

## الكشف عن بعض الاختلافات الوراثية بين مجتمعات ذبابة التبغ البيضاء *Bemisia tabaci* Genn. المنتشرة على محصولي البندورة والباذنجان في البيئات المكشوفة والمحمية في الساحل السوري

أحمد محمد مهنا<sup>1</sup> وهمام شعبان برهوم<sup>2</sup>

(1) قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة دمشق، سورية، البريد الإلكتروني: AhmadMouhanna@gmx.net

(2) مركز بحوث ودراسات مكافحة الحويبة، كلية الزراعة، جامعة دمشق، سورية

### المخلص

مهنا، أحمد محمد وهمام شعبان برهوم. 2014. الكشف عن بعض الاختلافات الوراثية بين مجتمعات ذبابة التبغ البيضاء *Bemisia tabaci* Genn. المنتشرة على محصولي البندورة والباذنجان في البيئات المكشوفة والمحمية في الساحل السوري. مجلة وقاية النبات العربية، 32(1): 16-24.

يهدف معرفة الاختلافات الوراثية بين مجتمعات حشرة ذبابة التبغ البيضاء *Bemisia tabaci* Genn. المنتشرة على محصولي البندورة والباذنجان في البيئات المتنوعة في الساحل السوري، تم جمع 19 عينة من نباتي البندورة/الطماطم والباذنجان المنتشرة في الساحل السوري سواء ضمن البيوت المحمية أو الحقول المكشوفة، من مستوى سطح البحر وحتى ارتفاع 1200م، وأجري لها اختبار RAPD-PCR باستخدام 18 بادنة. أعطت البادئات 147 حزمة، منها 121 حزمة متعددة شكلياً بمتوسط قدره 11 حزمة/بادئة، تراوحت قيمة عدم التوافق Percent Disagreement Values (PDVs) بين 0.14 و 0.57، ونسبة التباين Variance ratio بين الحزم 39%. أظهر التحليل العنقودي توزع مجتمعات الحشرة في مجموعتين رئيسيتين تبعاً لارتفاعها عن سطح البحر بمتوسط تباين قدره 20.89%. إضافة لذلك انقسمت المجموعة الأولى إلى تحت مجموعتين مابين البيوت المحمية والحقول المكشوفة المنتشرة على ارتفاعات لا تزيد عن 400 م في الشريط الساحلي. أعطت البادئة P8 أعلى عدد من الحزم بلغ 28 حزمة، في حين أعطت البادئات P2 و P3 و P4 أعلى نسبة تعددية شكلية بلغت 100%. تبين وجود ارتباط ضعيف بين مجتمعات الحشرة وعائلها النباتي (بندورة وياذنجان) حيث كانت قيمة معامل الارتباط  $R = 0.09$ .  
كلمات مفتاحية: RAPD-PCR، ذبابة التبغ البيضاء، بيوت محمية، بندورة، باذنجان.

### المقدمة

(13)، وقد لوحظ ارتفاع الخصوبة عند الطراز الحيوي B على نباتات البندورة/الطماطم المصابة بفيروس تبرقش البندورة (*Tomato mottle virus*) مقارنة بالنباتات غير المصابة (17) وقد بين Rubinstein و Czosnek (22) أن خصوبة ومدة حياة حشرات ذبابة التبغ البيضاء انخفضت (دون تحديد الطراز) عند نقلها لفيروس اصفرار والتفاف أوراق البندورة *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV) (20) كما أشارت بعض الدراسات إلى اختلاف كفاءة مجتمعات الذبابة البيضاء المنتشرة على عوائل مختلفة في نقلها لفيروس *Cotton leaf curl virus* إضافة للعديد من الفيروسات التوأمية التابعة للجنس Geminivirus (25).

تعد ذبابة التبغ البيضاء *Bemisia tabaci* (Homoptera: Sternorrhyncha: Aleyrodoidea: Aleyrodidae) من أهم وأخطر الآفات الزراعية في العالم، وهي تتميز بالتكيف مع الظروف البيئية المختلفة والانتشار الواسع ومقاومتها للمبيدات الحشرية وكفاءتها في نقل الفيروسات النباتية (28). تحتل ذبابة التبغ البيضاء حالياً المرتبة الأولى من حيث الحشرات الغازية عالمياً، حيث كان لها الدور الكبير

لفهم مدى تأثير النشاط الإنساني والمتمثل باتباع الزراعات المكثفة والاستخدام الجائر والعشوائي للمبيدات الزراعية في الكائنات الحية ومنها المجتمعات الحشرية، كان لابد من دراسة وفهم التنوع الحيوي والعلاقات الوراثية بين هذه المجتمعات لتحديد مدى وكيفية انتشار هذه المجتمعات إضافة إلى إعطاء فكرة حول كيفية تطورها من حيث مؤثراتها البيولوجية ومتطلباتها البيئية، بالتالي إمكانية تصنيف هذه المجتمعات ضمن مجموعات أو أنواع محددة (7). إذ إن التصنيف الدقيق للمجتمعات الحشرية يساعد على إدارتها والحد من انتشارها الوبائي وبالتالي التخفيف من الأضرار المباشرة وغير المباشرة، وذلك من خلال زيادة كفاءة وسائل مكافحة واستخدام الأمثل منها ضد طرز محدد، أو ضد انتشاره الوبائي وضمن منطقة جغرافية محددة، حيث لوحظ أن الطراز الحيوي Q لذبابة التبغ البيضاء *Bemisia tabaci* كان أكثر تحملاً لمبيدات Pyriproxyfen و Neonicotinoids من الطراز الحيوي B للذبابة نفسها وهذا سبب انتشاره في إسبانيا بشكل كبير (6)،

والنبات العشبي Sida والثانية شملت البطاطا والباذنجان في حين انفرد نبات البندورة في المجموعة الثالثة (24)، وهذا يشير لاحتمالية تأثير العائل النباتي الذي تمثل مورفولوجياً (شكلياً) في طور العذراء بشكل واضح إضافة لوجود بعض التباينات الوراثية فيما بينها التي تبين لاحقاً أنها تباينات ليست فقط ضمن المجتمعات الموجودة على عوائل مختلفة وإنما أيضاً ضمن تلك الموجودة على العائل نفسه (14، 16، 20، 23، 24).

