دراسة مقارنة لبعض الجوانب المظهرية والجزيئية لنوعي النحل العاسل *Apis florea* Fab.1787 و *Apis mellifera* (Hymenoptera :Apidae)Lin.1758 لبعض مناطق العراق

أطروحة مقدمة إلى

مجلس كلية الزراعة – جامعة البصرة

وهي جزء من متطلبات نيل شهادة الدكتوراه فلسفة

في العلوم الزراعية_ وقاية النبات

(الحشرات)

من قبل الطالب

مسلم عاشور عبد الواحد العطبي

ماجستير علوم زراعية وقاية النبات

(2009م)

بأشراف

أ.م. د. أياد عبد الوهاب عبد القادر

أ.م. د. لبيد عبد الله نجم

رمضان 1442هـ

نيسان 2021 م

صدق الله العلي العظيم

سورة النحل: الآية 68 - 69

بسم الله الرحمن الرحيم

توصية المشرفين

نقر بأن إعداد هذه الرسـالة تمت تحت إشـرافنا في قسـم وقاية النبات / كلية الزراعة / جامعة البصـرة، كجزء من متطلبات نيل درجة دكتوراه فلسفة في العلوم الزراعية / وقاية النبات.

التوقيع:

الاسم: د. اياد عبد الوهاب عبد القادر

المرتب العلمية: أستاذ مساعد

الاختصاص الدقيق: تصنيف حشرات

التاريخ: / / 2021

التوقيع :

الاسم: د. لبيد عبد الله نجم

المرتب العلمية: أستاذ مساعد

الاختصاص الدقيق: تقنيات حياتية

التاريخ: / / 2021

توصية رئيس القسم

إشارة إلى التوصية المقدمة من قبل الأستاذين المشرفين أحيل هذه الرسالة إلى لجنة المناقشة لدراستها وبيان الرأي فيها.

التوقيع:

الاسم: د. عبد النبي عبد الامير مطرود

المرتبة العلمية: أستاذ مساعد

التاريخ: / / 2021

الاهداء

الى .....

المبعوث رحمةً للعالمين ومدينه علم الاولين والاخرين محمد صلى الله عليه وآل بيتهِ الطيبين الطاهرين.

الى من أهتديتُ بنور صبرها وانا استقبل شوط الحياة ....

والدتي رحمها الله واسكنها فسيح جناته.

الى من غرس في قلبي بذور الامل والطموح اهدي الية ثمرة جهدي المتواضع لعطائه الدائم

والدي حفظه الله ورعاهُ.

الى من كانوا لي ركنا وعونا اخوتي اخواتي.. وكهفا وحصنا زوجتي واولادي اهدي لهم جهدي المتواضع هذا.

مسلم . . . .

شكر وتقدير

((الحمد لله الذي جعل الحمد مفتاحا لذكره وخلق الأشياء ناطقة بحمده وشكره وأساله ان يقسم لي حلما يسد عني باب الجهل وهدى يمن به علي من كل ضلالة وغنى يسد به عني باب كل فقر وقوة يرد بها عني كل ضعف وعلما يفتح به كل يقين ويقينا يذهب به عني كل شك ودعاء يبسط لي به الإجابة)) .

يسعدني وانا انهي الكلمات الأخيرة من اطروحتي ان أتقدم بفائق الشكر والامتنان الى مشرفي أ.م.د. اياد عبد الوهاب عبد القادر و أ.م.د. لبيد عبد الله نجم لما ابدياهُ من مساعدة طيلة فترة البحث والكتابة سائلا المولى القدير ان يوفقهم لما يحب ويرضاه، واتقدم بجزيل الشكر والاحترام لعمادة كلية الزراعة متمثلةً بالأستاذ الدكتور ساجد سعد حسن عميد الكلية لما قدمه من تسهيلات خلال فترة البحث وتوفير بعض الأجهزة لمختبر الوراثة الجزيئية والى ا.م. د. ضياء سالم الوائلي المعاون العلمي لما قدمه من تسهيلات إدارية ويلزمني الواجب ان اشكر رئاسة قسم وقاية النبات متمثلا أ.م. د. عبد النبي عبد الأمير مطرود لإتاحة الفرصة لي بإكمال دراستي وتوفير مستلزماتها وتسهيل الأمور التي لها علاقة بالبحث، كما اثمن جهود أ.د اسعد يحيى عايد لما قدمه من ملاحظات حول التحليل الاحصائي و أ.د. كاظم صالح الهدلك كلية العلوم قسم علوم الحياة لما قدمه من تسهيلات باستخدام المجهر التصويري الخاص بمختبر الحشرات واجابته على بعض التساؤلات العلمية واعترافاً مني بالجميل أتقدم بالشكر والامتنان الى الأستاذ الدكتور Laurence Packer قسم Biology جامعة York الكندية لتأكيده تشخيص العينات والأستاذ الدكتور Adam Tofilski قسم Zoology and Animal Welfare جامعة Agricultural البولندية لمساعدته في تشخيص سلالات نحل لعسل *Apis mellifera* باستخدام البرنامج الحاسوبي Identifly .

كما يسرني ان اشكر كل من النحال ضياء عيسى واياد فهد ومنير ناصح وشاكر طعيس لما قدموه من تسهيلات إدارية لزيارة المناحل واتقدم بالشكر والاحترام لكل من الحاج علاء العاشور والحاج صادق عبد الواحد للسماح لي بزيارة بساتينهم في منطقة السيبة. كما أثمن جهود المدرس المساعد حسين علي مهدي لما قدمه من مساعدة في جمع العينات للنحل البري ومهندس تكنولوجيا المعلومات منتظر مسلم عاشور لمساعدته في توفير البرمجيات المهمة في الدراسة وتصوير النماذج. ولا يفوتني ان اعبر عن فائق شكري وتقديري الى زوجتي الغالية لصبرها وتحملها طيلة فترة الدراسة والبحث والكتابة ومن الله التوفيق.

الباحث .....

الخلاصـــــــــــــــــة

أجريت دراسـة مقارنة لبعض الصـفات المظهرية والجزيئية لنوعين من النحل العاسـل هما *Apis florea* Fabricius1787 و *Apis mellifera* Linnaeus 1758 (Hymenoptera :Apidae) لبعض مناطق العراق، لغرض تعريف نحل العسـل العراقي، وكان مجموع العينات التي اسـتخدمت في الدراسـة 2470 نحلة من نحل العسل الغربي *Apis mellifera* و360 نحلة من نحل العسل القزم *Apis florea* من اربع عشر منطقة من العراق.

تم العمل بطريقتين لتمييز وتشـخيص عينات النحل هما الطريقة المظهرية والطريقة الجزيئية، وقد اعتمدت الطريقة المظهرية على الصفات المظهرية الكلاسيكية والصفات المظهرية الخاصة بشكل الجناح الهندسي كل على انفراد ،باستخدام برامجيات حاسوبية جديدة هما برنامج imageJ software اصدار 1.5 والذي استخدم لقياس الصـفات المظهرية بدقة ليتم اسـتخدامها في المفاتيح التصـنيفية الكلاسـيكية وبرنامج Identifly software اصـدار 1.2.0 الذي اسـتخدم لتشـخيص نحل العسـل المدروس بالاعتماد على صـفات بصـمة الجناح الامامي.

أظهرت نتائج قياس الصـفات المظهرية بالطريقة الكلاسـيكية تبايناً كبيراً بين المناطق في العراق، اذ بلغت المجموعة النحلية لمنطقة الجنينة اعلاها في نسبة الطول الى العرض للقطعة القاعدية للرسغ وطول الصفيحة الظهرية الثالثة وطول وعرض الصفيحة القصية الرابعة وطول مرآة الشمع الأولى ، بينما كانت اقلها للمجموعة النحلية في منطقة كرندلاند لصـفات طول الراس وعرضـة وطول قرن الاسـتشـعار وطول الصـفيحة القصـية الرابعة وعرض مرآة الشمع، في حين كانت اعلاها للمجموعة النحلية لمنطقة التنومة في صفة عرض الجناح الامامي وزاوية A4 وزاوية G18 ، واقلها في قياس صـفات عدد الخطاطيف وزاوية G18 وزاوية K19

ومعامل الجناح الامامي في منطقة كرندلاند، كما سـجل اعلى قياس في صـفات عرض الراس وطول الفخذ وطول الساق وطول الصفيحة القصية الثالثة وطول الصفيحة القصية الرابعة وعرضها وطول مرآة الشمع الأولى ولصـفات الجناح عرض الجناح الامامي وطول الجناح الخلفي وعرضـة وعدد الخطاطيف وزاوية B4 زاوية D7 وزاوية G18 في محافظة واسـط ، بينما كان اقلها في صـفات طول الراس وعرضـة وطول لخرطوم وطول الفخذ للرجل الخلفية وطول الصـفيحة الظهرية الثالثة وعرضـها وطول الصـفيحة الظهرية الرابعة وعرضها وطول الصفيحة القصية وطول الجناح الامامي وعرضة وطول الجناح الخلفي وزاوية B4 وزاوية D7 وزاوية G18 الرابعة في محافظة أربيل.

وقد شـخصـت عينات نحل التنومة باسـتخدام التحليل العنقودي ومصـفوفة القرابة على انه مماثل للنويع الإيرانيSkorikov, 1929 *A.m.meda* والذي يتبع الى النسـب التطوري O؛ وشـخصـت عينات نحل حمدان والجنينة على انها مماثلة للنويع السـوريSkorikov, 1929 *A.m.syriaca* الذي يتبع للخط التطوري O ، اما عينات نحل كل من بابل وواسط والبراضعية ويوسفان والخربطلية والقرنة والهارثة شخصت على انها مماثلة للنويع الاناضـوليMaa,1953 *A.m. anatoliaca* الذي يتبع للخط التطوري O،وقد اصطفت عينات كل من شط العرب وكرمة علي وكرندلاند واربيل بعنقود خارج المجموعة.

اما الدراسـة المظهرية باسـتخدام الشـكل الهندسـي للجناح فقد أظهرت نتائج التعريف باسـتخدام برنامج Identifly software أن العينات المدروسة تقع في نسبين تطوريين هما كل من الخط التطوري C والخط التطوري M ، وقام البرنامج بتشـخيص عينات كرندلاند و البراضـعية والهارثة وحمدان ويوسـفان على انها نويع Buttel-Reepen, 1906 *A. mellifera intermissa* ، في حين تم تشـخيص نحل منطقة الجنينة وشـط العرب وكرمة علي والقرنة على انها نويع Linnaeus, 1758 *A. mellifera mellifera* ، بينما

المجموعة الثالثة من العينات شملت نحل الخربطلية والتنومة ومحافظة بابل ومحافظة واسط والتي شخصت على انها نويع *A. mellifera carnica* Pollman, 1879.

اما نتائج الدراســـة التي اعتمدت على التشـــخيص الجزيئي فقد أظهرت ان عينات نحل العســـل *A. mellifera* انها تنتمي الى ثلاث نويعات رئيسية هي*A. m. carnica* Pollmann, 1879 و Spinola, 1806 *A. m. ligustica* و*A. m. caucasica* Gorbachev,1916 فقد شخصت العينات MLA-1 و MLA-11 و MLA-15 في مناطق يوسفان والقرنة واربيل على كونها *A. m. carnica* وفقا للبادئ الأول LCO1490 - HC02198 و البادئ الثاني Cl-J-2183-TL2-N-3014 والبادئ الثالث E2-H2 والتي أظهرت تطابقاً كبيراً مع العزلة المودعة في بنك الجينات NCBI MN250878.1 ، أما عينات MLA-2 و MLA-3 و MLA-4 و MLA-5 و MLA-7 و MLA-8 و MLA-9 و MLA-13 و MLA-10 لمناطق كرندلاند والبراضعية والخربطلية والجنينة وشط العرب وكرمة علي وحمدان وبابل وواسط فقد شخصت على انها *A. m. ligustica* وفقا للبادئ LCO1490 - HC02198 والبادئ E2-H2 والتي أظهرت تطابقاً عالياً مع عزلة بنك الجينات MH341408.1 ، بينما شخصت العينة MLA-6 على كونها *A. m. caucasica* والتي أظهرت مطابقة عالية لعزلة بنك الجينات MN714160.1 و AP018404.1 للبادئ Cl-J-2183 -TL2-N-3014 و LCO1490 - HC02198 و E2-H2 على التوالي ، وشخصت العينات MLA-2 و MLA-12 لمناطق كرندلاند والتنومة على أنها *A. m. ligustica* وفقاً للبادئ Cl-J-2183-TL2-N-3014 والتي أظهرت تطابقاً عالياً مع عزلة بنك الجينات MH341408.1.

بينما اظهرت نتائج التشخيص المظهري لنحل العسل *A.florea* ان متوسط طول الملكة بلغ 13.148 ملم والقطعة البطنية الأولى ذات لون اصفر محمر والقطعة البطنية الثانية أكبر القطع ذات بقعة سوداء اللون

كبيرة الحجم. في حين كانت الشغالات أصغر افراد الطائفة حجما بلغ متوسط طولها 8.282 ملم والصدر اسود اللون، والقطعة الأولى والثانية للبطن ذات لون احمر، اما باقي الحلقات سوداء ذات شريط ابيض، في حين تميز الذكر بضخامة الحجم اذ بلغ متوسط طوله 11.742 ملم، والعيون المركبة ملتحمة عند هامة الراس ذات لون قهوائي، والقطعة القاعدية للرسغ الرجل الخلفية تحتوي على مهماز يشبه الابهام يسمى عضو التشابك Clasper organ والحلقات البطنية ذات لون اسود تنتهي القطعة الأخيرة بخصلة من الشعر الأبيض.

اظهرت نتائج التحليل العنقودي الهرمي لمعرفة درجة القرابة الوراثية بين نحل العسل القزم في البصرة مع نحل العسل القزمي في الدول الإقليمية اصطفاف نحل البصرة مع نوع النحل شمال الهند وباكستان وعُمان وإيران ولكن بدرجة قرابة ابعد وكانت المسافة الوراثية لنحل البصرة أقرب الى المجموعة الإيرانية، مما قد يعني ان مصدر نحل العسل القزم *Apis florea* في البصرة مصدره الجزء الجنوبي الغربي لإيران.

اما التشخيص الجزيئي للعزلة MLA-14 الخاصة بمركز محافظة البصرة شخصت على انها نحل العسل القزم*Apes florea* وفقا للبادئ LCO1490-HC02198 و E2-H2 اذ أظهرت مطابقة عالية لعزلة بنك الجينات MG548256.1 و JX982136.1 على التوالي .

كما أظهرت نتائج تحليل شجرة التقارب الوراثي لنويعات نحل العسل انها قد انعزلت في ثلاثة مجاميع رئيسية، شمل العنقود الاول العينات MLA-2 و MLA-8 و MLA-9 و MLA-10 وMLA-12 وMLA-13 مع تتابع النويعات القياسية المودع تتابعاتها في الـ NCBI *A.m..ligustica*_MF136776.1 و *A.m.ligustica*_MH341408.1 التي تتبع الى الخط التطوري C (شمال البحر المتوسط) بالإضافة إلى العينات MLA-3 و MLA-4 و MLA-5 وMLA-7 والتي

كانت ابعد نسبيا ، اما العنقود الثاني تضمن العينة MLA-6 شخصت على أنها *A.m.caucasica* والتي اصطفت مع العزلة AP018404.1 ، بينما تضمن العنقود الثالث تضمن العزلة MLA-11 و MLA-15 فقد اصطفتا مع تتابع النويع القياسية *A.m.carnica*_MN250878.1 . أما العينة MLA14 والتي استخدمت كمجوعة سيطرة (Out group) فقد انعزلت لوحدها مع النسخة القياسية *A. florea* JX982136.1 في عنقود خارجي ابتعد عن جميع العينات والنسخ القياسية.

يتضح من دراسة المقارنة بين طرق التشخيص الثلاثة، من ان التشخيص الجزيئي لنويعات نحل العسل بالاعتماد على المنطقة الجينية COXI-COXII لجينوم المايتوكوندريا والموروث من الأمهات فقط، انه أداة قوية في تشخيص العينات المدروسة الى ثلاث نويعات والتي بقيت محافظة على صفاتها الوراثية من اسلافها، مقارنة بالتشخيص المظهري الذي يعتمد على الصفات المظهرية للجسم والتي تتأثر بعملية التزاوج.

الفصل الأول:

1: المقـــــــــــــــــدمة Introduction

تعود حشـــرات النحل Bees (نحل العســـل) الى فوق عائلة النحليات Apoidea من رتبة غشـــائية الاجنحة Hymenoptera(Alexandre واخرون، 2013)، وبلغ عدد الانواع المســـجلة منه عالمياً اكثر من 20000 نوع ، منتشـــرة في جميع القارات ماعدا القطب الجنوبي، تعد اكثر انواع النحل المعروفة من الحشـرات الاجتماعية الحقيقية ، اذ تعيش بشـكل مسـتعمرات والتي تتميز بوجود النظام الطبقي Castes ضـــمن المســـتعمرة الواحدة (Ruttner ، 1987) . ويعتقد أن النحل انحدر من دبابير تتبع فصـــيلة Sphecidae التي تخلت عن الافتراس في ســبيل الاعتناء وتوفير الغذاء من رحيق وحبوب لقاح لصـــغارها وأقدم متحجرات النحل وجدت في عينات من طبقات الكهرمان البلطيق Baltic Amber التي ترجع إلى عصر الأيوسين Eocene منذ 40 مليون سنة، وتَوزع النحل من تلك المناطق إلى غرب آسيا وشمال إفريقيا وأوروبا، واستطاع أن يتأقلم ويعيش في مناطق شديدة البرودة (مخيبش واخرون،2009).

من الناحية التصـنيفية ، تمتاز حشـرات العائدة الى فوق العائلة Apoidea بان اجسـامها لها بعض الشـــعر المتفرع ، والرســـغ الخلفي به العقلة القاعدية أعرض من العقل التالية، وتتغذى البالغات الذكور والاناث على حبوب اللقاح والرحيق بشـــكل كامل اما ادوارها اليرقية فان غذائها يعتمد على ما تصـــنعه العاملات من خبز النحل الذي هو خليط من الرحيق وحبوب اللقاح (Batra، 1977)، وقد صـــنف نحل العسل تحت اسم *Apis mellifera* من قبل Linnaeusعام 1758 إشارة إلى النحل الذي يصنع العسل، اذ كان هذا النوع من النحل مقتصـــراً على كل من أوربا و إفريقيا والشـــرق الأوســـط قبل أن ينتشـــر إلى أرجاء الأرض (Ruttner ، 1987)، بينما صـــنف نحل العســـل القزمي *Apis florea* من قبل Fabricius عام

1787 وسميت بهذا الاسم بسبب اللون البني المحمر على البطن وحجمها الصغير نسبيًا مقارنةً بنحل العسل القزمي*Apis andreniformis* ، معظم أنواع نحل العسل نشأ في اسيا، الاّ ان دراسات التسلسل الجيني تشير الى انها تطورت في أفريقيا ثم انتشرت على الأقل مرتين في أوربا (Noah واخرون،2018).

تتركز الاهمية الاقتصادية للنحل بشكل اساسي على الدور الذي تلعبه في تلقيح النباتات الزهرية، فهي باعتمادها على هذه النباتات تصنع أنموذجاً رائعاً من التكافل Symbiosis يعرف باسم تبادل المنفعة فضلا عن أنتاج العسل والشمع والعكبر والغذاء الملكي وسم النحل(Rahimi ،2015)، حيث تكيفت اجزاء الفم في هذه الحشرات في العديد من الجوانب المظهرية للتعامل مع تركيب الازهار النباتية وبالشكل الذي يؤمن حصولها على ما تحتاجه في غذائها من الرحيق وحبوب اللقاح ،وفي الوقت نفسه تؤمن هذه العملية التلقيح الخلطي الضروري لنجاح وتطور العديد من انواع النباتات ، اذ وجد بان مالا يقل عن 67% من انواع النباتات الزهرية المعروفة يعتمد نجاح تلقيحها بشكل اساسي على الحشرات وبالأخص النحل، ولذا فان هذه الحشرات تقدم اهم خدمة للنظام البيئي من خلال المحافظة على التنوع الحيوي Biodiversity لهذه النباتات. وان هنالك ما يزيد عن مئة الف نوع من الحيوانات يساهم بشكل مباشر في عملية تلقيح مالا يقل عن 250 الف نوع من النباتات الزهرية وان انواع النحل في مجموعة فوق العائلة Apoidea تشكل القسم الاكبر والاهم في هذه الحيوانات (Ingram و اخرون، 1996؛Costanza ، 1997؛Tscharntke ، 2005).

اجريت العديد من الدراسات والبحوث على النحل وبالأخص نحل العسل لما له من مكانه فريدة عند المتخصصين في مجال الحشرات، لذا نال القسط الاكبر من الدراسات المتعددة والمتباينة والمتخصصة في ادق التفاصيل المظهرية والجينية والتشريحية والحياتية، من بين هذه الدراسات هي الدراسات التصنيفية

المظهرية الجينية والسلوكية التي استخدمت للتميز بين الاجناس والانواع والنويعات في معظم دول العالم ووضعت العديد من المفاتيح التشخيصية لفصل المراتب التصنيفية للنحل، وان الغالب فيها يكون معتمداً على الصـــفات المظهرية للأجنحة وتعرقاتها وقياســـاتها المورفومترية ومعامل الجناح الامامي Cubital index، والتي تعد من الطرق الجيدة والدقيقة والمعتمدة في كثير من الأحيان (Tiagoواخرون،2008؛ Abou-Shaara،2009؛ Pilar واخرون،2009).

اما بالنسبة للدراسات التي تهتم بنويعات نحل العسل في العراق فلا توجد مثل هذه الدراسات التي تهتم بالدراسة التصنيفية للنويعات العراقية، واقتصرت الدراسات التي اجريت على تشخيص انواع من النحل او دور النحل كملقحات للنباتات الزهرية، ولم تدرس نويعات نحل العســـل العراقي منذ عام 1977 اذ أدخلت الى العراق نويعات عديدة منها النويع المصـــري المهجن بالنويع الكرنيولي عام 1986 والذي تهجن مع نويعات نحل العسل في دول الجوار العراقي (العلي،2011)، ثم ادخل النويع الإيطالي عام 2013 (العطبي،2013).

تأتي أهمية هذه الدراسة في محورين رئيسيين، المحور الأول هو الأهمية العلمية وذلك لعدم وجود دراسة متخصصة على مستوى النويع نحل العسل *A. mellifera* في العراق، بالإضافة الى عدم وجود دراسة تصنيفية لنحل العسل القزم *A. florea* الذي يسجل لأول مرة في المحافظة ،اما المحور الثاني هو الأهمية الاقتصـــادية اذ ان تشـــخيص نويعات نحل العســـل *A. mellifera* يعتبر مفتاح لاختيار النويع الجيد منها وتربيته كذلك خطوة مهمة نحو برنامج التربية والتحسين مستقبلاً.

ونظرا لعدم وجود دراسات تصنيفية متكاملة لأنواع نحل العسل في العراق لذا هدفت هذه الدراسة الى الاتي:

1- تشخيص نويعات نحل العسل الغربي *A. mellifera* مظهرياً في بعض محافظات العراق.

2- تشخيص نوع نحل العسل القزم *A. florea* في محافظة البصرة.

3- دراســة التشــخيص الجزيئي لنوعي النحل العاســل *A. mellifera* و *A. florea* باســتخدام المنطقة الجينية COX1-COX11 وتقنية تفاعل البلمرة المتسلسل PCR لتشخيص النحل المدروس.

4- دراسة التسلسل التتابعي للمنطقة بين الجينين COX1-COX11 وتحديد النسب التطوري لنويعات نحل العسل.

2: استعراض المراجع Review of Literatures

2-1: الدراسة التصنيفية المظهرية Taxonomical Morphological Study

2-1-1: الموقع التصنيفي لفوق عائلة Apoidea Latreille,1802

تُعد رتبة غشائية الاجنحة Hymenoptera من اكثر رتب الحشرات شيوعاً، وان العديد من حشراتها لها أهمية اقتصـــادية من خلال دورها بتلقيح المحاصـــيل او مقاومتها للآفات الحشـــرية،اذ يبلغ افراد هذه الرتبة والتي تضم نحو 108000 نوع (هاول واخرون،1983) . ومن بين تلك الانواع ما يسمى بالنحل الذي يضم نحل العسـل والنحل البري والتي هي مجموعة الحشـرات تقع ضـمن فوق عائلة النحليات Apoidea، والتي عادة تكون صغيرة الحجم الى كبيرة ذات شعر ريشي متفرع على جزء من جسمها على الأقل كالصدر والبطن والارجل. وضـع العديد من الباحثين نظاماً تصـنيفياً الى فوق العائلة Apoidea سـواء على النطاق المحلي مثل Batra (1977) او على النطـاق العـالمي مثـل Stephen واخرون(1969) و Michener (1986) و Guido (1995)، اذ قســمت الى ســبعة عوائل رئيســية والتي ابقى عليها Michener (2000، 2007) فيما بعد شكل (1) وهي كالاتي :

1- عائلة Colletidae

يسمى بالنحل المقنع او النحل ذي الوجه الأصفر، تنتشر أنواع هذه العائلة في معظم انحاء العالم وخاصة في المناطق المعتدلة مثل استراليا وامريكا الجنوبية ونادرة الوجود في المناطق المدارية الرطبة مثل الهند وماليزيا. يمتاز نحل هذه العائلة بوجود شعر كثير في منطقة الراس والصدر وتحمل حبوب اللقاح على الساق والرسغ على تركيب يســـمى الجهاز الجامع لحبوب اللقاح Scopa و يحتوي الجناح الامامي Front wings على

ثلاثة خلايا زندية، ويوجد درز واحد بين نقرتي قرن الاستشعار يدعى بالدرز تحت قرن الاستشعار Subantennal suture ، وحفر الوجه موجودة عادة ،وتضم هذه العائلة اكثر من 54 جنس و2000 نوع وتقوم بإفراز مواد لاصقة على جدران الخلايا (Stephen واخرون ،1969؛Noah و Norman، 2014؛ Michener، 2000) .

2- عائلة Andrenidae

يسمى بالنحل المعدني او نحل المنجم، تتميزا فراد هذه العائلة بوجود زوج من الدروز تحت قرن الاستشعار واللسان قصير على شكل مثلث حاد وتحمل حبوب اللقاح على الجسم او في شعر الارجل Scopaوتصنع اعشاشها في التربة، تتفرع هذه الاعشاش الى العديد من الغرف وكل غرفة تنتهي بخلية او أكثر وتكون الاعشاش متقاربة (Naga، 2018).

3- عائلة Halictidae

ثاني اكبر عائلة في Apoidea ويسمى بالنحل القلوي او نحل العرق، يمتاز نحل هذه العائلة بان العرق القاعدي للجناح الامامي محدب بقوة والبقعة الجناحية Segment في الاناث دائما واضحة ومميزة مع وجود حفر على قرصها، اللسان قد يكون طويلاً او قصيراً (William،1890) ؛ يحتوي الجناح الامامي على ثلاثة خلايا تحت حافية Sub-marginal Cells والجهاز الجامع لحبوب اللقاح Scopa موجودة على الرجل الخلفية ونادرا ما تكون على البطن (Inoka و Jayanthi، 2008) ، يبني أعشاشه في التربة والقليل في الخشب ، وتكون ذات لون غامق معدني اخضر او احمر وبعضها ذات اشرطة صفراء (ريتشارد،2001).

4- عائلة Stenotritidae

وهي أصغر عائلة في Apoidea، تضم 21 نوعاً فقط وجنسين ويقتصر وجودها في استراليا تصنع الأعشاش في باطن التربة وهي سريعة الطيران وجسمها مغطى بالشعر الكثيف (Michener، 2000).

5- عائلة Megachilidae

تشمل النحل القاطع الأوراق Leaf-cutter bees والنحل البناء Mason Bees التي تستخدم الاوراق او بتلات الازهار في بناء اعشاشها، تتصف هذه العائلة بان افرادها ذات لون اسود مع وجود شعر ابيض او فضي على شكل فرشاة كثيفة خاصة تسمى Scopa لحمل حبوب اللقاح في الجهة البطنية السفلى بدل من الارجل الخلفية (Noah وNorman،2014)، ويحتوي الجناح الامامي Forewing على خليتين تحت حافية Sub-marginal cells (Stephen واخرون ،1969). يوجد النحل قاطع الاوراق في كل انحاء العالم وتضم 4000 نوع (Ascher،2009) و76 جنساً (Michener، 2007؛ Ascher وPickering،2018) مسجل منها في العراق 18 نوعاً وسبعة اجناس (الاعرجي والمسعودي، 2015).

6- عائلة Anthophoridae

الاسم الشائع لهذه المجموعة هو النحل الحفار او نحل الازهار سريع الطيران، تمتاز افرادها بوجود درز واحد تحت قرن الاستشعار، صفيحة الساق القاعدية والصفيحة الذنبية Pygidium موجودة (Stephen واخرون،1969)؛ ويبني اعشاشه في الارض بشكل انفرادي او في عناقيد كثيفة ويخطط خلايا الحضنة بإفراز يشبه الشمع. لهذا النحل لسان طويل وهو كفوء في جمع حبوب اللقاح من النباتات وقد ادمجت في التصنيف الحديث الى عائلة Apidae (Michener،2000).

7- عائلة Apidae

وهي أكبر عائلة تقع ضمن فوق العائلة Apoidea تضم أكثر من 5700 نوع منها النحل الطنان ونحل العسل والنحل غير اللاسع ونحل الاوركيدا (السحلبي) Orchid Bee ؛ بينما اشار الباحث Ascher (2009) الى ان فوق العائلة Apoidea تضم في الغالب تسعة عوائل مميزه، في حين ذكرت بعض الدراسات الحديثة التي تعنى بمستحدثات التصنيف لرتبة Hymenoptera وفوق عائلة Apoidea الاّ ان بعض أنواعها انقرضت ، و تم ضم انواع واجناس منها الى عوائل أخرى وهي بالإضافة الى العوائل أعلاه كالتالي (Gabriel وRodrigo ، 2005؛Michael ، 2005؛Alexandr واخرون، 2013) :

8- عائلة Ampulicidae و Angarosphecidae†[1] وCrabronidae وMelittidae و Mellitosphecidae† وPaleomelittidae† وSphecidae وArchaeocynipidae† و Eostephanitidae† و Kuafuidae† .

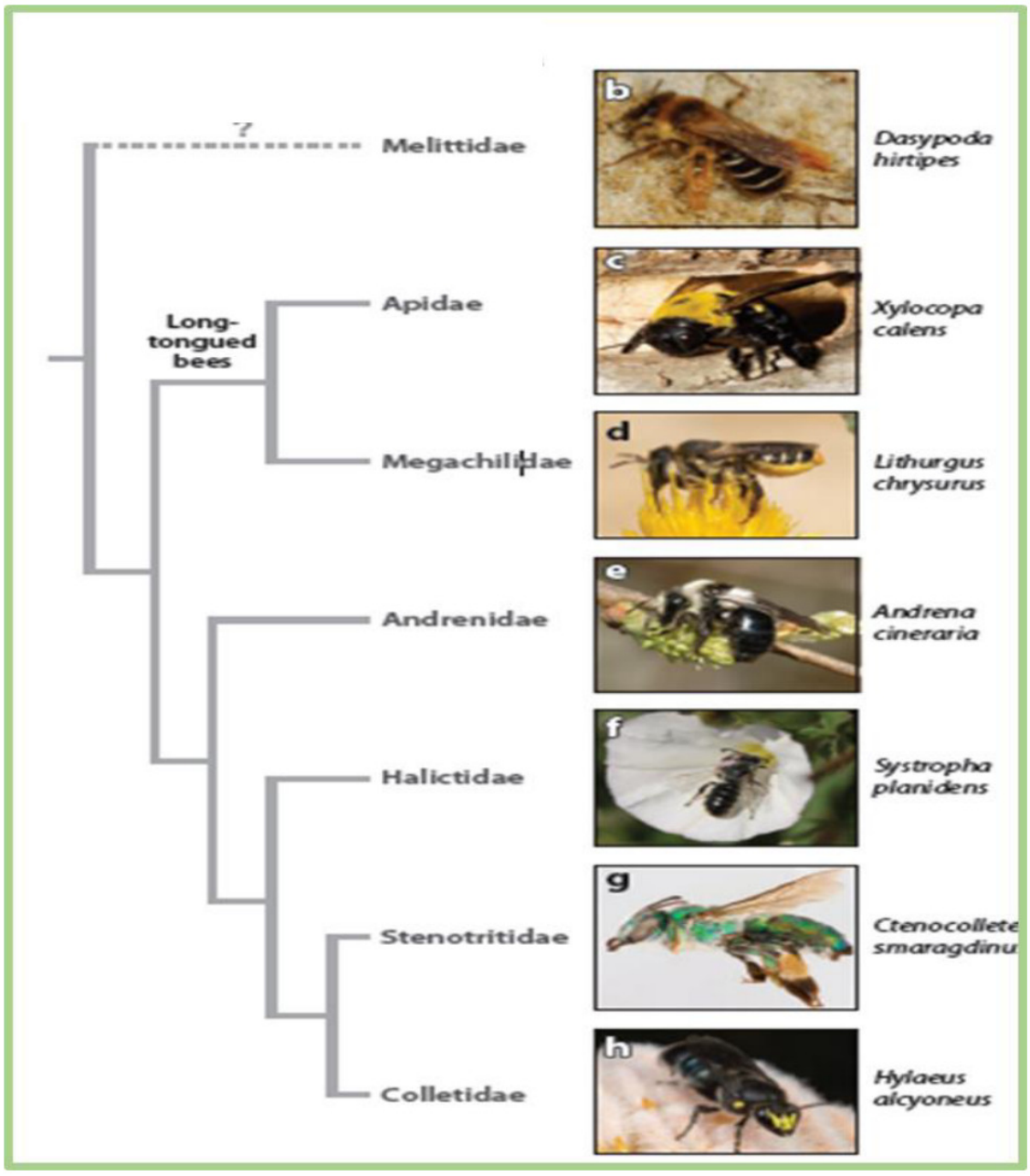
بينما قسم بعض الباحثين فوق عائلة Apoidea الى مجموعتين اعتمادا على طول اللسان Tongue (McGinley،1980؛ Roig-Alsina وMichener،1993).

1- النحل قصير اللسان Short-tongued bees

وتضم عائلة Andernidae و Colletidae وHalictidae وسميت هذه المجموعة بهذا الاسم لان طول الجزء الطرفي من الشفة السفلى الذي يعرف باللسين Glossa اقل من طول الجزء القاعدي الذي يعرف بمقدم

†- العوائل المنقرضة.

الذقن prementum؛ كما ان طول الخوذه Galea فى الفك الســفلى اقل من طول الجزء القاعدي للســويق stipes.



شكل (1): العوائل الرئيسية لفوق عائلة Apoidea عن (Danforth واخرون ،2013)

2- النحل طويل اللسان Long-tongued Bees

والتي تضم عائلة Anthophoridae وCtenoplectridae وMegachilidae وApidae

(Michenerو Greenberg،1980)، وسميت بهذا الاسم لان طول الاعضاء في الفم معكوسا تماما حيث اللسين اطول من مقدم الذقن والخوذتان اطول من السويق في الفك السفلي.

يمتاز نحل في فوق عائلة Apoidea بعدة صفات تركيبية وسلوكية مما يجعلها تشكل وحدة تصنيفية مميزة عن بقية انواع رتبة غشائية الاجنحة بل وحتى عن الحشرات الاجتماعية في هذه الرتبة كعائلة Vespidae التي تضم الزنابير التي تعيش معيشة اجتماعية، وقد اشار بعض الباحثين Michener(1944) و Moalif (1995) وBatra (1977) الى اهم هذه الصفات وهي:

1. وجود الشعر المتفرع Branched Hairs الذي يغطي مختلف مناطق الجسم وخاصة منطقة الصدر، وهذه الصفة تميز هذه المجموعة عن بقية انواع الحشرات في غشائية الاجنحة حيث يكون الشعر غير متفرع وقليل الكثافة مقارنة بالنحل.
2. تتغذى على حبوب اللقاح والرحيق، فالكاملات تتغذى بشكل كامل على الرحيق وحبوب اللقاح وقد تتغذى ايضا على الندوة العسلية التي يفرزها النبات او بعض الحشرات، اما الادوار غير الكاملة فان غذاءها يعتمد على الرحيق وحبوب اللقاح الذي تجمعه الامهات.
3. تحور الجزء القاعدي من الرسغ في الرجل الخلفية، اذ تحصل تحورات عديدة في هذا الجزء من الرجل لتصل الى اقصاها في عائلة النحل Apidae، حيث يتكون مكان خاص لجمع حبوب اللقاح بين طرفي الساق وقطعة الرسغ القاعدية تدعى بسلة حبوب اللقاح Pollen basket.

4. تمتاز ببناء الاعشـــاش عند التكاثر، فحوالي 85-90 % من الانواع النحل المســـجلة هو نحل انفرادي المعيشـة لا يكون مسـتعمرات او يعيش معيشـة اجتماعية وتبنى بعض هذه الانواع اعشـاشـها على شـكل تجمعات Aggregation، وغالبا ما تكون هذه الاعشـــاش على شـــكل انفاق عديدة في الترب القلوية المالحة او قد تكون عبارة عن مجموعة ثقوب داخل سـيقان الاشـجار الجافة او داخل اغصـان النباتات الجافة (Cane،1991؛ Frick واخرون،1960) .

