

مطالعه دوشکلی جنسی

در سوسک کلرادو (*Leptinotarsa decemlineata*) (Coleoptera: Chrysomelidae) با روش ریخت‌سنجی هندسی در غرب و شمال غرب ایران

رحیم عبدالهی مصباح و جاماسب نوذری *

گروه گیاه‌پزشکی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، دانشگاه تهران، کرج، ایران

چکیده

افراد نر و ماده در سوسک کلرادو، در طبیعت دوشکلی جنسی بارزی ندارند و از شباهت بالایی برخوردار هستند، به طوری که شناسایی جنس‌ها با چشم غیر مسلح مشکل است. به منظور مطالعه دوشکلی جنسی سوسک کلرادو، در تابستان ۱۳۹۱، تعداد ۹۰ نمونه از افراد بالغ نر و ماده در قالب سه جمعیت جغرافیایی از مزارع سیب‌زمینی شهرستان‌های اردبیل، بهار و همدان با روش مشاهده مستقیم جمع‌آوری شد و بال‌های سمت راست جلو و عقب جدا و برای هر بال به ترتیب تعداد ۷ و ۸ لندمارک مشخص گردید. مختصات هندسی حاصل از لندمارک‌ها تبدیل به متغیرهای شکلی و اندازه، به عنوان معیارهایی برای مقایسه جنس‌ها استفاده شد. تخمین شکل بال در جنس نر و ماده به صورت مجزا بررسی شد که نشان دهنده تغییرات در روند تکاملی شکل بال بین جنس‌ها بود. آزمون چند متغیره بر پایه نتایج رگرسیون متغیرهای شکلی در جنس‌های نر و ماده مجموع جمعیت‌ها نشان داد که بال جلو دارای آلومتری و بال عقب فاقد آن است. آزمون تجزیه واریانس چند متغیره دو طرفه به منظور مشاهده اختلاف‌های شکلی (بر اساس میانگین متغیرهای شکلی) و اندازه انجام شد که نتیجه آزمون نشان دهنده اختلاف شکل در بال جلو بین جنس‌های نر و ماده بود.

واژه‌های کلیدی: دوشکلی جنسی، ریخت‌سنجی هندسی، سوسک کلرادو، *Leptinotarsa decemlineata*

مقدمه

زیرکشت سیب‌زمینی است. حشره کامل و لارو، در هر دو جنس نر و ماده از برگ‌ها و غده‌های سطح زمین تغذیه کرده و سالانه خسارت زیادی را به زمین‌های سیب‌زمینی در کشور وارد می‌کند (Khanjani, 2004). بررسی دوشکلی جنسی یکی از موضوعات مورد

سوسک کلرادو *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera: Chrysomelidae) (Say) از آفات مهم و عمده در مزارع سیب‌زمینی به ویژه در استان‌های اردبیل و همدان است که سطح وسیعی از زمین‌های آنها

حشره را بسیار مشکل نموده است. بررسی وجود و میزان دوشکلی جنسی به منظور مطالعه تغییرات درون جمعیتی در این حشره، زمینه علاقه و ضرورت کار برای مطالعه حاضر را فراهم آورد.