هدفت هذه الدراسة لمعرفة مدى التباين الوراثي بين مجتمعات الذباب الأبيض المنتشرة على محصولي البندورة والباذنجان في البيوت المحمية الموجودة على ارتفاعات لا تزيد عن 250 م عن مستوى سطح البحر وتلك المنتشرة في الحقول المكشوفة والموزعة بدءاً من مستوى سطح البحر وحتى ارتفاع 1200 متر، وكذلك تحديد درجة قرابتها وارتباطها بعوائلها، وتوزعها جغرافياً ضمن تضاريس الشريط الساحلي السوري باستخدام تقانة RAPD-PCR.

## مواد البحث وطرقه

### المسح الحقلّي وجمع العينات

أجريت خلال الفترة الواقعة ما بين منتصف أيار/مايو وبداية أيلول/سبتمبر 2011 مسوحات حقلية لحقول البندورة والباذنجان المكشوفة وضمن البيوت المحمية بدءاً من مستوى سطح البحر وحتى ارتفاع 1200 متر من 19 موقعاً تابعة للمناطق التالية: طرطوس، جبلة، اللاذقية، بانياس (جدول 1)، جمعت خلالها الأطوار غير الكاملة من حشرة ذبابة التبغ البيضاء، وذلك باختيار نبات مصاب من كل حقل، أخذت منه الأوراق السفلية حيث تتركز عليها الأطوار غير الكاملة لهذه الحشرة. لفت هذه الأوراق بقطعة من القماش المبلل، ووضعت ضمن أقفاص بلاستيكية شفافة أبعادها 10×10×30 سم مزود بفتحات للتهوية لمنع دخول أو خروج الحشرات، وذلك لحين نقلها لمكان التربية في البيت الزجاجي.

### تربية الحشرات

قبل البدء بجمع الحشرة زرعت بذور الباذنجان في صواني التشتيل وبعد بضعة أسابيع نقلت البادرات إلى أصص بقطر 20 سم تحوي على التورب المعقم، وغطيت بإحكام بأقفاص بلاستيكية شفافة أسطوانية الشكل مصنوعة من البلاستيك القاسي ومزودة بثلاث فتحات للتهوية اثنتان جانبيتان والثالثة من الجهة العليا، ووضعت ضمن البيت الزجاجي التابع لمركز بحوث ودراسات المكافحة الحيوية تحت ظروف متحكم بها من حرارة (25±2°س) ورطوبة (65-70%) وإضاءة لا

خلال العقود الثلاثة الماضية في خفض إنتاج العديد من المحاصيل الزراعية (7). إذ تمتلك ذبابة التبغ البيضاء مدى عوائلها كبيراً يزيد عن 600 نوعاً نباتياً تضم معظم المحاصيل الاقتصادية كالقطن والبطاطا/البطاطس والبندورة/الطماطم والخيار والباذنجان إضافة لمحاصيل الألياف ونباتات الزينة والعديد من الأعشاب (19)، وقد أظهرت بعض مجتمعاتها ارتباطاً وثيقاً بالعائل النباتي كما هو الحال بالنسبة للنباتات العشبية التالية: *Sida sp.*، *Abutilon indicum* و *Althea rosea* في ولاية البنجاب Punjab في الهند (26)، وعليه رجح احتمال وجود تأثير للعائل النباتي في التركيب الوراثي للمجتمعات الحشرية الموجودة ضمن بيئة زراعية محددة (18).

عرفت ذبابة التبغ البيضاء في سورية عام 1966 (1)، ثم سجلت في مختلف أنحاء سورية وعلى عدد كبير من الأنواع النباتية البرية والمزروعة وصلت لأكثر من 104 أنواع نباتية، منها 86 عائلاً نباتياً ضمن بيئة الساحل السوري (2). يعتبر الساحل السوري من أكثر البيئات المناسبة لهذه الحشرة نظراً لتنوع الغطاء النباتي والظروف البيئية المناسبة حيث سجل لها ثمانية أجيال ولوحظ انتشارها حتى على ارتفاع 1250 متر عن سطح البحر (2).

يعد كل من نبات البندورة/الطماطم *Lycopersicum esculentum* L. والباذنجان *Solanum melongena* L. من أهم محاصيل الخضار الاقتصادية وأكثرها زراعة في الساحل السوري. حيث تزرع البندورة في ثلاث عروات بمساحة تبلغ 4967 هكتار وتشكل البيوت المحمية الذي يبلغ عددها 93357 ما نسبته 84.58% من إجمالي البيوت المحمية المنتشرة في القطر. في حين يزرع نبات الباذنجان كعروة صيفية بمساحة تبلغ 2610 هكتار وتتركز هذه الزراعة خارج البيوت المحمية (3). إن الانتشار الواسع لهذه الحشرة أدى إلى إزاحة زراعة نبات البندورة من العروة الخريفية لإصابته الشديدة بفيروس اصفرار والتفاف أوراق البندورة/الطماطم (TYLCV) الذي تنقله هذه الحشرة (2).

في معرفة التباينات الوراثية بين مجتمعات ذبابة التبغ البيضاء استخدم عدد من المؤشرات الجزيئية منها Random Amplification of Polymorphic DNA (RAPD-PCR) الذي يتصف بالبساطة نسبياً وقلّة التكلفة والسرعة في إعطاء النتائج (11). أظهرت شجرة القرابة لمجتمعات ذبابة التبغ البيضاء المجموعة من عوائل مختلفة أن المجتمعات الحشرية لذبابة التبغ البيضاء المجموعة من الخيار والباذنجان والكوسا كانت ضمن مجموعة واحدة، في حين كان المجتمع الحشري لذبابة التبغ البيضاء لنبات القطن ضمن مجموعة منفصلة (23). وفي دراسة أخرى شملت ستة عوائل، انفصلت عندها شجرة القرابة لثلاث مجموعات ضمت الأولى نباتي القطن وفول الصويا

الطيف الضوئي عند طول موجة 260 و 280 نانومتر، تم ضبط تركيز DNA بمعدل 10 نانوغرام/ميكروليتر، وحفظت العينات عند -20 °س لحين الاستخدام.