2-1-2: الوضع التصنيفي لعائلة Apidae

تمتاز عائلة Apidae بوجود درز واحد تحت قرن الاستشعار (ريتشارد،2001) وحسب Myers واخرون (2018) فانها تضم العويلات التالية :

1- عويلة Bombinae

يعد حوض البحر الابيض المتوسط الموطن الاصـلي للنحل الطنان *Bombus terrestris* L. 1758 ومنه انتشـر الى انحاء العالم عدا مصـر (Rasmont واخرون،2008) صـنف من قبل Carl Linnaeus عام 1758 على انه *Apis terrestris* ، ثم وضـعه ضـمن جنس *Bombus* اعتمادا على صـفات مظهرية مختلفة عن جنس نحل العسل *Apis* ، ومن أنواعه *Bombus medius* Cresson, 1863 و *lapidaries* *Bombus* Linnaeus, 1758 (الصـائغ ومصـطفى ،2003). تمتاز هذه العويلة بان أنواعها كبيرة الحجم قوية البنية وقرون الاســتشـــعار تتكون من 12 عقلة عند الملكة والشـــغالة و13 عقلة عند الذكور، ويغطى الشـعر المخملي الاصـفر اللون بكثافة على الصـفيحة الظهرية الصـدرية الأولى والصـفيحة الظهرية البطنية الثانية، واللون الابيض على الصفيحات الظهرية البطنية الرابعة والخامسة، واللون الاسود على باقي الحلقات، وساق الرجل الخلفية مصقول ويحتوي على سلة حبوب اللقاح (خالد واخرون، 2013).

2- عويلة Meloponinae

يشمل أنواع النحل غير اللاسع Stingless Bee الذي يقتصر تواجده في المناطق الاستوائية وشبة الاستوائية من العالم مثل استراليا وافريقيا وجنوب غرب اسيا ، ويعد ذات اهمية اقتصادية في تلقيح النباتات البرية والبساتين والمحاصيل المختلفة (Rasmussen واخرون ،2017). ينشط النحل غير اللاسع على مدار السنة الا انه تقل فعالية في الاجواء الباردة، ويختلف عن النحل الاجتماعي بانه لا يلسع لعدم وجود أله اللسع ويدافع عن نفسه عن طريق العض، ومن اهم انواعه المنتجة للعسل *Meliponula* sp. و *Melipona* sp.؛ تتميز هذه العويلة بان العيون المركبة فيها تمتد الى قاعدة الفك السفلي والاناث والملكة بدون ابرة اللسع والمخالب بسيطة بدون شق (Contrera و Venturieri ، 2008).

3- عويلة Apinae

تسمى ايضا بنحل الخلايا او نحل العسل الحقيقي، ينتمي لها النحل المدجن او المستأنس في مختلف بلدان العالم، تمتاز بان الخلايا الزنديه Cubital Cell الثلاثة تكون واضحة، والخلايا الامامية Marginal cell تكون طويلة ومغلقة، والشق في المخلب يكون غير بسيط وينتمي لها جنس وحيد متمثلاً بالجنس *Apis* (William،1890) . تعد عويلة Apinae اكثر الفصائل تنوعا داخل عائلة Apidae وكانت مقسمة سابقا الى اثنين من الخطوط التطورية (قبيلة) هما Eucerine line و Apine line ،(Silveira ، 1993) ؛ كما تمتاز بوجود سلة حبوب اللقاح Corbicula لجمع حبوب اللقاح و العكبر Propolis، هذا بالإضافة الى الصفات المظهرية الاخرى ومنها نمط التعرق الجناح متطاول على طول الحافه الامامية والخلفية الجناح (Engel، 2001 ؛ Michener ، 2000).اما المظاهر السلوكية التي تتميز بهاApine هي بناء الاقراص بشكل عمودي وبخلايا سداسية الشكل من شمع منتج ذاتيا من الغدد الشمعية كما تتميز بسلوك

التكّور Clustering Behavior ونظام التغذية في الادوار اليرقية متطور وان لغة التواصل والتحشيد هي الرقص Dance language، وان تبريد العش يكون عن طريق تبخير الماء الذي تجمعه من الحقل (Ruttner، 1988)، وتضم عويلة Apinae جنس نحل العسل *Apis* الذي يمثل نظاما اجتماعيا متطورا في المملكة الحيوانية.

2-1-3: التنوع ضمن الجنس *Apis*

قسم Ruttner (1988) أنواع الجنس *Apis* الى ثلاثة مجاميع حسب الحجم وهي كالاتي:

1- مجموعة النحل القزم Dwarf Honey bees Group

2- وتضم كل من *Apis florea* Fabricius, 1787 و *Apis andreniformis* F. Smith, 1858 يعتقد بان النحل القزم هو الاكثر بدائية او الاساسي للأنواع الأخرى، وهنالك بعض الانواع يكون حجم العاملات بقدر حجم الذبابة المنزلية، ويعرف هذين النوعين باسم النحل الأحمر- الاسود بسبب ان الصفائح الظهرية للقطعتين البطنيتين الاولى لونها احمر وبقية الحلقات لونها اسود بينهما خط رفيع ذو لون ابيض. وهذا النحل جميل المنظر. ينتشر النوع *A.florea* بصورة كبيرة في اسيا بينما *A.andreniformis* يكون اقل انتشارا ويوجد في الغالب في مقاطعة ينان في الصين وفي تايلند وفيتنام وماليزيا وإندونيسيا وسومطرة وجافا وقرب الفلبين وفي جزر بالأوان (Ruttner ،1988) . وانتشر في شرق وشمال العراق في العقد الاخير من القرن العشرين وشبة الجزيرة العربية وإيران والهند، يبني هذا النوع من النحل قرصا واحدا يعلق في اغصان الاشجار او الشجيرات وقد يبلغ حجمه حجم كف اليد، لا يميل هذا النوع من النحل الى اللسع ولكنه يميل الى التطريد والهجرة وان محصوله من العسل قليل جدا حوالي رطل واحد في موسم الجمع، وان العسل ذو قوام مائي وله فوائد طبية كبيرة (العلي،2011).

3- مجموعة النحل الكبير الحجم Giant honeybees Group

4- ان حجم عاملات النحل الكبير ضعف حجم عاملات نحل العسل الغربي *A. mellifera* Linnaeus, 1758. ينتشر النحل الكبير في شرق الفلبين وفي باكستان وشرق إيران وجبال الهملايا وجزر اندنوسيا في الجنوب يعيش النحل في منطقة الهملايا على ارتفاع 1200- 3300م ويشمل الانواع التالية: *A. dorsata* Fabricius, 1793، *A. breviligula* Maa, 1953، *A. labrosia* Fabricius1793، *A. binghami* Cockerell,1948. يوجد النوع *A. dorsata* في مناطق الهند الجبلية وسيلان والصين واجزاء من اسيا، يعيش على ارتفاعات عالية يبني قرص واحد يتراوح طوله بين 5-7 قدم يتعلق على الاغصان غير المرتفعة من الاشجار وفي سقوف الكهوف او أسفل رف من الحجر القوي، يمكن ان يهاجر من مكانه الى مسافات بعيدة قد تصل الى 200كم سنويا وذلك للاستجابة للظروف الحياتية والبيئية (العلي ،2011). يعيش النوع *A. labrosia* في جبال الهملايا بارتفاع 1200-3300 م وهو اكبر بقليل من *A. dorsata*، وان جسمه مغطى بشعر كثيف اكثف من بقية الانواع الاخرى التابعة لجنس *Apis*. اما النوع *A. breviligula* يوجد في الفلبين. اما النوع *A. binghami* فهو يوجد فقط في إندونيسيا. ولا تتواجد هذه الأنواع في نفس البيئة، ولم يعرف لحد الان هل ان هذه الانواع تتزاوج وتتكاثر فيما بينها او انها معزولة جينيا او جغرافيا (Ruttner،1988).

5- مجموعة النحل المتوسط Medium honey Bees Group

ان النحل المتوسط الحجم هو نحل العسل الذي يبني اعشاشه في داخل تجاويف او فجوات كبيرة في جذوع النباتات او بين سيقان النباتات او في تجويف صخري او كهوف صغيرة يحوي العش الواحد على عدة

اقراص عمودية متوازية مع بعضـها وغالبا ما يجعل المدخل صـغيرا ويسـد الباقي من الفتحات بمادة العكبر. تتميز برقصها داخل الخلية ولا ترى الشمس اثناء الرقص. اهم انواع النحل المتوسط الحجم هي:

A. mellifera ، *A. cerana* Fabricius, 1793، *A.koschevinikovi* Enderlein, 1906 ، *A.* *nigrocincts* F. Smith, 1861، *A.nuluensis* Tingek, Koeniger, 1996 (Ruttner،1988).

ان النوعان *A. mellifera* و *Apis cerana* انتشـــر حديثاً في العالم، وان النوع *A. mellifera* كان يعيش اصـلا في العالم القديم (أوربا وافريقيا و اسـيا) وانتشـر حديثا في العالم الجديد (امريكا واسـتراليا) في شمال وجنوب امريكا وفي استراليا ونيوزلندا (Ruttner،1988).

يعد النحل الغربي او النحل العالمي *A. mellifera* من اهم انواع نحل العسل في العالم والاكثر انتشـارا في مساحات واسعة من الكرة الارضية اذ يمتد من الدول الاسكندنافية في الشمال وحتى راس الرجاء الصـالح في الجنوب الافريقي، ومن دكار غربا وحتى شـاطئ عمان شـرقا (خنبش،1990)، موطنه الاصـلي افريقيا وأروبا والشـــرق الاوســـط وقد تم إدخاله بعد ذلك الى امريكا واســـتراليا وبقية دول العالم . اجريت الكثير من الدراسات والأبحاث على هذا النوع عالمياً حتى أصبح النحل الغربي المقياس الذي يقاس عليه بقية انواع نحل العســـل الأخرى، بـالاعتمـاد على حجم عـاملاتـه المتوســـطـة إذا مـا قورنـت بـأنواع المجـاميع الاخرى (الصائغ،1988) .

كما قسم نحل العسل لأنواع الجنس *Apis* الى ثلاثة مجاميع حسب اللون:

1- مجموعة النحل الأصفر Yellow Bees

تنتشـر هذه المجموعة في منطقة البحر الأبيض المتوسـط وبعض دول افريقيا وتشـمل النويعات التالية: النحل السوداني والنحل الإيطالي والنحل السوري والنحل الاناضولي والنحل المصري والنحل القبرصي والنحل العراقي meda(الناجي،1988).

2- مجموعة النحل السنجابي Dark Bees

تنتشر هذه المجموعة في جنوب أوربا ومنطقة بحر قزوين وتضم النويعات التالية النحل القوقازي والنحل الكرنيولي (الصائغ،1988) .

3- مجموعة النحل الأسود Black Bees

ينتشر في شمال غرب أوربا وشمال افريقيا واهم سلالاته هي النحل الألماني ونحل شمال افريقيا (نحل المغربي ونحل التليان والنحل اليمني) (الصائغ،1988) .

2-1-4: النويعات الجغرافية لنحل العسل الغربي Geographical Subspecies of *Apis mellifera*

تعني كلمة *mellifera* لنحل العسل *A. mellifera* النحل الناقل للعسل. يستخدم هذا النوع على نطاق واسع بواسطة الانسان، وكنتيجة لانتشاره طبيعيا ونقله من قبل الانسان الى مناطق جغرافية وبيئات مختلفة اكتسب صفات وميزات تلائم تلك المناطق والبيئات، مما ادى الى ظهور عدة نويعات او نويعات جغرافية (Morseو Flottum، 1970)؛ يتواجد هذا النحل في كل من قارة أفريقيا واوروبا بالإضافة الى الشرق الاوسط يعطي النحل الموجود في هذه المناطق هجن خصبه عند حدوث التهجين لأنها تتبع لنفس النوع *A. mellifera* (Connal واخرون،2010).

تباينت اراء مختصي التصنيف فيما اذا كانت النويع الجغرافية مساوية للنويع او تمثل مرتبة ادنى اذ ذكر Dietz (1991) بان النويع في تهجين النحل تعني الانتخاب الطبيعي وهي غير النويع في الحيوانات الاخرى والتي جاءت نتيجة الانتخاب المبرمج من قبل الانسان .

تصـــنف هذه النويعات او النويعات الجغرافية حســـب التوزيع الجغرافي الى اربعة مجاميع هي: النويعات الإفريقية، ونويعات وسـط البحر الأبيض المتوسـط وجنوب شـرق أوروبا، ونويعات الشـرق الأدنى، ونويعات غرب البحر الأبيض المتوسط وشمال غرب أوروبا لتضم 24 نويع (Ruttner، 1986، 1988):

أ-المجموعة الأفريقية وتضم النويعات:

1- النحل الشرق إفريقي *Apis mellifera* scutellata lepeletier, 1836

2- النحل الغرب افريقي *A. m. adansonii* Latreille, 1804

3- نحل *A. m .litorea* Smith, 1961

4- نحل الجبال *A. m. monticola* Smith,1961

5- النحل المصري *A. m. lamarckii* Cockerell, 1906

6- نحل الكيب *A. m. capensis* Escholtz,1822

7- *A. m. unicolor* Latreille,1804

8- النحل اليمني *m. A. yemenitica* Ruttner,1976

ب- مجموعة وسط البحر الأبيض المتوسط وجنوب شرق أوروبا وتضم النويعات:

1- *A. m. sicula* Montagano,1911

2- النحل الإيطالي *A. m. ligustica* Spinola, 1806

3- النحل الكرنيولي (النمساوي) *A. m. carnica* Pollmann, 1879

4- النحل المقدوني *A. m. macedonica* Ruttner,1988

5- *A. m. cecropia* Kiesenwetter,1860

ج – مجموعة الشرق الأدنى وتضم النويعات:

1- نحل الأناضول (التركي) *A. m. anatolica* Maa,1953

2- *A. m. adami* Ruttner,1975

3- النحل القبرصي *A.m. cypria* Pollman,1879

4 – النحل السوري *A. m. syriaca* Skorikov, 1929

5- النحل القوقازي *A.m. caucasica* Gorbachev,1916

6- *A. m. meda* Sorikov,1929

7- النحل الأرميني *A.m. armeniaca* Sorikov,1929

د- مجموعة غرب البحر الأبيض المتوسط شمال غرب أوروبا وتضم النويعات:

1- نحل الصحاري *A. m. sahariensis* Baldensperger,1932

2- النحل الشمال إفريقي *A.m. intermissa* Buttel-Reepen,1906

3- النحل الإيبيري *A. m. iberica* Engel, 1999

6- النحل الألماني الغامق *A. m. mellifera* Linnaeus,1758

2-1-5: نويعات نحل العسل في الوطن العربي

اجريت العديد من الدراســـات والبحوث على نويعات النحل في الوطن العربي ومن بين أكثر الدراســـات شـــمولية كانت للمنظمة العربية للتنمية الزراعية (1988) اذ ذكرت هذه الدراســـات اهم النويعات المحلية المتواجدة في الوطن العربي ومنها:

1- نويع النحل السوري *A. m. syriaca* Skorikov, 1929

ينتشـر هذا النحل في كل من سـوريا ولبنان والعراق وهو يشـابه النحل الايطالي والقبرصـي، ويوجد ضـربان من هذا النويع أحدهما يسـمى بالنحل السـيافي وهو شـديد الشـراسـة وميال للتطريد والاخر يسـمى بالنحل الغنامي وهو أكبر بقليل من النحل السيافي، لونه مائل للسواد هادئ الطباع نسبيا. يعتقد انه نشأ من النحل القوقازي ويمتاز بان لونه اصـــفر، كما يعتقد بان النويع العراقي هو امتداد للنويع الســـوري (العلي ،2011).

2- نويع نحل العسل المصري *A. m.fasciata* latr. = *A. m.lamarckii*= *A. m.aegptiaca* Cockerell, 1906

عرفت هذه النويع منذ 2400 ســـنه قبل الميلاد اذ قام بتربيتها قدماء المصـــريين، يحتفظ هذه النويع بجيناته النقية من التهجين ويعود سـبب ذلك الى الظروف البيئية التي تربى بها في الكوارات الطينية، منتشـرة على ضـفتي وادي النيل ومن مميزات هذه النويع ان لونها اسـود رمادي وذات زغب ابيض يغطي الجسـم مع وجود اشرطة صفراء وبيضاء على قطع البطن (المنظمة العربية للتنمية الزراعية،1988).

3- نويع النحل اليمني *A. m. jemenitica* Ruttner,1976

يستوطن هذه النويع شرق افريقيا في السودان والصومال وتشاد وغرب اسيا في السعودية واليمن وعمان، وقد درس العالمRuttner (1976) نويع النحل اليمني وصفها بصغر حجمها وقصر لسانها علما ان ملكاتها كبيرة الحجم نســبيا بنية اللون الى صــفراء وذات بطن مغزليه، والذكر كبير الحجم اســود اللون الى رمادي تتخلله اشــرطة تميل الى اللون البني الفاتح، تعيش ســلاله النحل اليمني بصــورة نقية في الجبال والوديان (المنظمة العربية للتنمية الزراعية،1988).

اما النويعات المستوردة الى الوطن العربي هي:

أ- نويع النحل الكرنيولي *A. m.carnica* Pollmann, 1879

وهي من النويعات القياسية تستوطن هذه النويع شمال شرق جبال الالب حدود النمسا ويوغسلافيا وهنغاريا ورومانيا وجنوبا حتى جزر البلقان، انتشرت تربيته هذا النويع في انحاء متفرقة من العالم لما لها من مميزات وصفات اقتصادية عديدة نتيجة للدراسات العلمية المكثفة وبرنامج التربية الوراثية عام1930 بالنمسا فقد أمكن انتخاب عدة ضروب منها (المنظمة العربية للتنمية الزراعية،1988). تستخدم هذا النويع لعمل الهجائن مع النويعات المحلية في اغلب البلدان، لان هذا النويع لا تتأقلم في المناطق الحارة او المعتدلة، ادخلت الى لبنان عامي 1962- 1972 ثم السعودية 1970 والعراق 1986 وفي جميع الدول تهجنت النويع الكرنيولية مع النويعات المحلية (العلي ،2011).

ب- نويع النحل الايطالي*A. m. liqustica* Spinola, 1806

موطنه الاصلي ايطاليا جنوب جبال الالب وشمال منطقة صقلية، ولكونه من النويعات القياسية، فقد انتشرت تربيته في جمع انحاء العالم (الصائغ ومصطفى ،2003؛ Fran واخرون،2001). تمتاز هذه النويع بانها أصغر حجما من النحل السنجابي ولونها اصفر والنحل هادئ الطبع قليل الميل للتطريد يتحمل البرد (العلي ،2011؛ الصائغ ومصطفى ،2003)، ادخلت الى العراق في محافظة البصرة عام2013 (العطبي ،2013).

ج- نويع النحل القوقازي *A. m. caucasia* Gorbachev,1916

يقطن المناطق الجبلية في القوقاز، ويعد أحد النويعات القياسية واهدأ نويع على الاطلاق ذو لون رصاصي جذاب خال من اي بقع لونية على حلقات البطن، جماع للعسل يتحمل البرد الشديد ميال للسرقة

(الصـــائغ ومصـــطفى ،2003؛ العلي،2011). تربى هذا النويع بأعداد قليلة في كل من الاردن وفلســطين والســعودية وهي غير مدروســة جيدا، الاّ ان انتاجيتها من العســل تفوق النويعات المحلية (المنظمة العربية للتنمية الزراعية، 1995).

2-1-6: نويعات نحل العسل الغربي في البلدان المجاورة للعراق

توجد عدة نويعات لنحل العســل في دول الجوار العراقي والتي اندمجت مع النحل العراقي، ونظرا لموقع العراق الجغرافي الذي تحده من الشــمال تركيا والتي تنتشــر فيها النويع التركي *A.m. anatolica* والتي توجد في معظم الأراضـــي التركية عدا منطقة الجنوب الشـــرقي، والذي ينتشـــر فيها نويع النحل الميدا *A.m.meda* والنويع القوقازي *A.m.caucasica* ، بينما يجاور العراق من الشـــرق ايران وفيها النويع ميدا *A.m.meda* والتي تنتشر في مواقع غرب ووسط وشمال شرق ايران وجنوب غرب الاناضول، ومن الغرب تجاوره سوريا وفيها النويع السورية *A.m. syriaca* . لذا نويع النحل العراقي هو وليد المنطقة الشمالية من العراق والمجاورة للحدود الإيرانية شرقا وجنوب الاناضول وسوريا غربا (العلي ،2011).

2-1-7: نويع النحل العراقي

نويع النحل العراقي نويع غير نقي ولا توجد نويع مســماة علميا، اذ ان العراق ادخل نويعات عديدة منها النويع المصرية المهجنة بالنويع الكرنيولية عام،1986 ثم أدخلت النويع الإيطالية عام 2013، وبصورة عامة كان نويع النحل العراقي معروفا بانة يتبع الى مجموعتين الأولى تدعى بالوحشي(السيافي) وهو شرس الطباع ميال للتطريد ضــعيف الإنتاج ولونه قهوائي غامق ويعيش بريا في شــقوق الأحجار والكهوف في الجبال في شــمال العراق، وقد اســكن في خلايا بلدية وخلايا متطورة، اما المجموعة الثانية وهي الغنامي وهي مجموعة هادئة تنتشـــر في مناطق الوســـط والشـــمال ولونة فاتح وجرى تربيتها في خلايا حديثة وخلايا بلدية ولكنه

يســتهلك كميات كبيرة من العســل في موســم شــحة الرحيق، كذلك لا يجمع الرحيق وحبوب اللقاح في الأيام شديدة الحرارة صيفا (العلي ،2011 ؛ الصائغ ومصطفى ،2003).

2-1-8: الدراسات التصنيفية لعائلة النحل Apidae في العالم

هنالك العديد من البحوث التي أجريت لدراسة الصفات المظهرية لنويعات نحل العسل *Apis mellifera* ولعل ابرز هذه الدراسات ما قام به Ruttner (1988) من وصف نويع *A. m. mellifera* ودراسة الخط التطوري لها ، ودراسة Ruttner (1988) و Nazzi (1992) في دراسة التباين البيئي واثره على نويع *A. m. ligustica* في حين درس كــل من Ruttner (1988) و Dedej واخرون (1996) و Reka واخرون(2007) نويع النحل *A. m. carnica* في اســتراليا، ودرس Kandemir واخرون (2000) نويع *A. m. caucasica* . اما الدراسات في الدول العربية فهي عديدة أبرزها دراسة Yehya واخرون (2014) في الخصــائص المظهرية للنحل المحلي في الســعودية، ودراســة Bagher واخرون (2007) في دراســة الخصائص المظهرية لنويع النحل الميدا والنحل الاناضولي والنحل القوقازي.

وقد نال النوع لنحل العسل *Apis florea* اهتمام واسع بين الأوساط العلمية في الدراسات المظهرية ومن بين تلك الدراســــات في الهند (Bhandari ،1983؛ Sharma ،1983؛ Ruttner ،1988؛ Hepburn واخرون،2005)، وإيران من قبــل (Ruttner،1988؛ Tahmasebi واخرون،2002)؛ وفي عمــان وباكسـتان من قبل (Ruttner ،1988؛ Hepburn واخرون،2005) والأردن (Haddad واخرون ،2008) وفي السعودية من قبل(Saad و Taha،2014).

2-1-9: الدراسة التصنيفية لعائلة النحل Apidae في العراق

أ- الدراسات التصنيفية للنحل الغربي *Apis mellifera*:

تعد الدراسات التصنيفية في العراق بهذا الشأن قليلة جدا ونادرة، على سبيل المثال اول دراسة تصنيفية لنحل العسل كانت للباحثين عبد اللطيف وأبو النجا (1977)، اذ درسا الصفات المظهرية لنويع النحل العراقي واستنتج من ان القياسات المدروسة تماثل الى حد كبير مثيلاتها في النويع السوري واستند الى تقرير العالم Brother Adam اذ أرسلت له عينات من ملكات وشغالات وقد اعتبر في تقريره من ان النويع العراقية Subvariety للنويع السوري، كذلك أجريت دراسة على نويع نحل العسل العراقي قبل تهجينه من قبل فليح (1977) ، وما أكدته استنتاجات الناجي (1980) في دراسته للصفات اللونية والقياسية لنويع النحل العراقي وان نويع النحل العراقي يتميز بمجموعة من المواصفات القياسية التي تختلف بشكل او باخر عن جميع النويعات ولكن يمكن تصنيفه الى مجموعة النحل الأصفر التي تضم نويع النحل الإيطالي والاناضولي والسوري ، ولغاية ذلك الوقت لا توجد دراسات حديثة فيما يخص نويع نحل العسل الغربي في العراق.

ب- الدراسات التصنيفية لنحل العسل الصغير *Apis florea*

اول اعتقاد لتواجد النحل الصغير في العراق هو ما ذكره Whitcombe (1984) من ان *A. florea* امتد الى إيران وعمان وربما الى العراق وأبو ظبي، بينما أوضح العلي (2011) بانه بدأ انتشاره في شرق العراق وشماله في العقد الأخير من القرن العشرين، الى ان تم تسجيله نهائيا في العراق من قبل Glaiim (1992) في مدينة مندلي على بعد 10 كم غرب الحدود العراقية الإيرانية ثم في مدينة خانقين 60 كم شمال مندلي بعدها في جلولاء على بعد 30 كم عن خانقين. وقد أكد تسجيله متحف التاريخ الطبيعي في

العراق والمعهد الدولي لعلم الحشـرات في لندن والتعرف على النوع دون التطرق الى صـفاته المظهرية، لذا تعد هذه الدراسة اول دراسة مظهرية للنحل القزم في العراق فضلا من انها اول تسجيل في محافظة البصرة.

2-1-10: الأهمية الاقتصادية لفوق عائلة Apoidea

يلعب النحل دورا مهما في تنويع نباتات مغطاة البذور من بداية الى منتصـف العصـر الطباشـيري (Grimaldi،1999) ، اذ تشـير الدراسـات من ان حوالي 30% من غذاء الانسـان يتوفر في محاصـيل تعتمد في تلقيحها على النحل (Corbet واخرون،1991) ، وان أكثر الملقحات اسـتخداماً وشـهرة وفائدة والذي يمتلك تاريخا طويلاً في عملية التربيه هو نحل العسل *A. mellifera* الذي يغطي بشكل عام حوالي 90% من خدمات التلقيح الخلطي (Crane، 1990)، الا ان الظروف التي تعرض لها هذا الملقح أدت الى فقدان اعداد كبيرة من خلايا النحل في أمريكا وأروبا والشـرق الأوسـط لأسـباب عديدة ومتنوعة (Komeili، 1988) .

2-1-11: برنامج معالج الصور الرقمية ImageJ

استخدم العديد من الباحثين طرق تقليدية لقياسات الاجنحة وطرق الاشكال الهندسية لدراسة التباين المظهري من هذه الطرق استخدم المجهر والعدسة المكرومترية والقياسات المرتبطة بالحاسوب وطريقة الماسح الضوئي والفوتوشوب وطريقة الشكل الهندسي للجناح او (بصمة الجناح الهندسية) ونظام التعرف الالي على النحل Automatic Bee Identification System (ABIS) الذي يسـتخدم ميزات الجناحين الاماميين المستخرجة من الصور لتمييز أنواع النحل (ابوشعرة ،2009). استخدام في هذه الدراسة تقنية جديده لمعالجة الصور الرقمية تتمثل ببرنامج ImageJ والذي يعتبر واحد من اهم برامج معالجة الصور التي تستخدم في

البحوث العلمية ويستخدم في حل العديد من مشكلات معالجة وتحليل الصور ويستطيع قراءة العديد من تنسيقات ملفات الصور بما في ذلك TIFF و PNG و GIF و JPEG و BMP و DICOM و FITS يمكنه معالجة سلسلة من الصور في نافذة واحدة كما يمكن لـــ ImageJ من حساب قيمة المساحة بالبكسل وقياس الزوايا والمسافة ويستطيع معالجة التباين والالتواء والانحناء واكتشاف الحافة وقياس المتوسط واعلى قيمة واقل ويستعمل وحدات عالمية مثل المليمتر وانشاء رسوم ومخططات بيانية فضلا عن انه برنامج مجاني (Al-saad وHalima ، 2018).

2-1-12: البرنامج الحاسوبي لتمييز نويعات نحل العسل Identifly

هو برنامج للتصنيف شبه الي يعتمد على شكل الجناح الهندسي تم تطويره للتعرف بشكل أساسي على الحشرات، كما يمكن استخدامه لتصنيف الكائنات الحية المختلفة في الشكل، الا انه يستخدم في الوقت الحالي لتصنيف نويعات نحل العسل والانساب التطورية لها. له عدة إصدارات أحدثها 1.6 المستخدم لتحديد النويعات نحل العسل. يوجد أكثر من 20 نويع (سلالات جغرافية) لنحل العسل تعود الى أربع انساب تطورية يصعب التمييز بينها بالطرق التقليدية، يعتمد هذا البرنامج عند مطابقة عينات التشخيص على قاعدة بينات لـ 20 نويع من بنك المعلومات في معهد نحل العسل في اوبراسيل في المانيا(Tofilski،2018).

2: استعراض المراجع

2-2: الدراسة التشخيصية الجزيئية Molecular Diagnostic Study

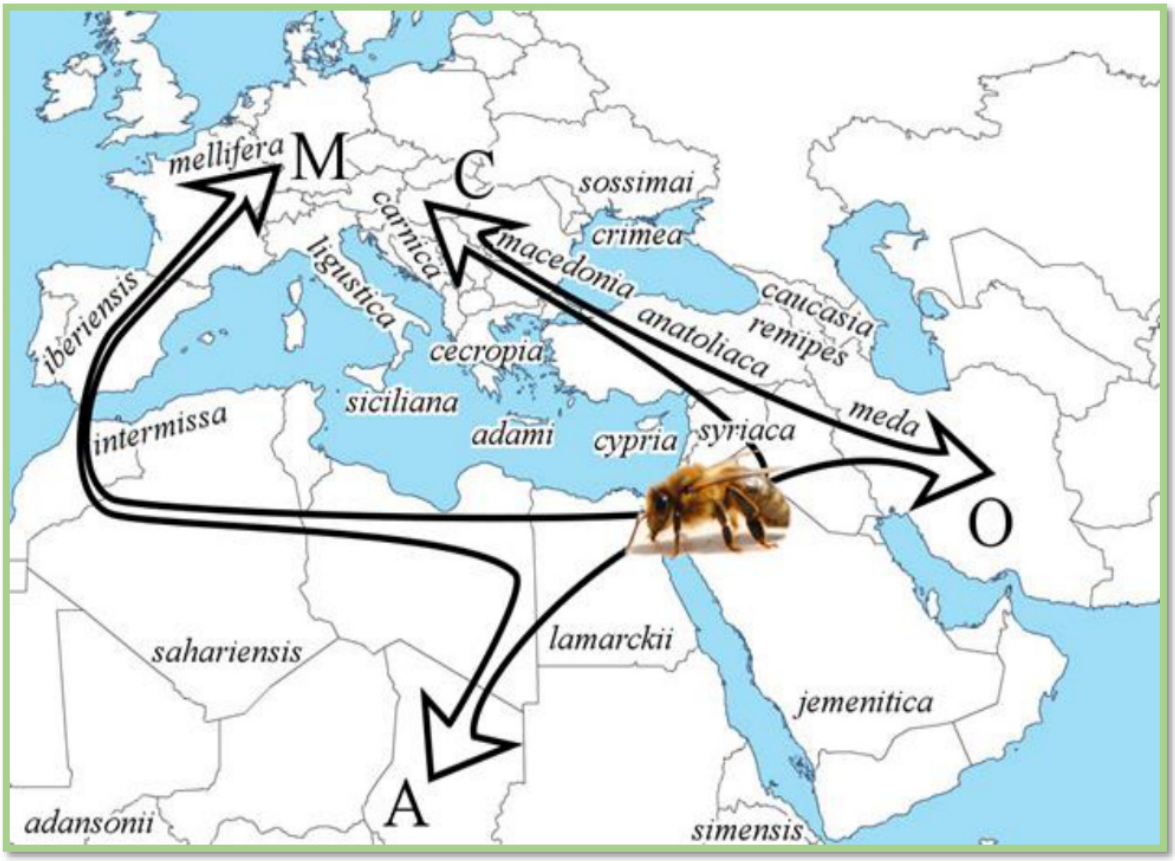
2-2-1: التنوع الجغرافي والوراثي Geographical and Genetic Diversity

هنالك مستويات كثيرة واضحة للتشابه والاختلاف بين مجموعات الكائنات الحية وفي كثير من الأحيان يكون التنوع بين النوع الواحد متسلسلا بقدر كاف بحيث لا توجد فاصلة واضحة بين الأنواع، وقد لا يحدث الاختلاف في بعض الصفات تدريجيا فالتنوع الجغرافي قد يكون في اللون او النمط او الحجم او الصفات الوراثية (هاول واخرون ،1983)، هذا التنوع يكون واضح في نحل العسل اذ قسم عالميا اعتمادا المؤشرات المظهرية الى اربعة خطوط تطورية عامة Evolutionary Lineages (شكل 2) هي الخط A الخاص بأفريقيا والخط C الخاص بمنطقة شمال البحر المتوسط والخط M الخاص بغرب البحر المتوسط وأخيرا الخط O الخاص بالمنطقة الشرقية (Ruttner ،1988) .

إن دراسة كل من تطور المجتمعات Evolution of Population والتنوع الوراثي Genetic Diversity في الكائنات الحية يخضع للعديد من المؤثرات الخارجية والداخلية، وقد تطرقت لهذه الدراسات العديد من النظريات، بيد أن النظرية ذات الحضور الأقوى في هذا المضمار هي النظرية المحايدة في التطور Neutral Theory of Evolution ، والتي تشير إلى أن التنوع الحيوي هو ناتج تراكمات قطع أو وحدات بديلة غير فعالة على المادة الوراثية للكائن عبر مراحله التطورية (Kimura، 1983 ؛ Michael، 1994)، تم قبول النظرية المحايدة للتطور الجزيئي على نطاق واسع فكان هذا هو المبدأ التوجيهي لدراسة الجين الكامل التطوريEvolutionary Genome والأساس الجزيئي للتطور المظهري حيث ان تطور البيانات الحديثة عن الجين الكامل يتفق عموما مع النظرية المحايدة و في الوقت الحاضر ، تكون تحليلات

الانتخاب الطبيعي على نطاق الجين الكامل من مجموعات تحليلات موضع واحد لأن التطور المظهري يتم التحكم به من خلال تفاعل العديد من الجينات ، ودراسة الانتخاب الطبيعي يجب أن تأخذ في الاعتبار مثل هذه التفاعلات (Masatoshi واخرون 2010) .

يُعد التنوع الوراثي والاختلافات الوراثية الناجمة عن التطور البيولوجي عبر ملايين السنين في المناطق الجغرافية المختلفة كنزاً وراثياً يجب التعرف علية واستغلاله بقدر الإمكان ومع التقدم المذهل في تقنيات الوراثة الجزيئية أصبح من الممكن التعرف على هذه الاختلافات الوراثية وحصرها وتقديرها على المستوى الجزيئي وعمل بصمة وراثية للأنواع المختلفة حتى يمكننا الحفاظ عليها (الزهيري،2013).



شكل (2): الخطوط التطورية لنحل العسل *Apis mellifera* في العالم عن Gil واخرون(2018)

2-2-2: التقنيات الجزيئية والدراسات الجينية Molecular Techniques and Genetic Studies

ان التقنيات المستخدمة في علم الاحياء الجزيئية تطورت ليتم استخدامها في مختلف الدراسات مثل التصنيف الجزيئي والدراسات التطورية ورسم الخرائط الوراثية، ولذلك أصبحت التقنية الجزيئية هي الأداة التي تستخدم لتشخيص جينات جديدة لأهميتها في مختلف المجالات منها الطب والزراعة والمنتجات الحيوانية والصحة والبيئة والصناعة التي تتعلق بهذا المجال، ومن بين اكثر التقنيات الجزيئية التي تستخدم والتي تسلط الضوء عليها في الآونة الأخيرة هي تفاعلات البلمرة المتسلسلة (PCR) Polymerase Chain Reaction (Louie واخرون ،2000) . قطعت هذه التقانات الحيوية أشواطاً مذهلة في مختلف مجالات العلوم، إذ تُستخدم حديثاً في دراسة التنوع الحيوي للعديد من الكائنات الحية ومنها نحل العسل الكائن الفريد في سلوكه وطريقة حياته وذلك للوصول إلى فهم دقيق ومفصل لماهية التنوع الحيوي لهذه الحشرة الاقتصادية وترجمته على المستوى الوراثي (البراقي واخرون،2009؛ Meixner واخرون، 2013).

بفضل تطور علم الحياة الجزيئي المعني بدراسة الحشرات من حيث التركيب والوظيفة والسلوك فقد تم الانتهاء من استكمال مشروع تعريف الجين الكامل نحل العسل ودودة القز وذبابة الفاكهة والعديد من الحشرات الأخرى ونتج عنها الكثير من المفاجآت بما يتعلق بالمورثات وتركيبها ووظيفتها وتطورها، كما أصبح التعديل الوراثي في الحشرات بما فيها ذبابة الفاكهة أمراً ممكنا بل وروتينياً ليس ذلك فحسب بل إن التقنيات الجزيئية المستخدمة أصبحت متوفرة وبسيطة من حيث الإجراءات (هوي، 2015).

