



فيزيولوجيا الحشرات
(الجزء العملي)





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

1438 – 1439 هـ
2016 – 2017 م

جامعة دمشق



فهرس المحتويات

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



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 إذ قال: تعد فيزيولوجيا الحشرات لبعضهم كالوصف لعلم الحشرات الاقتصادية .. ويعتمد غالباً التطبيق العملي لطرق مكافحة التي تكون المبيدات الحشرية أو التدخل في بيئة الحشرات على معرفة فيزيولوجيا الحشرات المراد مكافحتها، إذ يخدم علم الفيزيولوجيا في تفسير الإجراءات المعتمدة في مكافحة.

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

والله ولي التوفيق

أ. د. وجيه قسيس

د. روضة سكر غالي



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 فسننتظر في دراستنا إلى عمل محضرات كاملة إضافة لعمل مقاطع متتالية في الحشرة. ولتحقيق ذلك يجب اتباع خطوات ثابتة ومحددة سنذكرها فيما بعد.

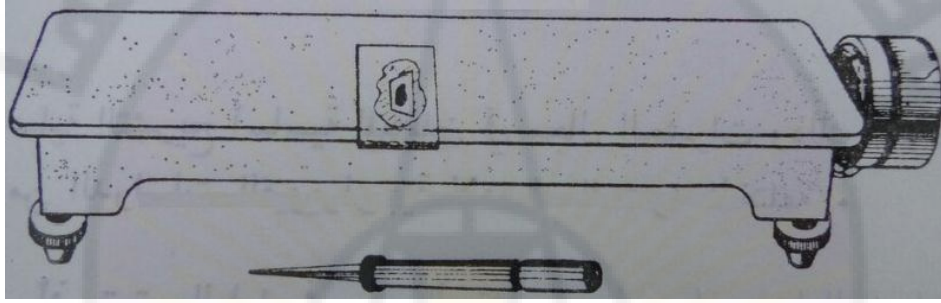
وتحتاج هذه الدراسات إلى توافر بعض الأدوات والمواد الأساسية والضرورية في المخبر، ولا نستطيع سرد كل المواد والأدوات الضرورية ولكن سنقتصر على ذكر ما هو ضروري للقيام بهذا النوع من الدراسات المهمة.

1- الأدوات الواجب توفرها في المخبر:

- أ- 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°C - 70°C م. وعادة تستخدم الشموع ذات درجة الانصهار 56°C - 58°C م.

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

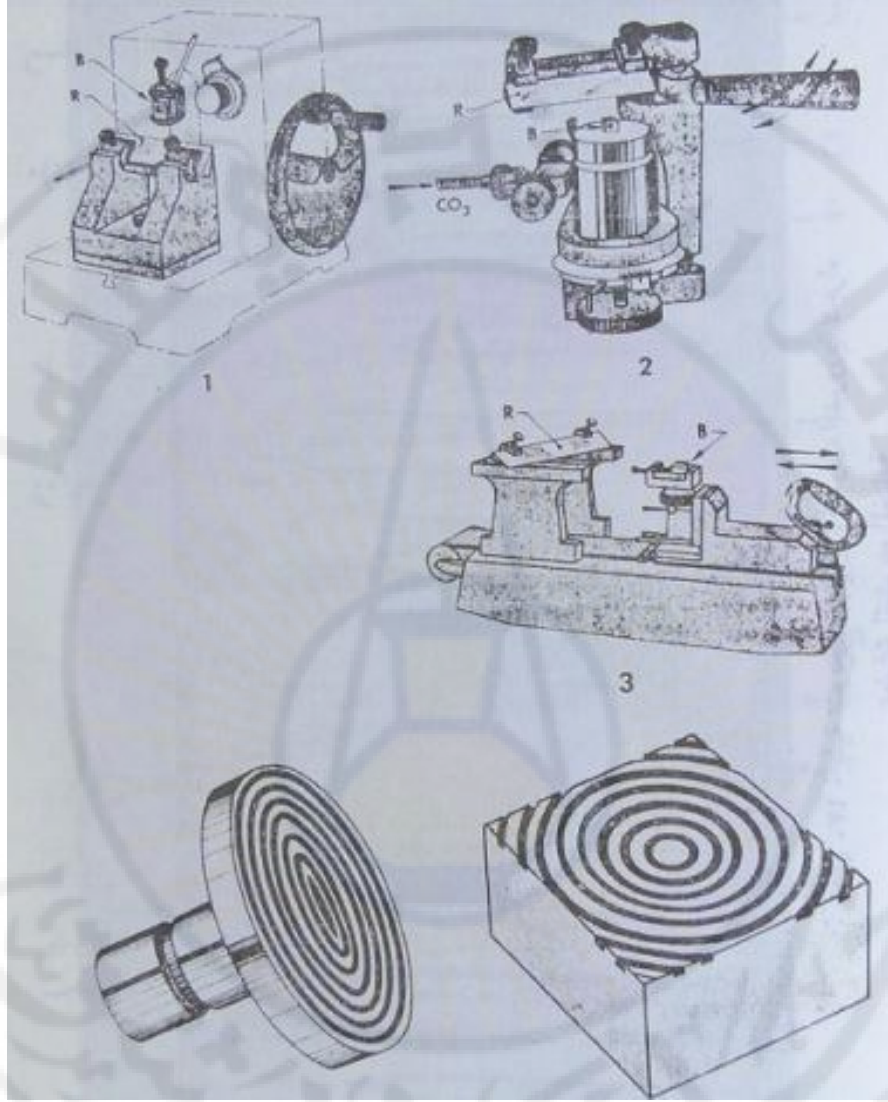
د- صفيحة أو لوحة تسخين، أيضاً يجب أن تتوفر فيها المواصفات للتحكم بدرجة حرارتها. وتستخدم لفرد القطاعات الشمعية على الشريحة الزجاجية، وتثبت المقاطع عليها الشكل (1).



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 والمسناط.

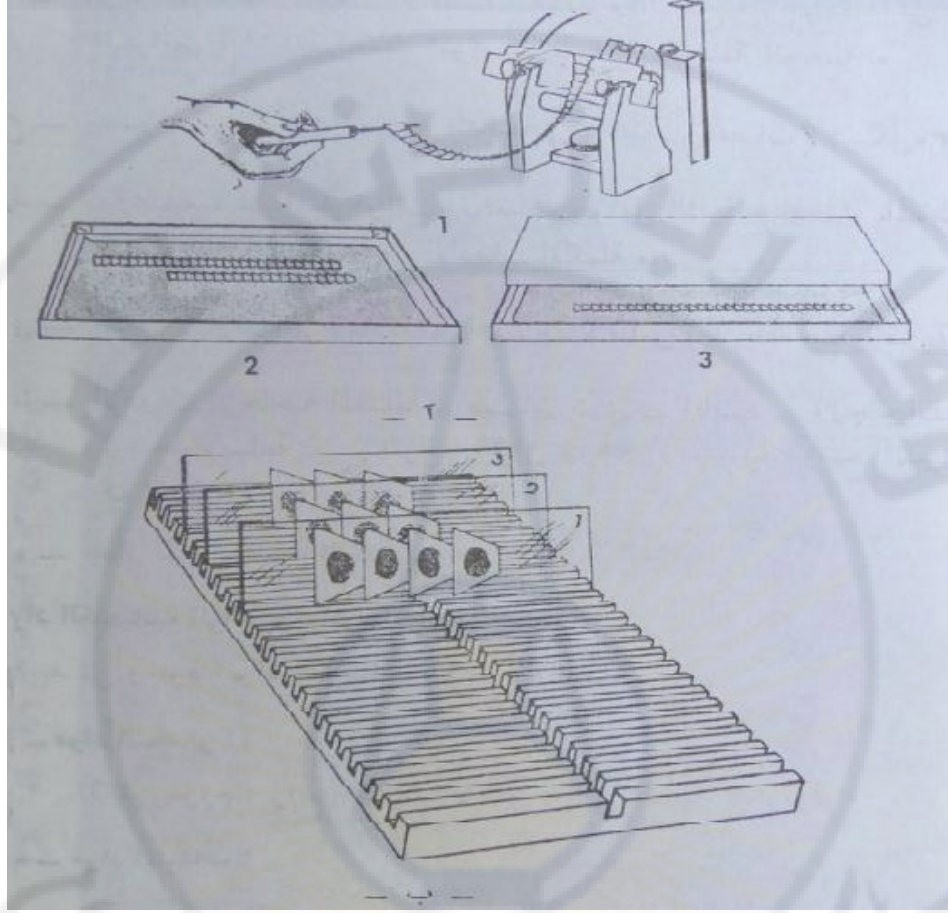


الشكل (2) ثلاثة انواع من الميكروتوم (1،2،3) مع نموذجين لحمل القطع الشمعية لإجراء المقاطع (الهستولوجية)

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.



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 الإيثيل، 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 الإيثيلي، 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 التقنية لدراسة التشريح الداخلي وتركيب النسيج:

ترتبط الطرق التقنية 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 تعرف التركيب الخلوي لهذه الأعضاء وعملها فلا بد من عمل مقاطع في هذا النسيج 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 لدراساتها بالمجهر الإلكتروني وسنتعرض إلى كل طريقة من هذه الطرق فيما بعد.

ج- 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، ولو غارف).
- 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 الكولي.
- تغسل الشريحة ومحتوياتها بالكحول تركيز 70% وذلك للتخلص من بقايا المحلول المثبت.

- الخطوة التالية هي تلوين المحضر بأحد الملونات المرغوبة مثل الفولجين Feulgen أو فولجين مضافاً له أحد الملونات الأخرى مثل بيكروانديكوكارمين Picroindigocarmin ويختلف الوقت اللازم حسب سماكة الأجزاء المثبتة. ويمكن استخدام ملون أخضر الميتيل بيرونيين 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 بتركيزات مختلفة، 70 - 80 - 90 - 100 وأخيراً محلول التولوين.
- بعد تجفيف المحضر، نضع على الشريحة قليلاً من بلسم كندا ويغطي المحضر بوساطة ساترة.
- تنقل الشريحة الجاهزة إلى فرن التجفيف ودرجة حرارته 40°-50°م وتبقى بداخله لمدة اسبوع.



الفصل الثاني

تحضير المقاطع (الهستولوجية) 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 التوالي: 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 (برقة - 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 تثبيت التغيرات كافة التي يمكن أن تحدث للأنسجة أو الخلايا بعد موتها. وتثبيت الخلية يعني باختصار:

- حفظها من مهاجمة البكتيريا.

- 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 المكتشفات الخلوية فإننا نبحث دائماً في حفظ هذه البروتينات على نحو 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 الخلطات للمثبتات تكون متعددة الأهداف.

إن الهدف الأساسي من استخدام المثبتات هو توطيد الأساس المورفولوجي للنسيج وتثبيتته 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 الهستوكيميائية ألا وهي الدراسات الهستوأنزيمية (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 (السليمان)

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

- الفورمالدهيد (فورمول)
- بيكرومات البوتاسيوم
- حامض الأوسميك (نيتروكسيد 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: وتستخدم 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، الغليكوجين، 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 خلاصات النحاس 10 مل فورمول 1 مل حمض الخل 4 مل 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 كحول 95% 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 100 مل 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 فليمينغ Liquid de Flemming	75 مل محلول حمض الكروميك 1% 20 مل محلول تيتروكسيدالاسميوم 2% 5 مل حمض الخل

7 مل محلول حمض الكروميك 1% 7 مل محلول بيكرومات البوتاسيوم 2% 4 مل محلول نيتروكسيد الأوسميوم	9- سائل شامبي Liquid de Champy	
60 مل كحول مطلق 30 مل كلوروفورم 10 مل حمض الخل	10- محلول كارنوي 2 Liquid de Carnoy2	الكحول Alcool
90 مل كحول مطلق 10 مل فورمول	11- الكحول - فورمول	
30 مل كحول مطلق 10 مل حمض الخل	12- محلول كلارك أو كارنوي 1 Clark ou Carnoy1	
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	13- سوزاهيدنهان Susa de Heidendhain	كلور الزئبق Mercuric chloride

ج- خواص مكونات المثبتات الرئيسية:

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

- هو مرجع، فهو متعارض مع بيكرومات البوتاسيوم وحمض الأوسميوم.
- يرسب وبقوة البروتينات، ولكنه لا يحل البروتينات النووية بشكل جيد.
- يغير طبيعة البروتينات دون إضافة ذرات.
- يذيب بعض المعقدات الدهنية، ويرسب الغليكوجين دون أن يثبت.
- 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 أضرته 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 بنفوذته العالية .
- لا يثبت بروتينات السيتوبلازم 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 السيتوبلازما والنواة.

4- 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 السيتوبلازم ويمكن استعماله مع جميع الصبغات.
- يفيد خلط حمض البكريك مع الفورمول لزيادة النفاذية ومع حمض الخل لتقليل الانكماش الشديد.

5- 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.

6- 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: Chloruremercrique

- يرسب البروتينات كافة دون أن يتحد معها، مؤكسد حامضي.

- ينفذ بسرعة.

- يؤدي إلى تصلب الأنسجة بقوة على نحو 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 نحو 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.