أنجز RAPD-PCR ب 4 ميكروليتر من DNA كقالب (40 نانوغرام)، و 2 ميكروليتر من البادئات (10 بيكومول/ميكروليتر)، وباستخدام Master Mix الذي يضم باقي مكونات تفاعل الـ PCR (Taq DNA polymerase، dNTPs، MgCl<sub>2</sub>، 1×PCR buffer) من إنتاج شركة Promega وكان حجم التفاعل الكلي 25 ميكروليتر.

تم استخدام 12 بادئة عشوائية يتألف كل منها من 10 قواعد أزوتية تم تصنيعها في الهيئة العامة للطاقة الذرية بدمشق (جدول 2).

استخدم جهاز المدور الحراري (PCR) من نوع 96 qSTAR Universal Gradient بعد برمجته وفق المراحل الحرارية المذكورة في الجدول 3. فصلت نواتج تفاعل الـ PCR على هلامه الأغاروز 1.5% التي تحتوي على صبغة بروميد الإيثيديوم (EtBr) بتركيز 8 ميكروليتر/100 مل محلول TBE، في جهاز الرحلان الكهربائي على شدة تيار كهربائي 100 فولت ولمدة ساعتين، ووثقت النتائج بتصوير هلامه الأغاروز باستخدام الأشعة فوق البنفسجية.

تقل عن 16 ساعة. ربيت كل عينة من الحشرات المجموعة على حده على نبات باذنجان واحد حيث استبدل هذا النبات بشكل دوري من أجل المحافظة على العينة الحشرية لعدة أجيال.

### جمع الحشرات

باستخدام جهاز شفط هوائي عبر الفم جمعت أكثر من 100 حشرة كاملة من كل عينة مرياة على نباتات الباذنجان ضمن البيت الزجاجي بعد بلوغ الحشرات الجيل الثامن حيث يحتاج الجيل الواحد من 17.3 - 20.9 يوم عند 25 °س (27)، ثم حفظت بالإيثانول (80%) عند 25 °س لحين الاستخدام.

### استخلاص وتنقيه DNA وتفاعل التضخم العشوائي المتعدد شكلياً (RAPD-PCR)

استخلص الـ DNA من 20 حشرة من كل عينة بالاعتماد على طريقة التعديلات بإضافة أنزيم البروتيناز K (Proteinase K) (20 نانوغرام/ميكروليتر). قدرت كمية ونقاوة DNA باستخدام جهاز مقياس

### جدول 1. المناطق والعوائل النباتية التي جمعت منها العينات

Table 1. Locations and hosts of collected samples

الرمز Code	نوع الزراعة Agricultural practice	Host	العائل	الارتفاع عن سطح البحر/م Altitude	الموقع Location	المنطقة Region
Eg.18	Field*	مكتشوفة*	Eggplant	900	Around Slenfa	محيط صلفنة
Eg.7	Greenhouse	محمية	Eggplant	100>	Snober	صنوبر
Eg.14	Field*	مكتشوفة*	Eggplant	600	Around Qurdaha	محيط القرداحة
Eg.1	Field	مكتشوفة	Eggplant	400>	Ain Elbeda	عين البيضة
To.8	Greenhouse	محمية	Tomato	50>	Elbasa	البصة
To.16	Field*	مكتشوفة*	Tomato	600	Elbahlolia	محيط البهلولية
Eg.6	Field	مكتشوفة	Eggplant	50>	Raas Elain	رأس العين
To.17	Field*	مكتشوفة*	Tomato	850	Beat yashot	بيت ياشوط
To.13	Greenhouse	محمية	Tomato	50>	Zheriat	زهيرات
Eg.3	Field	مكتشوفة	Eggplant	370	Marqp	المرقب
To.12	Greenhouse	محمية	Tomato	100>	Nabia Elsin	نعب السن
To.11	Greenhouse	محمية	Tomato	50>	Around Mosfat	محيط المصفاة
Eg.5	Field	مكتشوفة	Eggplant	100>	Dabosia	الدبوسية
Eg.4	Field	مكتشوفة	Eggplant	200>	Miar Shaker	ميعار شاكور
Eg.2	Field	مكتشوفة	Eggplant	100>	Karto	كرتو
To.19	Field*	مكتشوفة*	Tomato	800	Around Drakish	محيط الدركيش
To.15	Field*	مكتشوفة*	Tomato	1200	Tnakho (Elshaar)	تناخو (الشعرة)
To.10	Greenhouse	محمية	Tomato	250	Around Qadmos	محيط القدموس
To.9	Greenhouse	محمية	Tomato	100>	Karto	كرتو

\* Locations at 400-1200 meters above sea level

\* المواقع التي تقع على ارتفاع أكثر من 400 وحتى 1200 م فوق مستوى سطح البحر.