مواد و روش‌ها

جنس‌های نر و ماده سوسک کلرادو به صورت مشاهده مستقیم در تابستان ۱۳۹۱ فقط از مزارع سیب‌زمینی (برای جلوگیری از تأثیر میزبان) در شهرستان‌های اردبیل، بهار و همدان جمع‌آوری شد. از هر شهرستان ۳۰ نمونه (۱۵ نمونه ماده و ۱۵ نمونه نر) در نهایت، ۹۰ نمونه جمع‌آوری شد. به دلیل ساختمان دو بعدی بال و مناسب بودن برای مطالعات ریخت‌سنجی هندسی (Nozari, 2008) این عضو برای تعیین لندمارک انتخاب شد. بال‌های سمت راست جلو و عقب حشرات کامل نر و ماده جدا و با استفاده از بینوکلر و دوربین متصل به آن (ccd) از آنها تصاویر دیجیتالی تهیه و در فایل‌های مستقل ذخیره گردید. با نرم‌افزار tpsdig2 نسخه ۲/۱۶ (Rohlf, 2010a) برای بال جلو و عقب به ترتیب تعداد ۷ و ۸ لندمارک انتخاب و کمی شد و با نرم‌افزار tpsutil نسخه ۱/۴۴ (Rohlf, 2009) مختصات هندسی لندمارک‌های تمام افراد، در فایلی شامل تمام افراد جنسی و جمعیت‌ها ذخیره شد. لندمارک‌ها ترکیبی از لندمارک‌های نوع اول، دوم و سوم بوده و بیشتر در انتها و محل دو شاخه شدن رگ‌بال‌ها به عنوان نقاط همولوگ قرار داده شدند (شکل ۱). تفسیر محل قرار گرفتن لندمارک‌ها به شرح زیر است:

در بال جلو: لندمارک ۱: در قسمت میانی و به طرف بیرونی بال و در انتهای نوار سیاه میانی. لندمارک ۲: در قسمت جانبی لندمارک ۱ و در انتهای نوار سیاه جانبی

علاقه پژوهشگران و زیست‌شناسان مسایل تکامل از زمان داروین بوده است (Hood, 2000؛ David *et al.*, 2003). بسیاری از محققان وجود اختلافات جنسی را حاصل فشار انتخاب طبیعی روی صفات وابسته به تولیدمثل و تفاوت اکولوژیکی جنس‌های نر و ماده می‌دانند (Hood, Reeve and Fairbairn, 1999؛ Hood, 2000). تمایز تغییرات فردی از تغییرات جمعیتی حشرات در تاکسونومی و شناسایی و تفکیک گونه‌ها و جمعیت‌ها؛ دارای اهمیت بالایی است. تغییرات آلومتریک به عنوان تغییرات عارضی و دوشکلی‌های جنسی به عنوان تغییرات ژنتیکی، تغییراتی در داخل یک جمعیت است و به عنوان تغییرات فردی درون یک جمعیت واحد محسوب می‌شوند و شناخت آنها سبب تفسیر بهتر روند تکاملی گونه خواهد شد (Mayr and Ashlock, 1969).

در بررسی‌های دوشکلی جنسی و به طور عمده در مطالعات تاکسونومی عددی به طور سنتی عمدتاً از طول و اندازه بدن استفاده شده و تحت عنوان مطالعات مورفومتریک کلاسیک است (Hood, 2000)، در حالی که شکل موجودات از وراثت‌پذیری بالایی برخوردار است و می‌تواند در بیان تفاوت‌ها، دقت کار را افزایش دهد (Rohlf, 1990) که این مهم در روش ریخت‌سنجی هندسی مد نظر گرفته شده است. روش نامبرده (مورفومتریک-ژئومتریک) روشی نوین در مقایسه با مورفومتریک کلاسیک است که برخلاف روش سنتی، علاوه بر متغیرهای اندازه، متغیرهای شکلی را نیز در محاسبات دخیل می‌کند.

حشره کامل نر و ماده سوسک کلرادو از لحاظ ویژگی‌های مورفولوژیک، شباهت بسیار بالایی با یکدیگر دارند به طوری که تمایز نر و ماده در این

متغیر مجموع مربعات (centroid size) برای تحلیل تفاوت اندازه در بال جلو و عقب ذخیره گردید. با نرم‌افزار tpsregr نسخه ۱/۳۸ (Rohlf, 2011) تخمین شکل بال به صورت مجزا برای جنس‌های نر و ماده برای هر بال مشخص و آزمون چند متغیره (multivariate) بر اساس رگرسیون متغیرهای شکلی در جنس‌های نر و ماده کل جمعیت‌ها برای تعیین وجود آلومتری محاسبه گردید.

