فيزيولوجيا الحشرات

(الجزء العملي)

وقل رب زدني علما
جامعة دمشق
Damascus University

منشورات جامعة دمشق
كلية الهندسة الزراعية

فيزيولوجيا الحشرات

(الجزء العملي)

الدكتورة
روضة سكر غالي
المشرفة على الأعمال في قسم وقاية النبات

الدكتور
وجيه قسيس
الأستاذ في قسم وقاية النبات

جامعة دمشق

1438 – 1439 هـ
2016 – 2017 م

وقل رب زدني علما
جامعة دمشق
Damascus University

فهرس المحتويات

الفصل	الموضوع	الصفحة
	المقدمة	7
الفصل الأول	**الأدوات والمواد الواجب توفرها في المخبر**	**9**
الفصل الثاني	**تحضير المقاطع (الهيستولوجية) لدراستها بالمجهر الضوئي**	**19**
الفصل الثالث	**إعداد العينات الخلوية لدراستها بالمجهر الإلكتروني**	**45**
الفصل الرابع	**دراسة الأعضاء الداخلية لجسم الحشرات**	**59**
	جدار الجسم	59
	الجهاز الهضمي	65
	جهاز الاطراح	79
	الجسم الدهني	89
	الجهاز العضلي	95
	الجهاز العصبي	101
	جهاز التنفس	107
	جهاز الدوران	117
	جهاز التكاثر	129
	دراسة البروتينات الموجودة لدى الأطوار المختلفة للحشرات	141
	طرق دراسة الاختلافات الوراثية بين الحشرات	153
	دراسة الهرمونات الجنسية عند الحشرات	169
المصطلحات العلمية		**183**
المراجع		**205**

Damascus University

وقل رب زدني علما
جامعة دمشق
Damascus University

مقدمة

يعد علم فيزيولوجيا الحشرات أو علم وظائف الأعضاء من العلوم الضرورية للعاملين والقائمين على دراسات كل ما يخص الحشرات، فهو يهتم بدراسة التركيب الدقيق لأنسجة الحشرة من جهة ولفهم ميكانيكية العمل الفيزيولوجي لأعضائها المختلفة من جهة أخرى، وهذا ما يساعد في إيجاد السبل المثلى لمكافحة الآفات الخطرة على منتجاتنا الزراعية، وهذا ما عبر عنه العالم ويغلوورث اذ قال: تعد فيزيولوجيا الحشرات لبعضهم كالوصف لعلم الحشرات الاقتصادية .. ويعتمد غالباً التطبيق العملي لطرق المكافحة التي تكون المبيدات الحشرية أو التدخل في بيئة الحشرات على معرفة فيزيولوجيا الحشرات المراد مكافحتها، إذ يخدم علم الفيزيولوجيا في تفسير الإجراءات المعتمدة في المكافحة.

لقد توخينا في هذا الكتاب العملي لفيزيولوجيا الحشرات من خلال التعرف عملياً على الأعضاء الداخلية للحشرات ودراسة بعض المكونات الخلوية والهرمونات الجنسية، أن يتميز بالحداثة بالاعتماد على آخر معطيات المجهر الضوئي والمجهر الالكتروني الماسح وتقنيات البيولوجيا الجزيئية والكروماتوغرافيا، وأن يتميز بالبساطة والوضوح وحسبنا أن يكون هذا المجهود المتواضع عوناً للطلاب وللعاملين في مجال الحشرات ومكافحتها.

والله ولي التوفيق

د. روضة سكر غالي **أ. د. وجيه قسيس**

وقل رب زدني علما
جامعة دمشق
Damascus University

الفصل الأول

الأدوات والمواد الواجب توفرها في المخبر

تعد عملية التشريح أساسية للعاملين في مجال الحشرات، وذلك لكونها تسمح بالاقتراب من الدراسات الفيزيولوجية لأعضاء الحشرة المختلفة.

ويجب أن يتمتع العامل في مجال تشريح وفيزيولوجيتها الحشرات بدراية كافية في علوم التصنيف والكيمياء والبيولوجيا، إضافة للتكنيك (الهيستولوجي) الذي سنحاول إعطاء لمحة وجيزة عن أسسه وطرقه المختلفة.

وتحتم الدراسة (الهيستولوجية) عمل قطاعات متتالية لجسم الحشرة أو لأجزاء محددة منها، ولذلك فسنتطرق في دراستنا إلى عمل محضرات كاملة إضافة لعمل مقاطع متتالية في الحشرة. ولتحقيق ذلك يجب اتباع خطوات ثابتة ومحددة سنذكرها فيما بعد.

وتحتاج هذه الدراسات إلى توافر بعض الأدوات والمواد الأساسية والضرورية في المخبر، ولا نستطيع سرد كل المواد والأدوات الضرورية ولكن سنقتصر على ذكر ما هو ضروري للقيام بهذا النوع من الدراسات المهمة.

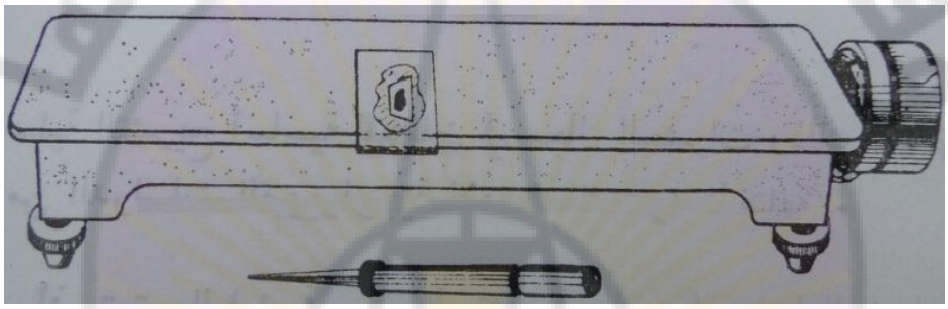
1- الأدوات الواجب توافرها في المخبر:

آ- وحدة لتقطير الماء نظراً للحاجة الماسة للماء المقطر.

ب- فرن لصهر الشمع: يمكن التحكم بدرجة حرارته وفقاً للحاجة نظراً لأن درجة انصهار الشموع تكون مختلفة وتتراوح من 35°-70°م. وعادة تستخدم الشموع ذات درجة الانصهار 56°-58°م.

جـــ- فرن (حاضنة) لتجفيف الشرائح: تتراوح درجة حرارته ما بين 30°-40°م وذلك لضمان تجفيف مادة التحميل، والتجفيف قبل وضع الغطاء.

د- صفيحة أو لوحة تسخين، أيضاً يجب أن تتوافر فيها المواصفات للتحكم بدرجة حرارتها. وتستخدم لفرد القطاعات الشمعية على الشريحة الزجاجية، وتثبيت المقاطع عليها الشكل (1).

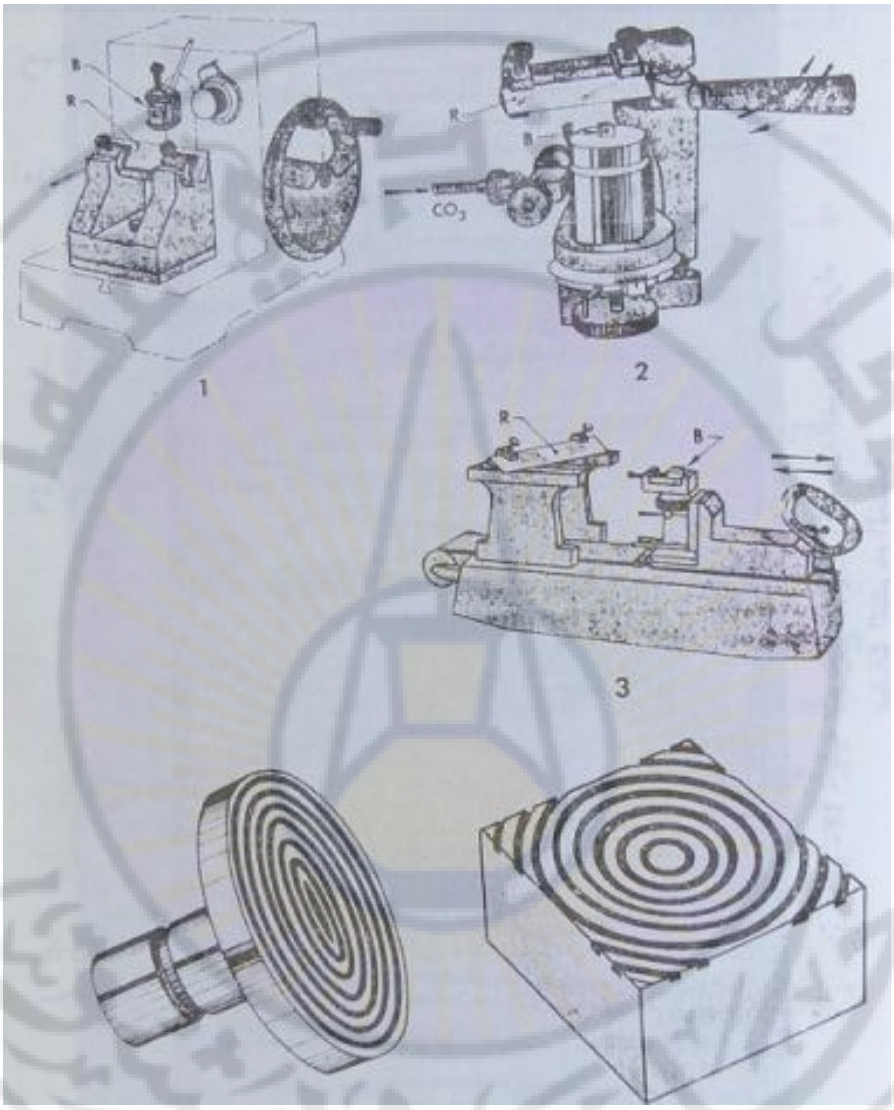


الشكل (1) صفيحة تسخين تستخدم لبسط المقاطع الشمعية

هـ- فرن تفريغ: نحتاجه لتفريغ الهواء الموجود داخل جسم الحشرة ولسهولة تشرب النموذج بالمواد المثبتة أو الملونة.

و- الميكروتوم: وهي آلة تستخدم لعمل المقاطع الشمعية وهناك عدة أنواع موضحة بالشكل (2)، وتزود هذه الآلات بأدوات إضافية مثل السكاكين والمسنات.

Damascus University



الشكل (2) ثلاثة انواع من الميكروتوم (1،2،3) مع نموذجين لحمل القطع الشمعية لإجراء المقاطع (الهيستولوجية)

Damascus University

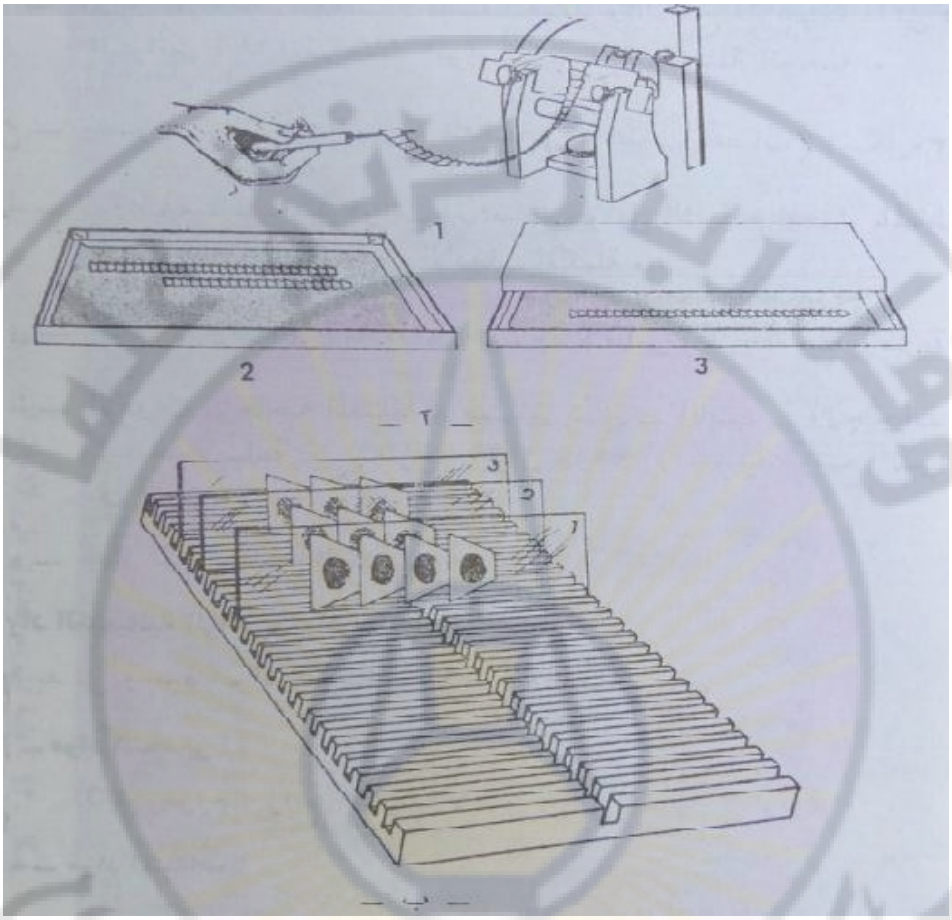
ز- ثلاجة كهربائية: لحفظ الأعضاء الحية، والنماذج الموجودة داخل شمع البارافين، إضافة لحفظ المواد الكيميائية المختلفة الخاصة.

ح- مجموعة من أدوات التشريح الدقيقة (ملاقط – مقصات) الشكل (3).

الشكل (3) علبة تشريح تحتوي على الأدوات الضرورية لإجراء عمليات التشريح المختلفة

ط- أدوات مساعدة مثل قوالب المكعبات وحوامل الشرائح المحملة بالمقاطع الشكل (4) وغيرها من الأدوات المكملة.

Damascus University



الشكل (4) آ- جمع المقاطع الهيستولوجية ووضعها ضمن علب كرتونية خاصة

ب- حامل الشرائح الهيستولوجية

ي- المكبرات والمجاهر العادية المزودة بأجهزة قياس (شريحة ميكرومترية).

ك- الأدوات الزجاجية المختلفة، أطباق بتري، أنابيب، وزجاجيات، زجاجات ساعة، ستائر، أطباق ورقية أو معدنية لوضع الشرائح في الفرن.

ل- جهاز قياس درجة الحموض.

2- المواد الكيميائية الواجب توافرها:

لا بد من وجود المواد الكيميائية التالية:

أ- **مواد التخدير:** الكلورفورم، رابع كلوريد الإيتيل، ثاني أكسيد الكربون.

ب- **مواد المثبتات:** حمض البكريك، حمض الخل الثلجي، بيكرومات البوتاسيوم أو الكالسيوم، أو الباريوم، بيكلور الزئبق، سلفات الصوديوم، حمض الأوسميك، حمض الكروميك، وخلات الأمونيوم.

ت- **مجموعة الكحول:** الكحول البوتيلي، الكحول الإيتيلي، الكحول الميتيلي، فورمول، أسيتون.

ث- **الصبغات:** صبغة الفوشين، اوركامالن، أزرق الاتيلين، أزرق التولويدين، ايوزين، هيماتو كزيلين، سافرانين.

ج- **مواد الترقيد:** الشمع بأنواعه، الكولوديون، السيللوئيدين.

ح- **مواد لاصقة:** جيلاتين، البومين.

خ- **مواد الترويق:** بنزوات الميثيل، البنزين، زيت السيدر.

د- **مواد التحميل:** بلسم كندا.

3- الطرق التكنيكية لدراسة التشريح الداخلي وتركيب النسج:

ترتبط الطرق التكنيكية لدراسة الحشرة بالهدف المرجو من هذه الدراسة، فتتطلب الدراسة المورفولوجية للأعضاء الداخلية طريقة تحضير خاصة لفصل الأعضاء بعد أن يتم وصفها وهي داخل جسم الحشرة، أما إذا كانت الغاية تَعَرُّف التركيب الخلوي لهذه الأعضاء وعملها فلا بد من عمل مقاطع في هذا النسيجح لدراسته بمساعدة المجهر الضوئي، ولمزيد من التعمق

في معرفة البنية فوق التركيبية، لابد من استخدام مقاطع خاصة يتم تحضيرها وفقاً لطرق محددة ودقيقة لمشاهدتها بمساعدة المجهر الالكتروني.

آ- تكنيك التشريح:

إن دراسة الشكل الظاهري للأعضاء الداخلية يحسن دراستها على نماذج حية. ولذلك نقوم بتخدير الحشرة لمدة 20 دقيقة بالإيتر، ونثبتها بعد ذلك في طبق بتري والذي يحتوي على شمع البارافين ويكون تثبيت الحشرة من الناحية الظهرية.

تغمر الحشرة بالسائل الفيزيولوجي (محلول رينجر Ringer) قبل أن يفتح بطن الحشرة من الناحية الظهرية، وفي حال تشريح اليرقات أو الحشرات الكاملة فلا صعوبة من أجل الحصول على الأعضاء الداخلية، أما عند العذارى فيجب أن نفصل الطبقة الخارجية (طبقة الكيوتيكل، أو النسيج الحريري).

ب- التكنيك الهيستولوجي:

ويقسم أيضاً إلى قسمين حسب نوعية الدراسة:

1- عمل محضرات (شرائح).

ونقوم بعمل المحضرات عند الرغبة بدراسة أحد الأعضاء الداخلية عند الحشرات (الجهاز العصبي، جهاز الاطراح، جهاز التكاثر) وتتم العملية بفضل العضو المراد دراسته ونضعه فوق شريحة زجاجية عادية، ونضيف بعد ذلك المحلول المثبت بأسرع وقت ممكن حتى يحتفظ النسيج بأقرب ما يمكن إلى شكله الحي.

ً2- عمل المقاطع المتسلسلة:

وتسمح لنا هذه الطريقة بدراسة أكثر دقة لتركيب الأعضاء الداخلية إذ إننا نحصل على مقاطع رقيقة جداً (5-7 ميكرونات) حيث يتمكن الضوء من المرور خلالها وهذا يسمح لنا بدراستها بالمجهر العادي. ويمكن عمل مقاطع متسلسلة أيضاً محضرة خصيصاً لدراستها بالمجهر الالكتروني وسنتعرض إلى كل طريقة من هذه الطرق فيما بعد.

جـــ- عمل المحضرات المستديمة:

لعمل المستحضرات الدائمة لا بد من اتباع الخطوات الآتية:

- بعد تخدير الحشرة وتثبيتها في طبق بتري، من ثم غمرها بمحلول رينجر نقوم بفصل العضو المطلوب دراسته.
- نضع الجهاز المراد دراسته فوق شريحة زجاجية نظيفة وذلك بمساعدة الملاقط الدقيقة، ونضيف بعد ذلك المحلول المثبت (مثل محلول كارنوا Carnoy) قطرة فقطرة وذلك بقطارة صغيرة أو بمحقن دقيق، والهدف من ذلك هو تثبيت المحضر وبالوقت نفسه التصاقه على الشريحة الزجاجية (اختبر هذا التكنيك من قبل قسيس، ولوغارف).
- بعد الانتهاء من عملية التثبيت الأولية نأخذ الشريحة الزجاجية مع محتوياتها ونضعها في المحلول المثبت خلال مدة 30-60 دقيقة أو من ساعة إلى ساعتين في حال استخدام المثبت بوان الكحولي.
- تغسل الشريحة ومحتوياتها بالكحول تركيز 70٪ وذلك للتخلص من بقايا المحلول المثبت.

- الخطوة التالية هي تلوين المحضر بأحد الملونات المرغوبة مثل الفولغين Feulgen أو فولغين مضافاً له أحد الملونات الأخرى مثل بيكروانديكوكارمن Picroindigocarmin ويختلف الوقت اللازم حسب سماكة الأجزاء المثبتة. ويمكن استخدام ملون أخضر الميتيل بيرونين Vert de methyl Pyronine، ويمتاز بأنه من الملونات السريعة ويعطي نتائج جيدة.
- بعد الانتهاء من عملية الصبغ نقوم بإزالة هذه الملونات وكذلك التخلص من الماء ويطلق على هذه العملية اسم التجفيف وذلك باستخدام سلسلة من الكحول بتراكيز مختلفة، 70 – 80 – 90 – 100 وأخيراً محلول التولوين.
- بعد تجفيف المحضر، نضع على الشريحة قليلاً من بلسم كندا ويغطى المحضر بوساطة ساترة.
- تنقل الشريحة الجاهزة إلى فرن التجفيف ودرجة حرارته 40°–50°م وتبقى بداخله لمدة اسبوع.

وقل رب زدني علما
جامعة دمشق
Damascus University

الفصل الثاني

تحضير المقاطع (الهيستولوجية) لدراستها بالمجهر الضوئي

عند دراسة الأعضاء الداخلية للحشرة في مكان توضعها في جسم الحشرة مثل الأنبوب الهضمي أو الغدد اللعابية، جهاز الاطراح.. فإننا نقوم بعدة من خطوات أساسية هي على التتالي: التثبيت، التجفيف، الترويق، وضع الحشرة في شمع البارافين. ومن ثم القطع والتلوين، وأخيراً التحميل على شرائح زجاجية.

1- التثبيت:

بعد عملية التخدير نغمر الحشرة في الطور المراد دراسته (يرقة – عذراء أو حشرة كاملة أو حورية بالنسبة للحشرات مختلفة التطور)، نضع هذه الحشرات في زجاجة صغيرة تحتوي على أحد المثبتات، وتختلف مدة بقاء هذه الحشرات في المحلول المثبت، حسب نوع المثبت المستخدم، وكذلك حسب جسم الأجزاء المثبتة وطبيعتها.

آ- مبدأ التثبيت:

هو عملية القتل السريع لمكونات نسيج ما أو خلايا النماذج وحفظها بحالة أقرب ما يمكن إلى الحالة التي كانت في أثناء الحياة، ومن ثم تثبيط التغيرات كافة التي يمكن أن تحدث للأنسجة أو الخلايا بعد موتها.

وتثبيت الخلية يعني باختصار:

- حفظها من مهاجمة البكتريا.

- مقاومتها للتحلل الذاتي لمكوناتها الأساسية وذلك تحت تأثير الأنزيمات الخلوية المختلفة، وهذا التحلل الذي يؤدي إلى تحول البروتينات إلى أحماض أمينية.
- عدم تحلل المكونات الخلوية التي يفترض البحث عنها.
- مقاومة الخلية للتعوج أو الالتواء والتقلص.
- تحضير التراكيب المختلفة إلى معاملات لاحقة، إما التخضيب Mordancage (التهيئة للتلوين) أو الكشف بالطرق الكيميائية (مثل بعض التفاعلات الهيستولوجية).

ونظراً للأهمية الكبرى للبروتينات في تركيب المكتنفات الخلوية فإننا نبحث دائماً في حفظ هذه البروتينات على نحوٍ جيد، وذلك للدراسات المورفولوجية أو الخلوية. ومع ذلك فإن عملية خلط المثبتات، يكون لها تأثير مهم في تركيب الخلية، يصبح ضرورياً وبخاصة عند إجراء بعض الدراسات الهيستولوجية. وهنا نميز نوعين من المشكلات التي تعترضنا، مشكلة المثبتات الخلوية ومشكلة المثبتات الهيستوكيميائية، ومع ذلك فإنه ثمة بعض الخلائط للمثبتات تكون متعددة الأهداف.

إن الهدف الأساسي من استخدام المثبتات هو توطيد الأساس المورفولوجي للنسيج وتثبيته أو الخلايا المدروسة وتهيئتها لعملية التلوين. أما متطلبات التثبيت الهيستوكيميائي أو أهدافه فهي:

- تجنب انحلال المركبات المراد البحث عنها في المثبت.

- الحفاظ على الوظائف الكيميائية الموجودة أصلاً في الخلية أو العمل على إظهار النشاطات الكيميائية وكشفها التي قد تكون غير مكشوفة.
- الحفاظ على بعض الخواص الفيزيائية.

وهناك بعض الحالات الخاصة للدراسات الهيستوكيميائية ألا وهي الدراسات الهيستوأنزيمية (Histoenzymologie)، وتختلف هنا النشاطات الأنزيمية عن المواد الكيميائية المستخدمة في التثبيت، وقد تكون هذه الاختلافات كبيرة جداً.

ب- أنواع المثبتات:

تقسم المثبتات إلى نوعين وذلك تبعاً لتأثيرها في الأنسجة أو الخلايا:

1- المثبتات المرسبة: وهي المثبتات التي ترسب البروتينات الخلوية نتيجة اتحاد كيميائي مثل:

- الكحول الاتيلي
- حمض البكريك
- حمض الكروميك
- كلور الزئبق (السليماني)

2- مثبتات غير مرسبة : وهي تثبت البروتينات بتغير طبيعتها من أمثلتها:

- الفورمالدهيد (فورمول)
- بيكرومات البوتاسيوم
- حامض الأوسميك (تيتروكسيد الأوسميوم)

كما تقسم المثبتات حسب الغرض من استعمالها إلى نوعين:

1- المثبتات الهيستولوجية: وتقوم هذه المثبتات بتثبيت عناصر الخلية بكاملها، وتستخدم عندما يكون الغرض من الدراسة هو حفظ مكونات الخلية، وهناك نوعان من هذه المثبتات:

- المثبتات النووية: وتستعمل لتثبيت النواة والكروموزومات، مثال ذلك:

مثبت فليمنغ Liquid de Flemming

مثبت كارنوي Liquid de Carnoy.

- المثبتات السيتوبلاسمية: وتستخدم لتثبيت الجسيمات الكوندرية وجهاز غولجي، المواد الدهنية، المح، الغليوكوجين، ومثال ذلك:

مثبت هيلي Liquid de Helly

ومثبت فليمنغ بدون حمض الخل.

2- مثبتات التشريح الدقيق: تستخدم هذه المثبتات عندما يكون الهدف هو حفظ التركيب العام للأنسجة وإظهار العلامات بين طبقاتها المختلفة أو إظهار التجمعات المختلفة للخلايا ونذكر من هذه المثبتات:

سائل بوان Liquid de Boin

سائل زينكر Liquid de Zenker

سائل سوزا Susa de Heidenhain

ويبين الجدول (1) أهم المثبتات المستخدمة للدراسات الهيستولوجية المختلفة.

الجدول (1) أهم المثبتات المستخدمة للدراسات الهيستولوجية المختلفة

أساس المثبت	اسم المثبت	مكونات المثبت
حمض الخل	1- سائل بوان BouinAqueux	75 مل من محلول مشبع لحمض البكريك 20 مل فورمول 5 مل حمض الخل
	2- بوان هولاند Bouin – Hollande	100 مل ماء مقطر 2.5 مل خلات النحاس 10 مل فورمول 1 مل حمض الخل 4 مع حمض البكريك
	3- سائل دوبيسيك برازيل (بوان الكحولي) Bouin Alcoolique	46 مل فورمول 7 مل حمض الخل 45 مل محلول 1٪ من حمض البكريك في كحول95٪ 22 مل ماء مقطر
	4- سائل جندر Gendre	80 مل كحول 95٪ مشبع بحمض البكريك 15 مل فورمول 5 مل حمض الخل
بيكرومات البوتاسيوم Bichromate de Potas	5- سائل زينكر Liquid de Zinker	2.5 غ بيكرومات البوتاسيوم 5 غ كلور الزئبق 1 غ سلفات الصوديوم 100مل ماء مقطر ويضاف 5 مل من حمض الخل وذلك عند الاستعمال
	6- سائل ريكو Regaud	80 مل من محلول بيكرومات البوتاسيوم 3٪ 20 مل من فورمول معتدل
فورمول Formol	7- فورمول ملحي Formol sale	10 مل فورمول معتدل 90 ل من محلول كلورو الصوديوم أو من ماء البحر
تيتروكسيدالاسميوم Tetroxyde d osmium	8- سائل فليمنغ Liquid de Flemming	75 مل محلول حمض الكروميك 1٪ 20 مل محلول تتروكسيدالاسميوم 2٪ 5 مل حمض الخل

	9- سائل شامبي Liquid de Champy	7 مل محلول حمض الكروميك 1٪ 7 مل محلول بيكرومات البوتاسيوم 2٪ 4 مل محلول تتروكسيدالأوسميوم
الكحول Alcool	10- محلول كارنوي 2 Liquid de Carnoy2	60 مل كحول مطلق 30 مل كلوروفورم 10 مل حمض الخل
	11- الكحول – فورمول	90 مل كحول مطلق 10 مل فورمول
	12- محلول كلارك أو كارنوي 1 Clark ou Carnoy1	30 مل كحول مطلق 10 مل حمض الخل
كلور الزئبق Mercuric chloride	13- سوزاهيدينهان Susa de Heidendhain	4.5 غ كلور الزئبق 0.5 غ كلور الصوديوم 80 مل ماء مقطر 2 غ حمض ثلاثي كلور الخلي 4 مل حمض الخل 20 مل فورمول

جـ- خواص مكونات المثبتات الرئيسية:

1- الكحول الاتيلي: (التركيز الأفضل 70-100٪)

- هو مرجع، فهو متعارض مع بيكرومات البوتاسيوم وحمض الأوسميك.
- يرسب وبقوة البروتينات، ولكنه لا يحل البروتينات النووية بشكل جيد.
- يغير طبيعة البروتينات دون إضافة ذرات.
- يذيب بعض المعقدات الدهنية، ويرسب الغليكوجين دون أن يثبته.
- تسبب الكحولات انكماش الأنسجة وتصلبها نظراً لسحب الماء منها.
- تؤدي إلى عدم قبول الأنسجة للصفات وذلك بسبب الخواص الاختزالية للكحولات.

- يستخدم لوحده في البحث عن الأنزيمات أو دراسة النسيج العصبي بشكل كحول مطلق.
- تعد الكحولات بطيئة النفوذ في الأنسجة لذا لا ينصح باستعمالها إلا في حالة النماذج الرقيقة (لا تزيد سماكتها عن 5مم)، كما يجب تجديد الكحول من وقت لآخر بسبب خاصيته في جذب الماء.

2- الفورمول Formol (التركيز الأفضل 4 – 10 ٪):

- لا يرسب البروتينات، ولكنه يحفظها بسبب إضافته الذرات لها.
- يثبت الدهون والجسيمات الكوندرية وجهاز كولجي.
- لا يؤدي إلى انكماش الأنسجة ولكنه يؤدي إلى تصلبها بشدة .
- يمتاز بأن نفاذيته عالية .
- تقبل الأنسجة المثبتة بالفورمول الصبغات.

يجب الحذر عند استخدامه بسبب أبخرته شديدة التأثير في الجهاز التنفسي والعين لذلك يفضل استخدام الفورمول المعتدل (تركيز 8–10%). نادراً ما يستخدم وحده لأنه يؤدي إلى تصلب النسيج ومدة التثبيت الوسطية فيه 48 ساعة.

3- حمض الخل Acideacetique (التركيز الأفضل 0.3 – 5٪).

- يمتاز بنفوذيته العالية .
- لا يثبت بروتينات السيتوبلاسم ولكنه يرسب بروتينات النواة، ويعد من المثبتات المهمة للكروموزومات .
- لا يحفظ العناصر السيتوبلاسمية بشكل جيد. إذ يؤدي إلى تلف الجسيمات الكوندرية وجهاز كولجي.

- يؤدي إلى انتفاخ الأنسجة ولا يؤدي إلى تصلبها.
- يزيد في تباين اللون بين السيتوبلاسما والنواة.

4ً-حمض البكريك : AcidePicrique (محلول مشبع):

- يؤدي إلى ترسيب البروتينات وذلك بتشكيله بيكرات البروتين القابلة للذوبان في الماء، لذلك تغسل المحضرات بالكحول عوضاً عن الماء.
- بطيء النفاذية ويؤدي إلى انكماش الأنسجة بقوة أما تصلبها فيكون تدريجياً أو معدوماً.
- يثبت السيتوبلاسم ويمكن استعماله مع جميع الصبغات.
- يفيد خلط حمض البكريك مع الفورمول لزيادة النفاذية ومع حمض الخل لتقليل الانكماش الشديد.

5ً-حمض الكروميك Acidechromique (التركيز الأفضل 0.5 – 2٪) .

- مؤكسد قوي ولذلك فهو لا يتوافق مع المواد المختزلة مثل الفورمول والكحول.
- يرسب البروتينات كافة، ويعد المثبت الأفضل الذي يحفظ الكربوهيدرات بصورة غير قابلة للذوبان.
- يسهل التلوين بالملونات القاعدية.
- يجب أن يزال كاملاً عن طريق الغسل بالماء الجاري لمدة طويلة.

6ً-بيكرومات البوتاسيوم: Bichromate de K(التركيز الأفضل 1-2٪).

- مؤكسد لا يتوافق مع الكحول.
- يثبت الأنسجة بشكل موحد، دون أن يرسب البروتينات، ويذيب الكروماتين.

- يثبت الدهون المعقدة والجسيمات الكوندرية .
- يجب أن يزال بوساطة الماء الجاري .

7- كلور الزئبق: Chloruremercurique

- يرسب البروتينات كافة دون أن يتحد معها، مؤكسد حامضي.
- ينفذ بسرعة.
- يؤدي إلى تصلب الأنسجة بقوة على نحوٍ تام، وتقبل الأنسجة الصبغات المختلفة.
- يجب أن يزال بمركب يودي.

8- حمض الاوسميك: Tetroxyde d osmium(التركيز الأفضل 1-2٪).

- مؤكسد قوي لا يتوافق إذاً والكحول والفورمول.
- يثبت على نحوٍ متجانس دون أن يرسب البروتينات.
- يثبت الجسيمات الكوندرية ويؤدي إلى تلون جهاز غولجي بالأسود.
- لا يؤدي إلى انكماش الأنسجة.
- يجب أن تزال آثاره بوساطة الماء.
- لا يسهل تلوين النواة.

9- الأسيتون: يعد من المثبتات السيئة كونه ينزع الماء من النسيج. يستخدم عادة لتثبيت اللطخات ومن مزاياه المحافظة على الغليكوجين والعديد من الأنزيمات، ويجب تبديله عدة مرات خلال مدة التثبيت التي هي بحدود 24 ساعة.

10- نترات الفضة: يستخدم في دراسة الجهاز العصبي وجهاز غولجي.

11- سائل بوان: يعد من أفضل المثبتات، وهو سهل التحضير والاستخدام، ويتطلب التثبيت عدة أيام. يستخدم أحياناً محلول كحولي من حمض البيكريك وذلك للحصول على سائل شديد النفوذ بحيث إنّ القطع الصغيرة يمكن تثبيتها خلال نصف ساعة.

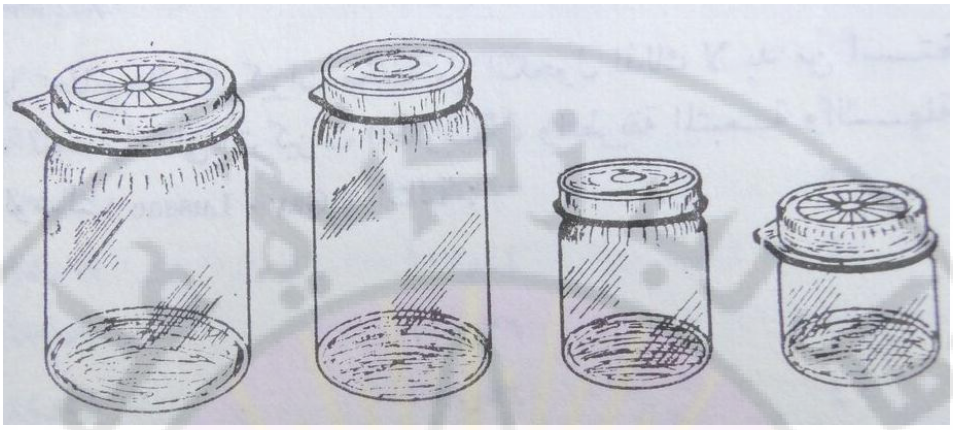
12- سائل زنكر: من المثبتات الجيدة التي تسمح باستخدام عدد كبير من طرق التلوين. مدة التثبيت 7-8 ساعات فقط، ويمكن أن تزداد إلى 24 ساعة مع تغيير المثبت من وقت لآخر عند دراسة المحضرات الحيوية.

13- سائل فليمينغ: يستخدم في الدراسات الخلوية الدقيقة، ومدة التثبيت من 24-36 ساعة وسطياً، ولقطع صغيرة للغاية (1-4 ملم) بسبب اختراقه البطيء جداً. يمكن أن يؤدي في الطبقات السطحية للقطعة إلى ما فوق التثبيت التي تؤدي إلى صعوبة في التلوين.

14- سائل كارنوي: شديد النفود يتم التثبيت فيه خلال 3-4 ساعات تنقل بعدها القطع إلى الكحول المطلق.

عموماً من أجل التثبيت الأفضل فإن الحشرات تبقى داخل زجاجات خاصة الشكل (5) مغمورة بالمحلول المثبت: كارنوي Carnoy مدة 2-6 ساعات أما محلول بوان الكحولي BoiunAlcoolique فتبقى من 1-5 أيام، أما محلول بوان هولاند BoiunHollande فنتركه مدة 2-5 أيام.

وفي حال دراسة طور العذراء فإنّه من المفضل أن تزال الطبقة الخارجية المحيطية بها، لأن ذلك يسمح بدخول سائل التثبيت بسهولة إلى جسم الحشرة ويثبت الأعضاء الداخلية كافة.



الشكل (5) أنواع مختلفة من الزجاجات

د- انتقاء المثبت المناسب:

يختلف انتقاء المثبت باختلاف العضو أو النسيج المدروس، وتبعاً للغاية والملونات المستخدمة. رغم أن سائل بوان من أفضل المثبتات، إلا أنه لا يستفاد منه في كثير من الدراسات، كما لا ينصح به بالنسبة للمبتدئين حيث بقدر ما تكون مرحلة التثبيت ناجحة بقدر ما نحصل على مقاطع ممتازة وواضحة.

يمكن في الحالات المستعجلة استخدام الفورمول بنسبة 8-10 % حيث يحافظ على القطع لمدة طويلة.

