

حصر المجموعات الرئيسية من ذبابة التبغ البيضاء *Bemisia tabaci* Genn. المنتشرة على عوائل مختلفة في الساحل السوري باستخدام مؤشرات الـ DNA العشوائية

أحمد محمد مهنا¹، همام شعبان برهوم²، لؤي أصلان² وعصام قاسم³

(1) قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة دمشق، سورية؛ (2) مركز بحوث ودراسات مكافحة الحويبة، كلية الزراعة، جامعة دمشق، سورية؛

(3) الهيئة الوطنية للتقانة الحيوية، دمشق، سورية، البريد الإلكتروني: AhmadMouhanna@gmx.net

الملخص

مهنا، أحمد محمد، همام شعبان برهوم، لؤي أصلان وعصام قاسم. 2014. حصر المجموعات الرئيسية من ذبابة التبغ البيضاء *Bemisia tabaci* Genn. المنتشرة على عوائل مختلفة في الساحل السوري باستخدام مؤشرات الـ DNA العشوائية. مجلة وقاية النبات العربية، 32(3): 207-218.

تم الكشف عن التنوع الوراثي لذبابة التبغ البيضاء *Bemisia tabaci* ضمن 44 مجتمعاً حشرياً جمعت من الساحل السوري من عوائل مختلفة باستخدام تقانة التضخيم العشوائي للـ DNA المتعدد شكلياً RAPD-PCR. بلغ عدد الحزم المضخمة 146 حزمة بنسبة تعددية شكلية 86.39%، إذ أعطت الباندة OPA-13 أعلى عدد من الحزم المضخمة وبلغ 29 حزمة بنسبة تعددية شكلية 93.1%، بينما أعطت الباننتين OPF-12 و OPH-09 أكبر نسبة تعددية شكلية بلغت 100%. بلغت النسبة المئوية للمواقع المتعددة شكلياً لجميع المجتمعات المدروسة (PPB) 48%، وعدد النظائر بكل موقع (No) 2.085، والعدد الفعال لهذه النظائر (NE) 1.33، ومقياس التنوع المورثي (HE) 0.151. كما أظهرت شجرة القرابة انقسام المجتمعات المدروسة تبعاً لارتفاعها عن سطح البحر إلى مجموعتين عند نسبة تشابه 48%. وكانت أكبر نسبة تشابه بين المجتمعين Bt-8 و Bt-14 وبلغت 85% وأقلها بين المجتمعين Bt-9 و Bt-38 وبلغت 39%. كما انقسمت المجتمعات الحشرية المجموعة تبعاً لبيئتها إلى ثلاث فئات C1 و C2 و C3 وكان مؤشر شانون (I) لكل منها 2.771 و 2.769 و 2.483 على التوالي. ولم يكن هنالك أي ارتباط بين العائل النباتي والتنوع الوراثي لهذه المجتمعات ($r^2=0.016$).

كلمات مفتاحية: التنوع الوراثي، ذبابة التبغ البيضاء، مؤشر شانون المعلوماتي، سورية، RAPD-PCR.

المقدمة

في منتصف القرن الماضي لوحظ وجود تباينات وراثية ضمن مجتمعات النوع *B. tabaci* اعتماداً على اختلافاتها في المدى العائلي والكفاءة في نقل الفيروسات النباتية (6)، وعليه اعتبر هذا النوع مؤلف من العديد من الطرز الحيوية Biotypes (5، 8). إلا أن هناك صعوبة في تمييز الطرز الحيوية مظهرياً، لذا تم التوجه نحو استخدام المؤشرات الجزيئية لتحديد وتعريفها بواسطة تقانة التضخيم العشوائي للـ DNA المتعدد شكلياً Random Amplification of Polymorphic DNA (RAPD-PCR) (16، 29)، وتقنية مكررات التسلسلات البسيطة البيئية Inter Simple Sequence Repeats (ISSR) (12).

تتبع أهمية المنطقة الساحلية في سورية من كونها تشكل بيئة زراعية مناسبة من حيث المناخ السائد على مدار العام والتنوع في التضاريس لزراعة العديد من الأنواع النباتية والخضار الهامة بمساحة تشكل 17.13% من إجمالي المساحة المزروعة في القطر (2). وهذا يجعلها مكاناً مناسباً لانتشار هذه الحشرة التي سجلت على أكثر من 86 عائلاً نباتياً في الساحل السوري (1). أجريت مؤخراً عدة أبحاث تركزت حول معرفة التباينات الوراثية لها ضمن مجتمعات الدفيئات

سجلت ذبابة التبغ البيضاء *Bemisia tabaci* كأفة لأول مرة في اليونان وذلك على نبات التبغ ودعت عندها بـ *Aleyrodes tabaci* (17) ثم سجلت بعدها على العديد من الأنواع النباتية والمحاصيل الاقتصادية وأخذت تسميات مختلفة حيث سميت بـ *Aleyrodes inconspicua* على نبات البطاطا الحلوة (27)، وبـ *Bemisia costalimai* Bondar على نبات الزينة *Euphorbia hirtella* Boiss (23)، وتنتشر حالياً في جميع القارات باستثناء القارة القطبية وتشمل بذلك المناطق الاستوائية وشبه الاستوائية والمعتدلة (20، 21). ومن الصعب تقدير الخسائر الاقتصادية التي تسببها هذه الآفة لانتشارها الواسع عالمياً ولمداها العائلي الكبير الذي يصل لأكثر من 600 نوع نباتي (24). وللزراعات الحولية النصيب الأكبر من الضرر الذي ينتج عنها إما بشكل مباشر عن طريق تغذية الحشرة وإفرازها للندوة العسلية التي تشكل بيئة مناسبة لنمو الممرضات النباتية الأخرى (13)، أو غير مباشر عن طريق نقلها للعديد من الأمراض الفيروسية النباتية (18).

البلاستيكية وضمن الحقول المكشوفة على عدد محدد من العوائل (باندجان ويندورة)، وتبين غياب تأثير العائل النباتي في انتشار الطرز الحيوية من الحشرة مع وجود تباين واضح بين هذه المجتمعات الحشرية تبعاً للارتفاع عن سطح البحر (22). وتعد تقانة التضخيم العشوائي للدنا المتعدد شكلياً إحدى التقانات التي تعطي فكرة جيدة حول التنوع الوراثي وتمهد لتطبيق تقانات أكثر دقة (32).

هدفت هذه الدراسة إلى الكشف عن التباينات الوراثية بين 44 مجتمعاً من ذبابة التبغ البيضاء *Bemisia tabaci* مجموعة من الساحل السوري من عوائل نباتية مختلفة، ومدى ارتباط هذه المجتمعات بعوائلها وبيئاتها الزراعية، وبناءً على ذلك يمكن التوجه نحو تطبيق تقانات أكثر دقة يمكن من خلالها تحديد الطرز الحيوية المنتشرة.