به منظور بررسی اختلافات شکلی بین جنس‌ها، از ماتریکس وزنی متغیرهای شکلی و به منظور بررسی اختلاف اندازه از متغیر مجموع مربعات استفاده شد. از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۹ برای بررسی اختلاف شکل بر اساس متغیرهای شکلی، بررسی اختلاف اندازه بر اساس متغیر مجموع مربعات، در جنس‌های نر و ماده و تعیین اثر همزمان جنس و جمعیت، آزمون تجزیه واریانس چند متغیره دو طرفه (Two-way MANOVA) استفاده شد.

بال. لندمارک‌های ۳، ۴ و ۵: به ترتیب از حاشیه پایینی به طرف حاشیه بالایی بال در قسمت انشعاب دو نوار سیاه میانی بال. لندمارک‌های ۶ و ۷: در حاشیه پایینی در قاعده دو نوار سیاه میانی بال.

در بال عقب: لندمارک ۱: در محل تلاقی رگبال کناری (costal vein) با حاشیه بالایی بال. لندمارک ۲: در زاویه بین رگبال‌های میانی (medial vein) و شعاعی (radial vein). لندمارک‌های ۳، ۴، ۵ و ۶: در زاویه بین رگبال بازویی (cubital vein) با رگبال عرضی. لندمارک‌های ۷ و ۸: به ترتیب در انتهای رگبال‌های میانی و بازویی در حاشیه پایینی بال.

مختصات هندسی مربوط به ۹۰ بال جلو و ۹۰ بال عقب حاصل شد. با نرم‌افزار tpsrelw نسخه ۱/۴۹ (Rohlf, 2010b) مختصات هندسی لندمارک‌های جنس‌های نر و ماده در کل جمعیت‌ها تبدیل به متغیرهای شکلی (partial warp) شد و ماتریکس وزنی آنها (weight matrix) برای تحلیل تفاوت شکلی و



شکل ۱- بال جلو (چپ) و عقب (راست) در سوسک کلرادو و محل قرارگیری لندمارک‌ها (در پژوهش حاضر)

چند متغیره بر پایه نتایج رگرسیون متغیرهای شکلی انجام شد که نتایج این آزمون نشان داد که بال جلو دارای آلومتری و بال عقب فاقد آن است (جدول ۱).

نتایج

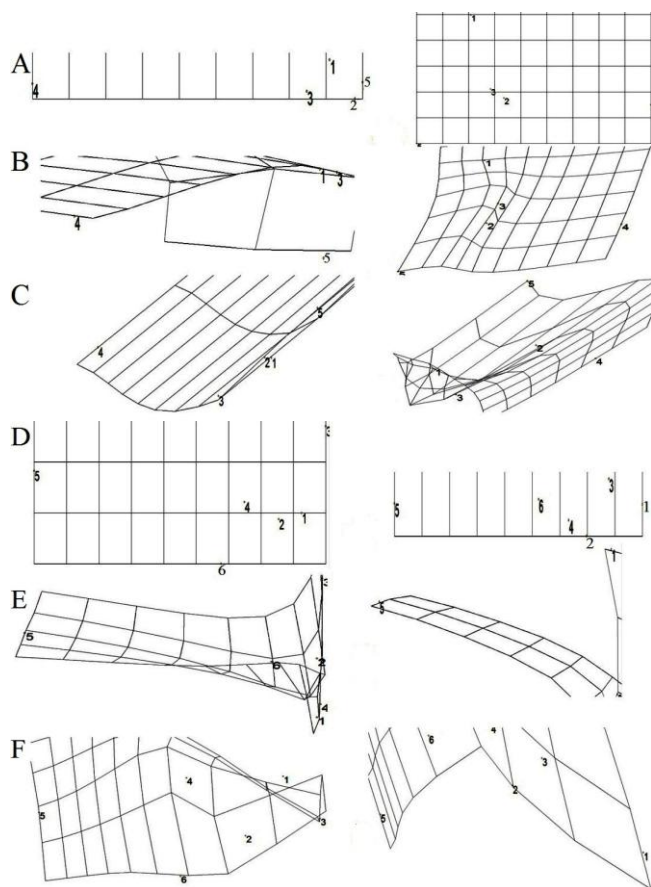
به منظور بررسی وجود آلومتری در بال‌های جلو و عقب جنس‌های نر و ماده مجموع جمعیت‌ها، آزمون

جدول ۱- نتایج آزمون چند متغیره بر اساس رگرسیون متغیرهای شکلی، در بال جلو و عقب افراد جنسی مجموع جمعیت‌های سوسک کلرادو. ** نشان دهنده معنی‌داری در سطح ۱ درصد و ns عدم معنی‌داری است.

