَّ التركيز نصف القاتل في هذه العملية أزداد ليصل إلى 0.21 مقارنة مع نسبته في حالة معاملة اليرقات والسبب في ذلك يعود إلى أنَّ الزيادة في تركيز أوكسيد التيتانيوم النانوي يحقق نسبة قتل عالية كونهُ ينفذ من خلال الطبقات الصلبة لجدار جسم الحشرة ، ويوضح الشكل (11) نسبة الهلاكات لكاملات النوع *D. ciliatus* بعدَ المعاملة بتركيز مختلفة من أوكسيد التيتانيوم النانوي وبمبيد الميلاثيون مع الماء فقط ، وقد تبينَ من خلال ذلك أنَّ نسبة القتل ارتفعت بشكل كبير جداً في هذه المرحلة وخاصة عندَ التركيز الثالث للمادة النانوية 0.500 ملغم/لتر لتصل إلى 84% مقارنةً مع معامل السيطرة والتي بلغت 52% عندَ مستوى معنوية $P < 0.05$ ، كذلكَ كانَ هناك فرق معنوي في معدل الهلاكات عندَ المعاملة بالمواد النانوية بينَ التركيزين 0.125 و 0.250 ومعامل السيطرة وعدم وجود فرق معنوي بينَ بعضهما أما قيمة LC50 في هذه المرحلة من المعاملة فقد كانت تساوي 0.037 .



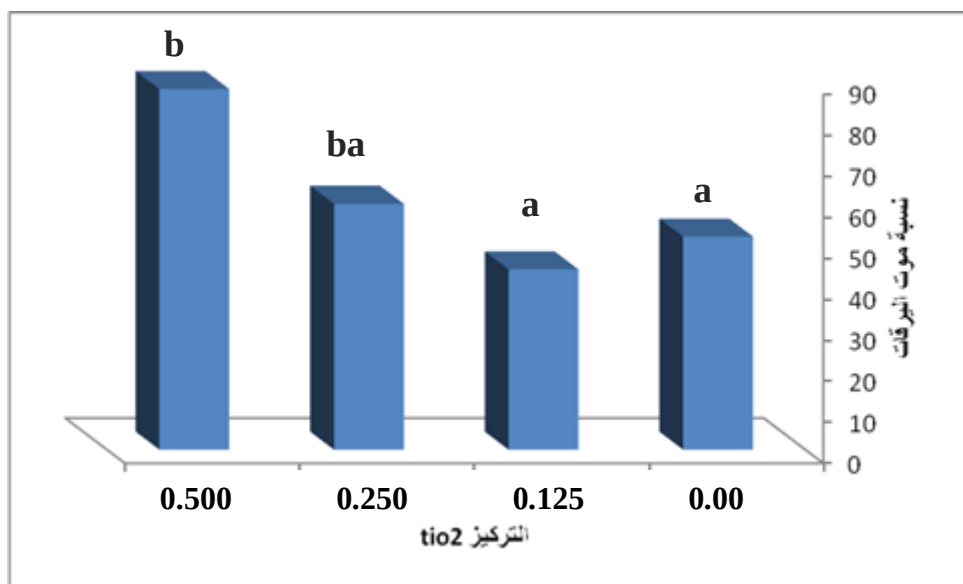
شكل (6) نسبة هلاك يرقات النوع *D. ciliatus* المعاملة بتركيز مختلفة من أوكسيد المغنسيوم النانوي



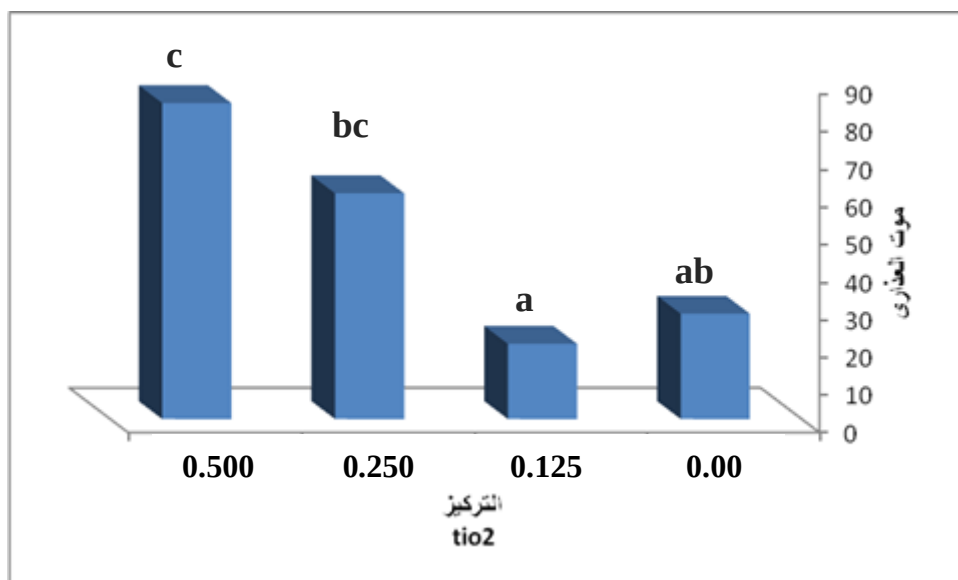
شكل (7) نسبة هلاك عذارى النوع *D. Ciliatus* المعاملة بتركيز مختلفة من أوكسيد المغنسيوم النانوي



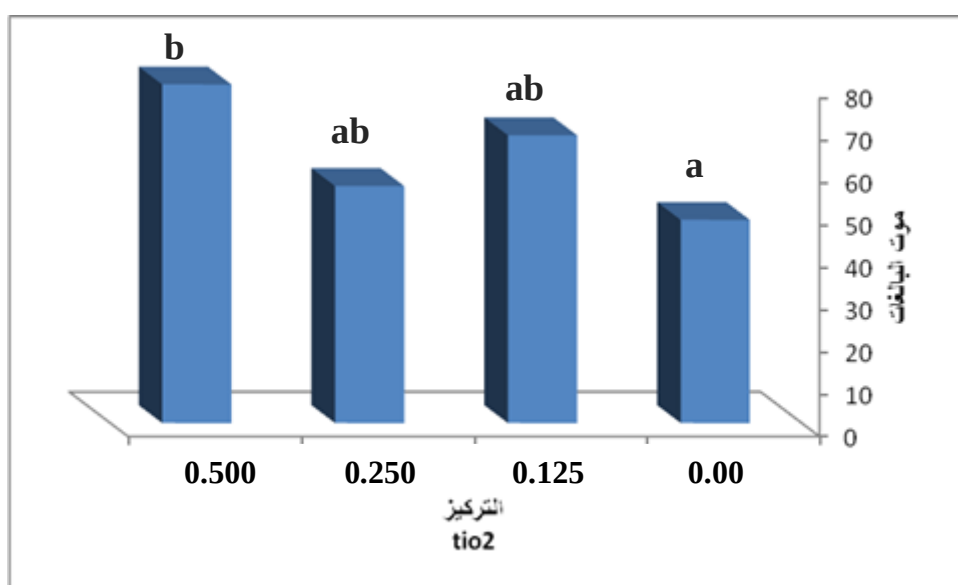
شكل (8) نسبة هلاك الكاملات للنوع *D. ciliatus* المعاملة بتركيز مختلفة من أوكسيد المغنسيوم النانوي



شكل (9) نسبة هلاك اليرقات للنوع *D. ciliatus* المعاملة بتركيز مختلفة من أوكسيد التيتانيوم النانوي



شكل (10) نسبة هلاك عذرى النوع *D. ciliatus* المعاملة بتركيز مختلفة من أوكسيد التيتانيوم النانوي



شكل (11) نسبة هلاك كاملات النوع *D. ciliatus* المعاملة بتركيز مختلفة من أوكسيد التيتانيوم النانوي

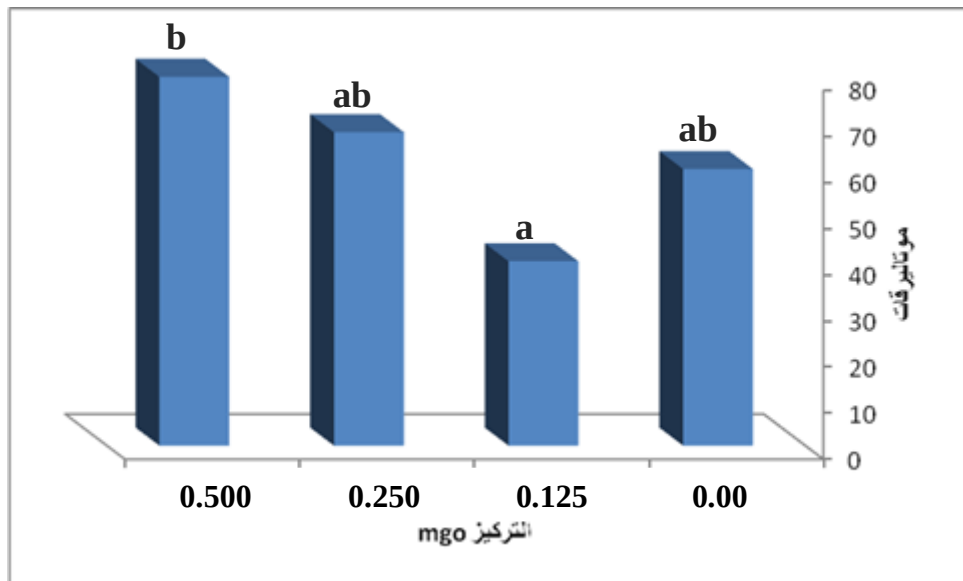
4-2-2 تأثير تراكيز مختلفة من المواد النانوية على بعض الأدوار الحياتية المختلفة لذبابة ثمار القرعيات

النوع *D. frontalis*

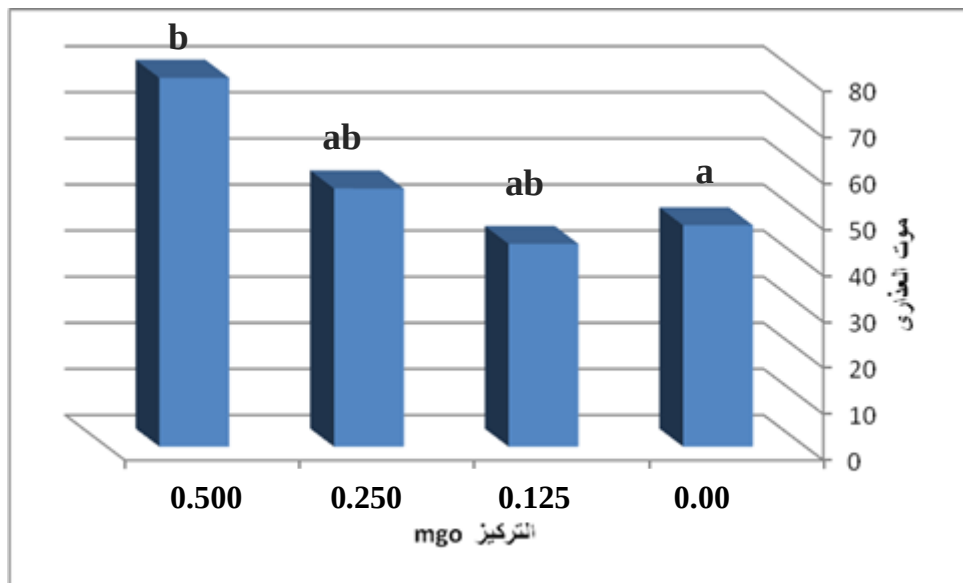
أظهر التحليل الإحصائي لنتائج معاملة أدوار الحياة لذبابة ثمار القرعيات *D. frontalis* عند معاملتها بثلاثة تراكيز من أوكسيد المغنسيوم النانوي في حالة اليرقات والعذارى والبالغات بعد مزجها مع 1 ملم من مبيد الميلاثيون لكل تركيز من التراكيز الثلاثة للمادة النانوية (0.125 ، 0.250 و 0.500) ملغم / لتر عند مستوى

معنوية ($P < 0.050$) ولجميع أدوار الحياة للحشرة وجود فروق معنوية في التأثير بين جميع المعاملات المتمثلة بالأعمدة البيانية ، ويوضح الشكل (12) نسبة هلاك يرقات النوع *D. frontalis* بعد المعاملة بتركيز مختلفة من أوكسيد المغنسيوم النانوي مع المبيد وجود فروق معنوية عالية بين التراكيز الثلاثة مقارنة مع تركيز معاملة السيطرة المكون من المبيد فقط إذ بلغت نسبة القتل فيها 45 ، 59 و 82% على التوالي ؛ في حين وصلت النسبة في حالة تركيز السيطرة 51% وهذا دليل على أن معدل القتل لليرقات يزداد بزيادة تركيز المادة النانوية وبالتالي فإن هذه المادة تؤثر بشكل كبير على الفتحات التنفسية لليرقة مما يؤدي إلى أختناقها ، علماً أن قيمة LC_{50} لهذه المرحلة تساوي 0.091 وهي مشابهة لقيمتها عند معاملة يرقات النوع *D. ciliatus* وبنفس المادة النانوية وهذا يدل على أن تأثير هذه المادة على الدور اليرقي للنوعين يكون بنفس الدرجة ، كما يظهر الشكل (13) نسبة هلاك عذارى النوع *D. frontalis* بعد المعاملة وبنفس التراكيز لمعرفة تأثيرها على الدور العذري ومقارنة النتيجة مع تركيز معاملة السيطرة ، وقد لوحظ وجود تقارب بين هذه المرحلة من المعاملة والمرحلة التي سبقتها في نتيجة المعاملة من خلال وجود فروق معنوية بين معدل القتل للتراكيز الثلاثة وتركيز معاملة السيطرة وهذا واضح باختلاف الأحرف المثبتة أعلى الأعمدة البيانية التي تمثل التراكيز ومعاملة السيطرة فقد بلغ معدل القتل في التراكيز الثلاثة وتركيز معاملة السيطرة 45 ، 51 ، 58 و 83% من مجموع العينات المستخدمة ، أما قيمة التركيز نصف القاتل لهذا الدور عند المعاملة فقد بلغت 0.169 وهي كبيرة جداً مقارنة بما هي عليه في حالة المعاملة بنفس المادة النانوية لعذارى النوع *D. ciliatus* وهذا يدل على التأثير الكبير لهذه المادة على هذا الدور من خلال زيادة نسبة هلاك العذارى لأن المادة النانوية تمتلك قدرة عالية على النفاذ من الطبقات الصلبة للجدار الذي يحيط باليرقة المتعذرة . يشير الشكل (14) إلى نسبة هلاك الكاملات المعاملة بتركيز مختلفة من بنفس المادة أيضاً ، إذ وجد أن معدل القتل للعينات المأخوذة قد ارتفع تدريجياً في حالة التراكيز 0.125 ، 0.250 و 0.500 ملغم / لتر بالمقارنة مع تركيز المبيد فقط إذ كانت تساوي في حالة التركيز الأول 62% من مجموع العينات المعاملة وفي الثاني ازدادت لتصل إلى أعلى نسبة لها في جميع مراحل المعاملة لكلا النوعين إذ بلغت 82% في حين أنها وصلت في حالة التركيز الثالث إلى 77% أي وجود فرق معنوي في التأثير بينها وبين التركيز السابق ، وهذه النتيجة تؤكد مرة أخرى أن إضافة المادة النانوية مع غذاء الكاملات حقق نسبة قتل عالية كونه أثر بشكل مباشر على الجهاز الهضمي لها ولكون مادة النانوية شديدة السمية فقد أدت إلى هذه النسبة العالية من الهلاكات بينها مقارنة بتأثيرها على الدورين اليرقي والعذري الذين أتبعتهما في معاملتهما طريقة الرش على العينات المستخدمة وكانت قيمة LC_{50} أقل مما هي

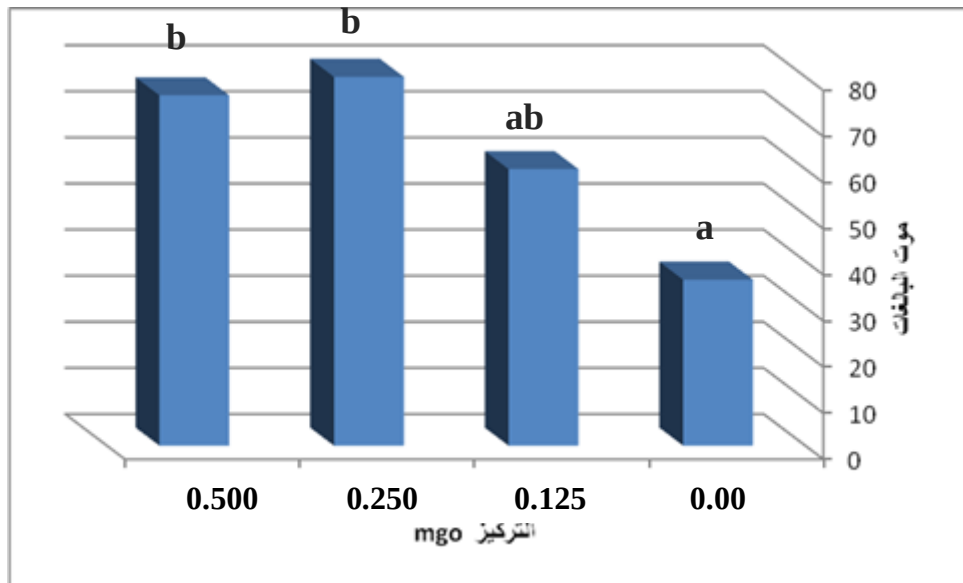
عليه في حالة الدور العذري أذ وصلت إلى 0.168 . أما عندَ معاملة أدوار حياة ذبابة *D. frontalis* بمادة أوكسيد التيتانيوم النانوي TiO_2 مع المبيد بدءً من الدور اليرقي ومقارنتها مع معامل السيطرة ، إذ يُظهر الشكل (15) أن النتيجة عند معاملة اليرقات من خلال التركيز الأول 0.125 لتلك المادة تكون متساوية مع نتيجة معامل السيطرة 0.00 (مبيد الملاثيون فقط) إذ أن نسبة القتل فيهما تكون متساوية أي 39% والأحرف المتشابهة الموجود فوق الأعمدة البيانية تشير إلى ذلك ، أما بالنسبة للتركيزين الثاني والثالث فقد وجدَ أن هناك فرق بين تأثيرهما على هذا الدور إذ بلغ معدل القتل لكلاهما 65 و85% على التوالي في حين بلغت قيمة التركيز نصف القاتل 0.184 وهي دليل قاطع على التأثير الكبير للمادة النانوية على هذا الدور وخصوصاً في التركيز الثالث مقارنةً مع معامل السيطرة ، أما عندَ معاملة العذارى بالمادة النانوية ولنفس التراكيز الثلاثة ، فقد بينَ الشكل (16) أن هناك فروقاً معنوية عالية في التأثير بينَ بعضها البعض وكذلك عندَ مقارنتها بمعامل السيطرة للمبيد فقط ، إذ أن معدل القتل للتركيز الثلاثة بلغ 35 ، 66 و91% على التوالي ، أي أن هناك فروقاً معنوية عالية بينَ معدل القتل للتركيز الثلاثة من خلال الأحرف المختلفة في أعلى الأعمدة البيانية للتركيز عندَ مستوى احتمالية ($P < 0.05$) ، فيما بلغت قيمة LC_{50} في هذا الدور 0.185 وهي مقاربة جداً لما في الدور اليرقي . كما أشار الشكل (17) إلى نتيجة معاملة بالغات الحشرة ولنفس التراكيز أن نسبة القتل متقاربة جداً ولا توجد بينها فروقاً معنوية عندَ مستوى احتمالية 0.05 بالنسبة للتركيزين الأول والثاني مقارنة مع تركيز معامل السيطرة في حين كانَ هناك فرق معنوي في التأثير على هذا الدور من قبل التركيز الثالث 0.500 ملغم / لتر إذ وصلت إلى 100% في جميع العينات المعاملة ، أي أن مادة أوكسيد التيتانيوم النانوية ذات تأثير عالي جداً على كاملات ذبابة ثمار القرعيات *D. frontalis* مقارنة بتأثيرها على كاملات النوع *D. ciliatus* ؛ كما أن قيمة التركيز نصف القاتل في هذا الدور قد وصلت إلى 0.155 ويعود السبب في ذلك إلى وضع المادة مع الوسط الغذائي (السكر والخميرة) وبالتالي فأن تأثيرها على الكاملات كان بشكل مباشر وسريع جداً .



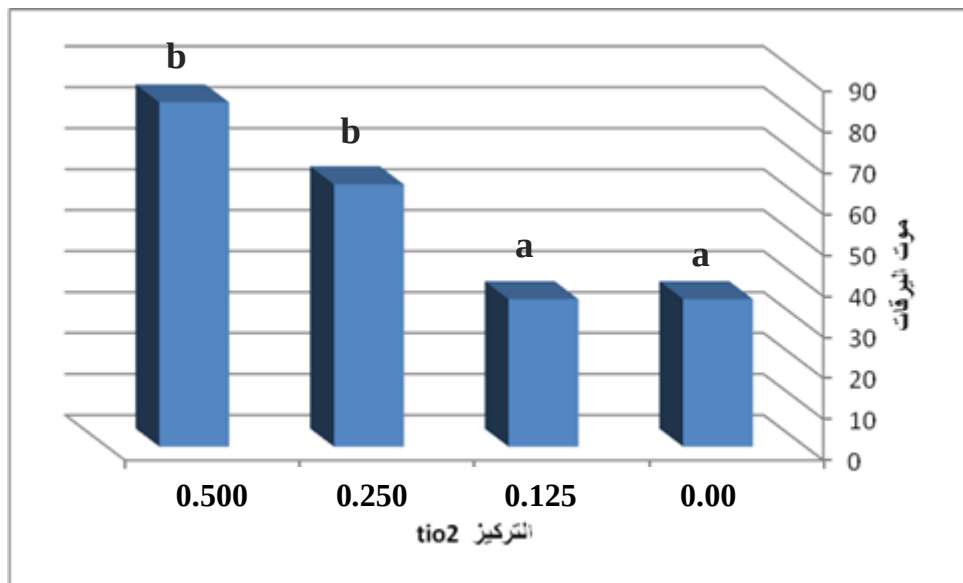
شكل (12) نسبة هلاك يرقات النوع *D. frontalis* المعاملة بتركيزات مختلفة من أوكسيد المغنسيوم النانوي



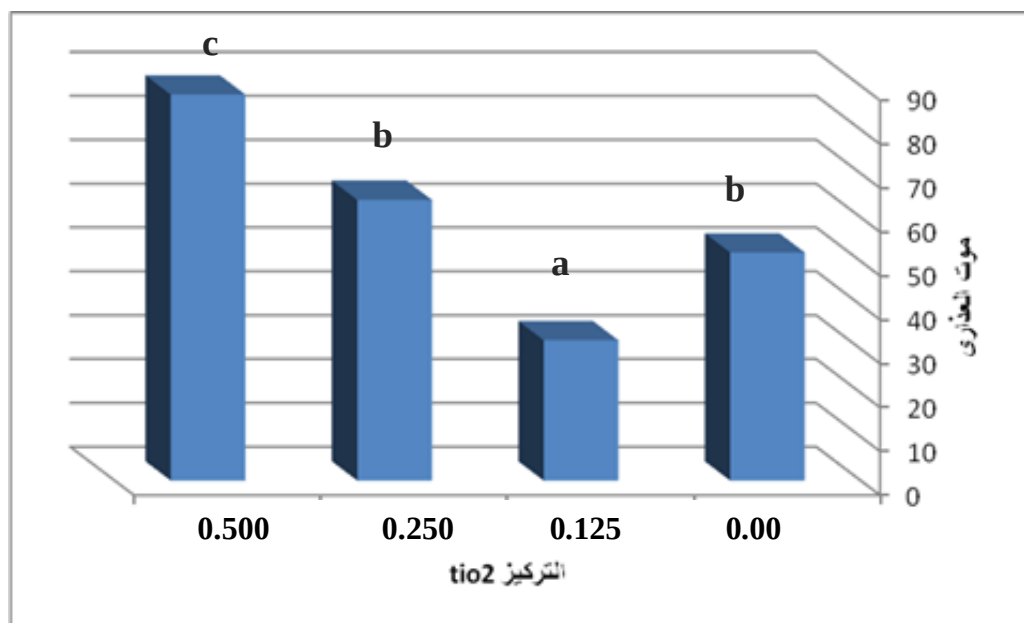
شكل (13) نسبة هلاك عذارى النوع *D. frontalis* المعاملة بتركيزات مختلفة من أوكسيد المغنسيوم النانوي



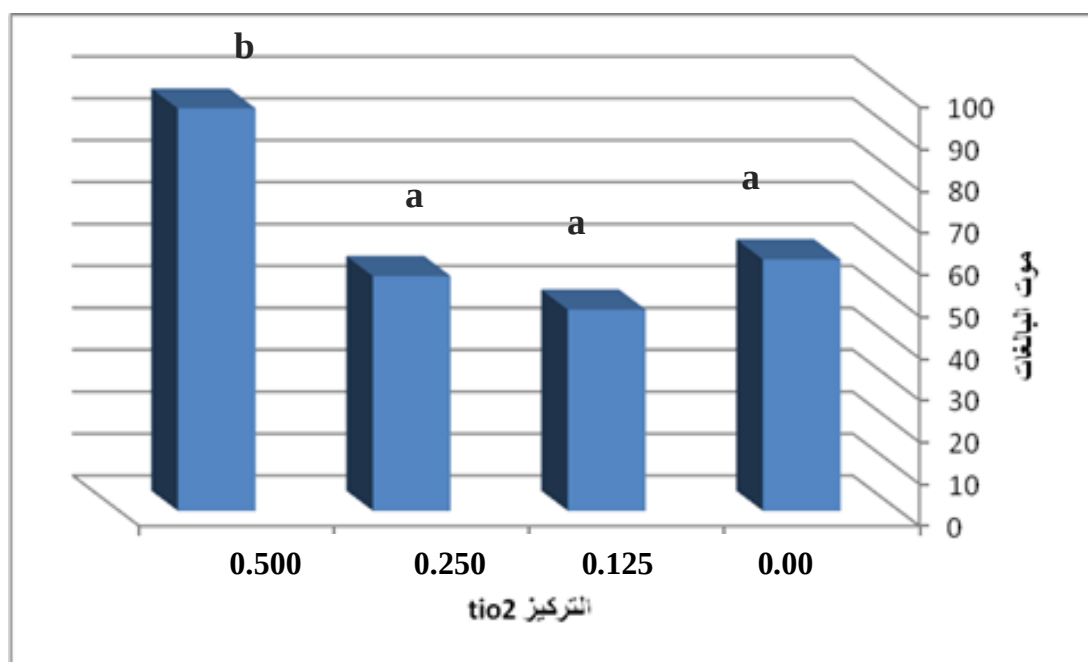
شكل (14) نسبة هلاك كاملات النوع *D. frontalis* المعاملة بتركيزات مختلفة من أكسيد المغنسيوم النانوي



شكل (15) نسبة هلاك يرقات النوع *D. frontalis* المعاملة بتركيزات مختلفة من أكسيد التيتانيوم النانوي



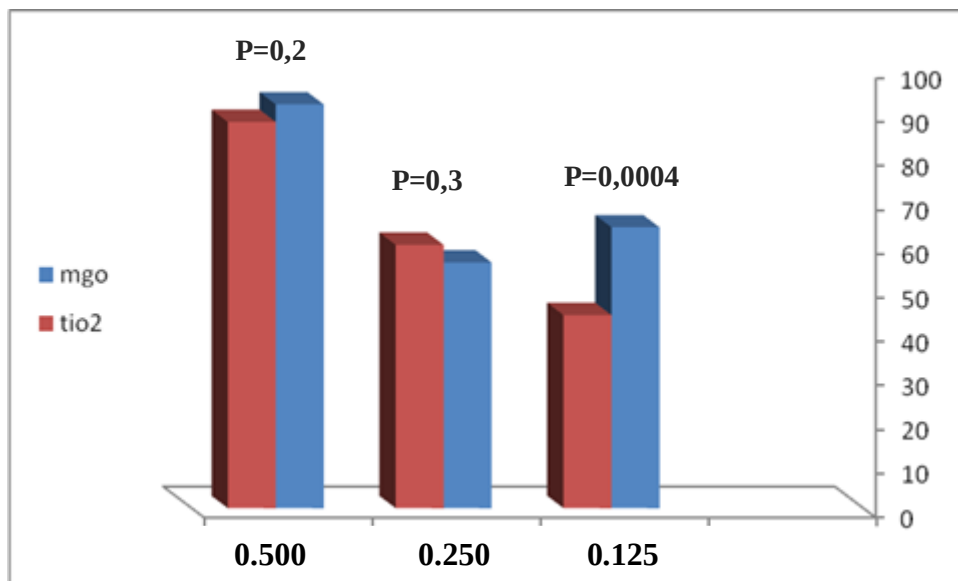
شكل (16) نسبة هلاك عذارى النوع *D. frontalis* المعاملة بتركيزات مختلفة من أوكسيد التيتانيوم النانوي



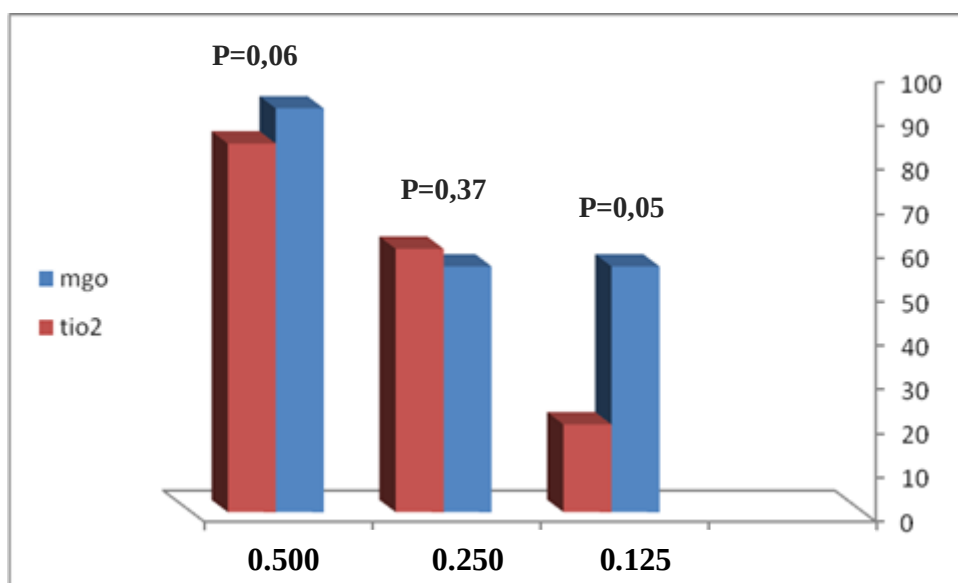
شكل (17) نسبة هلاك كاملات النوع *D. frontalis* المعاملة بتركيزات مختلفة من أوكسيد المغنسيوم النانوي

3-2-4 المقارنة بين تأثير المبيد والمواد النانوية Comparison between the effect of pesticide and nanomaterials

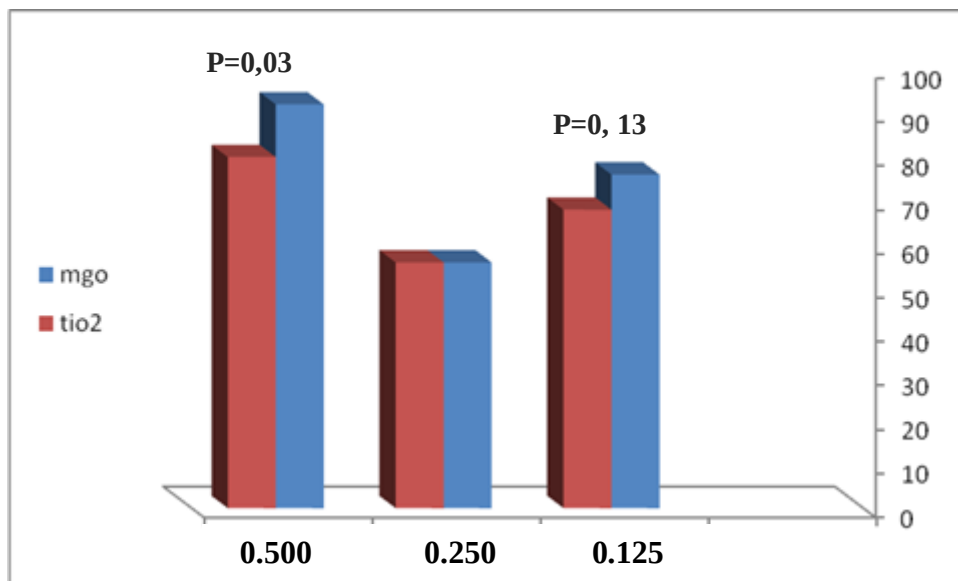
يوضح الشكل (18) قيمة P المحسوبة ومقارنتها مع مثيلاتها في الجداول الإحصائية لاختبار دنكن عند مستوى احتمالية ($P < 0.05$) للمادتين النانويتين MgO و TiO_2 ، وبالتالي معرفة الفرق بين المادتين من حيث التأثير على أدوار حياة النوعين *D. ciliatus* و *D. frontalis* ولثلاث تراكيز مختلفة من تلك المواد وهي 0.125 ، 0.250 و 0.500 ملغم / لتر ؛ كما يبين الشكل (19) المقارنة بين تأثير المادتين عند استخدامهما في معاملة الدور اليرقي للنوعين وفي كل تركيز ، فعند المقارنة بين المادتين للتركيز الأول وجد أن قيمة الفرق بينهما تساوي $P=0.004$ أي أن التأثير لمادة أكسيد المغنسيوم في هذا الدور أعلى مما في مادة أكسيد التيتانيوم في حين أن الفرق في التأثير بين المادتين في حالة التركيز الثاني كان قليلاً جداً ، إذ وجد أنه يساوي $P=0.3$ بينما في حالة المقارنة بينهما عند المعاملة بالتركيز الثالث وجد أنها تقل أيضاً وهذا يدل على أن التأثير للمادتين في هذه التراكيز متساوي بشكل كبير جداً . ويوضح الشكل (20) المقارنة بين تأثير المبيدات في حالة المعاملة لعذرى النوعين ، إذ وجد أن الفرق في التأثير بين المادتين بالنسبة للتركيز 0.125 كبير جداً ، حيث أن مادة MgO ذات تأثير عالي جداً على هذا الدور في حين أنخفض تأثير مادة TiO_2 إلى أدنى مستوى وأن الفرق بينهما وجد أنه يساوي $P=0.05$ ، أما في التركيز الثاني 0.250 فقد وجد أن الفرق قليل جداً وأن تأثيرهما يكاد يكون متساوي ، إذ وصل إلى $P=0.37$ أي أن تأثير أكسيد التيتانيوم كان أعلى بقليل جداً ؛ وفي حالة التركيز 0.500 كان الفرق في التأثير بين المبيدات متوسط ، إذ وجد أنه يساوي $P=0.06$ إذ أتضح أن أكسيد المغنسيوم أعلى تأثيراً من أكسيد التيتانيوم عند معاملة العذارى للنوعين أي أن زيادة تركيز المغنسيوم تؤدي إلى نفاذه داخل كيس العذراء وقتلها . كما يشير الشكل (20) إلى معاملة الكاملات للنوعين بنفس التراكيز من المبيدات ، ففي التركيز 0.125 كان تأثير أكسيد المغنسيوم MgO أعلى قليلاً من أكسيد التيتانيوم TiO_2 ، إذ وجد أنه يساوي $P=0.13$ في حين أن التركيز 0.250 كان للمادتين تأثير متساوي على كاملات النوعين ، أما التركيز الثالث 0.500 لهما كان فيه لمادة MgO التأثير الأعلى من مادة TiO_2 النانوية ، إذ وجد أنه يساوي $P=0.006$ وهذه النتائج تؤكد أن تأثير المادتين على الكاملات للنوعين متساوي تقريباً أي عدم وجود فروق إحصائية كبيرة في تأثير المادتين النانويتين عليهما .



شكل (18) المقارنة بين تأثير مادتي MgO و TiO₂ على يرقات النوعين *D. frontalis* و *D. ciliatus*



شكل (19) المقارنة بين تأثير مادتي MgO و TiO₂ على عذارى النوعين *D. frontalis* و *D. ciliatus*



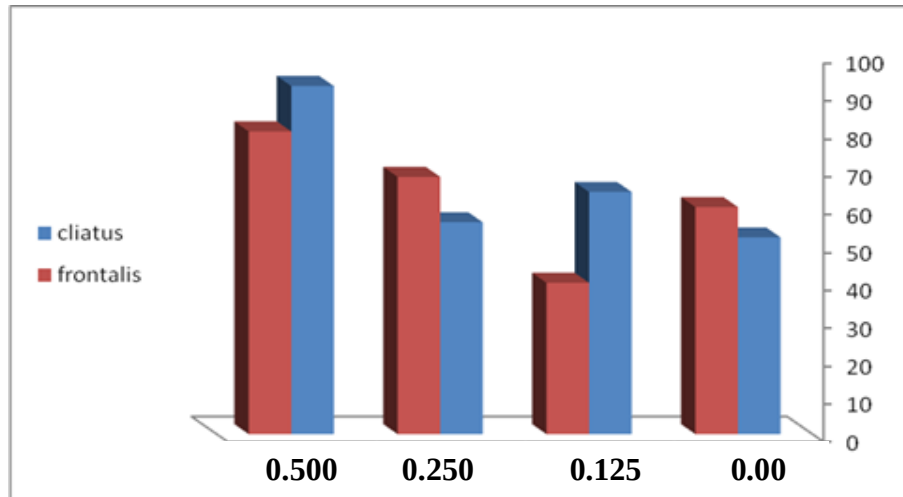
شكل (20) المقارنة بين تأثير مادتي MgO و TiO₂ على بالغات النوعين *D. frontalis* و *D. ciliatus*

4-2-4 المقارنة بين النوعين *D. frontalis* و *D. ciliatus* من ناحية تأثر أدوار الحياة المختلفة لهما عند المعاملة بمادتي MgO و TiO₂ النانوية

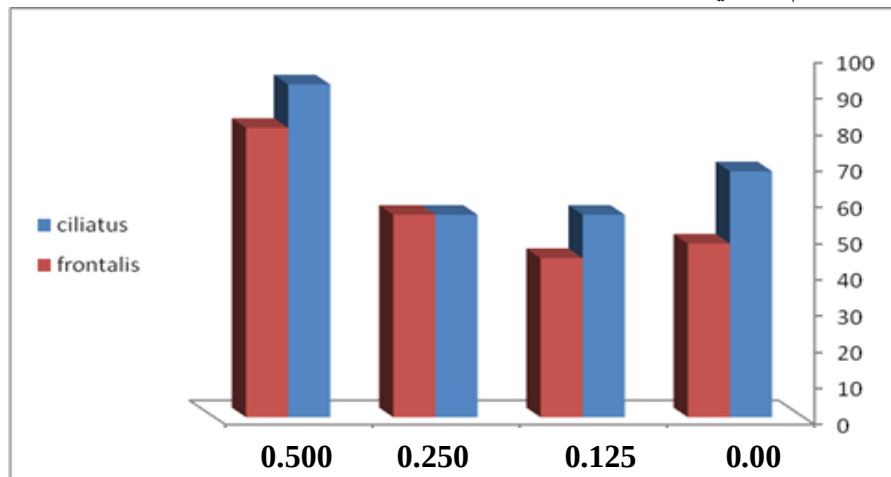
توضح الأشكال (21، 22، 23، 24، 25 و 26) نتائج المقارنة للنوعين *D. frontalis* و *D. ciliatus* من ناحية تأثير المبيدات المتمثلة بمادتي أكسيد المغنسيوم وأكسيد التيتانيوم النانوي على أدوار حياتها المختلفة، إذ يوضح الشكل (21) نتائج المقارنة بين النوعين بالنسبة للدور اليرقي لهما باستخدام مادة MgO، إذ تبين عدم وجود فروق معنوية كبيرة بالنسبة للعينات المعاملة بتركيز معامل السيطرة 0.00 إذ كان تأثير المبيد على النوع *D. frontalis* للحشرة أعلى؛ وعند مقارنة تأثر يرقات النوعين عند معالمتها بالتركيز 0.125 ملغم / لتر من مادة MgO النانوي عند مستوى احتمالية ($P < 0.05$) وجد أن هناك فرق معنوي واضح بينهما، إذ يصل إلى 0.20% من مجموع العينات المعاملة وأن التأثير بالمعاملة كان واضحاً بشكل أكثر على النوع *D. ciliatus*؛ أما عينات النوعين المعاملة بالتركيز 0.250 فقد كان الفرق المعنوي بينهما قليل وأن تأثير المادة النانوية بدأ أكثر على *D. frontalis*، كما أن العينات المعاملة بنفس المادة ولكن بتركيز 0.500 لم تختلف كثيراً من ناحية التأثير بالمبيد فقد كان الفرق المعنوي بينهما بسيطاً، إذ كانت عينات النوع *D. ciliatus* أكثر تأثراً وهذا يشير إلى أن الدور اليرقي للنوع *D. ciliatus* يتأثر كثيراً بزيادة تركيز المادة النانوية مقارنة بالنوع *D. frontalis*، كما يشير الشكل (22) إلى نتيجة المقارنة إحصائياً بين النوعين في الدور العذري، فعند المقارنة بينهما في حالة معامل السيطرة لأوكسيد المغنسيوم وجد أن عذارى

النوع *D. ciliatus* كانت أكثر تأثراً عند المعاملة من النوع *D. frontalis* وقد كانت هذه النتيجة مقارنة لنتيجة المعاملة بالتركيز 0.125 للمادة النانوية ، بينما وجد أنها كانت متساوية تماماً في التركيز 0.250 ؛ وعند المقارنة بين النوعين من ناحية تأثيرهما بفعالية المادة النانوية باستخدام التركيز الثالث 0.500 ملغم / لتر فقد كان هناك فرق معنوي بسيط بينهما ، حيث كان النوع *D. ciliatus* أكثر تأثراً بنسبة 10% أي أن نفاذية مادة MgO إلى غلاف العذراء فيها بنسبة أكثر مما في عذراء النوع *D. frontalis* . عند إجراء المقارنة بينهما في دور الكاملات ولنفس المادة النانوية والتركيزات الثلاثة المستخدمة عند مستوى احتمالية $P < 0.05$ الشكل (23) ، وجد من خلال هذا التحليل أن نسبة تأثير النوع *D. ciliatus* عند المعاملة بتركيز معامل السيطرة والتركيز 0.125 أعلى من النوع *D. frontalis* ، في حين أن النوع *D. frontalis* كان أكثر تأثراً ولو بنسبة بسيطة في حالة المعاملة بالتركيز 0.250 ملغم/لتر لمادة MgO ، أما في حالة المعاملة بالتركيز 0.500 ملغم/لتر من نفس المادة فقد كان هناك فرق معنوي بسيط بين النوعين من ناحية التأثير بمادة MgO ، إذ أتضح أن النوع *D. ciliatus* كان أكثر تأثراً . وعند إجراء المقارنة بين النوعين من ناحية التأثير عند المعاملة بمادة أوكسيد التيتانيوم TiO_2 ، الشكل (24) حيث يشير الشكل إلى المقارنة بين النوعين المدروسين في الدور اليرقي لثلاثة تراكيز مختلفة من المادة النانوية مع مبيد الملاثيون وتركيز رابع يمثل معامل السيطرة يتكون من مبيد الملاثيون فقط ، يتضح أنه عند المقارنة بين النوعين في معامل السيطرة وتركيز مادة MgO النانوية وجود فرق معنوي بسيط من ناحية التأثير بالمعاملة لكلاهما وأن النوع *D. ciliatus* أكثر تأثراً ، بينما في التركيز 0.250 كان التأثير أكثر وضوحاً على النوع *D. frontalis* ، أما بالنسبة للتركيز 0.500 ملغم/لتر فقد كان هناك فرقاً بسيطاً ولكن التأثير كان أعلى في النوع *D. ciliatus* ، كما يبين الشكل (25) نتيجة المقارنة بين النوعين بالنسبة للدور العذري عند معاملتهما بأوكسيد التيتانيوم النانوي ومعامل السيطرة 0.00 المكون من المبيد فقط والذي وجد فيه عند المقارنة فرق معنوي كبير بين النوعين حيث كانت نسبة التأثير أعلى في النوع *D. frontalis* مقارنة مع النوع *D. ciliatus* ، أما عند المعاملة بالتركيز 0.125 ملغم/لتر فلم يكن هناك فرق معنوي بين النوعين ، كذلك كان التأثير أكثر بقليل على النوع *D. frontalis* من النوع *D. ciliatus* ، وهذا ينطبق أيضاً عند المعاملة في التركيزين 0.250 و 0.500 ملغم/لتر ، وهذا يؤكد أن تأثير مادة TiO_2 النانوي على الدور العذري لنوعي ذبابة ثمار القرعيات أقل مقارنةً مع تأثير مبيد الملاثيون عليهما . ويوضح الشكل (26) نتيجة المقارنة بين كاملات النوعين باستخدام مادة أوكسيد التيتانيوم النانوي مع المبيد بالتركيز 0.125 ، 0.250 و 0.500 ملغم/لتر على التوالي

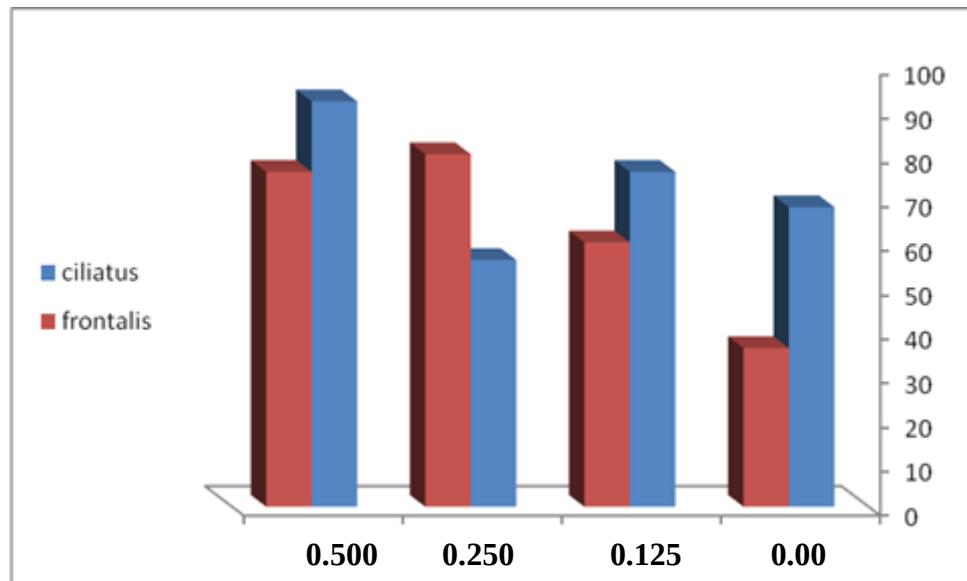
وتركيز معامل السيطرة 0.00 المكون من المبيد فقط ، إذ يُظهر النوع *D. ciliatus* أقل تأثراً من النوع *D. frontalis* ، بينما اختلف الحال عند المقارنة بينهما في حالة التركيز 0.125 ، أذ كان النوع *D. ciliatus* أكثر تأثراً ، أما في حالة المعاملة باستخدام التركيز 0.250 لم يظهر هُناك أي فروق بينها ، وعند إجراء المقارنة بينهما بعد المعاملة باستخدام التركيز 0.500 ، فقد وجدَ أن مادة TiO_2 النانوي أكثر تأثيراً على كاملات النوع *D. frontalis* مقارنة بالنوع *D. ciliatus* .



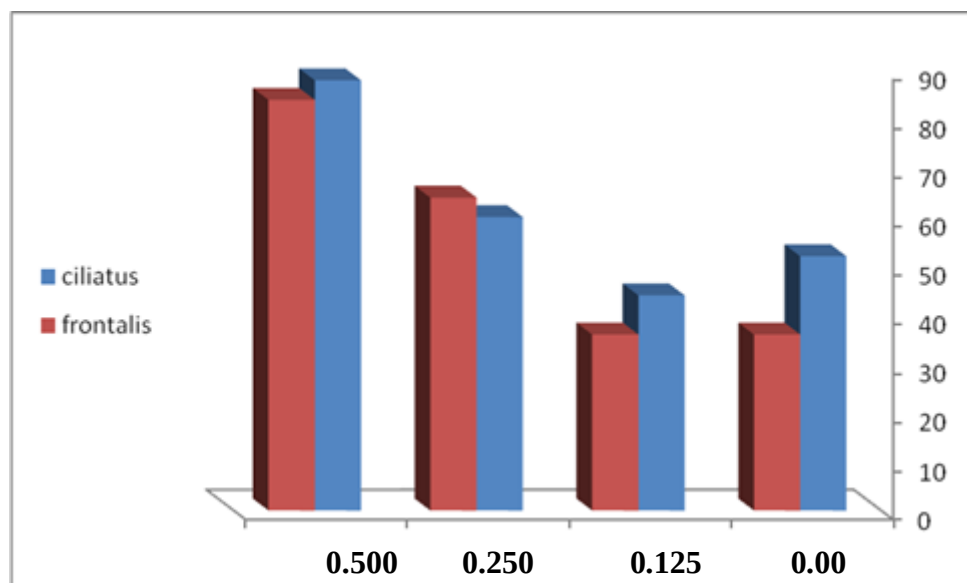
شكل (21) المقارنة بين يرقات النوعين *D. frontalis* و *D. ciliatus* بعد المعاملة بتركيز مختلفة من أوكسيد المغنسيوم النانوي MgO .



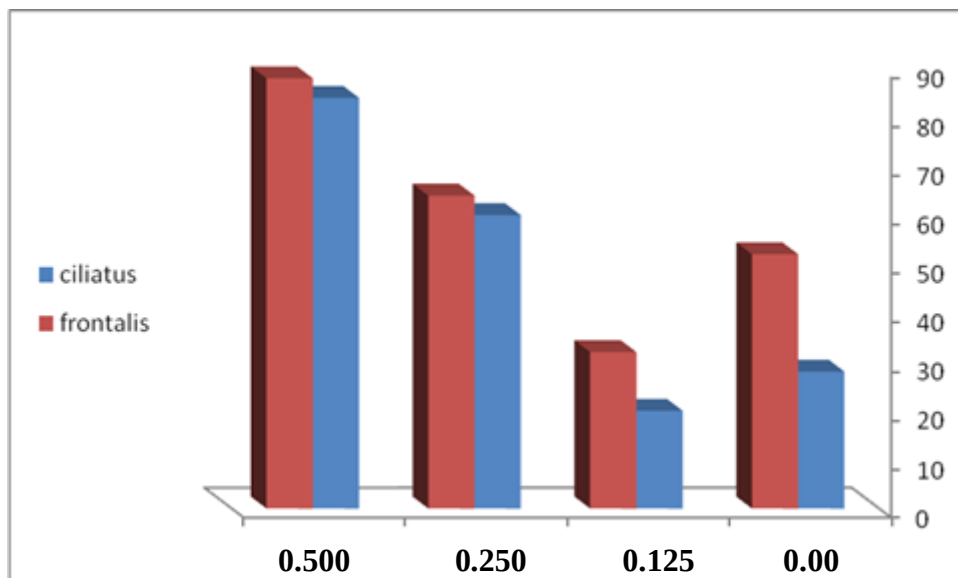
شكل (22) المقارنة بين عذارى النوعين *D. frontalis* و *D. ciliatus* بعد المعاملة بتركيز مختلفة من أوكسيد المغنسيوم النانوي MgO .



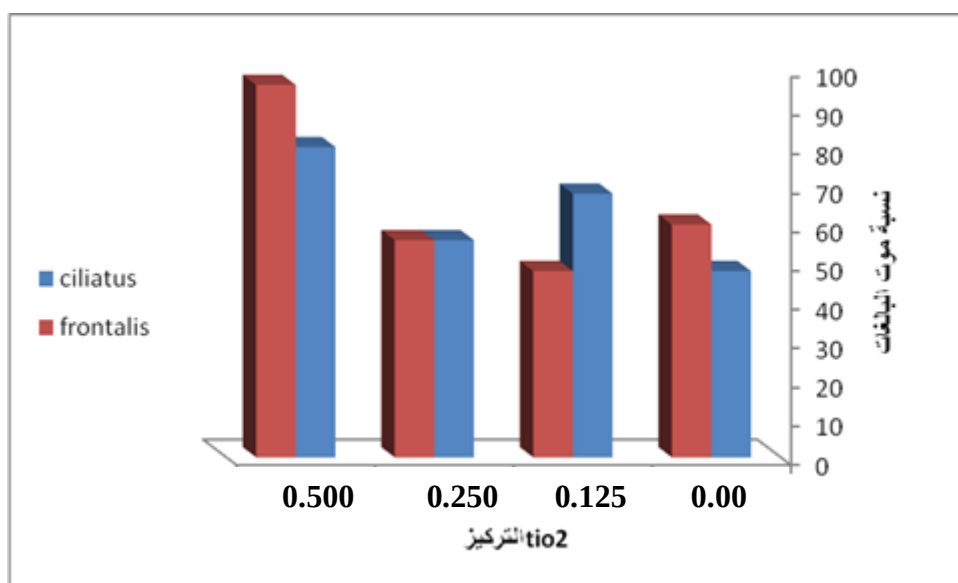
شكل (23) المقارنة بين بالغات النوعين *D. frontalis* و *D. ciliatus* بعد المعاملة بتركيزات مختلفة من أوكسيد المغنسيوم النانوي MgO .



شكل (24) المقارنة بين يرقات النوعين *D. frontalis* و *D. ciliatus* بعد المعاملة بتركيزات مختلفة من أوكسيد التيتانيوم النانوي TiO2 .



شكل (25) المقارنة بين عذارى النوعين *D. frontalis* و *D. ciliatus* بعد المعاملة بتركيز مختلفة من أوكسيد التيتانيوم النانوي TiO_2 .



شكل (26) المقارنة بين كاملات النوعين *D. frontalis* و *D. ciliatus* بعد المعاملة بتركيز مختلفة من أوكسيد التيتانيوم النانوي TiO_2 .

5-2-4 المقارنة بين بالغات النوعين *D. frontalis* و *D. ciliatus* من ناحية إنتاجية البيوض بعد المعاملة بتركيز مختلفة من أوكسيد المغنسيوم والتيتانيوم النانوي

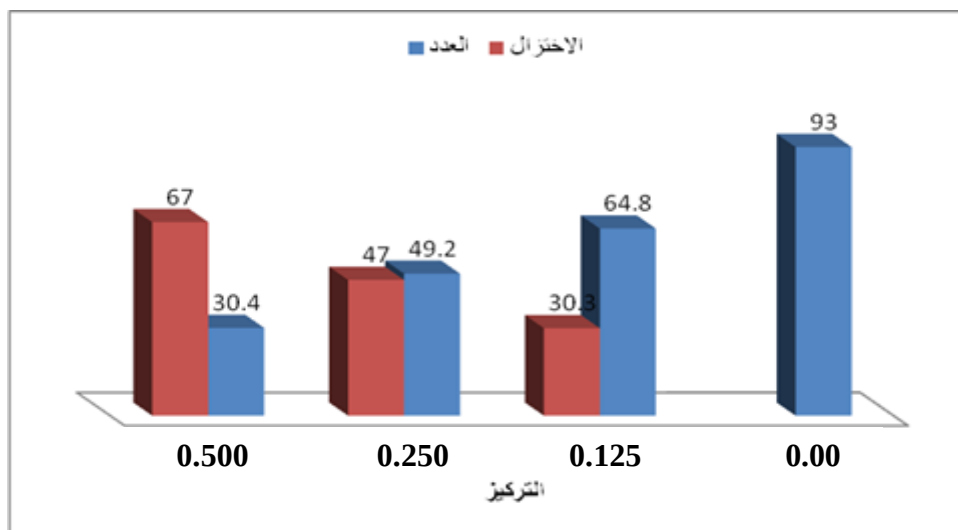
تم إجراء التحليل الإحصائي لبالغات النوعين *D. frontalis* و *D. ciliatus* لمعرفة مدى تأثير المواد النانوية المستخدمة في المعاملة على صفة الخصوبة (الإنتاجية) لهما من خلال حساب عدد الحشرات الناتجة

بعدَ المعاملة لكلاهما حسب تراكيز المادة النانوية مع المبيد وتركيز معامل السيطرة المكون من المبيد فقط ، ويوضح الشكل (27) المقارنة بين عدد الحشرات الناتجة والتي فشلت عملية تعذرها ، ففي معامل السيطرة (0.00) وجدَ أن معدل إنتاج البالغات بعدَ المعاملة بهذا التركيز قد بلغ 93% من مجموع اليرقات المتعذرة وهي نسبة كبيرة جداً وتدل على عدم تأثير البالغات بهذا المبيد ، أما معدل الحشرات الناتجة بالنسبة لتركيز MgO 0.125 النانوي ملغم/لتر فقد بلغ 64.8% وعدد الحشرات المختزلة من الإناث المعاملة به قد وصلَ إلى 0.30% أي نسبة التأثير كانت ضعيفة في حين تساوت النسبة تقريباً مع فرق بسيط من ناحية العدد الناتج والمختزل في التركيز 0.250 ملغم/لتر ، إذ كانَ معدل عدد الحشرات الناتجة لكلا النوعين هو 49.2% والمختزلة 47% من العدد الكلي للعينات ، أي أن فعالية المادة النانوية بهذا التركيز كانت متساوية ، وعندَ معاملة النوعين بالتركيز 0.500 ملغم/لتر مرة من مادة MgO النانوية وأخرى من مادة TiO_2 تبينَ أن معدل الاختزال ارتفع كثيراً ليصل إلى 67% ، بالمقابل أنخفض عدد الحشرات الناتجة لتصل إلى 30.4% وهذا تأكيد على أن التركيز 0.500 من المادة النانوية كانَ له التأثير الأكبر على خصوبة الإناث عندَ المعاملة به .

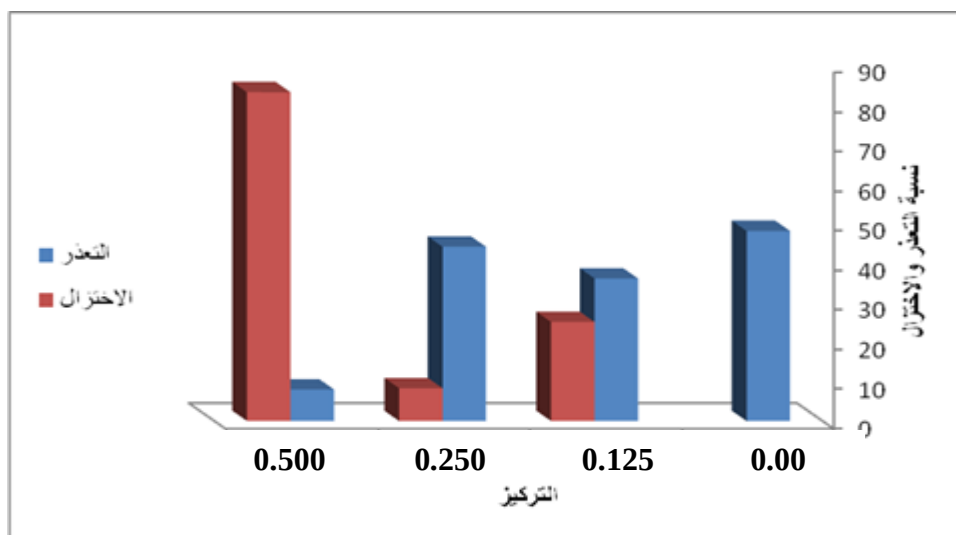
يبين الشكل (28) نتائج المعاملة بمبيد الملاثيون فقط وبتركيز 0.00 ومادتي أوكسيد المغنسيوم وأوكسيد التيتانيوم النانوي بثلاثة تراكيز مختلفة وهي على التوالي 0.125 ، 0.250 و 0.500 ملغم/لتر لعذارى النوعين *D. frontalis* و *D. ciliatus* لمعرفة صفة التعذر والاختزال لليرقات الناتجة من البالغات بعدَ المعاملة بالمبيد مرة وبالمواد النانوية مرة أخرى ، ففي حالة المعاملة بالمبيد وجدَ أن نسبة التعذر فيها كانت تساوي 50% من المجموع الكلي للعينات ، في حين أن فشل التعذر كانَ يساوي 0% أي لم تختزل أي منها وهو ما يؤكد عدم تأثيرها بالمعاملة ، أما في حالة التركيز 0.125 فقد كانَ معدل التعذر لليرقات المعالجة في كلا النوعين يساوي 42% وفشل التعذر 32% أي أن هناك فرق معنوي بينهما عندَ مستوى احتمالية ($P < 0.05$) هو دليل على عدم تأثيرها ، أما عندَ المعاملة بالتركيز 0.250 ملغم/لتر لكل مادة نانوية ولنفس العدد من عينات النوعين وجدَ فرق معنوي كبير جداً بينَ عمليتي التعذر والاختزال ، إذ أن معدل التعذر كان يساوي 50% من المجموع الكلي لها في حين وكانت نسبة فشل التعذر تساوي 10% أي عدم تأثير أي من المادتين النانويتين على اليرقات المعاملة بهما ؛ وعندَ معاملة نفس العدد من اليرقات لكلا النوعين بالتركيز 0.500 ملغم/لتر كانت النتيجة تأثير المادة النانوية بشكل واضح وبنسبة كبيرة على عينات النوعين إذ كانت نسبة فشل التعذر للعينات المعاملة في كلا النوعين تساوي 91% من المجموع الكلي لها ، في حين كانَ معدل التعذر فيها يساوي أقل من 10% وهو دليل على التأثير الكبير لمادتي MgO و TiO_2 على الدور اليرقي بالنسبة

لصفة التعذر في اليرقات المعاملة بهما ، إذ كانَ هذا التأثير على الفتحات التنفسية لليرقات في طور البلوغ (الطور الثالث) فادى إلى إختناقها وبالتالي زيادة نسبة الهلاكات فيها ، ومن الدراسات التي تمت في هذا المجال الدراسة التي أجراها Rouhani وآخرون (2012) والتي درسَ فيها تأثير دقائق الفضة والزنك النانوية على أدوار حياة حشرة عث الدفلة (*Aphis nerii* (Hemiptera: Aphididae) ، إذ استخدم فيها الباحثون ثلاثة تراكيز مختلفة من كل مادة هي 0.13 ، 424.67 و 539.46 ملغم/لتر وعلى التوالي وأشارت نتائج الدراسة بعدَ إجراء تحليل الإحصائي لبيانات مكافحة إلى أن تأثير مادة الفضة النانوية على أدوار حياة الحشرة أعلى من تأثير الزنك أي وجود فروق معنوية بين فعالية المادتين من حيث معدل القتل لليرقات والعذارى والبالغات علاوةً على ذلك فإنَّ صفة الإنتاجية للإناث أنخفضت بنسبة كبيرة جداً عندَ المعاملة بمادة الفضة مقارنةً بنتيجة المعاملة بمادة الزنك النانوية ، أيضاً درس الشالجي والجوراني (2017) تقييم كفاءة بعض العوامل الأحيائية كأحد عناصر الإدارة المتكاملة لمكافحة ذبابة ثمار القرعيات *Dacus ciliatus* وذبابة ثمار البطيخ الكبرى *Dacus frontalis* على محصول الخيار ، باستخدام المستحضر التجاري الأحيائي Richarge والذي يحتوي على الفطر المرض Beauveria bassiana و Metarhizium anisoplae فضلاً عن عزل فطر Lecanilicium lecanii من فطر Metarhizium spp. والمبيد الحشري تلسنار حقلياً ، وقد أظهرت نتائج التحليل الإحصائي للبيانات أن النسبة المئوية لإصابة ثمار الخيار في الأسبوع الأول عالية جداً في جميع المعاملات ، إذ وصلت إلى 100% ثم بدأت بالانخفاض تدريجاً في الأسبوع الثاني والثالث والرابع على التوالي بعدَ مكافحة وذلك لتأثير العوامل الأحيائية والكيميائية في خفض الكثافة السكانية للنوعين المدروسين ، ومن الدراسات الأخرى أيضاً الدراسة التي أجراها الشمري وآخرون (2017) حولَ مكافحة المتكاملة لذبابة ثمار القرعيات *Dacus ciliatus* لمعرفة ظهور كاملات الجيل الأول للحشرة في حقول منطقة الزعفرانية على مدى موسمين متتاليين ، وبينَ التحليل الإحصائي من خلال الأشكال البيانية تأثير عوامل مكافحة المتكاملة على أدوار حياة الحشرة وبالتالي خفض نسبة إصابة الخيار بها ، وقد درس كل من Sabbour و Shaurub (2018) التأثير السمي لجزيئات المبيد الحشري Imidacloprid والمبيد Nano-Imidacloprid أي المبيد الحشري بعد مزجه مع المادة النانوية في مكافحة حشرة ذبابة ثمار الزيتون *Bactrocera oleae* تحت ظروف العمل المختبري والميداني ، وقد خلُصت نتائج التحليل الإحصائي في تلك الدراسة باستخدام اختبار دنكن بعدَ المعاملة بالمادتين ولسبعة تراكيز مختلفة من المادتين وهي على التوالي 0.125 ، 0.250 ، 0.500 ، 0.750 ، 1.000 ، 1.500 و 2.000 ملغم/لتر

بعدَ معاملة يرقات وعذارى وكاملات الحشرة إلى أن معدل القتل يزداد في حالة المعاملة باستخدام المبيد الممزوج مع المادة النانوية مقارنة باستخدام المبيد فقط ، إذ وجدت فروق معنوية كبيرة في نتائج المعاملة لكليهما ، كما أكدت الدراسة على أن نسبة القتل تزداد بزيادة تركيز المبيد فقط وأيضاً المبيد الممزوج مع المادة النانوية ، كذلك فإنَّ صفة الخصوبة أو الإنتاجية بالنسبة لكاملات ذبابة ثمار الزيتون تقل كثيراً عندَ المعاملة باستخدام Nano-Imidacloprid والمقارنة باستخدام المبيد Imidacloprid فقط .