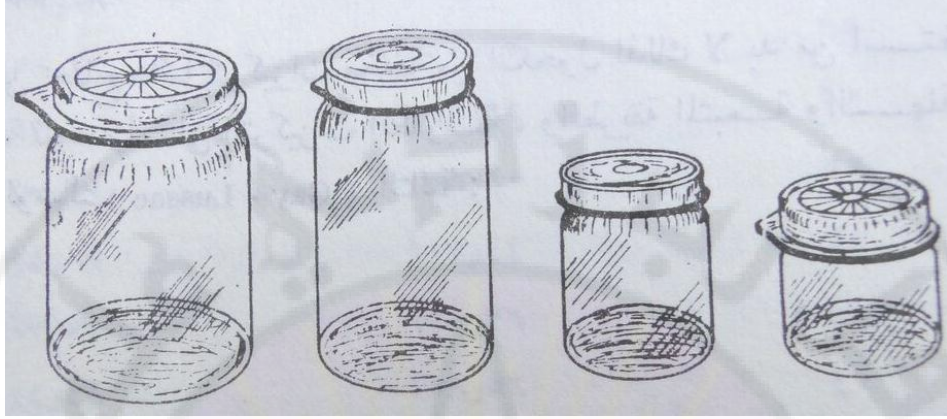
12- سائل زنكر: من المثبتات الجيدة التي تسمح باستخدام عدد كبير من طرق التلوين. مدة التثبيت 7-8 ساعات فقط، ويمكن أن تزداد إلى 24 ساعة مع تغيير المثبت من وقت لآخر عند دراسة المحضرات الحيوية.

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 النفوذ 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 بـ 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 يعتمد 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 تزيد ثخانة القطع عن 5 ملم. أما في حال استخدام المثبتات قليلة النفوذ كالسوائل الأوسمية 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 لـ 40°م لمنع الانحلال الذاتي أو البرودة لإبطائها في حال الخلايا الإفرازية.

2- الغسيل:

الغاية من هذه العملية هي إزالة آثار المثبت التي يؤدي بقاءها 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 غسلها 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 نحو 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):

كمية الماء بالميليلتر الواجب إضافتها إلى 100 مل من 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 الكولويدين Colloidine وتبقى ضمن هذا المحلول مدة 24 ساعة على الأقل، ويجب أن تنتظر حتى تستقر الحشرات في قعر الزجاجاة.

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

5- الحضان 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).

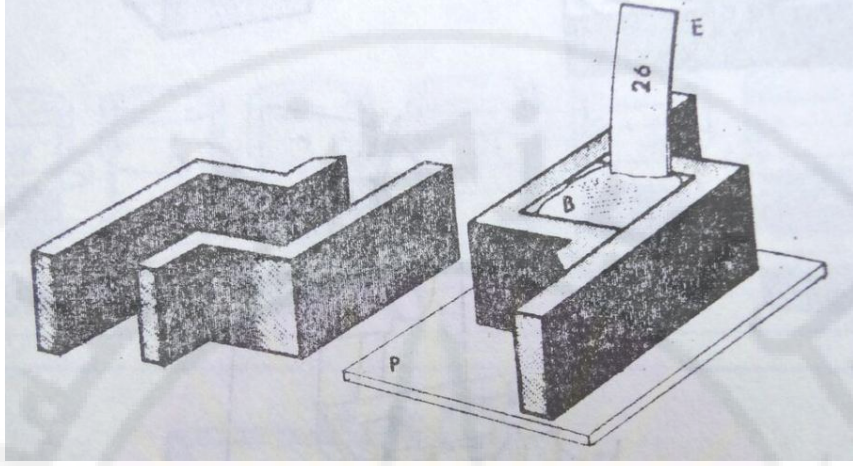
- بعد الانتهاء من هذه العمليات نقوم بعملية وضع الحشرة في الشمع، ويتم ذلك بوضع الحشرة ضمن قالب خاص (الشكل 6) (في وسطه) ونغمرها بشمع البارافين والخالي من الشوائب وننتظر حتى يصبح صلباً، وبذلك نحصل على قطعة أو قالب من شمع البارافين، وفي وسطه الحشرة المراد إجراء مقاطع فيها، ومن القوالب الأكثر استخداماً هي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

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

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

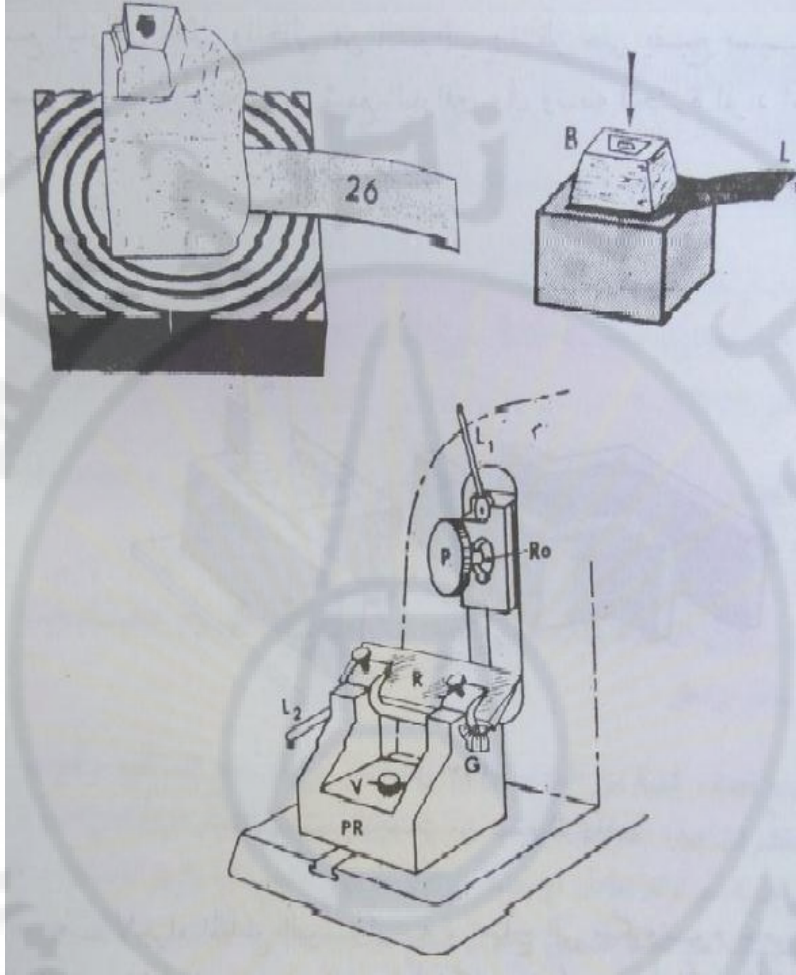
وتعد طريقة Peterfi من أفضل الطرائق فبعد تجريد القطع من الماء تماماً بالكحول نضعها في حمامين أو ثلاثة من مزيج يتألف من كولوديون بنسبة 5% حجماً وساليسيلات الميتيل 5 حجوم (يمكن الاستعاضة عنها ببنزوات الميتيل) لمدة 24 ساعة أو أكثر، ثم تنقل إلى حمامات البنزين أو التولوين ومنها إلى البارفين المنصهر.



الشكل (6) قالب لصنع مكعبات من شمع البارافين

6- عمل المقاطع:

لإجراء المقاطع الهيستولوجية نحتاج إلى المقطاع المجهري أو الميكروتوم، وأفضل أنماطه هو مقطع مينو الذي يؤمن مقاطع رقيقة منتظمة السماكة. ومن أهم أقسام المقطاع السكين التي يجب أن تكون صالحة وغير مشتملة على أثلام وثنائيا 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).



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



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 ميكرونًا للدراسات النسيجية العامة و 1-3 ميكرونًا 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 5سم³ من الجيلاتين النقي و 100سم³ 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 يعتمد إلى سكب الفائض من السائل بإمالة الصفيحة بهدوء، فينسب 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 40-50م° 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 التلوين لعدة دقائق حيث ينحل البارافين. تنقل المقاطع بعدها إلى وعاء يشتمل على مزيج من المواد التالية:

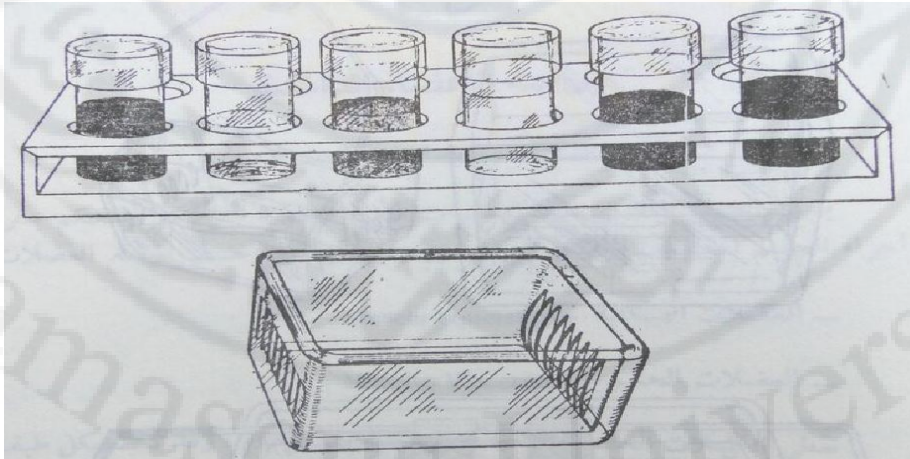
- كحول مطلق 50 سم³
- أيتير عادي 50 سم³
- كولوديون بنسبة 5% 2 سم³

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 المزيغ الآتي:
فوق يودات البوتاسيوم 0.8 غ، ماء مقطر 100 سم³، حمض آزوت مركز 0.5 غ.
 - 2- غسل المقاطع جيداً في الماء الجاري لمدة 2-3 دقائق.
 - 3- التلوين بكاشف شيف مدة 30-60 دقيقة.
 - 4- إمرار المقاطع في ببسلفيت 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 1 غ من الفوكسين الأساسي في 200 سم³ من الماء المغلي وبعد التبريد نضيف 2 غ ميتابيسلفيت الصوديوم أو البوتاسيوم و 10 سم³ 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

سم³ من محلول مائي مشبع من حمض البيكريك.

تتلون المواد السكرية باللون الأحمر الأرجواني.

ب- طريقة فولكن:

تفيد في الكشف عن الـ 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:

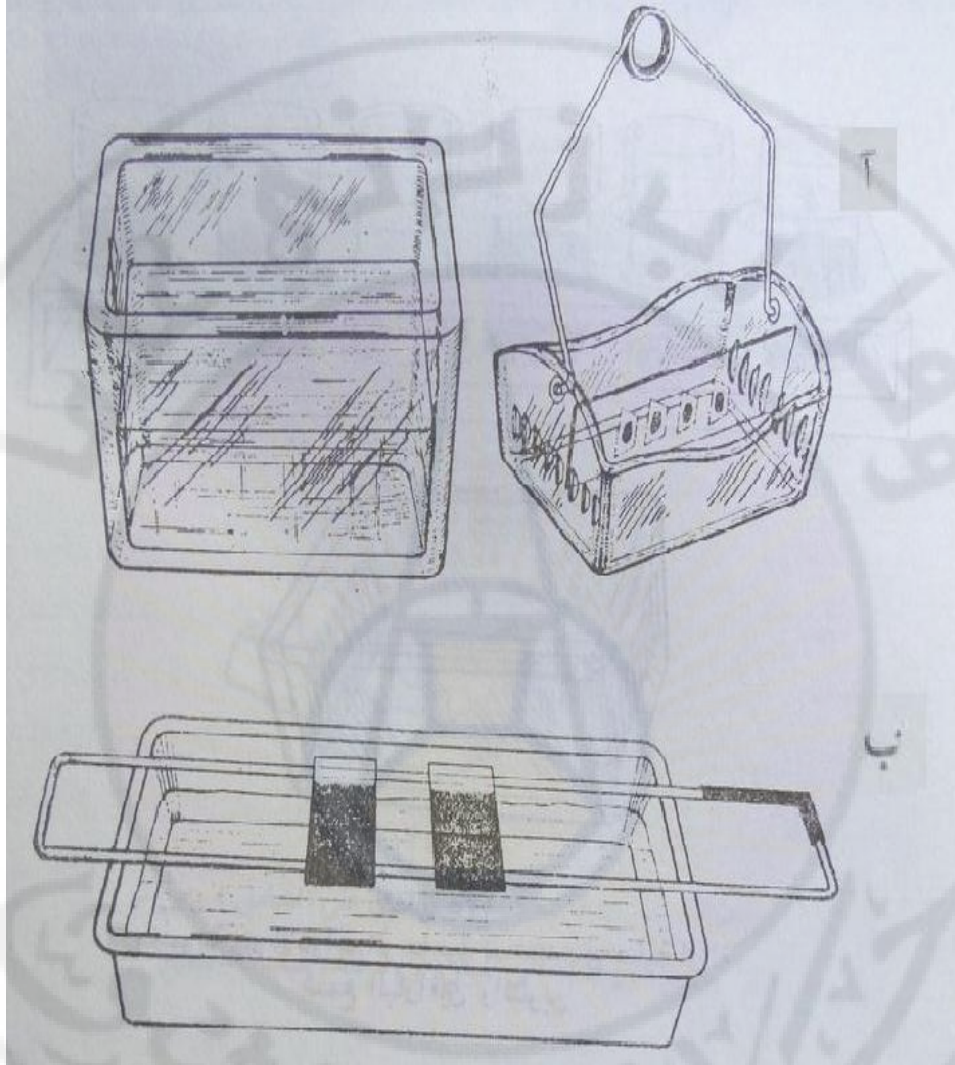
- استخدام الكحول (70 - 80 - 90 - 100 %).

- تمرير المقاطع إلى التلوين.