## النتائج والمناقشة

### التعددية الشكلية

تمكنت 11 بادئة قط من البادئات المستخدمة من الالتحام في مواقع متعددة من مجين حشرة ذبابة التبغ البيضاء وأثبتت مقدرة عالية في كشف التنوع بين العينات المدروسة استناداً إلى عدد وحجم وتوزيع الحزم المضخمة. حيث بلغ عدد الحزم المضخمة 147 حزمة منها 121 حزمة متباينة بنسبة تعددية شكلية قدرها 82.31%، وكان متوسط عدد الحزم المتباينة 11 حزمة لكل بادئة، أما نسبة التباين بين الحزم فبلغت 39% (جدول 4). إذ أعطت البادئة P1 أقل نسبة تباين قدرها 33.3% بينما كانت أعلى نسبة تباين للبادئات P2 و P3 و P4 حيث بلغت 100%. أما من حيث عدد الحزم المضخمة، تبين أن البادئة P8 أعطت أعلى عدد من الحزم المضخمة والتي بلغت 28 حزمة. كما اختلف عدد الحزم تبعاً لكل مجتمع من المجتمعات المدروسة، حيث أعطى المجتمعان To.10 و Eg.7 المجموعان من موقعي القدموس والصنوبر من الزراعات المحمية أعلى عدد من الحزم بلغ 101 و 99، على التوالي، وكان متوسط نسبة تطابق الحزم بينهما 80%، في حين أعطى المجتمعان Eg.5 و Eg.14 المجموعان من موقعي الدبوسية والقرداحة من الزراعات المكشوفة أقل عدد من الحزم بلغت 63 و 64 حزمة، على التوالي، ولم تتجاوز نسبة تطابق الحزم 59.9%. ويشير هذا على أن التباينات الوراثية بين المجتمعات المجموعة من الزراعات المكشوفة كانت أكبر من مثيلاتها المجموعة من الزراعات المحمية وهذه إشارة على احتمال وجود طراز حيوي واحد ضمن البيوت المحمية وأكثر من طراز ضمن الحقول المكشوفة على ارتفاعات مختلفة.

إضافة لذلك، لوحظ أن البادئة P11 قد أظهرت تباينات وراثية بين المجتمعات المدروسة حيث تمكنت من الالتحام في أكثر من موقع على مجين هذه المجتمعات وبلغ العدد الكلي للأجزاء الناتجة عن تضاعف الأجزاء المضخمة 11 حزمة، إذ تطابقت المجتمعات Eg.1، Eg.7، To.15، To.17، Eg.18، و To.19 والمجتمعين Eg.5 و To.8 من حيث عدد الحزم ووزنها الجزيئي والتي بلغت ستة و سبعة حزم، على التوالي. في حين تشابهت المجتمعات "Eg.4، To.9، To.11" و "Eg.3، Eg.5، Eg.6، To.8، To.12" و "Eg.14، To.13، To.10" و "To.16" بعدد الحزم التي بلغت ستة، سبعة وخمسة حزم، على التوالي، واختلف كل منها بأوزانه الجزيئية، أما المجتمع Eg.2 فقد أعطى أربع حزم فقط وهذا يظهر أهمية هذه البادئة في كشف التباينات الوراثية بين مجتمعات ذبابة التبغ البيضاء (شكل 1).

جدول 2. التتابع النيكلوتيدي ورموز البادئات المستخدمة في تقانة RAPD-PCR.

Table 2. Code and Sequence of primers used in RAPD-PCR.

رقم البادئ No. primer	الرمز Code	التتابع 5' إلى 3' Sequencing 5' to 3'
P1	OPF-02	5' GAGGATCCCT 3'
P2	OPF-12	5' ACGGTACCAG 3'
P3	OPH-09	5' TGTAGCTGGG 3'
P4	OPH-16	5' TCTCAGCTGG 3'
P5	OPA-04	5' AATCGGGCTG 3'
P6	OPA-10	5' GTGATCGCAG 3'
P7	OPA-11	5' CAATCGCCGT 3'
P8	OPA-13	5' CAGCACCCAC 3'
P9	OPA-15	5' TTCCGAACCC 3'
P10	OPA-20	5' GTTGCATCC 3'
P11	OPR-07	5' ACTGGCCTGA 3'
P12	OPE-13	5' CCCGATTCGG 3'

جدول 3. برنامج التضخيم العشوائي لقطع الحمض النووي DNA. Table 3. Thermocycler amplification program used.

المرحلة Level	عدد الدورات Cycles	رقم الخطوة Stage	الحرارة °س Temperature °C	المدة الزمنية/دقيقة Time/min
أولى First	1	1	94	5
		2	40	2
		3	72	1.5
ثانية Second	40	1	94	1
		2	40	1.5
		3	72	2
ثالثة Third	1	1	72	5
		2	4	∞

### التحليل الإحصائي

تم إجراء التحليل الإحصائي بالاعتماد على معامل Jaccard (21) لتحديد درجة التباين الوراثي بين مجتمعات الذباب الأبيض بقراءة حزم DNA الظاهرة في الهلامة، حيث أعطى لوجود الحزمة الرقم 1، ولغيابها الرقم 0. فيما تم استخدام التحليل العنقودي الذي يعتمد على نسبة التشابه الوراثي، باستخدام طريقة (UPGMA Unweight Pair-) (Group Method Analysis)، وباستخدام برنامج NTSYS-pc (Numerical Taxonomy System) للحصول على مخطط (Dendrogram) لتقسيم المجتمعات إلى مجموعات حسب درجة التشابه فيما بينها. كما استخدم برنامج SPSS (Statistical Package for Social Sciences) إصدار 19 (15) في حساب مدى ارتباط المجتمعات الحشرية بالعائل النباتي أو التوزيع الجغرافي.

جدول 4. عدد الحزم المضخمة والمتعددة شكلياً ونسبتها المئوية.

Table 4. Amplification and polymorphic bands and their frequency.

رقم البادنة	الحزم المضخمة	الحزم المتعددة شكلياً	% التعددية الشكلية
No. primer	Amplified bands	Polymorphic bands	% polymorphism
P1	3	1	33.30
P2	17	17	100.00
P3	8	8	100.00
P4	12	12	100.00
P5	15	10	66.70
P6	11	6	54.55
P7	19	18	94.74
P8	28	25	89.29
P9	8	4	50.00
P10	15	12	80.00
P11	11	8	72.72
المجموع Total	147	121	82.31
المتوسط Average	13.4	11	

