الفصل الأول

المقدمة

INTRODUCTION

قال الله تبارك وتعالى في سورة النحل:

بسم الله الرحمن الرحيم

(وَأَوْحَى رَبُّكَ إِلَى النَّحْلِ أَنِ اتَّخِذِي مِنَ الجِبَالِ بُيُوتًا وَمِنَ الشَّجَرِ وَمِمَّا يَعْرِشُونَ * ثُمَّ كُلِي مِن كُلِّ الثَّمَرَاتِ فَاسْلُكِي سُبُلَ رَبِّكِ ذُلُلاً يَخْرُجُ مِن بُطُونِهَا شَرَابٌ مُّخْتَلِفٌ أَلْوَانُهُ فِيهِ شِفَاءٌ لِّلنَّاسِ إِنَّ فِي ذَلِكَ لآيَةً لِّقَوْمٍ يَتَفَكَّرُونَ) (سورة النحل آية 68 ــ 69).

صدق الله العظيم

عند تدبر هاتين الآيتين الكريمتـــين نجد أنها بدأتا بوحي الله للنحل حيث لم يذكر سبحانه وتعالى وحيه لأي من الكائنات غير المكلفة غير حشرة نحل العسل وختم الله سبحانه وتعالى هذه الآية بقوله **(إِنَّ فِي ذَلِكَ لآيَةً لِّقَوْمٍ يَتَفَكَّرُونَ)** وهي دعوة إلى التفكر والتمعن والتأني في معانيهما لإظـــــهار عظمة القـــــرآن وإعجازه.

وفي حياة النحل أسرار عجيـــبة اكتشف الإنسان في العصر الحديث بعضاً منها، ومازال هناك الكثير من تلك الأسرار لم تكتشف بعد، ووحي الله للنحل وذكره في القرآن مع ذكر بعض التفاصيل عن طبيعته

وسلوكه وإنتاجه ينطوي على إشارة إعجازية تدل على أن عالم النحل واسع زاخر بالحقائق العلمية التي يمكن استكشاف حلقاتها على مر الأيام لتكون دليل إعجاز علمي للقرآن الكريم.

حيث تعتبر تربية نحل العسل من أهم فروع الاستغلال الزراعي حيث لا يقتصر استغلاله لإنتاج العسل والشمع فحسب بل إن له أهمية كُبرى في تلقيح أزهار المحاصيل المختلفة وزيادة إنتاجها و تحسين صفات ثمارها ، مما له أهمية عظيمة للثروة الوطنية والاقتصاد الزراعي وتشهد المملكة العربية السعودية في السنوات الأخيرة توسعاً زراعياً ملحوظاً واهتماماً كبيراً بهذه الناحية مما جعل من تربية النحل في تلك المناطق التي تتميز بوجود مصادر للرحيق وحبوب اللقاح سواء منزوعة أو طبيعية ذات مردود اقتصادي عظيم. **الحفنى (2005)**.

وتنتمي حشرة نحل العسل إلى رتبة غشائية الأجنحة (Order:Hymenoptera) من عائلة (Family:Apidae)التابعة لجنس(Genus: Apis) والذي تبعه نوع نحل العسل الغربي . L *Apis Mellifera*والذي انتشر على مستوى سطح الكرة الأرضية في مناطق جغرافية عديدة ولحُقب زمنية متباعدة نتج عن هذا الانعزال وجود عدد كبير من السلالات التابعة لهذا النوع ومنها سلالة النحل اليمني (النحل المحلى) *mellifera Apis jemenatica* Ruttner وهي السلالة السائدة في شبه الجزيرة العربية سواء في اليمن وعمان و المملكة العربية السعودية كما تنتشر في بعض مناطق إفريقيا.

وتعتبر نحلة العسل من أهم الحشرات الاجتماعية النافعة حيث تعيش الطائفة (Colony) في مسكن واحد يسمى الخلية (Hive) معيشة اجتماعية تعاونية و تنقسم إلى ثلاث فئات متمايزة الشكل والمهام هي الملكة (Queen) والشغالات (Workers) والذكور(Drones)، حيث تشمل الطائفة ملكة واحدة وعدة آلاف من الشغالات وعدة مئات من الذكور. وإن منشأ الاختلاف الظاهر بين أفراد

الطائفة داخل خلية نحل العسل يعود إلى ثلاثة أسباب هي نوع البيض (مخصب أو غير مخصب)، وطبيعة العين السداسية التي تُربى فيها اليرقات ثم نظام التغذية خلال الطور اليرقي وجميعها تؤثر في اختلاف شكل الحشرة الكاملة . فيرقات نحل العسل التي تفقس من بيضة مُخصبة وتتغذى على الغذاء الملكي (Royal jelly) طوال الطور اليرقي ، تنتج عنه في النهاية ملكة عذراء (Virgin queen) ، بينما اليرقات التي تغذت على الغذاء الملكي لمدة ثلاثة أيام فقط ثم تغير لها نظام الغذاء من اليوم الثالث إلى مخلوط من العسل و حبوب اللقاح يسمى خبز النحل (Bee bread) فتنتج عنه شغالات .**المصري (1986)** . وقد أوضح **الأنصاري (2007)** أن تحديد كون إناث النحل تكون ملكة أو شغالة يتم حدوثها في أطوار مبكرة من نمو اليرقة.

كما لوحظ أنه تحدث تحورات في جسم الشغالات تلائم القيام بوظائفها المختلفة داخل وخارج الطائفة والتي منها جمع وإنضاج وتخزين العسل حيث تتحور القناة الهضمية لتكون حوصلة قابلة للتمدد يخزن بها الرحيق بكميات كبيرة لتتمكن من القيام برحلات طويلة ، ولتزور أكبر عدد ممكن من الأزهار وبجمع أكبر كمية من الرحيق في الرحلة الواحدة ، وتعتبر الحوصلة التي تقع في بداية بطن النحلة مصنعاً للعسل حيث تؤثر الإنزيمات الهاضمة على الرحيق الموجود بها و تحوله إلى عسل حيث تُرجعه النحلة مرة أخرى من الحوصلة إلى العيون السداسية . **شحاته و أبو عظمة (1998).**

إن أحد الأسباب الرئيسة في النجاح البيولوجي للحشرات هو قدرتها على تناول وهضم مواد غذائية متنوعة ويرتبط هذا التنوع بظهور تحورات كثيرة في الجهاز الهضمي كي تلائم نوع المادة الغذائية المتناولة. ويمكن الاستدلال على نوع غذاء الحشرة من خلال دراسة التحورات في الجهاز الهضمي. حيث تعود الاختلافات المورفولوجية في القناة الهضمية للحشرات إلى عاداتها الغذائية ودرجة معيشتها الاجتماعية .

إن المدى الواسع من الغذاء أدى إلى تنوع الطريقة التي يتم تناوله بها وهذا أدى إلى تحورات في القناة الهضمية من حيث مكان خزن الطعام وطريقة الهضم والامتصاص، هذه الاختلافات ليست بين أنواع الحشرات المختلفة فقط ولكن قد توجد كذلك في نفس الحشرة خلال أطوار حياتها ؛ فمثلاً يرقات حرشفية الأجنحة تتغذى على أجزاء النبات المختلفة بواسطة أجزاء الفم القارضة في حين تتغذى الفراشة " الطور البالغ" بامتصاص رحيق الأزهار بواسطة أجزاء الفم الماصة. **المصطفى (2006)**.

وفي الحشرات ذات التبدل التام (Holometabolous) تختلف اليرقات و الطور البالغ تشريحياً ووظيفياً . وإن التبدل هو نتيجة عملية تحلل (Degeneration) وإعادة امتصاص للأعضاء في طور اليرقة ، وفي التمايز (Differentiation) لأعضاء الطور البالغ .**Wille (1983)** .

وتعتبر القدرة على التكاثر من صفات الكائنات الحية ، ولولا هذه القدرة ما احتفظت الأرض بالأنواع التي عاشت عليها منذ بدء الخليقة ، حيث تتميز ملكة نحل العسل عن بقية أفراد الطائفة بعظم جهازها التناسلي المتكامل و للجهاز التناسلي في الملكات (Queen reproductive system) أهمية كبيرة.

ونظراً لافتقار الأبحاث الجارية لدراسات مقارنة تربط مابين التنوع في الغذاء خلال عملية التشكل (Metamorphosis) في الأشكال المختلفة لحشرة نحل العسل بشكل عام وسلالة النحل اليمني (البلدي) بشكل خاص رأينا أجراء دراسة تشريحية و نسيجية متكاملة خلال الأطوار المختلفة لكل من الملكة والشغالة لدراسة التغيرات الحادثة في القناة الهضمية والجهاز التناسلي في الملكات العذارى وذلك لتحقيق الأهداف التالية :

❖ محاولة التعرف على وجود دلائل خلال مرحلة النمو(يرقات، عذارى) تشير إلى الاختلافات في درجة نمو وتطور اليرقة واتجاهها نحو تكوين طبقة معينة (ملكة – شغالة) مع توضيح الدلائل التشريحية في الطور البالغ.

❖ الاختلافات النسيجية في القناة الهضمية بين أفراد الطبقة التناسلية للإناث (Cast) (الملكة والشغالة) أثناء تدرجها في النمو من طور اليرقة إلى طور الحشرة الكاملة.

❖ تتبع التركيب النسيجي لمبايض الملكة في الأطوار المختلفة لها خلال فترة التطور حتى إنبثاق الحشرة الكاملة.