هـ- الإجراءات المطلوبة في عملية التثبيت:

تختلف حسب كون الأعضاء متقلصة أم لا، ففي حال الأعضاء غير المتقلصة كالغدد والجهاز العصبي يتم تقطيعها إلى أقسام متوسطة الحجم وتغطيتها بالكامل ضمن المثبت، وبعد حينٍ من الزمن تصل لنصف ساعة تكون عندها اكتسبت نوعاً من القساوة يتم إخراجها وتقسيمها باستخدام شفرة إلى قطع صغيرة بثخانة 5 ملم مع إعادتها فوراً للمثبت. وفي حال الأعضاء المتقلصة

المجوفة العضلية يتم التثبيت في أثناء التمدد، لأن التقلص العضلي يؤدي إلى تشويه البنية النسيجية لذلك يعمد إلى حقن المثبت فيها قبل وضعها في السائل ليتم طرد الهواء من تجويفها، وتحافظ على شكلها قدر الإمكان.

لحجم القطعة المثبتة أثر كبير في نجاح عملية التثبيت ففي حال استخدام أكثر المثبتات نفوذاً كبوان وكارنوي، يجب ألا تزداد ثخانة القطع عن 5 ملم. أما في حال استخدام المثبتات قليلة النفوذ كالسوائل الأوسميه فإن ثخانة القطع يجب ألا تتجاوز 1-2 ملم، أما بالنسبة لحجم السائل المثبت فيجب أن تزيد 20-30 مرة على حجم القطع عموماً، ولكن يمكن إنقاصها في السوائل الأوسمية، ويفضل تجديد المثبت مرة أو مرتين خلال مدة التثبيت مع تحريك وعاء التثبيت بين الفينة والأخرى.

يمكن إطالة مدة التثبيت بالنسبة للسوائل المشتملة على الفورمول وحمض البيكريك دون أن يصيب القطع أي ضرر، وقد يتم تسريع التثبيت بزيادة الحرارة لـــ 40°م لمنع الانحلال الذاتي أو البرودة لإبطائها في حال الخلايا الإفرازية.

2- الغسيل:

الغاية من هذه العملية هي إزالة آثار المثبت التي يؤدي بقاؤها في النسيج إلى صعوبات في التلوين كما أنها تقلل من مدة حفظ المحضرات. وتختلف المادة الغسولة حسب طبيعة المثبت وذلك وفق ما يلي:

- القطع المثبتة بالسوائل الأوسمية أو البيكرومات يتم غلسها بالماء الجاري لمدة تساوي مدة التثبيت.

- القطع المثبتة بكلور الزئبق يتم غسلها بالكحول اليودي وتجديده عدة مرات ثم تغسل بالكحول لإزالة آثار اليود.
- القطع المثبتة بسوائل تشتمل على حمض البيكريك يتم غسلها بالكحول 90% ثم بالكحول المطلق.

3- التجفيف:

يتم التخلص من الماء عن طريق استخدام الكحول بتركيزات مختلفة إلى أن نصل إلى الكحول المطلق حسب ما يلي:

كحول 70% : حمامين لمدة 30 دقيقة لكل حمام.

كحول 90%: حمامين لمدة 30 دقيقة لكل حمام.

كحول 95%: ثلاثة حمامات لمدة 30 دقيقة لكل حمام.

ويكون الكحول إما على صورة نقية أي كحول مطلق 100٪ خال من الماء، وإما على نحوٍ تجاري، والكحول التجاري يحتوي على نسبة بسيطة من الماء 5٪ أي يكون بتركيز نهائي 95٪ من الكحول .

ولكن نحتاج دائماً لتركيزات مخففة من الكحول لذلك لا بد من استخدام طريقة سهلة للحصول على التركيزات المطلوبة، والطريقة المتبعة والسهلة هي طريقة غي لوساك (Gay - Lussac) المبينة في الجدول (2):

الكحول المطلوب	كمية الماء بالميليلتر الواجب إضافتها إلى 100 مل من الكحول المطلق	كمية الماء بالميليلتر الواجب إضافتها إلى 100 مل من الكحول تركيزه 95٪
95	6.5	–
90	13.25	6.41
85	20.54	16.33
80	28.59	20.95
75	37.58	29.52
70	47.75	39.18
65	50.37	50.22
60	72.82	63
55	88.60	77.99
50	107.44	95.89
45	130.26	117.57
40	158.56	144.46
35	194.63	178.71
30	242.38	224.08
25	308.90	287.28
20	408.5	381.9
15	574.75	539.66
10	907.09	855.55

ومن المفضل تغيير الكحول عدة مرات بتحريك الأنابيب بين مدة وأخرى. يُلجأ إلى الكحول 90% مباشرة في حال استخدام بوان مُثبتاً.

4- الإجراءات الواجب اتخاذها بعد التجفيف:

- تنقل الحشرات إلى الكحول البوتيلي Butanol وذلك بمساعدة ملقط مرن، وتبقى الحشرات ضمن هذا السائل مدة 15 يوماً. والغاية من ذلك إزالة ما تبقى من الماء، إضافة لتطرية طبقة الكيوتيكل.
- تنقل الحشرات بعد ذلك إلى محلول الكولوئيدين Colloidine وتبقى ضمن هذا المحلول مدة 24 ساعة على الأقل، ويجب أن تنتظر حتى تستقر الحشرات في قعر الزجاجة.

- للتخلص من الكولوئيدين يتوجب غسل الحشرات بالبنزين مرتين مدة كل منهما 15 دقيقة.

5- الحضن بالبارافين:

نقوم بتنفيذ هذه العملية على عدة مراحل:

- نضع نصف كمية من البنزين والنصف الآخر من شمع البارافين، ونغمر الحشرات بهذا الخليط لمدة 20-40 دقيقة، وتبقى الحشرات داخل فرن درجة حرارته تعادل درجة حرارة انصهار شمع البارافين المستخدم. والهدف من ذلك تسهيل دخول شمع البارافين إلى الأعضاء الداخلية للحشرة.

- نستبدل بالخليط السابق آخر يتألف من البنزين وشمع البارافين بنسبة 3 شمع بارافين: 1 بنزين.

- نستبدل بالخليط السابق شمع البارافين النقي، ونقوم بإجراء هذه العملية 3 مرات، وتستغرق كل مرة مدة ساعتين وتتم هذه العمليات كافة داخل الفرن (الحاضنة).

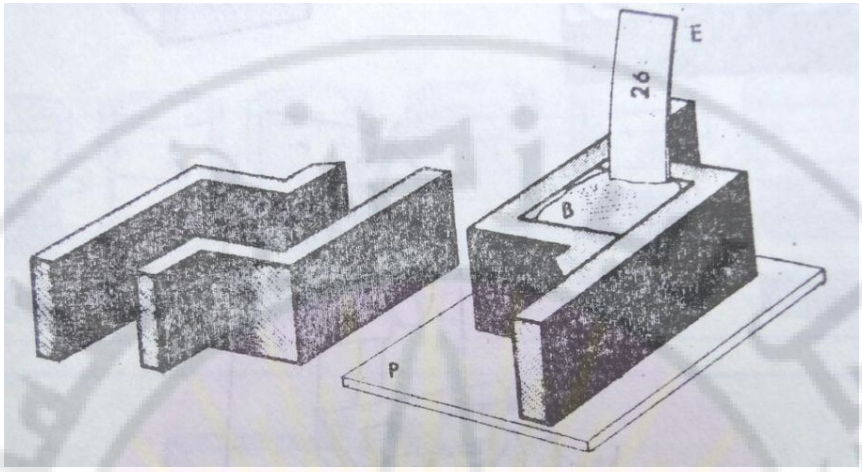
- بعد الانتهاء من هذه العمليات نقوم بعملية وضع الحشرة في الشمع، ويتم ذلك بوضع الحشرة ضمن قالب خاص (الشكل 6) (في وسطه) ونغمرها بشمع البارافين والخالي من الشوائب وننتظر حتى يصبح صلباً، وبذلك نحصل على قطعة أو قالب من شمع البارافين، وفي وسطه الحشرة المراد إجراء مقاطع فيها، ومن القوالب الأكثر استخداماً هي قضبان لوكارت، التي يصنع منها قوالب مختلفة الحجم بجمع قطعتين معدنيتين فوق صفيحة من الزجاج أو المعدن. تتم عملية الصب بأن يملئ القالب بالبارافين المنصهر، ومن ثم إخراج الحشرة من

آخر حمام وبسرعة كبيرة، ووضعها ضمن القالب بعد توجيهها بملقط ساخن. تحافظ الحشرة على توجيهها بسبب تصلب البارفين بحرارة الجو. يبرد المجموع بالهواء، ثم توضع بعدها من عدة دقائق لعشرين دقيقة في الماء. يتم بعدها رفع قوالب البارافين وتجريدها من قوالب لوكارت بسهولة.

يمكن التشريب بالكولوديون في بعض الحالات الخاصة للأعضاء ذات الحجم الكبير أو الصلبة أو النسج التي لا تتحمل حرارة البارافين المنصهر كالنسيج العصبي.

يفضل استخدام طريقة مختلطة من الكولوديون والبارافين. وطريقة العمل هي في خطها العام ذاتها إلا أنه يتم تمرير القطع بالكولوديون قبل إيصالها للبارافين.

وتعد طريقة Peterfi من أفضل الطرائق فبعد تجريد القطع من الماء تماماً بالكحول نضعها في حمامين أو ثلاثة من مزيج يتألف من كولوديون بنسبة 5% حجماً وساليسيلات الميتيل 5 حجوم (يمكن الاستعاضة عنها ببنزوات الميتيل) لمدة 24 ساعة أو أكثر، ثم تنقل إلى حمامات البنزين أو التولوين ومنها إلى البارافين المنصهر.



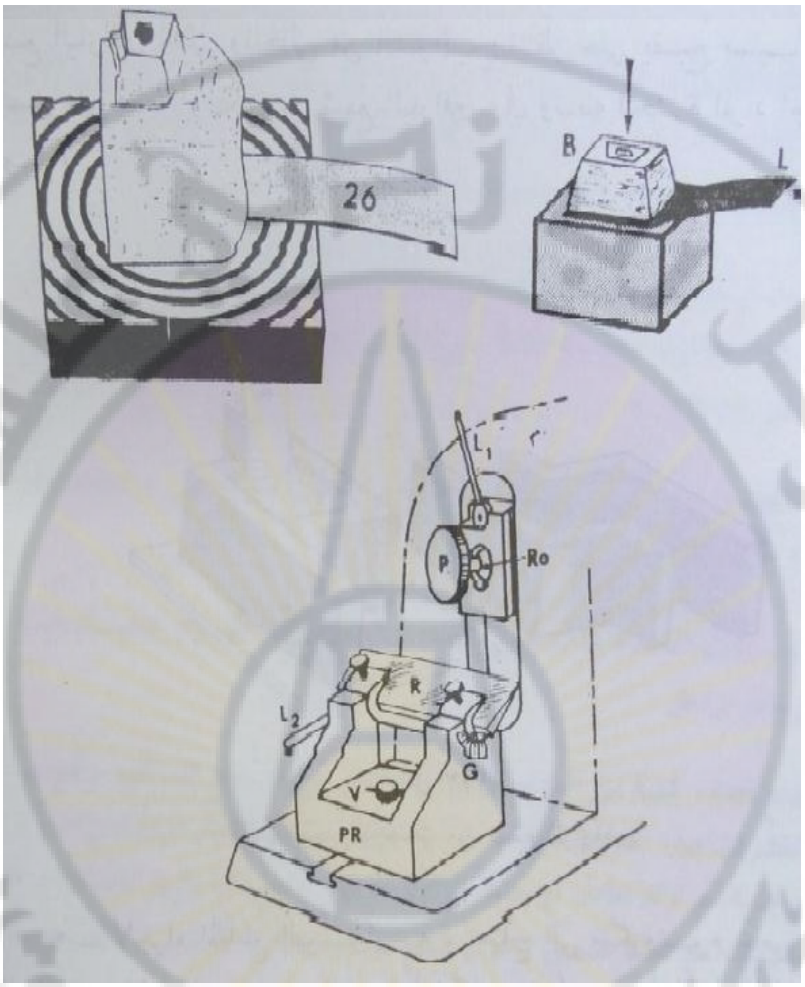
الشكل (6) قالب لصنع مكعبات من شمع البارافين

6- عمل المقاطع:

لإجراء المقاطع الهيستولوجية نحتاج إلى المقطاع المجهري أو الميكروتوم، وأفضل أنماطه هو مقطاع مينو الذي يؤمن مقاطع رقيقة منتظمة السماكة. ومن أهم أقسام المقطاع السكين التي يجب أن تكون صالحة وغير مشتملة على أثلام وثنايا مجهرية تؤدي إلى تشقق شريط المقاطع (الشكل 8).

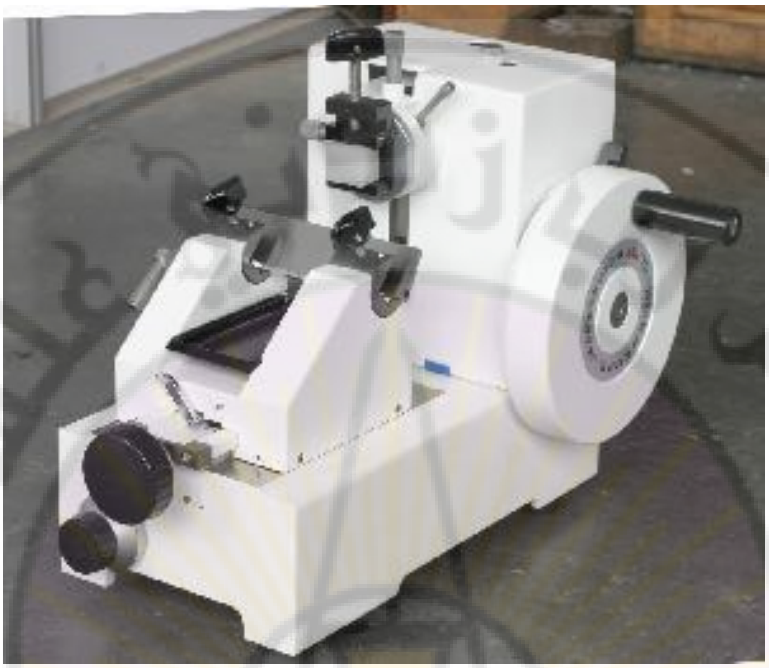
ولتثبيت القطع البارافينية على حامل القطع، توضع قطعة من البارافين على سطحه، وتصهر، وعندها نلصق القالب مع الضغط عليه قليلاً، ثم يذاب البارافين حول قاعدة القالب، ويبرد سريعاً لزيادة تماسك القالب على الحامل (الشكل 7).

Damascus University



الشكل (7) خطوات تثبيت قالب شمع البارافين على الحامل، ومن ثم تجهيزه ووضعه على الميكروتوم لبدء عملية التقطيع

Damascus University



الشكل(8) المقطع المجهري: السكين ثابتة وحامل القالب البارافيني متحرك يظهر في الجانب الأيمن ذراع تقدم حامل القالب حسب الثخانة المطلوبة

للحصول على شرائط من المقاطع يجب أن تكون الوجوه العلوية والسفلية وكذلك الجانبية متوازية. كما يجب تقريب القطعة من السكين، وإزالة الطبقات البارافينية من على سطح القطعة النسيجية قبل قطع الشرائط. ثم تحدد سماكة المقاطع التي تتراوح بين 5-7 ميكروناً للدراسات النسيجية العامة و1-3 ميكروناً بالنسبة للدراسات الخلوية. ونستطيع بهذا الحصول على شرائط منتظمة يرقم كل منها وبالترتيب، وتوضع في علب خاصة مغطاة كي لا تتخرب.

7- لصق المقاطع على الصفائح:

يستخدم عموماً الماء الجيلاتيني، فنحصل عليه بوضع 5سم^3 من الجيلاتين النقي و 100سم^3 من الماء المقطر الساخن، ويترك على نار هادئة حتى الغليان لمدة 3 دقائق، ثم يترك حتى يبرد ويرشح بعدها.

لإجراء عملية اللصق نضع قطرة من السائل الجيلاتيني على الصفيحة ونقطع من الشريط مقطعاً أو عدة مقاطع بوساطة مشرط حاد ونضعها في السائل، ثم نضع الصفيحة في السائل، بعد ذلك نضعها على سطح سخانة معدنية لا تتجاوز حرارتها 45م°، فتمدد المقاطع، ونقوم بالمشرط بإصلاح الانثناءات التي لم تتمدد. بعد ذلك يعمد إلى سكب الفائض من السائل بإمالة الصفيحة بهدوء، فينساب السائل، ويتم إيقاف المقاطع برأس المشرط.

توضع المقاطع بعدها في علب خاصة بعد حفر معلومات عن القطعة النسيجية بقلم من الماس على طرف الصفيحة، ووضعها ضمن فرن لا تزيد درجة حرارته على 40°-50°م للتجفيف حيث لا يمكن إجراء التلوين والمقاطع رطبة.

8- الإجراءات الواجب اتخاذها قبل التلوين:

بعد التأكد من ثبات المقاطع السابقة على الشرائح الزجاجية نقوم بإزالة شمع البارافين الموجود عليها، وذلك بتغطيس الصفائح في التولوين لعدة دقائق حيث ينحل البارافين. تنقل المقاطع بعدها إلى وعاء يشتمل على مزيج من المواد التالية:

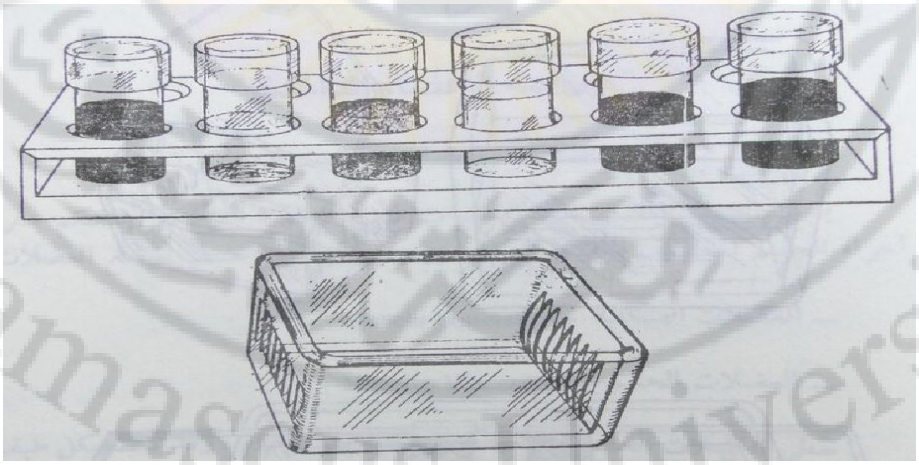
- كحول مطلق 50 سم^3
- أيتر عادي 50 سم^3
- كولوديون بنسبة 5% 2 سم^3

تترك المقاطع في هذا السائل مدة تتراوح بين 1–2 دقيقة، ومن ثم ترفع، وننتظر مدة حتى يتساقط الفائض من السائل دون تجفافها حيث تنقل إلى وعاء يحتوي:

- كحول 95% 5 أحجام
- فورمول 1 حجم

وبعد مضي عدة دقائق تنقل المقاطع للماء العادي، وتترك مدة زمنية كافية لامتصاص الماء وتشرب.

تكون هذه السوائل موجودة في أوان خاصة، والشرائح كثيراً ما تكون محمولة بحامل خاص، وذلك تحاشياً للمس المقاطع أو لمس السوائل باليد (الشكل 9).



الشكل (9) مجموعة من الأدوات الزجاجية تستخدم لإزالة شمع البارافين والتلوين

9- عملية التلوين:

أصبحت الآن المقاطع جاهزة للتلوين، وهنا تختلف طريقة التلوين وذلك تبعاً لنوع الدراسة المرادة، وأهم طرق التلوين المستخدمة: (الشكل 10).

أ- طريقة هوتشيكس ماك مانوس:

يكشف بها عن السكريات، وتشمل المراحل الآتية:

1- إجراء أكسدة للمقاطع لمدة 10 دقائق في المزيج الآتي:

فوق يودات البوتاسيوم 0.8 غ، ماء مقطر 100سم^3، حمض آزوت مركز 0.5غ.

2- غسل المقاطع جيداً في الماء الجاري لمدة 2-3 دقائق.

3- التلوين بكاشف شيف مدة 30 -60 دقيقة.

4- إمرار المقاطع في بيسلفيت الصوديوم بنسبة 2% مدة 10-15 ثانية.

5- غسل المقاطع بالماء الجاري لمدة 30 دقيقة إلى ساعة.

6- التلوين بوساطة الهيماتوكسيلين لمدة 3-4 دقائق.

7- الغسل بالماء الجاري لمدة دقيقة.

8- التلوين بوساطة بيكروانديفوكارمن لمدة 15 ثانية.

يتم إعداد الملونات كما يلي:

1- كاشف شيف: يحل 1غ من الفوكسين الأساسي في 200سم^3 من الماء المغلي وبعد التبريد نضيف 2غ ميتابيسلفيت الصوديوم أو البوتاسيوم و 10سم^3 من حمض كلور الماء، وبعد التحريك يترك المجموع في مكان مظلم لمدة 24

ساعة. وهنا يزول لون الفوكسين الأحمر، ونحصل على سائل عديم اللون أو مصفر قليلاً.

2- ملون هيماتوكسيلين، ونحصل عليه باستخدام:

ماء مقطر	50 سم^3
كحول مطلق	50 سم^3
هيماتوكسيلين	0.5 غ
حمض كبريت مركز	0.8 سم^3
شب الحديد	1 غ

3- ملون بيكروانديفوكارمن: يحضر بحل 0.25 غ من الانديفوكارمن في 100 سم^3 من محلول مائي مشبع من حمض البيكريك.

تتلون المواد السكرية باللون الأحمر الأرجواني.

ب- طريقة فولكن:

تفيد في الكشف عن الـــ DNA على المراحل التالية:

1- توضع المقاطع مدة 14 دقيقة في حمض كلور الماء النظامي بدرجة حرارة 60°م.

2- تغسل المقاطع بالماء الجاري.

3- توضع ضمن كاشف شيف لمدة ساعة.

4- تمرر المقاطع لمدة 15 ثانية في محلول بيسلفيت الصوديوم بنسبة 2%.

5- تغسل المقاطع بالماء الجاري لمدة 30 -60 دقيقة.

6- تلون لمدة 10 دقائق بالبيكروانديفوكارمن.

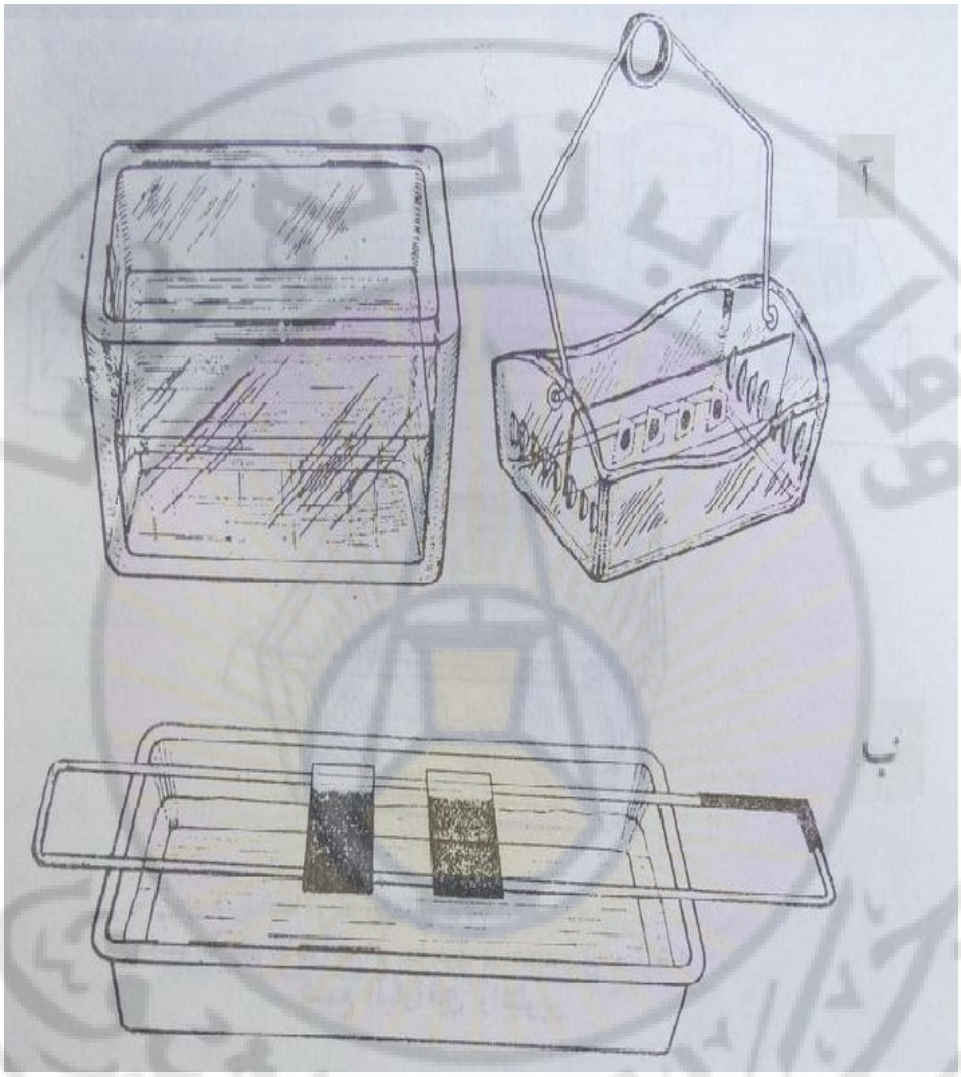
10- إزالة الماء من المحضرات:

بعد الانتهاء من التلوين نقوم بإزالة الملونات الزائدة والماء ثانية ونتبع ما يلي:

- استخدام الكحول (70 – 80 – 90 – 100٪).
- تمرير المقاطع إلى التولوين.

11- توضع قطرة من بلسم كندا فوق المقاطع، ثم تغطى بالساترة، ثم توضع الشرائح في حاضنة التجفيف لمدة اسبوع على الأقل.

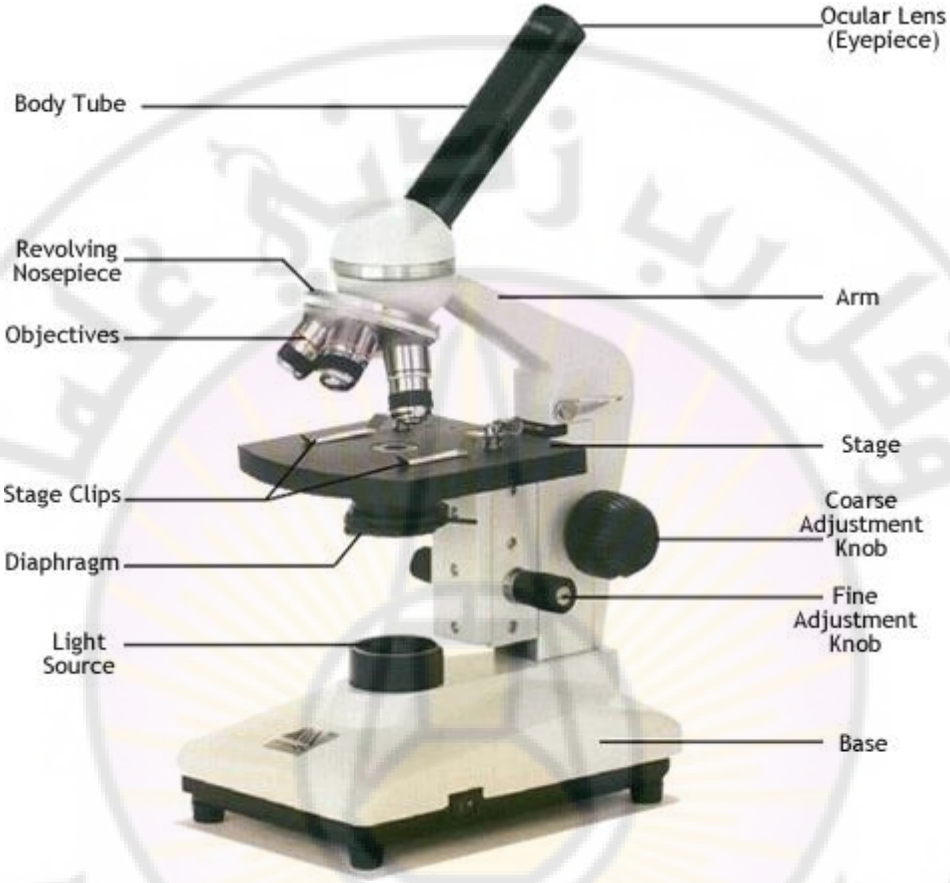
12- تفحص المقاطع بعد جفافها بالمجهر الضوئي (الشكل 11).



الشكل (10)

أ- حوض زجاجي وسلة خاصة لوضع الشرائح الهيستولوجية تستخدم في أثناء عمليات إزالة شمع البارافين والتلوين

ب- أدوات خاصة تستخدم في أثناء تلوين الشرائح الهيستولوجية مباشرة



الشكل (11) المجهر الضوئي

Damascus University

الفصل الثالث

إعداد العينات الخلوية لدراستها بالمجهر الإلكتروني

الطرق الروتينية المستخدمة بالمجهر الإلكتروني:

يتضمن تحضير الأنسجة لدراستها بالمجهر الإلكتروني (الشكل 12)، القيام بالتثبيت، ونزع الماء، والحضن ضمن مادة قاسية.

يتم التثبيت بعد استئصال النسيج مباشرة، وكثيراً ما يتم ضمن مثبت أوسمي، إلا أنه يمكن استخدام مثبت دالتون، برمنغنات البوتاسيوم وغلوتار ألدهيد.

1- التثبيت بالأوسميوم:

لمثبت الأوسميوم مزايا منها: تأثيره السريع في مكونات الأنسجة، بالإضافة إلى الحصول على تباين ملحوظ للصورة، ومن مساوئه دخوله البطيء في الأنسجة، بحيث إنّ القطع النسيجية الكبيرة لا يثبت سوى محيطها. لهذا لا يتم استخدامه في المجهر الضوئي.

يتواجد الأوسميوم ضمن أمبولات تحتوي على 0.5 غ مبللور.

ويستخدم الأوسميوم حسب عدة طُرُق هي:

أ- طريقة بالاد:

نأخذ أمبولين من رباعي أكسيد الأوسميوم، يتم غلسها وتنظيفها للتخلص من الاتيكيت، ثم يتم إمرارها ضمن ماء حار ساخن بحرارة 40°م لإذابة البللورات.

السائل المتكون يجب أن يكون لونه أصفر باهتاً. أما في حال تلونه باللون البني أو الأسود، فيجب استبعاده.

تمرر الأمبولات بعدها ضمن ماء جارٍ بارد مع تدويره على نحوٍ مستمر حول محور بحيث يُؤلف الكريستال قشرة رقيقة على السطح الداخلي للأمبول.

تغطى هذه الأمبولات، وهي مغلقة على الدوام ضمن قدر مائي pot-ban يحتوي على خليط من محلول السيلفوكروم (2 حجم محلول مائي يحتوي على 10% من بيكرومات البوتاسيوم، وحجم واحد من حمض الكبريت الكثيف) وتترك لمدة 12–24 ساعة في درجة حرارة المخبر. تمرر الأمبولات تحت الماء الجاري لمدة 4 ساعات ثم يملأ pot-ban بالماء المقطر ويترك في الثلاجة لحين الاستخدام، حيث يزال الماء المقطر، وبمساعدة هزاز مسخن على اللهب يتم كسر الأمبولات ضمن قدر مائي.

تحضير المحاليل المعايرة المشاهدة:

المحلول الخلي: خلات الصوديوم 1.904 غ + ماء مقطر 100 مل.

محلول فيرونال الصوديوم: فيرونال الصود 2.58 غ + ماء مقطر 100 مل.

محلول كلور الماء عشر النظامي.

تحضير السائل المثبت:

رباعي أكسيد الأوسميوم 1 غ (أمبولين)

محلول الخل 5 مل

محلول فيرونال الصود5 مل

محلول حمض كلور الماء عشر النظامي 5 مل

ماء مقطر 35 مل

ويجب أن تكون درجة الحموضة PH = 7.38. فإذا زادت يضاف قطرات من حمض كلور الماء عشر النظامي، أما إذا كانت أقل فيضاف بالتناوب قطرة من محلول الخل وقطرة من محلول فيرونال الصود حتى يصل لدرجة الحموضة المطلوبة.

يوضع المثبت في الثلاجة ضمن علب مغلقة حافظة للحرارة وغير شفافة ويكون غير ملون أو مصفر قليلاً. يتغير لونه إلى الوردي بعد عدة أسابيع حيث لا يمكن استخدامه.

طريقة التثبيت:

ينقل المحلول المثبت إلى موضع أخذ العينة في أنابيب صغيرة نظيفة غسلت بعناية ومررت في خليط السلفوكروم وجففت ضمن المحم. توضع الأنابيب ضمن علب عازلة للحرارة ومليئة بالثلج. يوضع على كرتون pristol عدة قطرات من المثبت تؤخذ بالشعرية بمساعدة ملقط دقيق، وتوضع العينة عليها، وتقطع بمساعدة شفرة إلى قطع صغيرة لا تتجاوز أبعادها الميلي متر المكعب. يتم هذا العمل خلال دقيقة تؤخذ بعدها العينات، وتوضع ضمن الأنابيب الموجودة في العلب الحافظة للحرارة.

يستغرق هذا التثبيت من ساعة إلى ساعتين.

ب-طريقة دالتون:

تستخدم لدراسة الخلايا الدموية، وتركيب المثبت كالتالي:

محلول بيكرومات البوتاسيوم 10% 1 حجم، درجة حموضة المحلول PH=7.2 تعاير الحموضة بواسطة البوتاسيوم.

محلول كلور الصوديوم 3.4 بالألف 1 حجماً.

محلول الحمض الأوسمي 2% 2 حجماً.

يتم التثبيت بحرارة الجو، ولمدة تختلف بين ساعة وساعتين.

ج- التثبيت ببرمنغنات البوتاسيوم:

يتميز هذا التثبيت بتثبيت تلقائي للأغشية الخلوية، وقلة دخوله ضمن العضيات الخلوية.

يحضر عند الاستخدام ويختلف تركيز البرمنغنات بين 0.5-5 % يجب أن يتم التثبيت في درجة حرارة الصفر ولمدة ساعة واحدة.

نزع الماء:

تمرر العينات بعد التثبيت في محاليل متدرجة من الكحول من 50% إلى 100% ولمدة 15 دقيقة لكل حمام، ثم تمرر ضمن حمامين لمدة 30 دقيقة لكل حمام في الكحول 100 % مضاعف التقطير ونقياً.

يمكن في حال أخذ العينة في ساعة متأخرة إبقاء العينات ضمن الكحول 70 % لمدة 12 ساعة حتى اليوم التالي، إلا أنه لا ينصح بذلك.

يمكن إمرار العينات مرة واحدة في الكحول النقي عند الحضن فيما بعد في الإيبون أو الأرالديت. أما في حال الحضن بالميتاكريلات، فإنه من الضروري في الفترات الأخيرة استخدام كحول محضر حديثاً ونقي للغاية وضمن زجاجات مغلقة كلياً. يمكن التحقق من عدم حدوث أي تميه ثانوي للكحول بوضع قطعة صغيرة من الكلس الحي chaux vive في أسفل الزجاجة،

فإذا ظهر السطح غير واضح دل ذلك على تميه الكحول من ثم لا يمكن استخدامه. وتعد هذه العملية الاحتياطية أساسية لعملية الحضن.

يمكن الاستعاضة عن الكحول الايتلي بالكحول الميتيلي، الذي يمكن الحصول عليه تجارياً دون أي أثر للماء.

2- الحضن:

لا يمكن استخدام البارافين؛ لأنه رخو، ولا يؤدي إلى تشكيل مقاطع رقيقة للغاية. كما يجب أن تؤمن المواد الحاضنة عدة شروط من قساوة ودرجة نفوذ بالإضافة إلى عدم تأذي القطع منها. وهناك العديد من المواد البلاستيكية الصناعية المستخدمة حالياً وهي الميتاكريلات، الارالديت والايبون.

أ- الحضن في الميتاكريلات:

قليل الاستخدام حالياً؛ لأنه يؤدي إلى تغيرات خلوية، كما أن حفظ البنى الدقيقة أقل جودة من بقية المواد الحاضنة. ومن مميزاته التي لا تتوفر في بقية المواد الحاضنة مرونته وقساوته التي يمكن تغييرها إرادياً، والتي تمكن من عمل مقاطع غاية في الدقة إضافة إلى إمكان عمل مقاطع ذات سطح واسع ودراستها.

يستخدم ميتاكريلات البوتيل مع ميتاكريلات الميتيل الذي يباع تجارياً باسم Plexiglass وهو سائل كثير الانحلال في الكحول، ويدخل بسهولة في الخلايا بعد نزع الماء عنها.

- **طريقة الحضن:**

إن استخدام المياكريلات الأحادي التجاري مخلوطاً مع الهيدروكينون يعيق عملية التبلور لذلك يفضل قبل الاستخدام التخلص من الهيدروكينون للسماح بالتبلور وتسمى هذه العملية إزالة الثبات Destabilization.

يمكن حفظ هذه المادة عدة أشهر ويفضل أن يتم الحفظ في مكان بعيد عن الضوء.

عملية الحضن:

بعد التثبيت ونزع الماء توضع العينات ضمن ما يلي، وبالترتيب:

1- ميتاكريلات البوتيل–الميتيل + كحول 100 %لمدة 30 دقيقة.

2- ميتاكريلات البوتيل–الميتيل 4% لمدة 30 دقيقة ولمرتين.

3- ميتاكريلات البوتيل–ميتيل + محفز من 1–12 ساعة في البرودة.