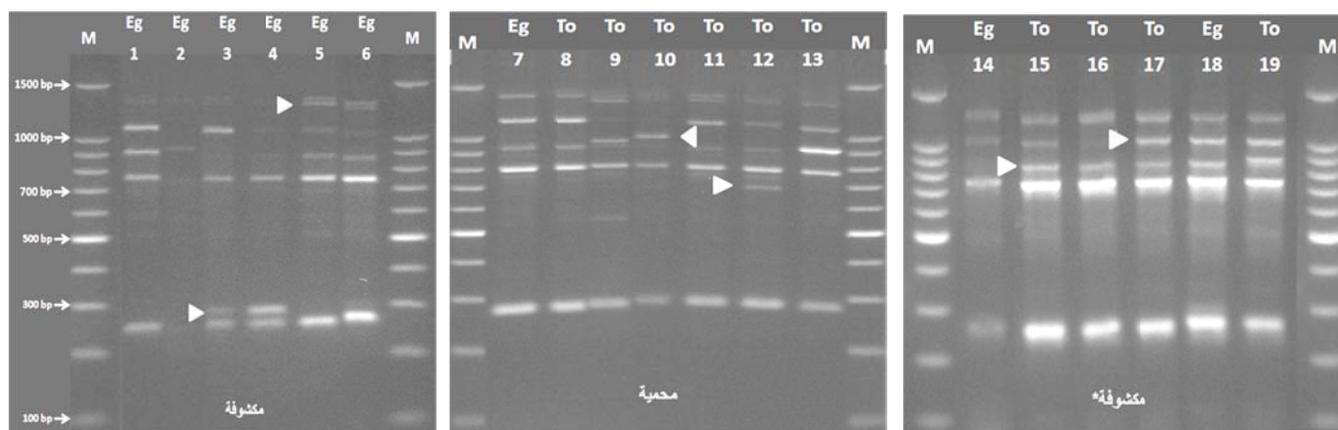
#### العلاقات الوراثية بين المجتمعات المدروسة والعائل النباتي

في دراسة العلاقة الوراثية بين المجتمعات المدروسة من حيث التشابه والتباين ومدى ارتباط ذلك بالعائل النباتي، وجد أن أعلى نسبة تشابه بين المجتمعات المدروسة وصلت إلى 86% بين المجتمعين Eg.18 و To.19، في حين كانت أصغر نسبة تشابه بين المجتمعين Eg.6 و To.19 والمجتمعين Eg.5 و To.14 حيث بلغت 43%. وبلغ المتوسط

العام لنسبة التشابه بين كافة المجتمعات المدروسة 64.5% وتراوح قيمة عدم التوافق بين 0.14 و 0.57 (شكل 1).

بلغت نسبة التباين بين المجتمعات المجموعة من البندورة فقط 24.9% ومن الباذنجان فقط 18.59%. بالمقابل بلغت نسبة التباين بين المجتمعات المجموعة من البيوت المحمية 29.26%، وبين المجتمعات المجموعة من الحقول المكشوفة 17.5% في حين لم تتجاوز 15.1% بين المجتمعات المجموعة من الحقول المكشوفة (أعلى من 400 م عن سطح البحر)، أما متوسط التباين بين جميع المجتمعات المدروسة فبلغ 20.89%.

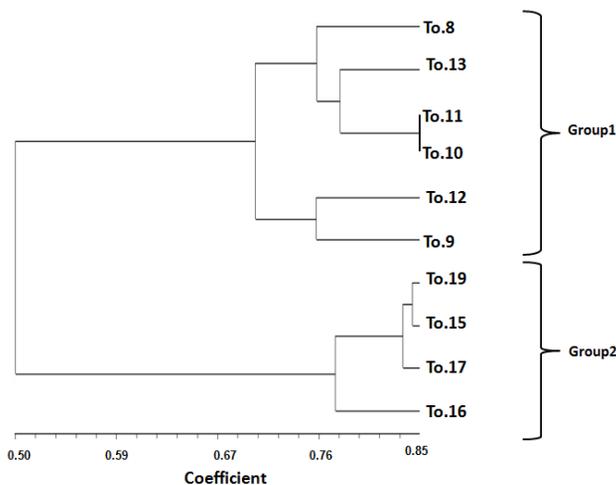
وجد ارتباط ضعيف غير معنوي بين المجتمعات المدروسة والعائل المجموعة منه (بندورة، باذنجان)، حيث كانت قيمة معامل الارتباط  $r = 0.09$ ، عند احتمال 0.05، وهذا يشير لاختفاء تأثير العائل، إن كان موجوداً، في التباين بين هذه المجتمعات والذي قد يعود سببه لتربية جميع مجتمعات الحشرة المدروسة ولعدة أجيال متتالية على عائل واحد فقط، وهذا يتفق مع دراسة سابقة (12) أشارت إلى أن المجتمعات المجموعة من عوائل مختلفة توزعت جغرافياً في شجرة القرابة وغاب تأثير العائل. إلا أن ذلك يتعارض مع ما بينه Sharma وآخرون (24) من تأثير العائل في الاختلافات الوراثية لحشرة ذبابة التبغ البيضاء بعد تربيتها على عائلها المجموعة منه لمدة 12 جيلاً. وفي دراسة أخرى شملت ستة عوائل انفصلت عندها شجرة القرابة لثلاث مجموعات ضمت الأولى نباتي القطن وفول الصويا والنبات العشبي Sida وشملت الثانية البطاطا والباذنجان في حين انفرد نبات البندورة في المجموعة الثالثة (24).



شكل 1. نتائج التحام البادنة OPR-07: P11 مع المادة الوراثية لمجتمعات ذبابة التبغ البيضاء الموجودة على محصولي البندورة والباذنجان المجموعة من الساحل السوري (حقول مكشوفة مختلفة الارتفاعات عن سطح البحر وبيوت محمية) على هلامة الأجاروز 1.5% (M = مؤشر معروف للوزن الجزيئي).

Figure 1. Amplification results when using primer P11: OPR-07 with DNA of whitefly populations collected from tomato and eggplant fields along the Syrian coast on 1% agarose gel. (M= 100 bp DNA Ladder).