وعليه فسيتم بإذن الله تعالى تتبع دراسة التركيب التشريحي والنسيجي للقناة الهضمية في كلً من طبقة الملكة والشغالات ، و التركيب النسيجي للجهاز التناسلي (المبيض) في الملكة وذلك لدراسة التحورات الحادثة في كل منها.

الفصل الثاني

استعراض الدراسات والأبحاث السابقة
REVIEW OF LITERATURES

أولاً – القناة الهضمية Alimentary canal :

1- الطور اليرقي Larval stage:

تتكون القناة الهضمية ليرقات نحل العسل. *Apis mellifera* L من المعي الأمامي وهي ذات صمام فؤادي (Stomodeal valve) ، والمعي المتوسط الغير مميز (Undifferentiation) ثم المعي الخلفي الذي يتكون من اللفائفي (Ileum) والمستقيم (Rectum) . **Snodgrass (1984)**

وفي دراسة أجراها Katarzyna and Zofia (1988) لاحظ أن أكثر التغيرات في الخلايا الدهنية في فترة الطور اليرقي تكون عبارة عن : اختفاء الفجوات المائية ، ظهور حبيبات البروتين ، وتغير في شكل النواة .

وأجرى **Pabst *et al* .(1988)** دراسة عن الاختلافات النسيجية للمعي المتوسط للنحل *Apis mellifera* L. في فصلي الصيف والشتاء ، فوجد أن بعض خلايا طلائية المعي المتوسط خلال فصل

الصيف يصطبغ سيتوبلازم الجزء الخلفي منها بلون داكن ، في حين لا يصطبغ الغشاء الحول غذائي والأهداب بهذا الصبغ . أما في الشتاء فتفتقد خلايا الجزء الخلفي من المعي المتوسط للون الداكن ، ويكون ضعيفاً في كل من الغشاء الحول غذائي والأهداب ،الجزء القمي للخلايا الطلائية يحتوي على حبيبات إفرازية وأنواع مختلفة من الإفرازات .

كما أجرى Jimenez and Gilliam (1990) دراسة بالمجهر الأكتروني ودراسة خلوية كيميائية على المعي المتوسط في نحل العسل *Apis mellifera* L. ليرقات من عمر 5 يوم إلى شغالات عمر30 يوم .ووجد أن الطبقة الطلائية تتكون من خلايا مجددة ، وخلايا إفرازية ، وخلايا عمادية . تتعرض مناطق المعي المتوسط أثناء عملية تكوين الخلايا العمادية لأختلاف في مكونات الحويصلات التي تطرد للخارج وأيضاً تركيب الغشاء الحول غذائي . تشير الاختلافات الخلوية والتي تم دراستها في اليرقات عمر 5أيام إلى أن عملية الامتصاص تحدث أساساً في الجزء الأوسط من المعي المتوسط . كما أظهرت الدراسة أن خلايا طلائية المعي المتوسط تُفرز أنواع مختلفة من الإفرازات وهذا الإفراز المنتظم من الإنزيمات يبدو أنه قد يتم أيضاً في الجزء الخلفي من المعي المتوسط.

وفي دراسة قام بها Rachinsky *et al.*(1990) وجد أن تحلل الخلايا الطلائية في اليرقات يبدأ بعد يومين من بداية عملية (Defecation) وفي هذه الفترة ، تصبح الخلايا المجددة متقاربة بواسطة امتدادات سيتوبلازمية، والتي بها العديد من الحواجز واقترح العالم بأن مجموع الخلايا المجددة يزداد خلال فترة الطور اليرقي .فتكاثر الخلية المجددة هو نتيجة في الزيادة في عدد الخلايا المجددة وليس في تكوين خلايا هاضمة جديدة ، وذلك بسبب أن تكاثر الخلايا المجددة لن يكون كافياً حتى يُعيد بناء أو تكوين أماكن للخلايا المجددة وفي نفس الوقت تكوين خلايا هاضمة جديدة للطور البالغ . يتم تكوين العديد من أنسجة اليرقات خلال عملية التبدل، هذه العمليات المتزامنة تنظم في يرقات نحل العسل بواسطة

هرموني الانسلاخ (Ecdysone hormone) وهرمون النمو " الشباب" ((Juvenile hormone(JH) ، حيث يختص الأول بعملية التبدل ويسبب تحلل للأنسجة اليرقات. بينما يختص هرمون النمو أو الشباب بإحداث تغيرات نوعية خلال عملية التبدل .

ووجد Gregorc and Bowen (1997) أن النشاط الإفرازي الكثيف للخلايا الطلائية في الجزء الأمامي والخلفي للمعي المتوسط ليرقات نحل العسل له دور مهم في عملية نمو الغشاء الحول غذائي(Peritrophic membrane). وتكون طلائية الخلايا الهاضمة في اليرقات حديثة الخروج اسطوانية أو مكعبة وذات حبيبات (Aquiring) ، ذات فجوات ومع النمو تكون ذات بروزات قمية .

(Snodgrass ,1984 ; Cruz-Landim and Mello , 1970 ; Neves *et al* ., 2002)

وأوضح (Cruz –Landim and Cavalcante (2003 بأنه يحدث إعادة تشكيل للخلايا الطلائية للمعي المتوسط لنحل العسل *Apis mellifera* L. أثناء عملية التبدل ،وتتحلل الخلايا الطلائية بين نهاية العمر اليرقي الأخير وبداية مرحلة ما قبل العذراء . وتنفصل الخلايا الطلائية في العمر اليرقي إلى تجويف المعي المتوسط ويتم هضمها . بينما يتم إعادة بناء للخلايا الطلائية من الخلايا المجددة . وأن طلائية المعي المتوسط ليرقات نحل العسل تتكون من مجموعة متجانسة من الخلايا الهاضمة و التي تكون مفلطحة (Prismatic) بناءً على المنطقة من الناحية التشريحية وعلى الغذاء الموجود في التجويف الغذائي من ناحية أخرى وللخلايا الهاضمة خملات دقيقة جيدة النمو ونواة مركزية كبيرة كما تحتوي هذه الطبقة على مجموعة من الخلايا المجددة توجد عند قواعد الصفائح القاعدية (Basal lamina).

وقد أشار Cavalcante and Cruz-landim (2004) بأنه تُحاط أقسام القناة الهضمية بطبقتين من الخلايا ؛ الداخلية خلايا طلائية والخارجية مجموعة من العضلات . كل جزء من القناة الهضمية له وظيفة معينة في عملية التغذية .حيث تتمثل وظيفة المعي المتوسط

في إفراز الإنزيمات الهاضمة بالإضافة إلى امتصاص المواد الغذائية المهضومة .وأن التغيرات التي تحدث في تحول اليرقة إلى الطور البالغ قد تكون أكثر أو أقل وضوحاً معتمدة تقريباً على درجة الاختلافات بين كل المراحل وترجع إلى المميزات المورفولوجية والفسيولوجية في نحل العسل .بالرغم من أن المعي المتوسط يتكون من أنبوبة غير مميزة تشريحيا ًإلا أنها في الطور البالغ أطول منها في الطور اليرقي .و بها على الأقل أختلافات نسيجية في الحلقات حول الصمام الفؤادي وأختلافات فسيولوجية على طول امتدادها .

في المعي المتوسط لليرقات وبداية من العمر اليرقي الأخير تظهر أنوية معظم الخلايا الهاضمة تركيزاً في الكروماتين في مركز الخلية، وبنهاية العمر اليرقي الخامس تبدأ اليرقة في تفريغ المعي المتوسط وينكمش التجويف المعدي (المعدة) وتظهر الخلايا الهاضمة ذات فجوات سيتوبلازمية وحبيبات والتي تصطبغ مثل الأنوية ؛ حيث تتكون طلائية المعي المتوسط في يرقات النحل من الخلايا الهاضمة ، والتي تكون مسؤولة عن إفراز الإنزيمات وامتصاص المواد المهضومة ومن خلايا مجددة صغيرة التي تقع في أماكنها متناثرة بين الخلايا الهاضمة خلال عملية التبدل.

(Billingsley,1990; Sadrud-Din *et al*., 1996; Diaz *et al*., 1998, 2000, 2003;Garcia *et al*., 2001; Silva-Olivares *et al*., 2003; Rost *et al*.,2005)

وفي أثناء عملية التبدل تُطرد الخلايا الطلائية للمعي المتوسط في اليرقات، وتتم عملية إعادة تنظيمها بواسطة الخلايا المجددة وخلال عملية التمييز(للتجديد) وإعادة التنظيم تستطيل الخلايا باتجاه تجويف المعي المتوسط . وتكتسب الخملات عليها ، ثم يليها زيادة في حجم السيتوبلازم والنواة . (Werner *et al* .,1991; Cruz-Landim *et al* .,1996 ; Neves *et al* .,2003 ; Martins *et al* .,2006)

وعلى أي حال فإنه أثناء عملية التبدل من النادر أن توجد الخلايا المجددة في حالة الانقسام. (Cruz-Landim and Mello , 1970 ; Neves *et al* ., 2003 ;

Cruz –Landim and Cavalcnte, 2003 ; Martins *et al* .,2006)

2- طور العذراء Pupal stage:

ومن الدراسات المرجعية المتاحة لوحظ أن الدراسات التشريحية والنسيجية على طور العذراء لتتبع التغيرات الحادثة في القناة الهضمية لملكات وشغالات نحل العسل كانت قليلة على اعتبار أنه مرحلة وسطية في التحول كما أنه طور غير متغذي حيث وجد

Katarzyna and Zofia (1988) في دراسة أجراها في فترة طور العذراء أن معظم الأنسجة الدهنية تمر بعملية تحطم (Destruction) خلال عملية التحلل النسيجي . وفي العذارى الأكبر عُمراً تمر الأنسجة الدهنية بعملية تجديد خاصة تلك الموجودة في الجزء الأمامي من البطن والتي حدث لها تحطم خلوي لتنظيمها.