11- توضع قطرة من بلسم كندا فوق المقاطع، ثم تغطى بالساترة، ثم توضع

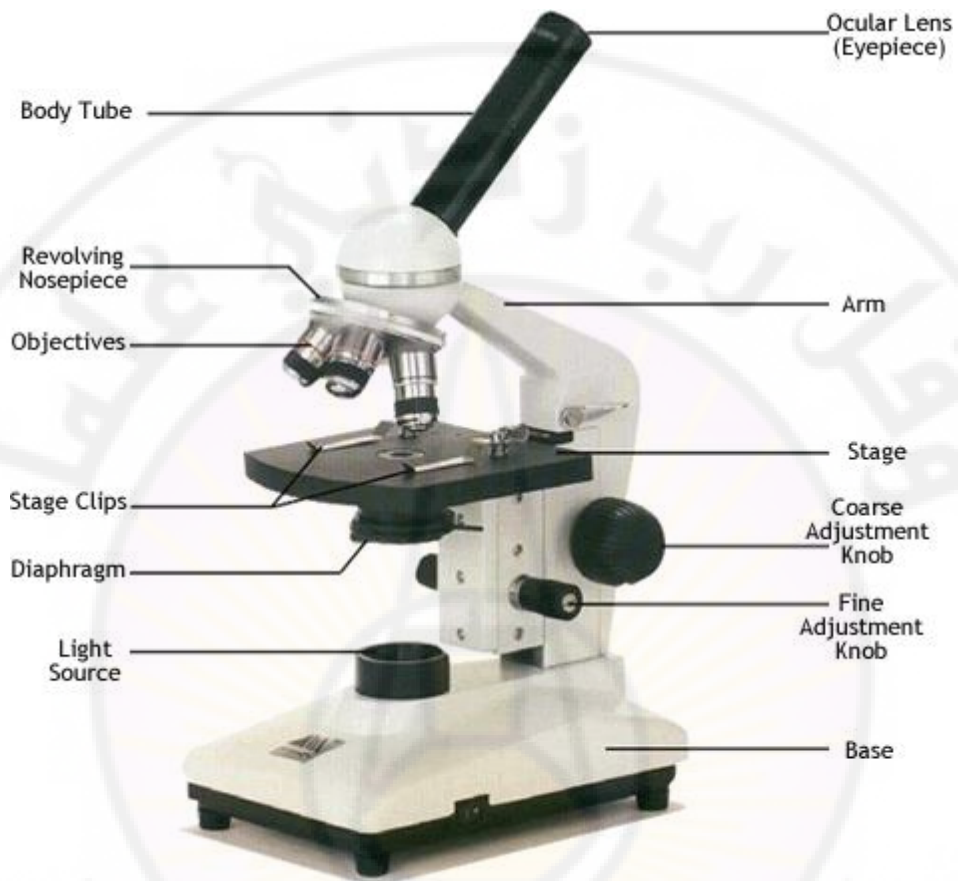
الشرائح في حاضنة التجفيف لمدة اسبوع على الأقل.

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



الشكل (10)

- أ- حوض زجاجي وسيلة 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

الفصل الثالث

إعداد العينات الخلوية لدراساتها بالمجهر الإلكتروني

الطرق الروتينية المستخدمة بالمجهر الإلكتروني:

يتضمن تحضير الأنسجة لدراساتها 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 غلّسها 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. تغطي 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 المعايير 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 الصود 5 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 الثلجة 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 الحضان فيما بعد في الإيبون أو الأرالديت. أما في حال الحضان بالميتاكريلات، فإنه من الضروري في الفترات الأخيرة استخدام كحول محضر حديثاً ونقي للغاية وضمن زجاجات مغلقة كلياً. يمكن التحقق من عدم حدوث أي تميّه ثانوي للكحول بوضع قطعة صغيرة من الكلس الحي *chaux vive* في أسفل الزجاجاة،

فإذا ظهر السطح غير واضح دل ذلك على تميّه الكحول من ثم لا يمكن استخدامه. وتعد هذه العملية الاحتياطية أساسية لعملية الحضان. يمكن الاستعاضة عن الكحول الايتلي بالكحول الميتيلي، الذي يمكن الحصول عليه تجارياً دون أي أثر للماء.

2- الحضان:

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- الحضان 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 الحضان:

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 الحضان:

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

- 1- ميناكريلات البوتيل-الميتيل + كحول 100 % لمدة 30 دقيقة.
- 2- ميناكريلات البوتيل-الميتيل 4% لمدة 30 دقيقة ولمرتتين.
- 3- ميناكريلات البوتيل-ميتيل + محفز من 1-12 ساعة في البرودة.

يعمد بعدها إلى الحضان 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- الحضان في الارالديت:

من مميزات الحضان 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 لـ 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 الحضان:

بعد التثبيت ونزع الماء يعتمد إلى:

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

أرالالديت 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.

- الحضان 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- الحضان 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

ميثل ناديك انهيدر 89 مل.

يحفظ كل خليط في الثلاجة وتخلط في يوم الاستخدام. وتعتمد قساوة

الحضن النهائي على نسبة الخليط A — 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 بـ:

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) ماراغلاس Mara glass :

حديث العهد، وتقرب 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 الحجم.

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. يعتمد 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 الحضان 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 قَطَّاع يدوي وقَطَّاع آلي.

يستخدم في القطع سكين زجاجية (أكثر استخداماً لرخص ثمنها)، أو ألماسية من مميزات أنها تقطع القطع الصلبة كما أنها تدوم طويلاً. يجب أن يتطلب القطع مهارة، كما أن لكان 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 ملم²، 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% للأيون 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 والايون 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 ميكرونأً بسماكة قضبان 50 ميكرونأً.

4- تشريب المقاطع الدقيقة:

إن تباين المقاطع غير كاف عندما يتم الحضن بالارالدايت والايون، 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
للإيبون.

يمكن حفظ المحلول لأكثر من أسبوع.

2- محلول استيتات الرصاص ويتكون من:

- محلول أول ماءات الصوديوم 20 غ
 - تارتات مضاعف للصوديوم والبوتاسيوم 1 غ
 - ماء مضاعف التقطير 50 مل
 - محلول ثاني استيتات 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 بالاستيتات اورانيل والرصاص حسب ما يلي:

استيتات اورانيل 4 % 4 دقائق غسيل بالماء المقطر

استيتات الرصاص 4 دقائق غسيل بالماء المقطر.



الشكل (12) المجهر الالكتروني



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 بالصفحة 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 الاینوسیت 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:

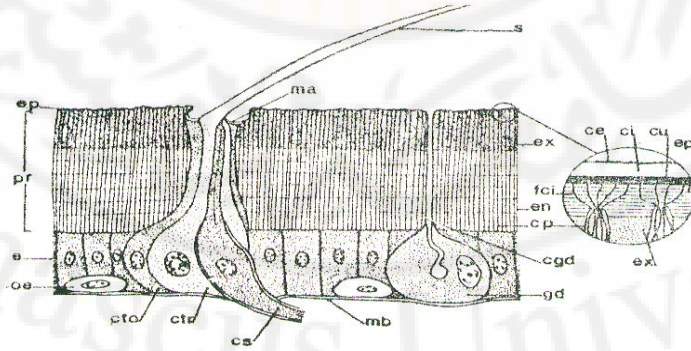
وهي الطبقة الخارجية لغطاء الجسم تفرزها خلايا البشرة، ويمكن تمييز

طبقتين رئيسيتين في الكيوتيكل:

أ- طبقة الكيوتيكل الخارجية Epicuticle

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

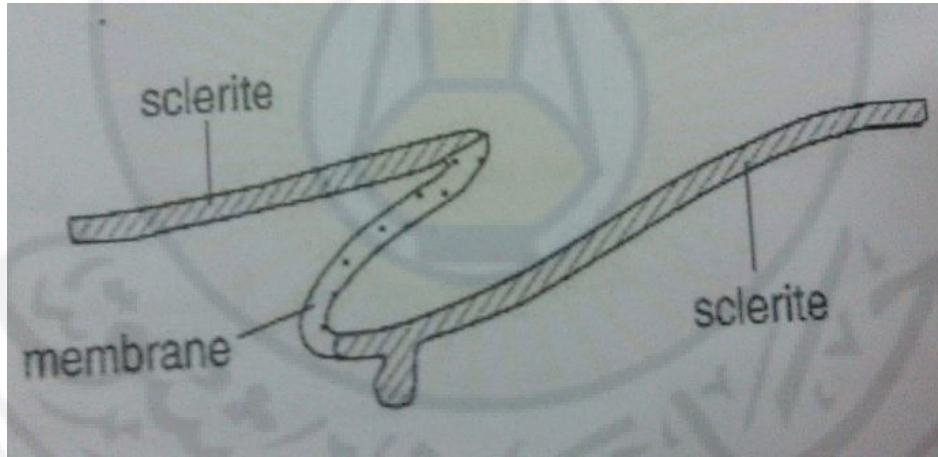
- طبقة الكيوتيكل الخارجية Exocuticle التي تتميز بوجود البروتين الملون السكليروتين وهو يعطي القساوة لهذه الطبقة وتبلغ سماكته القصوى بمستوى الصفائح ولا يكون بمستوى أغشية التمثيل.
- طبقة الكيوتيكل الداخلية Endocuticle وهي طبقة غير ملونة مرنة ومطاطية أحياناً وذلك بسبب غياب السكليروتين، وتتألف أساساً من معقد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

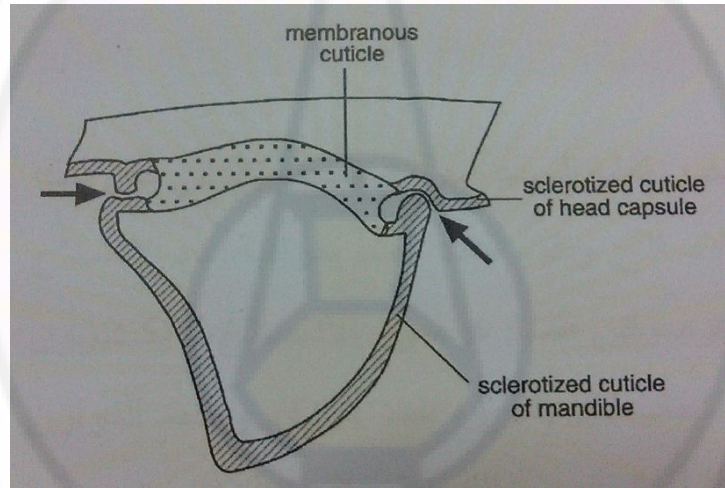


الشكل (14) يبين الغشاء ما بين الحلقي والسيكليروتين في المنطقة المخططة

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

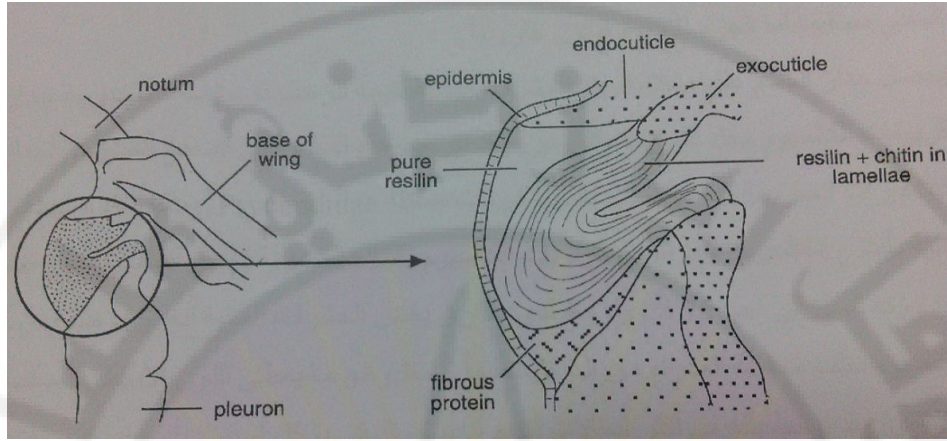
ألواناً تركيبية وتعود هذه الألوان إلى الاختلافات الناتجة عن البنية الحلقية الدقيقة الموجودة على الحراشف أو على طبقة الكيوتيكل.

- 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 السكليروتين بالمنطقة المخططة

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



الشكل (16) تفصل الجناح الأمامي عند الجراد الذي يوضح وجود الريزولين النقي

- ادرس منطقة تفصل الأرجل ولاحظ الغشاء في هذه المنطقة.
- اعمل شقاً طويلاً 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 بالخنفس حيث تصلب أكثر في هذه المنطقة.
- ادرس المحضرات الجاهزة المعطاة لك التي تبين أجزاء جدار الجسم.

ارسم المحاضرات 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 تغطي 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 تغطي من الناحية الداخلية بطبقة كيتينية يكون فيها الايبكيوتيل رقيقاً جداً، أما من الناحية الخارجية فتحاط بطبقة من الألياف العضلية وتقسم الأمعاء الخلفية مورفولوجياً إلى جزئين: جزء أمامي أنبوبي الشكل وضيق Ileum 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 طويلاً 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 مالبكي 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 الشكليين (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 المحرصة 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 والجليكوجين) 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 (جليكوجين).

- 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 Cholesterolase .

3 - البروتياز Proteases :

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

- أندوبيبتيداز Endopeptidase :

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

- الإكزوبيبتيداز Exopeptidase :

تنتهي هذه الأنزيمات الهضم، وذلك بتحلل الببتيدات 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 الإيثتر، 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 بتأن 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.

- جهاز 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.