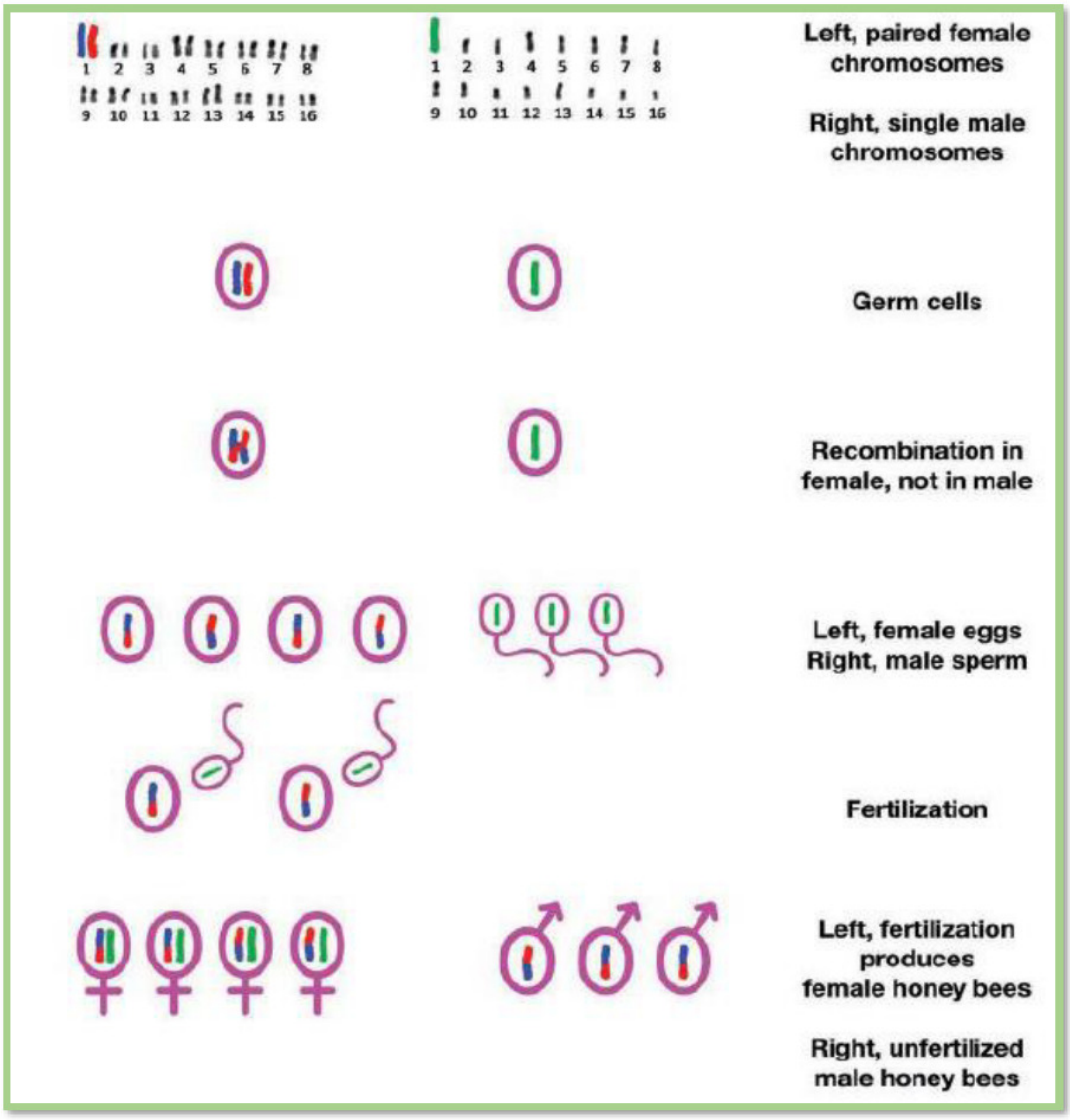
لقد أصبحت علم الحياة الجزيئي أداة مهمة لعلماء الاحياء في العديد من مختبرات علم الحشرات ومنها استخدم التسلسل الجيني الكامل لأكثر من 22 نوع من الحشرات بما يسمى اليوم بالجين الكامل للمجموعة الحشرية Insect Fauna Genome والذي يعني بالمحتوى الجيني بأكمله للخلية او الكائن الحي بشقيه

الجين الكامل الوظيفي والجين الكامل التركيبي ،الذي أدى الى تطور الأنظمة المعلوماتية الحيوية والتي بدورها عالجت الكثير من المشاكل تم دراسة الجين الكامل العديد من الحشرات التي تباينت في حجم الجين الكامل فكان اكبر حجم الجين الكامل للجندب *Podisma pedestris* Linnaeus, 1758 الذي بلغ 6500Mb واصغرها حجما لقملة جسم الانسان *Pediculus humanus humanus* Linnaeus, 1758 بلغت 108.37 Mb ، ومن بين الحشرات التي تم دراستها هي حشرة نحل العسل *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 اذ بلغ حجم الجين الكامل فيها 236Mb والنحل القزمي *Apis florea* Fabricius, 1787 فكان حجم الجين الكامل 280Mb والنحل الطنان *Bombus terrestris* Linnaeus, 1758 218Mb و خنفساء الطحين الحمراء *Tribolium castaneum* Herbst, 1797 اذ بلغ حجم الجين الكامل 160 Mb ، و13 نوع من جنس ذبابة الخل *Drosophila*، اذا تراوح حجم الجين الكامل فيها ما بين 111 Mb- 178 و دودة الحرير *Bombyx mori* Linnaeus, 1758 بلغ حجم الجين الكامل فيها 432Mb والزنابير المتطفلة *Nasonia vitripennis* بلغ 240 Mb ومن البزاليا *Acyrothosyphon pisum* بلغ حجم الالجين الكامل فيها 464Mb (Lawrencel، 2012؛Raman ، 2014).

تعتمد التقانات الحديثة على دراسة المادة الوراثية للكائنات الحية اذ يتكون الجين الكامل نحل العسل 15 ألف جيناً موزعة على 32 كروموسوما، بالإضافة إلى جينات المايتوكوندريا حيث تستخلص هذه المادة الوراثية DNA لاستخدامها في دراسة نشاط جين او جينات معينة (عبيده ومحمود،2014).

أول الخطوات الأساسية التي تتيح للباحث فرصة تطبيق الأبحاث الحديثة على نحل العسل هي عزل DNA للتعرف على ما به من جينات وإمكانية عزل جين معين أو رصد الاختلافات بين نويعات النحل على أساس وراثي. وفي نحل العسل تؤدي عملية التزاوج والتلقيح (الزايكوت) الى اتحاد نواة البويضة الناتجة من

الأنثى مع نواة الحيوان المنوي الناتج من الذكر، لذا يكون في العاملات32 كرموســـوم أما في الذكر 16 كرموسوم اذ إن العاملات ناتجة من بيضـة مخصـبة، أما الذكر من بيضـة غير مخصـبة ولذلك تكون صـفات الذكر أكثر انعكاساً لصفات الملكة (شكل 3) (أبو شعرة، 2009).



شكل (3): رسم تخطيطي مبسط يوضح الاخصاب في نحل العسل يتضمن الانقسام الاختزالي وانتقال المادة الوراثية من جيل لأخر، نقلاً عن Peter،2015).

2-2-3: واسمات DNA المستخدمة في تشخيص نحل لعسل DNA Markers Used in Honey bees Diagnosis Techniques

تعد الواســـمات المظهرية Morphological Markers من اقدم الواســـمات الوراثية التي اســـتعملت في التصنيف وتلتها الواسمات الكرموسومية ثم الواسمات الكيماحيوية Biochemical(Protein) Markers وأخيرا الواسمات الجزيئية Molecular Markers التي تعتمد على المادة الوراثية(جدول 1).

2-2-3-1: الواسمات الجزيئية Molecular Markers

يمكن تعريف الواســـمات الجزيئية على انها تتابعات مميزة في محتوى الكائن الحي من المادة الوراثية DNA وتنشـأ الاختلافات في هذه التتابعات نتيجة لحذف او اضـافة او تعديل في مواضـعها مما يؤدي الى اختلافات تركيبية بين الافراد وان حصـــر هذه الاختلافات والتباينات بين فرد واخر يمكن ان نطلق علية البصـــمة الوراثية او الهوية الوراثية لهذا الكائن (الزهيري، 2013). ويعد الاعتماد على الواســـمات الجزيئية لتوصيف المصادر الوراثية مهما نظرا لثبات نتائجها واستقلاليتها عن التغيرات البيئية وإمكانية الاستفادة منها في تحليل التنوع الوراثي (Saiki واخرون،1985). وقد اسـتخدمت الواسـمات الجزيئية بكفاءة عالية في تقييم وحسـاب التباين الوراثي بين النويعات وداخل النويع وبين افرادها (Yang واخرون، 2013)، كما اسـتخدمت على نطاق واســـع في مجالات رســـم الخرائط الوراثية والارتباط بين النويعات واختبار الابوة والبنوة والتنبؤ بالأداء الوراثي (Bruford واخرون، 2015)، كما انها تسـاعد في تحليل التنوع الوراثي بين الافراد والتعرف على نسبة الخلط الوراثي داخل هذه النويعات ومعرفة مدى ابتعاد هذه الافراد عن اسلافها وراثيا من النويعات من خلال تقدير المســـافات الوراثية Genetic Distances ومن ثم حســـاب المســـافات الزمنية Time Distances لها (Vignal واخرون، 2002) . على مدى العشرين عاماً الماضـية، استخدم الجين الكامل المايتوكوندريا mtDNA على نطاق واســع لغرض حل العديد من المســائل والاشــكالات المتعلقة بالنشــوء والتطور Phylogenetic(Vila واخرون،2005).

جدول (1) الواسمات الجزيئية المستخدمة في تصنيف نويعات نحل العسل الغربي*A. mellifera*

Subspecies	Molecular Marker / Gene region	Primer	Primer sequence	Restrirction enzyme	Program	Reference
A.m. meda	ISSR	A1-A10	5'→3' (AGAC)4GC Tm (°C)51		initial denaturation step at 94°C for 7 min، followed by 45 cycles of denaturation at 94°C for1 min، annealing at 50-54°C for 60s، extension step at72°C for 2min، and then a final extension at 72°C for7 min	(Rahimi *et al*. 2016)
A. mellifera	COI-COII ND2	E2 H2 ILE L1	(5′- GGCAGAATAA GTGCATTG -3′) (5′- CAATATCATTGATGA CC -3′) (5′-TGATAAAAGAAATATTTTGA-3′) (5′-GAATCTAATTAATAAAAAA-3′)	*Dra*I	Each PCR reaction was subjected to an initial denaturation cycle at 92°C for 3 min، followed by 30 cyclic reactions. Each of these cycles consisted of three steps: (1) denaturation of the DNA for 30s at 92°C، (2) hybridization of the primers to the template DNA for 1 min and 30s at 47°C، and (3) elongation of the primer template hybrid for 2 min at 63°C. Finally، the mixture was kept at 63°C for 10 min and PCR products were stored at −20°C	(Garnery *et al*. 1993)
A. m. cypria	$tRNA^{Leu}$ gene، the COI–COII	E2 H2	(5´-GGCAGAATAAGTGCATTG-3´) (5´-CAATATCATTGATGACC-3´)	*Dra*I	initial denaturation (94ºC، 3 min)؛ 30 cycles of subsequent denaturation (94ºC، 45 s)؛ primer annealing (57ºC، 45 s)؛	Nedić *et al* 2009
HONEYBEES	EF-1αF2 Elongation Factor 1-α	HaF2 For1 F2 Rev1	GGG YAA AGG WTC CTT CAA RTA TGC AAT CAG CAG CAC CTT TAG GTG G		initial denaturation of the template DNA at 94ºC for 5 min. Each cycle consisted of a denaturation phase of 1 min at 94ºC، followed by annealing 55 °C for 1 min and primer extension at 72ºC for 1 min/kb، depending on the fragment to be amplified.	(Danforth et al، 2004)
A. cerana indica *A. mellifera L.*، *A. florae L*	18SrDNA	Forward A Reverse B	AACCTGGTTGATCCTGCCAGT TGATCCTTCTGCAGGTTCACCTAC	Cla I (AT CGAT) Bam H1(G GATC) Hind III(A AGCTT)	initial denaturation of the template DNA at 94ºC for 5 min. Each cycleconsisted of a denaturation phase of 1 min at 94ºC، followed by annealing at melting temperature of primer for 1 min and primer extension at 72ºC for 1 min/kb، depending on the fragment to be amplified	(Medlin *et al*، 1988)

A. mellifera carnica *A. mellifera carpatica*	CO1- cytochrome b genes of mtDNA	LepF1 LepR1 AmCarp-f AmCar-r CYTB-f CYTB-r	ATTCAACCAATCATAAAGATATTGG AAACTTCTGGATGTCCAAAAAATCA GAATATGAGCCGGAATAGTAGGA ATGTGTTGAAGTTACGGTCA TATGTACTACCATGAGGACAAATATC ATTACACCTCCTAATTTATTAGGAAT	Alu I Hinf I HspA I Msp I	initial denaturation at94 C for 3 min، 35 cycles of denaturation at 94 C for 30 s، annealing at 51 C for 30 s، elongation at72 C for 45 s، and final elongation at 72 C for 10 min. 94 C for 3 min، 35 cycles of denaturation at 94 C for 30 s، annealing at 51 C for 30 s، elongation at 72 C for 40 s، and final elongation at 72 C for 10 min.	Mikhail *et al* 2018
Apis mellifera	COI–COII. microsatellites	F R	5'-TGGCA GAATAAGTGCATTGAA-3' 5'-CAGCATAATATGAATTTGATTCT TGA3'		initial denaturation at 94°C for3 min، followed by 30 cycles of denaturation at 94°C for 30 s، primer annealing at 54°C for 30 s، extension at 72°C for 60 s، and final extension at 72°C for 3 min.	Kaskinova *et al* 2015
Apis mellifera cypria	mtDNA / microsatellites	E2 H2	5’-GGC AGA ATA AGT GCA TTG-3’ 5’-CAA TAT CAT TGA TGA CC-3	1.5 mM MgCl2 (Promega)، 1X Reaction Buffer (Promega)، 1 U Taq Polymerase	initial denaturation step of 2 min at 92 °C، followed by 35 cycles of 30 s at 92 °C، 30 s at 47 °C and 2 min at63 °C، followed by a final extension step of 10 min at 63 °C.	Garnery *et al*.، 1993
Apis mellifera rodopica	(mtDNA) SNPs	Sense CoI2 antisense CoI2	5’-CCTGATATAGCATTTCCTCG-3’ 5’-TGTGAATGATCTAAAGGTGG-3’		5 min denaturation step at 94 ºC، followed by 30 cycles of 94 ºC for 30 s، annealing at 50 ºC for 1 min، extension at 72 ºC for 1 min. The reaction was concluded with an additional 10 min extension at 72 ºC for 10 min following the final amplification cycle.	Georgi *et al* 2017
Apis mellifera/royal jelly	qRT-PCR RNA extraction and cDNA synthesis	GAPDH forward reverse	GATGCACCCATGTTTGTTTG TTTGCAGAAGGTGCATCAAC		95 °C for 1 min، 40 cycles of 15 s at 95 °C and 45 s at 60 °C.	Scharlaken *et al*.، 2008
Africanized honey bees// European honey bee	mtDNA cyt b	Apis-F Apis-R	5’-TATGTACTACCATGAGGACAAATATC-3’ 5’-ATTACACCTCCTAATTTATTAGGAAT-3’	*Bgl* II	94ºC for 3 min followed by 35 cycles of 94ºC for 45 s، 50ºC for 45 s and 72ºC for 45s	(Crosier *et al*. 1991

Subspecies Lineages of *A. mellifera*	Molecular Marker OR Gene region tRNAleu-COII Cyt b Ls rRNA COI	Primer	Primer sequence F (3363): 5 GGCAGAATAAGTGCATTG 3 R (3934): 5 CAATATCATTGATGACC 3 F (11400): 5 TATGTACTACCATGAGGACAAATATC3 R(11884): 50 ATTACACCTCCTAATTTATTAGGAAT 3 F(13708): 50 CTATAGGGTCTTATCGTCCCATA 3 R (14443): 50 GTACCTTTTGTATCAGGGTTGA 3 F(1908): 50 TTAAGATCCCCAGGATCATG 3 R (2951): 50 TGCAAATACTGCACCTATTG 3	Restrirction enzyme DraI BglII HinfI EcoR HinCII	program 98 C for 30 s، 35 cycles of 98 C for 10 s، 40/45/50 C for 15 s، 72 C for 50 s and finished with 72 C for 5 min.	Nots Garnery *et al*. (1993) Crozier et al. (1991) Hall and Smith (1991) Hall and Smith (1991)
Apis mellifer three subspeciesa Apis mellifera	RAPD-PCR mitochondrial DNA،	OP- A18 OP-C05 OP-C13 OP-D13 OP-I17 tRNA ^{leu}-COII	5´ AGG TGA CCG T 3`  5´ GAT GAC CGC C 3` 5` TGG TGG ACC A 3` 5` GGG GTG ACG A 3` 5` TGG TGG ACC A 3` Genetic structure and distinctness of Apis mellifera L. populations from the Canary Islands	Dra1	initial 4 minutes' denaturation step at 94 ºC followed by 37 cycles of 1 minute at 94 ºC، 1 minute at 37 ºC and 2 minutes at 72 ºC، with a final extension step at 72 ºC for 8 minutes.	Garnery *et al* . (1993)
Apis mellifera	COI-COII	E2 H2	(5'-GGC AGA ATA AGT GCA TTG-3') (5'-CAA TAT CAT TGA TGA CC-3')		35 cycles of 94oC for 45s، 46oC for 45s، and 72oC for45s.	
Turkish honey bee	CoxI–CoxII			DraI		Garnery *et al*.، 1993
	Cyt-b			BglII		Crozier *et al.*، 1991
Turkish honey bee	CoxI			HincII	.	
Turkish honey bee	CoxI–CoxII intergenic region			XbaI		Hall and Smith، 1991
Turkish and Iranian Honey Bees	CoxI–CoxII			HinfI		
Apis mellifera syriaca in Jordan.	COI-COII	E2:	(5'-GGC AGA ATA AGT GCA TTG-3')	DraI		Garnery *et al.*، 1993

		H2:	(5'-CAA TAT CAT TGA TGA CC-3')			
Apis mellifera meda Apis mellifera meda Apis mellifera meda Apis mellifera meda	COI–COII COI–COII COI–COII COI–COII	Forward Reverse Forward Reverse	5'GGCAGAATAAGTGCATTGGGC3 5'CAATATCATTGATGACCTTA3' 5'GGCAGAATAAGTGCATTGGGC3 5'CAATATCATTGATGACCTTA3'	DraI Tm (°) 55 DraI	4 min initial denaturing at 94 °C، 37 cycles consisting of 30 s at 94 °C، 30 s at the primer specific annealing temperature and 30 s at 72 °C and 6 min extension step at 72 °C. 4 min initial denaturing at 94 °C، 37 cycles consisting of 30 s at 94 °C، 30 s at the primer specific annealing temperature and 30 s at 72 °C and 6 min extension step at 72 °C.	
Apis mellifera meda Apis mellifera meda		Forward Reverse	5'GGCAGAATAAGTGCATTGGGC3 5'CAATATCATTGATGACCTTA3'	Tm (°) 55	4 min initial denaturing at 94 °C، 37 cycles consisting of 30 s at 94 °C، 30 s at the primer specific annealing temperature and 30 s at 72 °C and 6 min extension step at 72 °C.	
		Forward Reverse	5'GGCAGAATAAGTGCATTGGGC3 5'CAATATCATTGATGACCTTA3'	DraI Tm (°) 55	4 min initial denaturing at 94 °C، 37 cycles consisting of 30 s at 94 °C، 30 s at the primer specific annealing temperature and 30 s at 72 °C and 6 min extension step at 72 °C.	
		Forward Reverse	5'GGCAGAATAAGTGCATTGGGC3 5'CAATATCATTGATGACCTTA3'	DraI Tm (°) 55	4 min initial denaturing at 94 °C، 37 cycles consisting of 30 s at 94 °C، 30 s at the primer specific annealing temperature and 30 s at 72 °C and 6 min extension step at 72 °C.	
	COI Gene Bionee Korear	F- R-	5"-GATTACTTCCTC CCTCATTA-3 " 5"-AATCTGGATAGTCTGAATAA-3	Band size 1000bp	Initial Denaturation 94 c 4 min Denaturtion 94 c 1 min Primer Annealing 55 c 1 min Primer Extension 72 c 2 min Final Extension 72 c 15min No، of cycles (2- 4) 35c	
Apis mellifera mellifera ، in northwest Europe	Microsatellite analysis	A7، A8، A24، A28، A43، A88 A113، Ap36، Ap43، B124، A79			initial denaturation for 3 min at 94 C، followed by 30 cycles with denaturation for 30 s at 94 C، annealing for 30 s at 55 C-60 C، extension for 30 s at 72 C and a final extension for 30 min at 72 C.	Estoup *et al* . 1993، 1995، Franck *et al* . 1998
	Cytochrome b			BglII	European--- African	Crozier *et al.*، 1991
	Ls rRNA			EcoRI	A. m. ligustica، A. m. carnica، A. m. mellifera، A. m. iberiensis of lineage M A. m. caucasica	Hall and Smith، 1991
	COI			HincII	A. m. mellifera، A. m. iberiensis of lineage M A. m ligustica، A. m. carnica، A. m. caucasica	Hall and Smith، 1991
				Xba	A. m. ligustica، A. m. carnica، A. m. caucasica A. m. mellifera، A. m. iberiensis of lineage M	Hall and Smith، 1991

2-2-3-2: تحليل الحامض النووي المايتوكوندري mtDNA Analysis

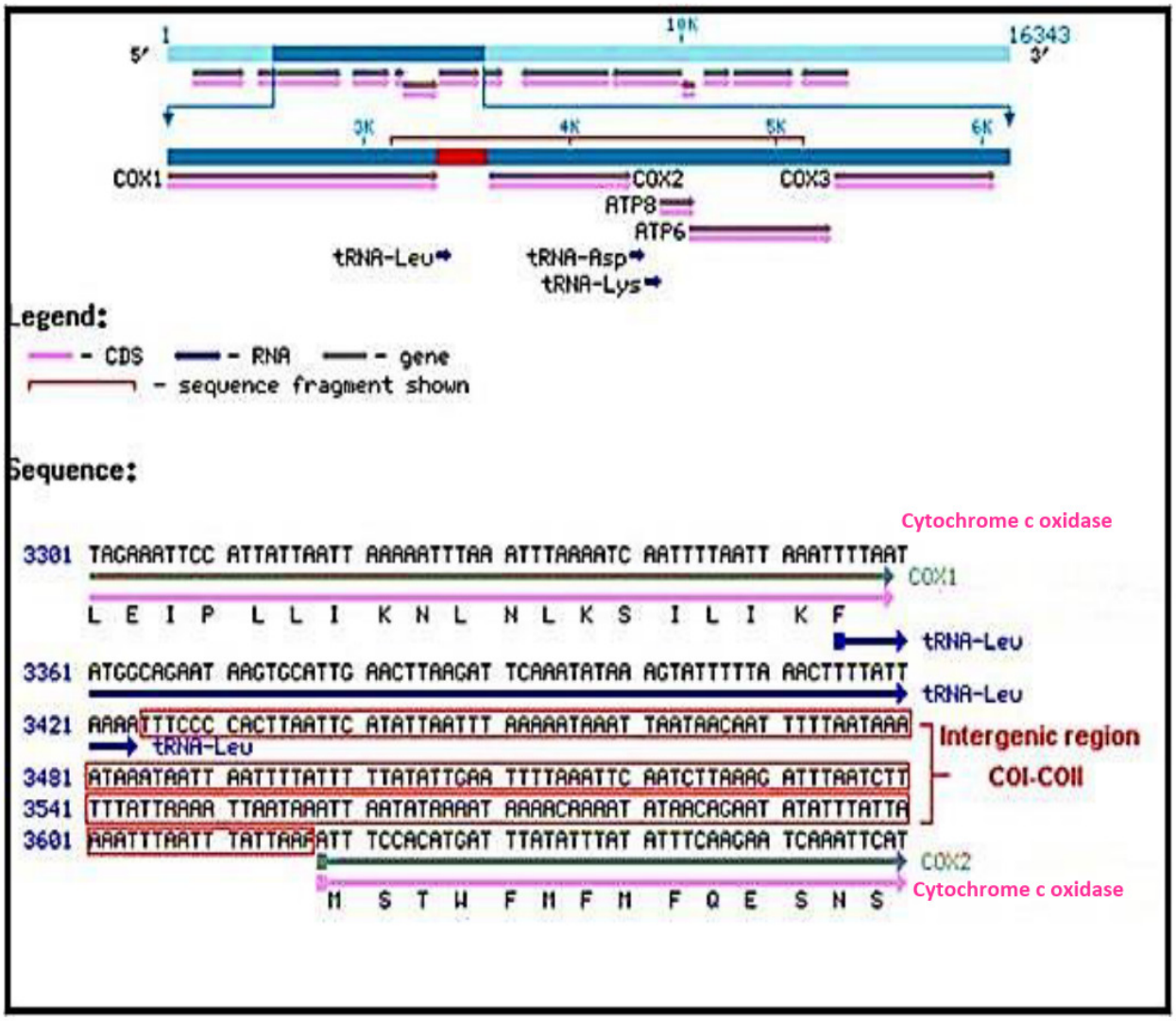
الحامض النووي المايتوكوندري (mtDNA) هو الجين الكامل المستقل الموجود في المايتوكوندريا وهذا النوع من المادة الوراثية يتم توارثها من الأمهات فقط، فعند التزاوج يتحد الحيوان المنوي والبويضة ويحدث اندماج بين نواتيهما ويظل DNA المتواجد في مايتوكوندريا البويضة محتفظ بصفاته القادمة من الأم دون أن يختلط بصفات الحيوان المنوي (شكل 3) ولهذا السبب يستخدم ذلك النوع من DNA في الدراسات الخاصة بالتعرف على الأصول الأبوية والخطوط التطورية والتعرف على أجداد الطوائف وكذلك نموذج التدفق الجيني أو لرصد درجة التداخل بين الطوائف الهجينة (De La Rua واخرون ، 2009) .

اشار Garnery وآخرون (1992) الى ان الحامض النووي المايتوكوندري mtDNA أداة قيمة في دراسة التنوع الجغرافي لنحل العسل لمستوى النوع او تحت النوع، وذلك لأن كل أفراد المستعمرة هم ذرية الملكة، لذا يكون mtDNA الخاص بهم متطابقاً وهذا يبقى قائما حتى بعد موت الملكة او تركها للخلية بظاهرة التطريد لان سيتم استبدالها بأحد بناتها؛ وفي دراسة اجراها الباحث Deborah (1991) للنحل الافريقي الذي انتشر بشكل متسارع في الامريكيتين اعتمد فيها على التمييز بين النويعات الافريقية والاوربية على الصفات المظهرية والجينية، فقد لوحظ أن هناك صعوبة في التمييز بين النويعات مظهرياً، الا ان الدليل كان واضحاً باستخدام الحامض النووي المايتوكوندري mtDNA اثبت الحامض النووي المايتوكوندري mtDNA بانه أداة رائعة للدراسات حول التمايز بين الأنواع والتطور لنحل العسل، ففي دراسة توصل لها الباحث Garnery واخرون (1993) الى تحديد وتسلسل بيانات الحامض النووي المايتوكوندري والذي اظهر بان النحل تطور من ثلاثة فروع الفرع الأول (M) الذي يطابق نويع نحل اوربا الغربي *A. m. mellifera* والفرع الثاني (C) والذي يمتد من الشرق الأوسط الى إيطاليا ويشمل نويعات *A.m.meda* و*A.m .caucasia* و*A.m. cecropia* و *A.m. carnica* و *A.m. ligustica* والفرع الاخر يشمل

جميع النويعات الافريقية باستثناء النويع *A.m. lamarkii* وكذلك نحل العسل في بعض جزر البحر المتوسط مثل صقلية وان الاتصال الثانوي بين هذه الفروع يؤدي الى تطور mtDNA متعددة الأنماط الوراثية المتعايشة على سبيل المثال الانتقال التدريجي في اسبانيا نحو الشمال من الفرع (A) الى الفرع (M).

2-2-3-3: المنطقة الجينية Cytochrome Oxidase (COXI-COXII)

يتميز الجين الكامل مايتوكوندريا نحل العسل بوجود جينات طويلة متتابعة التسلسل بين الجين COXI و COXII وان هذا الاختلاف يكون بين الأنواع (Jean-Marie واخرون 1991) (شكل 3)، وفي دراسة اجراها الباحث Crozier واخرون (1989) لتحديد المنطقة الجينية في mtDNA من الجين الكامل و التي من الممكن اعتبارها دليلاً على نسبة التباين التطوري في نحل العسل مقارنة بالمناطق الأخرى تبين ان المنطقة الجينية COXI - COXII تتباين في الطول بين النويعات مقارنة بالمواقع الجينية الأخرى ومنها (tRNA^{sp} UUR و tRNA^{Leu} و tRNA^{Trp} و tRNA^{Lys}). شخص Liu واخرون (2011) النوع *Bactrocera invadens* Drew, Tsura and White, 2005 الذي ينتمي لمجموعة *B. dorsalis* Hendel, 1912 معتمداً على تتابع منطقة الجينية COXI للحامض النووي الرايبوزي المنقوص الاوكسجين للمايتوكندريا، كما شخص Smit واخرون (2013) جزيئيا و بالاعتماد على تتابعات المنطقة الجينية COXI 135 نوعا من ذبابة الفاكهة تعود لثلاثة تحت عوائل و45 جنسا معتمدا على أساس التشابه والاختلاف . هنالك العديد من الدراسات أجريت لبيان التنوع الوراثي لمجتمعات نحل العسل بالاعتماد على DNA المايتوكوندريا و شملت أنواع مختلفة من المواقع الجينية وانزيمات القطع المخصصة ومن هذه المواقع الجينية COXI-COXII-COXIII و من بين هذه الدراسات دراسة Hall وSmith (1991) التي اجريت في كل من إيطاليا وأستراليا وروسيا والنرويج والسويد واسبانيا وجنوب افريقيا على نويع نحل العسل



شكل (4): تركيب المنطقة الجينية COXI-COXII في الحامض النووي mtDNA عند نحل العسل، نقلاً عن (البراق واخرون 2009).

A. m. ligustica و *A. m. carnica* و *A. m. caucasica* و *A. m. mellifera* اســتخدم فيها المواقع الجينية lsrRNA، COXI، COXI-COXII وانزيمات القطع *EcoRI*، *HincII*، *XbaI* ، ودراســة Garnery واخرون (1993) التي شــملت المناطق الاســكندنافية وانكلترا وفرنســا واســبانيا وإيطاليا (صــقلية) والمغرب والجزائر ومالاوي والكونغو وقوقازيا وإيطاليا وايران وأستراليا والسويد وتركيا على نويعات نحل العسل *A. m. mellifera* و *A. m. iberica* و *A. m. sicula* و *A. m. intermissa* و *A. m.scutellata* و *A. m. monticola* و *A. m.caucasica* و *A. m.meda* و *A. m.carnica* و *A. m.anatoliaca* و *A. m.adansonii* على التوالي والتي اسـتخدم فيها المنطقة الجينية للمايتوكودريا COXI-COXII وانزيم القطع *Dra*I restriction sites . كما اجرى الباحث Walter وDeborah (2000) دراسة في جنوب افريقيا لسلالتي نحل العسل *A. m. scutellata* و *A. m.capensis* استخدم فيها المنطقة الجينية COXI-COXII و انزيم القطع *Dra*I restriction sites.

اشــــار الباحثان Adam و Andrzej (2014) الى أهمية اســـتخدام تتابع المنطقة الجينية (COI -COII) للمايتوكندريا في حين اوضــح الباحث Yehya واخرون (2014) عند وصــفه لنويع نحل العســل المحلي في ســبع مناطق جغرافية في المملكة العربية السعودية باستخدام واسمات الـــ COXI–COXII بان هذه النويع تقترب من الخط التطوري (O) في الشرق الأوسط والقرن الافريقي (شمال شرق افريقيا) والذي يمتاز بالمناخ الحار والجاف وهو يختلف عن الخط التطوري الذي تعود اليه نويع النحل الســوري والنحل الأردني ، وفي دراســة اجراها البراقي واخرون (2009) لثلاثة مواقع من DNA كان احدها جين COI ، حيث اوضــحت نتائج الدراســة أن النحل في هذه المواقع يعود للخط التطوري C الذي يعود لمنطقة شمال البحر المتوسط ، فيما بين Bouga واخرون (2005b) في دراسة قام بها في اليونان في جزيرة كريت اســتخدم تقنية RFLP–PCR التي تتضــمن وجود أنزيمات قاطعة هي *Dra*I وSspI وSau3AI وAIuI و PstI و EcoRI وHincII عند تضـــخيم جين من mtDNA هو COI كان ناتج التضخيم 964 bp و1028 bp على التوالي .

وقد اوضح Mohamed واخرون (2011) في دراسة للتركيب الوراثي mtDNA لمجتمعات نحل العسل الشرقي لكل من سـوريا ولبنان والعراق باسـتخدام واسـم mtDNA والمعلمات الجزيئية للمنطقة الجينية COXI-COXII وانزيم القطع DraI، تحديد 16 نمط جديد يعود14 منها الى الخط التطوري للنويع الافريقية A وواحدة للخط التطوريC لشمال البحر الأبيض المتوسط، وواحدة للخط التطوري M لغرب البحر الأبيض المتوسط.

أشـار Franck واخرون (2000a) في دراسـة التباين الجيني لمجتمعات نحل العسـل الإيطالي *A.m. ligustica* في إيطاليا و نحل العسل الصـقلي *A. m. sicula* في صـقلية والذي اسـتخدم واسـمات الـــ Microsatillite والـ mtDNA للقطعة الجينية COXI–COXII والانزيم القاطع *Dra*I أن كلا النوعان ينحدران من الفرع التطوري C الذي يمثل الخط التطوري لجنوب شـــرق اوربا في حين بينت نتائج دراســـة mtDNA ان نحل *A. m. ligustica* مؤلف من نمطين هما الخط التطوري M و C ، في حين وجد نمط احادي في *A. m. sicula* يعود الى الخط التطوري الافريقي A حيث تعد هذه الملاحظات مهمة من جانب اعداد وتربية ملكات ذات صـــفات قياســـية ، و في دراســـة أخرى للباحث Franck واخرون (2000b) لتأكيد الدراســـة الجزيئية للخطوط التطورية الاربعة في الشـــرق الأدنى تم تمييز mtDNA لنحل العســـل في لبنان واســـتخدم الانزيم القاطع *Dra*I وتقنية RFLP–PCR للمنطقة الجينية COI–COII و تم تأكيد سبع اختلافات فردية في نحل *A. mellifera* تبرر وجود اربعة خطوط تطورية في mtDNA، أما في تتابع النيوكلوتيدات للجين NADH2 فقد وجد اختلاف في 380bp .

أشار Nizar واخرون (2009) إلى أن نتائج تحليل الحامض النووي للمايتوكوندريا في مجتمعات نحل العسل في الأردن والتي اســـتخدمت فيها المنطقة الجينية COXI–COXII والانزيم القاطع *Dra*I من وجود ســـبعة أنماط مختلفة ثلاثة منهم ينتمون الى الخط التطوري C والتي تركزت في شـــمال الأردن، وقد عزوا ســـببها الى الاســـتيراد المتكرر للنحل الأوربي مما يعكس أن نويع تلك المناطق غير اصـــلية اما في مناطق الجنوب فلوحظ وجود تجمع

وراثي نقي نسبيا في الأنواع الفرعية والتي تعد هي النويع الاصلية *A. m. syriaca* في الأردن وفي ذات الصلة أوضح Fulya واخرون (2009a) من خلال دراسة التباين mtDNA للمنطقة الجينية COXI-COXII لنحل العسل التركي والإيراني وباستخدام الانزيم القاطع HinfI عن وجود أنماط فردية واحدة في عينة بولو التركية وأخرى في كل من كراج واردبيل وتبريز وهمدان في ايران ، وتلاه Fulya واخرون (2009 b) في تحديد النسب التطوري لمجتمعات نحل العسل التركي، اذا استخدم المنطقة الجينية COXI-COXII وانزيم القطع *Dra*I ، حيث أظهرت نتائج الدراسة وجود اربعة مناطق تغاير وخلصت الدراسة إلى وجود ثمانية أنماط فردية وان نسب التطور لنحل التركي يعود للخط التطوري C وهذا قد يعكس مدى نقاوة النويع المرباة في تركيا . ذكر البراقي واخرون (2009) في دراسة نويع نحل العسل السوري ولأي من خطوط النحل التطورية الاربعة تعود حسب تركيب منطقة COXI-COXII والتي كانت بعيدة عن الخط التطوري O لان الأنماط الشكلية Polymorphisms هي النمط Q و PQو PQQ حيث ان النمط Q هو نمط خاص بالخط التطوري C في حين النمطين PQ وPQQ خاصين بالخط التطوري A وبالتالي فان النحل السوري يتبع الخطين التطوريين A الخاص بالمنطقة الافريقية والخط C لمنطقة شمال البحر المتوسط كذلك فقد تم دراسة الأنماط الأحادية Haplotype الموجودة في نويع النحل السورية وحساب نسب التباين الوراثيGenetic Diversity داخلها اذ تراوحت بين 32-88%. .

بينما اوضح Mohamed واخرون (2015) في دراسة للتنوع الوراثي لنحل العسل *A. mellifera* في الجزائر في شمال افريقيا باستخدام الواسمات الجزيئية DNA المايتوكوندريا mtDNA COXI-COXII حيث استخدم 582 عينة من شغالات نحل العسل من 22 منطقة في البلاد وتم تحليلها بتقنية PCR – RFLP وكشفت النتائج عن وجود ثلاثة نويعات مختلفة من نحل العسل بين مجتمعات نحل العسل الذي شملتهم الدراسة بما فيها النسب التطوري الافريقي A وشمال البحر المتوسط C وغرب البحر المتوسط M ، وخلصت الدراسة الى ان مجتمعات نحل العسل

في الجنوب كانت اقل أنماط فردية من مجتمعات نحل الشـــمال وان النحل في الشـــمال يعود الى *A.mellifera.* *intermissa* او *A.mellifera sahariensis*؛ في حين أوضح Kaskinova واخرون (2015) في دراسة له في تحليل التركيب الجيني لعشـــائر نحل العســـل في الجزء الجنوبي من Bashkortostan في روســـيا من ان تحليل mtDNA في المنطقة الجينية COXI–COXIIوخمس مواقع للحامض النووي DNA microsatellite التي هي (Ap243و 4A110 و A8 و A28 A113) و أوضـحت نتائج الدراسـة ان مجتمعات نحل العسل غير نقية وراثيا وغير متجانسة heterozygotes ووجود تهجين مكثف ومتداخل في المنطقة .