SubG.2 فضمت المجتمعات المجموعة من البيوت المحمية بنسبة بلغت 53.8%. بالمقابل ضمت المجموعة الرئيسية الثانية المجتمعات المجموعة من الحقول المكشوفة (أعلى من 400 م عن سطح البحر) فقط بنسبة بلغت 31.8% (شكل 4). اظهر التحليل العنقودي لجميع المجتمعات المدروسة (شكل 4) أنها توزعت حسب الارتفاع عن سطح البحر وكذلك بيئياً ما بين البيوت المحمية والحقول المكشوفة إذ يبدو أن الحشرات المنتشرة ضمن البيوت المحمية تختلف عن المنتشرة في الحقول المكشوفة وبدورهما يختلفان عن الحشرات المنتشرة في الحقول المكشوفة والمتوزعة في المرتفعات 400-1200 متر فوق سطح البحر وهذا يظهر وبشكل واضح التأثير البيئي من درجات حرارة ورطوبة ورياح على انتشار الطرز المختلفة كما يؤكد على وجود أكثر من طرز حيوي ينتشر في المنطقة الساحلية على عوائل مختلفة وهذا يتفق مع ما توصل إليه Brown (5) الذي بين أن التباينات الوراثية تكون محدودة أو قليلة ضمن المجتمعات المتواجده في بيئة جغرافية محددة وعلى العكس فإن هذه التباينات تكون أكبر بين البيئات المختلفة.



شكل 3. التحليل العنقودي لمجتمعات حشرة *B. tabaci* المنتشرة على نبات البندورة في الشريط الساحلي وحتى ارتفاع 1200 م فوق سطح البحر.

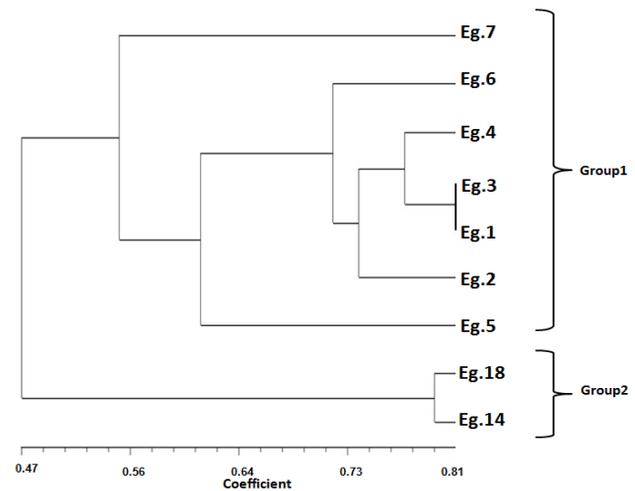
Figure 3. Cluster analysis of *B. tabaci* collected from tomato fields from sea level up to 1200 m altitude.

أظهرت شجرة القرابة (شكل 4) على أن هناك تباين ضعيف في درجة القرابة ما بين المجتمعات الحشرية المجموعة من البيوت المحمية أو من الحقول المكشوفة أو الحقول المكشوفة من ارتفاعات عالية ويظهر ذلك بأنه ليس هناك تأثير واضح للعائل النباتي (بندورة - باذنجان) في الطرز الحيوية المنتشرة في كل بيئة.

## التحليل العنقودي وتحديد تأثير موقع الزراعة والارتفاع عن سطح البحر

اجري التحليل العنقودي للمجتمعات المدروسة على ثلاث مراحل كما يلي:

شملت المرحلة الأولى المجتمعات المجموعة من نبات الباذنجان حيث انقسمت فيها شجرة القرابة عند قيمة عدم توافق بلغت 0.47 إلى عنقودين رئيسيين، ضم الأول سبعة مجتمعات مجموعة من البيوت المحمية والحقول المكشوفة بنسبة قدرها 77.8%، وضم الثاني مجتمعين فقط من الحشرات المجموعة من الحقول المكشوفة المتواجدة في مناطق أعلى من 400 م عن سطح البحر، بنسبة قدرها 22.2% (شكل 2).



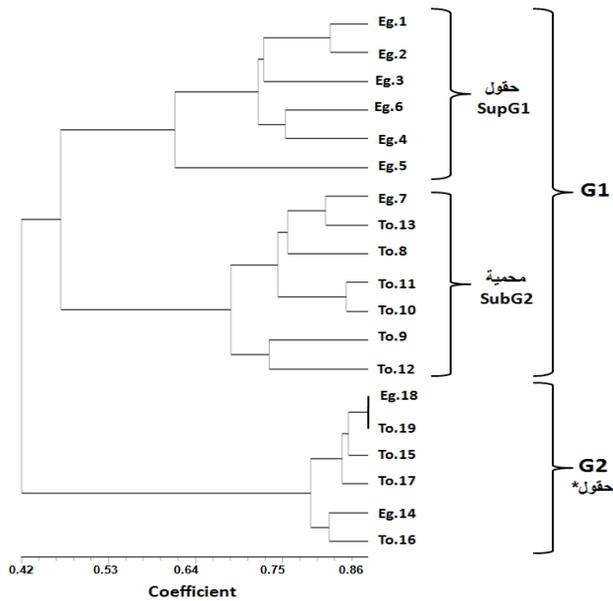
شكل 2. التحليل العنقودي لمجتمعات حشرة *B. tabaci* المنتشرة على نبات الباذنجان بدءاً من مستوى سطح البحر وحتى ارتفاع 1200 متر.

Figure 2. Cluster analysis of *B. tabaci* collected from eggplant fields from sea level up to 1200 m altitude.

انقسمت شجرة القرابة لمجتمعات الحشرة المجموعة من نبات البندورة عند قيمة عدم توافق 0.50 إلى عنقودين رئيسيين ضم الأول ست مجتمعات من البيوت المحمية بنسبة قدرها 60% وضم الثاني أربع مجتمعات من الحقول المكشوفة (أعلى من 400 م عن سطح البحر) بنسبة قدرها 40% (شكل 3).

أما المرحلة الثالثة فشملت دراسة درجة القرابة لكافة المجتمعات المدروسة وعلاقة ذلك بالموقع والارتفاع عن سطح البحر حيث انقسمت فيها شجرة القرابة عند قيمة عدم توافق 0.49 إلى مجموعتين رئيسيتين G1 و G2.