معنی‌داری	آماره Lambda	درجه آزادی دوم	درجه آزادی اول	بال
۰/۰۰۱۲ ^{**}	۰/۷۷۱۱۱۶۸۵	۸۳	۶	بال جلو
۰/۴۳۲۲ ^{ns}	۰/۹۰۸۹۶۴۱۰	۸۱	۸	بال عقب

برای مشاهده اختلاف‌های شکلی و اندازه‌ای، آزمون تجزیه واریانس چند متغیره دو طرفه MANOVA انجام شد که نتیجه آزمون بیانگر اختلاف شکل در بال جلو بین جنس‌های نر و ماده بود، اما اختلاف اندازه در بال جلو بین جنس‌ها مشاهده نشد، همچنین تأثیر همزمان جنس و جمعیت در شکل و اندازه افراد جنسی، بی‌معنی بود (جدول ۲). بر اساس همین آزمون هیچ تفاوت شکلی و اندازه‌ای در بال عقب افراد جنسی مشاهده نشد (جدول ۳).

تخمین شکل بال با استفاده از مختصات هندسی لندمارک‌ها مشخص شد، به گونه‌ای که توصیف کلی تنوع شکل بال جلو و عقب با استفاده از ۷ لندمارک در بال جلو و ۸ لندمارک در بال عقب نشان‌دهنده تغییرات در بال جلو و عقب افراد جنسی سوسک کلرادو در روند تکاملی است که در این بین، به نظر می‌رسد در هر دو جنس، بال جلو و عقب به سمت کوچک و جمع شدن سیر می‌کند. در جنس ماده بال عقب و در جنس نر بال جلو حدود تغییرات بیشتری را نشان می‌دهند (شکل ۲).



شکل ۲- تخمین شکل بال در سوسک کلرادو، بال جلو: ماده (راست) در مقایسه با نر (چپ) در جهت مثبت (B) و منفی (C) نسبت به شکل مرجع. (A) بال عقب: ماده (راست) در مقایسه با نر (چپ) در جهت مثبت (E) و منفی (F) نسبت به شکل مرجع (D)

جدول ۲- نتایج آزمون تجزیه واریانس دو طرفه MANOVA بررسی اختلافات شکل و اندازه افراد جنسی سوسک کلرادو در بال جلو. علامت * نشان دهنده معنی‌داری در سطح ۵ درصد است.

متغیر مستقل	متغیر وابسته	مقدار F	درجه آزادی	معنی‌داری در سطح ۹۵ درصد
جنس	اندازه	۰/۳۶۱	۱	۰/۵۹۴
	شکل	۴/۵۹۷	۱	۰/۰۳۵ *
جمعیت	اندازه	۲/۳۱۶	۲	۰/۱۰۵
	شکل	۱/۱۸۶	۲	۰/۳۱۱
جنس × جمعیت	اندازه	۰/۱۷۵	۲	۰/۸۴۰
	شکل	۱/۰۶۹	۲	۰/۳۴۸

جدول ۳- نتایج آزمون تجزیه واریانس دو طرفه MANOVA بررسی اختلافات شکل و اندازه افراد جنسی سوسک کلرادو در بال عقب