يعمد بعدها إلى الحضن النهائي. الذي يتم ضمن كبسولات جيلاتينية مجففة في محم وتملأ بالمحلول الأخير، ونضع فيها القطع في أسفل ووسط الكبسولات بحيث لا يبقى سوى فقاعة هوائية صغيرة للغاية. نضعها في المحم بدرجة 45°م ولمدة 24 ساعة لأجل تبلور الحاضن. نحصل بعد التبريد على قوالب يمكن أن يتم تقطيعها بفوق المقطاع المجهري.

ب–الحضن في الارالديت:

من مميزات الحضن في الارالديت حفظ البنى النسيجية وإعطاء تباين لها. كما يمكن أن يتم التبلور في وسط مائي بنسبة 5% كما أنه ناقل جيد للحرارة ويتحمل حرارة تصل لـــ 250°م. ومن مساوئه صعوبة الحصول على

مقاطع رقيقة للغاية، كما أن تباين المقاطع قليل للغاية. لم تعد هذه المشاكل موجودة حالياً بسبب وجود فوق المقطاع عالي الدقة والمجهر الإلكتروني عالي التباين.

طريقة الحضن:

بعد التثبيت ونزع الماء يعمد إلى:

- وضع العينة لمدة ساعة ضمن محم حرارته 40°م في زجاجة تحتوي على أجزاء متساوية من الكحول 100 % ومحلول الارالدايت المحضر حسب ما يلي:

أرالدايت M 10 مل، مقسى 964 10 مل

فتالات البوتيل 1 مل، مسرع 0.6 مل

وذلك مع التحريك باستمرار بتثبيت الزجاجة على خلاط خاص.

- وضع العينات ضمن ثلاثة حمامات متتالية للارالديت ولمدة ساعة واحدة لكل حمام في محم مع التحريك المستمر للخلاط.
- الحضن ضمن كبسولات جيلاتينية لمدة 24-48 ساعة ضمن المحم.

تؤخذ القطع خلال هذه العملية كل واحدة على حدة وتترك على ورقة ترشيح قبل وضعها في المحم الذي يليه.

ج- الحضن في الايبون:

تعد محاسن ومساوئ الايبون مماثلة للارالديت. تحضر الخلائط على النحو التالي:

- خليط A أيبون 63 مل.

دوديسينلكوكسينيكانهيدر 100 مل.

- خليط B أيبون 100 مل

ميتل ناديك انهيدر 89 مل.

يحفظ كل خليط في الثلاجة وتخلط في يوم الاستخدام. وتعتمد قساوة الحضن النهائي على نسبة الخليط A لـــ B ويعتمد حالياً:

خليط A 30 مل، خليط B 70 مل، DMP 30 1.5 مل.

يعمد إلى إجراء الخليط النهائي قبل 4 ساعات من الاستخدام للحصول على محلول متجانس. يجب بعدها وضعه على خلاط متجانس مغناطيسي لمدة 20 دقيقة. يحفظ بعدها لمدة أسبوع أو أكثر في الثلاجة.

بعد التثبيت ونزع الماء يجب إمرار القطع النسيجية بـــ:

أكسيد البروبيلين لمدة 30 دقيقة.

أكسيد البروبيلين والخليط النهائي بحجوم متساوية لليلة واحدة وضمن الثلاجة.

تمرر بعدها القطع النسيجية ضمن خليط نهائي لمدة ساعة قبل البدء بالحضن النهائي.

د- الحضن في ريزين (راتنج) ماراغلاسMara glass :

حديث العهد، وتقترب خواصه الكيميائية من الارالديت، إلا أن خواصه الفيزيائية من حيث قساوته ومرونته وشفافيته تقترب كثيراً من الميتاكريلات لذلك يمكن الحصول على مقاطعه بسهولة ويمكن أن تكون كبيرة الحجوم.

يحضر الخليط النهائي حسب ما يلي:

ماراغلاس 655 بمقدار 26 مل

DER 732 8 مل

دي بوتيلفالات 5 مل

بنزيل دي ميتيل أمين 1 مل

يوضع الخليط النهائي على خلاط مغناطيسي لمدة 20 دقيقة. يحفظ بعدها في الثلاجة بانتظار استخدامه ولمدة عشرة أيام تقريباً.

يعمد بعد إزالة الماء إلى وضع القطع ضمن الخليط النهائي وأكسيد البروبيلين بحجوم متساوية ولمدة 45 دقيقة. تمرر بعدها في الخليط النهائي لمدة ساعة وبدرجة حرارة المخبر. يتم بعدها الحضن في كبسولات جيلاتينية، ووضعها في المحم بدرجة 45°م لمدة ساعة فقط مع مراعاة الدقة في هذه الفترة الزمنية.

3- التقطيع فوق المجهري Ultra Microtomy:

هناك حالياً عدد من فوق القواطع المجهرية التي نحصل منها على مقاطع في غاية الدقة تتراوح بين عدة ميكرونات ومائة أنغستروم وهناك قَطّاع يدوي وقَطّاع آلي.

يستخدم في القطع سكين زجاجية (أكثر استخداماً لرخص ثمنها)، أو ألماسية من مميزاتها أنها تقطع القطع الصلبة كما أنها تدوم طويلاً.

يجب أن يتطلب القطع مهارة، كما أن لمكان المقاطع أهمية من حيث تواجده على قاعدة ثابتة من مواد بلاستيكية أو خشبية بعيدة عن الاهتزازات اليدوية (قريبة من ممرات عبور الأشخاص) وكذلك ثابتة بعيداً عن تيارات الهواء لأنها تؤدي إلى تقلص القطع وعدم انتظام سماكتها فيما بعد.

ولتحضير المقاطع يجب في البداية إزالة الكبسولة للقطع المحضونة بالميتاكريلات، أما بالنسبة للبقية فمن غير المفيد إزالتها لأنها تبقى ملتصقة على القالب.

يجب قبل البدء بالقطع شذب القالب بشكل هرمي حيث يتراوح السطح بين 0.5–1 ملم^2، وفي حالة مشاهدة نتوءات مجهرية تظهر فقط بالمجهر الالكتروني يجب تقليل السطح ما أمكن، وعندما يكون ذلك غير كاف يلجأ إلى تخفيف سرعة القطع.

لا يمكن استعمال القواطع والتعامل معها على سطح قاسٍ، لذا نلجأ إلى وضعها على سطح مائي. ومن أجل هذا يوضع حوض صغير مباشرة تحت السكين بحيث يكون سطحه الأفقي في مستوى توقف السكين. يستخدم عادة أحواض من النحاس أو الألمنيوم. تملأ الأحواض بالماء المقطر للميتاكريلات أو بالماء الآسيتوني 10% للايبون والارالديت.

يتم في البداية قطع عدة مقاطع نصف دقيقة للحصول على سطح منتظم، بعدها يتم القطع وتظهر على سطح الحوض حيث يمكن رؤيتها بالمجهر متباين الأطوار والتحقق من أن هذه المقاطع هي المطلوبة. تؤخذ المقاطع من سطح الماء بمساعدة قضيب خاص، وتوضع على قطرة من ماء جيلاتيني على سطح الصفيحة الزجاجية. يتم بعدها امتصاص الماء الجيلاتيني الزائد بامتصاصه بورقة ترشيح لتثبيت القطعة على سطح الصفيحة. يتم بعدها إجراء مقاطع دقيقة للغاية بعد شذب القالب حسب الأبعاد المطلوبة وبعد تنظيم تقدم المقطع حسب الثخانة المطلوبة.

تتالى المقاطع بشكل شرائط منتظمة لا يؤخذ منها إلا المقاطع ذات درجة التلون الواحدة، أي التي لها السماكة نفسها. يتم بعدها تمديد المقاطع حسب طبيعة الحاضن، فبالنسبة لمقاطع الميتاكريلات والماراغلاس فإن التمدد يتم بسهولة بتقليل فجائي لضغط سطح الماء ضمن حوض السكين وذلك بتقريب ورق ترشيح بمادة طيارة (بنزين، تولودين، كلوروفورم) حيث تتمدد عندها بشكل سريع. أما بالنسبة لمقاطع الارالدايت والايبون فإن التمدد يكون أكثر صعوبة، ويجب أن تكون المقاطع أثناء القطع أقل تجعداً. والطريقة الأمثل هي بإضافة كمية صغيرة من الأستون 1% إلى الحوض. يتم بعدها وضع المقاطع على سطح منخل دقيق مغطى بغشاء Formvar. يتم ذلك بمسك المنخل بملقط دقيق ويغطس في حوض الماء ويوضع أفقياً تحت المقطع ثم يعمد بعدها إلى رفعه عمودياً فيتوضع المقطع على السطح العلوي للمنخل أو الشبك.

تختلف المناخل بالمسافات بين قضبانها ويستخدم حالياً مسافات بحدود 150 ميكروناً بسماكة قضبان 50 ميكروناً.

4- تشريب المقاطع الدقيقة:

إن تباين المقاطع غير كاف عندما يتم الحضن بالارالدايت والايبون، لذلك تستخدم أملاح المعادن الثقيلة التي تتوضع على بعض العناصر الخلوية (أغلب الأغشية الخلوية) وتظهر أكثر قتامة.

يعمد في أغلب الحالات إلى طريقة بسيطة تعتمد وضع المنخل على سطح محلول المعدن الثقيل بحيث يكون المقطع بتماس المحلول.

ومن المحاليل المستخدمة:

1- محلول استيتات اورانيل 4 غ في الماء المقطر 100 مل.

توضع لمدة تتراوح بين 5 دقائق للميتاكريلات وماراغلاس و 10-60 دقيقة للايبون.

يمكن حفظ المحلول لأكثر من أسبوع.

2- محلول اسيتات الرصاص ويتكون من:

- محلول أول ماءات الصوديوم 20 غ
- تارتات مضاعف للصوديوم والبوتاسيوم 1 غ
- ماء مضاعف التقطير 50 مل
- محلول ثاني اسيتات الرصاص 2 غ وماء مضاعف التقطير 8 مل

يخلط 1 مل من المحلول الأول و 5 مل من الثاني ويضاف 40 مل من ماء مضاعف التقطير. يرشح المحلول فيظهر صافياً. ويجب أن يتم العمل بعيداً عن أي أثر لغاز الكربون في الهواء. يتم التشريب لمدة 4 دقائق ويغسل بعدها لمدة 30 ثانية في الماء المقطر.

يتم التشريب بالاسيتات اورانيل والرصاص حسب ما يلي:

اسيتات اورانيل 4 % 4 دقائق غسيل بالماء المقطر

اسيتات الرصاص 4 دقائق غسيل بالماء المقطر.

الشكل (12) المجهر الالكتروني

Damascus University

وقل رب زدني علما
جامعة دمشق
Damascus University

الفصل الرابع

دراسة الأعضاء الداخلية لجسم الحشرات

جدار الجسم Integument

يحدد جدار الجسم الصفات الرئيسية للحشرات، ويُؤلف جدار الجسم بخصائصه الكيميائية والفيزيائية سداً منيعاً ما بين الوسط الخارجي وجسم الحشرة، ويتدخل جدار الجسم على نحوٍ فعال في الكثير من الظواهر الفيزيولوجية في حياة الحشرة، فمثلاً ترتبط فيزيولوجيا النمو ارتباطاً وثيقاً بخصائص جدار الجسم فهو الذي يسمح بنمو الحشرة لقدرته على الانسلاخ.

يتكون جدار الجسم من عدة طبقات الشكل (13) وهي:

1- البشرة وملحقاتها Epiderm:

تتألف طبقة البشرة من خلايا طلائية ترتبط فيما بينها بروابط خلوية، وتنفصل البشرة عن الدم بالصفيحة القاعدية. تعد خلايا البشرة كلها خلايا مفرزة حيث تقوم بإفراز الطبقة الكيتينية لجدار الجسم والأنزيمات المتعلقة بإنتاج وهضم هذه الطبقة عند الانسلاخ، ومنها تكون متخصصة بإفراز الفرمونات، أو سائل الانسلاخ، أو المادة السمنتية في جدار الجسم، ومنها متخصصة وظيفياً حيث تقوم بتشكيل تركيبات حسية مثل الشعيرة الحسية المتحركة، بالإضافة إلى هذا تعمل البشرة على التئام الجروح وإعطاء اللون العام للحشرة.

تتوضع خلايا الاينوسيت Oenocytes بين خلايا البشرة والغشاء القاعدي وقد تنفصل هذه الخلايا عن البشرة وتُؤلف كتلة بجانب الثغور التنفسية.

تقوم هذه الخلايا بتصنيع البروتينات الدهنية في طبقة الكيوتيكل الخارجية وإفراز الكيوتيكلين عند بعض الحشرات وشمع الكيوتيكل الخارجي عند الصرصار.

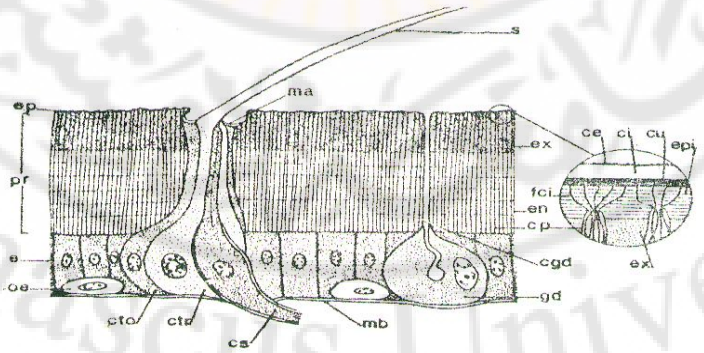
2- طبقة الكيوتيكل Cuticle:

وهي الطبقة الخارجية لغطاء الجسم تفرزها خلايا البشرة، ويمكن تمييز طبقتين رئيسيتين في الكيوتيكل:

أ- طبقة الكيوتيكل الخارجية Epicuticle

ب- طبقة البروكيوتيكل الداخلية Procuticle وهذه تقسم أيضاً إلى طبقتين:

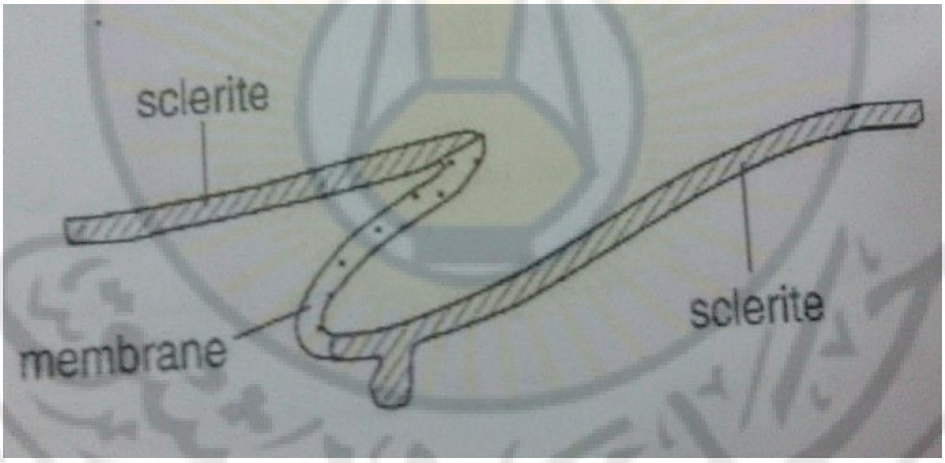
- طبقة الكيوتيكل الخارجية Exocuticle التي تتميز بوجود البروتين الملون السكليروتين وهو يعطي القساوة لهذه الطبقة وتبلغ سماكته القصوى بمستوى الصفائح ولا يكون بمستوى أغشية التمفصل.
- طبقة الكيوتيكل الداخلية Endocuticle وهي طبقة غير ملونة مرنة ومطاطية أحياناً وذلك بسبب غياب السكليروتين، وتتألف أساساً من معقد كيتين- أرثروبودين والريزيلين.



الشكل (13) رسم تخطيطي لجدار الجسم يبين طبقاته المختلفة

دراسة جدار الجسم لدى الحشرات:

- قم بتخدير الحشرة وثبتها في الطبق البتري بوساطة دبوسين.
- ادرس منطقة رأس الحشرة ولاحظ التصلب الموجود في هذه المنطقة لتأمين الحماية لمنطقة الرأس.
- ادرس منطقة الصدر ولاحظ درجة التصلب لكل حلقة من حلقات الصدر الثلاث.
- ادرس منطقة البطن ولاحظ درجة تصلب حلقات البطن وقارنها بتلك الموجودة على الصدر، وادرس الغشاء بين الحلقي لدى الحشرة ولاحظ مرونته بسبب احتوائه على الريزيلين (الشكل 14).

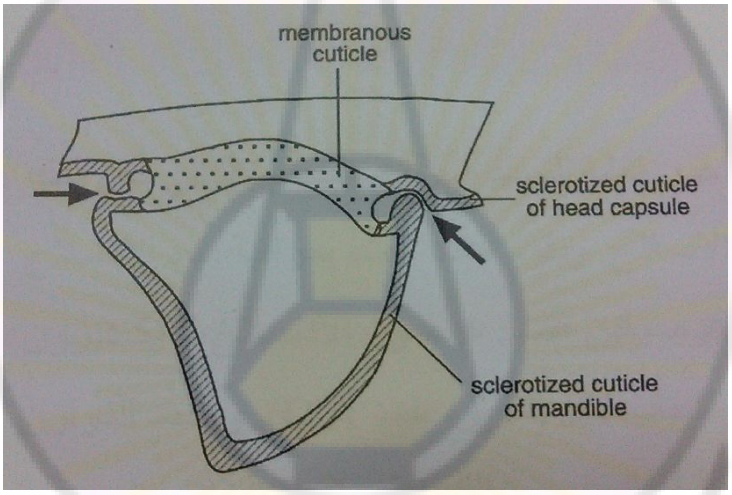


الشكل (14) يبين الغشاء ما بين الحلقي والسيكليروتين في المنطقة المخططة

- لاحظ التلونات الموجودة على جسم الحشرة الناتجة إما عن وجود بعض الصبغات داخل طبقة الكيوتيكل أو في خلايا البشرة وبعض الحشرات تعطي

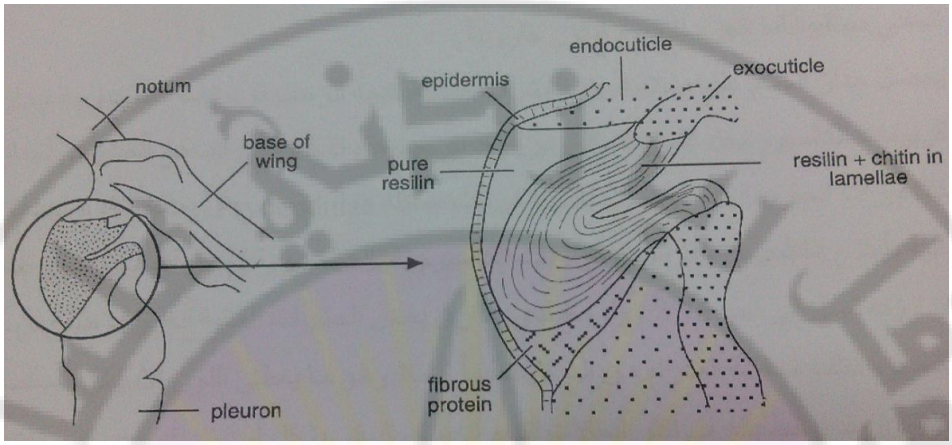
ألواناً تركيبية وتعود هذه الألوان إلى الاختلافات الناتجة عن البنية الحلقية الدقيقة الموجودة على الحراشف أو على طبقة الكيوتيكل.

- لاحظ الشعيرات الموجودة على جسم الحشرة.
- ادرس الفكين العلويين ولاحظ صلابتهما الناتجة عن السكليروتين وادرس منطقة تمفصل الفكين مع الرأس، ولاحظ مناطق وجود السكليروتين والمنطقة الغشائية (الشكل 15).



الشكل (15) تمفصل الفك العلوي مع الرأس يبين السيكليروتين بالمنطقة المخططة

- ادرس منطقة تمصل الجناح ولاحظ الغشاء الموجود في هذه المنطقة ويكون فيه الريزيلين نقياً. (الشكل 16).



الشكل (16) تمفصل الجناح الأمامي عند الجراد الذي يوضح وجود الريزيلين النقي

- ادرس منطقة تمفصل الأرجل ولاحظ الغشاء في هذه المنطقة.
- اعمل شقاً طولياً بمنتصف الظهر مبتدئاً من الخلف وباتجاه الرأس ولاحظ ازدياد درجة صلابة جدار الجسم تدريجياً بدءاً من منطقة البطن لتزداد في منطقة الصدر، أما بالنسبة للرأس فنلاحظ أنه من السهل عمل شق في الرأس مثل الفراشات والجراد مقارنة بالخنافس حيث تصلب أكثر في هذه المنطقة.
- ادرس المحضرات الجاهزة المعطاة لك التي تبين أجزاء جدار الجسم.

Damascus University

ارسم المحضرات الجاهزة المعطاة لك

الجهاز الهضمي Digestion System

يظهر الجهاز الهضمي الكثير من الاختلافات المورفولوجية والهيستولوجية والوظيفية تبعاً لنظام الحشرة الغذائي. يسبق الأنبوب الهضمي بتجويف الفم الذي يقسم إلى حجرتين سيباريوم Cibarium، وساليفاريوم Salivarium. تصب الغدد اللعابية داخل تجويف الفم في منطقة الساليفاريوم، وتتألف الغدد اللعابية من نوع واحد من الخلايا أو نوعين وذلك تبعاً لنوع الحشرة، كما يختلف شكل هذه الغدد أيضاً، فعند حشرة ذباب Calliphora تكون الغدد اللعابية على هيئة أنبوبين طويلين يمتدان داخل التجويف العام للحشرة، أما عند الجراد فنلاحظ الغدد اللعابية العنقودية. يقوم اللعاب بترطيب الغذاء وأجزاء الفم كما يحتوي على الأنزيمات التي تسهل عملية التغذية عند بعض الحشرات وتساعد في هضم الغذاء. وبالنظر إلى تركيب الأنبوب الهضمي الوظيفي والذي يسبق بتجويف الفم نجد أنه يتألف من ثلاثة أجزاء رئيسية وهي:

1- **الأمعاء الأمامية Stomodeum:** وتتكون من طبقة من الخلايا الطلائية المسطحة تغطى بطبقة كيتينية من الناحية الداخلية وبطبقة من الألياف العضلية من الناحية الخارجية. تقوم الأمعاء الأمامية بعملية هضم بسيطة للغذاء وتتألف من الأجزاء التالية:

- البلعوم Pharynx
- المري Esophagus
- الحوصلة Crop
- القونصة Proventriculus

2- **الأمعاء الوسطى Mesenteron:** وهي أنبوب متجانس يلي الأمعاء الأمامية وتتكون الأمعاء الوسطى من طبقة من الخلايا الطلائية المتطورة وتغلف من الناحية الداخلية بغشاء بيروتروفي يفصلها عن الغذاء وتحاط من الناحية الخارجية بطبقة من الألياف العضلية. تعد هذه الأمعاء الجزء الرئيسي للهضم والامتصاص في الجهاز الهضمي.

3- **الأمعاء الخلفية Proctodeum:** تتكون الأمعاء الخلفية من خلايا طلائية تغطى من الناحية الداخلية بطبقة كيتينية يكون فيها الايبيكيوتيل رقيقاً جداً، أما من الناحية الخارجية فتحاط بطبقة من الألياف العضلية وتقسم الأمعاء الخلفية مورفولوجياً إلى جزئين: جزء أمامي أنبوبي الشكل وضيقIleum وخلفي كبير وواسع هو المستقيم Rectum .

تتدخل الأمعاء الخلفية بامتصاص الأحماض الأمينية والأحماض الدهنية على نحوٍ قليل جداً وإسهامها الأساسي هو طرد الفضلات ونواتج الاطراح القادمة من أنابيب مالبيكي ولها تأثير أساسي في التعادل الاسموزي من خلال امتصاص بعض الأيونات.

دراسة الجهاز الهضمي عند الحشرات:

- بعد التخدير ثبت الحشرة في الطبق البتري حسب الطريقة المتبعة.
- اعمل شقاً طولياً بمنتصف الظهر من الخلف وباتجاه رأس الحشرة واغمر الحشرة بالمحلول الفيزيولوجي.
- لاحظ القناة الهضمية واضحة وممتدة من تجويف الفم إلى فتحة الشرج (الشكل 17).

- لاحظ ارتباط القناة الهضمية بجدار الجسم عند الجزء الأمامي للأمعاء الأمامية وبالقرب من الشرج.
- قم بفرد القناة الهضمية باحتراس على جانب من جانبي الجسم.
- ميز الأجزاء التالية في الأنبوب الهضمي للحشرة (الشكل 18):

1- الأمعاء الأمامية: لاحظ البلعوم الذي يلي تجويف الفم وهو قناة صغيرة ثم المري وهو الأنبوب الضيق الذي يلي البلعوم، فالحوصلة التي قد تكون انتفاخاً بسيطاً أو تكون في بعض الحالات زائدة للأمعاء الأمامية. يلي الحوصلة جزء صغير هو القونصة وهي الجزء الخلفي من الأمعاء الأمامية.

2- الأمعاء الوسطى: نلاحظ عند الكثير من الحشرات الزوائد الأعورية التي تتقدم الأمعاء الوسطى وتكون خلف القونصة مباشرة وتأخذ أشكالاً وأحجاماً مختلفة وتكون الأمعاء الوسطى بشكل أنبوب متجانس على امتداده.

3- الأمعاء الخلفية: تلي الأمعاء الوسطى، ويمكن تمييز هذه المنطقة من خلال وجود أنابيب مالبيكي التي تفصل الأمعاء الوسطى عن الخلفية (مورفولوجياً)، ونلاحظ أن الأمعاء الخلفية تتألف من جزئين ضيق وآخر واسع وهو المستقيم الذي ينتهي بفتحة الشرج.

- لاحظ وجود الغدد اللعابية عند الحشرات وكثيراً ما تكون بمستوى منطقة الصدر الشكلين (19 و 20).
- ادرس المحضرات الجاهزة المعطاة لك.

دراسة أنزيمات الهضم عند الحشرات:

تنشط المراحل البيوكيميائية كافة تقريباً بمواد يطلق عليها اسم الأنزيمات Enzymes. وهي جزيئات بروتينية كبيرة ذات نشاط محدد ومتخصص، أما المادة الخاصة التي تؤثر فيها الأنزيمات فتدعى الأساس Substrate.

ومن أجل قياس النشاط الأنزيمي لعضو ما أو لنسيج ما، يجب تحضير مستخلص منه ويوضع (ويخلط) مع الأساس الخاص به، ويمكن قياس سرعة اختفاء الأساس في المحلول أو قياس كمية المادة الناتجة النهائية المتشكلة. كما يمكن تحديد وجود أنزيم ما داخل كل عضو من أعضاء الحشرة وذلك بالطرق الهيستوكيميائية الخاصة، ويتأثر النشاط الأنزيمي بعدة عوامل كدرجة الحرارة ودرجة حموضة الوسط PH.

تكون عادة درجة الحرارة المحرضة لنشاط الأنزيم أعلى من درجة الحرارة الفيزيولوجية الطبيعية للحشرة، فيزداد النشاط الأنزيمي بارتفاع درجة الحرارة لكنه يتناقص فيما لو ارتفعت درجة الحرارة عن درجة الحرارة الحرجة.

وتنشط الأنزيمات أيضاً ضمن حدود واضحة الحموضة (الوسط PH).

وتوجد درجة الحموضة PH دنيا، يكون فيها النشاط الأنزيمي أيضاً ضئيلاً، لذلك يتوجب تحديد درجة حموضة النسيج أو العضو المراد دراسة نشاط أنزيماته.

أهم أنزيمات الهضم عند الحشرات:

1 –الكربوهيدراز : Carbohydrases

وتتضمن هذه المجموعة الأنزيمات كافة التي تستطيع تحليل الغلوسيدات. وتستطيع هذه الأنزيمات تفكيك السكريات المعقدة (السكريات الثنائية: مالتوز، تريهالوز، سكروز ... أو السكريات المتعددة: مثل النشاء والغليكوجين) إلى سكريات أحادية قابلة للهضم.

وتكون أنزيمات الكربوهيدراز متعددة أغلبها متخصصة نذكر منها:

- الغلوكوسيداز: Glucosidase

يحلل هذا الأنزيم الرابطة α–glucosidique الموجودة في السكروز والمالتوز والتريهالوز، كما يحلل الرابطة β–glucosidique كما هو الحال في السيلوبيوز، وتكون هذه الأنزيمات عند أغلب الحشرات وبخاصة عند الحشرات التي تتغذى على النبات.

- الأميلاز: Amylase

تحلل هذه الأنزيمات السكريات المتعددة ذات الأصل النباتي (النشاء) أو ذات الأصل الحيواني (غليكوجين).

- غالاكتوسيداز Galactosidase
- فركتوسيداز Fructosidase
- سيلولاز Cellulases

2 – الليباز Lipases

هي أنزيمات تحلل المواد الغذائية الدهنية إلى أحماض دهنية، وهي قليلة التخصص نسبياً، ونجدها عند أغلب الحشرات .

نجد عند بعض الحشرات (مثل اليرقات Galleria mellonella) التي تتغذى على شمع العسل، تحتوي هذه اليرقات على الأنزيمات الآتية:

ليباز Lipase ليسيتيناز Lecithinase وكذلك كوليستيراز Cholesterase .

3 – البروتياز Proteases :

وهي الأنزيمات التي تحلل البروتينات، وهنا نميز الكثير من الأنزيمات :

- أندوبيبتيداز Endopeptidase :

وهو يشبه التربسين الموجود عند الفقاريات، ويؤثر على نحوٍ في لمعة الأنبوب الهضمي.

- الإكزوبيبتيداز Exopeptidase :

تنهي هذه الأنزيمات الهضم، وذلك بتحلل البيتيدات إلى أحماض أمينية تمتص مباشرة، وتتم هذه العمليات داخل الخلايا الطلائية المعوية وتمتص عادة الببتيدات من قبل الخلايا الطلائية .

وهناك بعض الأنزيمات المتخصصة مثل:

- الكيراتيناز Keratinase .
- الكولاجيناز Collagenase .

طريقة العمل:

- حضر 4 زجاجات ساعة يحتوي كل منها على كمية قليلة من الرمل النقي. ورقم هذه الزجاجات (أ – ب – ج – د).
- خدر الحشرات بوساطة الإيتر، وشرحها بسرعة داخل السائل الفيزيولوجي. افحص حالاً الأنبوب الهضمي والغدد اللعابية، مستبعداً الجسم الدهني، وكذلك القصبات الهوائية. أنقل هذه الأعضاء إلى زجاجة ساعة أخرى تحتوي على محلول فيزيولوجي بارد.
- أفصل بتأنٍ الغدد اللعابية، الأمعاء الأمامية، الأمعاء الوسطى وأيضاً الأمعاء الخلفية، وضع كل جزء من هذه الأجزاء في زجاجة ساعة مرقمة (أ، ب، ج، د).
- اطحن الأجزاء السابقة كل جزء في زجاج الساعة الخاصة به، وذلك بأنبوب زجاجي، وضع 3 قطرات من المحلول المنظم ذي درجة الحموضة المعتدلة (PH = 7). يجب غسل الأنبوب الزجاجي المستخدم في عملية الطحن السابقة.
- قس درجة الحموضة PH لكل زجاجة ساعة، وذلك بوضع قطرة صغيرة من الخليط السابق على ورقة عباد الشمس لقياس درجة PH سجل درجة الحموضة لكل جزء من أجزاء الأنبوب الهضمي.
- أضف 2.5 مل من المحلول المنظم والموافق بدرجة حموضة لدرجة حموضة الوسط الذي حدد في المدة السابقة.

- جهز أنابيب زجاجية نظيفة ورقمها (أ، ب، ج، د) وصب فيها المستخلص الموافق، واتركها لترقد خلال بضع دقائق في درجة حرارة منخفضة.

وفي حال الضرورة، قم بعملية الطرد المركزي، وذلك للتخلص من الشوائب والأعضاء التي تبقى عالقة.

واحصل على السائل الرائق بماصة خاصة، وضعه في أنبوب نظيف جديد ورقمه من جديد.

تحضير الشاهد:

يجب أن يصاحب كل تجربة شاهد، وهو يسمح بمراقبة النتائج، ويمكن تثبيط الشاهد بتعريض جزء من مستخلص كل قسم من أقسام الأنبوب الهضمي لدرجة حرارة مرتفعة.

وستستخدم الشواهد في الوقت نفسه الذي تستخدم فيه المستخلصات الطبيعية.

- البحث عن نشاط أنزيم الانفرتاز Invertase:

- حضر المستخلصات والشواهد.
- حضر سلسلة أنابيب مرقمة.

1- ضع داخل كل أنبوب 1 مل من محلول السكروز بتركيز 5 % .

2 – أضف 3 قطرات من مستخلص (أ) داخل الأنبوب (أ) وثلاث قطرات من مستخلص (ب) داخل الأنبوب (ب) وهكذا بالتسلسل.

3– ضع الأنابيب التي تحتوي على المستخلص والأساس (سكروز) داخل حاضنة 25°م، وحركها من وقت لآخر.

4 – بعد مرور 30 دقيقة، افحص وجود الغلوكوز والفركتوز الناتج عن تحلل السكروز بفضل أنزيم الانفرتاز، ومن أجل إجراء هذه العملية :

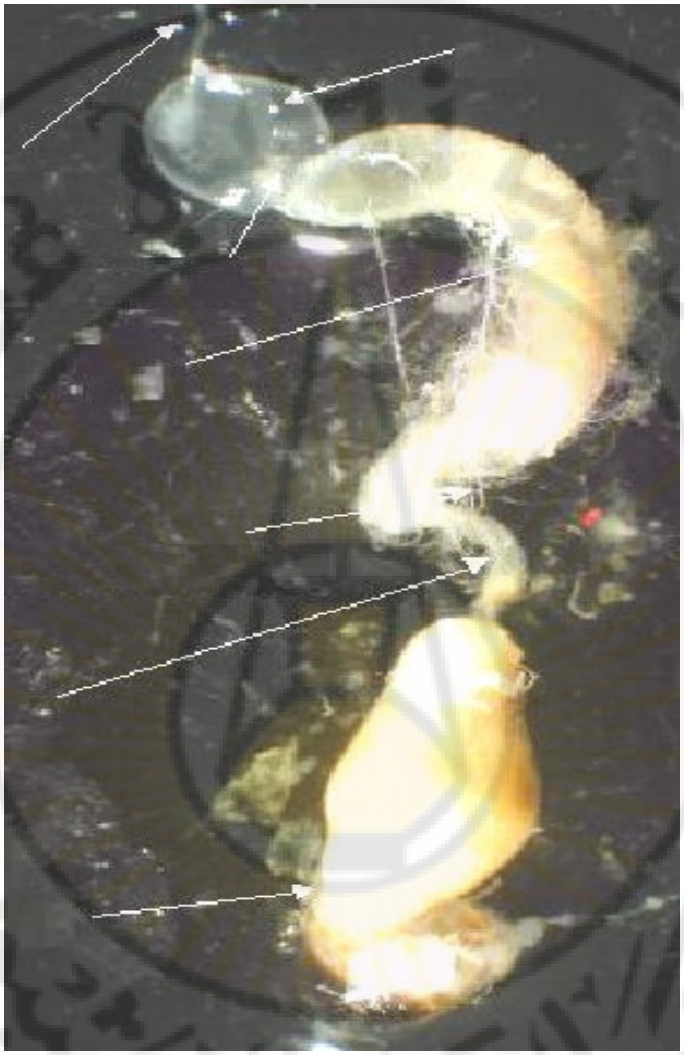
- حضر أنابيب صغيرة من البيريكس ورقمها (أ، ب، ج، د، والشاهد) وضع فيها 4 قطرات من الماء المقطر، ضع قطرة من محلول فيهلينغ (A) وقطرة من المحلول فيهلينغ B.
- أضف إلى كل أنبوب من الأنابيب السابقة 5 قطرات من المستخلص الموافق وذلك بعد رجه.
- سخن الأنبوب داخل ماء غال.
- راقب وسجل النتائج بعد خمس دقائق: ترسبات حمر في عمق الأنبوب تدل على وجود الغلوكوز والفركتوز.

5 – كرر العملية بعد مرور ساعة من وضع الأنابيب في الحاضنة على درجة حرارة 25°م (أي بعد نصف ساعة من التجربة الأولى) مطبقاً تماماً خطوات المرحلة 4 وسجل النتائج الجديدة.