بين Agne`s واخرون (2011) في دراسة له على نويع نحل العسل الأسود *A. m. mellifera* في فرنسا وبلجيكا والتي تعود للنسب التطوري M من انها تعرضت الى خسائر واسعة النطاق بسبب التغيرات السكانية والطبيعية ولأجل المحافظة عليها وحمايتها وضـعت هذه الدراسـة التي تضـمنت اختبار المنطقة الجينية COXI-COXII وباسـتخدام تقنية القطع النوعي للأنزيم DraI وكانت الأنماط الفردية haplotypes المتمثلة في M4 اكثرها تكرارا تليها M17و M7 و M6 و M19 و M8 و M17 و ان هذه الاستنتاجات والفرضـيات لتنوع الأنماط الفردية كان لها الأثر في تحديد بروتكول انشاء محمية لمستعمرات النحل الأسود؛ واشار Roxane و Allen (2010) الى ان نحل العســل *A. mellifera* لم يكن موطنه الأصــلي امريكا وانما ســجل لأول مرة في الولايات المتحدة خلال أوائل الى منتصـف القرن السـابع عشـر عندما جلبه المسـتوطنون الاوربيون معهم الى الولايات المتحدة، تم اجراء اختبار على mtDNA والمنطقة الجينية الواقعة بين COXI-COXII وكشـفت الدراســة عن وجود تباين وراثي عال داخل وبين النويعات الموجودة في وسط وجنوب الولايات المتحدة التي تمتاز بالشراسة والوحشية، كما اثبتت الدراسة وجود اربعة نماذج من أنماط جينية لـ Mitotypes من الخط التطوري O هي (O5 و O5d و O5b و O2).

درس De la rúa واخرون (2001) التركيب الوراثي لعشـــائر نحل العســـل *A. mellifera* في جزر الكناري باستخدام تقنية RFLP للحامض النووي المايتوكوندري للمنطقة الجينية الواقعة بين COXII– RNA^{leu} اضافة إلى واسمات الـ microsatellites وبينت نتائج الدراسة وجود انخفاض في مستوى التباين الوراثي من حيث عدد الاليلات ودرجة التغاير الزايكوتي heterozygosity ، كذلك اســتنتجت الدراســة بان نحل عســل جزر الكناري مختلف عن الانساب الأخرى وان نسبها الوراثي يعود الى افريقا . وفي دراسة لـــ Nedić واخرون (2009) لمعرفة الخصائص الجزيئية لنويع النحل الكرنيولي *A. m. carnica* في صـربيا فقد اسـتخدم واسـم mtDNA COXI-COXII في اربعة مناطق جغرافية في صربيا ولوحظ وجود ثمانية اختلافات في الخطوط التطورية.

3: المواد وطرائق العمل Materials and Methods

أجريت طريقة العمل في هذا البحث على مرحلتين اذ انجزت المرحلة الأولى للمدة 2018/5/10 الى 2019/5/29 تمثلت في جمع وحفظ العينات لدراستها مستقبلاً وتشريح النماذج وعمل شرائح دائميه الخاصة بالدراسة المظهرية، اما المرحلة الثانية للمدة 2019/6/3 الى 2020/8/22 انجز فيها الدراسة الجزيئية.

3-1: الدراسة المظهرية Morphometric Study

3-1-1: مناطق الدراسة Study Areas

3-1-1-1: مناطق الدراسة لنحل العسل الغربي *A. mellifera*

اختيرت خمس اقضية في محافظة البصرة وقضاء لكل من بابل وواسط واربيل لأخذ العينات (شكل 6) والتي تنتشـــر بها تربية نحل العســـل لوجود الغطاء النباتي فيها، تم تحديد 10 مناحل موزعة في انحاء متفرقة من محافظة البصـــرة واســـتخدام نظام تحديد الموقع العالمي Global Positioning System (GPS) لتحديد الحدود المكانية والجغرافية ضـمن منطقة الدراســة والتي تقع بين دائرتي عرض 24.˚29 و 29.˚31 شـمالا وبين خطي طول 52.˚ 46 و71. ˚48 شرقا اذ توزعت العينات على النحو التالي:

1- قضـــاء البصـــرة / المركز وتبلغ مســـاحته 1085 كم^2 (الميالي،2013)، وشـمل ثلاث مواقع هي منطقة والبراضـــعية و الخربطلية والجنينة تضّـــمنّ كل موقع 6-10 خلية، اخذت العينات من اربع خلايا لكل موقع وكل خلية اخذت 35 نحلة مجموع العينات الممثلة للمركز 420 نحلة.

2-قضاء الهارثة وتبلغ مساحته 2418 كم^2 (الميالي،2013) شملت موقعين في كرمة علي تَضَمنّ كل موقع على 20-30 خلية وعدد الخلايا التي اخذت منها العينات لكل موقع اربع لكل خلية 40 نحلة ومجموع العينات الممثلة للهارثة 320 نحلة.

3- قضاء ابي الخصيب وهو يمثل نهاية السهل الرسوبي ويقع جنوب البصرة مساحته الكلية 1334،82كم^2 (الميالي،2013)، يبعد عن مركز المدينة 22كم، تضمن المناطق: حمدان وهي منطقة شبة حضرية تحتوي على القليل من المناحل الاهلية ويوســـفان، يحتوي كل موقع على 8-15 خلية اختيرت 5 خلايا لكل منحل بواقع 35 نحلة / خلية مجموع العينات الممثلة للقضاء 350 نحلة.

4- قضـــاء شـــط العرب وتبلغ مســـاحته الكلية 2055 كم^2 (الميالي،2013) ويبعد عن مركز المدينة 5كم، تضـــمن المناطق التالية التنومة منطقة شـــبة زراعية تكثر فيها أشـــجار النخيل وشـــط العرب وكرندلاند وهي منطقة ريفية تكثر فيها حقول زراعة الخضـروات الموسـمية وبسـاتين النخيل تضـمن كل موقع 15-23 خلية اختيرت 4 خلايا لكل منطقة و 35 نحلة لكل خلية مجموع العينات الممثلة للقضاء 420 نحلة.

5- قضـــاء القرنة ويقع شـــمال شـــرق البصـــرة مســـاحته الكلية 2073 كم^2 (الميالي،2013) يبعد عن مركز المدينة حوالي 75كم شـــمل مركز القضـــاء تضـــمن 25- 35 خلية اختيرت 4 خلايا واخذت 40 عينة لكل خلية ليكون مجموع العينات التي تمثل القضاء هي 160 نحلة(الميالي،2013).

ولكون معظم النحل الذي يربى في محافظة البصـــرة مصـــدره بعض محافظات العراق ومنها محافظة بابل وواسط واربيل فقد تم اخذ 250 عينة من مركز مدينة الحلة محافظة بابل و300عينة من قضاء الصويرة محافظة واســـط و250 من قضـــاء شـــقلاوة محافظة أربيل لغرض مقارنة الصـــفات المظهري والجينية وتأثير العوامل البيئية عليها.

وبهذا يكون مجموع العينات الممثلة للدراسة الشاملة هي 2،470 نحلة منها 2،330 نحلة للدراسة المظهرية و140 نحلة للدراسة الجزيئية.

3-1-1-2: جمع العينات نحل العسل الغربي Specimens Collection

بالنسبة الى نحل العسل الغربي *A.mellifera* تم اختيار عدد من الخلايا 3–5 خلية / منحل عشوائيا وتم اصطياد مجموعة من النحل الحقلي السارح بمجموع 30 –40 نحلة / خلية بواسطة ملقط من امام مداخل الخلايا وعند الساعات الأولى من الصباح (7:00 – 8:00) او عند ساعات الغروب -7:00) (6:00؛ ووضعت في قناني بلاستيكية مثقبة من الأعلى خاصة لأخذ العينات ورمزت العينات بكتابة اسم المنطقة وعدد الخلايا في المنحل وتاريخ جمع العينات ووضعت في صندوق مبرد Ice Box لحين نقلها الى المختبر واجراء الدراسات عليها حسب اهداف البحث.

3–1–1–3: مناطق الدراسة نحل العسل القزم *A. florea*

تم اجراء مسح ميداني استكشافي لدراسة تواجد مستعمرات نحل العسل القزم *A. florea* في معظم المناطق الزراعية في محافظة البصرة (شكل 6) والتي تظم العديد من الأشجار والشجيرات وبعض المباني المهجورة، بالإضافة الى استلام تبليغات الرصد عن أماكن تواجد مستعمرات النحل القزم من قبل مجموعة من النحالين والمزارعين و تركز البحث على المناطق المحاذية لإيران، سجل تواجد مستعمرات النحل القزم في كل من قضاء ابي الخصيب في منطقة السيبة و يوسفان وحمدان على نباتات الريحان والاكاسيا وباركنسونيا، وقضاء البصرة المركز في منطقة البراضعية و مناوي لجم ومشاتل الخورة على نباتات الاكاسيا والمينيا والريحان وورد الصباح والسراجي والداكير ومنطقة الطويسة وحي الإسكان والخربطلية والتحسينية وقضاء شط العرب في منطقة الفيحاء والكباسي على نباتات الداماس والريحان ولسان الثور والخردل والختمة، وتم

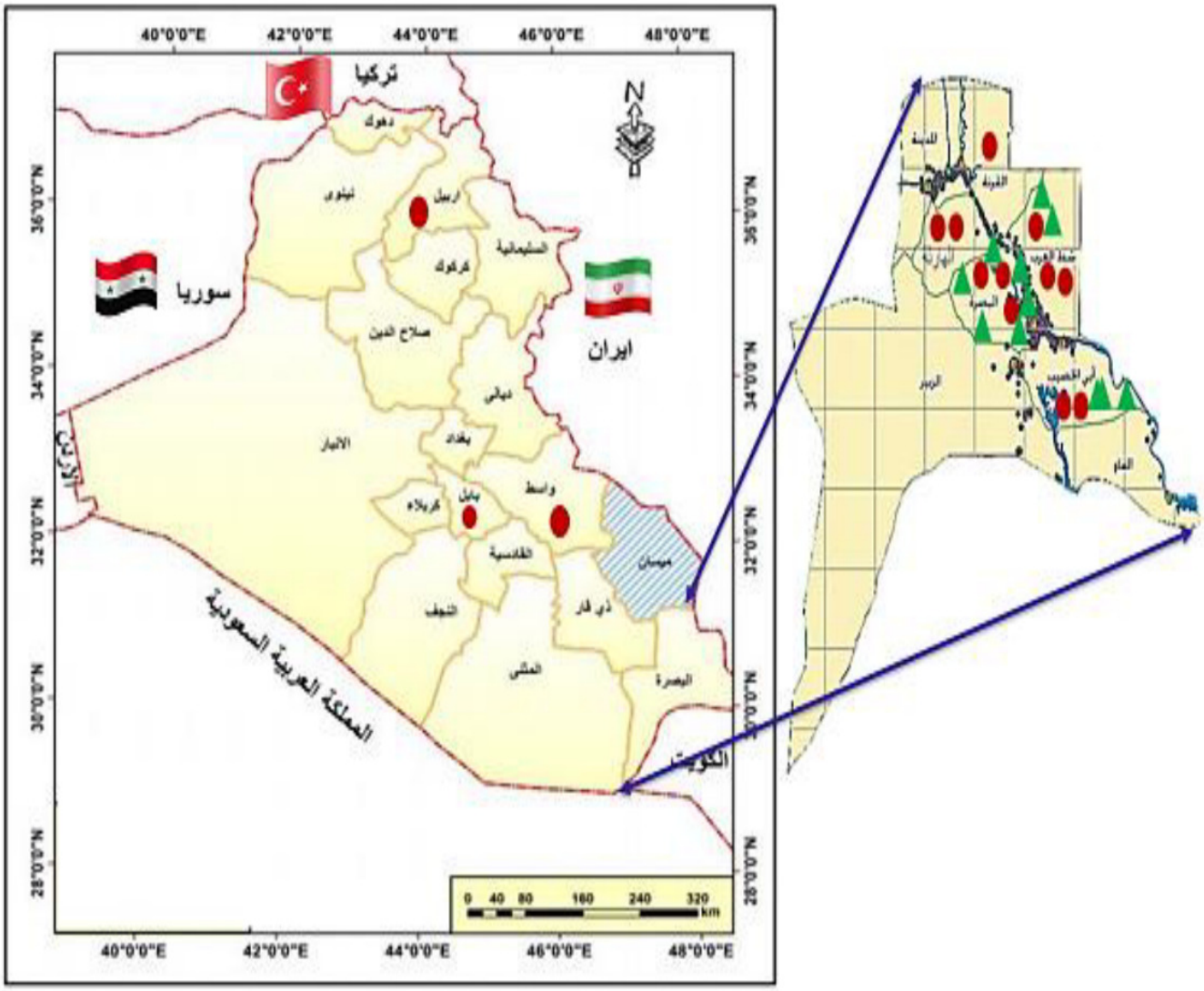
جمع 360 نحلة من جميع المواقع المدروسة بواقع35 نحلة لمنطقة السيبة و70 نحلة لمنطقة ابي الخصيب و75نحلة لمنطقة شط العرب و180 نحلة من البصرة/ مركز المحافظة .

3-1-1-4: جمع العينات لنحل العسل القزم *A. florea*

جمعت عينات نحل العسل القزم *A. florea* بطريقتين، الطريقة الأولى: اصطياد النحل السارح في الحقول والبساتين والمشاتل باستخدام شباك الجمع الهوائية Aerial nets بقطر 40 سم وطول الحامل 80 سم ونقلت باستخدام وقناني بلاستيكية سعة 100 ملم مثقبة من الغطاء ووضعت في صندوق مبرد Ice box للحفاظ عليها من الجفاف.

وقد حددت مدة اخذ العينات من الحقل بين الساعة 7:00 – 10:30 صباحا، وعادة كانت تأخذ العينات بهذه الطريقة في المناطق التي تكثر فيها نسبة الازهار من 70 % والتي تكون في المشاتل في فصل الربيع ويستمر العمل لحين اكمال العدد 30–35 نحلة. ولغرض جذب أكبر عدد من النحل الزائر تم وضع غذايات خارجية تحتوي على محلول سكري ربيعي في بعض المشاتل.

الطريقة الثانية: اخذ العينات من المستعمرات المستوطنة التي تم العثور عليها في مناطق السيبة والسراجي والطويسة والمستشفى التعليمي، اذ تم جمع 30–35 نحلة /موقع بالإضافة الى اخذ مستعمرة بأكملها لغرض دراسة الافراد الرئيسية في المستعمر وهي الملكة والشغالات والذكور خشية فقدانها لان هذا النوع من النحل شديد الميل للهجرة والتطريد وليس من السهل اسكانه في خلايا مكشوفة.



شكل (5) خارطة العراق توضح مناطق جمع العينات: ● نحل العسل الغربي *Apis mellifera*،

▲ نحل العسل القزم *Apis florea* (وزارة الموارد المائية،2010)

وزعت العينات الخاصة بالدراسة المظهرية التي جمعت على النحو التالي:

اولاً: 20 نحلة/خلية لغرض الدراسة المظهرية التي تمثلت بصفات الاجنحة وبعض صفات الجسم المهمة.

ثانياً: 5-10 نحلة تصلب جاف بعد تحميلها بواسطة دبابيس خاصة (No. 0.1) وعلم كل نموذج بملصق صغيرة كتب فيها رقم العينة وتاريخ الجمع ومنطقة الجمع واسم الجامع ووضعت في صندوق خشب خاص وذلك لغرض التصوير الفوتوغرافي.

3-1-2: تشريح العينات وتحضير الشرائح الدائمية Dissection and Permanent Slide Mounting Specimens

بعد الانتهاء من جمع العينات الخاصة بالموقع المدروسة، تؤخذ 20 نحلة الخاصة بالدراسة المظهرية مباشرة الى المختبر لغرض التشريح وكما في الخطوات المتبعة من قبل الاعرجي والمسعودي (2015) مع اجراء بعض التعديلات عليها وكالاتي:

1- لغرض دراسة الخرطوم تم قتل النحل بالماء الحار بدرجة 50م° لمدة دقيقتين.

2- وضعت الحشرة في زجاجة ساعة تحت المجهر التشريحي Dissecting Microscope نوع BEL لغرض فصل الاجنحة أولا بعناية باستخدام الملقط والمشرط مع مراعاة عدم ترك العينة تجف وذلك بإضافة قطرات من الماء المقطر بعدها توضع الاجنحة في كحول الايثانول 70% في قناني مرقمة للأجنحة الامامية والخلفية اليمنى وكذلك الاجنحة اليسرى لحين اكمال التشريح.

3- فصل الراس عن الصدر باستخدام الملقط والمشرط وكذا الحال بالنسبة لقرون الاستشعار وأجزاء الفم، كذلك تفصل الارجل الامامية وتوضع في وعاء الذي يكون مربع الشكل ذو 25 حفرة يحتوي على محلول

هيدروكسيد الصوديوم NaOH بتركيز % 10 بعد ان تعلم كل نقرة بعلامة الجزء الموضوع فيها مع الحفاض على تناظر الأجزاء اليمنى واليسرى كل على جانب.

4- فصلت منطقة الصدر عن البطن ثم فصلت الارجل الوسطى والخلفية من منطقة الصدر وتوضع في طبق بتري.

5- وضعت منطقة البطن على جهة الصفائح القصية، ونقوم بإزالة الصفائح الظهرية 2 – 7 بالتسلسل مع إزالة ابرة اللسع.

6- نظفت الصفائح القصية للبطن من الاحشاء الداخلية بالماء والفرشاة الدقيقة بعدها تفصل الصفائح من 2-7 بالتسلسل.

7- مرحلة الترويق وتتم بوضع جميع الأجزاء التي تم فصلها في طبق بتري لمدة 2-3 يوما حسب النموذج والذي يحتوي على محلول NaOH 10% .

8- تشطف النماذج بالماء المقطر 2-3 مرة لمدة 5 دقائق وتجرى عملية (الانكاز) إزالة الماء Dehydration من النماذج من خلال امرارها بسلسلة متصاعدة من تراكيز الكحول الاثيلي 35% و70% و90%و100% لمدة 30 دقيقة / تركيز، وتتم عملية استبدال المحاليل او الشفط باستخدام Macrosyringe 10مل.

9- نقلت النماذج الى الزايلول Xylol 100% لمدة 5 دقائق ، بعدها حملت النماذج على شريحة زجاجية باستعمال كندا بلسم Canada Balsam او DPX (Distrene Plastizer Xylene) واطئ اللزوجة لجميع الأجزاء وعالي اللزوجة للأرجل فقط وغطيت بشريحة زجاجية .

10- تركت الشـرائح على الصـفيحة السـاخنة Hot plate بدرجة حرارة 50م لمدة 3-4 يوم لحين إتمام جفاف مادة التحميل وطرد الفقاعات الهوائية لتكون جاهزة للفحص.

11- تم فحص وتصوير الشرائح المحضرة بواسطة مجهر تشريح نوع Leica EZ4 Stereomicroscopes في كلية العلوم قسـم علوم الحياة واسـتخدم برنامج معالج الصـور الرقمية (ImageJ) Digital Image Analyzer program لقياس الصفات المظهرية (AL-Saad وHussain، 2018).

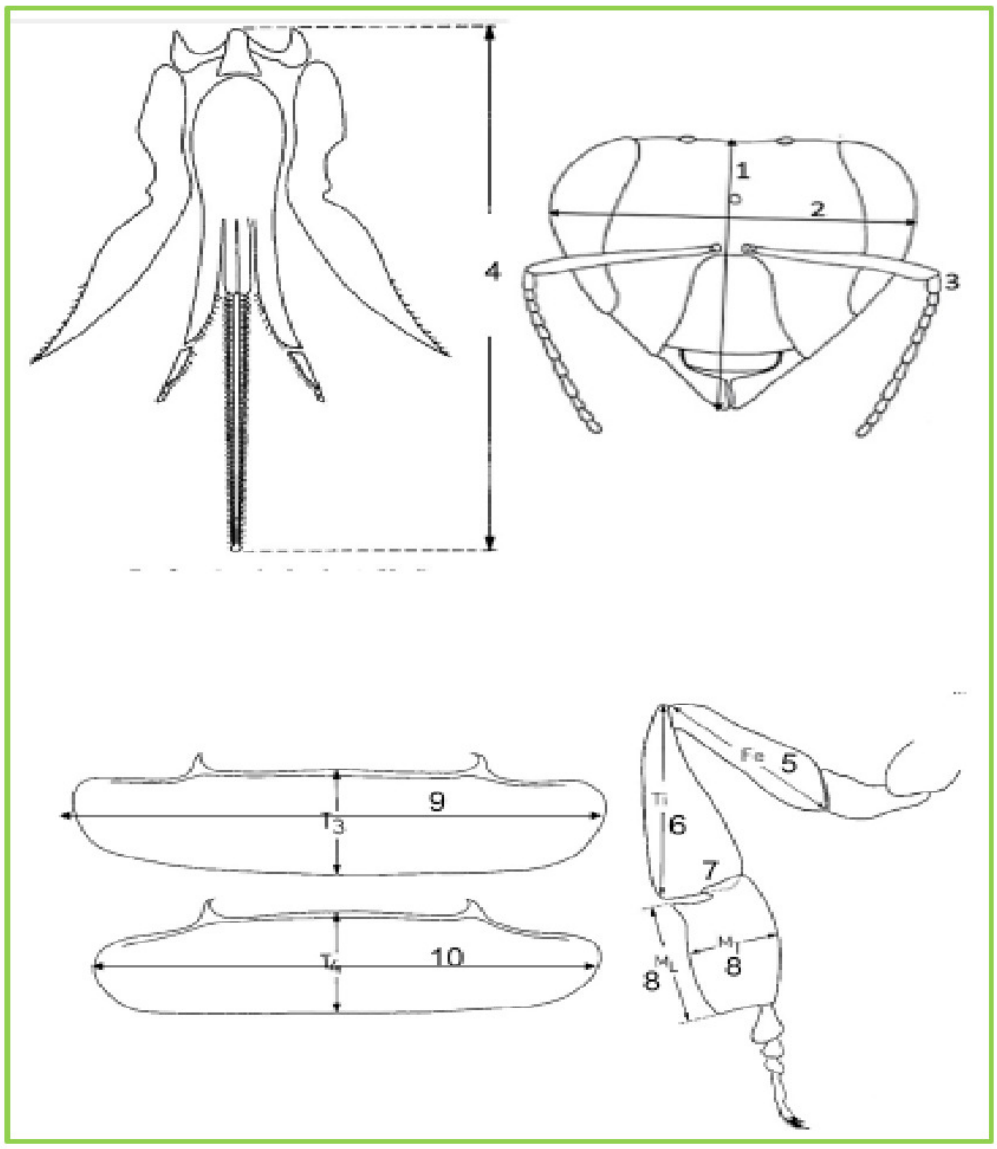
3-1-3: الصفات المظهرية المدروسة Morphometric Characteristics

نظرا لعدم وجود دراسة مستفيضة عن نحل العسل في العراق ولأهمية الصفات التصنيفية المظهرية في التمييز بين الانواع والنويعات لنحل العسل، فقد تم اختيار عدة صفات مظهرية شملت:

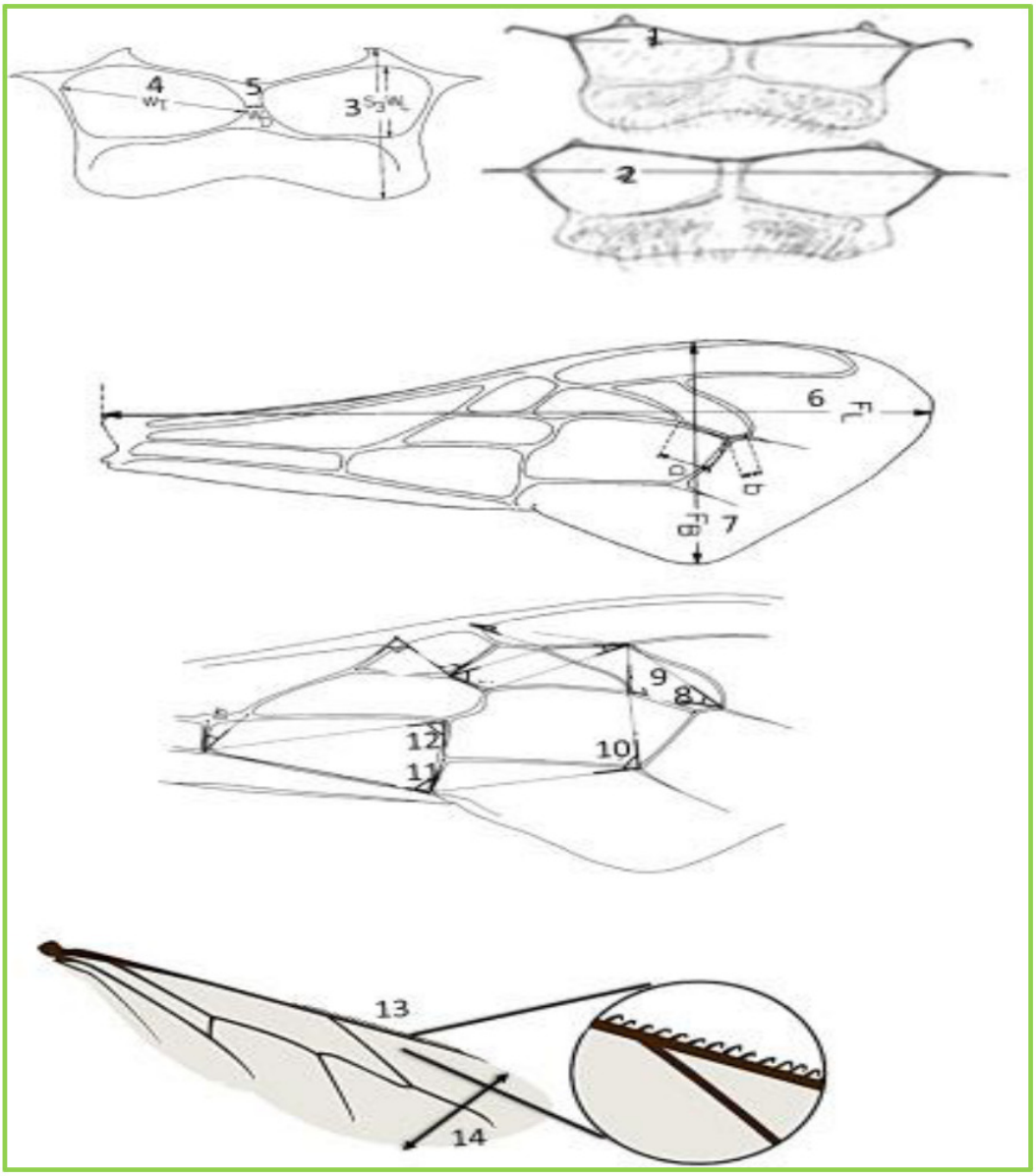
1- صـفات حجم الجسـم للعاملات(شـكل6) وهي طول الراس ، وعرض الراس، وطول الخرطوم ، وطول قرن الاستشعار، وطول فخذ الرجل الخلفية ، وطول ساق الرجل الخلفي ، ونسبة الطول الى العرض للعقلة القاعدية للرسغ، وطول الصفيحة الظهرية الثالثة ، وطول الصفيحة القصية الثالثة ، وطول الصفيحة الظهرية الرابعة ، وطول الصفيحة القصية الرابعة ، وطول مرأة الشمع الأولى ، وعرض مرأة الشمع الأولى ، تعتبر هذه الصفات ضـمن الطرق التقليدية الكلاسـيكية في تمييز الأنواع والنويعات ، بالإضـافة الى هذه الصـفات اختير بعض الصفات المظهرية الحياتية بين افراد مستعمرات نحل العسل القزم *A. florea* مثل طول الملكة والعاملات والذكور/ ملم ومسـاحة القرص الشـمعي ومسـاحة الخلايا السـداسـية ووزن الشـغالات والسـوء الذكرية Endophallus والعقلة القاعدية لرسغ الذكر (عضو يشبه القفاز Mitten-like organ) .

2- الصـفات المظهرية للجناح ومنها طول الجناح الامامي وعرض الجناح الامامي و عرض الجناح الخلفي وعدد الخطاطيف وقياس الزاوية(A4) ، وقياس الزاوية (B4)، وقياس الزاوية (D7) وقياس الزاوية (G18)، وقياس

الزاوية (E19)، ومعامل الجناح الامامي Cubital Index (CI)وتعتبر هذه الصــفات من طرق التصــنيف الهندسي للتمييز بين الأنواع والنويعات شكل (7).



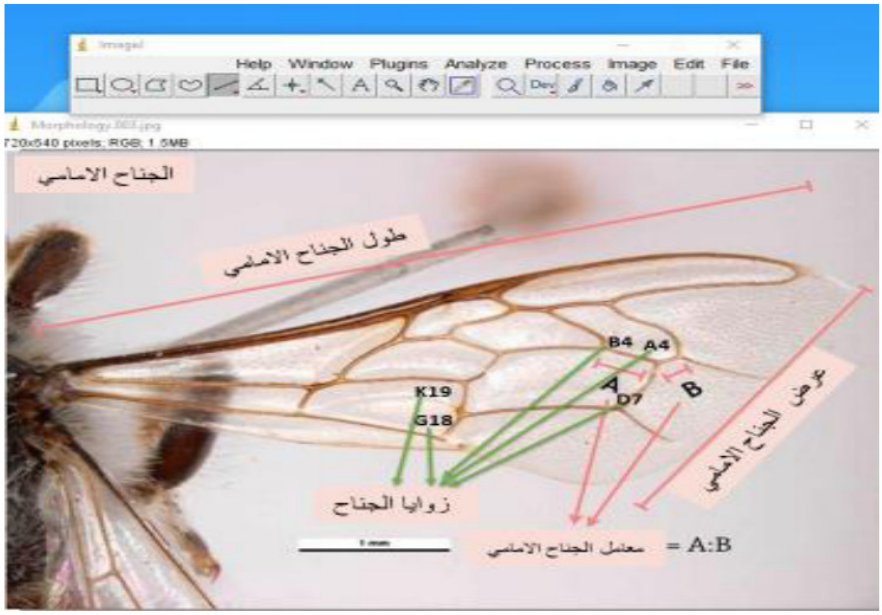
شكل (6) الصفات المظهرية لبعض أجزاء الجسم لنوعي نحل العسل *A. mellifera* و*A. florea* [1 = طول الراس ، 2= عرض الراس ،3= طول الملامس ،4 = طول الخرطوم ،5= طول فخذ الرجل الخلفية ،6 = طول الساق ،7=عرض نهاية الساق ،8 = نسبة الطول الى العرض للقطع القاعدية للرسغ ،9 = طول الصفيحة الظهرية الثالثة ،10= طول الصفيحة الظهرية الرابعة؛ نقلاً عن Ruttner (1988)] .



لوحة (7) الصـفات المظهرية للجناح والقطع البطنية لنوعي نحل العسـل *A. mellifera* و *A. florea* [1 = طول الصـفيحة القصـية الثالثة ، 2= طول الصفيحة القصية الرابعة ،3= طول مرآة الشمع الأولى ،4 عرض مرآة الشمع الأولى ،5= المسافة بين المرآتين ،6 = طول الجناح الامامي ،7= عرض الجناح الامامي ، a و b معامل الجناح الامامي ، 8 = زاوية A4 ،9 = زاوية B4 ،10= زاوية D7 ،11 = زاوية G18 ، 12 = زاوية E19 ، 13= الخطاطيف في الجناح الخلفي، 14= عرض الجناح الخلفي؛ نقلاً عن Ruttner (1988)] .

3-1-4: استخدام برنامج معالج الصور الرقمية ImageJ في قياس وتحليل الصور

اســتخدامت في هذه الدراســة تقنية جديده لمعالجة الصــور الرقمية تتمثل ببرنامج ImageJ والذي يعتبر واحد من اهم برامج معالجة الصــور التي تســتخدم في البحوث العلمية ويســتخدم في حل العديد من مشكلات معالجة وتحليل الصور ويستطيع قراءة العديد من تنسيقات ملفات الصور بما في ذلك TIFF و PNGو GIF ، كما يوفر البرنامج الية المعايرة المكانية Spatial Calibration لضــمان توفير قياس الابعاد الحقيقية للأجســام باســتخدام وحدات القياس الفعلية لها مثل الملمترات، اذ تم قياس اطوال الصــفات المظهرية للعينات من أداة الخط المستقيم التي تستخدم لتحديد طول الجسم في الصورة ، بينما تم قياس زوايا الاجنحة من أداة الزاوية التي تمكننا من قياس أي زاوية محدد بثلاث نقاط وبعد رسم الزاوية سيتم تسجيلها في نافذة النتائج (شكل 8) (Al-saad وHussain ، 2018).



شكل (8) واجهة برنامج ImageJ عند التطبيق

3-1-5: تشخيص النماذج Diagnostic of Specimens

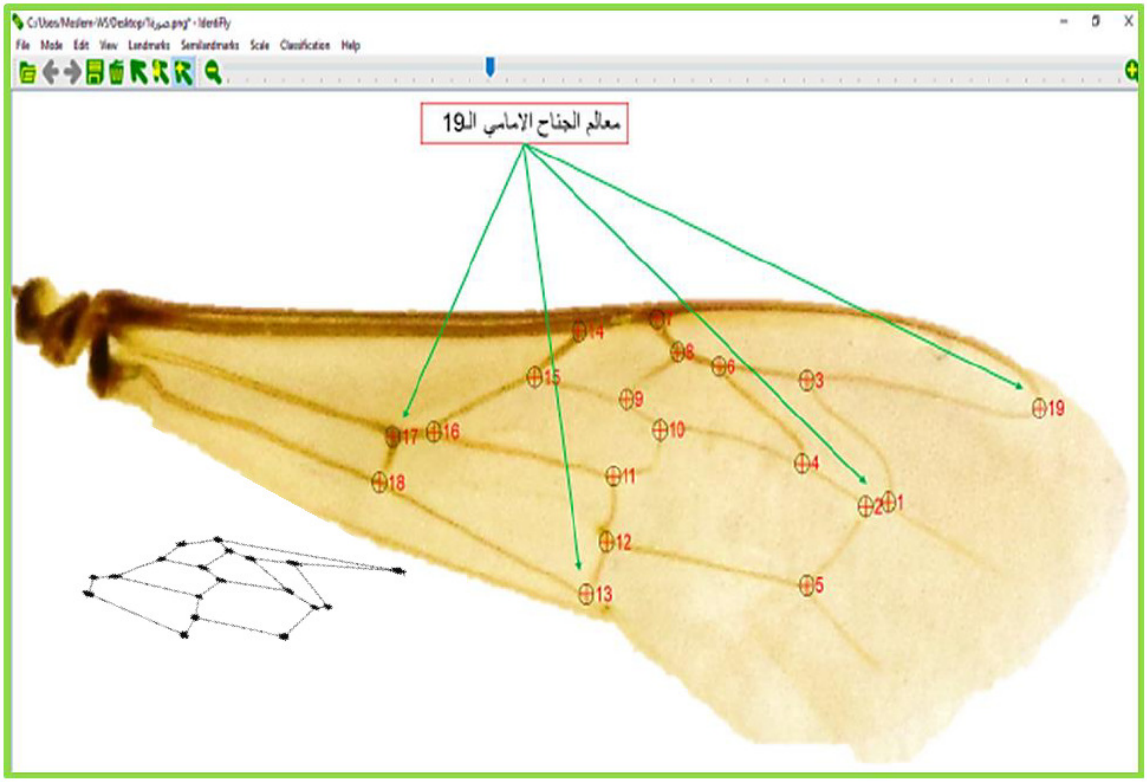
تشكل الصفات المظهرية للحشرات الأساس في عملية التمييز التصنيفي والتي هي الخطوة المهمة بعد جمع واعداد العينات للدراسة ولغرض تحديد هوية المجتمعات السكانية لنحل العسل *A.mellifera* في مناطق البصرة ومحافظتي بابل وواسط استخدام البرنامج الحاسوبي شبة الالي Identifly الذي يستند الى مقارنة الشكل الهندسي (19 علامة) للجناح الامامي للنماذج المدروسة مع بيانات بنك معهد النحل اوبريوسل في المانيا والذي يستخدم بشكل رئيسي لتحديد النسب التطوري والسلالات لنحل العسل والتي هي اكثر من 19 سلالة تم تجميعها في اربع خطوط تطورية وتتمثل طريقة العمل كالاتي:

1- تثبيت 19 معلما هندسيا للجناح الامامي بالتسلسل في الجزء المناسب له حسب الدليل المرفق مع البرنامج على الجناح الامامي والتي تمثل احداثيات X و Y والتي تعتبر ضرورية للتصنيف الدقيق.

2- تحويل الصورة الرقمية الى اللون الرمادي ومن ثم تحول من تنسيق PNG الى تنسيق DW.PNG.

3- نختار التصنيف لتحديد هوية النحل ومن ثم التصنيف العنقودي classify لقياس درجة القرابة الوراثية بين الخطوط التطورية الأربع (Anna واخرون,2018) (شكل 9).

فيما شخص النحل العسل القزم *A.florea* باستخدم عدد من المفاتيح التشخيصية المعتمدة من قبل كل من William (1890)،Laurence وClaudia (2007)، Inoka و Jayanthi (2008) ،Ascher (2009)،Connal واخرون(2010).



شكل (9) العلامات الهندسية الـ 19 للجناح الامامي المستخدمة في برنامج Identifly لتحديد هوية نحل العسل *A.mellifera*

3-2: الدراسة الجزيئية Molecular Study

3-2-1: جمع العينات Sampling Collecting

جمعت عينات النحل التي استخدمت في الدراسة الجزيئية من 11 موقعا مختلفا من محافظة البصرة وبواقع 10 حشرات/موقع، أما العينات التي جمعت من محافظات الوسط والشمال والتي شملت محافظة بابل وواسط وأربيل فقد كانت بواقع 30 حشرة/موقع. وضعت العينات في انابيب اختبار بلاستيكية سعة 10 مل مزودة بغطاء محكم وعُلمت العينات وحُفظت بدرجة حرارة -20° م لحين الاستخدام.

3-2-2: استخلاص الحامض النووي DNA Extraction

أجريت عملية استخلاص الحامض النووي في مختبر الهندسة الوراثية التابع لكلية الزراعة جامعة البصرة وانتخبت منطقة صدر الحشرة (التي تكون غنية بالانسجة العضلية الطولية والعرضية) بعد إزالة الارجل والاجنحة منها مما يتيح ضمان استخلاص كمية كافية من DNA مع اقل ما يمكن من الملوثات الداخلية والخارجية (Winston،1993). وتم الاستخلاص باستعمال عدة الاستخلاص الخاصة (GS100, Geneaid, Korea) وحسب ارشادات الشركة المجهزة والمتضمنة الخطوات التالية:

1. عُرضت العينة (المنطقة الصدرية للحشرة بدون الارجل والاجنحة) للتجميد السريع flash freezing باستخدام النتروجين السائل ثم طحنت باستخدام الهاون الخزفي إلى مسحوق دقيق.