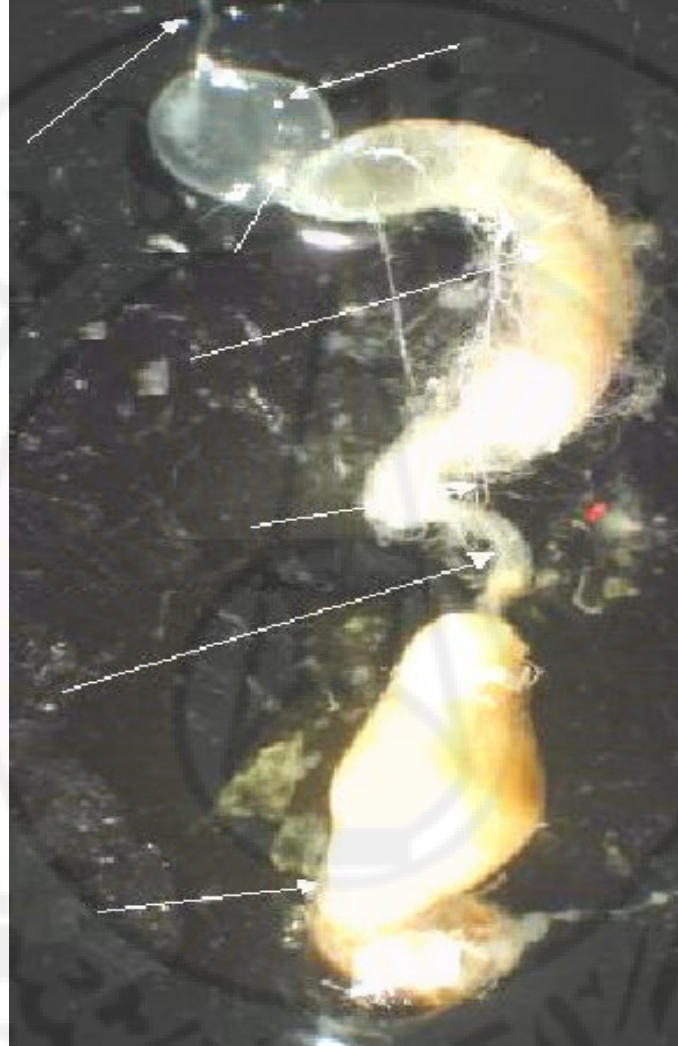
- البحث عن نشاط أنزيم الانفرتاز Invertase:

- 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 تحليل السكر 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.
 - أضيف 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 حمراء 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



الشكل (18) القناة الهضمية لدى نحل العسل
ضع اسم كل جزء من أجزاء القناة الهضمية على الرسم



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

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



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 tubules: وتلاحظ عند معظم الحشرات وهي أنابيب عمياء دقيقة تعوم داخل الدم وتكون النهاية الطرفية لهذه الأنابيب عادة 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 نحو 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 النفروسيات 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 طويلاً 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 الشكليين (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 الحصىات مختلفة الحجم.

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

- **الحالب:**

يتصل كل زوج من أنابيب مالبكي 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 مالبكي 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 ملاحظتك.
- ما هي الأعضاء الأخرى التي امتصت الملونات ...
- ادرس المحضرات الجاهزة المعطاة لك.



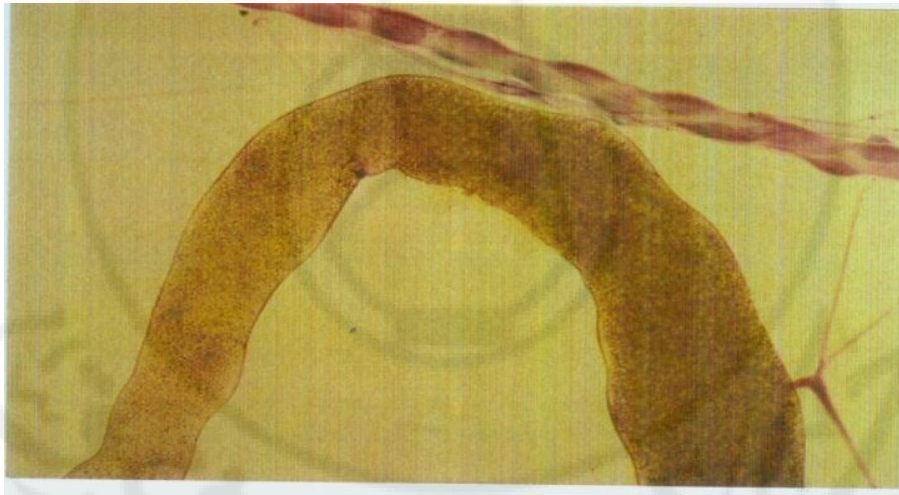
الشكل (21) لاحظ أنابيب مالبيكي لدى الصرصار



الشكل (22) لاحظ أنابيب مالبيكي لدى الجراد



الشكل (23) يرقة الذباب لاحظ أنابيب مالبيكي



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

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

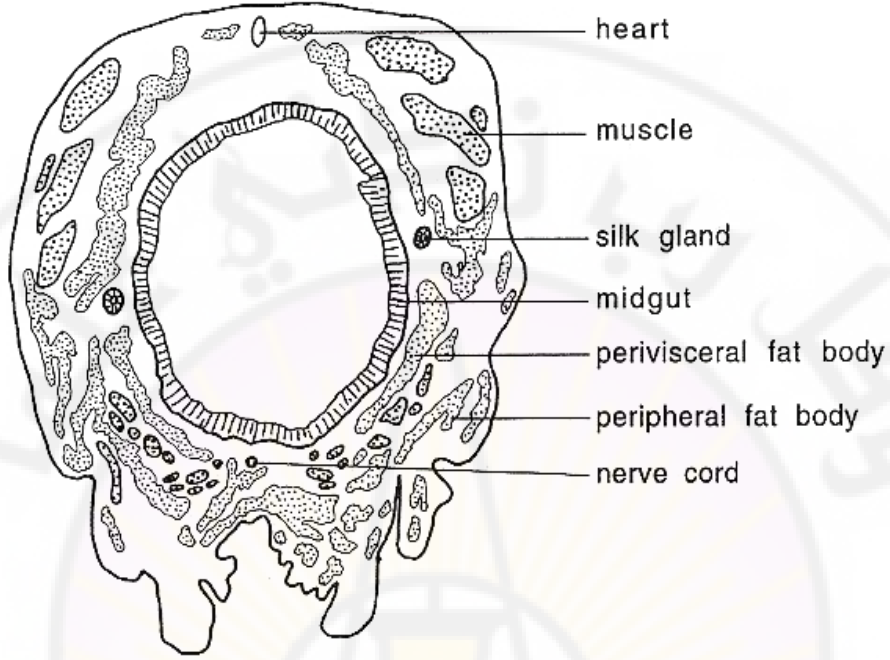


الجسم الدهني Fat Body

يُسهم الجسم الدهني إسهاماً رئيسياً ومهماً في فيزيولوجيا الحشرات حيث يتم فيه الكثير من مراحل الاستقلاب الوسيطة منها الأساسية، 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 طويلاً بمنتصف الظهر من الخلف وباتجاه الرأس واغمر الحشرة بالمحلول الفيزيولوجي.
- ادرس الجسم الدهني، ولاحظ توزيعه 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 متقبة، وقد تكون خلايا الجسم الدهني منفصلة فيما بينها وموجودة في الدم.

- لاحظ وجود طبقتين للجسم الدهني الطبقة المحيطة والتي تقع تحت جدار الجسم مباشرة، والجسم الدهني الحشوي يحيط بالأنبوب الهضمي كثيراً ما يكون 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 البويض 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) توزيع 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



الجهاز العضلي Muscles

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

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

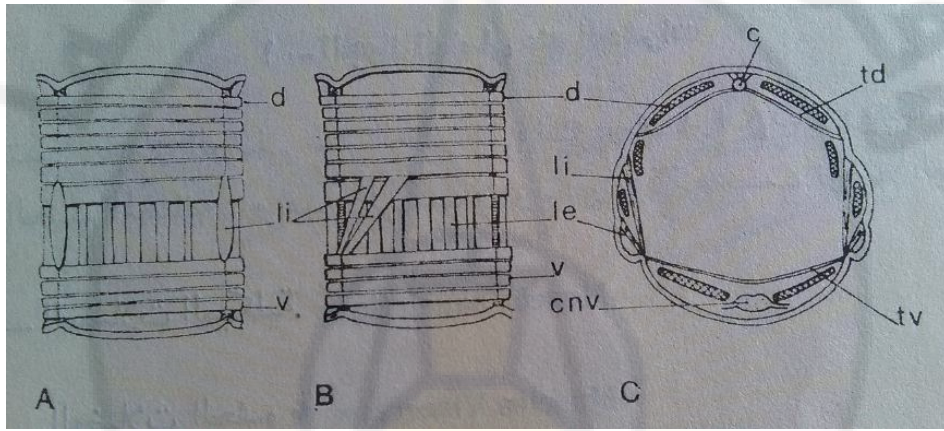
2- **العضلات الحشوية Visceral muscles**: وتغطي هذه العضلات الأعضاء الداخلية عموماً، وقد تتكون طبقة منتظمة من الألياف العضلية الطولية والدائرية حول الجهاز الهضمي، ويمكن لهذه العضلات أن تتشعب مشكلةً شبكة غير منتظمة كما هو الحال عند عضلات القونصة لحشرة Calliphora.

دراسة الجهاز العضلي عند الحشرات:

- بعد التخدير تُبَتَّ الحشرة في الطبق البتري حسب الطريقة المتبعة.
- اعمل شقاً طويلاً 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:

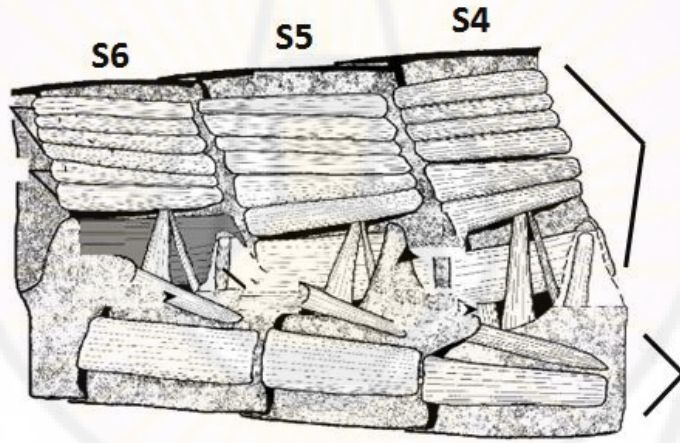
تمتد على طول الحلقة وترتبط بالطيات بين الحلقة أو بمنطقة Antecosta لحقتين متتاليتين، وذلك عندما تتصلب طبقة الكيوتيكل.

2- عضلات عرضية Transectal muscles:

وهي عضلات داخلية مقارنةً بالعضلات السابقة وهي عضلات الحجاب

الحاجز الظهري والبطني في جهاز الدوران.

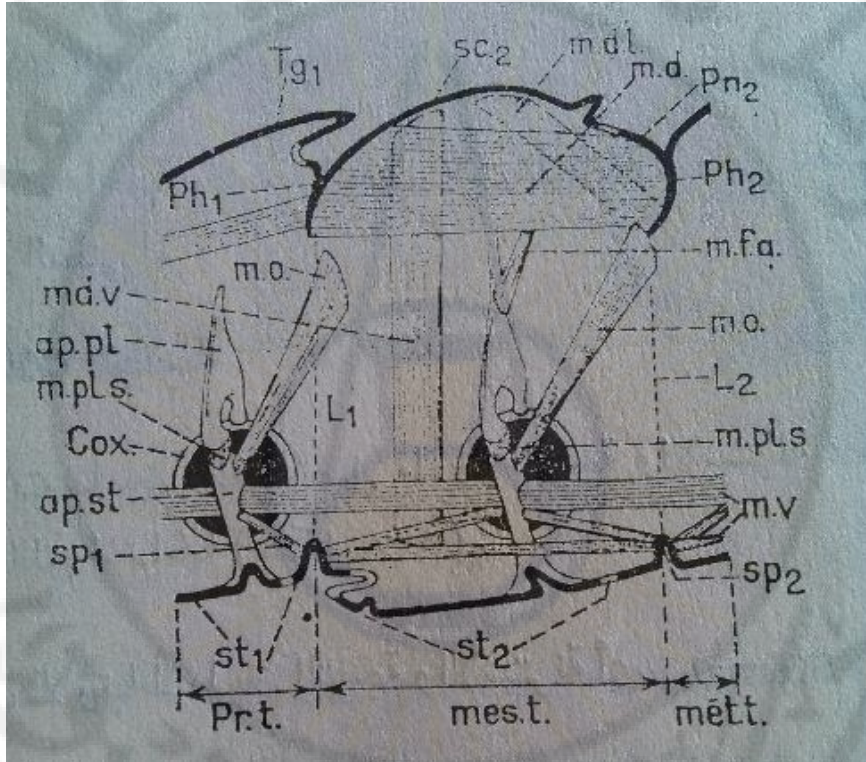
أما العضلات الجانبية فهي عضلات بين حلقية تصل ما بين الترجة والاسترنة، وقد تبدي بعض الاختلافات في مناطق ارتباطها الشكل (29).
عادةً يكون الارتباط ما بين الترجة والاسترنة Tergo-Sternal أو ترتبط بين الترجة والبلورا Tergo-Pleural أو بللورية استرنية Pleuro- Sternal.
وتتوضع بعض العضلات الجانبية بمستوى الطيات 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 وأجزائها.
- ادرس اللوحات المعطاة لك التي تبين الدراسة فوق التركيبية للجهاز العضلي.



الشكل (30) منظر جانبي للعضلات الصدرية لدى الحشرات

اكتب أسماء هذه العضلات

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 Stomodaeal nervous system ، والجهاز العصبي السمبتاوي البطني Ventral sympathetic system.