شكل (27) معدل أنتاجية البالغات من البيوض لإناث النوعين *D. frontalis* و *D. ciliatus* بعدَ المعاملة بتركيزات مختلفة من وكسيد المغنسيوم والتيتانيوم النانوي .

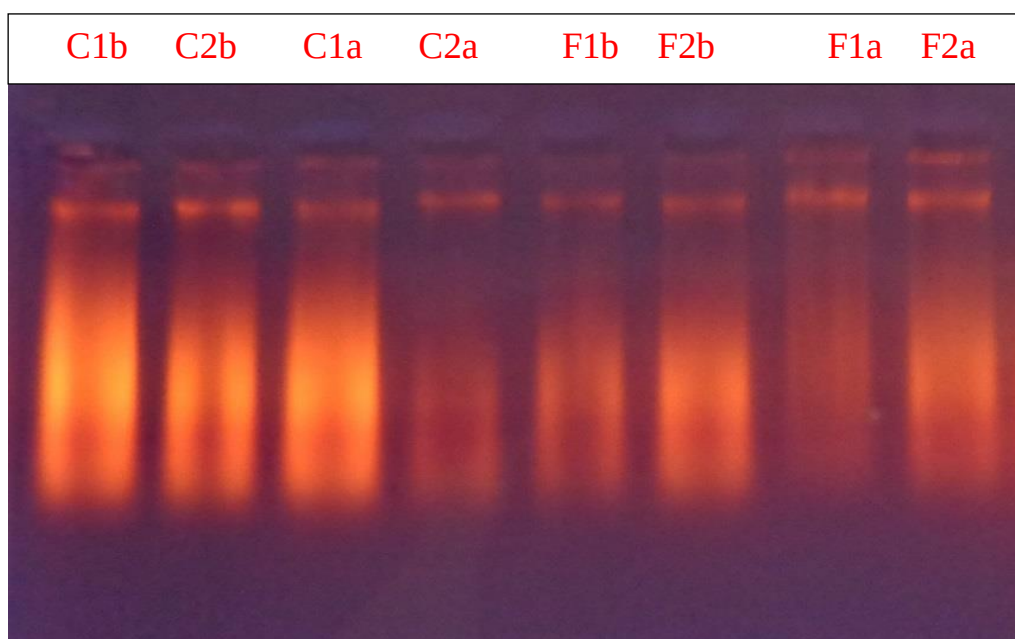


شكل (28) نسبة التعذر وفشل التعذر ليرقات النوعين *D. frontalis* و *D. ciliatus* بعدَ المعاملة بتركيزات مختلفة من أوكسيد المغنسيوم والتيتانيوم النانوي .

2-4 الدراسة الوراثية الجزيئية Molecular genetic study :

1-2-4 نتائج عزل الدنا DNA isolation results :

توضح الصورة (11) نتيجة عزل الحامض النووي DNA من ذكور وإناث ذبابة ثمار القرعيات للنوعين *D. ciliatus* و *D. frontalis* ، قبل وبعد مكافحة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي ، وتوجد طرائق عديدة تستخدم في استخلاص الـ DNA من الكائنات الحية المختلفة وخصوصاً الحشرات ، وقد استعملت في هذه الدراسة عدة الاستخلاص المعروفة بـ Genomic DNA mini kit tissue والمُنتجة من قبل شركة Bioner ، وتُعد طريقة الاستخلاص هذه الطريقة المناسبة لعزل الدنا من أنسجة الحشرات بسبب أمتلاكها إمكانية عالية جداً في استخلاص المادة الوراثية بنقاوة عالية جداً ، إذ كانت نقاوة الـ DNA المعزول من جميع العينات تتراوح بين 1.8-2 نانوميتر وهي النقاوة المطلوبة في تفاعل البلمرة التسلسلي الـ PCR .



صورة (11) الـ DNA المُستخلص من ذكور وإناث ذبابة ثمار القرعيات النوعين *D. ciliatus* و *D. frontalis* والمُرحلة على هلام الأكاروز بتركيز 1% وفرق جهد كهربائي 100 فولت ولمدة ساعة تحت الأشعة فوق البنفسجية UV بعد تصبغها بصبغة Ethidium bromide .

C1b : Male *D. ciliatus* befor, C2a : Female *D. ciliatus* after, F2b: Female *D. frontalis* befor

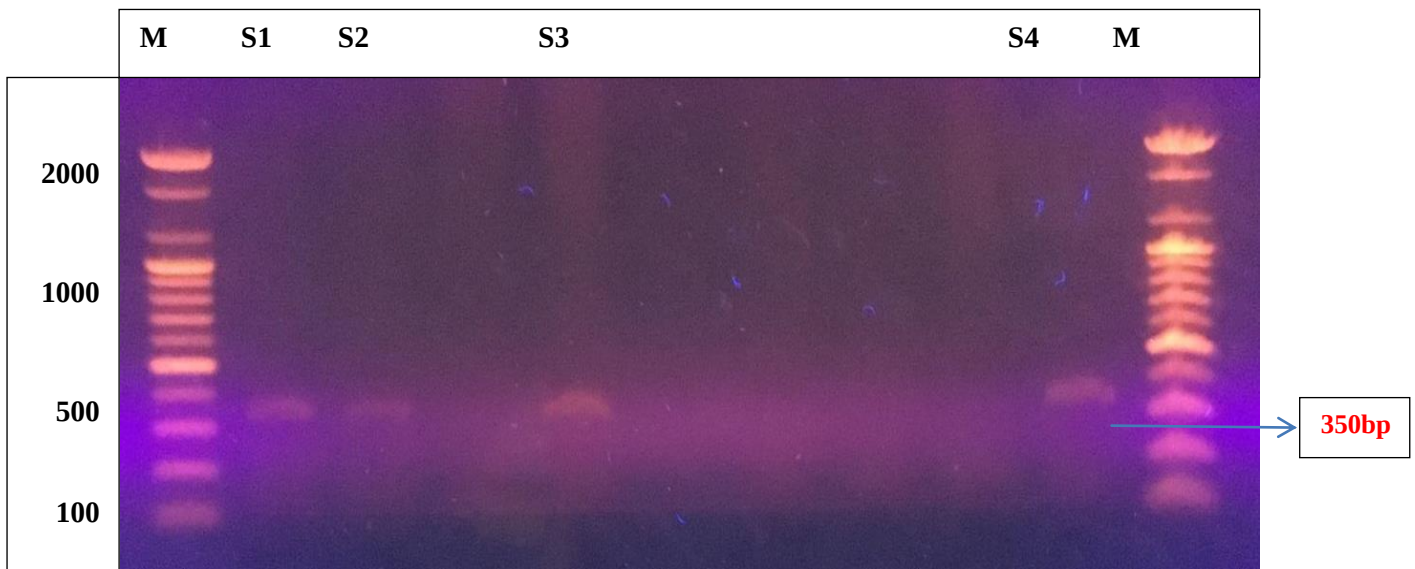
C2b : Female *D. ciliatus* befor, F1b : Male *D. frontalis* befor, Fla: Male *D. frontalis* after

F1b : Male *D. frontalis* befor, F2b : Female *D. frontalis* befor, F2a: Female *D. frontalis* after

4-2-2 تضخيم الجين COI باستعمال تفاعل أنزيم البلمرة المتسلسل PCR لأنواع المدروسة :

توضح الصورة (12) نتيجة تضخيم الجين Cytochrome oxidase I (COI) من الحامض النووي المايكوكونديري للذكور وإناث الأنواع المدروسة ، وقد بينت نتائج التحليل أن الوزن الجزيئي Molecular weight لحزم الـ DNA بعد عملية الترحيل الكهربائي لنتائج تضخيم الجين أعلاه للذكور والإناث ولكلا النوعين هو 350bp زوجاً قاعدياً وهذا دليل على أن النوعين يعودان إلى جنس واحد ، وهذا يتفق تماماً مع الدراسة التي قام بها Fetoh (2016) والتي درس فيها التباين الجزيئي والمظهري والنسجي بين ذبابة ثمار القرع الصغرى *D. ciliatus* والكبرى *D. frontalis* وبالتالي التمييز الجزيئي والمظهري والنسجي بين النوعين بشكل واضح ودقيق جداً عن طريق التصنيف المقارن ومن خلال الخصائص الجزيئية والاختلافات في كليهما باستخدام كبريتات الصوديوم sulphat Sodium dodecyl وترحيل الخليط كهربائياً على هلام البولي اكريليميد Polyacrylamide gel electrophoresis وقد توصل الباحث إلى وجود 13 حزمة بروتين في النوع *D. ciliatus* و 12 في النوع *D. frontalis* يتراوح حجمها بين 14.30 - 200.00 كيلو دالتون ونسبة التشابه بين النوعين في تلك الحزم تصل إلى 59.80 مما يوفر أداة جديدة لتشخيص أي دور من أدوار حياة النوعين (البيضة ، اليرقة ، العذراء والكاملة) بطريقة سهلة وسريعة وبالتالي تُساعد في طرائق المعاملة المختلفة لكلاهما ؛ ومن الدراسات الأخرى في هذا المجال الدراسة التي أجراها Jiang وآخرون (2016) عن أول جينوم متكامل للمايكوكونديريا في ذبابة *Dacus longicornis* (Weidemann, 1830) باستخدام تسلسل جينوم المايكوكونديريا في الأنواع التابعة لقبيلة Dacini ، إذ توصل الباحثون إلى أن أول جينوم متكامل للمايكوكونديريا في أنواع جنس الـ *Dacus* كان في تسلسل دنا المايكوكونديريا للنوع *D. longicornis* من خلال الإطلاع على بيانات ذلك الجينوم عن طريق التحليل الوراثي الجزيئي ، إذ تبين أن حجمه يساوي 16,253bp زوجاً قاعدياً وشكله دائري وقد وجد في أسلاف هذا النوع بشكل مجموعة وترتيب نموذجي لـ 37 جين ، كما وجد الباحثون من خلال إجراء مقارنة لبيانات جينوم المايكوكونديريا في النوع أعلاه مع جميع التتابعات المماثلة له والمنشورة سابقاً لأنواع أخرى من عائلة الـ Tephritidae أن هناك اختلاف بينه وبين جينوم بعض الأجناس ومنها الـ *Bactrocera* و *Dacus* وكذلك النويغات *Dacus* genera و *Zeugodacus* في شجرة التوقف الوراثية TA للجين CIO ، كما قام Zhang وآخرون (2010) بدراسة موسعة وشاملة بينت علاقة النشوء والتطور في أنواع من جنس *Bactrocera* ، إذ توصل الباحثون فيها من خلال تسلسلات المناطق الجينية الـ COI و 16s DNA بعد مضاعفة جينات المنطقتين

باستخدام تقنية الـ PCR لثمانية أنواع من تحت الجنس Subgenus أعلاه وهي *Afrodacus* ، *Teradacus* ، *Paradaucs* ، *Gymnodacus* ، *Daculus* ، *Bactrocera* ، *Austrodacus* و *Zeugodacus* ، إذ وجدوا أن طول تتابعات المنطقتين في الـ mtDNA هو 689bp و 345bp زوج قاعدي وعلى التوالي كما توصلوا أيضاً إلى وجود صلة قرابة بين بعض هذه الأنواع بحيث أنها تنحدر من أصل واحد كما في حالة أجناس *Bactrocera* و *Zeugodacus* ؛ ومن الدراسات الأخرى أيضاً الدراسة التي أجراها De Meyer وآخرون (2016) بخصوص مراجعة المعلومات المتوفرة عن ذبابة البطيخ التي أجراها *frontalis* في إفريقيا من خلال دراسة التشخيص الجزيئي بالاعتماد على مجموعة البيانات لتسلسلات المنطقة الجينية COI في الحامض النووي المايوتوكونديري mtDNA ومقارنة النتائج مع عينات بنك الجينات GenBank في الـ NCBI . أظهر التحليل النهائي أن 99 إلى 100% من التسلسلات المدروسة تماثل التسلسلات الموجودة في بنك الجينات ، كما أكد الباحثون وجود تنوع جيني عالي بين الأنواع أعلاه بعد تحليل النمط الوراثي الفردي Haplotype للمنطقة الجينية في المايوتوكونديريا COI وبالتالي فإن هذه الأنواع نشأت من أدوار مختلفة .



صورة (12) تضخيم الجين COI لنوعين من ذبابة ثمار القرعيات التابعة للجنس *Dacus* والمرحل على هلام الأكاروز بتركيز 1% ولمدة ساعة ونصف والمصورة تحت الأشعة فوق البنفسجية بعد التصبغ بصبغة بروميد الأنيديوم .

M : Marker (100-2000bp)

S1 – S2 : Sample of *D. ciliatus*

S3 – S4 : Sample of *D. frontalis*

3-2-4 تضخيم الجين CAD باستعمال تفاعل انزيم البلمرة المتسلسل PCR للأنواع المدروسة :

توضح الصورة (13) نتيجة تضخيم الجين CAD والذي يُعد أحد جينات النواة لذكور وإناث ذبابة ثمار القرعيات *D. ciliatus* و *D. frontalis* للجيل الثالث من النوعين والمُرحلة على هُلام الأكاروز بتركيز 1% و فرق جهد مقداره 100 ولمدة 90 دقيقة ، التي جرى تصويرها تحت الأشعة فوق البنفسجية UV بعد تصبغها بصبغة الأثيديم برومايد ، وبيّنت النتائج بأن الوزن الجزيئي Molecular weight للحزم الناتجة عن عملية الترحيل لنتيجة تضخيم هذا الجين باستعمال تقنية الـ PCR يساوي 310bp زوجاً قاعدياً ، ومن الدراسات والبحوث الأخرى ضمنَ هذا المجال الدراسة التي قام بها Gutierrez وآخرون (2018) لدراسة التشخيص الجزيئي تحت جنس *Culex melanoconion* بالاعتماد على جينات النواة والميتوكوندريا ، إذ استخدم الباحثون النمط الجيني الفردي Genotype فضلاً عن بعض المجموعات الفرعية ومن الأجناس القريبة منه ، إذ بلغ العدد المأخوذ منها حوالي 172 عينة تُمثل 43 نوعاً ، وقامَ الباحثون من خلالها بتحليل قطعتين من جينات النواة وهما الجين CAD و HB وجين واحد فقط من الميتوكوندريا متمثلاً بالجين COI ، وأنَّ طول السلسلة المنتظمة لشريط الـ DNA في الجين COI هو 658bp زوجاً قاعدياً و 610bp زوجاً قاعدياً للجين CAD ، أما الجين HB فقد تراوح طول السلسلة بين 470bp إلى 540bp زوجاً قاعدياً ، وقد توصلَ الباحثون في تلك الدراسة إلى وجود تقارب بين الأنواع العائدة لتحت الجنس من خلال رسم شجرة التقارب الوراثي بعد الأكثر من تلك الأنواع جزيئياً ودراستها مظهرياً ، وقد درس Liu وآخرون (2019) التركيب الكيميائي الحيوي لكائيتين حشرة *Bombyx mori* باستخدام الآليات المحفزة لأنثيين من مكونات أنزيمات Deacetylases الموجودة في عائلة الكربوهيدرات أستريز 4 بالإضافة إلى دراسة تسلسلات الجين CAD عن طريق استعمال تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل PCR لمعرفة العلاقة بين نتائج الدراستين وأهميتها في أدوار حياة الحشرة ، إذ درسَ الباحثون تتابعات الجين المذكور في حشرة دودة القز *Bombyx mori* دراسة موسعة وقد كانَ هناك تطابق بينَ النتائج في الدراستين ، ومن الدراسات الأخرى أيضاً ما قامَ به Robledo وآخرون (2019) في دراسة التشخيص الجزيئي والحالة التطورية لذبابة *Lucilia bufonivora* (Diptera: Calliphoridae) (Moniez,1876) ، ومن خلال دراسة تسلسلات نوعين من جينات دنا النواة وهما الجين CAD و Elongation factor 1 gene (EF1) كونهما من أهم جينات الـ DNA التي تعتمد عليها المؤشرات الجزيئية في تشخيص الحالة التطورية للعديد من الكائنات الحية إذ استخدمت العضلات الصدرية لاستخلاص الحامض النووي DNA ، وأخذت جميع عينات اليرقات 20 من 16 إصابة

وُدرست بيانات تسلسل دنا الماييتوكوندريا بما يتفق وعمليات البحث السابقة عن الحشرة ، فضلاً عن ذلك أكدت البيانات الجزيئية للجينات المدروسة من جديد تحديد عينات الذبابة الكاملة والتي تمّ تشخيصها في نفس الدراسة بالاعتماد على الشكل المظهري على أنها ذبابة *L. bufonivora* ولدراسة الحالة التطورية لها ، جمعت عيناتها في وحدة غير منتظمة سُميت شجرة التقارب الوراثي Phylogentic tree .



صورة (13) ناتج تضخيم الجين CAD لنوعين من ذبابة ثمار القرعيات التابعة للجنس *Dacus* والمرحل على هلام الاكاروز بتركيز 1% ولمدة ساعة ونصف والمصورة تحت الأشعة فوق البنفسجية بعد التصبغ بصبغة بروميد الأثديوم .

M : Marker (100-2000bp)

S1 – S5 : Sample of *D. ciliatus*

S6 – S10 : Sample of *D. frontalis*

4-2-4 تضخيم الجين EF1-alpha باستعمال تفاعل أنزيم البلمرة المتسلسل PCR للأنواع المدروسة :

توضح الصورة (14) نتيجة تضخيم الجين Elongation factor-1 Alpha (EF-1alpa) من دنا النواة لذكور وإناث ذبابة ثمار القرعيات *D. ciliatus* و *D. frontalis* ، وقد بينت نتيجة التحليل أنّ الوزن الجزيئي لجميع الحزم الناتجة عن عملية الترحيل الكهربائي لنتيجة تضخيم هذا الجين في ذكور وإناث النوعين هو 450bp زوجاً قاعدياً ، وهذا يتفق مع ما جاء في الكثير من الدراسات والبحوث العلمية التي درست هذا النوع من الجينات في أنواع مختلفة من الحشرات ومنها الدراسة التي أجراها Zhang وآخرون (2019) بخصوص الآثار الناتجة عن الطور الجزيئي في التسلسل الكامل للجينوم الأول من دنا الماييتوكوندريا ومقارنته مع تسلسل جينوم دنا النواة من

خلال تحليل قطع من جينات الماييتوكوندريا والنواة وهي COI و AF1-alpha للنوعين *Dacus bivittatus* and *D. ciliatus* (Bigot,1858) باستخدام تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل PCR ومن خلال استعمال نوعين من البودئ وباتجاهين أمامي وعكسي ، وقد أظهرت نتائج تلك الدراسة عدم وجود فروق معنوية كبيرة بين النوعين من ناحية جين النواة ، في حين وجدَ الباحثون فروق معنوية واضحة عند تحليل جينات الماييتوكوندريا في كلا النوعين استخدمت للتمييز بينهما ، كما درس التيمي (2016) جين النواة EF1-1 من خلال دراسة العلاقة الوراثية الجزئية والكمية بين ثلاثة مجتمعات سكانية لذبابة الدودة الحلزونية *Chrysomya bezziana* في العراق باستخدام تقانة الـ PCR وإيجاد التسلسل التتابعي لجينين من النواة ومنها هذا الجين وجين واحد من الماييتوكوندريا وباستعمال بودئ متخصصة وباتجاهين أمامي وعكسي وكانت نتائج الدراسة متطابقة في المجالين المدروسين من حيث عدم وجود فروق معنوية بين العينات بالرغم من بعد المسافة بين أماكن جمعها وأن تلك العينات تعود لأصل جغرافي واحد ؛ كذلك درس San Jose وآخرون (2018) التباين الحاصل بين الجزيئات والشكل المظهري في التسلسل الجيني لسبعة من جينات ذبابة الفاكهة للجنس *Dacus* والذي يمهد الطريق لإعادة تصنيف العديد من أنواع هذا الجنس التي تهاجم ثمار القرعيات في العديد من مناطق شبه القارة الهندية ، جنوب شرق آسيا ، استراليا والمحيط الهندي ، وتوصلت تلك الدراسة ومن خلال دراسة التسلسل التتابعي لأربعة جينات من دنا الماييتوكوندريا وثلاثة من جينات دنا النواة ومنها الجين EF1-alpha لحوالي 210 عينة تمثل سبعة أنواع تعود للجنس ومنها النوعين *D. ciliatus* و *D. frontalis* إلى وجود تباين كبير بين التسلسل النيوكليوتيدي لجينات دنا النواة وجينات دنا الماييتوكوندريا وكذلك في الخصائص المظهرية ، وأكدوا أن سبب تلك الاختلافات هو التباين الحاصل في الظروف البيئية وكمية الغذاء ووجود الحواجز الطبيعية بين الأماكن التي جمعت منها العينات ، وبالتالي تساعد تلك الاختلافات بين النمط المظهري والجيني في إعادة التصنيف الجزيئي والمظهري لأنواع هذا الجنس ، ومن الدراسات الأخرى أيضاً الدراسة التي قام بأجرائها Leblanc وآخرون (2019) بخصوص ستة سنوات من الدراسة الاستقصائية لذبابة الفاكهة في بنغلاديش والتي أكدوا فيها على تسجيل 33 نوعاً منها موجودة في البلاد واكتشاف النوع الجديد الذي أجتاح البلاد بأعداد كبيرة جداً وهذا النوع هو *Bactrocera carambolae* (Drew & Hancock, 1994) ، باستخدام تفاعل البلمرة المتسلسل الـ PCR وبوجود بودئ متخصصة واستخلاص الدنا باتباع تسلسل سانجر في تضخيم تسلسل مناطق الجينات (COI) و (EF-1 A) وتوصلت الدراسة إلى وجود خمسة أشكال متعددة النكليوتيدات التشخيصية التي تفصل النوع *B. dorsalis* عن *B.*

carambolae في تسلسل قطعة من الجين EF-1 alpha بطول 762bp والتي استخدمت في العديد من الدراسات التطورية متعددة المؤشرات Multi-Markers phylogenetic .



صورة (14) تضخيم الجين EF1-alpha للأنواع المدروسة والمرجل على هلام الأكاروز بتركيز 1% ولمدة ساعة ونصف والمصورة تحت الأشعة فوق البنفسجية بعد التصبغ بصبغة بروميد الأثيديوم .

M : Marker (100-2000bp)

S1 – S3 : Sample of *D. ciliatus*

S4 – S6 : Sample of *D. frontali*

5-2-4 دراسة التسلسل التتابعي للقواعد النيتروجينية : Studying of nitrogen bases sequencing

جرى دراسة التسلسل التتابعي في القواعد النيتروجينية لـ 80 عينة من الأنواع المدروسة ، واستعملت الطريقة القديمة في دراسة تتابع القواعد النيتروجينية لعينات الجينات الثلاثة في النواة والميتوكوندريا وهي على التوالي CAD ، EF-1Apha و COI كونها تعطي نتائج واضحة ودقيقة جداً ، بالإضافة إلى أنها تستطيع أن توضح أي تسلسل تتابعي حدث فيه طفرة حتى لو كانت تلك الطفرة في قاعدة واحدة فقط من دون الحصول على نتيجة جاهزة حتى تكتمل عملية المقارنة والمطابقة بين نتيجة دراسة التتابع النيكليوتيدي لجميع العينات المدروسة وما يتماثل معها من العينات التي تعود لنفس الأنواع المدروسة ، فضلاً عن نوع آخر يعود لنفس الجنس الذي تنتمي إليه الأنواع المدروسة ، واستعمل جزء من نتيجة دراسة التسلسل التتابعي لكل بادئ Primer من بوادئ الدراسة الثلاثة لعمل التسلسل التتابعي للجينات المدروسة والتي كانت أطوال قطعها عند استعمال هذه البوادئ 350bp ، 310bp و 450bp زوجاً قاعدياً على التوالي ، وقد استعمل البرنامج الجاهز Bioedit للحصول على نتائج

تحليل تسلسل القواعد النيتروجينية ، وفي بعض الأحيان تكون دراسة التسلسل التتابعي للقواعد عن طريق الجهاز غير واضحة بشكل تام لذا يتم ترك جزء من التسلسل الطرفي لكل منطقة جينية مدروسة ، وتجنباً لحدوث أي نوع من الخطأ فضلاً عن الحصول على نتيجة دقيقة وواضحة لجميع المناطق الجينية ، إذ تتم القراءة والنشر لكل التسلسلات الواضحة والدقيقة جداً .

1-5-2-4 المقارنة بين النوعين *D. ciliatus* و *D. frontalis* المعاملة وغير المعاملة بالتركيز نصف القاتل

لأوكسيد المغنسيوم النانوي من ناحية التسلسل التتابعي للجين CAD :

تم مقارنة التسلسل التتابعي للجين CAD بين عينات النوع *D. ciliatus* المعاملة وغير المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي مع عينات بنك الجينات ، وأظهرت نتائج تحليل التسلسل التتابعي الموضحة في الشكل (29) والذي يبين مقارنة نتائج التسلسل التتابعي بين عينات الحشرة المعاملة وغير المعاملة بالمادة النانوية مع عينة بنك الجينات MG683068.1 في تسلسل القواعد النيتروجينية للجين CAD الذي بلغ طوله الأصلي 400bp زوجاً قاعدياً حيث تُركت بعض من تسلسلاته في الطرف الأيسر بدءاً من الموقع 1 إلى الموقع 92 ، كونها غير واضحة المعالم ومشوشة وتم في هذا الشكل إظهار نتيجة التسلسل التتابعي للعينات من الموقع 93 إلى الموقع 316 لأنها كانت مميزة وواضحة جداً ، إذ وجدَ أن هناك تغييراً واضحاً حدث في التسلسل النيوكليوتيدي تمثل بالطفرات النقطية Point mutations من نوع الحذف Deletion والاستبدال Replacement في مواقع النيوكليوتيدات ، فقد وجدت طفرات الحذف في 12 موقعاً ، بينما كان عددها في عينة بنك الجينات 6 فقط ، أما بالنسبة لطفرات الاستبدال فقد حدثت في 22 موقعاً للعينات غير المعاملة و32 للعينات المعاملة ، وهذا دليل على التأثير الكبير للمادة النانوية على ذكور وإناث ذبابة ثمار القرعيات *D. ciliatus* الذي أدى إلى حدوث تغير واضح في التسلسل النيوكليوتيدي نتج عنه حدوث هذا النوع من الطفرات ، كما أن نسبة التطابق بين عينات هذا النوع المعاملة وغير المعاملة مع عينة بنك الجينات العائدة لنفس النوع قد بلغت 82% و70% على التوالي ، ويوضح الشكل (30) إجراء المقارنة بين عينات ذبابة *D. frontalis* المعاملة وغير المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي MgO مع عينة بنك الجينات MG683068.1 ، ولغرض معرفة تأثير مادة MgO النانوية على هذا النوع من الآفات الحشرية دُرِس الجزء الواضح والمميز من التسلسل النيوكليوتيدي للجين CAD من الموقع 93 إلى الموقع 308 أي أقل بثمانية مواقع عما هو عليه في حالة التسلسل النيوكليوتيدي للنوع *D. ciliatus* ، وقد لوحظ في هذه المقارنة حدوث طفرات استبدال نقطية فقط في عدد كبير من المواقع وصل إلى 35 موقعاً للعينات غير المعاملة 43 وللعينات المعاملة ، ولوحظ في هذا الجزء

من التسلسل التتابعي للقواعد النيتروجينية عدم حدوث أي نوع آخر من الطفرات وهذا يدل على أن نسبة تأثير التركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوية على هذا النوع أقل مما هي عليه في النوع *D. ciliatus* ، كما وجدَ أن نسبة التطابق بين العينات المعاملة وغير المعاملة مع عينة بنك الجينات في هذا النوع بلغت 81% و62% على التوالي بنسبة أقل مما هي عليه في النوع *D. ciliatus* وهذا دليل على التقارب الكبير بين النوعين في الكثير من الصفات الجزيئية والمظهرية ، ويوضح الشكل (31) المقارنة بين التسلسل التتابعي للقواعد النيتروجينية في العينات غير معاملة بمادة أوكسيد المغنسيوم النانوي للنوعين *D. ciliatus* و *D. frontalis* الذي يبدأ من الموقع 93 إلى الموقع 312 وعينات بنك الجينات العالمية MG683068.1 الخاصة بالنوع *D. ciliatus* والعينة MG3188.1 الممثلة للنوع *D. frontalis* من ناحية الجين CAD ، وقد وجدَ عندَ مقارنة عينات النوع *D. ciliatus* وعينة بنك الجينات الخاصة به حدوث طفرات الحذف النقطية في 2 فقط من مواقع النيوكليوتيدات في حين كانَ عددها 3 طفرات في عينة بنك الجينات وطفرات استبدال في 21 موقعاً ، أما نسبة التطابق مع العينة العالمية الخاصة بالنوع فقد وجدَ أنها تساوي 83% ، أما بالنسبة لنتيجة المقارنة بين عينات النوع *D. frontalis* وعينة بنك الجينات الخاص بالنوع فقد تمثلت بحدوث تغيرات بشكل بطفرات حذف في 4 مواقع بينما كانَ عددها في عينة بنك الجينات 4 أيضاً ، واستبدال في 27 موقعاً في حالة عينات النوع و18 موقعاً بالنسبة للعينة العالمية ، في حين أنَ نسبة التطابق بين عينة بنك الجينات لهذا النوع وعيناته الطبيعية غير المعاملة بالمادة النانوية هي 81% أي أنَ هناك فرق بسيط بينها وبين نسبة التطابق للنوع *D. ciliatus*، ويتضح من نتائج المقارنة لعينات النوعين مع عينات بنك الجينات GenBank حدوث تغيير بسيط في تسلسل القواعد النيتروجينية للـ DNA بشكل عدد قليل من الطفرات النقطية وخصوصاً طفرات الحذف ويرجع السبب في ذلك إلى أنَ العينات غير معاملة بالمادة النانوية ، كما أنَ السيطرة على الظروف البيئية كدرجة الحرارة والرطوبة النسبية في المختبر بالإضافة إلى كمية الغذاء المقدمة للبالغات كانَ لها دوراً كبيراً في ظهور هذه النتائج ، ويوضح الشكل (32) مقارنة رصف القواعد النيتروجينية لجزء من الجين CAD بين عينات بنك الجينات العالمي وعينات النوعين *D. ciliatus* و *D. frontalis* المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي ، إذ تمثل عينة بنك الجينات MG683068.1 النوع *D. ciliatus* في حين تمثل عينة بنك الجينات MG3188.1 النوع *D. frontalis* ، ولوحظَ عندَ إجراء المقارنة بينَ عينة بنك الجينات وعينات النوع *D. ciliatus* ، حدوث طفرات حذف في 7 مواقع وطفرات استبدال في 25 موقعاً وعلى طول شريط الحامض النووي للعينات ، أما نسبة التطابق بين عينات النوع مع عينة بنك الجينات العائد لهُ فقد بلغت 84% ، وتشير هذه النتائج إلى التأثير الكبير للتركيز

نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي MgO على كاملات هذا النوع من خلال التغيير الحاصل في التسلسل التتابعي للعينات المعاملة ، فضلاً عن ذلك فأنّ التطابق الكبير للعينات المدروسة مع عينة بنك الجينات يؤكد انها تعود لنفس الأصل الجيني ، وعند إجراء المقارنة بين عينات النوع *D. frontalis* المعاملة وعينة بنك الجينات العائدة له لوحظ وجود تباين كبير تمثل في نوعين من الطفرات النقطية الأول من نوع الحذف في 8 من مواقع النيوكليوتيدات ، أما النوع الثاني فكان يمثل طفرات استبدال في 25 موقعاً موزعة على طول التسلسل التتابعي للجين ، وأن نسبة التطابق مع العينة العالمية لهذا النوع فقد وجد أنها تساوي 85% ، ومن خلال نتائج المقارنة لكلا النوعين يتضح أنّ التغيير الحاصل في التسلسل النيوكليوتيدي لهما دليل قاطع على تأثرهما بفعالية وقوة التركيز نصف القاتل للمادة النانوية المستخدمة ، إذ حدثت بعض من طفرات الحذف والاستبدال في مواقع مشتركة لعينات كلا النوعين كما أنّ نسبة التطابق مع عينات بنك الجينات لهما كانت متقاربة جداً مع وجود فرق بسيط عند المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي MgO . يوضح الشكل (33) مقارنة رصف القواعد النيتروجينية لجزء من الجين CAD بين عينات النوع *D. ciliatus* المعاملة وغير المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي ، وعندما أجريت المقارنة للتسلسل النيوكليوتيدي للعينات المعاملة وغير المعاملة الذي يمتد من الموقع 1 إلى الموقع 224 وجد أنّ هناك تباين واضح بين العينات تمثل بحدوث طفرات نقطية من نوع الحذف في خمسة من مواقع العينات غير المعاملة ، وطفرات استبدال في ثلاثة مواقع فقط ، في حين كان التغيير كبير وواضح جداً بالنسبة لعينات النوع المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي من ناحية طفرات الحذف التي حدثت في 9 مواقع وطفرات استبدال في 21 موقعاً على طول التسلسل التتابعي لهذه العينات ؛ وتدل هذه النتائج على أنّ عينات النوع المعاملة قد تأثرت بشكل كبير جداً من خلال زيادة عدد طفرات الحذف والاستبدال مما هي عليه في العينات غير المعاملة ، كما أنّ نسبة التغيير في العينات المعاملة كانت تساوي 14% في حين أنها في العينات غير المعاملة كانت تساوي 4% وهذا دليل آخر على التأثير الكبير للتركيز نصف للمادة النانوية المستخدمة على كاملات هذا النوع ؛ ويوضح الشكل (34) مقارنة رصف القواعد النيتروجينية لجزء من الجين CAD بين عينات النوع *D. frontalis* المعاملة وغير المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي ، وعند المقارنة من الموقع 1 إلى الموقع 216 وهو طول التسلسل النيوكليوتيدي لجميع العينات تبين عدم وجود طفرات حذف نقطية في جميع العينات المعاملة وغير المعاملة ، أما التغيير الحاصل في العينات غير المعاملة فقد تمثل بطفرات الاستبدال الحاصلة في التسلسل النيوكليوتيدي لها والتي وجدت في 5 مواقع فقط ، كما أنّ نسبة التغيير الحاصلة فيها بلغت 2% ، أما عينات النوع

المعاملة بالتركيز نصف القاتل لـ MgO فقد حدث في تسلسلها التتابعي طفرات نقطية من نوع الاستبدال في 21 موقعاً ممتدة على طول التسلسل النيوكليوتيدي لها ، وقد بلغت نسبة التغيير في هذه العينات نتيجة لاستخدام مادة MgO النانوي 10% من المجموع الكلي للقواعد النيتروجينية فيها ، أي أن التركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم كان له تأثير واضح جداً على العينات المعاملة مقارنةً مع عينات النوع غير المعاملة به . بين الشكل (35) مقارنة رصف القواعد النيتروجينية لجزء من جين DNA النواة CAD بين عينات ذبابة ثمار القرعيات النوع *D. ciliatus* و *D. frontalis* غير المعاملة بالتركيز نصف القاتل لـ MgO النانوي ، وعند إجراء المقارنة بينهما من ناحية التغييرات التي وجدت في عينات النوعين على طول التسلسل النيوكليوتيدي من الموقع 1 إلى الموقع 220 لوحظ وجود عدد قليل جداً من طفرات الحذف والاستبدال في مواقع النيوكليوتيدات للنوع *D. ciliatus* إذ حدثت طفرات الحذف النقطية في اثنين فقط من المواقع ، بينما وجد أن طفرات الاستبدال حصلت في ثلاثة مواقع فقط وهذه النتيجة تشير بشكل واضح إلى عدم وجود تباين في التسلسل النيوكليوتيدي كون العينات غير معاملة بأي نوع من المبيدات ؛ أما بالنسبة لعينات النوع *D. frontalis* فلا تختلف كثيراً عما هي عليه في عينات النوع *D. ciliatus* من ناحية طفرات الحذف ، إذ وجدت في 4 مواقع ، أما من ناحية التغيير الحاصل في التسلسل التتابعي لعينات هذا النوع والمتمثل بالطفرات النقطية من نوع الاستبدال فقد اختلف كثيراً عما هو عليه في عينات النوع *D. ciliatus* إذ حدث في 24 موقعاً ، وتشير هذه النتيجة إلى وجود تباين بين النوعين في طفرات الاستبدال النقطية فقط ويرجع السبب إلى كونهما نوعين مختلفين . يبين الشكل (36) مقارنة رصف القواعد النيتروجينية لجزء من الجين CAD بين عينات النوعين *D. frontalis* و *D. ciliatus* المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي ، وقد وجد عند المقارنة بين عينات النوعين من الموقع 1 إلى الموقع 224 حدوث تغيير واضح في عينات كلا النوعين تمثل بحدوث طفرات من نوع الحذف والاستبدال في مواقع النيوكليوتيدات ، ففي حالة النوع *D. ciliatus* لوحظ حدوث طفرات حذف في 9 مواقع طفرات استبدال في 15 موزعة على طول التسلسل النيوكليوتيدي للعينات ؛ أما نسبة التغيير الحاصل في عينات هذا النوع نتيجة لتأثير التركيز نصف القاتل للمادة النانوية المستخدمة فوجد أنها تساوي 11% من مجموع الكلي للقواعد النيتروجينية في التسلسل المدروس ، أما عينات النوع *D. frontalis* فقد لوحظ فيها حصول طفرات حذف واستبدال نقطية في عدة مواقع وعلى طول تسلسلها النيوكليوتيدي ونسبة أعلى مما في النوع الأول ، إذ وجدت طفرات حذف نقطية في 7 مواقع نيوكليوتيدية وطفرات استبدال في 24 موقعاً نيوكليوتيدياً ، أما نسبة التغيير في التسلسل التتابع فقد بلغت 14% ؛ إن هذه النتائج لعينات كلا النوعين تشير بشكل واضح إلى التأثير الكبير للتركيز نصف القاتل

للـ MgO النانوي على كاملات النوعين المعاملة من ناحية الجين CAD ولكن بنسب مختلف بينهما ، إذ ظهرت تلك النتائج أن النوع *D. frontalis* أكثر تأثراً وهذا ربما يرجع إلى أن حجم الجسم بالنسبة لهذا النوع أكبر بقليل مما هو عليه في النوع *D. ciliatus* وبالتالي يستهلك كمية غذاء أكبر تحتوي على نسبة عالية جداً من المادة النانوية مما في حالة النوع *D. ciliates* . يوضح الشكل (37) البُعد الوراثي للجين CAD بين عينات كلا النوعين التابعة للجنس *Dacus* المعاملة وغير المعاملة بالتركيز نصف لأوكسيد المغنسيوم النانوي مع عينات بنك الجينات ، إذ تمثل الأسماء العلمية المكتوبة باللون الأحمر في الشكل العينات المعاملة ، ومن خلال الشكل (37) لوحظ أن قيمة البعد الوراثي بين عينات النوع الواحد المعاملة وغير المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي تساوي 0.00 ، كما لوحظ أيضاً من خلال المقارنة أن قيمة البعد الوراثي بين العينات المعاملة وغير المعاملة للنوعين *D. frontalis* و *D. ciliatus* تساوي 0.0023 وبين عينات النوعين وعينات بنك الجينات المختارة تساوي 0.0093 ، وقد أجريت الكثير من الدراسات حول التسلسل التتابعي لجين النواة CAD ومنها الدراسة التي قام بها Boykin وآخرون (2014) بخصوص التحليل الوراثي لجينات الأعضاء في السلالات المتعددة لذبابة ثمار *Bactrocera dorsalis* في جنوب شرق آسيا دعماً للتصنيف السائد حالياً لهذا النوع من الآفات التي جُمعت عيناتها من كمبوديا ، الفلبين وأندونيسيا ، وقام الباحثون أعلاه بدراسة التسلسل النيوكليوتيدي لهذا النوع ومقارنته مع التسلسل التتابعي للجينات COX, NAD, CAD في ثلاثة من الأنواع القريبة ضمن نفس الجنس والتي شملت على التوالي *Bactrocera papayae*, *Bactrocera philippinensis* و *Bactrocera carambolae* باستخدام تقنية الـ PCR ، وخلصت الدراسة إلى التقارب الكبير بين تسلسلات الجينات في الأنواع المدروسة بالرغم من التباين البسيط بين تلك التسلسلات والمتمثل بحدوث طفرات من نوع الحذف والاستبدال والإضافة وأن من هذه الجينات في كل نوع على ما يبدو نسخة واحدة فقط لها أهمية كبيرة في دراسة تطور النظم الجزيئية التصنيف الجزيئي للأنواع أعلاه ؛ ومن الدراسات الأخرى أيضاً في هذا المجال الدراسة التي أجراها Gibson وآخرون (2011) حول استخدام تفاعل البلمرة المتسلسل PCR من خلال بواقي متخصصة في الأبحاث الخاصة بالجانب الجزيئي لأنواع من عوائل رتبة ثنائية الأجنحة ومنها عائلة ذبابة الفاكهة ، حيث درسَ الباحثان ثلاثة مناطق جينية شملت CAD, EF1-alpha, 28S rRNA لتقييم الأداء الوراثي لتسلسل كل جين ، ومن خلال اختبار 94 عينة لكاملات بأعمار مختلفة ، وبالتالي معرفة التغيير الجيني الحاصل بينها باستخدام البرامج الجاهزة المتمثلة بـ Bayesian و Parsimony لدمج البيانات التي يتم الحصول عليها من مواقع التسلسلات النيوكليوتيدية للأنواع وبالاعتماد على إجراء تفاعل البلمرة المتسلسل PCR لجينوم الحامض

النووي DNA في النواة والميتوكوندريا عن طريق بواقي متخصصة لتضخيم الدنا ، وقد أشارت نتائج الدراسة إلى الأهمية الكبيرة للجين CAD في معرفة التطور الوراثي للأنواع في العوائل التابعة لرتبة ثنائية الأجنحة من خلال ترميز المنطقة الجينية له للعديد من الأنزيمات التي تُحفز التخليق الحيوي للبروتين . كما درس Misof وآخرون (2014) عمل الجينات النووية المفردة في تحليل سلالة الحشرات ذات الحجم المتجانس عن طريق دراسة العلاقات التطورية لأثنين من الحشرات التي تخضع للتحويل المتكامل Complete metamorphosis ، كما استخدم الباحثون في هذه الدراسة نماذج من التسلسل النيوكليوتيدي لستة جينات نووية ومنها الجين CAD مكونة من نسخة واحدة وبطول 5736bp زوجاً قاعدياً لإعادة بناء العلاقات الوراثية التطورية لجميع رتب الحشرات ذات التحويل الكامل ومجموعتين من الحشرات نصفية التحويل Hemimetabola ، كما قاموا برسم شجرة التقارب الوراثي بين الأنواع وتوصلوا من خلال تلك الدراسة إلى وجود تقارب كبير بين بعض من عوائل رتبة ثنائية الأجنحة ومنها عائلة ذباب الفاكهة وعوائل من رتبة نصفية الأجنحة ، كذلك درس Sevcik وآخرون (2016) التطور الجزيئي الكبير للأجناس تحت رتبة Bibionomorpha التابع لرتبة ثنائية الأجنحة Diptera من خلال التعرف على كيفية إعادة بناء سلالة الحشرات التي تستطيع العيش تحت الماء وبالاعتماد على التحليل المشترك لثلاثة مؤشرات جزيئية لدنا النواة شملت (18S, 28S, CAD) وثلاثة لدنا الميتوكوندريا متمثلة بـ 12S, 16S, COI ؛ وقد قام الباحثون أعلاه باستخلاص الـ DNA في النواة والميتوكوندريا باستخدام عدة الاستخلاص من أنسجة الحشرات المعروفة بـ (Machery-Nagel, Durn, Germany) وتضخيم الدنا المستخلص عن طريق تفاعل الـ PCR وفحص تسلسل الجينات المشفرة COI و CAD بالاعتماد على ترجمة الأحماض الأمينية ومقارنة تراصف القواعد النيتروجينية للعينات في هذان الجينين وشجرة التقارب الوراثي لهما ، وخلصت تلك الدراسة إلى حدوث تطور جزيئي هائل في بناء سلالة الحشرات التي تستطيع العيش تحت الماء وخاصةً الأنواع التابعة للأجناس المدروس .

	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	
MG683068.1	GAAGGCATCA	CAGTGGCTGC	GCTGGTGGTG	GGCGAAGTGT	GTGAGTCACC	CTCGCATTGG	CGCGCCAAAC	AGACGCTGTC	GCAGTGGATG	GAAGGCCACG	100
<i>Dacus ciliatus</i> A1										T....	8
<i>Dacus ciliatus</i> A2										T....	8
<i>Dacus ciliatus</i> B1										T....	8
<i>Dacus ciliatus</i> B2										T....	8
<i>Dacus ciliatus</i> B3										T....	8
<i>Dacus ciliatus</i> B4										T....	8
	110	120	130	140	150	160	170	180	190	200	
MG683068.1	GTGTGCCCGG	CATTAGCGGC	ATTGATACAC	GAGCACTCAC	GAAAAAGATA	CGCGAAAACG	GTTCCATACT	CGGACGCATC	GTTTACGAGA	AGCC-AACTA	199
<i>Dacus ciliatus</i> A1					C..G..					G..GC....	107
<i>Dacus ciliatus</i> A2					C..G..			A..		G..GC....	107
<i>Dacus ciliatus</i> B1					C..G..		CC..	A..		G..G....	107
<i>Dacus ciliatus</i> B2			A..		C..G..					G....	106
<i>Dacus ciliatus</i> B3			A..		C..G..					G....	107
<i>Dacus ciliatus</i> B4			A..		C..G..		CC..			G....	107
	210	220	230	240	250	260	270	280	290	300	
MG683068.1	ATTTGCGCAG	TGTAACCTTT	GCCGATCCC	AATTTGCGCA	ACT--TGGT	AGC--CG-AG	TGTTCCGGTTA	AGGRGCCACG	AGTCTTTAAC	GCCGGCGGCA	292
<i>Dacus ciliatus</i> A1	T..			G..C....	GGACTC...		A..	A..	T....C..T	A....	202
<i>Dacus ciliatus</i> A2	T..			G..C....	AACTC...		A..	A..	T....C..T	A....	202
<i>Dacus ciliatus</i> B1	T..			G..C....	CCTC...		A..	A..	T....C..T	A....	202
<i>Dacus ciliatus</i> B2	T..		A..	C..	--TG--		AA..A..	A..	T....C..T	A....	202
<i>Dacus ciliatus</i> B3	T..		A..	C..	--TGC--		A..	A..	T....C..T	A....	202
<i>Dacus ciliatus</i> B4	T..			C..	--TG.TC		C.A..	A..	T....C..T	A....	202
	310	320	330	340	350	360	370	380	390	400	
MG683068.1	CGCCACGCAT	TTGTGCGATC	GATTGCGGTT	TGAAACTGAA	TCAGATTAAG	TGCTTTGTGT	CGCGTGGAGC	GCGTGTGCGAT	TTGGTGCCTT	GGAATTACGC	392
<i>Dacus ciliatus</i> A1											218
<i>Dacus ciliatus</i> A2											218
<i>Dacus ciliatus</i> B1											218
<i>Dacus ciliatus</i> B2											218
<i>Dacus ciliatus</i> B3											218
<i>Dacus ciliatus</i> B4											218

شكل (29) مقارنة رصف القواعد النتروجينية لجزء من الجين CAD بين عينات النوع *Dacus ciliatus* المعاملة بأوكسيد المغنسيوم النانوي وغير المعاملة مع عينة بنك الجينات MG683068.1 و A1) تمثل العينات غير المعاملة أما الحروف ، B1 و B2 و B3 و B4 فإنها تمثل العينات المعاملة بأوكسيد المغنسيوم النانوي) .

	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	
MG6M3188.1	GAAGGYATTA	CAATGGCTGC	RTTGGTGGTG	GGTGAAGTAT	GTGAGTCACC	CTCACATTGG	CGCGCCAAAC	AGACGCTGTC	GCAGTGGATG	GAAGCTCATG	100
Dacus frontalis A1										...G.A.C.	8
Dacus frontalis A2										...G.A.C.	8
Dacus frontalis B1										...G...C.	8
Dacus frontalis B2										...G...C.	8
	110	120	130	140	150	160	170	180	190	200	
MG6M3188.1	GTGTACCCGG	CATTAGCGGC	ATAGATACAC	GAGCACTCAC	AAAAAAGATA	CGCGAAAAATG	GTTCCATACT	GGGACGCATC	GTTTACGAGA	AGCCAACTAA	200
Dacus frontalis A1	...G....	...C....	...C....	...G....	...T....	...C....	...C....	...A....	...T....	...G....	108
Dacus frontalis A2	...G....	...C....	...C....	...G....	...GT....	...C....	...C....	...A....	...T....	...G....	108
Dacus frontalis B1	...G....	..GG.C...	...T....	...A....	...G....	...C....	...C....	...A....	...G....	...T....	108
Dacus frontalis B2	...G....	..GG....	...T....	...A....	...G....	...C....	...C....	...A....	...G....	...T....	108
	210	220	230	240	250	260	270	280	290	300	
MG6M3188.1	TTTGGGTGGT	ATAACTTTTG	CCGATCCGAA	TTTGC GCAAC	TTGGTGGCCG	AGTGTTCCGT	AAAGGAGCCA	CGAGTCTTTA	ATGCCAGCGG	TACGCCACGC	300
Dacus frontalis A1	...C..A..	G.....	AA...G.C..	...C....	...A....	...A....	...CC..T...	...A....	...C....	...C....	208
Dacus frontalis A2	...C..A..	G.....	AA...G.C..	...C....	...A....	...A....	...CC..T...	...A....	...C....	...C....	208
Dacus frontalis B1	...C..A..	G.....	AA...G.C..	...C....	...A....	...A....	...CC..T...	...A....	...C....	...C....	208
Dacus frontalis B2	...C..A..	G.....	AA...G.C..	...C....	...A....	...A....	...CC..T...	...A....	...C....	...C....	208
	310	320	330	340	350	360	370	380	390	400	
MG6M3188.1	ATTTGTGCGA	TCGATTGCGG	TTTGAAACTG	AAAYCAGATTA	AGTGCTTTGT	GTACACGTGGA	GCGCGTGTG	ATTTGGTACC	TTGGAATTAC	GCWCTGAAAG	400
Dacus frontalis A1	...A.....										216
Dacus frontalis A2	...A.....										216
Dacus frontalis B1	...A.....										216
Dacus frontalis B2	...A.....										216
	410	420	430	440	450	460	470	480	490	500	
MG6M3188.1	AGGAGGAGTT	TGATGGGCTY	TTCATTAGTA	ACGGACCAGG	TGATCCGGTT	GTGTGTAAGG	ACACTGTTAC	GCAAATACAA	AGAGTTTTGA	AAAAATGGCAA	500
Dacus frontalis A1											216
Dacus frontalis A2											216
Dacus frontalis B1											216
Dacus frontalis B2											216
	510	520									
MG6M3188.1	GAAACCGATC	TTTGGCATT	GTTTGGGT								528
Dacus frontalis A1											216
Dacus frontalis A2											216
Dacus frontalis B1											216
Dacus frontalis B2											216

شكل (30) مقارنة رصف القواعد النتروجينية لجزء من الجين CAD بين عينات النوع *Dacus frontalis* المعاملة بأوكسيد المغنسيوم النانوي وغير المعاملة مع عينة بنك الجينات MG683068.1 (تمثل الأحرف A1 و A2 تمثل العينات غير المعاملة بينما تشير الأحرف B1 و B2 إلى العينات المعاملة بأوكسيد المغنسيوم النانوي) .

	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	
MG683068.1	GAAGGCATCA	CAGTGGCTGC	GCTGGTGGTG	GGCGAAGTGT	GTGAGTCACC	CTCGCATTGG	CGCGCCAAAC	AGACGCTGTC	GCAGTGGATG	GAAGGCCACG	100
MG6M3188.1	Y..T.	..A.....	RT.....	..T....A.		..A.....				CT..T.	100
Dacus ciliatus A1	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	---T....	8
Dacus ciliatus A2	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	---T....	8
Dacus frontalis A1	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	---TA....	8
Dacus frontalis A2	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	---TA....	8
	110	120	130	140	150	160	170	180	190	200	
MG683068.1	GTGTGCCCGG	CATTAGCGGC	ATTGATACAC	GAGCACTCAC	GAAAAAGATA	CGCGAAAACG	GTTCCATACT	CGGACGCATC	GTTTACGAGA	AGC-CAACTA	199
MG6M3188.1	A.....		..A.....		A.....	T.		G.....			199
Dacus ciliatus A1				C.	..G.....					G..G.....	107
Dacus ciliatus A2				C.	..G.....			..A.....		G..G.....	107
Dacus frontalis A1		C.	..C.....		..G.....	..T.....	C.....	A.....		T..-G....	107
Dacus frontalis A2		C.	..C.....		..C.G.....	..GT.....	C.....	A.....		T..-G....	107
	210	220	230	240	250	260	270	280	290	300	
MG683068.1	ATTTGCGCAG	TGTAACTTTT	GCCGATCCCA	ATTTGCGCAA	---CTTGGA	GCCGAGTGTT	CGGTTAAGGR	GCCACGAGTC	TTTAACGCCG	GCGGCACGCC	296
MG6M3188.1	G.TG.	..A.....	G.		---G.....		A.....		T..A	T....	296
Dacus ciliatus A1	T..		G.	..C.....	GACTC.....	A.....		A.....T.	..C..T..A		206
Dacus ciliatus A2	T..		G.	..C.....	AACTC.....	A.....		A.....T.	..C..T..A		206
Dacus frontalis A1	T..		..AA..G..	..C.....	---.....	A.....	.CC.....	A.....C.	..C..T..A		204
Dacus frontalis A2	T..	A.	..AA..G..	..C.....	---.....	A.....	.CC.....	A.....C.	..C..T..A		204
	310	320	330	340	350	360	370	380	390	400	
MG683068.1	ACGCATTTGT	GCGATCGATT	GCGGTTTGAA	ACTGAATCAG	ATTAAGTGCT	TTGTGTCGCG	TGGAGCGCGT	GTCGATTTGG	TGCCTTGGA	TTACGCACTG	396
MG6M3188.1				Y...		A.			..A.....	W...	396
Dacus ciliatus A1											218
Dacus ciliatus A2											218
Dacus frontalis A1											216
Dacus frontalis A2	A.....										216

شكل (31) مقارنة رصف القواعد النتروجينية لجزء من الجين CAD بين عينات بنك الجينات وعينات النوعين *Dacus ciliatus* و *Dacus frontalis* التي لم تعامل بأوكسيد المغنسيوم النانوي (تمثل MG683068.1 عينة بنك الجينات للنوع *Dacus ciliatus* وتمثل MG6M3188.1 عينة بنك الجينات للنوع *Dacus frontalis*).

	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	
MG683068.1	GAAGGCATCA	CAGTGGCTGC	GCTGGTGGTG	GGCGAAGTGT	GTGAGTCACC	CTCGCATTGG	CGCGCCAAAC	AGACGCTGTC	GCAGTGGATG	GAAGGCCACG	100
MG6M3188.1	Y..T.	..A.....	RT.....	..T....A.		..A.....				...CT..T.	100
Dacus ciliatus B1										...T....	8
Dacus ciliatus B2										...T....	8
Dacus ciliatus B3										...T....	8
Dacus ciliatus B4										...T....	8
Dacus frontalis B1										...T....	8
Dacus frontalis B2										...T....	8
	110	120	130	140	150	160	170	180	190	200	
MG683068.1	GTGTGCCCGG	CATTAGCGGC	ATTGATACAC	GAGCACTCAC	GAAAAAGATA	CGCGAAAACG	GTTCCATACT	CGGACGCATC	GTTTACGAGA	AGCC-AACTA	199
MG6M3188.1	A.....		..A.....		A.....	T.		G.....		...G.....	199
Dacus ciliatus B1				..C.....	..G.....	CC..		..A.....		G...G.....	107
Dacus ciliatus B2				..C.....	..G.....			..G.....		G...G.....	106
Dacus ciliatus B3				..C.....	..G.....			..G.....		G...G.....	107
Dacus ciliatus B4				..C.....	..G.....	CC..		..G.....		G...G.....	107
Dacus frontalis B1		..GG.C...	frontalis.A		..C.G.....		C.....	A.....	..G.....G..	T.....	107
Dacus frontalis B2		..GG.....	frontalis.A		..G.....				..G.....G..	T.....	107
	210	220	230	240	250	260	270	280	290	300	
MG683068.1	ATTGTCGCAG	TGTAACTTTT	GCCGATCCC-	AATTGTCGCA	ACT---TGGT	AGC--CG-AG	TGTTTCGGTTA	AGGRGCCACG	AGTCTTTAAC	GCCGGCGGCA	292
MG6M3188.1	G.TG.	..A.....	G-			G.....	A.		T	...A...T.	292
Dacus ciliatus B1	T.....		G..C.....	CCTC..		A		A.....	T.....C..T	...A.....	202
Dacus ciliatus B2	T.....		A..C.....	-TG..		..AA...A		A.....	T.....C..T	...A.....	202
Dacus ciliatus B3	T.....		A..C.....	-TGC..		A		A.....	T.....C..T	...A.....	202
Dacus ciliatus B4	T.....		C.....	-TG.TC		..C.A		A.....	T.....C..T	...A.....	202
Dacus frontalis B1	T.....	A.	C.....			A		A.....	C.....C..T	A..A.....	200
Dacus frontalis B2	T.....	A.	C.....			A	CC..	A.....	C.....C..T	A..A.....	200
	310	320	330	340	350	360	370	380	390	400	
MG683068.1	CGCCACGCAT	TTGTGCGATC	GATTGCGGTT	TGAAACTGAA	TCAGATTAAG	TGCTTTGTGT	CGCGTGGAGC	GCGTGTTCGAT	TTGGTGCCTT	GGAATTACGC	392
MG6M3188.1				Y.....			..A.....		A.....		392
Dacus ciliatus B1											218
Dacus ciliatus B2											218
Dacus ciliatus B3											218
Dacus ciliatus B4											218
Dacus frontalis B1	A.....										216
Dacus frontalis B2											216

شكل (32) مقارنة رصف القواعد النتروجينية لجزء من الجين CAD بين عينة بنك الجينات وعينات النوعين *Dacus frontalis* و *Dacus ciliatus* المعاملة بأوكسيد المغنسيوم النانوي ، تمثل (MG683068.1 عينة بنك الجينات للنوع *Dacus ciliatus* وتمثل MG6M3188.1 عينة بنك الجينات للنوع *Dacus frontalis*) .

		10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	
Dacus ciliatus A1	AGGTCACGGT	GTGCCCGGCA	T-AGCGGCAT	TGATACACGA	GCACTCCCAG	AGAAGATACG	CGAAAACGGT	TCCATACTCG	GACGCATCGT	TTACGAGAGG		99
Dacus ciliatus A2									A			99
Dacus ciliatus B1			T					CC	A			99
Dacus ciliatus B2			T	A								99
Dacus ciliatus B3			T	A								100
Dacus ciliatus B4			T	A				CC				100
		110	120	130	140	150	160	170	180	190	200	
Dacus ciliatus A1	CGCAACTAAT	TTGCGTAGTG	TAACTTTTGC	CGATCC--GA	TCTGCGCAGG	ACTCTGGTAG	C--CG-AATG	TTCGGTTAAG	GAACACGTG	TCTTCAATGC		194
Dacus ciliatus A2					AA							194
Dacus ciliatus B1	.CG				AC	T.CTC						194
Dacus ciliatus B2	.C-			CAA	AC	T--TG-	AA					194
Dacus ciliatus B3	.C-			CAA	AC	T--TGC						194
Dacus ciliatus B4	.C-			C-A	AC	T--TG.TC	C					194
		210	220									
Dacus ciliatus A1	CAGCGGCACG	CCACGCATTT	GTGC									218
Dacus ciliatus A2												218
Dacus ciliatus B1												218
Dacus ciliatus B2												218
Dacus ciliatus B3												218
Dacus ciliatus B4												218

شكل (33) مقارنة رصف القواعد النتروجينية لجزء من الجين CAD بين عينات النوع *Dacus ciliatus* المعاملة بأوكسيد المغنيسيوم النانوي والعينات غير المعاملة (تمثل الاحرف A1 و A2 في الشكل العينات غير المعاملة والاحرف B1 ، B2 ، B3 و B4 العينات المعاملة بأوكسيد المغنيسيوم النانوي) .