مواد البحث وطرقه

المادة الحشرية واستخلاص الدنا

في الفترة الواقعة بين شهري أيار/مايو وأب/أغسطس من العام 2012 جمعت 44 عينة حشرية من المحاصيل الاقتصادية الأكثر انتشاراً في الساحل إضافة لأنواع من نباتات الزينة والنباتات العشبية، شملت كامل الشريط الساحلي من داخل وخارج الدفيئات البلاستيكية، ومن مستوى سطح البحر وحتى ارتفاع 1200 متر، كما هو موضح بالجدول 1. وربيبت حشرات كل عينة بشكل منفرد على نبات الباندجان (الصنف البلدي) الذي تم استبداله بشكل دوري من أجل استمرارية عملية التربية، وذلك لأربعة أجيال ضمن أقفاص معدة مسبقاً وضعت في بيت زجاجي محكم (حرارة 25 ± 2 °س، رطوبة 65-70%، 16 ساعة إضاءة). وفي نهاية الجيل الرابع، أخذت 10 حشرات من كل عينة، وغسلت بالماء المقطر، واتبعت مراحل الاستخلاص الموصى بها من قبل De Barro و Driver (9). وتتلخص هذه الطريقة بإضافة 65 ميكرو لتر من محلول الاستخلاص (10 ميلليمول Tris-HCl، 1 ميلليمول EDTA، 0.30% Triton X-100، 60 ميكرو لتر/مل Proteinase-K) للعينة، ثم طحنت ضمن أنبوب الابدورف 2 مل بوساطة جهاز TissueLyser LT (شركة كياج، ألمانيا)، وحضنت على حرارة 65 °س لمدة 15 دقيقة، تلاها رفع الحرارة حتى 96 °س، ومن ثم بردت فوراً وخرزت عند حرارة -20 °س لحين الاستخدام.

البادئات المستخدمة وتضخيم الدنا المتعدد شكلياً

استخدمت 18 بادئة عشوائياً (جدول 2). وأجري تفاعل البلمرة المتسلسل PCR في حجم قدره 25 ميكرو لتر تكون من 9.5 ميكرو لتر

من الماء الخالي من أنزيمات Nuclease مع 2 ميكرو لتر من البادئة (10 بيكومول/ميكرو لتر) وكذلك 1 ميكرو لتر من المادة الوراثية الدنا كقالب Template بتركيز 10-15 نانوغرام/ميكرو لتر وأضيف 12.5 ميكرو لتر من Master mix (Promega). استخدم المدور الحراري peqSTAR 96 Universal Gradient بعد أن تمت برمجته وفق ما يلي: المرحلة الأولى Denaturation مؤلفة من دورة واحدة 94 °س لمدة خمس دقائق و 40 °س لمدة دقيقتين لالتحام البادئ Annealing و 72 °س لمدة 90 ثانية لعمل الأنزيم Extension، ثم المرحلة الثانية مؤلفة من 40 دورة تحت الشروط التالية: 94 °س لمدة دقيقة واحدة و 40 °س لمدة 90 ثانية و 72 °س لمدة دقيقتين. أنهى التفاعل عند درجة حرارة 72 °س لمدة خمس دقائق (9). فصلت نواتج عملية التضخيم على هلامة الأغاروز 1.5% والتي تحوي بروميد الإيثيديوم في محلول رحلان 1X TBE. وثقت النتائج بتصوير الهلامة باستخدام الأشعة فوق البنفسجية.

التحليل الإحصائي

حللت النتائج باستخدام برنامج NTSYS-pc (Numerical Taxonomy System) حيث أشير لوجود الحزمة ب 1 وغيابها ب 0. ولإجراء التحليل العنقودي ورسم مخطط التحليل العنقودي أعتمد على مصفوفة التشابه (Similarity Matrix) لمعامل Jaccard's coefficient (28). وحسبت بعض مؤشرات التنوع الوراثي للمجتمعات المدروسة كعدد المواقع متعددة الأشكال N_P Number of polymorphic loci، والنسبة المئوية للمواقع متعددة الأشكال Percentage of polymorphic loci PPB حيث يظهران مدى التنوع والتغير ضمن مجين/جينوم المجتمع الحشري. أما العدد الفعال للنظائر بكل موقع Effective number of alleles per locus N_E ، وعدد النظائر الملاحظة بكل موقع Observed number of alleles per locus N_0 اللذين يكملان المعلومات حول مدى التغير ضمن الجينوم وعدد النظائر المتوقعة بكل موقع. كما حسب مقياس التنوع المورثي H_E Nie's gene diversity، بالإضافة لمؤشر شانون المعلوماتي Shannon's index الذي يتميز بعدم الحساسية تجاه التحيز في البيانات الناتجة عن تقانة RAPD والذي يمكن أن يظهر من خلال عدم قدرة هذه التقانة على تحديد الأفراد المتباينة Heterozygous، واستخدم في ذلك برنامج PopGene (33). أما لحساب مدى التباين بين مجموعات التحليل العنقودي ومدى تأثير العائل النباتي في التباينات الوراثية فاستخدم برنامج XLSTAT إصدار 2012 (3).

Table 1. Hosts and sampling sites of *B. tabaci*.