في طور ما قبل العذراء (Prepupae) يُصبح المعي المتوسط أضيق ويطول ، بينما في العذارى ذات الأعين البيضاء يأخذ المعي المتوسط شكل الزجاجة أو القنينة و يزداد قطرها . في العذارى ذات الأعين الأحمر الوردي (Pink) يُصبح قطر المعي المتوسط متماثلاً ، وتسقط قمة أو حواف الخلية خارجياً في

التجويف المعوي ، ولكن في مرحلة العذارى ذات الأعين السوداء تكون الخلايا الطلائية فيها مشابهة للموجود في الطور البالغ .

(Snodgrass ,1984 ; Cruz-Landim and Mello , 1970 ; Neves *et al* ., 2002)

وأوضح (Cruz –Landim and Cavalcante (2003 بأنه يحدث إعادة تشكيل للخلايا الطلائية للمعي المتوسط لنحل العسل *Apis mellifera* L. أثناء عملية التبدل و تستمر عملية إعادة التنظيم أثناء مرحلة العذراء، وخاصة في العذارى ذات الأعين البنية. ويُظهر جدار المعي المتوسط في الحشرة الكاملة حديثة الخروج خصائص الطور البالغ.

في العذراء حديثة التكوين يكون قد تم أعادة تركيب جدار الطلائية والذي تكون الخلايا الهاضمة والمجددة قد تميزت فيه. أما العذراء المتقدمة في النمو فتكون طلائية المعي المتوسط فيها تامة التكوين ومشابهة لتركيب المعي المتوسط للحشرة الكاملة .

(Billingsley,1990; Sadrud-Din *et al*., 1996; Diaz *et al*., 1998, 2000, 2003;Garcia *et al*., 2001; Silva-Olivares *et al*., 2003; Rost *et al*.,2005)

في رتبة غشائية الأجنحة تبدأ التغيرات في المعي المتوسط في طور ماقبل العذراء بضمور طلائية الطور اليرقي ، تاركة الغشاء القاعدي فقط والخلايا المجددة . وفي نفس الوقت ، بعض الخلايا يحدث لها أن تتكاثر وتتجمع على الغشاء القاعدي لبناء طلائية جديدة للعذراء .(Snodgrass , 1984 ; Cruz-Landim and Mello , 1970 ; Gama and Cruz-Landim , 1984; Neves *et al* ., 2002 ; Martins *et al* .,2006)

3- الطور البالغ Adult stage:

وجد De Priester (1971) أنواع من الإفرازات في القناة الهضمية خاصة في الجزء الأمامي والخلفي للمعي المتوسط في *Callipora erythrocephala* حيث يرتبط الإفراز الخلوي مع تكوين الغشاء الحول غذائي .

وفي دراسة أجراها (1972) Noirot and Noirot-Timothée على منطقة السطح القمي للخلايا الطلائية في المعي المتوسط لحشرتين من عائلة *Meliponinae* وجد أنها تحتوي على نمو جيد من صفوف الخملات لحمايتها .وهذه الخملات تساعد على زيادة سطح الامتصاص والإفراز في داخل الخلايا.

وأشار Harvey and Blankemeyer (1975) إلى أن وظيفة الخلايا الطلائية في المعي المتوسط في الحشرة إفراز الأنزيمات وامتصاص المواد الغذائية المهضومة .

وجد Cruz-Landim (1985) أن طلائية المعي المتوسط تنقسم إلى ثلاث مناطق ؛ وهي القمة وبها خملات طويلة وحبيبات إفرازية ، والليسوسومات (الأجسام المحللة) و (Microfilaments) ، والمنطقة الوسطية تحتوي على النواة والشبكة الإندوبلازمية وأجسام جولجي ؛ ومنطقة الجزء القاعدي ذات ثنيات غشائية مرتبطة بالميتوكندريا .

وفي دراسة أجراها Katarzyna and Zofia (1988) على الجسم الدهني وجد أن الشكل الخارجي للجسم الدهني في شغالة نحل العسل *Apis mellifera L.* يمر بعدة تغيرات تبعاً لطور النمو الذي تمر فيه الحشرة . كما أن سرعة تمايز الخلايا الدهنية ليست متماثلة (Uniform) في كل الجسم الدهني .

كما أجرى(Jimenez and Gilliam (1990 دراسة على خلايا طلائية المعي المتوسط في شغالات نحل عمر 30 يوم حيث لاحظ أنه يصاحب انخفاض استهلاك حبوب اللقاح نقص في النشاط الخلوي بالجزء الخلفي من المعي المتوسط.

ذكر Raes and Verbeke (1994) و**Raes *et al* . (1994)** بأن الخلايا الطلائية (Epithelial cells) في المعي المتوسط للحشرات لها ثلاثة أنواع هي الخلايا العمادية (Columnar cells)وخلايا كأسية (Goblet cells) وخلايا إفرازية(Endocrine cells) . هذه الخلايا يعتقد بأنها نشأت من الخلايا المجددة ، وأن الخلايا المجددة تكونت من جذع وخلايا غير متميزة ، تميزت الخلايا الإفرازية في المعي المتوسط من الخلايا الجذعية و توضعت بين تلك العمادية . وقد تم في تلك الدراسة وصف الخلايا الإفرازية للمعي المتوسط في بعض أنواع نحل العسل بواسطة المجهر الالكتروني.

وقد أوضح Serrão and Cruz-landim (1995a) أن طلائية المعي المتوسط لنحل العسل تتكون من ثلاث أنواع من الخلايا وهي العمادية(Columnar cells)(أو الخلايا الهاضمة) (Digestive cells) والخلايا المجددة (Regenerative cells) والخلايا الإفرازية (الغدية) (Endocrine cell) وأوضح أن الخلايا الطلائية هي المسؤولة عن إفراز الإنزيمات الهاضمة وامتصاص الغذاء المهضوم .

وقد أجرى العالم Serrão and Cruz-Landim (1995b) دراسة مقارنة بين التركيب النسيجي ومحتوى القونصة والمعي المتوسط للطور البالغ للشغالات في8 أنواع من المتغذية على حبوب اللقاح (Pollen feeding species) من جنس Trigona ونوعان من

(Necyophagous) وما مدى تأثير نوعية الغذاء عليها ووجد أنه لا توجد أي اختلافات فيما بينها .

أجرى Cruz-landim *et al* .(1996) دراسة نسيجية كيميائية وبالمجهر الألكتروني على خلايا المعي المتوسط لنحل العسل من نوع *Apis mellifera L.* *ونوعي* *Scaptotrigona postica* *و* *Melipona quadrifasciata* ، ووجد أن هناك أنواع مختلفة من الأنثناءت على السطح القمي لخلايا المعي المتوسط ، تتكون أكبر الأنثناءات في السطح القمي للخلية والذي تكون محتوياته متجانسة السيتوبلازم ، وهذه الأنثناءات قد تنفصل إلى تجويف المعي المتوسط . النوع الثاني من الأنثناءات الكبيرة على السطح القمي تتكون بين خملات الخلية . بالإضافة إلى أنواع أخرى وجدها الباحثون .

أجرى Serrão and Cruz-Landim (1996) دراسة على منطقة الصمام البوابي للمعي في نحل العسل البالغ . حيث ينشأ الصمام البوابي من ثنيات الخلايا الطلائية للمعي الخلفي بحيث يكون مغطى بواسطة طبقة رقيقة من الكيوتيكل ، وأن لهذا الكيوتيكل تركيب يشبه الشوكة (Spine –like) في النهاية القريبة للصمام بينما تفتقد ذلك التركيب في النهاية البعيدة . وتكون خلايا المعي المتوسط الواقعة في المنطقة الانتقالية ضيقة وتقصر الخملات (الأهداب) وينقص طولها وتختفي الأهداب في الخلايا المجاورة للصمام البوابي .

وتتميز خلايا المنطقة الانتقالية والتي تقع بين المعي المتوسط والمعي الخلفي بأنها ذات خلايا مفلطحة (Flat cells)حيث يبدأ ظهور الكيوتيكل . وخلايا الصمام البوابي مكعبة ولها سيتوبلازم واضح . ويوجد في قمتها أهداب قصيرة . والنواة واقعة في منتصف الخلية ومُحاطة بجزء من الشبكة الأندوبلازمية المرتبطة بمخازن الجليكوجين .

وقد أكد (2005) Toth and Robinson أن تغذية الشغالات ترتبط بطبيعة العمل الذي تقوم به الشغالة سواء العمل داخل الخلية في رعاية الحضنة أو تخزين الغذاء أو العمل خارج الخلية لجمع الرحيق وحبوب اللقاح .