	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	
Dacus frontalis A1	AGGTAACGGT	GTGCCCAGCA	TTACCGGCAT	CGATACACGA	GCACTCACGA	AGAAGATACG	TGAAAACGCT	TCCATACTCG	GACACATCGT	TTACGAGATG	100
Dacus frontalis A2					C	GT					100
Dacus frontalis B1	...C....		GG.....	T.....A..	C		C.....		G	G....	100
Dacus frontalis B2	...C....		GG.G.....	T.....A..			C.....G.		...G....G	G....	100
	110	120	130	140	150	160	170	180	190	200	
Dacus frontalis A1	CCGACTAATT	TGCGTAGTGT	AACTTTTGAA	GATGCCAATC	TGCGCAACTT	GGTAGCCGAA	TGTTCCCTTA	AGGAACCACG	CGTCTTCAAT	GCCAGCGGCA	200
Dacus frontalis A2			A....								200
Dacus frontalis B1	..A.....		A..CC	...C.....			GG..			A.....	200
Dacus frontalis B2	..A.....		A..CC	...C.....						A.....	200
	210										
Dacus frontalis A1	CGCCACGCAT	TTGTGC	216								
Dacus frontalis A2	A		216								
Dacus frontalis B1	A		216								
Dacus frontalis B2			216								

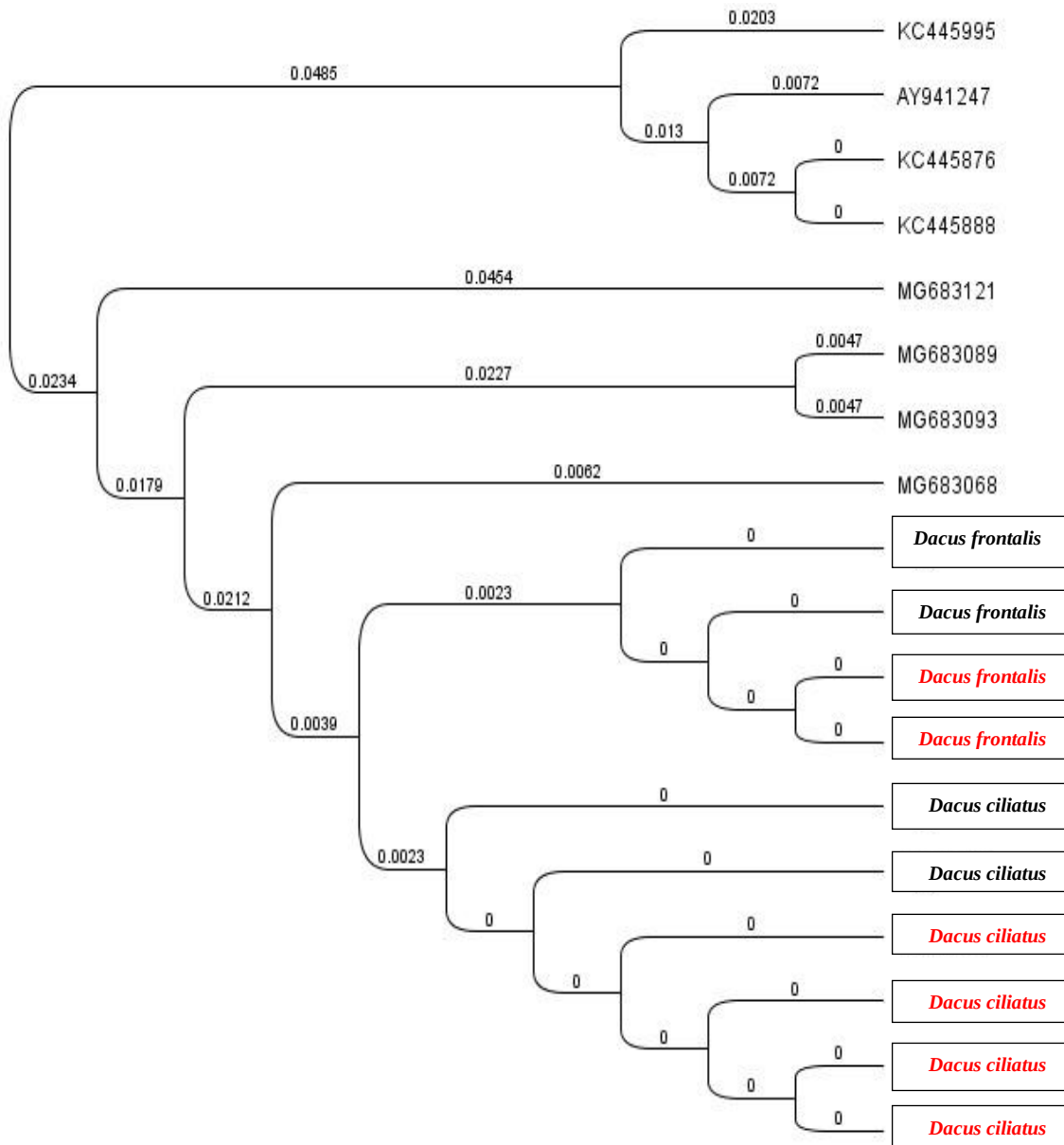
شكل (34) مقارنة رصف القواعد النتروجينية لجزء من الجين CAD بين عينات النوع *Dacus frontalis* المعاملة بأوكسيد المغنيسيوم النانوي والعينات غير المعاملة (تمثل الحروف A1 و A2 في الشكل العينات غير المعاملة بينما تشير الحروف A1 و A2 إلى العينات المعاملة بأوكسيد المغنيسيوم النانوي).

	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	
<i>Dacus ciliatus</i> A1	AGGTCACGGT	GTGCCC GGCA	T-AGCGGCAT	TGATACACGA	GCACTCCCGA	AGAAGATACG	CGAAAACGGT	TCCATACTCG	GACGCATCGT	TTACGAGAGG	99
<i>Dacus ciliatus</i> A2									A.....		99
<i>Dacus frontalis</i> A1	A....		.T.C.....	C.....	A...		T.....C.		...A.....	T.	100
<i>Dacus frontalis</i> A2	A....		.T.C.....	C.....	A..C		GT.....C.		...A.....	T.	100
	110	120	130	140	150	160	170	180	190	200	
<i>Dacus ciliatus</i> A1	CGCAACTAAT	TTGCGTAGTG	TAAC TTTTGC	CGAT-CCGAT	CTGCGCAGGA	CTCTGGTAGC	CGAATGTTCG	GTTAAGGAAC	CACGTGTCTT	CAATGCCAGC	198
<i>Dacus ciliatus</i> A2					AA.						198
<i>Dacus frontalis</i> A1	..G.....		...A A...G..A..	A--	-CT.....	C C.....	C.....	C.....	C.....		196
<i>Dacus frontalis</i> A2	..G.....		...A..A A...G..A..	A--	-CT.....	C C.....	C.....	C.....	C.....		196
	210	220									
<i>Dacus ciliatus</i> A1	GGCACGCCAC	GCATTTGTGC	218								
<i>Dacus ciliatus</i> A2			218								
<i>Dacus frontalis</i> A1			216								
<i>Dacus frontalis</i> A2		...A.....	216								

شكل (35) مقارنة رصف القواعد النتروجينية لجزء من الجين CAD بين عينات السيطرة للنوعين *Dacus ciliatus* و *Dacus frontalis* غير المعاملة بأوكسيد المغنيسيوم النانوي .

	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	
<i>Dacus ciliatus</i> B1	AGGTCACGGT	GTGCCCCGCA	TTAGCGGCAT	TGATACACGA	GCACTCCCCGA	AGAAGATACG	GAACCCGGT	TCCATACTCG	AACGCATCGT	TTACGAGAGG	99
<i>Dacus ciliatus</i> B2				.A.....			...AA...		G.....		99
<i>Dacus ciliatus</i> B3				.A.....			C...AA...		G.....		100
<i>Dacus ciliatus</i> B4				.A.....			C.....		G.....		100
<i>Dacus frontalis</i> B1			GG.C.....	A..	A..C		C...AA..C		G..A....G	G..T.	100
<i>Dacus frontalis</i> B2			GG.....	A..	A..		C...AA...		G.....G	G..T.	100
	110	120	130	140	150	160	170	180	190	200	
<i>Dacus ciliatus</i> B1	CCGAAC TAAT	TTGCGTAGTG	TAACTTTTGC	CGATCC--GA	TCTGCGCAAC	TCCTCGGTAG	C--CG-AATG	TTTCGGTTAAG	GAACCACGTG	TCTTCAATGC	194
<i>Dacus ciliatus</i> B2	..-.....			...CAA.		...G-....	.AA.-....				194
<i>Dacus ciliatus</i> B3	..-.....			...CAA.		...GC....	...-....				194
<i>Dacus ciliatus</i> B4	..-.....			...C-A.		...G.TC..	...-C....				194
<i>Dacus frontalis</i> B1	..-.....		A..	...C-A.		...-T....	...-....		C.	A.	192
<i>Dacus frontalis</i> B2	..-.....		A..	...C-A.		...-T....	...-....	...CC....	C.	A.	192
	210	220									
<i>Dacus ciliatus</i> B1	CAGCGGCACG	CCACGCATTT	GTGC								218
<i>Dacus ciliatus</i> B2											218
<i>Dacus ciliatus</i> B3											218
<i>Dacus ciliatus</i> B4											218
<i>Dacus frontalis</i> B1		A..									216
<i>Dacus frontalis</i> B2											216

شكل (36) مقارنة رصف القواعد النتروجينية لجزء من الجين CAD بين عينات النوعين *Dacus ciliatus* و *Dacus frontalis* المعاملة بأوكسيد المغنيسيوم النانوي .



الشكل (37) مخطط البُعد الوراثي للجين CAD بين عينات الأنواع المدروسة التابعة للجنس *Dacus* المعاملة بأوكسيد المغنيسيوم النانوي وغير المعاملة مع عينات بنك الجينات (الأسماء العلمية المكتوبة باللون الأحمر في الشكل تمثل العينات المعاملة بأوكسيد المغنيسيوم النانوي) .

2-5-2-4 المقارنة بين عينات النوعين *Dacus frontalis* و *Dacus ciliatus* المعاملة وغير المعاملة

بالتركيز نصف القاتل LC50 لأوكسيد المغنسيوم النانوي من ناحية التسلسل التتابعي للجين EF1-alpha :

جرى دراسة التسلسل التتابعي لجين DNA النواة EF1-alpha للنوع *D. ciliatus* لغرض إجراء المقارنة بين تسلسلاتها النيوكلوتيدية قبل وبعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل LC50 لأوكسيد المغنسيوم النانوي MgO ، بالإضافة إلى إجراء عملية المطابقة مع عينات بنك الجينات . ويوضح الشكل (38) مقارنة لرصف القواعد النيتروجينية لجزء من الجين EF1-alpha بين العينات المعاملة وغير المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي وعينة بنك الجينات العالمي MG683557.1 ؛ حيث وجد أثناء المقارنة حدوث تغيير واضح بشكل نوعين من الطفرات النقطية Point mutations من نوع الحذف والاستبدال على طول التسلسل النيوكلوتيدي الواضح والمميز للعينات الذي امتد من الموقع 400 إلى الموقع 564 ، فمن ناحية العينات غير المعاملة تبين أن هناك طفرات حذف حصلت في 4 مواقع فقط وطفرات استبدال حدثت في 88 موقعاً على طول التسلسل التتابعي للجين وأن نسبة التطابق لها مع عينة بنك الجينات بلغت 71% ؛ أما في حالة العينات المعاملة فقد لوحظ حدوث طفرات حذف نقطية في 4 مواقع أيضاً وطفرات استبدال في 93 موقعاً نيوكلوتيدياً ، كما أن نسبة التطابق لها مع عينة بنك الجينات وجد أنها تساوي 60% ، وذلك بسبب حدوث تغيير كبير نتيجة تأثير التركيز نصف القاتل للمادة النانوية عليها ؛ كما لوحظ في هذه المقارنة حدوث طفرة استبدال في الموقع 511 للعينات المعاملة فقط ، كذلك حدوث طفرة استبدال لعينة واحدة فقط (A1) من العينات غير المعاملة في الموقعين 559 و 560 ؛ بينما حدث هذا النوع من الطفرات وفي نفس هذه المواقع ولكن لثلاثة من العينات المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي وهي B2 ، B3 ، B4 . ويوضح الشكل (39) مقارنة لرصف القواعد النيتروجينية لجزء من الجين EF1-alpha بين عينات النوع *Dacus frontalis* المعاملة وغير المعاملة بالتركيز نصف القاتل LC50 لأوكسيد المغنسيوم النانوي مع عينة بنك الجينات MN418239.1 ، وعند إجراء المقارنة من الموقع 91 إلى الموقع 506 لوحظ حصول تغيير واضح في التسلسل التتابعي للعينات بنوعيهما المعاملة وغير المعاملة متمثلاً بحدوث نفس العدد من طفرات الحذف في 19 موقعاً من مواقع النيوكلوتيدات ، في حين أن عددها بلغ 7 مواقع في عينة بنك الجينات ؛ كما لوحظ أيضاً حدوث طفرات استبدال نقطية في 157 موقعاً للعينات المعاملة و 152 موقعاً في حالة العينات غير المعاملة على طول التسلسل النيوكلوتيدي لجميع العينات ؛ كما ظهر خلال المقارنة حدوث طفرات استبدال في المواقع 103 ، 104 ، 215 ، 216 ، 236 و 256 للعينة غير المعاملة ، بينما في المواقع 148 ، 177 ، 178 للعينة المعاملة فقط ؛ أما نسبة التطابق مع

عينة بنك الجينات فوجد أنها تساوي 63% للعينة غير المعاملة و 59% للعينة المعاملة بالتركيز نصف القاتل LC50 لأوكسيد المغنسيوم النانوي بسبب التغيير الواضح والمتمثل بالعدد الكبير من طفرات الحذف والاستبدال النقطية في مواقع النيوكليوتيدات ؛ وتُظهر هذه النتائج أن التأثير الكبير لمادة أوكسيد المغنسيوم النانوي على دور كاملات النوع *D. frontalis* من خلال التباين الواضح بين العينات المعاملة وغير المعاملة وعينة بنك الجينات العالمية ؛ ويوضح الشكل (40) مقارنة رصف القواعد النيروجين لجزء من الجين EF1-alpha بين عينة بنك الجينات وعينات النوعين *D. frontalis* و *D. ciliatus* السيطرة غير المعاملة بالتركيز نصف القاتل LC50 لأوكسيد المغنسيوم النانوي ، إذ تمثل MG683557.1 عينة بنك الجينات للنوع *D. ciliatus* وتمثل MN418239.1 عينة بنك الجينات للنوع *D. frontalis* ، وعند إجراء المقارنة من الموقع 160 إلى الموقع 400 وجد أن هناك تغييراً واضحاً في التسلسل النيوكليوتيدي للعينات بشكل طفرات حذف في 11 موقعاً وطفرات استبدال نقطية في 120 موقعاً ، بينما لم تحدث طفرات حذف في أي موقع بالنسبة لعينة بنك الجينات ؛ كما وجد أيضاً طفرة استبدال في الموقعين 172 و 173 لعينة واحدة فقط من نوع *D. Ciliates* وهي A3 وجميع عينات النوع *D. frontalis* ، كما حدثت طفرات استبدال في الموقعين 198 و 305 لعينات النوع *D. frontalis* فقط ، وكذلك حصول طفرات استبدال في الموقعين 284 و 285 لعينات النوع *D. ciliatus* (A1 و A) وجميع عينات النوع *D. frontalis* ، أما نسبة التطابق بين عينة بنك الجينات لكل نوع وعينات النوعين *D. ciliatus* و *D. frontalis* فقد بلغت 65% و 68% على التوالي ، وعند الاستمرار بأجراء المقارنة ولكن بزيادة عدد المواقع المأخوذة من التسلسل التتابعي لنفس العينات وهذه المرة من الموقع 400 إلى الموقع 564 ، لوحظ أيضاً حدوث طفرات حذف نقطية في 4 مواقع نيوكليوتيدية مشتركة لتسلسل كلا النوعين في حين حدثت في موقعين فقط بالنسبة لتسلسل عينات بنك الجينات لكلا النوعين وطفرات استبدال في 87 موقعاً ولكلا النوعين أيضاً باستثناء عدد قليل جداً من هذا من الطفرات حدثت في مواقع مختلفة لعينات النوعين المدروسين ، إذ حدثت طفرات استبدال في المواقع 452 ، 473 و 511 لتسلسل عينة النوع *D. frontalis* فقط وطفرات استبدال في المواقع 559 و 560 لتسلسل عينة واحدة فقط (A1) من عينات النوع *D. ciliatus* و A للنوع *D. frontalis* ؛ كما حدث استبدال القاعدة النيروجينية AA بدلاً من القاعدة TT لتسلسل النوع *D. ciliatus* والقاعدة CC بدلاً من القاعدة TT لتسلسل النوع *D. frontalis* في المواقع النيوكليوتيدية 442 و 443 ، لوحظ أيضاً حدوث استبدال للقاعدة النيروجينية C بدلاً من القاعدة T لعينة النوع *D. ciliatus* والقاعدة A بدلاً من القاعدة T لعينة النوع *D. frontalis* ، بينما بلغت نسبة التطابق مع عينة بنك الجينات لعينات النوعين *D. ciliatus* و *D. frontalis*

66% و 71% على التوالي ، والسبب في ذلك التقارب الكبير بينها رغم أنهما نوعين مستقلين عن بعضهما البعض بالإضافة إلى نسبة التطابق الكبيرة لهما مع عينات بنك الجينات الخاصة بكل نوع . يشير الشكل (41) مقارنة رصف القواعد النيتروجينية لجزء من الجين EF1-alpha بين عينات بنك الجينات وعينات النوعين *D. ciliatus* و *D. frontalis* المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي ، وتمثل MG683557.1 عينة بنك الجينات لنوع *D. ciliatus* بينما تمثل MN418239.1 عينة بنك الجينات للنوع *D. frontalis* ، وكما في المقارنات السابقة لهذا الجين فقد وجدَ أنَّ هناك تغيير واضح وملحوظ في التسلسل النيوكليوتيدي لعينات النوعين عند المقارنة بينهما وبين عينات بنك الجينات من الموقع 160 إلى الموقع 564 بشكل طفرات نقطية من نوع الحذف في 11 موقعاً نيوكليوتيدياً مشتركاً لكلا النوعين وفي 3 مواقع فقط بالنسبة لعينات بنك الجينات ؛ أما طفرات لاستبدال فقد حدثت في 211 موقعاً مشتركاً على طول التسلسل التتابعي لعينات النوعين ، كما وجدَ عند المقارنة عينات النوعين مع بعضها البعض حصول طفرات استبدال نقطية لعينات النوع *D. ciliatus* B1 و B2 بالإضافة لعينة النوع *D. frontalis* في الموقع 220 ، كما لوحظ أيضاً حدوث طفرة استبدال لتسلسل النوع *D. frontalis* فقط في المواقع 246 ، 247 ، 330 و 561 ، بينما حدثت طفرات استبدال لتسلسل عينات النوع *D. ciliatus* فقط في المواقع 172 ، 173 ، 425 و 503 لتسلسل العينات B3 و B4 في المواقع 304 ، 305 و 338 ، وللعينات B2, B3, B4 في الموقع 396 ولنفس العينات مع عينة النوع *D. frontalis* في الموقعين 559 و 560 ؛ أما نسبة التطابق مع عينة بنك الجينات الخاصة بكل نوع فكانت تساوي في النوعين *D. ciliatus* و *D. frontalis* 62% و 68% على التوالي ، اعتماداً على عدد الطفرات النقطية بنوعيتها والحاصلة في تسلسلات النوعين ، وبالتالي فإن هذه النتائج تؤكد على أنَّ التأثير الكبير للتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي MgO على كاملات النوعين بشكل واضح أدى إلى هذا النوع من التباين بين عينات الحشرة وعينات بنك الجينات . يوضح الشكل (42) مقارنة رصف القواعد النيتروجينية لجزء من الجين EF1-alpha بين عينات النوع *D. ciliatus* المعاملة وغير المعاملة بالتركيز نصف القاتل LC50 لأوكسيد المغنسيوم النانوي ، وتمثل الرموز A1, A2, A3 العينات غير المعاملة ، بينما تمثل الرموز B1, B2, B3, B4 العينات المعاملة ، وعند إجراء المقارنة وجدَ أنَّ هناك تباين بين العينات بشكل طفرات نقطية من نوع الاستبدال فقط واضحة ومميزة في التسلسل التتابعي لها من الموقع 1 إلى الموقع 390 فقد وصل عددها إلى 13 طفرة في تسلسل العينات غير المعاملة ، في حين وجدَ أنَّ عددها قد بلغ 36 طفرة في العينات المعاملة ، وقد لوحظ حدوث طفرات استبدال في المواقع 1، 2 ، 13 ، 14 ، 44 ، 74 ، 116 ، 309 ، 310 و 311 للعينة غير المعاملة (A3) فقط وفي الموقعين 384

و385 للعينات (A3, A2) فقط ؛ بينما في حالة العينات المعاملة بالمادة النانوية حدثت طفرات الاستبدال النقطية لجميع العينات في المواقع النيوكلوتيدية 13 ، 14 ، 25 ، 74 ، 116 ، 117 ، 194 ، 195 ، 272 ، 273 ، 309 ، 310 ، 311 ، 338 و339 والعينات (B1, B2, B3) فقط في المواقع 1 ، 2 ، 44 والعينات (B4, B3, B2) في المواقع 90 ، 91 ، 150 ، 226 ، 227 ، 228 و282 والعينة (B1) فقط في الموقعين 380 و381 ؛ تشير هذه النتائج إلى التغيير الكبير في العينات المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي والتأثير الكبير لهذا التركيز على دور الكاملات للنوع *D. ciliatus* ، يبين الشكل (43) مقارنة رصف القواعد النيتروجينية لجزء من الجين EF1-alpha بين عينات النوع *D. frontalis* المعاملة وغير المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي ، وقد لوحظ أثناء المقارنة من الموقع 1 إلى الموقع 390 وجود تباين واضح بين العينتين تمثل بحدوث طفرات استبدال نقطية فقط في 25 موقعاً نيوكلوتيدياً وعلى طول التسلسل المتتابع للعينة المعاملة وبالتالي فإن هذه النتيجة تشير إلى التأثير الواضح للتركيز نصف القاتل LC50 على دور الكاملات لهذا النوع . يوضح الشكل (44) مقارنة رصف القواعد النيتروجينية لجزء من الجين EF1-alpha بين عينات النوعين *D. ciliatus* و *D. frontalis* السيطرة غير المعاملة بالتركيز نصف القاتل LC50 لأوكسيد المغنسيوم النانوي ؛ وقد تبين عند القيام بالمقارنة من الموقع 1 إلى الموقع 390 وجود اختلاف واضح جداً بين العينتين تمثل بحدوث طفرات نقطية من نوع الاستبدال في 26 موقعاً نيوكلوتيدياً وعلى طول التسلسل المتتابع لعينة النوع *D. frontalis* وسبب ذلك يعود إلى كونهما نوعين مستقلين عن بعضها بالرغم من أنهما يعودان لنفس الجنس ، يشير الشكل (45) مقارنة رصف القواعد النيتروجينية لجزء من الجين EF1-alpha بين عينات النوعين *D. ciliatus* و *D. frontalis* المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي ، وكما في المقارنات السابقة لعينات النوعين المعاملة وجد أن هناك تباين في التسلسل النيوكلوتيدي لهما وهذا التباين تمثل بحصول طفرات استبدال نقطية فقط وفي 12 موقعاً امتدت على طول التسلسل المتتابع لهما ، وعند المقارنة بين العينتين من الموقع 1 إلى الموقع 390 ، ومن خلال نتيجة هذه المقارنة يتضح أن التركيز نصف القاتل LC50 لأوكسيد المغنسيوم النانوي MgO أكثر تأثيراً على دور الكاملات للنوع *D. frontalis* مما هو عليه في النوع *D. ciliatus* من ناحية الجين EF1-alpha . ويوضح الشكل (46) مخطط البعد الوراثي للجين EF1-alpha بين عينات كلا النوعين التابعة للجنس *Dacus* المعاملة وغير المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي مع عينات بنك الجينات الخاصة بكل نوع ، إذ لوحظ أن قيمة البعد الوراثي بين عينات النوع الواحد المعاملة وغير المعاملة بالتركيز نصف القاتل LC50 لأوكسيد المغنسيوم النانوي تساوي 0.00 ، كما لوحظ أيضاً

من خلال المقارنة أنَّ قيمة البعد الوراثي بين العينات المعاملة وغير المعاملة للنوعين *D. ciliatus* و *D. frontalis* تساوي 0.0013 وبين عينات النوعين وعينات بنك الجينات المختارة تساوي 0.0024 ، وقد أجرى العديد من الباحثين في مجال الوراثة الجزيئية للحشرات دراسات عديدة حول التسلسل التتابعي للجين EF1-alpha وعلاقته ببرامج المكافحة المتكاملة للآفات الحشرية ومنها الدراسة التي قام بها Nakahara و Muraji (2013) حول تضخيم وتحليل التسلسل الجيني لجزء من الجين EF-1alpha في ثلاثة أنواع شملت *D. ciliatus* ، *D. frontalis* و *D. bivittatus* ، وقام الباحثون أعلاه باستخلاص الحامض النووي DNA لعينات الأنواع الثلاثة وتضخيمه عن طريق تفاعل الـ PCR باستخدام نوعين البوادي Forward: GGG YAA AGG و WTC CTT CAA RTA TGC ، Revers: AAT CAG CAG CAC CTT TAG GTG G ، وخلصت نتائج الدراسة بعدَ مقارنة العينات مع عينات بنك الجينات ومن خلال شجرة والتقارب الوراثي بين الأنواع إلى وجود تقارب كبير بينَ الأنواع الثلاثة بنسبة 98% وأنَّ تحليل الجين EF-1a أداة مهمة في تصنيف الأنواع المختلفة من جنس *Dacus* ؛ ومن الدراسات الأخرى أيضاً الدراسة التي قامَ بها Mengual و Gaimari (2017) حولَ تطور العلاقات الوراثية بين أنواع قبيلة Taxotrypanini اعتماداً على الصفات الجزيئية لتلك الأنواع ومن خلال دراسة التسلسل التتابعي لنوعين من جينات دنا النواة وهما الجينين EF-1a و CAD وجين دنا المايكوكوندريا COI ، وقد قامَ الباحثان أعلاه باستخلاص الـ DNA وتضخيمه باستعمال تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل PCR لـ 146 عينة تمثل 21 نوعاً موزعة على مجموعتين A و B ، وعن طريق دراسة التغيرات الحاصلة في التسلسلة التتابعي للجينات الثلاثة والمتمثل بحدوث طفرات من نوع الحذف والإضافة يتم التعرف على تطور العلاقات الوراثية الجزيئية بينَ تلك الأنواع بعدَ مقارنتها معَ عينات بنك الجينات ومن خلال شجرة التقارب الوراثي للأنواع ، وأشارت نتائج الدراسة إلى أنَّ نسخة الجينات الثلاثة في عينات المجموع A أكثر تطوراً مما هي عليه في عينات المجموعة B ، إذ أنَّ مواقع النيوكليوتيدات في التسلسل التتابعي للجينات الثلاثة متقاربة جداً في نسبة التغيرات المتمثلة بعدد الطفرات الحاصلة فيها ، كما درسَ Li وآخرون (2019) التطور الحاصل في جينومات الحشرات والتحديات التي تواجه ذلك التطور ، إذ دُرست التحسينات المستمرة في تقنيات دراسة التسلسل التتابعي لأنواع مختلفة من الحشرات تنتمي لعدد كبير من الرتب وخصوصاً رتبة ثنائية الأجنحة كونها الأكبر من ناحية العوائل والأنواع التي تعود لتلك العوائل كبعض الأنواع التابعة للأجناس *Dacus* و *Chrysomya* و *Drosophila* من خلال دراسة تطور جينات دنا النواة لتلك الأنواع مثل الجين CAD و EF-1a والجين 16S

rRNA ، وخلصت الدراسة إلى أن التقدم الحاصل في تسلسل جينوم الحشرات له تأثير كبير على الطرق البديلة والحديثة في مكافحة الآفات .

	410	420	430	440	450	460	470	480	490	500	
MG683557.1	ACGT--TGGT	TTCAACGTTA	AGAAC-GTTT	CCGTAAAGGA	ATTGCGTCGT	GGTTATGTAG	CTGGCGATTG	TAAGGCCAAC	CCCCCTAAGG	GTGCTGCCGA	496
<i>Dacus ciliatus</i> A1	..ACACCA..	ACG.	CCG..T.G.A	.T...CCAAT	.AAA.CAAT.	T.G..CAC.T	.CT.-..G.G	GC..A.GG.A	AA..T.GTC.	..-TG.G...	328
<i>Dacus ciliatus</i> A2	..ACACCA..	ACG.	CCG..T.G.A	.T...CCAAT	.AAA.CAAT.	T.G..CAC.T	.CT.-..G.G	GC..A.GG.A	AA..T.GTC.	..-TG.G...	328
<i>Dacus ciliatus</i> A3	..ACACCA..	ACG.	CCG..T.G.A	.T...CCAAT	.AAA.CAAT.	T.G..CAC.T	.CT.-..G.G	GC..A.GG.G	GG..T.GTC.	..-TG.G...	328
<i>Dacus ciliatus</i> B1	..ACACCA..	ACG.	CCG..T.G.A	.T...CCAAT	.CCA.CAAT.	T.G..CAC.T	.CT.-..G.G	GC..A.GG.G	GG..T.GTC.	..-TG.G...	328
<i>Dacus ciliatus</i> B2	..ACACCA..	ACG.	CCG..T.G.A	.T...CCAAT	.CCA.CAAT.	TTG..CAC.T	.CT.-..G.G	GC..A.GG.G	GG..T.GTC.	..-TG.G...	328
<i>Dacus ciliatus</i> B3	..ACACCA..	ACG.	CCG..T.G.A	.T...CCAAT	.CCA.CAAT.	TTG..CAC.T	.CT.-..G.G	GC..A.GG.G	GG..T.GTC.	..-TG.G...	328
<i>Dacus ciliatus</i> B4	..ACACCA..	ACG.	CCG..T.G.A	.T...CCAAT	.CCA.CAAT.	TTG..CAC.T	.CT.-..G.G	GC..A.GG.G	GG..T.GTC.	..-TG.G...	328
	510	520	530	540	550	560	570	580	590	600	
MG683557.1	CTTCACCGCT	CAGGTTATTG	TGTTGAACCA	CCGTGGTCAA	ATTGCCAACG	GTTACACTCC	CGTGTTGGAT	TGTCACACCG	CTCACATTGC	CTGCAAGTTC	596
<i>Dacus ciliatus</i> A1	GA.GGGG..C	..A--..GC.	.CAA.GG.AT	.AA..AGGGT	C....TT.A	.CGTT..CTT	.C.A-----	-----	-----	-----	390
<i>Dacus ciliatus</i> A2	GA.GGGG..C	..A--..GC.	.CAA.GG.AT	.AA..AGGGT	C....TT.A	.CGTT..C..	.C.A-----	-----	-----	-----	390
<i>Dacus ciliatus</i> A3	GA.GGGG..C	..A--..GC.	.CAA.GG.AT	.AA..AGGGT	C....TT.A	.CGTT..C..	.C.A-----	-----	-----	-----	390
<i>Dacus ciliatus</i> B1	GA.GGGG..A	A.A--..GC.	.CAA.GG.AT	.AA..AGGGT	C....TT.A	.CGTT..C..	.C.A-----	-----	-----	-----	390
<i>Dacus ciliatus</i> B2	GA.GGGG..A	A.A--..GC.	.CAA.GG.AT	.AA..AGGGT	C....TT.A	.CGTT..CTT	.C.A-----	-----	-----	-----	390
<i>Dacus ciliatus</i> B3	GA.GGGG..A	A.A--..GC.	.CAA.GG.AT	.AA..AGGGT	C....TT.A	.CGTT..CTT	.C.A-----	-----	-----	-----	390
<i>Dacus ciliatus</i> B4	GA.GGGG..A	A.A--..GC.	.CAA.GG.AT	.AA..AGGGT	C....TT.A	.CGTT..CTT	.C.A-----	-----	-----	-----	390

الشكل (38) مقارنة رصف القواعد النتروجينية لجزء من الجين EF1-alpha بين عينات النوع *Dacus ciliatus* المعاملة بأوكسيد المغنسيوم النانوي وغير المعاملة مع عينة بنك الجينات MG683557.1 (A1 و A2 و A3 تمثل العينات غير المعاملة بأوكسيد المغنسيوم النانوي ، B1 و B2 و B3 و B4 تمثل العينات المعاملة بأوكسيد المغنسيوم النانوي) .

MN418239.1	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	
Dacus frontalis A	ATGGTGATAA	CATGTTGGAA	GCATCCACCA	ACATGCGCGTG	GTTCAAGGGA	TGGAAGGTTG	AACGTAAGGA	AGGTAATGCT	GAAGGCAAGA	CACCTATCGA	100
Dacus frontalis B	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	TTT.C.CAC.	10
	110	120	130	140	150	160	170	180	190	200	
MN418239.1	TGCCCTTGAT	GCTATTTTGC	CCCCATCTCG	CCCAACCGAC	AAGGCCCTCC	GTCTGCCA-C	TCCAGGATGT	GTACAAAATT	GGTGGTATTG	GAACAGTACC	199
Dacus frontalis A	ATAA.C.---	..GG.GGG.T	.GG..G.AAA	.TT.GGG.GG	TT....AAAG	AATC....G.	.A..TA.CCA	CG..GC....	CC.---.AC.	...AC..T.T	107
Dacus frontalis B	AT...C.---	..GG.GAA.T	.GG..G.A.C	.TT.GGG.GG	TT....T.AG	AATC....G.	.A..TA.CCA	CG..GCTT..	CC.---.AC.	...AC..T.T	107
	210	220	230	240	250	260	270	280	290	300	
MN418239.1	AGTCGGTCGT	GTTGAAACTG	GTGTACTGAA	ACCCGGTATG	GTCGTTGTTT	TCGCCCCAGC	GAACATCACC	ACTGAAGTTA	AGTCCGTTGA	AATGCACCAC	299
Dacus frontalis A	-----.AAC	GG..CA	AC.---.TC	...G.T..CA	.C.TC..GCA	AA..TT.GTG	ATG...TT.A	..C..CT.A	CT..A..G.T	G...TT.GCT	199
Dacus frontalis B	-----.AAC	CA	AC.---.TC	...G....CA	.C.TC..GCA	AA..TT.GTG	ATG...TT.A	..G..CT.A	CT..A..G.T	G...TT.GCT	199
	310	320	330	340	350	360	370	380	390	400	
MN418239.1	GAAGCTTTGC	CAGAGGCTGT	TCCCGGTGAC	AACGT--TGG	TTTCAACGTT	AA-GAACGTT	TCCGTTAAGG	AATTGCGTCG	TGGTTATGTC	GCTGGTGATT	396
Dacus frontalis A	.GG..GCCAA	.TACAA.CA	A..T...TT.	...ACACCA.	ACG	.CC..CT.G	A.T...CC--	...AC.AC.A	AAT..G.A-	A.-----C	291
Dacus frontalis B	.GG..GAAAA	.TACAA.CA	A..T...TT.	...ACACCA.	ACG	.CC...T.G	A.T...CC--	...AC.AC.A	ATT..G.A-	A.-----C	291
	310	320	330	340	350	360	370	380	390	400	
MN418239.1	GAAGCTTTGC	CAGAGGCTGT	TCCCGGTGAC	AACGT--TGG	TTTCAACGTT	AA-GAACGTT	TCCGTTAAGG	AATTGCGTCG	TGGTTATGTC	GCTGGTGATT	396
Dacus frontalis A	.GG..GCCAA	.TACAA.CA	A..T...TT.	...ACACCA.	ACG	.CC..CT.G	A.T...CC--	...AC.AC.A	AAT..G.A-	A.-----C	291
Dacus frontalis B	.GG..GAAAA	.TACAA.CA	A..T...TT.	...ACACCA.	ACG	.CC...T.G	A.T...CC--	...AC.AC.A	ATT..G.A-	A.-----C	291
	410	420	430	440	450	460	470	480	490	500	
MN418239.1	CTAAGGCAAG	CCCCCTAAG	GGTGCTGCTG	ATTTACCGC	CCAGGTTATT	GTGTTGAACC	ACCCTGGTCA	AATTGCCAAC	GGCTACAC-T	CCAGTGTGG	495
Dacus frontalis A	..GGA.TGG-	..GA.GG..	..CCT..TC.	G..G----G	.G..A.G--G	.G.CAA..TA	G.GTCAAGGG	C..CAATG.G	..TCTTG.C.	T...C...AC	383
Dacus frontalis B	..GGA.TGG-	..AGA.GG..	..CCT..TC.	G..G----G	.G..A...--	.G.CAA..TA	G.GTCAAGGG	C..CAATG.G	..TCTTG.C.	T...C...AC	383
	510	520	530	540	550	560	570	580			
MN418239.1	ATTGCCACAC	CGCTCACATT	GCCTGCAAGT	TCGCTGAAAT	CAAAGAAAAG	GTTGATCGCC	GTTCCGGTAA	GACCACCGAA			575
Dacus frontalis A	C..C.T.---	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----			390
Dacus frontalis B	C..TTT.---	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----			390

شكل (39) مقارنة رصف القواعد النتروجينية لجزء من الجين EF1-alpha بين عينات النوع *Dacus frontalis* المعاملة بأوكسيد المغنسيوم النانوي وغير المعاملة مع عينة بنك الجينات MN418239.1 (A) تمثل العينة غير المعاملة بأوكسيد المغنسيوم النانوي ، B تمثل العينة المعاملة بأوكسيد المغنسيوم النانوي).

	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100		
MG683557.1	TGTCCTCATA	CATCAAGAAG	ATCGGTTACA	ATCCAGCTGC	TGTTGCTTTC	GTGCCAATCT	CTGGCTGGCA	CGGTGATAAC	ATGTTGGAAG	CATCCACCAA	100	
MN418239.1								T.....			31	
Dacus ciliatus A1											1	
Dacus ciliatus A2											1	
Dacus ciliatus A3											1	
Dacus frontalis A											1	
	110	120	130	140	150	160	170	180	190	200		
MG683557.1	CATGCCATGG	TTCAAGGGAT	GGAAGGTTGA	ACGTAAGGAA	GGTAATGCTG	AAGGCAAGAC	CCTCATTGAT	GCCCTTGACG	CTATTTTGCC	CCCATCTCGC	200	
MN418239.1	G...						A..T..C...	T.			131	
Dacus ciliatus A1						T	TT...CAC.A	T...C...-	.GG.GGG.T	GG..G.A.C.	40	
Dacus ciliatus A2						T	TT...CAC.A	T...C...-	.GG.GGG.T	GG..G.A.C.	40	
Dacus ciliatus A3						G	GT...CAC.A	TAA.C...-	.GG.GGG.T	GG..G.A.C.	40	
Dacus frontalis A						T	TT...CAC.A	TAA.C...-	.GG.GGG.T	GG..G.AAA.	40	
	210	220	230	240	250	260	270	280	290	300		
MG683557.1	CCAACCGACA	AGGCCCTCCG	TCTGCCA-CT	CCAGGATGTG	TACAAAATTG	GTGGTATTGG	AACAGTACCA	GTCGGTCGTG	TTGAAACTGG	TGTGTTGAAA	299	
MN418239.1										...AC....	230	
Dacus ciliatus A1	TT..GG.GGT	T....T.AGA	ATC....G..	A..CA.CCAC	G..GC....C	C...-..AC..	..AC..T.T-	-----	.AAC.	...GG..CAA	C...-..TC.	130
Dacus ciliatus A2	TT..GG.GGT	T....T.AGA	ATC....G..	A..CA.CCAC	G..GC....C	C...-..AC..	..AC..T.T-	-----	.AAC.	...GG..CAA	C...-..TC.	130
Dacus ciliatus A3	TT.GGG.GGT	T....T.AGA	ATC....G..	A..TA.CCAC	G..GC....C	C...-..AC..	..AC..T.T-	-----	.AAC.	CAA	C...-..TC.	130
Dacus frontalis A	TT.GGG.GGT	T....AAAGA	ATC....G..	A..TA.CCAC	G..GC....C	C...-..AC..	..AC..T.T-	-----	.AAC.	...GG..CAA	C...-..TC.	130
	310	320	330	340	350	360	370	380	390	400		
MG683557.1	CCAGGTATGG	TTGTAGTTTT	CGCCCCAGCG	AACATCACCA	CTGAAGTTAA	GTCCGTTGAA	ATGCACCACG	AAGCTTTGCC	AGAGGCTGTA	CCCCGGTGACA	399	
MN418239.1	..C.....	.C..T....								T.....	330	
Dacus ciliatus A1	..G....CA.	CCTCT.GCAA	G..TT.GTG.	TG...TT.A.	.G..CT.A.C	T..A..G.TG	...GG.GCT.	GG..GAAAA.	TACAA.CA..	..T...TT..	230	
Dacus ciliatus A2	..G....CA.	CCTCT.GCAA	G..TT.GTG.	TG...TT.A.	.G..CT.A.C	T..A..G.TG	...GG.GCT.	GG..GAAAA.	TACAA.CA..	..T...TT..	230	
Dacus ciliatus A3	..G....CA.	CCTCT.GCAA	G..TT.GTG.	TG...TT.A.	.G..CT.A.C	T..A..G.TG	...GG.GCT.	GG..GAAAA.	TACAA.CA..	..T...TT..	230	
Dacus frontalis A	..G..T..CA.	CCTCT.GCAA	A..TT.GTGA	TG...TT.A.	.C..CT.A.C	T..A..G.TG	...TT.GCT.	GG..GCCAA.	TACAA.CA..	..T...TT..	230	

	410	420	430	440	450	460	470	480	490	500	
MG683557.1	ACGT--TGGT	TTCAACGTTA	AGAAC-GTTT	CCGTTAAGGA	ATTGCGTCGT	GGTTATGTAG	CTGGCGATTG	TAAGGCCAAC	CCCCCTAAGG	GTGCTGCCGA	496
MN418239.1						C.	T.....	A.G.		T..	427
Dacus ciliatus A1	..ACACCA..	ACG.	CCG..T.G.A	.T...CCAAT	.AAA.CAAT.	T.G..CAC.T	.CT.-..G.G	GC..A.GG.A	AA..T.GTC.	..-TG.G...	328
Dacus ciliatus A2	..ACACCA..	ACG.	CCG..T.G.A	.T...CCAAT	.AAA.CAAT.	T.G..CAC.T	.CT.-..G.G	GC..A.GG.A	AA..T.GTC.	..-TG.G...	328
Dacus ciliatus A3	..ACACCA..	ACG.	CCG..T.G.A	.T...CCAAT	.AAA.CAAT.	T.G..CAC.T	.CT.-..G.G	GC..A.GG.G	GG..T.GTC.	..-TG.G...	328
Dacus frontalis A	..ACACCA..	ACG.	CCG..T.G.A	.T...CCAAT	.CCA.CAAA.	TTG..CAC.T	.CT.-..G.G	GCC.A.GG.G	GG..T.GTC.	..-TG.G...	328
	510	520	530	540	550	560	570	580	590	600	
MG683557.1	CTTCACCGCT	CAGGTTATTG	TGTTGAACCA	CCCTGGTCAA	ATTGCCAACG	GTTACACTCC	CGTGTTGGAT	TGTCACACCG	CTCACATTGC	CTGCAAGTTC	596
MN418239.1	T.....C				C.....	A.....	..C.....				527
Dacus ciliatus A1	GA.GGGG..C	..A--..GC.	.CAA.GG.AT	.AA..AGGGT	C.....TT.A	.CGTT..CTT	.C.A-----	-----	-----	-----	390
Dacus ciliatus A2	GA.GGGG..C	..A--..GC.	.CAA.GG.AT	.AA..AGGGT	C.....TT.A	.CGTT..C..	.C.A-----	-----	-----	-----	390
Dacus ciliatus A3	GA.GGGG..C	..A--..GC.	.CAA.GG.AT	.AA..AGGGT	C.....TT.A	.CGTT..C..	.C.A-----	-----	-----	-----	390
Dacus frontalis A	GA.GGGG..A	A.A--..GC.	.CAA.GG.AT	.AA..AGGGT	C.....TT.A	.CGTT..CTT	.C.A-----	-----	-----	-----	390

شكل (40) مقارنة رصف القواعد النروجينية لجزء من الجين EF1-alpha بين عينات بنك الجينات وعينات النوعين *Dacus ciliatus* و *Dacus frontalis* التي لم تعامل بأوكسيد المغنسيوم النانوي (تمثل MG683557.1 عينة بنك الجينات للنوع *Dacus ciliates* وتمثل MN418239.1 عينة بنك الجينات للنوع *Dacus frontalis*).

	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	
MG683557.1	TGTCTCATA	CATCAAGAAG	ATCGGTTACA	ATCCAGCTGC	TGTTGCTTTC	GTGCCAATCT	CTGGCTGGCA	CGGTGATAAC	ATGTTGGAAG	CATCCACCAA	100
MN418239.1								T.....			31
Dacus ciliatus B1											1
Dacus ciliatus B2											1
Dacus ciliatus B3											1
Dacus ciliatus B4											1
Dacus frontalis B											1
	110	120	130	140	150	160	170	180	190	200	
MG683557.1	CATGCCATGG	TTCAAGGGAT	GGAAGGTTGA	ACGTAAGGAA	GGTAATGCTG	AAGGCAAGAC	CCTCATTGAT	GCCCTTGACG	CTATTTTGCC	CCCATCTCGC	200
MN418239.1	G...						A..T..C...	T.			131
Dacus ciliatus B1						G GT...CAC.A	TAA.C...-	.GG.GAA.T.	GG..G.A.C.		40
Dacus ciliatus B2						G GT...CAC.A	TAA.C...-	.GG.GAA.T.	GG..G.A.C.		40
Dacus ciliatus B3						G GT...CAC.A	TAA.C...-	.GG.GAA.T.	GG..G.A.C.		40
Dacus ciliatus B4						T TT...CAC.A	TAA.C...-	.GG.GAA.T.	GG..G.A.C.		40
Dacus frontalis B						G GT...CAC.A	T...C...-	.GG.GAA.T.	GG..G.A.C.		40
	210	220	230	240	250	260	270	280	290	300	
MG683557.1	CCAACCGACA	AGGCCCTCCG	TCTGCCA-CT	CCAGGATGTG	TACAAAATTG	GTGGTATTGG	AACAGTACCA	GTCGGTCGTG	TTGAAACTGG	TGTGTTGAAA	299
MN418239.1										...AC....	230
Dacus ciliatus B1	TT.GGG.GGT	T....T.AGA	ATC....G..	A..TA.CCAC	G..GC....C	C...AC..	..AC..T.T-	-----AAC.	CAA	C...-TC.	130
Dacus ciliatus B2	TT.GGG.GGT	T....T.AGA	ATC....G..	A..TA.CCAC	G..GC....	...AC..	..AC..T.T-	-----AAC.	CAA	C...-TC.	130
Dacus ciliatus B3	TT.GGG.GGT	T....T.AG.	GTC....G..	A..TA.CCAC	G..GC....	...AC..	..AC..T.T-	-----AAC.	CAA	C...-TC.	130
Dacus ciliatus B4	TT..GG.GGT	T....T.AG.	GTC....G..	A..TA.CCAC	G..GC....	...AC..	..AC..T.T-	-----AAC.	CAA	C...-TC.	130
Dacus frontalis B	TT.GGG.GGT	T....T.AGA	ATC....G..	A..TA.CCAC	G..GCTT..C	C...AC..	..AC..T.T-	-----AAC.	CAA	C...-TC.	130
	310	320	330	340	350	360	370	380	390	400	
MG683557.1	CCAGGTATGG	TTGTAGTTTT	CGCCCCAGCG	AACATCACCA	CTGAAGTTAA	GTCCGTTTGA	ATGCACCACG	AAGCTTTGCC	AGAGGCTGTA	CCCGGTGACA	399
MN418239.1	..C.....	.C..T....							T		330
Dacus ciliatus B1	..G....CA.	CCTCT.GCAA	G..TT.GTG.	TG...TT.A.	.G..CT.A.C	T..A..G.TG	...TT.GCT.	GG..GAAAA.	TACAA.CA..	..T...TT..	230
Dacus ciliatus B2	..G....CA.	CCTCT.GCAA	A..TT.GTG.	TG...TT.A.	.G..CT.A.C	T..A..G.TG	...TT.GCT.	GG..GAAAA.	TACAA.CA..	..T..G.G..	230
Dacus ciliatus B3	..CCC..CA.	CCTCT.GCAA	A..TT.GTG.	TG...TTAA.	.G..CT.A.C	T..A..G.TG	...TT.GCT.	GG..GGGAA.	TACAA.CA..	..T..G.G..	230
Dacus ciliatus B4	..CCC..CA.	CCTCT.GCAA	A..TT.GTG.	TG...TTAA.	.G..CT.A.C	T..A..G.TG	...TT.GCT.	GG..GGGAA.	TACAA.CA..	..T..G.G..	230
Dacus frontalis B	..G....CA.	CCTCT.GCAA	A..TT.GTGA	TG...TT.A.	.G..CT.A.C	T..A..G.TG	...TT.GCT.	GG..GAAAA.	TACAA.CA..	..T...TT..	230

	410	420	430	440	450	460	470	480	490	500	
MG683557.1	ACGT--TGGT	TTCAACGTTA	A-GAACGTTT	CCGTTAAGGA	ATTGCGTCGT	GGTTATGTAG	CTGGCGATTG	TAAGGCCAAC	CCCCCTAAGG	GTGCTGCCGA	496
MN418239.1						C	T	A.G		T	427
Dacus ciliatus B1	..ACACCA..	ACG	CC..CT.G.A	.T...CCAAT	.CCA.CAAT	T.G..CAC.T	.CT.-.G.G	GC..A.GG.G	GG..T.GTC	..TGG..GAG	329
Dacus ciliatus B2	..ACACCA..	ACG	CC..CT.G.A	.T...CCAAT	.CCA.CAAT	TTG..CAC.T	.CT.-.G.G	GC..A.GG.G	GG..T.GTC	..TGG..GAG	329
Dacus ciliatus B3	..ACACCA..	ACG	CC..CT.G.A	.T...CCAAT	.CCA.CAAT	TTG..CAC.T	.CT.-.G.G	GC..A.GG.G	GG..T.GTC	..TGG..GAG	329
Dacus ciliatus B4	..ACACCA..	ACG	CC..CT.G.A	.T...CCAAT	.CCA.CAAT	TTG..CAC.T	.CT.-.G.G	GC..A.GG.G	GG..T.GTC	..TGG..GAG	329
Dacus frontalis B	..ACACCA..	ACG	CC..T.G.A	.T...CCAAT	.CCA.CAAT	TTG..CAC.T	.CT.-.G.G	GC..A.GG.G	GG..T.GTC	..TGG..GAG	329
	510	520	530	540	550	560	570	580	590	600	
MG683557.1	CTTCACCGCT	CAGGTTATTG	TGTTGAACCA	CCCTGGTCAA	ATTGCCAACG	GTTACACTCC	CGTGTGGAT	TGTCACACCG	CTCACATTGC	CTGCAAGTTC	596
MN418239.1	T.....C					C	A	C			527
Dacus ciliatus B1	A.GG---.GG	..AAA..GC	.CAA.GG.AT	.AA..AGGGT	C.....TT.A	.CGTT..C..	.C.A-----	-----	-----	-----	390
Dacus ciliatus B2	A.GG---.GG	..AAA..GC	.CAA.GG.AT	.AA..AGGGT	C.....TT.A	.CGTT..CTT	.C.A-----	-----	-----	-----	390
Dacus ciliatus B3	A.GG---.GG	..AAA..GC	.CAA.GG.AT	.AA..AGGGT	C.....TT.A	.CGTT..CTT	.C.A-----	-----	-----	-----	390
Dacus ciliatus B4	A.GG---.GG	..AAA..GC	.CAA.GG.AT	.AA..AGGGT	C.....TT.A	.CGTT..CTT	.C.A-----	-----	-----	-----	390
Dacus frontalis B	A..T---.GG	..AAA..GC	.CAA.GG.AT	.AA..AGGGT	C.....TT.A	.CGTT..CTT	TT.A-----	-----	-----	-----	390

شكل (41) مقارنة رصف القواعد النروجينية لجزء من الجين EF1-alpha بين عينات بنك الجينات وعينات النوعين *Dacus ciliatus* و *Dacus frontalis* المعاملة بأوكسيد المغنسيوم النانوي (تمثل MG683557.1 عينة بنك الجينات للنوع *Dacus ciliatus* وتمثل MN418239.1 عينة بنك الجينات للنوع *Dacus frontalis*).

	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	
<i>Dacus ciliatus</i> A1	TTTTCACACA	ATCCCCTGAG	CGGTGGGGTC	GGCAGCACCC	TTAAGGGGGT	TGGCCTTAGA	ATCGCCAGCT	ACACAACCAC	GACGCAATTC	CTTAACGGAA	100
<i>Dacus ciliatus</i> A2											100
<i>Dacus ciliatus</i> A3	GG.....	..AA.....			..G.....			..T.....			100
<i>Dacus ciliatus</i> B1	GG.....	..AA.....	..AA.....		..G.....			..T.....			100
<i>Dacus ciliatus</i> B2	GG.....	..AA.....	..AA.....		..G.....			..T.....	..G.....	..G.....	100
<i>Dacus ciliatus</i> B3	GG.....	..AA.....	..AA.....		..G.....		..G.....	..T.....	..G.....	..G.....	100
<i>Dacus ciliatus</i> B4		..AA.....	..AA.....				..G.....	..T.....	..G.....	..G.....	100
	110	120	130	140	150	160	170	180	190	200	
<i>Dacus ciliatus</i> A1	ACGTTCTTAA	CGTTGGGACC	AACGTTGTCA	CCGGGTACAG	CCTCTGGCAA	GGCTTCGTGG	TGCATTTCAA	CGGACTTAAC	TTCAGTGGTG	ATGGGCGCTG	200
<i>Dacus ciliatus</i> A2											200
<i>Dacus ciliatus</i> A3		..AA.....									200
<i>Dacus ciliatus</i> B1		..AA.....							..TT.....		200
<i>Dacus ciliatus</i> B2		..AA.....			..A.....				..TT.....		200
<i>Dacus ciliatus</i> B3		..AA.....	..CCC.....		..A.....		..A.....		..TT.....		200
<i>Dacus ciliatus</i> B4		..AA.....	..CCC.....		..A.....		..A.....		..TT.....		200
	210	220	230	240	250	260	270	280	290	300	
<i>Dacus ciliatus</i> A1	GGGCGAAAAC	TACAACCATA	CGTGGTTTCA	ACACACCAGT	TTCAACACGA	CCGACTGGTA	CTGTTCCAAT	AAAACCAATT	TGGTACACAT	CCTGGAGTGG	300
<i>Dacus ciliatus</i> A2											300
<i>Dacus ciliatus</i> A3											300
<i>Dacus ciliatus</i> B1								..CC.....			300
<i>Dacus ciliatus</i> B2			..GGG.....					..CC.....	..T.....		300
<i>Dacus ciliatus</i> B3	..GG.....		..GGG.....					..CC.....	..T.....		300
<i>Dacus ciliatus</i> B4	..GG.....		..GGG.....					..CC.....	..T.....		300
	310	320	330	340	350	360	370	380	390		
<i>Dacus ciliatus</i> A1	CAGACGGAAA	ACCTTGTCCG	TTGGGCGAGA	TGGGGGCCCA	ATAGCGTCAA	GGGCATCAAT	GAGGGTCTTG	CGTTCAGCGT	TACCTTCCTA	390	
<i>Dacus ciliatus</i> A2									..CC.....	390	
<i>Dacus ciliatus</i> A3	GG.....								..CC.....	390	
<i>Dacus ciliatus</i> B1	GG.....	..G.....		..AA.....					..CC.....	390	
<i>Dacus ciliatus</i> B2	GG.....	..G.....		..AA.....						390	
<i>Dacus ciliatus</i> B3	GG.....	..G.....		..AA.....						390	
<i>Dacus ciliatus</i> B4	GG.....	..G.....		..AA.....						390	

شكل (42) مقارنة رصف القواعد النتروجينية لجزء من الجين EF1-alpha بين عينات النوع *Dacus ciliatus* المعاملة بأوكسيد المغنيسيوم النانوي والعينات غير المعاملة (تمثل الحرف A1 , A2 , A3 في الشكل العينات غير المعاملة والحرف B1 , B2 , B3 , B4 العينات المعاملة بأوكسيد المغنيسيوم النانوي) .

	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100		
Dacus frontalis A	TTTT	CACACA	ATAACCTGAG	CGGTGGGGTC	GGCAGCAAAC	TTAGGGGGGT	TGGCCAAAGA	ATCGCCAGCT	ACATAACCAC	GACGCAATTC	CTTAACGGAA	100
Dacus frontalis B	GG.....	..CC.....	AA...	CC.		TT...			TT...			100
	110	120	130	140	150	160	170	180	190	200		
Dacus frontalis A	ACGTTCTTAA	CGTTGGGACC	AACGTTGTCA	CCGGTTACAG	CCTCTGGCAA	AGCTTCGTGA	TGCATTTCAA	CCGACTTAAC	TTCAGTGGTG	ATGTTTCGCTG	200	
Dacus frontalis B		AA...		G.....				G.....			200	
	210	220	230	240	250	260	270	280	290	300		
Dacus frontalis A	GGGCGCCAAC	TACAACCATA	CCTGGTTTCA	ACACACCAGT	TTCAACACGA	CCGACTGGTA	CTGTTCCAAT	ACCACCAAAT	TTGTACACAT	CCTGGAGTGG	300	
Dacus frontalis B	AA...				A.....			T.			300	
	310	320	330	340	350	360	370	380	390			
Dacus frontalis A	CCGACGGAGG	GCCTTGTCGG	TTGGGCGAGA	TGGGGGCAAA	ATAGCGTCAA	GGGCATCAAT	GAGGGTCTTG	CCTTCAGCGT	TACCTTCCTA		390	
Dacus frontalis B	.A.....		TT.....						TT..		390	

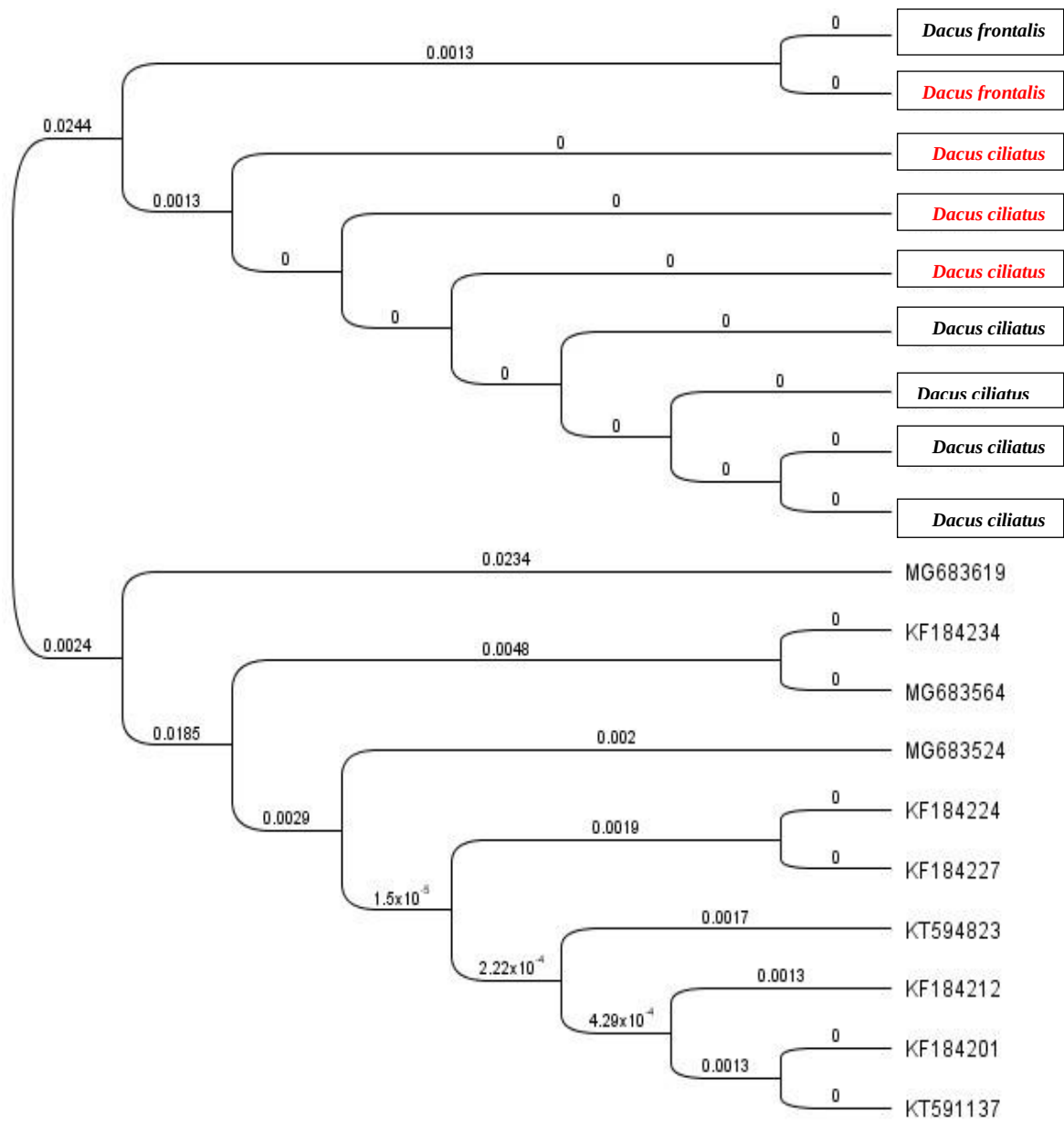
شكل (43) مقارنة رصف القواعد النتروجينية لجزء من الجين EF1-alpha بين عينات النوع *Dacus frontalis* المعاملة بأوكسيد المغنيسيوم النانوي والعينات غير المعاملة (يمثل الحرف A في الشكل العينة غير المعاملة والحرف B العينة المعاملة بأوكسيد المغنيسيوم النانوي) .

	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	
<i>Dacus ciliatus</i>	TTTTCACACA	ATCCCCTGAG	CGGTGGGGTC	GGCAGCACCC	TTAAGGGGGT	TGGCCTTAGA	ATCGCCAGCT	ACACAACCAC	GACGCAATTC	CTTAACGGAA	100
<i>Dacus frontalis</i>	AA.		AA.	...G.....	AA.		T.				100
	110	120	130	140	150	160	170	180	190	200	
<i>Dacus ciliatus</i>	ACGTTCTTAA	CGTTGGGACC	AACGTTGTCA	CCGGGTACAG	CCTCTGGCAA	GGCTTCGTGG	TGCATTTCAA	CGGACTTAAC	TTCAGTGGTG	ATGGGCGCTG	200
<i>Dacus frontalis</i>			T.		A.....A		C.....		TT.....		200
	210	220	230	240	250	260	270	280	290	300	
<i>Dacus ciliatus</i>	GGGCGAAAAC	TACAACCATA	CCTGGTTTCA	ACACACCAGT	TTCAACACGA	CCGACTGGTA	CTGTTCCAAT	AAAACCAATT	TGGTACACAT	CCTGGAGTGG	300
<i>Dacus frontalis</i>	CC...							CC.....A.	T.....		300
	310	320	330	340	350	360	370	380	390		
<i>Dacus ciliatus</i>	CAGACGGA	ACCTTGTCGG	TTGGGCGAGA	TGGGGGCCCA	ATAGCGTCAA	GGGCATCAAT	GAGGGTCTTG	CCTTCAGCGT	TACCTTCCTA	390	
<i>Dacus frontalis</i>	.C.....GG	G.....	AA.							390	

شكل (44) مقارنة رصف القواعد النتروجينية لجزء من الجين EF1-alpha بين عينات النوعين *Dacus ciliatus* و *Dacus frontalis* غير المعاملة بأوكسيد المغنيسيوم النانوي .

	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	
<i>Dacus ciliatus</i>	GGTTCACACA	ATAACCTGAG	CGGTGAAGTC	GGCAGCACCC	TTAGGGGGGT	TGGCCTTAGA	ATCGCCAGCT	ACATAACCAC	GACGCAATTC	CTTAACGGAA	100
<i>Dacus frontalis</i>		..CC.							..TT.		100
	110	120	130	140	150	160	170	180	190	200	
<i>Dacus ciliatus</i>	ACGTTCTTAA	CGTTGAAACC	AACGTTGTCA	CCGGGTACAG	CCTCTGGCAA	GGCTTCGTGG	TGCATTTCAA	CGGACTTAAC	TTCAGTGGTG	ATGTTGCTG	200
<i>Dacus frontalis</i>						A.....A					200
	210	220	230	240	250	260	270	280	290	300	
<i>Dacus ciliatus</i>	GGGCGAAAAC	TACAACCATA	CCTGGTTTCA	ACACACCAGT	TTCAACACGA	CCGACTGGTA	CTGTTCCAAT	ACCACCAATT	TGGTACACAT	CCTGGAGTGG	300
<i>Dacus frontalis</i>						A.....			.T.....		300
	310	320	330	340	350	360	370	380	390		
<i>Dacus ciliatus</i>	CAGACGGAGG	GCCTTGTCGG	TTGGGCGAGA	TGGGGGCAAA	ATAGCGTCAA	GGGCATCAAT	GAGGGTCTTG	CCTTCAGCGT	TACCCCCCTA		390
<i>Dacus frontalis</i>				TT.....					TTTT..		390

شكل (45) مقارنة رصف القواعد النتروجينية لجزء من الجين EF1-alpha بين عينات النوعين *Dacus ciliatus* و *Dacus frontalis* المعاملة بأوكسيد المغنيسيوم النانوي .



شكل (46) مخطط البعد الوراثي للجين EF1-alpha بين عينات كلا النوعين التابعة للجنس *Dacus* المعاملة بأوكسيد المغنيسيوم النانوي وغير المعاملة مع عينات بنك الجينات (الأسماء العلمية المكتوبة باللون الأحمر في الشكل تمثل العينات المعاملة بأوكسيد المغنيسيوم النانوي) .