الرمز Code	Plant Host	العائل النباتي	الارتفاع التقريبي عن سطح البحر (م) Altitude (m)	Location	الموقع	Region	المنطقة
Bt-1	Cucumber	خيار	50	Bsessien	بسيسين	Jableh	
Bt-2	Tomato	/	75	Aledia	العيدية	Jableh	
Bt-3	Tomato	/	100	Hrisson	حريصون	Banias	بانياس
Bt-4	Tomato	/	100	Arab Elmalik		Banias	بانياس
Bt-5	Pepper	فليفلة	70	Mahata Elhararia	المحطة الحرارية	Banias	بانياس
Bt-6	Sweet Potato		150	Bustan Elbasha		Jableh	
Bt-7	Cucumber	خيار	200	Banias South	مدخل بانياس الجنوبي	Banias	بانياس
Bt-8	Tomato	/	250	Barmaia	بارمايا	Tartus	
Bt-9	Cowpea	اللوبياء	200	Bassiera	مفرق البصيرة	Tartus	
Bt-10	Pepper	فليفلة	120	Menttar		Tartus	
Bt-11	Tomato	/	150	Karto		Tartus	
Bt-12	<i>Polygonum Bistorta</i>		120	Hemimiem	حمميم	Jableh	
Bt-13	Sweet Potato		200	Basset	البسيط	Lattakia	اللاذقية
Bt-14	Pepper	فليفلة	250	Boka		Lattakia	اللاذقية
Bt-15	Tomato	/	50	Bassa		Lattakia	اللاذقية
Bt-16	Eggplant		75	Snober		Lattakia	اللاذقية
Bt-17	Eggplant		220	Alekiab	العقيبه	Jableh	
Bt-18	Sweet Potato		150	Bustan Elbasha		Jableh	
Bt-19	Pepper	فليفلة	250	Boka		Lattakia	اللاذقية
Bt-20	Fenugreek <i>Trigonella</i> sp.		50	Basset	يط	Lattakia	اللاذقية
Bt-21	Cabbage		250	Shrashier	شراشير	Jableh	
Bt-22	Cabbage		100	Snober		Lattakia	اللاذقية
Bt-23	Sweet Potato		100	Bassiera	البصيرة	Banias	بانياس
Bt-24	Pepper	فليفلة	75	Aidia	العيدية	Jableh	
Bt-25	Eggplant		100	Dabusia	الدبوسية	Tartus	
Bt-26	Eggplant		150	Miar shaker	ميعار شاكر	Tartus	
Bt-27	Eggplant		200	Taenita	تعنيتا	Banias	بانياس
Bt-28	Pepper	فليفلة	100	Hrisoon	حريصون	Banias	بانياس
Bt-29	<i>Lantana camara</i>		200	Hamidia	الحميدية	Tartus	
Bt-30	Eggplant		150	Tal snon		Tartus	
Bt-31	Pepper	فليفلة	200	Tal kalakh		Tartus	
Bt-32	Eggplant		260	Mashkita	مشقينا	Lattakia	اللاذقية
Bt-33	Tomato	/	800	Drakiesh	دريكيش	Tartus	
Bt-34	Eggplant		450	Hefa		Lattakia	اللاذقية
Bt-35	Pepper	ب	900	Brimant Mashaikh	برمانه المشايخ	Tartus	
Bt-36	Okra	بامياء	450	Qadoms		Tartus	
Bt-37	Pepper	فليفلة	500	Gobet Brgal		Lattakia	اللاذقية
Bt-38	Tomato	/	750	Byet yashout	القطليبيه	Jableh	
Bt-39	Tomato	/	600	Bahlwlia	الدهلولية	Lattakia	اللاذقية
Bt-40	Tomato	/	1200	Alshara		Tartus	
Bt-41	Pepper	فليفلة	1000	Safita	صافيتا	Tartus	
Bt-42	Cabbage		950	Shekh Badr	الشيخ بدر	Tartus	
Bt-43	Eggplant		800	Bkerama		Lattakia	اللاذقية
Bt-44	Squash		800	Drekish	دريكيش	Tartus	

المجموعة G1، وشكلت تحت المجموعة الثانية SubG1-2 ما نسبته 9.37%، أما تحت المجموعة الثالثة SubG1-3 فشكلت نسبة بلغت 46.88%، والمجتمع Bt-25 شكل تحت المجموعة الرابعة SubG1-4 بنسبة 3.12% من مجتمعات المجموعة الأولى G1. وبالمقابل انقسمت المجموعة الثانية G2 التي شكلت ما نسبته 27.27% من المجتمعات المدروسة بدورها إلى تحت مجموعتين شكلت تحت المجموعة الأولى SubG2-1 نسبة قدرها 91.7% من مجتمعات المجموعة G2 في حين انفصل المجتمع Bt-41 مشكلاً تحت المجموعة الثانية SubG2-2 وينسباً 8.3% من مجتمعات المجموعة G2 (جدول 3).

اعتماداً على شجرة القرابة (شكل 2) لوحظ أن تحت المجموعتين SubG1-1 و SubG1-2 ضمناً مجتمعات الحشرة المجموعة من الدفنيات البلاستيكية فقط في حين شملت تحت المجموعتين SubG1-3 و SubG1-4 المجتمعات المجموعة من الزراعات المكشوفة دون ارتفاع 400 م عن سطح البحر، وبالمقابل، ضمت المجموعة الرئيسية الثانية G2 المجتمعات المجموعة من عوائل نباتية مختلفة من الزراعات المكشوفة من على ارتفاعات تجاوزت 400 م ووصلت إلى 1200 م.

العلاقات الوراثية ومؤشرات التنوع الوراثي

عند دراسة العلاقات الوراثية بين المجتمعات، تبين أن نسبة التشابه تراوحت ما بين 85% للمجتمعين Bt-8 و Bt-14 و 62% للمجتمعين Bt-9 و Bt-5 في مجتمعات الدفنيات البلاستيكية، وبين 85% للمجتمعين Bt-22 و Bt-27 و 58% للمجتمعين Bt-30 و Bt-25 في مجتمعات الزراعات الحقلية، وبين 88% للمجتمعين Bt-35 و Bt-34 و 70% للمجتمعين Bt-41 و Bt-44 بين مجتمعات الزراعات الجبلية.

نتائج التضخيم العشوائي لدينا المتعدد شكلياً

أظهرت نتائج الرحلان الكهربائي لنواتج PCR لدينا مجتمعات ذبابة التبغ البيضاء أن 11 بادئة فقط من البادئات المستخدمة التحمت في موقع أو أكثر من مجين/جينوم ذبابة التبغ البيضاء. بلغ العدد الكلي للحزم المضخمة 169 حزمة منها 146 حزمة متعددة شكلياً بنسبة تباين وصلت إلى 86.39%، وتراوح حجم الحزم المضخمة بين 120-1900 bp. وتراوح عدد الحزم الناتجة عن كل بادئ بين 4-29 حزمة، وبلغ متوسط عدد الحزم المتباينة 13.27 حزمة لكل بادئة. أما بالنسبة للتعددية الشكلية فبلغت 100% عند البادئة OPF-12 التي أعطت 19 حزمة والبادئة OPH-09 التي أعطت تسع حزم، بينما لم تتجاوز نسبة التعددية الشكلية 50% مع البادئة OPF-02 (جدول 2). ويظهر الشكل 1 عدد الحزم المضخمة الناتجة عن التحام البادئة OPA-20 بأكثر من موقع على مجين/جينوم المجتمعات المدروسة والتي أعطت 15 حزمة بنسبة تباين 86.67%.