متغیر مستقل	متغیر وابسته	مقدار F	درجه آزادی	معنی‌داری در سطح ۹۵ درصد
جنس	اندازه	۰/۳۶۱	۱	۰/۱۹۷
	شکل	۴/۵۹۷	۱	۰/۶۷۱
جمعیت	اندازه	۲/۳۱۶	۲	۰/۲۵۵
	شکل	۱/۱۸۶	۲	۰/۰۵۸
جنس × جمعیت	اندازه	۰/۱۷۵	۲	۰/۷۰۸
	شکل	۱/۰۶۹	۲	۰/۳۳۶

بحث

گاهی این اختلافات جنسی دیده نمی‌شود یا بسیار به ندرت یافت می‌شود و برای تعیین آن به روش‌های دقیق تعیین تفاوت شکل و اندازه، همچون روش ریخت‌سنجی هندسی نیاز است. اختلافات جنسی بستگی به شرایط انتخاب طبیعی مختلف دارد و ایجاد یا عدم ایجاد آن به راحتی قابل توجه نیست. در برخی موارد، اندازه حشرات هر قدر کوچک‌تر باشد اختلاف اندازه بین نر و ماده نیز کمتر خواهد بود (Teder and Tammaru, 2005). در بررسی حاضر مشخص شد که افراد جنسی سوسک کلرادو در غرب و شمال غرب کشور فاقد اختلاف اندازه بال بر اساس محل لندمارک‌ها بودند. اما نتایج تحقیق حاضر با توجه به اختلاف معنی‌دار بین شکل بال

تغییرات آلومتری که به عنوان تغییرات غیرژنتیکی درون یک جمعیت واحد محسوب می‌شوند و اثبات وجود و تغییرات آن می‌تواند نمایانگر تغییرات درون جمعیتی باشد (Mayr and Ashlock, 1969). بررسی حاضر بیانگر وجود و اثبات آلومتری در افراد نر و ماده مجموع جمعیت‌های سوسک کلرادو در بال جلو بود. معمولاً در محیط طبیعی به علت فشارهای انتخاب طبیعی دوشکلی جنسی در حشرات به عنوان تغییرات فردی در درون جمعیت‌ها دیده می‌شود. فشارهای انتخاب طبیعی و پیچیدگی‌های محیط زیست ممکن است حد بسیار پایین و بی‌معنی یا حد بسیار بالایی از دوشکلی جنسی در شکل و اندازه را نشان دهند.

Mozaffarian *et al.*; Khaghaninia *et al.*, 2008؛ 1998
al., 2007؛ (Nozari, 2008).

سپاسگزاری

نگارندگان از جناب آقای دکتر بی‌همتا به خاطر راهنمایی در تحلیل‌های آماری صمیمانه تشکر و قدردانی می‌نمایند.

جلویی جنس‌های نر و ماده، وجود دوشکلی جنسی به عنوان تغییر فردی درون جمعیتی در این حشره را اثبات کرد. نتایج مربوط به دوشکلی جنسی در این تحقیق مشابه نتایجی است که پژوهشگران دیگر روی حشرات مختلف در داخل و خارج از کشور به دست آورده‌اند (Kunkel, 1995؛ Buda and Karalius, 1994؛ Adams and Funk, 1997؛ Adsavakulehai *et al.*).