3-5-2-4 المقارنة بين عينات النوعين *Dacus frontalis* و *Dacus ciliatus* المعاملة وغير المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي من ناحية التسلسل التتابعي للجين COI :

يوضح الشكل (47) مقارنة رصف القواعد النيتروجينية لجزء من الجين COI بين عينات النوع *D. ciliatus* المعاملة وغير المعاملة بالتركيز نصف القاتل LC50 لأوكسيد المغنسيوم النانوي مع عينة بنك الجينات MK074767.1 ، وعند إجراء المقارنة مع عينة بنك الجينات من الموقع 355 إلى الموقع 541 وجدَ أن هناك تغييراً واضحاً في التسلسل النيوكليوتيدي للعينات مقارنة مع تسلسل عينة بنك الجينات بشكل طفرات نقطية من نوع الحذف في 15 موقعاً مشتركاً للعينات المعاملة وغير المعاملة بينما كان عددها في عينة بنك الجينات ثلاثة فقط ؛ أما من ناحية طفرات الاستبدال النقطية فقد وجدَ أنها حدثت في 88 بالنسبة للعينات المعاملة في 71 موقعاً في حالة عينات النوع غير المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي ، إذ حدثت طفرات استبدال في الموقع 359 للعينة غير المعاملة والعينة المعاملة B2 فقط وفي المواقع 405 ، 428 ، 465 و 539 للعينة المعاملة B2 فقط ، كذلك وجدَ أيضاً حدوث طفرات استبدال في الموقعين 389 و 476 للعينة غير المعاملة A1 فقط و في الموقع 390 للعينات المعاملة B2 و B1 ، أما نسبة التطابق مع عينة بنك الجينات فكانت تساوي 70% في حالة عينات النوع غير المعاملة بمادة MgO النانوي و 61% مع العينات المعاملة والسبب في هذه النتائج هو العدد الكبير لطفرات الحذف والاستبدال النقطية في مواقع التسلسل النيوكليوتيدي لجميع العينات . تشير نتائج الشكل (48) إلى مقارنة رصف القواعد النيتروجينية لجزء من الجين COI بين عينات النوع *D. frontalis* المعاملة وغير المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي مع عينة بنك الجينات KJ703664.1 ، وبعد إجراء المقارنة لوحظَ أن هناك تباين واضح بين العينات من جهة وعينة بنك الجينات من جهة أخرى بشكل طفرات حذف نقطية في 18 موقعاً مشتركاً للعينات المعاملة وغير المعاملة بينما حدثت في موقعين فقط بالنسبة لعينة بنك الجينات ، أما من ناحية طفرات الاستبدال فقد وجدت في 69 موقعاً نيوكليوتيدياً للعينات غير المعاملة وفي 78 موقعاً للعينات المعاملة ، إذ حدثت طفرات استبدال نقطية في الموقعين 32 و 33 للعينات غير المعاملة A1, A2, A3 والعينة المعاملة B4 فقط ، كما لوحظَ أيضاً طفرات استبدال في الموقع 365 لجميع العينات المعاملة والعينتين A3 و A4 غير المعاملة وفي الموقع 342 لجميع العينات المعاملة وعينة واحدة فقط هي A4 من العينات غير المعاملة وفي الموقعين 407 و 408 لجميع العينات المعاملة وعينة واحدة فقط هي العينة بالنسبة للعينات المعاملة B1 بالتركيز نصف القاتل لا MgO ؛ أما نسبة التطابق مع عينة بنك الجينات فوجدَ أنها تساوي في حالة العينات غير المعاملة 71% تقريباً و 62% لعينات النوع المعاملة نتيجة لحدوث طفرات حذف

واستبدال لمواقع النيوكلووتيدات على طول التسلسل التتابعي لجميع العينات من الموقع 332 الموقع 521 . يوضح الشكل (49) مقارنة رصف القواعد النيتروجينية لجزء من الجين COI بين عينات بنك الجينات وعينات النوعين *D. ciliatus* و *D. frontalis* الطبيعية التي لم تعامل بالتركيز LC50 نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي ، وتمثل KJ703664.1 عينة بنك الجينات للنوع *D. ciliatus* ، بينما تمثل MK074767.1 عينة بنك الجينات للنوع *D. frontalis* ، وقد لوحظ عند إجراء المقارنة من الموقع 289 إلى الموقع 467 للنوعين مع عينات بنك الجينات لكل نوع وجود تغيير واضح في تسلسلها التتابعي بشكل طفرات نقطية من نوع الحذف في 7 مواقع مشتركة لعينات النوعين ، في حين أنها وجدت في موقعين فقط بالنسبة لعينات بنك الجينات وهما 408 و 409 ، أما طفرات الاستبدال فقد وجدت في 83 موقعاً نيوكلووتيدياً في حالة عينة النوع *D. ciliatus* وفي 78 موقعاً لعينات النوع *D. frontalis* ؛ وقد لوحظ خلال إجراء هذه المقارنة حدوث طفرات استبدال في المواقع 307 ، 310 ، 359 و 465 لعينة النوع *D. ciliatus* فقط ، كما وجد أيضاً طفرات استبدال في المواقع 289 ، 290 ، 335 و 382 لعينة النوع *D. ciliatus* (A1) وعينة النوع *D. frontalis* (A4) فقط ، وحدثت أيضاً في الموقعين 319 و 459 للعينتين A1 و A2 في النوع *D. frontalis* ، أما الموقع 383 فقد حدثت فيه طفرة استبدال للعينات A1, A2, A3 في النوع *D. frontalis* ؛ أما نسبة التطابق لعينات كلا النوعين *D. ciliatus* و *D. frontalis* مع عينات بنك الجينات لكل نوع فقد وجد أنها تساوي 77% و 72% على التوالي . يُظهر الشكل (50) مقارنة رصف القواعد النيتروجينية لجزء من الجين COI بين عينات بنك الجينات وعينات النوعين *D. ciliatus* و *D. frontalis* المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي ، وتمثل KJ703664.1 عينة بنك الجينات للنوع *D. ciliatus* بينما تمثل MG074767.1 عينة بنك الجينات للنوع *D. frontalis* ، وقد تمت المقارنة من الموقع 355 إلى الموقع 541 ، ولوحظ من خلالها وجود طفرات حذف نقطية في 15 موقعاً نيوكلووتيدياً مشتركاً لعينات كلا النوعين ، وجدت في موقع واحد فقط بالنسبة لعينات بنك الجينات ، كما وجد أن هناك طفرات استبدال في 81 موقعاً لعينات النوع *D. ciliatus* و 89 موقعاً لعينات النوع *D. frontalis* ، وخلال المقارنة لوحظ حصول طفرات استبدال في الموقعين 355 و 356 لعينة النوع *D. frontalis* (B4) وفي المواقع 359 ، 461 و 462 لعينة النوع *D. ciliatus* (B1) وفي الموقعين 373 و 390 لعينة النوع *D. ciliatus* (B1) فقط وعينات النوع *D. frontalis* (B1) و (B2) فقط ، كما وجدت في الموقع 405 لعينة النوع *D. ciliatus* B2 ولجميع عينات النوع *D. frontalis* وفي الموقع 438 لعينة النوع *D. ciliatus* (B2) وعينة النوع *D. frontalis* B1 ، كذلك وجدت طفرات استبدال نقطية في المواقع 389 ، 448 ، 500 في عينات النوع

D. frontalis وفي الموقع 488 لعينات هذا النوع أيضاً ولكن B2 ، B3 و B4 ، وقد بلغت نسبة التطابق مع عينة بنك الجينات للنوعين *D. ciliates* و *D. frontalis* 65% و 62% على التوالي . تشير هذه النتائج إلى التأثير الكبير للتركيز نصف LC50 القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي MgO على دور الكاملات للنوعين من خلال التغيير الكبير في التسلسل النيوكلوتيدي لهما مقارنةً مع عينات بنك الجينات . نتائج الشكل (51) تشير إلى مقارنة رصف القواعد النيتروجينية لجزء من الجين COI بين عينات النوع *D. ciliatus* المعاملة وغير المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي ، وقد ظهر أثناء المقارنة من الموقع 1 إلى الموقع 390 وهو طول التسلسل المأخوذ لغرض المقارنة كونه الجزء الواضح والمميز من التسلسل التابعي للعينات في هذا الشكل وجود تباين واضح بين العينات بشكل طفرات نقطية من نوع الاستبدال فقط في مواقع النيوكلوتيدات ، إذ ظهرت في 13 موقعاً لعينات النوع غير المعاملة ، وفي 36 موقعاً للعينات المعاملة ، أن هذه النتائج توضح لنا التأثير الكبير للتركيز نصف القاتل لمادة MgO النانوي على كاملات النوع *D. ciliatus* من خلال التغيير الواضح في التسلسل النيوكلوتيدي للعينات المعاملة بتلك المادة عما هو عليه في العينات غير المعاملة . ويوضح الشكل (52) مقارنة رصف القواعد النيتروجينية لجزء من الجين COI بين عينات النوع *D. frontalis* المعاملة وغير المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي ، وكما في المقارنات السابقة من ناحية الجين COI فقد وجدَ أنَّ هناك تغييراً حاصل بشكل طفرات استبدال نقطية فقط في التسلسل النيوكلوتيدي للعينات ولكن النسبة الأعلى حدثت في تسلسل العينات المعاملة بسبب التأثير الكبير للتركيز نصف القاتل LC50 لأوكسيد MgO النانوي على دور الكاملات للنوع *D. frontalis* ، فقد وجدَ هذا النوع من الطفرات في 14 موقعاً نيوكليوتيدياً للعينات المعاملة وثلاث مواقع فقط بالنسبة للعينات غير المعاملة ، ويوضح الشكل (53) مخطط البعد الوراثي للجين COI بين عينات كلا النوعين المعاملة وغير المعاملة بالتركيز نصف القاتل LC50 لأوكسيد المغنسيوم النانوي مع عينات بنك الجينات ، ومن خلال شجرة التقارب الوراثي Phylogenetic tree لوحظ بأن قيمة البعد الوراثي بين عينات النوع الواحد المعاملة وغير المعاملة من ناحية الجين COI تساوي 0.00 ، ولكن بين عينات كلا النوعين تساوي 0.03 ومع عينات بنك الجينات المختارة في هذه الدراسة تساوي 0.0085 . من الدراسات والبحوث التي أجريت بخصوص التسلسل التتابعي لجين دنا المايكوكوندريا COI الدراسة التي قام بها Onah وآخرون (2015) حول التشخيص الجزيئي لذبابة الحمضيات *Tephritid* والتي تصيب البرتقال في ولاية نسوكا آكرو النيجيرية بالاعتماد على تقنية الـ PCR-RFLP في دراسة التسلسل التتابعي للجين COI ، إذ قام الباحثون في تلك الدراسة بتشخيص التسلسل الكامل للجين COI الذي بلغ طوله 658bp ومقارنته مع تسلسل

نفس الجين في ذبابة ثمار البحر الأبيض المتوسط *Ceratitis capitata* باستخدام تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل PCR لتضخيم مناطق التباين المختلفة بين نسخ الجين في العينات ؛ وقد أشارت نتائج الدراسة إلى أن هناك تقارب كبير بين تسلسل الجين في جميع العينات يصل 70% تقريباً بخصوص مواقع القواعد النيتروجينية A و T وأن نسبة التباعد الوراثي من ناحية هذا الجين التي توجد في مواقع القواعد تصل إلى 98% مما هي عليه في عينات النوع *Ceratitis capitata* في تلك الدراسة وهذه الاختلافات هي الأساس في مراحل تطور الجين COI وبالتالي لها أهمية كبيرة في عملية تشخيص النوع ، ومن الدراسات الأخرى أيضاً الدراسة التي أجراها Karthika وآخرون (2016) بخصوص تشفير الحامض النووي DNA والنسل التطوري لـ 15 نوعاً من الآفات الحشرية لمحاصيل البساتين في جنوب الهند ، باستخدام التسلسل التتابعي للجين COI في العينات المأخوذة من تلك الأنواع التي تُهاجم محاصيل البساتين والخُضر ومنها النوعين *D. ciliatus* و *D. frontalis* وبالاعتماد على المعلومات الوراثية الدقيقة وبيانات الاختلاف التطوري والجيني بينها ، بما في ذلك طفرات الاستبدال النقطية في مواقع النيوكليوتيدات لتشخيص الأنواع ، وقامَ الباحثون بعزل الـ DNA باستخدام عدة الاستخلاص DNeasy kit (Qiagen, Germany) وتضخيمه عن طريق تفاعل الـ PCR وقاموا أيضاً بالمقارنة بين الأنواع المدروسة وعينات بنك الجينات الخاصة بكل نوع من خلال شجرة التباعد الوراثي للجين، وقد خلُصت الدراسة إلى وجود تقارب كبير بين تسلسلات الأنواع وبالتالي الاستفادة منها في أعداد برامج المكافحة المتكاملة للآفات بعد تسجيلها في قاعدة بيانات بنك الجينات ، كذلك درسَ Jamal وآخرون (2019) التطور الجزيئي لبروتين الجين COI للحشرات التي تنتشر في المملكة العربية السعودية من خلال دراسة التسلسل النيوكليوتيدي لجزء من الجين في أنواع من الحشرات بعدَ تعيين الشفرة الوراثية AT والتركيب ثلاثي الأبعاد 3D لبروتين الجين COI ، وقد قامَ الباحثون باستخلاص الـ DNA وتضخيمه وإجراء تفاعلات سلسلة البلمرة PCR لجزء من الجين الذي بلغ 650bp ، كما تم قطع التسلسل الواضح والمميز لكل نوع ومقارنة القواعد يدوياً قبل الترجمة ، وقد خلُصت الدراسة إلى وجود علاقة وثيقة بين الأنواع العائدة للرتب Hemiptera ، Hymenoptera و Homoptera وعلاقتها مع العديد من الأنواع في رتبتي Coleoptera و Diptera من خلال الفحص لـ 560 تمثل هذه الأنواع وبالتالي الاعتماد على التطور الوراثي الجزيئي لبروتين الجين في معرفة مدى تأثير وفعالية المواد الكيميائية المختلفة في مكافحة الأنواع الضارة منها ونسب النجاح التي تحققها تلك المواد .

	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100		
MK074767.1	AACATTATAT	TTTATTTTCG	GAGCCTGAGC	AGGCATAGTA	GGAACATCCC	TTAGAATTCT	AGTTCGTGCT	GAATTAGGAC	ACCCCGGAGC	TTTAATTGGA	100	
Dacus ciliatus A1											1	
Dacus ciliatus B1											1	
Dacus ciliatus B2											1	
	110	120	130	140	150	160	170	180	190	200		
MK074767.1	GACGACCAAA	TTTATAACGT	AATTGTAACA	GCTCACGCAT	TTGTAATAAT	TTTCTTTATA	GTAATACCTA	TTATAATTGG	AGGATTTGGA	AATTGATTAG	200	
Dacus ciliatus A1											1	
Dacus ciliatus B1											1	
Dacus ciliatus B2											1	
	210	220	230	240	250	260	270	280	290	300		
MK074767.1	TACCATTAAAT	ATTAGGTGCT	CCAGATATAG	CATTCCCCCG	AATAAATAAT	ATAAGTTTTT	GATTACTACC	TCCATCTCTT	ACCTTACTTT	TAGTCAGCAG	300	
Dacus ciliatus A1											1	
Dacus ciliatus B1											1	
Dacus ciliatus B2											1	
	310	320	330	340	350	360	370	380	390	400		
MK074767.1	TATAGTGGAA	AACGGAGCCG	GAACAGGTTG	AACAGTGTAT	CCCCCTCTAT	CATCAATCAT	TGCTCACGGA	GGAGCATCTG	TAGATTTAGC	CATCTTTTCC	400	
Dacus ciliatus A1							GG.	A.G.TA..	G.GG.ACA	CT.T.CA.C	TG.TCCGG.T	46
Dacus ciliatus B1							GG.	A.G.TA..	G.GG.ACA	CT.T.CA..G	TG.TCCGG.T	46
Dacus ciliatus B2							G..	A.G.TA..	G.GG.ACA	CT.T.CA..G	TG.TCCGG.T	46
	410	420	430	440	450	460	470	480	490	500		
MK074767.1	TTACATTTAG	CAGGTATTTT	TTCAATTTTA	GGGGCTGTAA	ATTTTATTAC	AACAGTTATT	AATATACGAT	CTACAGGAAT	TAGCTTTGAC	CGAATACCTC	500	
Dacus ciliatus A1	CCGA...CCA	...ACT	GCTG.C..A	A.TAAA...	GAG...GG	...G..G.	...C.TAA.C	T..T.TT.T.	...C.GG	T...G...A	134	
Dacus ciliatus B1	CCGA...CCA	...ACT	GCTG.C..A	A.TAGG...	GAG...G	...G..G.	...C.TAA.C	T..T..T.G.	...C.GG	T...G...T	134	
Dacus ciliatus B2	CCGTT..CCA	...ACT	GCTG.C.AA	A.TAAA...	GAG...G	...G..G.	...CA.AA.C	T..T..T.G.	...C.GG	G...G...T	134	
	510	520	530	540	550	560	570	580	590	600		
MK074767.1	TATTTGTTTG	AGC-TGTTGT	ATTAACTGCA	TTATTATTAC	TTCTTTCCCT	TCCAGTACTA	GCTGGAGCTA	TTACTATATT	ATTAAACAGAC	CGAAACTTAA	599	
Dacus ciliatus A1	...C.....	...ACC.AA.	...TG.T.	C..A.CAA.T							172	
Dacus ciliatus B1	...C.....	...ACC.CA.	...TG.T.	C..A.CAA.T							172	
Dacus ciliatus B2	...C.....	...ACC.CA.	...TG.T.	C..A.CAATT							172	

شكل (47) مقارنة رصف القواعد النروجينية لجزء من الجين COI بين عينات النوع *Dacus ciliatus* المعاملة بأوكسيد المغنسيوم النانوي وغير المعاملة مع عينة بنك الجينات MK074767.1 A1 تمثل العينة غير المعاملة بأوكسيد المغنسيوم النانوي ، B1 و B2 تمثل العينات المعاملة بأوكسيد المغنسيوم النانوي).

	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	
KJ703664.1	CCTGAGCAGG	TATAGTAGGG	ACATCTCTTA	GAATTTTAAT	TCGTGCTGAA	TTAGGTCACC	CCGGAGCCCT	AATCGGAGAC	GACCAAATTT	ATAATGTAAT	100
Dacus frontalis A1	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	1
Dacus frontalis A2	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	1
Dacus frontalis A3	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	1
Dacus frontalis A4	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	1
Dacus frontalis B1	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	1
Dacus frontalis B2	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	1
Dacus frontalis B3	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	1
Dacus frontalis B4	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	1
	110	120	130	140	150	160	170	180	190	200	
KJ703664.1	TGTAACAGCT	CATGCATTTG	TAATAATTTT	TTTCATAGTA	ATACCTATTA	TAATTGGGGG	GTTTGGAAT	TGATTAGTAC	CTCTAATACT	AGGTGCCCA	200
Dacus frontalis A1	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	1
Dacus frontalis A2	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	1
Dacus frontalis A3	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	1
Dacus frontalis A4	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	1
Dacus frontalis B1	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	1
Dacus frontalis B2	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	1
Dacus frontalis B3	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	1
Dacus frontalis B4	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	1
	210	220	230	240	250	260	270	280	290	300	
KJ703664.1	GATATGGCAT	TCCCCCGAAT	AAATAATATA	AGTTTTTGAT	TACTACCTCC	ATCTCTTACC	TTACTTTTAG	TCAGCAGTAT	AGTAGAAAAC	GGGGCTGGAA	300
Dacus frontalis A1	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	1
Dacus frontalis A2	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	1
Dacus frontalis A3	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	1
Dacus frontalis A4	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	1
Dacus frontalis B1	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	1
Dacus frontalis B2	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	1
Dacus frontalis B3	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	1
Dacus frontalis B4	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	1
	310	320	330	340	350	360	370	380	390	400	
KJ703664.1	CAGGTGGAAC	AGTATACCCC	CCTCTTTCAT	CAATCATTGC	CCATGGAGGA	GCTTCTGTAG	ATTTAGCAAT	CTTTTCT-T	TACATTTAGC	AGGAATCTCC	398
Dacus frontalis A1	-----	-----	-----	TT.G...A	T...A....	.G---A..C	.C.G.A...C	.G...CAGC	.GGG...TC.	.CT.TA..G.	65
Dacus frontalis A2	-----	-----	-----	TT.G...A	T...A....	.G---A..C	.C.G.A...C	.G...CAGC	.GGG...TC.	.CT.TA..G.	65
Dacus frontalis A3	-----	-----	-----	TT.G...A	T...A....	.G---A..C	.C.GTT...C	.G...CAGC	.GGG...TC.	.CT.TA..G.	65
Dacus frontalis A4	-----	-----	-----	...G...A	TG..A....	.G---A..C	.C.GTT...C	.G...CAGC	.C.G...TC.	.CT.TA..G.	65
Dacus frontalis B1	-----	-----	-----	...G...A	TG..A....	.G---A..C	.C.GTT...C	.G...CAGC	.C.G...TC.	.CT.TA..G.	65
Dacus frontalis B2	-----	-----	-----	...G...A	TG..A....	.G---A..C	.C.GTT...C	.G...CAGC	.C.G...TC.	.CT.TA..G.	65
Dacus frontalis B3	-----	-----	-----	...G...A	TG..A....	.G---A..C	.C.GTT...C	.G...CAGC	.C.G...TC.	.CT.TA..G.	65
Dacus frontalis B4	-----	-----	-----	TT.G...A	TG..A....	.G---A..C	.C.GTT...C	.G...CAGC	.C.G...TC.	.CT.TA..G.	65

	410	420	430	440	450	460	470	480	490	500	
KJ703664.1	TC AATTTTAG	GTGCCGTAAA	TTTTATTACA	ACAGTTATCA	ATATACGATC	TACAGGAATT	ACTTTTGACC	GTATACCTTT	ATTTGTTTGA	GCAGTTG TA	497
<i>Dacus frontalis</i> A1	.-G.C.AA.A	..AAG...G	AG--..A.AG	GT...A....	.A.----.CT	..T.TT.C..	.T.CGG.GGA	A.G---..A.	..C.----..	...AA.AA..	152
<i>Dacus frontalis</i> A2	.-G.C.AA.A	..AAG...G	AG--..A.AG	GT...A....	.A.----.CT	..T.TT.C..	.T.CGG.GGA	A.G---..A.	..C.----..	...AA.AA..	152
<i>Dacus frontalis</i> A3	.-G.C.AA.A	..AAG...G	AG--..A.AG	GT...A....	.A.----.CT	..T.TT.C..	.T.CGG.GGA	A.G---..A.	..C.----..	...CC.AA..	152
<i>Dacus frontalis</i> A4	.-G.C.AA.A	..AAG...G	AG--..GGAG	GT...A....	.A.----.CT	..T.TT.T..	.T.CGG.GGA	A.G---..A.	..C.----..	...CC.AA..	152
<i>Dacus frontalis</i> B1	.-G.C.AA.A	..AAG...G	AG--..GGAG	GT...A....	.A.----.CT	..T.TT.T..	.T.CGG.GGA	A.G---..A.	..C.----..	...CC.AA..	152
<i>Dacus frontalis</i> B2	.-G.C....A	..AAG...G	AG--..GGAG	GT...A....	.A.----.CT	..T.TT.T..	.T.CCC.GGA	A.G---..A.	..C.----..	...CC.AA..	152
<i>Dacus frontalis</i> B3	.-G.C....A	..AAG...G	AG--..GGAG	GT...A....	.A.----.CT	..T.TT.T..	.T.CCC.GGA	A.G---..A.	..C.----..	...CC.AA..	152
<i>Dacus frontalis</i> B4	.-G.C....A	..AAG...G	AG--..GGAG	GT...A....	.A.----.CT	..T.TT.T..	.T.CCC.GGA	A.G---..A.	..C.----..	...CC.AA..	152
	510	520	530	540	550	560	570	580	590	600	
KJ703664.1	CTAACTGCCC	TATTACTATT	ACTATCTCTA	CCAGTACTAG	CAGGGGCAAT	TACTATATTA	CTAACAGATC	GAAATTTAAA	TACATCTTTC	TTCGACCCAG	597
<i>Dacus frontalis</i> A1	T...TG.TA.	.T...A...	T-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	172
<i>Dacus frontalis</i> A2	T...TG.TA.	.T...A...	T-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	172
<i>Dacus frontalis</i> A3	T...TG.TA.	..A...A...	T-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	172
<i>Dacus frontalis</i> A4	T...TG.TA.	..A...A...	T-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	172
<i>Dacus frontalis</i> B1	T...TG.TA.	..A...A...	T-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	172
<i>Dacus frontalis</i> B2	T...TG.TA.	..A...A...	T-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	172
<i>Dacus frontalis</i> B3	T...TG.TA.	..A...A...	T-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	172
<i>Dacus frontalis</i> B4	T...TG.TA.	..A...A...	T-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	172

شكل (48) مقارنة رصف القواعد النروجينية لجزء من الجين COI بين عينات النوع *Dacus frontalis* المعاملة بأوكسيد المغنسيوم النانوي وغير المعاملة مع عينة بنك الجينات KJ703664.1 (A1 و A2 و A3 و A4 تمثل العينات غير المعاملة بأوكسيد المغنسيوم النانوي ، B1 و B2 و B3 و B4 تمثل العينات المعاملة بأوكسيد المغنسيوم النانوي) .

	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	
KJ703664.1	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	77
MK074767.1	AACATTATAT	TTTATTTTCG	GAG.....	...C.....	..A....C.	C.	.G.....	A.	TT....	T...	100
Dacus ciliatus A1	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	1
Dacus frontalis A1	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	1
Dacus frontalis A2	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	1
Dacus frontalis A3	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	1
Dacus frontalis A4	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	1
	110	120	130	140	150	160	170	180	190	200	
KJ703664.1	GACGACCAAA	TTTATAATGT	AATTGTAACA	GCTCATGCAT	TTGTAATAAT	TTTTTTCATA	GTAATACCTA	TTATAATTGG	GGGGTTTGGA	AATTGATTAG	177
MK074767.1	C..	C....	C..T..	A..A....							200
Dacus ciliatus A1	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	1
Dacus frontalis A1	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	1
Dacus frontalis A2	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	1
Dacus frontalis A3	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	1
Dacus frontalis A4	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	1
	210	220	230	240	250	260	270	280	290	300	
KJ703664.1	TACCTCTAAT	ACTAGGTGCC	CCAGATATGG	CATTCCCCCG	AATAAATAAT	ATAAGTTTTT	GATTACTACC	TCCATCTCTT	ACCTTACTTT	TAGTCAGCAG	277
MK074767.1	...AT....	.T.....T	A.								300
Dacus ciliatus A1	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	12
Dacus frontalis A1	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	12
Dacus frontalis A2	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	12
Dacus frontalis A3	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	12
Dacus frontalis A4	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	12
	310	320	330	340	350	360	370	380	390	400	
KJ703664.1	TATAGTAGAA	AACGGGGCTG	GAACAGGTTG	AACAGTATAC	CCCCCTCTTT	CATCAATCAT	TGCCCCATGGA	GGAGCTTCTG	TAGATTTAGC	AATCTTTTCT	377
MK074767.1	G...	A..C.	G..T	A.	T..C..	A....	A....	C.....	C	C	400
Dacus ciliatus A1	..G..GG.GG	T..ACT..T.C	A..C..T..T.CC	GG.TCCGA..T	T..A..A..AC	TGCTG..CTTA	AAGTA..A..T	A...---A	.G..GG...T	AAAC	107
Dacus frontalis A1	..G..G..G.	T..ACT..AAC	A..C..T..T.CC	.G..T.GG..TT	T..A..A..AC	TGCTG..CT..A	AAGTA..G..T	A...---A	..A.GG...T	AAAAAC	107
Dacus frontalis A2	..G..G..G.	T..ACT..AAC	A..C..T..T.CC	.G..T.GG..TT	T..A..A..AC	TGCTG..CT..A	AAGTA..G..T	A...---A	..A.GG...T	AAAAAC	107
Dacus frontalis A3	..G..G..G.	T..ACT..T.C	A..C..T..T.CC	.G..T.GG..TT	T..A..A..AC	TGCTG..CT..A	AAGTA..G..T	A...---A	..A.GG...T	AAAAAC	107
Dacus frontalis A4	..G..G..G.	T..ACT..T.C	A..C..T..T.CC	.G..TCCG..TT	T..A..A..AC	TGCTG..CT..A	AAGTA..G..T	A...---A	.G..GG...T	AAAAAC	107

	410	420	430	440	450	460	470	480	490	500	
KJ703664.1	TTACATT--T	AGCAGGAATC	TCCTCAATTT	TAGGTGCCGT	AAATTTTATT	ACAACAGTTA	TCAATATACG	ATCTACAGGA	ATTACTTTTG	ACCGTATACC	475
MK074767.1	--	T..T	..T.....	G..T..			.T.....		GC....	A....	498
<i>Dacus ciliatus</i> A1	...T...AT.	TATTC.GG.G	AATG.T..A.	CT..A..ACC	T...A...--	.TGGT.C.A.	AT.	-----	-----	-----	172
<i>Dacus frontalis</i> A1	...T...AC.	TATTC.GGGG	AATG.T..A.	CT..A..AAA	T...A...--	.TGGT.C..T	T.	-----	-----	-----	172
<i>Dacus frontalis</i> A2	...T...AC.	TATTC.GGGG	AATG.T..A.	CT..A..AAA	T...A...--	.TGGT.C..T	T.	-----	-----	-----	172
<i>Dacus frontalis</i> A3	...T...AC.	TATTC.GGGG	AATG.T..A.	CT..A..ACC	T...A...--	.TGGT.C.A.	T.	-----	-----	-----	172
<i>Dacus frontalis</i> A4	...T...AT.	TATTC.GGGG	AATG.T..A.	CT..A..ACC	T...A...--	.TGGT.C.A.	T.	-----	-----	-----	172
	510	520	530	540	550	560	570	580	590	600	
KJ703664.1	TTTATTGTT	TGAGCAGTTG	TACTAACTGC	CCTATTACTA	TTACTATCTC	TACCAGTACT	AGCAGGGGCA	ATTACTATAT	TACTAACAGA	TCGAAATTTA	575
MK074767.1	.C.....	T....	..T.....	AT.....T..	C..T..T..C.	.T.....	...T..A..T		..T.....	C....C...	598
<i>Dacus ciliatus</i> A1	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	172
<i>Dacus frontalis</i> A1	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	172
<i>Dacus frontalis</i> A2	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	172
<i>Dacus frontalis</i> A3	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	172
<i>Dacus frontalis</i> A4	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	172

شكل (49) مقارنة رصف القواعد النتروجينية لجزء من الجين COI بين عينات بنك الجينات وعينات النوعين *Dacus ciliatus* و *Dacus frontalis* التي لم تعامل بأوكسيد المغنسيوم النانوي (تمثل KJ703664.1 عينة بنك الجينات للنوع *Dacus ciliatus* وتمثل MK074767.1 عينة بنك الجينات للنوع *Dacus frontalis*).

	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	
KJ703664.1	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	77
MK074767.1	AACATTATAT	TTTATTTTCG	GAG.....	...C.....	..A....C.	C.	.G.....	A.	TT....	T....	100
Dacus ciliatus B1	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	1
Dacus ciliatus B2	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	1
Dacus frontalis B1	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	1
Dacus frontalis B2	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	1
Dacus frontalis B3	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	1
Dacus frontalis B4	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	1
	110	120	130	140	150	160	170	180	190	200	
KJ703664.1	GACGACCAAA	TTTATAATGT	AATTGTAACA	GCTCATGCAT	TTGTAATAAT	TTTTTTCATA	GTAATACCTA	TTATAATTGG	GGGGTTTGGG	AATTGATTAG	177
MK074767.1		C..		C....		...C..T...		A..A....			200
Dacus ciliatus B1	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	1
Dacus ciliatus B2	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	1
Dacus frontalis B1	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	1
Dacus frontalis B2	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	1
Dacus frontalis B3	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	1
Dacus frontalis B4	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	1
	210	220	230	240	250	260	270	280	290	300	
KJ703664.1	TACCTCTAAT	ACTAGGTGCC	CCAGATATGG	CATTCCCCCG	AATAAATAAT	ATAAGTTTTT	GATTACTACC	TCCATCTCTT	ACCTTACTTT	TAGTCAGCAG	277
MK074767.1	AT....	.T.....T	A.								300
Dacus ciliatus B1	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	1
Dacus ciliatus B2	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	1
Dacus frontalis B1	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	1
Dacus frontalis B2	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	1
Dacus frontalis B3	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	1
Dacus frontalis B4	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	1
	310	320	330	340	350	360	370	380	390	400	
KJ703664.1	TATAGTAGAA	AACGGGGCTG	GAACAGGTTG	AACAGTATAC	CCCCCTCTTT	CATCAATCAT	TGCCCATGGA	GGAGCTTCTG	TAGATTTAGC	AATCTTTTCT	377
MK074767.1	G...	A..C.		G..T	A.			A....	C.....	C	400
Dacus ciliatus B1	-----	-----	-----	-----	-----	GG.	..ATG..A..	..G.GG.ACA	CT.T.CA..G	TG.TCCGG..	46
Dacus ciliatus B2	-----	-----	-----	-----	-----	..G..	..ATG..A..	..G.GG.ACA	CT.T.CA..G	TG.TCCGG..	46
Dacus frontalis B1	-----	-----	-----	-----	-----	..G..	..ATG..A..	..GA.ACA	CT.T.CA.C	TG.TCCAG..	46
Dacus frontalis B2	-----	-----	-----	-----	-----	..G..	..ATG..A..	..GA.ACA	CT.T.CA.C	TG.TCCAG..	46
Dacus frontalis B3	-----	-----	-----	-----	-----	..G..	..ATG..A..	..GA.ACA	CT.T.CA.C	TG.TCCAG..	46
Dacus frontalis B4	-----	-----	-----	-----	-----	TT.G..	..ATG..A..	..GA.ACA	CT.T.CA.C	TG.TCCAG..	46

	410	420	430	440	450	460	470	480	490	500	
KJ703664.1	TTACATTTAG	CAGGAATCTC	CTCAATTTTA	GGTGCCGTAA	ATTTTATTAC	AACAGTTATC	AATATACGAT	CTACAGGAAT	TACTTTTGAC	CGTATACCTT	477
MK074767.1		...T..T..	T.....	..G..T....					..GC.....	..A.....C	500
<i>Dacus ciliatus</i> B1	CCGA...CCA	---T..ACT	GCTG.C..A.	A..AGG....	GAG---..GA	GGT...A...	TTA.----	C T..T..T.G.	---..C.GG	T.A..G.-.	134
<i>Dacus ciliatus</i> B2	CCGTT..CCA	---T..ACT	GCTG.C.AA.	A..AAA....	GAG---..GA	GGT...A...	..A.----	C T..T..T.G.	---..C.GG	G.A..G.-.	134
<i>Dacus frontalis</i> B1	CCGTT..CCA	---T..ACT	GCTG.C.AA.	A..AAG....	GAG---..GA	GGT...A...	..A.----	C T..T..TT.T.	---..C.GG	G.A..G.-.A	134
<i>Dacus frontalis</i> B2	CCGTT..CCA	---T..ACT	GCTG.C....	A..AAG....	GAG---..GA	GGT...A...	..A.----	C T..T..TT.T.	---..CCCCG	G.A..G.-.A	134
<i>Dacus frontalis</i> B3	CCGTT..CCA	---T..ACT	GCTG.C....	A..AAG....	GAG---..GA	GGT...A...	..A.----	C T..T..TT.T.	---..CCCCG	G.A..G.-.A	134
<i>Dacus frontalis</i> B4	CCGTT..CCA	---T..ACT	GCTG.C....	A..AAG....	GAG---..GA	GGT...A...	..A.----	C T..T..TT.T.	---..CCCCG	G.A..G.-.A	134
	510	520	530	540	550	560	570	580	590	600	
KJ703664.1	TATTTGTTTG	AGCAGTT-GT	ACTAAGTCC	CTATTACTAT	TACTATCTCT	ACCAGTACTA	GCAGGGGCAA	TTACTATATT	ACTAACAGAT	CGAAATTTAA	576
MK074767.1		...T.....	..T.....	A T.....	T..T..C..	T.....	..T..A..T.		..T.....	..C....	599
<i>Dacus ciliatus</i> B1	...C.----	CC.CA.	.T...TG.TA	..A.CAA..	-----	-----	-----	-----	-----	-----	172
<i>Dacus ciliatus</i> B2	...C.----	CC.CA.	.T...TG.TA	..A.CAAT.	-----	-----	-----	-----	-----	-----	172
<i>Dacus frontalis</i> B1	...C.----	CC.CA.	.T...TG.TA	..A.CAAT.	-----	-----	-----	-----	-----	-----	172
<i>Dacus frontalis</i> B2	...C.----	CC.CA.	.T...TG.TA	..A.CAAT.	-----	-----	-----	-----	-----	-----	172
<i>Dacus frontalis</i> B3	...C.----	CC.CA.	.T...TG.TA	..A.CAAT.	-----	-----	-----	-----	-----	-----	172
<i>Dacus frontalis</i> B4	...C.----	CC.CA.	.T...TG.TA	..A.CAAT.	-----	-----	-----	-----	-----	-----	172

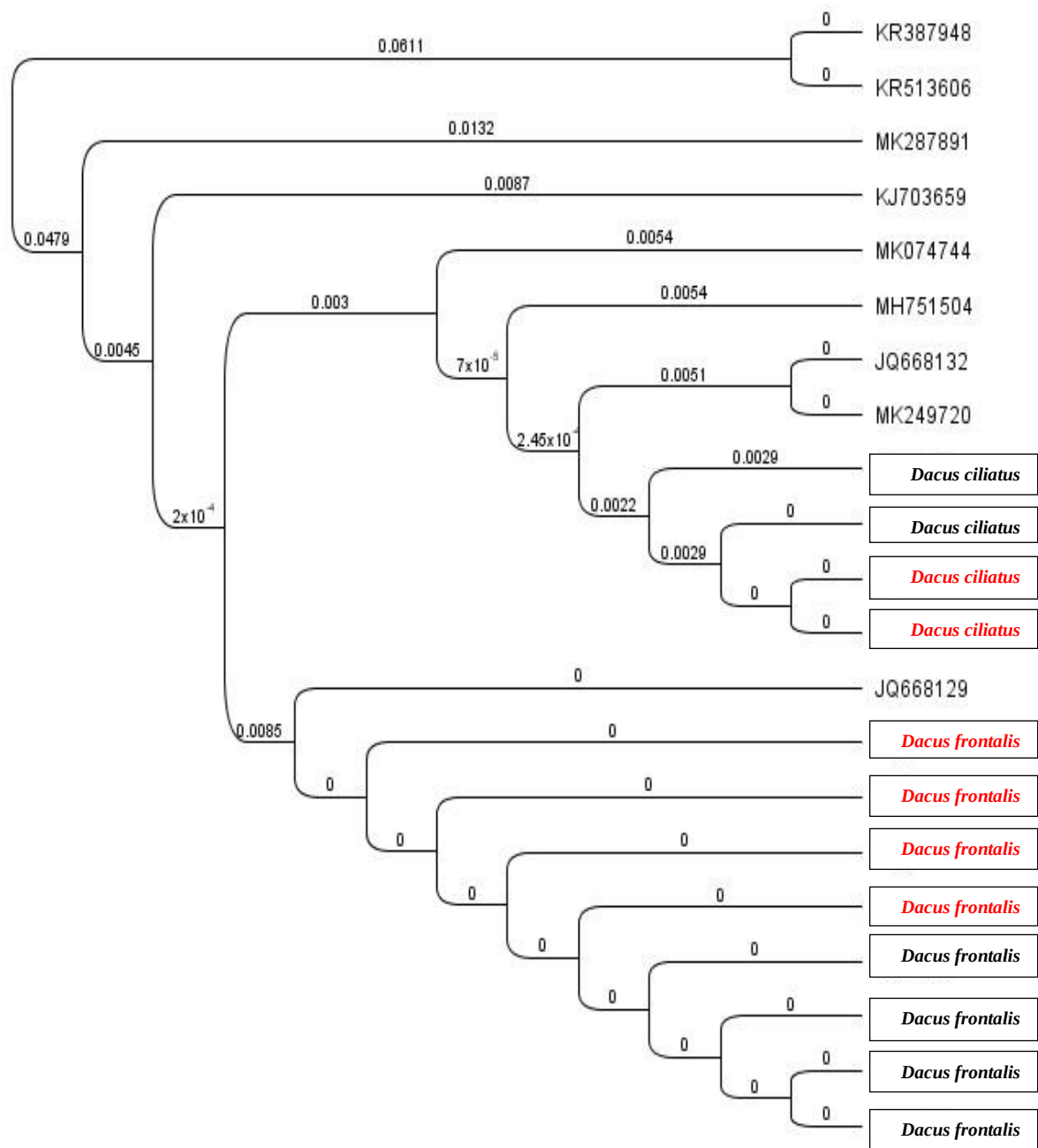
شكل (50) مقارنة رصف القواعد النتروجينية لجزء من الجين COI بين عينات بنك الجينات وعينات النوعين *Dacus frontalis* و *Dacus ciliatus* المعاملة بأوكسيد المغنسيوم النانوي (تمثل KJ703664.1 عينة بنك الجينات للنوع *Dacus ciliatus* وتمثل MG074767.1 عينة بنك الجينات للنوع *Dacus frontalis*).

		10	20	30	40	50	60	70	80	90	100											
<i>Dacus ciliatus</i>	A1	TTTT	CACACA	ATCCCC	TGAG	CGGT	GGGGTC	GGCAGC	ACCC	TTAAGG	GGGT	TGGCCT	TAGA	ATCGCC	CAGCT	ACACA	ACCAC	GACGCA	ATTC	CTTAAC	CGGAA	100
<i>Dacus ciliatus</i>	A2																					100
<i>Dacus ciliatus</i>	A3	GG.....	..AA..					..G..								..T..						100
<i>Dacus ciliatus</i>	B1	GG.....	..AA..		..AA..			..G..								..T..						100
<i>Dacus ciliatus</i>	B2	GG.....	..AA..		..AA..			..G..								..T..		..G	G.....			100
<i>Dacus ciliatus</i>	B3	GG.....	..AA..		..AA..			..G..			..G	G.....				..T..		..G	G.....			100
<i>Dacus ciliatus</i>	B4		..AA..		..AA..						..G	G.....				..T..		..G	G.....			100
		110	120	130	140	150	160	170	180	190	200											
<i>Dacus ciliatus</i>	A1	ACGTT	CTTAA	CGTTG	GGACC	AACGTT	GTCA	CCGGG	TACAG	CCTCT	GGCAA	GGCTT	CGTGG	TGCATT	TTCAA	CGGACT	TTAAC	TTCAGT	TGGTG	ATGGG	CGCTG	200
<i>Dacus ciliatus</i>	A2																					200
<i>Dacus ciliatus</i>	A3			..AA..																		200
<i>Dacus ciliatus</i>	B1			..AA..																..TT..		200
<i>Dacus ciliatus</i>	B2			..AA..				..A..												..TT..		200
<i>Dacus ciliatus</i>	B3			..AA..		..CCC		..A..			..A..									..TT..		200
<i>Dacus ciliatus</i>	B4			..AA..		..CCC		..A..			..A..									..TT..		200
		210	220	230	240	250	260	270	280	290	300											
<i>Dacus ciliatus</i>	A1	GGGCG	AAAAC	TACAACC	ATA	CCTGGT	TTTCA	ACACACC	AGT	TTCAAC	ACGA	CCGACT	TGGTA	CTGTT	CCAAT	AAAACCA	ATT	TGGTAC	ACAT	CCTGGAG	TGG	300
<i>Dacus ciliatus</i>	A2																					300
<i>Dacus ciliatus</i>	A3																					300
<i>Dacus ciliatus</i>	B1															..CC						300
<i>Dacus ciliatus</i>	B2				GGG											..CC		..T				300
<i>Dacus ciliatus</i>	B3	GG			GGG											..CC		..T				300
<i>Dacus ciliatus</i>	B4	GG			GGG											..CC		..T				300
		310	320	330	340	350	360	370	380	390												
<i>Dacus ciliatus</i>	A1	CAGAC	GGA	AA	ACCTT	GTCG	GTGGG	CGAGA	TGGGG	GCCCA	ATAGC	GTC	AA	GGGCAT	CAAT	GAGGG	TCTTG	CCTTC	AGCGT	TACCT	TGCTA	390
<i>Dacus ciliatus</i>	A2																					390
<i>Dacus ciliatus</i>	A3	GG	G.....																	..CC		390
<i>Dacus ciliatus</i>	B1	GG	G.....			..AA														..CC		390
<i>Dacus ciliatus</i>	B2	GG	G.....			..AA																390
<i>Dacus ciliatus</i>	B3	GG	G.....			..AA																390
<i>Dacus ciliatus</i>	B4	GG	G.....			..AA																390

شكل (51) مقارنة رصف القواعد النتروجينية لجزء من الجين COI بين عينات النوع *Dacus ciliatus* المعاملة بأوكسيد المغنيسيوم النانوي والعينات غير المعاملة (تمثل الاحرف A1 , A2 , A3 في الشكل العينات غير المعاملة والاحرف B1 , B2 , B3 , B4 العينات المعاملة بأوكسيد المغنيسيوم النانوي) .

	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	
<i>Dacus frontalis</i> A1	TTTGATTGAT	CATAGAGGAG	GATACACTGA	ACAACCTGTT	CCAGCTGGGT	TTTCCACTAT	ACTGCTGACT	AAAAGTAAGG	TAAGAGATAA	AGGTAGTAAT	100
<i>Dacus frontalis</i> A2											100
<i>Dacus frontalis</i> A3			T	T							100
<i>Dacus frontalis</i> A4	AA.....	G.....	T	T	CC				GG		100
<i>Dacus frontalis</i> B1	AA.....	G.....	T	T	CC				GG		100
<i>Dacus frontalis</i> B2	AA.....	G.....	T	T	CC			TT.....	GG		100
<i>Dacus frontalis</i> B3	AA.....	G.....	T	T	CC			TT.....	GG		100
<i>Dacus frontalis</i> B4		G.....	T	T	CC			TT.....	GG		100
	110	120	130	140	150	160	170				
<i>Dacus frontalis</i> A1	CAAAAACTTA	TATTACTTAT	TCGGGGGAAT	GCTATATCTG	GAGCAAATAA	TATTAATGGT	ACTTTTCAAT	TT	172		
<i>Dacus frontalis</i> A2								..	172		
<i>Dacus frontalis</i> A3					CC		AA	..	172		
<i>Dacus frontalis</i> A4		T			CC		AA	..	172		
<i>Dacus frontalis</i> B1		T			CC		AA	..	172		
<i>Dacus frontalis</i> B2		T	CC		CC		AA	..	172		
<i>Dacus frontalis</i> B3		T	CC		CC		AA	..	172		
<i>Dacus frontalis</i> B4		T	CC		CC		AA	..	172		

شكل (52) مقارنة رصف القواعد النتروجينية لجزء من الجين COI بين عينات النوع *Dacus frontalis* المعاملة بأوكسيد المغنيسيوم النانوي والعينات غير المعاملة (تمثل الحروف A1 , A2 , A3 في الشكل العينات غير المعاملة والحروف B1 , B2 , B3 , B4 العينات المعاملة بأوكسيد المغنيسيوم النانوي) .

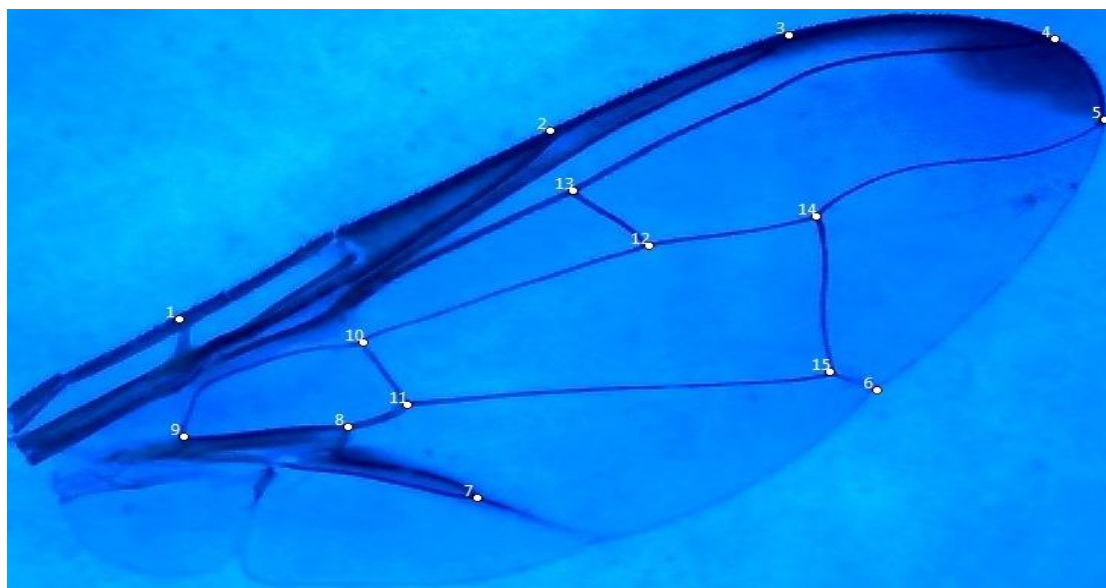


شكل (53) مخطط البُعد الوراثي للجين COI بين عينات كلا النوعين التابعة للجنس *Dacus* المعاملة بأوكسيد المغنيسيوم النانوي وغير المعاملة مع عينات بنك الجينات (الأسماء العلمية المكتوبة باللون الأحمر في الشكل تمثل العينات المعاملة بأوكسيد المغنيسيوم النانوي) .

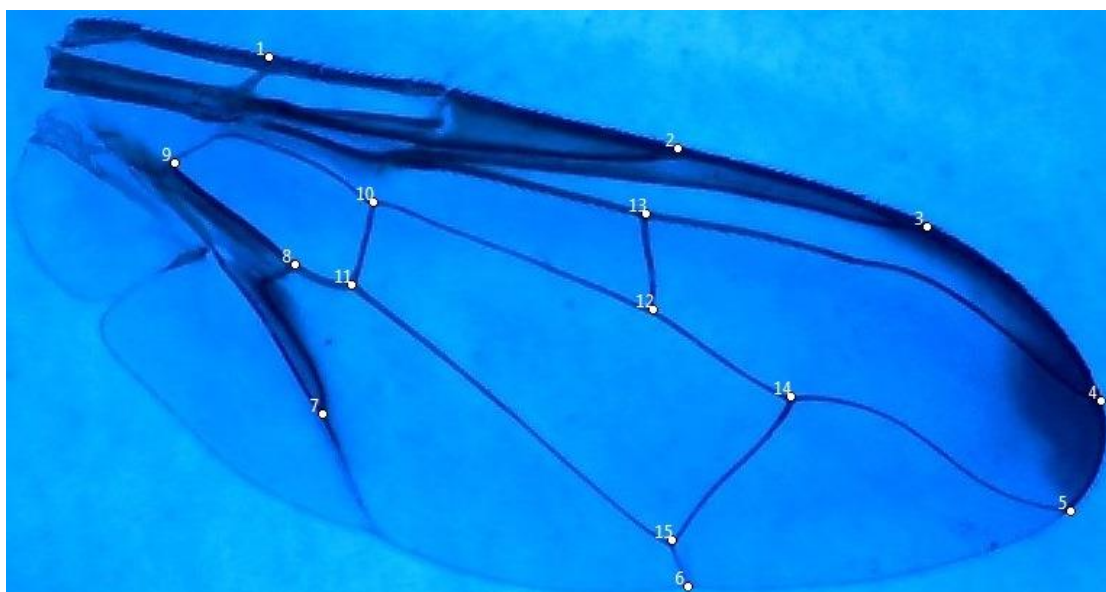
3-4 الدراسة الوراثية الكمية : Quantitative genetic study

1-3-4 دراسة التباين الوراثي الكمي في شكل الجناح وحجمه للنوعين *D. ciliatus* و *D. frontalis* قبل وبعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل LC50 لأوكسيد المغنسيوم النانوي باستخدام المقياس الهندسي لشكل الجناح وحجمه :

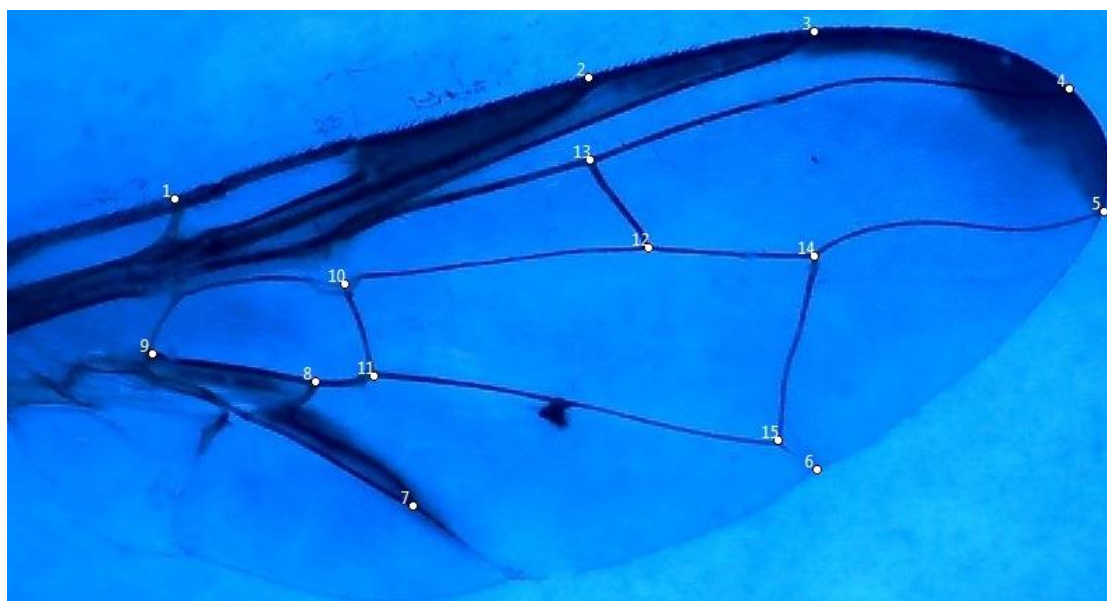
تمت دراسة التباين الوراثي الكمي لشكل وحجم الجناح الأيمن في ذكور وإناث ذبابة ثمار القرعيات النوعين *D. ciliatus* و *D. frontalis* باستعمال نظام المقياس الهندسي لشكل الجناح وحجمه Geometric morphometric of wing ، وعمل هذا النظام يستند أساساً إلى وضع نقاط المعالم Landmarks point بين تقاطعات العروق المستعرضة مع العروق الطولية في جناح أي حشرة وعن طريق هذه المعالم يُمكن حساب الحجم المركزي للجناح ، وأن مصطلح Central size هو قيمة متساوية القياس يُمكن التوصل إليها من خلال حساب قيمة الجذر التربيعي لمجموع مربعات المسافة الموجودة بين كل معلم موضوع على الجناح ومركز المضلع (Lorenz و Suesdek ، 2020) ، ويأتي هذا الجانب استكمالاً للجوانب الأخرى من هذه الدراسة وهي الجانب الوراثي الجزيئي بالإضافة إلى مكافحة الكيمائية للنوعين باستخدام المواد النانوية والكشف عن تأثير بعض هذه المواد على أدوار حياة الأنواع المدروسة ، وكذلك التباين الكبير من حيث الفعالية بين أنواع هذه المبيدات عند استخدامها في مكافحة الآفات ومنها ذبابة ثمار القرعيات بما فيها النوعين أعلاه (Athanassiou وآخرون ، 2018) ، وتوضح الصورتان (15 و 16) الجناح الأيمن لذكر وأنثى ذبابة ثمار القرعيات *D. ciliatus* ، مثبت عليها نقاط المعالم بين نهايات العروق الطولية وتقاطعات العروق المستعرضة مع العروق الطولية ، بينما توضح الصورتان (17 و 18) الجناح الأيمن لذكر وأنثى ذبابة ثمار القرعيات النوع *D. frontalis* ، موضحاً عليها نقاط المعالم بين نهايات العروق الطولية وتقاطعات العروق المستعرضة مع العروق الطولية ، وقد جرى الكشف عن التباين الوراثي الكمي وتشخيص الحشرات باستعمال تقنية المقياس الهندسي لشكل الجناح وحجمه بين عينات كل نوع قبل وبعد المعاملة بالمادة النانوية استناداً لشكل الجناح وحجمه ، إذ أجريت المقارنة في هذه الدراسة بين ذكور وإناث كل نوع على حدة قبل وبعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي عن طريق استخدام التحليل التمييزي Discriminant analysis اعتماداً على الحجم المركزي للجناح ، كما تمت المقارنة أيضاً بين النوعين قبل وبعد المعاملة بواسطة استعمال تحليل المركبات الأساسية Principal component analysis.



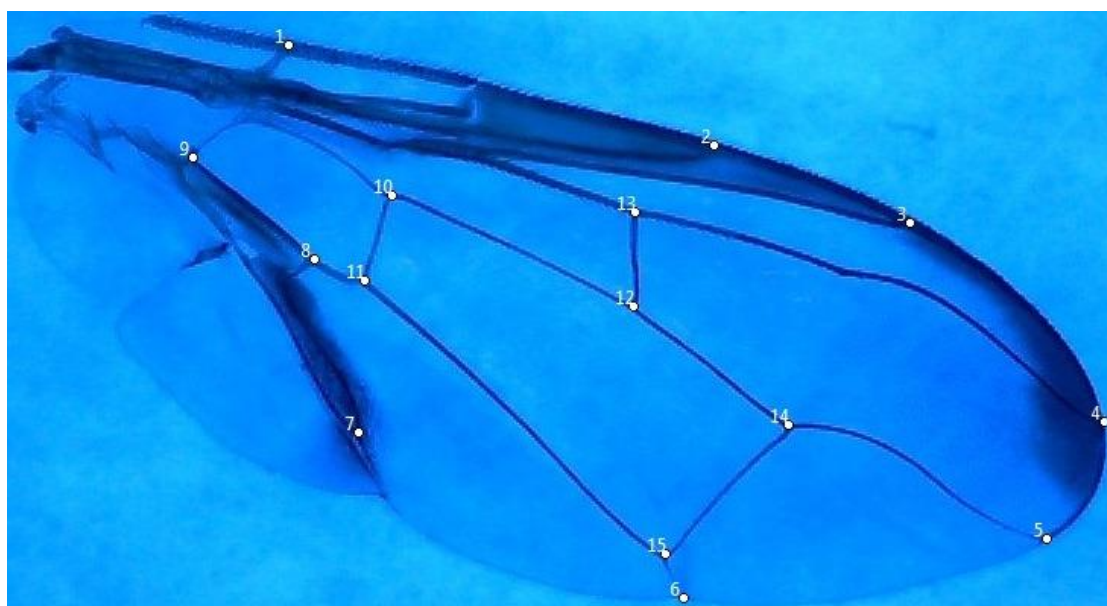
صورة (15) الجناح الأيمن لذكر ذبابة ثمار القرعيات النوع *D. ciliatus* موضحاً عليه إحداثيات المعالم (قوة التكبير X45) .



صورة (16) الجناح الأيمن لأنثى ذبابة ثمار القرعيات النوع *D. ciliatus* (قوة التكبير x45) .



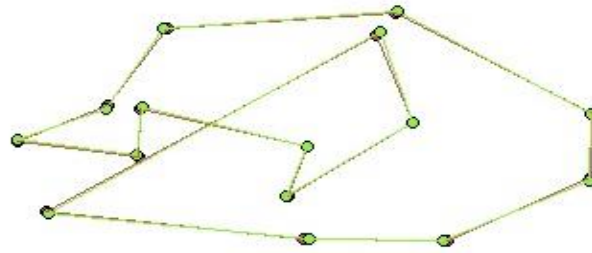
صورة (17) الجناح الأيمن لذكر ذبابة ثمار القرعيات النوع *D. frontalis* (قوة التكبير X45) .



صورة (18) الجناح الأيمن لأنثى لذبابة ثمار القرعيات النوع *D. frontalis* (قوة التكبير X45) .

1-1-3-4 المقارنة الوراثية الكمية في شكل الجناح وحجمه بين ذكور النوع *D. ciliatus* المعاملة وغير المعاملة بالتركيز نصف القاتل LC50 لأوكسيد المغنسيوم النانوي :

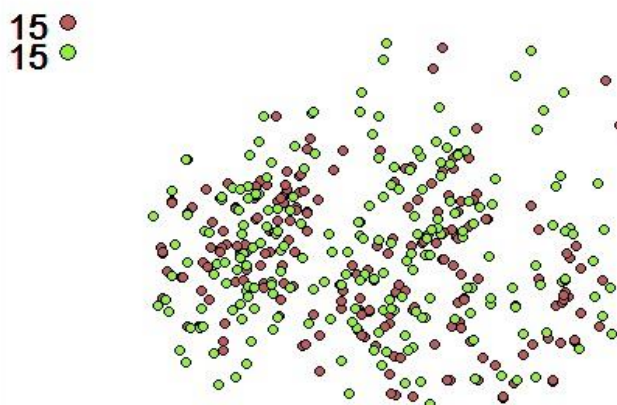
15 ●
15 ●



X= from-0.363 to 0.407, Y= from-0.127 to 0.187

شكل (54) معدل إحداثيات المعالم في الجناح الأيمن لذكور ذبابة ثمار القرعيات النوع *D. ciliatus* قبل وبعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل LC50 لأوكسيد المغنسيوم النانوي (يمثل اللون الأحمر العينات قبل المعاملة ، واللون الأخضر العينات بعد المعاملة) .

يوضح الشكل (54) معدل إحداثيات المعالم لـ 30 جناحاً أيمن لذكور ذبابة ثمار القرعيات النوع *D. ciliatus* قبل وبعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي MgO ، وعند القيام بعملية التطابق بين العينات باستعمال تقنية المقياس الهندسي لشكل الجناح وحجمه بواسطة ، لوحظ أن الأجنحة اليمنى لذكور النوع *D. ciliatus* قبل وبعد المعاملة بالمادة النانوية متطابقة في أغلب العينات وبشكل تام ما عدا المعالم 2 ، 6 ، 8 ، 9 و 15 لم يحدث فيها تطابق تام ، ووجد أن نسبة التطابق بين إحداثيات المعالم للعينات قبل وبعد المعاملة بلغت 67% والسبب في وجود هكذا نسبة يرجع إلى التأثير الواضح للمادة النانوية على عينات النوع المعاملة بها ، ومن الدراسات والبحوث التي تمت في هذا المجال الدراسة التي أجراها Wang وآخرون (2011) بخصوص البحث في تكنولوجيا استخراج المعالم لتشخيص ذباب الفاكهة ، باستعمال نظام المقياس الهندسي لشكل الجناح وحجمه ، إذ تمكن الباحثون من تشخيص 4 أنواع تعود لجنس *Bactrocera* وهي *B. dorsalis* ، *B. cucurbitae* ، *B. tau* و *B. Scutellata* ولاحظوا وجود تباين واضح بين الأنواع المشخصة عن طريق عدم تطابق إحداثيات المعالم الـ 17 المثبتة على الأجنحة اليمنى للعينات بشكل تام ، وأكدوا أن سبب الاختلاف يعود إلى التأثير الكبير للمبيدات الكيميائية عليها في المناطق التي جُمعت منها عينات الدراسة والذي أدى إلى اختلاف القياسات الهندسية للأجنحة.

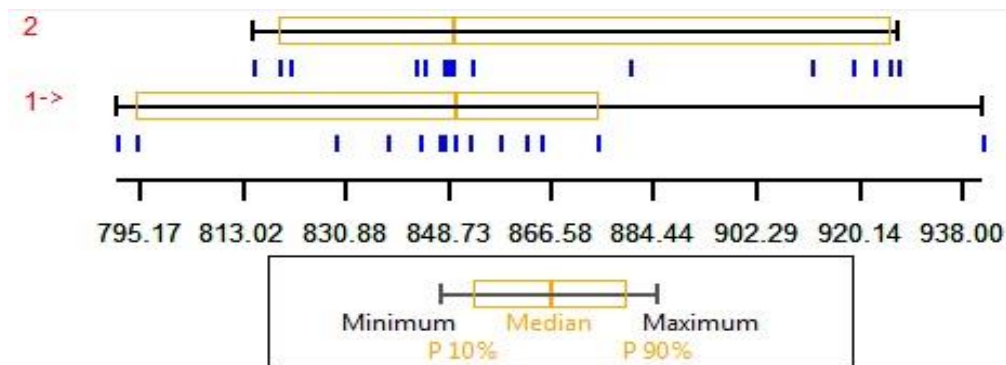


X= from-365.676 to 433.324, Y= from-425.676 to 219.324

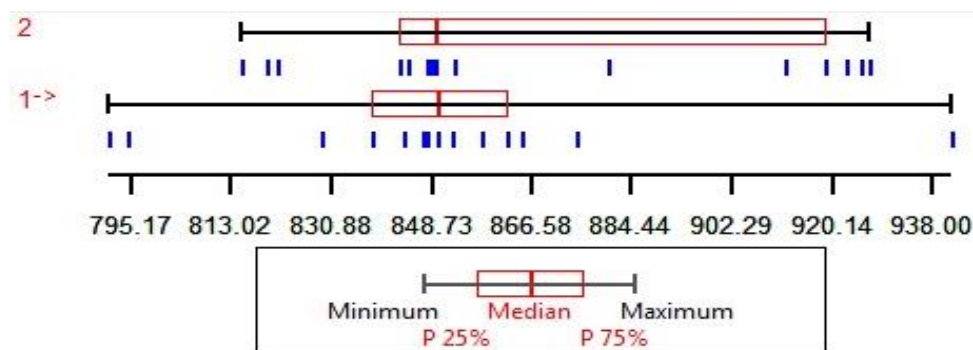
شكل (55) الشكل الانتشاري لتوزيع ذكور النوع *D. ciliatus* قبل وبعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوية على طول التحليل العاملي PCs لإحداثيات فضاء الظل المشتقة من إحداثيات المعالم الأصلية لكل جناح (يمثل اللونين الأحمر والأخضر عينات النوع قبل وبعد المعاملة بالمادة النانوية وعلى التوالي) .