التحليل العنقودي

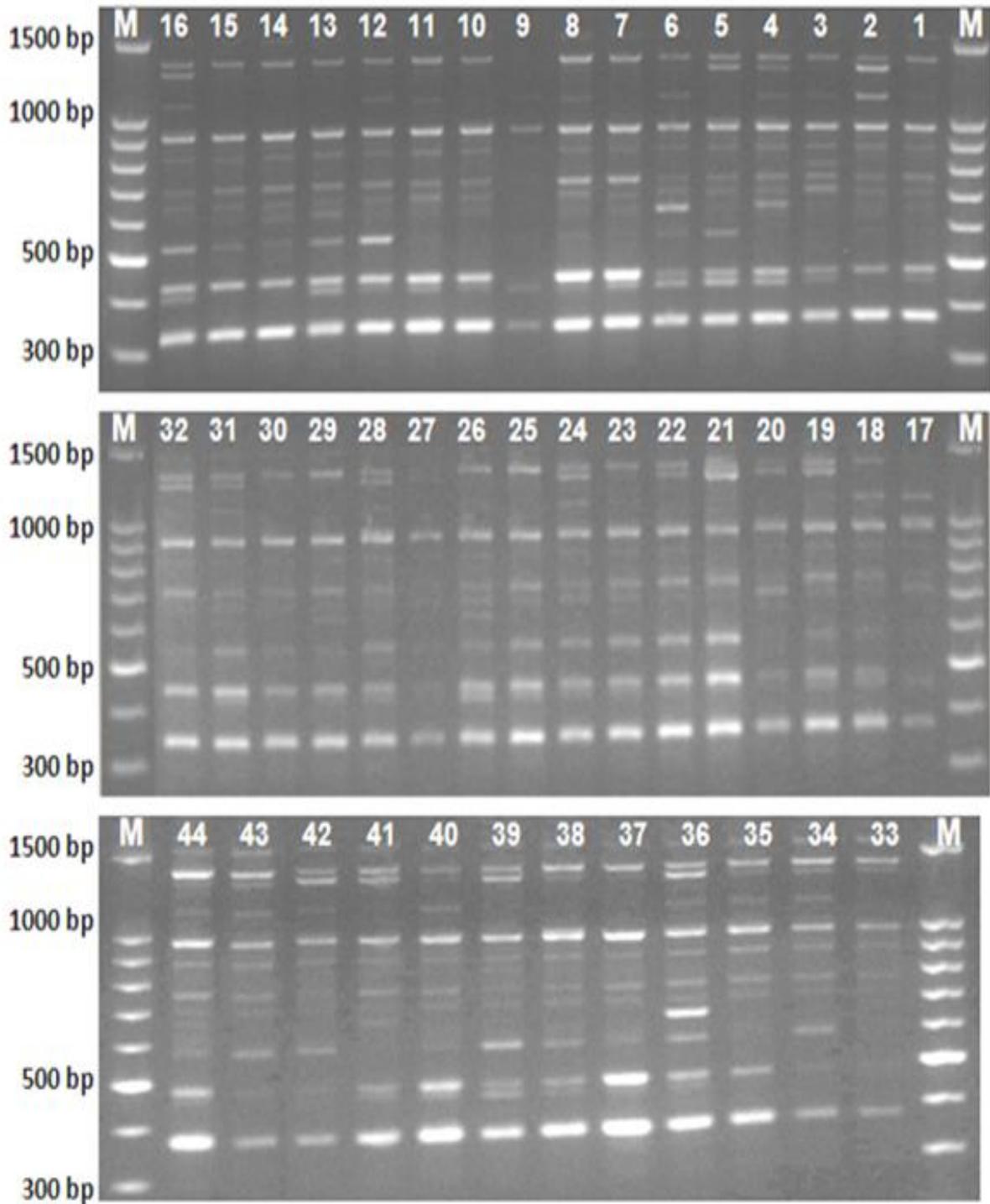
حللت نواتج التضخيم العشوائي لقطع الدنا المختلفة من المجتمعات المدروسة عنقودياً اعتماداً على مصفوفة التشابه (Similarity Matrix) لمعامل Jaccard's coefficient فانقسمت المجتمعات المدروسة إلى مجموعتين رئيسيتين (G1, G2) عند قيمة تشابه 48% عكست درجة القرابة الوراثية فيما بينها (شكل 2).

إضافة لذلك انقسمت المجموعة الأولى G1 التي تشكل ما نسبته 72.73% من المجتمعات المدروسة إلى أربع تحت مجموعات، شكلت تحت المجموعة الأولى SubG1-1 ما نسبته 40.63% من مجتمعات

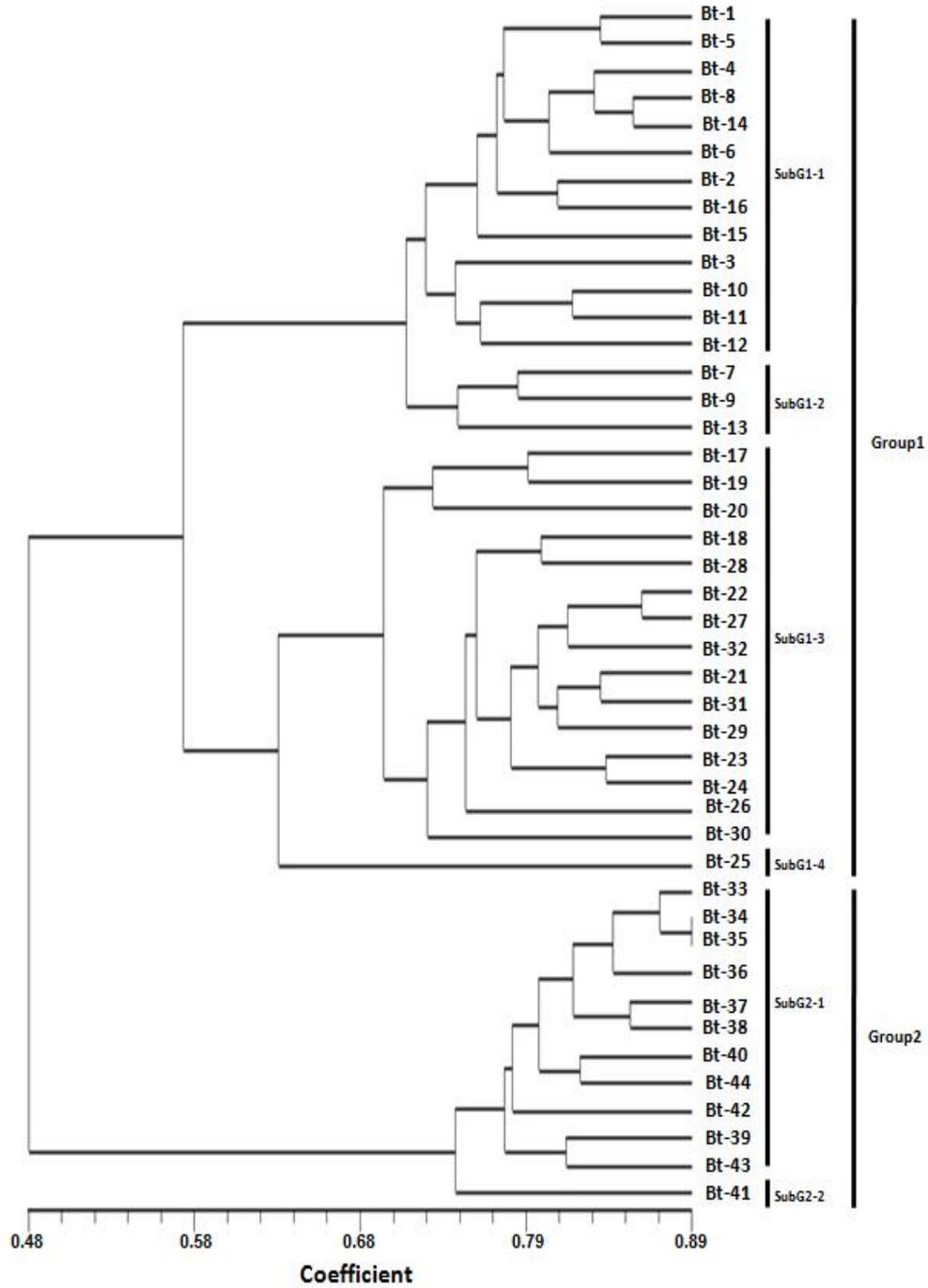
جدول 2. ت المستخدمة وتسلسلها وعدد

Table 2. Primers used in RAPD-PCR and number of amplified fragments.