يستقبل المخ النبضات المحرصة 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 عقدة واحدة، وتتصل العقد العصبية الموجودة في السلسلة بحبل عصبي مزدوج (الشكل 32).

يحتوي الجهاز العصبي السمبثاوي المعوي على عقدة عصبية جبهية Frontal 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 السمبثاوي البطني 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.

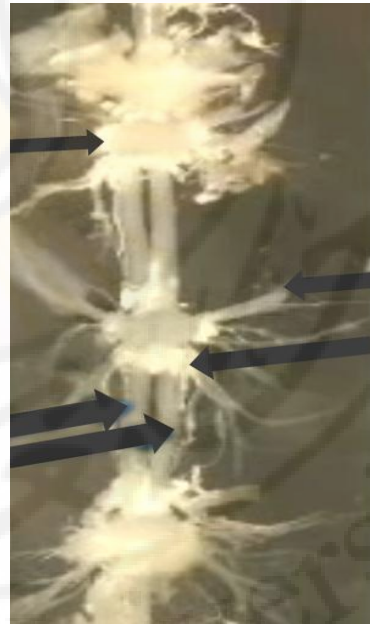
دراسة الجهاز العصبي عند الحشرات:

- بعد التخدير ثبت الحشرة في الطبق البتري حسب الطريقة المتبعة.
- اعمل شقاً طويلاً 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 طويلاً في الرأس بمساعدة المشروط 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



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 قصيبية طويلة جانبية، كما أن هناك ارتباطات جانبية تجمع السوق القصيبية 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.

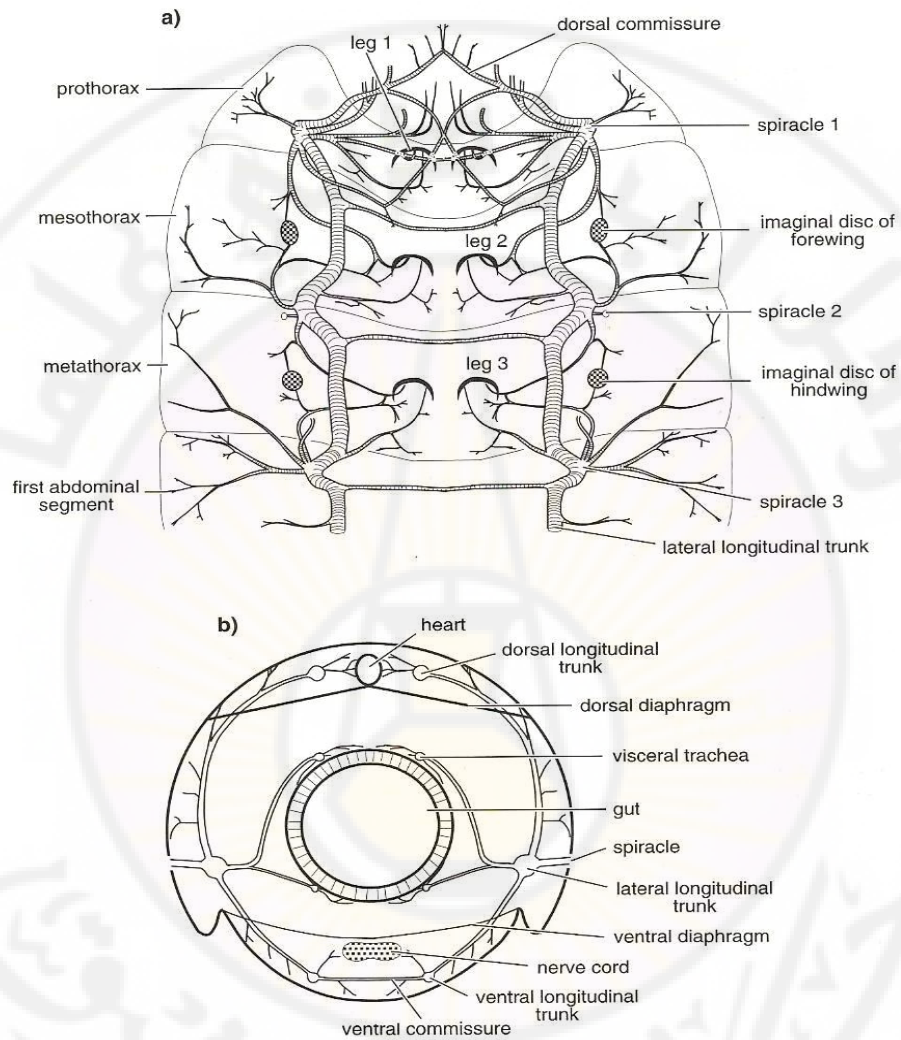
تتألف القصبة الهوائية من طبقة من الخلايا الطلائية ترتكز على غشاء قاعدي من الخارج وتحاط من الداخل بطبقة كيتينية تتصل هذه الأخيرة

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- القصبيات الهوائية **Tracheoles**: تتشعب القصبات الهوائية مرات عديدة فتصبح في كل مرة أكثر دقةً وتتداخل بين مختلف الأعضاء قبل أن تنتهي بمجموعة من القصبيات القصيرة وتنتهي هذه القصبيات بخلية يطلق عليها اسم خلية القصبيات الهوائية أو الخلية النجمية، وتغلف القصبيات 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).

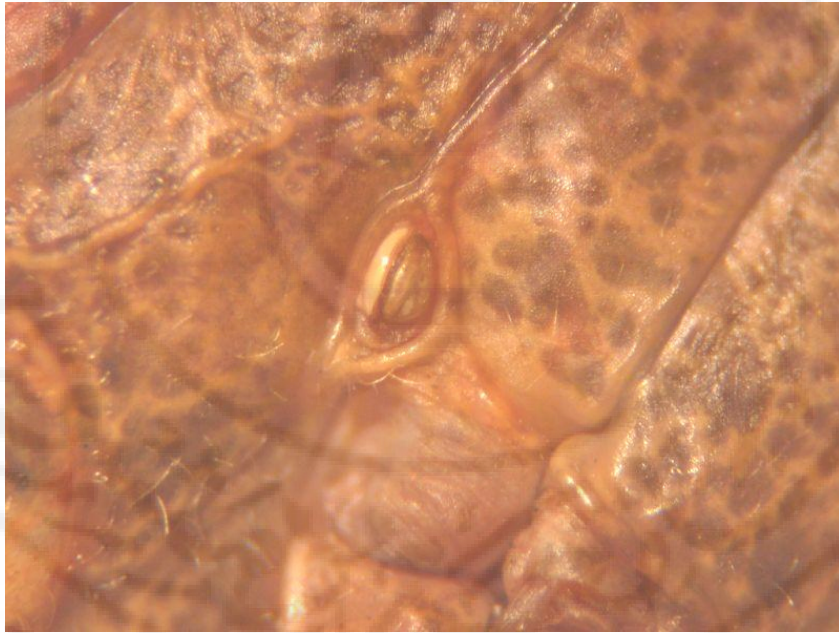


الشكل (33) جهاز التنفس لدى الحشرات آ- منظر ظهري ب- مقطع عرضي في الجسم
(Snodgrass, 1935)

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 طويلاً بمنتصف الظهر من الخلف وباتجاه الرأس، واغمر الحشرة بالمحلول الفيزيولوجي.
- لاحظ القصبات الهوائية المرتبطة على نحو 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 الشغور التنفسية والقصبات الهوائية والأكياس الهوائية داخل جسم الحشرة.
- ادرس المحضرات الجاهزة المعطاة لك.



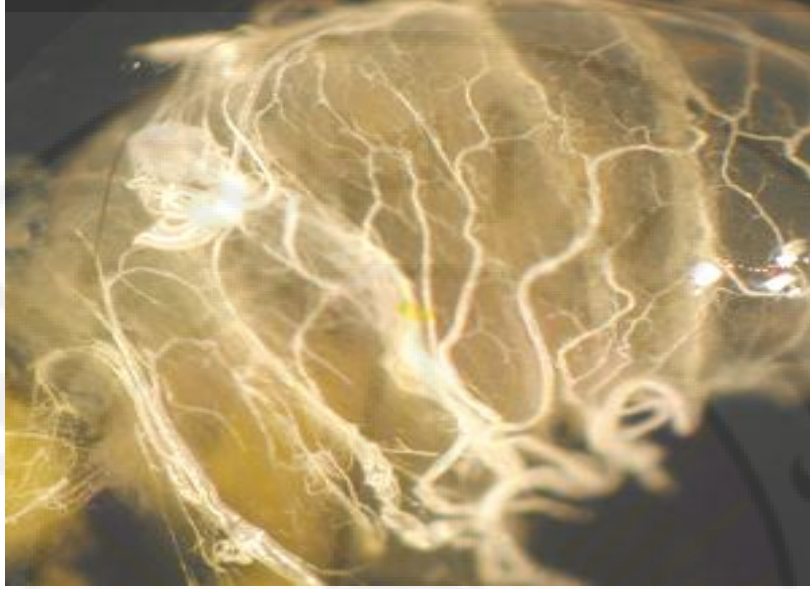
الشكل (34) الشغور التنفسي لدى الجراد



الشكل (35) الشغور 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 لتوزيع الشغور التنفسية والقصبات الهوائية والأكياس
الهوائية داخل جسم الحشرة



جهاز الدوران Circular System

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

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

تركيب جهاز الدوران:

يتركب جهاز الدوران من الأجزاء الآتية:

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

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

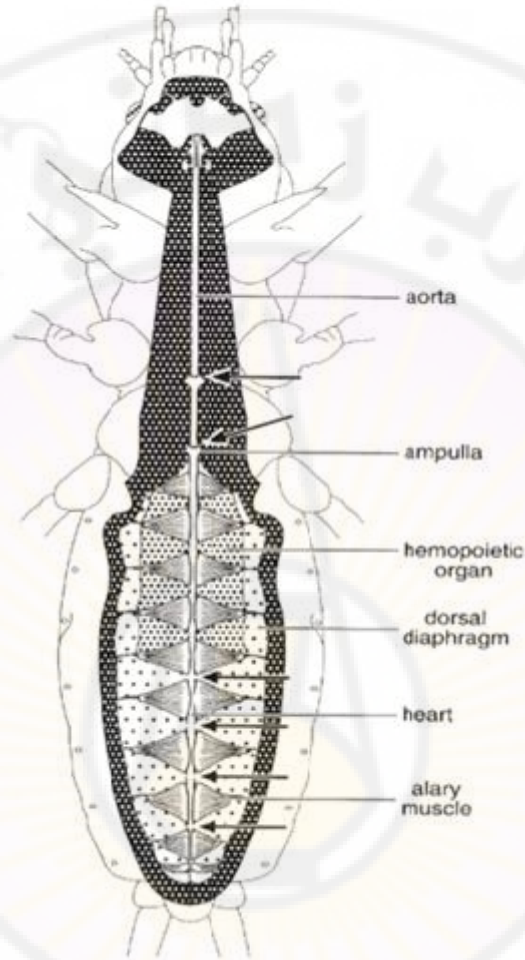
2- الحجاب الحاجز الظهرى والبطنى: يوجد الحجاب الحاجز الظهرى Dorsal diaphragm تحت القلب وأغلب ما يلتصق به ويرتبط من الناحية الجانبية بالصفائح الترجية ويتكون بذلك التجويف الجار قلبى Pericardial sinus

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

بعض الرتب الحشرية مثل الرعاشات، مستقيمت 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:

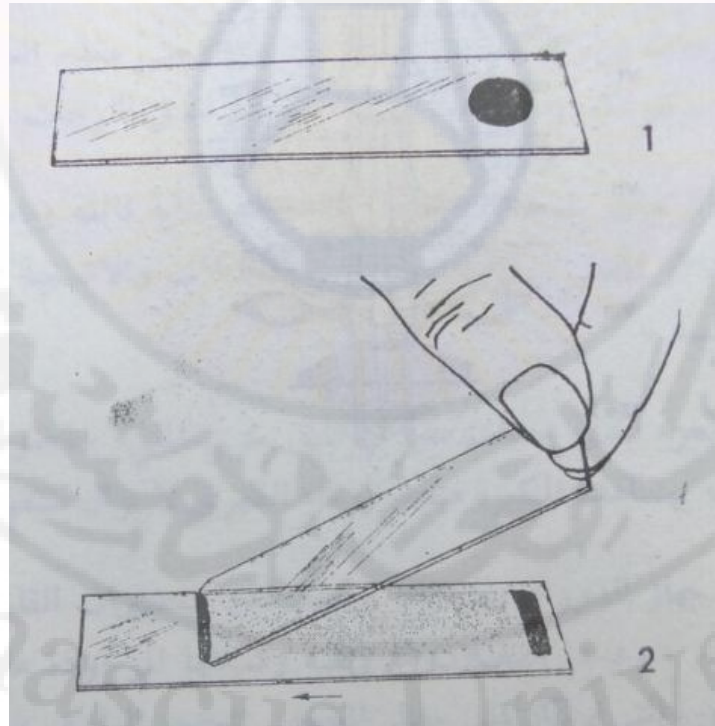
- قص الأرجل والأجنحة، وثبت الحشرة في الطبق البتري.
- لاحظ قبل البدء بالتشريح الشكل العام للقلب، وذلك من خلال ترجات البطن حيث يبدأ من مؤخرة البطن وحتى منطقة الصدر الأول.
- لاحظ أن النهاية الخلفية للقلب ضيقة ومغلقة، إضافة إلى أن قطر الوعاء الظهري (القلب) غير ثابت، وسبب ذلك هو وجود حجيرات القلب المتتالية والتي يفصل 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 وبغناية فائقة، ويمكن استخدام المشرب 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.