2. نقل 25 ملغم من المسحوق الى أنبوب ابندورف Eppendorf tube سعة 1.5 مل وأضيف اليه 200 مايكروليتر من دارئ GST و 20 مايكروليتر من إنزيم Proteinase K ثم رج الخليط جيدا باستخدام

جهاز الرجاج Vortex لمدة 25 ثانية، بعد ذلك حُضـــنت العينات في الحمام المائي على درجة حرارة 60° م لمدة ساعة كاملة مع مراعاة تقليب العينة يدويا 5 مرات كل 15 دقيقة.

3. لغرض زيادة كفاءة جمع الحامض النووي في الخطوة السابعة فقد حضن دارئ الجمع Elution Buffer بواقع 200 مايكروليتر/عينة في الحمام المائي على درجة 60° م لحين استخدامه (الخطوة السابعة).

4.بعد التحضـــين اجريت عملية طرد مركزي للعينات بواقع 10000 دورة / دقيقة ولمدة دقيقتين جرى بعدها نقل الراشح الى أنبوب ابندورف جديد سعة 1.5 مل وأضيف اليها 200 مايكروليتر/عينة من دارئ الـ GSB ثم رجت بقوة بجهاز الرجاج لمد 10 ثوان.

5. اضـــيف 200 مايكروليتر من الكحول الأثيلي المطلق لكل عينة وقلبت بلطف لمدة 10 ثوان لحين ملاحظة ظهور ظفائر رقيقة او خيوط دقيقة (تمثل DNA المترســـب) ونقلت العينة إلى أنبوب التنقية Spin column (يتكون من انبوب ترشيح وانبوب جمع سعة 2 مل) وعرضت للطرد المركزي لمدة دقيقة واحدة بسرعة 10000 دورة / دقيقة وأعيدت عملية الطرد المركزي في الحالات التي لم ينزل فيها كل السائل في انبوبة الجمع Collection tube، وبعد ذلك أهمل أنبوب الجمع واستبدل بأنبوب جديد.

6.أضيف 400 مايكروليتر من دارئ W1 ثم أجري عملية طرد مركزي على سرعة 10000 دورة/دقيقة ولمدة دقيقة واحدة وأهمل الراشح في أنبوب الجمع ثم أضيف 600 مايكروليتر من دارئ الغسل Wash Buffer واجري طردا مركزيا على سرعة 10000 دورة/دقيقة و لمدة 3 دقائق أهمل بعدها الراشح ثم أعيدت عملية الطرد المركزي مرة أخرى لتجفيف غشاء الترشيح واستبدل انبوب الجمع بانبوب ابندورف جديد.

7. اضـيف 100 مايكروليتر من دارئ الجمع Elution Buffer (الذي حضـن مسـبقاً على درجة 60° م في الخطوة 3 أعلاه) الى العينة وروعي أضافته الى مركز قرص الترشيح وترك لمدة دقيقة كي تشبع قرص الترشيح بالدارئ لزيادة كفاءة الاستخلاص، ثم أجريت عملية الطرد المركزي على سرعة 10000 دورة/دقيقة لمدة دقيقة واحدة لجمع DNA المستخلص. بعدها حفظ النموذج على درجة حرارة −20م° لحين الاستخدام.

3-2-3: تقدير تركيز ونقاوة الحامض النووي الجينومي Estimation of DNA Quality and Quantity of Genomic DNA

قدرت كمية ونوعية mtDNA لجميع العينات المسـتخلصـة بواسـطة جهاز القطرة الدقيقة Nano dropالمجهز من شـركة Thermo-Scientific الامريكية عند الطوليين الموجيين 260− 280 نانوميتر لغرض التعرف على كمية ونقاوة الحامض النووي المستخلص لاستخدامه في التجارب اللاحقة.

3-2-4: تفاعل البلمرة الجزيئية Polymerase Chain Reaction (PCR)

أجري تفاعل البلمرة الجزيئية (PCR) لتضـخيم أجزاء متعددة (ثلاث مناطق) من المنطقة الجينية COXI-COXII في جينوم المايتوكوندريا حيث اسـتخدمت ثلاث أزواج من البادئات Primers المختلفة والمتخصـصـة (جدول 2) لتضـخيم هذه الاجزاء والتي هي عبارة عن قطعة قصـيرة من DNA ترتبط بقالب شـريط DNA المفرد عند النهايةَ 3 المحتوية على مجموعة الهيدروكسـيل OH الضـرورية لبدء عمل انزيم بلمرة DNA، وهنالك عدة انواع من البادئات تختلف في طبيعتها باختلاف نوع المؤشـرات، فقد تكون ذات تتابعات عامة Universal ويمكن استخدامها مع جينوم كل الكائنات الحية، وقد تكون تلك البادئات مصممة بشكل خاص ليتعرف على موقع متخصص موزع بشكل عشوائي داخل الجينوم (الخفاجي، 2013).

وذلك لتغطية معظم أجزاء هذه القطعة المهمة في تشـخيص الحشـرات من جهة وللتعرف على أحسـن منطقة تغاير ضمنها وهذه البادئات هي البادئ

LCO1490: GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG
HC02198: TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA

والبادئ Cl-J-2183: CAACATTTATTTTGATTTTTTGG

TL2-N-3014: TCCAATGCACTAATCTGCCATATTA

والبادئ E2: GGCAGAATAAGTGCATTG

H2: CAATATCATTGATGACC

والتي جهزت البادئات من قبل شـــركة Macorogen الكورية وجرى تجهيزها بتركيز 10 بيكومول/ مايكروليتر وحسب تعليمات الشركة المنتجة كي تكون جاهزة للاستخدام.

اجري تفاعل PCR لكل زوج من البادئات على حدة وحضـــر خليط التفاعل بواقع 50 مايكروليتر من مكونات التفاعل 25 مايكروليتر من خليط المكونات الجاهز (Taq DNA Polymerase Master Mix RED, Ampliqon, Denmark) و 2.5 مايكروليتر لكل بادئ و 100 نانوغرام من قالب DNA ثم أكمل الحجم إلى 50 مايكروليتر باســـتخدام الماء المقطر المنزوع الأيونات(DD-Water) (Al-Saad ، 2015)، وأجري التضخيم باستخدام جهاز التدوير الحراري (MyGenieTM 96/384 thermal Block, BioNEER, Inc) حسب ظروف التدوير الحراري المذكورة في (الجدول 3) (Garnery واخرون،1993؛ Formerواخرون ،1994؛Simon واخرون ، 1994).

جدول (2) البادئات المستعملة في تفاعل البلمرة المتعدد PCR.

المصدر	حجم القطعة المتوقع (bp)	درجة حرارة الالتصاق Tm	تتابع القواعد النتروجينية 5′ to 3′	اسم البادئ
Folmer واخرون ،1994	~ 710	54.80	GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG	LCO1490
		59.62	TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA	HC02198
Simon واخرون ،1994	830	50.21	CAACATTTATTTTGATTTTTTGG	Cl-J-2183
		58.46	TCCAATGCACTAATCTGCCATATTA	TL2-N-3014
Garnery واخرون،1993	523	51.48	GGCAGAATAAGTGCATTG	E2
		43.82	CAATATCATTGATGACC	H2

3-2-5: الترحيل الكهربائي لمنتج Gel Electrophorese for Product PCR

للتأكد من نجاح عملية التضخيم للقطع الجينية المستهدفة، أجريت عملية ترحيل كهربائي لمنتج تفاعل PCR على هلام الاكاروز (2%) وعلى مستوى فولتية 95 ملي فولت واستخدم محلول 1X TAE كدارئ الكتروليتي لإجراء عملية الترحيل والتي أجريت في حوض ترحيل نوع (UK/Cleaver Scientific). استخدمت صبغة Diamond Dye (Promega, USA) بتركيز 1X لتصبيغ العينات ومؤشر الوزن الجزيئي DNA Ladder (100 bp) وبعد أجراء الترحيل تم الكشف عن العينات باستخدام جهاز توثيق نتائج الترحيل الكهربائي Gel documentation (USA/Gel documentation) (Al-Saad ، 2015).

جدول (3) ظروف التدوير الحراري لتفاعلات PCR للمنطقة الجينية CO1-CO11

البادئ	المراحل	درجة الحرارة (مئوي)	الزمن (دقائق)	عدد الدورات	المصدر
LCO1490- HC02198	الدنترة الأولية	94ºC	4min		Folmer واخرون ،1994
	الدنترة	94ºC	30 s		
	التلدين	57ºC	1 min		
	الاستطالة	72ºC	1 min		
	الاستطالة النهائية	72ºC	10 min		
	الخزن	4ºC			
Cl-J-2183- TL2-N-3014	الدنترة الأولية	94ºC	4 min		Simon واخرون ،1994
	الدنترة	94ºC	30 s		
	التلدين	54ºC	1 min		
	الاستطالة	72ºC	1 min		
	الاستطالة النهائية	72ºC	10 min		
	الخزن	4ºC			
E2 –H2	الدنترة الأولية	92°C	3 min		Garnery واخرون،1993
	الدنترة	92°C	30 s		
	التلدين	47°C	30 s		
	الاستطالة	72 °C	2 min		
	الاستطالة النهائية	72ºC	10 min		
	الخزن	-20°C			

3-2-6: قراءة تتابعات القواعد النتروجينية لمنتج DNA Sequencing PCR

بعد التأكد من نجاح عملية تضـــخيم القطع الجينية المســـتهدفة عن طريق الترحيل الكهربائي، ارســـلت العينـات (منتج PCR) الى شـــركـة Macrogene الكوريـة لغرض اجراء عمليـة قراءة تتـابعـات القواعـد النتروجينية لكل عينة.

3-2-7: تشخيص العينات جزيئياً Molecular Identification of Specimens

حللت نتائج قراءة تتابعات القواعد النتروجينية للقطع الجينية المســتهدفة والواقعة ضـــمن المنطقة الجينية COXI-COXII في جينوم المايتوكوندريا لعينات شـغالات نحل العسل المسـتخدمة في هذه الدراسـة بعد ان تم معالجتها باستخدام برنامج Chromas Ver. 2.6.6 (Technelysium Pty Ltd)، حيث تمت مطابقة هذه التتابعات مع نســـخ التتابعات المودعة في المركز الوطني الأمريكي لمعلومات التقانات الاحيائية National Center for Biotechnology Information (NCBI) باســـتخدام أداة البحث والمطابقة الخاصة بالموقع Basic Local Alignment Search Tool (BLAST)، وتم التشخيص بالاعتماد على درجة التطابق Maximum score ودرجة التغطية لتتابع قواعد العينة Query cover ونســبة التشــخيص Identity percentage التي توفرها اداة البحث حيث اعتمدت أعلى معدلات المؤشـــرات المذكورة اعلاه ولثلاث مناطق جينية مختلفة لكل عينة ضمن النطاق COXI-COXII لتأكيد تشخيص العينات إلى مستوى السلالة.

3-2-8: دراســـــة التغـاير الوراثي الجزيئي Genetic Polymorphism لعينـات النحـل العراقيـة *A.mellifera*

أستخدمت تتابعات القواعد النتروجينية التي اعتمدت في تشخيص العينات مع تتابعات قياسية لسلالات نحل العسل تم الحصول عليها من المركز الوطني الأمريكي لمعلومات التقانات الأحيائية (NCBI) لرسم اشجار التقارب الوراثي باستخدام خوارزمية Unweighted pair group method with arithmetic mean (UPGMA) لدراسة التغاير الوراثي بين السلالات العراقية للنحل العاسل وتحديد الخطوط الوراثية التطورية بناءً على مدى التقارب أو التباعد الوراثي بينها من جهة وبين السلالات القياسية المودعة في NCBI. أجريت هذه العملية لكل منطقة جينية على حدة لتحديد أفضل المناطق الجينية من حيث قدرتها على فرز السلالات وتحديد الخطوط التطورية الوراثية، استخدم برنامج Clustal Omega لأجراء عملية المحاذاة بين التتابعات Sequence alignment وبرنامج Clustal W2 التابعين لموقع المختبر الاوربي للبايلوجيا الجزيئية والمعهد الاوربي للمعلوماتية الحيوية European Molecular Biology Laboratory-European-Bioinformatics Institute (EMBL-EBI) (https://www.ebi.ac.uk) لرسم الاشجار الوراثية.

3-3-4: التحليل الاحصائي Statistical Analysis

3-3-4-أ: التحليل الاحصائي للدراسة المظهرية

أستخدم في تحليل بيانات الصفات المظهرية في حساب المتوسط والانحراف المعياري والتحليل العنقودي باستخدام البرنامج الاحصائي الجاهز SPSS الإصدار 24.0 version (Statistics،2017)، كما استخدم البرنامج الحاسوبي Identifly الإصدار 1.2.0 version (Tofilski،2018) لتحديد نويع نحل العسل *A. mellifera* ، والبرنامج الحاسوبي Beemorph الإصدار 1.1.0 Version (Talbot، 2012) لقياس معامل الجناح الامامي (دليل الزندي) .

3-3-4-ب: التحليل الاحصائي للدراسة الجزيئية

تمت معالجة التسلسلات لكل دارئ وباستخدام برنامج Chromas الاصدار Version2.6.6(MacCarthy، 1998) وتم تجميع التسلسل (الامامي والعكسي) باستخدام البرنامج CAP3-PRABI-Doua software(Huang و Madan، 1999) وتم مطابقة القطع الجينية للتسلسلات في بنك الجينات (NCBI) Information National Center for Biotechnology وتحديد الهوية العينات الجزيئية بواسطة التطابق والتمييز المتعدد لكل عينة في قاعدة بيانات بنك الجينات (NCBI) باستخدام أداة المحاذات والتطابق software (BLAST) (Altschul واخرون،1990) واختبر افضل تتابع من BLAST لرسم شجرة القرابة باستخدام برنامج MEGA 5 software (Tamuraواخرون ، 2011) لتحديد علاقة التشابه بين نسخ COXI-COXII ذات الصلة .

4: النتائـــــــــــج والمناقشـــــــــــــةResult and Discussion

4-1: نتائج ومناقشة الدراسة المظهرية

4-1-1: قياس الصفات المظهرية لعاملات نحل العسل *A.mellifera* في محطات محافظة البصرة بالطريقة التقليدية

4-1-1-1: صفات الراس لعاملات نحل العسل *A.mellifera* في محطات محافظة البصرة

بينت نتائج الدراسة المظهرية (الجدول 4) تباين معنوي بدلالة إحصائية عند مستوى 5% في صفات طول الراس وعرض الراس وطول الخرطوم وطول قرن الاستشعار لنحل العسل *A.mellifera* في مناطق محافظة البصـــرة، اذ تفوقت صـــفة طول الراس للعاملات اذ بلغت اعلاها 5.02 ملم في منطقة حمدان بينما كان اقلها بلغت 4.09 ملم في منطقة كرندلاند، اما صفة عرض الراس فقد كان أطولها في منطقة يوسفان اذ بلغ 4.83 ملم في حين كان اقصـرها في منطقة كرندلاند بلغت 3.79 ملم، اما صـفة طول الخرطوم فقد كان اطولها في منطقة التنومة اذ بلغت 5. 90 ملم في حين كان اقلها في منطقة القرنة اذ بلغت 4.61 ملم ،اما صـفة طول قرن الاسـتشـعار فقد سـجل اعلاه في منطقة البراضـعية اذ بلغ 4.51 ملم واقلها في منطقة كرندلاند اذ بلغت 3.87 ملم .

4-1-1-2: صفات الارجل الخلفية لعاملات نحل العسل *A.mellifera* في محطات محافظة البصرة

أوضحت نتائج الدراسة لقياس ثلاث صفات مظهرية للرجل الخلفية لشغالة نحل العسل *A.mellifera* (جدول 5) وجود اختلاف معنوي بين المجاميع المدروسة ، اذ بلغت صفة طول فخذ للرجل الخلفية اعلاها 2.616ملم في منطقة البراضعية واقلها طولاً بلغت 2.140 ملم في منطقة حمدان ، بينما كانت صفة طول الساق بلغت اعلاها 2.950 ملم في التنومة واقلها بلغت 2.434 ملم في منطقة يوسفان، اما صفة نسبة الطول الى العرض للقطعة القاعدية للرسغ بلغت اعلاها 1.740ملم في منطقة الجنينة واقلها بلغت 1.506 ملم في منطقة حمدان.

جدول (5) قياس الصفات المظهرية (ملم) للرجل الخلفية لعاملات نحل العسل *A.mellifera* في محطات محافظة البصرة

الصفة / المنطقة	المتوسط + الانحراف المعياري (ملم)		
	طول فخذ الرجل الخلفية	طول ساق الرجل الخلفية	نسبة الطول الى العرض للقطعة القاعدية للرسغ
كرندلاند	0.20 ±2.58	0.13±2.73	0.28±1.66
البراضعية	0.22±2.61	0.17±2.81	0.17±1.64
الخربطلية	0.16±2.38	0.16±2.93	0.15±1.53
الجنينة	0.17±2.36	0.22±2.91	0.16±1.74
الهارثة	0.16±2.40	0.21±2.94	0.14±1.62
شط العرب	0.22±2.38	0.24±2.73	0.20±1.72
كرمة علي	0.14±2.25	0.15±2.67	0.18±1.58
حمدان	0.12±2.14	0.13±2.53	0.14±1.50
يوسفان	0.12±2.28	0.20±2.43	0.13±1.58
القرنة	0.10±2.24	0.19±2.67	0.12±1.58
التنومة	0.18±2.58	0.15±2.95	0.12±1.55
LSD	0.243	0.284	0.261

4-1-1-3: صفات الاجنحة لعاملات نحل العسل *A.mellifera* في محطات محافظة البصرة

أوضحت نتائج الدراسة المظهرية في الصفات العامة للأجنحة لشغالة نحل العسل *A.mellifera* (جدول 6) من تفوق صفة طول الجناح الامامي في منطقة البراضعية اذ بلغت اعلاها 8.80 ملم في حين كانت اقلها طولاً في منطقة القرنة اذ بلغت 7.83 ملم ، في حين كانت صفة عرض الجناح الامامي اعلاها في التنومة اذ بلغت 2.93 ملم واقلها في منطقة يوسفان اذ بلغت 2.42 ملم ، اما صفة طول الجناح الخلفي فكانت اعلاها في منطقة الجنينة اذ بلغت 6.22 ملم واقلها طولاً في منطقة شط العرب اذ بلغت 5.55 ملم ، بينما كانت صفة عرض الجناح الخلفي اعلاها في منطقة البراضعية اذ بلغت 1.98ملم واقلها في منطقة القرنة اذ بلغت 1.56ملم ، واظهرت صفة عدد الخطاطيف في الجناح الخلفي تفوق في العدد اذ كانت اعلاها في منطقة القرنة اذ بلغت 22.92 خطاف واقها عدد في منطقة كرندلاند اذ بلغت 17.36 خطاف.

جدول (6) قياس الصفات المظهرية (ملم) لجناح لعاملات نحل العسل *A.mellifera* في محطات محافظة البصرة

الصفة / المنطقة	المتوسط + الانحراف المعياري (ملم)				
	طول الجناح الامامي	عرض الجناح الامامي	طول الجناح الخلفي	عرض الجناح الخلفي	عدد الخطاطيف
كرندلاند	0.33±8.08	0.24±2.37	0.42±5.77	0.16±1.83	3.86±17.36
البراضعية	0.34±8.80	0.27±2.58	0.38±5.83	0.17±1.98	1.65±20.78
الخربطلية	0.26±8.44	0.14±2.61	0.30±5.91	0.120±1.67	1.50±19.80
الجنينة	0.27±8.57	0.20±2.52	0.33±6.22	0.21±1.80	1.47±19.77
الهارثة	0.47±7.92	0.18±2.53	0.24±5.81	0.20±1.73	1.70±21.56
شط العرب	0.32±8.32	0.23±2.46	0.41±5.55	0.18±1.68	1.93±21.95
كرمة علي	0.36±8.34	0.20±2.57	0.38±5.62	0.18±1.74	1.48±21.06
حمدان	0.40±8.16	0.20±2.60	0.23± 6.11	0.14±1.73	1.79±21.16
يوسفان	0.28±8.03	0.16±2.42	0.23±5.64	0.15±1.59	1.78±20.44
القرنة	0.21±7.83	0.18±2.44	0.23±5.81	0.15±1.56	2.16±22.92
التنومة	0.46±8.65	0.18±2.93	0.21±6.11	0.11±1.80	1.17±21.63
LSD	0.547	0.330	0.517	0.278	3.489

4-1-1- 4: صفات قياس زوايا الاجنحة الامامية لعاملات نحل العسل *A .mellifera* في محطات محافظة البصرة

أوضحت نتائج دراسة قياس صفات زوايا الاجنحة لعاملات نحل العسل *A.mellifera* في محطات محافظة البصرة (جدول 7) من تسجيل اعلى قياس لزاوية A4 في منطقة التنومة اذ بلغت اعلاها 31.15 درجة في حين كانت اقلها في منطقة الجنينة اذ بلغت 26.25 درجة، في حين سجلت صفة الزاوية B4 اعلى قياس في منطقة حمدان اذ بلغت110.75 درجة في حين كانت اقلها في منطقة الخربطلية اذ بلغت 101.16 درجة، اما قياس الزاوية D7 فكانت اعلاها في منطقة يوسفان اذ بلغت 103.88درجة في حين كانت اقلها في منطقة شط العرب بلغت 91.20 درجة، وقد سجل قياس الزاوية G18 اعلاها منطقة التنومة اذ بلغت 96.46 درجة واقلها في منطقة كرندلاند اذ بلغت84.07 درجة، وفيما يخص قياس الزاوية K19 فقد سجلت اعلاها في منطقة القرنة اذ بلغت 80.13 درجة في حين بلغت اقلها في منطقة كرندلاند اذ بلغت 74.08 درجة، واختلفت المناطق في صفة معامل الجناح الامامي اذ كان اعلاها في منطقة الخربطلية اذ بلغت 2.70 في حين كانت اقلها في منطقة كرندلاند 1.52 والتي اختلفت عن جميع المناطق معنويا .

4-1-1-5: صفات منطقة البطن لعاملات نحل العسل *A .mellifera* في محطات محافظة البصرة

بينت نتائج دراسة صفات منطقة البطن لعاملات نحل العسل *A .mellifera* في محطات محافظة البصرة (جدول 8) عن تباين صفة طول الصفيحة الظهرية الثالثة اذ بلغت اعلاها 9.24 ملم في منطقة الجنينة حين كانت اقلها في منطقة الهارثة اذ بلغت 8.12 ملم ،بينما سجلت صفة عرض الصفيحة الظهرية الثالثة اعلاها في منطقة البراضعية اذ بلغت 2.07 ملم واقلها في منطقة القرنة اذ بلغت 1.75 ملم، بينما سجلت صفة طول الصفيحة الظهرية الرابعة اعلاها اذ بلغت 8.57 ملم في منطقة الخربيطلة واقلها في منطقة الجنينة 7.28 ملم، بينما تفوقت عرض الصفيحة الظهرية الرابع اذ بلغت اعلاها 1.94 ملم في منطقة كرمة علي واقلها في منطقة القرنة اذ بلغت 1.66ملم، اما صفة طول الصفيحة القصية الثالثة بلغت اعلاها 4.89 ملم في منطقة لخربطلية واقلها في منطقة حمدان اذ بلغت 4.36 ملم ، بينما تفوقت صفة عرض الصفيحة القصية الثالثة اذ بلغت اعلاها 1.45 ملم في منطقة الخربطلية واقلها 1.05 ملم في كل من منطقتي حمدان والتنومة، بينما سجلت صفة طول الصفيحة القصية الرابعة اعلاها اذ بلغت 86 .4 ملم في منطقة الجنينة واقلها كانت في منطقة كرندلاند اذ بلغت 4.13 ملم، وبلغت صفة عرض الصفيحة القصية الرابعة اعلاها اذ بلغت 1.40 ملم في منطقة الجنينة واقلها بلغت 0.92 ملم في منطقة التنومة، بينما سجلت صفة طول مرآة الشمع الأولى اعلاها في منطقة الجنينة اذ بلغت 2.16 ملم واقلها كانت في منطقة حمدان اذ بلغت 1.16 ملم ،وكانت صفة عرض مرآة الشمع اعلاها في منطقة كرمة علي اذ بلغت 1.15ملم واقلها في منطقة كرندلاند اذ بلغت 0.93 ملم.

أظهرت نتائج تحليل التباين وجود فروق معنوية ذات دلالة إحصـــائية 5% بين الصـــفات المظهرية لصفات الجسم والاجنحة لنويعات نحل العسل *A.mellifera* للمناطق المدروسة في محافظة البصرة ، فقد سجلت منطقة الجنينة اعلى قيم في صفة نسبة الطول الى العرض للقطعة القاعدية للرسغ وطول الصفيحة الظهرية الثالثة وطول وعرض الصفيحة القصية الرابعة وطول مرآة الشمع الأولى مما يعطي طوائف نحل هذا الموقع قدر اكبر في جمع الرحيق وحبوب اللقاح وافراز الشمع في حين سجلت في منطقة كرندلاند اقلها في صفات طول الراس وعرضة وطول قرن الاستشعار وطول الصفيحة القصية الرابعة وعرض مرآة الشمع ، وهذا يدل على ان نحل كرندلاند يتميز بصغير الحجم مقارنة بالمناطق الأخرى في صفات المظهر الخارجي.

تختلف طرق تربية نحل العســل من منطقة لأخرى مما ينتج عن هذا الاختلاف تغيرات مظهرية، ومن هذه الطرق إدخال أنماط جغرافية (نويعات) بطريقة غير مدروسة يؤدي الى تهجين بين المستعمرات واختلاف في الصـــفات المظهرية (Meixner واخرون، 2010)، فقد بينت بروك (2003) في دراســـة الصـــفات المظهرية لسلالة نحل العسل *A.m. intermissa* من تشابه كل العينات في صفات طول الخرطوم وطول قرن الاستشعار وطول الجناح الامامي وعرضة وعدد الخطاطيف وطول الصفيحة الظهرية الثانية وعرض الصفيحة القصية الرابعة عدا عينة منطقة عزابة والتي كان نحلها اقل حجما عن باقي العينات المدروسة ،كما اوضح Mattu وVerma (1983) وجود تبايناً كبيراً في صفات طول اللسان وطول قرن الاستشعار لنحل العسل*A. cerana indica* في مناطق مختلفة في الهند، اذ تميز نحل العسل لمنطقة هيماشال بطول تلك الصفات عن نحل العسل لمنطقة كشمير وقد عزا ذلك الى اختلاف في الصفات المورفولوجية للأزهار في تلك المناطق، كما بينت دراســة أخرى لهما عن وجود اختلاف كبير في صــفات الارجل الخلفية والصــفيحة

الظهرية والصـفيحة القصـية اذ كان نحل منطقة كشـمير اقل قياساً في الصـفات المدروسـة من نحل منطقة هيماشال (Mattu وVerm،1984).

كما ان صـفات حجم الجسـم وطول الخرطوم في نحل العسـل التي لها ارتباط إيجابي مع الصـفات المظهرية للأزهار الذي يعكس دورها الحيوي في البحث عن الغذاء وانتاج العســـل و جمع حبوب اللقاح (Alburaki Alburaki،2008)، وهذه الصـــفات تتباين من منطقة الى أخرى فقد أشـــار Sharma (1990) الى اختلاف صـفات طول الراس وعرضـة وطول الخرطوم في مناطق من الهند اذ بلغ 3.19ملم ،3.78 ملم ،6.37 ملم على التوالي، فيما بين Rahimi واخرون (2017) في دراســـة التباين المظهري لنحل العسـل الإيراني *A. m. meda* في 20 مقاطعة من ايران عن وجود تباين كبير في الصـفات المظهرية المدروســة (طول الخرطوم ودليل الصــفيحة القصــية الأولى ولون الدريع ولون الصــفيحة الظهرية الثالثة وطول الرجل الخلفية وطول الصـفيحة الظهرية الثالثة والرابعة وطول الجناح الامامي وعرضـة وطول الجناح الخلفي وعرضـــة ومعامل الجناح الامامي وزاوية A4 وD7 وG18) في جميع المناطق المدروســة ولم تكن هنالك فروق معنوية 5% في صــفة دليل الصــفيحة القصــية ولون الدريع وهذا يعكس التنوع الكبير للنحل الإيراني، فيما بين Gencer واخرون (2004) من ان صــفات طول الخرطوم وطول الصــفيحة الظهرية الثالثة والرابعة وطول الفخذ وطول الســاق وطول العقلة القاعدية للرســغ قد اختلفت بين نســل الإباء والابناء لنحل العســل *A.m. anatoliaca* وقد عزا هذا الاختلاف الى التباين ضــمن المســتعمرة الواحدة، في حين أوضــح Ftayeh واخرون (1994) في دراســة تحليل صــفات النحل الســوري *A.m. syriaca* اذ اســتخدم صــفات حجم الجســم(طول الصــفيحة الظهرية الثالثة والرابعة) وطول الرجل الخلفية وطول الخرطوم وطول الشـعر مرآة الشـمع ولون الصـفيحة الظهرية الثالثة عن وجود ثلاث نويعات هي *A. m. meda* في شـمال

وشـمال شـرق سـوريا و*A. m.syriaca* في الجنوب السـوري و*A. m. ligustica* في منطقة دمشـق وقد اشارت النتائج الى حصول عملية التهجين والى التنوع المحلي للنويع السوري .

اما فيما يخص صـفات تعرق الجناح في المناطق المدروسـة لمحافظة البصـرة فقد سـجلت اعلى قياس في عرض الجناح الامامي وزاوية A4 و G18 في منطقة التنومة، واقل قياس لصـــفات عدد الخطاطيف وزاوية G18 وزاوية K19 ومعامل الجناح الامامي في منطقة كرندلاند ، في حين سـجلت ، تعطي صـفات الجناح قدر أوســع من الطيران لمســافات بعيدة وان هذه القياســات مهمة في تصــنيف النويعات والتي يؤثر حجمها على قدرة نحل العســل على الطيران (Horomitz،1983)، قد يكون الاختلاف في صــفات تعرق الجناح بسـبب العديد من العوامل احد هذه العوامل وجود انسـال مختلفة بين المجاميع السـكانية فضـلا عن الاختلاف المكاني التي تؤثر على القياسات المظهرية لنحل العسل (Mattu و Verma ،1984).

4-1-1-6: قياس الصفات المظهرية لمنطقة الراس والرجل الخلفية لعاملات نحل العسل *A.mellifera* لثلاث محافظات من العراق

أظهرت نتائج (جدول 9) اختلاف بين الصـفات المظهرية لجسـم عاملات نحل العسـل *A.mellifera* في المحافظات الثلاثة، فقد تفوقت صـفة طول الراس اذ بلغت اعلاها 4.97 ملم في محافظة بابل في حين كانت اقلها في محافظة أربيل اذ بلغت 3.95 ملم، بينما كانت صـــفة عرض الراس اعلاها في محافظة واســط اذ بلغت 4.96 ملم واقلها في محافظة أربيل اذ بلغت 4.23 ملم ، اما صــفة طول الخرطوم كانت اعلاها في محافظة بابل اذ بلغت 5.87 ملم واقلها في محافظة أربيل اذ بلغت 5.35 ملم، وســـجلت تفوق في صــفة طول قرن الاســتشــعار اذ بلغت اعلاها 4.27 ملم في محافظة بابل واقلها في محافظة اربيل اذ بلغت 4.39 ملم، وتفوقت صــفة طول فخذ الرجل الخلفية اذ بلغت اعلاها 2.40 ملم في محافظة واســط

واقلها في محافظة بابل اذ بلغت 2.18 ملم،كما تفوقت صـفة طول سـاق الرجل الخلفية في كل من محافظة واســـط واربيل اذ بلغت اعلاها 2.95 ملم في حين كانت اقلها في محافظة بابل اذ بلغت 2.78 ملم ، وتفوق صـفة نسبة الطول الى العرض للقطعة القاعدية للرسـغ اذ بلغت اعلاها 1.70 ملم في محافظة أربيل واقلها في محافظة بابل اذ بلغت 1.64 ملم .

جدول (9) قياس الصفات المظهرية للرأس وملحقاته والرجل الخلفية لعاملات نحل العسل *A.mellifera* في ثلاث محافظات من العراق

المحافظة / الصفة	المتوسط + الانحراف المعياري(ملم)			LSD
	بابل	واسط	أربيل	
طول الراس	0.43±4.97	0.33±4.75	0.65±3.95	1.43
عرض الراس	0.23±4.76	0.35±4.96	0.41±4.23	1.07
طول الخرطوم	0.53±5.87	0.43±5.65	0.94±5.35	0.96
طول قرن الاستشعار	0.41±4.27	0.25±4.37	0.27±4.39	0.45
طول الفخذ للرجل الخلفية	0.18±2.37	0.14±2.40	0.14±2.18	0.24
طول الساق للرجل الخلفية	0.16±2.78	0.12±2.95	0.14±2.95	0.28
نسبة الطول الى العرض للقطعة القاعدية للرسغ	0.15±1.64	0.13±1.66	0.19±1.70	0.26

4-1-1-7: قياس الصفات المظهرية للجناح الامامي والخلفي لعاملات نحل العسل *A.mellifera* لثلاث محافظات من العراق

أظهرت نتائج دراسة صفات الجناح الامامي والخلفي للمحافظات الثلاثة (جدول 10) عن تفوق صفة طول الجناح الامامي اذ بلغ اعلاها 8.52 ملم في محافظة بابل واقلها بلغت 8.25 ملم محافظة أربيل ، في حين تفوقت صفة عرض الجناح الامامي اذ بلغت اعلاها 2.83 ملم في محافظة واسط واقلها في محافظة اربيل اذ بلغت 2.76 ملم ،وتفوق صفة طول الجناح الخلفي اذ بلغت اعلاها 6.63 ملم في محافظة واسط واقلها اذ بلغت 5.73 ملم في محافظة أربيل ، وتفوقت صفت عرض الجناح الخلفي اذ بلغت اعلاها 2.04 ملم في محافظة واسط واربيل واقلها بلغت 1.82 ملم في محافظة بابل، اما عدد الخطاطيف فقد كان اعلاها في واسط اذ بلغ 21.00 خطاف واقلها بلغ 20.81 خطاف في محافظة بابل.

كما اختلف أيضا زوايا الجناح الامامي اذ تفوقت صفه الزاوية A4 في محافظة أربيل اذ بلغت اعلاها 31.82 درجة و اقلها بلغت 28.98 درجة في محافظة واسط ، بينما تفوقت صفة زاوية B4 و D7 و G18 اذ بلغت اعلاها 108.89 و96.57 و93.23 درجة على التوالي في محافظة واسط في حين كانت اقلها بلغت 94.77 و94.49 و 83.28 درجة على التوالي في محافظة أربيل،اما صفة زاوية K19 ومعامل الجناح الامامي CI فقد كانت اعلاها اذ بلغت في اذ بلغت اعلاها 76.84 درجة ،2.75 على التوالي في محافظة بابل بينما كانت اقلها اذ بلغت 72.79 درجة ،2.22 في محافظة واسط.

4-1-1-8: قياس الصفات المظهرية لمنطقة البطن لعاملات نحل العسل *A.mellifera* لثلاث محافظات من العراق

أظهرت نتائج دراســة صــفات منطقة البطن للمحافظات الثلاثة (جدول 11) عن تفوق صــفة طول الصفيحة الظهرية الثالثة اذ بلغت اعلاها 8.39 ملم محافظة بابل واقلها اذ بلغت 6.57 ملم محافظة أربيل، في حين سجلت صفة عرض الصفيحة الظهرية الثالثة اعلاها اذ بلغت اعلاها 1.96 ملم في محافظة بابل واقلها بلغت1.86 ملم في محافظة أربيل ، بينما تفوقت صفة طول الصفيحة الظهرية الرابعة اذ بلغت اعلاها 8.25 ملم محافظة بابل واقلها بلغت 5.95 ملم في محافظة أربيل، وتفوق صفت عرض الصفيحة الظهرية الرابعة اذ بلغت اعلاها 1.92 ملم في محافظة بابل واقلها بلغت 1.67 ملم في محافظة أربيل، وسجل تفوق طول الصفيحة القصية الثالثة اذ بلغ اعلاها 4.97 ملم في محافظة واسط واقلها بلغت 4.71 ملم ، وتفوقت صفة عرض الصفيحة القصية الثالثة اذ بلغت اعلاها 1.37 ملم محافظة اربيل واقلها اذ بلغت 0.92 ملم محافظة بابل ، وكان التفوق واضحاً في صفت طول الصفيحة القصية الرابعة اذ بلغ اعلاها 4.92 ملم في محافظة واسط واقلها بلغ 4.47 ملم في محافظة أربيل، كما تفوقت عرض الصفيحة القصية الرابع اذ بلغت اعلاها 1.11ملم في محافظة أربيل واقلها بلغت 0.92 ملم في محافظة بابل ، وتفوقت صــــفة طول مرآة الشمع الأولى اذ بلغت اعلاها 2.13 ملم محافظة واسط واقلها اذ بلغت 2.07 ملم في محافظة بابل، بينما تفوقت صفة عرض مرآة الشمع الأولى اذ بلغت اعلاها 1.05 ملم في محافظة اربيل واقلها اذ بلغت 1.03 ملم في محافظة واسط .