ووجد De França *et al* .(2006) أنه في النحل تتجمع الخلايا المجددة في أعشاش تنتظم كطبقات متمركزة على اتصال بالغشاء القاعدي ، ولكنها لا تصل إلى تجويف المعي المتوسط . ومثل باقي النحل الاجتماعي والنحل الغير لاسع *Melipona quadrifasciata* يتوقع أن متوسط عمر الشغالة البالغة في النحل 51 يوم تقريباً والملكة قد يمتد عمرها إلى سبع سنوات تقريباً. وقد قام هذا الباحث بإجراء اختبار عما أذا كان عدد الخلايا المجددة ينخفض خلال فترة حياة الطور البالغ وعما أذا كانت الخلايا المجددة في ملكات نحل العسل أكثر من الشغالات .وقد أظهرت النتائج الخاصة بعدد وتوزيع وحجم الخلايا المجددة في أعشاش طبقتي النحل ما يدل على وجود آلية تزيد من عدد وحجم الخلايا المجددة في أعشاش الملكات (Regenerative cell nests).

قد أوضح Snodgrass (1984) and Martins *et al*. (2006) ثلاث أنواع من

الخلايا في المعي المتوسط لشغالات النحل أولاً: الخلايا الهاضمة والتي تكون بها الإنزيمات الهاضمة وتمتص المواد الغذائية المهضومة ،وثانياً: الخلايا الغدية التي تنتج الهرمونات ، ثم الخلايا المجددة (Regenerative)المسؤولة عن عملية الإحلال والتعويض للنوعيين الأولين من الخلايا .

تبين أن للخلايا المجددة سيتوبلازم قليل ، والنواة ذات كروماتين مركز . وفي السيتوبلازم قليل من الريبوسومات ، ميتوكوندريا ، شبكة اندوبلازمية وأجسام جولجي ، مما يقترح بأن تلك الخلايا ذات نشاط أيضى منخفض . (Cruz-Landim , 1985 ; Cruz –Landim *et al*.,1996; Cruz –Landim ,1999 ; Martins *et al* .,2006)

تتكون القناة الهضمية في الطور البالغ من المعي الأمامي الذي يبدأ بالبلعوم (Pharynx) والمريء (Oesophagus) والحوصلة (Crop) والقونصة (Proventriculus) والمعي المتوسط (المعدة)

(Ventriculus) ، وينقسم المعي الخلفي إلى الجزء البوابي (Pylorus) واللفائفي (Ileum) والمستقيم (Rectum)

(Snodgrass,1984 ; Cruz – Landim,1985 ; Serrão and Cruz-Landim ,1995b ; Cruz-Landim ,1999 ; Martins *et al*., 2006)

في دراسة أجراها (2006) Rost على حشرة *Podura aquatica* L. أن طلائية المعي المتوسط يحدث لها تحلل وتتكون طبقة جديدة من الخلايا الطلائية التي تنشأ من الخلايا المجددة . وخلال عملية التجديد ، تنفصل الطلائية المتحللة تدريجياً من الصفيحة القاعدية نتيجة لتكون الجديدة مكانها . وأخيراً تتحرك الطلائية المنفصلة إلى تجويف المعي .

وأوضح Santoa and Serrão (2006) بأنه في كثير من غشائية الأجنحة يمتد المعي الخلفي (اللفائفي) كأنبوبة طويلة من المعي المتوسط (Midgut) إلى المستقيم ، لا يظهر أي خصائص تشريحية مميزة ، وأن وظيفة اللفائفي لم تفهم بالكامل بالرغم من وجود طبقة طلائية مكعبة أو خلايا عمادية بغشاء البلازما القمي والغشاء الأساسي (القاعدي) ويقترح أن هذا العضو قد يشترك في امتصاص الماء. وفي دراسة لأنواع مختلفة من النحل وجد أن اللفائفي يشتمل على خلايا مكعبة وخلايا عمادية ذات نواة قاعدية وغشاء بلازمي قمي ، بالرغم من أن هناك اختلافات في شكل الخلايا وموقع النواة ودرجة كثافة الكروماتين وسمك الجليد . الخلايا الطلائية مغطاة بالكيوتيكل وأوضحت القطاعات المستعرضة وجود 4–6 انثناءات في تجويف اللفائفي .

ثانياً– الجهاز التناسلي لملكة نحل العسل.

Reproductive system of honeybee queen.

1-الطور اليرقي Larval stage:

وقد أكدت الدراسات التي أجراها Hartfelder and Steinbrück(1997) بأن النقص في عدد أنابيب المبايض ليرقات الشغالات في أعمارها الأخيرة يرجع إلى إعادة امتصاصها (Reabsorption) في مبايضها .

وقد لاحظ Mohammedi *et al.*(1998) أن العمر اليرقي الخامس في نحل العسل يعطي الإشارات الرئيسية التي تمنع الشغالات طبيعياً من تنشيط مبايضها .وقد ذكر بأن هذه الإشارات اليرقية لديها الكفاءة أو الفعالية لتلعب دوراً أضافياً في تحديد كمية الغذاء الذي تتناوله اليرقات الأنثى .

وأوضح Calis *et al* .(2002) أن المستويات المختلفة من التغذية اليرقية قد تكون ذات أهمية في الكفاءة التناسلية للشغالات .

وقد أجرى Reginato and Cruz-Landim (2003) دراسة أوضح فيها أن الاختلافات في نمو المبايض بين يرقات كل من الملكة والشغالة لنحل العسل *Apis mellifera* L. تبدأ من الاختلاف في التغذية و أظهرت الملاحظات التي أجريت علي معدلات النمو في اليرقات لكلا الطبقتين أن يرقات الملكة والشغالة ذات معدل نمو لمحفظة الرأس متشابهة من عمر إلى أخر ولكن يزداد الوزن بشدة في الملكات وفي نفس الوقت تزداد مساحة مبايض الملكة بصفة مستمرة وبينما ابتداء من العمر الخامس ينقص حجم مبايض الشغالات ويرجع هذا النقص إلى فقد في عدد أنابيب المبيض والتي تبدأ مبكراً في يرقات الشغالات ويزداد في ما بين العمر الرابع والخامس . ويُصبح شكل المبايض مختلف في كل من الملكات والشغالات في الأعمار اليرقية الأخيرة .

كما لاحظ (Amdam *et al.* (2005 و Toth and Robinson (2005) أن هناك علاقة قوية بين تغذية اليرقات وخصوبة الحشرات الكاملة في الحشرات الاجتماعية ومنها حشرة نحل العسل والتي تعود إلى نوعين من الميكانيكية أولاً: أن الاحتياطي الغذائي في اليرقات ينتفع به في النمو و التكاثر للحشرة الكاملة . وثانياً: أن الاحتياطي الغذائي تبرز

أهميته من خلال التأثير على حجم جسم الحشرة الكاملة . وقد توقعت الدراسات الحديثة أنه قد يكون هناك عاملاً ثالثاً يربط ما بين التغذية وسلوك الحشرة الكاملة وما بين خصوبتها .

و ذكر Hoover *et al.*(2006) أن عملية النمو في اليرقات تتأثر بالتغذية وقد تؤدي بفعالية إلى درجة من النمو للمبايض تقل أو تزيد في طور الحشرة الكاملة . التغذية خلال مثل هذه العمليات قد تنتج شغالات يكون نمو المبيض فيها ناضج مثل هذه الشغالات تكون: بدائية في نمو المبيض ، وقد يتأثر فيها محتوى المخازن الغذائية (Nutrient stores) وكذلك حجم الجسم (Body size). وأن الاختلافات بين الملكة والشغالة تعود إلى اختلافات كمية ونوعية في تناول اليرقات للغذاء وأن التميز في نمو كلتا الطبقتين يعود إلى التغذية الوسطية في طبقة الإناث الناتجة داخل الطبقات .

2- طور العذراء Pupal stage:

من البحث في الدراسات المرجعية المتاحة عن الدراسات التشريحية والنسيجية في طور العذراء لتتبع التغيرات الحادثة في الجهاز التناسلي لملكات نحل العسل لم تكن هناك أي دراسة متاحة وقد يرجع ذلك لاعتبار طور العذراء مرحلة وسطية في التحول كما أنه طور غير متغذي .

3-الطور البالغ Adult stage :

يتكون الجهاز التناسلي للملكة من المبيضين (Ovaries) ويتكون كل منها من عدد 180 – 200 من أنابيب المبيض (Ovarioles) والتي تتجمع في شكل كمثري من نوع (Polytrophic) ،حيث يتكون بكل أنبوبة مبيضية صف من البويضات تتبادل مع خلايا التغذية وتكون البيضة القاعدية هي أكبر البويضات ، وتفرز حولها الخلية الحوصلية

(Follicle cell)غلاف القشرة (Chorion) وتوجد في قمتها فتحة النقير التي تسمح بدخول الحيوان المنوي – تتجمع نهاية فريعات كل مبيض في قناة المبيض وتتحد قناتا المبيض في قناة مبيض مشتركة (Common oviduct) تمتد قناة المبيض المشتركة في المهبل (Vagina) إلى قاعدة آلة اللسع ، وعلى جانبي الفتحة التناسلية توجد فتحتا الأكياس الجانبية ويوجد المخزن المنوي على الجزء الظهري للمهبل .