يوضح الشكل (55) طريقة توزيع ذكور ذبابة ثمار القرعيات النوع *D. ciliatus* قبل وبعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي باستعمال تحليل المركبات الأساسية لنقاط المعالم المثبتة على الأجنحة اليمنى لعينات النوع بين تقاطعات العروق الطولية مع العروق المستعرضة ونهايات العروق الطولية وعددها 15 معلماً في كل جناح ، وتمثل النقاط حمراء اللون معالم الأجنحة اليمنى للعينات قبل المعاملة في حين تمثل النقاط خضراء اللون معالم الأجنحة اليمنى للعينات بعد المعاملة بالمادة النانوية ، وقد وجد من خلال ملاحظة الأسلوب الذي تم فيه التوزيع أن العينات متقاربة من بعضها البعض بشكل كبير جداً كما أن أغلبها متطابقة بشكل تام وكما هو واضح في الشكل (55) مع وجود تباين في شكل الجناح وحجمه لبعض العينات المعاملة والبعيدة عن بعضها ، وقد يعود سبب هذا التباين إلى تأثيرها بالمادة النانوية . أن استخدام المقياس الهندسي لشكل الجناح وحجمه في الدراسات التي تتضمن الجانب الوراثة الجزيئي للحشرات أصبحت اليوم من الطرائق المهمة في نجاح أي دراسة لمعرفة تأثير المواد النانوية في مكافحة الحشرات ذات الأهمية الاقتصادية ومنها الأنواع العائدة لذبابة ثمار القرعيات الجنس *Dacus* (Miguel وآخرون ، 2011) ، ومن الدراسات والبحوث التي أجريت في هذا المجال الدراسة التي قام بها التميمي والقرهغولي (2018) والخاصة بدراسة العلاقة الوراثية الكمية بين ثلاثة مجموعات سكانية لذبابة الدودة الحلزونية للعالم القديم النوع *Chrysomya bezziana* جمعت عيناتها من مناطق مختلفة في العراق ، إذ أستطاع الباحثان في تلك الدراسة إجراء مقارنة بين ذكور وإناث النوع أعلاه

باستخدام تقنية المقياس الهندسي لشكل الجناح وحجمه ، وقد أشارت نتائج الدراسة إلى وجود اختلاف واضح في شكل الجناح الأيمن وحجمه بين عينات المجتمعات السكانية الثلاثة للحشرة ؛ كذلك قام الباحثان بإجراء تحليل المركبات الأساسية لـ 18 معلماً من نقاط المعالم المثبتة على تقاطعات العروق المستعرضة مع العروق الطولية للأجنحة اليمنى لجميع العينات ، ولوحظ من خلال ذلك حدوث تقارب كبير بين بعض عينات الشمال والوسط وتبعد بين عينات الشمال والوسط من جهة وعينات الجنوب من جهة أخرى ، والسبب المباشر لهذا الاختلاف يعود إلى وجود الحواجز الطبيعية التي تمنع التدفق الوراثي بين مناطق جمع العينات وبالتالي تؤدي إلى اختلاف القياسات الهندسية لأجنحة النوع في المناطق التي جمعت منها العينات .



شكل (56) الحجم المركزي للأجنحة اليمنى في ذكور النوع *D. ciliatus* قبل وبعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل LC50 لأوكسيد المغنسيوم النانوي (يشير كل صندوق في الشكل إلى المجموعة الوسطية الموزعة بين الربع 10% والربع 90% ، وتمثل الخطوط زرقاء اللون الموجودة أسفل كل صندوق الأجنحة ، كما تمثل الأرقام 1 و 2 الموجود في الشكل عينات النوع قبل وبعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي وعلى التوالي) .



شكل (57) الحجم المركزي للأجنحة اليمنى في ذكور النوع *D. ciliatus* قبل وبعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل LC50 لأوكسيد المغنسيوم النانوي ، ويشير كل صندوق في الشكل إلى المجموعة الوسطية الموزعة بين الربع 25% والربع 75% (تمثل الخطوط الزرقاء اللون الموجودة أسفل كل الصندوق الأجنحة ، كما تمثل الأرقام 1 و 2 الموجودة في الشكل عينات النوع قبل وبعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي على التوالي) .

جدول (10) مقارنة الحجم المركزي للجناح الأيمن بين ذكور النوع *D. ciliatus* قبل وبعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي .

Specimens	MCs	St.D	Va.	F	P	T	P	A.D
Males (b)	850.8	32.7	1067.9	b-a=	b-a=	b-a=	b-a=	b-a=
Males (a)	868.6	39.5	1564.1	1.5	0.48	1.4	0.19	17.9

M.Cs : Mean central size : معدل الحجم المركزي للأجنحة

St.D : Standard deviation : الانحراف القياسي

Va. : Variance : التباين

F : قيمة F المحسوبة

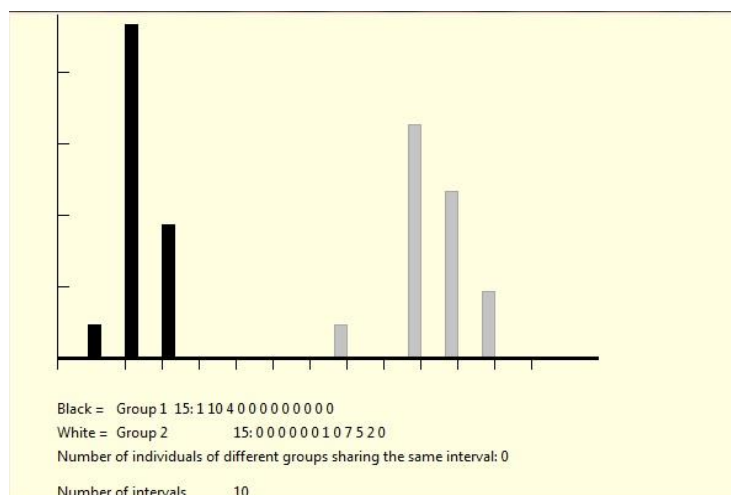
T : قيمة T المحسوبة

A.D : Absolute differences : الاختلافات المطلقة

b: befor : قبل المعاملة ، a: after : بعد المعاملة

يشير الشكل (56) إلى نتائج تحليل التباين في الحجم المركزي للجناح الأيمن في ذكور ذبابة ثمار القرعيات النوع *D. ciliatus* قبل وبعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي MgO ، إذ لوحظ حدوث تغير واضح ولكنه قليل في الحجم المركزي للأجنحة اليمنى في العينات قبل وبعد المعاملة بالمادة النانوية وسبب هذا التغير قد يعود إلى تأثيرها بالتركيز نصف القاتل LC50 لأوكسيد المغنسيوم النانوي على كاملات النوع *D. ciliatus* . يوضح الشكل (57) نتائج تحليل التغير في الحجم المركزي للجناح الأيمن في ذكور ذبابة ثمار القرعيات النوع *D. ciliatus* قبل وبعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي غير أن المجموعة الوسطية هنا كانت موزعة بين الربع 25% والربع 75% وقد وجد أيضاً كما في التحليل السابق تغييراً بسيطاً في الحجم المركزي لأجنحة الذكور اليمنى وخصوصاً العينات المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي نتيجة لتأثيرها على أدوار حياة الحشرة ، حيث بلغ معدل الحجم المركزي لأجنحة العينات المعاملة وغير المعاملة 850.8 و 868.6 على التوالي ؛ كما هو موضح في الجدول (10) . في حين أن قيمة التباين لهما بلغت 1067.9 و 1564.1 على التوالي ، واستعمل في هذه الدراسة كل من اختباري F و T لغرض المقارنة بين ذكور النوع *D. ciliatus* المعاملة وغير المعاملة في معدل الحجم المركزي للجناح الأيمن ، وعند القيام بإجراء بالمقارنة بينهما لوحظ أن قيمة F= 1.5 وقيمة P= 0.48 ، بينما قيمة T= 1.4 وقيمة P=0.19 ، بينما بلغت قيمة الاختلاف المطلق A.D=17.9 ، وهذه النتيجة توضح وجود فروق معنوية إحصائية بين ذكور النوع المعاملة وغير

المعاملة نتيجة لتأثير المادة النانوية المستخدمة على العينات المعاملة ، وهناك العديد من البحوث والدراسات العالمية في مجال استخدام المقياس الهندسي لشكل الجناح وحجمه ومنها الدراسة التي أجراها Morrow (2019) الخاصة باستعمال المقياس الهندسي لشكل الجناح وحجمه في تشخيص التنوع الوراثي الكمي لجنسي *Dacus* و *Bactrocera* في حقول وبساتين الفاكهة التي تعرضت في سنين سابقة إلى المكافحة بأنواع مختلفة من المبيدات الكيميائية ، وبعد إجراء المقارنة بين عدة أنواع من الجنسين باستعمال تقنية المقياس الهندسي لشكل الجناح وحجمه توصل الباحث بعد أن قام بتثبيت 14 معلماً على الجناح الأيمن لعينات الأنواع التابعة لكل جنس بين نهايات العروق الطولية وتقاطعات العروق المستعرضة مع العروق الطولية إلى نتيجة مفادها أن الحجم المركزي للجناح الأيمن في أنواع جنس *Dacus* أكبر مما هو عليه في أنواع جنس *Bactrocera* ، وأن السبب في هذا الاختلاف ربما يعود إلى التأثير الكبير للمبيدات الكيميائية على الأجيال الأحقة للأنواع العائدة للجنسين من خلال حدوث أنواع من الطفرات الجينية فيهما والتي أثرت بشكل مباشر وبنسبة عالية جداً على تلك الأنواع .



شكل (58) التحليل التمييزي لإحداثيات معالم الأجنحة اليمنى في ذكور النوع *D. ciliatus* قبل وبعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي . (تمثل الأعمدة البيانية ذات اللون الأسود والأبيض عينات النوع قبل وبعد المعاملة على التوالي) .

جدول (11) مقارنة مسافة مهالانوبز بين ذكور النوع *D. ciliatus* قبل وبعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي.

Specimens	Males (b)	Males (a)
Males (b)	0.00	
Males (a)	9.49	0.00

(b) الذكور النوع قبل المعاملة ، (a) الذكور بعد المعاملة .

جدول (12) تحليل التباين ANOVA لتمائل شكل الجناح الأيمن في ذكور النوع *D. ciliatus* قبل وبعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي .

Source	SS	DF	MS	F	Signification
Modal	0.0006	3	0.000196	0.86	0.4731
Individual	0.0000	1	0.000023	0.10	0.7506
Side	0.0000	1	0.000036	0.16	0.6926
Side*I	0.0005	1	0.000528	2.33	0.1400
Residue	0.0054	24	0.000227		

جدول (13) تحليل التباين ANOVA لتمائل حجم الجناح الأيمن في ذكور النوع *D. ciliatus* قبل وبعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي .

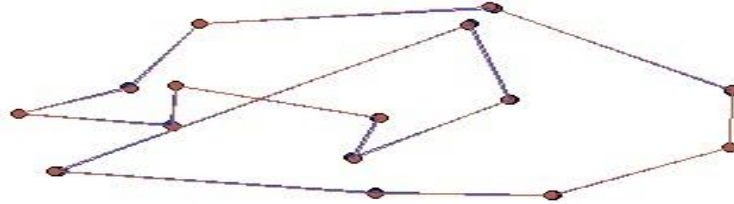
Source	SS	DF	MS	F	Signification
Modal	0.0041	78	0.000052	0.92	0.6759
Individual	0.0016	26	0.000063	1.11	0.3178
Side	0.0008	26	0.000032	0.57	0.9600
Side*i	0.0016	26	0.000061	1.07	0.3695
Residue	0.0355	626	0.000057		

يوضح الشكل (58) التحليل التمييزي لإحداثيات المعالم في الأجنحة اليمنى لذكور ذبابة ثمار القرعيات النوع *D. ciliatus* قبل وبعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي ، أن هذا النوع من التحاليل يستعمل من أجل إجراء المقارنة بين الأنواع التي تنتمي إلى جنس معين وكذلك بين أفراد النوع الواحد لغرض الكشف عن التغيرات الحاصل بينها وبالتالي معرفة الأسباب المؤدية الى هذا التغير ؛ وقد كان المجموع الكلي للأجنحة المستخدم في هذا التحليل 30 جناحاً أيمن بواقع 15 للعينات غير المعاملة والممثلة بالأعمدة البيانية ذات اللون الأسود و15 للعينات المعاملة والتي تمثلها الأعمدة البيانية ذات اللون الأبيض ، وبينت نتائج التحليل أن معدل الحجم المركزي في الأجنحة اليمنى للعينات المعاملة وغير المعاملة هو 850.8 و868.6، على التوالي ، وقد لوحظ في الشكل المذكور آنفاً أن عينات النوع غير المعاملة بعيدة عن العينات المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم وقد السبب المباشر في هذا البعد إلى تأثير المادة النانوية على العينات المعاملة بها من خلال حدوث طفرات جينية في التركيب الوراثي أدت إلى اختلاف واضح في القياسات الهندسية للجناح الأيمن فيها ، كما بينت نتائج الدراسة في الجدول (11) أن مسافة مهالانبوز بين الحجم المركزي للأجنحة اليمنى في ذكور النوع *D. ciliatus* قبل وبعد المعاملة بمادة أوكسيد المغنسيوم النانوي هي 9.49 ، وعند القيام بأعادة التصنيف

أستناداً إلى النسبة المئوية لعينات النوع قبل وبعد المعاملة باستعمال الوحدة PAD المتاحة ، وأستناداً إلى تطابق الأجنحة اليمنى لعينات النوع في الحالتين (المعاملة وغير المعاملة) وجدَ أن نسبة التصنيف لحشرات النوع غير المعاملة 53% ولحشرات النوع المعاملة 74% أي أن التباين الحاصل في شكل وحجم الجناح الأيمن للعينات المعاملة بالمادة النانوية أعلى مما هو عليه في حالة العينات غير المعاملة ، وعند إعادة عملية التصنيف مرة أخرى ولنفس العينات ولكن في هذه المرة اعتماداً على مسافة مهالانوبز والتطابق الحاصل بين الأجنحة لجميع العينات المعاملة وغير المعاملة ظهرَ أن نسبة التصنيف تساوي 83% أي أن 25 فرداً من 30 متطابقة تماماً ، وقد وجدَ أن سبب التباير بين العينات يعود إلى عدم حدوث أي تغيير في الشكل المظهري للعينات غير المعاملة والتأثير الكبير للتركيز نصف القاتل LC50 لأوكسيد المغنسيوم النانوي على أدوار حياة الحشرة ، مما أدى إلى حصول تباير في القياسات الهندسية للجناح في حالة العينات المعاملة بالمادة النانوية ، ويوضح الجدولين (12 و13) لتحليل التباين ANOVA في تماثل شكل الجناح الأيمن وحجمه لذكور النوع *D.ciliatus* قبل وبعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي بواسطة الوحدة ASI ضمن مكونات البرنامج الجاهز ، التي يتم من خلال استخدامها معرفة إذا ما كان هناك تباين في شكل الجناح وحجمه ، إذ وجدَ أن هناك فروقاً معنوية قليلة بين العينات المعاملة وغير المعاملة بسبب تأثير المادة النانوية عليها والمتمثل بحدوث تباير في أغلب القياسات الهندسية للجناح بحيث أصبح حجم الجناح أكبر قليلاً مما هو عليه في الحالة الطبيعية للحشرة ؛ ومن الدراسات التي أجريت في هذا المجال الدراسة التي قام بإجرائها Vasquez و Liria (2012) من خلال مقارنة شكل الجناح الأيمن وحجمه في النوعين *Chrysomya albiceps* و *Chrysomya megacephala* باستعمال نظام المقياس الهندسي لشكل الجناح وحجمه ، وخلصت الدراسة بعد إجراء تحليل المركبات الأساسية إلى أن هناك تباين بين حجم الجناح في كلا النوعين ، إذ وجدَ الباحثان أن حجم الجناح في النوع *Ch. megacephala* أكبر مما هو عليه في النوع *Ch. albiceps* ، كما ذكرَ الباحثان أيضاً أن هناك فروقاً معنوية ذات دلالات إحصائية بين عينات النوعين وأكدوا أن سبب هذه الاختلافات والفروق المعنوية هو تأثير النوعين باختلاف الظروف البيئية وخصوصاً درجة الحرارة التي تؤثر بشكل مباشر على النوعين في المناطق التي جمعت منها عينات الدراسة .

2-1-3-4 المقارنة الوراثية الكمية في شكل الجناح وحجمه بين إناث النوع *D. ciliatus* المعاملة وغير المعاملة بالتركيز نصف القاتل LC50 لأوكسيد المغنسيوم النانوي :

15 ●
15 ●

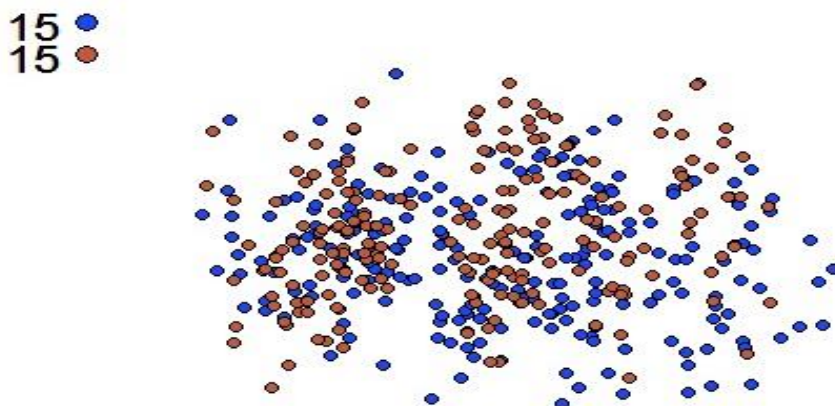


X= from -0.364 to 0.405, Y= from -0.156 to 0.186

شكل (59) معدل إحداثيات المعالم للجناح الأيمن في إناث النوع *D. ciliatus* قبل وبعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي والتي عددها 15 معلماً لكل جناح (إذ يمثل اللون الأزرق عينات النوع غير معاملة في حين يمثل اللون الجوزي العينات المعاملة) .

يوضح الشكل (59) معدل إحداثيات المعالم لـ 30 جناحاً أيمناً في إناث النوع *D. ciliatus* قبل وبعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي MgO ، وعند القيام بإجراء المقارنة بين جميع العينات في هذه الدراسة باستعمال نظام المقياس الهندسي لشكل الجناح وحجمه بواسطة الوحدة MOG ، وجد أن الأجنحة اليمنى لإناث النوع *D. ciliatus* المعاملة وغير المعاملة بالمادة النانوية متطابقة تماماً مع بعضها البعض في أغلب المعالم باستثناء المعالم 2 ، 9 ، 13 و 15 لم يحدث فيها التطابق بشكل تام ؛ إن عدم التطابق التام بين هذه المعالم قد يرجع إلى تأثير العينات المعاملة بالمادة النانوية بها إذ أن هذا التأثير أدى إلى حدوث تغيرات واضحة في القياسات الهندسية لحجم الأجنحة وبالتالي زيادة في معدل الحجم المركزي للجناح . هنالك عدة دراسات أجريت حول هذا المجال ومنها الدراسة التي قام بها Froerer وآخرون (2010) بخصوص دراسة الحركة الطويلة للجناح في ذبابة الفاكهة الشرقية *Bactrocera dorsalis* في عدة مناطق من جزيرة هاواي باستخدام المقياس الهندسي لشكل الجناح وحجمه وعن طريق تثبيت إحداثيات المعالم التي عددها 18 معلماً لكل جناح ، لغرض الحصول على نتائج تساعد على فهم التوزيع المكاني للنوع وبالتالي وضع برامج المكافحة المتكاملة لهذه الآفة الحشرية ؛ وقد لاحظ الباحثون تطابق معظم إحداثيات المعالم للعينات المدروسة كونها تعود لنفس النوع ، كذلك وجدوا أن هناك فروقاً إحصائية في قيمة الحجم المركزي للجناح الأيمن في العينات المعاملة بالمبيدات الكيميائية ، وقد أشارت النتائج النهائية لتلك الدراسة إلى وجود تغيرات بين عينات النوع المعاملة وغير المعاملة في

الشكل والحجم وذكروا أنَّ سبب التغيرات ربما يعود إلى تأثير المبيدات الكيميائية المستخدمة والذي أدى إلى اختلاف القياسات الهندسية لأجنحة الحشرات المعاملة.

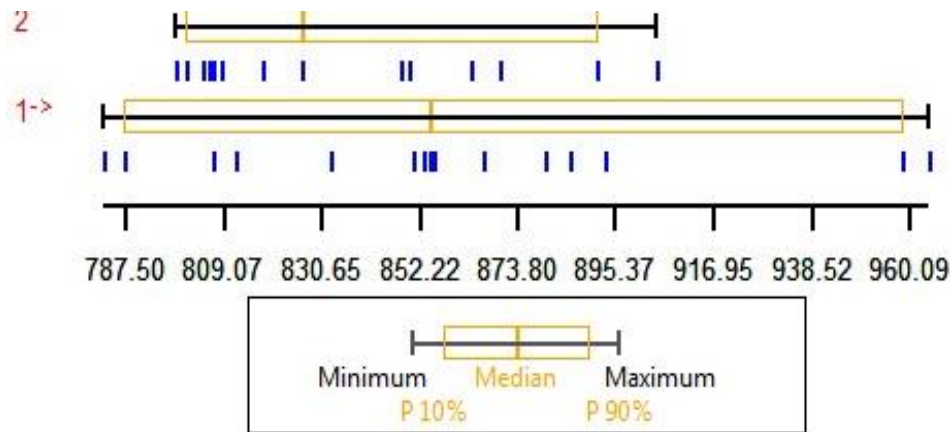


X= from-388.429 to 471.571, Y= from-479.429 to 113.571

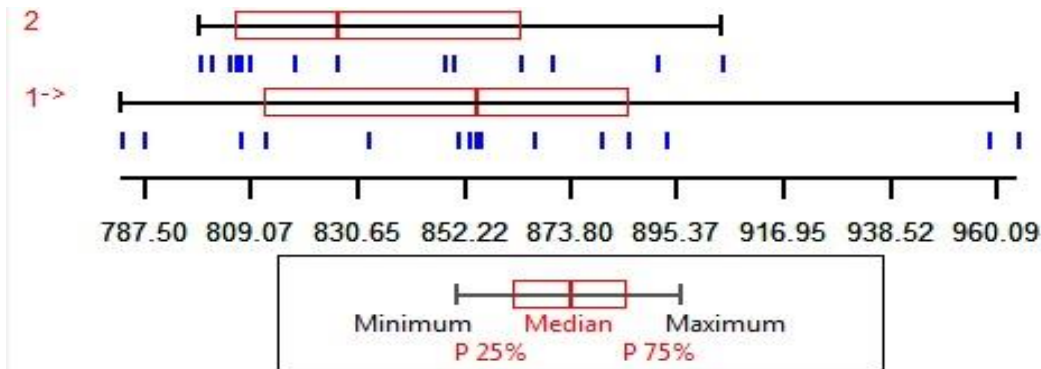
شكل (60) الشكل الانتشاري لتوزيع إناث النوع *D. ciliatus* قبل وبعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي على طول التحليل العاملي العملي PCs لأحداثيات فضاء الضل المشتقة من أحداثيات المعالم الأصلية لكل جناح والتي عددها 15 معلماً (يمثل اللون الأزرق عينات النوع غير المعاملة ، أما اللون الجوزي فيمثل العينات المعاملة) .

يبين الشكل (60) الطريقة التي تم فيها توزيع إناث النوع *D. ciliatus* قبل وبعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي MgO وذلك من خلال تحليل المركبات الأساسية لنقاط المعالم التي وضعت على الأجنحة اليمنى بين تقاطعات العروق المستعرضة مع العروق الطولية ونهايات العروق الطولية لعينات النوع قبل وبعد المعاملة والتي بلغ عددها 15 معلماً في كل جناح ؛ وقد لوحظ من الأسلوب الذي تم فيه توزيع عينات الدراسة ، فأن هناك تباين في شكل الجناح وحجمه للعينات البعيد عن بعضها ، إذ وجد أنَّ السبب المباشر لهذا التباين بين العينات هو التأثير الواضح للمادة النانوية على العينات المعاملة والمثل بالتباين الحاصل في القياسات الهندسية لأجنحة الحشرات ، ومن الدراسات العالمية الخاصة باستعمال نظام المقياس الهندسي في الدراسات الوراثية الكمية للحشرات الدراسة التي قام بها Chen وآخرون (2015) حول تقييم قابلية الطيرن لدى الإناث الكاملات لذبابة الفاكهة الشرقية النوع *Bactrocera dorsalis* اعتماداً على الحركة الدائرية والتركيب الفائق لعضلات الجناح باستعمال نظام المقياس الهندسي لشكل الجناح وحجمه ، حيث جرى تحليل جميع البيانات عن طريق استخدام البرنامج الخاص بتحليل البيانات الذي استعمله Rohlf في تحليل أحداثيات المعالم المثبتة على أجنحة أنواع مختلفة من الحشرات ؛ وأكد الباحثون في تلك الدراسة قدرة الطيرن العالية لعينات هذا النوع نتيجة لاختلاف القياسات الهندسية لها عما هي عليه في أنواع جنس الـ *Bactrocera* ، إذ لاحظ الباحثون

ومن خلال الشكل الانتشاري لعينات هذا النوع أنّ هناك تقارب كبير بين أغلب العينات وأن القياسات الهندسية للجناح الأيمن فيها تختلف عما هي عليه في الأنواع الأخرى إذ بلغ سُمك الجناح فيها 1.56mm ، بينما كان يساوي في أنواع الجنس الأخرى 1.37mm وبالتالي فأن قدرتها على التحمل والطيران لمسافات بعيدة أكثر من أنواع جنس *Bactrocera* الأخرى .



شكل (61) الحجم المركزي للأجنحة اليمنى في إناث النوع *D. ciliatus* قبل وبعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل LC50 لأوكسيد المغنسيوم النانوي ، ويشير الصندوقين في الشكل إلى المجموعة الوسطية الموزعة بين الربع 10% والربع 90% (تمثل الخطوط ذات اللون الأزرق الموجودة أسفل كل صندوق الأجنحة اليمنى للعينات ، كذلك تمثل الأرقام 1 ، 2 الموجودة في الشكل عينات النوع المعاملة وغير المعاملة على التوالي) .



شكل (62) الحجم المركزي للأجنحة اليمنى في إناث ذبابة ثمار القرعيات النوع *D. ciliatus* قبل وبعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل LC50 أوكسيد المغنسيوم النانوية ، ويشير الصندوقين في الشكل إلى المجموعة الوسطية الموزعة بين الربع 25% والربع 75% (تمثل الخطوط ذات اللون الأزرق الموجودة أسفل كل صندوق الأجنحة اليمنى للعينات ، كذلك تمثل الأرقام 1 ، 2 الموجودة في الشكل عينات النوع المعاملة وغير المعاملة على التوالي) .

جدول (14) مقارنة الحجم المركزي للجناح الأيمن في إناث النوع *D. ciliatus* المعاملة وغير المعاملة بالتركيز نصف القاتل LC50 لأوكسيد المغنسيوم النانوي .

Specimens	MCs	St.D	Va.	F	P	T	P	A.D
Females (b)	854.8	50.8	2583.2	b-a= 2.3	b-a= 0.13	b-a= 1.3	b-a= 0.20	b-a= 20.4
Females (a)	839.40	33.4	1113.2					

M.Cs: Mean central size : معدل الحجم المركزي للأجنحة

St.D: Standard deviation : الانحراف القياسي

Va. : Variance : التباين

F: قيمة F المحسوبة

P: Probability : الاحتمالية

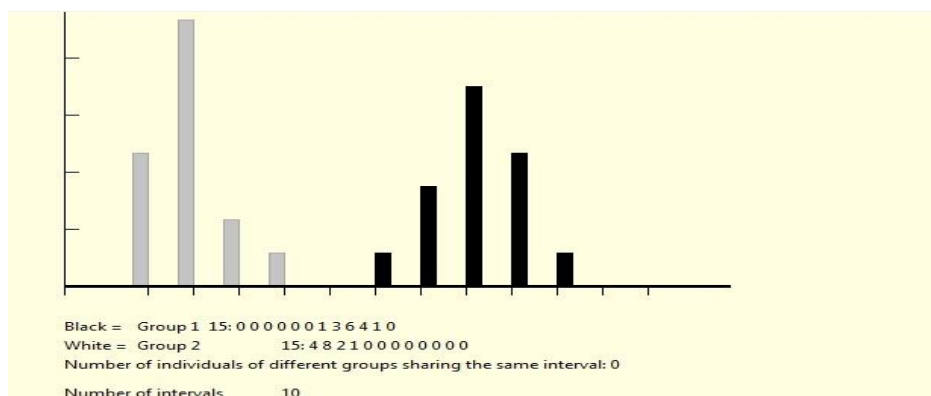
T : قيمة T المحسوبة

A.D: Absolute differences : الاختلافات المطلقة

(b) *Female D. ciliatus*: إناث النوع قبل المعاملة ، (a) *Female D. ciliatus*: إناث النوع بعد المعاملة

يوضح الشكل (61) نتائج التغيرات في الحجم المركزي للجناح الأيمن في إناث النوع ذبابة ثمار القرعيات النوع *D. ciliatus* قبل وبعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي ، حيث تمثل الصناديق الموجودة في الشكل المجموعة الوسطية الموزعة بين الربيع 10% والربيع 90% ، إذ تُبين النتائج وجود تغيرات في الحجم المركزي للجناح الأيمن لإناث النوع نتيجة التأثير الكبير لمادة MgO النانوي على أجنحة الحشرة والذي أدى إلى تغير واضح في المساحة السطحية للأجنحة ، ويوضح الشكل (62) نتائج التباين في الحجم المركزي للجناح الأيمن في إناث النوع *D. ciliatus* قبل وبعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي ، وتمثل الصناديق الموجودة في الشكل المجموعة الوسطية الموزعة بين الربيع 25% والربيع 75% ، حيث لوحظ وجود تباين قليل في الحجم المركزي للجناح الأيمن لإناث النوع قبل وبعد المعاملة وقد يعود سبب هذا التباين إلى تأثيرها مادة أوكسيد المغنسيوم على أدوار حياة هذا النوع بعد معاملته بها ، وهذا التأثير كان واضحاً من خلال الزيادة الحاصلة في الحجم المركزي للأجنحة نتيجة لأختلاف القياسات الهندسية لها ، حيث بلغ معدل الحجم المركزي لأجنحة العينات المعاملة وغير المعاملة 854.8 و 839.40 على التوالي وكما هو موضح في الجدول (14) ، في حين أن قيمة التباين لهما بلغت 2583.2 و 1113.2 على التوالي ، واستعمل في هذه الدراسة كل من اختباري F و T لغرض المقارنة بين إناث النوع *D. ciliatus* المعاملة وغير المعاملة في معدل الحجم المركزي

للجناح الأيمن ، وعند القيام بإجراء بالمقارنة بينهما تبين لنا أن قيمة $F=2.3$ وقيمة $P=0.13$ ، بينما قيمة $T=1.3$ وقيمة $P=0.20$ ، بينما بلغت قيمة الاختلاف المطلق $A.D=20.4$ ، وهذه النتيجة تؤكد وجود فروق معنوية إحصائية بين إناث النوع المعاملة وغير المعاملة نتيجة لتأثير المادة النانوية المستخدمة على العينات المعاملة ؛ حيث أدى هذا التأثير إلى حدوث طفرات نقطية من نوع الحذف والاستبدال في مواقع النيوكليوتيدات لتسلسل الحامض النووي لعينات النوع المدروس ، وبالتالي حصول اختلافات مظهرية تركزت في شكل واضح في القياسات الهندسية لشكل الجناح كون عملية الطيران وتكوين الأجنحة كما هو معروف يسيطر عليها جينات معينة لدينا المايوتوكونديريا والنواة كالجين COI و EF1-alpha ، ومن الدراسات والبحوث التي تمت في هذا المجال الدراسة التي أجراها Garica وآخرون (2020) حول استخدام المقياس الهندسي لشكل الجناح وحجمه في تشخيص الجنسين *Plaeartctic and Nearctic* (Diptera: Piophilidae) ذات الصلة بالطب الشرعي ولما لها من أهمية مع الدراسات الوراثية الجزيئية في تشخيص الأنواع بالاعتماد على مصادر الأدلة الجزيئية وجودة الحامض النووي DNA ، وقد قام الباحثون في تلك الدراسة أولاً باستخدام تقنية المقياس الهندسي لتشخيص 11 نوعاً تعود للجنسين في مناطق القطب الشمالي وملاحظة التغيرات التي تحصل لها ، إذ تم تحليل شكل الجناح بتثبيت 14 معلماً عند تقاطعات العروق الطولية مع المستعرضة ونهايات العروق الطولية للأجنحة اليمنى في جميع الأنواع المدروسة ولكلا الجنسين واستخدموا تحليل التباين Variation analysis لاختبار صحة التشخيص ، وأشارت نتائج تلك الدراسة إلى وجود فروقاً معنوية بين أجنحة الأنواع العائدة للجنسين عند إجراء المقارنة بينها على مستوى شكل الجناح الأيمن وحجمه ، كذلك أكد الباحثون في تلك الدراسة إلى أن نظام المقياس الهندسي لشكل الجناح وحجمه أداة قوية في التشخيص الدقيق والتعريف الموثوق به للأنواع المختلفة من الحشرات .



شكل (63) التحليل التمييزي لإحداثيات المعالم في الأجنحة اليمنى لإناث النوع *D.ciliatus* قبل وبعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي (تمثل الأعمدة البيانية ذات اللون الأبيض عينات الحشرة غير المعاملة ، بينما تمثل الأعمدة البيانية ذات اللون الأسود العينات المعاملة).

جدول (15) مقارنة مسافة مهالانبوز لإناث النوع *D. ciliatus* قبل وبعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم MgO النانوي .

Specimens	Females (b)	Females (a)
Females (b)	0.00	
Females (a)	9.38	0.00

جدول (16) تحليل التباين ANOVA لتمثيل شكل الجناح الأيمن في إناث النوع *D. ciliatus* قبل وبعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي .

Source	SS	DF	MS	F	Signification
Modal	0.0001	3	0.000042	0.60	0.6183
Indivudial	0.0000	1	0.000034	0.50	0.4857
Side	0.0000	1	0.000001	0.02	0.8941
Side*i	0.0001	1	0.000089	1.30	0.2656
Residue	0.0017	24	0.000069		

جدول (17) تحليل التباين ANOVA لتمثيل حجم الجناح الأيمن في إناث النوع *D. ciliatus* قبل وبعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي .

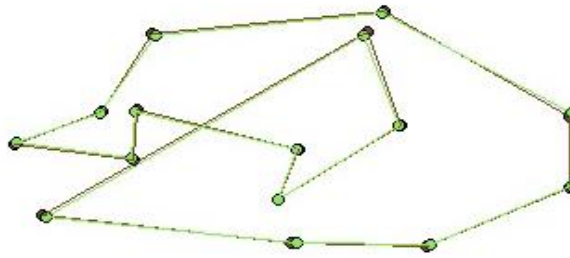
Source	SS	DF	MS	F	Signification
Modal	0.0035	78	0.000045	1.39	0.0194
Indivudial	0.0005	26	0.000019	0.59	0.9492
Side	0.0012	26	0.000044	1.36	0.1106
Side*i	0.0019	26	0.000072	2.22	0.0005
Residue	0.0203	624	0.000033		

يبين الشكل (63) التحليل التمييزي للأجنحة اليمنى في إناث ذبابة ثمار القرعيات النوع *D. ciliatus* قبل وبعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل LC50 أوكسيد المغنسيوم النانوي ، إذ استعمل هذا النوع من التحاليل في جميع الدراسات الخاصة بالمقارنة بين الأفراد التي تنتمي لنفس النوع ، إذ استخدم فيها 30 جناحاً أيمن بواقع 15 جناحاً لعينات النوع المعاملة و15 للعينات غير المعاملة بالمادة النانوية ، إذ أظهرت النتائج النهائية للتحليل أن معدل الحجم المركزي للجناح الأيمن لإناث النوع *D. ciliatus* غير المعاملة يساوي 854.8 ، بينما وجد أنه يساوي في العينات المعاملة 839.409 ، كما بينت النتائج أيضاً أن مسافة مهالانبوز الموضحة في الجدول (15) بين الحجم المركزي للأجنحة اليمنى في عينات الإناث المعاملة وغير المعاملة تساوي 867 ، وعند القيام بإعادة عملية التصنيف استناداً إلى النسبة المئوية لإناث النوع المدروسة وباستعمال الوحدة PAD الموجود في محتويات البرنامج الجاهز ، وأستناداً أيضاً لتطابق الأجنحة اليمنى للعينات في حالتها المعاملة وغير المعاملة ، وجد أن نسبة التصنيف لعينات النوع قبل المعاملة كانت تساوي 87% وللعينات المعاملة بالمادة النانوية 72% ،

أي أن الجناح الأيمن في العينات المعاملة أقل مما هو عليه في العينات الغير معاملة ، وعند القيام بإعادة التصنيف لإناث النوع قبل وبعد المعاملة مرة ثانية ولكن بالاعتماد على تطابق الأجنحة اليمنى للعينات ومسافة مهالانوز ، وجد أن النسبة المئوية للتصنيف فيها قد بلغت 87% أي أن 26 فرداً من 30 كانت متطابقة بشكل تام جداً ، إن السبب المباشر للتغيرات الحاصل بين عينات النوع يعود إلى التأثير الواضح للمادة النانوية المستخدمة على أدوار حياة الحشرة والمتمثل باختلاف القياسات الهندسية للجناح بشكل زيادة أو نقصان في قيمة الحجم المركزي للجناح نتيجة لحدوث طفرات جينية في التسلسل التتابعي للجينات المسؤلة عن عملية الطيران ونمو الجناح ، ويوضح الجدولين (16 و 17) لتحليل التباين ANOVA في تماثل شكل الجناح الأيمن وحجمه للنوع *D.ciliatus* قبل وبعد المعاملة بالمادة النانوية بواسطة الوحدة ASI الموجودة مع محتويات البرنامج الجاهز والتي يتم من خلال استخدامها معرفة إذا ما كان هناك تباين في شكل الجناح وحجمه ، إذ وجد أن هناك فروقاً معنوية قليلة بين العينات المعاملة وغير المعاملة نتيجة لتأثير المادة النانوية المستخدمة عليها ، وهناك العديد من الدراسات التي تمت في هذا المجال ومنها الدراسة التي أنجزها Lyra وآخرون (2010) بخصوص استخدام المقياس الهندسي لشكل الجناح وحجمه في التشخيص الأولي والثانوي الصحيح لذبابة الدودة الحلزونية للعالم الحديث *Cochliomyia hominivorax* ، إذ استطاع الباحثون في تلك الدراسة تشخيص عينات تلك الحشرة المجموعة من عدة أماكن استخدمت فيها أنواع مختلفة من مبيدات الآفات ومن خلال التغيرات الواضح بين العينات ، إذ وجدوا أن قيمة الحجم المركزي للجناح الأيمن في العينات المجموعة من الأماكن التي استخدمت فيها المبيدات الكيميائية تساوي 763.3 بينما كانت تساوي في الأماكن التي لم يستخدم فيها أي نوع من المبيدات الحشرية 724.1 ، وذكروا أن سبب التغيرات يعود إلى أختلاف القياسات الهندسية في المساحة السطحية لأجنحة العينات نتيجة لتأثير المبيدات الحشرية المستخدمة في الأماكن التي جمعت منها تلك العينات .

3-1-3-4 المقارنة الوراثية الكمية في شكل الجناح وحجمه لذكور النوع *D. frontalis* المعاملة وغير المعاملة بالتركيز نصف القاتل LC50 لأوكسيد المغنسيوم النانوي

15 ●
15 ●

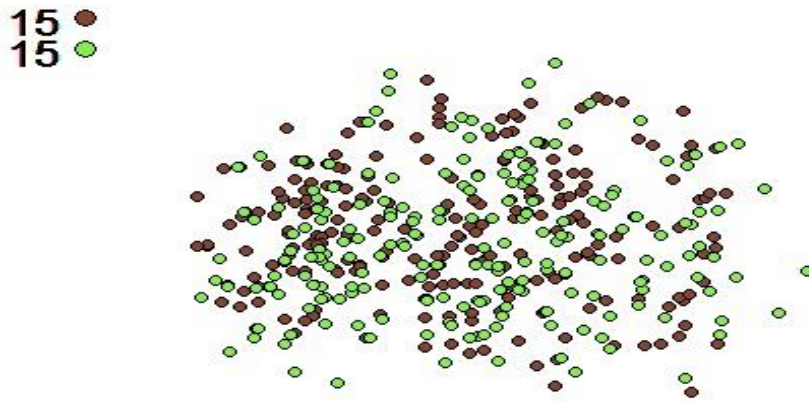


X= from-0.363 to 0.404, Y= from-0.158 to 0.188

شكل (64) معدل إحداثيات المعالم في الجناح الأيمن لذكور النوعين *D. frontalis* قبل وبعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي والتي عددها 15 معلماً لكل جناح (يمثل اللون الأحمر عينات النوع قبل المعاملة ، بينما يمثل اللون الأخضر العينات بعد المعاملة) .

يوضح الشكل (64) معدل احداثيات المعالم لـ 30 جناحاً أيمن لذكور ذبابة ثمار القرعيات النوع *D. frontalis* قبل وبعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي MgO ، وعند إجراء المقارنة بين الأجنحة في كلتا الحالتين باستعمال نظام المقياس الهندسي لشكل الجناح وحجمه من خلال الوحدة MGO ضمن مكونات البرنامج الجاهز ، حيث وجد أن أجنحة ذكور النوع *D. frontalis* للعينات المعاملة وغير المعاملة بالمادة النانوية متطابقة في بعض المعالم باستثناء المعالم (1 ، 2 ، 3 ، 4 ، 5 ، 10 ، 12 و 13) التي لم يحصل بينها تطابق تام ، إن التباين الحاصل في تطابق نقاط المعالم المثبتة على الأجنحة اليمنى لذكور النوع سببه التأثير الكبير للتركيز نصف القاتل LC50 لأوكسيد المغنسيوم النانوي والذي أدى إلى حدوث تغير في التسلسل التتابعي لجينات دنا النواة والمايتوكوندريا المسؤولة عن عملية الطيران ونمو الأجنحة وبالتالي حصل تغيير في المساحة السطحية لأجنحة للعينات المعاملة تتمثل في زيادة أو نقصان قيمة الحجم المركزي للجناح ، وتتفق نتائج هذه الدراسة مع معظم الدراسات العالمية التي تمت في هذا المجال ومنها الدراسة التي أجراها Bomfim وآخرون (2011) حول دراسة العلاقة الوراثية الجزيئية والكمية لذبابة الفاكهة النوع *Anastrepha pickeli* (Lima,1934) باستخدام تحليل المقياس الهندسي لشكل الجناح وحجمه ، بالإضافة إلى دراسة التسلسل التتابعي للجين COI كونه مسؤول عن عملية الطيران في الحشرات ؛ إذ قام الباحثون بتثبيت 14 معلماً على تقاطعات العروق الطولية مع العروق المستعرضة ونهايات العروق الطولية في الجناح الأيمن لـ 10 عينات

من كل مجموعة سكانية ومن خلال قياس 6 متغيرات شملت طول وعرض الجناح وطول الجزء المسنن منه ومن خلال تحليل بيانات الأجنحة ، توصل الباحثون في تلك الدراسة إلى وجود تغير واضح بين أجنحة العينات وفروق معنوية ذات دلالة إحصائية في تركيب وحجم الجناح لكل مجموعة سكانية ، وذكروا أن سبب التغير هو تأثير بعض المبيدات الحشرية المستخدمة في مكافحة بساتين الفاكهة في المناطق التي جمعت منها عينات النوع المدروسة وهذا التأثير تمثل بحدوث طفرات من نوع الحذف والاستبدال في التسلسل النيوكليوتيدي للجين COI المسؤول عن عملية الطيران والذي أدى بدوره إلى اختلافات في القياسات الهندسية للجناح في عينات المجاميع السكانية الثلاثة .



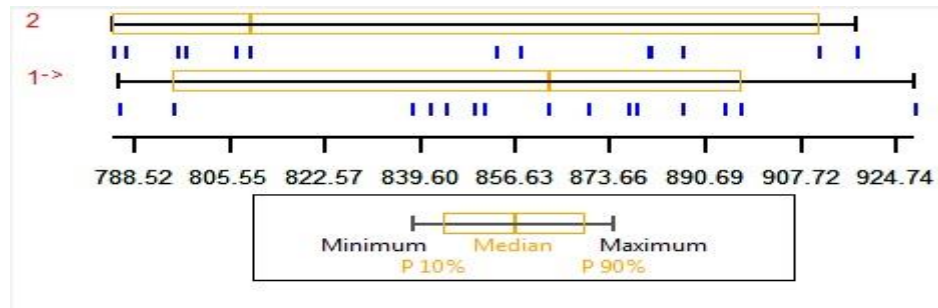
X= from-380.020 to 502.980, Y= from-478.020 to 147.980

شكل (65) الشكل الانتشاري لتوزيع ذكور النوع *D. frontalis* قبل وبعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل LC50 لأوكسيد المغنسيوم النانوي على طول التحليل العاملي العاملي PCs لأحداثيات فضاء الضل المشتقة من أحداثيات المعالم الأصلية لكل جناح والتي عددها 15 معلماً (يمثل اللون الأحمر عينات النوع غير المعاملة ، أما اللون الأخضر فيمثل العينات المعاملة) .

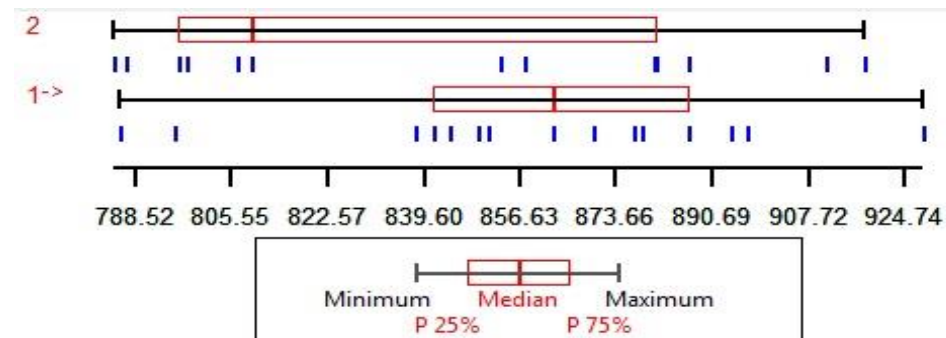
يشير الشكل (65) إلى الطريقة التي تم فيها توزيع ذكور ذبابة ثمار القرعيات النوع *D. frontalis* قبل

وبعد المعاملة بمادة MgO النانوي ، وذلك من خلال تحليل المركبات الأساسية لنقاط المعالم التي وضعت على الأجنحة اليمنى بين تقاطعات العروق المستعرضة مع العروق الطولية ونهايات العروق الطولية لعينات النوع قبل وبعد المعاملة والتي بلغ عددها 15 معلماً في كل جناح ، وقد لوحظ من الأسلوب الذي تم فيه توزيع عينات الدراسة ، فإن هناك تباين في شكل الجناح وحجمه للعينات البعيد عن بعضها ، ووجد أن السبب الرئيسي لهذا التباين بين العينات هو التأثير الواضح والكبير للمادة النانوية المستخدمة على العينات المعاملة بها وهذا التأثير أدى إلى حصول تغييرات واضحة في قيمة الحجم المركزي للجناح بشكل زيادة أو نقصان في المساحة السطحية للأجنحة ، ومن الدراسات التي أجريت حول تقنية المقياس على سبيل المثال الدراسة التي قام بها كل من Lorenz و Suesdek (2020) بخصوص استخدام شكل الجناح في توصيف التطور الكبير لحشرة

البعوض *Mosquitoes* من خلال دراسة التباين الكبير والحاصل بين عدة مجموعات تنتمي للنوع أعلاه ، وعن طريق استعمال التحليل الزمني Analysis spacetime الموجود ضمن مكونات برنامج تحليل الأجنحة الجاهز وباستخدام المقياس الهندسي لشكل الجناح وحجمه لـ 18 معلماً ثبتت على تقاطعات العروق الطولية مع العروق المستعرضة ونهايات العروق الطولية للجناح الأيمن في 81 نوعاً من البعوض تمثل 19 جنساً مختلفة لغرض التحقق مما إذا كان لشكل الجناح دوراً في العملية التطورية والتشخيص الوراثي للنوع المدروس ، وقد خلصت تلك الدراسة بعد إجراء المقارنة بين مجموعات الأنواع إلى وجود تباين واضح بينها من ناحية شكل الجناح وحجمه وذلك من خلال عدم تطابق أغلب إحدائيات المعالم وأن سبب هذا التباين يعود لعاملين أساسيين وهما الوراثة وليونة الشكل المظهري للجناح وبالتالي فإن الجناح فيها يخضع للتطور على فترات زمنية طويلة كافية لبناء التاريخ الوراثي لهذا النوع من الحشرات .



شكل (66) الحجم المركزي للأجنحة اليمنى في ذكور النوع *D. frontalis* قبل وبعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل LC50 لأوكسيد المغنسيوم النانوي (يشير كل صندوق في الشكل إلى المجموعة الوسطية الموزعة بين الربع 10% والربع 90% ، وتمثل الخطوط الزرقاء اللون الموجودة أسفل كل صندوق الأجنحة ، كما تمثل الأرقام 1 و 2 الموجود في الشكل عينات النوع قبل وبعد المعاملة) .



شكل (67) الحجم المركزي للأجنحة اليمنى في ذكور النوع *D. frontalis* قبل وبعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل LC50 لأوكسيد المغنسيوم النانوي ، ويشير كل صندوق في الشكل إلى المجموعة الوسطية الموزعة بين الربع 25% والربع 75% (تمثل الخطوط الزرقاء اللون الموجودة أسفل كل الصندوق الأجنحة ، كما تمثل الأرقام 1 و 2 الموجودة في الشكل عينات النوع قبل وبعد المعاملة) .

جدول (18) مقارنة الحجم المركزي للجناح الأيمن بين ذكور النوع *D. frontalis* قبل وبعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل LC50 لأوكسيد المغنسيوم النانوي .

Specimens	MCs	St.D	Va.	F	P	T	P	A.D
Males (b)	859.9	35.5	1258.2	b-a=	b-a=	b-a=	b-a=	b-a=
Males (a)	837.9	46.4	2151.7	1.7	0.32	1.5	0.15	22.1

M.Cs: Mean central size : معدل الحجم المركزي للأجنحة

St.D: Standard deviation : الانحراف القياسي

Va.: Variance : التباين

F: قيمة المحسوبة

P: Probability : الاحتمالية

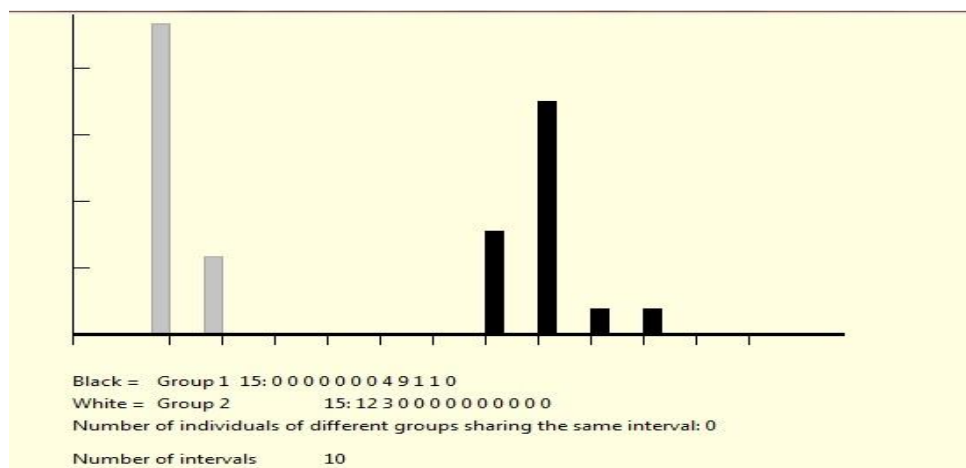
T : قيمة المحسوبة

A.D: Absolute differences : الاختلافات المطلقة

Male *D. frontalis* (b): ذكور النوع قبل المعاملة ، Male *D. frontalis* (a): ذكور النوع بعد المعاملة

يوضح الشكل (66) نتائج التباين الحاصل في الحجم المركزي للجناح الأيمن في ذكور ذبابة ثمار القرعيات النوع *D. frontalis* قبل وبعد المعاملة بمادة أوكسيد المغنسيوم النانوي ، إذ تمثل الصناديق الموجودة في الشكل (66) المجموعة الوسطية الموزعة بين الربع 10% والربع 90% ، وقد وجد من خلال الشكل (66) التباين في الحجم المركزي للجناح الأيمن لذكور النوع وذلك بسبب التأثير الكبير لمادة MgO النانوي على أدوار حياة الحشرة المختلفة . يوضح الشكل (67) نتائج التباين في الحجم المركزي للجناح الأيمن في ذكور النوع *D. frontalis* قبل وبعد المعاملة بمادة أوكسيد المغنسيوم النانوي ، إذ تمثل الصناديق الموجودة في الشكل المجموعة الوسطية الموزعة بين الربع 25% والربع 75% ، ولوحظ أيضاً وجود تباين في الحجم المركزي للجناح الأيمن في ذكور النوع قبل وبعد المعاملة ، وقد يعود السبب في هذا التباين إلى التأثير الكبير لمادة أوكسيد المغنسيوم على أدوار حياة هذا النوع بعد معاملته بتركيز مختلفة منها والمتمثل باختلاف القياسات الهندسية للأجنحة عما هي عليه في حالة العينات غير المعاملة . يبين الجدول (18) معدل الحجم المركزي لأجنحة العينات المعاملة وغير المعاملة والذي بلغ 854.9 و 837.9 على التوالي ، في حين أن قيمة التباين لهما قد بلغت 1258.2 و 2151.7 على التوالي ؛ استعمل في هذه الدراسة كل من اختباري F و T لغرض المقارنة بين ذكور النوع المعاملة وغير المعاملة في معدل الحجم المركزي للجناح الأيمن ، وعند القيام بإجراء بالمقارنة بينهما تبين لنا أن قيمة $F=1.7$ وقيمة $P=0.32$ ، بينما قيمة $T=1.5$ وقيمة $P=0.15$ ، بينما بلغت قيمة الاختلاف المطلق $A.D=22.1$ ،

وهذه النتيجة تؤكد وجود فروق معنوية إحصائية بين ذكور النوع المعاملة وغير المعاملة نتيجة لتأثير المادة النانوية على العينات المعاملة من خلال حدوث طفرات نقطية في جينات DNA النواة والميتوكوندريا المسؤولة عن نمو تكوين الجناح بالإضافة إلى عملية الطيران وبالتالي حصول تباين في القياسات الهندسية للجناح نتج عنها اختلاف قيمة الحجم المركزي لجناح الأيمن في العينات المعاملة ، ومن الدراسات والبحوث في هذا المجال الدراسة التي أجريت من قبل Schutze وآخرون (2012) حول التركيب السكاني لذباب الفاكهة الشرقية الأنواع *Bactrocera dorsalis* ، *Bactrocera papaya* و *Bactrocera philippinensis* في جنوب آسيا كدليل على فرضية النوع الواحد باستخدام DNA الميتوكوندريا وبيانات شكل الجناح وحجمه لـ 169 عينة جمعت من أربعة بلدان آسيوية هي باكستان ، تايلاند ، ماليزيا والفلبين تمثل الأنواع الثلاثة ؛ أظهرت نتائج القياس الهندسي لشكل الجناح الأيمن الناتجة عن تثبيت 15 معلماً على تقاطعات العروق الطولية مع العروق المستعرضة ونهايات العروق الطولية وجود اختلافاً كبيراً في شكل الجناح الأيمن لجميع العينات بعد تحليل المتغيرات المتعارف عليها ، وذكر الباحثون في تلك الدراسة أن سبب الاختلاف يعود لوجود الحواجز الطبيعية بين البلدان التي جمعت منها عينات الأنواع المدروسة والتي تمنع تدفق الجينات الوراثية وبالتالي فإن تلك الأنواع تعود إلى أصل جغرافي واحد رغم الأنعزال الموجود بينها .



شكل (68) التحليل التمييزي لإحداثيات المعالم في الأجنحة اليمنى لذكور النوع *D. frontalis* قبل وبعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل LC50 لأوكسيد المغنسيوم النانوي MgO (تمثل الأعمدة البيانية ذات اللون الأبيض عينات الحشرة غير المعاملة ، بينما تمثل الأعمدة البيانية ذات اللون الأسود العينات المعاملة) .

جدول (19) مقارنة مسافة مهالانبوز لذكور النوع *D. frontalis* قبل وبعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل LC50 لأوكسيد المغنسيوم النانوي MgO .

Specimens	Males (b)	Males (a)
Males (b)	0.00	
Males (a)	12.93	0.00

جدول (20) تحليل التباين ANOVA لتماثل شكل الجناح الأيمن في ذكور النوع *D. frontalis* قبل وبعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل LC50 لأوكسيد المغنسيوم النانوي MgO .

Source	SS	DF	MS	F	Signification
Modal	0.0002	3	0.000078	0.99	0.4139
Indivudial	0.0001	1	0.000051	0.65	0.4290
Side	0.0000	1	0.000010	0.13	0.7202
Side*i	0.0002	1	0.000173	0.19	0.1516
Residue	0.0019	24	0.000079		

جدول (21) تحليل التباين ANOVA لتماثل حجم الجناح الأيمن في ذكور ذبابة ثمار القرعيات النوع *D. frontalis* قبل وبعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل LC50 لأوكسيد المغنسيوم النانوي MgO .

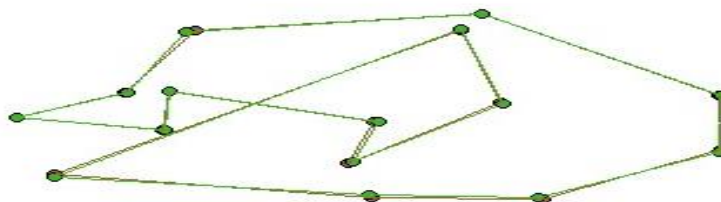
Source	SS	DF	MS	F	Signification
Modal	0.0026	78	0.000034	0.96	0.5656
Indivudial	0.0007	26	0.000026	0.74	0.8251
Side	0.0011	26	0.000044	1.25	0.1847
Side*i	0.0008	26	0.000032	0.91	0.5985
Residue	0.0219	624	0.000035		

يبين الشكل (68) التحليل التمييزي للأجنحة اليمنى في ذكور ذبابة ثمار القرعيات النوع *D. frontalis* قبل وبعد المعاملة بمادة أوكسيد المغنسيوم النانوي ، حيث أستعمل هذا النوع من التحاليل في جميع الدراسات الخاصة بالمقارنة بين الأفراد التي تنتمي لنفس النوع كما هو الحال في هذه الدراسة ؛ إذ استخدم فيها 30 جناحاً أيمن بواقع 15 جناحاً لعينات النوع المعاملة و 15 للعينات غير المعاملة بالمادة النانوية ، حيث أظهرت النتائج النهائية لهذا التحليل أن معدل الحجم المركزي للجناح الأيمن في ذكور النوع *D. frontalis* غير المعاملة يساوي 859.9 ، بينما بلغ 837.9 في العينات المعاملة ؛ كما بينت النتائج أيضاً أن مسافة مهالانبوز الموضحة في الجدول (19) بين الحجم المركزي للأجنحة اليمنى في عينات الذكور المعاملة وغير المعاملة تساوي 12.93 ، وعند القيام

بإعادة عملية التصنيف أستاذاً إلى النسبة المئوية لذكور النوع المدروسة وباستعمال الوحدة PAD الموجود ضمن محتويات البرنامج الجاهز وأستاذاً أيضاً لتطابق الأجنحة اليمنى للعينات في حالتها المعاملة وغير المعاملة بـ MgO النانوي وجدَ أن نسبة التصنيف لحشرات النوع قبل المعاملة كانت تساوي 80% وللعينات المعاملة بالمادة النانوية 69% أي أن الجناح الأيمن في العينات المعاملة أقل مما هو عليه في العينات غير المعاملة ، وعند القيام بإعادة التصنيف لإنثى النوع قبل وبعد المعاملة مرة أخرى ولكن بالاعتماد على تطابق الأجنحة اليمنى للعينات ومسافة مهالانوز وجدَ أن النسبة المئوية للتصنيف فيها قد بلغت 73% أي أن 22 فرداً من 30 وجدَ بينها تطابق تام جداً ، أن السبب المباشر للتباين الحاصل بين عينات النوع يعود إلى التأثير الواضح لمادة أكسيد المغنسيوم النانوي على أدوار حياة الحشرة ، إذ أدى هذا التأثير إلى تغيير واضح في قيمة الحجم المركزي للجناح حيث كانت أقل مما هي عليه في حالة العينات غير المعاملة نتيجة لحصول طفرات جينية في التسلسل التتابعي لجينات دنا النواة والميتوكوندريا في جسم الحشرة ، ويوضح الجدولين (20 و 21) لتحليل التباين ANOVA في تماثل شكل الجناح الأيمن وحجمه لذكور النوع *D. frontalis* قبل وبعد المعاملة بالمادة النانوية بواسطة الوحدة ASI ، وجدَ أن هناك فروقاً معنوية قليلة بين العينات المعاملة وغير المعاملة بسبب التأثير للمادة النانوية المستخدمة عليها ، وهناك العديد من الدراسات التي تمت في هذا المجال ومنها الدراسة التي قام بإجرائها Pieterse وآخرون (2017) بخصوص استخدام تحليل المقياس الهندسي لشكل الجناح وحجمه في توضيح التغيرات الناتجة عن اختلاف نوع المضائف على شكل الجناح في ذبابة الفاكهة الشرقية وذبابة البحر المتوسط *Bactrocera dorsalis* and *Ceratitis capitata* ، وقد قام الباحثون في تلك الدراسة بتقييم تأثير أربعة من محاصيل الفاكهة المختلفة وهي الأنكديا ، البرقوق ، الكمثرى والتفاح على شكل الجناح في النوعين من خلال تثبيت 14 معلماً على تقاطعات العروق الطولية مع العروق المستعرضة ونهايات العروق الطولية للأجنحة اليمنى في كلا النوعين ، وقد أظهرت نتائج تلك الدراسة وجود اختلافات كبيرة في شكل الأجنحة اليمنى بين الذكور والإناث لكلا النوعين ، كما أشارت النتائج إلى عدم وجود تطابق بين معظم إحداثيات المعالم المثبتة على الأجنحة أي وجود تباعد كبير بين العينات التي تم تربيتها على محاصيل الفاكهة الأربعة وذكر الباحثون أن سبب هذه التغيرات الكبيرة يرجع إلى سببين رئيسيين وهما كمية الغذاء والكثافة السكانية للنوعين واختلاف المضائف التي تنمو فيها يرقات النوعين المدروسين .