تبين نتائج الدراسة المظهرية لصفات الجسم والاجنحة لعاملات نحل العسل *A.mellifera* في ثلاث محافظات من العراق تبايناً بدلالة إحصائية عند مستوى5%، فقد سجل اعلى قياس في صفات عرض الراس وطول الفخذ وطول الساق وطول الصفيحة القصية الثالثة وطول الصفيحة القصية الرابعة وعرضها وطول مرآة الشمع الأولى ولصفات الجناح عرض الجناح الامامي وطول الجناح الخلفي وعرضة وعدد الخطاطيف وزاوية B4 زاوية D7 وزاوية G18 في محافظة واسط بينما كان اقلها في صفات طول الراس وعرضة وطول لخرطوم وطول الفخذ للرجل الخلفية وطول الصفيحة الظهرية الثالثة وعرضها وطول الصفيحة الظهرية الرابعة وعرضها وطول الصفيحة القصية وطول الجناح الامامي وعرضة وطول الجناح الخلفي وزاوية B4 وزاوية D7 وزاوية G18 الرابعة في محافظة أربيل وهذا يدل على ان نحل العسل في أربيل اصغر حجما من المحافظات الأخرى والتي ربما تأثر حجم النحل فيها نتيجة للموقع الجغرافي لمحافظة أربيل وطبوغرافية المنطقة التي تكون بمحاذات تركيا شمالا وايران شرقا فضلا عن ادخال غير الممنهج لملكات من نويعات قياسية لغرض التحسين والتربية وعوامل الخلط الوراثي، فقد ذكر Farshineh واخرون (2007) وجود فروق معنوية لجميع الصفات المدروسة في عينات نحل العسل الايراني *A. m. meda* (طول الخرطوم وطول الشعر على الصفيحة الظهرية الخامسة وطول الصفيحة الظهرية الثالثة والرابعة وطول الفخذ وطول الساق وطول العقلة القاعدية للرسغ وطول الجناح الامامي وعرضة وطول العرق الزندي a وطول العرق الزندي b ودليل معامل الجناح الامامي وطول الرجل الخلفية) اذ كان نحل العسل الإيراني اصغر بكثير من النحل القوقازي *A. m. caucasica* و النحل الاناضولي *A. m. anatoliaca* في كل المناطق المدروسة كما بين ان العينات في مناطق ايران غير متميزة الى نويعات (أنماط جغرافية او بيئية) وان هنالك تداخل الى حد كبير فيما بينها .

تشير الدراسات من قبل الباحثين ان هنالك اختلاف في الصفات المدروسة ويمكن ارجاع أسبابها الى العديد من العوامل المتداخلة، ومنها عوامل الخلط الوراثي وهذه الحقيقة أشـــار لها Ruttner(1988) في طوائف النحل اليمني اذ ذكر ان الاختلاف الموجودة بين الطوائف المدروسة سببه الى عدم وجود تماثل جيني وهو من تأثير الاختلافات الوراثية للأمهات او تأثير البيئة او اختلافات خطوط الطول والعرض او الارتفاع عن سطح البحر، كما أوضحه Usman(2016) في دراسة للصفات المظهرية لنحل العسل النيجيري لتسع مناطق في نيجيريا من وجود اختلاف في الصفات المظهرية لنحل العسل *A.mellifera* في تلك المناطق وان حجم الجسم من اهم الاختلافات بين المواقع مع وجود مجموعة نقية شكليا في جنوب الصحراء الكبرى .

4-1-1-9: مقارنة قياس الصفات المظهرية بالطرق التقليدية لنويعات نحل العسل العراقي *A.mellifera* مع نويعات الدول المجاورة

أوضحت نتائج التحليل العنقودي Cluster analysis بطريقة التجميع الهرمي وشجرة التقارب الوراثية للصفات المظهرية المدروسة لنحل العسل *A.mellifera* و النويعات الرئيسية المتواطنة في دول الجوار (شكل 10)، ان نويعات النحل العراقي قد انعزلت في عنقودين رئيسيين، شمل العنقود الأول فرعين الفرع الأول شـــمل عينات نحل التنومة الذي كان الأقرب وراثياً الى النويع النحل الإيراني *A.m.meda* (الخط التطوري O) ونحل حمدان والذي كان الأقرب الى النويع النحل الســوري *A.m. syraica* (الخط التطوري O)، وعينة نحل الجنينة الذي كان الأقرب الى النويع الســوري ولكن بمســافة وراثية ابعد.اما الفرع الثاني فقد انعزلت عينات كل من نحل بابل وواسط والبراضعية ويوسفان والخربطلية وكانت الأقرب وراثياً الى النويع الاناضـــولي *A.m. anatolica* (الخط التطوري O) في حين كانت عينات نحل القرنة والهارثة والتي

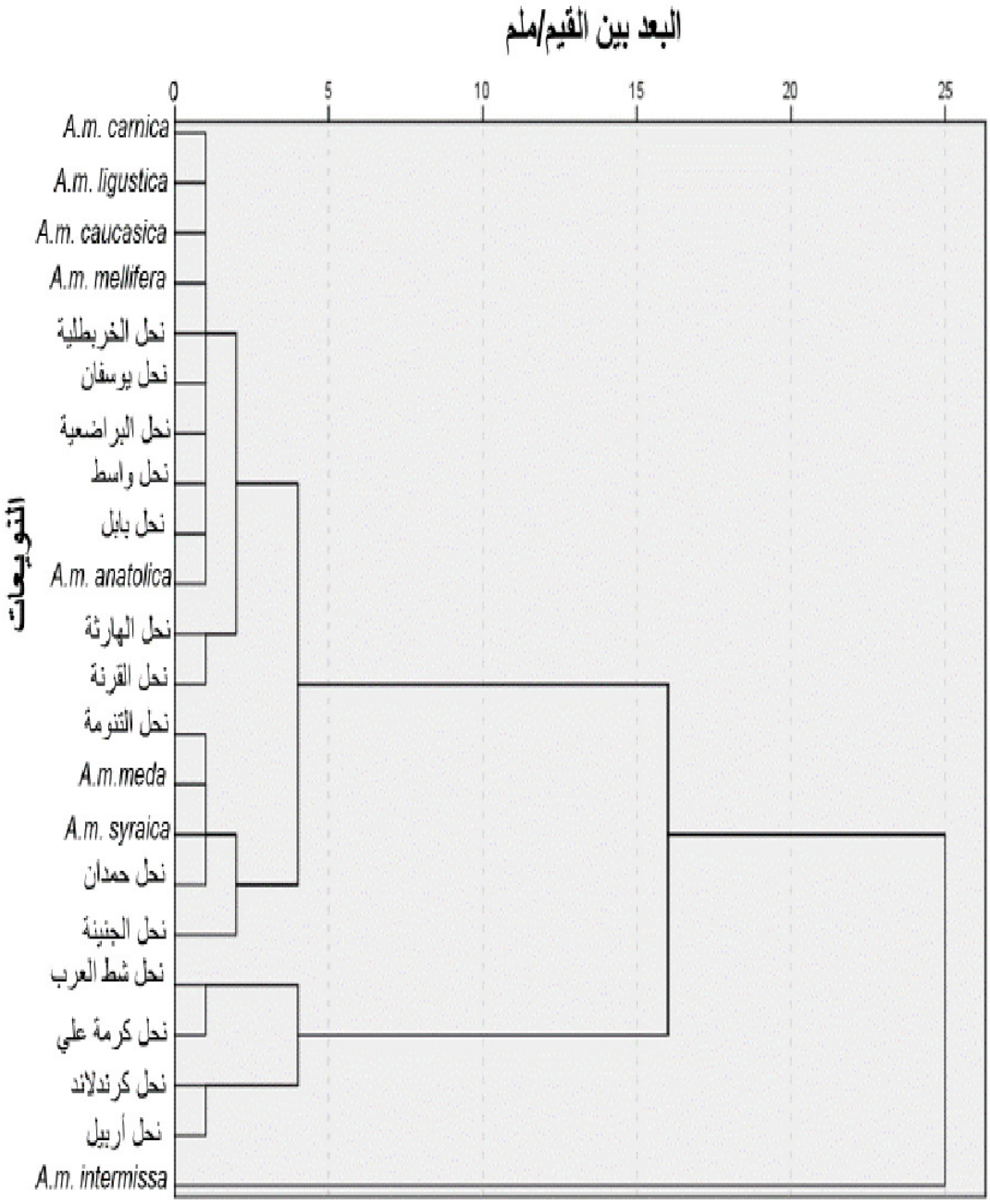
اصـــطفت مع المجموعة الأولى للنحل الاناضـــولي ولكن بمســـافة وراثية ابعد، ونويعات كل من النحل الكرنيولي *A.m. carnica* و النحل الايطالي *A.m. ligustica* (الخط التطوري C)، والنحل القوقازي و *A.m. caucasica* (الخط التطوري O) والنحل الألماني و *A.m.mellifera* (الخط التطوري M) اصـطفت مع بعضها ضمن الفرع الثاني وبمسافة وراثية متقاربة وهذا يدل على نقاء هذه النويعات.

اما العنقود الثاني فقد شـــمل عينات نحل شـــط العرب وكرمة علي والتي كانت متقاربة فيما بينها، واصـطفت عينات نحل كرندلاند واربيل مع بعضـها ولكن بمسـافة وراثية ابعد عن المجموعة الأولى ولم تكن متقاربة مع أي من النويعات المدروســـة، مما قد يوحي ذلك الى ان تكون هذه النويعات خارج مجموعة النويعات المقارنة مع دول الجوار، او قد تكون نويع جغرافي او بيئي جديد. اما النويع المسـتخدم في المقارنة نحل شمال افريقي *A.m. intermissa* (الخط التطوري M) فقد انعزل لوحده في عنقود خارجي ابتعد عن جميع العينات المدروسة والمقارنة، وهذا يدل على عدم التشابه الوراثي بينه وبين الأنواع الأخرى.

نسـتنتج من ذلك ان عينات نحل العسـل في المناطق المختلفة كانت غير متماثلة في المواقع الجغرافية المدروسـة تباينت فيما بينها، اذ اختلطت مجاميع سـكانية من مناطق شـمال البصـرة مع مجاميع سـكانية مع جنوب البصـرة، ولم تشـكل مجموعة سـكانية متجانسـة في الصـفات المظهرية لموقع جغرافي معين، مما قد يعكس حالة التهجين الكبير في المجاميع السكانية المدروسة والتي من أحد أسبابها ادخال ملكات ذات صفات قياسية لغرض التربية والتحسين سنويا، فضلاً عن نقل طوائف النحل بين المواقع الجغرافية في كل موسم من مواسـم فيض العسـل من السـنة. مما قد يؤكد هذا الاعتقاد من التهجين هو عدم اصـطفاف بعض المجاميع النحلية لمنطقة كرمة على وشـــط العرب وكرندلاند واربيل مع النويعات المســـتخدمة للمقارنة مع دول الجوار (إيران وسوريا وتركيا).

أوضــح Omer (2007) في دراســة تصــنيفية لنحل العســل في الســودان من تكون ثلاثة تجمعات متجانســة، المجموعة الأولى كانت ذات قياســات صــغيرة في بعض الصــفات المميزة وتمثلت هذه المجموعة نحل مناطق الغابات، والمجموعة الثانية ذات القياسات المتوسطة في بعض الصفات المميزة وقد نشأت هذه المجموعة في منطقة شبه صحراوية، والمجموعة الثالثة ذات القياسات الكبيرة في بعض الصفات المميزة وهذه نشــأت في منطقة الســفانا، واســتنتج من ذلك ان يكون النحل الصــغير في القياســات ربما يكون *A. m. sudanesis* بدل عن *A. m. yementica* وان النحل المتوسـط القياسـات ربما يكون *A. m. yementica* بدل عن *A. m. sudanesis* بينما يحتفظ النحل السوداني الكبير باسم *A. m. bandasii* .

في حين اشــار Abou-Shaara وAhmed (2015) في دراســة لهما لوصــف وتتبع التغيرات في الصفات المظهرية لنحل العسل *A. mellifera* في شمال غرب مصر محافظة البحيرة من عام 2007 لغاية 2014 بان نحل البحيرة في عام 2014 كان أكبر قليلاً منه في عام 2007، مما يؤكد ان العوامل البيئية تســـببت ببعض الضـــغط على الطوائف النحل. كما بين Ilyasov واخرون (2020) في أحدث دراســـة للتصـــنيف الحديث لنويعات نحل العســـل *A. mellifera* من ان هنالك مناطق جغرافية انتقالية أدت الى تغيرات تدريجية في الخصــائص المظهرية بين النويعات المجاورة بســبب عدم وجود اليات عزل طبيعية، وان هنالك تدفق جيني ثابت في معظم النويعات ، فقد ســجل 33 نويع لنحل العســل بينما كان في الســابق 26 نويع وقد توزعت في جميع انحاء افريقيا (11نويع)، وغرب اســيا والشــرق الأوســط (9 نويع)، واوربا (13 نويع)، وقد اصــبحت هذه النويعات تعود الى 5 انســاب تطورية بدل من 4 انســاب وهي الخط التطوري A (10 نويع) وســـلالته الفرعية Z(3 نويعات)، والخط التطوري M (3 نويعات)، والخط التطوري C (10 نويعات)، والخط التطوري O (3 نويعات)، والخط التطوري Y(نويع واحد).



شكل (10) مقارنة نويعات نحل العسل العراقي مع نويعات دول الجوار باستخدام التحليل العنقودي

4-1-1-10: مقارنة صفات الجناح الهندسية لنويعات نحل العسل العراقي *A.mellifera* مع النويعات العالمية باستخدام البرنامج الحاسوبي Identifly

أوضحت نتائج التشخيص المظهري الهندسي Geometric morphometric لبصمة الجناح الامامي لنويعات نحل العسل العراقي *A.mellifera* في المناطق المدروسة باستخدام البرنامج الحاسوبي Identifly والذي استخدم فيه 19 معلم هندسي من معالم الجناح الامامي ومقارنتها بالصفات الهندسية المعيارية للجناح الامامي لعينات مرجعية لـــــ 19 ســـلالة عالمية وهي كل من *A.m. carnica* و*A.m. cecropia* و *A.m.ligustica* (النســـب التطوري C) و*A.m. intermissa* و*A.m. mellifera* و*A.m. ruttneri* (النسب التطوري M) و*A.m. adam* و*A.m. anatoliaca* و*A.m. caucasica* و*A.m. meda* و*A.m. armeniac* و*A.m. syriaca* (النســب التطوري O) و *A.m .adansonii* و *A.m. lamarckii* و *A.m. jemenitica* و*A.m .scutellata* و *A.m. uncolor* و*A.m .onticola* و *A.m litora*.(النَســب التطوري A) (Annaواخرون,2018)، من ان النويعات المدروســة تنتمي الى نســبين تطوريين هما كل من الخط التطوري C الخاص بشـمال البحر الأبيض المتوسـط وجنوب شـرق اوربا والخط التطوري M الخاص بغرب البحر الأبيض المتوســط وشـــمال غرب اوربا، في حين تم تعريف النويعات للمناطق المدروسة على انها النويع *A.m .intermissa* والتي تضمنتها المجموعة السكانية لمنطقة كرندلاند و البراضــعية والهارثة وحمدان ويوســفان (جدول 12) . بينما تم تحديد كل من المجموعة الســكانية لمنطقة الجنينة وشـــط العرب وكرمة علي والقرنة على انها النويع *A.m. mellifera* (جدول 13)، في حين تم تحديد المجموعة السكانية لمنطقة الخربطلية والتنومة ومحافظة بابل ومحافظة واسط على انها النويع *A.m. carnica* (جدول 14).

جدول (12): المجموعة السكانية والنَسب التطوري لنويع *A. m. intermissa* بأستخدام بصمة الجناح الامامي في برنامج Identifly

المجموعة السكانية للمناطق	التعريف حسب برنامج Identifly	الاحتمالية probability	الخط التطوري lineages	الاحتمالية probability
كرندلاند	*A. m. intermissa*	6.88553e-09	C	0.000245554
البراضعية	*A. m. intermissa*	4.90359e-05	M	0.000531144
الهارثة	*A. m. intermissa*	5.89726e-05	C	7.85724e-08
حمدان	*A. m. intermissa*	3.4064e-06	M	1.57481e-05
يوسفان	*A. m. intermissa*	7.1143e-08	M	0.00120157

جدول (13): المجموعة السكانية والنسب التطوري لنويع *A. m. mellifera* باستخدام بصمة الجناح الامامي في برنامج Identifly.

المجموعة السكانية للمناطق	التعريف حسب برنامج Identifly	الاحتمالية probability	الخط التطوري lineages	الاحتمالية probability
الجنينة	*A. m. mellifera*	0.0224152	C	1.30445e-06
شط العرب	*A. m. mellifera*	3.95266e-07	M	7.77848e-05
كرمة علي	*A. m. mellifera*	0.0118798	M	0.0433675
القرنة	*A. m. mellifera*	1.86125e-09	M	8.43378e-10

جدول (14): المجموعة السكانية والنَسب التطوري لنويع *A. m. carnica* باستخدام بصمة الجناح الامامي في برنامج Identifly.

المجموعة السكانية للمناطق	التعريف حسب برنامج Identifly	الاحتمالية probability	الخط التطوري lineages	الاحتمالية probability
الخربطلية	*A. m. carnica*	1.85477e-07	C	0.000144007
التنومة	*A. m. carnica*	1.52135e-07	C	1.26247e-05
بابل	*A. m.carnica*	2.27365e-13	C	1.61004e-17
واسط	*A. m.carnica*	1.45931e-07	C	1.88832e-09

تبين النتائج أعلاه لدراسة الانساب التطورية والانماط الفرعية (النويعات) للمجتمعات السكانية المدروسة من تماثل النسب التطوريC مع النويع الموصوف *A. m. carnica* في كل من منطقة الخربطلية والتنومة وبابل وواســـط، قد يوحي ذلك على ان هذه النويع تحتفظ بنقاوتها في تلك المناطق في حين نلاحظ عدم التماثل في النســب التطوري M مع النويع الموصـــوفة *A. m. intermissa* في منطقة كرندلاند والهارثة، كذلك الحال مع النويع *A. m. mellifera* في منطقة الجنينة التي تتبع للخط التطوري C والتي تعكس حالة التهجين الحاصــل بين المجتمعات الســكانية والتي من بين أســبابها تجارة ملكات نحل العســل وتربية النحل المهاجر بين المناطق ؛ فقد أوضــح Tofilski (2008) ان دراســته اســفرت عن التمييز بين ثلاث نويعات وهي *A. m. mellifera* و*A. m. carnica* و *A. m. caucasic* ، باســتخدام الصــفات الهندســية للجناح الامامي بكل سهولة واختصار للوقت ؛ وفي السياق ذاته اشاره Francoy واخرون (2008) من التمييز بين

نويعات نحل العسل الأوربي *A. m. ligustica* و *A. m. mellifera* و *A. m. carnica* ونويعات نحل العسل الافريقي *A. m. scutellata* باستخدام طريقة الشكل الهندسي للجناح والتي كانت اسرع واسهل من استخدام الصفات المظهرية للجسم ؛ كما بين Koca و Kandemir (2013) في دراستهما للتمييز بين نويعات نحل العسل الموزعة في كل انحاء تركيا *A. m. carnica* و *A. m. syriaca* و *A. m. caucasica* و *A. m. meda* و *A. m. anatoliaca* ، باستخدام طريقتين للتمييز هي قياس الصفات المظهرية التقليديةوقياس الصفات الشكلية الهندسية للجناح الامامي والتي أظهرت أي الصفات الشكلية للجناح نجاحا كبيرا بنسبة 81.5% والتي كانت ابسط واسهل بكثير مقارنة بالطريقة التقليديةالتي كانت نسبتها 70.4% ؛ وفي السياق ذاته ما اوضحه Gomeh واخرون(2016) في دراسة تمييز مجتمعات النحل الإيراني *A. m. meda*، واستنتج بان استخدام الطريقة الهندسية للجناح أظهرت تميز واضح للمجموعات السكانية بلغت 77.5% مقارنة بالطرق التقليديةوالتي بلغت نسبتها 70.7% فضلاً عن انها طريقة اكثر دقة وسهولة لأنه استخدم فقط الجناح الامامي للتمييز بين المجموعات السكانية .

ان استخدام قياس الصفات المظهرية كالحجم واللون تكون مرتبطة بشكل كبير مع المحددات الجغرافية للنويع في حين نلاحظ ان زوايا الجناح عكس ذلك تكون مرتبطة مع خطوط النسب التطوري (Diniz-Filho واخرون، 1999) ؛ وقد أوضح Ruttner و Kauhausen (1985) من ان نحل العسل في افريقيا الاستوائية حدث به تبايناً كبيراً في الصفات المظهرية (منها معالم الجناح) على الرغم من عدم وجود حواجز طبيعية او مناطق عزل صناعية التي تجعل من هجرة النحل امر وارد قد يتسبب في تهجين النحل؛ كما وان تعدد نويعات نحل العسل هو نتيجة للاستجابة للتكيف للظروف البيئية المختلفة للمناخ ووفرة الموارد الغذائية وضغط الافتراس (Ruttner ، 1988)؛ وفي دراسة قام بها Marina واخرون(2007) للنويع النحل *A.m.*

mellifera في اوربا الشرقية (بولندا وبيلاروسيا وأوكرانيا) من ان معظم عينات الجزء الشمالي تم تصنيفها على انها *A. m. mellifera* الا ان نسبة التهجين ازدادت باتجاه الجنوب اذ تم تصنيفها على انها هجينة بين *A. m. mellifera* وانماط جغرافية من النويعات النسب التطوري C و O ؛ وفي دراسة مماثلة للباحث Barour واخرون(2011) لنويع نحل العسل *A. m. intermissa* في مناطق شمال الجزائر باستخدام معالم الصفات الهندسية للجناح الامامي أوضح بان حجم الجناح اختلف بشكل كبير اذ كان اكبرها في الشمال الغربي ومتوسطة الحجم في الشمال المركز واصغرها في الشمال الشرقي، وهذا يدل على وجود أنماط اكثر تعقيدا داخل كل منطقة ومنحل؛ في حين اوضح Paweł واخرون (2019) في دراسة تهجين ثلاث نويعات من *A. mellifera* هي *A.m . mellifera* و*A.m .carnica* و*A.m. caucasica* باستخدام التلقيح الاصطناعي وكان معيار تأثير التهجين على المظهر الخارجي هو الشكل الهندسي للجناح الامامي وخلصت الدراسة من ان تعرق الجناح في الجيل الأول كان مشابها الى مستعمرات الام الا انه اختلف في التهجين الرجعي عن صفات الام كثيرا.

كل هذه التغيرات التدريجية التي تحصل في الخصائص المظهرية بين النويعات في المناطق المتجاورة تجعل من تركيبة المجتمعات السكانية لنحل العسل الغربي امر يصعب تمييزها بسهولة لذا استدعت الحاجة مراجعة مستمرة تقع على عاتق التصنيف الحديث في دراسة تلك الأنماط، فكان من بين تلك الدراسات الحديثة التي قام بها Ilyasov واخرون (2020) في مراجعة التركيب التصنيفي للأنواع الفرعية لنحل العسل *A. mellifera* وكانت نتائج هذه الدراسة تمييز 33 نويع والتي كانت في السابق 26 نويع موزعة على الشكل الاتي: 11 نويع في جميع انحاء افريقيا والتي منها النويع *A.m. intermissa* التي تتبع للنسب التطوري A، و9 نويعات في الشرق الأوسط وغرب اسيا والتي منها النويع *A.m. mellifera* التي تتبع

للخط التطوري M، و13 نويع في اوربا التي منها النويع *carnica A.m.* التي تتبع للنســب التطوري C ، وتم تقسيم هذه النويعات الى 5 انساب تطورية بدل من 4 انساب هي النسب التطوري A وينظم اليه تحت النسب Z والنسب التطوري M والنسب C والنسب O والنسب Y الذي يضم نويع واحدة ؛ هذا يقودنا الى القول من ان نحل العسل*A.mellifera* في المناطق المدروسة من العراق قد تم تهجينه بشكل كبير ولا توجد سلالة نقية 100% في المناطق المدروسة.

كما ان هذه النتائج التي تم الحصــول عليها غير متوافقة مع ما ذكره عبد اللطيف وأبو النجا (1977) مع الاخذ بنظر الاعتبار البعد الزمني بين الدراســـتين وهي بان نويع النحل العراقي تماثل الى حد كبير مثيلاتها في النويع الســوري مســتندا في ذلك على تقرير العالم Brother Adam الذي اعتبر النويع العراقي هي Subvariety للنويع السورية اذ لم يكن من بين المجموعات السكانية المدروسة منها ما يعود الى الخط التطوري O الخاص بالشـــرق الأوســـط والذي يضـــم النويع الســـورية والاناضـــولي والقوقازي ونحل الميدا*A.m.meda*.

هذا من جانب ومن جانب اخر ادخل للعراق العديد من النويعات منها النويع المصـري المهجن بالنويع الكرنيولي (فليح،1977) والتي تعتبر اول محاولة لتهجين نويع النحل العراقي ، واستنتاجات الناجي (1980) الذي صــنف فيها النحل العراقي ضــمن مجموعة النحل الأصــفر التي تضــم النحل الإيطالي والاناضــولي والســوري، أدى هذا الى انتشــار النحل الهجين في وســط وجنوب العراق الا ان الظروف التي مر بها العراق من حروب أدى الى تدهور تربية النحل بشــكل ملحوظ، وبعد الغزو الأمريكي للعراق في عام 2003 وانفتاح الحدود وانحسار دور الحجر الزراعي في الحدود والمطارات العراقية أصبحت تجارة الملكات نحل العسل تجارة رائدة اذ ادخلت ملكات النحل من نويعات قياســية من مصـــر وايران وســـوريا و إدخال النويع الإيطالي الى

مناطق الجنوب من قبل العطبي (2013) وإدخال بعض النويعات الافريقية الى محافظة بابل والنويع الكرنيولي الى واســـط واربيل من قبل بعض النحالين الهواة الامر الذي أدى الى فقدان هوية النويع العراقي الهجين و المحلي.

تعتمد كفاءة تمييز الانســـاب التطوري والنويعات في هذا البرنامج Identifly على درجة نقاوة النويع فقد تصل الى 100% في النويعات النقية وقد تكون متباينة في حال وجود نويعات هجينة تنتمي الى نويعات مختلفة ناتجة عن التزاوج التي تعطي درجة احتمال منخفضـــة وقد تعتبر أنماط هجينة جديدة إذا لم يغطيها البرنامج التعريفي (Annaواخرون،2018).

4-1-2: الدراسة المظهرية لنحل العسل الصغير *A. florea*

4-1-2-1: الصفات العامة لأفراد نحل العسل الصغير

تضــم طائفة نحل العســل الصــغير ملكة واحدة وعدة الاف من الشــغالات ومئات من الذكور وتبني مستعمراتها في العراء وتمتاز صفات افرادها كالاتي (شكل 11):

1- العاملة:

أصــغر افراد الطائفة حجما يبلغ متوســط طول الشــغالة 8.282 ملم (جدول15)، وتتميز بان البطن حمراء اللون، ومتوسط وزن عشر شغالات 30.33غم (شكل 11، أ).

الراس: مثلث الشكل من الناحية الامامية اسود اللون، الهامة مستقيمة تحتوي على شعر متطاول، العيون المركبة هلالية الشكل بنية اللون مغطاة بشــعر خفيف، والمســافة بين العيون المركبة في قمة الراس

أكبر من المسـافة بين الملكة، العيون البسـيطة متسـاوية في الحجم ذات لون بني فاتح تشـكل مثلثاً يقع في منتصف الراس، قرن الاستشعار مرفقي يتكون من 10 قطع، تحتوي منطقة درز قرن الاستشعار على خصلة من الشعر الطويل، الدرقة مستطيلة، والخرطوم طويل.

الصـدر: مسـتدير الشـكل اسـود اللون، الدرع خفيف الشـعر والدريع يحتوي على شـعر طويل، الاجنحة طويلة تغطي كل البطن تحتوي على اشواك صغيرة، الارجل سوداء اللون، تحتوي على شعر خفيف، اما رسغ الرجل الخلفية يحتوي سـلة حبوب اللقاح والتي تتكون من ثمان صـفوف من الشـعر القوي، والمخالب ذو شـق تحتوي على وسادة لحمية.

البطن: اسـطوانية الشـكل صـغيرة الحجم، تتكون من سـت قطع، القطعة الأولى والثانية ذات لون احمر ومنها جاءت التسـمية بالنحل الصـغير الأحمر، اما باقي القطع تكون سـوداء اللون ذات شـريط ابيض، الة اللسع واضحة والتسنن فيها خفيف، وتحدث الم بسيط عند اللسع الانسان

2- الملكة:

بينت نتائج الدراسة لصفات الجسم العامة (جدول 15)، بان الملكة متوسطة الحجم يبلغ متوسط طولها 13.148 ملم وتتميز عن بقية افراد الطائفة بانها أكبر افراد الطائفة حجمها وذات بطن طويلة وذات لون اسود مع اشرطة محمرة (شكل 11، ب).

الرأس: مثلث الشكل من الناحية الامامية ذات لون اسود، الهامة مستقيمة تقريبا، العيون المركبة كلوية الشـكل بنية اللون مغطاة بشـعر خفيف والمسـافة بينها في قمة الراس أكبر من المسـافة بين الشـغالة والذكر بسبب صغر العيون المركبة (عدد الوحدات البصرية قليل) العيون البسيطة متساوية في الحجم ذات لون بني

فاتح تشكل مثلث يقع في منتصف الراس، قرن الاستشعار مرفقي يتكون من 10 قطع، الدرقة على شكل حرف U بالمقلوب، أجزاء الفم قارضة لاعقه والخرطوم قصير.

الصدر: مثلث الشكل اسود اللون، لا يحتوي على شعر، يتكون من ثلاث قطع حقيقية القطعة الرابعة هي القطعة البطنية الأولى، الاجنحة قصير لا تغطي كل البطن تحتوي على اشواك صغيرة، فخذ وساق الارجل الامامية والوسطى اسود الون والرسغ بني اللون والارجل الخلفية بني فاتح وجميع الارجل تحتوي على شعر خفيف، والمخالب ذو شق تحتوي على وسادة لحمية.

البطن: اسطوانية الشكل مدبب من النهاية، تتكون من ست قطع، الصفيحة الظهرية الأولى ذات لون اصفر محمر، القطعة الثانية وهي أكبر القطع ويحتل فيها التبقع اللوني الاسود نصف القطعة والنصف الاخر ذات لون احمر، اما باقي القطع البطنية يكون فيها البقع اللونية مساحة الضعف من كل قطعة.

3- الذكر:

يمتاز ذكر نحل العسل الصغير بضخامة حجمه فهو أكبر من الشغالة وأصغر من الملكة ومتوسط طوله 11.742 (جدول 15)، واللون العام اسود (شكل 11، ت).

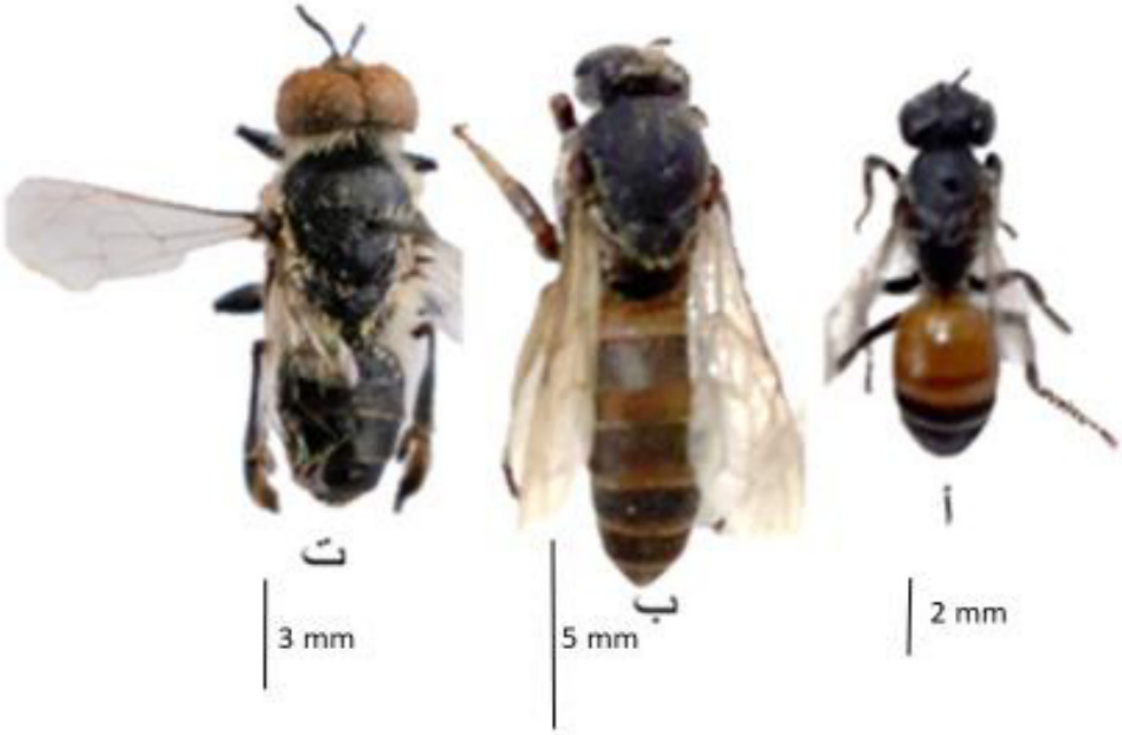
الرأس: دائري الشكل من الناحية الامامية، العيون المركبة كبيرة الحجم تلتقي مع بعضها في قمة الراس، قهوائية اللون مغطاة بشعر خفيف تأخذ ثلاثة ارباع حجم الراس، العيون البسيطة متساوية في الحجم ذات لون بني فاتح تشكل مثلثاً يقع في جبهة الراس، قرن الاستشعار مرفقي يتكون من 11 قطعه، تحتوي منطقة درز قرن الاستشعار والدرقة على شعر طويل وكثيف ابيض اللون، الخرطوم صغير جدا.

الصـدر: بيضـوي الشـكل اسـود اللون، مكسـو بشـعر خفيف، الاجنحة طويلة وقوية تغطي كل البطن، الارجل سـوداء اللون، عليها شـعر خفيف، اما القطعة القاعدية للرسـغ الخلفي (شـكل 12) فأنها تحتوي على تركيب يسمى عضـو التشابك Clasper organ الذي يشبه الابهام Mitten-like organ يسمى Thumb والذي يحتوي على شـعر قوي من الداخل Stiff bristles تسـتخدمه الذكور للمسـك بالرجل الخلفية للملكة اثناء التزاوج الذي يكون أكثر من ثلثي طول الساق في هذا النوع (Wongsiri واخرون،1997).

البطن: اسـطوانية الشـكل كبيرة الحجم، ذات لون اسـود، تتكون من ثمان قطع، القطعة الأخيرة تحتوي في نهايتها على خصـلة من الشـعر الأبيض، ومن خلال التشـريح الداخلي للسـوءة الذكرية (شـكل 13) لوحظ انها تتكون من زوج واحد من القرون Bursal cornu وخصـلة من الشـعر Bursal hair plaque والقناة القاذفة Ejaculatory duct والفص المشـرشـب Fimbriate lobe الذي يتكون من ثلاثة نتوءات بارزة Protrusionsوفتحة القناة Orifice of duct.

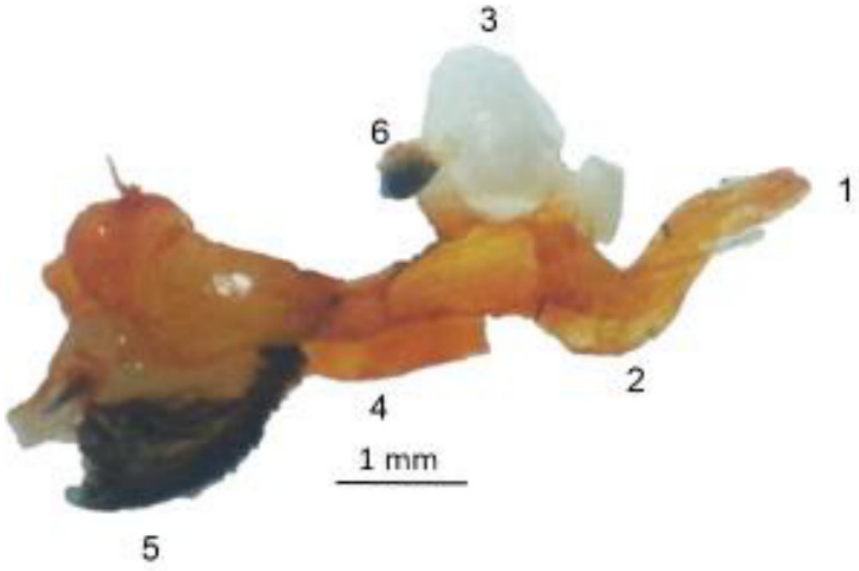
جدول (15) متوسط صفات الجسم لأفراد طائفة نحل العسل *A.florea* في مناطق محافظة البصرة

الصفة	المتوسط (ملم) وحدود الثقة	
	المتوسط	حدود الثقة
طول الملكة	13.148	(12.952- 13.355)
طول الشغالة	8.282	(8.129 - 8.662)
طول الذكر	11.742	(10.714 - 12.420)
وزن 10 شغالات (غم)	30.33	(29.15- 30.45)



شكل (11) افراد مستعمرة نحل العسل*A.florea* : أ الشغالة ، ب الملكة ، ت الذكر

شكل (12): الرجل الخلفية للذكر: 1- الساق ،2- العقلة القاعدية للرسغ ،3- عضو التشابك.



شكل (13): السوءة الذكرية لنحل العسل القزم *A. florea* :1 – فتحة القناة القاذفة؛ 2– القناة القاذفة ؛3– الخصيتين ،4– الفص المشرشب ؛5– القرن التناسلي؛ 6– خصلة الشعر للغرفة التناسلية.

تبين نتائج قياس الصـــفات العامة لأفراد المســـتعمرة بانها كانت اقل من القياســـات التي توصـــل لها Noah و Norman (2014)، اذ اوضـــح من ان طول الملكة يتراوح من 17–18 ملم وان طول الشـــغالة يتراوح من 14.5 –15.5 ملم وطول الذكر من 8–12 ملم في حين جاءت النتائج متقاربة لنتائج الباحث Nidup و Dorji (2016) في قياس طول الشـــغالة التي تراوحت من 7.71 – 8.23 و أوضـــح Ruttner (1988) من ان الصـــفات المظهرية لنحل *A.florea* تختلف من موقع الى اخر فنحل الشـــمال يختلف عن نحل الجنوب وهذا مرتبط بالخصائص الجغرافية والبيئية لتلك المناطق والحدود الجغرافية.