البادئ (الرمز) Primer (Code)	التتابع النيكلوتيدي Sequence 5' to 3'	الحزم المضخمة Amplified fragments	الحزم المتعددة شكلياً Polymorphic fragments	% للتعددية الشكلية Polymorphism%
OPF-02	GAGGATCCCT	4.00	2.00	50.00
OPF-12	ACGGTACCAG	19.00	19.00	100.00
OPH-09	TGTAGCTGGG	9.00	9.00	100.00
OPH-16	TCTCAGCTGG	15.00	12.00	80.00
OPA-04	AATCGGCTG	16.00	11.00	68.75
OPA-10	GTGATCGCAG	12.00	10.00	83.30
OPA-11	CAATCGCCGT	21.00	20.00	95.24
OPA-13	CAGCACCCAC	29.00	27.00	93.10
OPA-15	TTCCGAACCC	9.00	5.00	55.56
OPA-20	GTTGCGATCC	15.00	13.00	86.67
OPR-07	ACTGGCCTGA	20.00	18.00	90.00
Total		169.00	146.00	86.39
Average		15.36	13.27	



شكل 1. نتائج التحام البادئة OPA-20 مع المادة الوراثية لمجتمعات الذباب الأبيض على هلامة الأغاروز 1.5%. M= سلم معياري لحجم الدنا.
Figure 1. Amplification results of using primer OPA-20 with DNA of whitefly populations on 1.5% agarose gel. M= DNA ladder of 100 bp.



شكل 2. التحليل العنقودي لمجتمعات حشرة ذبابة التبغ البيضاء (*Bemisia tabaci* = Bt) مجموعة = Group، تحت مجموعة = SubG).

Figure 2. Cluster analysis of *B. tabaci* populations.

بالدفيئات وعددها 16 مجتمعاً حشرياً بنسبة تباين 14.15% فيما بينها ومتوسط نسبة التشابه 73.5% وبلغت قيمة مؤشر شانون المعلوماتي $I = 2.771$. وضمت الفئة الثانية C2 16 مجتمعاً حشرياً من الزراعة الحقلية (المكشوفة) دون ارتفاع 400 متر وبلغت نسبة التباين بينها 12.04% ومتوسط نسبة التشابه 71.5% و $I = 2.769$ ، أما الفئة الثالثة C3 فضمت كل المجتمعات الحشرية المجموعة من مختلف

كما لم يكن هناك أي ارتباط بين المجموعتين الرئيسيتين والتوزع الجغرافي للمواقع حيث لوحظ أن كل منهما احتوى على مجتمعات من المناطق الأربعة (اللاذقية، جبلة، بانباس، طرطوس)، في حين تبين أن الأثر الأكبر كان للبيئات الزراعية (زراعة بالدفيئات - حقلية - جبلية) في توزع المجتمعات حيث أمكن تقسيمها إلى ثلاث فئات استناداً لبرنامج XLSTA (شكل 3) وضمت الفئة الأولى C1 مجتمعات الزراعة

(Bt-25) و (Bt-42) 0.220، كما تبين أن مقياس التنوع المورثي (H_E) تراوح بين 0.083 (Bt-25) و 0.232 (Bt-6 و Bt-8). كما لوحظ أن المجتمعان Bt-36 و Bt-42 أظهرتا درجة عالية من التباين الوراثي. فقد بلغت النسبة المئوية للمواقع المتعددة الشكلية PPB 48.5% (Bt-42) و 46.2% (Bt-36)، والعدد الفعال للنظائر في كل موقع N_E = 1.308 (Bt-42) و 1.271 (Bt-36) ومقياس التنوع المورثي H_E = 0.147 (Bt-42) و 0.132 (Bt-36)، ومؤشر شانون المعلوماتي I = 0.220 (Bt-42) و 0.214 (Bt-36)، على التوالي. بالمقابل، أظهر المجتمع Bt-25 أقل درجة من التباين الوراثي (PPB = 37.3%، N_E = 1.161، H_E = 0.083، I = 0.152) (جدول 5).

العوائل النباتية من المناطق الجبلية بدءاً من ارتفاع 400 متر وحتى 1200 متر عن سطح البحر وبلغت نسبة التباين بينها 8.78% ومتوسط التشابه 79% ومؤشر شانون المعلوماتي I = 2.483 (جدول 4). كانت أعلى نسبة تشابه بين المجتمعات تبعاً لهذه الفئات 67% بين (C1) Bt-10 و (C2) Bt-21، في حين كانت أقل نسبة تشابه بين (C1) Bt-9 و (C3) Bt-38 بلغت 39%.

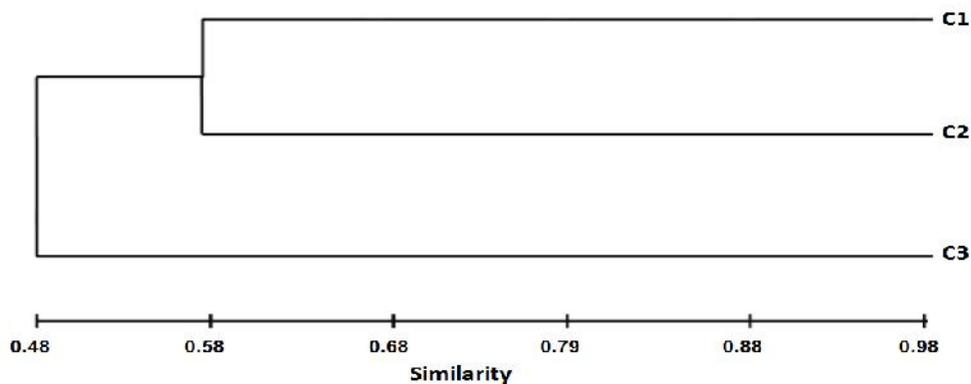
العلاقة بين العائل النباتي والمجتمع الحشري

لمعرفة دور العائل النباتي الذي جمعت منه ذبابة التبغ البيضاء في التمييز بين هذه المجتمعات، درست مؤشرات التنوع الوراثي لكل مجتمع على حدة. فقد تراوح مؤشر شانون المعلوماتي (I) بين 0.152

جدول 3. مجموعات التحليل العنقودي والنسبة المئوية لكل مجموعة.

Table 3. Groups resulted from cluster analysis and its percentages.