منابع

- Adams, D. C. and Funk, D. J. (1997) Morphometric inferences on sibling species and sexual dimorphism in *Neophottetix virescens* leaf beetles: Multivariate applications of the thin-plate spline. *Systematic Biology* 46(1): 180-194.
- Adsavakulehai, S., Baimai, V. and Prachyabrued, W. (1998) Morphometric study for identification of the *Bacterocera dorsalis* complex (Diptera: Tephritidae) using wing image analysis. *Biotropia* 13: 37-48.
- Buda, V. and Karalius, V. (1994) Morphometry of antenna and eyes in insects: data for investigation of coevolution in sensory systems within Sessidae family (Lepidoptera). *Acta entomologica Lituonica* 12: 94-108.
- David, J., Gibert, P., Grasteau, S. M., Moreteau, B. and Beaumont, C. (2003) Genetic variability of sexual size dimorphism in a natural population of *Drosophila melanogaster*: an isofemale line approach. *Journal of Genetics* 3: 79-88.
- Hood, C. S. (2000) Geometric morphometric approaches to the study of sexual size dimorphism in mammals. *Hystrix* 11: 77-90
- Khaghaninia, S., Mohammadi, S. G., Sarafrazi, A. M., Hadad Iraninezhad, K., Ebrahimi, E., Alavikia, S. and Zahiri, R. (2008) Geometric morphometric approach on the sexual dimorphism of *Cydia pomonella* (Lep.: Tortricidae) in the North West of Iran. *Journal of Entomological Society of Iran* 28(1): 51-62 (in Persian).
- Khanjani, M. (2004) *Field Crop Pests in Iran (insects and mites)*. Bu-Ali Sina University Press, Hamedan (in Persian).
- Kunkel, J. (1995) Discrimination of Gypsy moth populations based on wing venation. Retrieved from <http://www.bio.umass.edu/biology/kunkel/shape.html>. On: 22 June 2011.
- Mayr, E. and Ashlock, P. D. (1969) *Principles of systematic zoology*. 2nd edition. McGraw-Hill Companies, Inc., New York.
- Mozaffarian, F., Sarafrazi, A. and Ganbalani, G. N. (2007) Host plant-associated population variation in the carob moth *Ectomyelois ceratoniae* in Iran: a geometric morphometric analysis suggests a nutritional basis. *Journal of Insect Science* 7(2): 1-11 (in Persian).
- Nozari, J. (2008) *Geometric morphometric study on Zeuzera pyrina (Lep.: Zeuzeridae) in three regions from Tehran, Markazi and Mazandaran provinces*. PhD thesis, University of Tehran, Karaj, Iran (in Persian).
- Reeve, J. P. and Fairbairn, D. J. (1999) Change in sexual size dimorphism as a correlated response to

selection on fecundity. *Heredity* 83: 697-706.

Rohlf, F. J. (1990) Morphometrics. *Annual Review of Ecology and Systematics* 12: 299-316.

Rohlf, F. J. (2009) TpsUtil version 1.44. State University of New York at Story Brook, New York.

Rohlf, F. J. (2010a) TpsDig version 2.16. Free software available. Retrieved from <http://morphometrics.org/morphmet.html>. On: 22 June 2011.

Rohlf, F. J. (2010b) TpsRelw version 1.49. Free software available. Retrieved from <http://morphometrics.org/morphmet.html>. On: 22 June 2011.

Rohlf, F. J. (2011) TpsReg version 1.38. State University of New York at Story Brook, New York.

Teder, T. and Tammaru, T. (2005) Sexual size dimorphism within species increases with body size in insects. *Oikos* 108: 321-334.

**Sexual dimorphism of Colorado beetle, *Leptinotarsa decemlineata*
(Coleoptera: Chrysomelidae) in the west and northwest of Iran
by geometric morphometric method**

Rahim Abdolahi Mesbah and Jamasb Nozari *

Department of Plant Protection, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

Abstract

The males and females of Colorado beetles do not reveal clear dimorphism and therefore they have high resemblance so that recognition of the sexes by simple eye is too difficult. In order to study sexual dimorphism in Colorado beetle, three geographical populations were collected from potato fields in Ardabil, Bahar and Hamedan regions by manual method and direct observation in the summer of 2012. Fore and hind wings were separated and 7 and 8 landmarks were orderly selected for the fore and hind wings at the end and angle of veins. Geometric coordinate of landmarks were converted to shape and size variables as comparison factors between the sexes. Wings relative variations were determined separately in male and female and it revealed variations of wing shape in evolutionary process. Multivariate analysis based on the results of regression of shape variables showed fore wing had allometry and hind wing had not allometry. Two way MANOVA analysis was conducted for observation of shape differences (base on average of shape variables) and size differences. The analysis showed that there were significant differences in shape of fore wing between the sexes.

Key words: Sexual dimorphism, Geometric morphometric, Colorado beetle, *Leptinotarsa decemlineata*

* nozari@ut.ac.ir