Snodgrass (1984)

وفي نحل العسل *Apis mellifera L.* وجد أن طوائف نحل العسل *تُظهر* تنظيماً فائقاً في تقسيم الطبقة التناسلية ؛ فكل الإناث الناتجة و 99,9 % من الذكور الناتجة البالغة تأتي من بيض موضوع بواسطة الملكة . **Visscher (1996)**

تتوقف عملية أنتاج البيض بواسطة الإناث على التغذية ، فيلزم مصدر كاف من الغذاء للإمداد بالبروتين والدهون والفيتامينات والمعادن الكافية واللازمة للنمو.**Wheeler (1996)**

كما وجد (2002) Hepburn and Radloff أن فترة نمو الملكات قصيرة ، وأنها ذات مستقبلة منوية كبيرة ؛ كما أن بها عدداً كبيراً من أنابيب المبيض . وعند مقارنتها بالشغالة لاحظ أن الشغالة غالبا تفتقد للمستقبلة المنوية و عدد أنابيب المبيض فيها أقل بكثير عنه في حالة الملكة.

أظهرت النتائج التي أجراها Patrício and Cruz-Landim (2002) بأن فروع المبيض لملكة نحل العسل حديثة الخروج ، تتميز بها منطقتان منطقة قريبة قصيرة جرثومية ومنطقة بعيدة تكون طويلة وهي الخيط الطرفي . حينما تستعد الملكة للطيران بعد أن تكون نضجت تزيد المنطقة الجرثومية في الطول متقدمة باتجاه النهاية الطرفية حيث يقصر الخيط الطرفي .فروع المبيض للملكات تصبح مهيأة للتقابل (عند عمر 6–8 أيام) ، يكون لها واحد أو اثنان من الحويصلات البيضية .وإذا لم يتم التزاوج للملكة فإن تركيب فروع المبيض يحدث له خلل (عند عمر12–16 يوم) .أما الملكات المتزاوجة فإن فروع المبيض تتميز إلى ثلاث مناطق من القمة إلى القاعدة : خيط طرفي قصير ، منطقة متوسطة من المنطقة الجرثومية وقاعدة طويلة من المنطقة المحية .

وقد أوضح Tanaka and Hartfelder (2004) إن الاختلافات المميزة في الطبقة التناسلية لنحل العسل ، لا يمكن تفسيرها كلياً بالاختلافات العامة في عدد أفرع المبيض ولا بكمية المح التي تعبر عن التشكل التخصصي في الطبقة ، وبصفة جزئية فالميكانيكية التي توقف عملية تكوين البيض (Oogenesis) في الملكات حديثة الخروج (قبل التلقيح) وفي الشغالات التي حفظت في وجود الملكة . ولهذا السبب تمت دراسة المراحل الأولية لتكوين البيض في الملكات بناءً على حالات التزاوج ، وفي الشغالات المتعرضة لظروف اجتماعية مختلفة . والصفة المميزة في فروع المبيض لكلا الطبقتين كانت في الطول للخيط الطرفي مكوناً ليس فقط خلايا عادية في الخيط الطرفي . ولكن أيضاً احتوت جزئياً على خلايا غير مميزة أمكن اعتبارها تجريبياً كخلايا جذعية .

نظام الطبقات المظهرية والموجود في نحل العسل يمثل الحياة الاجتماعية الحقيقية (Euosociat)؛ فالإناث النامية تختلف مورفولوجياً (شكلياً) نتيجة للتحكم الغذائي والذي بدوره يحفز الجهاز الغدي (الغدد الصماء Endocrine). وأحد أهم الأهداف للغدد الصماء هو الجهاز التناسلي حيث تنمو للملكات

مبايض كبيرة وتنتج كميات كبيرة من المح (Vitellogenin) مما يسمح لها بإنتاج أكثر من 2000 بيضة يومياً . بينما وجد أن مبايض الشغالات أيضاً تكون محتوية على المح مثل الملكة خلال المرحلة الأخيرة لطور العذراء وتستمر في إنتاج المح خلال النصف الأول من حياتها ولكن بدون إنتاج للبيض.

Simões *et al* . (2006)

وفي دراسة مقارنة أجراها (2006) Ward and Rueppell عن سير العمليات الخلوية للمظاهر الشكلية لاحظ أن :

1- الشغالات عمرها في الصيف أقصر من الشتاء (اختلافات فصلية).

2- قصر عمر الشغالات والذكور مقارنة بعمر الملكات الطويل (اختلافات طبقية).

3- درجات مختلفة في نمو المبيض في طبقة الشغالات (اختلافات تناسلية). ووجد أن المظاهر ذات العمر الطويل بها خلايا مجددة أكثر وخلايا ميتة أقل من المظاهر ذات العمر القصير . مما يعطي ضوءاً جديداً عن قابلية التشكل في المظاهر أثناء نموها في الحشرات الاجتماعية وعن النمو الخلوي بصفة عامة .

وقد أوضح (2007) Patrício and Cruz-landim تأثير التأخر في عملية التزاوج على مبايض ملكة حشرة نحل العسل *Apis mellifera* L. وذلك باستخدام المجهر الضوئي . حيث تبدأ البويضات تميزها في المبايض بعد خروج الملكة من العذراء ، و في حالة عدم حدوث التزاوج في الوقت المحدد اللازم (تقريباً بعد 6 – 8 أيام من الخروج من العذراء) ، تبدأ الخلايا في التحلل .و تظهر مبايض الملكات غير المتزاوجة (عند عمر 15 يوماً) عدم انتظام شديد مع موت للخلايا مؤثراً على جميع أنواع خلايا فروع المبيض.

الفصل الثالث

المواد وطرق الدراسة

MATERIALS AND METHODS

تم إجراء البحث الميداني خلال عامي 2007 و 2008 ابتداءً من شهر نوفمبر لعام 2007 حتى نهاية شهر يوليو لعام 2008 . حيث أجُرى مسح مبدئي لمواقع المناحل في المنطقة الغربية لتحديد التي تصلح منها لإجراء البحث . وقد وجد نوعان من المناحل إما مناحل متنقلة أو مناحل ثابتة . وقد تم تفضيل المناحل الثابتة لسهولة إجراء البحث عليها ودقة البيانات التي يمكن الحصول عليها . وقد تم اختيار المنحل التابع لمحطة أبحاث هدى الشام ، والتي تقع على بعد 110 كم شمال شرق مدينة جدة ،

وهي محطة نموذجية للأبحاث الزراعية على مستوى المملكة تابعة لكلية الأرصاد والبيئة وزراعة المناطق الجافة – بجامعة الملك عبد العزيز ، وتبلغ مساحة هذه المحطة كيلو متر مربع ، وتتميز بوفرة مصادر الرحيق حيث تضم الكثير من المحاصيل الزراعية والبستانية والأعلاف، وتحتوي هذه المحطة منحلاً نموذجياً كبيراً للأبحاث ، يضم ما يزيد عن المائة طائفة مسكنة في خلايا حديثة من نوع (لانجستروث Langstroth) ويقع هذا المنحل وسط المحطة ويشغل مساحة كبيرة من الأرض.وقد تم الاستعانة بهذا المنحل للحصول على أفراد الدراسة و يوضح (Fig. (1:a-b صورة عامة لمنحل محطة أبحاث هدى الشام.

1-a

1-b

Fig.(1) a : Apiary of agriculture research station of Hada Al-sham faculty of meteorology environment and arid land agriculture of king Abdulaziz university. b : Langstroth bee hive.

- أولاً : سلالة نحل العسل اليمني (المحلي) محل الدراسة :

سلالة النحل اليمني (المحلى) *Apis mellifera jemenatica* التي تم إجراء البحث عليها ،هي السلالة التي قام بتعريفها العالم الألماني **Ruttner (1975)** لأول مرة من عينات جُمعت من شمال اليمن وقد أثبت **Dutton *et al*. (1981)** مطابقة نفس السلالة الموجودة في عمان بالموجوده باليمن وقد سجلت تلك السلالة في الصومال و السعودية أيضاً بواسطة **Ruttner (1987)** وتعتبر هذه السلالة إحدى سلالات النحل الأصفر والتي تعيش بصورة نقية في الجبال والوديان التي تنتشر في جنوب شبة

الجزيرة العربية حيث يسود الجو الجاف وتعد جزيرة سقطري في اليمن هي إحدى الأماكن المعزولة والتي توجد بها السلالة على صورة نقية من الناحية الوراثية .

من أهم الصفات الموفولوجية التي تميز السلالة أنها تعتبر من أصغر السلالات داخل مجموعة النحل الأصفر حيث تتميز الشغالات بأن البطن ذات حلقات صفراء والأجنحة والأرجل قصيرة نسبياً وتتميز بأن طول اللسان في الشغالات يتراوح في المتوسط ما بين 4.4-5.5 ملم (**Dutton *et al*. (1981)** . تتميز ملكاتها بأن البطن كبيرة الحجم نسبياً ذات لون أصفر والذكور صغيرة الحجم نسبياً مقارنة بباقي السلالات والذكور تميل إلى اللون الداكن أو الرمادي تتخلله أشرطة تميل إلى اللون البني الفاتح . و يوضح Fig (2: a – b) صورة لملكة (عذراء) لنحل العسل المحلي والشغالة .

2-a

2-b

Fig.(2) a : Vrigin queen of local honey bee race (*Apis mellifera jemenatica)*

b : Honey bee worker of local honey bee race (*Apis mellifera jemenatica)*

- ثانياً : إجراءات الدراسة : Study procedure:

تم اختيار عدد 2 طائفة متوسطة القوة من سلالة النحل المحلي النقية للحصول على أفراد طائفة نحل العسل منها في الأعمار المختلفة لإجراء الدراسات التشريحية والنسيجية عليها.