المجموعات وتحت المجموعات	المجموعات	رمز المجتمع الحشري	نسبة تحت المجموعة	نسبة المجموعة
Groups and Subgroups	Population Code		Subgroup Percentage	Group Percentage
G1	SubG1-1	Bt (1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 11,12,14,15,16)	40.63	72.73
	SubG1-2	Bt (7, 9, 13)	9.37	
	SubG1-3	Bt (17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32)	46.88	
	SubG1-4	Bt (25)	3.12	
Total		32	100	
G2	SubG2-1	Bt (33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 42, 43, 44)	91.7	27.27
	SubG2-2	Bt (41)	8.3	
Total		12	100	
Total		44		100



شكل 3. التحليل العنقودي لمجتمعات حشرة ذبابة التبغ البيضاء تبعاً لبيئتها الزراعية.

Figure 3. Cluster analysis of *B. tabaci* populations according to its agricultural environment.

جدول 4. فئات مجتمعات ذبابة التبغ البيضاء ومتوسط نسبة التشابه والتباين بين كل فئة.

Table 4. *B. tabaci* population classes and its similarity and variance average within each class.

الفئة Classes	المجتمعات الحشرية Insect Populations	متوسط نسبة التشابه Mean similarity	التباين ضمن الفئة Variance-within classes	مؤشر شانون Shannon's index I
C1	Bt (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16)	73.5	14.15	2.771
C2	Bt (17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32)	71.5	12.04	2.769
C3	Bt (33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44)	79	8.78	2.483
		74.7	11.7	2.674

البيئة التي تفضلها، حيث أن نسبة التشابه بين مجتمعات الطراز الواحد تكون بين 80-100% (26). وتراوحت بين 45-79% عند الطرازين B و Q (12)، وهذا يتفق مع ما بينه Fujie وآخرون (15) الذين أشار لوجود الطرز الحيوية B، Q و non-B في سورية تبعاً لتقانة الحمض النووي في المصورات الحيوية/الميتوكوندريا (mtDNA). أظهرت شجرة القرابة الوراثية أن المجتمعات المدروسة توزعت تبعاً لارتفاعاتها عن سطح البحر (شكل 2) إلى مجموعتين رئيسيتين الأولى G1 شملت المجتمعات الموجودة على ارتفاعات دون 400 متر والثانية G2 ضمت المجتمعات الموجودة على ارتفاعات تزيد عن 400 متر عن سطح البحر. وعند دراسة توزع المجتمعات تبعاً للبيئات الزراعية (شكل 3)، أمكن توزيع هذه المجتمعات إلى ثلاث فئات وقد يعود السبب في ذلك إلى الاختلافات في الظروف البيئية المحيطة. ويلاحظ أن التباين بين مجتمعات الحقول المكشوفة C2 وبين الجبلية C3 كان أقل مقارنة مع مجتمعات الدفيئات البلاستيكية C1 وكذلك الأمر بالنسبة لمعامل شانون المعلوماتي، وعليه يمكن القول أن الزراعة بالدفيئات أسهمت في زيادة التباينات الوراثية بين مجتمعات ذبابة التبغ مقارنة بالزراعات المكشوفة. وقد يعود ذلك لسهولة انتقال الحشرة مع التيارات الهوائية وعمليات نقل الشتول وتنوع الغطاء النباتي في البيئتين الحقلية والجبلية مقارنة بالمحمية وهذا يتوافق مع ما بينه Brown (7) حيث أن التباينات الوراثية تكون أكبر بين البيئات المختلفة، ويتعارض مع ما أوضحه Shah وآخرون (30) حيث أن التباينات الوراثية تكون أكبر بين المجتمعات في المناطق المفتوحة من تلك المجتمعات المحصورة ضمن مناطق ضيقة أو معزولة. لقد تطابق توزع هذه المجتمعات ضمن البيئات الزراعية عند تطبيق تقانة أخرى كتقانة ISSR مع ملاحظة انفراد المجتمع Bt-20 من الزراعات الحقلية (مهما وآخرون، معلومات غير منشورة).

أعطت جميع البادئات المستخدمة باستثناء البادئتين OPA-11 و OPA-20 عدداً من الحزم المميزة في بعض المجتمعات المدروسة والمجموعة من عوائل مختلفة كالمفوف، الباذنجان، أم كلثوم، البندورة/الطماطم، البامياء، البطاطا الحلوة، الفليفلة والحلبة، في حين لم يكن هناك حزم مميزة للمجتمعات الحشرية المجموعة من عوائل الخيار واللوبياء وعصا الراعي والكوسا (جدول 6).

المنافشة

بين Basu (4) أن التباينات الوراثية بين وضمن مجتمعات ذبابة التبغ البيضاء تعود لانتشارها الواسع خلال العقود الماضية في العديد من دول العالم واختلاف مداها العوائل في مناطق انتشارها. وإضافة لاختلاف هذه المجتمعات بقدرتها على التأقلم مع البيئات المختلفة، والاختلاف في خصوبتها (7) وعليه اقترح Perring (25) أن ذبابة التبغ البيضاء نوع معقد يتضمن العديد من الطرز الحيوية وقد تم وصف ما يزيد عن 24 طرزاً حيوياً حتى الآن. وبعد الطرازين الحيويان B و Q الأكثر انتشاراً عالمياً، حيث ينتشر الطرز Q من غرب حوض المتوسط وحتى مصر بينما يمتد انتشار الطرز B من منطقة الشرق الأوسط وحتى آسيا الصغرى (10، 14).

بينت هذه الدراسة وجود تباينات وراثية بين مجتمعات ذبابة التبغ البيضاء المنتشرة في الساحل السوري ضمن البيئات المختلفة. وقد أوضحت تقانة RAPD-PCR الاختلافات الوراثية من حيث العدد والوزن الجزيئي للحزم الناتجة. فقد تراوح الوزن الجزيئي للحزم بين 120 و 1900 زوج قاعدي ومتوسط نسبة تشابه بلغت 74.7% ومتوسط تباين قدر بـ 11.7% (جدول 4)، وعليه يمكن القول بوجود أكثر من طراز حيوي ضمن الساحل السوري تتباين في مكان انتشارها من حيث

Table 5. Genetic diversity indices for *B. tabaci* populations.