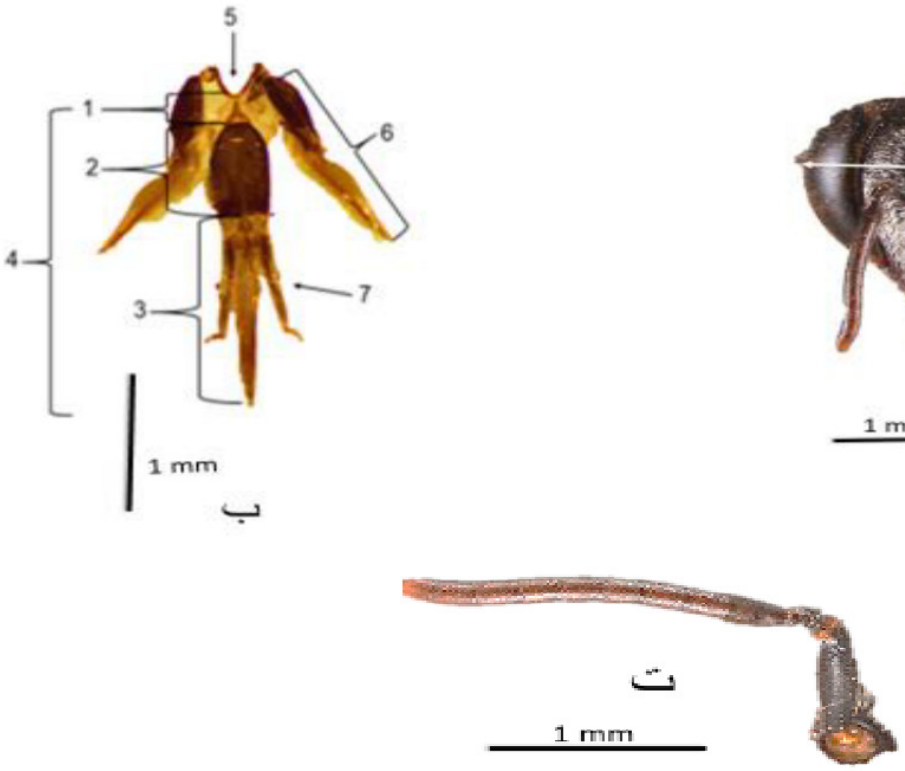
4-1-2-2: مقارنة بين الصفات المظهرية لأجزاء جسم عاملات حشرة نحل العسل القزم.

أظهرت نتائج التحليل الاحصائي للمتوسطات لـــ 15 صفة مظهرية لهذا النوع الذي جمع من اربع مناطق في محافظة البصرة (جدول 16) تفوق صفة طول الراس (شكل 14 أ 1) في منطقة السيبة وأبو الخصيب وشط العرب على منطقة البصرة اذ بلغت 3.773 ملم و3.722 ملم و3.616 ملم و 3.180 ملم على التوالي؛ اما صفة عرض الراس (شكل 14 أ 2) فكانت اعلاها في كل من شط العرب و السيبة وابي الخصيب على البصرة اذ بلغت 3.6423 ملم و 3.6190 ملم و 3.5827 ملم و3.1330 ملم على التوالي؛ اما صفة طول الخرطوم (شكل 14 ب 3و4) فكانت متقاربة في القيم للمناطق المدروسة اذ بلغت 2.483 ملم و 2.457 ملم و 2.423 ملم و2.420 ملم في كل من أبو الخصيب والبصرة و شط العرب و السيبة على التوالي، اما طول قرن الاستشعار (شكل 14 ت) كان اقصرها في منطقة أبو الخصيب مقارنة بمناطق السيبة والبصرة وشط العرب اذ بلغ 2.397 ملم و2.616 ملم و2.557 ملم و2.554 ملم على التوالي، ولا توجد فروق معنوية بينها، ايضاً كانت صفة طول الفخذ للرجل الخلفية (شكل 15 أ) اعلى قيمة في منطقة السيبة تلتها شط العرب وأبو الخصيب في حين كانت اقلها في منطقة البصرة اذ بلغت 1.666 ملم و 1.580ملم و1.477ملم و 1.385ملم على التوالي، وكانت صفة طول الساق للرجل الخلفية (شكل 15 ب) اعلى قيمة في منطقة البصرة اذ بلغت 2.035 ملم واقلها في منطقة السيبة بلغت 1.851ملم ، في حين لم تختلف المنطقتين أبو الخصيب وشط العرب عن بعضهما اذ بلغتا 1.919 ملم و1.919ملم على التوالي، اما صفة النسبة بين طول وعرض القطعة القاعدية للرسغ الرجل الخلفية (شكل 15ت،ث) فكانت اعلاها في منطقة البصرة و اقلها في منطقة ابي الخصيب ولم يكن بينهم فرق معنوي اذ بلغت 2.888 ملم و2.447 ملم و2.275 ملم

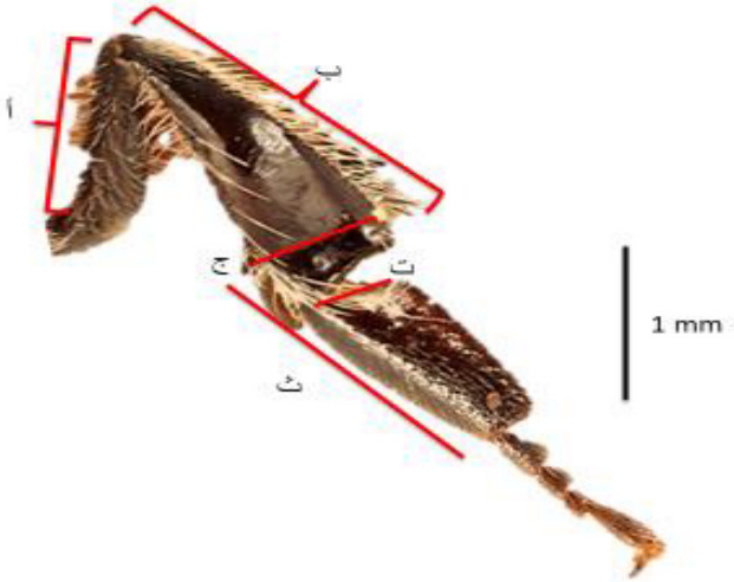
جدول (16) المتوسط والانحراف القياسي لصفات الجسم لشغالات نحل العسل القزم *A. florea* التي جمعت من أربع مناطق جغرافية في محافظة البصرة

الصفات	المتوسط +الانحراف المعياري (ملم)				
	السيبة	ابي الخصيب	شط العرب	البصرة	LSD
طول الراس	0.175 ±3.773	0.267 ±3.723	0.211 ±3.616	0.164 ±3.181	0.251
عرض الراس	0.119 ±3.619	0.140 ±3.583	0.071 ±3.642	0.143 ±3.133	0.146
طول الخرطوم	0.168 ±2.420	0.120 ±2.484	0.353 ±2.424	0.234 ±2.458	0.284
طول قرن الاستشعار	0.124 ±2.617	0.061 ±2.398	0.107 ±2.554	0.108 ±2.557	0.124
طول الفخذ	0.201 ±1.666	0.185 ±1.477	0.123 ±1.580	0.049 ±1.386	0.183
طول الساق	0.094 ±1.852	0.122 ±1.919	0.065 ±1.919	0.066 ±2.036	0.108
النسبة بين طول وعرض القطعة القاعدية للرسغ	0.098 ±2.276	0.232 ±2.178	0.104 ±2.448	0.144 ±2.889	0.185
عرض نهاية الساق	0.067 ±0.672	0.095 ±0.726	0.091 ±0.626	0.060 ±0.580	0.096
طول الصفيحة الظهرية الثالثة	0.196 ±5.385	0.245 ±5.463	0.220 ±5.467	0.157 ±5.692	0.250
طول الصفيحة القصية الثالثة	0.149 ±1.367	0.447 ±2.670	0.295 ±2.814	0.083 ±2.904	0.338
طول الصفيحة الظهرية الرابعة	0.401 ±4.411	0.747 ±5.041	0.494 ±4.915	0.368 ±4.756	0.631
طول الصفيحة القصية الرابعة	0.136 ±2.630	0.120 ±2.720	0.110 ±2.710	0.170 ±2.774	0.164
طول مرآة الشمع الأولى	0.042 ±1.268	0.103 ±1.133	0.059 ±1.205	0.053 ±1.190	0.082
عرض مرآة الشمع الأولى	0.029 ±0.638	0.151 ±0.707	0.020 ±0.635	0.045 ±0.692	0.097
المسافة بين المرآتين	0.043 ±0.143	0.020 ±0.142	0.024 ±0.158	0.341 ±0.287	0.208

و 2.177 ملم على التوالي، في حين صـــفة عرض نهاية الســـاق (شـــكل 15 ج) اعلاها في منطقة ابي الخصـــــيب والتي لم تختلف معنويا عن باقي المناطق اذ بلغت 0.725 ملم في حين كانت اقلها في منطقة البصـــرة اذ بغلت 0.580 ملم، في حين لم تختلف الصـــفة في منطقتا الســـيبة و شـــط العرب عن بعظهما اذ بلغتا 0.672 ملم و 0.626 ملم على التوالي، اما صفة طول الصفيحة الظهرية الثالثة (شكل 16 أ) فكانت اعلاها في منطقة البصـــــرة و التي لا تختلف عنها معنويا اذ بلغت 5.692 ملم في حين كانت اقلها منطقة السيبة اذ بلغت 5.384 ملم، وتساوت الصفة في منطقتا شط العرب وابي الخصيب اذ بلغتا 5.467 ملم و 5.462 ملم، بينما كانت صفة طول الصفيحة القصية الثالثة (شكل 16 ب) اصغرها في منطقة السيبة والتي اختلفت معنويا اذ بلغت 1.3673ملم، في حين لا توجد فروقات معنوية بين المناطق الأخرى، وكانت صفة طول الصفيحة الظهرية الرابعة (شكل 16 ث) اعلى قيمة في منطقة أبو الخصيب بلغت 5.041ملم واقلها في منطقة السيبة بلغت 4.411 ملم، في حين تقاربت قيم صفة طول الصفيحة القصية الرابعة في جميع المناطق (شكل 16 ت) والتي لم تختلف معنويا مع بعضها، اما صفة طول مرأة الشمع الأولى (شكل 16 ج) فكانت اعلى قيمة لمنطقتي السيبة وشط العرب اذ بلغتا 1.268 ملم و1.205ملم على التوالي.

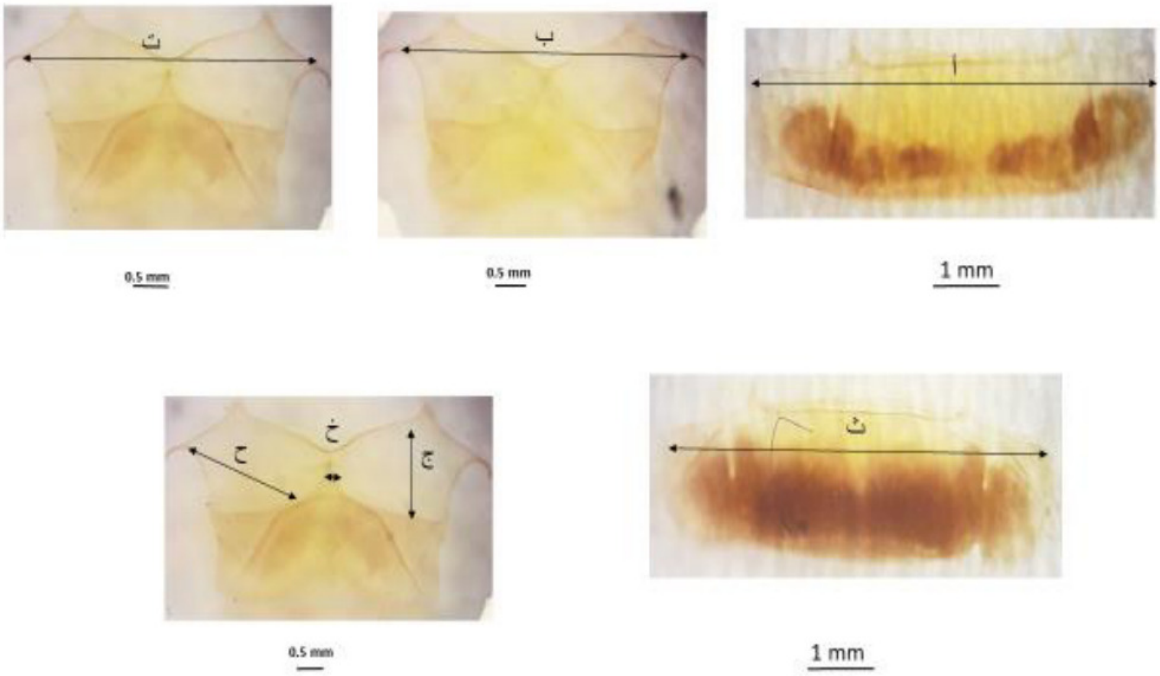


شـكل14 (أ، ب، ت) قياس صـفات منطقة الراس لعاملات نحل العسـل القزم *A. florea*: أ – 1 طول الراس ،2 عرض الراس ؛ ب– 1 مؤخر الذقن ،2 مقدم الذقن ، 3 اللسان الوسطي (اللسين وجار اللسين) ،4 الخرطوم ، 5 تحت الذقن ،6 الفك السفلي ،7 الشفة السفلى ؛ ت طول قرن الاستشعار .



شكل (15) قياس صفات الرجل الخلفية لعاملة نحل العسل القزم *A. florea*: أ– طول الفخذ ؛ب– طول الساق ؛ ت و ث– نسبة الطول الى العرض للعقلة القاعدية للرسغ ؛ ج– عرض قاعدة الساق.

واقلهما في منطقتي البصـــرة وأبو الخصـــيب والتي بلغتا 1.190ملم و1.133ملم على التوالي، اما صـــفة عرض مرأة الشـمع الاولى (شـكل 16 ح) فتقاربت في القيم كل من منطقة البصـرة وشـط العرب والسـيبة اذ بلغت 0.692 ملم و 0.635 ملم و0.638 ملم على التوالي، في حين تفوقت صـفة المسـافة بين المرأتين (شـكل 16 خ) في منطقة البصـرة على كل المناطق اذ بلغت اعلاها 0.287 ملم وكانت اقلها في منطقة ابي الخصيب اذ بلغت 0.142 ملم.



شكل (16) قياس الصفات المظهرية لبعض حلقات البطن لعاملات نحل العسل القزم *A. florea*: أ- طول الصفيحة الظهرية الثالثة ؛ب- طول الصفيحة القصية الثالثة ؛ ت-طول الصفيحة القصية الرابعة ؛ ث- طول الصفيحة الظهرية الرابعة ؛ ج- طول مرأة الشمع الأولى ؛ ح عرض مرأة الشمع الأولى ؛ خ المسافة بين المرآتين .

تبين النتائج ان نحل العسل الصغير في منطقة البصرة كان اصغر حجما من باقي المناطق الأخرى في صفات طول الراس وعرضة وطول الفخذ وعرض نهاية الساق وطول مرأة الشمع الأولى First wax mirror length ، تلتها منطقة السيبة في الصفات طول الساق وطول الصفيحة الظهرية الثالثة وطول الصفيحة القصية الثالثة، اذ أشار Ruttner واخرون (1995) في دراسة الصفات المظهرية لنحل العسل القزم *A. florea* في جنوب ايران وجود تباين في الصفات المظهرية للمناطق الساحلية عنها في المرتفعات، اذ كانت صفات الجسم كبيرة والارجل طويلة و الاجنحة الامامية قصيرة، وان هذه التباينات تكون ضمن الفرد داخل المجموعة (تباين فردي) ، وعزا هذا الاختلاف الى عدم وجود استقرار سكاني ربما بسبب الهجرة المستمرة ؛كما ذكر Shashidhar واخرون (2013) من ان النحل في المناطق ذات الاماكن المنخفض والحارة الرطبة تكون ذات حجم صغير مقارنة بالمناطق المرتفعة؛ وأوضح Thadsanee واخرون (2004) من وجود فروقات بين الصفات المدروسة في مناطق من تايلند، اذ كان متوسط طول الفخذ 1.721ملم وطول الساق 2.183 ملم وطول الصفيحة الظهرية الثالثة 1.365 ملم وطول الصفيحة القصية الثالثة 1.777 ملم وطول قرن الاستشعار 2.819 ملم، بينما اشار Haddad واخرون (2008) من ان نحل *A.florea* قد توزع بمجموعتين في الأردن باستخدام عشر صفات مظهرية وهي طول الفخذ والساق والرسغ الأقصى وعرض الرسغ الأقصى وطول الصفيحة الظهرية الثالثة والرابعة وطول وعرض الجناح الامامي ومسافة العرق الزندي Cubital a ومسافة العرق الزندي Cubital b ، فكانت المجموعة الأولى اكبر حجما بصفات طول الفخذ والساق والرسغ الأقصى وطول الصفيحة الظهرية الثالثة والرابعة وطول وعرض الجناح الامامي ، والمجموعة الثانية كانت في صفات مسافة العرق الزندي Cubital a و مسافة العرق الزندي Cubital b وعرض الرسغ الأقصى ؛ بينما ذكر Jacob و Ruttner (1988) عند مقارنة

نماذج من نحل *A.florea* لمنطقتين في السـودان تبين انها لم تختلف فيما بينها في صـفة طول الخرطوم وطول الارجل الخلفية والصـــفيحة الظهرية الثالثة والرابعة اذ بلغت 3.407 ملم و 5.239 ملم و 2.843 ملم على التوالي .

4-1-2-3: مقارنة بين صفات الجناح لعاملات نحل العسل القزم *A. florea*

اختيرت10 صــفات مظهرية للجناح الامامي والخلفي لدراســة التباين العينات في المناطق المدروســة باســتخدام تحليل المتوســطات لكل صــفة من صــفات الجناح (جدول 17) والذي اظهر تباين واضــح في الصفات المدروسة تمثلت بتفوق صفة طول الجناح الامامي في منطقتي شط العرب ومركز البصرة (شكل 17أ) على منطقتي السيبة وأبو الخصـيب والتي لم تختلف معها معنويا، اذ بلغت 6.122 ملم و 6.117 ملم و 5.794 ملم و 5.699 ملم على التوالي؛ في حين تفوقت صـفة عرض الجناح الامامي في منطقة شط العرب (شكل 17 ب) على كل من البصرة وأبو الخصيب والسيبة على الترتيب، اذ بلغت2.053 ملم و 1.860ملم و1.665 ملم و 1.629 ملم على التوالي؛ اما صـفة عرض الجناح الخلفي تفوق السيبة على كل المناطق اذ بلغت 1.593 ملم وتقاربت البصـرة مع أبو الخصـيب اذ بلغت 1.298ملم و1.297ملم في حين كانت شط العرب اقل تفوقاً اذ بلغت 1.171ملم.

تشـير شـكل (17 ت) الى ان صـفة عدد الخطاطيف في الجناح الخلفي من تفوق واضـح في عينات مركز البصـرة وابي الخصـيب على الترتيب بدون فرق معنوي بينهما على كل من شـط العرب والسـيبة على الترتيب اللذين لم يختلفا معنويا عن بعضـــهما اذ بلغا عدد 13.167و12.500و11.167و11.667 على التوالي؛ اما ما يخص الزوايا للجناح الامامي ومنها قياس الزاوية A4 (شكل 17 ،1) فكانت اعلاها في كل من مركز البصرة وشط العرب واقلها في منطقة السيبة التي اختلفت معها معنوياً اذ بلغتا

30.175 و30.003 ولم تفرق باقي المناطق معنويا عن بعضـــهما، في حين كانت زاوية B4 (شـــكل 17 ، 2) تفوقاً واضـــح في منطقة شـــط العرب معنويا على باقي المناطق التي لم تختلف معنويا فيما بينها بلغت 104.5545 ، بينما اختلفت جميع المناطق فيما بينها معنويا في الزاوية D7 (شـــكل 17 ، 3) وترتبت حسب التالي السيبة ثم أبو الخصيب ثم شط العرب ثم مركز البصرة اذ بلغت 93.943 و90.493 و86.016 و83.815 على التوالي، تفوق أبو الخصيب ومركز البصرة معنويا على باقي المناطق في زاوية G18 (شـــكل 17) وبدون فروق معنوية بينهما بلغتا 95.343 و95.088 على التوالي، كما تفوقت شـــط العرب معنوياً على الســـيبة التي كانت اقلهما معدلا بلغتا 94.227 و 92.580 على التوالي، بينما تفوق أبو الخصيب ومركز البصرة على باقي المناطق معنوياً وبدون فروق معنوية بينهما في الزاوية K19 (شكل 17 ، 5) اذ بلغتا 66.827 و 66.216 على التوالي، بينما تلتها السيبة وشط العرب على الترتيب وبدون فروق معنوي فيما بينها بلغت 62.882 و62.034 على التوالي؛ بينما كان معامل الجناح الامامي Cubital Index (شكل 17 ، ث ج) غير معنوي في المناطق المدروسة الا ان اعلاها كان في منطقتي البصـــرة وشـــط العرب حيث بلغتا 2.995 و2.978 على التوالي، تلتها أبو الخصـــيب ثم الســـيبة اذ بلغتا 2.578 و2.478 درجة على التوالي .

أظهرت نتائج الـــ 10 صفات من الجناح في المناطق الاربعة المدروسة اختلافاً واضحاً في الحجم تصاعديا بدءاً من السيبة الى شط العرب، اذ كانت منطقة السيبة اقلها في قياس الصفات وهي عرض الجناح الامامي وعدد الخطاطيف وزاوية A_4 و زاوية B_4 و زاوية G_{18} وزاوية K_{19} في حين سجلت منطقة شط العرب اعلى قيمة في صفات طول الجناح الامامي وعرضة وزاوية A_4 وزاوية B_4 وزاوية G_{18} ، وهي حقيقة أشار لها Shashidhar واخرون (2013) من ان النحل يزداد في التباين في الحجم من الشرق الى الغرب في مناطق مختلفة من الهند ، في حين اوضح Ruttner(1988) من ان عينات النحل *A.florea* في المناطق المختلفة لا تختلف فقط في الحجم وانما في تعرق الأجنحة، أيضـــا اذ ذكر Ayça واخرون(2009) من ان طول الجناح الامامي وعرضة كان اعلى في منطقة خوزستان اذ بلغ 6.896 ملم و 2.446 ملم على التوالي، واقلها في منطقة هورمزكان بلغت 6.484 ملم و 2.188 ملم على التوالي.

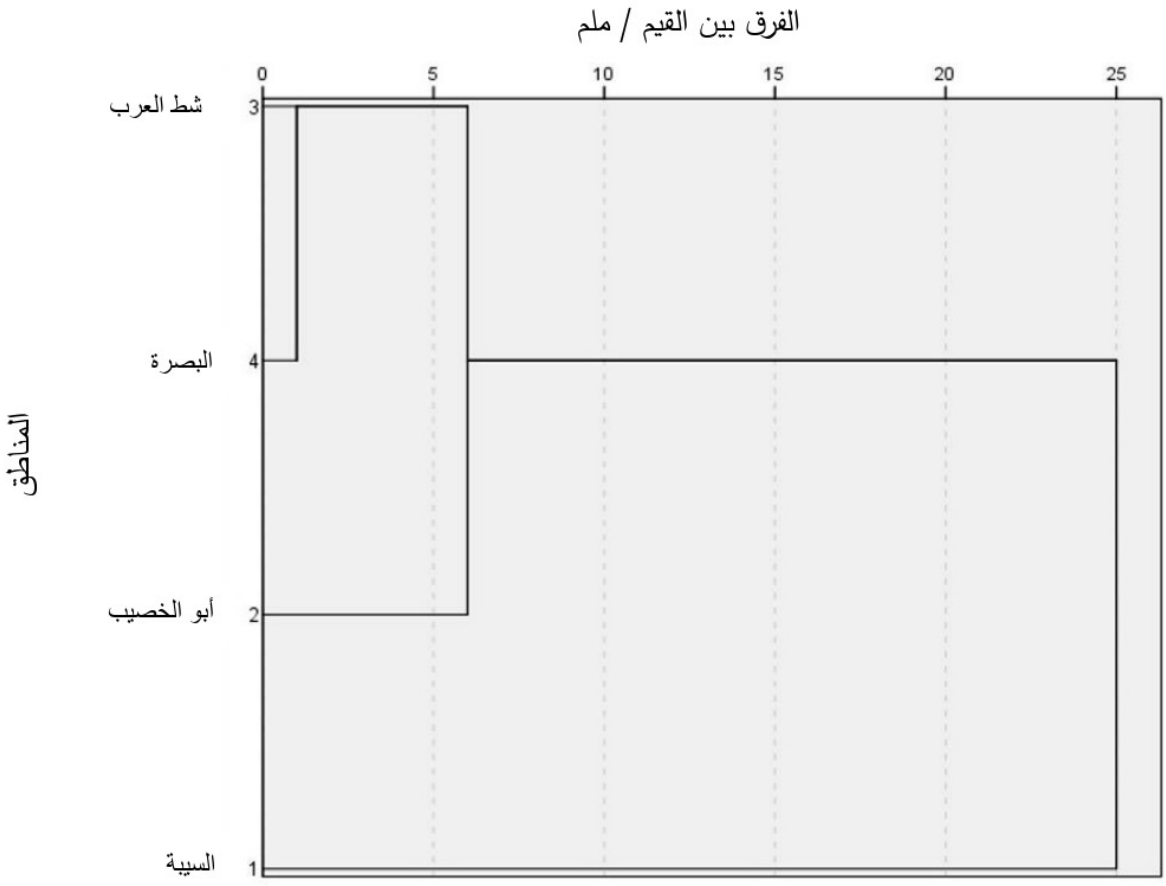
وقد سجلت عدد الخطاطيف اعلى قيمة في منطقة مركز البصرة واقلها في منطقة السيبة ، وقد ذكر Saad و Taha (2014) بان عدد الخطاطيف في منطقة الاحساء كان اكثر منها في منطقة جبيل اذ بلغت 12.40 و 11.70 على التوالي، واستخدم Ruttner(1988) معامل الجناح الامامي (CI) لأول مرة في تمييز النويعات Subspecies لأنواع *Apis mellifera* ولأهميتها في التمييز استخدمها في *A.florea* ، والتي من خلالها أوضح Ayça واخرون(2009) وجود اختلاف بين أنواع الحشرة في مناطق جنوب ايران اذ بلغت 2.89 و هورمزكان بلغت 3.30 و خوزستان بلغت 2.82 على التوالي ، وهذا ما يؤكد ما إشـــارة اليه Parichehreh واخرون (2014) ان عدد الخطاطيف كان اقل في المناطق المرتفعة وذات الامطار الغزيرة في المناطق الجنوبية الغربية والشـــرقي من ايران؛ من جهة أخرى أوضـــح Mattu و Verma (1984) دور الظروف البيئية كان مهماً في التأثير على المظهر الخارجي لنحل العسل حيث ان

صفات الجناح تتأثر بالعوامل البيئية ومنها درجة الحرارة والموسم، بينما أشار Herbert واخرون (1988) من ان صفات الجناح تتأثر في شدة الضغط الغذائي و بعمر النحلة الكاملة .

4-1-2-4: التحليل العنقودي لمستعمرات النحل الصغير في مناطق البصرة

أوضحت نتائج التحليل العنقودي (شكل 18) بطريقة التجميع الهرمي للصفات المظهرية المدروسة لنحل العسل الصغير من وجود تباين بين المجاميع الجغرافية، فقد تشكيل اول تعنقد بين مستعمرات نحل العسل في البصرة وشط العرب وهذا يدل على التشابه الوراثي النسبي وقوة التقارب والربط بين المجموعتين فيما بينها ، ويلي ذلك تعنقد ثاني بين مستعمرات نحل ابي الخصيب مع كل من مستعمرات البصرة وشط العرب بتقارب وتجانس اقل من التعنقد الأول وهذا يدل على اختلاف بعض الصفات المظهرية بين صفات المستعمرات، في حين نلاحظ انفراد مستعمرات نحل السيبة لوحدها في عنقود ابعد وراثيا وهذا يدل على ان الصفات المظهرية في منطقة السيبة غير متجانسة مع باقي للصفات في المناطق المدروسة .

نستنتج من ذلك من ان تكوين مصفوفة القرابة في العنقود الأول بدرجة تقارب عالية قد تكون بسبب عدد المستعمرات التي سجلت في مركز البصرة وشط العرب، اذ كانت اكثرها في تلك المناطق وان الاختلاف الذي حصل قد يكون له صلة بالحدود الجغرافية اذا ان منطقة السيبة لا تبعد سوى 700 م عن الحدود الإيرانية وان هذه المسافة هي ضمن منطقة السروح والهجرة للنحل الصغير والذي يمتاز بكثرة التطريد والهجرة في مواسم الفيض وقلة المراعي والتهديد بالخطر ، وهذا يفسر من ان نحل منطقة السيبة قد يكون دخل لأول مرة في محافظة البصرة من هذه المناطق وقد يشير ذلك الى ان كلما زادت المسافة لأخذ العينات بين المناطق زاد الاختلاف اما المناطق المتقاربة في المسافة تكون درجة التقارب كبيرة .



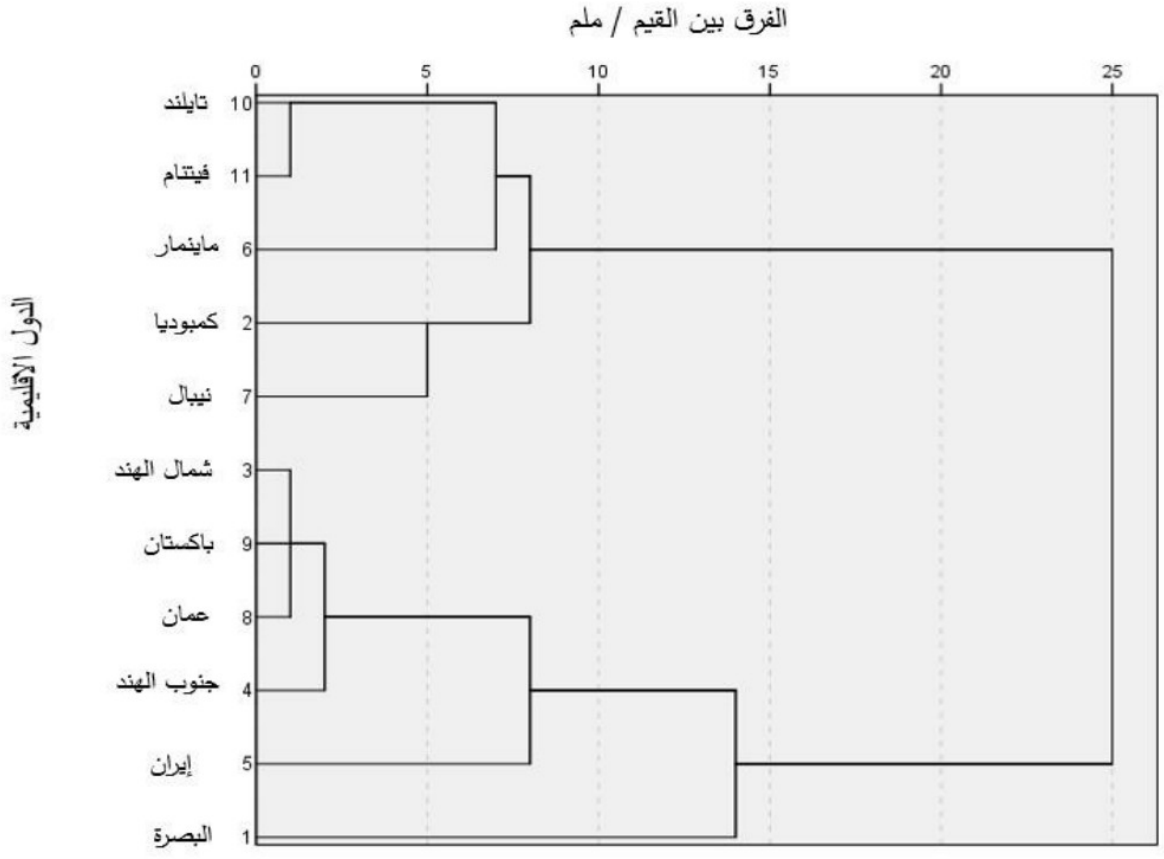
شكل (18) التحليل العنقودي بطريقة التجميع الهرمي لنحل العسل القزم *A.florea* لمناطق محافظة البصرة

4-1-2-5: التحليل العنقودي لمستعمرات نحل العسل الصغير مع الدول الإقليمية

من النتائج التي تم الحصول عليها للتحليل العنقودي الهرمي (شكل 19)، لمعرفة درجة القرابة الوراثية بين نحل العسل الصغير في البصرة مع نحل العسل في الدول الإقليمية وهي كل من ايران وباكستان وعمان وشمال الهند وجنوب الهند (سريلانكا) وفيتنام وميانمار وتايلند وكمبوديا، باستخدام بيانات الصفات المظهرية وهي : طول الفخذ وطول الساق والصفيحة الظهرية 3 طوليا والصفيحة الظهرية 4 طوليا وطول الجناح الامامي وزاوية G18 من بنك المعلومات (Randall واخرون ،2005)، لوحظ من تكون اول تعنقد

للأنماط الجغرافية بين مجموعة تايلند ومجموعة فيتنام والتعنقد الثاني بين مجموعة شـمال الهند وباكسـتان وعمان وبدرجة اختلاف وراثي اكثر تكون العنقود الثالث بين مجموعة باكستان وجنوب الهند .

كما بينت نتائج التحليل العنقودي تكون عنقودين بدرجة تقارب وراثي ابعد ضـم العنقود الرئيسـي الأول كل من مجموعة تايلند وفيتنام وميانمار وكمبوديا والنيبال والعنقود الرئيسي الثاني ضم كل من مجموعة شمال الهند وباكسـتان وعمان وجنوب الهند وإيران، اما فيما يخص مجموعة نحل البصـرة فقد اصـطفت مع العنقود الثاني ولكن بدرجة قرابة ابعد وكانت المسافة الوراثية أقرب الى المجموعة الإيرانية.



شكل (19) التحليل العنقودي بطريقة التجميع الهرمي لنحل العسل القزم *A.florea* لمحافظة البصرة مع الدول الإقليمية

من خلال ما تم التوصل اليه من نتائج دراستنا لنحل العسل *A. florea* في محافظة البصرة لصفات طول الجناح الامامي وعرضـــة ومعامل الجناح الامامي وعدد الخطاطيف في الجناح الخلفي والتي بلغت 6.121 و 2.052 و2.995 و 12.50 على التوالي، ومقارنتها مع ما ذكره Ruttner (1988) لكل من نحل جنوب ايران وعمان وباكســتان وســيريلانكا وجنوب الهند وتايلند التي تمت دراســتها في تحليل درجة التقارب هي متقاربة فيما بينها ، هذا يدل على ان النوع هو *A. florea* ، وان الاختلاف قد يكون في الأنماط الجغرافية Geotype او الانماط البيئية Ecotype في المنطقة (Ruttner،1995) .

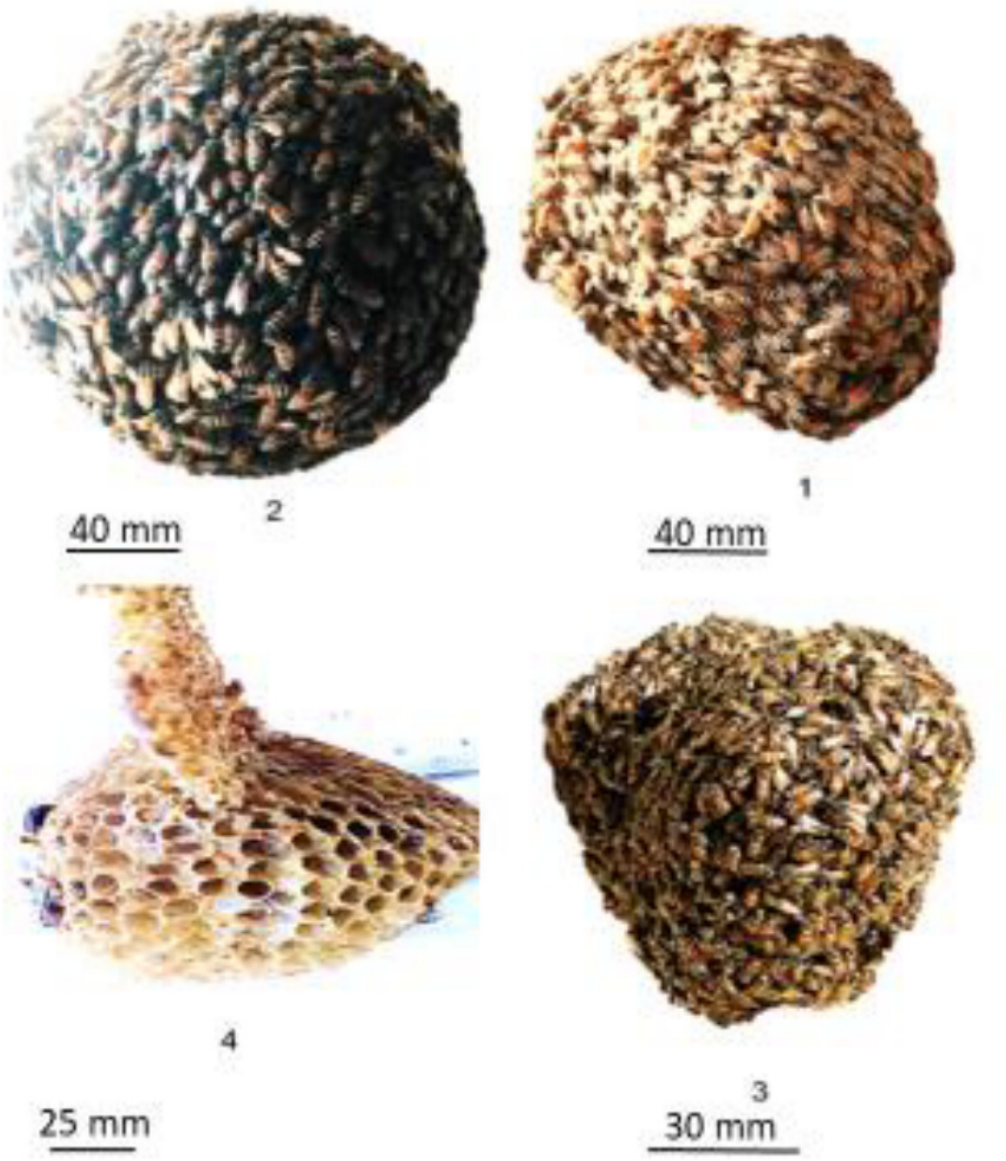
نستنتج من مسافة البعد الوراثي للتحليل العنقودي بانه قد يكون مصدر نحل العسل القزم *A. florea* في البصـــرة هو من الجنوب الغربي لإيران، ومما يوكد هذه الحقيقة هو تقارب قيم الصـــفات المدروســـة للمجاميع السكانية لنحل محافظة البصرة مع المجاميع السكانية المدروسة في جنوب غرب ايران، التي كانت طول الملكة وطول العاملة وطول الذكر وطول راس العاملات وطول الجناح الامامي ومعامل الجناح الامامي ،اذ بلغت 13.14 و8.28 و11.74 و3.57 و5.94 (ملم) و2.75 على التوالي في محافظة البصرة ،بينما كانت 14 و8.5 و12 و2.60 و6.26 (ملم) و2.82 على التوالي في جنوب غرب ايران(Taghi،2014).