1 : الأفراد المستخدمة في الدراسة Individuals used in the study:

أستخدمت طبقتين من أفراد طائفة نحل العسل وهما طبقتي الملكة والشغالات حيث تمت الدراسة على طور اليرقة والعذراء والحشرة الكاملة كالتالي :

أ- طور اليرقات (Larval Stage) : كطور غير بالغ "بحسب عدد الأيام " يبدأ من فقس البيض حتى اكتمال مرحلة الطور اليرقي ، حيث تم اختيار العمر اليرقي الثالث والخامس في كل من الملكة والشغالات و الموضح بيانها في **Table:(1)**، Fig.(3: a-b)

ب- طور العذراء (Pupal Stage) : كطور غير بالغ "بحسب عمر العذراء باليوم " و عن طريق تحديد درجة التغير في لون الجسم ولون العيون. وقد تم اختيار عذراء عمر يوم واحد و يومين وثلاثة أيام في حالة الملكة وفي حالة الشغالات تم اختيار عذراء عمر يوم واحد وأربعة أيام وسبعة أيام كما هو موضح في **Table:(1)**. ، Fig.(4: a-b)

ج- الملكة (غير الملقحة)(Virgin queen): كطور كامل حيث أجريت الدراسة على أفراد حديثة الخروج "عذراء لم تلقح " . **Table:(1)** ، Fig.(2: a) .

د- الشغالات (Workers): كطور كامل حيث أجريت الدراسة على ثلاثة مراحل عمرية في الشغالة تختلف في نوعية الغذاء الذي تتناوله وهي كالتالي:

1- شغالات حديثة االخروج. The newly emerged honey bee workers :

عند عمر (0-12ساعة) غالباً لا تكون قد بدأت التغذية بشكل حقيقي بعد.

2- شغالات حاضنة The nurse honey bee workers:

تعمل داخل الخلية وهي تتميز بتناولها كميات كبيرة في بداية حياتها من حبوب اللقاح المخزنة داخل العيون السداسية خاصة في الفترة من (3-6 يوم)(تغذية بروتينية).

3- شغالات سارحة .The foragers honey bee workers:

وهي تعمل خارج الخلية في جمع الرحيق وحبوب اللقاح ولكنها تتميز بتغذيتها على الرحيق أو العسل بكمية أكبر من الشغالات الحاضنة (تغذية كربوهيدراتية).

Table:(1) ، Fig.(2: b) .

لتوضيح الأشكال الظاهرية للأعمار المختلفة محل الدراسة في كل من الملكات والشغالات أستخدمت كاميرا من نوع SONY DSC-T300 بتكبيرات مختلفة لتتناسب مع الطور محل الدراسة .

Table:(1): Individuals of honey bee used in the study.

طبقة الدراسة Cast of study	الطور اليرقي Larval Stage	طور العذراء Pupal Stage	الطور البالغ Adult Stage

الملكة **Queen**	– العمر اليرقي الثالث للملكة. 3rd larval instar. (غذاء ملكي)	– اليوم الأول لعذراء الملكة .(عيون بيضاء) 1st day old .	– ملكة عذراء (حديثة الخروج قبل عملية التزاوج) Virgin queen.
		اليوم الثاني لعذراء الملكة .(عيون قرمزي) 2nd day old .	
	– العمر اليرقي الخامس للملكة. 5th larval instar . (غذاء ملكي)	– اليوم الثالث لعذراء الملكة .(عيون سوداء) 3rd day old .	
الشغالات **Workers**	– العمر اليرقي الثالث للشغالات. 3rd larval instar. (غذاء ملكي)	اليوم الأول لعذراء الشغالات.(عيون بيضاء) 1st day old .	– شغالات حديثة الخروج. Newly emerged.
		اليوم الرابع لعذراء لشغالات.(عيون قرمزي) 4th day old .	– شغالات حاضنة. Nurse.
	– العمر اليرقي الخامس للشغالات. 5th larval instar. (غذاء بخبز النحل)	– اليوم السابع لعذراء الشغالات.(عيون سوداء) 7th day old .	– شغالات سارحة Foragers

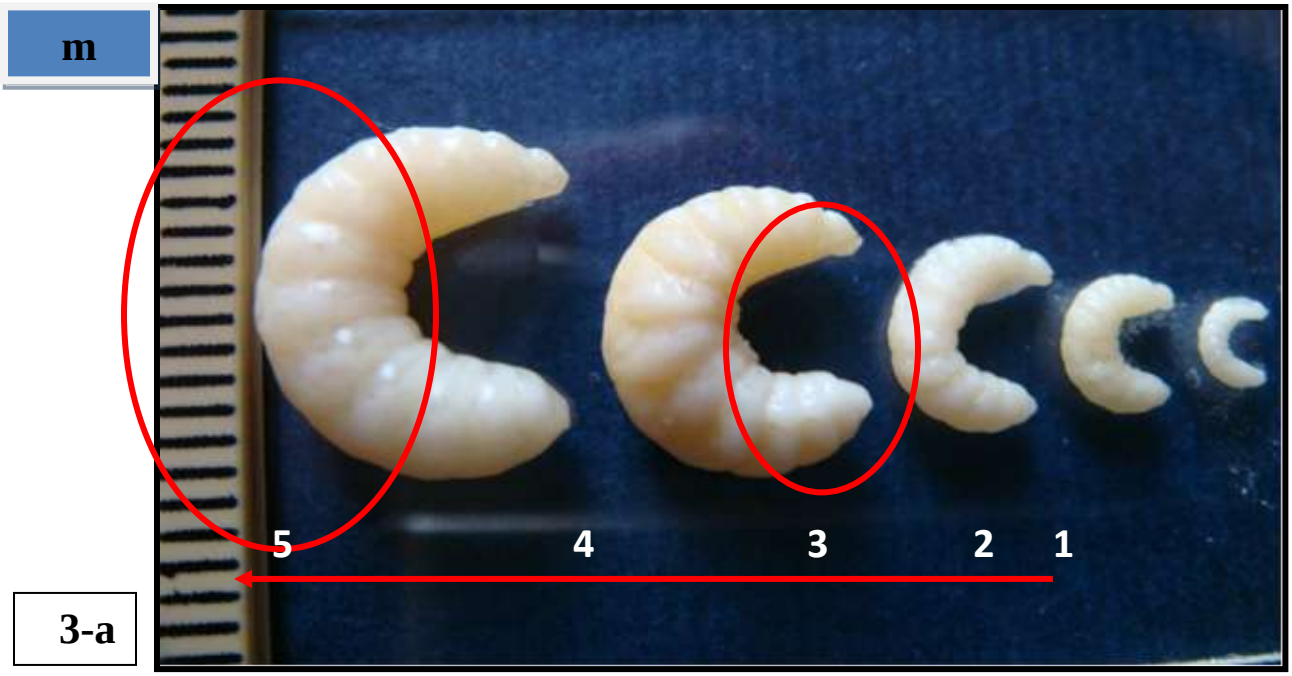
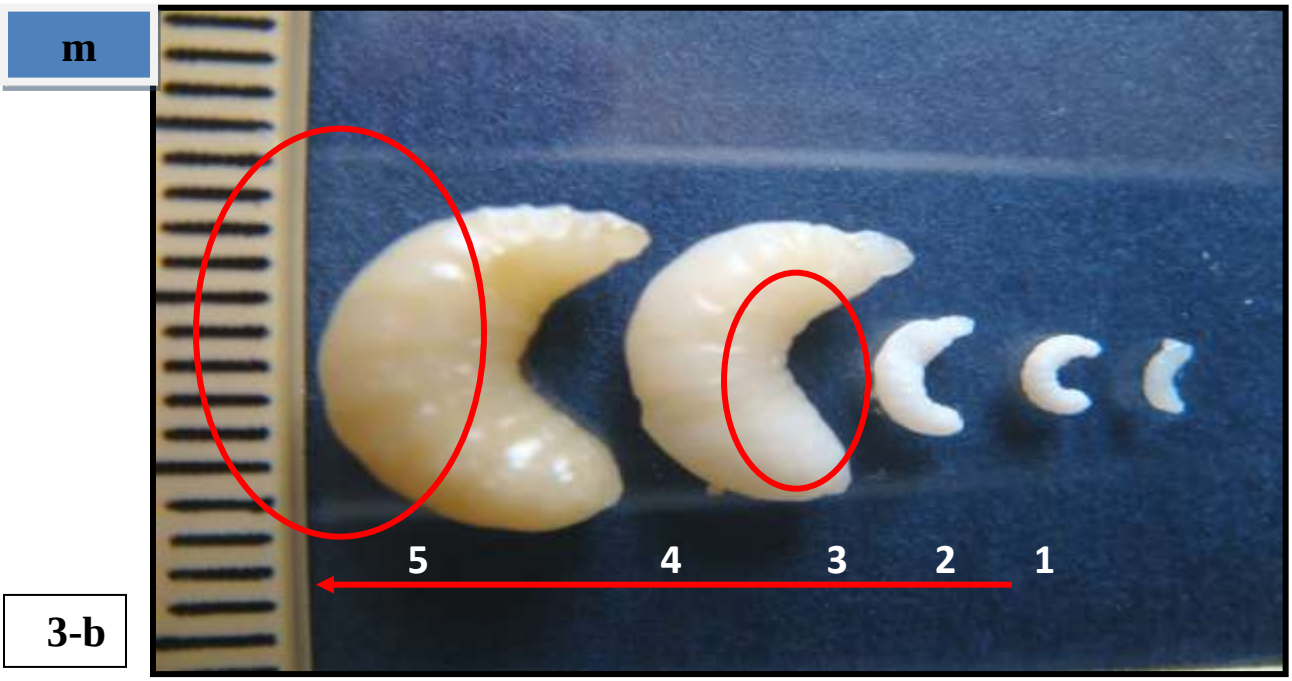


Fig. (3): a : Different developmental instars of queen larvae used in the stady .(40 F3.5 ISO 100) . m: milli meter.



b: Different developmental instars of worker larvae used in the stady .(40 F3.5 ISO 100) . m: milli meter.