Pop.	N_P	PPB(%)	N_0	N_E	I	H_E
Bt-1	100	0.592	1.690	1.539	0.180	0.227
Bt-2	96	0.568	1.760	1.476	0.175	0.207
Bt-3	93	0.550	1.817	1.434	0.172	0.193
Bt-4	91	0.538	1.857	1.408	0.169	0.184
Bt-5	96	0.568	1.760	1.476	0.175	0.207
Bt-6	101	0.598	1.673	1.556	0.181	0.232
Bt-7	84	0.497	2.012	1.328	0.161	0.155
Bt-8	101	0.598	1.673	1.556	0.181	0.232
Bt-9	87	0.515	1.943	1.361	0.165	0.167
Bt-10	88	0.521	1.920	1.372	0.166	0.171
Bt-11	88	0.521	1.920	1.372	0.166	0.171
Bt-12	94	0.556	1.798	1.448	0.173	0.198
Bt-13	95	0.562	1.779	1.462	0.174	0.203
Bt-14	99	0.586	1.707	1.522	0.179	0.222
Bt-15	96	0.568	1.760	1.476	0.175	0.207
Bt-16	99	0.586	1.707	1.522	0.179	0.222
Bt-17	67	0.396	2.522	1.186	0.158	0.095
Bt-18	80	0.473	2.113	1.289	0.177	0.139
Bt-19	76	0.450	2.224	1.254	0.172	0.124
Bt-20	66	0.391	2.561	1.180	0.157	0.092
Bt-21	86	0.509	1.965	1.349	0.186	0.163
Bt-22	78	0.462	2.167	1.271	0.175	0.132
Bt-23	84	0.497	2.012	1.328	0.183	0.155
Bt-24	83	0.491	2.036	1.318	0.182	0.151
Bt-25	63	0.373	2.683	1.161	0.152	0.083
Bt-26	78	0.462	2.167	1.271	0.175	0.132
Bt-27	78	0.462	2.167	1.271	0.175	0.132
Bt-28	78	0.462	2.167	1.271	0.175	0.132
Bt-29	80	0.473	2.113	1.289	0.177	0.139
Bt-30	73	0.432	2.315	1.229	0.167	0.114
Bt-31	88	0.521	1.920	1.372	0.188	0.171
Bt-32	76	0.450	2.224	1.254	0.172	0.124
Bt-33	73	0.432	2.315	1.229	0.206	0.114
Bt-34	76	0.450	2.224	1.254	0.211	0.124
Bt-35	75	0.444	2.253	1.245	0.209	0.121
Bt-36	78	0.462	2.167	1.271	0.214	0.132
Bt-37	76	0.450	2.224	1.254	0.211	0.124
Bt-38	72	0.426	2.347	1.222	0.204	0.111
Bt-39	70	0.414	2.414	1.207	0.201	0.104
Bt-40	76	0.450	2.224	1.254	0.211	0.124
Bt-41	68	0.402	2.485	1.193	0.197	0.098
Bt-42	82	0.485	2.061	1.308	0.220	0.147
Bt-43	64	0.379	2.641	1.167	0.190	0.086
Bt-44	75	0.444	2.253	1.245	0.209	0.121
Average	82.4318	0.48776	2.085	1.33	0.182	0.151

$= N_E$ $= N_0$ $PPB\%$ = النسبة المئوية للمواقع $= I$ H_E = مقياس التنوع المورثي Bt $Bemisia tabaci$ $= N_P$

N_P = Polymorphic loci, $PPB\%$ = Percentage of Polymorphic loci, N_0 = Observed number of alleles per locus, N_E = Effective number of alleles per locus, I = Shannon's information index, H_E = Nei's (1973) Measure of gene diversity, Bt = *Bemisia tabaci*

Table 6. Some host-specific fragments of tobacco whitefly populations investigated.

البادئة Primer	العائل Host	المجتمع الحشري Population	حجم الحزم (زوج قاعدي) Band size (bp)
OPF-02		Bt-42	600
OPF-12		Bt-16	280
OPF-12		Bt-29	900
OPH-09		Bt-39	800
OPH-16	بامياء	Bt-36	1900
OPA-02		Bt-13	800
OPA-04	فليفلة	Bt-35	650
OPA-04		Bt-33	730
OPA-09	فليفلة	Bt-5	850 -825
OPA-09		Bt-11	1180
OPA-10		Bt-15	180
OPA-13		Bt-3	800
OPA-15		Bt-21	440
OPA-15		Bt-30	950
OPA-15	الحليبية	Bt-20	480

درجة عالية من التباين الوراثي (جدول 5) كانا من عائلين مختلفين هما البطاطا الحلوة والبنندورة/الطماطم، على التوالي، وهذا يتفق مع ما بينه Mouhanna و Barhoum (22) حيث درساً تأثير العائلين وهما البنندورة والباذنجان في هذه الحشرة بعد تربيتها لثمانية أجيال على نبات الباذنجان ولم يلاحظ أي تأثير للعائل في التباينات الوراثية بين مجتمعات العائلين وحتى ضمن مجتمعات الباذنجان نفسها وهذا يتعارض مع ما أوضحه Sharma وآخرون (31) حيث تميزت مجتمعات ذبابة التبغ البيضاء التي ربيت على عائل محدد لعدة أجيال. بالمقابل بينت الدراسة وجود بعض الحزم المميزة لبعض المجتمعات المجموعة من عوائل مختلفة (جدول 6) إلا أن ذلك يتطلب دراسة معمقة ودقيقة حول هذه الحزم حيث أن تقانة RAPD تتميز بعشوائيتها وبالتالي قلة المعلومات حول ماهية الحزم الناتجة إضافة لحساسية هذه التقانة لنوعية وكمية المادة الوراثية المستخدمة كقالب (19).

لقد بينت تقانة RAPD-PCR كفاءة جيدة في إظهار التباينات الوراثية بين مجتمعات ذبابة التبغ البيضاء، وتوزعها تبعاً لارتفاعها عن سطح البحر وتبعاً لبيئاتها الزراعية وعليه فمن المرجح وجود أكثر من طرز حيوي في الساحل السوري ويجري حالياً التوجه نحو تطبيق واستخدام تقانات أخرى أكثر دقة وكفاءة والتي تعتمد على تحديد تسلسل وتتابع النكليوتيدات ضمن مناطق معينة للحمض النووي في المصورات الحيوية/الميتوكوندريا (mtDNA) (11، 14) والحمض النووي في الريبوزومات (rDNA) (10).

لم يلاحظ أي دور للعائل النباتي في توزع المجتمعات المدروسة بالرغم من ظهور فروق معنوية بين العوائل النباتية تبعاً لعدد الحزم N_0 الناتجة إلا أن معامل التأثير (التحديد) لم يتجاوز $R^2=0.016$ أي أن تأثير العائل النباتي في هذه التباينات لم يتجاوز 1.6% وهذا ما أكدته مؤشرات التنوع الوراثي حيث أن المجتمعين Bt-6 و Bt-8 الذين أعطيا

Abstract

Mouhanna, A.M., H. Barhoum, L. Asslan and A. Kassem. 2014. Detection of the major groups of *Bemisia tabaci* Genn. spread on different hosts in Syria coastal based on random DNA indices. Arab Journal of Plant Protection, 32(3): 207-218.

Genetic diversity of *Bemisia tabaci* Genn. was detected in 44 populations collected from different hosts in the Syrian Coast by using RAPD-PCR. The number of polymorphic fragments was 146 with polymorphism rate of 86.39%, and the highest number of amplified fragments was 29 bands with 93.1% polymorphism when the primer OPA-13 was used, whereas the highest polymorphism was 100% when primers OPF-12 and OPH-09 were used. The rate of polymorphic loci (PPB) for all studied populations was 48%, the number of alleles per locus (N_0) was 2.085, the effective number of alleles (N_E) was 1.33, and the genetic diversity (H_E) was 0.151. The phylogenetic tree showed that the studied populations were divided into two groups according to altitude at similarity rate of 48%. The highest genetic similarity was 85% between Bt-8 and Bt-14, whereas the least genetic similarity was 39% between Bt-38 and Bt-9 populations. In addition, the collected populations were distributed to three classes (C1, C2, C3) depending on its environment, and Shannon's index for these classes was 2.771, 2.769 and 2.483, respectively. There was not any correlation between plant hosts and genetic diversity for these population ($R^2=0.016$).