ان المنطقة التي اكتشـــف فيها النحل لأول مرة هي منطقة الســـيبة والتي تمتاز بوجود الأشـــجار والشجيرات والمباني بمحاذاة شط العرب ،ومن ثم بدا بالانتشار في منطقة ابي الخصيب ومركز البصرة وشط العرب، يمتاز هذا النوع من النحل بالقدرة على البقاء على قيد الحياة تحت الظروف القاسية لمناخ البصرة مع قلـة المراعي فيهـا وهـذا يثبـت من انـه اكثر تكيفـاً من *A. mellifera* في الظروف المنـاخيـة الجـافـة (Taghi،2014)، كذلك له القدرة على بناء الاعشـــاش في مواقع مختلفة مثل اســـطح المنازل والأشـــجار المعمرة والشـرفات والأماكن المهجورة وشـقوق الجدران وفي أماكن بعيدة عن الانسـان، ولربما سـبب انتشـاره

بكثرة في منطقة البصرة في المناطق الحضرية فضلاً عن الريفية هو الاكتفاء باقل عدد من نباتات المراعي وقلة اســتخدام المبيدات في المدن وهذا ما بينته الدراســة من كثافة الانتشــار في المناطق الحضــرية بوجود العديد من المستعمرات مقارنة بالمناطق الريفية وهذه تتوافق مع ما أشار اليه (Taghi،2014).

4-1-2- 6: الصفات العامة للمستعمرة نحل العسل القزم *A.florea*

أوضحت نتائج دراسة الصفات العامة لشكل المستعمرات في المناطق المدروسة (شكل 20) ان متوسط مساحة المستعمرة 113.141 ملم ومساحة الخلية السداسية hexagonal cell للذكور 4.74 ملم وللشغالات 3.2 ملم وحدود الثقة ملم، وزن المســـتعمرة الكاملة 133.13 غم هذه النتائج متقاربة مع ما توصـــل اليه الباحث Ruttner (1988) في قياس مساحة الخلية السداسية للذكر وللشغالات اذ بلغت 4.6 و 2.9 ملم على التوالي ؛ وذكر Wongsiri واخرون (1997) من ان عدد العيون السداسية يختلف في شمال الهند عنه في الجنوب اذ بلغ 1190 عين سداسية / 100سم² و1560 عين سداسية / 100 سم² على التوالي، وان ارتفاع وعرض منطقة الحضنة 12.00 سم و16.85 سم على التوالي.



شكل (20) اشكال مستعمرات نحل العسل القزم *A. florea* (1 منطقة الداكير،2 منطقة السراجي، 3 البراضعية،4 شكل الخلايا السداسية)

4-1-2-7: مناطق انتشار نحل العسل القزم *A.florea*

أوضح المسح الميداني في مناطق جمع العينات (جدول 18) التي شملت السيبة وأبو الخصيب وشط العرب ومركز البصرة، من ان نحل العسل *A.florea* سجل في كل من قضاء ابي الخصيب في يوسفان وحمدان والسيبة وقضاء البصرة المركز في منطقة البراضعية و مناوي لجم ومشاتل الخورة والمستشفى التعليمي والقصور الرئاسية والداكير والطويسة وحي الإسكان والجبيلة وقضاء شط العرب في منطقة الفيحاء والكباسي، وان المناطق التي انتشر فيها بكثافة هي مناطق مركز البصرة وشط العرب وأبو الخصيب على التوالي، وكان اقلها انتشاراً في منطقة السيبة مقارنة بمناطق البصرة وشط العرب، الامر الذي قد يفسر من انتشار النحل القزم في تلك المناطق فضلا عن وجود العديد من البنايات الملائمة التي يمكن ان تتخذها مكان ملائم للتعشش ، اذ لوحظ ذلك في معظم الأماكن التي سجلت فيها في مركز البصرة في الأبنية والمستشفيات وفي المنازل ، وقد سجل اقل ارتفاع للأعشاش بلغ 150 سم في منطقة السيبة في حين سجل اعلى ارتفاع للأعشاش في منطقة الداكر بلغ 1500 سم ، وقد اوضح Shashidhar واخرون(2013) من ان الاختلاف في غزارة اعداد النحل *A.florea* بين المقاطعات المختلفة من الهند يرجع الى الاختلاف في طبوغرافية الأرض والارتفاعات عن مستوى سطح البحر والتي كانت 756م للمناطق ذات الانتشار الكثيف و 112م للمناطق ذات الانتشار القليل.

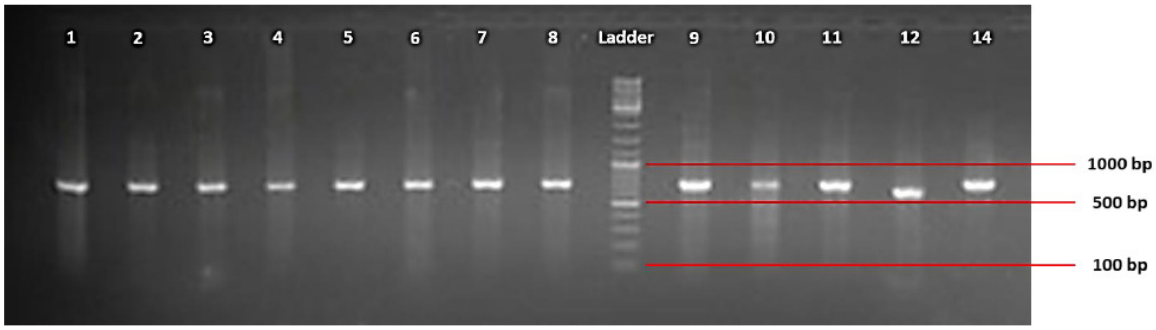
4-2: الدراسة الجزيئية Molecular Study

4-2: الدراسة الجزيئية لنحل العسل *A. mellifera* و *A.florea*

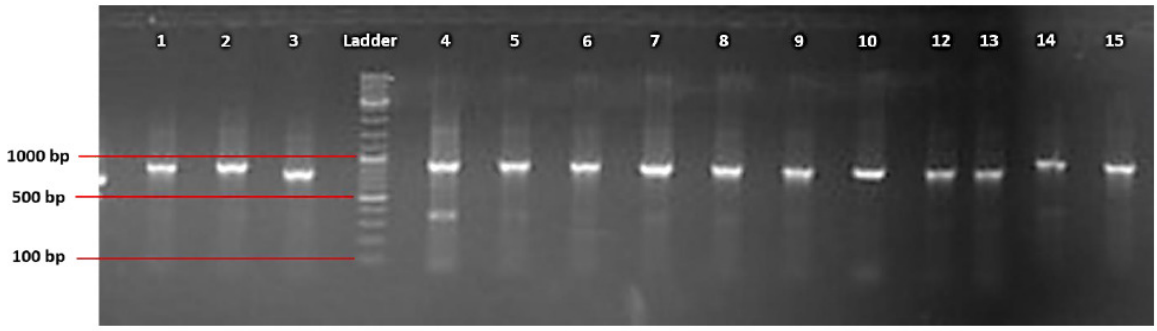
استخدمت في هذه الدراسة ثلاث بادئات جزيئية لدراسة وتشخيص نويعات نحل العسل في مناطق مختلفة من محافظة البصرة وثلاث محافظات اخرى هي بابل وواسط واربيل وكانت نتائج الدراسة كالاتي: -

4-2-1: تضخيم المناطق الجينية ضمن النطاق COXI-COXII في الجينوم المايتوكونديريا بتقنية PCR

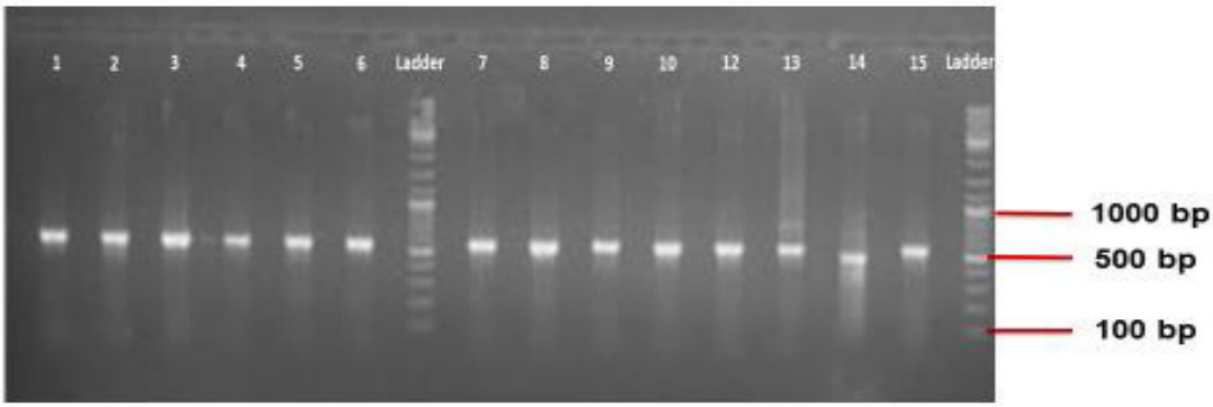
أظهرت نتائج الترحيل الكهربائي على هلام الاكاروز 2% نجاح عملية تضخيم المنطقة الجينية COI بتقنية PCR للبادئ الأول LCO1490-HC02198 (شكل 21) اذ أنتج حزمة بحجم 710 زوج قاعدي تقريباً بينما أنتج البادئ الثاني Cl-J-2183-TL2-N-3014 للمنطقة الجينية البينية Intergenic region COXI-COXII(شكل 22) حزمة بحجم 830 زوج قاعدي تقريباً أما البادئ الثالث E2-H2 للمنطقة الجينية COXII (شكل 23) فقد أنتج حزمة بحجم 659 زوج قاعدي تقريباً.



شكل (21) منتج تضخيم التسلسل التتابعي للمنطقة الجينية COXI-COXII من DNA المايتوكوندري لشغالات نحل العسل *A. mellifera* للبادئ LCO1490-HC02198 التي جمعت من منطقة يوسفان، كرندلاند، البراضعية، الخربطلية، الجنينة، الهارثة، شط العرب، كرمة علي، حمدان، نحل فلوريا، التنومة، بابل، واسط، اربيل (1-15 حسب التسلسل).



شكل (22) منتج تضخيم التسلسل التتابعي المنطقة الجينية COXI-COXII من DNA المايتوكوندري لشغالات نحل العسل *A. mellifera* للبادئ Cl- J-2183-TL2-N-3014 التي جمعت من مناطق يوسفان، كرندلاند، البراضعية، الخربطلية، الجنينة، الهارثة، شط العرب، كرمة علي، حمدان، نحل فلوريا، التنومة، بابل، واسط، اربيل (1-15 حسب التسلسل).



شكل (23) منتج تضخيم التسلسل التتابعي المنطقة الجينية COXI-COXII من DNA المايتوكوندري لشغالات نحل العسل *A. mellifera* للبادئ E2-H2 التي جمعت من مناطق يوسفان، كرندلاند، البراضعية، الخربطلية، الجنينة، الهارثة، شط العرب، كرمة علي، حمدان، نحل فلوريا، التنومة، واسط (1-14 حسب التسلسل).

4-2-2: التشخيص الجزيئيMolecular Diagnosis

أظهرت نتائج مطابقة Blast في تتابعات القواعد النتروجينية لعينات الدراسة ولثلاث بادئات (كل على انفراد) مع تتابعات النويعات المعيارية المودعة في المركز الوطني لمعلومات التقانات الاحيائية الامريكي NCBI وجود ثلاث نويعات رئيسية هي *A. m. carnica* و *A. m. ligustica* و *A. m. caucasica* اضافة الى النحل العاسل *A.floea* .

فبالنسبة للبادئ الأول LCO1490-HC02198 (جدول 19) فقد شخصت العينات MLA-1 و-MLA 11 و15-MLA في مناطق يوسفان والقرنة واربيل على التوالي على كونها *A. m. carnica* ، حيث اظهرت جميعها مطابقة عالية لعزلة بنك الجينات MN250878.1 اذ بلغت نسبة التطابق 98.87 % و 99.43 % و 99.54%على التوالي. أما MLA-2 و3-MLA و MLA-4 و5-MLA و7-MLA و MLA-8 و9-MLA و13-MLA و10-MLA لمناطق كرندلاند والبراضعية والخربطلية والجنينة وشط العرب وكرمة علي وحمدان وبابل وواسط على التوالي فقد شخصت على انها *A. m. ligustica* حيث أظهرت تطابقاً عالياً مع عزلة بنك الجينات MH341408.1 لكل من عزلة اذ بلغت نسب التشخيص 98.46% و 99.69% و 98.87% و 98.73% و 99.29% و 99.11% و 100% و 100% و 98.93% على الترتيب بينما كانت شخصت العينة MLA-6 (منطقة الهارثة) على كونها *A. m. caucasica* والتي أظهرت مطابقة عالية لعزلة بنك الجينات MN714160.1 اذ بلغت نسبة التشخيص 100%، اما العزلة MLA-14 الخاصة بمركز محافظة البصرة شخصت على انها نحل العسل الصغير *A. florea* اذ أظهرت مطابقة عالية لعزلة بنك الجينات MG548256.1 التشخيص 100%.

وبالنسـبة لنتائج التشـخيص الجزيئي للبادئ الثالث E2-H2 (جدول 21)، فقد تأكد تشـخيص العينات MLA-1 وMLA-11 وMLA-15 على أنها *A. m. carnica* حيث أظهرت تطابقا عاليا لعزلة بنك الجينات MN250878.1 اذ بلغت نسـبة التشـخيص 96.20% و 100% و 99.83% على التوالي، بينما شخصت العينات MLA-2 وMLA-3 وMLA-4 وMLA-5 وMLA-7 وMLA-8 و MLA-9 و MLA-10 و MLA-12 وMLA-13 لمناطق كرندلاند والبراضـعية والخربطلية والتنومة و بابل وواسط والجنينة وشط العرب وكرمة علي وحمدان على التوالي على انها *A. m. ligustica* ، والتي تطابقت مع عزلة بنك الجينات MH341408.1 وبنسـب تشـخيص بلغت 100% و 99.83% و 99.83% و 99.66% و 99.48% و 99.66% و 100% و 100% و 100% و 95.70% على التوالي ، أما العينـة MLA-6 فقـد شـخصـت على أنهـا *A. m. caucasica* بعـد تطـابقهـا مع عزلـة بنـك الجينات AP018404.1 و بنسبة تشخيص بلغت 99.48 ، كما تأكد تشخيص العينة MLA-14 الخاصة بمركز محافظة البصـرة على انها نحل العسـل القزم *A. florea* والتي تطابقت مع عزلة بنك الجينات JX982136.1اذ بلغت نسبة التشخيص 99.66%.

ان نتائج التشـخيص الجزيئي لنحل العسـل بالاعتماد على المنطقة الجينية COXI-COXII لجينوم المـايتوكونـدريـا أكدت لنـا قوة التشـخيص للنويعـات الثلاثـة حيث تطـابقت المنـاطق الثلاث التي اختيرت للتشخيص في اعطاء نفس النتيجة مما زاد من دقة التشخيص. كما لوحظ عدم وجود نويع نقي مع وجود تنوع وراثي وجيني بين المجتمعات السـكانية للمناطق المدروسـة اذ كانت النويع القوقازي *A. m. caucasica* اقل حضوراً وراثياً

(في منطقة الهارثة فقط) في حين سجلت النويع الإيطالي *A. m. ligustica* اكثر النويعات حضورا وكانت السائدة في معظم المناطق المدروسة التي بلغت 10 مناطق وكانت من بين تلك المناطق محافظة واسط وبابل وقد يعود ذلك لكون معظم النحالين يستوردون طوائف النحل سنويا لغرض التعويض من تلكما المحافظتين بسبب فقدانهم لأكثر من 65% من طوائفهم في موسم الصيف الحار لذا من الطبيعي ان يكون الحضور الوراثي لهذه النويع قوياً في تلك المناطق في حين نلاحظ حضور النويع الكرنيولي *A. m. carnica* في ثلاث مناطق ومنها محافظة أربيل التي يستورد منها بعض النحالين الملكات فقط لتحسين طوائفهم (الباحث) مما يوكد ان العراق استورد العديد من النويعات لغرض تربية وتحسين النويع المحلية ومنها النويع الكرنيولي التي تم تهجينها مع النويع المحلي والتي تعتبر اول محاولة لتربية وتهجين النحل العراقي من قبل عبد اللطيف وأبو النجا (1975) ، وإدخال النويع الإيطالي من قبل العطبي(2013)، ونظرا لعدم وجود مراكز بحثية علمية تخصصية تعنى بشان تربية وتحسين طوائف نحل العسل في عموم العراق واقتصار الاستيراد على النحالين والهواة أدى الى حصول تهجين غير منتظم بين تلك الطوائف وفقدان هوية النويعات المعيارية سواء كان على صعيد المناطق في المحافظة الواحدة او بين المحافظات.

اما فيما يخص كفاءة البادئات في تشخيص نويعات نحل العسل فان من هذه البادئات العامة هو البادئ LCO1490: GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG

HC02198: TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATC

الذي استخدم في الدراسة لتغطية القطعة الخاصة بالمنطقة الجينية COXI في الحامض النووي المايتوكوندري mtDNA والذي حزمته بحجم 710 زوج قاعدي تقريبا، استخدم في تشخيص أحد عشر شعبة من اللافقاريات ومنها مفصلية الارجل والتي تضمنت نحل العسل *A.mellifera*، وذبابة الفاكهة *Drosophila yakuba*، والبعوض *Anopheles gambiae*، استطاع هذا البادئ ان يميز تسلسل

الاحماض الامينية لمجموعة واسعة من الكائنات الحية على انها حيوانات لا فقرية (Folmer واخرون،1994).

والبادئ الثاني Cl-J-2183: CAACATTTATTTTGATTTTTTGG

TL2-N-3014: TCCAATGCACTAATCTGCCATATTA

والذي استخدم لتغطية المنطقة الجينية الخاصة بالقطعة الجينية COXI-COXII في الحامض النووي المايتوكوندري mtDNA، والذي حزمته 830 زوج قاعدي، استخدم في تشخيص مناطق التغاير في الحشرات ومنها نحل العسل *A.mellifera*، لمعرفة تسلسل الاحماض الامينية وحجم القواعد النيتروجينية في الجينوم ورسم الخارطة الجينة لها(Simon، 1994).

والبادئ الثالث E2: GGCAGAATAAGTGCATTG

H2: CAATATCATTGATGACC

والذي استخدم لتغطية منطقة التغاير الواقعة بين القطعتين الجينيتين COXI-COXII في الحامض النووي المايتوكوندري mtDNA، والذي حزمته 523 زوج قاعدي، وهو بادئ متخصص لتمييز نويعات نحل العسل *A.mellifera* (Garnery واخرون،1993).

تبين نتائج دراسة البادئات الثلاثة ان البادئ الثالث E2-H2 اظهر تطابقاً عالياً لعزلات بنك الجينات المودعة في NCBI، اذ بلغت نسبة التغطية فيها 100% وبدرجة تشخيص أعلى من درجة تشخيص البادئات الأخرى، وأعطى تمييزاً دقيقاً بين النويعات المشخصة على الرغم من صغير منطقة التغاير فيما بينها، لذا يكون هذا البادئ هو الأساس في دراسة تميز نويعات نحل العسل *A.mellifera* .

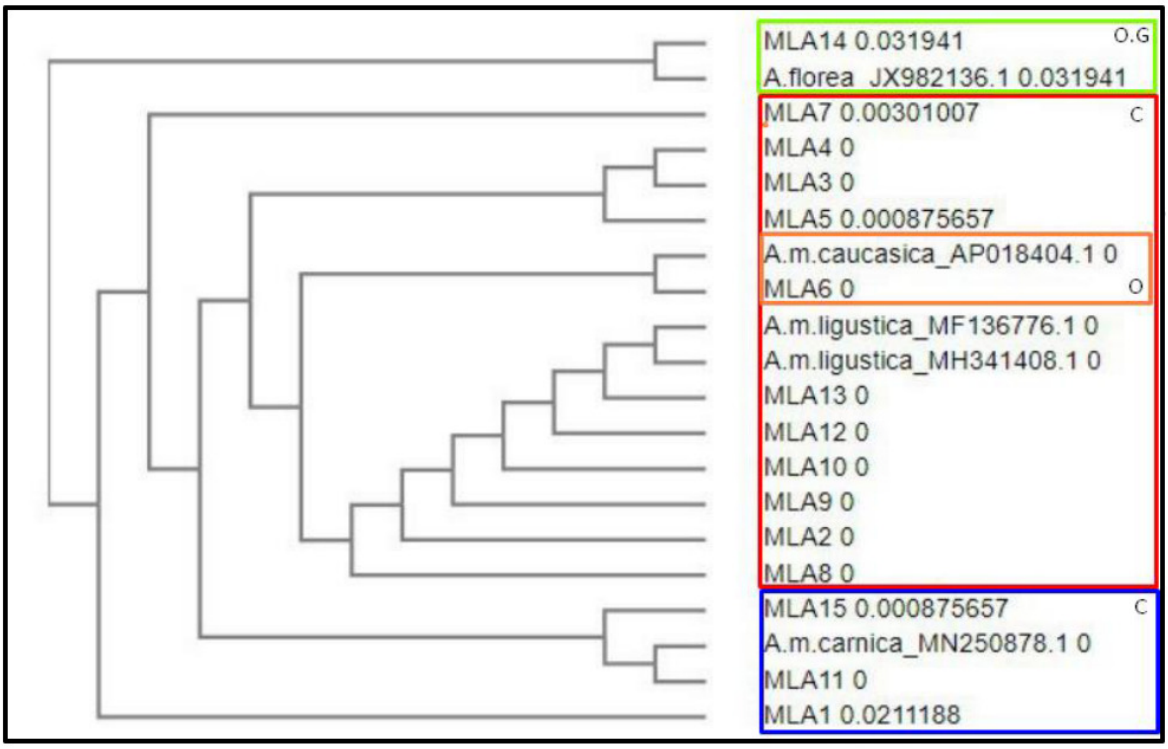
وهذا ما اكدته نتائج الدراسة التي قام بها Garnery واخرون (1993) في تشخيص النويع *A.m. cypria* و *A.m.syrica* في الأردن ودراسة Nedic واخرون (2009) في تشخيص النويع *A.m.cypria*

4-2-3: تحليل شجرة النشوء والتطور Phylogenetic Tree Analysis

أظهرت نتائج تحليل شجرة التقارب الوراثي لتتابعات القواعد النتروجينية للنويعات التي شخصت لنحل العسل العراقي و تتابعات النويعات المعيارية المودعة في بنك الجينات NCBI (شكل 24) ان نويعات النحل العراقي المشخصة قد انعزلت في ثلاثة عناقيد clusters رئيسية، شمل العنقود الاول العينات MLA-2 و MLA-8 و MLA-9 و MLA-10 وMLA-12 وMLA-13 مع تتابع النويعات المعيارية المودعة في الـ NCBI *A.m..ligustica*_MF136776.1 و *A.m.ligustica*_MH341408.1 التي تتبع الى الخط التطوري C (شمال البحر المتوسط) حيث كانت المسافة الوراثية بينهم صفرا اضافة إلى العينة MLA-6 والتي شخصت على أنها *A.m.caucasica* ، وقد انعزلت العينات MLA-3 و MLA-4 والذين تقاربا مع العزلة MLA-5 التي بعدت عنهما بمسافة وراثية قدرها 0.000875657 في عنقود فرعي.

أما العينات MLA-11 و MLA-15 فقد اصطفتا مع النويع المعيارية *A.m.carnica*_MN250878.1 حيث بعدت العينة MLA-15 بمسافة 0008756570. عنهما الا انها بقيت ضمن نفس العنقود بينما ابتعدت العينة MLA-1 بمسافة 0.0211188 عن جميع العينات تلتها العينة MLA-7 التي بعدت بمسافة 0.00301007 عن باقي في العناقيد الخاصة بنويعات *A.melifera* أما العينة MLA14 والتي استخدمت كمجوعة سيطرة (Out group) فقد انعزلت لوحدها مع النسخة المعيارية *A. florea* JX982136.1 في عنقود خارجي ابتعد عن جميع العينات والنسخ المعيارية بمسافه 0.031941 وهذا دليل على دقة رسم الشجرة.

من اهم الامور التي يمكن قراءتها من هذه الشـــجرة أن هذه المنطقة الجينية تحمل تشـــابها كبيرا بين *A.m. ligustica* و *A.m. caucasica* الى درجة انه يصـعب الفصـل بين النويعين واللذين على ما يبدو انهما يتشاركان بنفس الاسلاف ولم يمض عليهما وقت طويل منذ انعزالهما. من ناحية أخرى فان قلة العينات المستخدمة في رسم الشجرة وصغر تتابع المنطقة الجينية المستخدمة في رسم الشجرة وصغر حجم منطقة التغاير في هذه القطعة والتي لا تزيد عن 195 زوج قاعدي يمكن ان يوضح سبب عدم التفريق بين السلالتين في هذه الشجرة بينما جرى تشخيص النويعات بدقة عند المقارنة مع العدد الهائل من النسخ في بنك الجينات باستخدام اداة البحث BLAST حيث اننا حصلنا على تشخيص للعينات وبدقة عالية استطاعت معه هذه المنطقة على صـــغر حجمها ان تقدمه. ومن الملفت للنظر ايضـــا ظهور انعزال وراثي لخمس عزلات رغم تشخيصهم على انهم *A.m.ligustica* بالنسبة للعينات MLA-3 و MLA-4 و MLA-5 و MLA-7 *A.m.carnica* بالنسبة للعينة MLA-1 وهذا يمكن ان يعطي احتمالين للتفسير فالاحتمال الاول يرجح أن الخط التطوري C قديم جدا وانعزل منذ فترة طويلة وان العينة MLA-1 بقيت محافظة على صفات السلف الاصلية للخط التطوري المشترك بينها وبين باقي العينات تلتها العينة MLA-7 التي انعزلت وراثيا عن باقي العينات في فترة مبكرة تبعتها العينات MLA-3 و MLA-4 و MLA-5 ثم باقي عينات الدراســة (عدا *A.florea*) وهذا قد يكون ناتج عن عمليات التطور الوراثي الطبيعية او التي تحدث بفعل التهجين، اما الاحتمال الثاني وهو الأقل ترجيحا هو ان العينات المشـار اليها أعلاه لا تعود للخط التطوري C وانها مبهمة حاليا وقد تكون نويعات عراقية جديدة لم تشـــخص بعد وتحتاج الى دراســـات أخرى أكثر عمقا لإثبات ذلك خصوصا وان نسبة التشخيص لم تكن 100% لجميع العينات المشخصة وكذلك قد نحتاج لاستخدام مناطق جينية أخرى لتأكيد هذه الفرضـية. ومن المعلومات المهمة الاخرى التي تقدمها لنا هذه الشـجرة هو أن الخط



شكل (24) شجرة التقارب الوراثي لتحديد الخطوط التطورية لنويعات النحل المدروسة: Out group =O. G (النحل القزم)، C= خط النسب التطوري لشمال البحر الأبيض المتوسط، O= خط النسب التطوري لأسيا الشرقية

4-2-4: مقارنة بين طرق التشخيص المظهري والجزيئي في تحديد النويعات المدروسة

يتضح من تحليل النتائج النهائية لدراسة الصفات المظهرية والجزيئية لتشخيص وتعريف المجاميع السكانية لنحل العسل *A.mellifera* لبعض مناطق العراق، ان التشخيص باستخدام الصفات المظهرية بالطريقة التقليدية لم تستطيع من تشخيص كل المجاميع السكانية لنحل العسل في المناطق المدروسة، اذ شخصت المجموعة السكانية لنحل التنومة باستخدام التحليل العنقودي ومصفوفة القرابة على انه النويع الإيراني *A.m.meda* والذي يتبع الى النسب التطوري (O) الخاص بأسيا الشرقية؛ وشخصت المجموعة

السكانية لنحل حمدان والجنينة على انه النويع السوري *A.m.syriaca* الذي يتبع للخط التطوري (O) ، اما المجموعة السكانية لنحل كل من بابل وواسط والبراضعية ويوسفان والخربطلية والقرنة والهارثة شخصت على انها النويع الاناضولي *A.m. anatoliaca* الذي يتبع للخط التطوري (O) ،هذا التشخيص يمكن ان يقترح في الدراسة لسببين : الأول هو ان العراق يقع ضمن منطقة الشرق الأوسط (اسيا الشرقية) والتي تكون فيها النويعات ضمن النسب التطوري (O) ، والسبب الثاني ان العراق يجاوره من الشرق ايران ومن الشمال تركيا ومن الغرب سوريا، هذا الموقع الجغرافي ممكن ان يؤدي الى احداث تغيرات تدريجية في الخصائص المظهرية بين النويعات المجاورة بسبب عدم وجود اليات عزل طبيعية؛ في حين نلاحظ ان هذه الطريقة لم تستطيع تشخيص المجاميع السكانية لنحل العسل في كل من شط العرب وكرمة على وكرندلاند واربيل، وقد يعزى ذلك الى ان الصفات المظهرية لهذه المجاميع تختلف عن الصفات المظهرية للمجاميع النحلية لمجموعة نويعات المقارنة ، او ان هذه المجاميع السكانية تمثل نويعات جديدة بصفاتها المظهرية ، والتي تحتاج الى المزيد من الدراسة الشاملة ومقارنتها مع النويعات العالمية (33 نويع) في معهد علم نحل العسل بمدينة اوبراسيل في المانيا.

اما الطريقة الثانية من الدراسة المظهرية والتي استخدم فيها الصفات الشكلية الهندسية للجناح الامامي (بصمة الجناح) وبرنامج Identifly، والتي أشار اليها بعض الباحثين على الرغم من كفاءتها في تمييز النويعات لنحل العسل *A.mellifera* وبنسب متقدمة قد تصل الى 85.5% مقارنة بالطرق التقليدية التي تصل نسبتها الى 75,5%، الا انها شخصت المجاميع النحلية في كل من كرندلاند والبراضعية والهارثة وحمدان ويوسفان على انها النويع *A.m. intermissa* والذي يتبع للخط التطوري (M) الخاص بغرب البحر الأبيض المتوسط وشمال غرب اوربا وشمال افريقيا والذي خرج عن كل المجاميع المقارنة باستخدام

الصـفات المظهرية التقليديةبطريقة التحليل العنقودي ومصـفوفة القرابة ، وشـخصـت المجاميع النحلية لمنطقة الجنينة وشـــط العرب وكرمة علي والقرنة على انها النويع *A.m. mellifera* والذي يعود أيضـــا الى الخط التطوري (M) على الرغم من وجود مناطق عزل جغرافية ومسـافات شـاسـعة تفصـل العراق عن موطن هذا النويع ؛ الا ان هذه الطريقة الهندسية لتمييز النويعات شخصت المجاميع السكانية لمنطقة الخربطلية والتنومة وبابل وواســـط على انه يماثل النويع الكرنيولي *A.m.carnica* الذي يعود للخط التطوري (C)، الخاص بشـمال البحر الأبيض المتوسـط وجنوب شـرق اوربا والذي هو اقرب ما يكون الى الخط التطوري (O) الذي يعتبر مركز تشتت الأنواع .

اما تحليل نتائج الدراسة الجزيئية في تشخيص النويعات المدروسة، فقد بينت كفاءة البادئات الثلاث في تشـخيص نفس النويعات عند مطابقتها مع تتابعات السـلالات القياسية المودعة في المركز الوطني لمعلومات التقانات الاحيائية الأمريكي NCBI ، والتي كان تشـــخيص المجموعة الســـكانية لمنطقة يوســـفان والقرنة واربيل شـخصـت على انها *A.m.carnica* ، والمجموعة السكانية لمنطقة كرندلاند والبراضـعية والخربطلية والجنينة وشـــط العرب وكرمة علي وحمدان والتنومة وبابل وواســـط على انها *A.m.ligustica* الذي يعود للخط التطوري (C) ، بينما كانت العينة الوحيدة للمجموعة الســـكانية لمنطقة الهارثة شـــخصـــت على انها *A.m.caucasica* الخاص بالخط التطوري (O) .

يتضـح من دراسـة المقارنة بين طرق التشـخيص الثلاثة، ان التشـخيص الجزيئي لنويعات نحل العسـل بالاعتماد على المنطقة الجينية COXI-COXII لجينوم المايتوكوندريا والموروث من الأمهات فقط، انه أداة قوية في تشخيص العينات المدروسة الى ثلاث نويعات والتي بقيت محافظة على صفاتها الوراثية من اسلافها لمئات السـنين، مقارنة بالتشـخيص المظهري الذي يعتمد على الصـفات المظهرية للجسـم والتي تتأثر بعملية

التزاوج، ومن المعلوم ان ملكات نحل العســـل تتلقح بأكثر من17 ذكر وهذا له تأثير ســـلبي على الصـــفات المظهرية لنويعات النحل، فقد أوضح Zemskova واخرون(2020) في دراسة لاحد المقاطعات الروسية من ان عملية تزاوج الملكات بأكثر من ذكر أدى الى حصول نسبة عالية من الملكات المهجنة ، وأوضح ان من بين تلك الأســـباب هو الاهتمام بالملكات ذات الإنتاج المبكر، وهذا أدى الى حصـــول تغيرات مظهرية في النويعات الروسية، وخلصت الدراسة ان 95% من النحل الروسي كان هجين و4.0–5.3% فقط هو العرق الأصلي للنحل الروسي .

الاستنتاجات Conclusions

من خلال هذه الدراسة يمكن ان نستنتج الاتي:

1. لا يوجد نويع نقي وراثياً يشكل مجموعة سكانية واحدة في المناطق المدروسة.
2. التشخيص الجزيئي لنويعات نحل العسل *A.mellifera* كان أكثر دقة من التشخيص المظهري.
3. نحل العسل *A.florea* زائر متأقلم ويسجل لأول مرة في محافظة البصرة وان مصدرة جنوب غرب ايران.
4. إن نويعات نحل العسل *A.mellifera* في محافظة البصرة وبابل وواسط تعود لخط تطوري واحد.
5. اعطى برامج تحليل الصور الرقمية ImageJ المستخدم لقياس الصفات المظهرية دقة عالية واختصار في الوقت.
6. لا يفضل استخدام برنامج Identifly لتحليل بيانات تعرق الجناح الامامي في المجموعات النحلية العراقية كونه يميز بين السلالات النقية وراثياً.

التوصيات Recommendations

من خلال دراسة الاستنتاجات السابقة نوصي بالآتي:

1. اجراء دراسة تصنيفية مظهرية وجزيئية شاملة لنويعات نحل العسل *A.mellifera* في جميع محافظات العراق .
2. إعطاء اهتمام أكثر بالدراسة الجزيئية واختيار منطقة جينية أخرى غير المنطقة COX1-COX11 لدعم النتائج الحالية.
3. انشاء مراكز بحثية متخصصة في دراسة نحل العسل في العراق من قبل المؤسسات العلمية والحكومية لتذليل العقبات والصعاب لتربية هذه الحشرة.
4. تفعيل دور الحجر الزراعي للسيطرة على تجارة الملكات من قبل النحالين والهواة وبعيداً عن الرقابة العلمية أدى الى اختفاء هوية السلالة العراقية المحلية.
5. استيراد ملكات ذات صفات قياسية وقدرة على التكيف والتحمل للظروف المتطرفة لأجواء العراق من قبل المؤسسات العلمية لاستبدالها بالنويعات الرديئة.
6. إعطاء اهتمام اكثر في دراسة حياتية وبيئية نحل العسل القزم *A.florea* لما له أهمية في تلقيح المحاصيل ويعتبر متكيفاً بيئياً ناجحاً في ظل درجات الحرارة العالية لمحافظة البصرة .

A comparative Study of the some Morphological and Molecular aspects of the two honey bee species *Apis florea* Fab.1787 and *Apis mellifera* Lin.1758 (Apidae: Hymenoptera) for some Iraq regions

A Dissertation submitted
to the
Committee College of Agriculture - University of Basrah in
Partial Fulfillment of the Requirements for the
Certificate of Doctorate of Philosophy in
Agricultural Science, Plant Protection
(Entomology)

by
Moslem Ashor Abdelwahed AL - Eitby
M.Sc.in Plant Protection
(2009AD)

Supervised

Assist.Prof.Dr. Ayad A. Abdulkader Assist.Prof.Dr. Labeed A. Al-Saad

April 2021 AD Ramadan 1442 AH