انقسمت المجموعة الرئيسية الأولى G1 إلى تحت مجموعتين: ضمت تحت المجموعة الأولى SubG.1 المجتمعات المجموعة من الحقول المكشوفة بنسبة بلغت 46.2%، أما تحت المجموعة الثانية



**شكل 4.** التحليل العنقودي لمجتمعات حشرة *B. tabaci* المنتشرة على نباتي البندورة والباذنجان في الشريط الساحلي وحتى ارتفاع 1200 متر (حيث G تمثل مجموعة رئيسية، وSubG تمثل تحت مجموعة).  
**Figure 4.** Cluster analysis of *B. tabaci* collected from tomato and eggplants from sea level up to 1200 m altitude (G= primary group, SubG= subgroup).

تبين في هذه الدراسة أن تقنية RAPD-PCR لها قدرة عالية على كشف التباينات الوراثية بين مجتمعات حشرة ذبابة التبغ البيضاء المجموعة من البندورة والباذنجان، وبينت شجرة القرابة انفصال هذه المجتمعات تبعاً لارتفاعها عن سطح البحر، وتراوحت نسبة التشابه بين المجتمعات بين 43% و 86% وهذا يدل على وجود أكثر من طراز حيوي، وهذا يتفق مع النتائج التي حصل عليها Perring (20) الذي أوضح أن نسبة التشابه بين مجتمعات الطراز الواحد تتراوح بين 80-100%، ومع Fujiie وآخرون (10) الذين أشاروا إلى انتشار عدة طرز حيوية، منها الطراز الحيوي B في الزراعات المحمية على نبات البندورة في المنطقة الساحلية، في سورية، وبالرغم من ذلك لا تعد تقنية RAPD كافية لتحديد الطرز الحيوية لحشرة ذبابة التبغ البيضاء (8) ولا بد من إجراء دراسات أكثر تعمقاً تعتمد على مؤشرات دقيقة أخرى (4).

(14).

**جدول 5.** نسب التشابه الوراثي بين مجتمعات حشرة ذبابة التبغ البيضاء المجموعة من نباتي البندورة والباذنجان باستخدام 11 بادئة، وبناءً لمعامل Jaccard.

**Table 5.** Genetic similarity between populations of *B. tabaci* collected from eggplant and tomato plants using 11 primers and based on Jaccard coefficient.

To.14	To.18	Eg.2	Eg.3	Eg.4	Eg.5	Eg.6	Eg.7	To.9	To.10	To.11	To.12	To.13	To.15	To.16	To.17	To.19	To.8
																	0.53
																0.84	0.48
															0.75	0.77	0.51
														0.80	0.83	0.84	0.51
													0.48	0.51	0.47	0.51	0.75
												0.73	0.46	0.48	0.43	0.46	0.69
											0.75	0.76	0.52	0.53	0.48	0.53	0.74
										0.85	0.72	0.79	0.51	0.51	0.47	0.51	0.78
								0.67	0.70	0.76	0.70	0.52	0.55	0.50	0.52	0.68	0.80
							0.52	0.57	0.53	0.53	0.54	0.54	0.46	0.47	0.46	0.43	0.56
						0.60	0.51	0.52	0.50	0.52	0.49	0.47	0.46	0.46	0.48	0.48	0.56
					0.62	0.75	0.54	0.61	0.56	0.59	0.57	0.58	0.47	0.48	0.47	0.45	0.60
				0.79	0.62	0.73	0.59	0.61	0.61	0.61	0.57	0.60	0.45	0.47	0.47	0.47	0.63
			0.71	0.70	0.58	0.67	0.55	0.56	0.57	0.56	0.50	0.56	0.49	0.49	0.49	0.50	0.61
		0.48	0.47	0.45	0.45	0.46	0.54	0.52	0.51	0.52	0.47	0.51	0.81	0.83	0.82	0.86	0.53
	0.79	0.49	0.45	0.46	0.43	0.49	0.52	0.52	0.49	0.48	0.47	0.51	0.82	0.81	0.77	0.76	0.50
0.47	0.48	0.80	0.81	0.75	0.64	0.72	0.58	0.58	0.61	0.61	0.52	0.59	0.48	0.49	0.49	0.49	0.63

## Abstract

**Mouhanna, A.M. and H.S. Barhoum. 2014. Detection of some genetic diversity between populations of *Bemisia tabaci* Genn. occurred on tomato and eggplant grown in greenhouses and fields of Syrian coast. Arab Journal of Plant Protection, 32(1): 16-24.**

To identify the genetic differences between the populations of whitefly *Bemisia tabaci* Genn. that spread on different environmental areas of Syrian coastal, 19 samples of whitefly were collected from tomato and eggplant crops from greenhouses and fields from different elevations up to 1200 m and analyzed by RAPD-PCR using 18 primers. Results have shown that the primers gave 147 bands, 121 of which were polymorphic with an average of 11 polymorphic bands/primer. The values of percent disagreement values ranged between 0.14 and 0.57 and the variance ratio between bands was 39%. The Dendrogram showed that whitefly populations were divided into two groups according to altitude above sea level with average variance of 20.89%. In addition, the first group was divided into subgroups between greenhouses and open fields at altitudes up to 400 m along the coastal zone. Primer 8 gave the highest numbers of bands (28), while primers 2, 3 and 4 gave the highest polymorphism that reached 100%. The correlation between populations polymorphism and their host (tomato-eggplant) was weak ( $r=0.09$ ).

**Keywords:** RAPD-PCR, tobacco, whitefly, greenhouse, tomato, eggplant.

**Corresponding author:** Ahmad Mouhanna, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Damascus University, Syria, Email AhmadMouhanna@gmx.net