الشكل (17) القناة الهضمية لدى الصرصار

ضع اسم كل جزء من أجزاء القناة الهضمية على الرسم

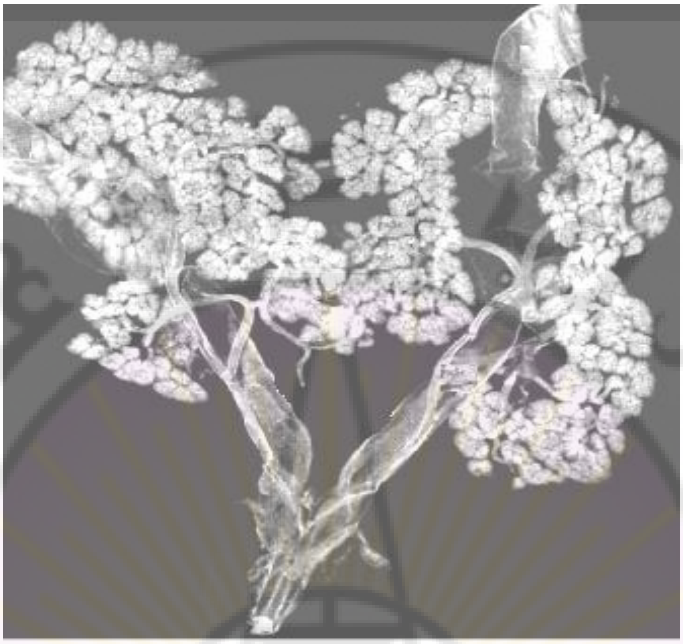
Damascus University



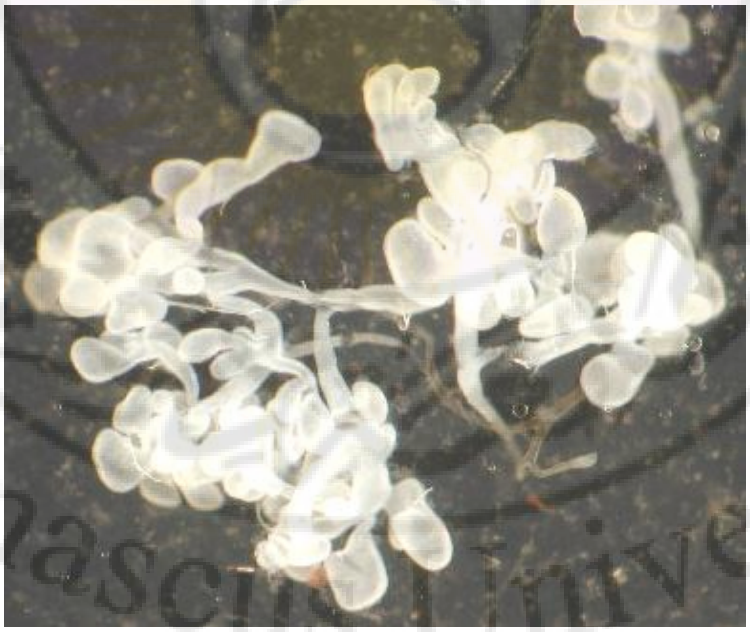
الشكل (18) القناة الهضمية لدى نحل العسل

ضع اسم كل جزء من أجزاء القناة الهضمية على الرسم

Damascus University



الشكل (19) الغدد اللعابية لدى الصرصار



الشكل (20) الغدد اللعابية لدى نحل العسل

مقطع عرضي في الأمعاء الأمامية

مقطع عرضي في الأمعاء الوسطى

مقطع عرضي في الأمعاء الخلفية

Damascus University

ارسم القناة الهضمية والغدد اللعابية للحشرة الموجودة لديك مع وضع المسميات على الرسم

وقل رب زدني علما
جامعة دمشق
Damascus University

جهاز الاطراح Excretory System

يعمل جهاز الاطراح على ثبات الوسط الداخلي لجسم الحشرة باستمرار بحيث يسمح هذا الوسط بالنشاطات الخلوية المختلفة، اذ يعمل على ديمومة التركيب الأيوني للدم إضافة إلى إطراح المواد الآزوتية السامة التي تنتج عن تحلل المواد البروتينية.

أعضاء الاطراح عند الحشرات:

1- أنابيب مالبيكي Malpighian tublues: وتلاحظ عند معظم الحشرات وهي أنابيب عمياء دقيقة تعوم داخل الدم وتكون النهاية الطرفية لهذه الأنابيب عادةً حرة إلا عند بعض الحشرات فتكون مرتبطة بجدار المستقيم. يتألف أنبوب مالبيكي من طبقة من الخلايا الطلائية تحاط من الناحية الخارجية بصفيحة قاعدية تفصلها عن الدم.

تقوم أنابيب مالبيكي بعملية الاطراح على نحوٍ أساسي لكنها تقوم عند بعض الحشرات بدور الامتصاص أيضاً وكثيراً ما نجد تمايزاً ضمن الأنبوب الواحد إلى عدة أجزاء ونجد على الأقل منطقتين متميزتين: الجزء الطرفي البعيد Distal والجزء القريب Proximal ويظهر هذا التمايز تخصصاً وظيفياً وقد تبدأ عملية الامتصاص في الجزء الطرفي البعيد أو في الجزء القريب ثم تنتهي عملية الامتصاص في منطقة المستقيم وهناك بعض الحالات التي لا يتم فيها الامتصاص إلا في خلايا المستقيم.

2- الغدد الشفوية Labial glands: وتكون عند بعض الرتب الحشرية مثل Collembola، Diplura، Thysanura التي لا تملك أنابيب مالبيكي،

وتقوم هذه الغدد بمهمة الاطراح ولخلاياها المواصفات نفسها الموجودة عند أنابيب مالبيكي.

3- خلايا النفروسيت Nephrocytes: وهي خلايا تقوم بتخليص الدم من الشوائب الكيميائية ذات الوزن الجزيئي الكبير التي لا تستطيع أنابيب مالبيكي طرحها.

- بالإضافة إلى ذلك يسهم الجسم الدهني وأعضاء مختلفة أخرى في عملية الاطراح، ويعد وجود بلورات حمض البولة أكبر دليل على مساهمتها في عملية الاطراح.

دراسة جهاز الاطراح عند الحشرات:

- بعد التخدير ثبت الحشرة في الطبق البتري حسب الطريقة المتبعة.
- اعمل شقاً طولياً بمنتصف الظهر من الخلف وباتجاه الصدر واغمر الحشرة بالمحلول الفيزيولوجي.
- انزع الجسم الدهني والقصبات الهوائية.
- قم بفرد القناة الهضمية على جانب جسم الحشرة.
- لاحظ أنابيب مالبيكي حيث ترتبط بالقناة الهضمية بقناة صغيرة أو حالب Ureter تصب عادةً في المنطقة الفاصلة ما بين الأمعاء الوسطى والأمعاء الخلفية.

يختلف عدد هذه الأنابيب كثيراً حسب الأنواع، وتظهر هذه الأنابيب اختلافات مورفولوجية سواء بالطول أو القطر أو الشكل. ويمكن أن نلاحظ تعرجاً بسيطاً في أنابيب مالبيكي عند بعض الحشرات. كذلك نلاحظ ألواناً عديدة

لأنابيب مالبيكي تختلف من حشرة لأخرى كالبرتقالي، الأصفر، الأبيض أو البني وغيرها من الألوان الشكلين (21 و 22).

- **دراسة جهاز الإطراح عند يرقات الذباب :**

يتألف جهاز الإطراح عند الذباب من زوجين من أنابيب مالبيكي (الشكل 23):

الزوج الأيمن:

وهو زوج من أنابيب مالبيكي تتصل بالأنبوب الهضمي بحالب Ureter قصير، ولا يتجاوز طول كل أنبوب 16مم، ويتألف كل أنبوب من نوعين من الخلايا، الخلايا الرئيسية، وهي الأكثر عدداً، وهي كبيرة الحجم، وتمتاز بنواة كبيرة، وخلايا نجمية صغيرة النواة، تتوضع هذه الأنابيب في الجزء الخلفي لجسم اليرقة .

الزوج الأيسر:

تكون هذه الأنابيب أطول من أنابيب الزوج السابق 26–30 مم، ويتألف من منطقتين متميزتين، الجزء الأول القريب من الحالب، يشبه في تركيبه أنابيب الزوج الأيمن ويمتد من عند الحالب وإلى مقدمة جسم الحشرة بمستوى الكتلة العصبية، بعد ذلك يأتي جزء صغير منحن هو الجزء البيني ينحدر منه الجزء البعيد من أنابيب مالبيكي اليسرى، وتمتاز هذه المنطقة بأنها ذات لون أبيض وتحتوي عدداً كبيراً من الحصيات مختلفة الحجم.

وتعد هذه المنطقة مكاناً لتخزين نواتج الإطراح، وتتكون من خلايا منبسطة قليلة الارتفاع (الشكل 24).

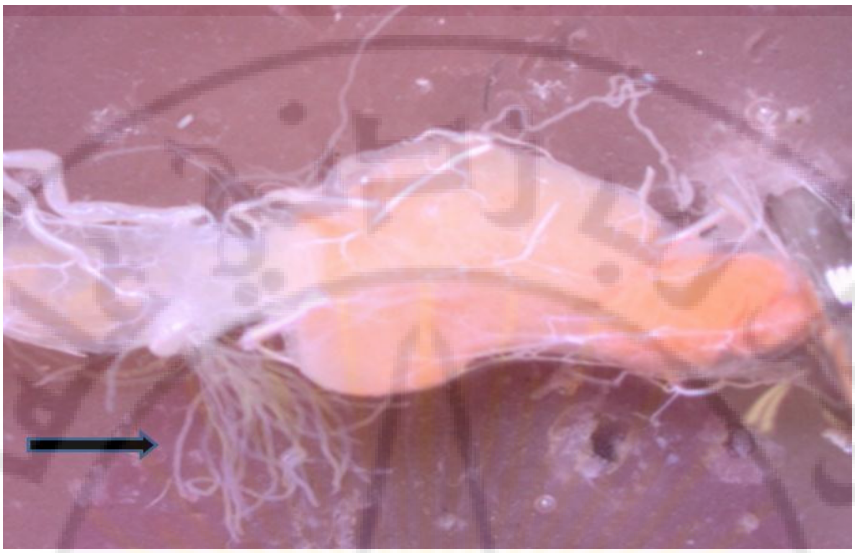
- **الحالب:**

يتصل كل زوج من أنابيب مالبيكي بالقناة الهضمية بحالب قصير يحتوي على عضلات، مما يساعد على الحركة الدودية .

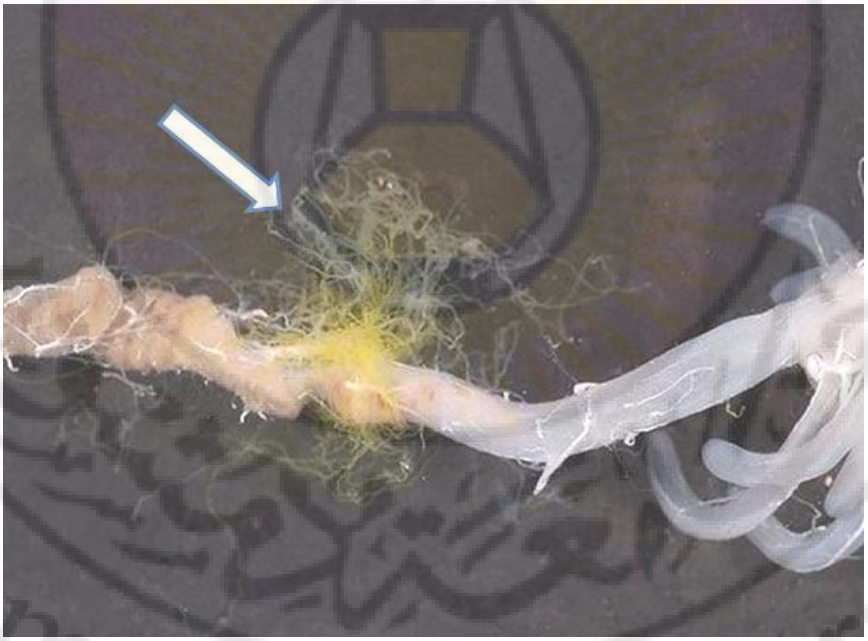
- **خطوات العمل:**
  - بعد التخدير، انقل اليرقة إلى طبق بتري، وثبتها حسب الطرق المتبعة.
  - قص المنطقة الظهرية، وثبت جوانب الحشرة بالدبابيس.
  - انزع الجسم الدهني، والقصبات الهوائية والعضلات المختلفة.
  - ميز أنابيب مالبيكي اليسرى واليمنى، ارسمها وقارنها بالرسم المعطى لك.
  - لسهولة تمييز مناطق الزوج الأيسر ضع قطرة من محلول أزرق الميتيلين.
  - افصل جزءاً من الجزء القريب لأنابيب الزوج الأيسر وقس درجة حموضتها PH وقارنها بدرجة حموضة الجزء البعيد.
  - جهز محضراً دائماً على الشريحة، وافحصها تحت المجهر، ولاحظ الخلايا المختلفة .
  - افحص المحضرات الجاهزة المعطاة لك، وارسمها في الصفحة المخصصة لذلك.

دراسة ظواهر الامتصاص والإطراح:

- احقن 0.1 مل من أحد الملونات الآتية في جسم الحشرة (3 يرقات على الأقل): أزرق الميتيلين، سفرانين، أنديكوكارمن، الفوشين القاعدي، كروموتروب
- انتظر مدة 30 – 45 دقيقة ومن ثم ابدأ بتشريح اليرقة الأولى، وسجل أي جزء من أنابيب مالبيكي قام بامتصاص هذه الملونات.
- بعد ساعة من الحقن افحص اليرقة الثانية.
- بعد ساعة و نصف افحص اليرقة الثالثة وسجل ملاحظاتك.
- ما هي الأعضاء الأخرى التي امتصت الملونات ...
- ادرس المحضرات الجاهزة المعطاة لك.



الشكل (21) لاحظ أنابيب مالبيكي لدى الصرصار



الشكل (22) لاحظ أنابيب مالبيكي لدى الجراد

Damascus University

الشكل (23) يرقة الذباب لاحظ أنابيب مالبيكي

الشكل (24) صورة مأخوذة بمساعدة المجهر العادي للزوج الأيسر لأنابيب مالبيكي لدى يرقات الذباب Calliphora (عن قسيس)

Damascus University

مقطع عرضي في الجزء القريب من أنابيب مالبيكي

مقطع عرضي في الجزء البعيد من أنابيب مالبيكي

مقطع عرضي في الحالب

ارسم جهاز الاطراح للحشرة الموجودة لديك مع وضع المسميات على الرسم

وقل رب زدني علما
جامعة دمشق
Damascus University

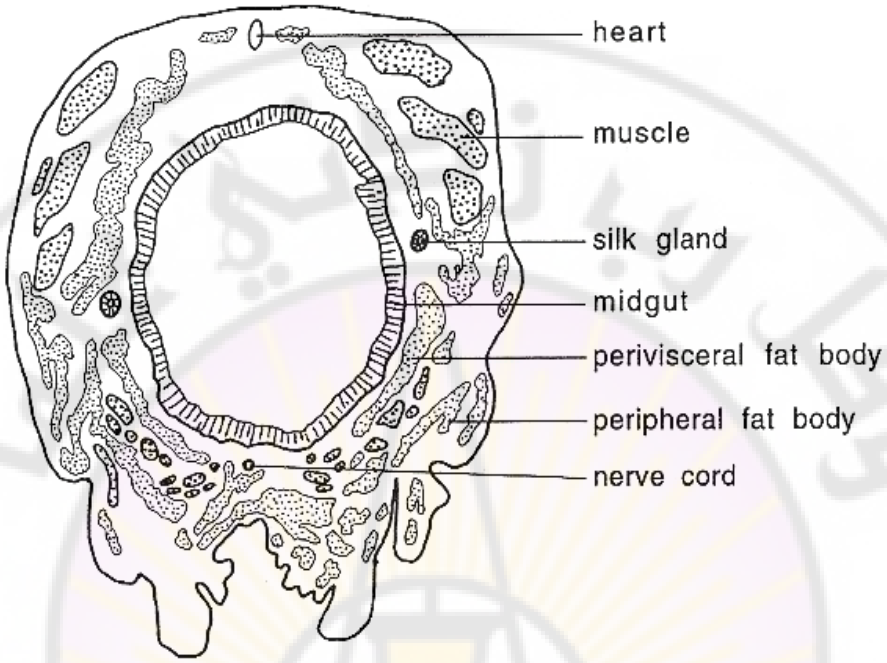
الجسم الدهني Fat Body

يُسهم الجسم الدهني إسهاماً رئيسياً ومهماً في فيزيولوجيا الحشرات حيث يتم فيه الكثير من مراحل الاستقلاب الوسيطة منها والأساسية، ويعد الجسم الدهني المركز الرئيس للكثير من تحولات السكريات والمواد الدهنية وكذلك الأحماض الأمينية والبروتينات، كما يقوم الجسم الدهني باستقلاب البورين والصبغات (الملونات)، كما يقوم بتخزين المواد السكرية والبروتينية والدهنية ليزود الأعضاء بهذه المواد وقت الحاجة، كما يسهم بإزالة سمية بعض المواد السامة مثل المبيدات الحشرية، كما تقوم خلاياه بتخزين فضلات الاستقلاب كالبولة والأملاح المعدنية الأخرى.

يشغل الجسم الدهني جزءاً كبيراً من التجويف العام ليرقات الحشرات ذات التطور الكامل، ويلاحظ بأشكال مختلفة، وتكون خلاياه عند الذباب الأبيض منفصلة بعضها عن بعض وموجودة في الدم. تحصل هذه الخلايا على الأوكسجين اللازم لها عن طريق القصبات الهوائية وتكون على اتصال مباشر بالدم وذلك لتسهيل عمليات تبادل مواد الاستقلاب الشكل (25).

ويتألف الجسم الدهني من نوع أو أكثر من الخلايا الآتية:

الخلايا الدهنية – خلايا اليورات– خلايا الميستوسيت.



الشكل (25) رسم تخطيطي لمقطع عرضي لدى يرقات Pieris يبين توزيع الجسم الدهني

دراسة الجسم الدهني لدى الحشرات:

- بعد التخدير ثبت الحشرة في الطبق البتري حسب الطريقة المتبعة.
- اعمل شقاً طولياً بمنتصف الظهر من الخلف وباتجاه الرأس واغمر الحشرة بالمحلول الفيزيولوجي.
- ادرس الجسم الدهني، ولاحظ توزعه داخل جسم الحشرة، لاحظ أن الجسم الدهني يشغل جزءاً كبيراً من التجويف العام للحشرة ويؤلف الجسم الدهني كتلة غير منتظمة الحواف، وقد يكون على شكل خطوط عريضة أو طبقات مثقبة، وقد تكون خلايا الجسم الدهني منفصلة فيما بينها وموجودة في الدم.

- لاحظ وجود طبقتين للجسم الدهني الطبقة المحيطية والتي تقع تحت جدار الجسم مباشرة، والجسم الدهني الحشوي يحيط بالأنبوب الهضمي كثيراً ما يكوّن طبقة رقيقة حوله، ولاحظ أيضاً الجسم الدهني الحشوي حول الجهاز العصبي ويكون بشكل كتل على طول الجهاز العصبي، أما بالنسبة لجهاز التكاثر فنلاحظ أن الجسم الدهني الذي يحيط به يكون كثيفاً عند تكوين البيوض أو النطاف وسرعان ما يتلاشى في نهاية هذه المرحلة نتيجة استهلاكه في عملية التشكيل هذه ليصبح طبقة رقيقة تحيط بهذا الجهاز (الشكل 26).
- لاحظ بنية الجسم الدهني حيث يكون ذو بنية هلامية (الشكل 27)، وأحياناً يؤلف بقعاً زيتية تلاحظ في جسم الحشرة تطفو ضمن المحلول الفيزيولوجي.
- لاحظ لون الجسم الدهني حيث يأخذ ألواناً عديدة سواء ضمن النوع الواحد أو بين الأنواع الحشرية المختلفة، وهذا يعود إلى استقلاب بعض الصبغات والملونات داخل الجسم الدهني
- ادرس المحضرات الجاهزة المعطاة لك.

الشكل (26) توزع الجسم الدهني لدى الصرصار

الشكل (27) الجسم الدهني لدى النحل خلال فصل الشتاء

ارسم المحضرات الجاهزة المعطاة لك

ارسم توزيع الجسم الدهني المحيطي والحشوي للحشرة الموجودة لديك مع وضع المسميات على الرسم

وقل رب زدني علما
جامعة دمشق
Damascus University

الجهاز العضلي Muscles

يتميز الجهاز العضلي عند الحشرات بأنه معقد التركيب، ويتحكم بحركة أجزاء الجسم المختلفة، ويقسم إلى قسمين رئيسين، وذلك حسب توضع العضلات:

1- **العضلات الهيكلية Skeletal muscles**: وترتبط هذه العضلات عموماً بأحد أطرافها بجزء من هيكل الجسم الذي يعد منشأ هذه العضلات، وترتبط بطرفها الآخر بأحد الأعضاء المحركة ويختلف توضع هذه العضلات حسب المجموعات الحشرية.

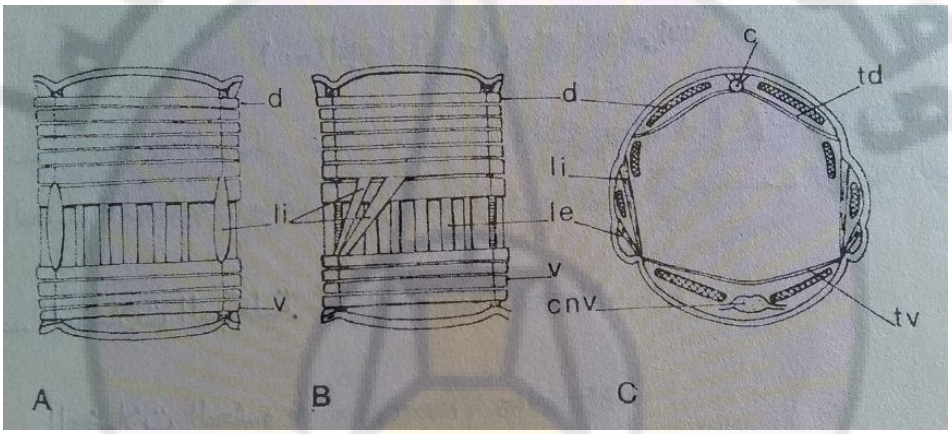
2- **العضلات الحشوية Visceral muscles**: وتغطي هذه العضلات الأعضاء الداخلية عموماً، وقد تتكون طبقة منتظمة من الألياف العضلية الطولية والدائرية حول الجهاز الهضمي، ويمكن لهذه العضلات أن تتشعب مشكلةً شبكة غير منتظمة كما هو الحال عند عضلات القونصة لحشرة Calliphora.

دراسة الجهاز العضلي عند الحشرات:

- بعد التخدير ثَبِّت الحشرة في الطبق البتري حسب الطريقة المتبعة.
- اعمل شقاً طولياً بمنتصف الظهر من الخلف وباتجاه الرأس، واغمر الحشرة بالمحلول الفيزيولوجي.
- ادرس العضلات الهيكلية الموجودة في منطقة الصدر والبطن وبخاصة عضلات الحلقات ما قبل التناسلية، لأنها تعد من العضلات بسيطة التوزيع. أما عند اليرقات فهي واضحة جداً وكثيرة العدد، وتحتوي كل حلقة على

العضلات الهيكلية التي تقسم إلى ثلاث مجموعات من العضلات الشكل(28):

- العضلات الظهرية Dorsal muscles
- العضلات البطنية Ventral muscles
- العضلات الجانبية Lateral muscles



الشكل (28) العضلات البطنية لدى الحشرات

A,B : منظر داخلي للنصف الأيمن لإحدى الحلقات البطنية

C : مقطع عرضي لإحدى الحلقات البطنية

وتقسم العضلات الظهرية والبطنية إلى:

1- عضلات طولية Longitudinal muscles:

تمتد على طول الحلقة وترتبط بالطيات بين الحلقية أو بمنطقة Antecosta لحلقتين متتاليتين، وذلك عندما تتصلب طبقة الكيوتيكل.

2- عضلات عرضية Transectal muscles:

وهي عضلات داخلية مقارنةً بالعضلات السابقة وهي عضلات الحجاب الحاجز الظهري والبطني في جهاز الدوران.

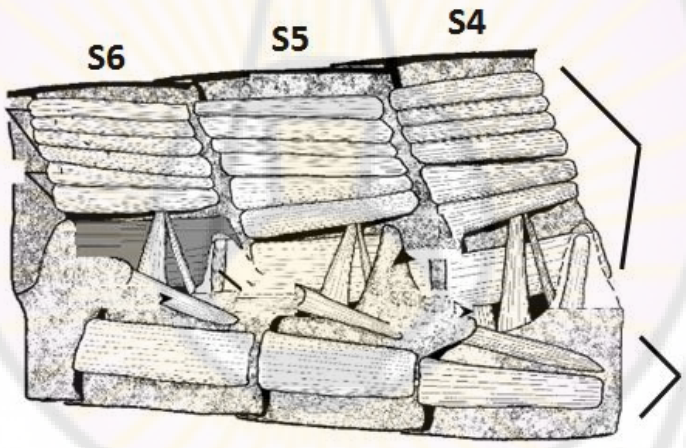
أما العضلات الجانبية فهي عضلات بين حلقية تصل ما بين الترجة والاسترنة، وقد تبدي بعض الاختلافات في مناطق ارتباطها الشكل(29).

عادةً يكون الارتباط ما بين الترجة والاسترنة Tergo-Sternal

أو ترتبط بين الترجة والبلورا Tergo-Pleural

أو بللورية استرنية Pleuro- Sternal.

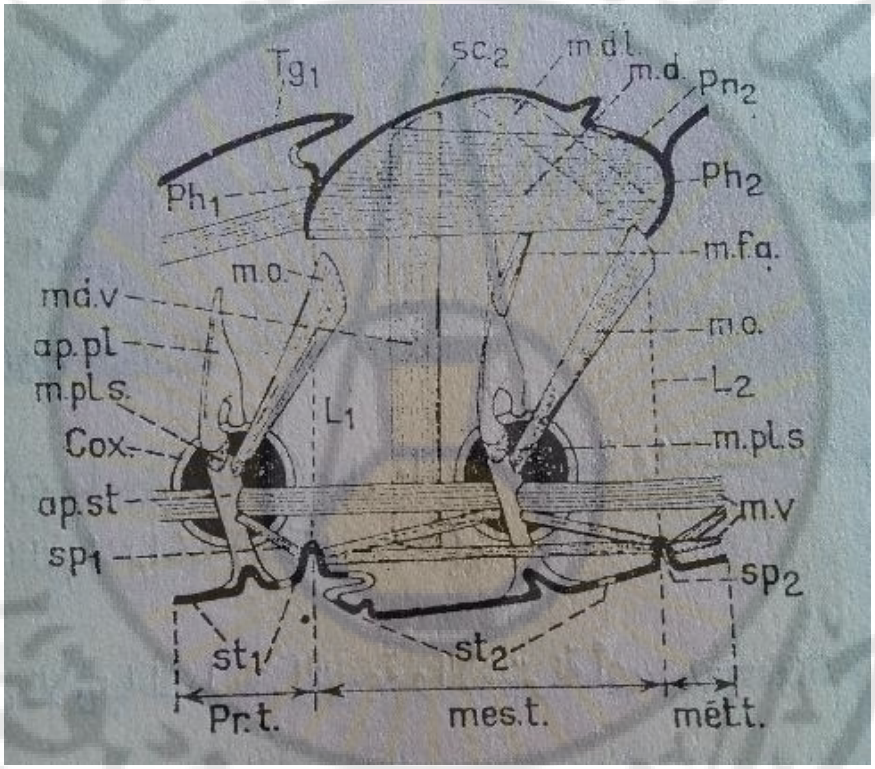
وتتوضع بعض العضلات الجانبية بمستوى الطيات بين الحلقية وهكذا عندما تصبح مائلة فقد ترتبط بالحلقات التي تليها (الشكل 30).



الشكل (29) توزع العضلات الطولية الظهرية والبطنية والعضلات الجانبية في الحلقات البطنية (4-5-6) ضع المسميات على الشكل

- قص الرجل الخلفية للحشرة، وقم بعمل شق طولي من الناحية الظهرية للفخذ ولاحظ العضلات الموجودة فيه بالإضافة إلى الأبوديم الذي تستند عليه العضلات.
- قم بفصل زوائد الفم، ولاحظ العضلات المرتبطة بها.

- ادرس المحضرات الجاهزة المعطاة لك، ولاحظ بنية العضلة، ولاحظ أنها من النوع المخطط، ميز الساركومير وأجزاءها.
- ادرس اللوحات المعطاة لك التي تبين الدراسة فوق التركيبية للجهاز العضلي.



الشكل (30) منظر جانبي للعضلات الصدرية لدى الحشرات

اكتب أسماء هذه العضلات

Damascus University

ارسم محضرات العضلات الجاهزة المعطاة لك

ارسم توزع العضلات الظهرية والبطنية والجانبية في حلقات الصدر والبطن عند الحشرة الموجودة لديك مع وضع المسميات

ارسم عضلات فخذ الرجل الخلفية لدى الحشرة مبيناً العضلات والأبوديم

الجهاز العصبي Nervous System

يضمن الجهاز العصبي العمل السريع والموافقة ما بين الأعضاء الحسية وذلك اعتماداً على المعلومات التي تم الحصول عليها من المستقبلات المختلفة.

يقسم الجهاز العصبي لدى الحشرات إلى:

1- **جهاز عصبي مركزي Central nervous system:** ويتألف من المخ Brain وهو أيضاً يتألف من المخ الأول، والمخ الثاني والمخ الثالث، والعقدة العصبية تحت المريئية Subesophagial ganglion ، والسلسلة العصبية البطنية Ventral nerve cord.

2- **جهاز عصبي سمبتاوي Sympathetic nervous system:** ويتألف من جزئين منفصلين هما الجهاز العصبي المعوي Stomodeal nervous system ، والجهاز العصبي السمبتاوي البطيني Ventral sympathetic system.

يستقبل المخ النبضات المحرضة من الأعصاب الحسية الرأسية وكذلك من الخلايا العصبية الواصلة للسلسلة العصبية البطنية. يستقبل المخ الأول أعصاب الرؤية، أما المخ الثاني فيستقبل أعصاب قرون الاستشعار والمخ الثالث أعصاب الشفة العليا، أما العقدة العصبية تحت المريئية فتكون في الرأس من الجهة البطنية وتتفرع عنها جملة أعصاب تغذي أعضاء الحس وعضلات أجزاء الفم والغدد اللعابية ومستقبلات الرقبة وعضلاتها.

تتألف السلسلة العصبية البطنية من عدد من العقد العصبية (الشكل 31) ويكون عموماً زوجاً من العقد العصبية في كل حلقة من الحلقات الصدرية

الثلاث وكذلك في كل حلقة من الحلقات البطنية الثمان الأولى، ولكن كثيراً خلال مراحل التطور تصبح العقدتان في كل حلقة مرتبطتين فيما بينهما وتبدوان عقدةً واحدةً، وتتصل العقد العصبية الموجودة في السلسلة بحبل عصبي مزدوج (الشكل 32).

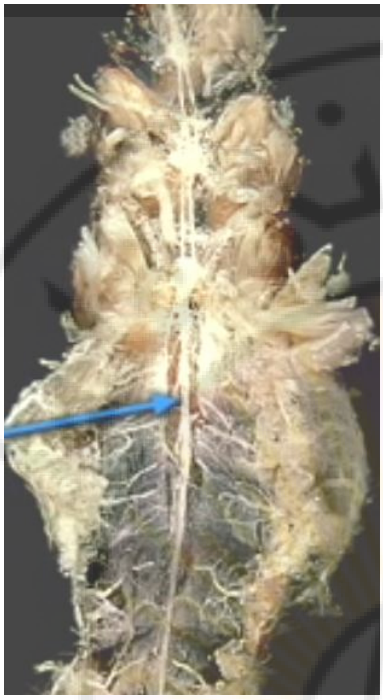
يحتوي الجهاز العصبي السمبتاوي المعوي على عقدة عصبية جبهيةFrontal ganglion وعقدة عصبية تحت دماغية Hypocerebral ganglion وتكون موجودة خلف المخ. ينشأ عن العقدة العصبية الجبهية عدد كبير من الأعصاب تغذي الجهاز الهضمي، ويتفرع من العقدة العصبية تحت الدماغية واحد أو اثنان من أعصاب القونصة.

يتكون الجهاز العصبي السمبتاوي البطيني من العصب الوسطي الناتج من الجهة الخلفية لكل عقدة عصبية في السلسلة العصبية البطنية ويتفرع إلى فرعين يغذيان الثغور التنفسية للحلقة الموافقة، أما العقدة العصبية الأخيرة فتكون معقدة وتنشأ عنها أعصاب باتجاه المنطقة الخلفية للجهاز الهضمي وإلى الجهاز التناسلي.

دراسة الجهاز العصبي عند الحشرات:

- بعد التخدير ثبت الحشرة في الطبق البتري حسب الطريقة المتبعة.
- اعمل شقاً طولياً بمنتصف الظهر من الخلف وباتجاه الصدر، واغمر الحشرة بالمحلول الفيزيولوجي.

- قم بإزالة القناة الهضمية والجسم الدهني والعضلات ونظف التجويف العام من الأعضاء الأخرى، وذلك بتوخي الحذر للحفاظ على سلامة الجهاز العصبي.
- لاحظ السلسلة العصبية البطنية على امتداد الخط الوسطي للاسترنات.
- لاحظ عدد العقد العصبية الموجودة في كل من الصدر والبطن.
- لاحظ العقدة العصبية البطنية الأخيرة، وقارن حجمها بحجوم العقد العصبية الأخرى في الصدر والبطن.
- اعمل شقاً طولياً في الرأس بمساعدة المشرط أو المقص، ولاحظ المخ متوضعاً بين عضلات الرأس.
- لاحظ الحبال العصبية التي تصل المخ بالعقدة العصبية تحت المريئية.
- ارسم شكلاً تخطيطياً لجسم الحشرة مبيناً توزيع العقد العصبية في كل من الصدر والبطن.
- ارسم المخ مبيناً الأجزاء الرئيسية.
- ادرس المحضر الجاهز المعطى لك للمخ، ولاحظ أجزاء المخ المختلفة مع بالصم C.C و C.A .
- افحص المحضر المعطى لك، وهو مقطع للمخ يبين التركيب العام لكل جزء من أجزاء المخ وارسمه في المكان المخصص لذلك.



الشكل (31) السلسلة العصبية البطنية لدى الصرصار

الشكل (32) السلسلة العصبية البطنية. ضع المسميات الموافقة على الشكل

مقطع طولي في المخ

ارسم شكلاً تخطيطياً لجسم الحشرة مبيناً توزيع العقد العصبية في كل من الصدر والبطن مع وضع المسميات على الشكل

وقل رب زدني علما
جامعة دمشق
Damascus University

جهاز التنفس Gaseous Exchange

تعرف التبادلات الغازية ما بين الحشرة والوسط الذي تعيش فيه بأنها نقل الأوكسجين من الوسط الخارجي إلى أنسجة الجسم المختلفة وطرح غاز ثاني أوكسيد الكربون الناتج عن الأكسدة.

تتم التبادلات الغازية لدى أغلب الحشرات من طريق القصبات الهوائية التي توصل غاز الأوكسجين إلى أقرب مكان للاستخدام، أما الحشرات المائية فأنها مزودة بجهاز خاص يسمح بالحصول على الأوكسجين اللازم من الماء.

التركيب العام للجهاز التنفسي:

1- **القصبات الهوائية Tracheae**: وهي انغمادات في الوريقة الخارجية وفتحة الانغماد هو الثغر التنفسي. تتفرع القصبة التنفسية إلى ثلاثة أفرع: ظهري، بطني وآخر حشوي وتتفرع أيضاً لتصل إلى الأعضاء والأنسجة. تتحد القصبات الهوائية المتتالية عند الكثير من الحشرات لتؤلف على كل جانب ساقاً قصبية طولية جانبية، كما أنّ هناك ارتباطات جانبية تجمع السوق القصبية للجانبين (الشكل 33).

تحتوي الحشرات عموماً على عشرة أزواج من الثغور التنفسية، ويوجد زوجان في منطقة الصدر على كلاً من الصدرين الثاني والثالث وثمانية أزواج كحد أقصى على الحلقات البطنية الثمان الأولى.

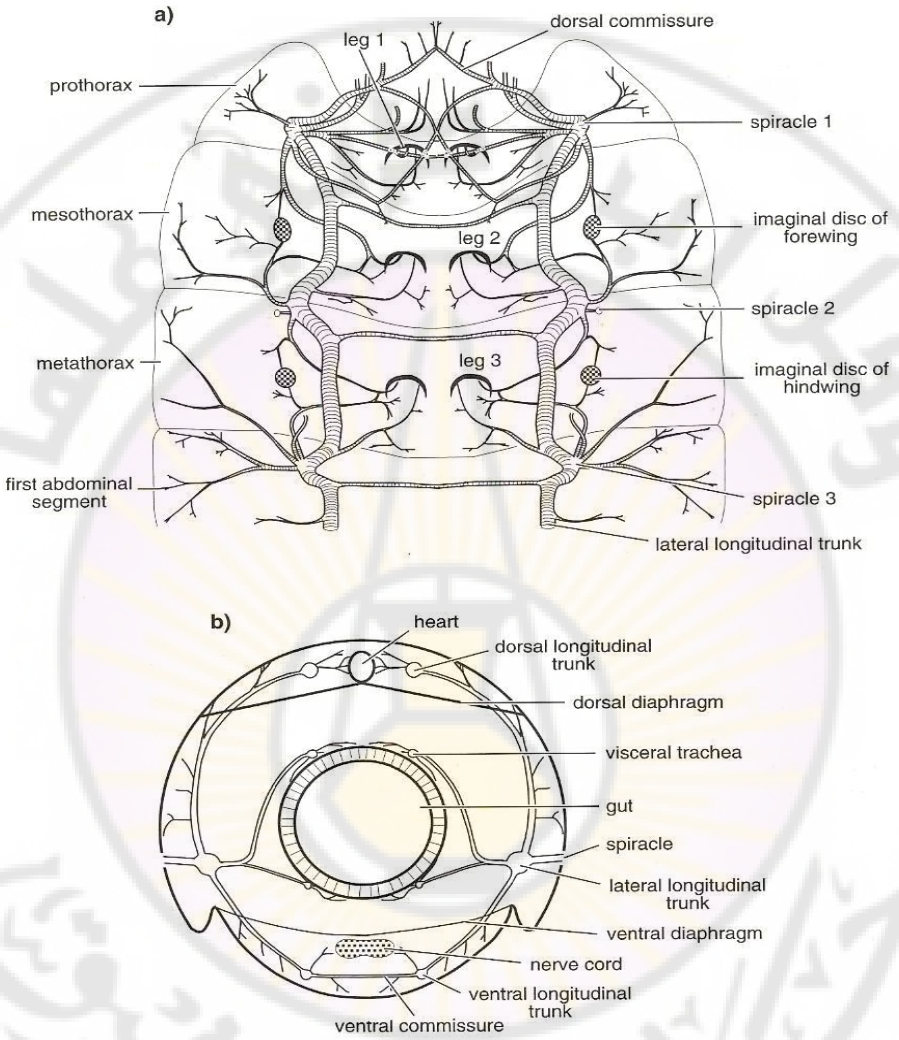
تتألف القصبة الهوائية من طبقة من الخلايا الطلائية ترتكز على غشاء قاعدي من الخارج وتحاط من الداخل بطبقة كيتينية تتصل هذه الأخيرة

بالكيوتيكل الذي يغطي جدار الجسم. تبدي هذه الطبقة الكيتينية بعض التغلظات Taenidium التي تتوضع على هيئة دوائر تامة أو على شكل حلزون.