- مَيِّز 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، ويغطي بالساترة.
- أما في حال استخدام العدسة الغاطسة فلا نستعمل الساترة.
- طريقة تحضير صبغة Leishman:
- ضع 1.5 غ 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^ـ - محلول الصبغة ويتألف من:

- مسحوق صبغة جيمسا 3.8 غ
- الكحول الميثيلي 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.

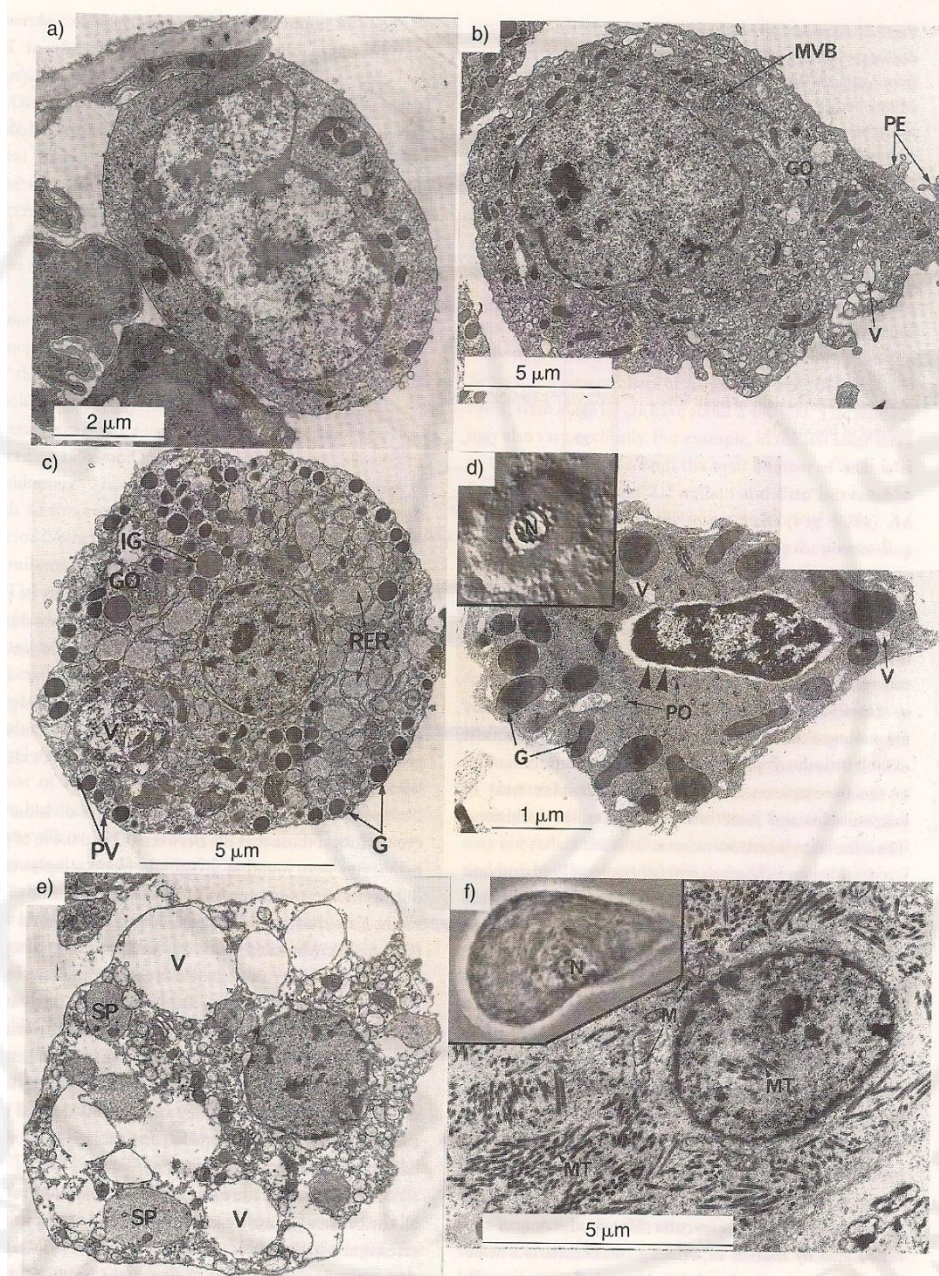
2^ـ - محلول لتخفيف الصبغة ويتألف من :

- 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 Parthenogenesis 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 القنوات 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.

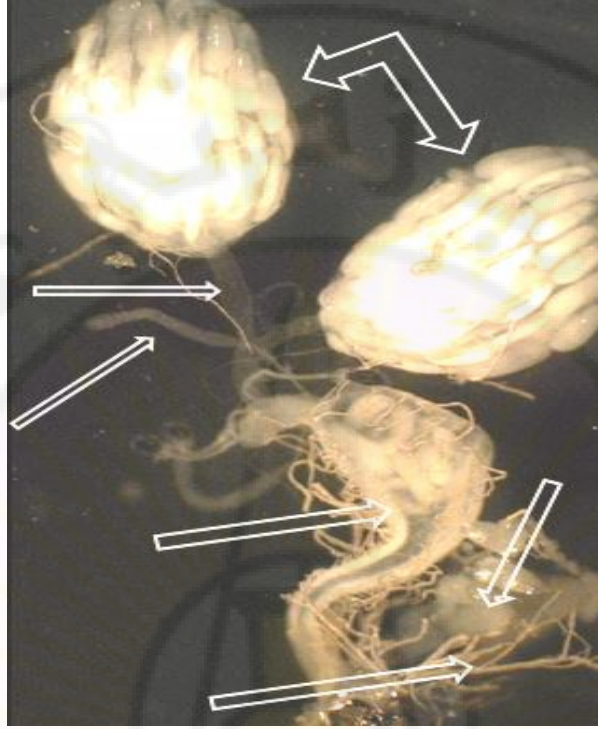
3- الغدد المساعدة Accessory glands: يختلف منشأ الأدوار المختلفة للغدد المساعدة التناسلية حسب نوع الحشرة فقد تنشأ من المهبل أو من الحجرة التناسلية أو قد تكون امتداداً للطرف البعيد للقناتين الجانبيتين.

4- المخزن المنوي Spermathica: وهو كيس يخزن الحيوانات المنوية من وقت التساقد حتى نضج البيوض وقد يفتح المخزن المنوي (القابلة المنوية) في الحجرة التناسلية مباشرة 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.

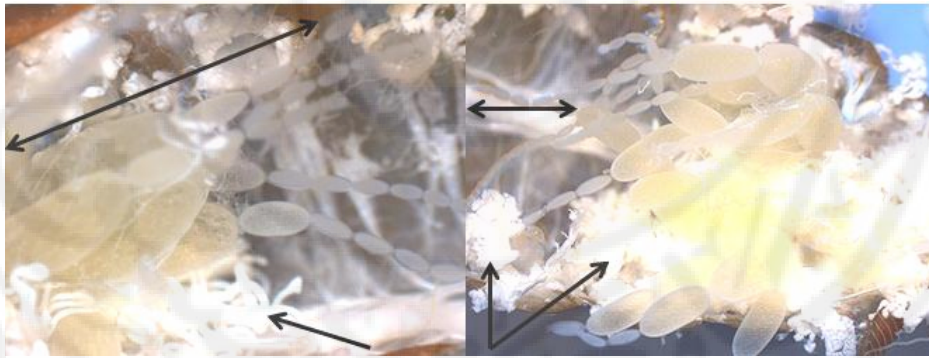
- حدد المبيضين، ولاحظ أن كل مبيض يتألف من عدد من الأفرع المبيضية تحتوي على البيض بأحجام مختلفة، ولاحظ خيط التعليق لكل مبيض الشكليين (45 و 46).
- لاحظ قناتي المبيض الجانبيتين وتصب فيها الأفرع المبيضية كافة للمبيضين.
- لاحظ القناة المشتركة أسفل المستقيم والمهبل أو الحجرة التناسلية وتنتهي بالفتحة التناسلية.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



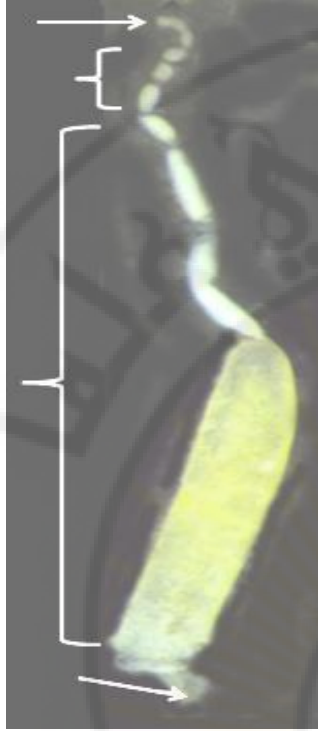
الشكل (43) الجهاز التكاثري الأنثوي لدى الصرصار. ضع المسميات على الشكل



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 نحو غير تام، وقد تلتحم الخصيتان فيما بينها البعض لتشكل 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 deference، 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

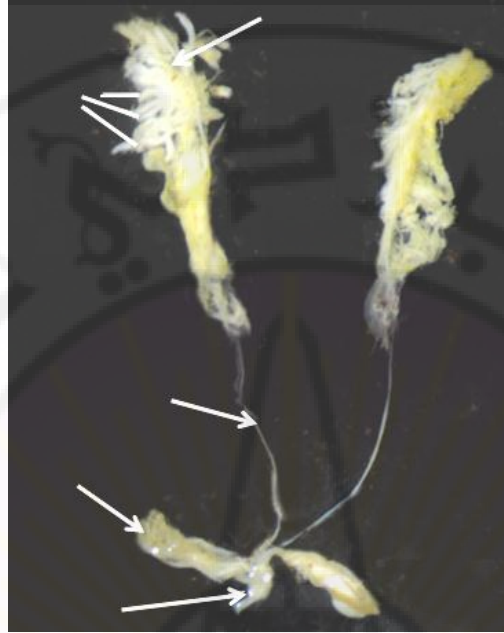
تصب القنوات الناقلة مباشرة إلى الخارج دون أن تشكل قناة قاذفة.

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 المتميزة مورفولوجياً وهي تفرز

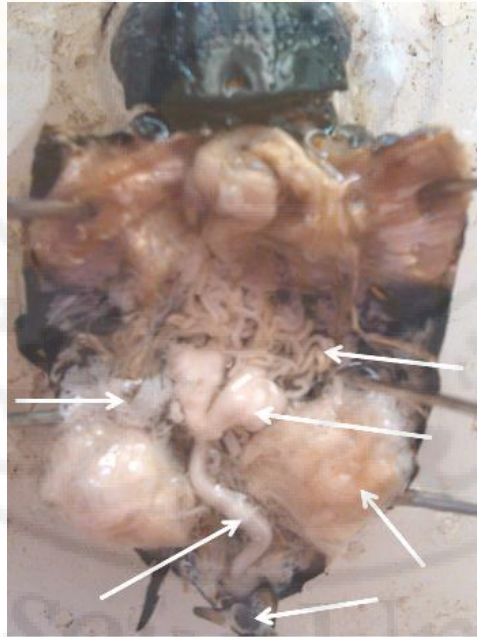
عدداً من المفرزات المختلفة. تفتح قنوات الغدد المساعدة إما في القناة القاذفة وإما في القناة الناقلة. الشكلين (47 و 48).

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 الأنبيب 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 التنكاثري الذكري لدى الجراد. ضع المسميات على الشكل



الشكل (48) الجهاز التنكاثري 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



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 ويسهم 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 الجسم الدهني للعذراء بشكل حبيبات بروتينية، ومن ثم تتحطم لتزود 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 (Vg) Vitellogenin، 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 أو الببتيدات 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، الفيتامين A، المواد الكاروتينية والريبوفلافين إلى داخل البويضة، وتتحد الكريات الصغيرة الناتجة معاً لتؤلف كريات بروتينية كبيرة وتستقر في البويضة بشكل مح البيضة أو ما يدعى (Vn) Vitellin، 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:

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

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 كل 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 تثقل 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). المثقلة

3- فصل نواتج الاستخلاص:

يتم فصل نواتج استخلاص البروتينات بالرحلان الكهربائي العمودي بطريقة SDS page في هلامة متعدد الأكريلاميد 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 الهلامية 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

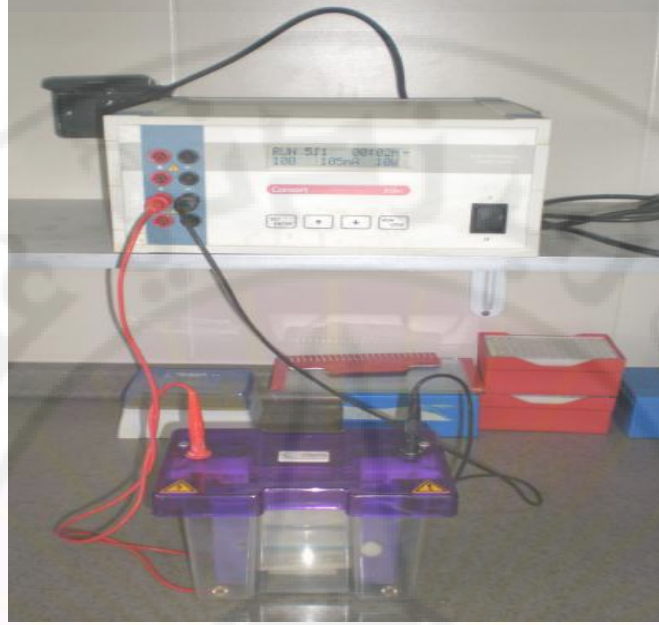
ومن ثم يتم إزالة التلوين بإجراء عدة حمامات بمحلول إزالة تلوين الهلامية المكون من:

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 الهلامية

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 وتُخزّن 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 لأنّ العذراء في هذا الطور لم تستهلك بعد أيّاً 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 إنّ كمية البروتينات الموجودة في دم بعض الحشرات تنقص وذلك خلال مرحلة العذراء (الشكل 52).