Keywords: Genetic diversity, *Bemisia tabaci*, Shannon's index, Syria, RAPD-PCR.

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

References

- الإحصائية السنوية. 2010. سورية، سورية.
- Addinsoft. 2012. XLSTAT 2010: Data analysis and statistics software for Microsoft Excel. Addinsoft, Paris, France.

- عبود، رفيق. 2007. راسة ذبابة القطن البيضاء *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) ومكافحتها حيوياً. أطروحة دكتوراه، كلية الزراعة، جامعة تشرين، اللاذقية، سورية، 181.

16. **Gawel, N.J. and A.C. Bartlett.** 1993. Characterization of differences between whiteflies using RAPD-PCR. *Insect Molecular Biology*, 2: 33-38.
17. **Gennadius, P.** 1889. Disease of tobacco plantations in the Trikonía. The aleurodid of tobacco. *Ellenike Georgia*, 5: 1-3 (in Greek).
18. **Jones, D.** 2003. Plant viruses transmitted by whiteflies. *European Journal of Plant Pathology*, 109: 197-221.
19. **Kumar, S.N. and G. Gurusubramanian.** 2011. Random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers and its applications. *Science Vision*, 11: 116-124.
20. **Martin, J.H.** 1999. The whitefly fauna of Australia (Sterorrhyncha, Aleyrodidae), a taxonomic account and identification guide. Technical Paper, CSIRO Entomology, Canberra, 38:1-197.
21. **Martin, J.H., D. Mifsud and C. Rapisarda.** 2000. The whiteflies (Hemiptera: Aleyrodidae) of Europe and the Mediterranean basin. *Bulletin of Entomological Research*, 90: 407-448.
22. **Mouhanna, A.M. and H.S. Barhoum.** 2014. Detection of some genetic diversity between populations of *Bemisia tabaci* Genn. occurring on tomato and eggplant grown in greenhouses and fields of Syrian coast. *Arab Journal of Plant Protection*, 32: 16-24.
23. **Mound, L.A. and S.H. Halsey.** 1978. Whitefly of the World: a Systematic Catalogue of the Aleyrodidae (Homoptera) with Host Plant and Natural Enemy. Data. Wiley, New York, 340 pp.
24. **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.
25. **Perring, T.M.** 2001. The *Bemisia tabaci* species complex. *Crop Protection*, 20: 725-737.
26. **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.
27. **Quaintance, A.L.** 1900. Contribution towards a monograph of the American Aleurodidae. United States Department of Agriculture, Technical series, Bureau of Entomology, 8: 9-64.
28. **Rohlf, F.J.** 1993. NTSYS-pc, Numerical taxonomy and multivariate analysis system, v. 1.80. Applied Biostatistics Inc., NY.
29. **Rosell, R.C., I.D. Bedford, D.R. Frohlich, R.J. Gill and J.K. Brown.** 1997. Analysis of morphological variation in distinct populations of *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 90: 575-589.
30. **Shah, A., D.Z. Li, L.M. Gao, H.T. Li and M. Moller.** 2008. Genetic diversity within and among populations of endangered species *Taxus fuana* (Taxaceae) from Pakistan and implications for its conservation. *Biochemical Systematics and Ecology*, 36: 183-193.
4. **Basu, A.N.** 1995. *Bemisia tabaci* (Gennadius): Crop Pest and Principal Whitefly Vector of Plant Viruses. Westview Press, New Delhi, 183 pp.
5. **Bedford, I.D., R. Briddon, J.K. Brown, R.C. Rosell and P.G. Markham.** 1994. Geminivirus-transmission and biological characterization of *Bemisia tabaci* (Gennadius) biotypes from different geographic regions. *Annals of the Entomological Society of America*, 125: 311-325.
6. **Bird, J. and K. Marmorosch.** 1978. Viruses and virus diseases associated with whiteflies. *Advances in Virus Research*, 22: 55-110.
7. **Brown, J.K.** 2010. *Bemisia* Bionomics and Management of a Global Pest: introduction. Section I: Taxonomy, Molecular Systematics, and Gene Flow in the *Bemisia tabaci* Complex and *Bemisia* Relatives, 545.
8. **Costa, H.S. and J.K. Brown.** 1991. Variation in biological characteristics and esterase patterns among populations of *Bemisia tabaci*, and the association of one population with silver leaf symptom induction. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 61: 211-219.
9. **De Barro, P.J. and F. Driver.** 1997. Use of RAPD-PCR to distinguish the B biotype from other biotypes of *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae). *Australian Journal of Entomology*, 36: 149-152.
10. **De Barro, P.J., F. Driver, J.W. Trueman and J. Curran.** 2000. Phylogenetic relationships of world populations of *Bemisia tabaci* (Gennadius) using ribosomal ITS1. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 16: 29-36.
11. **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.
12. **Dong, C. , F. Wan, B. Xu, Q. Wu and Y. Zhang.** 2008. Comparative Analysis of Population Genetic Structure in *Bemisia tabaci* (Gennadius) Biotypes B and Q Based on ISSR Marker. *Agricultural Sciences in China*, 11: 1348-1354.
13. **Ellsworth, P.C.** 1999. Whitefly management in Arizona cottonstatus and needs. Pages 41-44. In: *Proceedings Beltwide Cotton Conferences*. P. Dugger and D. Richter (Ees.). National Cotton Council, Memphis, TN.
14. **Frohlich, D.R., I.I. Torres-Jerez, I.D. Bedford, P.G. Markham and J.K. Brown.** 1999. A phylogeographical analysis of the *Bemisia tabaci* species complex based on mitochondrial DNA markers. *Molecular Ecology*, 8: 1683-1691.
15. **Fujjie, A., A.M.S. Omar, A.B. Sawas, A. Abbas, M.A. Hadi, E.A. Sawas, A.S.U. Barakat and K.T. Natsuaki.** 2009. Geographic distribution of *Bemisia tabaci* biotypes collected from autumn-cultured potato fields in Syria. *International Society for Southeast Asian Agricultural Sciences*, 15: 1-9.

33. **Yeh, F.C., R.C. Yang, T. Boyle, Z.H. Ye and J.X. Mao.** 1997. PopGene, the User Friendly Shareware for Population Genetic Analysis. Molecular Biology and Biotechnology Centre, University of Alberta, Canada.
31. **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.
32. **Williams, J.G., A.R. Kubelik, K.J. Livak and J.A. Rafalski.** 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucleic Acids Research, 18: 6531-6535.

Received: May 5, 2013; Accepted: September 10, 2013

تاريخ الاستلام: 2013/5/5؛ تاريخ الموافقة على النشر: 2013/9/10