2- **الأكياس الهوائية Air-Sac** : تتوسع القصبات الهوائية في بعض المناطق لتعطي أكياساً هوائية وقد تكون هذه الأكياس صغيرة أو كبيرة، وتحتوي على غشاء رقيق جداً ولا تحوي أي تغلظات حلزونية حيث تستطيع أن تتمدد وتمتلئ بالهواء وتصبح منبسطة حين يخرج منها الهواء.

3- **القصيبات الهوائية Tracheoles**: تتشعب القصبات الهوائية مرات عديدة فتصبح في كل مرة أكثر دقةً وتتداخل بين مختلف الأعضاء قبل أن تنتهي بمجموعة من القصيبات القصيرة وتنتهي هذه القصيبات بخلية يطلق عليها اسم خلية القصيبات الهوائية أو الخلية النجمية، وتغلف القصيبات والخلايا النجمية بطبقة رقيقة من الكيوتيكل وتكون هذه الطبقة مثقبة.

4- **الثغور التنفسية Spiracles**: إما أن تكون الثغور التنفسية بسيطة التركيب حيث يكون الثغر عبارة عن ثقب يصل القصبات الهوائية بالوسط الخارجي، وإما أن يكون لها تراكيب متخصصة للحد من فقدان الماء ودخول الغبار والماء (الشكل 34).



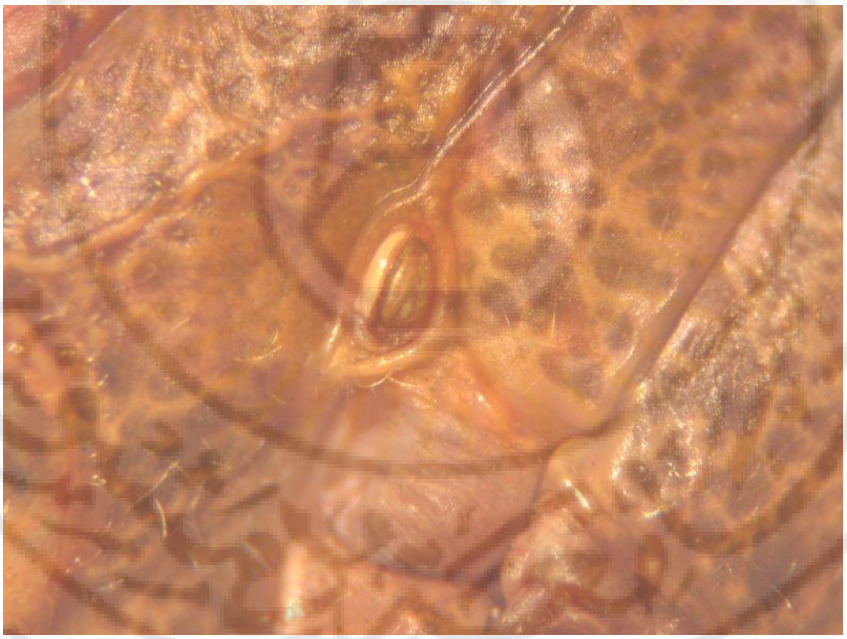
الشكل (33) جهاز التنفس لدى الحشرات آ- منظر ظهري ب- مقطع عرضي في الجسم

(Snodgrass, 1935)

دراسة الجهاز التنفسي عند الحشرات:

- بعد التخدير ثبت الحشرة في الطبق البتري حسب الطريقة المتبعة.
- ادرس الثغور التنفسية الموجودة على حلقات الصدر والبطن. لاحظ أن هناك تداخلاً لبعض حلقات البطن عند العديد من الحشرات مما يمنع رؤية الثغور لذلك قم بعملية سحب لحلقات البطن باتجاه الخلف، ولاحظ الثغور في مناطق تداخل الحلقات مع بعضها البعض.
- اعمل شقاً طولياً بمنتصف الظهر من الخلف وباتجاه الرأس، واغمر الحشرة بالمحلول الفيزيولوجي.
- لاحظ القصبات الهوائية المرتبطة على نحوٍ وثيق مع الثغور التنفسية (الشكل 35).
- ادرس تفرعات القصبات الهوائية في جسم الحشرة بدءاً من اتصالها بالثغور التنفسية.
- لاحظ اتصال القصبات الهوائية المتفرعة من الثغور التنفسية فيما بينها.
- لاحظ اختلاف قطر القصبات الهوائية مع الابتعاد عن الثغور التنفسية.
- لاحظ من خلال الضغط على القصبات الهوائية أن التغلظات الكيتينية تمنع انطباق القصبات وهذا مهم جداً لاستمرار انسياب الهواء بداخلها.
- لاحظ اتصال نهايات القصبات الهوائية بالأعضاء المختلفة كالجهاز الهضمي والجسم الدهني والعضلات والسلسلة العصبية البطنية وغيرها من الأعضاء (الأشكال 36، 37، 38).

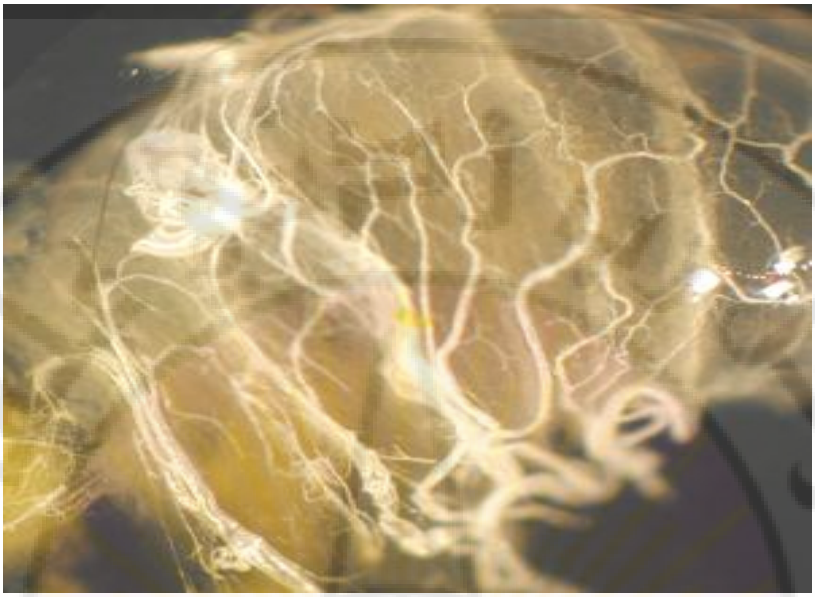
- ادرس وجود الاكياس الهوائية داخل الجسم، ولاحظ مناطق انتشارها في حال وجودها.
- لاحظ ارتباط الأكياس الهوائية بالقصبات الهوائية.
- قم بتفريغ بعض الأكياس الهوائية المملوءة بالهواء، ولاحظ عدم وجود أي تغلظات بداخلها حيث تصبح منبسطة عند خروج الهواء منها.
- ارسم شكلاً تخطيطياً لتوزع الثغور التنفسية والقصبات الهوائية والأكياس الهوائية داخل جسم الحشرة.
- ادرس المحضرات الجاهزة المعطاة لك.



الشكل (34) الثغر التنفسي لدى الجراد

الشكل (35) الثغور التنفسية واتصال القصبات الهوائية بها وتفرعات القصبات الظهرية والحشوية والبطنية

الشكل (36) القصبات الهوائية التي تحيط بالحوصلة



الشكل (37) القصبات الهوائية التي تحيط بالأمعاء الوسطى

الشكل (38) القصبات الهوائية التي تحيط بالجهاز العصبي

مقطع عرضي في القصبة الهوائية

ارسم شكلاً تخطيطياً لتوزع الثغور التنفسية والقصبات الهوائية والأكياس الهوائية داخل جسم الحشرة

جهاز الدوران Circulary System

يقوم الدم بإسهام رئيسي مهم وهو توزيع نواتج الاستقلاب ونقل الهرمونات إضافةً إلى تخليص الجسم من الأحياء الدقيقة والطفيليات والأجسام الغريبة والتئام الجروح ولا يتدخل الدم في عملية التنفس لعدم احتوائه على الصبغات التنفسية.

ينتقل الدم داخل تجويف الجسم عبر الوعاء الدموي الظهري حيث يعمل على ضخ الدم من مؤخرة الجسم إلى فراغ الرأس.

تركيب جهاز الدوران:

يتركب جهاز الدوران من الأجزاء الآتية:

1- الوعاء الدموي الظهري Dorsal vessel: الذي يمتد ظهرياً على الخط الوسطي الطولي تحت الصفائح الترجية للجسم مباشرةً، ويتثبت بمكانه بمساعدة خلايا تعليق مرتبطة بالصفائح الترجية وبالحجاب الحاجز الظهري، ويقسم الوعاء الدموي إلى قسمين:

- الجزء الخلفي ويدعى القلب Heart ويتميز بوجود حجرات مزودة بصمامات أذينية وأخرى بطينية.
- الجزء الأمامي ويدعى الأذينة Aorta والذي يكون مفتوحاً في جزئه الامامي (الشكل 39).

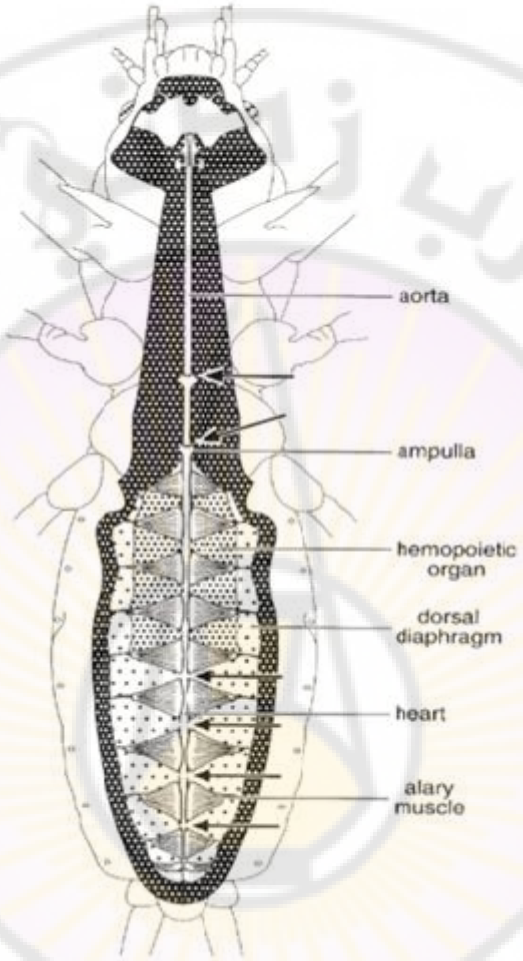
2- الحجاب الحاجز الظهري والبطني: يوجد الحجاب الحاجز الظهري Dorsal diaphragm تحت القلب وأغلب ما يلتصق به ويرتبط من الناحية الجانبية بالصفائح الترجية ويتكون بذلك التجويف الجار قلبي Pericardial sinus

ويتصل بالحجاب الحاجز الظهري العضلات المروحية Alary muscles وتتثبت هذه العضلات على القلب.يتصل التجويف الجار قلبي بالتجويف الحشوي Perivesceral sinus عن طريق الثقوب الموجودة في الحجاب الحاجز الظهري.

بعض الرتب الحشرية مثل الرعاشات، مستقيمات الأجنحة وذات الجناحين حجاب حاجز بطني Ventral diaphragm يمر فوق السلسلة العصبية البطنية، ويحدد بذلك ما يعرف بالتجويف العصبي Perineural sinus ويفصل هذا الحجاب الحاجز التجويف العصبي عن التجويف الحشوي.

3- القلوب المساعدة Accessory pulsatile organs: تعمل هذه القلوب على تسهيل حركة الدم داخل الزوائد المختلفة في الجسم مثل الأرجل، الأجنحة، وقرون الاستشعار حيث تحافظ على ضخ الدم في أطراف الحشرة المختلفة وضمان دورانه، وهي حويصلات مثقبة في بعض الأحيان تعطي فتحات جانبية تشبه الفتحات القلبية.

4- الخلايا الجار قلبية Pericardial cells: لهذه الخلايا دور إطراحي من خلال تخزين بعض الملونات، ولها قدرة على الابتلاع Pinocytose الفعال، وكذلك إفراز بعض المواد المسرعة للقلب تحت تأثير الغدة C.C . قد تكون هذه الخلايا على امتداد الوعاء الدموي الظهري أو على الحجاب الحاجز الظهري أو العضلات المروحية، وقد تأخذ أوضاعاً مختلفة عند بعض الحشرات.



الشكل (39) التشريح من الناحية البطنية لحشرة Gryllotalpa يبين جهاز الدوران وملحقاته (Nutting, 1951)

دراسة جهاز الدوران عند الحشرات:

- قص الأرجل والأجنحة، وثبت الحشرة في الطبق البتري.
- لاحظ قبل البدء بالتشريح الشكل العام للقلب، وذلك من خلال ترجات البطن حيث يبدأ من مؤخرة البطن وحتى منطقة الصدر الأول.
- لاحظ أن النهاية الخلفية للقلب ضيقة ومغلقة، إضافة إلى أن قطر الوعاء الظهري (القلب) غير ثابت، وسبب ذلك هو وجود حجيرات القلب المتتالية والتي ينفصل بعضها عن بعضها الآخر باختناقات واضحة.
- اعمل شقاً عرضياً في نهاية البطن ثم قص الترجات من الجانبين من مؤخرة البطن وحتى مقدم الجسم.
- ارفع الترجات بمساعدة الملاقط الدقيقة وبعناية فائقة، ويمكن استخدام المشرط أو المقص للتخلص من العضلات والأنسجة الأخرى المرتبطة بالترجة.
- ضع الجزء الذي حصلت عليه في طبق بتري، واغمره بالمحلول الفيزيولوجي، وافحصه بمساعدة المكبرة، ولاحظ الوعاء الدموي الظهري لا يزال ينبض.
- لاحظ الحجرات القلبية وكذلك العضلات المروحية على جانبي الوعاء الدموي الظهري الشكل (40).
- لاحظ الحجاب الحاجز الظهري وارتباط العضلات المروحية بالصفائح الترجية.

- ميَّز الأذينة وهو الجزء الأمامي للوعاء الدموي الظهري الذي يصب في الرأس.
- ادرس (حسب الحشرة الموجودة لديك) وجود الحجاب الحاجز البطني الذي يعلو السلسلة العصبية البطنية.
- لاحظ القصبات الهوائية التي تمتد بشكل ساق على جانبي الوعاء الدموي الظهري وتتصل عرضياً فيما بينها.
- ارسم جهاز الدوران وملحقاته محدداً عدد الحجرات القلبية وعدد العضلات المروحية.

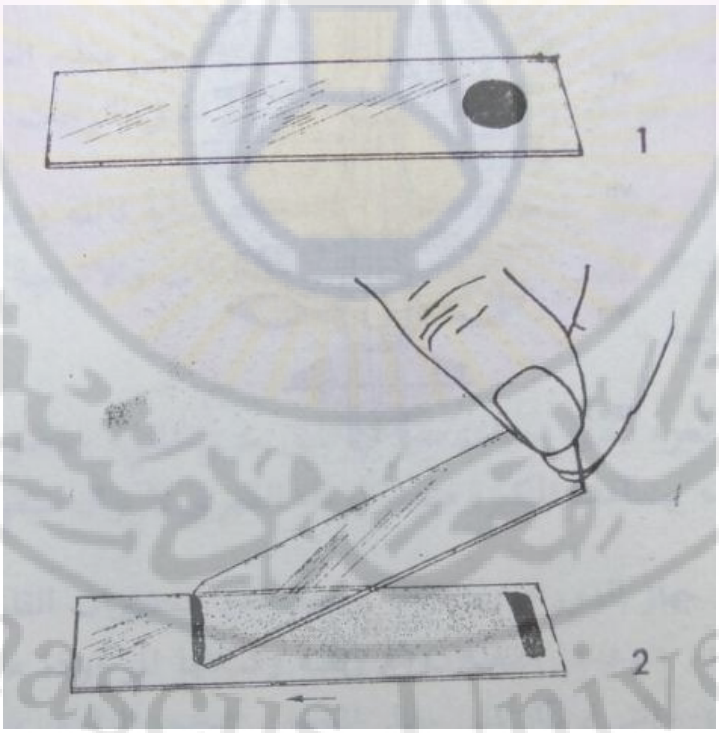
الشكل (40) جهاز الدوران لدى الصرصار

- ادرس المحضرات الجاهزة الموجودة لك.

اعمل شريحة من دم الحشرة، واتبع ما يلي من أجل تحضيرها:

يجب أن يؤخذ الدم من حشرة حية، ولذلك يجب تخدير الحشرة بالايتر أو الكلوروفورم كالمعتاد.

- ينزع جزء سهل الفصل مثل قرون الاستشعار أو إحدى الأرجل أو الأجنحة ومن ثم نستقبل قطرة الدم على طرف الشريحة مباشرة، ويجب أن تكون نظيفة وجافة.
- ابسط السائل على الشريحة بطرف شريحة أخرى كرر العملية عدة مرات حتى يتم تشكيل فيلم رقيق يشغل أكبر جزء من سطح الشريحة الشكل (41).



الشكل (41) رسم توضيحي لعمل شريحة من الدم

- ثبت مباشرة الفيلم الرقيق الذي حصلت عليه وهو لا يزال رطباً، وذلك بغمر الشريحة في المثبت أو بتعريض الشريحة لبخار المثبت المسخن.
- ضع الشريحة في الكحول المطلق، ثم تدرج تنازلياً إلى أن تصل إلى الكحول 30% ومن ثم الماء.
- تضاف إحدى الصبغات (صبغة Leishman أو صبغة Giemsa) على سطح الشريحة، وتترك حتى تأخذ اللون المطلوب، وذلك بالفحص المتكرر، وإذا ازدادت الصبغة نضع قطرة ماء مقطر.
- عند الانتهاء من الصبغ نضع الشريحة في وضع رأسي حتى نتخلص من الصبغة، ومن ثم تنقل إلى الكحولات، تصاعدياً (30، 60، 70، 90، 95، الكحول المطلق).
- تجفف بالهواء، ومن ثم تحمل ببلسم كندا، ويغطى بالساترة.
- أما في حال استخدام العدسة الغاطسة فلا نستعمل الساترة.

– طريقة تحضير صبغة Leishman:

- ضع 1.5غ من صبغة ليشمان في 1000 مل من الكحول الميتلي النقي، ويجب أن تكون حموضة الوسط PH 6.8 .

– طريقة تحضير صبغة Giemsa:

هناك نوعان من هذه الصبغة:

آ – الصبغة السريعة: وتستخدم في صبغة النماذج الجافة والقاسية (الأجزاء الصلبة كالرأس).

ب – الصبغة البطيئة: وتستعمل في صنع القطاعات الطرية والدم ولتحضير هذه الصبغة يجب أن نحضر ما يلي:

1- محلول الصبغة ويتألف من:

- مسحوق صبغة جيمسا 3.8 غ
- الكحول الميتيلي المطلق 375 مل
- الغليسيرين النقي 125 مل

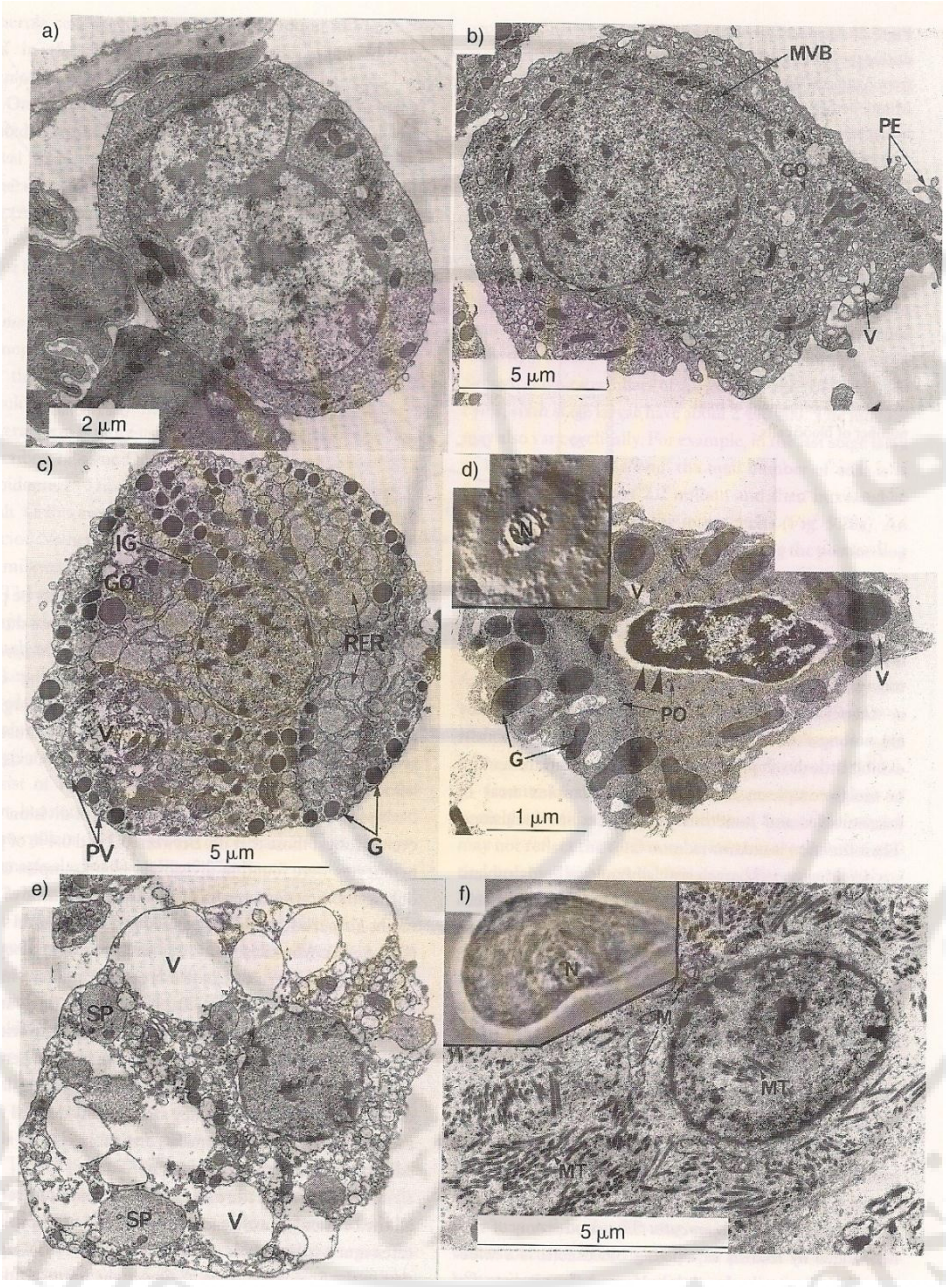
يذوب الكحول في الغليسيرين، ثم نضيف مسحوق الصبغة، ويحفظ في الحاضنة على درجة 37° م لمدة 48 ساعة، ومن ثم ترشح، ويحفظ المحلول.

2- محلول لتخفيف الصبغة ويتألف من :

- فوسفات البوتاسيوم الأحادية 1 غ
- فوسفات البوتاسيوم الثنائية 2 غ
- ماء مقطر 1000 مل

المحلول النهائي المستخدم للصبغة:

- يؤخذ 4 أجزاء من محلول الصبغة إلى 10 أجزاء من محلول التخفيف
- لاحظ أشكال خلايا الدم كما هي موضحة بالشكل (42).
- افحص المحضر، وارسم أشكال خلايا الدم المختلفة في الصفحة المخصصة لذلك



الشكل (42) رسم تخطيطي لأنواع مختلفة لخلايا الدم

(Chiang, Gupta & Han, 1988)

ارسم أشكال خلايا الدم التي حصلت عليها

ارسم جهاز الدوران وملحقاته محدداً عدد الحجيرات القلبية وعدد العضلات المروحية واضعاً المسميات على الرسم

جهاز التكاثر Reproductive System

يكون التكاثر عند أغلب الحشرات ثنائية الجنس ولا تتطور البويضة الأنثوية إلا بعد الاخصاب بالحيوان المنوي، وتكون أعضاء التكاثر عند الجنسين متشابهة في الطور الجنيني، ثم تتمايز في مرحلة التطور ما بعد الجنيني، ونجد عند بعض الحشرات حالات التكاثر البكري Parthenogensis وحالات التخنث Hermatophrodite.

أولاً – الجهاز التكاثري عند الأنثى :

يتألف الجهاز التناسلي الأنثوي من الأجزاء الآتية:

1- المبايض Ovaries: وهي زوج من المبايض تتوضع على جانبي الأنبوب الهضمي في منطقة البطن، وكل مبيض يكون فيه عدة أنابيب أو أفرع مبيضية دقيقة Ovarioles يتم فيها تشكيل ونمو البويضات Ovocytes ويختلف عدد هذه الأفرع كثيراً حسب حجم الحشرة وطبيعة حياتها ووضعها التصنيفي.تجتمع النهايات الطرفية الأمامية لأفرع المبيض وتدعى الخيوط الطرفية Terminal filament وتتحد فيما بينها لتكوّن خيط التعليق Suspensory ligament الذي يرتبط إما بجدار الجسم وإما بالحجاب الحاجز الظهري، أما من الناحية القاعدية فيستدق طرف فرع المبيض على هيئة حامل دقيق ويدعى Pedicel يتصل بقناة المبيض.

2- القنوات المبيضية Oviduct: يتصل بكل مبيض قناة جانبية duct وتتصل القناتان الجانبيتان لتؤلفا قناة مشتركة Median oviduct تمتد حتى الفتحة التناسلية في نهاية الاسترنة الثامنة داخل الحجرة التناسلية Genital

chamber، وعندما تصبح الحجرة التناسلية كجيب داخلي على امتداد القناة المشتركة، وتدعى في هذه الحالة المهبل Vagina فهذا الأخير قد يفتح في الجزء الخلفي للحلقة البطنية الثامنة أو التاسعة. عند بعض حشرات حرشفية الأجنحة (Ditrysian) هناك فتحة تناسلية على الحلقة البطنية الثامنة تستخدم للتزاوج وأخرى على الحلقة التاسعة تستخدم لوضع البيض، أما عند حشرات Ephemeroptera لا تتحد القناتان الجانبيتان لذلك فهي تحتوي على فتحتين تناسليتين عند الحلقة البطنية السابعة.

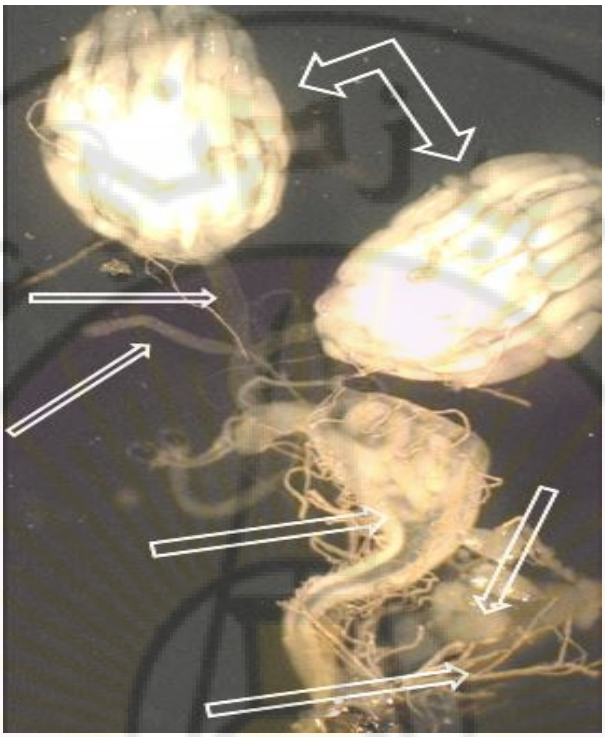
3- الغدد المساعدة Accessory glands: يختلف منشأ الأدوار المختلفة للغدد المساعدة التناسلية حسب نوع الحشرة فقد تنشأ من المهبل أو من الحجرة التناسلية أو قد تكون امتداداً للطرف البعيد للقناتين الجانبيتين.

4- المخزن المنوي Spermathica: وهو كيس يخزن الحيوانات المنوية من وقت التسافد حتى نضج البيوض وقد يفتح المخزن المنوي (القابلة المنوية) في الحجرة التناسلية مباشرةً أو داخلياً ضمن قناة المبيض. الشكلين(43 و 44).

دراسة الجهاز التناسلي الأنثوي:

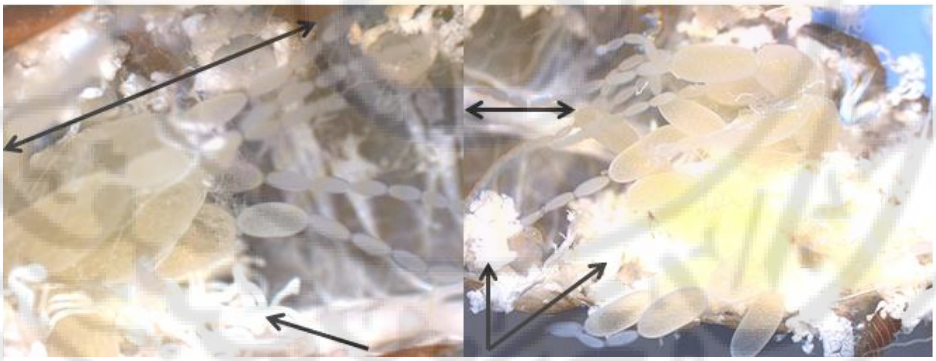
- بعد تخدير الحشرة ثبتها داخل الطبق البتري وفق الطريقة المتبعة.
- بعد قص المنطقة الترجية ثبت جوانب الحشرة واغمرها بالمحلول الفيزيولوجي فيسهل فصل القناة الهضمية دون إتلاف الأجهزة الأخرى.
- قص الأنبوب الهضمي بمستوى المستقيم، وابدأ بتنظيف الجسم من الجسم الدهني والقصبات الهوائية والعضلات.

- حدد المبيضين، ولاحظ أن كل مبيض يتألف من عدد من الأفرع المبيضية تحتوي على البيض بأحجام مختلفة، ولاحظ خيط التعليق لكل مبيض الشكلين (45 و 46).
- لاحظ قناتي المبيض الجانبيتين وتصب فيها الأفرع المبيضية كافة للمبيضين.
- لاحظ القناة المشتركة أسفل المستقيم والمهبل أو الحجرة التناسلية وتنتهي بالفتحة التناسلية.
- حدد القابلة المنوية، ولاحظ القناة المتصلة بها، وأين تفتح؟
- لاحظ الغدد التناسلية المساعدة، وحدد موقعها.
- ارسم الجهاز التناسلي عند الأنثى موضحاً أجزاءه المختلفة.
- ادرس المقاطع الجاهزة المعطاة لك تحت المجهر، ولاحظ الاختلافات التركيبية لكل من هذه الأجزاء مع الرسم.

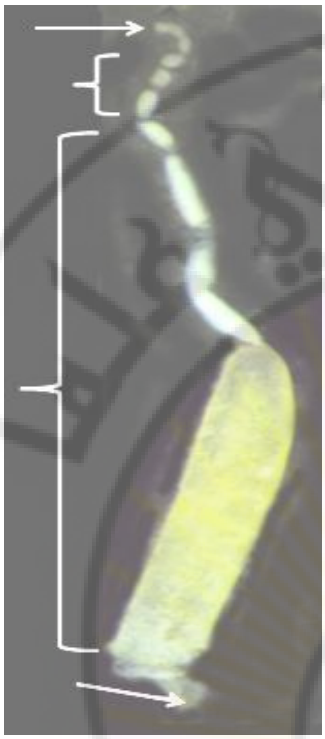


الشكل (43) الجهاز التكاثري الأنثوي لدى الصرصار. ضع المسميات على الشكل

الشكل (44) الجهاز التكاثري الأنثوي لدى الجراد. ضع المسميات على الشكل



الشكل (45) مبايض أنثى الصرصار. ضع المسميات على الشكل



الشكل (46) فرع مبيضي لدى أنثى الجراد. ضع المسميات على الشكل

مقطع طولي في المبيض

مقطع عرضي في القناة الجانبية

مقطع عرضي في القناة المشتركة

ارسم جهاز التكاثر الأنثوي للحشرة وضع المسميات على الرسم

ثانياً- الجهاز التناسلي الذكري:

يتألف الجهاز التناسلي الذكري من الأجزاء التالية:

1- الخصيتان Testis: تتوضع الخصيتان في البطن فوق القناة الهضمية أو تحتها، وغالباً تكونان بالقرب من الخط الوسطي الظهري، وتتألف كل خصية من عدد من الأنابيب المنوية Testis tubes يختلف عددها حسب النوع، وكذلك الشكل فقد تكون بشكل أكياس بسيطة Sac أو فصوص منفصلة Lobes أو تكون الأنابيب منفصلة على نحوٍ غير تام، وقد تلتحم الخصيتان فيما بينها البعض لتشكلا كتلة واحدة في الوسط. ينتهي كل أنبوب منوي بقناة دقيقة قصيرة Vas efference، وتتصل أيضاً بالقناة الناقلة.

2- القنوات التناسلية: يتصل بكل خصية قناة ناقلة Vas defference، وقد تنتفخ القناة الناقلة لتؤلف الحويصلة المنوية Seminal vesicle. تقوم القنوات الناقلة بنقل الحيوانات المنوية إلى القناة القاذفة Ejaculatory duct وتؤدي إلى الأعضاء الذكرية الخارجية (عضو السفاد).

عند بعض الرتب مثل Protura,Ephemeroptera,Dermaptera تصب القنوات الناقلة مباشرةً إلى الخارج دون أن تشكل قناة قاذفة.

3- الغدد المساعدة Accessory glands: يختلف عدد هذه الغدد باختلاف الأنواع، وقد لا تكون عند بعض الحشرات، أما أثرها فيختلف حسب نوع الحشرة أو حتى ضمن الحشرة الواحدة، فقد يكون هناك اختلاف بين الغدد المساعدة من حيث طبيعة إفرازاتها الكيميائية، وأحياناً تكون الغدة المساعدة الواحدة مكونة من عدة أنواع من الخلايا المتمايزة مورفولوجياً وهي تفرز

عدداً من المفرزات المختلفة. تفتح قنوات الغدد المساعدة إما في القناة القاذفة وإما في القناة الناقلة. الشكلين (47 و 48).

دراسة الجهاز التناسلي الذكري:

- بعد تخدير الحشرة ثبتها داخل الطبق البتري، وفق الطريقة المتبعة.
- شرح كما فعلت سابقاً عند الأنثى.
- ادرس الخصيتين، ولاحظ هل هما منفصلتان أم ملتحمتان، ويغلفهما كيس واحد.
- لاحظ شكل الأنابيب المنوية.
- لاحظ القناتين الناقلتين اللتين تتصلان بالخصيتين، وتصبان في القناة القاذفة، ولاحظ الحويصلة المنوية.
- لاحظ الغدد الإضافية التي تصب إما في القناة القاذفة وإما في القناتين الناقلتين.
- ارسم الجهاز التناسلي للذكر موضحاً الأجزاء المختلفة.
- ادرس المقاطع الجاهزة المعطاة لك والتي تبين تركيب كل جزء من أجزاء جهاز التكاثر الذكري.

الشكل (47) الجهاز التكاثري الذكري لدى الجراد. ضع المسميات على الشكل

الشكل (48) الجهاز التكاثري الذكري لدى الكابنودس. ضع المسميات على الشكل

مقطع طولي في الخصية

مقطع عرضي في الوعاء الناقل

مقطع عرضي في الغدد الإضافية

ارسم جهاز التكاثر الذكري للحشرة واضعاً المسميات على الرسم

وقل رب زدني علما
جامعة دمشق
Damascus University

دراسة البروتينات لدى الأطوار المختلفة للحشرات

يعد المخزون الغذائي بالنسبة للحشرات ذا أهمية كبيرة خاصة عند تلك التي لا تتغذى خلال طور الحشرة الكاملة لهذا يعد طور اليرقة مهماً جداً بالنسبة لهذه الحشرات بكونه الطور الوحيد المتغذي، إذ يتم تخزين المواد الغذائية في الجسم الدهني لليرقات الذي يشغل جزءاً كبيراً من التجويف العام ليرقات الحشرات ذات التطور الكامل ويُسهم هذا المخزون إسهاماً مهماً وخاصة أثناء عدم تناول الحشرة للطعام سواء أكانت هذه المدة قصيرة أو طويلة، كما يعد المصدر الأساس للطاقة، أثناء حركة الحشرة، وتستخدمه الحشرة في طور السكون ومن أجل الاستمرار في الحياة، كما يتم استخدامه في طور العذراء أثناء بناء أنسجة الحشرة الكاملة الجديدة، يعتمد إنتاج البيض على مخزون الجسم الدهني، بخاصة تلك التي لا تتغذى بطور الحشرة الكاملة، حيث يخزن الجسم الدهني المواد البروتينية، ويعد تراكم البروتينات المخزنة في الجسم الدهني من العوامل المهمة جداً والمرتبطة بالتكون والتطور عند الحشرات.