4-1-3-4 المقارنة الوراثية الكمية في شكل الجناح وحجمه بين إناث النوع *D. frontalis* قبل وبعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل LC50 لأوكسيد المغنسيوم النانوي

15 ●
15 ●

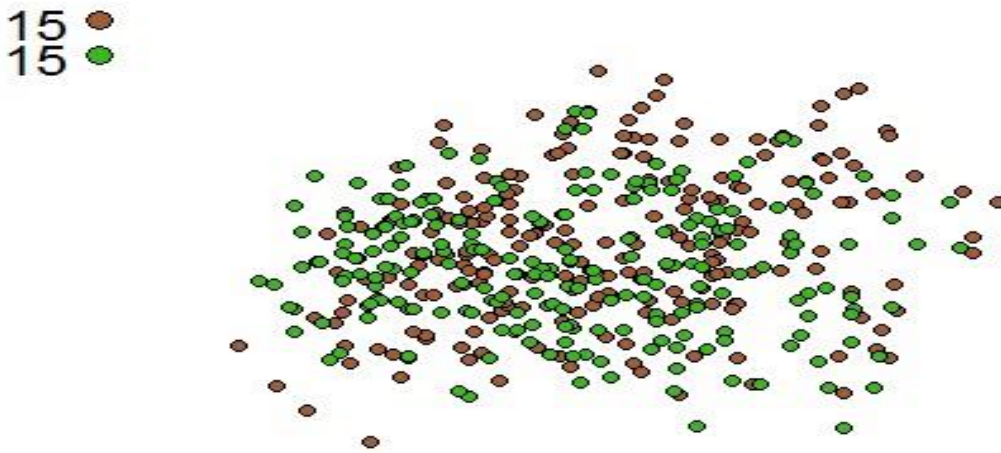


X= from-0.363 to 0.406, Y= from-0.158 to 0.186

شكل (69) معدل احداثيات المعالم في الجناح الأيمن لإناث النوعين *D. frontalis* قبل وبعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوية والتي عددها 15 معلماً لكل جناح (يشير اللون الجوزي إلى عينات النوع قبل المعاملة ، في حين يشير اللون الأخضر إلى العينات بعد المعاملة) .

يبين الشكل (69) معدل احداثيات المعالم في 30 جناحاً أيمناً لإناث ذبابة ثمار القرعيات النوع *D. frontalis* قبل وبعد المعاملة بمادة MgO النانوي ، (يمثل اللون الجوزي 15 جناحاً أيمناً للعينات غير المعاملة بينما يمثل اللون لأخضر 15 جناحاً أيمناً لعينات النوع المعاملة) ، وعند إجراء المقارنة بين الأجنحة في كلتا الحالتين باستعمال تقنية المقياس الهندسي لشكل الجناح وحجمه من خلال الوحدة MGO ، لوحظ في الشكل (41) أن أجنحة إناث النوع *D. frontalis* للعينات المعاملة وغير المعاملة بالمادة النانوية متطابقة مع بعضها بدرجة تامة في غالبية المعالم الـ 15 ما عدا المعالم (1 ، 4 ، 5 ، 7 ، 14 و 15) والتي لم يجري بينها تطابق بشكل تام ، أن عدم تطابق بين البعض من نقاط المعالم المثبتة على الأجنحة اليمنى لإناث النوع سببه التأثير الكبير لمادة MgO النانوي على العينات المعاملة بها والذي أدى إلى حدوث تباين واضح في قيمة الحجم المركزي للجناح نتيجة لإختلاف القياسات الهندسية للأجنحة بشكل زيادة أو نقصان في الطول والعرض لحافات الأجنحة ، وقد أجريت العديد من الدراسات العالمية في هذا المجال ومنها الدراسة التي قام بها Isabirye وآخرون (2014) بصدد استخدام نظام المقياس الهندسي للجناح في دراسة التغيرات المظهرية والجغرافية المرتبطة بالمضيف في المجاميع السكانية لأحد أنواع ذبابة الفاكهة *Bactrocera invadens* ، لغرض وضع برامج متكاملة لمكافحة هذا النوع من الآفات في أوغندا من خلال دراسة التغيرات المظهرية الحاصلة لجناح هذا النوع في المناطق التي سبق وأن استخدمت فيها أنواع مختلفة من المبيدات الحشرية فضلاً عن تقييم تأثير تلك المبيدات على هذه الحشرة في تلك المناطق ، وقد قام الباحثون بتثبيت 15 معلماً لـ 360 عينة موزعة على ثلاثة مجاميع

سكانية للحشرة شملت جنوب وشرق وشمال أوغندا ، ولاحظَ الباحثون في تلك الدراسة وجود فروق معنوية إحصائية بينَ العينات التي أخذت من المناطق المعاملة وعينات المناطق غير المعاملة بالمبيدات الحشرية ، وذكرُوا أنَّ السبب المباشر لهذه التغيرات هو التأثير الكبير لأنواع مختلفة من المبيدات على أجيال الحشرة التي ظهرت بعدَ المعاملة بتلك المبيدات مما أدى إلى حدوث اختلافات في الحجم المركزي للجناح بنسبة 95% من المجموع الكلي لعينات المناطق المعاملة بالمبيدات الحشرية .

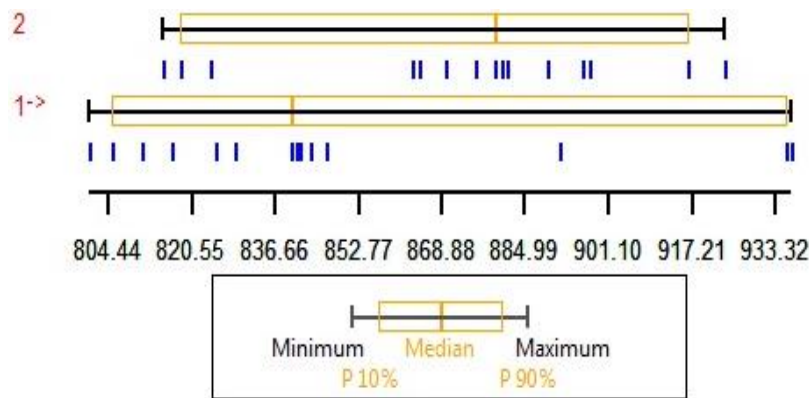


X= from -441.664 to 519.336, Y= from -485.664 to 190.336

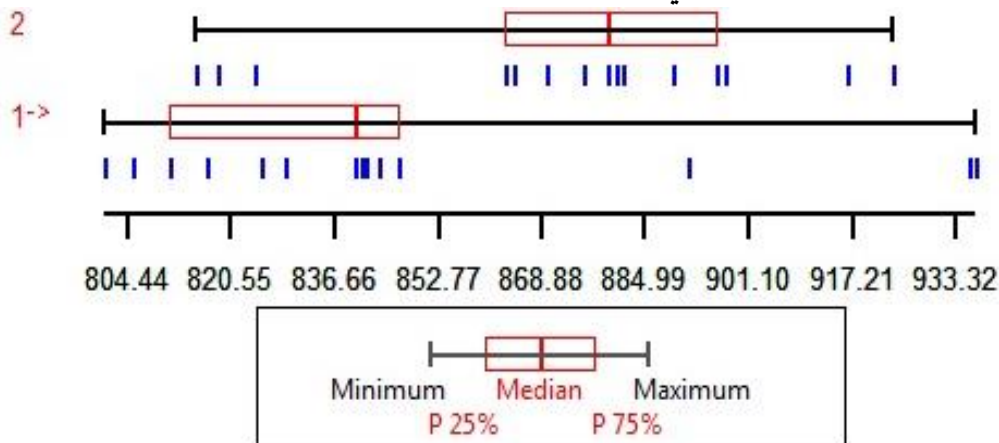
شكل (70) الشكل الانتشاري لتوزيع إناث النوع *D. frontalis* قبل وبعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل LC50 لأوكسيد المغنسيوم النانوي على طول التحليل العاملي العاملي PCs لأحداثيات فضاء الضل المشتقة من أحداثيات المعالم الأصلية لكل جناح والتي عددها 15 معلماً (اللون الجوزي يمثل عينات النوع قبل المعاملة ، أما اللون الأخضر فيمثل عينات النوع بعد المعاملة) .

يوضح الشكل (70) الطريقة التي تم فيها توزيع إناث ذبابة ثمار القرعيات النوع *D. frontalis* قبل وبعد المعاملة بمادة MgO النانوي عن طريق تحليل المركبات الأساسية لنقاط المعالم التي وضعت على الأجنحة اليمنى لعينات النوع قبل وبعد المعاملة والتي كان عددها 15 معلماً لكل جناح ، وقد لوحظَ من الطريقة التي تم فيها توزيع جميع العينات أنَّ هناك اختلافاً واضحاً في شكل الجناح وحجمه للعينات البعيد عن بعضها ، وقد يكون السبب المباشر لهذا الاختلاف هو التأثير المادة النانوية على تلك العينات والذي ظهرَ واضحاً من خلال التباين في قيمة الحجم المركزي للجناح بينَ العينات المعاملة وغير المعاملة نتيجة للتباين في حجم المساحة السطحية للجناح ، ومن الدراسات التي استخدمت نظام المقياس الهندسي في الدراسات الوراثة الكمية للحشرات الدراسة التي قامَ بها Nunez و Liria (2016) حول استخدام المقياس الهندسي في تشخيص ثلاثة أنواع هي *Chrysomya rufifacies* ، *Chrysomya bezziana* و *albiceps Chrysomya* تنتمي إلى Blowfly

(Diptera: Calliphoridae) والمجموعة عيناتها من عدة مناطق في بنغلاديش ، وقد وجدَ الباحثون عن طريق نتائج تلك الدراسة أن هناك تغيراً واضح وكبير في شكل الجناح وحجمه لعينات الأنواع الثلاثة من خلال عدم التطابق بين البعض من إحدائيات المعالم الـ 15 المثبتة في الأجنحة اليمنى لعينات تلك الدراسة بالإضافة إلى ذلك فإن الكثير من العينات كانت بعيدة عن بعضها البعض عند تفسير الشكل الانتشاري للأنواع أعلاه ، وذكر الباحثون أن سبب هذه التغيرات هو وجود الحواجز الطبيعية كالغابات والأنهر المسافة الجغرافية وكمية الغذاء بين المناطق التي جمعت منها العينات .



شكل (71) الحجم المركزي للأجنحة اليمنى في إناث النوع *D. frontalis* قبل وبعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي ، ويشير الصندوقين في الشكل إلى المجموعة الوسطية الموزعة بين الربع 10% والربع 90% (تمثل الخطوط ذات اللون الأزرق الموجودة أسفل كل صندوق الأجنحة اليمنى للعينات ، كذلك تشير الأرقام 1 و 2 الموجودة في الشكل عينات النوع المعاملة وغير المعاملة على التوالي) .



شكل (72) الحجم المركزي للأجنحة اليمنى في إناث النوع *D. frontalis* قبل وبعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي ، ويشير الصندوقين في الشكل إلى المجموعة الوسطية الموزعة بين الربع 25% والربع 75% (تمثل الخطوط ذات اللون الأزرق الموجودة أسفل كل صندوق الأجنحة اليمنى للعينات ، كما تمثل الأرقام 1 و 2 في الشكل عينات النوع المعاملة وغير المعاملة على التوالي) .

جدول (22) الحجم المركزي للجناح الأيمن في إناث النوع *D. frontalis* قبل وبعد بالتركيز نصف القاتل LC50 لأوكسيد المغنسيوم النانوي .

Specimens	MCs	St.D	Va.	F	P	T	P	A.D
Females (b)	846.03	41.3	1707.7	b-a= 1.8	b-a= 0.30	b-a= 2.1	b-a= 0.1	b-a= 27.0
Females (a)	873.04	31.1	964.9					

M.Cs: Mean central size : معدل الحجم المركزي للأجنحة

St.D: Standard deviation : الانحراف القياسي

Va.: Variance : التباين

F : قيمة F المحسوبة

P: Probability : الاحتمالية

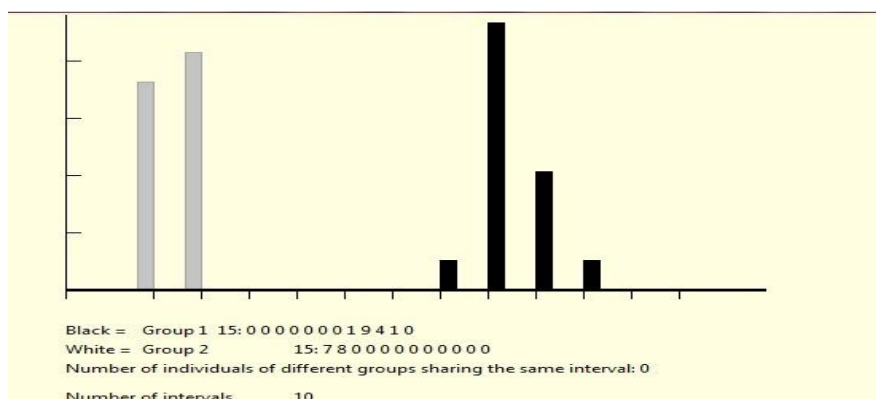
T : قيمة T المحسوبة

A.D: Absolute differences : الاختلافات المطلقة

Female *D. frontalis* (b): إناث النوع قبل المعاملة ، Female *D. frontalis* (a): إناث النوع بعد المعاملة

يوضح الشكل (71) نتائج التغيرات الحاصل في الحجم المركزي للجناح الأيمن في النوع *D. frontalis* قبل وبعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل LC50 لأوكسيد المغنسيوم النانوي ، حيث تمثل الصناديق الموجودة المجموعة الوسطية الموزعة بين الربع 10% والربع 90% ، وقد ظهر حدوث تغير في الحجم المركزي للجناح الأيمن لإناث النوع نتيجة التأثير الكبير لمادة MgO النانوي على أدوار حياة الحشرة المختلفة حيث أن هذا التأثير سبب حصول طفرات وراثية في الجينات المسؤولة عن عملية الطيران وتكوين جناح الحشرة وبالتالي أدى إلى حصول تباين في معظم القياسات الهندسية للجناح ؛ ويشير الشكل (72) إلى نتائج التباين في الحجم المركزي للجناح الأيمن في إناث النوع *D. frontalis* قبل وبعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي ، وتمثل الصناديق الموجودة في الشكل المجموعة الوسطية الموزعة بين الربع 25% والربع 75% ، إذ لوحظ وجود تباين في الحجم المركزي للجناح الأيمن لإناث النوع قبل وبعد المعاملة وسبب هذا التباين تأثير مادة أوكسيد المغنسيوم النانوية على أدوار حياة الحشرة بعد معاملتها بتركيز مختلفة من تلك المادة ، حيث أدى هذا التأثير إلى اختلافات واضحة في طول وعرض الجناح بسبب التغير الحاصل في التسلسل التتابعي لجينات الحشرة بشكل طفرات جينية من نوع الحذف والاستبدال ، كما بلغ معدل الحجم المركزي لأجنحة العينات المعاملة وغير المعاملة 846.03 و 873.04 على التوالي (الجدول 22) ؛ في حين أن قيمة التباين لهما قد بلغت 1707.7 و 964.9 على

التوالي ، واستعمل في هذه الدراسة كل من اختباري F و T لغرض المقارنة بين إناث النوع المعاملة وغير المعاملة في معدل الحجم المركزي للجناح الأيمن ، وعند القيام بإجراء بالمقارنة بينهما تبين لنا أن قيمة $F=1.8$ وقيمة $P=0.30$ ، بينما قيمة $T=2.1$ وقيمة $P=0.1$ ، بينما بلغت قيمة الاختلاف المطلق $A.D=27.0$ ، وهذه النتيجة تؤكد وجود فروق معنوية إحصائية بين إناث النوع قبل بعد المعاملة بالمادة النانوية نتيجة لتأثير تلك المادة على العينات المعاملة بها ، ومن الدراسات العالمية التي تمت في هذا الجانب الدراسة التي أجريت من قبل Zaelor و Kitthawee (2018) بخصوص العلاقة بين المقياس الهندسي والجانب الوراثي الجزيئي في الإشارة إلى تشخيص أنواع جديدة ومختلفة من ذبابة ثمار البطيخ النوع *Bactrocera (Zeugodacus) tau* والتي جمعت عيناتها من عدة مناطق في جنوب تايلاند، إذ تم فيها مقارنة تسلسلات الجين COI مع العديد من المصادر التي تشير إلى نوع الحشرة والأنواع الأخرى التي تنتمي لنفس الجنس بعد إجراء تفاعل البلمرة المتسلسل PCR للدنا المستخلص من العينات باستخدام بادئات UEA7 و UAE10 المتخصصة وبأجهاين أمامي وعكسي ، كما قام الباحثون في تلك الدراسة بتثبيت 10 من إحداثيات المعالم على تقاطعات العروق الطولية مع العروق المستعرضة ونهايات العروق الطولية للأجنحة اليمنى في الأنواع المدروسة لغرض إجراء الدراسة الوراثية الكمية وربطها مع نتائج الدراسة الوراثية الجزيئية ، وأظهرت نتائج تلك الدراسة ومن خلال التحليل الوراثي للسلاسل وبالاعتماد على التسلسل التتابعي للجين COI أنواعاً جديدة من *Bactrocera tau* وأعتبرها أنواعاً فرعية من النوع الأصلي للحشرة ، كما ذكروا أيضاً ومن خلال نتائج الدراسة الوراثية الكمية وجود تباعد بين العينات وعدم تطابق الكثير من إحداثيات المعالم فيها ووجود تغير كبير بينها من خلال التحليل التمييزي وجداول تماثل الشكل والحجم .ANOVA



شكل (73) التحليل التمييزي لإحداثيات المعالم في الأجنحة اليمنى لإناث النوع *D. frontalis* قبل وبعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي (تمثل الأعمدة البيانية ذات اللون الأبيض عينات الحشرة غير المعاملة ، بينما تمثل الأعمدة البيانية ذات اللون الأسود العينات المعاملة).

جدول (23) مقارنة مسافة مهالانوز لإناث النوع *D. frontalis* قبل وبعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل LC50 لأوكسيد المغنسيوم النانوي MgO .

Specimens	Females (b)	Females (a)
Females (b)	0.00	
Females (a)	13.05	0.00

جدول (24) تحليل التباين ANOVA لتمثيل شكل الجناح الأيمن في إناث النوع *D. frontalis* قبل وبعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل LC50 لأوكسيد المغنسيوم النانوي MgO .

Source	SS	DF	MS	F	Signification
Modal	0.0004	3	0.000144	3.57	0.0289
Indivudial	0.0000	1	0.000035	0.87	0.3612
Side	0.0000	1	0.000030	0.75	0.3448
Side*i	0.0004	1	0.000367	9.09	0.0060
Residue	0.0010	24	0.000040		

جدول (25) تحليل التباين ANOVA لتمثيل حجم الجناح الأيمن في إناث النوع *D. frontalis* قبل وبعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل LC50 لأوكسيد المغنسيوم النانوي MgO .

Source	SS	DF	MS	F	Signification
Modal	0.0020	78	0.000025	1.00	0.4910
Indivudial	0.0003	26	0.000013	0.51	0.9810
Side	0.0004	26	0.000016	0.64	0.9158
Side*i	0.0012	26	0.000046	1.84	0.0017
Residue	0.0157	624	0.000025		

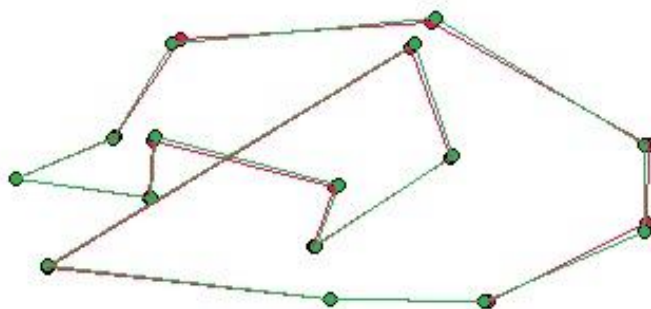
يبين الشكل (73) التحليل التمييزي للأجنحة اليمنى في إناث ذبابة ثمار القرعيات النوع *D. frontalis* قبل وبعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي ، حيث أستعمل هذا النوع من التحاليل في جميع الدراسات الخاصة بالمقارنة بين الأفراد التي تنتمي لنفس النوع والتي استخدم فيها 30 جناحاً أيمن بواقع 15 جناحاً لعينات النوع المعاملة و15 للعينات غير المعاملة بالمادة النانوية ، وقد أظهرت نتائج التحليل أن معدل الحجم المركزي للجناح الأيمن في إناث النوع *D. frontalis* المعاملة وغير المعاملة يساوي 873.04 و846.03 على التوالي ، كما بينت النتائج أيضاً أن مسافة مهالانوز الموضحة في الجدول (23) بين الحجم المركزي للأجنحة اليمنى في عينات إناث المعاملة وغير المعاملة تساوي 13.05 ، وعند القيام بإعادة عملية التصنيف أستناداً إلى النسبة المئوية لإناث النوع المدروسة وباستعمال الوحدة PAD وأستناداً أيضاً لتطابق الأجنحة اليمنى للعينات في

حالتها المعاملة وغير المعاملة بمادة MgO النانوي ، وجدَ أنَّ نسبة التصنيف لحشرات النوع قبل المعاملة كانت تساوي 77% وللعينات المعاملة بالمادة النانوية 70% وهذا يعني أنَّ الجناح الأيمن في العينات المعاملة أقل مما هو عليه في العينات غير المعاملة ، وعندَ القيام بإعادة التصنيف لإناث النوع قبلَ وبعدَ المعاملة مرة أخرى استناداً إلى التطابق الحاصل بينَ الأجنحة اليمنى للعينات ومسافة مهالانوز ، ولوحظَ أنَّ النسبة المئوية للتصنيف فيها قد بلغت 80% أي أنَّ 24 فرداً من 30 حصلَ بينها تطابق تام جداً ، وقد يعود السبب المباشر للتباين بين عينات النوع إلى التأثير الواضح للمادة النانوية المستخدمة على أدوار حياة الحشرة حيث أنَّ هذا التأثير ظهر واضحاً في اختلاف قيمة الحجم المركزي للجناح في عينات الحشرة المعاملة عما هي عليه في العينات غير المعاملة نتيجة لحدوث تغييرات وراثية في جينات الحشرة ، ويوضح الجدولين (24 و 25) لتحليل التباين ANOVA في تماثل شكل الجناح الأيمن وحجمه لإناث النوع *D. frontalis* قبلَ وبعدَ المعاملة بالمادة النانوية بواسطة الوحدة ASI والتي يتم عن طريق استعمالها معرفة إذا ما كانَ هناك تباين في شكل الجناح وحجمه لوحظَ أنَّ هناك فروقاً معنوية إحصائية بين العينات المعاملة وغير المعاملة نتيجة لتأثير المادة النانوية المستخدمة عليها بشكل سبب تباين في القياسات الهندسية لشكل الجناح وحجمه ، وهناك العديد من الدراسات في هذا المجال ومنها الدراسة التي تمت من قبل Schutze وآخرون (2012) بخصوص الشكل المميز للجناح وأهميته في تصنيف الآفات المتشابهة مظهرياً مع النوع *Bactrocera dorsalis* ، وقامَ الباحثون فيها بأخذ 15 جناحاً أيمن لكل نوع من الأنواع الأربعة وبيانات عن شكل الجناح وحجمه لـ 245 عينة في تلك الدراسة ثم اختيار ثلاثة عينات منفصلة جغرافياً لكل نوع لإجراء المقارنة بينها ، وأظهرت التحاليل لنتائج تلك الدراسة وجود اختلافاً كبيراً حجم في الجناح داخل عينات النوعين *B. dorsalis* و *B. carambolae* ، بينما يندم وجود أي اختلافات داخل عينات كل من النوعين *B. papayae* و *B. philippinensis* ، وأنَّ النوع *B. dorsalis* أكبر الأجنحة والنوع *B. papayae* أصغر الأجنحة ، وعندَ إعادة التصنيف بينَ الأنواع بالاعتماد على مسافة مهالانوز والتطابق بين أحداثيات المعالم الـ 15 المثبتة على الأجنحة اليمنى للأنواع وجدوا أنَّ نسبة التصنيف فيها تساوي 73% أي أنَّ 11 جناحاً من 15 كانت متطابقة مع بعضها بشكل تام في تلك الدراسة .

5-1-3-4 المقارنة الوراثية الكمية في شكل الجناح وحجمه بين ذكور النوعين *D. frontalis* و *D. ciliatus* غير المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي

15●

15●

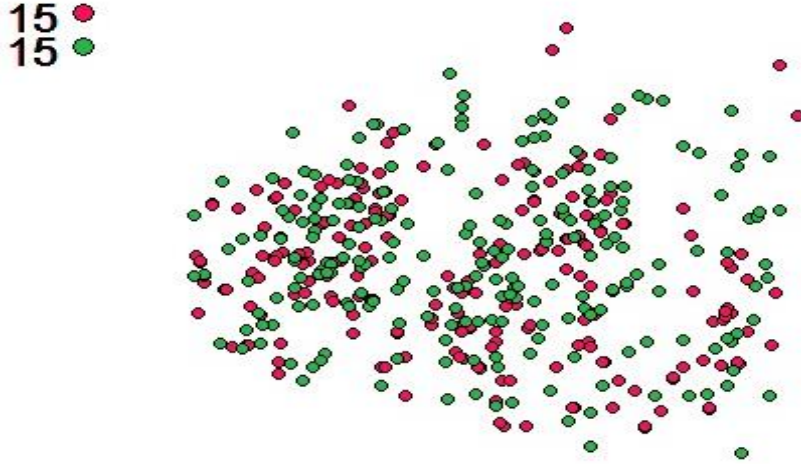


X= from-0.363 to 0.407, Y= from-0.158 to 0.188

شكل (74) معدل إحداثيات المعالم في الجناح الأيمن لذكور النوعين *D. frontalis* و *D. ciliatus* قبل المعاملة بالتركيز نصف القاتل LC50 لأوكسيد المغنسيوم النانوي والتي عددها 15 معلماً لكل جناح (يمثل اللون الأحمر النوع *D. ciliatus* ، بينما يمثل اللون الأخضر النوع *D. frontalis*) .

يوضح الشكل (74) معدل إحداثيات المعالم لـ 30 جناحاً أيمن لذكور ذبابة ثمار القرعيات النوعين *D. frontalis* و *D. ciliatus* قبل المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي MgO ، إذ يمثل اللون الأحمر 15 جناحاً أيمن لنوع *D. ciliatus* ويمثل اللون والأخضر 15 جناحاً أيمن لنوع *D. frontalis* ، وعند إجراء المقارنة بين أجنحة النوعين باستعمال تقنية المقياس الهندسي لشكل الجناح وحجمه من خلال الوحدة MGO ، إذ وجد أن أجنحة ذكور النوع *D. ciliatus* متطابقة في بعض المعالم مع أجنحة ذكور النوع *D. frontalis* باستثناء بعض المعالم (3 ، 4 ، 10 و 13) والتي لم يحصل بينها تطابق تام ، إن التباين الحاصل في تطابق نقاط المعالم المثبتة على الأجنحة اليمنى لذكور النوعين سببه أنهما نوعين مختلفين كما أن النوع *D. frontalis* أكبر حجماً من النوع *D. ciliatus* ، وهناك العديد من الدراسات التي تمت في هذا المجال ومنها الدراسة التي قام بإجرائها Pratyadhiraksana وآخرون (2020) حول دراسة فعالية قياس الزوايا ومقارنة أطوال عروق الأجنحة في تمييز مجاميع الأنواع لذبابة الفاكهة الجنس *Bactrocera* عن طريق إجراء المقارنة بين 8 أنواع عائدة لهذا الجنس لأن أكثر السمات البارزة لذبابة ثمار الفاكهة هي أجنحتها والتي يمكن دراستها بالتفصيل لتشخيص الأنواع المختلفة منها ، وقد قام الباحثون في تلك الدراسة بقياس زوايا الأجنحة ومقارنة أطوال العروق

فيها كنوع من التشخيص الوراثي الكمي لها ، وأظهرت نتائج تلك الدراسة وجود فروقاً إحصائية بين مجاميع الأنواع العائدة لهذا الجنس من ناحية طول العروق وحافة الجناح ، وتم دعم هذه النتائج من خلال التحليل الوراثي لسلاسل الأنواع باستخدام جين دنا المايكوكونديريا COI كونه الجين المسؤول عن عملية الطيران في الحشرات .

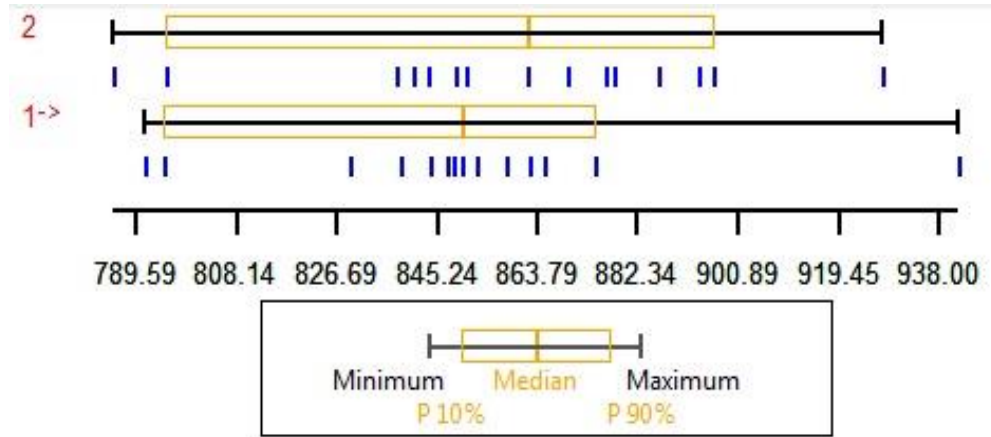


X= from-367.007 to 422.993, Y= from-465.007 to 199.993

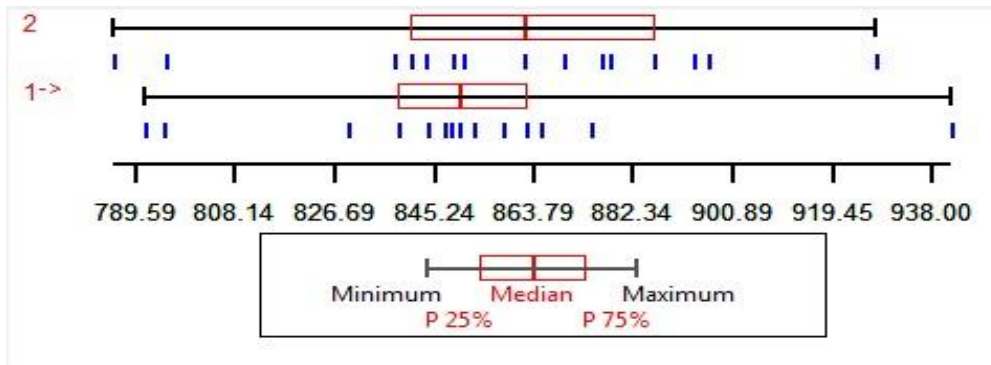
شكل (75) الشكل الانتشاري لتوزيع ذكور النوعين *D. frontalis* و *D. ciliatus* قبل المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي على طول التحليل العاملي PCs لإحداثيات فضاء الضل المشتقة من احداثيات المعالم الأصلية لكل جناح والتي عددها 15 معلماً (يشير اللون الأحمر إلى النوع *D. ciliatus* واللون الأخضر إلى النوع *D. frontalis*).

يوضح الشكل (75) طريقة توزيع ذكور ذبابة ثمار القرعيات النوعين *D. frontalis* و *D. ciliatus* بواسطة تحليل المركبات الأساسية لإحداثيات المعالم الموضوعة على الأجنحة اليمنى لكل نوع بين تقاطعات العروق المستعرضة مع العروق الطولية ونهايات هذه العروق والتي عددها 15 معلماً في كل جناح ، وقد لوحظ من طريقة التوزيع للعينات أن عينات النوعين القريبة من بعضها يوجد في أجنحتها اليمنى تباين في الشكل والحجم كونها يعودان إلى نوعين مختلفين ، وقد أجريت العديد من الدراسات الخاصة باستخدام نظام المقاس الهندسي لشكل الجناح وحجمه في الحشرات ومنها الدراسة التي قام بها Moraes وآخرون (2010) بخصوص دراسة التباين الوراثي الكمي في الشكل المظهري لجناح بعوضة *Culexquinq uefasciatus* المجموعة عيناتها من ثلاثة دول في قارة أمريكا الجنوبية وهي البيرو ، الأرجنتين والبرازيل باستعمال تقنية المقياس الهندسي لشكل الجناح وحجمه ، وأكد الباحثون من خلال تلك الدراسة عدم وجود تطابق تام في بعض احداثيات المعالم لعينات الحشرة عند المقارنة بين المجتمعات السكانية المدروسة منها بالإضافة إلى أنهم وجدوا اختلافاً بسيطاً جداً في

معدل الحجم المركزي للجناح الأيمن فيها ، وذكروا أن السبب في ذلك يرجع لاختلاف الظروف البيئية في المناطق التي جمعت منها عينات الحشرة .



شكل (76) الحجم المركزي للجناح الأيمن في ذكور النوعين *D. frontalis* و *D. ciliatus* قبل المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي ، إذ يشير كل صندوق في الشكل إلى المجموعة الوسطية التي توزعت بين الربع 10% إلى الربع 90% ، وتمثل الخطوط الزرقاء التي توجد تحت كل صندوق الأجنحة اليمنى (تمثل الأرقام 1 و 2 التي في الشكل نوعي الحشرة على التوالي) .



شكل (77) الحجم المركزي للجناح الأيمن في ذكور ذبابة ثمار القرعيات النوعين *D. frontalis* و *D. ciliatus* قبل المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي ، إذ يشير كل صندوق في الشكل إلى المجموعة الوسطية التي توزعت بين الربع 25% إلى الربع 75% (تمثل الخطوط الزرقاء التي توجد تحت كل صندوق الأجنحة اليمنى ، وتمثل الأرقام 1 و 2 التي في الشكل نوعي الحشرة على التوالي) .

جدول (26) مقارنة الحجم المركزي للجناح الأيمن بين ذكور النوعين *D. frontalis* و *D. ciliatus* قبل المعاملة بالتركيز نصف القاتل LC50 لأوكسيد المغنسيوم النانوي .

Specimens	MCs	St.D	Va.	F	P	T	P	A.D
Males (B1)	850.75	32.7	1067.9	B1-b2	B1-b2	B1-b2	B1-b2	B2-b2
Males (b2)	854.45	35.5	1258.2	= 1.17	= 0.76	= 0.73	= 0.46	= 9.2

M.CS: Mean central size : معدل الحجم المركزي للأجنحة

St.D: Standerd deviation : الانحراف القياسي

Va: Variance : التباين

P: Probability : الاحتمالية

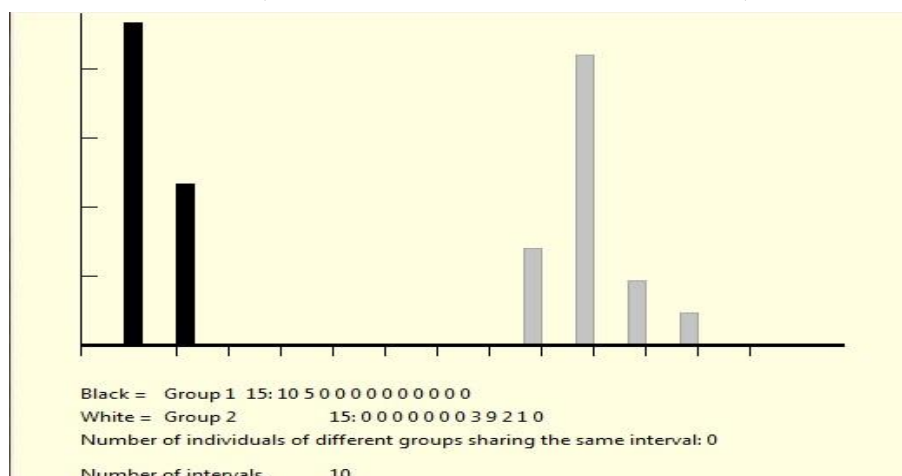
T : قيمة T المحسوبة

A.D: Absolute differences : الاختلافات المطلقة

b : befor : قبل المعاملة

يوضح الشكل (76) نتيجة تحليل التباين في الحجم المركزي للجناح الأيمن في ذكور ذبابة ثمار القرعيات النوعين *D. frontalis* و *D. ciliatus* قبل المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي ، ويمثل كل صندوق كما هو موضح في الشكل المجموعة الوسطية التي توزعت بين الربع 10% والربع 90% ، إذ تبين وجود تباين بسيط في الحجم المركزي للجناح كونهما نوعين مختلفين رغم أنهما ينتميان لنفس الجنس . يُظهر الشكل (77) نتيجة تحليل التباين في الحجم المركزي للجناح الأيمن في ذكور ذبابة ثمار القرعيات النوعين *D. frontalis* و *D. ciliatus* قبل المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي ، إذ يمثل كل صندوق موجود في الشكل المجموعة الوسطية التي توزعت بين الربع 25% والربع 75% ، ولوحظ أيضاً في هذا الشكل وجود تباين بسيط جداً في الحجم المركزي للجناح الأيمن للنوعين كونهما نوعين مختلفين ، إذ بلغ معدل الحجم المركزي وكما هو واضح في الجدول (26) للنوعين المدروسين 850.75 و 854.45 على التوالي ، كما بلغت قيمة التباين في الحجم المركزي للجناح الأيمن لهما 1067.9 و 1258.2، علماً أنه قد تم استعمال اختباري F و T في هذه الدراسة للمقارنة بين عينات نوعي الحشرة قبل المعاملة بالمادة النانوية من ناحية الحجم المركزي للجناح الأيمن ، وعند المقارنة وجدنا أن قيمة $F = 1.2$ وقيمة $P = 0.76$ ، بينما قيمة $T = 0.7$ وقيمة $P = 0.46$ ، أما قيمة الاختلاف المطلق AD فكانت تساوي 9.2 ؛ ومن هنا يتضح أن هنالك فروقاً معنوية بين العينات غير المعاملة بالمادة النانوية كونهما نوعين مختلفين ، وقد أجريت الكثير من الدراسات في هذا المجال ومنها الدراسة التي أجراها Khamis وآخرون (2012) حول دراسة التصنيف التشخيصي للنوع *Bactrocera invadens* بالمقارنة

مع خمسة أنواع أخرى تعود لنفس الجنس وهي *B. dorsalis*, *B. correcta*, *B. cucurbitae*, *B. oleae*, *B. zonata* من خلال التوافق بين دراسة القياسات الهندسية للجناح وترميز الحامض النووي DNA ، إذ استعملَ الباحثون 15 معلماً ثبتت على تقاطعات العروق المستعرضة مع العروق الطولية للجناح الأيمن في 180 عينة تمثل الأنواع المدروسة ثم قاموا بإجراء التحليل متعدد المتغيرات لتشخيص التباين الكمي في المجتمعات سكانية للحشرة من خلال مقارنة البيانات لإحداثيات المعالم المثبتة وباستخدام المقياس الهندسي الرياضي الخاص بحساب بيانات الاختلاف في الشكل ثم نُقلت البيانات من المجال المضلل إلى المجال الخطي داخل المقياس لصور الأجنحة ، وقد خلصت نتائج تلك الدراسة إلى وجود فروق معنوية عالية في معدل الحجم المركزي للجناح بين عينات النوع *B. invadens* والنوعين *B. cucurbitae* و *B. zonata* ، إذ بلغ معدل الحجم المركزي للأنواع الثلاثة 822.6 ، 789.9 و 784.5 على التوالي ، بينما لم تكن هناك فروق معنوية عالية مع الأنواع الأخرى المدروسة ، وذكرُوا أنَّ السبب في وجود هذا التباين يعود إلى الاختلاف في الأنواع .



شكل (78) التحليل التمييزي Discriminant analysis لإحداثيات معالم الأجنحة اليمنى في ذكور النوعين *D. ciliatus* و *D. frontalis* قبل المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي (تمثل الأعمدة البيانية ذات اللون الأسود والأبيض عينات النوعين التوالى) .

جدول (27) مقارنة مسافات مهالانوبس Mahalanobis distances للذكور النوعين *D. frontalis* و *D. ciliatus* قبل المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي

Specimens	Males (b)	Males (b)
Males (b)	0.00	
Males (b)	10.33	0.00

جدول (28) تحليل التباين ANOVA لتماثل شكل الجناح الأيمن لذكور النوعين *D. frontalis* و *D. ciliatus* قبل المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي .

Source	SS	DF	MS	F	Significant
Model	0.0011	3	0.000355	1.88	0.16
Individual	0.0005	1	0.000477	2.54	0.12
Side	0.0003	1	0.000299	1.59	0.21
Side*i	0.0003	1	0.000287	1.53	0.22
Residue	0.00045	24	0.000188		

جدول (29) تحليل التباين ANOVA لتماثل حجم الجناح الأيمن لذكور النوعين *D. frontalis* و *D. ciliatus* قبل المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي .

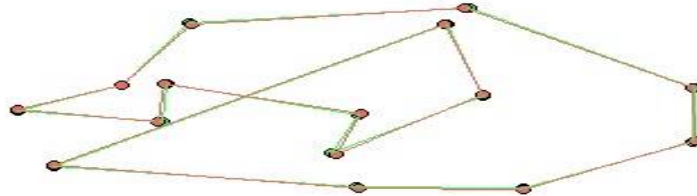
Source	SS	DF	MS	F	Significant
Model	0.0039	78	0.000051	0.90	0.72
Individual	0.0018	26	0.000068	1.21	0.22
Side	0.0011	26	0.000042	0.75	0.82
Side*i	0.0011	26	0.000042	0.74	0.82
Residue	0.0351	624	0.000056		

يوضح الشكل (78) التحليل التمييزي للذكور ذبابة ثمار القرعيات النوعين *D. frontalis* و *D. ciliatus* قبل المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي ، وقد كان العدد الكلي للأجنحة اليمنى المستعملة في هذا التحليل هو 30 جناحاً ، موزعة بواقع 15 جناحاً أيمن لذكور النوع *D. ciliatus* و 15 جناحاً لعينات النوع *D. frontalis* ؛ وقد بينت النتائج وبشكل واضح في الجدول (27) أن مسافة مهالانوبز بين الحجم المركزي للأجنحة في ذكور النوع *D. ciliatus* والحجم المركزي لأجنحة ذكور النوع *D. frontalis* قبل المعاملة بالتركيز نصف القاتل LC50 لأوكسيد المغنسيوم النانوي MgO هي 10.33 ، وعند إعادة التصنيف بالاستناد إلى النسبة المئوية لذكور النوعين قبل المعاملة بالمادة النانوية وباستعمال وحدة PAD الموجودة مع محتويات برنامج التحليل الإحصائي الجاهز واستناداً إلى تطابق الأجنحة اليمنى لعينات النوعين فقد وجد أن نسبة التصنيف في حشرات النوعين هي 80% و 84% على التوالي ، وهذا يعني أن شكل وحجم الجناح الأيمن في النوع *D. ciliatus* أقل مما هو عليه في النوع *D. frontalis* ، وعند إعادة التصنيف مرة أخرى لذكور النوعين اعتماداً على تطابق الأجنحة اليمنى ومسافة مهالانوبز وجد أن النسبة المئوية للتصنيف في النوعين تساوي 73% وهي تعني أن 22 جناحاً من المجموع الكلي لعينات النوعين والذي يساوي 30 جناحاً كانت متطابقة بنسبة 100% ، أن السبب الرئيسي للتباين الحاصل بين ذكور النوعين قبل المعاملة يعود إلى اختلاف الأنواع ، وقد أجريت الكثير من البحوث والدراسات

المحلية والعالمية في هذا المجال ومنها الدراسة التي قام بإجرائها Szpila وآخرون (2019) بخصوص استخدام المقياس الهندسي للجناح في تشخيص الذباب الأزرق الأوربي رتبة ثنائية الأجنحة عائلة الذباب المعدني Blow flies (Diptera: Calliphoridae) ذو الأهمية الجنائية ، باستخدام التشخيص عتماداً على قياسات الجناح الأيمن ، إذ قام الباحثون بأخذ 968 تمثّل 15 نوعاً و 6 من خلال تثبيت 15 معلماً بين تقاطعات العروق الطولية والمستعرضة في الجناح الأيمن لعينات كل نوع ، وخلصت نتائج تلك الدراسة إلى وجود فروق واضحة في حجم وشكل الجناح بين الأنواع المدروسة حيث بلغ معدل التصنيف العام على مستوى الأنواع 97% ، كذلك تمّ تشخيص النوعين *Lucilia caesar* و *Lucilia illustris* التي تعتبر صعبة التمييز نسبياً وبشكل صحيح بنسبة 93% و 94% على التوالي ، كما أشارت النتائج أيضاً إلى أنّ التصنيف الآلي للأنواع باستخدام برامج إلكترونية جاهزة تحتوي على بيانات عن الأنواع المراد تشخيصها ومن خلال قياسات الجناح هي البديل الواعد للطرق الأخرى في تشخيص عائلة الذباب المعدني ، ويوضح الجدولين (28 و 29) تحليل التباين ANOVA لتماثل شكل وحجم الجناح الأيمن لذكور ذبابة ثمار القرعيات النوعين *D. ciliatus* و *D. frontalis* قبل المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي ، وتم إجراء المقارنة بين عينات الأجنحة المأخوذة من كلا النوعين عن طريق استخدام وحدة ASI ، ومن خلال هذه الوحدة نستطيع التعرف على التباين الموجود في شكل الجناح وحجمه بين النوعين ، وتبين من نتائج التحليل وكما هو موضح في الجدولين (27 و 28) وجود فروق معنوية بسيطة في حجم الجناح الأيمن لكلا النوعين وكذلك وجود تباين بسيط جداً في تماثل شكل الجناح الأيمن لكليهما ، ومن خلال هذه النتائج ظهر أنّ نسبة التماثل في شكل الجناح وحجمه للنوعين تساوي 82% ، وهذه النسبة تشير إلى التقارب الكبير بين النوعين ؛ أما السبب الرئيسية للتباين البسيط بينها فأنه يرجع إلى كونهما نوعين مختلفين رغم أنهما يعودان إلى نفس الرتبة والعائلة والجنس .

6-1-3-4 المقارنة الوراثية الكمية في شكل الجناح وحجمه بين إناث النوعين *D. ciliatus* و *D. frontalis* غير المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي

15 ●
15 ●

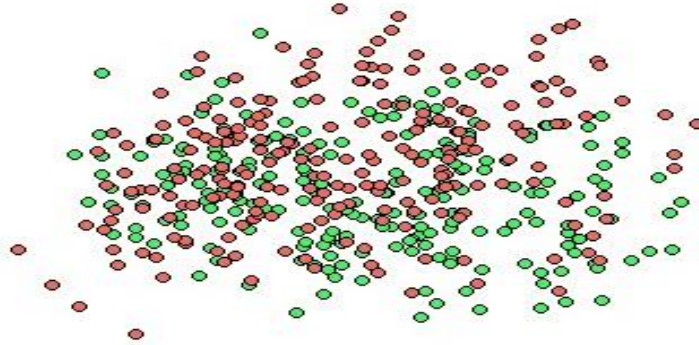


X= from-0.363 to 0405, Y= from-0.158 to 0.186

شكل (79) معدل احداثيات المعالم في الجناح الأيمن النوعين *D. frontalis* و *D. ciliatus* قبل المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي والتي عددها 15 معلماً لكل جناح (يمثل اللون الأخضر عينات النوع *D. ciliatus* ، بينما يمثل اللون الأحمر عينات النوع *D. frontalis*).

يُبين الشكل (79) معدل احداثيات المعالم في 30 جناحاً أيمن لإناث ذبابة ثمار القرعيات النوعين *D. ciliatus* و *D. frontalis* قبل المعاملة بمادة MgO النانوية ، وعند القيام بإجراء المقارنة بينهما باستعمال تقنية المقياس الهندسي لشكل الجناح وحجمه من خلال وحدة MGO ، لوحظ في الشكل أعلاه أن أجنحة إناث النوع *D. ciliatus* متطابقة مع أجنحة إناث النوع *D. frontalis* بدرجة كبيرة جداً في أغلب المعالم الـ 15 باستثناء المعالم (1 ، 2 ، 4 ، 8 و 15) والتي لم يحدث بينها تطابق بشكل تام ، أن الاختلاف الذي حصل في عدم حصول كلي تطابق لنقاط المعالم المثبتة على الأجنحة اليمنى لإناث النوعين سببه اختلاف في التي تعود اليها العينات ، ومن البحوث التي أجريت في هذا المجال الدراسة التي قام بإجرائها Labarie وآخرون (2016) حول دراسة التغيرات الكمي الوراثي في الشكل المظهري للجناح في ذبابة الجيف النوع *Calliphora vicina* (Diptera: Calliphoridae) بمرور الوقت أثناء غزوها لمجموعة جزر كيرغولين القريبة من شبه القارة القطبية الجنوبية من خلال المقارنة بينها وبين الأنواع الموجودة أصلاً في تلك الجزر باستخدام المقياس الهندسي لشكل الجناح وحجمه وعن طريق تثبيت 14 على الجناح الأيمن لكل عينة ، وأكد الباحثون في تلك الدراسة إلى حدوث تغييرات سريعة في شكل الجناح وحجمه لعينات الإناث الوافدة إلى تلك الجزر مع مرور الوقت مقارنةً بالعينات الموجودة أصلاً في تلك الجزر ، وذكر الباحثون أن سبب التغيير السريع هو حدوث تكيف للأنواع الوافدة إلى الجزر نتيجة لحصول تغييرات مناخية ومنها الاعتدال في درجات الحرارة .

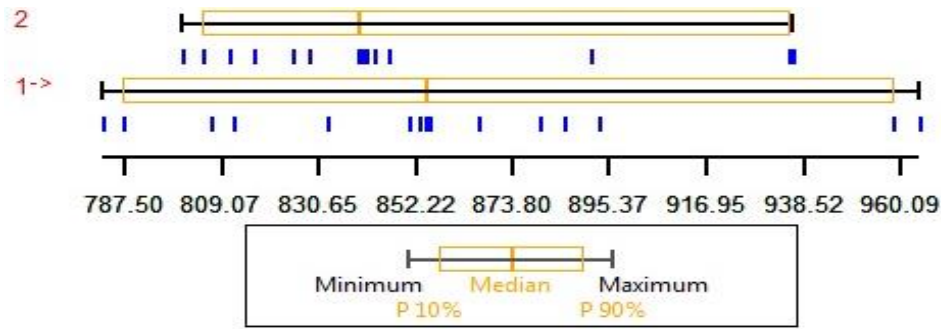
15 ●
15 ●



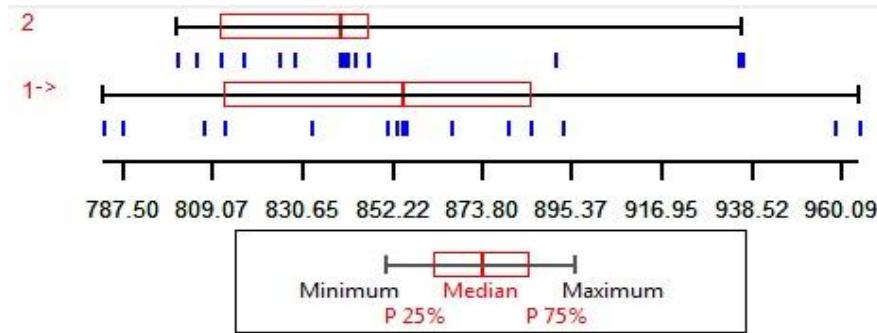
X= from-474.918 to 486.082, Y= from-518.918 to 157.082

شكل (80) الشكل الانتشاري لتوزيع إناث النوعين *D. ciliatus* و *D. frontalis* قبل المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي على طول التحليل العاملي PCs لإحداثيات فضاء الضل المشتقة من إحداثيات المعالم الأصلية لكل جناح (يشير اللون الأحمر إلى النوع *D. ciliatus* واللون الأخضر إلى النوع *D. frontalis*).

يوضح الشكل (80) الطريقة التي تم فيها توزيع إناث ذبابة ثمار القرعيات النوعين *D. ciliatus* و *D. frontalis* عن طريق تحليل المركبات الأساسية لإحداثيات المعالم الموضوعة على الأجنحة اليمنى لكل نوع بين تقاطعات العروق المستعرضة مع العروق الطولية ونهايات هذه العروق والتي عددها 15 معلماً لكل جناح ، وقد لوحظ من الأسلوب المتبع في التوزيع للعينات أن عينات النوعين القريبة من بعضها يوجد تباين في أجنحتها اليمنى بخصوص الشكل والحجم لكون العينات المدروسة تعود إلى نوعين مختلفين ، ومن الدراسات في هذا المجال الدراسة التي أنجزها sime و Zuha (2019) حول دراسة التطور الحاصل في ذبابة التدويد الثانوي (*Chrysomya megacephala* (Fabricius,1794) (Diptera: Calliphoridae) باستخدام المقياس الهندسي لهيكل رأس الحشرة وأهميته في التقييم الأولي لتطبيق علم الحشرات الجنائي ، وذكر الباحثان أنها طريقة لتوسيع التطبيق العملي للمقياس الهندسي لشكل الجناح وحجمه بالاعتماد على هيكل الرأس الكبير في تشخيص الأنواع من خلال تحليل نمو يرقات هذه الحشرة ، إذ قاموا بتثبيت 5 معالم في هيكل الجمجمة ليتم بعد ذلك أخذ صور رقمية لها وتحليل المقياس الهندسي لها عن طريق برنامج MorphoJ software ، وخلصت الدراسة إلى أن الحجم المركزي للجناح يرتبط ارتباطاً وثيقاً بوقت النمو الذي يؤثر على شكل الحشرة بنسبة 60% .



شكل (81) الحجم المركزي للجناح الأيمن في إناث النوعين *D. frontalis* و *D. ciliatus* قبل المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي ، إذ يمثل كل صندوق في الشكل إلى المجموعة الوسطية التي توزعت بين الربع 10% إلى الربع 90% (تمثل الخطوط الزرقاء التي توجد تحت كل صندوق الأجنحة اليمنى ، وتمثل الأرقام 1 و 2 التي في الشكل نوعي الحشرة على التوالي) .



شكل (82) الحجم المركزي للجناح الأيمن في إناث النوعين *D. frontalis* و *D. ciliatus* قبل المعاملة بالتركيز نصف القاتل LC50 لأوكسيد المغنسيوم النانوي ، إذ يمثل كل صندوق في الشكل إلى المجموعة الوسطية التي توزعت بين الربع 25% إلى الربع 75% (تمثل الخطوط الزرقاء التي توجد تحت كل صندوق الأجنحة اليمنى ، وتمثل الأرقام 1 و 2 التي في الشكل نوعي الحشرة على التوالي) .

جدول (30) مقارنة الحجم المركزي للجناح الأيمن بين إناث النوعين *D. frontalis* و *D. ciliatus* قبل المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي .

Specimens	MCs	St.D	Va.	F	P	T	P	A.D
Females (B2)	854.82	50.8	2583.2	B1-b2	B1-b2	B1-b2	B1-b2	B1-b2
Females (b1)	846.03	41.3	1707.7	= 1.5	= 0.44	= 0.8	= 0.42	= 13.8

M. CS: Mean central size

St.D: Standard deviation

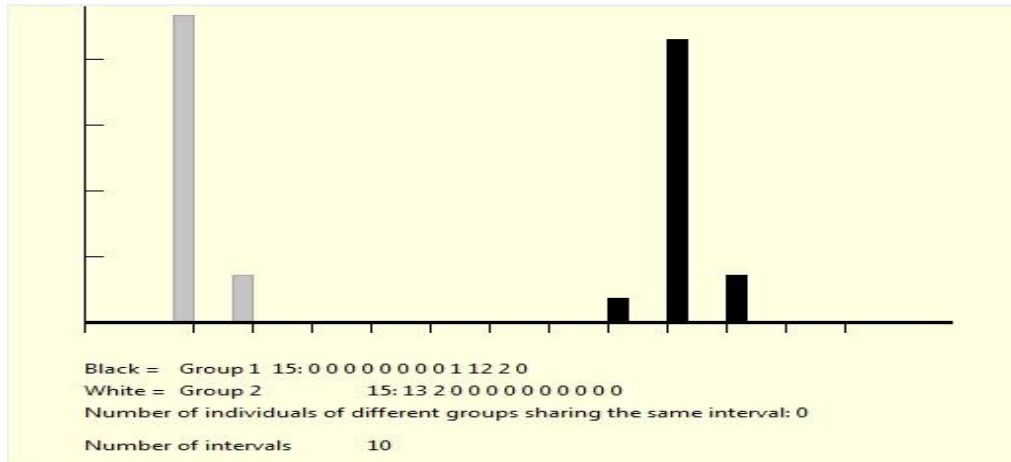
Va: Variance

P: Probability

T: قيمة T المحسوبة

A.D: Absolute differences ، B1, b2: before ، العينات قبل المعاملة

يوضح الشكل (81) نتيجة تحليل التباين في الحجم المركزي للجناح الأيمن في إناث ذبابة ثمار القرعيات النوعين *D. ciliatus* والنوع *D. frontalis* قبل المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي MgO ، ويمثل كل صندوق كما هو موضح في الشكل المجموعة الوسطية التي توزعت بين الربع 10 والربع 90 ، وقد وجدَ من خلال النتائج ولكلا النوعين وجود تباين بسيط في الحجم المركزي للجناح لأنهما نوعين مختلفين . يشير الشكل (82) نتيجة تحليل التباين في الحجم المركزي للجناح الأيمن في إناث ذبابة ثمار القرعيات النوعين *D. ciliatus* و *D. frontalis* قبل المعاملة بمادة أوكسيد المغنسيوم النانوي ، إذ يمثل كل صندوق موجود في الشكل المجموعة الوسطية التي توزعت بين الربع 25 والربع 75 ، إذ وجدَ أن هنالك تباين في الحجم المركزي للجناح الأيمن في الأنواع المدروسة ، إذ بلغ معدل الحجم المركزي وكما هو واضح في الجدول (30) للنوعين 854.82 و 846.03 على التوالي ، كما بلغت قيمة التباين في الحجم المركزي للجناح الأيمن لهما 2583.2 و 1707.7، علماً أنه قد تم استعمال اختباري F و T في هذه الدراسة للمقارنة بين عينات نوعي الحشرة قبل المكافحة بالمادة النانوية من ناحية الحجم المركزي للجناح الأيمن ، وعند المقارنة وجدنا أن قيمة $F = 1.5$ وقيمة $P = 0.44$ بينما قيمة $T = 0.8$ وقيمة $P = 0.42$ ، أما قيمة الاختلاف المطلق AD فكانت تساوي 13.8 وهذا يعني وجود فروق معنوية بين عينات الأنواع المدروسة قبل المعاملة ، وقد أجريت الكثير من الدراسات في هذا المجال ومنها الدراسة التي قام بإجرائها Kunprom و Pramula (2016) بخصوص دراسة التنوع الوراثي الجزيئي والكمي لذبابة الفاكهة باستخدام النبات المضيف في تايلاند عن طريق اختبار التباين الوراثي الجزيئي من خلال المنطقة الجينية المشفرة للوحدة الصغرى في الجين COI والكمي باستخدام المقياس الهندسي لشكل الجناح وحجمه في عدة أنواع من ذبابة الفاكهة وبالتالي استخدامها في تشخيص على مستوى الأنواع ، إذ قامَ الباحثان بجمع 12 نوعاً لذبابة الفاكهة من حوالي 24 نوعاً من النباتات المضيفة ، وتمكنوا أيضاً من الحصول على 123 تسلسلاً للجين COI ومقارنتها مع تسلسلات لـ 17 نوعاً محفوظة في بنك الجينات العالمي بعد ذلك قاموا بتثبيت 18 معلماً على الجناح الأيمن لكل عينة ، وتوصلَ الباحثان في تلك الدراسة إلى توافق نتائج الدراسة الجزيئية والكمية من خلال وجود تباين في التسلسلات الجينية لبعض الأنواع مثل النوعين *Bactrocera tuberculata* و *Bactrocera correcta* وعدم تطابق أغلب إحدائيات المعالم في الجناح الأيمن لأنواع أخرى مثل النوعين *Bactrocera dorsalis* و *Bactrocera oleae* وذكروا أن السبب في هذا التباين يرجع إلى تنوع النباتات المضيفة ليرقات الأنواع المدروسة وكذلك تأثر تلك الأنواع باختلاف الظروف البيئية في الأماكن التي جمعت منها العينات .



شكل (83) التحليل التمييزي Discriminant analysis لإحداثيات معالم الأجنحة اليمنى في إناث النوعين *D. ciliatus* و *D. frontalis* قبل المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي (تمثل الأعمدة البيانية ذات اللون الأسود والأبيض عينات النوعين التوالي) .

جدول (31) مقارنة مسافات مهالانوبز بين إناث النوعين *D. ciliatus* و *D. frontalis* قبل المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي .

Specimens	Females (b)	Females (b)
Females (b)	0.00	
Females (b)	22.01	0.00

جدول (32) تحليل التباين ANOVA لتمثيل شكل الجناح الأيمن لإناث النوعين *D. ciliatus* و *D. frontalis* قبل المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي .

Source	SS	DF	MS	F	Significant
Model	0.0004	3	0.00127	1.65	0.2039
Individual	0.0001	1	0.00085	1.10	0.3037
Side	0.0000	1	0.00005	0.06	0.8048
Side*i	0.0003	1	0.00292	3.79	0.0634
Residue	0.00018	24	0.00077		

جدول (33) تحليل التباين ANOVA لتماثل حجم الجناح الأيمن لإناث النوعين *D. frontalis* و *D. ciliatus* قبل المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي .

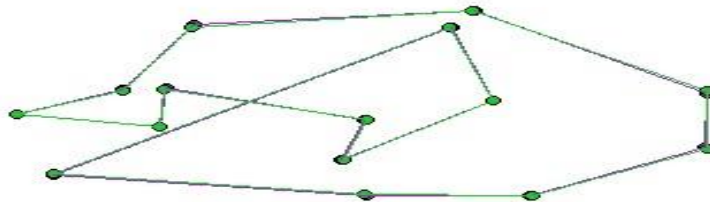
Source	SS	DF	MS	F	Significant
Model	0.0019	78	0.000025	0.86	0.7889
Individual	0.0007	26	0.000027	0.94	0.5507
Side	0.0006	26	0.000024	0.84	0.6960
Side*i	0.0006	26	0.000023	0.81	0.7356
Residue	0.0178	624	0.000029		

يوضح الشكل (83) التحليل التمييزي لإناث ذبابة ثمار القرعيات النوعين *D. frontalis* و *D. ciliatus* قبل المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي ، وقد أظهرت نتائج التحليل وبشكل واضح في الجدول (31) أن مسافة مهالانوبز بين حجم المركزي للأجنحة اليمنى في إناث النوعين *D. ciliatus* و *D. frontalis* قبل المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي MgO هي 22.01 ، وعند إعادة التصنيف بالاستناد إلى النسبة المئوية لإناث النوعين قبل المكافحة بالمادة النانوية وباستعمال وحدة PAD واستناداً إلى تطابق الأجنحة اليمنى لعينات النوعين فقد وجد أن نسبة التصنيف في حشرات النوع الأول 75% وفي حشرات النوع الثاني 81% ، وهذا يعني أن شكل وحجم الجناح الأيمن في النوع *D. ciliatus* أقل مما هو عليه في النوع *D. frontalis* ، وعند إعادة التصنيف مرة أخرى اعتماداً على تطابق الأجنحة اليمنى ومسافة مهالانوبز وجد أن النسبة المئوية للتصنيف في النوعين تساوي 83% وهي تعني أن 25 جناحاً من المجموع الكلي لعينات النوعين والذي يساوي 30 جناحاً كانت متطابقة بنسبة 100% ، أن السبب المباشر للتباين الحاصل بين إناث النوعين قبل المعاملة يعود إلى كونهما نوعين مختلفين . ويوضح الجدولين (32 و 33) تحليل التباين ANOVA لتماثل شكل وحجم الجناح الأيمن لإناث ذبابة ثمار القرعيات النوعين *D. frontalis* و *D. ciliatus* قبل المعاملة بمادة أوكسيد المغنسيوم النانوي ، وتم إجراء المقارنة بين عينات الأجنحة المأخوذة من كلا النوعين عن طريق استخدام وحدة ASI ومن خلال هذه الوحدة نستطيع التعرف على التباين الموجود في شكل الجناح وحجمه بين النوعين ، وتبين من نتائج التحليل وكما هو موضح في الجدولين أعلاه وجود فروق معنوية بسيطة في حجم الجناح الأيمن لكلا النوعين مع وجود تباين بسيط أيضاً في تماثل شكل الجناح الأيمن لكليهما ، ومن خلال هذه النتائج ظهر أن نسبة التماثل في شكل الجناح وحجمه للنوعين تساوي 82% وهذه النسبة تشير إلى التقارب الكبير بينهما ، أما الأسباب الرئيسية للتباين البسيط بينها يرجع إلى كونهما نوعين مختلفين ، أن استعمال المقياس الهندسي لشكل الجناح وحجمه أصبح من الأدوات البالغة الأهمية في التمييز بين أنواع عديدة من الحشرات على المستويين المحلي والعالمي

(Dujardin ، 2015) ، وقد أجريت الكثير من البحوث والدراسات المحلية والعالمية في هذا المجال ومنها الدراسة التي قامَ بإنجازها Baleba وآخرون (2019) حول التأثير الناتج عن كثافة اليرقات وجودة المادة الأساسية المضيفة لها على القياسات الهندسية لجناح النوع *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae) ، وقامَ الباحثون في تلك الدراسة بأخذ أعداد مختلفة من اليرقات تراوحت بين 5 ، 15 و 25 وتربيتها في أربعة مضائف مختلفة ممثلة بمادة روث الجمل ، البقرة ، الحمار والأغنام ثم قاموا بتسجيل الوزن والتركيب فضلاً عن تصوير الجناح الأيمن للذبابة الناتج عن كل مضيف وتثبيت 15 على تقاطعات العروق الطولية مع العروق المستعرضة للجناح الأيمن في كل عينة ، ولاحظَ الباحثون أنَّ شكل الجناح وحجمه للنوع أعلاه تأثر بكثافة اليرقات وطبيعة المادة المضيفة لنمو اليرقات وأنَّ المجموعة المكونة من 5 أفراد هي أكبر من ناحية الطول والعرض والحجم المركزي للجناح مقارنةً بمجموعة العينات المكونة من 25 فرداً ، كما أنَّ اليرقات التي تمَّ تربيتها في روث الأغنام والحمير أكبر من ناحية الطول والعرض والحجم المركزي للجناح من تلك التي تمَّ تربيتها في روث الجمل والبقرة والسبب في ذلك يعود لتنوع المادة المضيفة واستجابة العينات المدروسة للتغيرات البيئية .