## Reference

## المراجع

1. الحريري، غازي. 1972. الحشرات الاقتصادية. كلية الزراعة، جامعة حلب، سورية، الصفحات: 104-106.
2. عيود، رفيق. 2007. دراسة ذبابة القطن البيضاء *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) ومكافحتها حيويًا. أطروحة دكتوراه، كلية الزراعة، جامعة تشرين، اللاذقية، سورية. 181 صفحة.
3. المجموعة الإحصائية السنوية. 2010. وزارة الزراعة والإصلاح الزراعي.
4. Berry, S., M.E.C. Rey, D. Rogan, V.N. Fondong, C.M. Fauquet and J.K. Brown. 2004. Molecular evidence for distinct *Bemisia tabaci* geographically genotypes from cassava in Africa. Annals of the Entomological Society of America, 97: 852-859.
5. Brown, J.K. 2010. Phylogenetic biology of the *Bemisia tabaci* sibling species group. Pages 31-67. Chapter 2. In: Bionomics and Management of a Global Pest. P.A. Stansly and S.E. Naranjo (eds). Springer, Amsterdam, The Netherlands.
6. Cervera, M.T., J.A. Cabezas, B. Simon, J.M. Martinez-Zapater, F. Beitia and J.L. Cenis. 2000. Genetic relationships among biotypes of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) based on AFLP analysis. Bulletin of Entomological Research, 90: 391-396.
7. Dinsdale, A., L. Cook, C. Riginos, Y.M. Buckley and P. De Barro. 2010. Refined global analysis of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Sternorrhyncha: Aleyrodoidea: Aleyrodidae) Mitochondrial Cytochrome Oxidase 1 to identify species level genetic boundaries. Annals of the Entomological Society of America, 2: 196-208.
8. Dong, C., F. Wan, B. Xu, Q. Wu and Y. Zhang. 2008. Comparative analysis of population genetic structure in *Bemisia tabaci* genn. Biotypes b and q based on issr marker. Agricultural Sciences in China, 11, 1348-1354.
9. Drayton, G.M., D.A.J. Teulon, P.J. Workman and I.A.W. Scott. 2009. The christmas dispersal of *Bemisia tabaci* (gennadius) in New Zealand. New Zealand Plant Protection, 62: 310-314.
10. Fujiie, A., A.M.S. Omar, A.B. Sawas, A. Abbas, M.A. Hadi, E.A. Sawas, A. Barakat, S.U. and K.T. Natsuaki. 2009. Geographic distribution of *Bemisia tabaci* biotypes collected from autumn-cultured potato fields in Syria, 15: 1-9.
11. Gawel, N.J. and A.C. Bartlett. 1993. Characterization of differences between whiteflies using RAPD-PCR. Insect Molecular Biology, 2: 33-38.
12. Hasan, H.S. 2006. Survey of *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Homoptera: Aleyrodidae) biotypes in Jordan using RAPD marker. Journal of Entomology, 4: 290-297.
13. Horowitz, A.R., S. Kontsedalov, V. Khasdan and I. Ishaaya. 2005. Biotypes B and Q of *Bemisia tabaci* and their relevance to neonicotinoid and pyriproxyfen resistance. Archives of Insect Biochemistry and Physiology, 58: 216-225.
14. Hsieh, C.H., C.H. Wang and C.C. Ko. 2006. Analysis of *Bemisia tabaci* species complex and distribution in eastern Asia based on mitochondrial DNA markers. Annals of the Entomological Society of America, 99: 968-975.
15. IBM Corp Released. 2010. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 19.0. Armonk, NY: IBM Corp.
16. Lima, L.H., C. Campos, M.C. Moretzsohn, D. Návía and M.R.V. de Oliveira. 2002. Genetic diversity of *Bemisia tabaci* (Genn.) populations in Brazil revealed by RAPD markers. Genetics and Molecular Biology, 25: 217-223.
17. McKenzie, C.L. 2002. Effect of tomato mottle virus (ToMoV) on *Bemisia tabaci* biotype B (Homoptera: Aleyrodidae) oviposition and adult survivorship on healthy tomato. Florida Entomologist, 85:367-368.
18. Mound, A.L. 1963. Host-correlated variations in *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Homoptera:

24. **Sharma, R.K., V.K. Gupta, J. Jindal and V.K. Dilawari.** 2008. Host associated genetic variations in whitefly, *Bemisia tabaci* (Genn.). Indian Journal of Biotechnology, 7 : 366-370.
25. **Sharma, R.K., Y. Pal, J. Jindal, V.K. Gupta and V.K. Dilawari.** 2005. Efficiency of whitefly populations from different hosts for acquisition and transmission of CLCuV. Punjab Agricultural University, Ludhiana, India, 1: 67-69.
26. **Singh, J., A.S. Sohi, H.S. Mann and S.P.Kapur.** 1963. Studies on whitefly, *Bemisia tabaci* transmitted cotton leaf curl disease in Punjab. Journal of Insect Science, 7 : 194-198.
27. **Tsai, H. and K. Wang.** 1996. Development and reproduction of *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae) on five host plants. Environmental Entomology, 25: 810-816.
28. **Viscarret, M.M., I. Torres-Jerez, E. Agostini de Manero, S.N. López, E.E. Botto and J.K. Brown.** 2003. Mitochondrial DNA evidence for a distinct New World group of *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) indigenous to Argentina and Bolivia, and presence of the Old World B biotype in Argentina. Annals of the Entomological Society of America, 96: 65-72.
19. **Oliveira, M.R.V., T.J. Henneberry and P. Anderson.** 2001. History, current status, and collaborative research projects for *Bemisia tabaci*. Crop Protection, 20: 709-723.
20. **Perring, T.M., A.D. Cooper, R.J. Rodriguez, C.A. Farrar and T.S. Bellows.** 1993. Identification of a whitefly species by genomic and behavioral studies. Science 259: 74-77.
21. **Rohlf, F.J.** 1993. NTSYS-pc, Numerical taxonomy and multivariate analysis system, v. 1.80. Applied Biostatistics Inc., NY.
22. **Rubinstein, G. and H. Czosnek.** 1997. Long-term association of tomato yellow leaf curl virus with its whitefly vector *Bemisia tabaci*: effect on the insect transmission capacity, longevity and fecundity. Journal of General Virology, 78: 2683-2689.
23. **Samih, M.A., H. Izadi and K. Mahdian.** 2006. Detection by RAPD-PCR of polymorphism in populations of *Bemisia tabaci* (Genn.) collected on four host plants from Iran. Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences, Ghent University, 71: 605-611.

Received: October 22, 2012; Accepted: January 20, 2013

تاريخ الاستلام: 2012/10/22؛ تاريخ الموافقة على النشر: 2013/1/20