يتم تصنيع هذه البروتينات في الجسم الدهني الذي يلقي بها إلى دم اليرقة، ويعاد أخذها من قبل الجسم الدهني قبل التعذر بوقت قصير، وتخزن هذه البروتينات في الجسـم الدهني للعـذراء بشكل حبيبات بروتينية، ومن ثم تتحطم لتّزود الجسم بالأحماض الأمينية الضرورية للعمليات الاستقلابية اللازمة لإنهاء تطور الحشرة الكاملة، ومن ثم التكاثر، وبسبب الأهمية الكبيرة لهذه البروتينات لتطور الحشرات فقد ركزت عليها الكثير من الدراسات، وبينت هذه الدراسات أن من أهم البروتينات الموجودة داخل الجسم الدهني هي تلك الموجودة عند

الحشرة الكاملة الأنثى وتدعى البروتينات الأنثوية أو Vitellogenin (Vg)، وهي بروتينات خاصة بالأنثى تصنع كبروتين واحد أو أكثر، وهي ذات أهمية كبيرة حيث تؤلف هذه البروتينات الجزء الأكبر من بروتين المح في البيضة، ويتم تصنيع هذه البروتينات في الجسم الدهني، ويلقي بها في الدم.

تم التعرف على البروتينات الأنثوية عند 25 نوعاً حشرياً من بينها دودة الحرير *Bombyx mori*، وفراشة الغجر *Lymantria dispar*، حشرة *Antheraea* pernyi، حشرة *Bombyx mandarina* وحشرة Saturnia japonica ... وغيرها من الحشرات.

لقد درس وجود هذه البروتينات في أجزاء مختلفة من الجسم مثل الجسم الدهني، الدم والبيضة.

يتم تصنيع هذه البروتينات على نحوٍ منظم يتوافق والمرحلة العمرية للحشرة، ويتم ذلك بمراقبة هرمونية مثل هرمون الحداثة Juvenile hormone أوالببتيدات العصبية والايكديزون.

بعد تصنيع هذه البروتينات تنتقل إلى البويضات التي تتطور تدريجياً وذلك عن طريق الدم الذي يمر من طريق الفراغ بين الخلايا الجرابية ليصل إلى سطح البويضة حيث يتم أخذ البروتينات من قبل خلايا البويضة عن طريق ظاهرة الابتلاع Pinocytose وتعمل على نقل الأيونات المعدنية، الليبيدات، التيروكسين، الفيتامينA ، المواد الكاروتينية والريبوفلافين إلى داخل البويضة، وتتحد الكريات الصغيرة الناتجة معاً لتؤلف كريات بروتينية كبيرة وتستقر في البويضة بشكل مح البيضة أو ما يدعى Vitellin (Vn) ، وتحاط بغشاء خاص

ويخزن هذا البروتين في مح البيضة ليتحطم بعدها في أثناء مرحلة تكوين الجنين ليكون مصدراً للعديد من المواد مثل الأحماض الأمينية، الليبيدات، الكربوهيدرات، السلفات، والفوسفات.

دراسة اختلاف البروتينات بين أطوار الحشرة:

ستتم دراسة البروتينات الموجودة في كل مرحلة من مراحل دورة حياة الحشرة، وإجراء مقارنة بين البروتينات الموجودة عند اليرقات، والعذراء في المرحلة الأولى والمرحلة المتقدمة لمعرفة الاختلافات الموجودة بين الأطوار، وكذلك عند الحشرات الكاملة خلال المدة التي تعيشها، ومقارنة البروتينات عند الأنثى بتلك الموجودة عند الذكر لمعرفة الاختلافات فيما بينها، وتحديد وجود البروتينات الأنثوية وعدم وجودها.

1-العينات: تجمع أطوار الحشرة المراد دراستها (يرقة- عذراء- حشرة كاملة) حيث تفصل الحشرات الكاملة عند انبثاقها، وذلك بحسب الجنس، وتوضع في علب بلاستيكية، وتترك بدون غذاء.

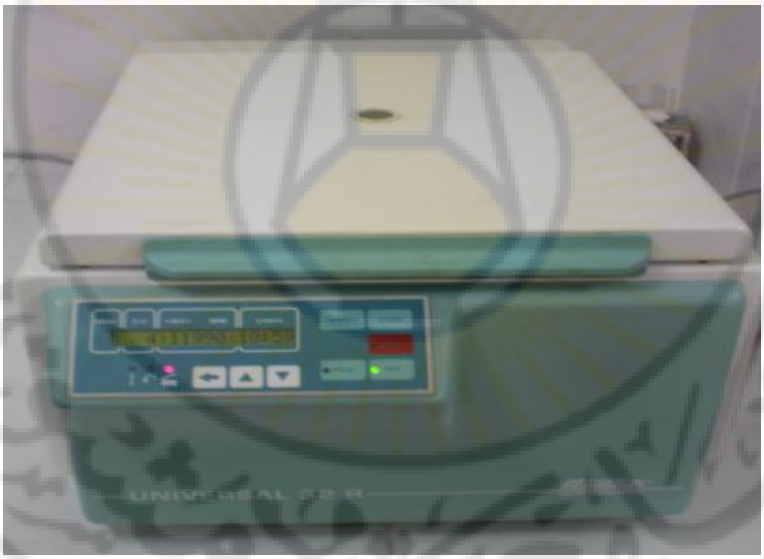
2- استخلاص البروتينات:

يتم استخلاص البروتينات المنحلة بالطريقة الآتية:

يتم طحن الأطوار الحشرية في محلول الاستخلاص المكون من:

SDS10%	40 مل
Glycerol 15%	20 مل
1M. Tris (PH=8.8)	8 مل
0.5 M .EDTA	1 مل
ماء مقطر	(حتى 100 مل)

باستخدام الهاون في جفنة بورسلان معقمة بالكحول وفق مايلي: تؤخذ يرقات من كل عمر يرقي، وعذارى في المرحلة الأولى والمتقدمة من كلا الجنسين إن أمكن التمييز بينهما وأيضاً حشرات من كلٍّ من الذكور والإناث من عمر يوم واحد وحتى سبعة أيام تقريباً وتطحن باستخدام 500 ميكرو ليتر من محلول الاستخلاص، بعدها يوضع الناتج في أنابيب Eppendorf بدرجة حرارة – 20 ° م لمدة 24 ساعة، ثم تثفل الأنابيب لمدة 15 دقيقة على درجة حرارة 4 ° م وبمعدل 12000 دورة / دقيقة الشكل (49)، تنقل المادة الطافية إلى أنابيب نظيفة وتضاف صبغة برومو فينول الزرقاء.



الشكل (49). المثفلة

3- **فصل نواتج الاستخلاص:**

يتم فصل نواتج استخلاص البروتينات بالرحلان الكهربائي العمودي بطريقة SDS page في هلامة متعدد الأكريلامايد 12.5% المكونة من:

هلامة الفصل PH=8.8 المكونة بدورها من:

Acrylamide 37%
AP 10%
1.5 M .TEMED
SDS10%
Tris base
ماء مقطر

وهلامة التركيز PH=6.8 والمكونة من:

Acrylamide37%
AP 10%
0.5M .TEMED
SDS10%
0.5 M. Tris base
ماء مقطر

توضع كمية 30 ميكروغرام من البروتينات في الآبار، ويستخدم محلول الرحلان الكهربائي المكون من:

SDS10%
0.125M Tris base
Glycine
ماء مقطر

ويكون جهد التيار الكهربائي المطبق 100v. الشكل (50).

بعدها يتم تلوين الهلامة لمدة 10 ساعات بمحلول التلوين المكون من:

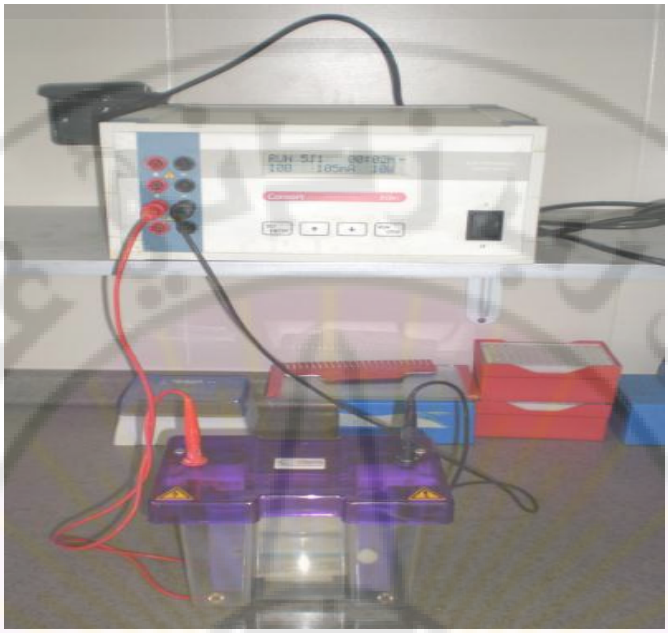
Coomassie Brilliant blue R250	0.1 غ
Methanol	80 مل
Glacial acetic acid	20 مل
ماء مقطر	100 مل

ومن ثم يتم إزالة التلوين بإجراء عدة حمامات بمحلول إزالة تلوين الهلامة المكون من:

Methanole	80 مل
Glacial acetic acid	20 مل
ماء مقطر	100 مل

وذلك حتى تظهر الحزم الممثلة للبروتينات الموجودة وبشكل واضح.

يتم تجفيف العينة بجهاز التجفيف، ثم تصويرها باستخدام الماسح الضوئي (الشكل 51).



الشكل (50) جهاز الرحلان الكهربائي

الشكل (51) جهاز الماسح الضوئي المستخدم في تصوير الهلامة

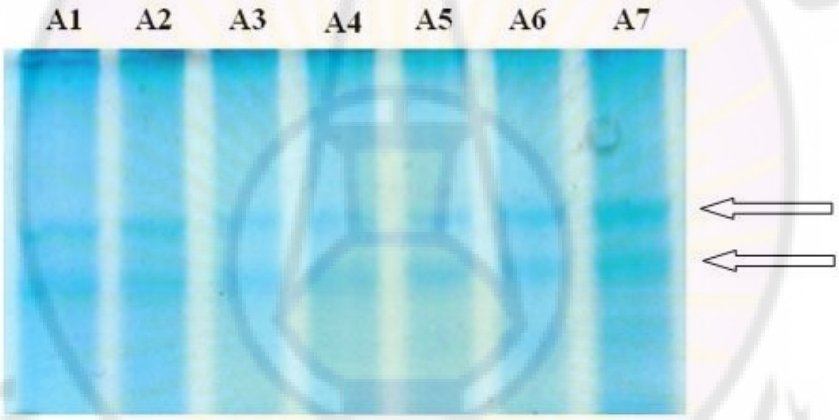
1- الأطوار الأنثوية:

يكون هناك العديد من البروتينات لدى اليرقة في العمر الأول، ويزداد تخزين البروتينات في الأعمار المتقدمة لليرقة حيث إنّ الخلايا الموجودة في الجسم الدهني تحتوي عند اليرقات الفتية عدداً قليلاً من المحتويات غير الخلوية، أما عند اليرقات المتقدمة فيزداد نمو هذه الخلايا وتُخزِّن المواد البروتينية على نحوٍ أكبر وقد لوحظ أن هذا المخزون الغذائي يتركز وتزداد كميته بوضوح عند دخول اليرقة في طور السكون ولذلك يتم تركيز البروتينات في هذا العمر أكثر من العمر اليرقي الأول، وبمقارنة المرحلة الأولى للعذراء مع العمر اليرقي الأخير لا نلاحظ وجود اختلافات بينهما وذلك لأن العذراء في هذا الطور لم تستهلك بعد أياً من هذه البروتينات، بينما نلاحظ نقص في البروتينات الموجودة عند العذراء في المرحلة المتقدمة، وهذا نتيجة استخدام العذراء للبروتينات خلال عملية بناء أنسجة الحشرة الكاملة الجديدة حيث إن كمية البروتينات الموجودة في دم بعض الحشرات تنقص وذلك خلال مرحلة العذراء (الشكل 52).

الشكل (52). البروتينات الموجودة عند اليرقات والعذارى لإناث دبور ثمار اللوز. L1- العمر اليرقي الأول، L2- العمر اليرقي الثاني، P1- المرحلة الأولى للعذراء، P2- المرحلة المتقدمة للعذراء

أما بالنسبة للحشرة الكاملة فيلاحظ وجود قليل للبروتينات، وذلك لأنها لا تتغذى في هذه المرحلة بالإضافة إلى استهلاك البروتينات التي كانت موجودة في بناء أنسجة الحشرة حيث إن البروتينات لا تُخزَّن بكميات كبيرة في هذا الطور، كما أن البروتينات التي عند اليرقات لا تلاحظ فيما بعد عند الحشرة الكاملة، ووجد عند إناث دبور ثمار اللوز أن هناك بروتيناً يستمر وجوده في الأنثى ابتداء من عمر يوم واحد ويستمر حتى عمر سبعة أيام، وهذا هو

البروتين الأنثوي الذي تستخدمه الأنثى في تشكيل المح في البويضات، ومن الملاحظ أن هذا البروتين لا يكون في أنسجة العذراء وقد كان هذا البروتين عند الإناث ولم يلاحظ وجوده عند الذكور، ويلاحظ وجود تحت وحدتين توجدان عند الإناث بعمر 1–7 أيام، وتمثلان البروتين الأنثوي حيث إنه من الممكن للبروتينات الأنثوية أن تتألف من تحت وحدتين Sub Units وهذا يمكن ملاحظته في الشكل (53).

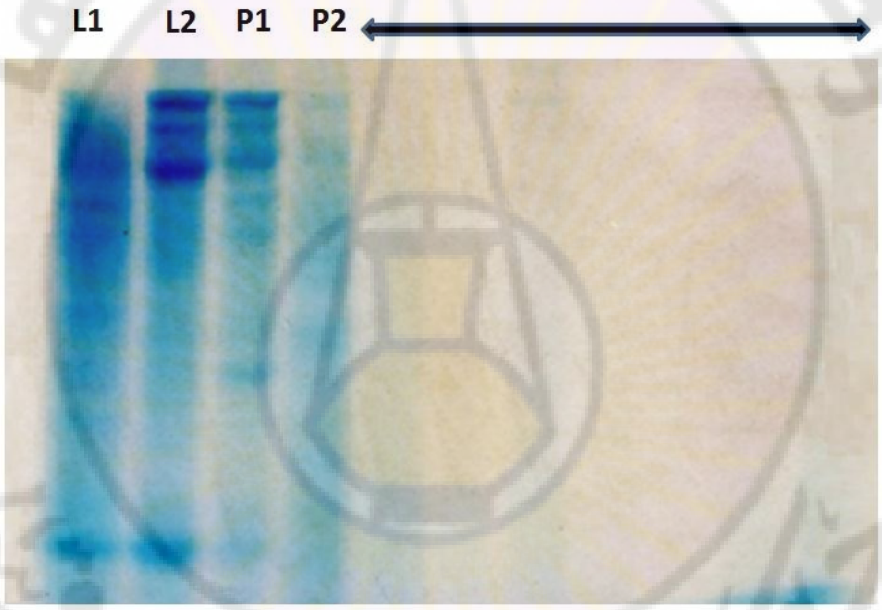


الشكل (53) البروتينات الموجودة عند الحشرات الكاملة لإناث دبور ثمار اللوز. A1-A7– الإناث بعمر يوم وحتى سبعة أيام

2– الأطوار الذكرية:

لا تكون البروتينات إلا بكميات قليلة في اليرقة بالعمر الأول، ويزداد تركيزها في العمر الثاني، ولكن رغم ذلك نلاحظ أن كميتها عند اليرقة الأنثى تكون أكبر من اليرقة الذكر بوضوح والسبب يعود إلى أن الأنثى تخزن البروتينات بكميات أكبر لاستخدامها في تشكيل البويضات. يلاحظ أن بروتينات

العذراء في المرحلة الأولى تكون مشابهة لبروتينات اليرقة في العمر الأخير وتختفي معظم بروتينات المرحلة المتقدمة للعذراء لاستهلاكها في بناء أنسجة الحشرة الكاملة، في حين لم يلاحظ أية بروتينات بالنسبة للحشرات الكاملة الشكل (54)، كما يتم استهلاك المواد الدهنية والسكرية في الجسم الدهني لدى الحشرات الكاملة.



الشكل (54). البروتينات الموجودة عند اليرقات والعذارى والحشرة الكاملة لذكور دبور ثمار اللوز. L1–العمر اليرقي الأول، L2– العمر اليرقي الثاني،P1– المرحلة الأولى للعذراء، P2– المرحلة المتقدمة للعذراء. يشير السهم إلى عدم وجود بروتينات في جزء الهلامة بالنسبة للحشرة الكاملة الذكر

تُسهم الهرمونات إسهاماً مهماً في محتوى الجسم الدهني والدم من البروتينات خلال أطوار الحشرة حيث يتدخل هرمون الانسلاخ Ecdysone

خلال طور اليرقة لتراكم المخزون البروتيني، حيث يعمل هذا الهرمون على تحفيز تراكم البروتينات داخل الجسم الدهني من خلال تأثيره على المخ، وهذا ما يفسر وجود البروتينات بكميات كبيرة في طور اليرقة، وقد وُجِد أن هرمون B-Ecdysone يحث على تصنيع البروتينات في الجسم الدهني ليرقات العمر الثالث لحشرة Calliphora، كما وجد أن الخلايا المعزولة من الجسم الدهني تأخذ الهرمون B-Ecdysone بسرعة كبيرة، وذلك خلال قمة تصنيعها لبروتيناتها، وهذا ما يفسر تركيز البروتينات في مرحلة اليرقة في العمر الأخير، وكذلك العذراء في المرحلة الأولى. أما في مرحلة الحشرة الكاملة فلا يكون هذا الهرمون لغياب الغدد الصدرية التي تفرزه، وما يقوم بتأثير أساسي في تطور البيوض هو الغدد الصم Corpora Alata، حيث تقوم بتنظيم عمليات الاستقلاب ومراقبتها في الجسم الدهني وبخاصة مراقبة تكون البروتينات الأنثوية لتشكيل المح، ووجدت هذه الظاهرة عند الكثير من الحشرات ومنها بق الرودينوس والصرصار.

طرق دراسة الاختلافات الوراثية بين الحشرات

نظراً لانتشار زراعة المحاصيل الزراعية في مناطق كثيرة من سورية، وترافق هذه الزراعة مع الإصابة بالأنواع الحشرية في جميع المناطق بالإضافة إلى إمكانية انتشار الإصابة بين المناطق بعدة طرق منها الانتقال بالرياح، وكذلك عند الزراعة العشوائية وخاصة بالبذور، رغم أن زراعة البذور المصابة أحياناً كثيرة لا تعطي نتيجة في الإكثار، لأن الجنين فيها يكون غير موجود بسبب تغذي الحشرة عليه في طور اليرقة أو الحشرة الكاملة، إلا أنه وفي كثير من الأحيان تزرع البذور عشوائياً، وبدون معرفة مسبقة بأعراض الإصابة، ويعتقد الكثيرون أن لون الثمار الداكن ناتج عن الجفاف الطبيعي للثمرة بعد النضج، وكأنها ظاهرة فيزيولوجية لا أكثر، ويجب الإشارة إلى أن يرقات بعض الحشرات تستطيع الاستمرار بهذا الطور في الثمار ولعدة سنوات، من ثم تعد مصدراً للإصابة، يضاف إلى ذلك إمكانية انتقال الثمار المصابة والثمار السليمة مما يؤدي إلى خروج الحشرات في مناطق غير تلك التي وضعت فيها الأمهات البيض، لذلك يعد إجراء توصيف جزيئي للحشرات في مناطق الانتشار من الأمور المهمة لمعرفة درجة القرابة الوراثية بينها.

إن استخدام تقنيات البيولوجية الجزيئية يقدم الفوائد الكثيرة من استخدام المعلمات الجزيئية Molecular Markers في دراسة وتحليل التنوع الوراثي خاصة أن المعلمات الجزيئية تكون ثابتة ومستقلة بيئياً، لذلك تبدو أكثر تفضيلاً من قبل الباحثين في دراسة النشوء، ولكشف الاختلافات الوراثية بين المجتمعات، وقد تم تطوير المعلمات الجزيئية للحمض الريبي النووي DNA

لتكون أدوات متاحة أمام الدراسات الوراثية للكائنات، لأنها تساعد في تحديد الاختلاف الجغرافي بين المجتمعات وتحديد النشوء، ورسم الخرائط الوراثية، كما تساعد في معرفة آليات العزل الوراثي.

أولاً – طرق الدراسة الجزيئية المعتمدة في معرفة الاختلافات الوراثية:

إن التطور الحالي في تقانات المعلمات الجزيئية للحمض الريبي النووي منقوص الأوكسجين DNA، وخاصة تلك المعتمدة على تقانة التفاعل التسلسلي البوليميرازي PCR (Polymerase chain reaction)، وتستخدم المعلمات الجزيئية لإجراء تضخيم DNA قد ازداد استخدامها في التحاليل الوراثية المتنوعة، ومنها تقنية تكراريات السلاسل البسيطة SSR (Simple sequence repeats)، وتعتمد هذه الطريقة على تضخيم تكرار لتتابع نكليوتيدي بسيط مكون من 1–6 أزواج قاعدية (Base pair) مع استخدام بادئات متخصصة محددة للتوابع الدقيقة للحمض DNA طولها 18–25 زوج قاعدي، ثم إجراء التضخيم بواسطة PCR، ثم الفصل بالرحلان الكهربائي، كذلك تقنية التضخيم العشوائي للحمض الريبي النووي منقوص الأوكسجين متعدد الأشكال RAPD (Random amplified polymorphic DNA) حيث تعتمد استخدام بادئة قصيرة تتكون من عشر نكليوتيدات (10 أزواج قاعدية) ترتبط بمواقع مكملة لها على أحد سلسلتي DNA المراد دراستها، ويبدأ تضخيم المناطق المحصورة بينها في المجين باستعمال PCR. هناك تقنية التعددية الشكلية القائمة على تضخيم لقطع DNA المهضومة بأنزيمات التقطيع AFLP (Amplified fragment length polymorphism)، وتتضمن هذه التقنية تقطيع DNA

بأنزيم التقطيع يليها ربط طرفي القطع لسلاسل محددة قصيرة، ومن ثم إجراء عملية التضخيم باستعمال PCR على مرحلتين: المرحلة الأولى قبل انتخابية، والثانية انتخابية لعدد من هذه القطع باستخدام بادئات انتخابية معروفة التركيب النكليوتيدي، تفصل بعدها الأجزاء المضخمة في هلامة الأكريلامايد، ويكشف عنها باستخدام الأشعة فوق البنفسجية أو نترات الفضة. لقد استخدمت هذه التقنيات كلها لدراسة الكائنات الحية بما فيها الحشرات.

ومن أهم التقنيات المطبقة، والمعتمدة على الـ PCR تقنية تكراريات السلاسل البسيطة الداخلية ISSR (Inter simple sequence repeats)، وتستخدم هذه التقنية بالترافق مع التقنيات الأخرى المعتمدة على تقانة PCR. استخدمت هذه التقنية من قبل الكثير من الباحثين، ويعود السبب في الاستخدام الواسع لهذه الطريقة إلى المزايا الخاصة بها، لأنها تتميز بأنها ذات كفاءة عالية مقارنة بالطرق الأخرى المعتمدة على PCR في الكشف وبدرجة كبيرة عن التعددية الشكلية Polymorphism، وتعد بادئاتها متاحة.

وتستخدم لتقدير التنوع الوراثي بين المجتمعات القريبة على نحوٍ كبير من بعضها البعض، ولا تتطلب معرفة مسبقة لمجين الكائن فالتكرارات البسيطة مثل النكليوتيدات الثنائية موجودة في مجينات كل حقيقيات النوى، وكذلك تعد من التقنيات السريعة وعالية المستوى من حيث الدقة في رسم المصورات الوراثية باستخدام كميات قليلة من قالب الحمض النووي الريبي منقوص الأوكسجين DNA وبدقة عالية، بالإضافة إلى استخدامها في دراسة التنوع الوراثي، بدرجة عالية من الثبات للقطع المضخمة. لقد توجه الاهتمام على نحوٍ كبير لتقنية

ISSR-PCR لأنها لا تحتاج إلى تكاليف عالية من أجل تضخيم قطعة الحمض النووي الريبي منقوص الأوكسجين DNA ونتائجها ذات تكرارية عالية، وتعطي مستويات مختلفة من الاختلافات الوراثية بين المجتمعات، ونتيجةً لهذه المزايا لمعلمات ISSR فقد استخدمت هذه التقنية من المعلمات لتحليل التنوع الوراثي عند الكثير من الكائنات مثل النباتات، والفقاريات، والفطريات، والعناكب، والحشرات التابعة لرتب مختلفة مثل حشرات Noctuids من رتبة حرشفية الأجنحة، ودودة الحرير، وقد أعطت بادئات ISSR 12 حزمة كانت جميعها متعددة شكلياً فكانت نسبة التعددية الشكلية 100% بين سلالتين مختلفتين من هذه الحشرة، كذلك تم تطبيقها لدراسة التنوع الوراثي عند الذباب Chionochloa والنطاطات، والعديد من الحشرات التابعة لرتبة غشائية الأجنحة مثل نحل العسل، والنحل الطنان، وطفيليات الجنس Gonatocerus .

تعتمد هذه التقنية على وجود سلاسل بسيطة متكررة Microsatellites (SSR) في الحمض النووي الريبي منقوص الأوكسجين بتتابع يتألف من زوج قاعدي واحد base pair إلى عدة أزواج قاعدية، وعادة تكون بطول 1–6 أزواج قاعدية مكررة في مسارات منتظمة، وتنقسم إلى تكرارات أحادية، ثنائية، ثلاثية، رباعية، خماسية وسداسية حيث يتم تضخيم المنطقة ما بين المايكروستالايت، والمجاورة للبادئات المستخدمة، ويُستخدم لذلك نوعان من البادئات تسمى الأولى منها anchored primers وهي بادئات تحوي بالإضافة إلى تكرارات بعض السلاسل البسيطة، على لاحقة واحدة من أحد الاتجاهين '3 أو '5، وتسمى الثانية nonanchored primers وهذه تحوي

فقط على تكرارات بعض السلاسل البسيطة دون وجود أي لاحقة بأي اتجاه من السلسلة. تفصل نواتج التضخيم بتطبيق الرحلان الكهربائي على هلامة الأغاروز فيتم الحصول على حزم يتم إظهارها باستخدام الأشعة فوق البنفسجية، بعدها يتم مقارنة أنماط الحزم المختلفة.

ثانياً- دراسة الاختلافات الوراثية باستخدام تقنية ISSR-PCR:

نظراً لكون ISSR-PCR الأكثر كفاءةً ودقةً بين طرق دراسة الاختلافات الوراثية فسيتم شرح مراحل تطبيق هذه التقنية لكشف الاختلافات الوراثية بين الحشرات الذكور والإناث؛ لأن هذه التقنية لا تحتاج إلى معرفة مسبقة بالمجين.

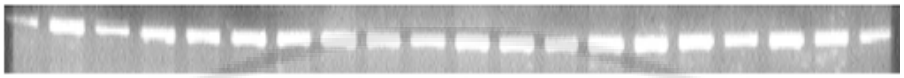
1- استخلاص الحمض النووي الريبي منقوص الأوكسجين DNA:

يتم استخلاص الحمض النووي الريبي منقوص الأوكسجين DNA للحشرات المأخوذة من المناطق، الذكور والإناث كلاً على حدا وذلك بطحن حشرات كاملة يختلف عددها حسب حجم الحشرة فكلما كان حجم الحشرة أكبر يقل عدد الحشرات التي يتم طحنها فمثلاً بالنسبة للمن يتم طحن حوالي 20 حشرة، أما بالنسبة للحفارات فيكفي حشرة واحدة من كل منطقة في كل عملية استخلاص، ويتم الطحن في أنابيب Eppendorf فيها رمل باستخدام 300 ميكرو ليتر من محلول الاستخلاص المكون من:

250 mM NACL
25 mM Na2-EDTA PH=8
200 mM Tris-Hcl PH=8
0.5% SDS
ماء مقطر

يضاف 150 ميكروليتر من محلول أسيتات الصوديوم 3M، وتوضع الأنابيب على درجة – 20°م لمدة 10 دقائق.

- يتم التثفيل بعدها على الدرجة 4°م وبمعدل 10000 دورة/دقيقة ولمدة 5 دقائق.
- بعدها تنقل المادة الطافية إلى أنابيب جديدة، ويضاف لها حجم مماثل من الايزوبوبانول، وتحفظ على الدرجة –20°م لمدة ساعة.
- توضع الأنابيب في المثفلة لمدة 10 دقائق و10000 دورة/دقيقة على الدرجة 4°م.
- ثم يوضع السائل الناتج في أنبوب، ويضاف الايتانول 70% ويتم التثفيل لمدة 10 دقائق على الدرجة 4°م، وبمعدل12000 دورة/دقيقة.
- تزال المادة الطافية بدقة لتجنب أخذ الراسب (DNA) وتحل المادة الوراثية (DNA) باستخدام محلول TE (Tris,EDTA,PH=8)، ويضاف 100 ميكروليتر من الماء، وتوضع الأنابيب على الدرجة 4°م للاستخدام.
- تقُدَّر كمية، ونوعية DNA المستخلصة بواسطة مقياس الطيف الضوئي Ultra Violet Spectrophotometer عند موجة 260، والموجة 280 نانومتر، حيث يجب أن تكون نقاوة (DNA) بين (1.8-2)، وتُختبر نوعية الحمض النووي على هلامة الأغاروز تركيز0.8 %، ويتم ضبط تركيز الحمض النووي في جميع العينات إلى (40) نانوغرام/ ميكروليتر (الشكل 55).



الشكل (55) هلامة الأغاروز بتركيز 0.8% المستخدمة لتحديد نوعية الحمض النووي الريبي منقوص الأوكسجين DNA

2- تضخيم الحمض النووي الريبي منقوص الأوكسجين DNA :

يتم تضخيم DNA الناتج عن عملية الاستخلاص لذكور وإناث المناطق باستخدام تقنية ISSR وباستخدام البادئات ويبين الجدول (3) رمز عدد من البادئات المستخدمة في هذه التقنية والتسلسل النكليوتيدي لها ودرجة حرارة الالتحام.

الجدول (3) الرمز والتسلسل النكليوتيدي ودرجة حرارة الالتحام لبعض بادئات ISSR-

PCR حيث K=G/T, V=G/C/A, R=G/A

رمز البادئة	التسلسل النكليوتيدي 5` ⇨ 3`	درجة حرارة الالتحام م°
1	AGAGAGAGAGAGAGAGT	**50**
2	GAGAGAGAGAGAGAGAC	**52**
3	CACACACACACACACACAA	**50**
4	CACACACACACACACAG	**52**
5	ACACACACACACACACT	**50**
6	GAGAGAGAGAGAGAGACG	**56**
7	TCTCTCTCTCTCTCTCGA	**54**
8	TCTCTCTCTCTCTCTCAG	**54**
9	ACACACACACACACGG	**56**
10	CTTCA CTTCA CTTCA	**42**
11	GGAGA GGAGA GGAGA	**48**
12	CATCATATACATTGTCAGGTGCTAC	**70**
13	GTCCCATATTCAACTGTGTTAAAGT	**68**
14	CCAGGTGTGTGTGTGTGT	**56**
15	GTGTGTGTGAGAGAGAGA	**50**
16	ACACACACACACACATATAT	**52**
17	KVRTGTGTGTGTGTG	**50**
18	CCTCTCTCTGTGTGTGTG	**56**

حيث توضع الأنابيب في جهاز التدوير الحراري Thermocycler بحيث يكون الحجم النهائي في أنبوب التضخيم 25 ميكروليتر تتضمن 12.5

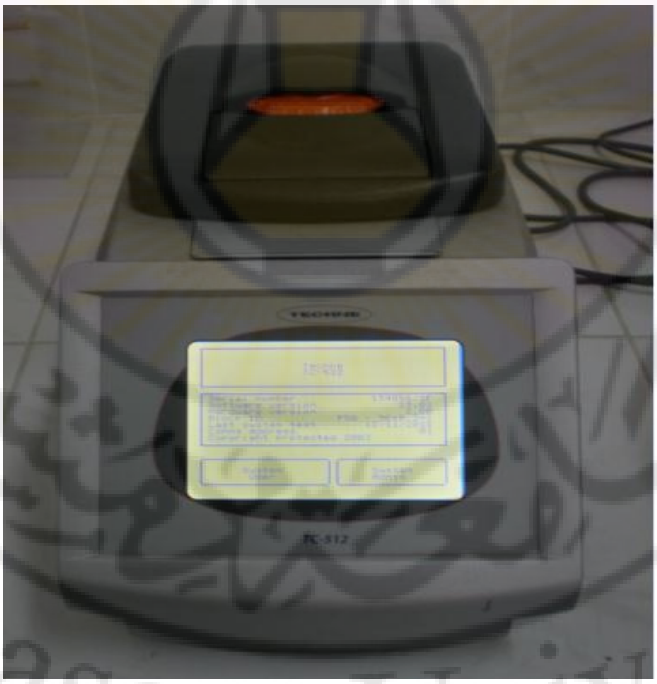
ميكروليتر Master Mix ، 8.5 ميكروليتر ماء مقطر معقم، 2 ميكروليتر مأخوذة من DNA بتركيز 40 نانوغرام/ ميكروليتر، و2 ميكروليتر من البادئة المستخدم (10µM)، ويتم إتباع البرنامج التالي لمراحل عملية التضخيم:

أ- مرحلة فصل سلسلتي ال DNA (Denaturation): على درجة حرارة 94° ولمدة 5 دقائق.

ب-مرحلة الالتحام (Annealing): حسب درجة حرارة التحام البادئة ولمدة 30 ثانية.

ت-مرحلة الاستطالة (Extension): على درجة حرارة 72° ولمدة 10 دقائق.

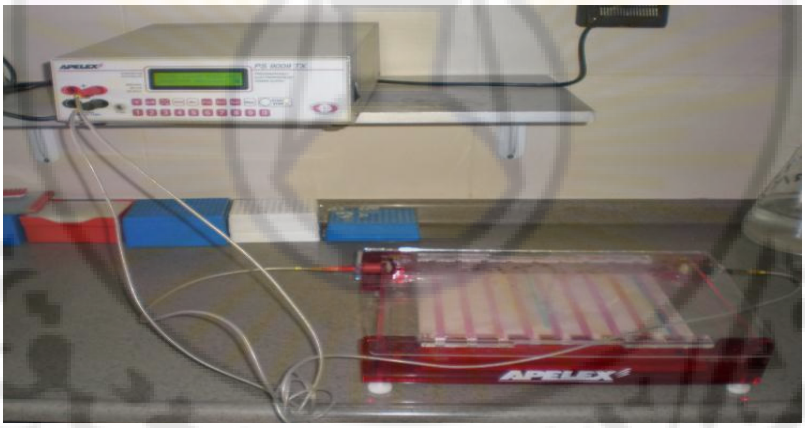
حيث يكون عدد الدورات 40 دورة. (الشكل 56).



الشكل (56) جهاز تقنية ISSR

3- فصل نواتج تضخيم DNA :

يتم فصل نواتج التضخيم على هلامة الآغاروز 2% المكونة من (Agarose 2g، TBE 100ml,1X) باستخدام جهاز الرحلان الكهربائي الشكل(57)، وتضاف صبغة Ethidium bromide 5 ميكروليتر بتركيز (50mg/ml)، ضمن محلول الرحلان الكهربائي وهو (TBE 1X) المكون من: (Tris-base, Boric acid,EDTA,H2O) مع إضافة معلم متدرج Marker وباستخدام جهاز التصوير بالأشعة فوق البنفسجية (UV) الشكل (58) يتم الكشف عن أحجام الحزم الشكل (59).



الشكل (57) جهاز الرحلان الكهربائي

Damascus University

الشكل (58) جهاز التصوير بالأشعة فوق البنفسجية (UV)

الشكل (59) هلامة الأغاروز بتركيز 2% لإحدى البادئات، M المعلم المتدرج، 1000 و500 تدل على الوزن الجزيئي بالكيلو دالتون لقطع ال DNA

4-التحليل الإحصائي:

تجمع نتائج عملية التضخيم في جداول اعتماداً على مقارنة وجود أو غياب حزم الحمض النووي الريبي منقوص الأوكسجين DNA بين العينات المدروسة حيث يعطى الرقم (1) عند وجود حزمة DNA والرقم (0) عند عدم وجود الحزم وذلك يتضمن الحزم الواضحة فقط، وتُنظم الجداول لكل بادئة على انفراد، وجداول تبين الحزم التي أعطت تعددية شكلية والنسبة المئوية للتعددية الشكلية بين العينات المدروسة لكل جنس على حدا الجدول (4)، ويتم رسم شجرة القرابة الوراثية Dendrogram اعتماداً على مصفوفة نسب عدم التوافق PDV بتطبيق متوسطات المجموعات الزوجية غير المزانة Un (wighted pair-group method with arthmetic averages) UPGMA وباستخدام برنامج Popgene32 الاحصائي.

الجدول (4). مثال عن عدد الحزم لكل بادئة والتعددية الشكلية

رمز البادئة	عدد الحزم الكلية	عدد الحزم التي أعطت تعددية شكلية	النسبة المئوية للتعددية الشكلية	عدد الحزم التي لم تعط تعددية شكلية
1	16	4	25	12
2	3	0	0	3
3	6	1	16.66	5
4	4	1	25	3
5	6	1	16.66	5
المجموع	35	7		28
المعدل	7	1.4	16.66	5.6

ثالثاً- تحديد درجة القرابة الوراثية للحشرات المدروسة:

تتم دراسة درجة القرابة الوراثية للحشرات بتطبيق مصفوفة النسب المئوية لعدم التوافق PDV (Percent Disagrement Value)، حيث يدل ارتفاع قيم هذه المصفوفة على وجود اختلاف وراثي وبازديادها يزداد التباين الوراثي بين العينات المدروسة، ويلاحظ من المثال المعطى في الجدول (5) أن قيم النسب المئوية لعدم التوافق بالنسبة لمعلمات ISSR بين إناث خمس مناطق قد تراوحت بين (0.1105) بين إناث المنطقتين (2 و 5) وهذا يدل على درجة قرابة وراثية عالية بينهما، و(0.2955) بين إناث المنطقتين (1 و 2) مما يدل على تباين وراثي بينهما، والمتوسط العام لقيم عدم التوافق PDV= 0.2.