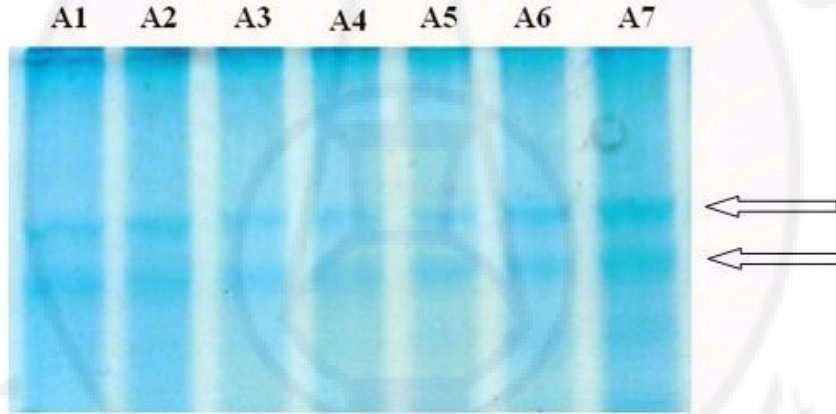
L1 L2 P1 P2



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

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).

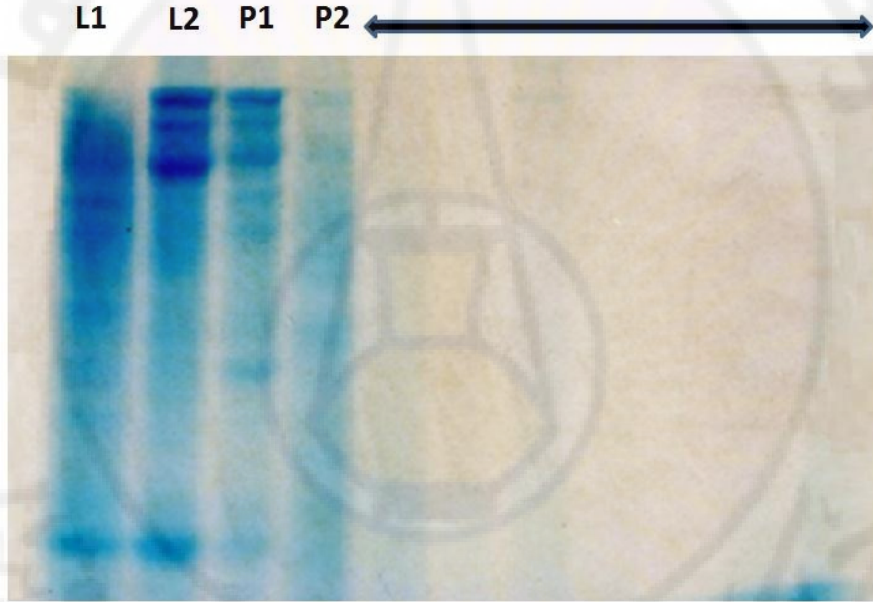


الشكل (53) البروتينات الموجودة عند الحشرات الكاملة لإناث دبور ثمار اللوز. A1-A7- الإناث بعمر يوم وحتى سبعة أيام

2- الأطوار الذكرية:

لا تكون البروتينات إلا بكميات قليلة في اليرقة بالمر 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 وتخفي 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 الهلابة 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 وُجد 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 المخ، 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 المعلومات الجزيئية Molecular Markers في دراسة وتحليل التنوع الوراثي خاصة أن المعلومات الجزيئية تكون ثابتة ومستقلة بيئياً، لذلك تبدو أكثر تفضيلاً من قبل الباحثين في دراسة النشوء، ولكشف الاختلافات الوراثية بين المجتمعات، وقد تم تطوير المعلومات الجزيئية للحمض الريبسي 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 المعلومات الجزيئية للحمض الريبي النووي منقوص الأوكسجين DNA، وخاصة تلك المعتمدة على تقانة التفاعل التسلسلي البوليميرازي PCR (Polymerase chain reaction)، وتستخدم المعلومات الجزيئية لإجراء تضخيم DNA قد ازداد استخدامها في التحاليل الوراثية المتنوعة، ومنها تقنية تكراريات السلاسل البسيطة (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 للتتابع 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 الأكريلاميد، 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 نحو 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 نحو 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 لمعلومات ISSR فقد استخدمت هذه التقنية من المعلومات 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 هلامية 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 كفاءة 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 التثقيل بعدها على الدرجة 4°م وبمعدل 10000 دورة/دقيقة ولمدة 5 دقائق.

- بعدها تنقل المادة الطافية إلى أنابيب جديدة، ويضاف لها حجم مماثل من الايزوبوتانول، وتحفظ على الدرجة -20°م لمدة ساعة.

- توضع الأنابيب في المثقلة لمدة 10 دقائق و10000 دورة/دقيقة على الدرجة 4°م.

- ثم يوضع السائل الناتج في أنبوب، ويضاف الايتانول 70% ويتم التثقيل لمدة 10 دقائق على الدرجة 4°م، وبمعدل 12000 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.

- تُقدَّر 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 تركيز 0.8 %، 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

درجة حرارة الالتحام °م	التسلسل النكليوتيدي 5' ⇌ 3'	رمز البادئة
50	AGAGAGAGAGAGAGAGT	1
52	GAGAGAGAGAGAGAGAC	2
50	CACACACACACACACAA	3
52	CACACACACACACACAG	4
50	ACACACACACACACACT	5
56	GAGAGAGAGAGAGAGACG	6
54	TCTCTCTCTCTCTCGA	7
54	TCTCTCTCTCTCTCAG	8
56	ACACACACACACACGG	9
42	CTTCA CTTCA CTTCA	10
48	GGAGA GGAGA GGAGA	11
70	CATCATATACATTGTCAGGTGCTAC	12
68	GTCCCATATTCAACTGTGTAAAGT	13
56	CCAGGTGTGTGTGTGTGT	14
50	GTGTGTGTGAGAGAGAGA	15
52	ACACACACACACATATAT	16
50	KVRTGTGTGTGTGTG	17
56	CCTCTCTGTGTGTGTG	18

حيث توضع الأنابيب في جهاز التدوير الحراري Thermocycler

بحيث يكون الحجم النهائي في أنبوب التضخيم 25 ميكروليتر تتضمن 12.5

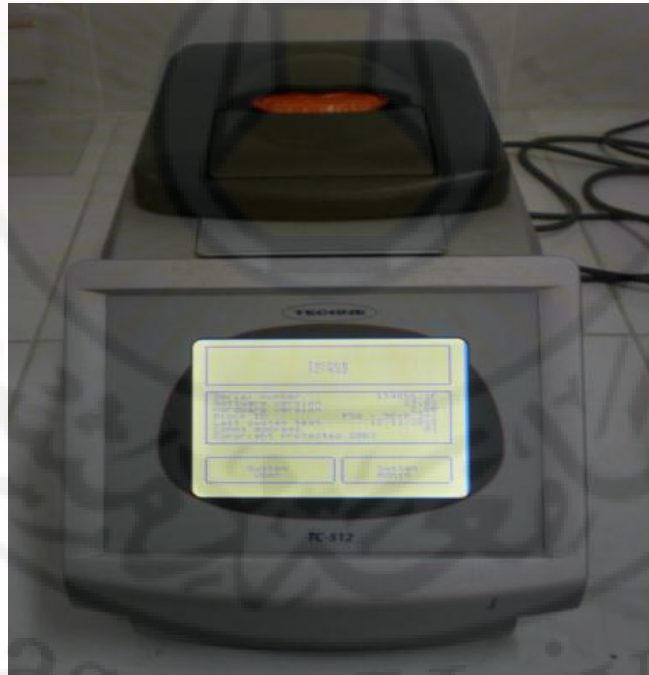
ميكروليتر Master Mix ، 8.5 ميكروليتر ماء مقطر معقم، 2 ميكروليتر مأخوذة من DNA بتركيز 40 نانوغرام/ ميكروليتر، و2 ميكروليتر من البادئة المستخدم (10 μ M)، ويتم إتباع البرنامج التالي لمراحل عملية التضخيم:

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



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، وتنظم الجداول لكل بادئة على انفراد، وجداول تبين الحزم التي أعطت تعددية شكلية والنسبة المئوية للتعددية الشكلية بين العينات المدروسة لكل جنس على حدة 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 arithmetic averages) UPGMA وباستخدام برنامج Popgene32 الإحصائي.

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 Disagreement 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 لمعطيات 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

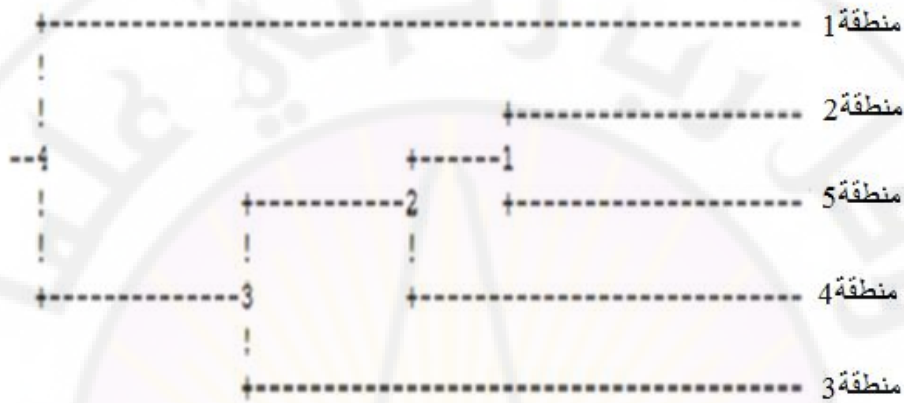
♀	منطقة 1	منطقة 2	منطقة 3	منطقة 4	منطقة 5
منطقة 1	0				
منطقة 2	<u>0.2955</u>	0			
منطقة 3	0.2800	0.2202	0		
منطقة 4	0.2497	0.1639	0.2348	0	
منطقة 5	0.2800	<u>0.1105</u>	0.1503	0.1236	0

2-1-1 - 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 توزيعها الجغرافي، ويلاحظ من الشكل (60) أن الإناث قسمت إلى مجموعات عكست درجة القرابة الوراثية فيما بينها بناءً على بيانات المعلومات الجزيئية التي قامت بتمييز إناث المناطق المدروسة وذلك على المستوى الجزيئي وذلك وفق الجدول السابق.

قسمت الإناث في مجموعتين رئيسيتين 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 بتركيز 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 بتركيز 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 مكافحة 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 كرسى (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

اللاحقة	الاسم	الصيغة	الزمرة الوظيفية
- أول	هيدروكسي	-OH	الكحول
- آل	الفورميل	-CH=O	الألدهيد
- أمين	الأمينو	-NH ₂	الأمين
- أوك	كربوكسي	-COOH	الحمض الكربوكسيلي
- أوات	ألكيل أوكسو كربونيل	-COOR	الإستر
- أون	أوكسو	>C=O	الكيتون

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 بتركيزات كبيرة تغطي 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 الميثيلين، الايثان.
- 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 Polydimethyl siloxane (supelco) على جسم الحشرات، أو لجمع المواد المتطايرة في الهواء وتكون في جسم الحشرة.
- استخلاص الفرمونات باستخدام مواد الادمصااص 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 نحو كبير والعمل على تحديد تركيبها بما يفيد في استخدام المصنع القياسي لهذه الفرمونات للاستفادة منه في مكافحة الحشرات.