4-3-1-7 المقارنة الوراثية الكمية في شكل الجناح وحجمه بين ذكور النوعين *D. frontalis* و *D. ciliatus* بعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل LC50 لأوكسيد المغنسيوم النانوي

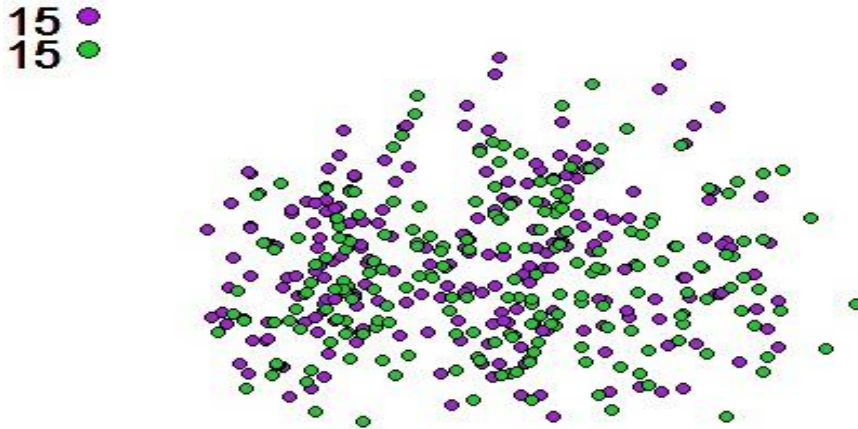
15 ●
15 ●



شكل (84) معدل احداثيات المعالم في الجناح الأيمن لذكور النوعين *D. frontalis* و *D. ciliatus* بعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي والتي عددها 15 معلماً لكل جناح (يمثل اللون البنفسجي نوع الحشرة *D. ciliatus* ، بينما يمثل اللون الأخضر النوع *D. frontalis*) .

يوضح الشكل (84) معدل احداثيات المعالم لـ 30 جناحاً أيمناً في ذكور النوعين *D. ciliatus* و *D. frontalis* بعد المعاملة بمادة MgO النانوية ، وعند إجراء المقارنة بين أجنحة النوعين باستعمال المقياس الهندسي لشكل الجناح وحجمه من خلال وحدة MGO ، وجدَ أنَّ أجنحة ذكور النوع *D. ciliatus* متطابقة مع أجنحة ذكور النوع *D. frontalis* في أغلب المعالم الـ 15 ما عدا المعالم (1 ، 3 ، 6 و 11) والتي لم يحدث بينها تطابق تام ، أنَّ التباين الحاصل في تطابق نقاط المعالم المثبتة على الأجنحة اليمنى لذكور النوعين سببه

التأثير الكبير والواضح للمادة النانوية على أدوار حياة النوعين بحدوث طفرات نقطية جينية في التسلسل التتابعي للجينات المسؤولة عن عملية الطيران ونمو الجناح وهذا بدوره أدى إلى حصول تباين واضح في الشكل المظهري والقياسات الهندسية لشكل الجناح ، وقد أنجزت العديد من الدراسات في هذا الخصوص ومنها الدراسة التي قام بإجرائها Nugnes وآخرون (2018) بخصوص التسجيل الأول لذبابة الفاكهة *Bactrocera dorsalis* في أوروبا ، والمجموعة عيناتها من منطقة كامبانيا جنوب إيطاليا ، إذ قامَ الباحثون باستخدام المقياس الهندسي لشكل الجناح وحجمه عن طريق تثبيت 15 معلماً على تقاطعات العروق الطولية مع العروق المستعرضة ونهاية العروق الطولية في الأجنحة اليمنى للنوع ومقارنتها مع النوع *B. zonata* المتوطن في تلك المنطقة ، إذ لاحظَ الباحثون أنَّ الأجنحة اليمنى للنوعين متطابقة في معظم المعالم عدا 4 معالم لم يحدث فيها تطابق تام ، كما وجدوا أيضاً من الطريقة التي وزعت فيها العينات أنَّ هناك تقارباً كبيراً بين أغلب العينات ، وذكروا أنَّ التباين البسيط الحاصل بين الأنواع سببه تأثر العينات بالعديد من المبيدات الحشرية التي سبق وأن استخدمت في بساتين تلك المنطقة وبالتالي أستطاعوا من خلال تلك الاختلافات تسجيل تواجد النوع *B. dorsalis* فيها .

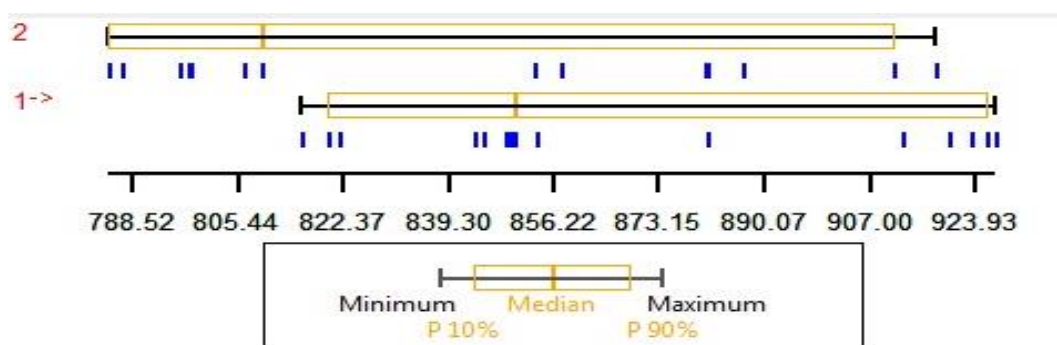


X= from-378.689 to 513.311, Y= from-448.689 to 206.311

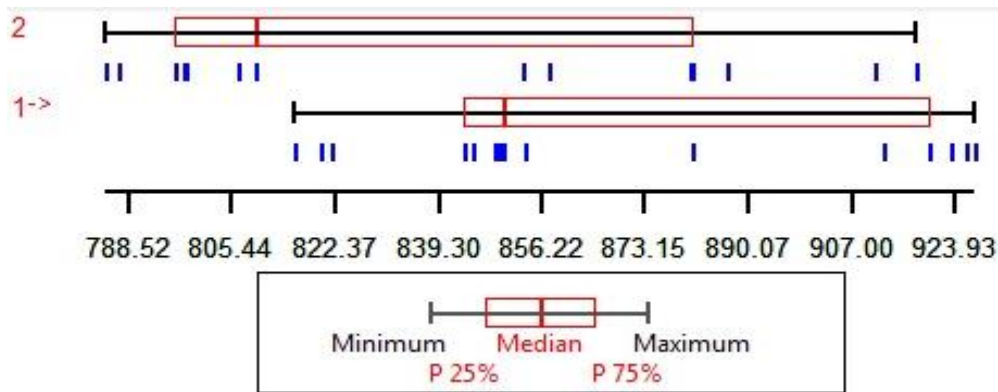
شكل (85) الشكل الانتشاري لتوزيع ذكور النوعين *D. frontalis* و *D. ciliatus* بعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي MgO على طول التحليل العاملي PCs لإحداثيات فضاء الضل المشتقة من احداثيات المعالم الأصلية لكل جناح (يشير اللون البنفسجي إلى النوع *D. ciliatus* واللون الأخضر إلى النوع *D. frontalis*) .

يوضح الشكل (85) الطريقة التي تم بها توزيع ذكور النوعين *D. frontalis* و *D. ciliatus* بعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوية عن طريق تحليل المركبات الأساسية لاحداثيات المعالم الموضوعة على الأجنحة اليمنى لكل نوع بين تقاطعات العروق المستعرضة مع العروق الطولية ونهايات هذه العروق والتي عددها 15 معلماً في كل جناح ، وقد لوحظَ من الطريقة التي وزعت من خلالها العينات ، أنَّ

عينات النوعين القريبة من بعضها يوجد في أجنحتها اليمنى تباين في الشكل والحجم التأثير الواضح للمادة النانوية المستخدمة على أدوار حياة النوعين وهذا التأثير تمثل باختلاف المساحة السطحية للأجنحة فيها ، مما أدى حدوث تباين في قيمة الحجم المركزي للجناح فيهما ؛ ومن الدراسات التي تمت بهذا بخصوص هي الدراسة التي قام بها Cann وآخرون (2015) حول إمكانية استخدام المقياس الهندسي للجناح كأداة لتشخيص أنواع ذبابة الفاكهة *Ceratitis fasciventris*, *Ceratitis anonae* and *Ceratitis rosa* في المناطق التي يكثر فيها استخدام المبيدات الكيميائية للحشرات ، إذ قام الباحثون بتثبيت إحداثيات المعالم والتي عددها 18 معلماً في تقاطعات العروق الطولية مع العروق المستعرضة ونهايات العروق الطولية لـ 227 عينة تمثل الأنواع الثلاثة في تلك الدراسة ، وقد لاحظوا من خلال النتائج وجود فروق إحصائية بسيطة بين عينات النوعين *C. rosa* و *C. anonae*، بينما كانت هناك فروق إحصائية عالية بين هذان النوعان من جهة والنوع *C. fasciventris* من جهة أخرى في قيمة الحجم المركزي للجناح من خلال التشخيص الدقيق لجميع العينات ، وأكدوا من خلال تلك الدراسة أن المقياس الهندسي يمكن أن يكون أداة فعالة في تشخيص أنواع مختلفة من الحشرات وخصوصاً في المناطق التي تستخدم فيها أنواع مختلفة من المبيدات الحشرية كونها تؤثر على القياسات الهندسية لأجنحة تلك الحشرات وبالتالي إمكانية تشخيص أنواعها من خلال تلك الاختلافات .



شكل (86) الحجم المركزي للجناح الأيمن في ذكور النوعين *D. frontalis* و *D. ciliatus* بعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي ، إذ يمثل كل صندوق في الشكل إلى المجموعة الوسطية التي توزعت بين الربع 10% إلى الربع 90% (تمثل الخطوط الزرقاء التي توجد تحت كل صندوق الأجنحة اليمنى ، وتمثل الأرقام 1 و 2 التي في الشكل نوعي الحشرة على التوالي) .



شكل (87) الحجم المركزي للجناح الأيمن في ذكور النوعين *D. frontalis* و *D. ciliatus* بعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي ، إذ يمثل كل صندوق في الشكل إلى المجموعة الوسطية التي توزعت بين الربع 25% إلى الربع 75% ، (تمثل الخطوط الزرقاء التي توجد تحت كل صندوق الأجنحة اليمنى ، وتمثل الأرقام 1 و 2 التي في الشكل نوعي الحشرة على التوالي) .

جدول (34) مقارنة الحجم المركزي للجناح الأيمن بين ذكور النوعين *D. frontalis* و *D. ciliatus* بعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل LC50 لأوكسيد المغنسيوم النانوي .

Specimens	MCs	St.D	Va.	F	P	T	P	A.D
Males (a1)	868.67	39.6	1564.9	a1-a2=	a1-a2=	a1-a2=	a1-a2=	a1-a2=
Males (a2)	837.88	46.4	2151.7	1.4	0.56	1.95	0.06	30.8

M.CS: Mean central size : معدل الحجم المركزي للأجنحة

St.D: Standerd deviation : الانحراف القياسي

Va: Variance : التباين

P: Probability : الاحتمالية

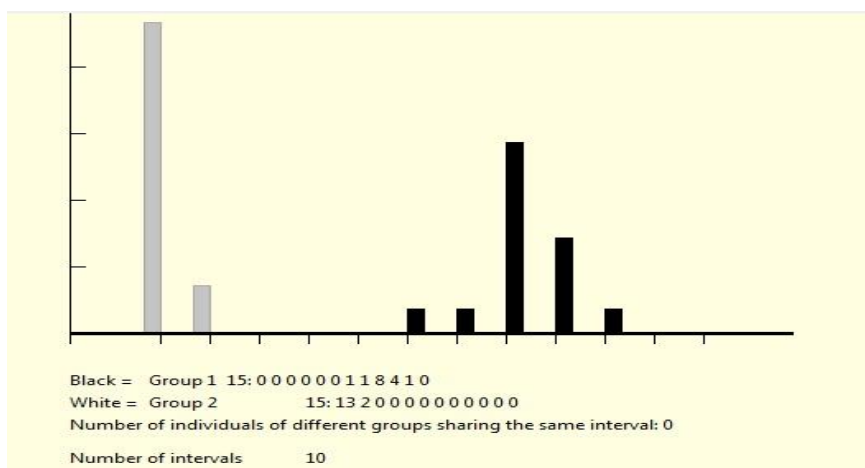
T : قيمة T المحسوبة

A.D: Absolute differences : الاختلافات المطلقة

a1 و a2 : after : بعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي لذكور النوعين

يوضح الشكل (86) نتيجة تحليل التباين في الحجم المركزي للجناح الأيمن في ذكور ذبابة ثمار القرعيات النوعين *D. frontalis* و *D. ciliatus* بعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي ، ويمثل كل صندوق كما هو موضح في الشكل المجموعة الوسطية التي توزعت بين الربع 10 والربع 90 ، وتمثل الخطوط زرقاء اللون الموجودة أسفل كل صندوق إلى الأجنحة اليمنى للنوعين بعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي MgO ، وقد أظهرت النتائج وجود تباين بسيط لكلا النوعين في الحجم المركزي للجناح نتيجة لتأثير المادة النانوية وبشكل أدى إلى اختلاف القياسات الهندسية للجناح في كلا النوعين ؛ كذلك

يوضح الشكل (87) نتيجة تحليل التباين في الحجم المركزي للجناح الأيمن في ذكور النوعين *D. ciliatus* و *D. frontalis* بعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم ، إذ يمثل كل صندوق موجود في الشكل المجموعة الوسطية التي توزعت بين الربع 25 والربع 75 ، ولوحظ أيضاً في هذا الشكل وجود تباين بسيط في الحجم المركزي للجناح الأيمن للنوعين بسبب التغير الحاصل في التسلسل التتابعي للجينات المسؤلة عن عملية الطيران ونمو وتكوين الأجنحة وبالتالي حصول اختلافات في حجم وشكل الجناح كانت واضحة عند القياس ، إذ بلغ معدل الحجم المركزي وكما هو واضح في الجدول (34) للنوعين المدروسين 868.67 و 837.88 على التوالي ، كما بلغت قيمة التباين في الحجم المركزي للجناح الأيمن لهما 1564.9 و 2151.7، علماً أنه قد تم استعمال اختباري T و F في هذه الدراسة للمقارنة بين عينات نوعي الحشرة بعد المعاملة بالمادة النانوية من ناحية الحجم المركزي للجناح الأيمن ، وعند القيام بإجراء المقارنة وجد أن قيمة $F = 1.4$ وقيمة $P = 0.56$ بينما قيمة $T = 1.95$ وقيمة $P = 0.06$ ، أما قيمة الاختلاف المطلق AD فكانت تساوي 30.8 ، إذ يتضح من خلال النتائج أن هنالك فروقاً إحصائية بسيطة بين عينات النوعين بعد المعاملة بالمادة النانوية ، وعند الرجوع إلى الدراسات السابقة في هذا المجال ، ومنها الدراسة التي قام بإجرائها Castaneda وآخرون (2015) بخصوص الاختلافات الهندسية لأحد أنواع ذباب الفاكهة *Anastrepha oblique* في كولومبيا وبعض مناطق جنوب المكسيك وعدة بلدان في أمريكا الجنوبية وجزر البحر الكاريبي ، إذ قام الباحثون بدراسة الجانب الوراثي الكمي من خلال تثبيت 15 من إحدائيات المعالم في الجناح الأيمن لـ 341 عينة تمثل 11 مجموعة سكانية ، وقاموا كذلك بإجراء التحليل التمييزي للعينات ، حيث وجدوا أن هناك تغيّراً بسيطاً بين الأنواع المدروسة في شكل الجناح وحجمه للعينات المجموعة من عدة مناطق في كولومبيا ، بينما وجدوا أن هناك تباين كبير من ناحية القياسات الهندسية للجناح بين العينات المجموعة من جنوب المكسيك والبرازيل والبيرو ، وذكروا أن السبب الرئيسي في هذا التغير هو الآثار التي خلفتها طرق مكافحة المختلفة والمستخدم في البلدان التي جمعت منها عينات الدراسة على الأجيال اللاحقة للنوع .



شكل (88) التحليل التمييزي لإحداثيات معالم الأجنحة اليمنى في ذكور النوعين *D. frontalis* و *D. ciliatus* بعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل LC50 لأوكسيد المغنسيوم النانوي (تمثل الأعمدة البيانية ذات اللون الأسود والأبيض عينات النوعين التوالي) .

جدول (35) مقارنة مسافات مهالانوبز لذكور النوعين *D. frontalis* و *D. ciliatus* بعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي .

Specimens	Males (a)	Males (a)
Males (a)	0.00	
Males (a)	11.92	0.00

جدول (36) تحليل التباين ANOVA لتمثيل شكل الجناح الأيمن لذكور النوعين *D. frontalis* و *D. ciliatus* بعد المعاملة بمادة أوكسيد المغنسيوم النانوي .

Source	SS	DF	MS	F	Significant
Model	0.0004	3	0.00142	1.29	0.2991
Individual	0.0001	1	0.00079	0.73	0.4028
Side	0.0003	1	0.00346	3.16	0.0882
Side*i	0.0000	1	0.00000	0.00	0.9944
Residue	0.00026	24	0.00109		

جدول (37) تحليل التباين ANOVA لتماثل حجم الجناح الأيمن لذكور النوعين *D. ciliatus* و *D. frontalis* بعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي .

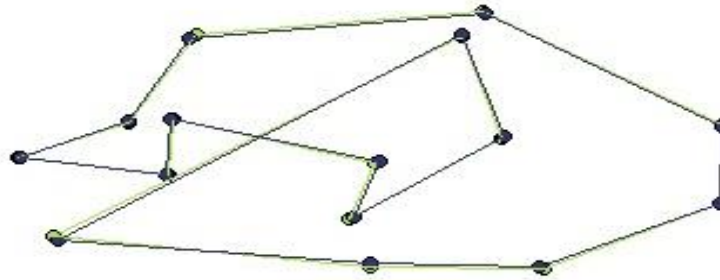
Source	SS	DF	MS	F	Significant
Model	0.0029	78	0.000037	0.97	0.5435
Individual	0.0006	26	0.000023	0.61	0.9398
Side	0.0013	26	0.000051	1.32	0.1349
Side*i	0.0010	26	0.000038	1.00	0.4673
Residue	0.0240	624	0.000038		

يوضح الشكل (88) التحليل التمييزي لذكور النوعين *D. ciliatus* و *D. frontalis* بعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي ، إذ بينت النتائج وبشكل واضح في الجدول (35) أن مسافة مهالانوبز بين الحجم المركزي لأجنحة في ذكور النوعين *D. ciliatus* و *D. frontalis* بعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي هي 11.92 ، وعند إعادة التصنيف بالاستناد إلى النسبة المئوية لذكور النوعين بعد المعاملة بالمادة النانوية وباستعمال وحدة PAD ، واستناداً إلى تطابق الأجنحة اليمنى لعينات النوعين فقد وجد أن نسبة التصنيف في عينات النوع *D. ciliatus* 86% وفي عينات النوع *D. frontalis* 82% ، وهذا يعني أن شكل وحجم الجناح الأيمن في النوع *D. ciliatus* أكبر بقليل مما هو عليه في النوع *D. frontalis* ، وعند إعادة التصنيف مرة أخرى لذكور النوعين اعتماداً على تطابق الأجنحة اليمنى ومسافة مهالانوبز وجد أن النسبة المئوية للتصنيف في النوعين تساوي 87% وهي تعني أن 26 جناحاً من المجموع الكلي لعينات النوعين والذي يساوي 30 جناحاً كانت متطابقة بنسبة 100% ، أن السبب الرئيسي للتباين الحاصل بين ذكور النوعين بعد المعاملة هو تأثير مادة أوكسيد المغنسيوم النانوي على أدوار حياة النوعين حيث ظهر هذا التأثير واضحاً من خلال اختلاف قيم القياسات الهندسية للجناح ، ويوضح الجدولين (36 و 37) تحليل التباين ANOVA لتماثل شكل وحجم الجناح الأيمن لذكور النوعين *D. ciliatus* و *D. frontalis* بعد المعاملة بالمادة النانوية ، وتم إجراء المقارنة بين عينات الأجنحة المأخوذة من كلا النوعين عن طريق استخدام وحدة ASI ، ومن خلال هذه الوحدة نستطيع تشخيص التغيرات الموجودة في شكل الجناح وحجمه بين النوعين ، وقد ظهر من خلال نتائج التحليل وكما هو موضح في الجدولين (35 و 36) عدم وجود فروق معنوية عالية في حجم الجناح الأيمن لكلا النوعين مع وجود تغير بسيط في تماثل شكل الجناح الأيمن لكليهما ، ومن خلال هذه النتائج ظهر أن نسبة التماثل في شكل الجناح وحجمه للنوعين تساوي 81% وهذه النسبة تشير إلى التقارب الكبير بين النوعين ، أما الأسباب الرئيسية للتباين البسيط بينها قد

يرجع إلى تأثيرها بالمادة MgO النانوية على عينات النوعين بشكل طفرات وراثية في التسلسل النيوكليوتيدي لجينات النواة والميتوكوندريا المسؤولة عن عملية الطيران ونمو وتكوين الأجنحة في الحشرات وبالتالي حدوث تباين واضح في حجم الأجنحة بين الأنواع ، وقد أجريت الكثير من البحوث والدراسات الخاصة باستعمال هذه التقنية ومنها الدراسة التي قام بها Tatsuta وآخرون (2018) بخصوص استخدام المقياس الهندسي لدراسة التنوع الوراثي الكمي في ذبابة ثمار الزيتون النوع *Bctrocera oleae* المجموعة عيناتها من عدة قرى في شمال وجنوب الهند ، إذ قام الباحثون بتثبيت 14 على تقاطعات العروق المستعرضة مع العروق الطولية للجناح الأيمن ونهايات العروق الطولية لـ 180 عينة ، ولحظ من خلال النتائج أن شكل الجناح وحجمه لعينات الشمال أكبر عما هو عليه في عينات الجنوب ، وذكروا من خلال طريقة توزيع العينات وجود تغاير واضح بينها بشكل تقارب بعض العينات من بعضها وتباعد بعضها الآخر ، وذكروا أن سبب ذلك التغاير يرجع إلى التباين الحاصل في الظروف البيئية وخصوصاً درجة الحرارة لجنوب وشمال الهند والتي أدت إلى هذا التنوع .

8-1-3-4 المقارنة الوراثية الكمية في شكل الجناح وحجمه بين إناث النوعين *D. frontalis* و *D. ciliatus* بعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل LC50 لأوكسيد المغنسيوم النانوي

15 ●
15 ●



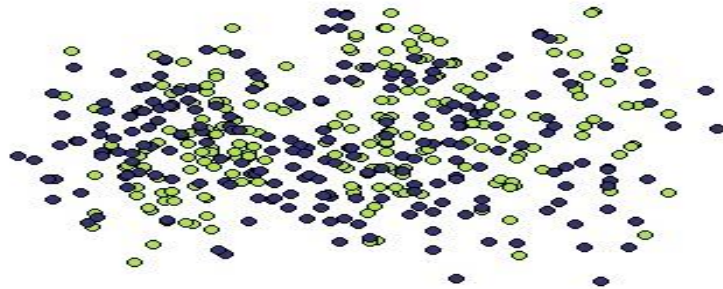
X= from -0.364 to 0.406, Y= from -0.156 to 0.186

شكل (89) معدل احداثيات المعالم في الجناح الأيمن لإناث ذبابة ثمار القرعيات النوعين *D. frontalis* و *D. ciliatus* بعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي (يمثل اللون الأخضر عينات النوع *D. ciliatus* ، بينما يمثل اللون الأزرق عينات النوع *D. frontalis*) .

يوضح الشكل (89) معدل احداثيات المعالم لـ 30 جناحاً أيمن لإناث ذبابة ثمار القرعيات النوعين *D. frontalis* و *D. ciliatus* بعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل LC50 لأوكسيد المغنسيوم النانوي MgO ، وعند إجراء المقارنة بينهما باستعمال المقياس الهندسي لشكل الجناح وحجمه من خلال الوحدة MGO ، وجد أن

أجنحة إناث النوعين *D. frontalis* و *D. ciliatus* متطابقة في أغلب المعالم المثبتة باستثناء المعالم (1 ، 5 ، 7 و 15) والتي لم يحصل بينها تطابق تام ، أن الاختلاف الذي نتج عنه عدم تطابق نقاط المعالم المثبتة على الأجنحة اليمنى لإناث النوعين سببه تأثير جميع أدوار الحشرة ولكلا النوعين نتيجة المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي والذي استُخدم في معاملة العينات مختبرياً ، إذ أدى استعمال MgO النانوي إلى حدوث اختلاف واضح في الشكل المظهري للجناح نتيجة لاختلاف القياسات الهندسية له ، وهناك العديد من الدراسات التي أجريت في هذا الخصوص ومنها الدراسة التي قام بها Dogac وآخرون (2015) حول دراسة التوزيع الجغرافية وترددات أليالات الحشرة المقاومة لمبيد الفوسفات العضوية والتغيرات الهندسية للأجنحة في العديد من المجاميع السكانية المختلفة لذبابة ثمار الزيتون النوع *Bactrocera oleae* باستخدام المقياس الهندسي لشكل الجناح وحجمه بعد تشخيص الطرز الوراثية للنوع في الحقول والبساتين التابعة لمناطق جغرافية واسعة في تركيا ، ومن خلال معدل إحداثيات المعالم لـ 14 جناحاً أيمن والتي قام الباحثون بتثبيتها على تقاطعات العروق الطولية مع العروق المستعرضة للأجنحة اليمنى في عينات النوع ونتائج التحليل التمييزي لـ 180 عينة وجدوا أن هناك تغيّراً بسيطاً تمثل في عدم تطابق بعض إحداثيات المعالم بين عينات المجاميع السكانية للحشرة وحدوث تطابق تام بين إحداثيات المعالم للأجنحة داخل المجموعة السكانية الواحدة ، وقد ذكروا أيضاً أن هناك فروقاً إحصائية بسيطة في شكل الجناح وحجمه عند إجراء تحليل التباين ANOVA للعينات ، وأن سبب هذا التغير يرجع إلى التباين في توزيع أليالات المقاومة لتأثير المبيدات الحشرية بين عينات المجاميع السكانية لذلك كان هناك تباين في تأثير المبيدات على تلك العينات .

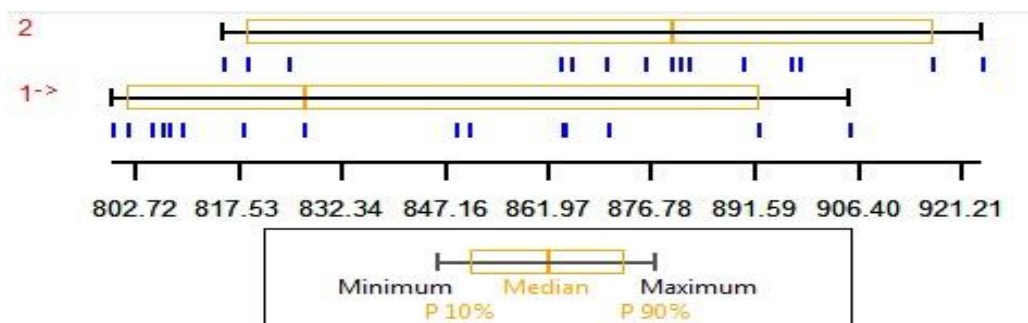
15 ●
15 ●



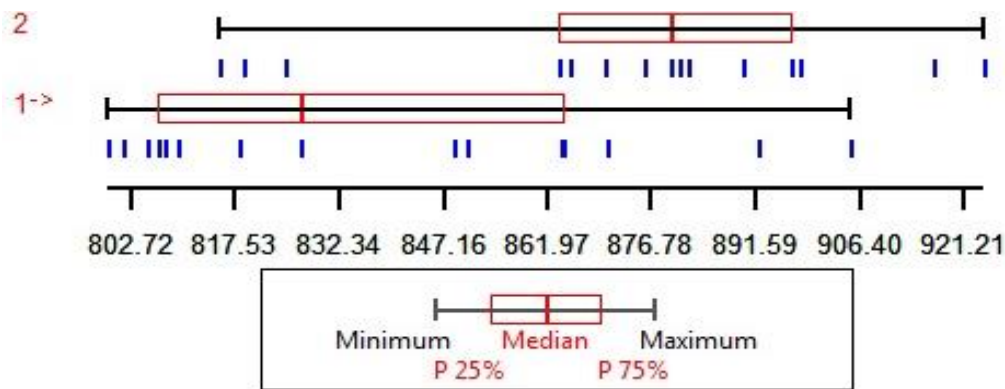
X= from -409.176 to 478.824, Y= from -456.176 to 128.824

شكل (90) الشكل الانتشاري لتوزيع إناث النوعين *D. frontalis* و *D. ciliatus* بعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي على طول التحليل العاملي PCs لإحداثيات فضاء الضل المشتقة من احداثيات المعالم الأصلية لكل جناح (يمثل اللون الأخضر عينات النوع *D. ciliatus* ، بينما يمثل اللون الأزرق عينات النوع *D. frontalis*) .

يبين الشكل (90) الطريقة التي تم من خلالها توزيع إناث ذبابة ثمار القرعيات النوعين *D. ciliatus* و *D. frontalis* عن طريق تحليل المركبات الأساسية لإحداثيات المعالم الموضوعة على الأجنحة اليمنى لكل نوع ، وقد لوحظ من الأسلوب المتبع في توزيع العينات وكما مبين في الشكل (90) أن عينات النوعين القريبة من بعضها يوجد في أجنحتها اليمنى تباين في الشكل والحجم كونها تعود إلى نوعين مختلفين فضلاً عن التأثير الكبير والواضح للتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي على عينات النوعين من خلال حدوث طفرات نقطية مختلفة في التسلسل النيوكليوتيدي للجينات المسؤولة عن عملية الطيران ونمو الأجنحة وهذا بدوره أدى إلى تباين واضح في المساحة السطحية لأجنحة العينات في كلا النوعين ، ومن الدراسات السابقة التي تمت في هذا المجال الدراسة التي قام بأنجازها Perre وآخرون (2014) بخصوص التمييز الهندسي لمجموعة من أنواع ذبابة الفاكهة *Anastrepha fraterculus* group والتي جمعت عيناتها من شمال وجنوب إيطاليا ، وقد قام الباحثون بتثبيت 18 معلماً في الجناح الأيمن لـ 240 تمثّل عدة أنواع فرعية تابعة لذبابة الفاكهة النوع أعلاه ، كما قاموا بإجراء التحاليل الإحصائية عن طريق البرنامج الجاهز والمستخدم في دراستنا هذه وتوصلوا من خلال نتائج تلك الدراسة إلى وجود تباين واضح تمثل في عدم تطابق معظم إحداثيات المعالم ولاحظوا أن الكثير من العينات بعيدة عن بعضها ، وذكروا أن السبب المباشر لهذا التباين هو اختلاف كمية الغذاء التي تتناولها الحشرات في المناطق التي تتواجد فيها تلك الأنواع .



شكل (91) الحجم المركزي للأجنحة اليمنى في إناث النوعين *D. frontalis* و *D. ciliatus* بعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي ، ويشير الصندوقين في الشكل إلى المجموعة الوسطية الموزعة بين الربع 10% والربع 90% (تمثل الخطوط ذات اللون الأزرق الموجودة أسفل كل صندوق الأجنحة اليمنى لعينات كل نوع ، كذلك تشير الأرقام 1 و 2 الموجودة في الشكل عينات النوعين المعاملة على التوالي) .



شكل (92) الحجم المركزي للأجنحة اليمنى في إناث النوعين *D. ciliatus* و *D. frontalis* بعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي ، ويشير الصندوقين في الشكل إلى المجموعة الوسطية الموزعة بين الربع 25% والربع 75% (تمثل الخطوط ذات اللون الأزرق الموجودة أسفل كل صندوق الأجنحة اليمنى لعينات كل نوع ، كما تمثل الأرقام 1 و 2 في الشكل عينات النوعين المعاملة على التوالي) .

جدول (38) مقارنة الحجم المركزي للجناح الأيمن بين إناث النوعين *D. ciliatus* و *D. frontalis* بعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل LC50 لأوكسيد المغنسيوم النانوي MgO .

Specimens	MCs	St.D	Va.	F	P	T	P	A.D
Females (a1)	834.40	33.4	1113.2	a1-a2=	a1-a2=	a1-a2=	a1-a2=	a1-a2=
Females (a2)	873.04	31.1	964.9	1.2	0.79	2.9	0.01	33.64

M.Cs: Mean central size : معدل الحجم المركزي للأجنحة

St.D: Standard deviation : الانحراف القياسي

Va.: Variance : التباين

F: قيمة F المحسوبة

P: Probability : الاحتمالية

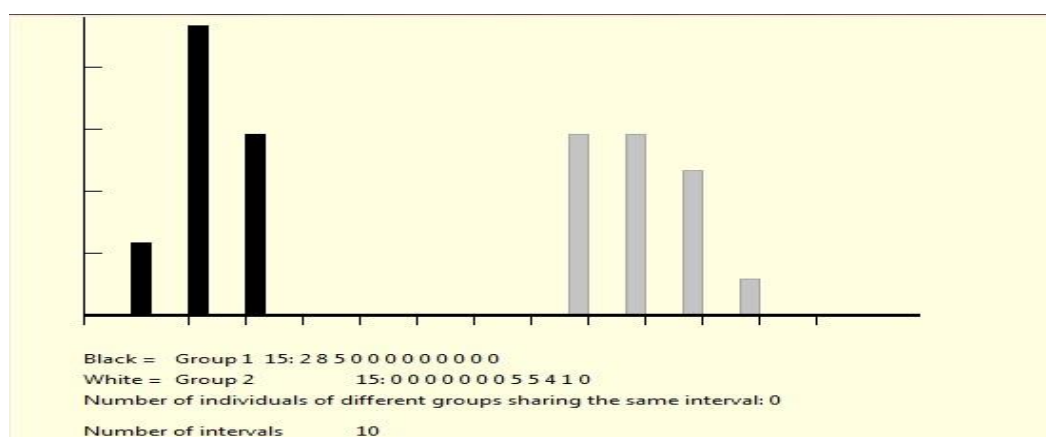
T: قيمة T المحسوبة

A.D: Absolute differences : الاختلافات المطلقة

D. ciliatus (a1): إناث النوع بعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي : *Female D.*
frontalis (a2) إناث النوع بعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي

يوضح الشكل (91) نتائج للتباين الحاصل في الحجم المركزي للجناح الأيمن في إناث النوعين *D. ciliates* و *D. frontalis* بعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي ، حيث تمثل الصناديق الموجودة في الشكل المجموعة الوسطية الموزعة بين الربع 10% والربع 90% ، وقد وجد من خلال الشكل أن هنالك تغييراً بسيطاً في الحجم المركزي للجناح الأيمن لإناث النوعين نتيجة التأثير الكبير للتركيز نصف القاتل

لأوكسيد المغنسيوم النانوي على أدوار الحياة المختلفة للنوعين . كما يشير الشكل (92) إلى نتائج التباين في الحجم المركزي للجناح الأيمن في إناث النوعين *D. ciliatus* و *D. frontalis* بعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي ، وتمثل الصناديق الموجودة في الشكل المجموعة الوسطية الموزعة بين الربع 25% والربع 75% ، ولوحظ أيضاً وجود تباين بسيط في الحجم المركزي للجناح الأيمن في إناث النوعين بعد المعاملة وسبب هذا التباين يعود إلى تأثير مادة أوكسيد المغنسيوم النانوية على أدوار حياة النوعين بعد معاملتها بتركيز مختلفة من تلك المادة حيث أدى هذا التأثير إلى حصول تباين في قيمة الحجم المركزي للجناح في كلا النوعين نتيجة لإختلاف القياسات الهندسية للجناح فيهما ، إذ بلغ معدل الحجم المركزي وكما هو واضح في الجدول (37) للنوعين 834.40 و 873.04 على التوالي ، كما بلغت قيمة التباين في الحجم المركزي للجناح الأيمن لهما 1113.2 و 964.9 ، علماً أنه قد تم استعمال اختباري F و T في هذه الدراسة للمقارنة بين عينات نوعي الحشرة بعد المكافحة بالمادة النانوية من ناحية الحجم المركزي للجناح الأيمن ، وعند المقارنة وجد أن قيمة $F = 1.2$ وقيمة $P = 0.79$ بينما قيمة $T = 2.9$ وقيمة $P = 0.01$ ، أما قيمة الاختلاف المطلق AD فكانت تساوي 33.64 ، وقد أظهر التحليل الإحصائي وجود فروقاً معنوية قليلة بين عينات النوعين قبل المعاملة بأي مادة نانوية ؛ ومن الدراسات السابقة التي أنجزت بهذا الخصوص الدراسة التي أجريت من قبل Sontigun وآخرون (2017) والمتعلقة باستخدام المقياس الهندسي لشكل الجناح وحجمه كأداة لتشخيص أنواع الذباب الأزرق Blow flies في تايلاند ، إذ توصل الباحثون في تلك الدراسة بعد إجراء التحاليل اللازمة ومن خلال تثبيت 14 معلماً في الجناح الأيمن لجميع عينات الدراسة (180 عينة) وملاحظة الطريقة التي تم فيها توزيع العينات أن هناك تغيّراً كبيراً بين العينات المدروسة تمثل في عدم تطابق أغلب إحداثيات المعالم الـ 14 وتباعد الكثير من العينات وأختلاف كبير في شكل وحجم الجناح للعينات المجموعة من الأحياء الشرقية عما هو عليه في العينات المجموعة من الأحياء الغربية للمدينة ، وذكروا أن السبب الرئيسي لذلك التغير هو اختلاف كمية الغذاء الذي تحصل عليه الحشرات في المناطق التي تتواجد فيها ، إذ أن المناطق الشرقية تكثر فيها تربية الحيوانات الداجنة والتي تعتبر مكاناً ملائماً لوجود الكثير من أنواع الذباب الأزرق .



شكل (93) التحليل التمييزي لإحداثيات المعالم في الأجنحة اليمنى لإناث النوعين *D.ciliatus* و *D.frontalis* بعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل وأوكسيد المغنسيوم النانوي (تمثل الأعمدة البيضاء ذات اللون الأسود عينات النوع *D. ciliatus* ، بينما تمثل الأعمدة البيضاء ذات اللون الأبيض عينات النوع *D. frontalis*).

جدول (39) مقارنة مسافة مهالانبوز لإناث النوعين *D. ciliatus* و *D. frontalis* بعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي MgO .

Specimens	Females (a)	Females (a)
Females (a)	0.00	
Females (a)	9.84	0.00

جدول (40) تحليل التباين ANOVA لمتماثل شكل الجناح الأيمن في إناث النوعين *D. و D.ciliatus* *frontalis* بعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل LC50 لأوكسيد المغنسيوم النانوى .

Source	SS	DF	MS	F	Signification
Modal	0.0000	3	0.000011	0.30	0.8255
Indivudial	0.0000	1	0.000009	0.26	0.6144
Side	0.0000	1	0.000011	0.31	0.5847
Side*i	0.0000	1	0.000012	0.33	0.5707
Residue	0.0008	24	0.000035		

جدول (41) تحليل التباين ANOVA لتماثل حجم الجناح الأيمن في إناث النوعين *D. ciliatus* و *D. frontalis* بعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل LC50 لأوكسيد المغنسيوم النانوى .

Source	SS	DF	MS	F	Signification
Modal	0.0048	78	0.000062	2.26	0.0000
Indivudial	0.0018	26	0.000070	2.58	0.0000
Side	0.0024	26	0.000094	3.44	0.0000
Side*i	0.0005	26	0.000021	0.76	0.7970
Residue	0.0170	624	0.000027		

يوضح الشكل (93) التحليل التمييزي للأجنحة اليمنى في إناث ذبابة ثمار القرعيات النوع *D. ciliatus* و *D. frontalis* بعد المعاملة بالتركيز نصف القاتل لأوكسيد المغنسيوم النانوي ، حيث أُسْتُعْمِلَ هذا النوع من التحاليل في جميع الدراسات الخاصة بالمقارنة بين الأفراد التي تنتمي لنفس الجنس كما هو الحال في هذه الدراسة والتي استخدم فيها 30 جناحاً أيمن بواقع 15 جناحاً لعينات النوع *D. ciliatus* و 15 لعينات النوع *D. frontalis* ؛ وقد أظهرت النتائج النهائية لهذا التحليل أن معدل الحجم المركزي للجناح الأيمن لإناث النوعين *D. ciliatus* و *D. frontalis* يساوي 834.40 و 873.04 على التوالي ، كما بينت النتائج أيضاً أن مسافة مهالانبور الموضحة في الجدول (38) بين الحجم المركزي للأجنحة اليمنى في عينات إناث النوعين تساوي 9.84، وعند القيام بإعادة عملية التصنيف استناداً إلى النسبة المئوية لإناث النوعين وباستعمال الوحدة PAD واستناداً أيضاً لتطابق الأجنحة اليمنى لعينات النوعين المعاملة بمادة MgO النانوية يوجد أن نسبة التصنيف كانت تساوي 78% و 72% على التوالي ، وهذا يعني أن الجناح الأيمن في عينات النوع *D. frontalis* أقل مما هو عليه في حالة عينات النوع *D. ciliatus* ، وعند القيام بإعادة التصنيف مرة أخرى لجميع العينات استناداً إلى التطابق الحاصل بين الأجنحة اليمنى ومسافة مهالانبور وجد أن النسبة المئوية للتصنيف فيها قد بلغت 87% أي أن 26 فرداً من 30 حدث بينها تطابق تام ، أن السبب المباشر للتباين الحاصل بين عينات النوعين يعود إلى تأثير المادة النانوية على أدوار حياة الحشرة حيث ظهر هذا التأثير واضحاً من خلال اختلاف قيمة الحجم المركزي للجناح في عينات كلا النوعين ، ويوضح الجدولين (39 و 40) لتحليل التباين ANOVA في تماثل شكل الجناح الأيمن وحجمه لإناث النوعين *D. ciliatus* و *D. frontalis* بعد المعاملة بالمادة النانوية بواسطة الوحدة ASI والتي يتم عن طريق استعمالها معرفة إذا ما كان هناك تباين في شكل الجناح وحجمه ، وجد أن هناك فروقاً معنوية بسيطة بين عينات النوعين نتيجة لتأثير المادة النانوية المستخدمة عليها من خلال التباين المظهري الواضح في القياسات الهندسية للجناح ، وهناك العديد من الدراسات التي أجريت في هذا المجال ومنها الدراسة التي تمت من قبل Yee وآخرون (2011) بخصوص استخدام المقياس الهندسي في تحليل شكل الجناح وحجمه لنوعين من يرقات ذباب التفاح المدجن *Rhagoletis pomonella* and *Rhagoletis zephyria* من عائلة ذباب التفاح المجموعة عيناتها من ثلاثة ولايات أمريكية هي واشنطن وميامي ونيويورك ، وقد استخدم الباحثون في تلك الدراسة 15 معلماً ثبتت على تقاطعات العروق المستعرض مع العروق الطولية ونهايات العروق الطولية للجناح الأيمن في كل نوع علماً أن عدد العينات في تلك الدراسة كان يساوي 214 عينة ، وقاموا بعد ذلك باستخدام التحليل التمييزي للمقارنة بين النوعين ووجدوا من خلال جداول تحليل التباين للشكل والحجم أن الجناح

الأيمن للنوع *R.pomonella* أكبر مما في النوع *R. zephyria* وذكروا أنَّ هذا التباين سببه اختلاف الظروف البيئية كدرجة الحرارة والرطوبة وكمية الأمطار وشدة الرياح فضلاً عن كمية الغذاء في الولايات الثلاثة التي جمعت منها العينات .

الفصل الخامس

الاستنتاجات والتوصيات

Conclusions and Recommendations

5- الاستنتاجات والتوصيات **Conclusions and Recommendations**

1-5 الاستنتاجات **Conclusions**

1- وجود تغاير وراثي جزئي بشكل طفرات نقطية متنوعة تشمل طفرات الحذف والاستبدال في بعض القواعد النيتروجينية لعينات نوعين من ذبابة ثمار القرعيات وهما *Dacus ciliatus* (Lewo) و *Dacus frontalis* (Becker) عند دراسة التسلسل التتابعي لأثنين من جينات دنا النواة وهي CAD و EF1-alpha وجين واحد فقط من دنا المايكوندريا وهو الجين COI بالمقارنة مع عينات معامل السيطرة وعينات بنك الجينات .

2 - وجود تنوع وراثي كمي في شكل الجناح وحجمه لذكور وإناث ذبابة ثمار القرعيات النوعين *D. ciliatus* و *D. frontalis* .

3 - وجد أن المواد النانوية الممزوجة مع المبيد الحشري الاعتيادي لها تأثير كبير جداً على بعض الأدوار الحياتية لذبابة ثمار القرعيات ولكلا النوعين *D. ciliatus* و *D. frontalis* .

4 - لوحظ أن الدقائق النانوية Nanoprticles لها سُمية عالية وتمتلك القدرة على النفاذ من الجزء الصلب لجسم الحشرة والمتمثل بطبقة الكيوتكل وكيس العذراء فضلاً عن تأثيرها على الجهازين التنفسي والهضمي للحشرة عند المعاملة بها .

2-5 التوصيات Recommendation

- 1 - إجراء دراسة وراثية جزيئية شاملة وموسعة لمعظم أنواع الجنس *Dacus sp.* من خلال دراسة التسلسل التتابعي لجينات أخرى من دنا النواة لما لهذا الجنس من أهمية إقتصادية كبيرة جداً .
- 2 - إجراء مقارنة وراثية جزيئية وكمية شاملة بين النوعين المدروسين وأنواع أخرى مختلفة تعود لنفس الجنس باستعمال تقنية المقياس الهندسي Geometric morphometric لغرض التعرف على درجة التقارب الوراثي بينها وبين الأنواع الأخرى لجنس *Dacus sp.* .
- 3 - التأكيد على أقسام مكافحة للآفات في الدوائر الزراعية كافة على إقامة الندوات التثقيفية والإرشادية للفلاحين ليتم التأكيد من خلالها على أتباع تعليمات السلامة المختبرية والمهمة جداً عند مكافحة باستعمال المبيدات الكيميائية وخصوصاً المواد النانوية لأن سميتها عالية ولها خطورة علي حياة الإنسان والحيوان .
- 4 - قياس سمية المواد النانوية المستخدمة في المختبر قبل المباشرة باستخدامها في مكافحة الآفات الحشرية لما لها من خطورة على حياة الإنسان والحيوان والنبات ، كذلك الحذر عند تحضيرها في المختبر لأن آثارها تظهر بعد فترة من قصيرة من دخولها إلى الجسم (تأثيرها البعيد الأمد على الكائنات غير المستهدفة) .
- 5 - يمكن استعمال طرائق قياس التعبير الجيني لبعض الجينات المنتجة باستعمال تقانة PCR .
- 6 - اختيار الجينات التي لها علاقة بالمظهر ومنها جينات التكوين الجيني في الحشرة لأي دراسة مستقبلية .
- 7 - يمكن إجراء التجارب السمية الوراثية الخلوية والجزيئية على الحشرات بعد تعريضها لتراكيز من المواد النانوية

المصادر

References

أولاً : المصادر العربية :

- أشرف ، محمد علي . 2016 . مقدمة للمواد النانوية ، قسم الحاسبات وأنظمة التحكم ، كلية الهندسة ، جامعة المنصورة ، مصر ص : 1 - 12 .
- الأسكندراني ، محمد شريف . 2010 . تكنولوجيا النانو من أجل غداً أفضل ، مجلة عالم المعرفة ، العدد 374 .
- التميمي ، حسين محمد بريسم . 2016 . دراسة العلاقة الوراثية الجزيئية والكمية بين ثلاثة مجتمعات سكانية لذبابة الدودة الحلزونية للعالم القديم (*Chrysomya bezziana* (Vill, 1914) (Diptera: Calliphoridae) في العراق ، رسالة ماجستير ، كلية التربية للعلوم الصرفة – جامعة ديالى ، العراق .
- التميمي ، حسين محمد بريسم والقره غولي ، عمار أحمد سلطان . 2018 . دراسة العلاقة الوراثية الكمية بين ثلاثة مجموعات سكانية لذبابة الدودة الحلزونية للعالم القديم (*Chrysomya bezziana* (Vill) (Diptera: Tephritidae) باستخدام المقياس الهندسي لشكل الجناح وحجمه ، مجلة ديالى للعلوم الزراعية 10 (2) ، 1-14 .
- الساعدي ، عباس خماس . 2020 . النانو تكنولوجيا ، مكتبة اليمامة للطباعة والنشر والتوزيع ، الطبعة الأولى .
- الشالجي ، حسنين يوسف والجوراني رضا صكب . 2017 . تقييم كفاءة بعض العوامل الأحيائية كأحد عناصر الإدارة المتكاملة لمكافحة ذبابة ثمار القرعيات (*Dacus ciliatus* (Leow) وذبابة ثمار البطيخ الكبرى (*Dacus frontalis* (Becker) على محصول الخيار . مجلة العلوم الزراعية العراقية 48 (6): 1772-1765 .
- الشمري ، أحمد جاسم محمد ، حمد ، باسم شهاب ، العكيلي ، رياض علي ، الطويل ، أياد أحمد ، خلف ، محمد زيدان وعبد أحمد عريبي . 2015 . نمط بزوغ بالغات ذبابة ثمار القرعيات (*Dacus ciliatus* (Loew) (Diptera: Tephritidae) . مركز مكافحة المتكاملة- دائرة البحوث الزراعية- وزارة العلوم والتكنولوجيا ، بغداد/العراق ، المجلة العراقية للتقانات الأحيائية ، 14(2): 356-368 .
- الشمري ، أحمد جاسم ، العراوي ، عامر جاسم ، حمد ، باسم شهاب و العكيلي ، رياض علي . 2017 . مكافحة المتكاملة لذبابة ثمار القرعيات (*Dacus ciliatus* . مجلة الأنبار الزراعية ، مجلد 15 (عدد خاص بالمؤتمر) : 582-593 .

- الصخابرة ، شعاع أحمد . 2014 . المواد النانوية وتطبيقاتها ، جامعة الملك سلمان بن عبد العزيز ، كلية العلوم والدراسات الإنسانية ، قسم الكيمياء ، المملكة العربية السعودية ، ص : 1-27 .
- العزاوي ، بدر ، برخي ، جورج سيمون والبهادلي ، ليلي جبار . 2006 . مقارنة تأثير أشعة كاما على قابلية طيران كل من ذبابة الدودة الحلزونية للعالم القديم *Chrysomya bezziana*(Vill.) وذبابة ثمار القرعيات *Dacus ciliatus* (Loew). مجلة ديالى الزراعية ، مجلد (22) ، العدد 22 : 1-10 .
- القرعة غولي ، عمار أحمد سلطان . 2013 . دراسة وراثية ووراثية خلوية لثلاث مجتمعات سكانية لذبابة ثمار القرعيات *Dacus ciliatus* (Loew) (Diptera:Tephritidae)، أطروحة دكتوراه ، كلية التربية – جامعة تكريت ، العراق ، ص : 1-181 .
- جواد ، مهدي محمد . 2012 . دراسة تصنيفية مظهرية ووراثية على حشرة ذبابة البحر الأبيض المتوسط *Ceratitis capitata* (Wiedemann,1824) (Diptera: Tephritidae) في بعض من محافظات وسط العراق . أطروحة دكتوراه ، كلية التربية للعلوم الصرفة / ابن الهيثم ، جامعة بغداد ، العراق ، ص : 1-179 .
- حبيب ، أحمد حامد عبد . 2016 . دراسة بعض الخصائص الفيزيائية لأوكسيد المغنسيوم (MgO) النانوي المطعم بأيوني السيريوم والحديد المحضر كيميائياً . رسالة ماجستير ، كلية العلوم/ جامعة ديالى ، العراق ، ص : 1-164 .
- حسين ، جنان قاسم . 2012 . دراسة الاختلافات الوراثية لأنواع نبات الداودي باستخدام مؤشرات DNA النواة ، مجلة جامعة النهري ، 15 : 32-39 .
- حمدان ، فاطمة قاسم . 2016 . دراسة تصنيفية مورفولوجية ووراثية لحشرة ذبابة القرعيات في محافظتي البصرة وميسان ، مجلة كلية التربية / جامعة ميسان ، العراق ، مجلد (34) ، العدد 30 : 36-46 .
- درباله ، علي سليمان حامد وحزمة ، أماني محمد محمود . 2016 . تكنولوجيا النانو وتطبيقات في مجالات عديدة. (الزراعة- تكنولوجيا الغذاء- المياه-البيئة- مكافحة الآفات) ، دار الكتب العلمية ، جامعة القاهرة ، مصر ، ص: 42-56 .

- سكر ، عبد العاطي حميدة محمد والبسومي مبروك عبد المنعم . 2012 . معرفة زراعة الخيار بأسلوب المكافحة المتكاملة لحشرة ذبابة المقات *Dacus ciliatus* في بعض قرى محافظة البحيرة ، مجلة زراعية إقتصادية واجتماعية ، جامعة المنصورة ، مصر : المجلد (3) : العدد 4 : 611-624 .
- علي ، عبد الستار عارف . 2017 . الإدارة المتكاملة للآفات الزراعية ، دار البيروني للطباعة والنشر ، بغداد ، العراق ، ص : 1-234 .
- فليح ، سوسن كريم . 2014 . دراسات اقتصادية لذبابة ثمار القرعيات على خيار الماء *Cucumis sativus* L. وتقييم بعض الطرائق المتكاملة في مكافحتها ، أطروحة دكتوراه ، كلية الزراعة ، جامعة بغداد ، العراق : 1-155 .
- محمد ، عدنان علي . 2015 . تحضير ودراسة بعض الخصائص الفيزيائية لأغشية $[Sn_{1-x}V_xO_2]$ ومسحوقه النانوي . رسالة ماجستير ، كلية العلوم/ جامعة ديالى ، العراق : 1-162 .
- مهدي ، حسن سلمان أحمد . 2000 . دراسات بيئية وحياتية لحشرة ذبابة ثمار القرعيات *Dacus ciliatus* (Loew) (Diptera:Tephritidae) وبعض طرق مكافحتها ، أطروحة دكتوراه ، كلية التربية أبن الهيثم ، جامعة بغداد ، ص : 1-168 .

ثانياً : المصادر الأجنبية :

- Abd-El-Raheem, K.** 2012. Efficacy of some microbial control agents against olive insect pests in Egypt. *Journal of Applied Sciences Research*, 8(7): 3448-3452.
- Aboragheef, A. H. H.** 2013. Identification and ecological studies of cucurbit fly *Dacus frontalis* (Beker,1922) (Diptera: Tephritidae) of some regions of Basrah and Misan Provinces. Thesis submitted to the council of the college of agriculture University of Basrah: as a Partial Fulfillment of, the Requirement for the- thesis of M. Sc. In Agriculture Science (Plant protection) Entomology. pp. 76.
- Al-Jourani, R. S.** 2013. Relative presence of *Dacus frontalis* (Beker) and cucurbitus *Dacus ciliatus* (Loew) on cucumis sativus. *Journal of Mesopotamia*,41(1):88-94.
- Al-Jourani, R. S.,** Al-Zubaidy, H. K. and Fleiah, S. K. 2014. Identification of flies species attack cucumber fruits in Autumn season in the middle of Iraq. *Journal- of the college of basic education*. 20 (82) : 113-120.
- Al-Hussaini, R. M. A.**2016.Unsecure access and lack of safety disposal procedures of Ethidium Bromide in laboratory, of molecular biology in faculty, of Science/ Kufa University. *Iraqi National Journal of Chemistry*. Vol. 16(2): 106-112.
- Al-Saffar, H. H. A. H.** 2011. Taxonomic study of family fruit Tephritidae (Order of Dipter) in some Governorates of Iraq. PhD thesis, college of science University.
- Al-Shalaji, H. Y. A. R.** 2017. Evaluation of some components of intergrated managmnt of cucurbit fly *Dacus ciliatus* (Leow) and watermelon fruit fly *Dacus frontalis* (Beker) (Diptera: Tephritidae), doctoral thesis department of plant protection College of Agriculture, University of Baghdad.
- Ahmed, S.,** Womoaypom, V., Rempoulakis, P., Fontenot, E. A., Haq, I. U. and Caceres, C. 2014. Hypridization and use of grapes as an Oviposition substrate improves the Adaptation of olive fly *Bactrocera oleae* (Diptera:Tephritidae) to artificial rearing conditions. *Int J Ind Entomology*, 29: 198-206.
- Ansari, M.,** Hasan, F. and Ahmad, N. 2012. Threast to fruit and vegetable crops: Fruit flies (Tephritidae)-ecology, behaviour, and management. *Journal of CropScience and Biotechnology*, 15 (3): 169-188.
- Arthurs, S.P.** Aristizabal, L. F. and Avery, P. B. 2013. Evaluation of Entomo pathogenic fungi against chilli thrips, *Scirtothrips dorsalis*. *Journal of insect Sci.* 13: 1-16.
- Asian F F IMP P.** 2012. Field exercise guide on fruit flies integrated pest management. Availableat: <http://ipm.ait.asia>. Accessed 2012 Feb 12.

- Aslam, A.F. M.,** Sultana, S., Rain, F. F., Sarker, S., Das, S. R., Siddika, A. and Howlader, A. J. 2019. Molecular characterization and identification of three grain Pests based on mitochondrial cytochrome C oxidase subunit I (COI) gene sequences. *Bangladesh Journal Zoology*, 47(1): 1-11.
- Asokan, R.** Rebijith, K. B., Singh, S. K., Sidhu, A. S., Siddharthan, S. and Karanth, P. K. 2011. Molecular identification and phylogeny of *Bactrocera* species (Diptera: Tephritidae). *Fla. Entomol*, 94, 1026-1035.
- Athanassiou, C. G.,** Kavallieratos, N. G. and Desneux, N. 2018. Nanoparticles for pest control: current status and future perspectives. *Journal of Pest Science*, 91: 1-15.
- Baco, A. R.** and Cairns, S. D. 2012. Comparing molecular variation to morphological species designations in the deep-sea coral *Narella* reveals new insights into sea-mount coral ranges. *PLoS One*, 7 (9): 1-15.
- Baleba, S. B. S.,** Masiga, D., Torto, B., Weldon, S. W. and Getahun, M. N. 2019. Effect of larval density and substrate quality on the wing Geometry of *Stomoxys calcitrans* L. (Diptera: Muscidae). *Parasites Vectors*, 12:222.
- Behura, S.K.,** Lobo, N. F., Haas, B., Bruyn, B., Lovin, D. D., Shumway, M. F., Puiu, D., Romero-Severson, J., Nene, V. and Severson, D. W. 2011. Complete- sequences of mitochondrial genomes of *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus* and comparative analysis of mitochondrial DNA fragments in the nuclear genomes. *Insect Biochemical molecular biology*, 41. 770-777.
- Bhattacharyya, A.,** Bhaumik, A. Rani, P. U. Mandal and Eidi, T. T. 2010. Nanoparticles A recent approach to insect pest control *African Journal Biotechnology*, 9: 3489-3493.
- Billah, M. K.,** Afreh-Numah, K., Obeng-Ofori, D. and Nyarko, G. 2015. Review of the pest status, economic impact and management of fruit-infesting flies (Diptera: Tephritidae) in Africa. *African Journal of Agricultural Research*, 10: 1488-1498.
- Bomfim, Z. V.,** Lima, K. M., Silva, J. G., Costa, M. A. and Zucchi, R. A. 2011. A morphometric and molecular study of *Anastrepha pickeli* Lim (Diptera: Tephritidae). *Entomol. Vol. 40 No. (5):* 34-46.
- Boontop, Y.,** Schutze, M. K., Clarke, A. R., Cameron, S. L. and Krosch, M. N. 2017. Signatures of invasion: using an integrative approach to infer the spread of melon fly, *Zugodacus cucurbitae* (Diptera: Tephritidae), across Southeast Asia and the Africa. *Biological Invasions*, 19(5): 1597-1619.

-
- Boykin, L. M.,** Schutze, M. K., Krosch, M. N., Chomic, A., Chapman, T. A., Englezou, A., Armstrong, K. F. and Clark, A. R. 2014. Multi-gene phylogenetic analysis of South-east Asian pest members of the *Bactrocera dorsalis* species-Complex (Diptera: Tephritidae) dose not support current. Journal of Applied-Entomology, 138(4): 235-253.
- Bilewitch, J. P.** and Degnan, S. M. 2011. A unique horizontal gene transfer event has provided the octocoral Mitochondrial genome, with an Active Mismatch repair gene that has potential for an unusual self-contained function. BMC Evolution-ary Biology, 11(1): 228-238.
- Bjelis, M.** Radunic, D. Bulic, P. 2013. Pre and post-release quality of sterile *Ceratitis capitata* Males released by an Rmproved Automated ground release Machine. J. Application Entomology, 137: 154-162.
- Brereton, R. G.** 2015. The Mhalanobis distance and its relationship to principal component scores. J. Chemom. 29 (3), 143-145.
- Brian, K. H.** 2010. Evolution: principles and processes. Topics in Biology. Jones and Bartlett Realning, pp. 400, 978-986.
- Cann, J. V.,** Virgilio, M., Jordaens, K. and De Meyer, M. 2015. Wing morphometrics as a possible tool for the diagnosis of the *Ceratitis fasciventris*, *C. anonae*, *C. rosa* complex (Diptera: Tephritidae). Zookeys, 489.
- Castaneda, M. R.,** Selivon, D., Hernandez-Ortiz, V., Soto, A. and Canal, N. A. 2015. Morphometric divergence in populations of *Anastrepha oblique* (Diptera: Tephritidae) from Colombia and some Neotropical locations. Zookeys, 61.
- Catalano, S. A.,** Goloboff, P. A. and Giannini, N. P. 2010. Phylogenetic morphometrics (I): the use of landmark data in a phylogenetic framework. Clad-istics. 26: 539-549.
- Chen, M.,** Chen, P., Ye, H., Yuan, R., Wang, X. and Xu, J. 2015. Flight capacity of *Bactrocera dorsalis* (Diptera: Tephritidae) adult females based on flight mill studies and flight muscle ultrastructure. Journal of Insect Science, 15(1): 201-211.
- Chhilar, J. S.** 2014. Morphometric analysis of taxonomic characters of malaria vector mosquito *Anopheles (Cellia) subpictus* Grassi (Diptera:Culicidae) Journal Entomology and Zoology studies, 2(3): 32-8.