نلاحظ أن أعلى درجة قرابة هي بين إناث المنطقتين (2 و 5) وتلتها درجة القرابة بين إناث المنطقتين (4 و 5) وهذا حيث PDV= 0.1236، ثم إناث المنطقتين (3 و 5) عند قيمة PDV= 0.1503 وهكذا.. .

الجدول (5) مثال عن مصفوفة المتوسط العام لنسب عدم التوافق (PDV) الناتجة عن دراسة متوسط التشابه الوراثي لإناث خمس مناطق

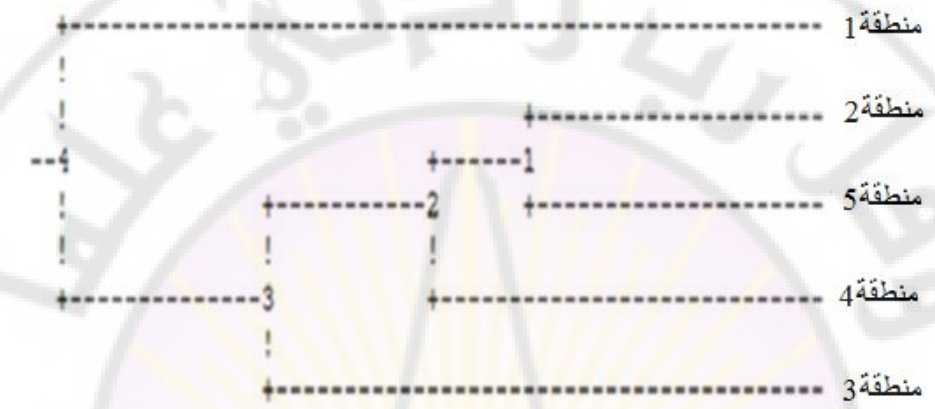
♀	منطقة1	منطقة2	منطقة3	منطقة4	منطقة5
منطقة1	0				
منطقة2	0.2955	0			
منطقة3	0.2800	0.2202	0		
منطقة4	0.2497	0.1639	0.2348	0	
منطقة5	0.2800	0.1105	0.1503	0.1236	0

1-1-2 - التحليل العنقودي للحشرات المدروسة:

يتم إجراء التحليل العنقودي للنتائج التي تم الحصول عليها، وذلك لتحديد درجة القرابة الوراثية، ولرسم شجرة القرابة الوراثية بين حشرات المناطق بناءً على أصلها أو نسبها أو توزعها الجغرافي، ويلاحظ من الشكل (60) أنّ الإناث قسمت إلى مجموعات عكست درجة القرابة الوراثية فيما بينها بناءً على بيانات المعلمات الجزيئية التي قامت بتمييز إناث المناطق المدروسة وذلك على المستوى الجزيئي وذلك وفق الجدول السابق.

قسمت الإناث في مجموعتين رئيستين Clusters ضمت المجموعة الأولى Cluster-1 إناث المنطقة (1) التي انفصلت عن إناث باقي المناطق، أما المجموعة الثانية Cluster-2 فقد ضمت إناث المناطق الأخرى، وقد انقسمت أيضاً إلى تحت مجموعتين Sub Cluster ضمت تحت المجموعة الأولى إناث

المنطقتين (2 و 5) بأعلى درجة قرابة وراثية، بالإضافة إلى إناث المنطقة (4)، أما تحت المجموعة الثانية فقد ضمت إناث المنطقة (3).



الشكل (60) شجرة القرابة بين إناث خمس مناطق حسب البيانات الجزيئية باستخدام برنامج POP GENE32 و بطريقة UPGMA

– تطبق نفس الخطوات السابقة بالنسبة لدراسة درجة القرابة الوراثية لذكور المناطق المدروسة.

دراسة الفرمونات الجنسية عند الحشرات Sex Pheromones

تعد الاتصالات الكيميائية أو الفرمونات الجنسية عبارة عن مركبات كيميائية عضوية تستخدم وسيلةً لانتقال المعلومات بين أفراد النوع الواحد من الحشرات حيث تنتج عادة من أحد الجنسين ليؤثر في الجنس الآخر، وتفرز عادة من قبل الإناث لجذب الذكور من أجل عملية التزاوج لذلك تعرف هذه المواد بأنها مواد جاذبة جنسية Sex attractive. تفرز الفرمونات من غدد متخصصة ذات إفراز خارجي Exocrine وبكميات ضئيلة جداً من رتبة (ميكروغرام، نانوغرام، بيكوغرام)، ويتم استقبالها بمستقبلات خاصة حتى ولو كانت بتراكيز منخفضة جداً وعلى مسافات بعيدة، وهناك بعض الحشرات التي تفرز الفرمونات الجنسية قليلة التطاير نسبياً ويتم استقبالها فقط على مسافات قصيرة من مكان تواجد الأنثى وهي منتشرة بكثرة عند حشرات غشائية الأجنحة، كذلك في كل من رتب حرشفية الأجنحة، غمدية الأجنحة، ثنائية الأجنحة ورتبة الصراصير.

تعد الفرمونات الجنسية غاية في الأهمية في عملية التزاوج عند الحشرات ومن مزايا الفرمونات الجنسية أنها:

- متخصصة بالنوع نفسه .
- فعالة بيولوجياً بتراكيز منخفضة .
- عديمة السمية للإنسان والحيوان والنبات .

وتؤدي الفرمونات الجنسية عند استعمالها في المصائد الفرمونية إلى:

1- المراقبة والإنذار الجماعي حيث تُمكن من تحديد موعد ظهور الآفة وانتشارها على مدار العام وتقدير عدد أجيالها .

2- تحديد الكثافة النسبية لكل جيل وإجراء المكافحة الكيميائية في الوقت المناسب.

3- مكافحة الحشرات باستعمال الفرمونات الجنسية مع الطعوم السامة حيث يتم جذب الحشرات إلى طعم سام بدلاً من السطح اللاصق للمصيدة الفرمونية.

4- مكافحة الحشرات عن طريق التشويش الجنسي وتعتمد هذه الطريقة على مبدأ التشويش على الاتصالات الكيميائية بين الذكور والإناث وذلك بنشر الفرمونات بكثافة مناسبة في الوسط المحيط يستحيل عندها على الذكور معرفة مكان الأنثى ومن ثم تلقيحها.

تفرز الحشرات الفرمونات الجنسية على شكل معقد لعدة مواد توجد بنسب مختلفة حسب الأنواع حيث إن عدد الروابط المضاعفة ووضعها في الفرمون الجنسي وطبيعة المجموعة الفعالة في هذا المعقد (كحول – ألدهيد – خلون) توفر -ولو جزئياً- الاختلافات الكيميائية للفرمونات، وبذلك يتم توفر التخصص في الفرمونات الجنسية والذي قد يكون أحد العوامل المهمة في تصنيف الأنواع.

وهناك نقاط أساسية في بنى الفرمونات وهي:

- موقع الرابطة المضاعفة ورقمها.
- توضع الرابطة المضاعفة إما قارب (E) وإما كرسي (Z).

- نوع الزمرة الوظيفية المرتبطة بالسلسلة الكربونية (كحولية، أستيرية، ألدهيدية، كيتونية، كربوكسيلية...الخ) ومكان توضعها.
- طول السلسلة الكربونية.

ومن الجدير بالذكر أن توضع الزمرة الوظيفية مهم للغاية من أجل تحديد كفاءة وتأثير الفرمون ويظهر الجدول (6) قائمة الزمر الوظيفية التي يمكن أن نجدها في بنى الفرمونات.

الجدول (6) قائمة الزمر الوظيفية التي يمكن أن نجدها في بنى الفرمونات

الزمرة الوظيفية	الصيغة	الاسم	اللاحقة
الكحول	-OH	هيدروكسي	– أول
الألدهيد	-CH=O	الفورميل	– آل
الأمين	-NH2	الأمينو	– أمين
الحمض الكربوكسيلي	-COOH	كربوكسي	– أويك
الإستر	-COOR	ألكيل أوكسو كربونيل	– أوات
الكيتون	>C=O	أوكسو	– أون

عقبات استخلاص الفرمونات الجنسية وتحديد هويتها:

رغم الفائدة الكبيرة من استخدام الفرمونات الجنسية في مكافحة الحشرات لكن هناك عدة صعوبات تواجه عملية استخلاصها وتعريف هذه الفرمونات وهي:

- تواجدها بكميات ضئيلة جداً.
- أغلبها مواد سريعة التطاير ويصعب الاحتفاظ بها.

- استخلاص مواد أخرى معها وأغلب ما تكون بتراكيز كبيرة تطغى على المادة الأساسية.
- التمايز الوراثي بين الطرز الجغرافية للحشرة والطرز الفرمونية التي تتبع هجرة العوامل الوراثي.

طرق استخلاص الفرمونات الجنسية:

- الاستخلاص المباشر بالمذيب العضوي مثل الهكسان، كلور الميتيلين، الايتر.
- الطريقة المباشرة: وتتم بنقع الغدد الفرمونية بالمذيب العضوي ثم الترشيح وأخذ الراشح من أجل دراسته بطرق التحليل المختلفة.
- طريقة SPME (Solid-Phase Micro Extraction): وذلك باحتكاك غشاء SPME باستخدام مادة ادمصاص Polydimythel siloxane (supelco) على جسم الحشرات، أو لجمع المواد المتطايرة في الهواء وتكون في جسم الحشرة.
- استخلاص الفرمونات باستخدام مواد الادمصاص مثل : Pporapak-Q, C18, Silica, Super-Q, Tenax.

تم التعرف لأول مرة على الفرمونات الجنسية عند حشرة Bombix mori، وبعدها تم التعرف على الفرمونات الجنسية عند الكثير من الحشرات مثل فراشات Arctiid، وحشرة Argyrotaenia pulchellana، وحشرة Peribatodes rhomboidaria.

وقد تطورت بعدها الدراسات حول الاتصالات الكيميائية بين الحشرات بسرعة كبيرة ولأنواع حشرية تتبع رتب مختلفة مثل سوس القلف، ودودة اللوز

الأمريكية Heliothes armigera ، وحشرة دبور ثمار اللوز Eurytoma amygdali وغيرها الكثير من الحشرات.

استخلاص الفرمونات الجنسية وتحليلها:

نظراً للأهمية الكبيرة للفرمونات الجنسية فقد تم دراستها على نحوٍ كبير والعمل على تحديد تركيبها بما يفيد في استخدام المصنع القياسي لهذه الفرمونات للاستفادة منه في مكافحة الحشرات.

1- استخلاص الفرمونات الجنسية:

يتم الاستخلاص في الأغلب من الجسم كله للإناث، أو الذكور عند بعض الحشرات، وتتم عملية الاستخلاص للحشرات، وهي بعمر يوم واحد أو أكثر حيث تستخدم لذلك أنابيب زجاجية توضع فيها الحشرات الحية، ويختلف عدد هذه الحشرات وحجم المذيب العضوي المستخدم في الاستخلاص حسب حجم الحشرة فمثلاً بالنسبة لدبور ثمار اللوز يتم الاستخلاص من 10 حشرات في كل عملية استخلاص ويضاف لها 1 مل من الهكسان النظامي ، أما بالنسبة لحشرة حفار الساق ذو القرون الطويلة Cerambyx dux فيتم استخدام حشرة واحدة لعملية الاستخلاص ويضاف لها 3 مل من الهكسان النظامي.

تترك الأنابيب بدون تحريك ساعتين، بعدها يستخدم syring لأخذ الهكسان المستخدم للاستخلاص، وينقل إلى أنبوب زجاجي آخر، بعدها توضع الأنابيب المتحصل عليها على درجة حرارة – 20°م.

2-تحليل الفرمونات الجنسية باستخدام الكروماتوغرافيا الغازية – مطياف الكتلة GC-MS:

يتم تحليل الفرمونات الجنسية باستخدام جهاز الكروماتوغرافيا الغازية GC (Gas Chromatography) الموصول بجهاز مطياف الكتلة MS (Mass Spectrometry) لمعرفة المواد التي تتكون منها الفرمونات الجنسية (الشكل 61).

الشكل (61) جهاز الكروماتوغرافيا الغازية GC- MS

يجرى التحليل وفق المراحل الآتية:

1- حقن العينة Intrance :

يتم حقن العينة بواسطة syring آلي داخل عمود الكروماتوغرافيا (Column)، حيث يستخدم عدة أنواع من الأعمدة بأطوال مختلفة ومنها على سبيل المثال عمود (TR-5MS) بطول 30م، سماكة الفيلم 0.25 ميكرون، والقطر الداخلي 0.25 ملم، وهذا العمود موجود ضمن الفرن (Oven)، ويتم

استخدام الهيليوم غازاً حاملاً بمعدل تدفق 1 مل/ دقيقة، كما يجب برمجة درجة حرارة الفرن على الشكل التالي: 50° م لمدة دقيقتين بعدها ترتفع إلى 250° م بمعدل 5 درجات / دقيقة وتبقى على هذه الدرجة لمدة دقيقة واحدة، ثم ترتفع وبمعدل درجتين / دقيقة حتى تصل إلى 280 ° م وتبقى على هذه الدرجة لمدة 50 دقيقة، ويتم حقن العينة على الدرجة 250° م وبمدة 90 ثانية وبحجم 1 ميكروليتر. إن تسخين العينة يسهل تبخيرها وتحويلها إلى الطور الغازي، ويسمح للعينة بالانتقال بالغاز الحامل، وكذلك فصلها قبل دخولها إلى مطياف الكتلة.

2- التأيين Ionization:

وتعتمد التقنية المستخدمة في جهاز الكروماتوغرافيا الغازية على التأثير الأيوني للالكترون EI (Electron Impact Ionization) مع طاقة للالكترون تعادل 70ev وتيار كهربائي بشدة 200 ميللي أمبير. في هذه العملية ونتيجة قذف الالكترونات باتجاه الجزيئة المتعادلة كهربائياً يتم تحويلها إلى شظايا مشحونة ايجابياً (أيونات) نتيجة إزالة الكترونات منها، وكل شظية ناتجة لها كتلة معينة m وشحنة معينة z وتمثل كل شظية بنسبة كتلتها إلى شحنتها mlz.

3- تحليل الكتلة Mass Analysis:

في هذه المرحلة تدخل الشظايا إلى جزء آخر من مطياف الكتلة (Mass Analyzer) وهو عبارة عن مجموعة رباعية الأقطاب تدعى Quadrupole تؤلف حقلاً كهربائياً ومغناطيسياً وتسمح للشظايا بالمرور فيها لتتحول mlz من

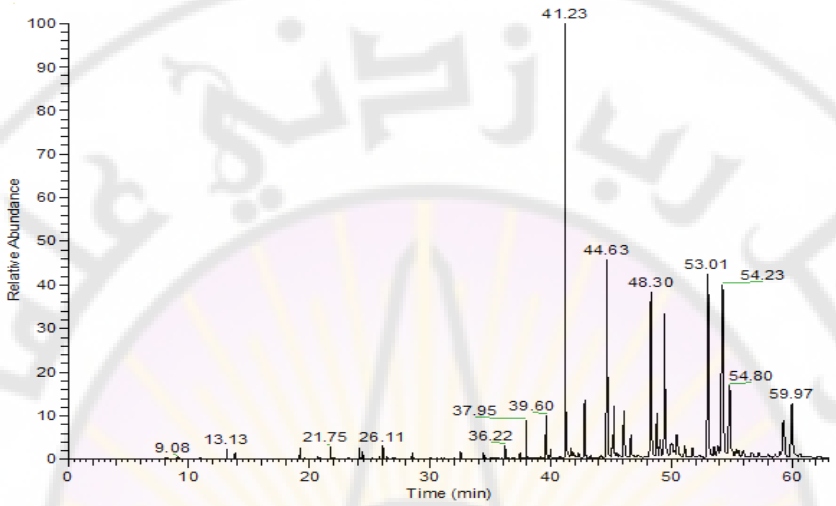
قيمة منخفضة إلى قيمة مرتفعة، بعدها يتم جمع الأيونات وتحويلها عبر شق ضيق إلى الكاشف، وهذا يحدث عدة مرات في الثانية وكل دورة تدعى Scan ويقوم الحاسب بعمل رسم بياني لكل مسح حيث يمثل المحور الأفقي قيمة mlz، أما المحور العمودي فيمثل وفرة كل شظية تم التعرف عليها ويسمى هذا الرسم Mass spectrum.

4- الكاشف Detector:

يتألف من الكترود كهربائي عالي الطاقة، تنجذب الأيونات الموجبة التي خرجت من Quadrupole إليه مما يؤدي إلى قذف الكترونات تختلف كثافتها باختلاف تركيز الأيون، وهذه الالكترونات تولد تياراً يؤلف إشارةً يسجلها الحاسب، فالأيون الذي يكون تركيزه أكبر سيؤدي إلى توليد الالكترونات الأكثر سيعطي إشارة أكبر.

5- تحليل البيانات Data analyzation:

يقوم الحاسب بعمل رسم بياني للإشارات الناتجة، وهذا الرسم يدعى Chromatogram، وكل قمة في الرسم البياني تؤلف مركباً، ويكون المحور الأفقي ممثلاً للزمن منذ حقن العينة Time Zero إلى نهاية تحليل المركب ويدعى هذا الزمن زمن الاحتفاظ Retention Time (RT)، وهو الزمن الذي تتفاعل عنده المركبات الموجودة في العينة مع الطور الثابت في العمود، أما المحور العمودي فيمثل شدة الإشارة أو تركيز الأيون، وهي مجموع الشدات التي نتجت عن عمليات المسح الكلي، ويسمى المجموع كروماتوغرام الأيون الكلي Total Ion Chromatogram (TIC) (الشكل 62).



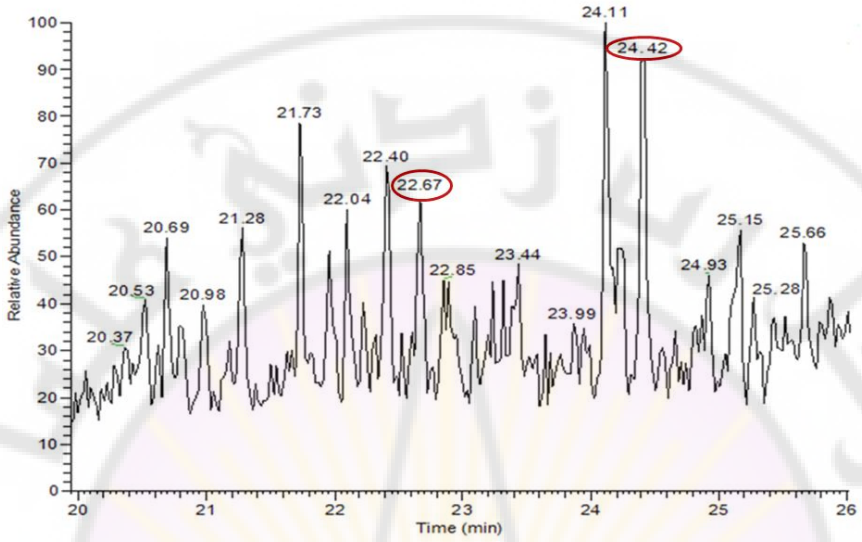
الشكل (62) طيف الكتلة Chromatogram خلال الزمن الكلي للتحليل (60 دقيقة)

يستخدم برنامج Software في تحليل العينات وهو X- Calibur. يتم تعريف كل مركب بالاعتماد على نموذج التشظي وقيم طول السلسلة المرادفة ECL (equivalent chain length)، التي أعطت طول السلسلة المماثلة لها في المواد التي تم تحليلها، حيث تقارن النتائج بنتائج تحليل مواد قياسية باستخدام GC-MS وبنفس الطريقة ونفس العمود وفهرس الزمن والطيف، فعلى سبيل المثال هناك العديد من المواد التي تلاحظ في أثناء عملية التحليل ومنها الألكانات والألكينات، والألكانات هي هيدروكربونات مشبعة تتألف من ذرات كربون مرتبطة بذرات هيدروجين صيغتها العامة (CnH_2n+2)، أما الألكينات فهي هيدروكربونات غير مشبعة وصيغتها العامة (CnH_2n-2) ويمثل الجدول (7) بعض الأكانات والألكينات وطول السلسلة الكربونية المرادفة.

الجدول (7) مثال عن بعض الأكانات والألكينات وطول السلسلة الكربونية المرادفة.

ECL	المركب
	الألكانات alkanes
19	Nonadecane
21	n-Heneicosane
22	n- Docosane
23	n-Tricosane
23.69	3-Methyl tricosane
24	n-Tetracosane
25	Pentacosane
25.28	11-Methyl pentacosane
25.73	3-Methyl pentacosane
27.38	11-13-Methyl heptacosane
	الألكينات alkenes
22.87	5-Tricosene
24	n-Tetracosene
24. 87	5-Pentacosene
24.90	1-Pentacosene
30.68	9-Hentriacontene

ويلاحظ في أثناء تحليل الفرمونات انفصال معظم المواد خلال زمن معين يعادل تقريباً نصف الزمن الكلي، لذلك يجب التركيز على المواد التي انفصلت خلال هذه المدة ولوحظ وجودها على نحوٍ متكرر عند تحليل جميع العينات المدروسة (الشكل 63).



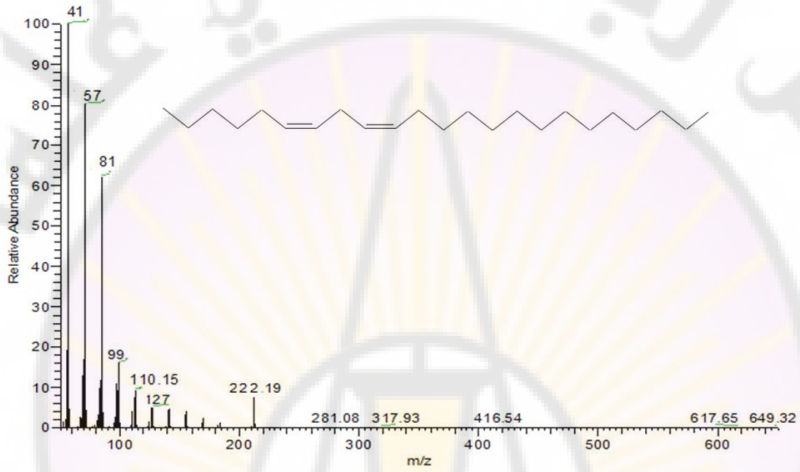
الشكل (63) طيف الكتلة Chromatogram خلال (20–26) دقيقة. يمثل الرقمين المشار لهما انفصال مادتين في زمنين مختلفين هما في جميع العينات

ومن خلال الكشف عن طيف الكتلة Mass Spectrum للمادتين اللتين انفصلتا في الزمن (22.67 و 24.42) دقيقة، وكان طول السلسلة المرادفة لهما (22.62 و 24.63) على التوالي، يتبين أنهما عبارة عن هيدروكربونين غير مشبعين من مجموعة دي إن (dien) حيث تشير(en) في التسمية إلى الرابطة المضاعفة، أما (di) فتشير إلى اثنين ومن ثم يكون المركب من هذه المجموعة ذا رابطتين مضاعفتين، حيث أن موقعي هاتين الرابطتين يكون عند الكربونين 6 و9 وتتوضع هذه الروابط المضاعفة (=CH2) بوضع الكرسي (Z)، ويتألف المركب 6-9-Tricosadiene من (23) ذرة كربون، أما المركب 6-9-Pentacosadiene فيتألف من (25) ذرة كربون ومن ثم يمكن كتابة هذين الهيدروكربونين كما يلي:

(Z,Z)-6,9 tricosadiene [(Z,Z)-6,9-C23:2] -1

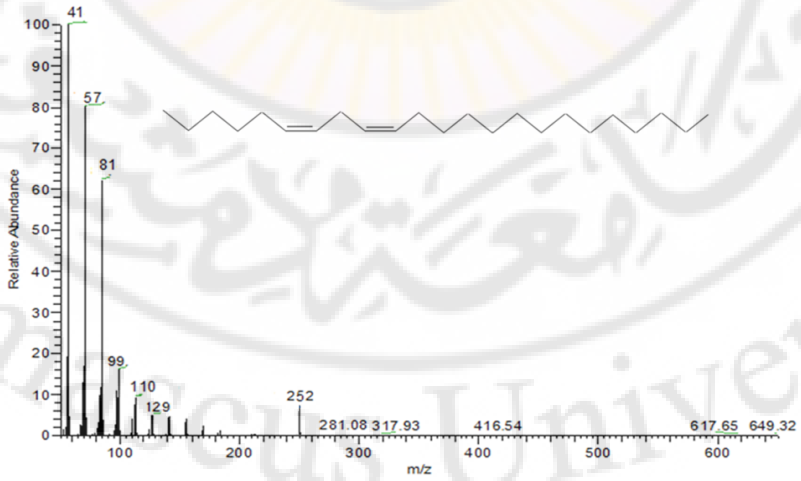
(Z,Z)-6,9 pentatcosadiene [(Z,Z)-6,9-C25:2] - 2

ويمثل الشكل (64) طيف الكتلة mass spectrum للمركب [(Z,Z)-6,9-C23:2]



الشكل (64). طيف الكتلة mass spectrum للمركب [(Z,Z)-6,9-C23:2]

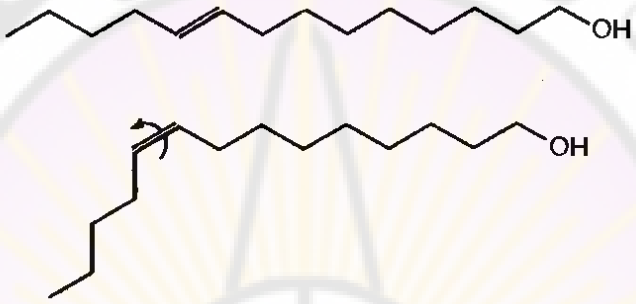
كما يمثل الشكل (65) طيف الكتلة mass spectrum للمركب [(Z,Z)-6,9-C25:2].



الشكل (65) طيف الكتلة mass spectrum للمركب [(Z,Z)-6,9-C25:2]

وسنذكر بعض الأمثلة عن الفرمونات الجاذبة للحشرات:

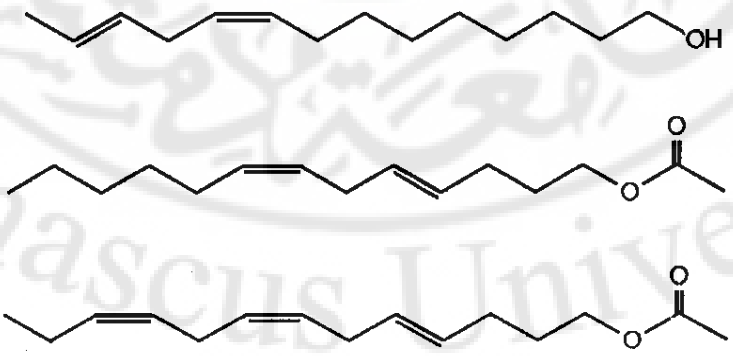
المركب (E)-9-tetradecan-1-ol فرمون جاذب لـــ Epiplema plagifera والمركب (Z)-9-tetradecan-1-ol فرمون جاذب لحشرة فراشة أقراص عباد الشمس *H. electellum* sun flower moth, .



يدعى المكون الأصغر لفرمون حشرة *H. electellum*.:

(Z,E)-9,12-tetradecadien-1- ol Volatile effluvium.

هناك مركبين مكونين كمزيج لفرمون حشرة فراشة درنات البطاطا potato tuberworm, *phthorimaea operculella* لهما الصيغة (E,Z)-4,7-tridecadien-1-ol acetate و (E,Z,Z)-4,7,10-tridecatrien-1-ol acetate, .



وقل رب زدني علما
جامعة دمشق
Damascus University

المصطلحات العلمية Scientific terms

-A-	
Abdomen	البطن
Abdominal segments	حلقات بطنية
Absorption of water	امتصاص الماء
Accessory Pulsatile organs	القلوب المساعدة (الأعضاء النابضة المساعدة)
Accessory sclerites	الصفائح المساعدة
Acetylcholine	الأستيل كولين
Acetylcholine esterase	أنزيم استيل كولين إستيراز
Acone	وحدات بصرية عديمة المخروط
Acron	زوائد فموية
Action potential	جهد العمل
Adepokinetic horomone	هرمون الأديبوكينيتيك
Adipocytes	الخلايا الدهنية
Adipohemocytes	خلايا الدم الدهنية
Aeropyles	المنافذ الهوائية
Aggregation pheromones	فرمونات التجميع
Alarm pheromones	فرمونات الإنذار
Alary mucsles	العضلات المروحية
Alimentary Canal	الأنبوب الهضمي
Allantoicase	أنزيم الانتوئيكاز
Allantoinase	أنزيم الالنتوئياز
Allatostatin	ألاتوستاسين
Allatotropin	ألاتوتروبين
Alternation of generations	ظاهرة تعاقب الأجيال

Ametabolous insects	الحشرات عديمة التطور
Amino Acids	الأحماض الأمينية
Amnion	السلى أو الأمينوز
Amniotic cavity	التجويف الأمينوزي أو السلوي
Amphipneustic insects	حشرات طرفية الثغور التنفسية
Amphitoky	حالة الإنتاج المختلط (ذكور وإناث)
Amylase	أنزيم الأميلاز
Anal papillae	الحلمات الشرجية
Anatomical adaptation	تأقلم تشريحي
Anatrepsis	وضعية الانقلاب
Andotrophic viviparity	الولادة مع التغذية الغدية
Androconia	المشبقات
Antennal lobe	مركز قرون الاستشعار
Antidiuretic Hormone	الهرمون المثبط لإدرار البول
Aorta	الأذينة (أورطة)
Aphrodisiac pheromone	الفرمونات المهيجة
Apneusticinsects	حشرات مغلقة الثغور التنفسية
Apolysis	فصل الكيوتيكل عن البشرة
Appendages	زوائد الجسم
Apposition	عيون ذات رؤية منفصلة
Apterygota	الحشرات الأولية أو غير المجنحة
Arginine	الأرجنين
Arrhenotoky	حالة إنتاج ذكور فقط
Arthropodine	الأرثروبودين
Asynchronous muscles	العضلات غير المتواقتة
Atrium	دهليز

Axillary cord	حبل إبطي
Axon	المحور العصبي
-B-	
Balance phase	طور التوازن
Brain hormone	هرمون المخ
Basal lamina	الصفيحة القاعدية
Basiconic pegs	الشعيرات الحسية القصيرة
Bilateral	تنظيم ثنائي الجانب
Bipolar	الخلايا العصبية ثنائية القطب
Bivoltine	ثنائي الجيل
Blastokinesis	حركات الجنين
Brain	المخ
Bursa Copulatrix	القابلة المنوية
Bursicon	هرمون البورسيكون
Bursicon hormone	هرمون البورسيكون
-C-	
Calyx	كأس
Campaniform sensilla	الأعضاء الحسية الجرسية
Carbohydrates	السكريات
Cardioblasts	الخلايا القلبية المولدة
Cavity	تجويف خلوي
Cecum	الزوائد الأعورية
Cellulose	أنزيم السيللولاز
Cement	الطبقة السمنتية
Central complex	الجسم المركزي
Cervical ampullae	أمبولة عنقودية
Chemoreceptor	المستقبلات الكيميائية

Chitenase	أنزيم الكيتيناز
Chitobiase	أنزيم كيتوبياز
Choline acetylase	أنزيم كولين استيلاز
Chordotonal organs	الأعضاء الحسية الوترية
Chorion	غلاف الكوريون(قشرة البيضة الخارجية)
Chorionogenesis	تكوين قشرة البيضة
Ciliary region	المنطقة الهدبية
Circular muscles	العضلات الدائرية
Cleavage and the Blasroderm	الانقسام وتشكل البلاستودرم
Close-packed muscles	العضلات ذات الليفات الميكرونية
Coated vesicles	حويصلات جرابية
Cocoon	الشرنقة
Coeloconic sensilla	الأعضاء الحسية الغائرة
Coelomic cavities	التجاويف الحويصلية
Collagenase	أنزيم الكولاجيناز
Colleterial glands	غدد إفراز المواد الرغوية المحيطة بالبيض
Commissure	جسر رابط
Contact chemoreceptors	مستقبلات الملامسة (أعضاء الذوق)
Contraction	التقلص
Copulation	امتطاء الذكر للأنثى
Corneal lens	القرنية (العدسة الخارجية)
Corpus pedunculatum	الأجسام ذات الساق المعلاقية
Costal margins	الحافة الأمامية للجناح
Courtship	المغازلة
Coxa	الحرقفة

Critical period	الفترة الحرجة
Crop	الحوصلة
Crustacean cardioactive peptide CCAP	ببتيد كريستاسين المنشط للقلب
Cryptonephridial arrangement	أنابيب مالبيكي من النوع المستتر
Crystalline cone	المخروط البلوري
Cuticular structures	أعضاء حسية ميكانيكية من ضمن طبقة الكيوتيكل
Cuticule	طبقة الكيوتيكل
Cuticulin	الكيوتيكلين أو الأبيكوتيكل الخارجي
Cystocytes	خلايا التجلط
Cytoplasm	السيتوبلازما
-D-	
Day length	طول النهار
Definitive veins	عروق الجناح النهائية
Degree of determination	درجة التمايز
Dendrite	التفرعات العصبية الجانبية
Deoxygenated water	ماء مسحوب الأوكسجين
Depolarization	إزالة قطبية المحور العصبي
Determination of the body axes	تحديد محاور الجسم
Deutocerebrum	المخ الثاني
Development of adult features	تطور مظاهر الحشرة الكاملة
Diapause hormone	هرمون السكون
Diastole	الانبساط والانفراج
Differentiation center	منطقة تمايز مركزية
DihydroxyphenylalnineDOPA	دهيدروكسيفينيل الانين
Dilator muscles	العضلات الموسعة للبلعوم

Diphenoloxydase	ديفينول اوكسيداز
Distal	الجزء البعيد
Dityrosine	الديتيروزين
Diuretic hormone	هرمون البولة (الهرمونات المدرة للبول)
Dopamine	دوبامين
Dorsal muscles	العضلات الظهرية
Dorsal closure	الانغلاق الظهري
Dorsal diaphragm	الحجاب الحاجز الظهري
Dorsal ocelli	العيون البسيطة الظهرية
Dorsal vessel	الوعاء الظهري
Dorsol Ventral axis	المحاور البطنية الظهرية
-E-	
Ecdysial membrane	غشاء انسلاخي
Ecdysis	التخلص من الكيوتيكل القديم
Ecdysis triggering hormoneETH	الهرمون المنبه ل Ecdysis
Ecdysone	هرمون الانسلاخ
Eclosion	عملية انبثاق الحشرة
Eclosion behavior	سلوك الانبثاق
Eclosion hormone EH	هرمون الانبثاق
Ecotparasites	الطفيليات الخارجية
Ectodermal structures	التراكيب ذات الأصل الآدمي الخارجي
Ectoderme	ذات منشأ أدمي خارجي
Ectosymbiosis	التعايش الخارجي
Egg	البيضة
Egg bursters	مفجرات قشرة البيضة
Ejaculatory duct	القناة القاذفة
Elasticity	المرونة

Elastin	الإيلاستين
Embryology	التطور الجنيني
Embryonic development	التطور الجنيني
Encapsulation	عملية تكييس الأجسام الغريبة
Encapsulation	عملية تكييس الأجسام الغريبة من قبل خلايا الدم
Endocrine Glands	الغدد الصم
Endocuticule	طبقة الكيوتيكل الداخلية
Endodermal	ذات منشأ أدمي داخلي
Endomitosis	الانقسامات الخيطية الداخلية
Endoparasites	الطفيليات الداخلية
Endoplasmic reticulum	الشبكة السيتوبلاسمية المحببة
Endopolyploid	خلايا متعددة الأنوية
Endosymbiosis	التعايش الداخلي
Energid	الجسم المنشط
Entomophages	حشرات متغذية على حشرات آخرى
Environmental cues	الإشارات البيئية
Epicuticle	طبقة الكيوتيكل الخارجية
Epidermal cells	خلايا البشرة
Epidermal structures	الأعضاء ذات الأصل الأدمي الخارجي
Epidermis	البشرة
Epithelial plug	سدادة طلائية
Epitracheal glands	الغدد المبطنة للقصبات الهوائية
Esophagus	المري
Eucone	الوحدات البصرية حقيقية المخروط
Excitation	الإثارة

Excretory System	جهاز الإطراح
Exocone	الوحدات البصرية خارجية المخروط
Exocuticule	الكيوتيكل الخارجي
Exocytose	ظاهرة الاقتطاع
Exocytosis	التحوصل الخارجي
Expiration	الزفير
Extra-intestinal digestion	الهضم خارج جدار الجسم
Exuviae	الكيوتيكل المنسلخ
-F-	
Fast axon	محور عصبي سريع
Fat body	الجسم الدهني
Femur	الفخذ
Fertilization	الإخصاب
Fibrillar muscles	العضلات الليفية
Filaments	الليفات العضلية
Filter chamber	غرفة الترشيح
First larval stage	الطور اليرقي الأول
Flavone	الفلافون
Fluid plasma	البلاسما السائلة
Follicle cells	الخلايا الجرابية
Foregut	الأمعاء الأمامية
Formation of embryonic membranes	تشكيل الأغشية الجنينية
Formation of germ band	تشكيل الشريط الجنيني أو الجرثومي
Frontal connective	رابط جبهي
Frontal ganglion	عقدة عصبية جبهية
Froth	إفرازات رغوية

-G-	
Gastrulation	تشكيل المعيدة
Generator potential	الجهد المولد
Genital chamber	الحجرة التناسلية
Genitalia	الأعضاء التناسلية
Genome	المادة الوراثية
Germ band	الشريط الجنيني أو الجرثومي
Germ line genome	المادة الوراثية للشريط الجنيني
Germarium	المنطقة الجرثومية
Germinal vesicle	الحويصلة الجرثومية
Gland duct	قناة الإفراز
Glial Cells	الخلايا الغروية
Glycocalyx	طبقة مخاطية
Glycoprotein	غليكوبروتين
Glyoxylique Acide	حمض غليوكسيلسك
Goblet cell	الخلايا الكأسية
Golgi body	جهاز غولجي
Gonopore	الفتحة التناسلية
Granulocytes	خلايا الدم الحبيبية
Growth	النمو
Growth of the tissues	نمو الأنسجة
-H-	
Hatching	الفقس
Hatching lines	خطوط الفقس
Hatching spines	أشواك الفقس
Hatching stimuli	محرضات الفقس
Heart	القلب