2: وصف الأطوار المستخدمة في الدراسة :

أ- طور اليرقة (Larval Stage) :

اليرقة حديثة الفقس هلالية الشكل عديمة الأرجل ، تنسلخ اليرقات 4 مرات في هذه الفترة ، وتغذى اليرقات بغذاء الملكات في الأيام الثلاثة الأولى من عمرها ثم تستمر تغذية يرقات الملكات بالغذاء الملكي بكثافة ، أما يرقات الشغالات والذكور فإنها تكمل تغذيتها على خبز النحل المكون من العسل وحبوب اللقاح يُقدم إليها بالتدريج حتى تستهلكه أولاً بأول وحيث أن معدة يرقة النحل غير متصلة بأمعائها فلا تخرج أي براز. و تبدأ اليرقة في غزل الشرنقة والتحول إلى عذراء .

- وقد تم تقسيم اليرقات إلى مجموعتين حسب عدد الأيام وشكل اليرقة :

1- مجموعة يرقات الملكات. (Queen larvae group) .(3: a)Fig.

2- مجموعة يرقات الشغالات .(Worker larvae group) .(3: b)Fig.

وقد تم اختيار العمرين الثالث والخامس لإجراء الدراسات النسيجية وذلك نظراً لتباين نوعية الغذاء المقدم لكل منها.

ب- طور العذارء (Pupal Stage) :

يتم بعد فترة الراحة وخلال يوم واحد تنشط اليرقات وتنسلخ انسلاخاً خامساً وتخرج منه عذراء حرة مميزة في زوائد الجسم ومناطقه المختلفة ، العذراء لونها أبيض في أول طورها ثم تتركز الصبغات

بالتدريج في مناطق الجسم المختلفة ثم تتلون مفاصل الأرجل والرأس والصدر والبطن بالتدريج حتى تأخذ لون الحشرة الكاملة خلال3 أيام في حالة الملكة و7 أيام للشغالات ثم تنسلخ العذراء الانسلاخ السادس والأخير وتظهر الحشرة الكاملة التي تقرض الغطاء الشمعي للعيون السداسية بالفكوك وتدفعه وتخرج منه.

- تقسم العذارى بناء على درجة نموها ، حيث يتم تحديد درجة النمو حسب لون العين ودرجة إغمقاق لون الجسم (الجليد). Cruz-Landim and Cavalcante (2003) فتتباين من اللون الأبيض في اليوم الأول من تكون العذراء إلى اللون الوردي ثم القرمزي ثم الأسود مع التقدم في العمر.

1- مجموعة عذارى الملكة (Queen Pupae group) .

وقد تم اختيار جميع الأعمار لعذراء الملكة لإجراء الدراسات النسيجية. (Fig.(4: a

2- مجموعة عذارى الشغالات (Worker Pupae group)

وقد تم اختيار عمر اليوم الأول والرابع والسابع لعذراء الشغالة لإجراء الدراسات النسيجية.

Fig.(4: b)

ج- الملكة العذراء (Virgin queen) :

تتميز الملكة عن بقية أفراد الطائفة بكبر حجمها ، وقصر أجنحتها ، وضخامة بطنها وعظم جهازها التناسلي المتكامل وهي تُنتج من بيض ملقح يوضع في العيون الخاصة بالملكات (البيوت الملكية) وتغذي طوال فترة الطور اليرقي بالغذاء الملكي وتستمر في التغذية عليه طول فترة حياتها.وقد تمت الدراسة على ملكة حديثة الخروج(عذراء) (Virgin queen).

Fig.(2: a)

د- الشغالات (Workers) :

الشغالات هي أصغر أفراد الطائفة حجماً ولكنها تشكل معظم الأفراد الموجودة بالطائفة ، وهي إناث غير كاملة النمو(Undeveloped females) وتُنتج من بيض ملقح تضعه الملكة في العيون السداسية العادية بالقرص الشمعي . هذا ويوجد بالشغالة جميع الأعضاء اللازمة لحياة الطائفة مثل سلة حبوب اللقاح وغدد الشمع وغدد الرائحة وهي أعضاء ضرورية في عملية السروح وبناء العش . وفيما عدا وضع البيض وتلقيح الملكة فإن الشغالات تقوم بجميع الأعمال داخل وخارج الخلية . Fig.(2: b)

وحياة الشغالة عبارة عن سلسلة من المهام التي تزاولها حيث تنتقل الشغالة من مزاولة عمل إلى عمل آ خر طبقاً لعمرها . والشغالة تقريباً تصل إلى نصف حجم وزن الملكة التي تعتبر الأنثى الحقيقية الوحيدة في الطائفة ، هذا وجسم الشغالة يختلف كثيراً من الخارج والداخل عن جسم كل من الملكة والذكر . **الأنصاري (2007).**

3: طريقة تحديد الأعمار بالنسبة لأطوار الشغالات :

أ- طريقة تحديد عمر اليرقات:

تم انتخاب قرص واحد ويعلم بكتابة تاريخ اليوم عليه ، أو مساحات في أكثر من قرص تحتوي على بيض عمر يوم واحد (وضع البيض يكون عمودي داخل العين السداسية)، وبعد مضي ثلاث أيام يفقس البيض وتخرج منه يرقة صغيرة(عمر يوم)، تستمر هذه اليرقات في النمو حتى تصل إلى اليوم

الخامس. Fig.(3: b) ،وهي بداية تغطية العيون السداسية لليرقات بطبقة من الشمع وحبوب اللقاح ، وعليه حُسبت الأطوار كما يلي:

عمر بيضة 3 أيام

عمر اليرقة 5 أيام (يرقة مفتوحة أربعة انسلاخات نمو سريع)

بقية الأطوار 13 يوم (2 يوم غزل الشرنقة + 3 يوم طور ما قبل العذراء راحة وسكون + 1 يوم التحول للعذراء نشاط وانسلاخ خامس + 7 أيام طور العذراء).

ب-طريقة تحديد عمر العذراء:

تتشكل اليرقة إلى عذراء (عمر يوم أول) عقب الانسلاخ اليرقي الخامس والذي يتم بعد 13 يوم من وضع البيض أو 6 أيام من قفل العيون السداسية .

تم أختيار عذراء عمر يوم ، عمر يومين وعمر ثلاثة أيام في حالة الملكة . Fig.(4: a)

- في حالة الشغالة: تكون العذارى للشغالات في اليوم الأول ذات عيون بيضاء ناصعة البياض ولا يُلاحظ أي تلون لمنطقة الصدر.

في اليوم الرابع تتميز العذارى بتحول لون العيون من اللون القرمزي إلى اللون البني الداكن مع ملاحظة تلون منطقة الصدر بلون بني خفيف.يزداد هذا اللون مع تلون بسيط في منطقة البطن مع ظهور الحلقات البطنية بشكل أوضح .

في اليوم السابع يُلاحظ إغمقاق منطقة الرأس ومنطقة الصدر باللون الأسود وتلون منطقة البطن بلون داكن مع ظهور الأجنحة وقرون الاستشعار حيث تتكامل جميع الأجزاء والمواصفات فتصبح العذراء حشرة كاملة وتستعد للخروج بعد إتمام ساعات الطور. في الساعات الأولى من النهار أو الساعات الأخيرة

وربما في الساعات الأولى من اليوم الثاني ،حسب أوقات وضع البيض ، مع ملاحظة أن أجزاء الفم وجميع الأجزاء في العذارى تظهر من العمر الأول ، وتزداد في الوضوح يوم بعد يوم . وبناء على ذلك تُحسب الأعمار بهذه الطريقة . Fig.(4: b)

ج- طريقة تحديد عمر الشغالات البالغة:

وقد تم تحديد أعمار الشغالات كما يأتي : شغالات حديثة الخروج: تشاهد أثناء خروجها، أو بعد الخروج مباشرة .ويمكن تحديدها بوضع إطار حضنة على وشك الخروج في حضان على درجة حرارة 33 مْ ورطوبة نسبية 65% للحصول على شغالات عمر 24 ساعة ، وتم وضع علامات لونية على الشغالات الحديثة الخروج لحساب الأعمار المختلفة لها . Fig.(2: b)

Queen pupa	1st day old pupal stage	2nd days old pupal stage	3rd days old pupal stage
Ventrl view			

Fig. (4) a : Ventral view of different developmental stages of queen pupa used in the stady .(40 F3.5 ISO 100)

Worker pupa	1st day old pupal stage	4th days old pupal stage	7th days old pupal stage

Fig. (4) b : Ventral view of different developmental stages of worker pupa used in the stady .(40 F3.5 ISO 100)

4- الطريقة المستخدمة لتربية ملكات نحل العسل في الدراسة :

أستخدمت في البحث طريقة التطعيم في كؤوس شمعية والتي تسمى بطريقة دوليتيل(Doolittle method) أو طريقة التطعيم (Grafting method) وتعرف أيضاً بطريقة الكؤوس الشمعية Wax cups method).وذلك للحصول على ملكات في أطوارها وأعمارها المختلفة والتي تم تنفيذها على النحو التالي:

1- تم تحديد إحدى طوائف سلالة النحل البلدي الجيدة (8 أقراص مغطاه بالنحل) وذلك خلال بداية فصل الربيع (شهر ربيع الأول 1429هـ / مارس 2008م) وتم تغذيتها تغذية طبيعية بإضافة إطارات عسل وحبوب اللقاح لتحقيق الوفرة من الغذاء الطبيعي للطائفة وذلك لمدة أسبوعين .