- Cini, A.,** Loriatti, C. and Anfora, G. 2012. A review of the invasion of *Drosophila suzukii* in Europe and draft research agenda for integrated pest management. Bulletin of Insectology, 65: 149-160.
- Cleveland, L. N.,** Pinho, M. A., Abracado, L. G., Esquivel, D. M. S. and Wajnberg, E. 2012. Temporal and preparation , effects in the magnetic nanoparticles , of *Apis mellifera* body parts. J. Magn. Mater. 320(14): 207-210.
- Coletta-Filho, H. D.,** Carlos, E. F. and Alves, K. C. S. 2010. In plant multiplication and graft transmission of *Candidatus Liberbacter asiaticus* revealed by real-timePCR. Eur Journal Plant Pathol, 126: 53-60.
- Combey, R.,** Teixeira, J. S. G., Bonatti, V., Kwapong, P. and Franco, T. M. 2013. Geometric morphometric reveals morphological differentiation within four Afr-can stingless bee species. Ann. Bio. Res., 4: 93-103.
- De Meyer, M.,** Mwatawala, M., Copeland, R. S. and Virgilio, M. 2016. Description of new *Ceratitis* species (Diptera: Tephritidae) from Africa, or how morphology and DNA data are complementary in discovering unknown species and matching sexes. European Journal of Taxonomy, 233: 1-23.
- De Vries, P. J.,** Penz, C. M. and Hill, R. A. 2010. Vertical distribution, flight behaviour and evolution of wing morphology in Morphology butterflies. Journal of Animal Ecology. 76: 417-435.
- Dhivya, R.,** and Manimegalai, K. 2013. Wing shape analysis of the *Japanese encephalitis* Vector , *Culex gelidus* (Diptera: Culicidae). at the Foothill of Southern Western Ghats, India. World Journal Zoology, 8(1): 119-25.
- Dogac, E.,** Kandemir, I. and Taskin, V. 2015. Geographical distribution and frequencies of organophosphate resistant Ace alleles and morphometric variations in olive fruit fly populations. Pest management science, 71(11): 1529-1539.
- Dominiak, B. C.** and Nicol, H. I. 2010. Field performance of Lynfield and McPhail traps for monitoring male and female sterile *Bactrocera tryoni* (Froggatt) and-Wild *Dacus newmani* (Perkins). Pest management science, 66(7): 741-744.
- Doorenweerd, C.,** Leblanc, L., Norrbom, A. S., San Jose, M. and Rubinoff, D. 2018. A global Checklist for the 932 Fruit fly , Species in the tribe Dacini (Diptera: Tephritidae). ZooKeys, 730: 19-56.

-
- Dujardin, J. P.**, Kaba, D. and Henry, A. B. 2010. The exchangeability of shape. BMC. Res. Notes, 3: 266.
- Dujardin, J. P.** 2015. CLIC. Collection of landmark for identificatin and characterization. Vesion 97. Morphometrics in medical Entomology. Available 22(3): 124-134.
- Drew, R.A.I.** and Romig, M.C. 2013. Tropical fruit flies (Tephritidae:Dacinae) of South-East Asia Indomalaya to North-West Australasia CAB international wallingford, oxon, GB, 653 PP.
- Ekesi, S.**, Mohamed, S. and Hanna, R. 2010. Rid fruits and vegetables in Africa of notorious fruit flies. Innovation Brief for crop protection, Kenya, P. 1-2 (Brif).
- El-bendary, H. M.** and El-Helaly, A. A. 2013. First record nanotechnology in agricultural: Silica nanoparticles a potential new insecticide for pest control. App. Science. Report, 4 : (3): 241-246.
- Elghadi, E. O.** 2016. Entomopathogenic fungi as a biological control for the greater melon fly *Dacus frontalis* (Becker) (Diptera:Tephritidae). Ph.D. thesis, School of Biology, Faculty of Science Agricultural and Engineering, Newcastle University, United Kingdom, PP. 1-163.
- Eleka, N.**, Hoffmanb, R., Ravivb, U., Resb, R., Ishaayac, I. and Magdassi, S. 2010. Novaluron nanoparticles: Formation and potential use in controlling agricultural insect pests. Colloids and surface a physicochemical and Engineering aspects 372: 66-72.
- El-Harym, Y.** and Belqat, B. 2017. First checklist of the fruit flies of Morocco, including new records (Diptera: Tephritidae). Zookeys, 702: 137-171.
- EPPO.** 2018. PM 7/134 (1) *Dacus ciliatus* (Loew) Bulletin OEPP/EPPO, Bulletin, 48 (3): 425-431.
- Faham, M.**, Zheng, J. and Moorhead, M. 2012. Deep-sequencing approach for minimal residual disease detectionin acute lymphoblastic. Zoology,120(26):5173-5180.
- Fay, H. A. C.** 2012. A. highly effective and selective male lure for *Bactrocera jarvisi* (Tryon) (Diptera: Tephritidae). Australian Journal of Entomology, 51: 189-197.
- Fetoh, B. E. A.** 2016. Molecular, morphological and histological differentiation between the lesser pumpkin fly, *Dacus ciliatus* (Loew) and the greater pumpkin fly, *Dacus frontalis* (Beker). Egyptian Journal of Genetics and Cytology, 38(2), 32-43.

- Flaih, S. K.** 2013. Economic studies of cucurbits fruits flies on *Cucumis sativus* L. and evaluation of some controlling integrated management factors. Ph.D. Thesis in plant protection (Entomology) Dissertation Submitted to the council of the, College of agricultural, University of Baghdad. 65. PP.
- Francoy, T. M., Franco, F. F. and Roubi, D.** 2012. Integrated landmark and Outline-Based Morphometric methods : efficiently Distinguish , species of *Euglossa* , (Hymenoptera, Apidae, Euglossini). *Apidologie* springer verlag, 43(6):609-617.
- Filiz, A., Burcu, O. and Rifat, M.** 2019. A new invasive in Turkey: *Dacus ciliatus* (Loew, 1862) (Diptera: Tephritidae). *Turk. Entomology. Derg.* 43(1): 25-30.
- Froerer, K. M., Peck, S. L., McQuate, G. T., Vargas, R. I., Jang, E. B. and McInnis, D. O.** 2010. Long-distance movement of *Bactrocera dorsalis* (Diptera: Tephritidae) in Puna, Hawaii: How far can they go? *American Entomologist*, 56(2): 88-95.
- Gameel, S. M. M.** 2013. Species composition of pericing-sucking arthropod pests and associated natural enemies inhabiting, cucurbit fields at the new valley in Egypt. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 6: 73-79.
- Garcia, J. L., Angell, C. and Vega, D. M.** 2020. Wing morphometrics for the identification of Nearctic and Palaearctic Piophilidae (Diptera) of forensic - relevance. *Science Direct, Forensic Science International*, 309: 110-192.
- Gibson, J. F., Kelso, S., Jackson, M. D., Kits, J. H., Miranda, G. F. and Skevington, J. H.** 2011. Diptera-specific polymerase chain reaction amplification primers of use in molecular phylogenetic research. *Annals of the Entomological Society of America*, 104(5): 976-997.
- Gutierrez, C. T., Oliveira, T. M. P., Emerson, K. J., Sterlino, B. E. and Mureb sallum, M. A.** 2018. Molecular Phylogeny , of *Culex* subgenus *Melanoconion*-(Diptera: Culicidae) Based on nuclear and Mitochondrial Protein-Coding genes. *R. Soc. open sci.* 5: 171900.
- Hafsi, A., Abbes, K., Harbi, A., Ben Othmen, S., Limem, M., Ksantini, M. and Chermiti, B.** 2015. The pumpkin fly *Dacus frontalis* (Diptera: Tephritidae). *a new Journal Science*, (3): 36-48.
- Hanawi, M. J., Hamad, B. S. and Habeb, A. A.** 2016. Efficacy of some local isolates of *Beauveria bassiana* (Bals.), and *Metarhizium anisopliae* (Met), in controlling of cucurbit fruit fly *Dacus ciliatus*. *European Academic Research*, 4(1): 207-217.

- Heather, J. M.** and Chain, B. 2016. The sequence of sequencers: The history of sequencing DNA. *Genomics*, 107(1): 1-8.
- Hendertchis, K.**, Ahrens, D., Espeland, M. and Steinhage, V. 2010. Image-based species identification of wild bees using convolutional neural networks. *Science Direct, Ecological Informatics*, volume 55, 101017.
- Hixon, J. E.** and Brown, W. M. 2013. A comparison of the small ribosomal RNA genes from the mitochondrial DNA of the Great Apes and Humans: SequenceStructure , Evolution and phylogenetic implication, *Mol. Biol. Evol*, 3, 1-18.
- Ingvarsson, P. K.** and Street, N. R. 2011. Associaton genetics of complex traits in plants. *New Pytol*, 189(4): 909-922.
- Ipek, M.**, Seker, M., Ipek, A. and Gul, M. 2015. Identification of molecular markers associated with fruit traits in olive and assessment of olive core collection with Nucleus markers and fruit traits. *Genetics Molecular Research*, 14: 2762-2774.
- Isabirye, B. E.**, Masembe, C., Nankinga, C., Muyinza, H. and Akol, A. M. 2014. Geometric morphometric of geographic and host-associated population variations of *Bactrocera invadens* in Uganda. *Proceedings of the 9th International Symposium on Fruit Flies of Economic Importance (ISFFEI)*, 155pp.
- Jalali, S. K.**, Ojha, R. and Venkatesan, T. 2015. DNA barcoding for identification of agriculturally important insects. *National Bureau of Agriculturally Important*, (1): 317-330.
- Jamal, S. M. S.**, Rabah, S., Yacoub, H., Hajrah, N. H., Atef, A., Al-Matary, M., Edris, S., Alharbi, M. G., Ganash, M., Mahyoub, J., Al-Hindi, R. R., Al-Gamdi, K. M., Hall, N., Bahieldin, A., Kamli, M. R. and Rather, I. A. 2019. Molecular evolution of cytochrome oxidase-I protein of insects living in Saudi Arabia. *PLoS ONE*, 14(11): 224-336.
- Jayarambabu, N.**, Siva, K. B., Venkateswara and Prabhu, Y. T. 2016. Enhancement of growth in maize by Biogenic Synthesized MGO Nanoparticles. *International Journal of Pure and Applied Zoology*, 4 (3): 262-270.
- Jennie, R. F.**, Adriana, G., Christopher, T. B., Austin, G. D. R., Kelsey, A. G. and Eric, W. T. 2012. Characterization of the Relative Abundance, of the Citrus –Pathogen *Ca. Liberibacter Asiaticus*, in the Microbiome of its Insect vector, *Diaphorina citri* Using High throughput, 16S rRNA Sequencing. *The Open Microbiology Journal*, 6: 29-33.

- Jeong, S. Y.,** Kim, M. J., Kim, J. S. and Kim, I. 2017. Complete mitochondrial genome of the pumpkin fruit fly, *Bactrocera depressa* (Diptera: Tephritidae). Mitochondrial DNA Part B, 2: 210-211.
- Jha, S.,** Rama Devi, A., Kasar, N. and Mukherjee, A. 2016. Fruit flies: A major Challenge in fruits and Vegetable growing and their Export from India-Metting report. Journal of plant protection science, 8(1-2): 7-11.
- Jiang, F.,** Pan, X. and Li, X. 2016. The first complete mitochondrial genome of *Dacus longicornis* (Diptera: Tephritidae) using next-generation sequencing and Mitochondrial genome phylogeny of Dacini tribe. Scientific Reports, 6: 36426.
- Kalia, R. K.** Rai, M. K. and Kalia, S. 2011. Microsatellite markers: an overview of the recent progress in plants. Euphytica, 177(3): 309-334.
- Kandakoor, S. B.,** Rashmi, M. A., Chakravarthy, A. K., Verghese, A. and Kamala Jayanthi, P. D. 2013. Is *Dacus ciliatus* (Loew) also a predominant fruit fly (Diptera: Tephritidae) in North Karnataka. Current Biotica, 7(3): 213-216.
- Kandemir, I.,** Ozkan, A. and Fuschs, S. 2011. Reevaluation, of honeybee (*Apis mellifera*) microtaxonomy A geometric morphometric approach Apidologie, 42(5): 618-627.
- Kanojia, P. C.,** Paingankar, M. S., Patil, A. A., Gokhale, M. D. and Deobagkar, D. N. 2010. Morphometric and allozyme variation in *Culex tritaeniorhynchus* mosquito populations from India. J. Insect Sci., 10(138): 138.
- Karsten, M.,** Addison, P., Jansen van Vuuren, B. and Terblanche, J. S. 2016. Investigating population differentiation in a major African agricultural pest: Evidence from geometric morphometrics and connectivity suggests high invasion potential. Molecular Ecology. 25(13): 3019-3032.
- Karthika, P.,** Krishnaveni, N., Vadivalagan, C., Murugan, K., Nicoletti, M. and Benelli, G. 2016. DNA barcoding and evolutionary lineage of 15 insect pests of horticultural crops in South India. Science Biology, Issue, Pages, 2(3): 156-168.
- Khamis, F. M.,** Masiga, D. K., Mohamed, S. A., Salifu, D., de Meyer, M. and Eksi, S. 2012. Taxonomic identity of the invasive fruit fly pest, *Bactrocera invadens*: concordance in morphometry and DNA barcoding PLoS One, 7(9): 444-862.
- Khodair, Z.T,** Al-Jubbori, M. A., Hassan, A.M., Al-Jubbri M.S. and Sharrad, E. I. 2019. Structural properties of (sn_{1-x} Mg_xO) thin films and optical parameter dependence with gamma ray irradiation. Journal of Electronic Materials, 48(1): 35-52.

- Klingenberg, C.P.** 2011. Morphological an integrated softwar package for geometric morphometrics. *Molecular Ecology. Resour.* 11, 353-357.
- Krosch, M. N.** Schutze, M. N., Armstrong, K. F., Graham, G. C., Yeates, D. K. and Clarke, A. R. 2012. A molecular phylogeny for the tribe Dacini (Diptera:Tephritidae). Systematic and biogeographic implications. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 64: 513-523.
- Kunprom, C.** and Pramula, P. 2016. DNA barcode variability and host plant usage of fruit flies (Diptera: Tephritidae) in Thailand. *Genome*, 59(10): 792-804.
- Kurt, J.**, Floris, C., Breman, M. Backeljau, T. and Meyer, M. D. 2012. Identifying insects with Incomplete DNA barcode . Libraries African fruit flies, (Diptera: - Tephritidae) as a test case. *PloS ONE*, 7(2): e31581.
- Labarie, M.**, Vernon, P., Cozic, Y., Frento, Y., Renault, D., Debat, V. and Notes, A. 2016. Wing morphology of the active flyer *Calliphora vicina* (Diptera: Calliphordae) during its invasion of a sub Antarctic archipelago where insect flightlessneis the rule. *Biological Journal of the Linnean Society*, 119(1): 179-193.
- Lavy, E. N.**, Nestel, D. and Rempoulakis, P. 2016. Laboratory longevity and competitiveness of *Dacus ciliatus* (Loew) (Diptera: Trphritidae). Following sub-sterilizing gamma irradiation. 106: 415-419.
- Leblanc, L.**, Hossain, M. A., Doorenweerd, C., Khan, S. A., Momen. M., San Jose, M. and Rubinoff, D. 2019. Six years of fruit fly surveys Bangladesh: a new species, 33 new country records and discovery of the highly invasive *Bactrocera carambolae* (Diptera : Tephritidae). *Zookeys*, 876: 87-109.
- Liang, G. Q.** 2011. Fruit flies (Diptera:Tephritida:Dacinae:Trypetinae:Tephritidae). Beijing: China Agrucultural press, p.10-16.
- Li, F.**, Zhao, X., Li, M., He, K., Huang, C., Zhao, Y., Li, Z. and Walters, J. R. 2019. Insect genomes: progress and challenges. *Insect Molecular Biology*. The Royal. Entomological Society, p.1-20.
- Liu, L.**, Zhou, Y., Qu, Y., Guo, X., Zhang, Y., Liu, T., Yang, J. and Yang, Q. 2019. Structural and Biochemical insights into the catalytic mechanisms of two insect, chitin deacetylases of the carbohydrate esterase 4 family. *J. Biol. Chem*, 294(15): 5774-5783.

- Lim, P. E.,** Tan, J., Suana, I. W., Eamsobhana, P. and Yong, H. S. 2012. Distinct genetic lineages of *Bactrocera caudata* (Insecta: Tephritidae). Revealed by COI- and 16S DNA Sequences. PLoS ONE, 7(5): 27-37.
- Lizh, J.F.,** Ma, X. L. and Szz, F. Y. 2013. Review on prevention and control techniques of Tephritidae invasion. Plant Quarantine, 27: 1-10.
- Logan, A. C.** Zhang, B. and Narasimhan, B. 2013. Minial residual disease quantification using consensus primers and high-throughput IGH sequencing predicts post-transplant, relapse in chronic lymphocytic Zoology. 27(8): 1659-1665.
- Lorenz, A. J.,** Chao, S. and Asoro, F. G. 2011. Chapter 2: genomic selection in plant breeding: Knowledge and prospects. In: Sparks DL, editor. Vol. 110, Advances in agronomy. San Diego (CA): Academic press, p 77-123.
- Lorenz, C.** and Suesdek, L. 2020. The use of wing shape for characterizing macroevolution in mosquitoes (Diptera: Culicidae). Science Direct, 77(20): 104-152.
- Lyra, M. L.,** Hatadani, L. M., de Azeredo Espin, A. M. and Klaczko, L. B. 2010. Wing morphometry as a tool for correct identification of primary and secondary New World screwworm fly. Bull Entomol. Research, 100: 19-26.
- Madhumati, B.** 2014. Potential and application of molecular markers techniques for plant genome analysis. International Journal Pure. Application Bioscience, 2(1): 88-169.
- Mahat, K.** and Drew, R. A. I. 2015. Evaluation for protein bait local with various insecticides on the queensland fruit fly (Diptera: Tephritidae). Attraction feeding mortality and bait Persistence. In: Sabater Munos, B., Moreno, P., Pean, L. and Navarro, L. (eds.). Xii International Citrus Congress. International Society of – Citriculture; International society for Horticultural Science, 1065: 1041-1048.
- Mancini, M. V.,** Spaccapelo, R., Damiani, C., Accoti, A., Tallarita, M. and Petraglia, E. 2016. Paratransgenesis to control malaria vectors: A semi-field pilot study. Parasite vectors, 9: 140-154.
- Masaki, T.,** Kazuki, S. and Koji, T. 2019. The first Establishment of Hand-Pairing Cross-Breeding Method for the Most Ancestral Wing Acquired Insect Group. Zoological Science. 36(2): 136-140.
- Marc, D. M.** Delatte, H. Mwatawala, M. Quilici, S. Vayssieres, J. F. and Virgilio, M. 2015. A review of the current knowledge on *Zeugodacus cucurbitae* (Coquillett) (Diptera: Tephritidae) in Africa, with a list of species included in *Zeugodacus*. Zookeys, (540): 539-557.

- Mengual, X.** and Gaimari, S. 2017. Phylogenetic relationships of the tribe Taxotrypanini (Diptera: Tephritidae) based on molecular characters. *Molecular, Phylogenetics and Evolution*, 113: 84-112.
- McDonagh, L. M.,** West, H., Harrison, J. W. and Stevens, J. R. 2016. Which mitochondrial gene (if any) is best for insect phylogenetics. *Insect Systematic and Evolution*, 47: 245-366.
- Miguel, I.,** Baylac, M., Iriondo, M., Manzano, C., Garnery, L., Estonba, A. 2011. Both geometric morphometric and microsatellite data consistently support the differentiation of the *Apis mellifera* M evolutionary branch. *Apidologie*, 42(2): 150-161.
- Misof, B.,** Liu, S., Meusemann, K., Peters, R. S., Donath, A., Mayer, C., Frandsen, PB., Ware, J., Flouri, T., Kjer, K. M. and Zhou, X. 2014. Phylogenomics resolves the timing and pattern of insect evolution. *Science*, 346(6210): 763-767.
- Moans, A. M. H.** and Abdul-Rassoul, M. S. 1989. First record of *Dacus ciliatus* (Loew) (Diptera: Tephritidae) as a pest of cucumber in Iraq. *Bulletin of the Iraq Natural History Museum*, 8(2): 173-174.
- Mohammad, R.,** Mohammad, A. S. and Salma, K. 2012. Insecticide effect of Silver and zinc nanoparticles against *Aphis nerii* Byer De Fonscolombe (Hemiptera: Aphididae). *Chilean Journal of agricultural research*, 74(4): 590-594.
- Mondal, R.,** Devi, N. P. and Jauhari, R. K. 2015. Landmark-based geometric morphometric analysis of wing shape among certain species of *Aedes* mosquitoes in District Dehradun (Uttarakhand) India *J. vector Borne Dis*, 52, PP.122-128.
- Moraes, A.,** Morator, C., Suesdek, L. and Marrelli, M. T. 2010. Genetic morphometric variation in *Culex quinquefasciatus*: from Brazil, Laplata and Argentina. *Mean Insects Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, 150(5): 672-676.
- Moreau, C. S.** 2014. A practical guide to DNA extraction, PCR, and gene-based DNA sequencing in insects. *Halteres*, 5: 32-42.
- Morrow, J. E.** 2019. On fluted point morphometrics, cladistics, and the origins of the Clovis culture. *PaleoAmerica*, 5(2): 191-205.
- Moura, C. J.,** Cunha, M. R., Porteiro, F. M. and Rogers, A. D. 2011. The use of the DNA barcode gene 16S mRNA, for the clarification of taxonomic problems, within family Sertulariidae (Cnidaria, Hydrozoa). *Zoologica Scripta*, 40(5): 520-537.

- Murphy, K. A.,** Unruh, T. R., Zhou, L. M., Zalom, F. G., Shearer, P W., Beers, E. H., Walton, V. M., Miller, B. and Chiu, J. C. 2015. Using comparative genomic to develop a molecular diagnostic, for the identification of an: Emerging pest *Drosophila suzukii*. Bulletin of Entomological Research, 105: 364-372.
- Nadeem, M. Z.,** Nawaz, M. A., Shahid, M. Q., Yildiz, D., Comertpay, G., Yildiz, M., Hatipoglo, R., Ahmad, F., Alsaleh, A., Labhane, N., Ozkan, H., Chung, G. and Baloch, F. S. 2018. DNA molecular markers in plant breeding: Current status and recent advancements in genomic selection and genome editing. Biotechnology. and Biotechnological Equipment, 32(2): 261-285.
- Nalwa, H. S.** 2011. Encyclopedia of nanoscience and nanotechnology. Valencia, CA, USA: American Scientific Publisher, p14-21.
- Nakahara, S.** and Muraji, M. 2013. Phylogenetic analysis of *Dacus* fruit flies (Diptera: Tephritidae) based on nucleotide sequences of the mitochondrial. Res.Bull. Pl. Prot. Japan, 44: 1-12.
- Newell, M. A.** and Jannink, J. L. 2014. Genomic selection in plant breeding. In: Fleury D, and Whitford, R: (editors). Crop breeding: methods and protocols. New- York (NY): Humana press, p. 117-130.
- Norrbom, A. L.** 2010. Tephritidae (Fruit flies, Moscas de fruits), 909-954. In: Manual of control American Diptera. Vol. 2. (Eds. B. V. Brown, A. Borkent, J.M. Cumming, D. M. Wood, N. E. Woodley and Zumbado, M. A). NRC research Press, Ottawa, 1442 pp.
- Nowotny, E. C.** and Janusz, T. D. 2011. Oxide semiconductors for solar energy conversion: Titanium Dioxide. CRC Press, 156.
- Nugnes, F.,** Russo, E., Viggiani, G. and Bernardo, U. 2018. First record of an invasive fruit fly belonging to *Bactrocera dorsalis* complex (Diptera: Tephritidae) in Europe. Insects 9(4): 168-182.
- Nunez, J.** and Liria, J. 2016. Cephalopharyngeal geometric morphometrics in three blowfly species (Diptera: Calliphoridae) in Bangladesh. Journal of Entomology and Zoology Studies, 4: 338-341.
- Nuruzzaman, M.,** Rahman, M. M., Liu, Y. and Naidu, R. 2016. Nanocapsulation, nano-guard for pesticides: A new window for safe application. Journal Agric.Food chemical, 64(7): 1447-1483.
- Oliveira, C. M.,** Auad, A. M., Mendes, S. M. and Frizz, M. R. 2013. Economic impact of exotic insect pests in Brazilian agricultural. Journal of applied Entomology, 137: 1-15.

- Onah, I. E.,** Eyo, J. E. and Taylor, D. 2015. Molecular identification of tephritid fruit flies (Diptera: Tephritidae) infesting sweet oranges in Nsukka Agro-Ecological zone Nigeria based on PCR-RFLP of COI gene and DNA barcoding. *African Entomology*, 23(2): 342-347.
- Panthee, S.,** Hamamoto, H., Suzuki, Y. and Sekimizu, K. 2017. In: silico identification of lysocin biosynthetic gene cluster from *Lysobacter* sp. *J. Antibiot*, 70 (2): 204-27.
- Park, P. J.,** Aguirre, W. E., Spikes, D. A. and Miyazaki, J. M. 2013. Land mark-Based geometric morphometrics: What fish shapes can tell us about fish evolution. *Proceedings of the Association for Biology Laboratory Education*, 34: 361-371.
- Papadopoulos, N.,** plant, R. E. and Carey, J. R. 2013. From trickle to flood the large-scale cryptic invasion of California by tropical fruit flies. *Proceedings of the Royal Society (B)*, 280.
- Pape, T.,** Blagoderov, V. and Mostovski, M. B. 2011. Order Diptera Linnaeus (1758), 222-229. In: *Animal biodiversity an outline of Higher - Level classification and of taxonomic richness* (Ed. Z. Q. Zhang). *Zootaxa*, 3148: 237.
- Perez-de-Luque, A.** and Hermosin, M. C. 2013. Nanotechnology and its use in agriculture. In: Bagchi M, Moriyama H, Shahidi F, editors. *Bio-nanotechnology revolution in food, Biomedical and Health Sciences*. West Sussex: Wiley-Black well, 299-405.
- Perlatti, B.,** de Souza, P. L., das Gracas, Fernandes da Silva, M. F., Fernandes, J. B. and Forim, M.R. 2013. Polymeric nanoparticle-based insecticides: A controlled release purpose for agrochemicals. In:trand, S. (editor). *Insecticides-development of safer and more effective technologies*. Rijeka: Intech, p523-550.
- Perre, P.,** Jorge, L. R., Lewinsohn, T. M. and Zucchi, R. A. 2014. Morphometric differentiation of fruit fly pest species of the *Anastrepha fraterculus* group (Diptera: Tephritidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 107(2):490-495.
- Pieterse, W.,** Benitez, H. A. and Addison, P. 2017. The use of geometric morphometric analysis to illustrate the shape change induced by different fruithosts on the wing shape of *Bactrocera dorsalis* and *Ceratitis capitata* (Diptera:Tephritidae). *Zoologischer Anzeiger*, 269: 110-116.
- Prabhakar, C. S.,** Sood, P. and Mehta, P. K. 2010. Pictorial keys for predominant *Bactrocera* and *Dacus* fruit flies (Diptera: Tephritidae) of north western Himalaya. *Arthropods*, 1(3): 101-111.

- Partyadhiraksana, G.,** Lestari, T. M. P. and Suputa, R. H. M. 2020. The potency of angle measurement and comparison of vein lengths in distinguishing *Bactrocera* species complexes. Home, 20(2): 21-33.
- Prophu, Y. T.,** Rao, K. V., Kumar, V. S. and Kumara, B. S. 2014. X-Ray analysis by williamson-Halland size strain polt methods of zon nanoparticles with fuel variation . world Journal of Nano Science and Engineering, 14: 21-28.
- Ragaei, M.,** and Sabry, A. H. 2014. Nanotechnology for insect pest control. Int. J. Sci. Environ. Technol, 3: 528-545.
- Redha, S. A. L. J.** 2013. Relative incidene of the greater melon fly, *Dacus frontalis* Beker and cucurbit fly *Dacus ciliatus* (Loew) on cucumber *Cucumis sativus* (L.). Mesopotamia Journal of Agriculture, 41 (A special international conference of plant protection), 88-94.
- Rein, T. R.** and Harvati, K. 2014. Geometric morphometrics and virtual anthropology: Advances in human evolutionary studies. Journal of Biologicaland Clinical Anthropology, 71: 41-55.
- Robledo, G. A.,** Stark, T., Wall, R. L. and Stevens, J. R. 2019. The toad fly *Lucilia bufonivora*: its evolutionary, status and molecular identification. Medical and Veterinary Entomology, 33: 131-139.
- Rohlf, F. J. 2013a.** TpsDig 2.17. Ecology and Evolution. State University of New York, Stony Brook, Available online.
- Rohlf, F. J. 2013b.** TpsUtil 1.85. Ecology and Evolution. State University of New York, Stony Brook, Available online.
- Rouhani, M.,** Samih, M. A., Aslani, A. and Beiki. 2011. Side effect of nano-ZnO-TiO₂-Ag mix-oxide nanoparticles on *Frankliniella occidentalis pergande* (Thys.:Thripidae). p. 51. Insect Physiology, Biochemistry and Molecular Biology. 2-5. East China Normal University, Shanghai, China.
- Rouhani, M.,** Samih, M. A. and Kalantari, S. 2012. Insecticide effect of silver and zinc Nanoparticles against *Aphis nerii* Boyer de Fonscolombe (Hemiptera: Aphididae). Chilean Journal of Agricultural Research, 72(4): 590-594.
- Royer, J. E.,** DeFaveri, S. and Lowe, G. 2014. Cucumber volatile blend, a promising female biased lure for *Bactrocera cucumis* (French, 1907) (Diptera: Tephritidae:Dacinae). A pest fruit fly that does not respond to male attractants. Australian Journal of Entomology, 53: 347-352.

- Sabbour, M. M.** and Shaurub, E. H. 2018. Toxicity effect of imidacloprid and nano-imidacloprid particles in controlling *Bactrocera oleae* (Diptera : Tephritidae), under laboratory and field conditions. Bioscience Research,15(3): 2494-2501.
- Sabbour, M. M.** 2017. Control of leopard *Zeuzera pyrina* (L.) (Lepidoptera: Cossidae). By imidacloprid in olive trees. In Press.
- Sabbour, M. M.** 2013b. Efficacy of *Isaria fumosorosea* against olive pests under laboratory and field conditions in Egypt. I. J. of development, (1): 55-61.
- Samih, M. A.,** Rouhani, M., Aslani, A. and Beiki, K. H. 2011. Insecticidal properties of amitraz, nano-amitraz, nano-ZnO and nano-ZnO-Al₂O₃ nanoparticles on *Agonoscena pistaciae* (Hem.: Aphelariidae). pp. 131. In Proceedings Symposium: Third International Symposium on Insect Physiology Biochemistry and molecu-Biology. East China Normal University, Shanghai, China.
- San Jose, M.,** Lebianc, L., Geib, S. M. and Rubinoff, D. 2013. An evolution of the species status of *Bctrocera invadens* and the systematics of the *Bactrocera dorsalis* cmplex (Diptera: Tephritidae) . Ann. Entomol. Soc. Am. 106(6): 684-694.
- San Jose, M.,** Doorenweerd, C., Leblanc, L., Barr, N., Geib, S. and Rubinoff, D. 2018. Incongruence between molecules an morphology: A seven-gene phylogenyof Dacini fruit flies paves the way for reclassification (Diptera:Tephritidae). Molecular Phylogenetics and Evolution, 121: 139-149.
- Sendaydiego, J. P.,** Torres, M. A. J. and Demayo, C. G. 2013. Describing wing geometry of *Aedes aegypti* using landmark-based geometric morphometric. Int. JBiosci Biochemical Bioinformatics, 3(4): 3379-83.
- Sevcik, J.,** Kasprak, D., Mantic, M., Fitzgerald, S., Sevcikova, T., Tothova, A. and Jachhof, M. 2016. Molecular phylogeny of the megadiverse insect infraorder *Sensu lato* (Diptera). PeerJ, 4: 2563. Bibionomorpha
- Schutze, M. K.,** Kroch, M. N., Armstrong, K. F., Chapman, T. A., Englezou, A., Chomic, A., Cameron, S. L., Hailstones, D. and Clarke, A. R. 2012. Population Structure of *Bactrocera dorsalis* s.s., *B. papayae* and *B. philippinensis* (Diptera: Tephritidae) in Southeast Asia: Evidence for a single species hypothesis using mitochondrial DNA and wing-shape data. BMC Evolutionary Biology, 12:130.
- Schutze, M. K.,** Jessup, A. and Clarke, A. R. 2012. Wing shape as a potential discriminator of morphologically similar pest taxa within the *Bactrocera dorsalis* species complex (Diptera: Tephritidae). Bulletin of Entomological Research, 120: 103-111.

-
- Schutze, M. K.,** Mahmood, K., Pavasovic, A., Bo, W., Newman, J., Clarke, A. R., Krosch, M. N. and Cameron, S. L. 2015. One and the same: integrative taxonomic evidence that *Bactrocera invadens* (Diptera:Tephritidae) is the same species the oriental fruit fly *Bactrocera dorsalis*. Systematic Entomology, 40:472-486.
- Singleton, M.,** Rosenberger, A. L., Robinso, C. and Neill, O. R. 2011. Allometric and metameric shape variation in pan mandibular analysis. Anatomical record, 294(2): 322-334.
- Shafiq Ansari, M.,** Hasan, F. and Ahmad, N. 2012. Threats to fruit and vegetable crops: Fruit flies (Tephritidae)-ecology, behavior, and management. Journal of Crops Science and Biotechnology, 15: 169-188.
- Shawkit, M.,** AL-Neamey, B., Hussian, F., Edan, L. and Mahmood, A. R. 2011. Population density and biological studies of two cucurbit flies species. *Dacus frontalis* (Becker) (Diptera: Tephritidae). Journal of Madenat Alelem College, 3: 78-84.
- Shelly, T. E.** 2010. Captures of *Bactrocera* males (Diptera: Tephritidae) in parapheromone-baited trips: a comparison of liquid versus solid formulations. Proc. Hawaii. Entomol. Soc. (in press).
- Sim, L. X.** and Zuha, R. M. 2019. *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1794) (Diptera: Calliphoridae) development by landmark-based geometric morphometrics of cephalopharyngeal skeleton: a preliminary assessment for forensic entomology application. Egyptian Journal of Forensic Sciences, 9:55.
- Sontigun, N.,** Sukontason, K. L., Zajac, B. K., Zehner, R., Sukontason, K., Wannasan, A. and Amentd, J. 2017. Wing morphometrics as a tool in species identification of forensically important, blow flies of Thailand. Parasites and Vectors, 10: 229.
- Spaek, T. C.,** Dripps, J. E., Watson, G. B. and Paroonagian, D. 2012. Resistance and cross resistance to the spinosyns-A review and analysis Pestic. Biochem physiol, 102: 1-10.
- Stark, J. D.,** Vargas, R. I., Souder, S., Fox, A., Smith, T. R. and Mackey, B. 2013. Comparison of the bioinsecticide, spine sad the semi-synthetic insecticide, spine toram and synthetic insecticides as soil drenches for control of Tephritidae–Fruit flies. Biopesticide international, 9: 120-126.
- Sun, X.** Cui, L. and Li, Z. 2014. Diversity and phylogeny of Wolbachia infecting *Bactrocera dorsalis* (Diptera:Tephritidae) populations from Chaina. Environmental Entomology, 36(5): 1283-1289.
- Szpila, K.** Zmuda, A., Akbarzadeh, K. and Tofiski, A. 2019. Wing measurement can be used to identify European blow flies (Diptera: Calliphoridae) of forensic importance. Forensic Science International, 269: 1-8.

-
- Tatsuta, H.**, Takahashi, K. H. and Sakamaki, Y. 2018. The use of the geometric morphometric in studying: the quantitative genetic diversity, of the *Bactrocer aoleae* (Diptera: Tephritidae) in India. Entomology, Sci. 21: 164-184.
- Tourt, R. T.**, Steelman, C. D., Szlanski, A. L. and Loftin, K. 2010. Phylogenetic and population genetic of the louse fly *lipotena mazamae* from arkansas use medical and veterinary. Entomology (in press).
- Vargas, R. I.**, Pinero, J. C. and Leblanc, L. 2015. An overview of pest species of *Bactrocera* fruit flies (Diptera: Tephritidae) and the integration of biopesticides with other biological approaches for, their management with of focus on the pacific region. Insects, 6: 297-318.
- Vasquez, M.** and Liria, J. 2012. Geometric morphometric alar para la identification de *Chrysomya albiceps* and *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae) deVenezuela. Rev. Bio. Trop., 60: 1249-1258.
- Vidal, P. O.**, Peruzin, M. C. and Suesdek, L. 2011. Wing diagnostic characters for *Culex quinquefasciatus* and *Culex nigripalpus* (Diptera: Culicidae). *Revista Bar-sileira* de Entomologia, 55(1): 134-7.
- Vidal, P. O.**, Carvalho, E. and Suesdek, L. 2012. Temporal variation of wing geometry in *Aedes albopictus*. Mem Inst Oswaldo Cruz, 107(8): 1030-4.
- Vijayakumar, K.** and Jayaraj, R. 2013. Geometric morphometry analysis of three species of stingless bees in India. Int. J. Life Sci. Educational Res., 1(2): 5-91.
- Virgilio, M.**, Delate, H., Quilici, S., Backeljau, T. and De Meyer, M. 2013. Cryptic diversity and gene flow among three African agricultural pests: *Ceratitis rosa*, *Ceratitis fasciventris* and *Ceratitis anonae* (Diptera: Tephritidae). Molecular Ec. 22 (9): 2526-39.
- Virgilio, M.**, Jordaens, K. Verwimp, C. White, I. M. and De Meyer, M. 2015. Higher phylogeny of frugivorous flies (Diptera:Tephritidae:Dacini): Localized partition conflicts and a novel generic classification. Molecular Phylogenetic and Evolution, 85: 171-179.
- Wang, L.**, Gao, L., Shen, Z., Huang, L. and Qian, X. 2011. Research on landmark extraction technology in identification of fruit flies (Diptera: Tephritidae) Seven-the International Conference on Natural Computation. 3, 1681-1685.

- Wang, X. G.,** Levy, K., Nadel, H., Johnson, M. W., Blanchet, A., Argov, Y., Pickett, C. H. and Daane, K. M. 2013. Overwintering survival of olive fruit fly (Diptera:Tephritidae) and two introduced parasitoids in California. *Environmental Entomology*, 42: 467-476.
- Webster, M.** and Sheets, H. D. 2010. A practical introduction to landmark-based geometric morphometric. In *Quantitative methods in Paleobiology*, pp. 163-188.
- Wells, C.,** Munn, A. and Woodworth, C. 2018. Geometric morphometric differences between populations of *Speyeria* Diana (Lepidoptera: Nymphalidae). *Fla. Ento.*101, 195-203.
- Wetterer, J. K.** 2013. A south American fire ant, *Solenopsis* nr. *Saevissima*, in Guadeloupe, French West Indies. *Biological Invasions*, 16 (4): 755-758.
- Yee, W. L.,** Sheets, H. D. and Chapman, P. C. 2011. Analysis of surstylus and aculeus shape and size using geometric morphometrics to discriminate *Rhagoletis pomonella* and *Rhagoletis zephyria* (Diptera: Tephritidae). *Entomological of America*, 104(2): 105-114.
- Yujia, Q.** Paini, D. R. Wang, C. Fang, Y. and Li, Z. 2015. Global establishment risk of economically important fruit fly species (Tephritidae). *PLoS ONE* 10(1): 1-8.
- Yukiko, H.,** Takako, T., Yoshio, T. and Ichiro, M. 2010. A multiplex PCR based Molecular Identification of five Morphologically related , Medically important: subgenus *Stegomyia* mosquitoes from the genus *Aedes* (Diptera:Culicidae) found in the Ryukyu archipelago, *Japanese Journal of Infectious Diseases*, 63: 312-316.
- Zaelor, J.** and Kitthawee, S. 2018. Geometric morphometric and molecular evidence suggest a new fruit fly species in *Bactrocera* (*Zeugodacus*) *tau* complex (Diptera :Tephritidae). *Zoological Systematics*, 43(1): 27-36.
- Zhang, B.,** Liu, Y. H., Wu, W. X. and Wang, Z. L. 2010. Molecular phylogeny of *Bactrocera* species (Diptera: Tephritidae: Dacini). Inferred from mitochondrial sequences of 16S rDNA and COI sequences. *Florida. Entomology*, 93(3): 369-377.
- Zhang, Y.,** Feng, S., Fekrat, L., Jiang, F., Khathutshelo. M. and Li, Z. 2019. The first mitochondrial gene of *Daces bivittatus* and *Dacus ciliatus* (Diptera: Tephritidae) by next-generation sequencing and implication for the higher phylogeny of Tephritidae. *International Journal Biological Macromolecules*, 140: 469-476.
- Zielinska, J. A.,** Reszczyńska, J., Grabowska, E. and Zaleska, A. 2012. Nanoparticles preparation using microemulsion systems. In: Najjar, R. (editor). *Microemulsion-An introduction to properties and application* Rijeka, p229-250.

الملاحق

Appendixes

الملحق (1)

كتاب تشخيص ذبابة ثمار القرعيات النوعين *Dacus frontalis* و *Dacus ciliatus*


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

No :
 Date :

العدد : ٥٥٢
 التاريخ : ٢٠١٩ / ٥ / ٩

إلى / جامعة ديالى / كلية التربية للعلوم الصرفة / قسم علوم الحياة
 م / تشخيص نماذج

تحية طيبة :

اشارة الى كتابكم ذي العدد ٢٢١٦ والمؤرخ في ٢٠١٩ / ٥ / ٢ والخاص بتسهيل
 مهمة طالب الدراسات العليا / الدكتوراه / حسين محمد بريسم / قسم علوم الحياة / جامعة
 ديالى فقد تم اجراء اللازم من قبلنا وحسب التقرير المرفق طياً .

مع التقدير

أ.د. رزاق شعلان عكل
 مدير المركز
 ٢٠١٩ / ٥ / ٩



نسخة منه إلى :
 قسم الحشرات واللافقرات - تقريركم المرقم ٨ في ٢٠١٩ / ٥ / ٩
 الملفة الخاصة

العراق - بغداد - باب المعظم - مجمع الكليات ص. ب. 59037
 هواتف : المدير : 4168361 بدالة : 165790
 E-mail : info@nhm.uobaghdad.edu.iq Web site: nhm.uobaghdad.edu.iq

UNIVERSITY OF BAGHDAD
Iraq Natural History Museum

Tel: 4168361
4165790



Bab Al – Muadham
Baghdad
Iraq

Our Ref

التاريخ: ٢٠١٩ / ٥ / ٩

Date

الرقم: ٨

قسم الحشرات واللافقریات

م / تشخيص حشرات

تحية طيبة :

الحشرات المرسلة لنا من قبل طالب الدراسات العليا / الدكتورة / حسين محمد بريسم / قسم علوم الحياة / كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة ديالى تم تشخيصها كالآتي :

***Dacus frontalis* (Becker ,1922) (Diptera ;Tephritidae)**
***Dacus ciliatus* Loew , 1862 (Diptera ;Tephritidae)**

تم التشخيص من قبل الاستاذ المساعد الدكتور هناء هاني عبد الحسين /مركز بحوث ومتحف التاريخ الطبيعي العراقي /جامعة بغداد

مع التقدير

الاستاذ المساعد أزهار احمد الموسوي
رئيس قسم الحشرات واللافقریات

ملحق (2)

تأثير أوكسيد المغنسيوم والتيتانيوم النانوي على بعض الأدوار الحياتية المختلفة للنوعين *Dacus*

. *Dacus frontalis* و *ciliatus*

* تأثير تراكيز مختلفة من أوكسيد المغنسيوم النانوي MgO على معدل الوفيات التراكمي ليرقات

النوعين *D. frontalis* و *D. ciliatus*

التراكيز ملغم/لتر	Mortality معدل الوفيات للنوع <i>D. ciliatus</i> (Mean $\pm$ SE)	Mortality معدل الوفيات للنوع <i>D. frontalis</i> (Mean $\pm$ SE)
0.00	12.52 $\pm$ 0.54 a	15.64 $\pm$ 0.64 ab
0.125	15.63 $\pm$ 0.66 a	10.42 $\pm$ 0.43 a
0.250	13.55 $\pm$ 0.68 a	17.68 $\pm$ 0.70 ab
0.500	18.89 $\pm$ 0.92 b	17.82 $\pm$ 0.87 b

* المعدلات المتبوعة بالحروف نفسها وفي العمود نفسه لا تختلف معنوياً حسب اختبار *Dunkin*

متعدد الحدود ANOVA وعند مستوى احتمالية 0.05 .

* تأثير تراكيز مختلفة من أوكسيد المغنسيوم النانوي MgO على معدل الوفيات التراكمي لغذاري

النوعين *D. frontalis* و *D. ciliatus*

التراكيز ملغم/لتر	Mortality معدل الوفيات للنوع <i>D. ciliatus</i> (Mean $\pm$ SE)	Mortality معدل الوفيات للنوع <i>D. frontalis</i> (Mean $\pm$ SE)
0.00	15.68 $\pm$ 0.71 a	10.39 $\pm$ 0.41 a
0.125	12.52 $\pm$ 0.55 a	8.33 $\pm$ 0.40 ab
0.250	10.49 $\pm$ 0.57 a	13.52 $\pm$ 0.50 b
0.500	19.87 $\pm$ 0.89 b	15.72 $\pm$ 0.72 b

* المعدلات المتبوعة بالحروف نفسها وفي العمود نفسه لا تختلف معنوياً حسب اختبار *Dunkin*

متعدد الحدود ANOVA وعند مستوى احتمالية 0.05 .

* تأثير تراكيز مختلفة من أوكسيد المغنسيوم النانوي MgO على معدل الوفيات التراكمي لبالغات النوعين *D. frontalis* و *D. ciliatus*.

التراكيز ملغم/لتر	معدل الوفيات Mortality للنوع <i>D. ciliatus</i> (Mean $\pm$ SE)	معدل الوفيات Mortality للنوع <i>D. frontalis</i> (Mean $\pm$ SE)
0.00	11.69 $\pm$ 0.73 ab	7.35 $\pm$ 0.34 a
0.125	13.73 $\pm$ 0.79 bc	11.55 $\pm$ 0.53 ab
0.250	9.62 $\pm$ 0.81 a	14.92 $\pm$ 0.73 b
0.500	17.93 $\pm$ 0.94 c	14.94 $\pm$ 0.75 b

* المعدلات المتبوعة بالحروف نفسها وفي العمود نفسه لا تختلف معنوياً حسب اختبار *Dunkin* متعدد الحدود ANOVA عند مستوى احتمالية 0.05 .

* تأثير تراكيز مختلفة من أوكسيد التيتانيوم النانوي TiO₂ على معدل الوفيات التراكمي ليرقات النوعين *Dacus frontalis* و *Dacus ciliatus*.

التراكيز ملغم/لتر	معدل الوفيات Mortality للنوع <i>D. ciliatus</i> (Mean $\pm$ SE)	معدل الوفيات Mortality للنوع <i>frontalis</i> (Mean $\pm$ SE)
0.00	12.49 $\pm$ 0.52 a	8.48 $\pm$ 0.39 a
0.125	11.41 $\pm$ 0.47 a	6.37 $\pm$ 0.43 a
0.250	13.63 $\pm$ 0.61 ab	15.67 $\pm$ 0.60 b
0.500	17.72 $\pm$ 0.84 b	17.73 $\pm$ 0.81 b

* المعدلات المتبوعة بالحروف نفسها وفي العمود نفسه لا تختلف معنوياً حسب اختبار *Dunkin* متعدد الحدود ANOVA عند مستوى احتمالية 0.05 .

* تأثير تراكيز مختلفة من أوكسيد التيتانيوم النانوي TiO₂ على معدل الوفيات التراكمي لعدارى النوعين *D. frontalis* و *D. ciliatus*.

التراكيز ملغم/لتر	معدل الوفيات Mortality للنوع <i>D. ciliatus</i> (Mean $\pm$ SE)	معدل الوفيات Mortality للنوع <i>D. frontalis</i> (Mean $\pm$ SE)
0.00	9.28 $\pm$ 0.31 ab	14.57 $\pm$ 0.55 b
0.125	7.17 $\pm$ 0.23 a	10.25 $\pm$ 0.37 a
0.250	14.58 $\pm$ 0.61 bc	15.65 $\pm$ 0.65 b
0.500	16.84 $\pm$ 0.82 c	17.82 $\pm$ 0.86 c

* المعدلات المتبوعة بالحروف نفسها وفي العمود نفسه لا تختلف معنوياً حسب اختبار *Dunkin* متعدد الحدود ANOVA عند مستوى احتمالية 0.05 .

* تأثير تراكيز مختلفة من أكسيد التيتانيوم النانوي TiO_2 على معدل الوفيات التراكمي لبالغات النوعين *D. frontalis* و *D. ciliatus* .

معدل الوفيات Mortality للنوع <i>D. frontalis</i> (Mean $\pm$ SE)	معدل الوفيات Mortality للنوع <i>D. ciliatus</i> (Mean $\pm$ SE)	التراكيز ملغم/لتر
13.63 $\pm$ 0.61 a	10.49 $\pm$ 0.53 a	0.00
12.50 $\pm$ 0.49 a	12.72 $\pm$ 0.71 ab	0.125
13.43 $\pm$ 0.56 a	11.60 $\pm$ 0.75 ab	0.250
18.90 $\pm$ 0.94 b	18.79 $\pm$ 0.85 b	0.500

* المعدلات المتبوعة بالحروف نفسها وفي العمود نفسه لا تختلف معنوياً حسب اختبار *Dunkin* متعدد الحدود ANOVA عند مستوى احتمالية 0.05 .

* الفرق بعد المعاملة بالمادتين TiO_2 و MgO ليرقات النوعين

الفرق	TiO_2	MgO	التراكيز ملغم/لتر
P=0.004	0.55	0.65	0.125
P=0.3	0.66	0.69	0.250
P=0.2	0.91	0.86	0.500

* الفرق بعد المعاملة بالمادتين TiO_2 و MgO لعذارى النوعين

الفرق	TiO_2	MgO	التراكيز ملغم/لتر
P=0.05	0.23	0.67	0.125
P=0.37	0.61	0.66	0.250
P=0.06	0.87	0.90	0.500

* الفرق بعد المعاملة بالمادتين MgO و TiO₂ لبالغات النوعين .

الفرق	TiO ₂	MgO	التراكيز ملغم/لتر
P=0.13	0.70	0.77	0.125
—	0.66	0.66	0.250
P=0.003	0.72	0.94	0.500

Mean ± SE تعني المعدل ± الانحراف القياسي للعينات

* المقارنة من ناحية التأثير بين يرقات النوعين *D. frontalis* و *D. ciliatus* المعاملة بمادة MgO النانوي.

<i>D. frontalis</i>	<i>D. ciliatus</i>	التراكيز ملغم/لتر
0.65	0.56	0.00
0.42	0.70	0.125
0.71	0.59	0.250
0.84	0.98	0.500

* المقارنة من ناحية التأثير بين عذارى النوعين *D. frontalis* و *D. ciliatus* المعاملة بمادة MgO النانوي.

<i>D. frontalis</i>	<i>D. ciliatus</i>	التراكيز ملغم/لتر
0.51	0.70	0.00
0.48	0.58	0.125
0.58	0.58	0.250
0.84	0.98	0.500

* المقارنة من حيث التأثير بين بالغات النوعين *D. frontalis* و *D. ciliatus* المعاملة بمادة MgO النانوي .

<i>D. frontalis</i>	<i>D. ciliatus</i>	التراكيز ملغم/لتر
0.39	0.70	0.00
0.58	0.79	0.125
0.81	0.56	0.250
0.77	0.92	0.500

* المقارنة من حيث التأثير بين يرقات النوعين *D. frontalis* و *D. ciliatus* المعاملة بمادة TiO_2 النانوي .

<i>D. frontalis</i>	<i>D. ciliatus</i>	التركيز ملغم/لتر
0.39	0.55	0.00
0.39	0.47	0.125
0.62	0.61	0.250
0.85	0.90	0.500

* المقارنة من حيث التأثير بين عذارى النوعين *D. frontalis* و *D. ciliatus* المعاملة بمادة TiO_2 النانوي .

<i>D. frontalis</i>	<i>D. ciliatus</i>	التركيز ملغم/لتر
0.54	0.30	0.00
0.34	0.24	0.125
0.63	0.62	0.250
0.86	0.85	0.500

* المقارنة من حيث التأثير بين بالغات النوعين *D. frontalis* و *D. ciliatus* المعاملة بمادة TiO_2 النانوي .

<i>D. frontalis</i>	<i>D. ciliatus</i>	التركيز ملغم/لتر
0.63	0.51	0.00
0.52	0.72	0.125
0.60	0.60	0.250
0.99	0.86	0.500

* معدل إنتاجية البالغات (صفة الخصوبة) لبالغات النوعين *D. frontalis* و *D. ciliatus* بعد المعاملة بمادتي TiO_2 و MgO النانويتين .

الاختزال	العدد	التركيز ملغم/لتر
0	93	0.00
30.3	64.8	0.125
47	49.2	0.250
67	30.4	0.500

* نسبة التعذر والاختزال لبالغات النوعين *D. frontalis* و *D. ciliatus* المعاملة بالمواد النانوية

MgO و TiO₂.

الاختزال	التعذر	التراكيز ملغم/لتر
0.00	0.50 ab	0.00
0.25	0.37 a	0.125
0.10	0.44 a	0.250
0.82	0.09 cb	0.500

Abstract

The molecular, quantitative and biological genetics comparison studied two species of cucurbit fruit fly in central Iraq, namely *Dacus ciliatus* and *Dacus frontalis* whose samples were obtained from the integrated pest Management Laboratory/ Agricultural Research Department/ Ministry of Science and Technology on 23/2/2019. Where the duration of one generation for each species reached 25 days from an egg to a complete insect. After completing the breeding of the insects of both species, the genetic comparison between the two species was performed. *D. ciliatus* and *D. frontalis* on the third generation insects treated in the role of Pupa with a half-killer concentration LC₅₀ (250 ml/L) of natural and untreated Nano-magnesium oxide by DNA extraction by means of the Genomic DNA Mini Kit-tissue extraction kit and by 20 pre-treatment samples and 20 post-treatment samples from insects of both types. The extracted DNA purity for all samples ranged from 1.8 to 2 nanometers. Next, a portion of the gene was multiplied for both the COI, CAD and EF-1alpha gene by using polymerase chain reaction (PCR) technique. The amplification results showed that the molecular weight of the three genes is 350bp, 310bp and 450bp respectively for each of the treated and untreated samples. Next, nucleotide sequence was made for each of the three genes, 16 samples for each gene divided into 8 samples for each type *D. ciliatus* and 8 samples for type *D. frontalis* i.e. 4 samples before treatment and 4 samples after treatment for both types. The results of the analysis of the nucleotide sequence for each of the three genes and both types showed the presence of point mutations of the delete and substitution type distributed at different locations of the nucleotide sequence when comparing the samples of the one type treated with the half-killer concentration LC₅₀. Untreated and magnesium oxide on the one hand with the gene bank samples chosen in this study on the other hand. The results of the analysis of the nucleotide sequence for each of the three genes also showed the presence of mutations of the substitution type in different locations of the nucleotide sequence when comparing the type *D. ciliatus* samples with type *D. frontalis* samples untreated neutral. Through the phylogenetic tree, it was observed that the value of the genetic dimension between samples of the same type treated with the half-killer concentration of LC₅₀ of the Nano-particle and untreated magnesium oxide equal 0.0 but between the samples of both types equal 0.03, 0.0023 and 0.0013 for the COI genes, CAD and EF-1alpha, respectively, on the one hand, and with gene bank samples selected in this study 0.0085, 0.0093 and 0.0024 for the three genes, respectively, on the other hand. As for the quantitative genetic aspect, the two types were compared *D. ciliatus*, *D. frontalis* using the system of geometric morphometric for wing shape and composition and this system depends on the coordinates of the features between the intersections of the longitudinal veins with transverse veins and the ends of the longitudinal veins of the wing. Where in this study, 30 right wings for each species were used, with 15 right wings for males and 15 right wings for females in each analysis. All quantitative genetic comparisons of both species were on the wings of the third generation insects exposed in the Pupa stage to the half-

killer LC50 concentration of Nano-magnesium oxide and the non-exposed natural insects. Results were shown when comparing male *D. ciliatus* treatment with a half-killer concentration with untreated males that the central size of the right wing equals 850.8 and 868.8 microns respectively and that a value. $P=0.48$ and $F=1.5$ the value of $P=0.19$, $T=1.4$ and the value of the absolute difference $AD=17.9$ where there are statistically significant differences. When comparing the females of the same treated and untreated species, the central wing size value was 859.8 and 839.4 micron, respectively, that the value of $F=0.13$, $P=2.3$ and the value of $P=0.20$, $T=1.3$ and the absolute difference value $AD=20.4$ where there were statistically significant difference. The value of the Mahalanbose distance when comparing treated and untreated males with treated and untreated males was 9.49 and 9.38 respectively. There are also statistically significant difference in the similarity of the wing shape and size when comparing the treated and untreated males on one side and the treated and untreated females on the other hand, in the case of the similarity of the wing shape the value of $Signi=0.14$ and $F=2.23$, while in the case of similar size the suite had a value of $Signi=0.36$ and $F=1.07$. In females, in the case of the wing shape, the value of $F=1.30$ and $Signi=0.26$, and in the size of the wing, the value of $Signi=0.00$ and $F=2.22$. As for comparing male type *D. frontalis* treatment by half-killer concentration with untreated males, the central size of the right wing is 859.9 and 837.9 microns, respectively. That the value of $P=0.32$ and $F=1.7$ and the value of $P=0.15$ and $T=1.5$ and the absolute difference value $AD=22.1$ where there are statistically significant difference, and when comparing females of the same treated and untreated type where the volume value central to the right flank are 846.03 and 873.04 micron respectively. That the value of $P=0.30$ and $F=1.8$, the value of $P=0.01$ and $T=2.02$ and the absolute difference value of the $AD=27.0$, where there were statistically significant difference, and the value of the Mahalanbose distance was when comparing both treated and untreated males 12.93 and 13.05 respectively, and there are also statistically significant difference in the similarity of wing shape and size when comparing treated and untreated males on the one hand and between treated and untreated females on the other hand. In the cases of equal wing size, the value of $Signi=0.59$ and $F=0.91$. In the cases of the wing shape, the value of $Signi=0.00$ and $F=9.09$, and in the size of the wing, the value of $Signi=0.00$ and $F=1.84$. When comparing male and female *D. ciliatus* and *D. frontalis* before treatment and after treatment with half-killer concentration of Nano-magnesium oxide, the results showed significant difference in the mean central volume of the right wing, as well as in the value of the distance of Mahalanbose and the shape and size of the wing for both male and females of both type. Whereas, the average wing size of the wing when comparing the males of the two untreated natural species is 850.73 and 859.95 micron, respectively, the value of $P=0.76$ and $F=1.17$ and the value of $P=0.37$ and $T=0.46$ and the absolute difference value $AD=9.2$, but when comparing the females of both normal species, the mean size of the central wing was 859.82 and 846.03 micron, respectively, and the value of $P=0.44$ and $F=1.51$ and the value of $P=0.42$ and $T=0.8$ and the absolute difference value $AD=13.8$. As for the value of the Mhalanbose distance between males of both species on the one

hand and females of both species on the other side is 10.33 and 22.01 respectively and the mean value of F for the similarity of the wing shape between males of both natural types is $\text{Signi}=0.22$ and $F=1.53$, for females of both natural species, $\text{Signi}=0.06$ and $F=3.79$, and a significant F value for wing size between males of both natural species is $\text{Signi}=0.82$ and $F=0.74$ for females of both natural types. $\text{Signi}=0.81$ and $F=0.73$. As for the comparison between male and female of the two type, *D. ciliatus* and *D. frontalis* after treatment with a half-killer concentration of Nano-magnesium oxide, the mean central size of the wing when comparing the two males of the two treatment types was 868.67 and 837.88 microns respectively, and a value of $P=0.56$ and $F=1.4$ and a value of $P=1.56$ and $T=0.06$ and the value of the absolute difference is $\text{AD}=30.8$, but when comparing the females of both treatments, the mean of the central size of the wing was 839.40 and 837.04 micron, respectively, and the value of $P=0.79$ and the value of $F=1.2$ and $P=0.01$ and $T=2.09$ and the absolute difference value $\text{AD}=33.64$. The value of the Mahalanbose distance between males of both types treated on the one hand and between females of both types treated on the other hand is 11.92 and 9.84 respectively and the mean F value for wing shape is similarity for both males the two types of transaction are $\text{Signi}=0.99$ and $F=0.00$. As for females, the treatment is $\text{Signi}=0.57$ and $F=0.33$ and the mean value of F is similar to the size of the wing between males of both types. The treatment is $\text{Signi}=0.46$ and $F=1.00$, and for females the treatment is $\text{Signi}=0.76$ and $F=0.79$. In terms of life, different concentration of magnesium oxide and titanium were chosen, which are 0.125, 0.250 and 0.500 ml/L on the cumulative mortality of larvae, pupa and adults for both types *D. ciliatus* and *D. frontalis* where three replicates were used in each repeater of five larvae, as was the case with pupa. As for adults, three replicates were taken for each concentration and in each repeater one male and one female for both types. The results showed that the cumulative mortality rate of the larvae of the two species was at the concentration of 0.500 to Nano-magnesium oxide which is 18.89 and 17.82 respectively, and the lowest cumulative mortality was at the concentration of 0.125 which is 15.63 and 10.42 respectively, and that the cumulative mortality rate pupa and adults of both species were also at concentration 0.500 ml/L which is 19.87 and 15.72 respectively, for pupa of the two species, while for adults of the two species it was 17.93 and 14.94 respectively, and the lowest cumulative mortality rate of pupa and for both types was at concentration 0.125 which 12.52 and 8.33 respectively for pupa, and for adults of both types it is 13.73 and 11.55 respectively. Where it was observed that there were statistically significant differences between concentrations of the two types when using the ANOVA Duncan test at the level of significance 0.05 is 17.72 and 17.73 respectively, and the lowest cumulative death rate was at concentration 0.125 which 11.41 and 6.37 respectively. The cumulative mortality rate for pupa and adult species *D. ciliatus* and *D. frontalis* was also at the concentration 0.500 which is 16.84 and 17.82 respectively, for pupa of the two species, while for adults of the two species it is 18.79 and 18.90 respectively, and the lowest cumulative mortality rate for pupa and for adults of both types was at a concentration of 0.125 is 7.17 and 10.25 respectively, for pupa, and for adults of the two species, 12.72 and

12.50 respectively. Where there was statistically significant difference between the concentrations of the two species when using the ANOVA Duncan test at the level of significance 0.05. When comparing the magnesium oxide and titanium oxide in terms of influencing the cumulative mortality ratio for both larvae, pupa and adults of the two species, it was observed that the Nano-magnesium oxide is better than the Nano-titanium oxide. The highest mortality at concentration was 0.500 ml/L which is 0.98, 0.98 and 0.92 for type *D. ciliatus*. As for type *D. frontalis* is 0.84, 0.84 and 0.77 for larvae, pupa and adults respectively, while titanium oxide also gave the highest cumulative mortality at concentration 0.500 ml/L is 0.90, 0.85 and 0.86 for type *D. ciliatus* as for type *D. frontalis* is 0.85, 0.86 and 0.99 for for larvae, pupa and adults respectively. The results also showed when treating adults and pupa of both species with a concentration of 0.500 ml/L to magnesium oxide and titanium oxide, which led to a reduction in the number of eggs per female, as well as a reduction in the rate of extraction and conversion to adults for both types.

Ministry of higher education and scientific research

Diyala university

College of education pure science

Department of biology



Genetic study and Evaluation of some Nanomaterials on several Biological aspects for two species of *Dacus* (Fabricius, 1805) (Diptera : Tephritidae)

A thesis

Submitted to the collage of education for pure science / Diyala university in partial fulfillment of the requirements for the degree doctor of philosophy in biology / zoology (Ph. D)

By

Hussein Mohammed Prism Al-Tamimi

Bachelor science in biology / college of education pure science

Diyala university

2009

Master science in biology / college of education pure science

Diyala university

2016

Supervisor

Prof. Dr. **Ammar Ahmed Sultan AL-Qeraquoly**

Prof. Dr. **Zide Tariq quther**

2020A.D

1441A.H