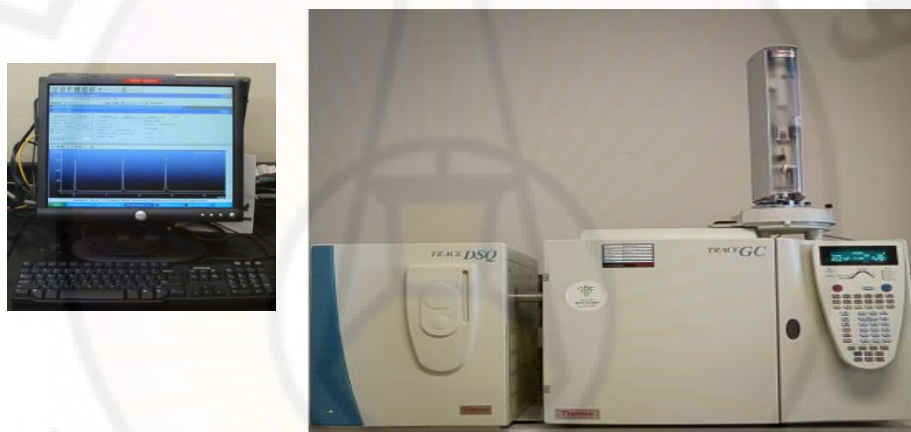
1- استخلاص الفرمونات الجنسية:

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 الفرمنونات الجنسية باستخدام الكروماتوغرافيا الغازية - مطياف الكتلة GC-MS:

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



الشكل (61) جهاز الكروماتوغرافيا الغازية GC- MS

يجرى التحليل وفق المراحل الآتية:

1- حقن العينة Intrace :

يتم حقن العينة بواسطة syringe 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 للإلكترون EI (Electron Impact Ionization) مع طاقة للإلكترون تعادل 70ev والتيار كهربائي بشدة 200 ميلي أمبير. في هذه العملية ونتيجة قذف الإلكترونات باتجاه الجزيئة المتعادلة كهربائياً يتم تحويلها إلى شظايا مشحونة ايجابياً (أيونات) نتيجة إزالة الإلكترونات 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

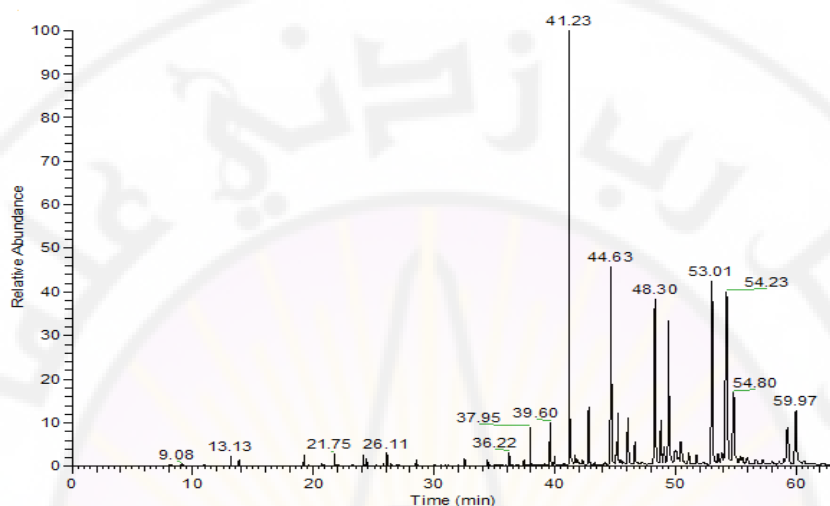
قيمة منخفضة إلى قيمة مرتفعة، بعدها يتم جمع الأيونات وتحويلها عبر شق ضيق إلى الكاشف، وهذا يحدث عدة مرات في الثانية وكل دورة تدعى Scan ويقوم الحاسب بعمل رسم بياني لكل مسح حيث يمثل المحور الأفقي قيمة m/z ، أما المحور العمودي فيمثل وفرة كل شظية تم التعرف عليها ويسمى هذا الرسم .Mass spectrum

4- الكاشف Detector:

يتألف من الكتروود كهربائي عالي الطاقة، تتجذب الأيونات الموجبة التي خرجت من Quadrupole إليه مما يؤدي إلى قذف الكترونات تختلف كثافتها باختلاف تركيز الأيون، وهذه الالكترونات تولد تياراً يؤلف إشارة 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 (RT) Retention Time، 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 (TIC) Total Ion Chromatogram (الشكل 62).



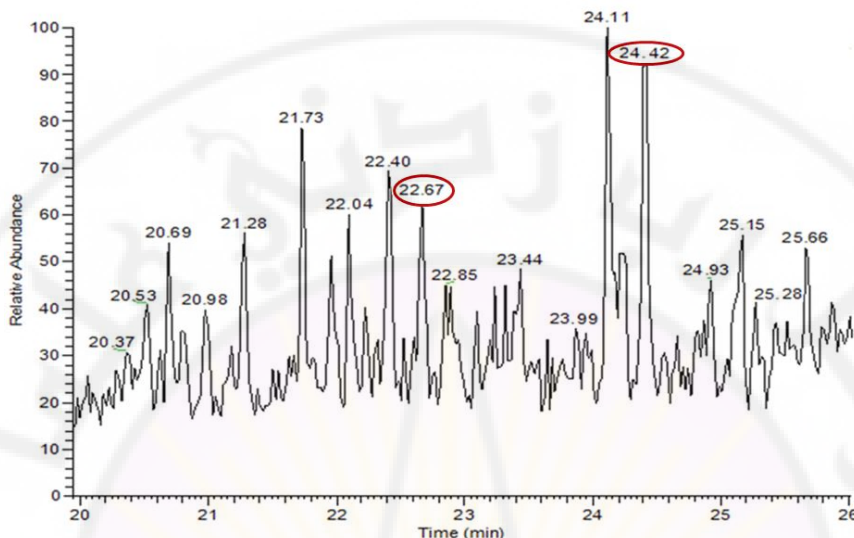
الشكل (62) طيف الكتلة Chromatogram خلال الزمن الكلي للتحليل (60 دقيقة)

يستخدم برنامج Software في تحليل العينات وهو X-Calibur. يتم تعريف كل مركب بالاعتماد على نموذج التشطي 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 (C_nH_{2n+2}) ، أما الألكينات فهي هيدروكربونات غير مشبعة وصيغتها العامة (C_nH_{2n-2}) ويمثل الجدول (7) بعض الألكانات والألكينات وطول السلسلة الكربونية المرادفة.

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

المركب	ECL
الألكانات alkanes	
Nonadecane	19
n-Heneicosane	21
n- Docosane	22
n-Tricosane	23
3-Methyl tricosane	23.69
n-Tetracosane	24
Pentacosane	25
11-Methyl pentacosane	25.28
3-Methyl pentacosane	25.73
11-13-Methyl heptacosane	27.38
الألكينات alkenes	
5-Tricosene	22.87
n-Tetracosene	24
5-Pentacosene	24.87
1-Pentacosene	24.90
9-Hentriacontene	30.68

ويلاحظ في أثناء تحليل الفرغونات انفصال معظم المواد خلال زمن معين يعادل تقريباً نصف الزمن الكلي، لذلك يجب التركيز على المواد التي انفصلت خلال هذه المدة ولوحظ وجودها على نحو 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

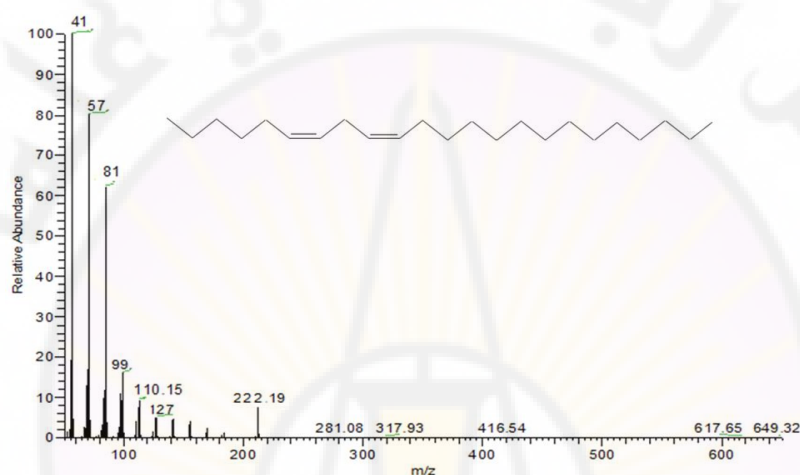
ومن خلال الكشف عن طيف الكتلة Mass Spectrum للمادتين اللتين انفصلتا في الزمن (22.67 و 24.42) دقيقة، وكان طول السلسلة المرادفة لهما (22.62 و 24.63) على التوالي، يتبين أنهما عبارة عن هيدروكربونين غير مشبعين من مجموعة دي إن (dien) حيث تشير (en) في التسمية إلى الرابطة المضاعفة، أما (di) فتشير إلى اثنين ومن ثم يكون المركب من هذه المجموعة ذا رابطتين مضاعفتين، حيث أن موقعي هاتين الرابطتين يكون عند الكربونين 6 و 9 وتتوضع هذه الروابط المضاعفة ($=CH_2$) 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 pentacosadiene [(Z,Z)-6,9-C25:2] - 2

ويمثل الشكل (64) طيف الكتلة mass spectrum للمركب [(Z,Z)-

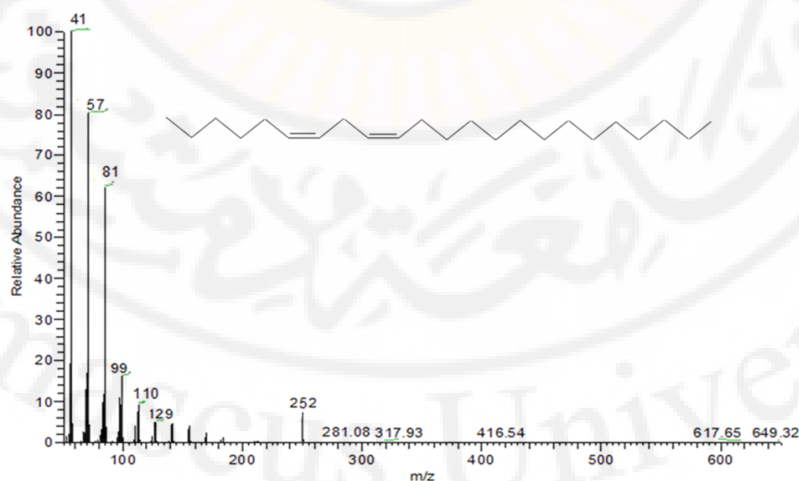
6,9-C23:2]



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

كما يمثل الشكل (65) طيف الكتلة mass spectrum للمركب

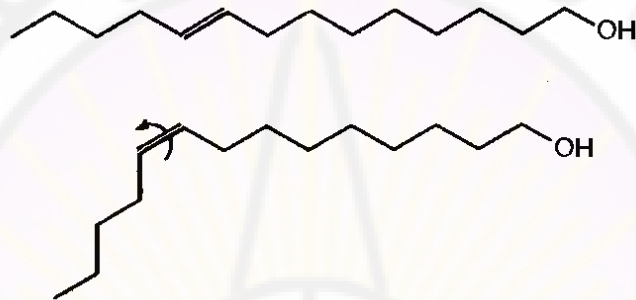
[(Z,Z)-6,9-C25:2].



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



يدعى المكون الأصغر لفرمون حشرة *H. electellum*:

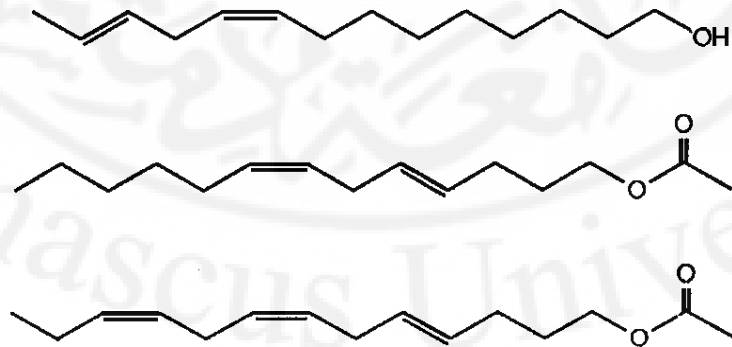
(Z,E)-9,12-tetradecadien-1-ol Volatile effluvium

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,





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	الأسيتيل كولين
Acetylcholine esterase	أنزيم أسيتيل كولين إستيراز
Acone	وحدات بصرية عديمة المخروط
Acron	زوائد فموية
Action potential	جهد العمل
Adepo kinetic hormone	هرمون الأديبو كينيتيك
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 الانتوينيكاز
Allantoinase	أنزيم الانتوينياز
Allatostatin	ألاتوستاسين
Allatotropin	ألاتوتروبين
Alternation of generations	ظاهرة تعاقب الأجيال

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

	النجمية
Tracheoles	القصبيات
Tract cell	خلايا من النوع الضام
Transceral 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	التريپسين
Tubular body	الجسم الأنبوبي
Tubular muscles	العضلات الأنبوبية
Tympanal organs	الأعضاء الطبالية السمعية
Tyrosinase	أنزيم التيروسيناز
Tyrosine	التيروسين
-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 العنبي البطني
Ventral Sympathetic System	الجهاز العنبي السمبتاوي البطني
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 دمشق 1987.
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 نسرین قطيش: فيزيولوجيا الحشرات- مطبوعات جامعة دمشق 2012.
12. الدكتورة روضة سكر غالي: دراسة الاختلافات الوراثية لحشرة دبور ثمار اللوز في سورية واستخلاص الفرمانات الجنسية لاستخدامها في مكافحة 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*. Reindarstellung und Konstitutionsermittlung. *Zeitschrift fur Naturforschung* 14b:283-284.
- Caveney, S. 1969. Muscle 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 morphologique) *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 Physiology, Biochemistry and Pharmacology*. Pergamon 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. Ultrastructure 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 *Corproa allata* by extracted locust brain allatotrophic 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 Society of London B*, 243, 75-94.
- Gregory, G. E. 1965. The formation and the fate of the spermatophore in the African migratory locust, *Locusta migratoria migratorioides* 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*. Harvard University 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 Review 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⁺ transporting 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 apparatus 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.
- Osborne, 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 *Calliphora*. *Tissue & 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 Chloride epithelien und osmoregulatorische Salzaufnahme durch den Enddarm von Zygopteren und Anisopteren Libellenlarven. *Journal of Insect Physiology*, 22, 875-883.
- Schwabe, J. 1906. Beitrage 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 Review 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*. Cambridge University 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 Toronto 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 London 21, 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*. Cambridge University 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 compound 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. Ecdysteroid 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.



اللجنة العلمية:

أ. د. أنور المعمار

أ. د. عبد النبي بشير

أ. د. غسان إبراهيم

المدقق اللغوي:

أ. د. عبد الكريم حسين

حقوق الطبع والترجمة والنشر محفوظة لمديرية الكتب والمطبوعات الجامعية