2- تم حجز الملكة على إطار فارغ حديث البناء داخل قفص القرص الكامل لمدة 24 ساعة لإجبار الملكة على وضع البيض عليه للحصول على إطار به بيض محدد العمر(0-24 ساعة) تم تعليمه بكتابة تاريخ اليوم عليه و الانتظار حتى يتم فقس البيض ووصول اليرقات المستعملة في التطعيم إلى سن (12–18 ساعة) وذلك لاستخدامها في عملية التربية.

3- تم صناعة الكؤوس الشمعية باستخدام قلم خشبي نهاية قطره 6 مم وبارتفاع 1سم وذلك باستعمال شمع نحل نقي وذلك كما جاء بالطريقة الموضحة بواسطة الحفني (2005) ، ثم تثبيتها على القواعد الخشبية والتي تم بناء الإطارات الخاصة بذلك عليها ، والتي يصل عددها إلى 45 قاعدة تحمل الكؤوس الشمعية (15 كأس لكل عارضة) التي تستخدم كأساس لإنتاج البيوت الملكية في الخلية المُعدة لذلك .

4- وضعت الكؤوس الشمعية بعد تثبيتها في إطار حمل الكؤوس الشمعية في وسط طائفة قوية لمدة حوالي 3-4 ساعات قبل إجراء عملية التطعيم حتى يتم صقلها بواسطة الشغالات .تم وضع نقطة من الغذاء الملكي السابق جمعه من طوائف أخرى وذلك بعد تخفيفه بالماء الدافئ بواسطة ملعقة الغذاء الملكي أو قطارة نظيفة قبيل نقل اليرقات إليها مباشرة .

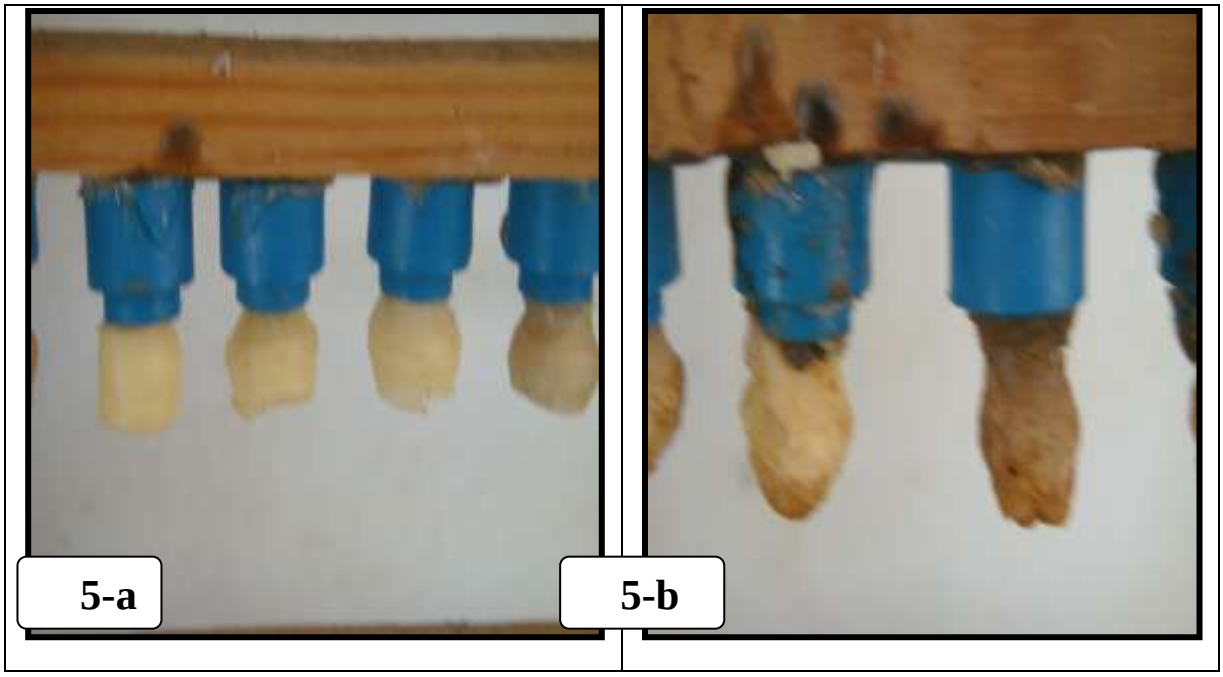
5- أجريت هذه العملية في غرفة التطعيم (Grafting room) التي كانت مُحكمة و دافئة (24 مْ تقريباً) بها ورطوبة عالية (70–80 %) وأمكن توفير الرطوبة العالية بوضع قطعة من القماش مبللة بالماء على واجه الإطار المحتوي على اليرقات المستخدمة للتطعيم أثناء اجراء عملية نقل اليرقات .

6- ولإجراء هذه العملية تم رفع القرص المحتوي على اليرقات المطلوبة وإزالة ما عليه من النحل برفق بواسطة الفرشاة ، ثم نُقل القرص إلى غرفة التطعيم داخل صندوق سفر لحمايته من الظروف الجوية غير المناسبة ومنعاً لجفاف اليرقات أم موتها .

7- تم وضع القرص بميل مناسب معرضاً للضوء الكافي حتى يحكم عملية اختيار اليرقة ونقلها . ثم بدفع طرف إبرة التطعيم برفق أسفل اليرقة ورفعها بجزء من الغذاء الملكي الموجود أسفلها ثم نُقلت اليرقة إلى الكأس بحيث كانت طافية على الغذاء الملكي ثم سُحبت إبرة التطعيم من تحتها تم تكرار العملية حتى تمام تطعيم جميع الكؤوس .

8- ثم تُثبت العوارض الحاملة للكؤوس في الإطارات الخاصة بها بحيث أصبح وضع الكؤوس متجهاً إلى أسفل مماثلاً لوضعها في الطبيعة ، حيث تم نقل الاطار التي تم تطعيم الكؤوس الشمعية باليرقات إلى الخلية الحاضنة لإتمام تغذية اليرقات حتى إتمام غلق الكؤوس الشمعية في اليوم العاشرحيث تم نقلها إلى داخل أقفاص التحضين حتى تمام خروج الملكات الكاملة .

Fig.(6) and Fig.(5: a-b-c-d)



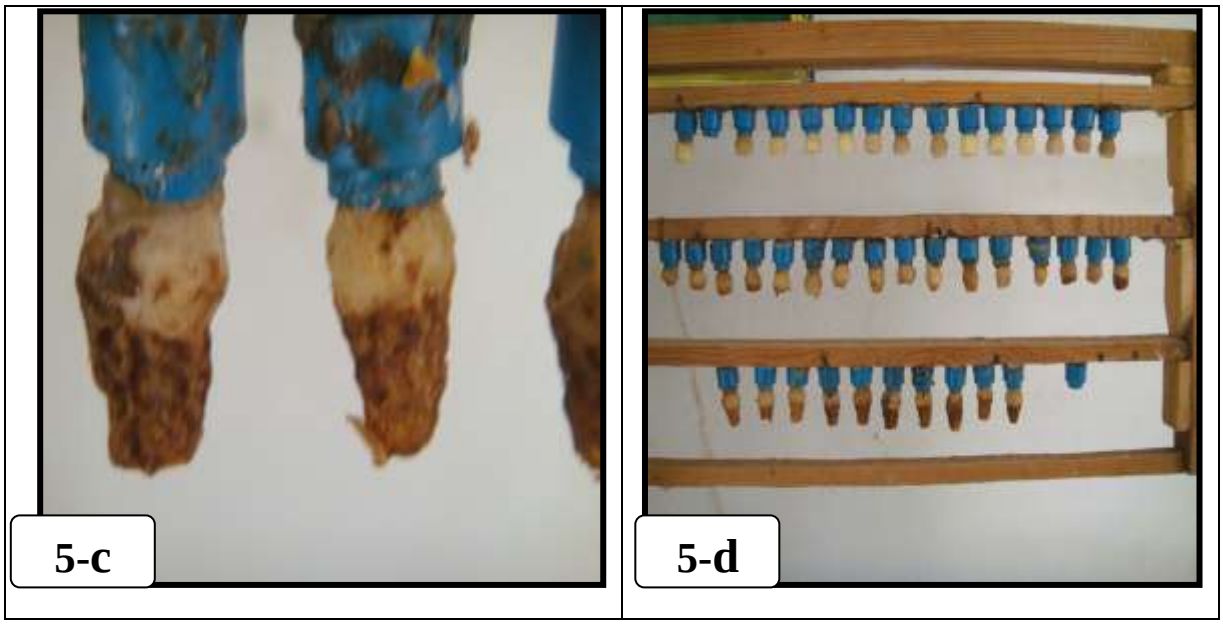


Fig. (5: a-b-c-d): Steps of queen rearing method by using grafting method (Doolittle method).

Fig. (6): The method used to isolate the queen cells before emergence.