Hematophages	حشرات تتغذى على الدم
Hemimetabolous insects	الحشرات ناقصة التطور
Hemipneustic insects	حشرات ناقصة الثغور التنفسية
Hemocoel	التجويف العام للجسم
Hemocoelous viviparity	الولادة ضمن التجويف الدموي
Hemocytes	خلايا الدم
Hemolymph	الدم
Hemopoietic organ	أعضاء متخصصة لإنتاج خلايا الدم
Hermaphrodtes	حالة التخنث
Hind femur	فخذ الرجل الخلفية
Hindgut	الأمعاء الخلفية
Histoblasts	خلايا الهيستوبلاست
Holometabolous insects	حشرات كاملة التطور
Holopneustic insects	حشرات كاملة الثغور التنفسية
Holoptic	الرؤية الشاملة
Hydrolysis	عملية الحلمأة
Hydropyles	المنافذ المائية
Hyperglycemic hormone	هرمون الهيبرغليسيميك
Hypocerebral ganglion	العقدة العصبية تحت الدماغية
-I-	
Ileum	الجزء الأمامي من الأمعاء الخلفية
Imaginal discs	أقراص البلوغ
Imaginal discs or buds	أقراص أو براعم البلوغ
Incurrent ostia	صمامات القلب الجانبية
Inflation	انتفاخ الجناح
Inhibitory axon	محور عصبي مثبط
Inner epicuticle	الإبيكيوتيكل الداخلي

Insemination	التسافد أو التزواج
Insertion	الارتكاز
Inspiration	عملية التنفس (الشهيق)
Integument	جدار الجسم
Inter neurons	الخلايا العصبية الواصلة
Interganglionic connective	الأعصاب الواصلة ما بين العقد العصبية
Intermediary metabolism	مراحل الاستقلاب الوسيطة
Invagination	انغماد
-J-	
Johnston's organs	عضو جونسون
Joint membrane	غشاء تمفصل
Juvenile hormones	هرمونات الفتوة (الحداثة)
-K-	
Katatrepsis	وضعية الاعتدال عند الجنين
-L-	
Labial glands	الغدد الشفوية
Labium	الشفة السفلى
Lacuna	ثغرات
Lamina ganglionaris	الصفيحة العقدية
Larval development	التطور اليرقي
Lateral muscles	العضلات الجانبية
lateral lymph spaces	فراغات خلفية
L-Glutamate	الوسيط الكيميائي في منطقة التشابك العصبي – العضلي
Ligand	جسور وصل
Lipids	الليبيدات

Lobula	النسيج المخي الداخلي
Longitudinal muscles	عضلات طولية
Lysosmes	الجسيمات الحالة الأولية
-M-	
Malpighain tubule	أنابيب مالبيكي
Mandibles	الفكوك العلوية
Marking pheromones	فرمونات التعليم
Maxilla	الفكوك السفلية
Mechanisms of hatching	آليات الفقس
Mechanoreceptor	الأعضاء الحسية الميكانيكية
Median oviduct	قناة المبيض المشتركة
Medula	النسيج المخي الخارجي
Mesenteron	الأمعاء الوسطى
Metamorphosis	التحول النسيجي
Metaphase	الطور الانتقالي
Metapneustic insects	حشرات خلفية الثغور التنفسية
Microfibres	الليفات الميكرونية
Micropyle	فتحة النقير
Microvilli	زغيبات قمية
Midgut	الأمعاء الوسطى
Minor yolk proteins	بروتينات المح الثانوية
Mitochondria	الجسيمات الكوندرية
Mitosis	الانقسام الخيطي
Molting	الانسلاخ
Monoamine Oxydase	الأوكسيداز وحيد الأمونيا
Monophagous	حشرات وحيدة العائل
Monopolar	الخلايا العصبية وحيدة القطب

Morphogen	مورثات شكلية
Motor neurons	الخلايا العصبية المحركة
Motor endings	نهايات عصبية محركة
Mucopolysaccharide Neutres	سكريات متعددة حيادية
Multipolar	الخلايا العصبية متعددة الأقطاب
Multivoltine	متعدد الأجيال
Mycetocyte	الخلايا الفطرية
Mycetomes	الأجسام الفطرية
Myoblasts	خلايا عضلية مولدة
Myocard	عضلات القلب
Myofibrils	الليفات العضلية
-N-	
N-Acetyl Glucosamine	الأسيتيل غلوكوزامين
Nephrocytes	خلايا النفروسيت
nerve cell	الخلية العصبية
Nerve impulses	النبضات العصبية
Nerve sheath	غمد العصب
Neucleoplasma	البلاسما النووية
Neural lamella	الصفيحة العصبية
Neurite	استطالة سيتوبلاسمية وحيدة في الخلية العصبية
Neuroblasts	الخلايا العصبية المولدة
Neuron	الخلية العصبية الحسية (العصبون)
Neuropile	الكومة العصبية
Neurosecretory cells	الخلايا العصبية المفرزة
Nidus	بشكل عش
Noradrenaline	نورادرينالين

Nutritive cord	حبل غذائي
-O-	
Octopamine	الأوكتوبامين
Oenocytes	خلايا الإينوسيت
Oenocytoides	خلايا الدم النبيذية
Olfactory receptors	المستقبلات عن بعد (حواس الشم)
Oligophagous	حشرات محدودة العائل
Ommatidia	الوحدات البصرية
Ommochrome	الأموكروم
Oocytes	البويضات
Oogenesis	تشكل البويضات
Oogonia	الخلايا الجرثومية
Oogonium	الخلايا المولدة للبيوض
Oothecae	كيس البيض
Optic lobes	الفصين البصريين
O-Quinonse	الكينونات
Osital valves	صمام قلب أذيني
Ostioles	فتحات القلب الأذينية
Ovaries	المبايض
Ovarioles	الأنابيب المبيضية
Oviduct	قناة المبيض الجانبية
Oviositor	آلة وضع البيض
Oviposition	وضع البيض
Ovulation	الإباضة
-P-	
Papilla	حليمات
Papilles	حلمات المستقيم

Parasegments	حلقات أولية
Parasites	الطفيليات
Parasitoides	الحشرات شبه المتطفلة
Parsintercerebralis	الجزء الأمامي الأوسط للمخ الأول
Parthenogenesis	التكاثر البكري
Paurometabolous insects	حشرات ذات التطور التدريجي
Pepsine	البيبسين
Peptidase	أنزيم الببتيداز
Pericardial cells	الخلايا الجارقلبية
Pericardial sinus	التجويف الجارقلبي
Perikaryon	جسم الخلية العصبية
perinephric sheath،	غشاء مغلف
Perineural sinus	التجويف العصبي
Perineurium	طبقة الخلايا الجانبية المغلفة
Periphernal nerves	الأعصاب المحيطية
Periplasm	البلاسما المحيطية
Peripneustic insects	حشرات محيطية الثغور التنفسية
Peritrophic envelope	غشاء بيروتروفي
Perivisceral fat body	الجسم الدهني الحشوي
Perivisceral sinus	التجويف الحشوي
Permeability	نفوذية الكيوتيكل
Pharynx	البلعوم
Photoperiod	الفترة الضوئية
Phytophages	آكلات النبات
Pigment granules	حبيبات ملونة
Pinocytose	ظاهرة الابتلاع

Placoid sensilla	الصفائح الحسية المثقبة
Plasma membrane plaques	الغشاء السيتوبلاسمي القمي زغيبات متفاوتة الطول
Plasmatocytes	خلايا الدم البلاسمية
Pleuropodia	الأرجل البلورية
Polar granules	حبيبات قطبية
Pole cells	الخلايا القطبية
Polyembryony	ظاهرة تعدد الأجنة
Polyphagous	حشرات متعددة العوائل
Pore canals	قنوات ثقبية
Positional signals	إشارات موضعية
Postembryonic development	التطور ما بعد الجنيني
Postesophageal commissure	رابط تحت مريئي
Postsynaptic	الحيز ما بعد التشابك
Posture phase	طور الوقفة
Predators	المفترسات
Pre-eclosion behavior	سلوك ما قبل الانبثاق
Prefollicular tissue	أنسجة جار جرابية
Preparatory phase	طور الانقسام التمهيدي
Presynaptic terminal	الحيز ما قبل التشابك
Primary pigment cell	الخلايا المحببة الأولية
Principal cell	الخلايا الرئيسية
Proctodeum	الأمعاء الخلفية
Procuticule	طبقة الكيوتيكل الأولية
Prohemocytes	خلايا الدم الأولية
Proliferation	تجدد أو تكاثر خلايا البشرة

Proline	البرولين
Propneustic insects	حشرات أولية الثغور التنفسية
Protease	أنزيم البروتياز
Prothoracic Glands	غدد الصدر الأول
Prothoracicotrophic hormones PTTH	هرمونات الصدر الأول
Protocephalon	منطقة رأس الشريط الجنيني
Protocerebrum	المخ الأول
Protocorm	منطقة ذيل الشريط الجنيني
Proventriculus	القونصة
Proximal	الجزء القريب
Pseudoplacentae	المشيمة الكاذبة
Pseudoplacental viviparity	الولادة مع تكوين المشيمة الكاذبة
Pupa	العذراء
Purine	البورين
Pylorus valve	الصمام البوابي
Pyruvate Dehydrogenase	أنزيم البيروفات دهيدروجيناز
-R-	
Receptor potential	الجهد المستقبل
Rectum	المستقيم
Regenrative cell	الخلايا المولدة (القاعدية)
Reproductive System	جهاز التكاثر
Resilin	الرزيلين
Resorption	ارتشاف البويضات
Respecified	إعادة تخصيص الخلايا
Respiration	المبادلات الغازية
Respiratory horns	الاستطالات التنفسية
Resting potential	جهد الراحة

Retinual cells	الخلايا الشبكية
Rhabdom	المحور البصري
Rhodopsin	صبغة الرودوبسين
-S-	
Saccule	حوصلة نهائية
Saprophagous	الحشرات الرمية
Sarcolemma	الغشاء العضلي
Sarcoplasm	السيتوبلاسم العضلية
Sarcoplasmic membrane	الغشاء الساركوبلاسمي
Sarcoplasmic reticulum	الشبكة الساركوبلاسمية الداخلية
Sarcosomes	الجسيمات الكوندرية في النسيج العضلي
Sclerotin	السكلروتين
Scolopophorous	الأعضاء الحسية الوترية
Secondary Vitellophages	آكلات المح الثانوية
Segmentation	تجزئة الجسم
Seminal vesicle	الحوصلة المنوية
Sense cell	الخلية الحسية
Sensitive period	الفترة الحساسة
Sensory cells	الخلايا العصبية الحسية
septate desmosome	روابط خلوية
Serosa	السيروزا
Serosal cuticle.	الكيوتيكل المصلي
Serosal cells	الخلايا المصلية
Serosal endocuticle	طبقة الكوتيكل الداخلية المصلية
Sex pheromones	الفرمونات الجنسية
Skeletal muscles	العضلات الهيكلية

Slow axon	محور عصبي بطيء
Soma	جسم الخلية العصبية
Spermatheca	كيس الحيوانات المنوية (المخزن المنوي)
Spermatides	الحيوانات المنوية الأولية
Spermatocytes	منطقة الحيوانات المنوية الأولية
Spermatogenesis	تكوين الحيوان المنوي
Spermatophore	الكيس المنوي
Spermatozoa	الحيوان المنوي المذنب
Spherucles	حبيبات اليورات
Spherule cells	خلايا الدم ذات الكريات
Spike Potential	جهد القمة (الجهد الشوكي)
Spiracles	الثغور التنفسية
Stemmata	العيون البسيطة الجانبية
Stimuli	المحرضات
Stomodeal Nervous System	الجهاز العصبي المعوي
Stomodeal valve	الصمام الفؤادي
Stomodeum	الأمعاء الأمامية
Strand or stretch organs	مستقبلات التوتر
Striation	التخطيط
Stries	عضلات من النوع المخطط
Strut	الدعامة
Subcuticular structures	أعضاء حسية ميكانيكية تحت طبقة الكيوتيكل
Subesophageal ganglion	العقدة العصبية تحت المري
Subscutellar reservoir	الفراغ الدموي

Superficial cleavage	التجزئة السطحية
Super Position	العيون ذات الرؤية المتطابقة
Suspensionfibers	ألياف تعليق
Suspensory ligament	خيط التعليق
Symbiosis	التعايش
Synapses	التشابكات العصبية
Synchronous muscles	العضلات المتواقتة
Systole	طور الانقباض
-T-	
Taenidium	التغلظات (الثخانات)
Tanning	تلون البروتين
Tanning	عملية تلوين جدار الجسم
Tarsus	الرسغ
Telson	زوائد شرجية
Terminal arborization	التغصنات الشجرية
Terminal filament	الخيط الطرفي للأنبوب المبيضي
Terristrial insects	الحشرات الأرضية
Testis	الخصية
Testis tubes or Follicles	الأنابيب المنوية
Thelytoky	حالة إنتاجإناث فقط
Thoracic segments	حلقات صدرية
Tibia	الساق
Tonofibrillae	الأوتار العضلية
Tormogen	خلية التورموجين
Trachea	القصبات الهوائية
Tracheobranchies	الخياشم (غلاصم)
Tracheolar cell	خلية القصيبات الهوائية أو الخلايا

	النجمية
Tracheoles	القصيبات
Tract cell	خلايا من النوع الضام
Transcersal muscles	عضلات عرضية
Transmitter	وسيط كيميائي
Transverse tubular	جهاز الساركومير الأنبوبي أو جهاز T
Treacheae	القصبات الهوائية
Trichogen	خلية التريكوجين
Trichoid sensilla	الشعيرات الحسية
Tritocerebrun	المخ الثالث
Trityrosine	التريتيروزين
Trochanter	المدور
Trophocytes	الخلايا المغذية
Trypsine	التريبسين
Tubular body	الجسم الأنبوبي
Tubular muscles	العضلات الأنبوبية
Tympanal organs	الأعضاء الطبلية السمعية
Tyrosinase	أنزيم التيروزيناز
Tyrosine	التيروزين
-U-	
Univoltine	وحيد الجيل
Urea	يوريا
Ureter	حالب
Uric acid	حمض البولة
Uricase	أنزيم اليوريكاز
Urocytes or Urate Cells	خلايا اليورات

-V-	
Vacuoles	الفجوات
Vagina	المهبل
Vas deferens	القناة الناقلة الذكرية
Ventral muscles	العضلات البطنية
Ventral Diaphragm	الحجاب الحاجز البطني
Ventral groove	ميزاب بطني
Ventral nerve cord	السلسلة العصبية البطنية = الحبل العصبي البطني
Ventral Sympathetic System	الجهاز العصبي السمبتاوي البطيني
Visceral muscles	العضلات الحشوية
Vitellarium	منطقة الانضاج
Vitelline envelope	الغشاء المحي
Vitellophage	آكلات المح
Viviparous	الحشرات الولود
Vulva	الفرج
-W-	
Water loss	فقد الماء
Water regulation	تنظيم الماء
Wax	الطبقة الشمعية
Weight	الوزن
-Y-	
Yolk sac	كيس المح
-Z-	
Zygote nucleus	النواة الأصل أو الأم

المراجع العلمية:

1-المراجع العربية:

1. الدكتور وجيه قسيس :الوجيز في فيزيولوجيا الحشرات- مطبوعات جامعة دمشق 1985.
2. الدكتور وجيه قسيس :الشكل الخارجي وتصنيف الحشرات (بالمشاركة)- مطبوعات جامعة دمشق-1986.
3. الدكتور وجيه قسيس: مورفولوجيا وتصنيف الحشرات (الجزء العملي) بالمشاركة- مطبوعات جامعة دمشق1987.
4. الدكتور وجيه قسيس :حشرات المحاصيل الحقلية والإرشادات العملية للتعرف عليها في البلاد العربية (نظري +عملي) بالمشاركة- مطبوعات جامعة دمشق 1987.
5. الدكتور وجيه قسيس :تقسيم المملكة الحيوانية مطبوعات الزيتونة للإعلام والنشر- باتنة الجزائر 1989.
6. الدكتور وجيه قسيس :علم الحيوان العام – مطبوعات الزيتونة للإعلام والنشر – باتنة الجزائر 1990.
7. الدكتور وجيه قسيس :علم الحشرات العام (بالمشاركة) مطبوعات جامعة دمشق- 1996.
8. الدكتور وجيه قسيس :أساسيات وقاية النبات (بالمشاركة) – مطبوعات جامعة دمشق- 1997.

9. الدكتور وجيه قسيس :حشرات المحاصيل الحقلية – منشورات جامعة دمشق 1996.
10. الدكتور وجيه قسيس :مقدمة في فيزيولوجيا الحشرات – جامعة دمشق 1993.
11. الدكتور وجيه قسيس والدكتورة نسرين قطيش: فيزيولوجيا الحشرات– مطبوعات جامعة دمشق2012.
12. الدكتورة روضة سكر غالي: دراسة الاختلافات الوراثية لحشرة دبور ثمار اللوز في سورية واستخلاص الفرمونات الجنسية لاستخدامها في المكافحة المتكاملة – رسالة دكتوراه – جامعة دمشق 2013.

2-المراجع الاجنبية:

Albrecht, F. O. 1953. *The Anatomy of the Migratory locust.* Athlone Press, London.

Amirav, A; Gordin, A; Poliak, M; Alon, T; Fialkov, A. B. (2008). "Gas Chromatography Mass Spectrometry with Supersonic Molecular Beams". Journal of Mass Spectrometry .43: 141–163.

Anderson, D. S. 1960. The respiratory system of the egg-shell of Calliphora erythrocephala. Journal of Insect Physiology, 5, 120-128.

Anderson, D. T. 1962. The embryology of Dacus tryoni (Fogg) (Diptera: Tephritidae), the Queensland fruit fly. Journal of Embryology and Experimental Morphology, 10, 248-292.

Autrum, H. 1963. Anatomy and physiology of sound receptors in invertebrates. In: Busnel, R.G. Acoustic Behaviour of Animals. Elsevier, Amesterdam.

Beament, J. W. L. 1946. Waterproofing process in eggs of Rhodnius prolixus Stahl. Proceedings of the Royal Society of London B, 133, 407-418.

Bergman, P; Bergström, G.(2012) .Scent Marking, Scent Origin, and Species Specificity in Male Premating Behavior of Two Scandinavian Bumblebees. Journal of Chemical Ecology. V.23, 5: 1235-1251.

Bernays, E. A. 1972. Changes in the first instar cuticle of Schistocerca gregaria. Journal of Insect Physiology, 20, 81-90.

Billen, J. P. J. 1970. Structure and function of the pheromone-producing brush-organs in males of Phlogophora meticulosa (L.). Transactions of the Royal Entomological Society of London, 122, 277-292.

Bradley, T. J. and Phillips, J. E. 1977. The location and mechanism of hyperosmotic fluid secretion in the rectum of the saline- water mosquito larva Aedes taeniorhyncus. Journal of Experimental Biology, 66, 11-26.

Buning, J. 1993. Germ cell cluster formation in insect ovaries. International Journal of Insect Morphology & Embryology, 22, 237-253.

Burrows, M. 1977. Flight mechanisms in the locust. In: Hoyle, G. Identified Neuron and Behaviour of Arthropods. Plenum Press, New York.

Butenandt, A; Beckmann, R; Stamm, D; Hecker, E.(1959). Uber den Sexual-Lochstoff des Seidenspinners Bombyx mori. Reindarestellung und Konstitutionsermittlung. Zeitschrift fur Naturforschung 14b:283-284.

Caveney, S. 1969. Mucsle attachment related to cuticle architecture in Apterygota. Journal of cell Science 4, 541-559.

Cazal, P. 1948. Les glandes endocrines retro-cerebral des insectes (etude morpholoqiue) Bulletin Biologique de la France et de la Belgique, 32, 227.

Chatterjee, S.N; Pradey, A.R.(2003). Molecular markers (RAPD) associated with growth, yield and origin of the silkworm, Bombyx mori in India. Russian Journal of Genetics. 39:1612-1624.

Cheung, W. W. K. and Marshall, A. T. 1973. Studies on water and ion transport in homopteran insects: ultrastructure and cytochemistry of the cicadoid and cercopoid midgut. Tissue & Cell, 5, 51-69.

Chiang, A. S., Gupta, A. P. and Han, S. S. 1988. Arthropod immune system: I. Comparative light and electronic microscopic accounts of immunocytes and other hemocytes of Blattella germanica (Dictyoptera: Blattellidae). Journal of cell Morphology, 198, 257-267.

Clare, S. and Tauber, O. E. 1942. Circulation of haemolymph in the wings of cockroach Ballettlla germanica L. III Circulation in the articular membrane, the pteralia, and the wing folds as directive and speed cotrolling mechanisms in wing circulation. IowaState College Journal of Science, 16, 349-356.

Dailey, P. J., Gadzama, N. M. and Happ, G. M. 1980. Cytodifferentiation in the accessory glands of Tenebrion molitor. IV A congruent map of the cells and their secretions in the layered

elastic product of the male bean-shaped gland. Journal of Morphology, 166, 289-233.

Dean, R. L., Locke, M. and Collins, J. V. 1985. Structure of the fat body. In: Kerkut, G.A. and Gilbert, L.I. Comprehensive Insect Phyiology, Biochemistry and Pharmacology. Pregamon Press, Oxford.

de Leon, J. H; Walker, J. (2004). Detection of DNA Polymorphisms in Homalodisca coagulata (Homoptera:Cicadellidae) by Polymerase Chain Reaction- Based DNA Fingerprinting Methods.Ann. Entomol. Soc. Am. 97(3): 574-585.

Del Bene, G., Dallai, R. and Marchini, D. 1991. Ultrastucture of the midgut and adhering tubular salivary glands of Frankliniella occidentalis (Pergande)(Thysanoptera: Thripidae. International Journal of Insect Morphology & Embryology, 20, 15-24.

Fristrom, D. and Fristrom, J. W. 1993. The metamorphic development of the adult epidermis. In: Bate, M. and Arias, A.M. The Development of Drosophila melanogaster. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New york 55-76.

Gadot, M. and Applebaum, S. W. 1985. Rapid in vitro activation of coropra allata by extracted locust brain allatotropic factor. Archives of Insect Biochemistry and Physiology, 2, 117-129.

Goldsmith, T. H. 1962. Fine structure of the retinulae in the compound eye of the honey bee. Journal of cell Biology, 14, 489-494.

Goodchild, A. J. P. 1963. Studies on the functional anatomy of the intestines of Heteroptera. Proceedings of the Zoological Society of London, 141, 851-910.

Gray, E. G. 1960. The fine structure of insect ear. Philosophical Transactions of the Royal Soceity of London B, 243, 75-94.

Gregory, G. E. 1965. The formation and the fate of the spermatophore in the African migratory locust, Locusta migratoriamigratorioides Reiche and Fairmaire. Transactions of the Royal Entomological Society of London, 117, 33-66.

Hardie, J. and Lees, A. D. 1983. Photoperiodic regulation of the development of winged gynoparae in the aphid, Aphis fabae. Physiological Entomology, 8, 385-391.

Herman, W. S. and Gilbert, L. I. 1966. The neuroendocrine system of Hyalophora cecropia. General and Comparative Endocrinology, 7, 75-91.

Hinton, H. F. 1961. The structure and formation of the egg-shell in the Nepidae (Hemiptera). Journal of Insect Physiology, 7, 224-257.

Holldobler, B. and Wilson, E. O. 1990. The Ants.HarvardUniversity Press, Cambridge, Massachusetts.

Hopkins, C. R. and King, P. E. 1966. An electro-microscopical and histochemical study of the oocyte periphery in Bombus terrestris during vitellogenesis Journal of cell Biology, 1, 201-216.

Hopkins, T. L. and Kramer, K. J. 1992. Insect cuticle sclerotization. Annual Reveiw of Entomology, 37, 273-302.

Horridge, G. A. 1965. The Arthropoda: General anatomy. In: Bullock, T.H. and Horridge, G.A. Structure and Function of the Nervous System of Invertebrates. Freeman, San Francisco.

Hoyle, G. 1974. Neural control of skeletal muscle. In: Rockstein, M. The Physiology of Insecta. Academic Press, New York.

Huebner, E. 1981. Oocyte-follicle cell interactions during normal oogenesis and atresia in an insect. Journal of Ultrastructure Research, 74, 95-104.

Huebner, E. and Diehl-Jones, W. 1993. Nurse cell-oocyte interaction in the telotrophic ovary International Journal of Insect Morphology & Embryology, 22, 369-387.

Ichikawa, T. and Tateda, H. 1980. Cellular patterns and spectral sensitivity of larval ocelli in the swallowtail butterfly, Papilio. Journal of Comparative Physiology, 139, 191-199.

Imms, A. D. 1947. Insect Natural History. Collins, London.

Imms, A. D. 1957. A General Textbook of Entomology.Methuen, London.

Irvine, B., Audsley, N., Lechleitner, R., Meredith, J., Thomson, B. and Phillips, J. E. 1988. Transport properties of locusta ileum in vitro:

effects of cyclic AMP. Journal of Experimental Biology, 137, 361-385.

Jago, N. D. 1963. Some observations on the life cycle of Eygrepocnemis plorans meridionalis Uvarov, 1921, with a key for the separation of nymphs at any instar. Proceedings of the Royal Entomological Society of London A, 38, 113-124.

Johannsen, O. A. and Butt, F. H. 1941. Embryology of Insect and Myriapods.McGraw-Hill, New York.

Jorgensen, W. K. and Rice, M. J. 1983. Superextension and supercontraction in locust ovipositor muscles. Journal of Insect Physiology, 29, 437-448.

Karp, A; Edwards, J. (1997). DNA markers: a global overview,.In G. Caetano-Anolles and P.M. Gresshoff [eds.], DNA markers-protocols, applications, and overviews. Wiley-Liss, New York. pp. 1-13.

Khalifa, A. 1950. Spermatophore production in Blattella germanica L (Orthoptera: Blattidae). Proceedings of the Royal Entomological Society of London A, 25, 53-61.

Kimmins, D. E. 1950. Ephemeroptera. Handbooks for the identification of British Insects, 1, Part 9.

Kiselev, A. and Subramaniam, S. 1994. Activation and regeneration of rhodopsin in the insect visual cycle. Science, 266, 1369-1373.

Koenig, J. H. and Ikeda, K. 1990. Transformation process of the endosomal compartment nephrocytes of Drosophila melanogaster. Cell and Tissue Research, 262, 33-44.

Komnick, H. 1977. Chloride and chloride epithelia of aquatic insects. International Review of Cytology, 49, 285-329.

Langer, H., Hamann, B. and Meinecke, C. C. 1979. Tetrachromatic visual system in the moth, Spodoptera exempta (Insecta: Noctuidae). Journal of Comparative Physiology, 129, 235-239.

Legal, L;Machkour,S; Rabet, M; He´naut, Y; Dor, A; Pe´rez, G; Ce´line, L.L; Gers, C. (2009). ISSR (Inter Simple Sequence Repeats) as molecular markers to study genetic diversity in tarantulas (Araneae, Mygalomorphae). The Journal of Arachnology. 37:10–14.

Lepier, A., Azuma, M., Harvey, W. R. and Wieczorek, H. 1994. K+/ H+ antiport in the tobacco hornworm midgut: the K+ trasporting component of the K+ pump Journal of Experimental Biology, 196, 361-373.

Liu, C. L; Zhu, B. J; Wangl. (2005). A study and comparison of colleterial glands and its secretion between Actias selene Hubner and Antheraea pernyi.- Acta Laser Biology Sinica.14: 420-423.

Longo, G., Sottile, L., Viscuso, R., Giuffrida, A. and Provitera, R. 1993. Ultrastructural changes in sperm in Eyprepocnemis plorans (Charpentier) (Orthoptera: Acrididae) during storage of gametes in female genital tract. Invertebrate Reproduction and Development, 24, 1-6.

Macan, T. T. 1961. A key to the nymphs of the British species of Ephemeroptera. Freshwater Biological Association Scientific Publication`, 20, 63.

Maddrell, S. H. P. and O'Donnell, M. J. 1992. Insect Malpighian tubules: V-ATPase action in ion and fluid transport. Journal of Experimental Biology, 172, 17-29.

Maxwell, D. J. 1978. Fine structure of axons associated with the salivary appratus of the cockroach, Nauphoeta cinerea. Tissue & Cell, 10, 699-706.

Miller, H. K. and Fisk, F. W. 1971. Taxonomic implications of the comparative morphology of cockroach proventriculi Annals of the Entomological Society of America, 64, 671-687.

Miller, P. L. 1960. Respiration in the desert locust. III Ventilation and the spiracles during flight. Journal of Experimental Biology, 37, 264-278.

Muir, F. and Sharp, D. 1904. On the eggcases and early stages of some Cassidide. Transactions of the Royal Entomological Society of London, (1-23).

Narang, S. K; Tabachnick, W. J; Faust, R. M. (1993). Complexities of population genetic structure and implications for biological control programs,.In S.K. Narang,A.C.Barlett, and R.M.Faust [eds.],

Applications of genetic to arthropods of biological control. pp.19-52.

Ni Liu, J; Rong Guia, F; Yue Lib, Z.(2010). Genetic diversity of the planthopper, Sogatella furcifera in the Greater Mekong Subregion detected by inter-simple sequence repeats (ISSR) markers. Journal of Insect Science. 10:52.

Noirot, C. and Quennedy, A. 1974. Fine structure of insect epidermal glands. Annual Reveiw of Entomology, 19, 61-80.

Nothiger, R. 1972. The larval development of imaginal discs. In: Ursprung, H. and Nothiger, R. The Biology of Imaginal Discs. Springer-Verlag, New York. 1-34.

Nutting, W. L. 1951. A comparative anatomical study of the heart and accessory structures of the orthopteroid insects. Journal of Morphology, 89, 501-597.

O'Donnell, M. J. and Machin, J. 1991. Ion activities and electrochemical gradients in the mealworm rectal complex. Journal of Experimental Biology, 155, 375-402.

Okelo, O. 1979. Mechanisms of sperm release from the receptaculum seminis of Schistocerca vaga Scudder (Orthoptera: Acrididae). International Journal of Invertebrate Reproduction, 1, 121-131.

Osbone, M. P. 1970. Structure and function of neuromuscular junctions and stretch receptors. Symposium of the Royal Entomological Society of London, 5, 77-100.

Oschman, J. J. and Berridge, M. J. 1970. Structural and functional aspects of salivary fluid secretion in CalliphoraTissue & Cell, 2, 281-310.

Pass, G. 1985. Gross and fine structure of the antennal circulatory organ in cockroach (Blattodea, Insecta). Journal of Morphology, 185, 255-268.

Phillips, J. E. and Audsley, N. 1995. Neuropeptide control of ion and fluid transport across locust hindgut. American Zoologist, 35, 503-514.

Phillips, J. E., Audsley, N., Lechleitner, R., Thomson, B., Meredith, J. and Chamberlin, M. 1988. Some major transport mechanisms in

insect absorptive epithelia. Comparative Biochemistry and Physiology, 90A, 643-650.

Qian, Z; Hong, D; Dong Hang , Z.(2007). ISSR Molecular Marker and its application in plant researches. Molecular Plant Breeding. V(6):123-129.

Ratcliffe, N. A. and Gagen, S. J. 1977. Studies on the in vivo cellular reactions of insects: an ultrastructure analysis of nodule formation in Galleria mellonella. Tissue & Cell, 9, 73-85.

Richards, A. G. 1963. The ventral diaphragm of insects. Journal of Morphology, 113, 17-47.

Robert, P; Adams. (2007). Identification of Essential Oil Components By Gas Chromatography/Mass Spectrometry. Allured Pub Corp. 1:9-21.

Roeder, K. D. and Treat, A. E. 1957. Ultrasonic reception by tympanic organ of noctuid moths. Journal of Experimental Zoology, 134, 127-157.

Roonwal, M. L. 1954. The egg-wall of the African migratory locust, Locusta migratoria Reiche and Frm. (Orthoptera: Acrididae). Proceedings of the National Institute of Sciences, India, 20, 361-370.

Schmitz, M. and Komnick, H. 1976. Rectal Chloridepithelien und osmoregulatorische Salzaufnhame durch den Enddarm von Zygopteren und Anisopteren Libellenlarven. Journal of Insect Physiology, 22, 875-883.

Schwabe, J. 1906. Beitage zur Morphologie und Histologie der tympanalen Sinnesapparate der Orthopteren. Zoologica, Stuttgart, 50, 154.

Shaprio, J. P., Law, J. H. and Wells, M. J. 1988. Lipid transport in insects Annual Reveiw of Entomology, 33, 297-318.

Slifer, E. H. and Sekhon, S. S. 1963. The fine structure of the membranes which cover the egg of the grasshopper, Melanoplus differentialis, with special reference to the hydropyle. Quarterly Journal of Microscopical Science, 104, 321-334.

Smith, D. S. 1972. Muscle: A Monograph. Academic Press, New York.

Smith, D. S. and Treherne, J. E. 1963. Functional aspects of the organisation of the insect nervous system. Advances in Insect Physiology, 1, 401-484.

Snodgrass, R. E. 1935. Principles of Insect Morphology.McGraw- Hill, New York.

Snodgrass, R. E. 1956. Anatomy of the Honey Bee. Constable, London.

Snyder, A. W. and Horridge, G. A. 1972. The optical function of changes in the medium surrounding the cockroach rhabdom. Journal of Comparative Physiology, 81, 1-8.

Southwood, T. R. E. 1956. The structure of the eggs of the terrestrial Heteroptera and its relationship to the classification of the group. Transactions of the Royal Entomological Society of London, 108, 163-221.

Southwood, T. R. E. and Leston, D. 1959. Land and Water Bugs of the British Isles. Warne, London.

Subramanya, G ; Bakkappa, S; Talebi, E.(2011). Role of molecular markers (RAPD & ISSR) in silkworm Conservation. International journal of advanced biological research. 1(1):01-07.

Thorpe, W. H. and Crisp, D. J. 1949. Studies on plastron respiration. IV. Plastron respiration in Coleoptera. Journal of Experimental Biology, 26, 219-260.

Tillyard, R. J. 1917. The Biology of Dragonflies.CambridgeUniversity Press, Cambridge.

Treherne, J. E. and Schofield, P. K. 1981. Mechanisms of ionic homeostasis in the central nervous system of an insect. Journal of Experimental Biology, 95, 61-73.

Truman, J. W. and Copenhaver, P. F. 1989. The larval eclosion hormone neurons in Manduca sexta: identification of the brain-proctodeal neurosecretory system. Journal of Experimental Biology, 147, 57-70.

Urquhart, F. A. 1960. The Monarch Butterfly.University of Toroto Press, Toronto.

van Emden, F. I. 1946. Egg-bursters in some more families of polyphagous beetles and some general remarks on egg-bursters.

Proceedings of the Royal Entomological Society of London21, 89-97.

Vijian,K;Anuradha,H.J;Nair,C.V;Pradeep,A.R,Awasthia,A.K;Saratchandra,B.S;Rahman.S.A;Singh,K.C;Chakraborti,R;Raje,S.R.(2006).Genetic diversity and differentiation among populations of the Indian eri msilkworm,Samia Cynthia ricini,reversed by ISSR markers.Journal of Insect Science. 6: 11-30.

Vogt, R. G. 1995. Molecular genetics of moth olfaction: a model for cellular identity and temporal assembly of the nervous system. In: Goldsmith, M.R. and Wilkins, A.S. Molecular Model Systems in the Lepidoptera. CambridgeUniversity Press, Cambridge.

Waddington, C. H. 1941. The genetics control of wing development in Drosophila. Journal of Genetics, 41, 75-139.

Walcott, B. 1975. Anatomical changes during light adaptation in insect compund eyes. In: Horridge, G.A. The Compound Eye and Vision of Insects. Clarendon Press, Oxford.

Wasserthal, L. T. 1980. Oscillating haemolymph "circulation" in the butterfly, Papilio machaon, L. revealed by contact thermography and photocell measurements. Journal of Comparative Physiology, 139, 145-163.

Webb, J. E. 1948. The origin of the atrial spines in the spiracles of sucking lice of the Genus Haematopinus Leach. Proceedings of the Zoological Society of London, 118, 582-607.

Wells, M. J. 1954. The thoracic glands of Hemiptera Heteroptera. Quarterly Journal of Microscopical Science, 95, 31-44.

Wesserthal, L. T. 1996. Interaction of circulation and tracheal ventilation in holometabolous insects. Advances in Insect Physiology, 26, 297-351.

Wigglesworth, V. B. 1954. Growth and regeneration of the tracheal system of an insect. Quarterly Journal of Microscopical Science, 95, 115-137.

Wigglesworth, V. B. 1965. The Principles of Insect Physiology Methuen, London.

Wilson, M. 1978. The functional organisation of locust ocelli. Journal of Comparative Physiology, 124, 297-316.

Yin, C. M., Zou, B. X., Li, M. F. and Stoffolano, J. G. 1990. Ecdysteriod activity during oogenesis in the black blowfly, Phormia regina (Meigen). Journal of Insect Physiology, 36, 375-382.

Zhu, J; Wang, L; Liu, C.L; Kajiura, Z. (2010). DNA sequence and prokaryotic expression analysis of vitellogenin from Antheraea pernyi. Afr. J. Biotechnol. 9(6): 811-817.

Damascus University

وقل رب زدني علما
Damascus University

اللجنة العلمية:

أ. د. أنور المعمار

أ. د. عبد النبي بشير

أ. د. غسان ابراهيم

المدقق اللغوي:

أ. د. عبد الكريم حسين

حقوق الطبع والترجمة والنشر محفوظة لمديرية الكتب والمطبوعات الجامعية